

微生物学报 *Acta Microbiologica Sinica*  
50(5):561–567; 4 May 2010  
ISSN 0001–6209; CN 11–1995/Q  
<http://journals.im.ac.cn/actamicrocn>

## 芳香聚酮早期后修饰环化酶的结构分类和功能分析

张霞<sup>1</sup>, 范可强<sup>2</sup>, 李红玉<sup>1\*</sup>, 杨克迁<sup>2\*</sup>

(<sup>1</sup> 兰州大学生命科学学院, 兰州 730000)

(<sup>2</sup> 中国科学院微生物研究所, 微生物资源前期开发国家重点实验室, 北京 100101)

**摘要:** 聚酮是一类结构和生物活性多样的天然产物, 根据结构特点可以分为芳香聚酮和复合聚酮两大类。芳香聚酮环化酶是芳香聚酮生物合成过程中一种非常重要的早期后修饰酶, 是决定芳香聚酮骨架结构的主要因素。根据序列和结构的相似性, 芳香聚酮环化酶可以分为不同的种类。本文主要对其中 3 类芳香聚酮环化酶结构和功能进行了简要总结, 从晶体结构、催化反应和催化机制等方面对它们进行了分类描述和功能分析, 并结合自己实验室工作介绍了杰多霉素 B 环化酶催化机制的研究方法。

**关键词:** 聚酮后修饰酶; 环化/芳化酶; 晶体结构; 催化机制

**中图分类号:** Q559      **文献标识码:** A      **文章编号:** 0001-6209 (2010) 05-0561-07

聚酮化合物是广泛存在于细菌、真菌和植物中的一大类在结构和生理功能上多变的天然产物。聚酮化合物具有重要的药用价值, 表现出多种生物活性。聚酮类抗生素被广泛应用于医药行业, 成为仅次于  $\beta$ -内酰胺类的第二大类抗生素。根据其化学结构特征, 聚酮化合物可以分为两类: 芳香聚酮和复合聚酮。芳香聚酮含有 1 个或多个六元芳香环, 根据其环系的连接方式和氧化还原程度, 可以具体分为: 蒽环类、角蒽环类、丁省霉素类、四环素类等<sup>[1]</sup>。

### 1 芳香聚酮的生物合成

芳香聚酮具有多种化学结构, 但是其生物合成机理非常类似, 都是由小分子羧酸作为起始单元, 丙二酰基作为延伸单元缩合形成一个聚酮碳链骨架, 然后经过一系列早期后修饰反应如酮基还原、环化、芳香化等形成一个聚酮核心结构, 最后大多数还需要经过氧化、甲基化或糖基化等后修饰反应形成终产物。聚酮链的环化和环化后修饰是决定其结构多

样性的主要影响因素<sup>[2]</sup>。

### 2 芳香聚酮早期后修饰酶—环化酶

环化酶是芳香聚酮生物合成过程中非常重要的后修饰酶。环的形成是决定天然产物结构骨架的最主要因素。不同类型芳香聚酮的环数、成环方向和位置各不相同, 如丁省霉素 (Tetracenomycin) 的 4 个环成线状, 而杰多霉素 (Jadomycin) 的第 4 个环与前 3 个环不在同一条直线上。研究表明: 环化酶对于产物环化部位的专一性非常重要, 酶的缺失会导致不同环化形式聚酮的形成。大多数 II 型聚酮合成基因簇中包括几种与聚酮链成环和脱水有关的蛋白。根据序列相似性和蛋白结构的不同, 环化酶可以分为不同的种类如:  $\alpha + \beta$  barrels 家族环化酶<sup>[3–5]</sup>, START Domain 家族环化酶<sup>[6]</sup>, 类铁氧还蛋白家族环化酶<sup>[7]</sup>, Cupin 家族环化酶<sup>[8–9]</sup>, Metallo beta lactamase 家族环化酶<sup>[10]</sup> 和 NTF2-like 家族环化酶<sup>[11–13]</sup> 等。本文主要介绍前 3 种环化酶, 并结合自

**基金项目:** 甘肃省国际科技合作项目 (090WCGA900)

\* 通信作者。杨克迁, Tel/Fax: +86-10-64807459, E-mail: yangkq@im.ac.cn; 李红玉, Tel: +86-931-8912560, Fax: +86-931-8912561; E-mail: lihy@lzu.edu.cn

**作者简介:** 张霞 (1983–), 女, 河北人, 硕士研究生, 从事杰多霉素生物合成、分离纯化及活性检测等方面的研究, E-mail: zhangxia2007@lzu.cn

**收稿日期:** 2009-10-26; **修回时间:** 2009-12-17

己的实验室工作介绍一下杰多霉素 B 环化酶生物合成机理的研究方法。

## 2.1 $\alpha + \beta$ barrels 家族环化酶

**2.1.1  $\alpha + \beta$  barrels 家族环化酶主要成员:**  $\alpha + \beta$  barrels 家族环化酶一般含有 130 – 160 个氨基酸,主要负责四环素类,光辉霉素类以及蒽环类化合物第 3/4 环的闭合,仅在少数几个链霉菌中出现。该家族的主要成员和其所催化的芳香聚酮化合物如下: Nogaramycin: SnoaL; Aclacinomycin: AknH; Rhodomycin: RdmA; Doxorubicin: DnrD; Daunorubicin: DauD; Chartreusin: ChaJ, ChaK 等。序列比对发现还存在一些与该环化酶家族成员相似性较低的蛋白如:羟化酶 SnoaL2 和 AlcR。它们与该家族环化酶的功能完全不同,负责催化底物羟基化反应。虽然它们序列相似性不高,功能也完全不同,

却具有相同的蛋白折叠方式,同属于  $\alpha + \beta$  barrels 家族,这说明它们在进化上有一定的亲缘关系<sup>[14]</sup>。

**2.1.2 SnoaL、AknH 催化的反应及立体选择性:** SnoaL 和 AknH 是  $\alpha + \beta$  barrels 家族环化酶的代表,在各种蒽环类抗生素合成路径中负责配糖体最后 1 个环的闭合。AknH 在 *Streptomyces galilaeus* 中催化阿克拉菌素 (Aclacinomycin) 的生物合成,将 Aklanonic acid methyl ester (AAME) 转化成阿克拉菌酮 (Aklaviketone)。SnoaL 在 *S. nogalater* 中催化诺加霉素 (Nogalamycin) 的生物合成,将 Noglaonic acid methyl ester (NAME) 转化为诺加酮 (Nogalaviketone)<sup>[3-5]</sup>。AknH 也能够催化 NAME 转化为 Auraviketone,但产物的立体构型不同[图 1]。AknH 和大多数该家族的其它成员都催化底物生成 C9-R 构型产物,唯有 SnoaL 生成 C9-S 构型产物<sup>[4]</sup>。

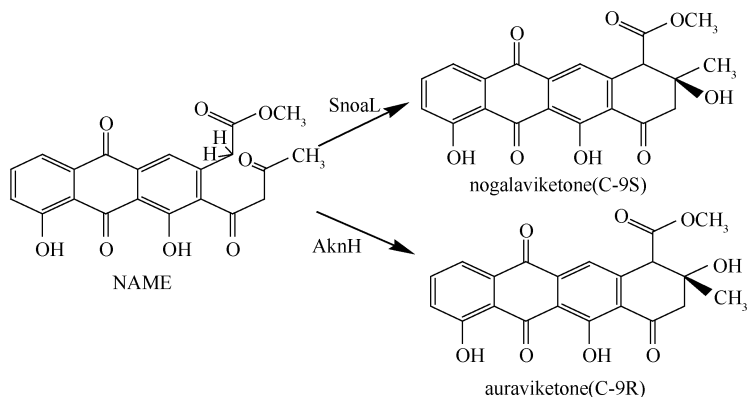


图 1 SnoaL 和 AknH 均以 NAME 作为底物时的环化反应<sup>[3]</sup>

Fig. 1 The cyclase reactions of SnoaL and AknH with NAME as the substrate.

**2.1.3 SnoaL 和 AknH 的晶体结构:** SnoaL 和 AknH 的 X-射线晶体结构已经得到解析[图 2]。晶体结构显示:这两个蛋白都是由 2 个同型二聚体组成的四聚体。其单体采用 Scytalone dehydratase 折叠模式,由 1 个混合型  $\beta$  折叠片,2 个  $\alpha$  螺旋和 2 个  $3_{10}$  螺旋组成,形成一个失真的  $\alpha + \beta$  barrel。在其内部存在一个大的疏水口袋,配体连接在疏水口袋内。AknH 和 SnoaL 三级结构的差异主要出现在两个区域:一个是连接螺旋 H3 和 H4 的一段环,包括氨基酸残基 40 – 43;另外一段是 C 末端的氨基酸残基 135 – 141<sup>[3, 5]</sup>。

比较这两种酶的氨基酸序列及高分辨率晶体结构,发现 AknH 主要催化残基 Asp121 附近的两个关键氨基酸 Tyr15 和 Asn51 在 SnoaL 蛋白中分别被 Phe15 和 Leu51 取代。将 SnoaL 的 Phe15 突变为 Tyr 时,并没有改变反应的立体选择性。而将 AknH 的 Tyr15 突变为 Phe 后,有 20% 的 C9-R 产物转变为

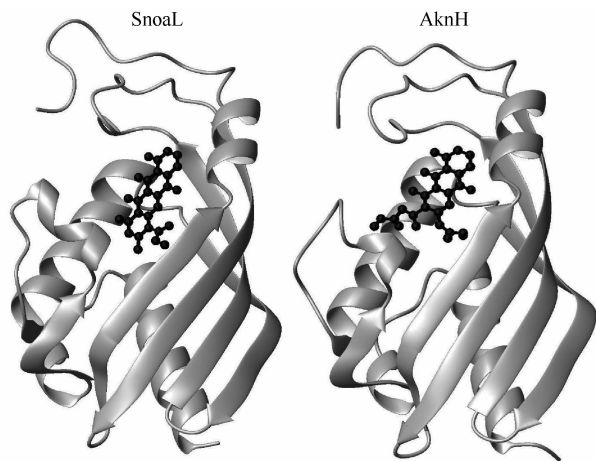


图 2 SnoaL 和 AknH 蛋白亚基与其底物的结构示意图

Fig. 2 Schematic view of the subunit of SnoaL/AknH with bound substrate.

C9-S; Y15F/N51L 双突变体催化产物中 C9-R 和 C9-

S 各占 50%。因此可以看出:这两个氨基酸的不同影响了环化反应的立体选择性,成为导致产物立体构型差异的重要因素<sup>[3]</sup>。

**2.1.4 SnoaL 和 AknH 的环化反应机制:**SnoaL 和 AknH 催化的反应属于分子内醇醛缩合反应。模型分析和定点突变表明:反应采用酸碱催化机制<sup>[3, 5]</sup>,首先是 Asp121 夺取 C10 位的氢,形成负碳离子/烯醇中间体;随后烯醇中间体对 C9 位羰基碳发起亲核攻击,形成碳碳键导致环闭合。这个机制的关键步骤是去质子化产生的烯醇中间体的形成与稳定。典型醛缩酶采用 Schiff 碱中间体机制(I 型醛缩酶)或二价金属离子中间体机制(II 型醛缩酶)稳定烯醇中间体,但 SnoaL 和 AknH 活性中心并不存在赖氨酸和金属离子,推测是靠配糖体芳香环系统的  $\pi$  电子离域来稳定中间体。另外底物与 Gln105 之间形成氢键也有助于中间体稳定<sup>[5]</sup>。

## 2.2 START Domain 家族环化酶

**2.2.1 START Domain 家族环化酶主要成员:**START Domain 家族环化酶几乎存在于所有的 II 型 PKS 基因簇中,催化聚酮中间体第 1 环的环化/芳化反应。该家族环化酶主要成员及其对应的芳香聚酮化合物如下: Tetracenomycin: TcmN; Actinorhodin: ActVII; Spore pigments: WhiEVI, PKSA-ORF4, CurF; Jadomycin: JadD; Granaticin: Gra-Orf4; Fredericamycin: FdmI; Elloramycin: ElmNI; oxytetracycline: OctD1; Daunorubicin: DpsF, DauA; Nogaramycin: SnoaE; Aclacinomycin: AknE1; Fredericamycin: FdmI; Urdamycin: UrdL 等。该家族环化酶可以简单的分为两类:单功能域环化酶(如 WhiEVI)和双功能域环化酶(如 TcmN)<sup>[15]</sup>。根据蛋白长度和结构域组成,单功能域环化酶又可以分为:单结构域环化酶即 160 氨基酸亚型(如 WhiEVI)和双结构域环化酶即 315 氨基酸亚型(如 ActVII 和 OctD1)。单结构域环化酶只含有 1 个 START Domain。而双结构域环化酶含有 2 个序列相似的 START Domain<sup>[11, 16]</sup>。

**2.2.2 TcmN、ActVII 催化的反应:**II 型 PKS 中最常见的两种环化方式是 C9-C14 成环和 C7-C12 成环。II 型聚酮合酶二聚体中形成的孔道只能容纳一定长度的碳链,当最后一个聚合反应发生时,形成的聚酮碳链发生褶皱,C-7/C-9 酮基和 C-12/C-14 亚甲基靠近并发生醇醛缩合反应,形成第 1 环<sup>[17]</sup>。

环化酶的概念最早是针对 ActVII 提出的。ActVII 负责 Actinorhodin 生物合成过程中 C7-C12 第

1 环的环化以及后续的芳化反应。ActVII 属 315 氨基酸亚型单功能域环化酶,包含 2 个 START Domain,分别表达 ActVII 的 N 端和 C 端结构域,均不具有环化/芳化活性;但二者共表达时则恢复 ActVII 的功能<sup>[16, 18]</sup>,这表明 315 氨基酸亚型环化酶的两个 START Domain 间存在协同作用。

TcmN 是研究比较深入的一个环化/甲基化双功能环化酶,存在于丁省霉素合成过程中。其环化酶结构域在 N 端,C 端是 O-甲基转移酶<sup>[19]</sup>。TcmN 环化酶结构域催化得到的环化中间体,并不是 O-甲基转移酶结构域的底物。所以 TcmN 的 N 端和 C 端在结构和功能上都是独立的,没有直接的关系<sup>[19]</sup>。

Meurer 等在研究丁省霉素的部分基因簇异源表达时发现,在没有环化酶 TcmN 的作用时,异源表达最小聚酮合酶产生两种不同的环化中间产物 SEK15 和 SEK15b,理论的第一环没有形成。然而当 TcmN 存在时(下游酶缺失),则产生 RM80/RM80b。这说明 TcmN 的体内以及体外的表达产物能够促进 C9-C14 第 1 环的环化<sup>[20]</sup>。TcmN 除了催化形成聚酮化合物 C9-C14 第 1 环外,对随后的芳环(第 2 环甚至第 3 环)的形成和芳化都有作用,但只能催化 C9 未被还原的聚酮链的环化<sup>[21-23]</sup>。

**2.2.3 TcmN 的晶体结构及催化机制:**根据对 START Domain 的认识,推测所有的 START Domain 家族成员都具有类似的 Helix-Grip 折叠方式,并且都有一个相似的配体结合口袋。目前,TcmN N 端第 1 个 START Domain 的晶体结构已经解出[图 3]。和 START Domain 家族其它成员(如:BA 和 MLN64-START Domain)的结构相似<sup>[6]</sup>,该结构域包括 1 个处于中心的  $\beta$  折叠片,在其 N、C 端附近有两段螺旋,1 个长 C 端  $\alpha$  螺旋紧临  $\beta$  折叠片<sup>[6]</sup>。 $\beta 1$  和  $\beta 2$  之间有 2 个小螺旋,形成一个螺旋-环-螺旋基序,封住  $\beta$ -三明治结构的一端<sup>[24]</sup>。在  $\beta$  折叠片内部和 C 端  $\alpha$  螺旋之间形成了一个较深的内部口袋,可以结合一些早期聚酮合成中间体,并影响其环化或芳香化过程的特异性。经推测,高度保守的带电荷残基 Tyr35、Arg69、Ser67 和 Arg82 可能是该家族环化酶的活性位点。底物聚酮链通过与 Tyr35、Arg69 和 Ser67 形成氢键锚定在内部口袋中。定点突变表明:Tyr35 和 Arg69 在第 1 环环化/芳化过程中起酸碱催化作用;Arg69 和 Arg82 在第 2 环环化/芳化过程起到相应的催化作用;Tyr35、Arg69 和 Ser67 作为聚酮锚定残基与口袋颈部的残基(Trp108 和 Gln110)连接,帮助聚酮主链折叠从而有利于第 1/第 2 环的环

化/芳化<sup>[24]</sup>。TcmN 的这些活性残基在该家族的其它成员中大都是保守的,因此推测该家族其它环化酶具有类似的酸碱催化机制。

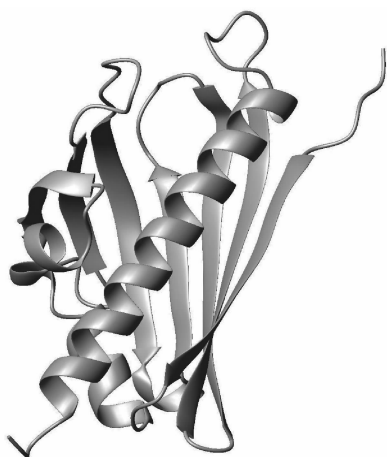


图3 TcmN 的 START Domain 结构示意图

Fig. 3 Schematic view of the START domain of TcmN.

## 2.3 类铁氧还蛋白家族环化酶

**2.3.1 类铁氧还蛋白家族环化酶主要成员:**类铁氧还蛋白家族环化酶存在于绝大多数链霉菌中,一般含有 110 个氨基酸左右,负责催化芳香聚酮化合物第 3/第 4 环的环化。该家族环化酶主要成员及其对应的芳香聚酮化合物如下:Tetracenomycin: TcmI; griseorhodin: GrhQ; curamycin: CurG; Spore pigments: WhiEVII; Jadomycin: JadI; Gaudimycin: PgaF; Landmycin: IndF, LanF; Urdamycin: UrdF. Simocyclinone: SimA4; Elloramycin: ElmI; Aur1C 等。其中,TcmI 和 JadI 是该家族环化酶的主要代表,研究的比较清楚。

**2.3.2 TcmI, JadI 催化的反应:**类铁氧还蛋白家族环化酶催化直链和角蕈环类化合物第 4 环的形成,但是与前面提到的第 4 环环化酶家族— $\alpha + \beta$  barrels 家族环化酶家族相比,它们在序列和催化机制上都存在着差异。

TcmI 催化丁省霉素第 4 环的形成,催化 TcmF2 环化,脱水转化为 TcmF1<sup>[25]</sup>。JadI 和已知功能的 TcmI 有较高的相似性,所以最初 JadI 就被认为编码形成特殊角蕈环结构的第 4 环的环化酶。Kulowski 等发现当 JadI 基因缺失时,形成中间化合物 SEK43 和 UWM4,这两个化合物都只有第 1 环发生了环化。而当 JadI 不缺失时则产生 UWM6 和 Rabelomycin,这说明了 JadI 在后续第 2-第 4 环的环化中都起到一定的作用<sup>[26]</sup>。JadI 与 JadD、JadE 协同完成环化过程。在聚酮碳链 C9 被 JadE 还原后,JadD 和 JadI 协同作用于 C9 还原的 20 碳中间体,生成角蕈环化

合物 UWM6。而丁省霉素合成过程中的两个环化酶 TcmN 和 TcmI 在功能上是独立的,首先是 TcmN 与 Tcm 最小聚酮合酶协作产生 TcmF2,然后 TcmI 将 TcmF2 转化为 TcmF1<sup>[25, 27]</sup>。组合表达及基因互换试验表明:JadI, TcmI 等第 4 环环化酶可能离开原始的环境后就失去了原本的功能<sup>[26, 28]</sup>。

**2.3.3 TcmI 的晶体结构及其催化机制:**TcmI 的晶体结构已经解出,显示 TcmI 蛋白为二聚体,其单体具有与类铁氧还蛋白类似的  $\beta\alpha\beta$  折叠方式<sup>[7]</sup>,包含 1 个反平行折叠片和 3 个  $\alpha$  螺旋,并形成一疏水性的口袋(图 4)。这种折叠方式与聚酮单加氧酶 ActVA-Orf6 类似<sup>[29]</sup>。

TcmI 与底物的结合方式还不明确,但由于在 TcmI 和 ActVA-Orf6 蛋白的类似位置都存在一个大的空穴,我们可以推测这个空穴就是 TcmI 的活性部位。空穴位于  $\beta$  折叠片和 3 个  $\alpha$  螺旋层之间,内部含有很多疏水性残基,可以与疏水性的芳香化合物结合。定点突变及酶活力测定等实验推测空穴内的 His26、Arg40、His51 和 Asp27 是 TcmI 的活性位点,这几个活性位点只是与底物或者空穴内的水分子形成氢键或者发生极性相互作用而不是直接参与催化反应<sup>[7]</sup>,可能是提供一种微环境使环化向特定的方向进行,而不是采用酸碱催化机制,提供特定的催化基团<sup>[30]</sup>。

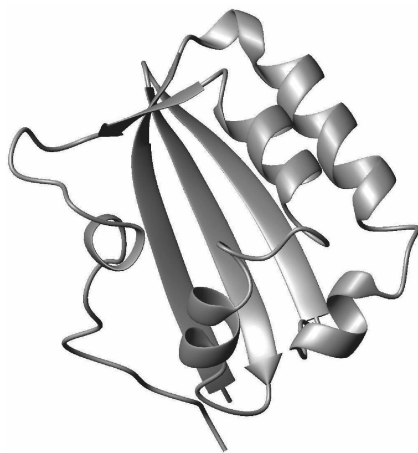


图4 TcmI 蛋白亚基的结构示意图

Fig. 4 Schematic view of the subunit of TcmI.

## 2.4 杰多霉素合成途径中环化酶 JadD 和 JadI 功能的研究

杰多霉素 B 是角蕈环聚酮化合物的代表,其生物合成机理的研究对于理解合成新的角蕈化合物规律有重要的意义。目前对杰多霉素 B 环化酶的研究主要在两个方面展开:序列分析表明 JadD 和 JadI 是杰多霉素 B 生物合成途径中的环化酶;而它们的异源表达,表明 JadD 催化杰多霉素 B 第 1 环的环

化,而 JadI 催化后续中环化过程。但是由于未分离到这两个酶的作用底物,也就未能推测出其精确的反应机理<sup>[20, 26]</sup>。

环化酶功能的研究有多种方式,如:对野生株的环化酶进行阻断、突变等,构建不同的环化酶基因突变株,期望获得不同的中间物,最后通过对中间物进行结构分析推测生物合成机理。本实验室采用基因阻断即双交换插入失活的方法对杰多霉素环化酶 JadD 和 JadI 进行了基因敲除,获得了 3 个突变株。其中 JadD 起始密码子和终止密码子之间 777 bp 替换为带有正向启动子的卡那霉素抗性基因。而 JadI 缺失了起始密码子和终止密码子之间的 273 bp,替换为带有正向和反向启动子的 998bp 的卡那霉素抗性基因。对突变株发酵产物进行 HPLC 及 LC-MS 分析后发现:3 个突变株均不产杰多霉素 B 或积累新的代谢产物。这虽然证明了 JadD 和 JadI 在杰多霉素 B 的生物合成中的重要性,但是并没有得到环化酶的可能作用底物。用分别含 JadD 和 JadI 的重组表达载体进行互补实验,互补株产杰多霉素 B 的功能并没有恢复,这说明双交换插入失活影响了下游基因的表达。在研究 JadD 和 JadI 环化机理时,我们还可以再尝试其它的方法,比如在前面突变株基础上采用基因敲入的方法构建环化酶基因删除株,或者构建环化酶基因可能活性位点的定点突变株,最终分离并分析代谢中间产物,推测环化酶合成机理。

### 3 展望

聚酮化合物是一类非常重要的次生代谢产物,很多抗生素和一些其它的药物均属于聚酮类物质。但是多数天然聚酮化合物有其自身的缺点如:生物活性低,毒副作用大等。因此,生产新的聚酮化合物用于发现新药成为一个重要目标。环化酶是聚酮化合物结构多样性的一个非常重要的因素,对这种酶具体的催化反应、作用方式和催化机理的研究有利于我们建立环化酶与聚酮结构的对应关系,从而有利于采用组合生物学方式获得结构功能各异的非天然聚酮化合物。研究发现,将不同的环化酶基因与不同的最小聚酮合酶结合会产生许多新的聚酮化合物,且一般具有母体化合物的结构特征。如将 Act 最小聚酮合酶和环化酶 TcmN 连接会得到 C9/C14 闭环的新化合物 RM77,且具有两种母体天然产物的特征<sup>[21]</sup>。另外,将氟代乙酸作为起始单元可以合成新的氟代聚酮化合物,并影响其环化模式,这也有

望成为组合生物学的另一个有效手段<sup>[31]</sup>。相信随着环化酶催化机理、作用方式等的进一步研究和阐明,人们可以通过生物组合的方法设计和制造出新的具有更高应用价值的聚酮化合物。

### 参考文献

- [1] Hertweck C, Luzhetskyy A, Rebets Y, et al. Type II polyketide synthases: gaining a deeper insight into enzymatic teamwork. *Natural product reports*, 2007, 24 (1):162-190.
- [2] Rix U, Fischer C, Remsing LL, et al. Modification of post-PKS tailoring steps through combinatorial biosynthesis. *Natural product reports*, 2002, 19 (5): 542-580.
- [3] Kallio P, Sultana A, Niemi J, et al. Crystal structure of the polyketide cyclase AknH with bound substrate and product analogue: implications for catalytic mechanism and product stereoselectivity. *Journal of molecular biology*, 2006, 357(1):210-220.
- [4] Torkkell S, Kunnari T, Palmu K, et al. Identification of a cyclase gene dictating the C-9 stereochemistry of anthracyclines from *Streptomyces nogalater*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 2000, 44(2):396-399.
- [5] Sultana A, Kallio P, Jansson A, et al. Structure of the polyketide cyclase SnoaL reveals a novel mechanism for enzymatic aldol condensation. *The EMBO journal*, 2004, 23(9):1911-1921.
- [6] Iyer LM, Koonin EV, Aravind L. Adaptations of the helix-grip fold for ligand binding and catalysis in the START domain superfamily. *Proteins*, 2001, 43 (2): 134-144.
- [7] Thompson TB, Katayama K, Watanabe K, et al. Structural and functional analysis of tetracenomycin F2 cyclase from *Streptomyces glaucescens*. A type II polyketide cyclase. *The Journal of biological chemistry*, 2004, 279(36):37956-37963.
- [8] Jakobi K, Hertweck C. A gene cluster encoding resistomycin biosynthesis in *Streptomyces resistomycificus*; exploring polyketide cyclization beyond linear and angucyclic patterns. *Journal of the American Chemical Society*, 2004, 126(8):2298-2299.
- [9] Silvennoinen L, Sandalova T, Schneider G. The polyketide cyclase RemF from *Streptomyces resistomycificus* contains an unusual octahedral zinc binding site. *FEBS Letters*, 2009, 583(17):2917-2921.
- [10] Fritzsche K, Ishida K, Hertweck C. Orchestration of discoid polyketide cyclization in the resistomycin

- pathway. *Journal of the American Chemical Society*, 2008, 130(26):8307-8316.
- [11] Zhang W, Watanabe K, Wang CC, et al. Investigation of early tailoring reactions in the oxytetracycline biosynthetic pathway. *The Journal of biological chemistry*, 2007, 282(35):25717-25725.
  - [12] Gullon S, Olano C, Abdelfattah MS, et al. Isolation, characterization, and heterologous expression of the biosynthesis gene cluster for the antitumor anthracycline steffimycin. *Applied and environmental microbiology*, 2006, 72(6):4172-4183.
  - [13] Kiinzel E, Wohler SE, Beninga C, et al. Tetracenomycin M, a novel genetically engineered tetracenomycin resulting from a combination of mithramycin and tetracenomycin biosynthetic genes. *Chemistry-A European Journal*, 1997, 3(10):1675-1678.
  - [14] Beinker P, Lohkamp B, Peltonen T, et al. Crystal structures of SnoaL2 and AclR: two putative hydroxylases in the biosynthesis of aromatic polyketide antibiotics. *Journal of molecular biology*, 2006, 359(3):728-740.
  - [15] Kim BC, Lee JM, Ahn JS, et al. Cloning, sequencing, and characterization of the pradimicin biosynthetic gene cluster of *Actinomadura hibisca* P157-2. *Journal of microbiology and biotechnology*, 2007, 17(5):830-839.
  - [16] Zawada RJ, Khosla C. Domain analysis of the molecular recognition features of aromatic polyketide synthase subunits. *The Journal of biological chemistry*, 1997, 272(26):16184-16188.
  - [17] Schneider G. Enzymes in the biosynthesis of aromatic polyketide antibiotics. *Current opinion in structural biology*, 2005, 15(6):629-636.
  - [18] Hopwood DA. Genetic contributions to understanding polyketide synthases. *Chemical reviews*, 1997, 97(7):2465-2498.
  - [19] Summers RG, Wendt-Pienkowski E, Motamedi H, et al. Nucleotide sequence of the tcmII-tcmIV region of the tetracenomycin C biosynthetic gene cluster of *Streptomyces glaucescens* and evidence that the tcmN gene encodes a multifunctional cyclase-dehydratase-O-methyl transferase. *Journal of Bacteriology*, 1992, 174(6):1810-1820.
  - [20] Meurer G, Gerlitz M, Wendt-Pienkowski E, et al. Iterative type II polyketide synthases, cyclases and ketoreductases exhibit context-dependent behavior in the biosynthesis of linear and angular decapolyketides. *Chemistry & biology*, 1997, 4(6):433-443.
  - [21] McDaniel R, Hutchinson CR, Khosla C. Engineered biosynthesis of novel polyketides: analysis of TcmN function in the tetracenomycin biosynthesis. *Journal of the American Chemical Society*, 1995, 117(26):6805-6810.
  - [22] Shen B, Summers RG, Wendt-pienkowski E, et al. The *streptomyces glaucescens* tcmKL polyketide synthase and tcmN polyketide cyclase genes govern the size and shape of aromatic polyketides. *Journal of the American Chemical Society*, 1995, 117(26):6811-6821.
  - [23] Metsä-Ketela M, Ylihönko K, Mantsala P. Partial activation of a silent angucycline-type gene cluster from a rubromycin beta producing *Streptomyces* sp. PGA64. *The Journal of antibiotics*, 2004, 57(8):502-510.
  - [24] Ames BD, Korman TP, Zhang W, et al. Crystal structure and functional analysis of tetracenomycin ARO/CYC: implications for cyclization specificity of aromatic polyketides. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2008, 105(14):5349-5354.
  - [25] Shen B, Nakayama H, Hutchinson CR. Isolation and structural elucidation of tetracenomycin F2 and tetracenomycin F1: early intermediates in the biosynthesis of tetracenomycin C in *Streptomyces glaucescens*. *Journal of natural products*, 1993, 56(8):1288-1293.
  - [26] Kulowski K, Wendt-Pienkowski E, Han L, et al. Functional characterization of the JadI gene as a cyclase forming angucyclinones [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 1999, 121(9):1786-1794.
  - [27] Shen B, Hutchinson CR. Tetracenomycin F2 cyclase: intramolecular aldol condensation in the biosynthesis of tetracenomycin C in *Streptomyces glaucescens*. *Biochemistry*, 1993, 32(41):11149-11154.
  - [28] Wohler SE, Wendt-Pienkowski E, Bao W, et al. Production of aromatic minimal polyketides by the daunorubicin polyketide synthase genes reveals the incompatibility of the heterologous DpsY and JadI cyclases. *Journal of natural products*, 2001, 64(8):1077-1080.
  - [29] Valton J, Mathevon C, Fontecave M, et al. Mechanism and regulation of the Two-component FMN-dependent monooxygenase ActVA-ActVB from *Streptomyces coelicolor*. *The Journal of biological chemistry*, 2008, 283(16):10287-10296.
  - [30] Bao W, Wendt-Pienkowski E, Hutchinson CR. Reconstitution of the iterative type II polyketide synthase for tetracenomycin F2 biosynthesis. *Biochemistry*, 1998, 37(22):8132-8138.
  - [31] Hong H, Spiteller D, Spencer JB. Incorporation of

fluoroacetate into an aromatic polyketide and its influence  
on the mode of cyclization. *Angewandte Chemie*

(*International ed. in English*), 2008, 47 ( 32 ):6028-  
6032.

# Structural classification and functional analysis of aromatic polyketide cyclases-A review

Xia Zhang<sup>1</sup>, Keqiang Fan<sup>2</sup>, Hongyu Li<sup>1\*</sup>, Keqian Yang<sup>2\*</sup>

(<sup>1</sup> School Of Life Sciences, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China)  
(<sup>2</sup> State Key Laboratory of Microbial Resources, Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

**Abstract:** Polyketides represent a large group of natural products with diverse structures and biological activities, which could be divided into two structural types: aromatic polyketides and complex polyketides. Cyclases are key enzymes involved in the early tailoring reactions after polyketide chain synthesis; they act in concert with other early tailoring enzymes to control the folding and cyclization pattern of aromatic polyketides. Therefore, they are the key determinants of the final polyketide scaffold. Here, we classified cyclases involved in aromatic polyketide biosynthesis based on their sequences and structures. The reactions catalyzed by these cyclases and the possible catalytic mechanisms were described. We also described the research progress on the characterization of cyclases in jadomycin B biosynthesis.

**Keywords:** polyketide post-modification enzymes; cyclase; crystal structure; catalytic mechanism

( 本文责编:王晋芳 )

Supported by the International Science and Technology Cooperation Project of Gansu Province (090WCGA900)

\* Corresponding authors. Tel/Fax: + 86-10-64807459, E-mail: yangkq@ im. ac. cn ( keqian Yang ); Tel: + 86-931-8912560, Fax: + 86-931-8912561, E-mail: lihy@ lzu. edu. cn ( Hongyu Li )

Received: 26 October 2009/ Revised: 17 December 2009

## 《微生物学报》2010 年栏目调整

近年来,随着期刊建设的需要、以及期刊的编辑出版出现的问题,在 2010 年对《微生物学报》的栏目进行调整。

1. 设立一个新的栏目——“专论”

随着期刊建设的需要,为了丰富学报的内容,编辑部需要争取一些特约稿。这些稿件的内容会有别于本刊 57 年来贯有的模式,另立一个“专论”栏目,与“研究报告”和“研究简报”并列。将不定期试行,欢迎国内、外微生物研究领域的专家们为本刊撰文! 这个栏目的稿件来源如下:

(1) 本刊新增的“专论”栏目,作者范围定位在:① 国内、外的知名专家;② 国家基金委等部门的管理者;③ 国家 973、863 等重大项目专家组的专家。邀请他们结合自己的研究领域、各自的工作为学报撰文。

(2) 考虑到“编委投稿综述”计划,也接受编委个人撰写的另外形式的文章,不必按照《微生物学报》综述要求的撰写。

2. 将每月一篇的“学科先贤”变更为每两个月刊出一篇

(1) 创建过程:为了让人们了解我国微生物领域的开拓者,从 2005 年 4 月开始《微生物学报》增加了一个新的栏目——“学科先贤”,每期刊出一篇人物传记。这个栏目出现后倍受人们的关注。

(2) 变更原因:从 2008 年开始《微生物学报》改为月刊(每期 144 页),已运行两年。先贤的简介内容虽说只有短短 4000 多字,但是其内容涵盖了先贤们详尽的历史资料,特约撰稿人需要通过多方渠道搜集,每个月完成一篇实属不易。因此编辑部决定进行调整,由每月一篇变更为两个月一篇,在偶数期上刊出。