

新型羟基化酶基因的克隆及其洛伐他汀转化的应用

霍孝雨¹, 诸葛斌¹, 方慧英¹, 宗红¹, 宋健², 诸葛健¹

1 江南大学生物工程学院 工业生物技术教育部重点实验室, 江苏 无锡 214122

2 江南大学化学与材料工程学院, 江苏 无锡 214122

霍孝雨, 诸葛斌, 方慧英, 等. 新型羟基化酶基因的克隆及其洛伐他汀转化的应用. 生物工程学报, 2013, 29(11): 1590-1598.

Huo XY, Zhuge B, Fang HY, et al. Cloning and application of a novel hydroxylase in lovastatin conversion. Chin J Biotech, 2013, 29(11): 1590-1598.

摘要: 无锡他汀由洛伐他汀经拟无枝酸菌 *Amycolatopsis* sp. CGMCC1149 羟基化而来。为获得该转化过程中的关键酶——羟基化酶, 运用简并 PCR 和 SEFA PCR 技术, 从 *Amycolatopsis* sp. CGMCC1149 中克隆获得长度为 1 212 bp 的新型羟基化酶基因, 并实现其在大肠杆菌中表达。BLAST 序列分析表明该基因属于细胞色素 P450 基因超家族, 并可编码一个含 403 个氨基酸的蛋白, 其分子量为 44.8 kDa。二级结构预测结果表明: 该蛋白包含有氧结合区、离子对结合区和血红素结合区等 P450 典型功能区。同时文中利用 NADH、铁氧还蛋白和铁氧还蛋白还原酶建立了体外酶催化功能验证系统, 首次实现无锡他汀转化底物洛伐他汀的体外羟基化。该结果为具有我国独立知识产权的无锡他汀大规模制备奠定了基础。

关键词: *Amycolatopsis* sp. CGMCC1149, 羟基化酶, 细胞色素 P450, 洛伐他汀, 无锡他汀

Cloning and application of a novel hydroxylase in lovastatin conversion

Xiaoyu Huo¹, Bin Zhuge¹, Huiying Fang¹, Hong Zong¹, Jian Song², and Jian Zhuge¹

1 Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education, School of Biotechnology, Jiangnan University, Wuxi 214122, Jiangsu, China

2 School of Chemical and Material Engineering, Jiangnan University, Wuxi 214122, Jiangsu, China

Abstract: Wuxistatin, a novel and potent statin, is converted from lovastatin by *Amycolatopsis* sp. CGMCC1149. In the

Received: January 28, 2013; **Accepted:** March 29, 2013

Supported by: National High Technology Research and Development Program of China (863 Program) (No. 2012AA021201), Jiangnan University Independent Scientific Research Program (No. JUSRP1008).

Corresponding author: Huiying Fang. Tel/Fax: +86-510-85918150; E-mail: fanghuiying@126.com

国家高技术研究发展计划 (863 计划) (No. 2012AA021201), 江南大学自主科研计划 (No. JUSRP1008)资助。

bioconversion, lovastatin is firstly hydroxylated by a hydroxylase. To obtain the critical hydroxylase, a novel hydroxylase gene was isolated from *Amycolatopsis* sp. CGMCC1149 by Degenerate PCR and Self-Formed Adaptor PCR and expressed in *Escherichia coli*. BLAST sequence analysis revealed that the gene belonged to cytochrome P450 gene superfamily and could encode a 403-amino-acid protein with a molecular weight of 44.8 kDa. The secondary structure prediction result showed that this protein contained many typical functional regions of P450, such as oxygen binding site, ion-pair region and heme binding region. Meanwhile, a catalytic function verification system was constructed by NADH, ferredoxin and ferredoxin reductase which could catalyze lovastatin hydroxylation into the target product. These would be helpful for further studies in large-scale production of wuxistatin.

Keywords: *Amycolatopsis* sp. CGMCC1149, hydroxylase, cytochrome P450, lovastatin, wuxistatin

他汀类药物作为羟甲基戊二酰辅酶 A 还原酶(HMGR)竞争性抑制剂,可以有效抑制胆固醇合成,降低血清胆固醇,是临床上常用降血脂药物^[1-2]。研究人员一直致力于寻找更加高效的他汀类药物,其中利用微生物转化是一个重要的途径,如嗜碳链霉菌 *Streptomyces carbophilus*、马杜拉放线菌 *Actinomadura* sp.可将美伐他汀转化为普伐他汀^[3-4]。无锡他汀作为具有我国自主知识产权的新型他汀,由 *Amycolatopsis* sp. CGMCC1149 转化洛伐他汀而来,其对 HMGR 的抑制效果是洛伐他汀的 4 倍^[5]。国内对他汀的生物转化研究很少,因此研究开发无锡他汀有助于打破国外在他汀方面的垄断。

细胞色素 P450(Cytochrome P450, P450)是一类自然界广泛存在的羟基化酶,属于含硫醇-血红素的单加氧酶,因其还原型与一氧化碳(CO)复合物在 450 nm 处有特征吸收峰而得名^[6-7]。本研究室前期研究表明, *Amycolatopsis* sp. CGMCC1149 细胞蛋白中包含具有 P450 特性的蛋白,并且洛伐他汀转化与此酶酶活变化存在一定关联,该转化过程也可被 CO 所抑制,初步推测洛伐他汀羟基化由 P450 催化完成^[8-9]。为获得该羟基化酶,本文从 *Amycolatopsis* sp. CGMCC1149 中克隆得到其基因并在大肠杆菌 *E. coli* 中表达,同时

建立了一个体外酶催化功能验证系统,首次实现无锡他汀转化底物洛伐他汀的体外羟基化,为无锡他汀大规模制备奠定了基础。

1 材料与方法

1.1 材料

Amycolatopsis sp. CGMCC1149, *E. coli* JM109, *E. coli* DH5 α 及表达载体 pEtac 由本研究室保藏;克隆载体 pMD18-T, PCR 相关试剂,限制性内切酶 *Eco*R I、*Hind* III 购自大连 TaKaRa 公司;洛伐他汀购自浙江海正药业;铁氧还蛋白(ferredoxin)和铁氧还蛋白还原酶(ferredoxin reductase)购自 Sigma-Aldrich 公司;质粒提取试剂盒,胶回收试剂盒购自北京博大泰克;引物由上海生工生物工程服务有限公司合成;基因测序由北京六和华大基因完成。

1.2 方法

1.2.1 羟基化酶基因的克隆

对 NCBI 公布的部分放线菌细胞色素 P450 基因 (GenBank Accession No. AB208694, AB426710, AY549201)进行同源性比对,发现存在保守区,根据保守区序列设计简并引物用于扩增羟基化酶的保守区片段。采用 Self-Formed Adaptor PCR (SEFA PCR)^[10]技术克隆羟基化酶

的侧翼序列。引物设计见表 1, 其中引物 DP-F 和 DP-R 用于扩增保守区序列, 引物 3SP1、3SP2、3SP3 用于扩增 3'侧翼序列, 5SP1、5SP2、5SP3 用于扩增 5'侧翼序列。SEFA PCR 反应条件参照参考文献[10]。

1.2.2 产羟基化酶重组菌 *E. coli* DH5 α (pEtac-p450lov)的构建

根据获得的羟基化酶基因序列, 设计一对引物 P-F 和 P-R, 分别在两引物 5'端引入 *Eco*R I 和 *Hind* III 酶切位点, “_”表示加入的酶切位点(表 1)。PCR 程序为: 94 °C 预变性 5 min; 94 °C 变性 1 min, 65 °C 退火 1 min, 72 °C 延伸 2 min, 30 个循环; 72 °C 再延伸 10 min。PCR 产物回收后, 与质粒 pEtac 同时用 *Eco*R I 和 *Hind* III 双酶切, 回收目的片段经 T4 DNA 连接酶连接得到 pEtac-p450lov。将该重组质粒导入 *E. coli* DH5 α , 挑取阳性转化子, 提取质粒验证, 即得重组菌 *E. coli* DH5 α (pEtac-p450lov)。

表 1 本文所用的引物

Table 1 Primers used in this study

Primer name	Primer sequence (5'-3')
DP-F	TGGTGATCTGCGAACTGCTC
DP-R	GGTGTCSGGGTTCTCGAA
3SP1	AACTTCCAGGCCGACTCCGCCAGCTCATG
3SP2	CACGAAGACCTCACCATCGAGGAGCT
3SP3	ATCTTCTTCCGCTACGNNNNNNNGACCTG
5SP1	GCCAGCAGCGAGATGATGACGGTCGACC
5SP2	ACGGACAGGTAGCGAAGCATTCTTCCA
5SP3	ATGGTGAGGTCTTCGNNNNNNNNAGATCG
P-F	GACGAATTCATGACCCAGACGGTTCC
P-R	TAGAAGCTTTTACCAGGTGACCGGCAG

Note: the single underlined sequences indicate restriction enzyme site.

1.2.3 重组羟基化酶的诱导表达

将重组菌 *E. coli* DH5 α (pEtac-p450lov)接入 LB 培养基(含 50 ug/mL 卡那霉素), 37 °C 培养至 OD_{600} 约 0.4~0.6, 加入 0.1 mmol/L IPTG, 20 °C 继续培养 10 h。离心收集菌体, 用适量破壁缓冲液缓冲液(50 mmol/L Tris-HCl, 20%甘油, 2 mmol/L DTT, 0.1 mmol/L EDTA, pH 7.4)悬浮菌体, 进行超声波破碎, 4 °C、10 000 r/min 离心 30 min, 收集上清液即为羟基化酶粗液。SDS-PAGE 检测蛋白表达情况, 细胞色素 P450 测定采用 CO 示差光谱法^[11], 含量按公式计算: $P450(\text{nmol/g}) = \frac{(A_{450} - A_{490}) \times 1000}{\epsilon \times P}$, 其中摩尔吸光系数 $\epsilon = 91 \text{ L}/(\text{mmol} \cdot \text{cm})$, P 为蛋白浓度 (mg/mL)。

1.2.4 体外酶催化系统

体外酶催化系统: 0.3 mmol/L 洛伐他汀, 0.5 mmol/L NADH, 320 μg 铁氧还蛋白, 0.04 U 铁氧还蛋白还原酶, 羟基化酶样品, 总体积 200 μL 。30 °C、150 r/min 水浴反应 30 min, 105 °C、5 min 终止反应, HPLC 检测反应产物。检测条件为: Kromasil C18 柱(250 mm \times 4.6 mm, 5 μm), 流动相甲醇-0.5%乙酸(80:20), 流速 1 mL/min, 进样量 20 μL , 检测波长 237 nm, 柱温 25 °C。

2 结果

2.1 羟基化酶基因的克隆

运用简并 PCR 和 SEFA PCR 技术克隆羟基化酶基因, 克隆过程如图 1 所示。根据 P450 的保守区设计一对简并引物并进行 PCR, 扩增得到约 0.5 kb 的片段并测序(图 2A)。测序得到 524 bp 的基因片段, 将其提交 NCBI 进行比对, 比对结果表明该片段与 P450 基因的相似性高。根

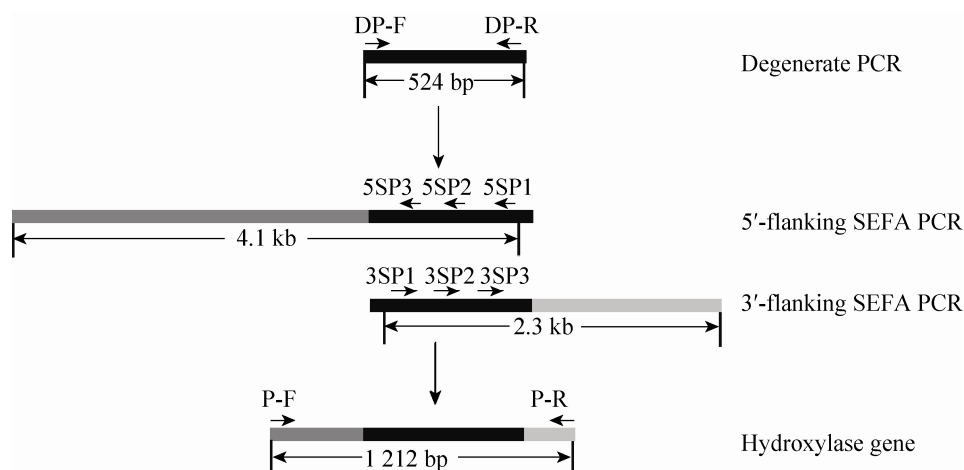


图 1 羟基化酶基因克隆路线示意图

Fig. 1 Schematic diagram of hydroxylase gene cloning.

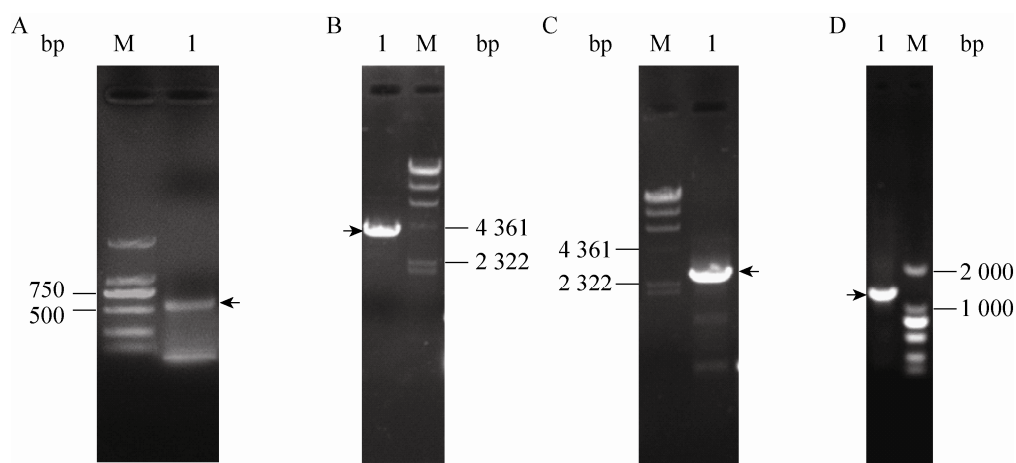


图 2 PCR 产物电泳图

Fig. 2 Results of PCR. (A) Degenerate PCR. (B) 5'-flanking SEFA PCR. (C) 3'-flanking SEFA PCR. (D) Amplification of the whole hydroxylase gene. M: λ -Hind III digest DNA marker; 1: PCR product.

据此片段,设计两组 SEFA PCR 引物,分别用于扩增其 5'和 3'侧翼序列,经过两轮 SEFA PCR,分别得到 5'侧翼约 4.1 kb(图 2B)和 3'侧翼约 2.3 kb 基因片段(图 2C)。将上述得到的片段进行测序并拼接,根据拼接结果设计一对引物 P-F 和 P-R,PCR 扩增得到约 1.2 kb 的片段(图 2D),测序结果表明该片段为一个完整开放阅读框,包含

1 212 bp,编码一个含 403 个氨基酸的蛋白,蛋白理论等电点为 4.7,理论分子量为 44.8 kDa。

将该基因序列在 NCBI 中进行 Blast 比对,发现与 P450 基因相似性高,其中与远青色拟无枝酸菌 *Amycolatopsis azurea* 的 P450Um-1 (GenBank Accession No. AB208694)^[12]的最高(91%)。将该基因编码的氨基酸序列提交细胞色

素 P450 工程数据库 (<http://www.cyped.uni-stuttgart.de/>)中 CYP 模块(CYP modules)进行二级结构预测^[13], 结果如图 3 所示。该蛋白共含有 11 个 α -螺旋, 4 个 β -折叠, 一个曲折环(Meander loop)和一个 Cys 袋区(Pocket), 其中 β 1 含 5 股 (Strand), β 2 含 2 股, β 3 含 2 股, β 4 含 2 股。另外, 此蛋白包含几个 P450 典型功能区, 其中 [²⁴³SHET]为氧结合区(Oxygen binding site), 位于螺旋 I, 与分子氧的结合有关^[14]; [²⁸¹EMLR]为离子对结合区(Ion-pair region), 位于螺旋 K, 主要与电子传递链相互作用及血红素结合有关^[15]; [³⁴⁵FGHGIHQCLG]为血红素结合区 (Heme binding region), 位于 Cys 袋区中, 其中 Cys 完全保守, 与血红素第 5 配位键结合^[16]。因此, 可以确定所克隆的基因属于 P450 基因超家族, 并将其命名为 *p450lov*, 编码的蛋白命名为 P450Lov, 所得的核酸序列及氨基酸序列提交 GenBank, 基因登录号为 KC352683。

2.2 产羟基化酶重组菌 *E. coli* DH5 α (pEtac-*p450lov*)的构建及诱导表达

根据已得羟基化酶基因序列, 设计一对引物进行 PCR 得到 *p450lov* 基因片段, 并将其插入到 pEtac, 得到重组质粒 pEtac-*p450lov*(图 4A)。对构建好的质粒 pEtac-*p450lov* 进行酶切及 PCR 验证, 结果表明 *p450lov* 成功连接到 pEtac 上(图 4B)。将重组质粒 pEtac-*p450lov* 导入 *E. coli* DH5 α , 得到重组菌 *E. coli* DH5 α (pEtac-*p450lov*), 对其进行诱导表达, 以 *E. coli* DH5 α (pEtac)为对照。不同培养温度(20 $^{\circ}$ C、25 $^{\circ}$ C、30 $^{\circ}$ C、37 $^{\circ}$ C)下重组 P450Lov 表达结果如图 5 所示, 20 $^{\circ}$ C时 P450Lov 主要集中在破壁上清液中, 以可溶性形式存在, 随着温度升高上清液中逐渐减少而破壁沉淀中逐渐增多, 当温度达到 37 $^{\circ}$ C时, P450Lov 主要集中在破壁沉淀, 以包涵体形式存在, 上清液明显减少。破壁上清液的 CO 示差光谱表明(图 6), 在 450 nm 处有明显特征吸

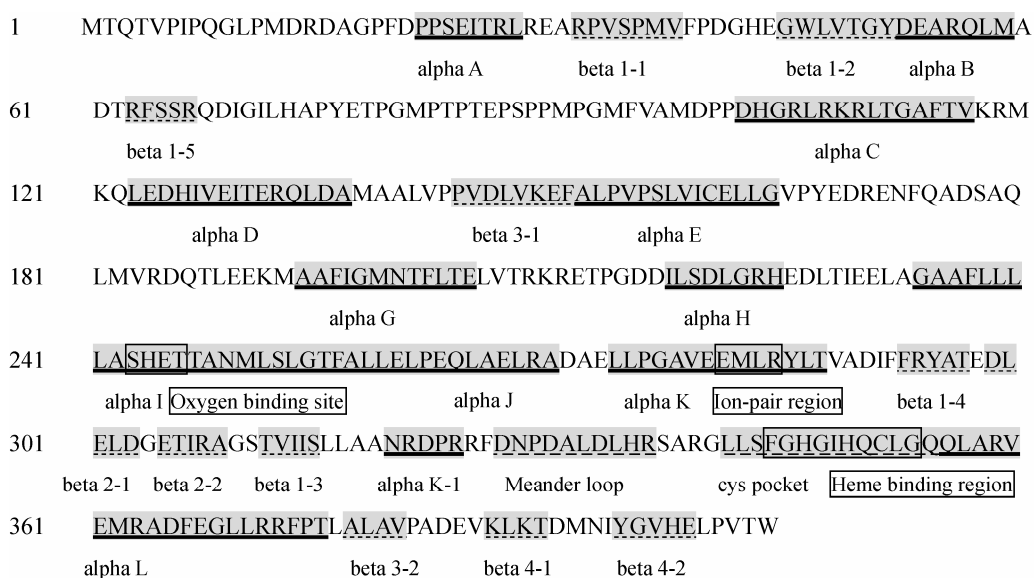


图 3 羟基化酶的二级结构

Fig. 3 Secondary structure of hydroxylase.

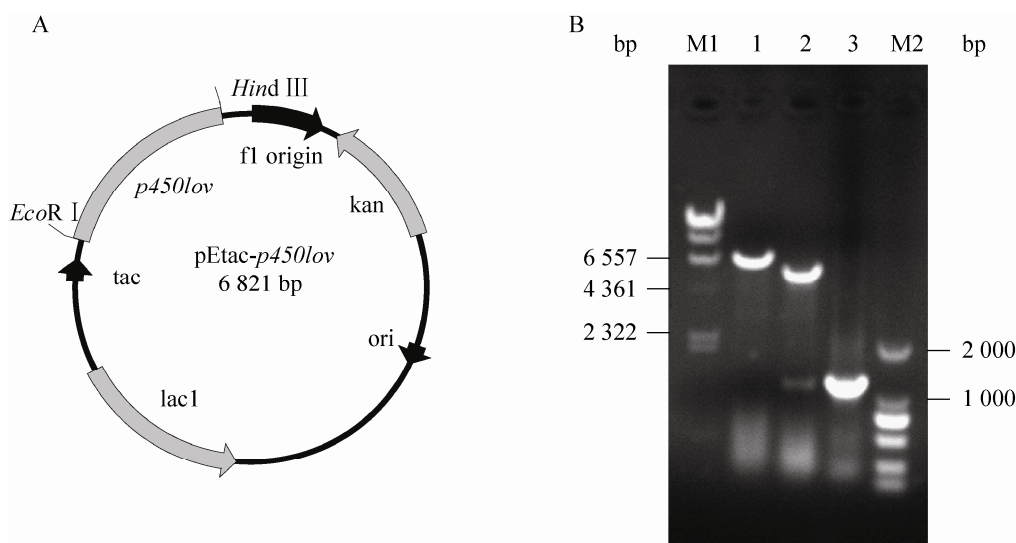


图4 重组质粒 pEtac-p450lov 的构建及验证

Fig. 4 Construction and analysis of recombinant plasmid pEtac-p450lov. (A) Recombinant plasmid pEtac-p450lov. (B) Analysis of pEtac-p450lov by restriction enzyme digestion and PCR. M1: λ -Hind III digest DNA marker; M2: DL2000 DNA marker; 1: plasmid pEtac-p450lov was digested with EcoR I; 2: plasmid pEtac-p450lov was digested with EcoR I and Hind III; 3: p450lov gene was PCR amplified using pEtac-p450lov as the template.

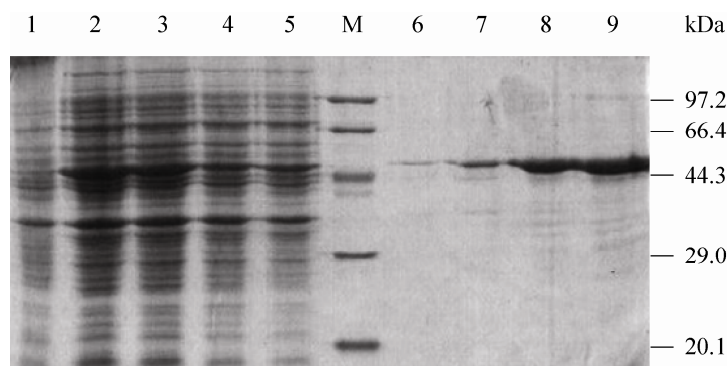


图5 羟基化酶的 SDS-PAGE 检测

Fig. 5 SDS-PAGE analysis of hydroxylase. 1: lysate supernatant of *E. coli* DH5 α (pEtac); 2–5: lysate supernatant of *E. coli* DH5 α (pEtac-p450lov) cultured at 20 °C, 25 °C, 30 °C, 37 °C; 6–9: lysate precipitant of *E. coli* DH5 α (pEtac-p450lov) cultured at 20 °C, 25 °C, 30 °C, 37 °C; M: protein marker.

收峰,说明重组 P450Lov 正确折叠表达,以活性形式存在,其表达量为 2.17 nmol/g。

2.3 羟基化酶的体外催化

利用 1.2.4 中所述的系统,对羟基化酶进行催化功能验证,结果表明重组 P450Lov 可以借助该系统将洛伐他汀羟基化为 3-羟甲基洛伐他汀(图 7B),

而对照组 *E. coli* DH5 α (pEtac)细胞破壁上清液则无 3-羟甲基洛伐他汀形成(图 7A)。由上述结果证实,在 *Amycolatopsis* sp. CGMCC1149 中催化洛伐他汀羟基化的反应由 P450Lov 催化完成。同时,利用该体系可以实现洛伐他汀的体外羟基化,这为进一步实现无锡他汀的体外转化打下了基础。

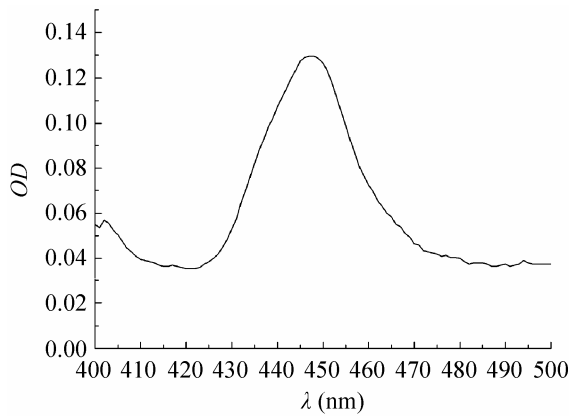


图6 羟基化酶的CO示差光谱
Fig. 6 CO difference spectrum of hydroxylase.

3 讨论

Amycolatopsis sp. CGMCC1149 转化洛伐他汀过程中, 高浓度洛伐他汀对菌体有一定毒害作用, 从而限制无锡他汀产量的提高, 其中利用相关酶进行无锡他汀体外转化是解决此不利影响的手段之一。

P450 在自然界分布广泛, 催化的典型反应是通过电子传递系统, 将分子氧还原, 并伴随底物的羟基化^[17]。虽然在 *E. coli* 中没有发现 P450 存在^[18], 但有些 P450 可以借助 *E. coli* 的内生电子传递系统来行使完整的催化功能, 如灰色链霉菌 *Streptomyces griseus* 的 CYP105D1 和一些来自人体的 P450^[19-20]。为了使 P450Lov 具备催化洛伐他汀的能力, 本文首先尝试利用 *E. coli* 的内生电子传递系统来重组 P450Lov 的催化活性, 结果表明 P450Lov 并不能借助该系统来催化洛伐他汀的羟基化。对于细菌来源的 P450, 一般可用来源菠菜的铁氧化蛋白和铁氧还蛋白还原酶代替自身电子传递系统来行使催化功能^[21]。据此本文再次尝试利用铁氧化蛋白

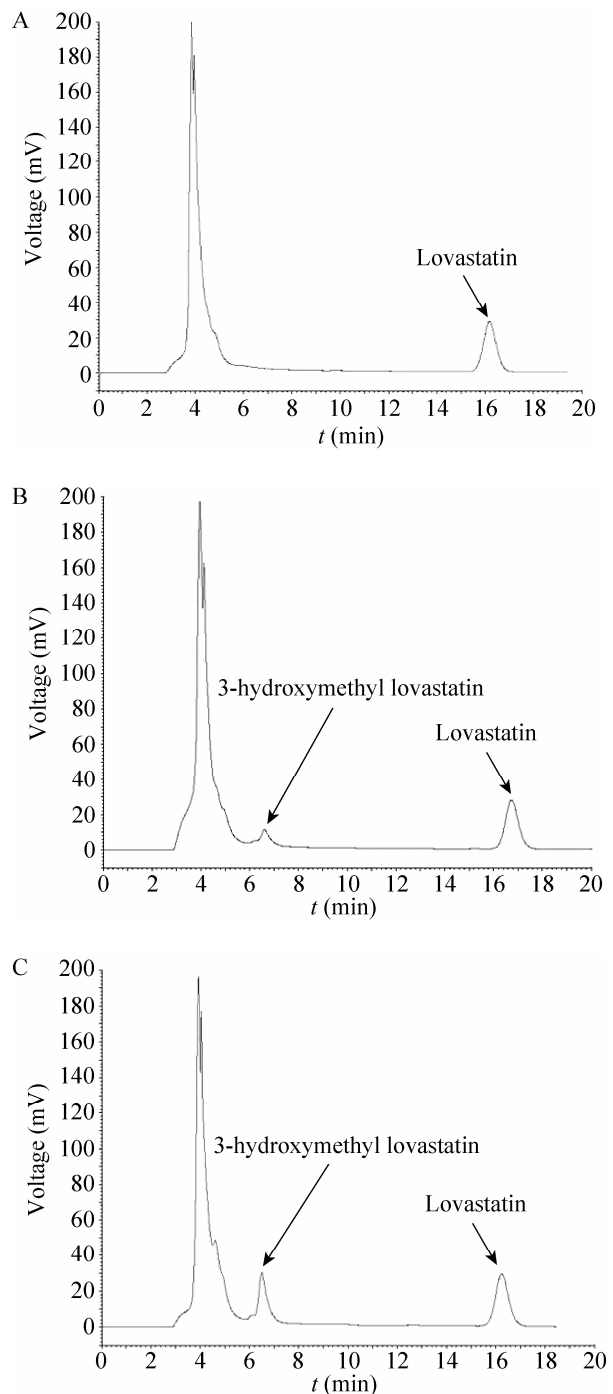


图7 洛伐他汀羟基化产物的HPLC检测
Fig. 7 HPLC analysis of lovastatin hydroxylated product. (A) Control group. (B) Experimental group. (C) Adding of 3-hydroxymethyl lovastatin standard.

和铁氧还蛋白还原酶来建立洛伐他汀的体外羟基化系统。检测结果表明,利用该系统成功实现洛伐他汀的体外羟基化,这也直接证实了 *Amycolatopsis* sp. CGMCC1149 转化洛伐他汀过程中的羟基化酶即为细胞色素 P450。

为进一步提高该系统的催化效率,需要对 *Amycolatopsis* sp. CGMCC1149 自身电子传递系统展开更多的研究。此外,本文所建立的体外酶催化系统只是实现了洛伐他汀的体外羟基化,为进一步实现无氧他汀体外转化,需要对转化过程中另一个关键酶——异构酶进行研究。

REFERENCES

- [1] Tsujita Y, Watanabe Y. Pravastatin sodium: a novel cholesterol-lowering agent which inhibits HMG-CoA reductase. *Cardiovasc Drug Rev*, 1988, 7(2): 110–126.
- [2] Endo A. The discovery and development of HMG-CoA reductase inhibitors. *J Lipid Res*, 1992, 33(11): 1569–1582.
- [3] Matsuoka T, Miyakoshi S, Tanzawa K, et al. Purification and characterization of cytochrome P-450sca from *Streptomyces carbophilus*. *Eur J Biochem*, 1989, 184(3): 707–713.
- [4] Peng Y, Demain AL. Bioconversion of compactin to pravastatin by *Actinomadura* sp. ATCC 55678. *J Mol Catal B-Enzym*, 2000, 10(1): 151–156.
- [5] Zhuge B, Fang HY, Yu H, et al. Bioconversion of lovastatin to a novel statin by *Amycolatopsis* sp.. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2008, 79(2): 209–216.
- [6] Hannemann F, Bichet A, Ewen MK, et al. Cytochrome P450 systems-biological variations of electron transport chains. *BBA-Gen Subjects*, 2007, 1770(3): 330–344.
- [7] Omura T, Sato R. A new cytochrome in liver microsomes. *J Biol Chem*, 1962, 237(4): 1375–1376.
- [8] Zong H, Zhuge B, Fang HY, et al. Advances in the bioconversion mechanism of lovastatin to wuxistatin by *Amycolatopsis* sp. CGMCC 1149. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2013, 97(2): 599–609.
- [9] Wang X, Zhuge B, Fang HY, et al. Effects of CYP450 on bioconversion of lovastatin by *Amycolatopsis* sp. ST2710. *Ind Microbiol*, 2010, 40(6): 28–32 (in Chinese).
王轩, 诸葛斌, 方慧英, 等. 细胞色素 P450 酶对拟无枝酸菌转化洛伐他汀的影响. *工业微生物*, 2010, 40(6): 28–32.
- [10] Wang S, He J, Cui Z, et al. Self-Formed Adaptor PCR: a Simple and Efficient Method for Chromosome Walking. *Appl Environ Microbiol*, 2007, 73(15): 5048–5051.
- [11] Omura T, Sato R. The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes, evidence for its hemoprotein. *J Biol Chem*, 1964, 239(7): 2370–2378.
- [12] Ueno M, Sasamura S, Yamashita M, et al. Cloning and heterologous expression of *P450Um-1*, a novel bacterial P450 gene, for hydroxylation of immunosuppressive agent AS1387392. *J Antibiot*, 2010, 63(11): 649–656.
- [13] Sirim D, Widmann M, Wagner F, et al. Prediction and analysis of the modular structure of cytochrome P450 monooxygenases. *BMC Struct Biol*, 2010, 10(1): 34.
- [14] Cupp-Vickery JR, Li H, Poulos TL. Preliminary crystallographic analysis of an enzyme involved in erythromycin biosynthesis: cytochrome P450eryF. *Proteins*, 1994, 20(2): 197–201.
- [15] Graham-Lorence S, Peterson JA. P450s: structural similarities and functional differences. *FASEB J*, 1996, 10(2): 206–214.
- [16] Falquet L, Pagni M, Bucher P, et al. The PROSITE database, its status in 2002. *Nucleic Acids Res*, 2002, 30(1): 235–238.
- [17] Montellano de PRO. Hydrocarbon hydroxylation by cytochrome P450 enzymes. *Chem Rev*, 2010, 110(2): 932.
- [18] Jenkins CM, Waterman MR. Flavodoxin and NADPH-flavodoxin reductase from *Escherichia coli* support bovine cytochrome P450c17 hydroxylase activities. *J Biol Chem*, 1994, 269(44): 27401–27408.
- [19] Taylor M, Lamb DD, Cannell R, et al. Cytochrome P450105D1 (CYP105D1) from *Streptomyces*

- griseus*: heterologous expression, activity, and activation effects of multiple xenobiotics. *Biochem Biophys Res Commun*, 1999, 263(3): 838–842.
- [20] Iwata H, Fujita K, Kushida H, et al. High catalytic activity of human cytochrome P450 co-expressed with human NADPH-cytochrome P450 reductase in *Escherichia coli*. *Biochem Pharmacol*, 1998, 55(8): 1315–1325.
- [21] Prior JE, Shokati T, Christians U, et al. Identification and characterization of a bacterial cytochrome P450 for the metabolism of diclofenac. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2010, 85(3): 625–633.

(本文责编 郝丽芳)



2013 年诺贝尔生理学或医学奖揭晓

北京时间 10 月 7 日下午 5 点 30 分,2013 年诺贝尔生理学或医学奖揭晓,美国、德国 3 位科学家 James E. Rothman、Randy W. Schekman 和 Thomas C. Südhof 获奖。获奖理由是“发现细胞内的主要运输系统——囊泡运输的调节机制”。

James E. Rothman 于 1950 年出生于美国麻省 Haverhill, 1976 年从哈佛医学院获得博士学位,曾在 MIT 做过博后。1978 年他进入斯坦福大学,开始了对细胞囊泡的研究。他曾任职的研究机构还包括普林斯顿大学、纪念斯隆-凯特灵癌症研究所和哥伦比亚大学。2008 年,他加入耶鲁大学,目前为该校教授和细胞生物学系主席。

Randy W. Schekman 于 1948 年出生于美国明尼苏达州 St Paul, 曾就学于加州大学洛杉矶分校和斯坦福大学, 1974 年从斯坦福大学获得博士学位, 导师为 1959 年诺奖得主 Arthur Kornberg, 所在院系正是几年后 Rothman 加入的系。1976 年, Schekman 加入加州大学伯克利分校, 目前为该校分子与细胞生物学系教授。他同时也是霍华德·休斯医学研究院研究人员。

Thomas C. Südhof 于 1955 年出生于德国 Göttingen, 他曾就学于哥廷根大学, 1982 年从该校获得 MD 学位并于同年获得该校神经化学博士学位。1983 年, 他加入美国德州大学西南医学中心, 作为 Michael Brown 和 Joseph Goldstein 的博后(二人于 1985 年获得诺贝尔生理学或医学奖)。Südhof 于 1991 年成为霍华德·休斯医学研究院研究人员, 2008 年成为斯坦福大学分子与细胞生理学教授。

2013 年诺贝尔生理学或医学奖授予了 3 位解开细胞如何组织其运输系统之谜的科学家。每个细胞如同一座工厂, 制造和输出着各类分子比如胰岛素产生后释放到血液中, 而被称为神经递素的化学信号则通过一个神经细胞传递到另外一个神经细胞。这些分子都被运输到细胞周围的被称为囊泡的小“包裹”中。这次获奖的 3 位科学家解开了调控运输物在正确时间投递到细胞中正确位置的分子原理。

Randy Schekman 发现了囊泡运输所需的一组基因; James Rothman 阐明了囊泡是如何与目标融合并传递的蛋白质机器; Thomas Südhof 则揭示了信号是如何引导囊泡精确释放被运输物的。

通过研究, Rothman、Schekman 和 Südhof 揭开了细胞物质运输和投递的精确控制系统的面纱。该系统的失调会带来有害影响, 并可导致诸如神经学疾病、糖尿病和免疫学疾病等的发生。

(来源: 科学网; 日期: 2013-10-07)