



踏破铁鞋无觅处——一类新型抗真菌剂的发现

周俭民^{1*}, 曹立冬²

¹中国科学院遗传与发育生物学研究所, 植物基因组学国家重点实验室, 中国科学院大学现代农业科学学院, 北京 100101

²中国农业科学院植物保护研究所, 北京 100193

摘要 病原微生物通过其特有的机制破坏植物的防御屏障, 引发病害, 给农业生产造成损失。研究病菌致病机制, 能够启发人们探索病害防控的新思路。四川农业大学陈学伟团队阐明了稻瘟病菌的一种特殊结构——侵染钉的发生机制, 发现超长碳链脂肪酸合成酶在此过程中发挥重要作用。以超长碳链脂肪酸合成酶为靶点, 该团队寻找到了抑制超长碳链脂肪酸生物合成, 进而抑制侵染结构发生的化合物。这些化合物可广谱抑制多种病原真菌在动物和植物宿主上的致病力, 为创制新型农药开拓了新思路。

关键词 稻瘟病, 侵染钉, 水稻, 农药, 超长碳链脂肪酸

周俭民, 曹立冬 (2020). 踏破铁鞋无觅处——一类新型抗真菌剂的发现. 植物学报 55, 533–536.

在农业生产过程中, 农药对农作物病虫害防控不可或缺, 而传统农药非选择性地杀灭有害生物, 对环境造成巨大危害。随着科技的进步和生态共同体理念的深入人心, 人们对有害生物的管理将从“灭杀”走向“调控”, 利用环境友好型农药实现病虫害精准防控将成为未来新的研究方向(Lamberth et al., 2013)。新农药创制具有周期长、投资大、成功率低及风险高等特点, 属于多学科交叉的复杂系统工程(Lamberth et al., 2013)。农药设计与创制通常有以下4种途径(Guan et al., 2014; 张立新, 2017): 基于已有农药分子的结构进行修饰改造; 基于已有知识和经验的随机筛选, 主要通过组合合成、中间体衍生化、亚结构连接和骨架跃迁等方法进行; 以环境相容的天然产物为模版或中间体进行先导化合物开发, 研制仿生新农药品种; 基于对有害生物靶标的认识(如酶活和结构), 利用蛋白质-小分子结合理论开展定向分子设计或药物筛选。其中, 组合化学、高通量筛选和计算机辅助药物设计是先导化合物发现的常用技术。

研发环境友好型农药的关键环节是有害生物靶标的发现。以病原微生物为例, 其感染植物时, 往往依靠复杂的发育、细胞和生化过程, 利用特殊的细胞

结构、致病蛋白及毒素等, 使得它们能够突破宿主防线, 形成感染。如何通过研究病原微生物侵染机制发现新的靶标, 从而探索新的病害防控技术, 是植物病理学研究的一项重要挑战。四川农业大学陈学伟团队关于病原真菌稻瘟病菌(*Magnaporthe oryzae*)的最新研究, 很好地展示了如何从稻瘟病菌侵染机制的基础研究中发现靶标, 进而发现新型“杀菌剂”(He et al., 2020) (图1)。

稻瘟病菌在侵染水稻(*Oryza sativa*)时, 首先要发育出紧贴宿主细胞表面的附着胞(appressorium)。随后, 附着胞底部产生1个侵染钉(penetration peg), 依靠巨大的膨压扎入宿主组织, 从而实现入侵。英国Nicholas Talbot教授前期研究发现, 隔蛋白(septin)对侵染钉的形成不可或缺(Momany and Talbot, 2017)。隔蛋白是一类在真核生物中广泛存在的鸟苷三磷酸(GTP)结合蛋白(Mostowy and Cossart, 2012)。在病原真菌中, 隔蛋白对细胞极性生长不可或缺, 通过与磷脂酰肌醇磷酸(phosphatidylinositol phosphates, PIP)结合, 在附着胞的质膜上形成环状结构, 随后由此发育出侵染钉(Bertin et al., 2010; Momany and Talbot, 2017)。但磷脂酰肌醇磷酸与隔

收稿日期: 2020-09-15; 接受日期: 2020-09-18

基金项目: 国家自然科学基金(No.31521001)

* 通讯作者。E-mail: jmzhou@genetics.ac.cn



图1 田间生长条件下健康水稻植株(左)和感染稻瘟病的水稻植株(右) (陈学伟提供)

Figure 1 Healthy (left) and diseased rice plants infected by the blast fungus *Magnaporthe oryzae* (right) in the field (Photo provided by Xuewei Chen)

蛋白的作用机制及生物学意义仍不清楚。在He等(2020)的工作中,陈学伟团队与Talbot研究组合作,首先利用磷脂酰肌醇磷酸传感器(biosensor)验证了磷脂酰肌醇磷酸通过与隔蛋白互作,招募后者在质膜上形成环状结构。进一步研究发现,利用抑制剂或者通过基因沉默阻断磷脂酰肌醇磷酸合成,能强烈阻碍隔蛋白环的形成并降低稻瘟病菌的致病力。通过脂质组分析发现,稻瘟病菌磷脂酰肌醇磷酸中,除了通常的18和20碳脂肪酸链外,还含有22–24碳脂肪酸链,表明稻瘟病菌的磷脂酰肌醇磷酸含有超长碳链脂肪酸(very-long-chain fatty acids, VLCFAs)。超长碳链脂肪酸在动物、植物和真菌中广泛存在,并在诸多生物学过程中发挥重要作用(Bach and Faure, 2010; Kihara, 2012)。含有超长碳链脂肪酸的磷脂酰肌醇磷酸往往对形成弯曲的细胞膜具有重要作用,暗示其与隔蛋白在细胞膜上形成环状结构有关。

基于上述线索,He等(2020)对稻瘟病菌的超长碳链脂肪酸合成关键酶(超长碳链脂肪酸延伸酶)编码基因ELO1进行深入研究。酵母互补实验表明,稻瘟病菌ELO1能很好地恢复酵母超长碳链脂肪酸延伸酶突

变体表型,表明其具有合成超长碳链脂肪酸的功能。在稻瘟病菌中敲除ELO1,突变体菌株不能产生超长碳链脂肪酸,隔蛋白环和侵染钉的形成受到严重抑制,但附着胞的数量并不受影响,表明ELO1通过含超长碳链脂肪酸的磷脂酰肌醇磷酸,招募隔蛋白并特异控制侵染钉的发生过程。elo1突变体表现出侵染力显著下降,暗示ELO1蛋白有可能成为新型抗真菌剂的靶点。通常情况下,发现靶点后还需要投入大量的人力和物力进行化合物筛选。幸运的是,前人基于脂肪酸延伸酶已经开发出抑制超长碳链脂肪酸合成的多个除草剂,包括燕麦敌(Diallate)、吡草胺(Metazachlor)和唑草胺(Cafenstrole)等,且这些除草剂已广泛应用于农业生产。因此,He等(2020)直接测试了这些超长碳链脂肪酸生物合成抑制剂对稻瘟病菌隔蛋白环的形成和致病力的影响。结果令人振奋,多个化合物均有良好的抑制能力。除了稻瘟病菌,许多其它病原真菌在侵染时,也会形成类似附着胞,如玉米小斑病菌(*Bipolaris maydis*)、小麦白粉病菌(*Blumeria graminis*)以及感染蝗虫的绿僵菌(*Metarhizium acridum*)。这些抑制剂对上述病原真菌的致病力同样起到良好的抑制效果,表明这些超长碳链脂肪酸生物合成抑制剂具有广谱的抑菌效果,对动植物病原真菌均能起到防治作用。

传统农药的靶标主要为真菌细胞壁合成酶、质膜中关键成分的合成酶、微管蛋白组装以及蛋白质与核酸的合成机器等有害生物生存所必需的组分。传统农药对有害生物一般具有灭杀作用,不仅对环境破坏严重,还会对有害生物造成过强的选择压力。陈学伟团队的研究结果显示,超长碳链脂肪酸生物合成抑制剂能特异性抑制侵染钉的发生,进而抑制致病力,而非简单地灭杀真菌。尽管动植物的一些生物学活动也有超长碳链脂肪酸参与,但He等(2020)研究表明,施用这些除草剂对水稻、玉米(*Zea mays*)、小麦(*Triticum aestivum*)和蝗虫(*Locusta migratoria manilensis*)并不产生明显毒害,表明这些抑制剂有可能作为较安全的农药。未来的研究需要回答以下问题:上述抑制剂对不同生物中的超长碳链脂肪酸合成关键酶的抑制能力是否存在差异?此外,虽然这些商业化的除草剂已经通过了生物安全测定,但由于抗菌所需浓度较高($0.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$),在食品生产上是否具有安全性?

基于新的作用靶标进行全新分子设计是新农药创制的重要途径,也是新农药创制面临的最大挑战和瓶颈(赵斌等, 2018)。陈学伟团队的这项工作,通过遗传学、细胞生物学和生物化学等一系列手段,揭示了超长碳链脂肪酸在招募隔蛋白和侵染钉发生过程中的重要作用。超长碳链脂肪酸生物合成途径主要影响稻瘟病菌侵染结构发生,而不是非选择性地影响真菌存活。以此作为广谱性抗真菌剂靶标,有助于解决现有杀菌剂日益严重的抗药性问题。具有除草活性的超长碳链脂肪酸生物合成抑制剂同时具有抗菌活性,可以发挥其多功能性,为农药减施增效和农业绿色高质量发展提供新思路。

参考文献

- 张立新 (2017). 新农药研发进展与趋势. 沈阳化工大学学报 **31**, 97–104.
- 赵斌, 陈来, 张乃楼, 范志金 (2018). 新型杀菌化合物靶标识别及其靶向候选药剂设计概述. 农药学学报 **20**, 397–407.
- Bach L, Faure JD (2010). Role of very-long-chain fatty acids in plant development, when chain length does matter. *Compt Rend Biol* **333**, 361–370.
- Bertin A, McMurray MA, Thai L, Garcia III G, Votin V, Grob P, Allyn T, Thorner J, Nogales E (2010). Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate promotes budding yeast septin filament assembly and organization. *J Mol Biol* **404**, 711–731.
- Guan AY, Liu CL, Yang XP, Dekeyser M (2014). Application of the intermediate derivatization approach in agrochemical discovery. *Chem Rev* **114**, 7079–7107.
- He M, Su J, Xu YP, Chen JH, Chern MS, Lei ML, Qi T, Wang ZK, Ryder L, Tang BZ, Osés-Ruiz M, Zhu KK, Cao YY, Yan X, Eisermann I, Luo Y, Li WT, Wang J, Yin JJ, Lam SM, Peng GX, Sun XF, Zhu XB, Ma BT, Wang JC, Liu JL, Qing H, Song L, Wang L, Hou QQ, Qin P, Li Y, Fan J, Li DQ, Wang YP, Wang X, Jiang L, Shui GH, Xia YX, Gong GS, Huang F, Wang WM, Wu XJ, Li P, Zhu LH, Li SG, Talbot NJ, Chen XW (2020). Discovery of broad-spectrum fungicides that block septin-dependent infection processes of pathogenic fungi. *Nat Microbiol* <https://doi.org/10.1038/s41564-020-00790-y>.
- Kihara A (2012). Very long-chain fatty acids: elongation, physiology and related disorders. *J Biochem* **152**, 387–395.
- Lamberth C, Jeanmart S, Luksch T, Plant A (2013). Current challenges and trends in the discovery of agrochemicals. *Science* **341**, 742–746.
- Momany M, Talbot NJ (2017). Septins focus cellular growth for host infection by pathogenic fungi. *Front Cell Dev Biol* **5**, 33.
- Mostowy S, Cossart P (2012). Septins: the fourth component of the cytoskeleton. *Nat Rev Mol Cell Biol* **13**, 183–194.

Antifungal Compounds Come in Handy

Jian-Min Zhou^{1*}, Lidong Cao²

¹College of Advanced Agricultural Sciences, University of Chinese Academy of Sciences, State Key Laboratory of Plant Genomics, Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China; ²Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China

Abstract Pathogenic microbes employ specialized mechanisms to breach defense of host plants, causing diseases on plants and losses in agricultural production. Understanding mechanisms of pathogenesis offers new avenues for disease control. A team from Sichuan Agriculture University led by Xuewei Chen investigated mechanisms underlying the generation of an infection structure called penetration peg, which is employed by many fungal pathogens such as the one causing blast disease on rice. They discovered that very-long-chain fatty acids are required for this process. They further demonstrated that a group of commercialized herbicides capable of inhibiting very-long-chain fatty acid biosynthesis in fungi can effectively inhibit pathogenesis of a broad spectrum of fungi, which brings new technology to control diseases and provides new ideas for new pesticides discovery.

Key words rice blast, penetration peg, rice, pesticide, very-long-chain fatty acids

Zhou JM, Cao LD (2020). Antifungal compounds come in handy. *Chin Bull Bot* **55**, 533–536.

* Author for correspondence. E-mail: jmzhou@genetics.ac.cn

(责任编辑: 朱亚娜)