

# 有机化学与生命科学的碰撞

## ——2016年生物有机化学热点回眸

郑庆飞<sup>1</sup>, 王守锋<sup>2</sup>

1. 中国科学院上海有机化学研究所, 生命有机化学国家重点实验室, 上海 200032

2. 济南大学化学化工学院, 山东省氟化学化工材料重点实验室, 济南 250022

**摘要** 生物有机化学旨在阐明复杂生命体系中的内在化学机制, 以及通过理性的设计和改良来创造能够由于有机合成化学的生物大分子催化剂。本文遴选2016年发表于《Science》《Nature》《PNAS》《Nature Chemistry》等期刊的部分重要研究结果, 回顾2016年生物有机化学领域取得的突破性进展。

**关键词** 生物有机化学; 化学生物学; 定向进化; 人工酶; 生物催化

化学生物学这一概念于20个世纪末提出, 是一门将化学小分子作为工具, 同时通过化学手段人为干扰或调控生命体系, 从而阐明复杂生物体系运行机制的新兴交叉学科。与其他化学分支学科相比, 有机化学在与生命科学的交叉方面具有得天独厚的优势, 化学家通过合成不同的有机小分子作为化学探针, 可以有效地研究复杂的生命体系, 因此近年来生物有机化学得到了蓬勃的发展。

粗略来看, 有机化学与生命科学的交叉主要体现在两个方面: 一个是通过化学小分子研究生物大分子, 另一个是通过理性地设计、改造生物大分子, 用于生产复杂结构的功能性化学小分子。可喜的是, 在2016年, 围绕这两方面的生物有机化学研究均取得了重要的进展, 并有诸多相关成果发表在《Science》《Nature》《PNAS》《Nature Chemistry》《Cell Chemical Biology》等一流期刊上。因此, 本文根据这些研究成果盘点2016年国际上关于生物有机化学领域所取得的进展, 并对本领域未来的前景进行展望。

### 1 通过有机化学工具和研究手段认识复杂生命体系

生命体系固然复杂, 但是归根到底还是由各种有序的化学反应组合而成, 与基于共价断裂和形成的有机化学有所不同, 生命体系中充斥着大量的基于非共价相互作用的超分子化学组装和解聚“反应”。为更好地研究和认识这些复杂的生命过程, 化学家“八仙过海, 各显神通”, 开发了形形色色的研究工具和方法, 用于让这些神秘的过程“可视化”。在此前若干年的研究中, 有机化学家开发了一种名为“点击化学”的强大工具, 可以用于标记和追踪复杂生命体系中生物大分子或功能性小分子, 因此“点击化学”很快便成为了化学生物学的一个标签。根据这一研究思路, 近年来更多的“生物正交反应”被开发和应用到生命科学的研究中。在2016年, 基于化学小分子探针研究复杂生物大分子和生命体系的策略得到了进一步的发展。

#### 1.1 “化学突变”实现蛋白质的可控修饰

生物学家为了研究某种蛋白质中

某一关键氨基酸残基的功能, 最常用的办法就是“定点突变”, 即通过遗传学手段将该氨基酸替换为其他天然氨基酸。然后, 随着研究的深入, 人们发现很多蛋白质发挥其功能的前体是发生特殊的翻译后修饰(包括磷酸化、糖基化、酰基化、烷基化等), 而这些后修饰反应的功能却难以通过传统的点突变的策略进行模拟。化学生物学家通过精巧的设计和筛选策略开发了一套利用终止密码子编码非天然氨基酸的策略, 在一定程度上帮助人们进一步认识了这些翻译后修饰的功能; 然而, 该策略也有一定的不足之处, 即每研究一种后修饰作用都需要重新筛选一套遗传系统, 难以实现“通用性”, 甚至还有很多后修饰由于取代基位阻过大而无法通过此方法实现(例如泛素化)。2016年, 有机化学家的努力使得这一困难得到了改善, 牛津大学的Davis课题组通过结合遗传学和自由基化学构建了一套更为通用和普适的策略, 并将之形象地命名为“化学突变”<sup>[1]</sup>。

Davis课题组首先通过基因编码非天然氨基酸的策略, 用终止密码子突变

收稿日期: 2016-12-25; 修回日期: 2017-01-03

作者简介: 郑庆飞, 博士研究生, 研究方向为合成化学及合成生物学, 电子信箱: zhengqf@sioc.ac.cn; 王守锋(通信作者), 副教授, 研究方向为合成化学、合成生物学及生物化学, 电子信箱: chm\_wangsf@ujn.edu.cn

引用格式: 郑庆飞, 王守锋. 有机化学与生命科学的碰撞——2016年生物有机化学热点回眸[J]. 科技导报, 2017, 35(1): 21-29; doi: 10.3981/j.issn.1000-7857.2017.01.003

技术定点引入了脱水氨基酸,随后通过筛选发现了一套可以在水相、室温和有氧条件进行的自由基加成反应条件(图1)。Davis 等使用自由基化学将 25 种天然和非天然侧链通过形成 C—C 键修饰到 8 种蛋白质的特定位点,其中包括氮原子或氧原子连接的多糖、荧光基团、同位素标记基团等,由此证明了该方法中的自由基化学能够实现“生物正交”的效果,即不被生物大分子中其他的活性官能团所影响。这一策略具有较好的通用性,将脱水氨基酸引入蛋白质的遗传操作已经非常成熟,本研究中的自由基化学策略能够有效地拓展该种非天然氨基酸在生物化学研究中的应用。

## 1.2 多彩电镜洞悉微观世界

2016 年,诺贝尔化学奖获得者钱永健去世,这是科研界的一个巨大损失,在其去世不久,《Cell Chemical Biology》刊登了 1 篇来自钱永健生前所领导课题组的重要文章<sup>[2]</sup>。2008 年,钱永健因研究绿色荧光蛋白的发光机制和对其进行改良而获得了该年度的诺贝尔化学奖,正他的工作使得原本色彩单一的细胞变得“五光十色”。虽然不同颜色的荧光蛋白可以将细胞的不同区域进行有效地标记,但是对于更加精细的细胞结构光学成像法却“望尘莫及”。此时,就要动用电子显微镜。电镜通过加速电子流轰击样本表面,是表征微观结构的主要仪器之一。

然而,近年来电镜技术的发展却长期止步不前,其中一个原因就是原始的电镜图都是黑白灰的,不同结构仅仅只能靠灰度不同来区分,这就导致不同物体的边界很难区分,即便后期做成彩图也无济于事,此前还没有能更精细地区分边界的电镜方法。在《Cell Chemical Biology》发表的这篇文章中,钱永健课题组合成了 1 种通用的配体分子(DAB2),通过络合不同的稀土金属离子,可以按照一定的顺序给细胞的不同结构“上色”。研究者首先给线粒体和细胞核分别染色,在光照下红色染料会特异性地发生光氧化,使 Ce-DAB2 沉积在线粒体表面,Pr-DAB2 也可如此沉积到细胞核膜上。最后经过常规的锷处理后,分别用电镜拍摄锷、铈、镨,获得图像,再将图片重叠、上色就能得到细胞内部结构的彩图(图2)。透射电镜的电子流碰撞到不同的金属离子所产生的电子能量损失不同,由此便能给出一幅元素分布图,再按照一般的电镜上色方法,便能得到一张彩色的电镜图,每种颜色都代表细胞的 1 种亚显微结构。理论上讲,只要能够发展更多的稀土染料,就能添加更多的颜色。人们也十分期待后续能将这项技术继续发扬光大,就像钱先生生前所开发的各色荧光蛋白一样,在电子显微术的层面照亮细胞的每一个角落。

## 1.3 新型交联试剂让蛋白之间的相互作用“无处遁形”

随着中国科技的迅速发展,国内科学家的研究也逐渐在生物有机化学的舞台大放异彩。2016 年,北京大学雷晓光课题组与北京生命科学研究所董梦秋课题组合作,开发了一类全新的“三功能”交联试剂(Leiker),用于研究复杂生命体系中的蛋白—蛋白相互作用网络以及蛋白质的构象状态<sup>[3]</sup>。如图 3 中的化学结构所示,该偶联试剂具有能够与蛋白质中赖氨酸反应的活化酯基团,还有能够用于目标片段富集的生物素基团,以及用于标记目标肽段的同位素标签和用于化学切割的偶氮反应位点。使用该化学交联剂处理蛋白之后,通过后续的质谱数据采集和分析,可以

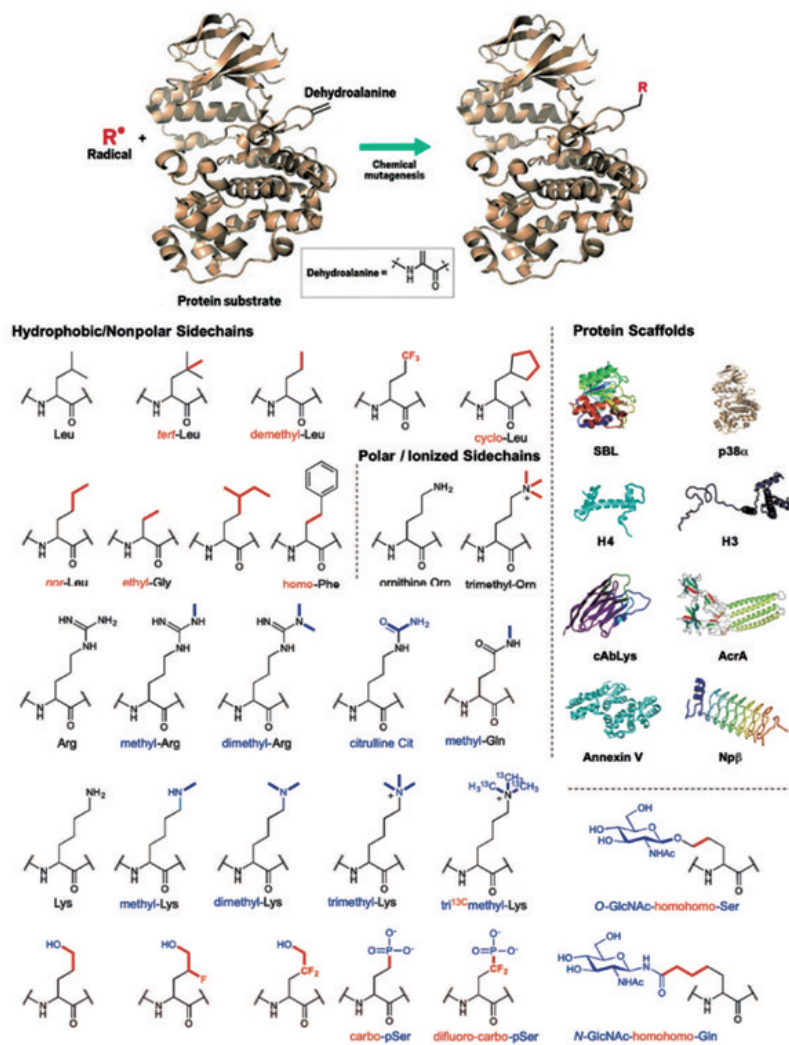


图 1 利用生物正交的自由基化学实现对于蛋白质中特定残基的定点“化学突变”(图片来源:《Science》)

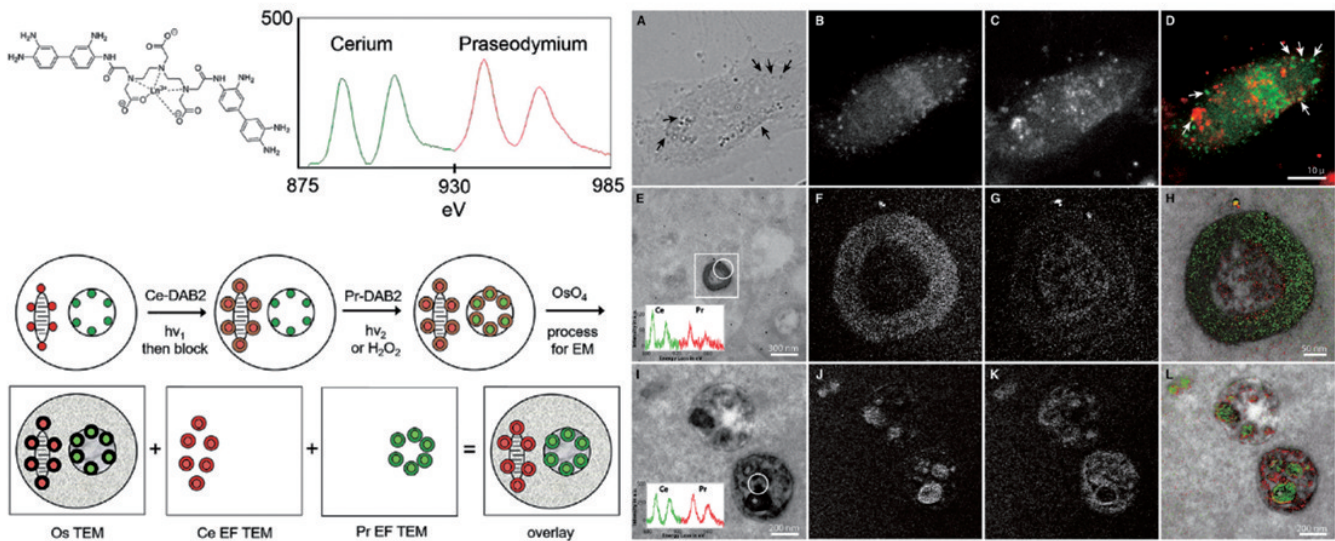


图2 利用不同稀土金属的吸附能力使用电镜对细胞细节进行多彩成像  
(图片来源:《Cell Chemical Biology》)

有效地获取不同蛋白之间相互作用的信息以及同一蛋白构象的变化信息。

该课题组将该新技术应用于分析大肠杆菌 70S 核糖体样品, 获取了大量核糖体柔性区域的结构信息, 而这些信息是传统的 X 射线晶体学或冷冻电镜难以获得的; 在更为复杂的酵母外切体 (exosome) 的免疫共沉淀样品中, 该课题还找到了 2 个外切体的直接结合

蛋白及 15 对外切体核心亚基之间的蛋白-蛋白相互作用; 在复杂程度更高的大肠杆菌和秀丽隐杆线虫全细胞裂解液中, 通过使用 Leiker 分别鉴定到了 3130 和 893 对交联肽段对, 与此前同类样品的鉴定记录相比, 提升了 8~22 倍。最后, 利用 Leiker 可被氘代同位素标记的特点, 建立了一套化学交联结合质谱技术 (CXMS) 的定量流程, 用于寻

找蛋白质构象的变化。该课题组首先以一个 RNA 结合蛋白的简单体系为例, 通过比较有和没有 RNA 的蛋白样品找到了 3 个 RNA 结合位点。接着比较了对数生长期和静止期的大肠杆菌, 鉴定出了静止期特有的一对相互作用蛋白。除此之外, 该化学交联试剂在固定蛋白质构象、促进蛋白结晶等研究中也可能会发挥重要用途。

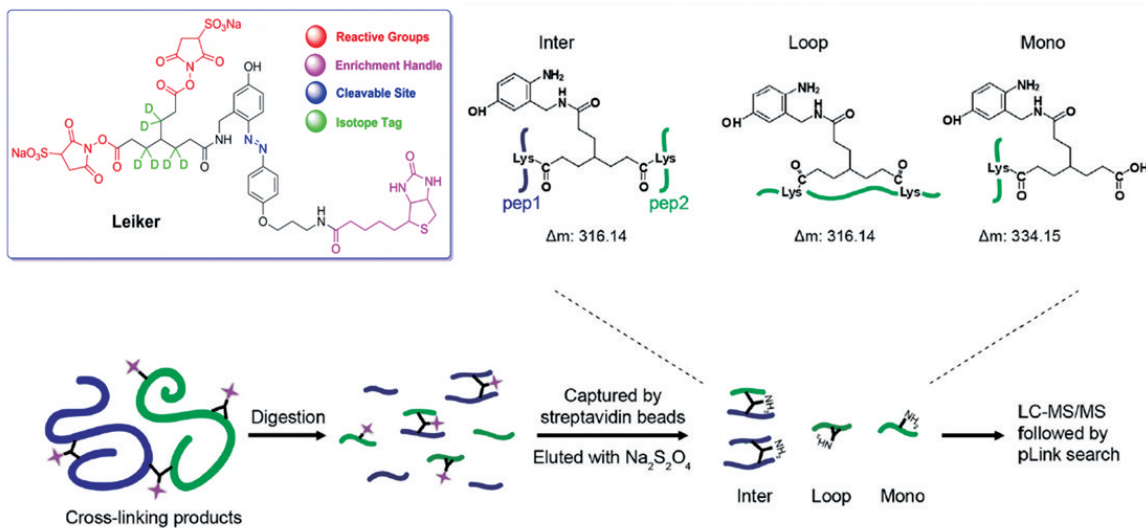


图3 多功能的化学交联试剂 Leiker 用于研究蛋白-蛋白相互作用及其构象变化  
(图片来源:《eLife》)

### 1.4 含氟化学探针揭示复杂抗生素生物合成机制

感染性疾病是目前全球范围内第二大威胁人类健康的致死疾病,由于抗生素滥用等原因,临床耐药菌的不断产生使得这一现状更为严峻,尤其是由多重耐药结核杆菌等胞内寄生菌感染引起的疾病,临床治疗更加困难。目前新型抗生素的研发速度远慢于临床中耐药菌的产生速度,每当推出一种能够临床安全应用的抗生素,很快就能检测到对其耐药的病原菌,如此往复下去很可能造成最终对感染性疾病“无药可用”的境地。硫肽类抗生素是一类微生物来源的天然抗菌肽,该家族成员具有最

低的最小抑菌浓度(MIC)并不易产生耐药性,但是由于其化学结构过于复杂且水溶性不佳,长期以来没有得到科研工作者的重视。但是随着近年来基因工程导向的生物合成研究的不断深入,使得这一类生物合成机制独特的核糖体肽类抗生素的放大量生产和结构优化研究得到了迅速的发展。

在所有硫肽类抗生素成员中,硫链丝菌素具有最为复杂的化学结构及最为多样的生物活性。但长期以来,人们并不知道其生源合成途径的细节,这也限制了基于合成生物学策略对其实现进一步的结构改造和优化的可能。中国科学院上海有机化学研究所刘文研究员课题

组近年来开发了一套“前体导向突变生物合成”的策略,将含氟小分子作为构筑模块引入到硫肽类抗生素的分子骨架中。2016年,他们使用这样的含氟化合物作为化学探针,降低了硫链丝菌素产生菌中相关酶的反应速率,由此捕获了一个关键的含氟中间体,并用此中间体及其衍生物作为底物成功揭示了硫链丝菌素生物合成途径中与其侧环形成相关的核心酶学机制(图4),这为未来基于合成生物学策略改造双大环硫肽类抗生素分子结构的研究奠定了基础。同时,这也是国际上首次使用含氟小分子化学探针捕获抗生素复杂生物合成途径中间体并揭示生化机制的研究<sup>[4]</sup>。

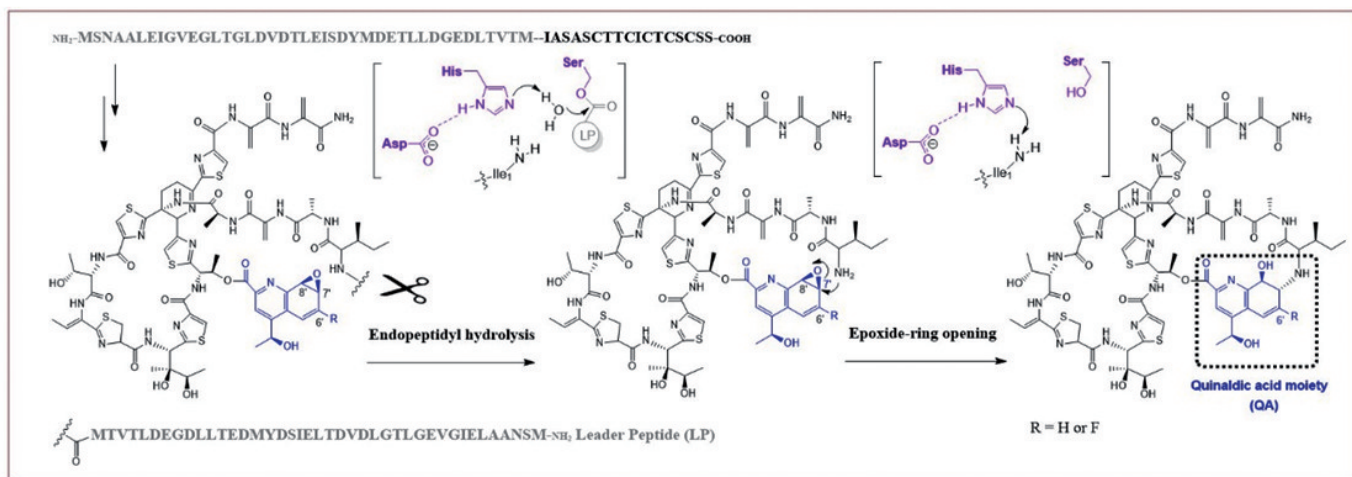


图4 利用含氟小分子探针捕获硫链丝菌素生物合成中间体,并阐明其侧环生物合成构筑过程的酶学机制(图片来源:《PNAS》)

## 2 人工改造生物大分子用于生 产结构复杂的有机化合物

经过数十亿年的漫长进化过程,大自然赋予了生物大分子神奇的反应催化性能。以蛋白质(酶)和核酸(核酶)为代表的具有催化活性的生物大分子,有着小分子催化剂无可替代的巨大优势。但是随着人们对于酶学认识的不断深入,也发现了生物大分子催化性能中的不足之处,例如催化循环数较低、对温度和酸碱敏感性、对有机溶剂不耐受等,但其中一个更大的“硬伤”是天然存在的生物大分子难以用于催化“非天然”的化学反应。基于前期研究中积累的关于生物大分子催化机制的认识和理解,人们尝试通过理性的设计和

“定向进化”,将原本功能具有局限性的生物催化剂改造得更为强大,从而通过催化特殊的有机化学反应实现对于自然界中本不存在的分子结构的构筑。2016年,围绕理性改造和定向进化生物大分子使之功能强化的研究得到快速发展,发表了诸多“重量级”研究成果。

### 2.1 “换心”血红素蛋白大显神威

加州大学伯克利分校的Hartwig是世界范围内有机化学研究领域的领袖人物,此前发展了以其名字命名的交叉偶联反应。但是,长期一直从事有机合成方法学的Hartwig课题组却在2016年接连在《Nature》和《Science》上发表了人工改造生物大分子用于反应类型拓展的研究论文。这不禁让同行大吃

一惊,什么时候有机化学家Hartwig开始对生物化学和酶学产生兴趣了?而这2篇论文的内容也确实让人们对于生物大分子催化潜能的认识耳目一新。

在其第1篇《Nature》文章中,Hartwig课题组对于大名鼎鼎的具有铁卟啉(Fe-PIX)辅因子的血红蛋白进行了一个“换心”手术:他们通过简单的培养基替换策略降低大肠杆菌培养基中铁盐的含量,以抑制血红素的合成,并保持较低的温度使apo-PIX蛋白保持稳定<sup>[5]</sup>,最终得到了含铁量低于5%的apo-PIX蛋白。这些蛋白与不同的金属卟啉(M-PIX)混合,填补蛋白中的空位,便能得到含有不同M-PIX催化核心的蛋白,这些金属包括钴、铜、锰、银、

铁等。天然存在的铁卟啉血红蛋白不能催化卡宾物种对于不活泼C—H键的插入反应,虽然很多其他过渡金属具有更强大的催化能力,但是在天然蛋白质中却并不存在。该课题组通过尝试,发现含有铁卟啉结构的新型“血红素”蛋白具有了强大的催化能力,可以实现卡宾物种对于非活化C—H单键和C=C双键的插入和环加成反应(图5)。

不久之后, Hartwig 课题组又在《Science》上发表了后续工作。他们将上述含有铁卟啉的人工血红素蛋白通过氨基酸残基定点突变的“定向进化”策略,进一步提高了其催化效率(图6)<sup>[6]</sup>。原本催化效率只有天然蛋白千分之一的“换心”蛋白,被改造为每小时能转化2550个底物分子,这几乎已经可以与天然酶的催化效率相媲美了。由此可见,将金属有机化学与生物化学中“定向进化”策略相结合的研究策略完全可以实现“老酶新用”,这为未来新型合成生物学原型的开发奠定了基础。

**2.2 定向进化实现向硅基生命进军的第一步?**

中国著名科幻小说作家、雨果奖获得者刘慈欣曾在其多部小说中设想宇宙范围内存在以Si替代C形成有机体的硅基生命,这些“脑洞大开”的设想让读者欲罢不能。然而科学家却不以为然,基于前期积累的知识,人们认为C—Si键的形成难以通过酶催化的形式实现。但是,2016年美国加州理工学院 Arnold 课题组报道了世界上首例能够催化C—Si键形成的蛋白<sup>[7]</sup>,很多媒体报道称这是向硅基生命进军的第一步。

该课题组通过筛选发现一种来自冰岛海底温泉的耐高温细菌 *Rhodothermus marinus* 的细胞色素C蛋白可以催化Si—H键的卡宾插入反应,从而形成C—Si键(ee值可达97%)。但是天然的蛋白催化效率和选择性还不够高,于是该课题组便通过蛋白质定向进化的方法,形成了3种突变型蛋白M100D、V75T/M100D和V75T/M100D/M103E,并用这3种突变型蛋白进行了实验(图7)。结果显示,V75T/M100D/

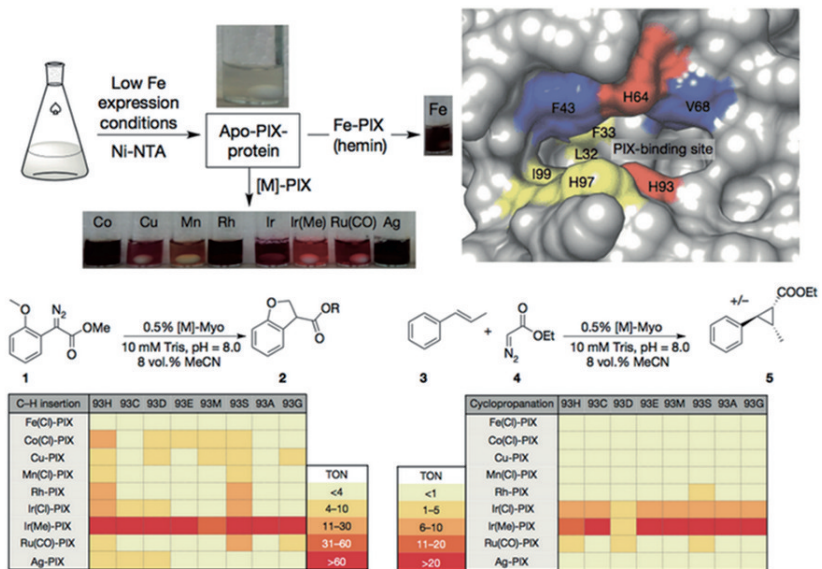


图5 通过对含有铁卟啉结构的血红蛋白进行“换心”和定点突变实现其原本不能催化的卡宾插入反应(图片来源:《Nature》)

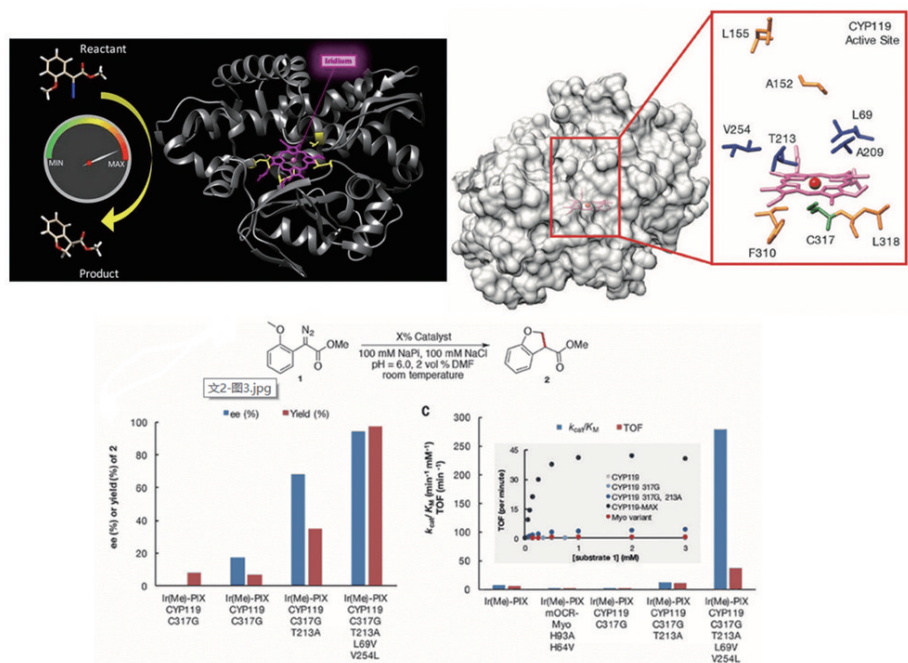


图6 基于定向进化策略,将含有铁卟啉结构的人工“血红素”蛋白催化效率提高到天然蛋白水平(图片来源:《Science》)

M103E可以将反应 ee 值提高到99%,并且其转换数高达1500,这比传统金属催化剂的效率高了15倍。根据这样的筛选和设计策略,将会获得更多能够催化C—Si键形成的生物大分子,这样下去,或许在未来的某一天,人们真的能

够构筑一个能够独立复制的简易版硅基生命体系。

### 2.3 “镜像生命”还有多远?

大自然对于“手性”是有偏好的,天然状态下,蛋白质几乎全部都是由左旋(L型)氨基酸构成,而糖类大多是右旋

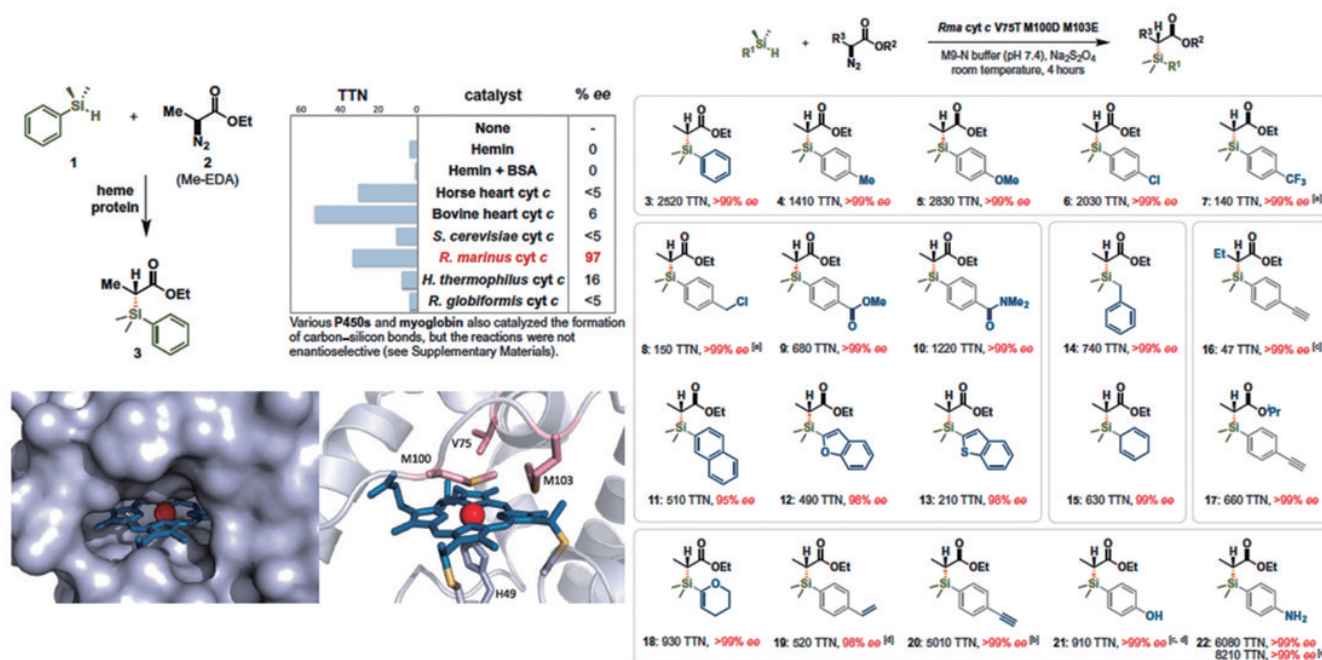


图7 对微生物来源的细胞色素C蛋白定向进化,首次实现了C—Si键的酶催化构筑(图片来源:《Science》)

的(D型,其中还包括RNA中的核糖和DNA中的脱氧核糖);另一个有趣的例子是著名的DNA双螺旋结构,几乎都是右手螺旋的形式出现。生命体为什么会青睐上述这些“手性”?是进化过程中的偶然,还是别有不为人知的科学机理?这些问题到目前为止,还都是未解之谜。那么人们能否通过人工的方式实现每一个手性中心都完全相反的“镜像生命”的构建呢?2016年,中国清华大学的朱昕和刘磊为这一问题做出了解答,他们首次在国际上实现了用右旋(D型)氨基酸合成的“镜像”DNA聚合酶,实现了分子生物学“中心法则”中两个关键的步骤——DNA的复制与RNA的转录<sup>[8]</sup>。

该研究首先通过固相合成和化学偶联的策略制备了全部由D型氨基酸构成的目前已知最小的DNA聚合酶——包括174个氨基酸残基的非洲猪瘟病毒聚合酶X。在后续的酶活测试中,他们使用了与天然DNA复制系统(D-DNA模板、D-DNA引物、D-脱氧核苷酸)完全镜像的分子系统,即L-DNA模板、L-DNA引物、L-脱氧核苷酸,在镜像DNA聚合酶的作用下成功复制了L-DNA(图8)。相关实验结果证明,4

小时内,镜像DNA聚合酶可以将12个核苷酸长度的引物延长至18个核苷酸;36个小时内,延长至56个核苷酸。而且,与天然DNA聚合酶的功能类似,镜像DNA聚合酶也能利用L-DNA为模板,合成L-RNA,这意味着DNA转录成RNA在“镜像世界”中也能进行。如果,后续的工作能够在镜像世界中实现中心法则的第三步,即将L-RNA翻译成D-蛋白,那么或许在不久的将来真的可以制造出镜像生命。

#### 2.4 纳米盔甲让细菌利用光能

在地球上,绿色植物和藻类可以进行光合作用,这是消耗光能、二氧化碳从而产生氧气和有机物的重要代谢过

程,为人类和其他动物提供了赖以生存的环境。虽然少数细菌能够使用化学能“自给自足”,但是大部分细菌却难以利用光能进行有机能生产,因此难以“自给自足”。通过合成生物学的手段,将光合作用系统导入生物中,可以更加充分地利用自然能源,并借助微生物工厂来生产有机化合物。然而在2016年,加州大学伯克利分校的著名纳米化学家杨培东课题组的一项研究省去了繁琐的基因操作,仅仅通过给细菌穿上一层纳米外衣就能让其持续利用光能生产有机物(图9)<sup>[9]</sup>。

这项研究利用了厌氧状态下产生乙酸的细菌 *Moorellathermoacetica*,经

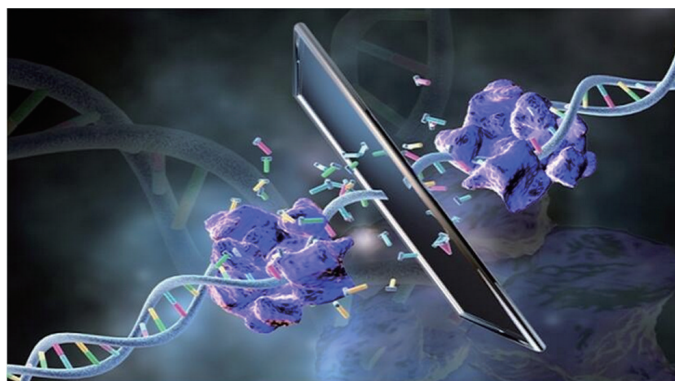


图8 镜像世界中的镜像DNA合成反应(图片来源:《Nature Chemistry》)

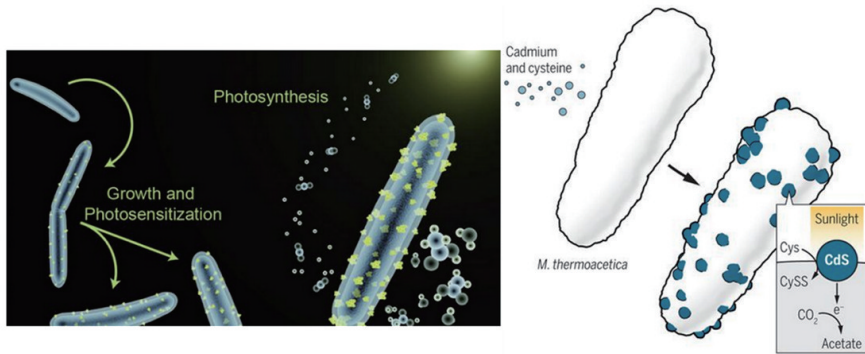


图9 纳米盔甲让细菌利用光能固定二氧化碳(图片来源:《Science》)

改造后该菌作为模板可以将溶液中的镉离子和半胱氨酸转换为不溶性的硫化镉(CdS)纳米粒子,并析出在其细胞表面上。当用光线照射时,硫化镉纳米粒子被激发后会释放出电子,然后将这些电子送入细菌体内,用于将二氧化碳还原成乙酸。这些纳米粒子可以作为光收集器,以维持细菌的代谢。通过利用硫化镉纳米粒子诱导 *M. thermoacetica* 的自光敏作用,在几天的明暗周期中通过光合作用以相对高的量子产率以二氧化碳为原料合成了乙酸,验证了这是一条可自我复制的系统,同时实现了“太阳能至化学品”的转化和对温室气体二氧化碳固定的目标。

### 2.5 人工代谢途径实现二氧化碳固定

二氧化碳是各种化石燃料燃烧供能后的必然产物,随着人类工业的迅速发展,越来越多的二氧化碳在大气层中积累而不能被快速固定,这导致了地球的温室效应。在现有的二氧化碳固定途径中,发生在绿色植物和藻类叶绿体中的卡尔文循环占据了超过90%的比例,但是这一途径并不足够高效,光合作用所伴随的光呼吸作用降低了这一途径的固定效率。因此,设计并构建一条全新的高效二氧化碳固定途径是科学家长期以来一直努力的方向之一。2016年,德国马克斯·普朗克学会研究所的Erb课题组在该研究领域取得了重要进展,他们通过体外(in vitro)酶学实验成功构筑了一条高效的二氧化碳固定路线(图10)<sup>[10]</sup>。

该研究将一类次级代谢产物生物合成途径中的酰基辅酶A羧化蛋白所

催化的反应为核心,设计并优化了一条全新的代谢路线。该课题组首先通过热力学计算,筛选出合理的化学反应,再通过生物信息学数据库搜索能够实现这些相关反应的蛋白,最终锁定了一条可能的途径,并将之命名为CETCH 1.0。催化该途径中各步反应的蛋白来源于不同的物种,将之一个个表达纯化并测试了这个反应循环的可能性。但是在尝试过程中发现,这一循环的转化效率较低,通过分析认为,这是其中几步反应的氧化循环体系较为复杂的缘故,因此,研究人员对这几个反应的催化蛋白进行了结构分析和定向改造。通过对于目标蛋白氨基酸残基的定点突变,实现了较为高效的循环体系的构筑。在整个研究中,他们先后优化

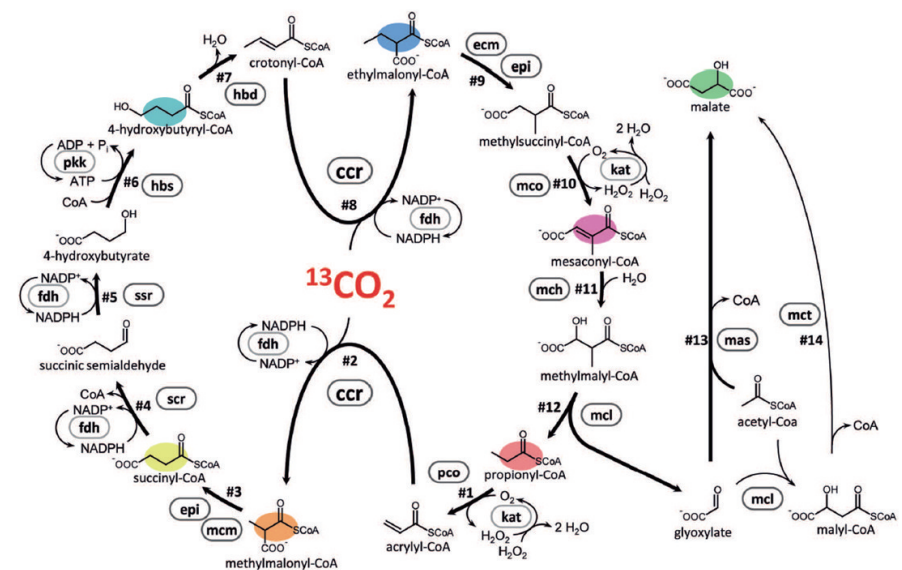


图10 人工设计和构筑全新二氧化碳固定途径CETCH 5.4(图片来源:《Science》)

和筛选了CETCH 2.0、CETCH 3.0、CETCH 4.0、CETCH 5.0等版本,并最终找到了效率最高的CETCH 5.4版。通过对于固定每分子二氧化碳所消耗ATP(三磷酸腺苷)、NADH(烟酰胺腺嘌呤二核苷酸)和光子数的统计发现,CETCH 5.4不但总反应步骤少于天然途径,同时效率更高。该课题组检测了在90分钟时间段内的二氧化碳消耗和有机物生成情况,发现该循环体系可以稳定地运转。该课题组在文章最后还提出,他们希望在后续的研究中能够将这样的一条人工构筑的代谢途径整合到生物体中,以此实现其真正的应用价值。

### 2.6 天然存在的最简单蛋白催化协同反应

以赫赫有名的Diels-Alder(D-A)反应为代表的协同反应是一类特殊的有机化学反应,此类反应没有任何中间体,而是直接在温度足够高的情况下跨越反应过渡态直接形成目标产物。基于这样的反应机理,生物有机化学家通过合成这些化合物的过渡态类似作为半抗原,筛选得到了能够催化相应反应的抗体酶,这样的抗体酶可以有效降低反应的活化能( $E_a$ ),由此促进了反应的进行。但是自然界中是否存在能够有效催化协同反应的蛋白,这一问题却一

直存在争议。虽然通过逆生物合成分析可以发现诸多天然产物的生物合成途径中可能涉及到,很多有机化学家根据一些天然产物的全合成研究结果认为自然界中这样的协同反应均为自发反应,但是生物学家却坚信这样能够催化协同反应的酶是天然存在的。2016年,中国科学院上海有机化学研究所刘文与潘李峰合作报道了世界上第一个真正意义上能够催化D-A反应的D-A酶的复合物晶体结构,并通过与人工抗体酶相比较,阐明了其中详细的酶学机制<sup>[1]</sup>。

该研究通过结构生物学和生物化学手段,对于这类天然D-A酶催化机制进行了系统地考察。他们发现这样一个仅含有184个氨基酸残基的小蛋白呈现一个稳定的 $\beta$ 桶状结构,其N端结构却像猪笼草的盖子一样能够锁住底物并辅助催化空腔将其折叠为接近反应过渡态的构象,由此降低反应活化能(图11)。进一步的生化实验表明,该蛋白中不存在任何其他辅因子和关键的催化残基,仅仅作为一个过渡态构象折叠模板的作用,但是在没有该酶存在的条件下,相应的D-A反应却无法在室温下发生。生化研究还表明该蛋白具有一定的底物耐受性,可以催化具有类似结构的底物发生同样的D-A反应得到具有手性季碳原子的螺环产物。该蛋白结构和功能的阐明为后续的合成生物学及生物有机化学研究提供了一个优良的起始骨架蛋白,通过对于其空腔和残基的进一步定向进化,人

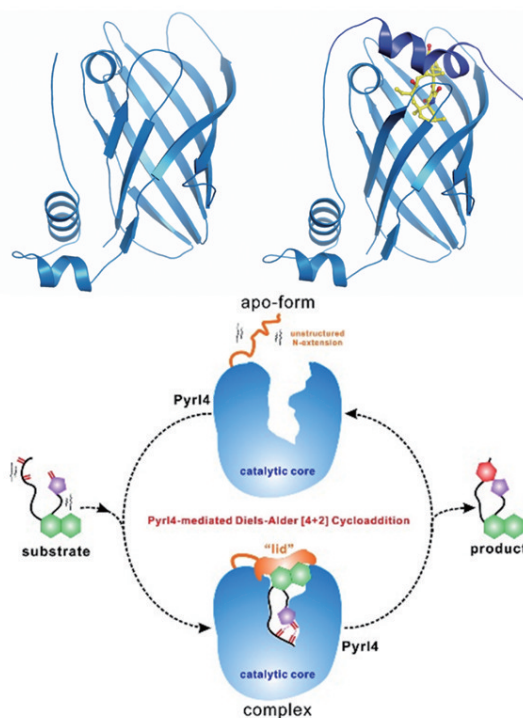


图11 猪笼草样的天然D-A酶作为“熵陷阱”通过超分子化学催化实现酶促D-A反应  
(图片来源:《Cell Chemical Biology》)

们可能获得具有更多协同反应催化活性的蛋白。另外,该研究也将天然生物大分子的催化特性从金属有机化学催化(含有金属离子的酶)和有机小分子催化(含有辅因子的酶)拓展到了超分子化学催化(仅提供反应过渡态折叠空腔的酶)的范畴。

### 3 展望

2016年,国际和国内对于生物有机化学的研究工作有了长足的进展。

在有机小分子研究复杂生物体系的研究方面,人们不再停留在合成更多的荧光探针用来成像,而是开始逐渐深入到电子显微镜成像以及质谱研究蛋白相互作用和构象变化的深度;相信在不久的将来利用有机化学研究技术和手段去认识和理解复杂生命体系的研究会取得更重大的成果。另一方面,在挖掘和拓展利用生物大分子生产有机小分子的功能的研究中,在2016年也有诸多重要的发现,研究的层面从过去的最简单直接的生物催化到了如今理性定向进化的程度;在

2016年从自然界中发现了更多具有神奇催化能力的生物大分子,同时拓展了原本早已发现的生物大分子的催化性能,并且通过改造和组装实现了全新代谢途径的构筑,或许利用改造后的“生物细胞工厂”去随心所欲生产目标产物的时代即将来临。

### 参考文献(References)

- [1] Wright T H, Bower B J, Chalker J M, et al. Posttranslational mutagenesis: A chemical strategy for exploring protein side-chain diversity[J]. *Science*, 2016, 354(6312): 597-608.
- [2] Adams S R, Mackey M R, Ramachandra R, et al. Multicolor electron microscopy for simultaneous visualization of multiple molecular species[J]. *Cell Chemical Biology*, 2016, 23(11): 1417-1427.
- [3] Tan D, Li Q, Zhang M J, et al. Trifunctional cross-linker for mapping protein-protein interaction networks and comparing protein conformational states[J]. *eLife*, 2016, 5: e12509.
- [4] Zheng Q, Wang S, Duan P, et al. An  $\alpha/\beta$ -hydrolase fold protein in the biosynthesis of thiostrepton exhibits a dual activity for endopeptidyl hydrolysis and epoxide ring opening/macrocyclization[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2016, 113(50): 14318-14323.
- [5] Key H M, Dydio P, Clark D S, et al. Abiological catalysis by artificial haem proteins containing noble metals in place of iron[J]. *Nature*, 2016, 534(7608): 534-537.
- [6] Dydio P, Key H M, Nazarenko A, et al. An artificial metalloenzyme with the kinetics of native enzymes[J]. *Science*, 2016, 354(6308): 102-106.
- [7] Kan S B J, Lewis R D, Chen K, et al. Directed evolution of cytochrome C for carbon-silicon bond formation: Bringing silicon to life[J]. *Science*, 2016, 354

- (6315): 1048–1051.
- [8] Wang Z, Xu W, Liu L, et al. A synthetic molecular system capable of mirror–image genetic replication and transcription[J]. *Nature Chemistry*, 2016(8): 698 – 704.
- [9] Sakimoto K K, Wong A B, Yang P. Self–photosensitization of nonphotosynthetic bacteria for solar–to–chemical production[J]. *Science*, 2016, 351(6268): 74–77.
- [10] Schwander T, von Borzyskowski L S, Burgener S, et al. A synthetic pathway for the fixation of carbon dioxide in vitro[J]. *Science*, 2016, 354(6314): 900–904.
- [11] Zheng Q, Guo Y, Yang L, et al. Enzyme–dependent [4+2] cycloaddition depends on lid–like interaction of the N–terminal sequence with the catalytic core in PyrI4[J]. *Cell Chemical Biology*, 2016, 23(3): 352–360.

## When organic chemistry meets biological science: Recent advances in bio–organic chemistry in 2016

ZHENG Qingfei<sup>1</sup>, WANG Shoufeng<sup>2</sup>

1. State Key Laboratory of Bioorganic and Natural Products Chemistry; Shanghai Institute of Organic Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200032, China

2. Shandong Provincial Key Laboratory of Fluorine Chemistry and Chemical Materials; School of Chemistry and Chemical Engineering, University of Jinan, Ji'nan 250022, China

**Abstract** The investigation of bio–organic chemistry focuses on elucidation of the mechanisms involved in complex biological systems, as well as the design and optimization of efficient biomacromolecule–based catalysts for organic synthesis. In this paper, we select several representative papers published on *Science*, *Nature*, *PNAS*, *Nature Chemistry*, etc. to summarize the most important progress in this research field.

**Keywords** bio–organic chemistry; chemical biology; directed evolution; artificial enzyme; biocatalysis

(责任编辑 田恬)