

杨克迁研究员的链霉菌研究历程

杨克迁, 男, 博士, 研究员, 1964 年 12 月 9 日生于北京, 2017 年 3 月 21 日卒于北京。

杨克迁研究员出生在一个知识分子家庭, 自小受到良好的教育。1981 年以优异的成绩考取中国海洋大学生物系。1985 年以全系第一的成绩考取国家公派留学资格, 在四川外国语学院和北京外国语学院培训两年后, 赴加拿大达尔豪斯大学生物系攻读博士学位, 1993 年获博士学位。1993–1999 年, 先后在加拿大达尔豪斯大学生物系 Leo C. Vining 实验室和加拿大不列颠哥伦比亚大学 Julian E. Davies 实验室从事博士后研究。1999–2001 年, 在美国芝加哥 FermaLogic Inc. 公



杨克迁遗像
(1964–2017)

司担任高级研究员、项目负责人。尽管已取得加拿大国籍, 杨克迁研究员毅然于 2001 年回国工作。2001–2003 年, 任中国科学院微生物研究所副研究员; 2003–2017 年, 任中国科学院微生物研究所研究员、博士生导师。

杨克迁研究员热爱科学研究, 拥有严谨的科学态度、精益求精的学术作风; 时时展现出敏锐的思维、探索新的科学领域的勇气及忘我的敬业精神。他一生从事链霉菌次级代谢相关的基础及应用研究, 特别是对委内瑞拉链霉菌产生的非典型角蕈环类化合物杰多霉素生物合成和调控机制进行了全面、深入、系统的解

析, 堪称是链霉菌次级代谢合成、调控研究的范例(其中调控机制解析与谭华荣研究员合作完成)。在以上系统工作的基础上, 杨克迁研究员带领团队开展了三个方向的研究: (1) 其它角蕈环类次级代谢产物生物合成机制的研究; (2) 解析链霉菌关键调控网络的研究; (3) 链霉菌合成生物学元件开发及抗生素工业菌株改造的研究。在上述三个方面都取得了显著的成绩。

委内瑞拉链霉菌产生的非典型角蕈环类次级代谢产物杰多霉素结构独特, 具有一个含氮的六元 B 环和一个含氮的五元内酯 E 环(J Antibiot, 1993), 这表明杰多霉素的生物合成具有复杂的后修饰过程, 存在新颖的生物合成机制; 另外, 杰多霉素只在乙醇刺激、热激、噬菌体感染等特定条件下产生(J Ind Microbiol, 1994), 预示着该次级代谢产物的合成具有复杂的调控机制。杨克迁研究员在攻读博士学位和博后研究期间, 首次在委内瑞拉链霉菌中展开杰多霉素生物合成与调控的研究, 克隆了杰多霉素聚酮骨架合成的关键基因(Microbiology, 1994), 在此基础上逐步获得了其完整的基因簇(J Am Chem Soc, 1999), 并且对基因簇的一些结构基因和调控基因的功能进行了初步探索(Microbiology, 2000; Gene, 2001)。

回国后, 杨克迁研究员继续对杰多霉素的生物合成及其调控进行深入的研究。在杰多霉素生物合成方面, 首先证实了杰多霉素的五元内酯环及其 1 位侧链来源于氨基酸, 并发现氨基酸掺入反应对于不同的氨基酸没有选择性, 推测该反应不需要酶催化(J Am Chem Soc, 2004 与 Jürgen Rohr 教授合作); 并在此理论的指导下利用前体定向生物合成的方法, 合成了一系列杰多霉素衍生物(J Antibiot, 2005; J Antibiot, 2012)。证明三个氧化酶 JadFHG 参与了 B 环氧化开环与氨基酸掺入反应, 三者协同可以完成从中间体 UWM6 到糖苷配体杰多霉素 A 的转化(J Biol Chem, 2005); 发现了一个新的生物合成中间体 prejadomycin, 并证实 JadH 可以催化其 12 位羟化与 4a,12b 位脱水反应, 得到 CR1 并自发氧化成 dehydrorabelomycin(Chembiochem, 2005; Chembiochem, 2010); 证明 JadG 催化 dehydrorabelomycin 发生 B 环氧化开环反应, 并继续与 L-异亮氨酸反应生成杰多霉素 A, 反应需要 FADH₂ 提供还原力(Chem Biol, 2012)。至此, 完整地揭示了杰多霉素生物合成过程中, 从典型角蕈环骨架中间体 UWM6 合成杰多霉素特有骨架的全过程, 解决了这一困扰多年的难题。同时, 为了阐明杰多霉素生物合成复杂的调控机制, 杨克迁研究员与谭华荣研究员合作, 对杰多霉素生物合成基因簇的三个调控基因 *jadR1*、*jadR2* 和 *jadR** 的调控机制进行了系统研究(Proc Natl Acad Sci USA, 2009; J Biol Chem, 2010; Mol Microbiol, 2011; Mol Microbiol, 2013): *JadR1* 属于非典型应答调控蛋白, 它能够激活杰多霉素生物合成基因簇而抑制自身编码基因的转录, 然而 *JadR1* 对自身编码基因的抑制仅发生在杰多霉素大量产生之前, 杰多霉素则可以与 *JadR1* 直接结合从而导致 *JadR1* 从其识别的启动子上脱离。这一工作首次揭示了非典型应答调控蛋白能够结合小分子配体在转录水平上反馈调控基因簇的表达(Proc Natl Acad Sci USA, 2009); *JadR2* 被证实是假 γ -丁酸内酯受体, 通过与 *jadR1* 的启动子直接结合, 负调控杰多霉素生物合成基因簇的转录, 并且 *JadR2* 也能直接感应杰多霉素来实现反馈激活基因簇的表达, 同时 *JadR2* 还能够感应氯霉素, 在委内瑞拉链霉菌实现抗生素生物合成的交互调控(J Biol Chem, 2010; Mol Microbiol, 2011); *JadR** 主要通过阻遏 *jadY* 的转录, 控制 *JadY* 为杰多霉素生物合成中间体 dehydrorabelomycin 的氧化开环提供还原力 FADH₂。而 dehydrorabelomycin 的积累则能够解除这种阻遏作用, 从而前馈激活还原力(FADH₂) 的供给, 实现精细调控杰多霉素的生物合成, 这种调控机制避免了还原力的浪费(Mol Microbiol, 2013)。不难发现, 杰多霉素产生菌进化出的这些精细调控过程, 正是目前合成生物学设计所期望的动态控制。

在清楚地解析了杰多霉素的生物合成途径后, 杨克迁研究员带领团队又进一步对其它角蕈环类化合物的生物合成机制进行深入探索, 希望系统地阐明该类次级代谢产物的生物合成机制。他与芬兰图尔库大学 Mikko Metsä-Ketelä 博士合作, 发现氧化酶 JadH 与其同源蛋白 PgaE、UrdE 的催化功能发生了分化。在发生氧化开环和骨架变形的杰多霉素生物合成中, JadH 催化 prejadomycin 发生 12 位羟化与 4a,12b 位脱水反应, 而在不发生骨架变形的 gaudimycin 与 urdamycin 生物合成中, PgaE 与 UrdE 没有脱水酶活性, 而是催化 12 位与 12b 位羟化反应(Chem Biol, 2012; Biochemistry, 2013)。杨克迁研究员也对其他发生骨架变形的非典型角蕈环聚酮, 如醌那霉素(kinamycin)的氧化开环过程展开的研究, 发现 JadG 的同源蛋白 AlpJ 也可以催化 dehydrorabelomycin 发生氧化开环反应, 但是生成产物是具有 kinamycin 骨架结构的 benzofluorene 中间体及其二聚体; 另一个氧化酶 AlpK 也可以用于为 AlpJ 提供辅因子 FADH₂, 并且在引导开环产物走向正确的生物合成途径中发挥作用(Chem Commun, 2015)。发现 Alp1U 与 Lom6 为环氧水解酶, 参与醌那霉素与 lomaiviticin 的 A 环氧化修饰过程(Nat Commun, 2015)。这些结果表明, 聚酮后修饰氧化酶的催化功能发生分化, 对于形成多种多样的聚酮化合物具有关键作用。

在系统研究了杰多霉素生物合成的调控机制后, 杨克迁研究员意识到链霉菌转录水平的调控是一个复杂的网络, 而实现对调控网络系统认识的前提是建立适用于微生物的方便、高效的调控网络研究方法。为此杨克迁研究员带领团队首先展开了调控网络研究方法的探索工作。通过合成生物学遗传电路设计, 建立抑制蛋白筛选的 Biosensor, 实现了在全基因组水平筛选目的基因的抑制蛋白(Sci Rep, 2015); 进一步利用这一 Biosensor 和成熟的 ChIP-seq 技术, 在模式链霉菌天蓝色链霉菌和阿维菌素生产菌阿维链霉菌鉴定了若干调控通路、feed forward loop motif 和局部调控网络(Sci Rep, 2015), 丰富了对链霉菌复杂调控系统的认识。利用这一 Biosensor, 还首次发现了链霉菌 γ -丁酸内酯信号在转录水平上的关闭机制(Mol Microbiol, 2011); 首次解析了角蕈环抗生素作为链霉菌信号分子的普适性及其信号转导通路(Proc Natl Acad Sci U S A, 2014), 拓宽了对链霉菌次级代谢产物真正生理功能的认识。

杨克迁研究员始终不忘应用研究, 期望把对抗生素生物合成和调控机理的认识应用到实际生产中, 更好地服务国民经济。回国后, 杨克迁研究员首先展开了对青霉素扩环酶改造的研究, 希望利用生物扩环的方法替代化学扩环制造头孢类抗生素。通过序列比对、结构分析与定点突变, 发现了多个可提高对青霉素 G 催化活性的有利突变(Appl Microbiol Biotechnol, 2012); 进一步将已知的有利突变迭代组合, 获得了一系列可以高效催化青霉素 G 扩环的扩环酶突变体(Appl Environ Microbiol, 2012)。然后与陶勇研究员合作, 阻断大肠杆菌的三羧酸循环, 并导入青霉素扩环酶高活力突变体重建, 促使大肠杆菌利用扩环酶完成三羧酸循环, 从而构建了高效的全细胞转化体系(Proc Natl Acad Sci USA, 2015)。由于杨克迁研究员在青霉素扩环酶改造与应用方面取得的成就, 2016 年应邀为 J Ind Microbiol Biotechnol 撰写了综述。在链霉菌抗生素工业菌改造方面, 杨克迁研究员先后与海正药业开展克拉维酸的工业菌改造(Metab Eng, 2009; Appl Environ Microbiol, 2012), 与圣雪大成有限公司开展四环类抗生素的工业菌改造(Microb Cell Fact, 2015; Appl Microbiol Biotechnol, 2016)。通过建立报告基因引导的高产突变株筛选等工业菌改造新方法(Metab Eng, 2009; Metab Eng, 2015), 使公司菌株产量得到有效提高。同时, 在应用研究的过程中杨克迁研究员意识到链霉菌表达控制元件十分匮乏, 如组成型启动子只有一个 *ermE**在代谢工程中得到广泛应用, 这严重制约着抗生素工业菌改造工作。于是杨克迁研究员带领团队在链霉菌中开发了一个高效的强启动子 *KasO**(Appl Environ Microbiol, 2013); 同时筛选了 166 个链霉菌适用的组成型启动子(Microb Cell Fact, 2015; Sci Rep, 2015)。另外还通过从头筛选合适的表达控制元件, 进而进行系统的表征、组装和测试, 建立一个链霉菌的严谨诱导表达系统(ACS Synth Biol, 2016)。这些表达控制元件目前已被国内外 50 多家实验室使用, 在 Jay D Keasling 教授(ACS Synth Biol, 2016)、张立新教授(Proc Natl Acad Sci USA, 2015)、Huimin Zhao 教授(Nat Chem Biol, 2017)、刘天罡教授(ACS Synth Biol, 2017)和娄春波研究员(Proc Natl Acad Sci USA, 2015)等发表的文章中都受到良好的评价。这些同行的认可, 是对杨克迁研究员工作的最大肯定。

杨克迁研究员在链霉菌的抗生素生物合成和调控领域、以及高产菌工程改造应用研究方面都取得了显著的成绩, 以通讯作者发表了有影响力的文章, 其中有 3 篇文章发表于 PNAS, 一篇文章发表于 Nat Commun, 一篇文章发表于 JACS。同时, 还在 Metab Eng、Mol Microbiol、J Biol Chem、Chem Commun 等高端杂志发表多篇文章。此外, 他与公司合作展开的应用研究, 切实地提升了一些企业的技术水平。

作为一名导师, 杨克迁研究员关爱学生成长, 在学业、生活等各个方面关怀与帮助每一名学生, 尽心尽力地为国家培养生物学研究人才, 于 2012 年和 2016 年两次荣获中国科学院微生物研究所所长奖教金优秀奖。他一生培养了 16 名博士, 4 名博士后, 7 名硕士。得益于杨克迁研究员的言传身教, 这些学生几乎都在国内外的科研机构继续着科研工作, 其中已有 7 名获得高级职称; 一些较早毕业的学生已经开始了独立的科研工作, 如: 陈义华研究员、郑舰艇教授分别获得优青、青千人才项目的支持。他们在各自的研究岗位上努力工作, 为中国的链霉菌次级代谢研究贡献着自己的力量。

杨克迁研究员胸有壮志, 期望能让中国的生物技术产业升级换代, 赶超发达国家。他在自己感兴趣的链霉菌次级代谢领域埋头钻研, 并以理论为指导, 结合抗生素产业的实际, 欲展宏图。很遗憾的是, 杨克迁研究员在他的科研事业正迅速发展的时候, 不幸地离开了我们。他的不幸离世, 是中国链霉菌次级代谢生物合成和调控研究领域的损失。

君所归兮归碧落, 我惟痛矣痛慈长。我们深切缅怀杨克迁研究员!

(王为善, 范可强, 陈义华, 李子龙 供稿)