

# 尼可霉素(Nikkomycins)多组分结构及其生物合成相关基因的研究进展

陈 蔚 谭华荣\*

(中国科学院微生物研究所 北京 100080)

**摘 要** 尼可霉素是一种新的抗真菌抗生素,在分离到的 20 多种活性单组分中,X、Z、I、J 为主要生物活性组分。本文介绍了尼可霉素的结构、结构与活性的关系及其生物合成途径中有关基因的研究进展。

**关键词** 尼可霉素,结构与活性,基因

中图分类号 Q812 文献标识码 C 文章编号 1000-3061(2000)05-0548-03

抗生素是以低微浓度能抑制或影响活机体生命过程的次级代谢产物。目前已知的天然抗生素约 1 万余种,包括抗细菌、抗肿瘤、抗真菌、抗病毒、抗原虫、抗藻类、抗寄生虫等抗生素。其产生菌主要来源是微生物,特别是土壤微生物,其中从放线菌目链霉菌属中找到的抗生素累计已达 5000 多种,占放线菌目所产生抗生素的 80% 以上,占微生物来源抗生素的 50% 以上。抗生素的种类繁多,按其化学结构大致可分为 10 类:(1) $\beta$ -内酰胺类抗生素,如青霉素、头孢菌素及其衍生物等。(2)氨基糖甙类抗生素,如链霉素、卡那霉素。(3)大环内酯类抗生素,如红霉素、竹桃霉素、螺旋霉素等。(4)肽类抗生素,如杆菌肽、多粘菌素等。(5)苯烃基胺类抗生素,如氯霉素。(6)四环素类抗生素,如四环素、土霉素、金霉素。(7)多烯类抗生素,如制霉菌素、两性霉素 B。(8)蒽环类抗生素,如道诺霉素。(9)核苷类抗生素,如多氧菌素、尼可霉素。(10)其他,如磷霉素和硫霉素等。

核苷类抗生素是包括核苷、核苷酸及其衍生物的一大类抗生素。由于核苷、核苷酸在许多重要的细胞生理代谢中的多效作用如作为能量供体、二级信使、代谢物运载体等而表现出抗细菌、抗真菌、抗锥虫、抗肿瘤、抗病毒等多种生物活性。目前已发现的 100 多种核苷类抗生素依其结构不同划分为 4 大类:a. 碱基类似物;b. 简单的核苷;c. 酰基和糖基核苷;d. 核苷酸<sup>[1]</sup>。本文所讨论的尼可霉素即是酰基和糖基核苷中的一种——核苷肽基抗生素。它是由德国的 Zähler 等首先从唐德链霉菌的发酵液中分离的<sup>[2]</sup>。由于它同几丁质合成酶的天然底物 UDP-N-乙酰葡萄糖胺具有结构类似性而竞争性地抑制真菌、昆虫、酵母(包括人体致病菌白色念珠菌 *Candida albicans*)的几丁质合成酶,因而表现出抗真菌、杀昆虫、杀螨虫的活性<sup>[3,4]</sup>。同时,它对哺乳动物、蜜蜂、植物、细菌等无毒害作用或毒性极低,并在自然界中易被降解,而被认为是一种理想的农用抗生素。还有研究表明,尼可霉

素对鼠的球孢子菌病、网状内皮细胞真菌病和酵母病都有很好的疗效<sup>[5]</sup>。因此作为一种新型医用抗真菌抗生素亦有良好的应用前景。从 70 年代中期尼可霉素被发现至今,已开展了广泛的研究。本文主要从以下两个方面进行介绍,希望对本领域的同仁起到抛砖引玉的作用。

## 1 尼可霉素的结构与生物活性的关系

尼可霉素是一类两性水溶性核苷类物质,到目前为止已从野生株及突变株的发酵液中分离到 20 多种活性单组分,其中 Nikkomycin X、Z、I、J 为主要生物活性组分,其结构如图 1 所示。

尼可霉素是由肽基和核苷两部分组成。肽基组分为一种不常见的氨基酸——羟基吡啶同型苏氨酸(Hydroxy pyridyl homo threonine, HPHT, 又称 Nikkomycin D);核苷组分称为 Nikkomycin C。在 Nikkomycin X 和 Z 中同  $\alpha$ -氨基己糖醛酸以 N-C 糖苷键相连的碱基分别为 4-甲酰-4-咪唑-2-酮(FMO)和尿嘧啶,相应称为 Nikkomycin Cx、Cz。Nikkomycin C、D 均为  $\alpha$ -氨基酸结构,它们通过肽键相连形成了二肽 Nikkomycin X 和 Z。三肽 Nikkomycin I、J 分别是 Nikkomycin X 和 Z 中的氨基己糖醛酸的 6'-羧基同谷氨酸形成肽键而成。

早期采用了紫外线(UV)、甲基磺酸乙酯(EMS)、亚硝基胍(NTG)等物理化学方法或用酶法<sup>[6,7]</sup>获得一系列的尼可霉素产生阻断突变株,它们能产生许多新的尼可霉素组分,如 Nikkomycin Ox、Oz、Kx、Kz、Qx、Qz、Sx、Sz、Wx、Wz、Px、Rx、Rz、 $\Psi$ Z、 $\Psi$ J 等。这些组分的生物活性因其结构的改变而异,如 Wx、Wz 中由 L-酪氨酸代替了 X、Z 中的 HPHT 则表现为对 *Coprinus cinereus* 有强抑制作用,但对真菌和酵母无抑制作用。Nikkomycin Ox、Oz、Kx、Kz 由于肽基组分中的甲基缺失而抗真菌活性明显下降。Nikkomycin  $\Psi$ Z、 $\Psi$ J 中核苷

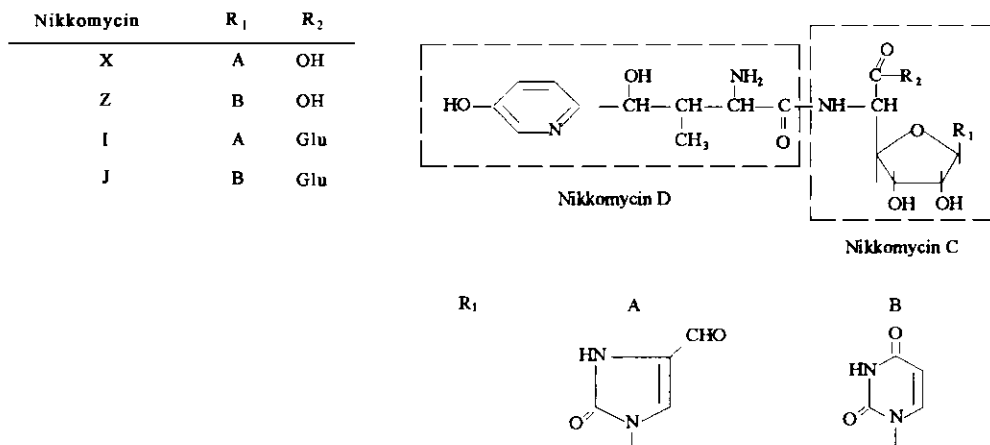


图1 尼可霉(Nikkomycins)X,Z,I,J的结构

Fig.1 The structure of Nikkomycins X,Z,I,J

组分的 C-C 糖苷键取代了 Z,J 中的 N-C 糖苷键也导致了抗真菌活性明显下降。近年来还通过基因破坏的方法获得了产 Nikkomycin Bx,Bz,Lx,Lz 的突变株<sup>[8,9]</sup>,Bx,Bz 的肽基组分为 2-氨基-4-羟基-3-甲基-4-(4'-羟苯基)丁酸,Lx,Lz 的肽基组分中缺失了吡啶环上的羟基,该四种组分均有较高的抗真菌活性,其中 Nikkomycin Bx 对白色念珠菌有很高的抑制活性。比较这些新组分和 X,Z 的结构可以看出高抗真菌活性的尼可霉素都具有完整的肽基核苷组分,可能是几丁质合成酶同时具有核苷附着位点和氨基酸附着位点,完整的肽基核苷组分提高了尼可霉素对几丁质合成酶的亲和力;肽基组分中的甲基与抗真菌活性直接相关。核苷组分中的 N-C 糖苷键也是生物活性所必需的。同时,能够高效率利用细胞的肽基转运系统及在胞内不易被降解的结构都保证了抗真菌的活性。

## 2 尼可霉素生物合成基因的克隆、结构及功能的研究

根据标记前体掺入实验及对已获得的阻断突变株的产物分析,可推断尼可霉素的生物合成分为两个部分:肽基和核苷成分分开合成,然后通过肽键相连接的。肽基中的吡啶环及羟甲基 C 原子来自 L-赖氨酸,尼可霉素的氨基己糖醛酸部分被认为同多氧霉素一样由来源于尿嘧啶和磷酸烯醇式丙酮酸的辛酸前体衍生而来。核苷部分的碱基分别来源于组氨酸(Nikkomycin X)和尿嘧啶(Nikkomycin Z)<sup>[10]</sup>。

虽然对尼可霉素的生物合成途径有了初步的了解,但还未研究清楚,对尼可霉素生物合成的酶学反应也了解甚少。每一步反应都由哪种酶催化呢?这些酶促反应又是如何被调控的呢?这些都是值得深入研究的问题。从 90 年代开始对尼可霉素生物合成的研究重点即转移到了分子遗传学水平。抗生素的生物合成都是多基因控制的,一般涉及 20~30 个基因,且这些基因多是紧密连锁的,因此利用鸟枪法(即互补克隆法)将野生型菌株的 DNA 片段克隆至不产尼可霉素的阻断突变株中来分离尼可霉素生物合成相关基因将为随后克隆整个基因簇提供方便。1990 年,德国的 Bormann 等

利用互补克隆的方法克隆到一个与唐德链霉菌尼可霉素生物合成相关的 9.4kb DNA 片段,不产尼可霉素的阻断突变株由于该片段的导入而恢复产生 Nikkomycin C/Cx(无生物活性)和 Kx(弱生物活性)。但进一步研究表明该片段上并无尼可霉素生物合成的结构基因<sup>[11]</sup>。本实验室于 1998 年以我国东北土壤中分离的圈卷产色链霉菌 7100(尼可霉素高产菌株)为研究材料,利用紫外诱变获得 3 个稳定的尼可霉素阻断突变株。以其中 1 株为受体菌,通过互补克隆得到了一个与尼可霉素生物合成相关的 6.0kb DNA 片段。序列测定及基因功能研究初步表明 6.0kb DNA 片段中含有两个尼可霉素生物合成结构基因,即 *sanA*<sup>[12]</sup> 和 *sanB*(待发表)。同时,本实验室构建了圈卷产色链霉菌总 DNA 的 cosmid 文库,初步结果揭示有 3 个 cosmid 可能包含了尼可霉素生物合成的基因簇。用转座子标签技术来获得探针也是很有有效的,1993 年美国的 Paul Engel 等利用该技术获得了 3 个不产尼可霉素的阻断突变株<sup>[13]</sup>,近期本实验室也用转座子技术获得了 9 株尼可霉素生物合成阻断突变株。从这些突变株中有可能获得尼可霉素生物合成基因簇中不同区域的 DNA 片段,从而可大大加速对基因簇中各基因结构及功能的研究,目前已获得了一些好的进展。

由于尼可霉素有多个组分,其生物合成途径相当复杂,对尼可霉素生物合成相关基因的研究将有助于了解尼可霉素的生物合成途径,有利于阐明底物的进入及产物的释放之间的确切关系,从而可揭示各组分之间的结构关系及作用机制。而要阐明合成途径中基因的作用,就必须对其结构、功能及调控进行深入研究,目前所获得的研究结果还只是尼可霉素生物合成途径研究的开始。因此,本领域近期的研究热点将是基因的结构、功能及作用的分子机理。

随着对尼可霉素的结构、生物合成途径及生物合成基因、调控基因的深入了解,人们有可能在分子水平上改造其产生菌使尼可霉素高量表达或有新的生物活性。这将有助于尼可霉素作为一种新型的抗真菌抗生素得到广泛的推广应用。

## 参 考 文 献

- [ 1 ] ISONO K *J Antibiot* ,1988 **41**( 12 ) :1711~1739
- [ 2 ] Dähn U ,Hagenmaier H ,Hohne H *et al* . *Arch Microbiol* ,1976 **107** :143~160
- [ 3 ] Fiedler H P ,Kurth R ,Delzer J *et al* . *J Chem Technol Biotechnol* ,1982 **32** :271~280
- [ 4 ] Cabib E ,*Antimicrob Agents Chemother* ,1991 **35** :170~173
- [ 5 ] Hector R F ,Zimmer B L ,Pappagianis D. *Antimicrob Agents Chemother* ,1990 **34** :587~593
- [ 6 ] Bormann C ,Zähner H ,Huhn W. *J Antibiot* ,1985 **38**( 1 ) :9~16
- [ 7 ] Decker H ,Pfefferle U ,Bormann C *et al* . *J Antibiot* ,1991 **44** :626~634
- [ 8 ] Bormann C ,Kálmánczhelyi A ,Sübmuth R *et al* . *J Antibiot* ,1999 **52** :102~108
- [ 9 ] Bormann C ,Lauer B ,Kálmánczhelyi A *et al* . *J Antibiot* ,1999 **52** :582~585
- [ 10 ] Bormann C ,Mattern S ,Schrempf H *et al* . *J Antibiot* ,1989 **42** :913~918
- [ 11 ] Bormann C ,Aberle K ,Fiedler H P *et al* . *Appl Microbiol Biotechnol* ,1990 **32** :424~430
- [ 12 ] JIA J ,LI W ,CHEN W *et al* . *Science in China( Series C )* 2000 **40**( 1 ) :30~38
- [ 13 ] Engel P ,Wright S M. *FEMS Microbiol Lett* ,1993 **109** :257~262

## Progress on Studies of Nikkomycin Structure and Some Genes Related to Nikkomycin Biosynthesis

CHEN Wei TAN Hua-Rong

( *Institute of Microbiology ,The Chinese Academy of Sciences ,Beijing 100080* )

**Abstract** Nikkomycin is a kind of new antifungal antibiotics. More than 20 biologically active nikkomycin structures have been isolated and the main active structures are nikkomycins X ,Z ,I ,J . Here ,we introduce the progress on the studies of nikkomycin structures ,the relationships between nikkomycin structure and biological activity ,and genes related to nikkomycin biosynthesis.

**Key words** Nikkomycin ,structure and biological activity ,genes related to nikkomycin biosynthesis