

请输入关键字



当前位置：首页 > 新闻动态 > 科研进展

青岛能源所在降血脂药物辛伐他汀前体物Monacolin J的生物合成研究中取得重要进展

供稿部门：微生物代谢工程团队

发布时间：2017-06-16

辛伐他汀 (Zocor) 是土曲霉天然产物洛伐他汀的半合成衍生物，是一种重要的降血脂药，2015年全球销售额达到30亿美元。辛伐他汀的工业生产工艺可分为三个过程：土曲霉发酵生产洛伐他汀，碱水解洛伐他汀制备monacolin J，化学方法将monacolin J转化成辛伐他汀 (图1)。针对monacolin J转化成辛伐他汀，美国研究人员前期开发了基于酰基转移酶LovD的生物催化转化方法，并获得2012年美国总统绿色化学奖。但monacolin J的制备仍然是使用传统的碱水解洛伐他汀工艺，工序相对复杂、环境污染较大。因此，开发一种绿色高效的monacolin J生产方法非常重要。包括默克公司在内的研究团队曾试图开发可替代的生物转化方法，但是由于效率较低，都未能应用到实际生产中。近年来，青岛能源所微生物代谢工程团队 (mme.qibebt.ac.cn) 基于在丝状真菌遗传改造方面的研究基础，与全球最大的洛伐他汀/辛伐他汀原料药生产企业浙江海正药业集团进行了深入合作，旨在对海正药业的洛伐他汀工业生产土曲霉菌株进行代谢工程改造，使之能直接发酵生产monacolin J。



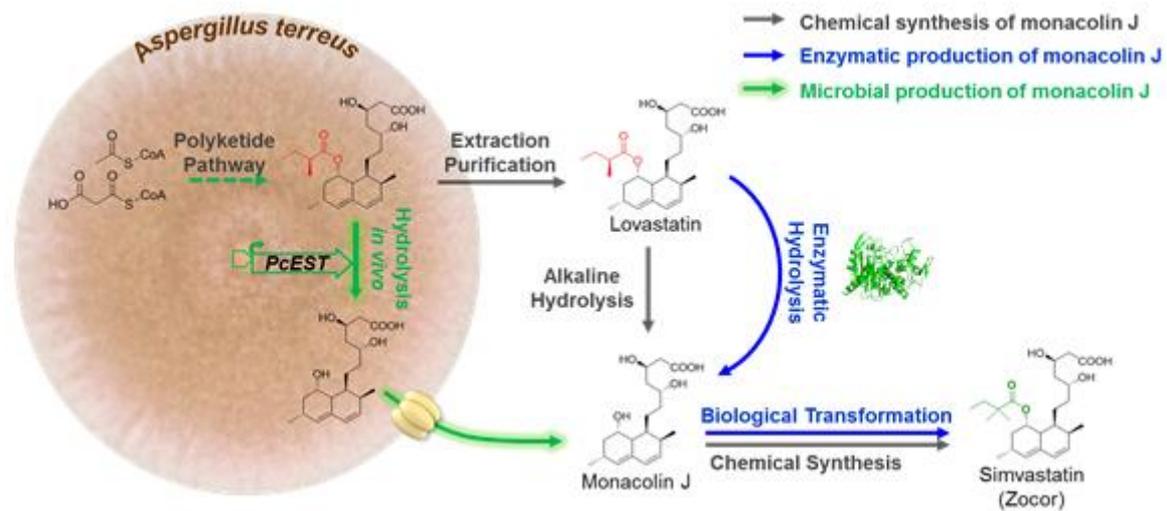


图1. 辛伐他汀生产工艺及本项目研究方案示意图

为了遗传改造工作的顺利进行，该团队开发了一个高效的土曲霉遗传操作平台，克隆表征了一系列高效土曲霉启动子，为遗传改造提供启动子元件支持；通过失活非同源重组末端连接途径使基因打靶效率从5%提高到90%以上，解决了基因打靶低下的问题；又结合尿嘧啶营养缺陷双向筛选体系和改良的Cre/loxP位点特异性重组系统实现了筛选标签的循环利用，突破了筛选标签不足的限制。该平台为后续的基因工程改造提供了技术平台支持 (Huang X., et al., 2014, Huang X., et al., 2016) 。

近期，研究团队通过体外实验鉴定了一个能高效水解洛伐他汀生成monacolin J的洛伐他汀水解酶PcEST，其活性远高于专利报道的洛伐他汀水解酶，是后者的232倍，而氨基酸序列一致性仅为16.8%，这说明PcEST是不受现有知识产权限制的高效洛伐他汀水解酶，为研究成果的实际应用提供了知识产权保障。

基于洛伐他汀水解酶PcEST，该团队对海正药业的洛伐他汀工业生产土曲霉菌株进行了遗传改造。利用强启动子P*gpdAT*异源表达洛伐他汀水解酶，成功地在不影响他汀化合物总产量的情况下将体内合成的洛伐他汀水解成了monacolin J，水解率达到95%，从而获得了能直接发酵生产monacolin J的土曲霉细胞工厂。实现了直接利用现有的洛伐他汀发酵工艺和设备，一步发酵直接生产monacolin J，不再需要洛伐他汀水解过程，简化了辛伐他汀的生产工艺，有望降低企业的生产成本和污染排放。该工作近日发表于Metabolic Engineering杂志上 (Huang X., et al, 2017) ，并与海正药业联合申请了发明专利 (201611079430.2) 。

上述研究获得国家自然科学基金和海正药业集团的支持。(文/图 黄雪年)

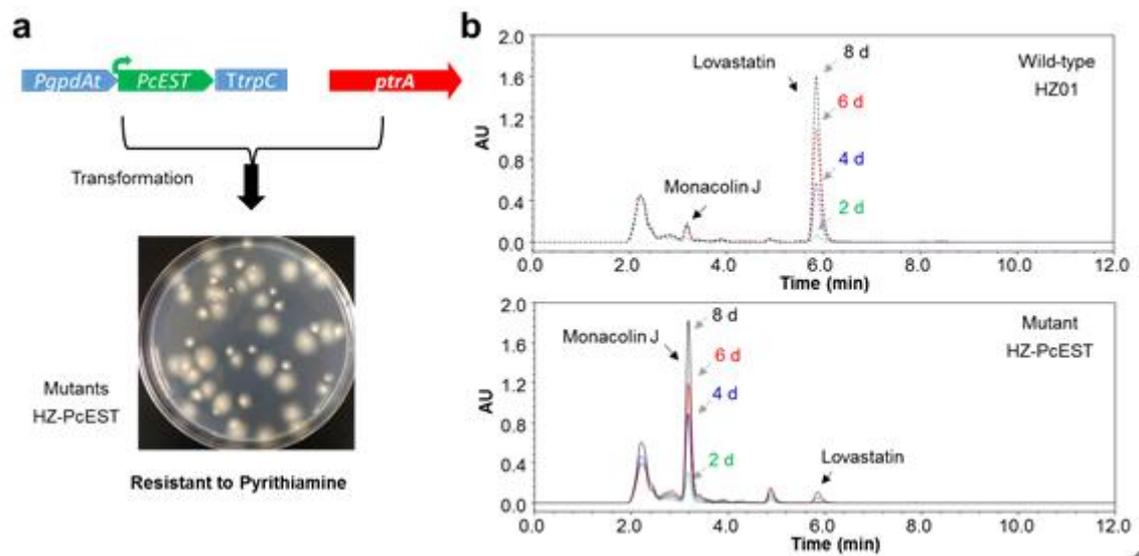


图2. 产monacolin J土曲霉细胞工厂构建

1) Huang X., Liang Y., Yang Y., Lu X.*, Single-step production of the simvastatin precursor monacolin J by engineering of an industrial strain of *Aspergillus terreus*, *Metabolic Engineering*, 2017, 42: 109–114.

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1096717617301180>

2) Huang X., Chen M., Li J., Lu X.*, Establishing an efficient gene-targeting system in an itaconic acid producing *Aspergillus terreus* strain, *Biotechnology letters*, 2016, 38(9):1603-1610.

<https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10529-016-2143-y>

3) Huang X., Lu X., Li J., Cloning, characterization and application of a glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase promoter from *Aspergillus terreus*. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 2014, 41(3): 585- 592.

<https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10295-013-1385-0>

4) 吕雪峰, 黄雪年, 杨勇, 郑玲辉, 黄隽, 滕云, 应玲萍, “2-甲基丁酸侧链水解酶和产莫纳克林J的曲霉菌株及其构建方法与应用”, 发明专利, 申请号: 201611079430.2;

5) 吕雪峰, 黄雪年, 李建军, 陈梅, “一种切除筛选标签的方法与应用”, 发明专利, 申请号: 2015102756323;

6) 吕雪峰, 黄雪年, 李建军, 陈梅, “一种提高基因打靶技术在土曲霉中应用效率的方法与应用”, 发明专利, 申请号: 2015102754915;

7) 吕雪峰, 黄雪年, 李建军, 陈梅, “一种具有高效同源重组能力的土曲霉及其构建方法与应用”, 发明专利, 申请号: 2015102752731;

版权所有 © 中国科学院 鲁ICP备12003199号-2 鲁公网安备 37021202001253号
地址：山东省青岛市崂山区松岭路189号 邮编：266101 Email: info@qibebt.ac.cn
电话：+86-532-80662776 传真：+86-532-80662778 

