

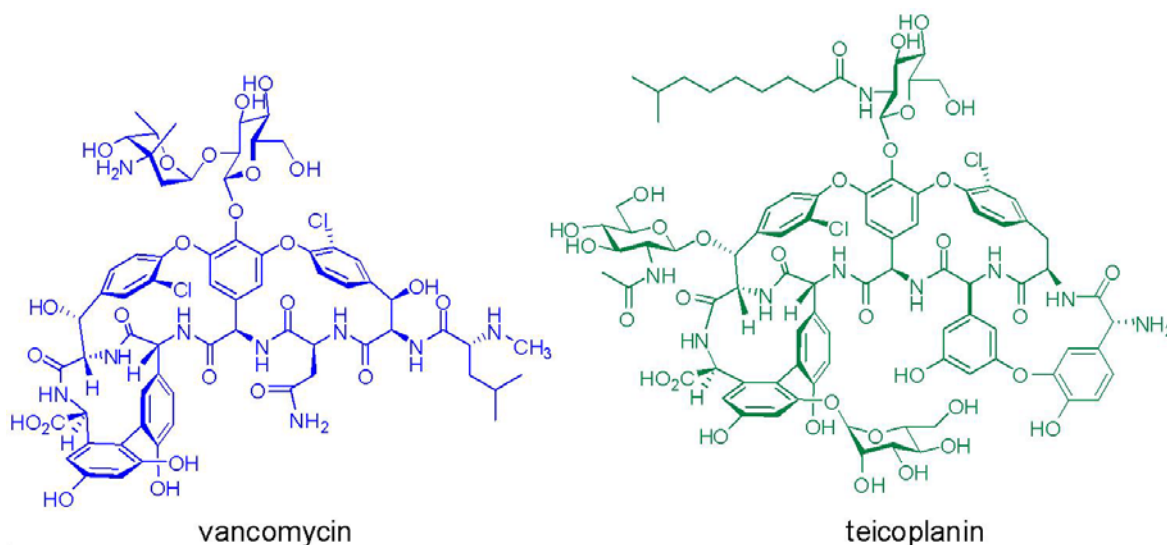
知識天地

醣肽類抗生素合成酵素之探討

李宗璘 (基因體研究中心助研究員)

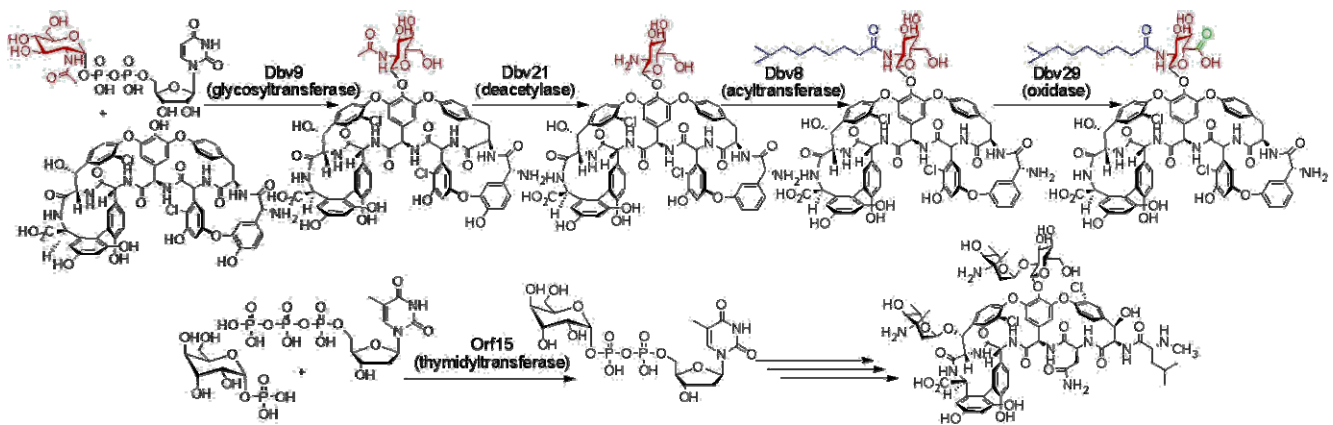
過去 20 多年臨床研究發現，抗生素抗藥性病源菌的產生主要以醫院內感染的方式擴張，據統計造成院內感染的金黃色葡萄球菌 (*Staphylococcus Aureus*) 臨床分離菌株對第一線抗菌藥品甲基盤尼西林 (Methicillin) 的抗藥性，在美國約佔 34%、歐洲約 26%、亞洲西太平洋區則為 45%；在美國約 20% 的腸球菌 (Enterococci) 血液分離菌株對萬古黴素 (Vancomycin) 具抗藥性，34% 的肺炎球菌 (Pneumococci) 血液分離菌株對盤尼西林具抗藥性。因此，病原菌抗藥性問題對於世界公共衛生已形成重大威脅，也引起衛生醫療人士的高度警覺與重視。同樣的，在台灣地區造成感染的病原菌也普遍具有高抗藥性，特別是多重藥物抗性 (Multiple-Drug Resistant) 病原菌株的分離及確認，等同於宣告了許多臨床用藥業已失靈的警訊，一但受其感染無疑的將造成許多人倫的悲劇。

天然抗生素源起於其天然製造菌，除了該製造菌具有自我的保護機制外，先前對其敏感的細菌也能逐步發展出抗藥機制。抗生素使用的宿命即是不可避免的會引起環境中病原菌產生抗藥性，因此也必須不斷的從事新藥的開發。萬古黴素 (Vancomycin) 及得時高 (Teicoplanin) (圖一) 為目前市面上可用的最後一線醣肽類抗生素，用來治療嚴重的革蘭氏陽性菌感染。基於上述的原由，一般認為病原菌終將發展出抗萬古黴素及得時高的抗藥性，如果吾人缺乏警覺及未採取適當的預防措施，臨床醫師們屆時恐將陷入無藥可用的窘境，公共醫療衛生上發生難以彌補的災難幾乎是可以預期的。因此，開發新一代醣肽類抗生素已是一個刻不容緩的嚴肅課題。



圖一

架構在已知藥物的藥理基礎上並以生物技術的方式來從事改良或開發新一代治療用藥，無疑的是一種快速且便捷的途徑。事實上，國際間許多大型研究機構及藥廠，也都不約而同的朝此一方向努力。基於這種概念，我們中心的研究團隊以土壤鏈黴菌屬所分泌的萬古黴素類似物—抗生素 A40926、Teicoplanin 及 Chloroeremomycin 為基礎，嘗試以生物技術的方式發展出更具生物活性的抗生物質，然而要從事此種改良，吾人必須先找出抗生素生合成的相對應基因群及了解該基因群中每一個基因產物的生化、生理功能。近來，負責上述藥物之生合成基因群已陸續被披露，然而其中許多關鍵基因及其所載錄的生理功能仍是未知的。許多天然化合物的構成單元體中包含一些特殊的結構同時並賦予了天然產物不尋常的生物活性，例如，糖基化不僅提供分子辨識上的專一性，更能增進藥物的溶解度。研究小組目前著重於影響醣肽類抗生素生物活性致巨的長鏈醯基取代氨基葡萄糖酸 (N-acyl-aminoglucuronic acid) 生合成的探討，期待對此一熱門且饒富挑戰的研究領域能有所貢獻。研究小組已從所選定產物的生合成基因群中，發現證明了醯基取代氨基葡萄糖酸賴以合成的 4 種酵素 (Dbv8, 9, 21 及 29) (圖二)。



圖二

Dbv9 為一種醣基轉移酶它僅能催化 N-乙醯葡萄糖氨或葡萄糖氨單元從相對應的 N-乙醯葡萄糖氨或葡萄糖氨尿嘧啶核苷二磷酸上轉移至 A40926 或 Teicoplanin 非糖苷上的特定位置, Dbv29 因而是一具有高度受質選擇性及位置選擇性的醣基轉移酶。

Dbv21、Orf2*及 Orf15 為三種先前功能未知的同源蛋白(胺基酸序列相似度>72%)。其中蛋白 Dbv21 及 Orf2*經實驗證實為脫乙醯基酶,而 Orf15 則證實為胸腺嘧啶核糖核苷酸轉移酶。Dbv21 及 Orf2*能催化 A40926 及 Teicoplanin 乙醯葡萄糖胺擬糖苷(N-Acetylglucosaminyl-Teicoplanin Pseudoaglycone)的脫乙醯基作用,這是後續長鏈脂肪酸醯化的決定步驟;Orf15 則能催化葡萄糖胸腺嘧啶核糖核苷酸雙磷酸的合成(dTDP-glucose),是為萬古醯胺(Epi-vancosamine/Vancosamine)的前驅物。萬古醯胺糖基化不僅使 Chloroeremomycin 具有分子辨識上的專一性,更賦予該藥物特殊的生物活性。在此之前,人們通常認為相似的蛋白序列應有著相似的生化功能,對於這兩類酵素所扮演的角色更是完全的不了解。然而,此研究不僅揭開這兩類序列相似度極高功能卻截然不同的同源酵素之謎,同時也提供了深入的結構功能上的關聯性。

Dbv8 亦為一種先前功能未知的蛋白質,然而經實驗證實能催化轉移長鏈醯基脂肪鏈從相對應的輔酶 A 至 A40926 及 teicoplanin 葡萄糖胺擬糖苷上,因而是一種全新發現的醯基轉移酶。「醯化」能增加該藥物相對的疏水性,並延長其在生物體中的滯留時間,是藥物動力學上重要的影響因子,亦將是未來提供分子多樣性的重要橋樑。

Dbv29 則經確證為另一種嶄新的 FAD 共價依存的六碳糖氧化酶,能催化經 Dbv8 修飾過後的長鏈脂肪醯基葡萄糖胺擬糖苷之糖取代基一級醇氧化作用形成其相對應的糖酸,是為此一特殊取代基合成的最後一步反應。Dbv29 亦可作用於 Teicoplanin 的醯基葡萄糖胺將其氧化成相對應的 Teicoplanin 糖酸,成為一種嶄新的醯肽類抗生素。

本研究不僅著重於探討醯肽類抗生素中糖基化、去乙醯基化、長鏈脂肪酸醯化、一級醇氧化等化學官能團的修飾作用及其酵素於個別催化作用中的分子機制,更嘗試將研究成果轉化成實際的應用,這個研究成果或信將有助於更具生理活性的醯肽類藥物的誕生,亦期待不久的將來能為國內生技產業界注入嶄新的元素。

參考文獻：

1. Woodford N. *Expert. Opin. Investig. Drugs*. 2003, 12, 117-137.
2. Sosio, M.; Stinchi, S.; Beltrametti, F.; Lazzarini, A.; Donadio, S. *Chem. Biol.* 2003, 10, 541-549.
3. Li, T. L.; Huang, F.; Haydock, S. F.; Mironenko, T.; Leadlay, P. F.; Spencer, J. B. *Chem. Biol.* 2004, 11, 107-19.
4. Ho, J. Y.; Huang, Y. T.; Wu, C. J.; Li, Y. S.; Tsai, M. D.; Li, T. L. *J. Am. Chem. Soc.* 2006, 128, 13694-13695.
5. Li et al. manuscript (for Dbv29) in preparation.