

# 糖基转移酶合成相关糖苷类化合物研究进展

赵千婧 程瑶 王佳 孙新晓 申晓林\* 袁其朋

(北京化工大学 化工资源有效利用国家重点实验室, 北京 100029)

**摘要:**许多天然产物是中药中的活性成份,拥有良好的药理活性。通过糖基化反应后形成的糖苷类化合物可以提高天然产物的稳定性、水溶性和生物利用度,因而受到越来越多的关注。糖苷类化合物一般通过化学合成和植物提取的方式获得,近年来利用糖基转移酶合成糖苷类化合物成为了一个研究热点。糖基转移酶是通过天然产物合成糖苷类化合物的关键酶,作为一类庞大的基因家族酶,通常来源于植物和微生物。本文将阐述利用糖基转移酶合成糖苷类化合物的研究进展,为糖基转移酶合成糖苷类化合物工业化提供参考和方向。

**关键词:**糖苷类化合物;糖基转移酶;天然产物;糖基化反应

**中图分类号:** Q812 **DOI:** 10.13543/j.bhxbzr.2018.05.011

## 引言

天然产物,特别是植物的次级代谢产物,由于具有抗疟疾、抗凝血、抗肿瘤、抗氧化、抗衰老和消炎等一系列生物活性,常被用于药品、营养品和化妆品等的生产<sup>[1-4]</sup>。在中草药中,存在许多具有良好药理活性的天然产物,如红豆杉中的紫杉醇<sup>[5]</sup>,黄花蒿茎叶中的青蒿素<sup>[6]</sup>和红景天中的红景天苷<sup>[7]</sup>。然而,纯天然产物实际的人体利用效果并不显著,主要原因是天然产物特殊的化学结构使其稳定性、水溶性不高,进而导致生物利用率较低。为了有效解决这一问题,目前多利用糖基化、甲基化、羟基化和异戊烯化反应来提高天然产物结构的复杂性和多样性。其中,糖基化反应是应用最为广泛的一类化学反应,它利用糖基转移酶使糖和天然产物之间形成特定的糖苷键来合成糖苷类化合物<sup>[8-10]</sup>。Thuan等<sup>[11]</sup>在杨梅素的3-OH上连接一个鼠李糖进而生成的杨梅素-3-O- $\alpha$ -L-鼠李糖苷,大大增加了杨梅素的生物活性;Stahlhut等<sup>[12]</sup>发现在培养基中所加入的槲皮素不稳定且会在24 h内完全降解,而在槲皮素上引入葡萄糖基团所生成的异苷48 h后依然可以在培养基中稳定

地存在,说明槲皮素形成糖苷类化合物后其稳定性显著提高;甜菊苷是一种带有轻微的薄荷醇苦味及一定程度涩味的天然产物,在Li等<sup>[13]</sup>的研究中,甜菊苷经过单糖基化或双糖基化后的产物甜度都得到了提高。上述文献报道均证明糖苷类化合物较原始天然产物的生物活性都得到了很大的提高。目前利用糖基转移酶合成糖苷类化合物的研究已经取得了一定的进展<sup>[14]</sup>,本文就近年来利用不同来源的糖基转移酶合成糖苷类化合物的研究进行综述和展望,为以后的深入研究和工业化生产奠定基础。

## 1 糖基转移酶

糖基转移酶(GTs)能催化特定的糖和受体之间形成糖苷键,其催化的底物是一系列的生物分子,包括糖、蛋白质、脂质及其他小分子<sup>[15-16]</sup>;最常见的糖供体是经过活化的核苷酸糖,较少见的是磷酸脂连接的糖<sup>[17]</sup>。糖基转移酶是一个多成员的基因家族,根据其氨基酸序列的相似性、底物特异性、反应机制和三维结构,糖基转移酶被分为97个家族(GT1~GT97),其中GT1是含有糖基转移酶数量最多的家族<sup>[18-19]</sup>。

根据催化特性,糖基转移酶分为Leloir型和non-Leloir型。Leloir型的糖基转移酶以活化的核苷酸糖为糖基供体,如尿苷二磷酸葡萄糖(uridine diphosphate glucose, UDP-葡萄糖)、尿苷二磷酸半乳糖(uridine diphosphate galactose, UDP-半乳糖)及尿苷二磷酸鼠李糖(uridine diphosphate rhamnose,

收稿日期: 2018-07-15

基金项目: 国家自然科学基金(21636001/21776008)

第一作者: 女, 1995年生, 硕士生

\* 通信联系人

E-mail: shenxl@mail.buct.edu.cn

UDP-鼠李糖)等<sup>[15,20-21]</sup>;Leloir 型糖基转移酶的催化机制可以分为保留型和反转型,其中利用保留型的糖基转移酶发生糖基化反应后糖供体的构型不会发生改变,而利用反转型的糖基转移酶发生糖基化反应后糖基供体会由  $\alpha$  型变为  $\beta$  型<sup>[22-23]</sup>。non-Leloir 型的糖基转移酶则以磷酸脂连接的糖为糖基供体,如蔗糖、淀粉及其水解产物等<sup>[24]</sup>。

Fedoroff 等<sup>[25]</sup>于 1984 年第一次鉴定了参与植物次级代谢的糖基转移酶——来自于玉米的黄酮醇-3-O-葡萄糖基转移酶,随后 Hughes 等<sup>[26]</sup>发现了涉及植物次级代谢糖基转移酶的保守序列,其由靠近蛋白 C-端的约 40 个氨基酸组成,称为 PSPG 盒。在此之后新发现的很多植物糖基转移酶都含有 PSPG 盒的序列,说明该段序列能为鉴定未知酶是否属于糖基转移酶提供参考,因此 PSPG 盒保守序列对识别糖基转移酶具有十分重要的意义<sup>[27-28]</sup>。

## 2 糖基转移酶合成糖苷类化合物

### 2.1 背景介绍

目前,糖苷类化合物主要通过 3 种不同的方式获得:从天然植物中提取、化学合成和酶法合成<sup>[29-31]</sup>。从天然植物中提取糖苷类化合物的工艺复杂,而且天然植物中糖苷类化合物的含量低,提取成本较高。化学合成的方法在生产过程中所使用的试剂及产生的副产物大多对环境有污染,无法实现环境可持续性,因此近年来酶法合成糖苷类化合物受到了越来越多的关注。酶法合成糖苷类化合物的重点是对于糖基转移酶的选择,目前已有许多关于利用糖基转移酶合成糖苷类化合物的研究,其中糖基转移酶可以分为植物来源的糖基转移酶和微生物来源的糖基转移酶两大类群。由糖基转移酶合成的一些糖苷类化合物如红景天苷、天麻素及熊果苷等的结构式如图 1 所示。

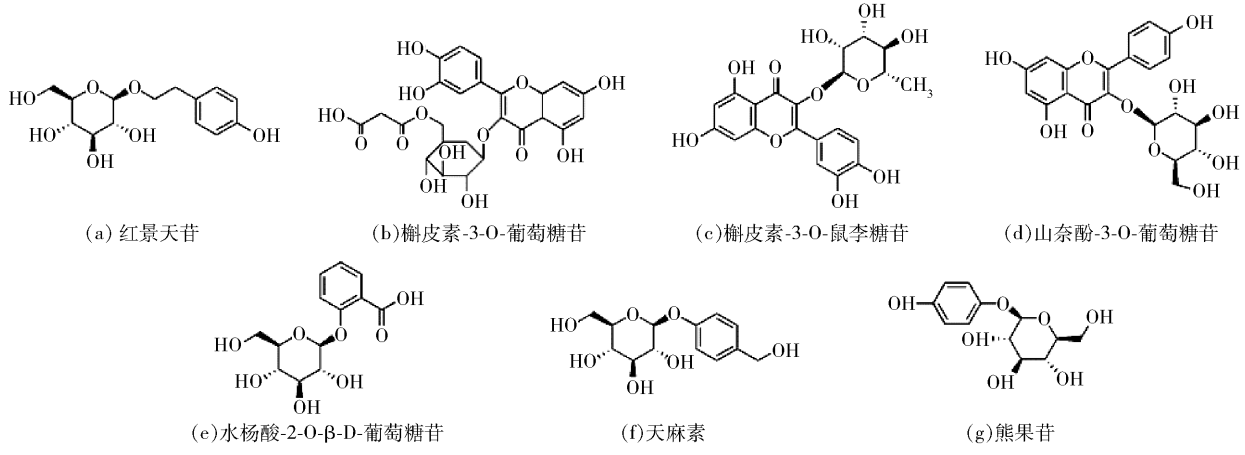


图 1 糖苷类化合物结构式

Fig. 1 The structural formula of glycosides

### 2.2 植物来源的糖基转移酶

作为一种模式植物,拟南芥含有众多的糖基转移酶,因此拟南芥中的糖基转移酶是目前研究最多的一类酶,拟南芥为十字花科植物,又名鼠耳芥、阿拉伯芥。An 等<sup>[32]</sup>使大肠杆菌表达出了来自拟南芥的糖基转移酶 AtUGT78D2 和 AtUGT79B1。其中糖基转移酶 AtUGT78D2 利用 UDP-葡萄糖将槲皮素催化为槲皮素-3-O-葡萄糖苷,然后在糖基转移酶 AtUGT79B1 的作用下,以 UDP-木糖苷为糖供体、槲皮素-3-O-葡萄糖苷为底物合成了 65 mg/L 槲皮素-3-O-葡萄糖基(1→2)木糖苷。Kim 等<sup>[33]</sup>将 dTDP-4-脱氢鼠李糖还原酶和拟南芥中的糖基转移酶 AtUGT78D1 的基因在大肠杆菌中共表达,分别以槲皮

素和山奈酚为底物、TDP-鼠李糖为糖供体合成了槲皮素-3-O-鼠李糖苷和山奈酚-3-O-鼠李糖苷,并发现糖基转移酶 AtUGT78D1 还能以 UDP-鼠李糖为糖供体;在此基础上向大肠杆菌中引入来自拟南芥的鼠李糖合酶 RHM2,将 UDP-葡萄糖转化成 UDP-鼠李糖,合成了 150 mg/L 槲皮素-3-O-鼠李糖苷和 200 mg/L 山奈酚-3-O-鼠李糖苷。Thuan 等<sup>[34]</sup>也在大肠杆菌中表达出了拟南芥中的糖基转移酶 AtUGT78D1,以 TDP-鼠李糖为糖供体、花旗松素为底物实现了落新妇苷的合成,其产量为  $(22.3 \pm 0.5)$  mg/L;研究人员在大肠杆菌中强化了 TDP-鼠李糖合成途径,且通过敲除葡萄糖-6-磷酸异构酶基因(*pgi*)和葡萄糖-6-磷酸脱氢酶基因(*zwf*)来阻断葡萄糖-6-磷酸的降解途

径,增加 TDP-鼠李糖合成前体葡萄糖-6-磷酸的供给,使落新妇苷的转化率达到 $(33.5 \pm 1.3)\%$ 。Bruyn 等<sup>[35]</sup>将拟南芥中的糖基转移酶基因 *RhaGT* 和 UDP-鼠李糖合酶基因 *MUM4* (将 UDP-葡萄糖转化成 UDP-鼠李糖)导入大肠杆菌中,以 UDP-鼠李糖为糖供体、槲皮素为底物合成了槲皮素-3-O-鼠李糖苷,产量达到了 1.12 g/L。Han 等<sup>[36]</sup>筛选了来自拟南芥的 12 个葡萄糖基转移酶,其中糖基转移酶 AtUGT71C1 和 AtUGT72E2 在引入大肠杆菌后,能以大肠杆菌内源的 UDP-葡萄糖为糖供体、阿魏酸为底物分别合成阿魏酰葡萄糖苷和阿魏酸葡萄糖苷;利用糖基转移酶 AtUGT71C1 合成的阿魏酰葡萄糖苷的转化率为  $1.8 \mu\text{mol}/(\text{L} \cdot \text{h})$ ,利用糖基转移酶 AtUGT72E2 合成的阿魏酸葡萄糖苷的转化率可达  $15.8 \mu\text{mol}/(\text{L} \cdot \text{h})$ 。Ahmadi 等<sup>[37]</sup>在大肠杆菌中构建了一条合成水杨酸的途径,并通过在大肠杆菌中表达来自拟南芥的糖基转移酶 UGT74F1,以水杨酸为底物、UDP-葡萄糖为糖供体合成了 2.5 g/L 水杨酸-2-O- $\beta$ -D-葡萄糖苷。Xia 等<sup>[38]</sup>在大肠杆菌中表达来自拟南芥的糖基转移酶 UGT73B3 和 UGT84B1,分别以槲皮素为底物、UDP-葡萄糖为糖供体合成槲皮素-3-O-葡萄糖苷和槲皮素-7-O-葡萄糖苷;通过温度的优化实验,发现糖基转移酶 UGT73B3 在 33 °C 时催化合成的槲皮素-3-O-葡萄糖苷产量最高,达到了 330 mg/L,另一个糖基转移酶 UGT84B1 在 37 °C 时催化合成的槲皮素-7-O-葡萄糖苷产量最高,达到了 95 mg/L。因此,通过温度优化来提高酶活是提高产量的有效办法。

大豆为一年生草本豆科植物,是中国的主要粮食作物之一。近年来的研究表明,大豆中也有很多可用于合成糖苷类化合物的糖基转移酶。Shrestha 等<sup>[39]</sup>在大肠杆菌中引入外源基因葡萄糖激酶 *glk*、葡萄糖磷酸变位酶 *pgm2* 和葡萄糖-1-磷酸尿苷酰转移酶 *galU*,强化了 UDP-葡萄糖合成途径;并在大肠杆菌中表达来自大豆的糖基转移酶 GtUFGCT1,分别以白杨素和木犀草素为底物,合成了 14 mg/L 白杨素-6-C-葡萄糖苷和 34 mg/L 木犀草素-6-C-葡萄糖苷。Malla 等<sup>[40]</sup>在大肠杆菌中表达了来自拟南芥的黄烷酮-3-羟化酶(*f3h*)和黄烷酮合酶(*f3l1*)的外源基因,将柚皮素转化为山奈酚;又在大肠杆菌中表达了大豆中的糖基转移酶 UGT78K1,以 UDP-葡萄糖为糖供体、以山奈酚为底物合成了 109.3 mg/L 山奈酚-3-O-葡萄糖苷。Rojas 等<sup>[41]</sup>成功

鉴定了大豆糖基转移酶基因,将糖基转移酶命名为 GmF3G6"Gt;研究人员对糖基转移酶 GmF3G6"Gt 的功能进行分析,利用该基因构建载体后在大肠杆菌中表达,得到重组蛋白后提纯并检测其活性,发现糖基转移酶 GmF3G6"Gt 以 UDP-葡萄糖为糖供体时,可催化山奈酚-3-O-葡萄糖苷转化为山奈酚-3-O-葡萄糖基(1 $\rightarrow$ 6)-葡萄糖苷。

其他植物中也存在着能合成糖苷类化合物的糖基转移酶。Bai 等<sup>[42]</sup>在大肠杆菌中表达了丙酮酸脱羧酶基因 *ARO10*,并利用大肠杆菌内源的醇脱氢酶 ADH 将合成酪氨酸途径中的 4-羟苯基丙酮酸转化成酪醇;在此基础上表达来自红景天的糖基转移酶 UGT73B6,以 UDP-葡萄糖为糖供体、酪醇为底物合成了 56.9 mg/L 红景天苷。后来研究人员又发现,将红景天糖基转移酶 UGT73B6 的第 389 位苯丙氨酸突变为丝氨酸,可得到新的糖基转移酶 UGT73B6<sup>FS</sup>,其能以 UDP-葡萄糖为糖供体、4-羟基苯甲醇为底物合成 545 mg/L 天麻素<sup>[43]</sup>。Shen 等<sup>[1]</sup>在大肠杆菌中构建了一条从葡萄糖合成氢醌的途径,再通过在大肠杆菌中表达来自蛇根木的糖基转移酶 AS,以氢醌为底物、UDP-葡萄糖为糖供体合成了 4.19 g/L 熊果苷。植物来源的用以合成糖苷类化合物的总结见表 1。

## 2.3 微生物来源的糖基转移酶

除了植物来源的糖基转移酶,近年来也发现很多来源于微生物的糖基转移酶可以合成糖苷类化合物。枯草芽孢杆菌是一种革兰氏阳性好氧细菌。Liang 等<sup>[44]</sup>发现枯草芽孢杆菌中的糖基转移酶 UGT109A1 可催化人参皂苷的 C3-OH、C12-OH 和 C20-OH 糖基化产生非天然人参皂苷,他们将糖基转移酶 UGT109A1 的基因引入酵母中,以达玛烯二醇 II (DM)、原人参二醇(PPD)和原人参三醇(PPT)为底物,实现了  $3\beta$ -O-Glc-DM、 $3\beta$ , 20S-Di-O-Glc-DM、 $3\beta$ , 12 $\beta$ -Di-O-Glc-PPD 和  $3\beta$ , 12 $\beta$ -Di-O-Glc-PPT 共 4 种非天然人参皂苷的合成;研究人员通过进一步研究  $3\beta$ , 12 $\beta$ -Di-O-Glc-PPD 的抗肺癌活性,发现相比于活性最高的天然人参皂苷 Rg3,  $3\beta$ , 12 $\beta$ -Di-O-Glc-PPD 在低于 Rg3 浓度时显示出更高的抗肺癌活性;通过在酵母中分别引入糖基转移酶 UGT109A1、人参脱甲酰壳多糖合成酶 DS、人参细胞色素 P450 型原人参二醇合酶 PPDS 和拟南芥 NADPH-细胞色素 P450 还原酶 ATR1 的基因,合成了 6.17 mg/L  $3\beta$ , 12 $\beta$ -Di-O-Glc-PPD;为了增加其前



表 1 植物来源的用以合成糖苷类化合物的糖基转移酶  
Table 1 Synthesis of glycosides using glycosyltransferases from plant

糖基转移酶	来源	糖供体	底物	产物	参考文献
AtUGT78D2 AtUGT79B1	拟南芥	UDP-葡萄糖	槲皮素	槲皮素-3-O-	[32]
		UDP-木糖苷		葡萄糖基(1→2)木糖苷	
AtUGT78D1	拟南芥	TDP-鼠李糖	槲皮素	槲皮素-3-O-鼠李糖苷	[33]
		UDP-鼠李糖	山奈酚	山奈酚-3-O-鼠李糖苷	
AtUGT78D1	拟南芥	TDP-鼠李糖	花旗松素	落新妇苷	[34]
RhaGT	拟南芥	UDP-鼠李糖	槲皮素	槲皮素-3-O-鼠李糖苷	[35]
AtUGT71C1 AtUGT72E2	拟南芥	UDP-葡萄糖	阿魏酸	阿魏酰葡萄糖苷	[36]
				阿魏酸葡萄糖苷	
UGT74F1	拟南芥	UDP-葡萄糖	水杨酸	水杨酸-2-O-β-D-葡萄糖苷	[37]
UGT73B3 UGT84B1	拟南芥	UDP-葡萄糖	槲皮素	槲皮素-3-O-葡萄糖苷	[38]
				槲皮素-7-O-葡萄糖苷	
GtUF6CGT1	大豆	UDP-葡萄糖	白杨素	白杨素-6-C-葡萄糖苷	[39]
			木犀草素	木犀草素-6-C-葡萄糖苷	
UGT78K1	大豆	UDP-葡萄糖	山奈酚	山奈酚-3-O-葡萄糖苷	[40]
GmF3G6"Gt	大豆	UDP-葡萄糖	山奈酚-3-O-葡萄糖苷	山奈酚-3-O-葡萄糖基-	[41]
				(1→6)葡萄糖苷	
UGT73B6	红景天	UDP-葡萄糖	酪醇	红景天苷	[42]
UGT73B6 <sup>FS</sup>	红景天	UDP-葡萄糖	4-羟基苯甲醇	天麻素	[43]
AS	蛇根木	UDP-葡萄糖	氢醌	熊果苷	[1]

体 2,3-氧化四氢叶酸的供给,研究人员还将 tHMG1 引入酵母中,使 3β,12β-Di-O-Glc-PPD 的产量提高到了 9.05 mg/L。

地衣芽孢杆菌是一种常见于土壤中的革兰氏阳性嗜热细菌。Pandey 等<sup>[45]</sup>发现了来自地衣芽孢杆菌 DSM13 的 UDP-糖基转移酶 YjiC 可在体外作用于 23 种类黄酮,产生多种糖苷类化合物。Pandey 等<sup>[46]</sup>还发现糖基转移酶 YjiC 能以 UDP-α-D-半乳糖、TDP-α-L-鼠李糖、GDP-α-L-岩藻糖和 TDP-α-D-2-脱氧葡萄糖为糖供体,说明糖基转移酶 YjiC 具有广泛的底物选择范围;随后研究人员通过敲除大肠杆菌 BL21( DE3) 的葡萄糖磷酸异构酶 *pgi*、葡萄糖-6-磷酸脱氢酶 *zwf* 和尿苷酰转移酶 *galU* 基因,并在大肠杆菌 BL21( DE3) 中构建了从葡萄糖合成 4 种不同 dTDP-脱氧糖( TDP-L-鼠李糖, TDP-4-氨基-4,6-二脱氧-D-半乳糖, TDP-D-viosamine 和 TDP-3-氨基-3,6-二脱氧-D-半乳糖) 的途径,为糖基转移酶 YjiC 提供糖供体。在改造后的大肠杆菌中表达了糖基转移酶 YjiC 的基因,发现在大肠杆菌中只能以 TDP-L-鼠李糖为糖供体、3-羟基黄酮为底物合成 3-羟基黄酮-3-O-鼠李糖苷。最近 Luan 等<sup>[47]</sup>通过在大肠杆菌中表达糖基转移酶 YjiC,以伞形酮为底物合成了 323 mg/L 茵芋苷。

蜡样芽孢杆菌是一种革兰氏阳性菌。来自蜡样芽孢杆菌的糖基转移酶 BcGT1 能分别催化槲皮素、山奈酚与杨梅黄酮发生糖基化反应。糖基转移酶 BcGT1 具有广泛的底物特异性,比如以槲皮素为底物可以合成槲皮素-3-O-葡萄糖苷、槲皮素-7-O-葡萄糖苷和槲皮素-4'-O-葡萄糖苷。Chiu 等<sup>[48]</sup>运用蛋白质工程将糖基转移酶 BcGT1 的第 240 位苯丙氨酸突变为丙氨酸,突变后的糖基转移酶对槲皮素葡萄糖基化的区域选择性显著提高,但催化效率只有原来的 25%;研究人员在将糖基转移酶 BcGT1 的第 240 位苯丙氨酸突变为丙氨酸的基础上,对第 132 和 138 位的苯丙氨酸也进行了突变,形成的多种突变后的酶使催化效率恢复到原始酶的 57% ~ 103%。微生物来源的用以合成糖苷类化合物的糖基转移酶总结如表 2 所示。

3 展望

综上所述,以天然产物为底物,利用不同来源的糖基转移酶合成糖苷类化合物的研究有很多。随着代谢工程<sup>[49]</sup>和蛋白质工程<sup>[50]</sup>的不断发展,将糖基转移酶运用于“细胞工厂”生产糖苷类化合物成为研究的热点,如天麻素和熊果苷在大肠杆菌中的从头合成<sup>[43,1]</sup>;但是糖基转移酶是一种多基因家族酶,

表 2 微生物来源的用以合成糖苷类化合物的糖基转移酶  
Table 2 Synthesis of glycosides using glycosyltransferases from microorganisms

糖基转移酶	来源	糖供体	底物	产物	参考文献
UGT109A1	枯草芽孢杆菌	UDP-葡萄糖		3β-O-Glc-DM	[44]
			DM	3β,20S-Di-O-Glc-DM	
			PPD	3β,12β-Di-O-Glc-PPD	
			PPT	3β,12β-Di-O-Glc-PPT	
YjIC	地衣芽孢杆菌	TDP-L-鼠李糖	3-羟基黄酮	3-羟基黄酮-3-O-鼠李糖苷	[46]
YjIC	地衣芽孢杆菌	UDP-葡萄糖	伞形酮	茵芋苷	[47]
BeGT1	蜡样芽孢杆菌	UDP-葡萄糖	槲皮素	槲皮素-3-O-葡萄糖苷	[48]
				槲皮素-7-O-葡萄糖苷	
				槲皮素-4-O-葡萄糖苷	

其底物灵活性和庞大的种类数量都成为研究糖基转移酶合成糖苷类化合物的难点;因此利用蛋白质工程对糖基转移酶进行系统的改造以使其具有理想的催化特性,是利用糖基转移酶合成糖苷类化合物的一个重要研究手段。同时,由于糖基转移酶的灵活性,有些糖基转移酶能将糖供体转移到不同的结构相似的糖基受体上,利用这一特点可催化形成新型糖苷类化合物。尽管目前合成糖苷类化合物的工业化应用还处于起始阶段,但是可以预见,通过糖基转移酶合成糖苷类化合物将成为未来合成糖苷类化合物工业化利用的主力军。

参考文献:

[1] SHEN X L, WANG J, WANG J, et al. High-level de novo biosynthesis of arbutin in engineered *Escherichia coli* [J]. *Metabolic Engineering*, 2017, 42: 52–58.

[2] PADDON C J, WESTFALL P J, PITERA D J, et al. High-level semi-synthetic production of the potent antimalarial artemisinin[J]. *Nature*, 2013, 496(7446): 528–532.

[3] WANG J, SHEN X L, REY J, et al. Recent advances in microbial production of aromatic natural products and their derivatives[J]. *Applied Microbiology & Biotechnology*, 2017, 102(4): 1–15.

[4] SHEN X L, WANG J, GALL B, et al. Establishment of novel biosynthetic pathways for the production of salicyl alcohol and gentisyl alcohol in engineered *Escherichia coli* [J]. *ACS Synthetic Biology*, 2018, 7: 1012–1017.

[5] LEE C G, KIM J H. A kinetic and thermodynamic study of fractional precipitation of paclitaxel from *taxus chinensis* [J]. *Process Biochemistry*, 2017, 59: 216–222.

[6] SHEN Q, ZHANG L D, LIAO Z H, et al. The genome of *artemisia annua* provides insight into the evolution of as-

teraceae family and artemisinin biosynthesis[J]. *Molecular Plant*, 2018, 11(6): 776–788.

[7] TORRENS-SPENCE M P, PLUSKAL T, LI F S, et al. Complete pathway elucidation and heterologous reconstitution of *Rhodiola* salidroside biosynthesis[J]. *Molecular Plant*, 2018, 11(1): 205–217.

[8] HARTL K, MCGRAPHERY K, RUDIGER J, et al. Tailoring natural products with glycosyltransferases [M] // SCHWAB W, LANGE B M, WÜST M. *Biotechnology of natural products*. Berlin: Springer, 2018.

[9] PARAJULI P, PANDEY R P, NGUYEN T, et al. Substrate scope of O-methyltransferase from *streptomyces peucetius* for biosynthesis of diverse natural products methoxides[J]. *Applied Biochemistry & Biotechnology*, 2018, 184(4): 1404–1420.

[10] ZHU N B, ZHAO J G, BAO H L. Iron catalyzed methylation and ethylation of vinyl arenes [J]. *Chemical Science*, 2016, 8(3): 2081–2085.

[11] THUAN N H, PANDEY R P, THUY T T, et al. Improvement of regio-specific production of myricetin-3-O-α-l-rhamnoside in engineered *Escherichia coli*[J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2013, 171(8): 1956–1967.

[12] STAHLHUT S G, SIEDLER S, MALLA S, et al. Assembly of a novel biosynthetic pathway for production of the plant flavonoid pisetin in *Escherichia coli*[J]. *Metabolic Engineering*, 2015, 31: 84–93.

[13] LI S, LI W, XIAO Q Y, et al. Transglycosylation of stevioside to improve the edulcorant quality by lower substitution using cornstarch hydrolyzate and cgtase [J]. *Food Chemistry*, 2013, 138(2/3): 2064–2069.

[14] HUANG G, MEI X. Synthetic glycosylated natural products have satisfactory activities[J]. *Current Drug Targets*, 2014, 15(8): 780–784.

[15] XU L J, QI T T, XU L, et al. Recent progress in the en-

- zymatic glycosylation of phenolic compounds[J]. Journal of Carbo-hydrate Chemistry, 2016, 35(1): 1–23.
- [16] WAGNER G K, PESNOT T. Glycosyltransferases and their assays[J]. Chembiochem, 2010, 11(14): 1939–1949.
- [17] GLOSTER T M. Advances in understanding glycosyltransferases from a structural perspective[J]. Current Opinion in Structural Biology, 2014, 28: 131–141.
- [18] TIWARI P, SANGWAN R S, SANGWAN N S. Plant secondary metabolism linked glycosyltransferases: an update on expanding knowledge and scopes[J]. Biotechnology Advances, 2016, 34(5): 714–739.
- [19] RINI J, EAKO J, VARKI A. Glycosyltransferases and glycanprocessing enzymes[M]//VARKI A, CUMMINGS R D, ESKO J D, et al. Essentials of glycobiology. New York: The Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2009.
- [20] BUNGARUANG L, GUTMANN A, NIETZKY B. Leloir glycosyltransferases and natural product glycosylation: biocatalytic synthesis of the C-glucoside nothofagin, a major antioxidant of redbush herbal tea[J]. Advanced Synthesis & Catalysis, 2013, 355(14/15): 2757–2763.
- [21] SEIBEL J, BEINE R, MORARU R, et al. A new pathway for the synthesis of oligosaccharides by the use of non-Leloir glycosyltransferases[J]. Biocatalysis and Bio-transformation, 2015, 24(1/2): 157–165.
- [22] HANCOCK S M, VAUGHAN M D, WITHERS S G. Engineering of glycosidases and glycosyltransferases [J]. Current Opinion in Chemical Biology, 2006, 10(5): 509–519.
- [23] VLIST J V D, LOOS K. Transferases in polymer chemistry[J]. Advances in Polymer Science, 2011, 237(2): 21–54.
- [24] PLOU F J, MARTIN M T, SEGURA A G D, et al. Glucosyltransferases acting on starch or sucrose for the synthesis of oligosaccharides[J]. Canadian Journal of Chemistry, 2002, 80(6): 743–752.
- [25] FEDOROFF N V, FURTEK D B, NELSON O E. Cloning of the *bronze* locus in maize by a simple and generalizable procedure using the transposable controlling element *activator* (*ac*) [J]. Proc Nati Acad Sci USA, 1984, 81(12): 3825–3829.
- [26] HUGHES J, HUGHES M A. Multiple secondary plant product UDP-glucose glucosyltransferase genes expressed in cassava (*Manihot esculenta* Crantz) cotyledons [J]. DNA Sequence, 1994, 5(1): 41–49.
- [27] SHAO H, HE X, ACHNINE L, et al. Crystal structures of a multifunctional triterpene/flavonoid glycosyltransferase from *Medicago truncatula*. [J]. Plant Cell, 2005, 17(11): 3141–3154.
- [28] HAYWARD A P, MORENO M A, HOWARD R T, et al. Control of sexuality by the *skl*-encoded UDP-glycosyltransferase of Maize [J]. Science Advances, 2016, 2(10): e1600991.
- [29] LI L, LIU C M, LIU Z Q, et al. Isolation and purification of phenylethanoid glycosides from plant extract of *Plantago asiatica* by high performance centrifugal partition chromatography [J]. Chinese Chemical Letters, 2008, 19(11): 1349–1352.
- [30] ATI J, LAFITE P, DANIELLOU R. Enzymatic synthesis of glycosides: from natural O- and N-glycosides to rare C- and S-glycosides[J]. Beilstein Journal of Organic Chemistry, 2017, 13(1): 1857–1865.
- [31] GALLO M, VITULANO M, ANDOLFI A, et al. Rapid solid-liquid dynamic extraction (rsldc): a new rapid and greener method for extracting two steviol glycosides (stevioside and rebaudioside A) from stevia leaves[J]. Plant Foods for Human Nutrition, 2017, 72(2): 1–8.
- [32] AN D G, YANG S M, KIM B G, et al. Biosynthesis of two quercetin O-diglycosides in *Escherichia coli* [J]. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, 2016, 43(6): 841–849.
- [33] KIM B G, KIM H J, AHN J H. Production of bioactive flavonol rhamnosides by expression of plant genes in *Escherichia coli*[J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2012, 60(44): 11143–11148.
- [34] THUAN N H, MALLA S, TRUNG N T, et al. Microbial production of astilbin, a bioactive rhamnosylated flavanone, from taxifolin[J]. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 2017, 33(2): 36.
- [35] BRUYN F D, BREMPT M V, MAERTENS J, et al. Metabolic engineering of *Escherichia coli* into a versatile glycosylation platform: production of bio-active quercetin glycosides[J]. Microbial Cell Factories, 2015, 14(1): 138.
- [36] HAN D Y, LEE H R, KIM B G, et al. Biosynthesis of ferulic acid 4-O-glucoside and feruloyl glucoside using *Escherichia coli* harboring regioselective glucosyl transferases[J]. Applied Biological Chemistry, 2016, 59(3): 481–484.
- [37] AHMADI M K, FANG L, MOSCATELLO N, et al. *E. coli* metabolic engineering for gram scale production of a plant-based anti-inflammatory agent[J]. Metabolic Engineering, 2016, 38: 382–388.
- [38] XIA T, EITEMAN M A. Quercetin glucoside production

- by engineered *Escherichia coli* [J]. Appl Biochem Biotechnol, 2017, 182(4): 1358–1370.
- [39] SHRESTHA A, PANDEY R P, DHAKAL D, et al. Biosynthesis of flavone C-glucosides in engineered *Escherichia coli* [J]. Applied Microbiology & Biotechnology, 2018, 102(3): 1251–1267.
- [40] MALLA S, PANDEY R P, KIM B G, et al. Regiospecific modifications of naringenin for astragalin production in *Escherichia coli* [J]. Biotechnology & Bioengineering, 2013, 110(9): 2525–2535.
- [41] ROJAS R F, DI S, MURAI Y, et al. Cloning and characterization of soybean gene *Fg1* encoding favonol 3-O-glucoside/galactoside (1→6) glucosyltransferase [J]. Plant Molecular Biology, 2016, 92(4): 1–12.
- [42] BAI Y F, BI H P, ZHUANG Y, et al. Production of salidroside in metabolically engineered *Escherichia coli* [J]. Scientific Reports, 2014, 4(55): 6640.
- [43] BAI Y F, YIN H, BI H P, et al. De novo biosynthesis of gastrodin in *Escherichia coli* [J]. Metabolic Engineering, 2016, 35: 138–147.
- [44] LIANG H C, HU Z F, ZHANG T, et al. Production of a bioactive unnatural ginsenoside by metabolically engineered yeasts based on a new UDP-glucosyltransferase from *Bacillus subtilis* [J]. Metabolic Engineering, 2017, 44: 60–69.
- [45] PANDEY R P, GURUNG R B, PARAJULI P, et al. Assessing acceptor substrate promiscuity of Yjic-mediated glycosylation toward flavonoids [J]. Carbohydrate Research, 2014, 393(1): 26–31.
- [46] PANDEY R P, PARAJULI P, GURUNG R B, et al. Donor specificity of Yjic glycosyltransferase determines the conjugation of cytosolic NDP-sugar *in vivo* glycosylation reactions [J]. Enzyme & Microbial Technology, 2016, 91: 26–33.
- [47] LUAN L C, PANDEY R P, LIM H N, et al. Synthesis of umbelliferone derivatives in *Escherichia coli* and their biological activities [J]. Journal of Biological Engineering, 2017, 11(1): 15.
- [48] CHIU H H, HSIEH Y C, CHEN Y H, et al. Three important amino acids control the regioselectivity of flavonoid glucosidation in glucosyltransferase-1 from *Bacillus cereus* [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2016, 100(19): 8411–8424.
- [49] ABERNATHY M H, LIAN H, TANG Y J. Channeling in native microbial pathways: implications and challenges for metabolic engineering [J]. Biotechnology Advances, 2017, 35(6): 805–814.
- [50] ALCALDE M. Directed enzyme evolution: advances and applications [M]. Berlin: Springer International Publishing, 2017.

## Advances in the use of glycosyltransferases in glycoside synthesis

ZHAO QianJing CHENG Yao WANG Jia SUN XinXiao SHEN XiaoLin\* YUAN QiPeng

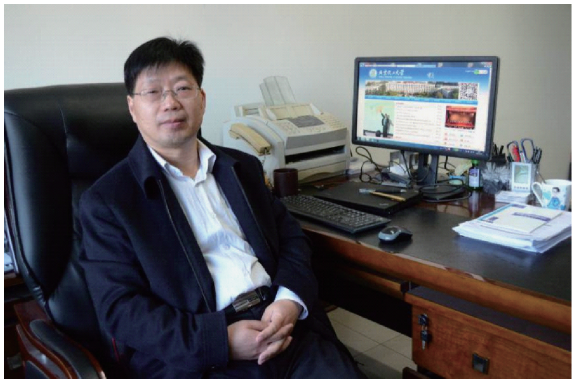
(State Key Laboratory of Chemical Resource Engineering, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029, China)

**Abstract:** Many natural products are active ingredients in traditional Chinese medicines and have good pharmacological activities. Glycosides, a class of biological molecules derived from the glycosylation of natural products, have attracted significant attention due to their ability to enhance the stability, solubility or bioavailability of natural products. In the past, glycosides have been generally synthesized by chemical synthesis or extracted from plants. In recent years, the utilization of glycosyltransferases to synthesize glycosides has become a major area of research. Glycosyltransferases are key enzymes in the synthesis of glycosides. This review summarizes recent advances in the use of glycosyltransferases in glycoside synthesis, and is expected to provide some guidelines for the future industrialization of glycoside synthesis using glycosyltransferase.

**Key words:** glycoside; glycosyltransferase; natural product; glycosylation

(责任编辑:汪 琴)

团队简介



团队负责人 袁其朋教授

袁其朋教授团队是教育部长江学者创新团队、“111”引智基地团队及北京化工大学双一流学科建设团队,长期从事植物天然活性成分分离及合成生物学领域的研究工作。主要科研成果包括:研制了植物天然活性成分规模制备的设备及专用分离介质,开展系统集成创新研究,提升了植提行业水平;发展了酶转化前提物生产天然产物技术,揭示酶催化转化原理,挖掘新酶,建立绿色生产工艺,实现工业生产;从途径设计创建、代谢网络改造、底盘细胞构建等多层次开展研究,建立大肠杆菌合成生物学平台,高效合成高附加值产物。团队成员共负责国家“863”计划 5 项,国家重

点研发任务 1 项、国家自然科学基金 11 项、国家国际科技合作专项 2 项、北京市教委及科委项目 2 项、香港创新工业署项目 5 项及多项企业合作课题;发表 SCI 论文 300 余篇(引用 6 020 余次),申请 PCT 专利 4 项(授权 1 项)、中国发明专利 90 项(授权 48 项);获国家科技进步二等奖 1 项、省部级科技进步一等奖 2 项及二等奖 2 项。多项成果实现工业化生产,创造了良好的经济效益。