

微生物学报 *Acta Microbiologica Sinica*
50(4):444-451; 4 April 2010
ISSN 0001-6209; CN 11-1995/Q
<http://journals.im.ac.cn/actamicrocn>

芳香聚酮后修饰氧化酶

季俊杰^{1#}, 范可强^{2#}, 彭晓静³, 田秀云², 戴美学^{1*}, 杨克迁^{2*}

(¹ 山东师范大学生命科学学院, 济南 250014)

(² 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)

(³ 中国矿业大学化学与环境工程学院, 北京 100083)

摘要: 氧化酶在芳香聚酮生物合成后修饰中普遍存在并对终产物的结构产生关键影响。本文简要总结了芳香聚酮后修饰氧化酶中几类最常见的氧化酶的结构和功能, 并以杰多霉素生物合成途径中的后修饰氧化酶为例, 阐明这些氧化酶在后修饰反应中发生作用的方式。并对后修饰氧化酶在组合生物学中的应用做了展望。

关键词: 芳香聚酮; 杰多霉素; 后修饰; 氧化酶

中图分类号: Q554 **文献标识码:** A **文章编号:** 0001-6209 (2010) 04-0444-08

聚酮化合物是由细菌、真菌或植物产生的一大类天然产物, 有复杂多变的化学结构和生物活性, 已经开发为抗癌药物、抗生素、抗寄生虫药物、抗真菌药物、降胆固醇药物及免疫抑制剂等, 用于人类疾病治疗和其它用途。根据其结构, 聚酮类化合物可分为芳香聚酮 (aromatic polyketide) 和复合聚酮 (即大环聚酮类化合物) 两大类。聚酮合酶 (polyketide synthase, PKS) 可分为 I 型、II 型和 III 型。I 型 PKS 一般是由多个模块组成的多功能酶, 每一个模块由一系列非重复的酶功能域构成, 每一个酶功能域完成相应的催化反应。每个模块催化完成一个二碳单位的延伸, 模块中各功能域组成的多样性决定 PKS 合成产物的多样性。III 型 PKS 也称为查耳酮合成酶 (chalcone synthase, CHS), 该型 PKS 直接利用 CoA 的硫酯臂而不是酰基载体蛋白转运中间体。脱羧、聚合、环化和酯化等反应都是在同一个酶的同一个活性中心完成的^[1]。芳香聚酮通常包含一个或多个六元芳香环, 由 II 型聚酮合酶 (polyketide

synthase, PKS) 合成。II 型 PKS 是由多个独立催化亚基共同形成的复合物, 其中既包括合成芳香聚酮碳链部分的最小 PKS (聚酮合酶 α 、聚酮合酶 β 、酰基载体蛋白), 也可能包括酮基还原酶、环化/芳化酶等, 环化后的芳香聚酮核心结构再经过后修饰酶的修饰, 形成最终的产物^[2]。Rix 等认为芳香聚酮后修饰反应最重要的两大类是氧化还原反应和基团转移反应。氧化还原反应中的氧化反应包括不同的单加氧酶或双加氧酶催化的反应, 还原反应以酮还原酶催化的反应为主; 基团转移反应则包括了糖基、烷基、酰基、氨基等的转移反应。除此之外, 聚酮化合物的后修饰还包括卤化、开环等反应^[3]。聚酮合酶决定了聚酮化合物的基本骨架, 后修饰酶则决定了聚酮化合物的最终结构。本文简要总结了芳香聚酮后修饰最常见的几类氧化酶结构功能研究进展, 并以杰多霉素生物合成途径中的后修饰氧化酶为例, 阐明这些氧化酶在后修饰反应中发生作用的方式。在已经鉴定分析的芳香聚酮合成基因簇中, 最

基金项目: 山东省自然科学基金 (Y2007D40)

* 通信作者。杨克迁, Tel/Fax: +86-10-64807459, E-mail: yangkq@im.ac.cn; 戴美学, Tel: +86-531-86180795, E-mail: daimeixue@sdu.edu.cn

作者简介: #对本文有同等贡献。季俊杰 (1984-), 男, 山东临沂, 硕士研究生, 从事青霉素扩环酶的改造研究。E-mail: jijunjie_2004@163.com; 范可强 (1976-), 男, 山东青州, 助理研究员, 博士, 从事扩环酶的改造和杰多霉素的生物合成的研究。E-mail: fankq@sun.im.ac.cn

收稿日期: 2009-10-08; **修回日期:** 2009-11-08

常见的氧化酶是黄素依赖型氧化酶,催化聚酮化合物的羟化反应;另外一类单加氧酶,是一种不需要辅因子的单加氧酶,催化不同形式的加氧反应。

1 不需要辅因子的单加氧酶

在芳香聚酮后修饰氧化酶中有些不需要辅因子或者金属离子,它们包括蒽酮氧化酶(anthrone oxygenase)和 $\alpha + \beta$ 折叠桶家族羟化酶^[4]。

1.1 蒽酮氧化酶(anthrone oxygenase)家族

蒽酮氧化酶(anthrone oxygenase)家族,以 tetracenomycin C 生物合成途径中的 TcmH^[5-6],放线紫红素生物合成中的 ActVA-ORF6^[3,6-10], elloramycinA 生物合成途径中的 ElmH^[6] 等为代表。其中, TcmH 是第一个被分离并鉴定的这类单加氧酶,该酶是一个 12.6 kDa 的蛋白,催化 tetracenomycin C 生物合成中蒽酮类中间体 tetracenomycin F1 氧化生成 tetracenomycin D3,在 C-5 位置引入羰基形成蒽醌结构,因此, TcmH 也被第一个命名为蒽酮氧化酶。来自天蓝色链霉菌的 12 kDa 的蛋白 ActVA-ORF6 与 TcmH 有 39% 的同源性。该酶催化 dihydrokalafungin 的形成。ActVA-ORF6 和 TcmH 的正常生理状态都是二聚体,不需要有机辅因子或者金属离子即可完成催化反应。抑制剂的研究表明, TcmH 中巯基和组氨酸可能参与催化反应。ActVA-ORF6 中没有半胱氨酸而含有两个组氨酸残基,突变实验表明其中 H52 在催化中起着关键的作用^[7]。根据晶体结构的分析,作者提出芳香聚酮底物起到

激活分子氧的作用,进而完成整个氧化反应^[3]。最近研究表明,在 elloramycinA 生物合成途径中一个 12.3 kDa 的蛋白 ElmH^[6],与 TcmH 有 53% 的同源性,并且表现与 TcmH 类似的功能。序列比对显示, TcmH、ElmH 和 ActVA-ORF6 中都含有保守的 P-G-(F/G/W)-(V/L/I)-S-(T/H/R)-(F/Y/V/L)-H motif^[6],可能是活性中心。

1.2 $\alpha + \beta$ 折叠桶羟化酶家族

$\alpha + \beta$ 折叠桶羟化酶家族的代表成员是 SnoaL2 和 AclR,晶体结构模型显示 SnoaL2 和 AclR 活性中心是由一些疏水性氨基酸和极性氨基酸组成的疏水口袋,其晶体结构与环化酶 SnoaL 和 AknH 很相似,都属于 $\alpha + \beta$ 折叠桶的折叠模式。但是其四级结构不同,羟化酶形成二聚体,而环化酶则是四聚体^[11]。一级序列和三级结构的相似性暗示 SnoaL2、AclR 和 SnoaL、AknH 具进化同源性,属于同一个蛋白家族,并表现出分裂演进的现象:其结构相似,而催化反应不同,分别催化羟基化和丁间醇醛缩合。其中, SnoaL2 是 C-1 羟化酶,负责 nogalamycin C-1/C-2 糖基化修饰的第一步。AclR 也能够催化体内的 C-1 羟化作用。

1.3 杰多霉素生物合成后修饰中的不需要辅因子的单加氧酶(JadG)

在杰多霉素(jadomycin)生物合成途径中,也存在一个不需要辅因子的氧化酶:JadG。JadG 是一个 225 氨基酸蛋白,其序列可以分成相似的两半,分别与 ActVA-ORF6/TcmH 长度相当,并表现出较弱的

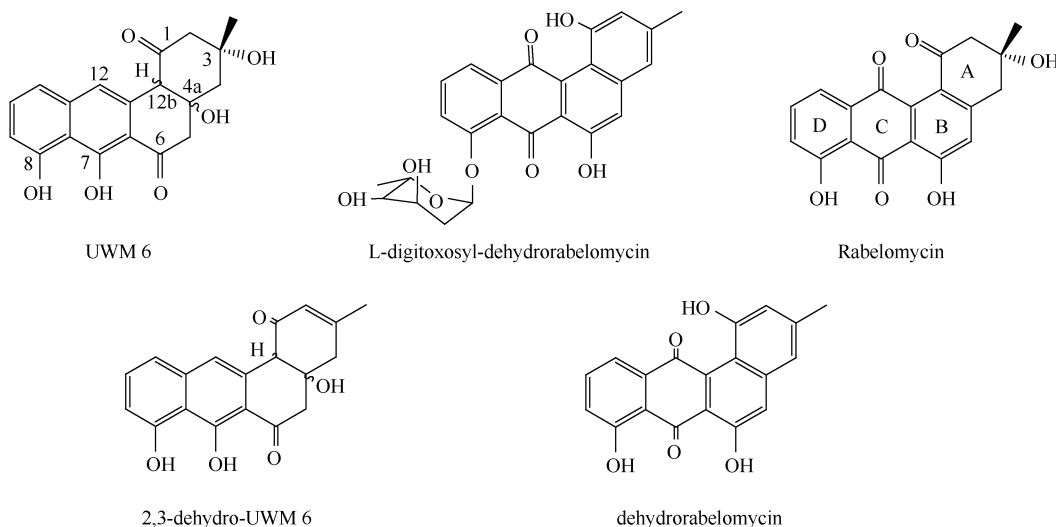


图1 JadG/F/H 阻断实验中的底物和产物的结构^[12]

Fig.1 Structures of metabolites accumulated in *jadF*, *jadG*, and *jadH* disruption mutants. UWM6 is the pathway intermediate not modified by oxygenases; rabelomycin was isolated from *jadF* disruption mutant; 2,3-dehydro-UWM6 was isolated from *jadH* disruption mutant; the other metabolites were isolated from *jadG* disruption mutants.

序列相似性,因此最初推测 *JadG* 在杰多霉素合成过程中催化 C-12 位的氧化。然而,*jadG* 缺失突变株主要积累了 3 种角蕈环类化合物: rabelomycin、dehydro-rabelomycin 和 L-digitoxe-dehydrorabelomycin^[12] (图 1)。这 3 种化合物均是发生了 C-12 位氧化反应的产物,由此推断 *JadG* 并不催化 C-12 位的氧化,目前其功能仍然未知。因为以上 3 种化合物均具有典型角蕈环化合物的结构,而没有杰多霉素经开环再成环形成的五环结构,说明 *JadG* 是杰多霉素开环反应所必需的。同时,序列比对显示与 *JadG* 序列高度相似的蛋白只出现在少数几种发生开环反应的非典型角蕈环聚酮合成基因簇中,如 *gilvocarcin* 合成基因簇中的 *GilOII*^[13] 和 *kinamycin* 合成基因簇中的 *KinG*^[14],暗示 *JadG* 及其同源蛋白在非典型角蕈环聚酮化合物的开环反应中发挥着重要作用。*JadG* 突变株产物中同时存在 rabelomycin 和 dehydrorabelomycin,暗

示 *JadG* 尽管对 2,3-脱水反应并非必需的,但可能会通过蛋白-蛋白相互作用影响 2,3-脱水反应的进程。所以根据实验推测 *JadG* 可能参与开环反应,并影响 *JadF* 或 *H* 催化的脱水反应。但是 *JadG* 功能的确认还需要更深入的研究。

2 芳香聚酮后修饰中的黄素依赖型单加氧酶

芳香聚酮生物合成中除上述不需要辅因子的氧化酶外,最常见的是黄素依赖型单加氧酶。黄素依赖型单加氧酶的研究已经有几十年的历史了,其反应机理已经得到了比较详细地诠释:通过还原型黄素腺嘌呤二核苷酸(FADH₂)激活分子氧,再将活化的氧原子加到底物上。在反应的过程中,NAD(P)H 被消耗以补充反应中 FAD 损失的氧化还原势^[15]。

黄素依赖型单加氧酶普遍存在于各种结构类型

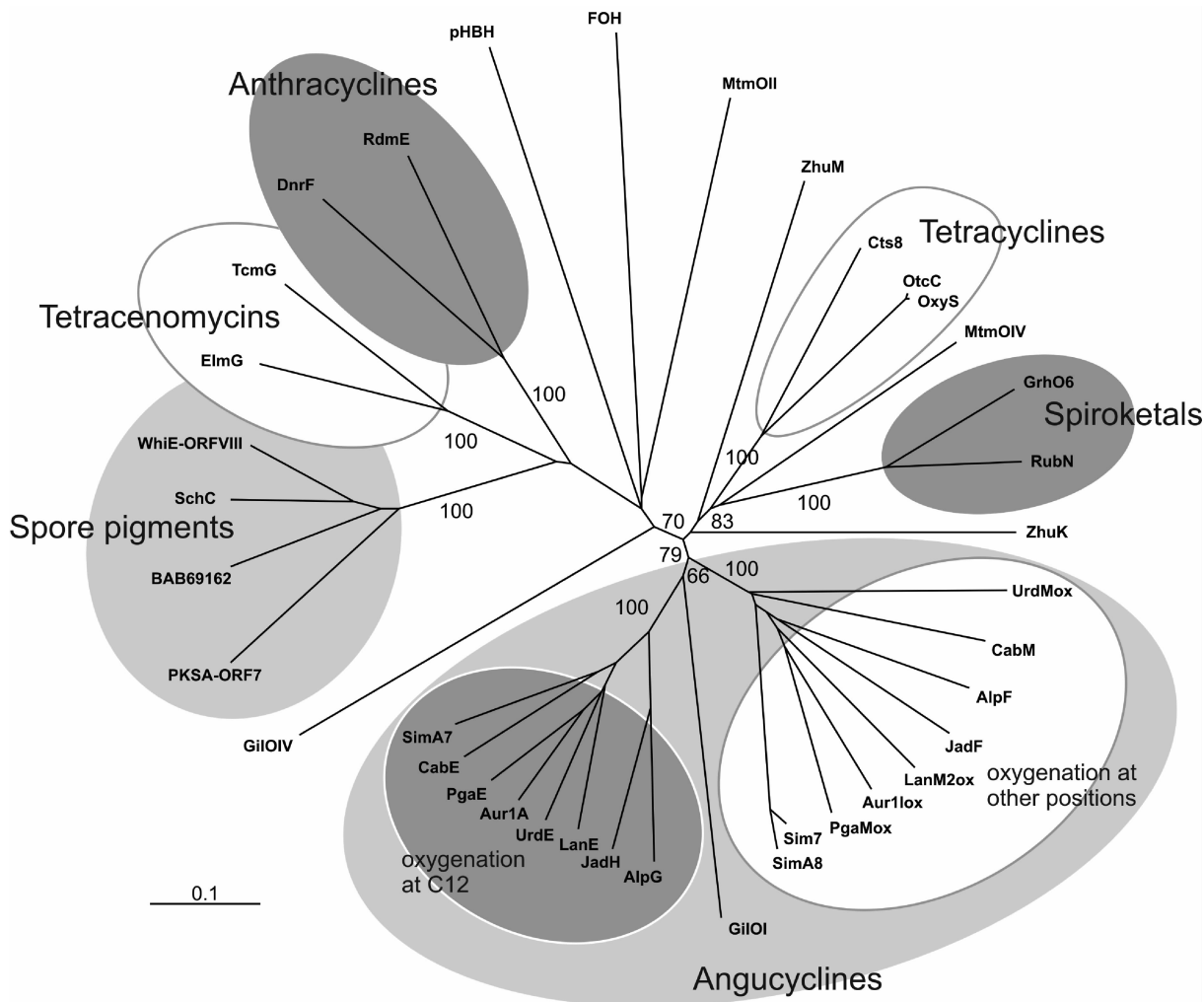


图 2 芳香聚酮生物合成中的黄素依赖型单加氧酶进化树^[15]

Fig. 2 Phylogenetic tree of selected flavin-dependent monooxygenases involved in aromatic polyketide synthesis (Figure kindly provided by Professor Mikko Metsä-Ketelä).

芳香聚酮的生物合成基因簇之中,在已经克隆测序的角蕙环聚酮合成基因簇中均含有至少 2 个此类酶。这些酶都包含两个保守的基序(motif):N 端的 ADP 结合位点,结合 FAD 中的 ADP;C 端的 FAD 结合位点,结合 FAD 的核糖醇基链^[16]。Palmu 等将来源于不同芳香聚酮合成基因簇的黄素依赖型单加氧酶做了进化分析,结果显示进化树的不同分支分别对应了不同骨架结构类型的聚酮化合物^[15](图 2)。参与角蕙环芳香聚酮生物合成的黄素依赖型单加氧酶又分为两支,分别参与不同位置的氧化。其中以 JadH 和 UrdE 为代表的氧化酶,参与底物 12 位的氧化;以 JadF 和 UrdM^[17]为代表的,主要参与 A 环和 B 环的氧化修饰,其中多种酶是双结构域酶,除了含有一个黄素依赖型单加氧酶结构域,还含有一个短链醇脱氢酶/还原酶结构域(SDR)。

尽管黄素依赖型单加氧酶在各种聚酮化合物合成基因簇中广泛存在,但是因为其催化氧化反应的底物和产物很多并不稳定,而且氧化酶之间常常存在协同作用,给氧化酶的功能研究带来很大困难。目前只对少数几种黄素依赖型单加氧酶进行了较深入的研究。体外酶学实验显示 Gaudimycin 合成基因簇中的 PgaE 和 PgaM 两个蛋白协同作用,可以催化底物 UWM6 转化为 Gaudimycin C;同位素标记实验显示产物中 12b 位的氧原子来源于水分子^[18]。作者推测 PgaE 催化了 12 位的羟化,并进一步氧化成醌;PgaM 的 SDR 结构域催化 2,3 位脱水反应,其黄素依赖型氧化酶结构域催化中间体 o-quinone methide 的形成,进而发生水解和分子内氧化还原反

应,得到最终产物。Lombó 等利用异源表达 *oviedomycin* 合成的早期基因和各种氧化酶的组合,对该基因簇中三个氧化酶的功能进行了分析。根据不同氧化酶组合的产物差别,作者推测 OvmOI 催化 C12 位的氧化,可能还有脱水活性;OvmOII 催化 C2 - C3 位的脱水反应和 C4 位的氧化反应;而 OvmOIII 可能与 C2 位的羟化有关^[19]。另外,通过异源表达和基因敲除等实验对 *gilvocarcin*^[20], *Landomycin E*^[21], *Urdamycin*^[22] 合成基因簇中的氧化酶进行了研究,推测它们可能催化不同中间体的羟化反应。还有一些聚酮合成途径中的黄素依赖型单加氧酶没有得到详细的功能研究,只是根据序列特征进行了推测,如 *Auricin* 合成基因簇中的 *Aur1A* 和 *Aur1I*^[23], *Simocyclinone* 合成基因簇中的 *SimA7*、*SimA8* 和 *Sim7*^[24], *Alpomycin* 合成基因簇中的 *AlpG* 和 *AlpF*^[25] 等。

在杰多霉素生物合成途径中也存在两个黄素依赖型氧化酶 JadF 和 JadH, 其中 JadF 与 *Sim7*、*LanM*^[21]、*UrdE*^[26] 分别有 56.6%、56.3%、44.7% 的同源性;JadH 与 *KinO2*、*UrdE*、*SimA7*、*MtmOIV*^[27] 分别有 69.2%、54.9%、53%、38.5% 的同源性^[12]。异源表达杰多霉素早期合成基因(*jadABCDEI*)可以得到角蕙环类化合物 UWM6,体内转化实验表明 UWM6 可被 *JadFGH* 协同作用转化得到糖苷配体杰多霉素 A,这表明 UWM6 是杰多霉素合成的中间体,而 JadF、JadG 和 JadH 三者催化的反应是:2,3 位脱水、4a,12b 位脱水、12 位氧化、B 环开环及氨基酸插入反应^[28](图 3)。对 JadF 和 JadH 功能的研究主要是通过体内基因敲除实验和体外酶学实验两种方

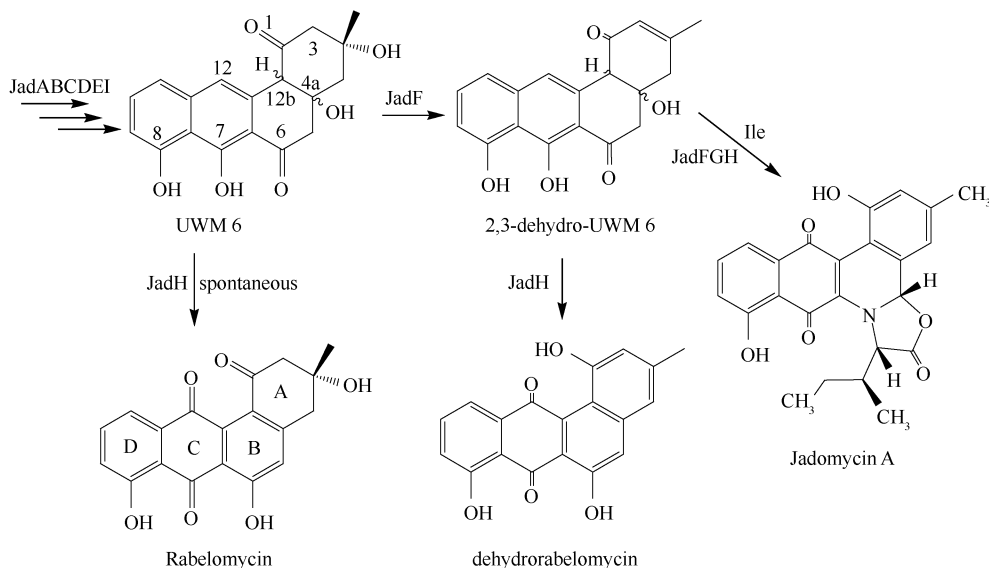


图 3 杰多霉素生物合成中 *JadFH* 可能催化的反应

Fig. 3 Proposed reactions catalyzed by *JadFH*.

法展开。

对杰多霉素产生菌的体内基因敲除实验表明：*jadF* 失活突变株大量积累 rabelomycin，而 *jadH* 的插入失活突变株可以大量积累 2, 3-dehydro-UWM6^[12]。与 UWM6 相比，2, 3-dehydro-UWM6 仅仅发生了 2,3-脱水反应，其余的四步反应都没有发生。*jadF* 和 *jadG* 失活突变株得到的产物均发生了 4a, 12b 位脱水反应和 12 位氧化反应。由此可断定 *JadH* 负责催化这两步反应。体外酶学实验也证实了这一结论。纯化的 *JadH* 在体外可独立催化 UWM6 或 2, 3-dehydro-UWM6 分别生成 rabelomycin 和 dehydrorabelomycin，反应中需要辅因子 NAD(P)H 的参与^[28]。

jadF 失活突变株得到 2, 3 位未发生脱水反应的 rabelomycin，而 *jadH* 和 *jadG* 失活突变株均能得到 2, 3 位脱水产物。而且互补试验证明 *jadF* 的失活并未影响下游基因的表达。这提示 *JadF* 可能催化 UWM6 发生 2, 3 位脱水反应。*jadF* 失活突变株积累的 rabelomycin，应是底物 UWM6 被 *JadH* 催化反应得到的。体内转化实验表明，rabelomycin 不能被 *JadFGH* 协同转化得到杰多霉素 A，而 2, 3-dehydro-UWM6 可以被转化得到杰多霉素 A^[28]。这表明 *JadF* 催化的 2, 3 位脱水反应是 UWM6 修饰过程的第一步，随后应是 *JadH* 催化的 12 位氧化和 4a, 12b 脱水反应。然而，体外酶学实验并没有检测到纯化的 *JadF* 具有任何活性^[28]。这可能是因为

JadF 发挥 2, 3-脱水功能需要其他蛋白的协助，如 *JadG* 或杰多霉素生物合成中的早期基因等。

3 *JadH* 结构模型的初步分析

2007 年，来源于链霉菌中角蕈环聚酮合成基因簇的两个黄素依赖型单加氧酶 *PgaE* 和 *CabE* 的晶体结构确定，使人们对这一类酶的了解更加深入。*PgaE* 和 *CabE* 不仅序列很相似，其三维结构也非常相似^[18]。晶体结构显示，*PgaE* 和 *CabE* 由 3 个相对独立的结构域组成：N 端 FAD 结合结构域（残基 1-172 和 256-375）、中间结构域（残基 173-255）和 C 端结构域（残基 376 以后）。其中 FAD 结合结构域和中间结构域共同完成酶的催化功能，活性中心就位于这两个结构域之间的界面上。在 FAD 的异咯嗪环附近存在 3 个口袋，可能分别用于结合 NADPH、底物和 O₂；底物结合区体积较大，这与它们催化角蕈环中间体的羟化反应相适应。C 端结构域具有硫氧还蛋白折叠模式，但是缺少其中关键的半胱氨酸，其确切功能现在还不清楚，可能参与二聚体的形成。二者的三维结构与以对羟基苯甲酸羟化酶（PHBH）和苯酚羟化酶（PHHY）为代表的芳香羟化酶非常相似，因此被认为存在相同的反应历程和构象变化，P282 可能起到触发和传递构象变化的关键作用。

我们以 *CabE* 为模板，使用 Swiss-Model 服务器

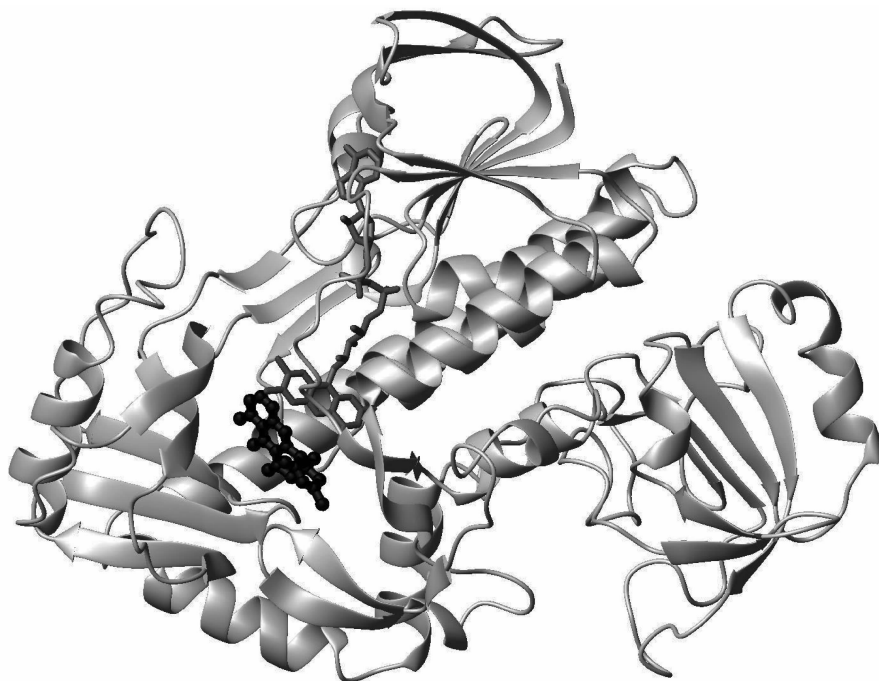


图 4 *JadH* 和 2,3-dehydro-UWM6 复合物的结构模型

Fig. 4 Structural model of the compound of *JadH* and dehydro-UWM6.

构建了 JadH 的三维结构模型, 并使用 PSI-Dock 程序构建 JadH 和 2,3-dehydro-UWM6 复合物的结构模型(图 4)。模型显示底物 2,3-dehydro-UWM6 可以处在 JadH 的 N 端结构域和中间结构域界面上一个疏水口袋之中, 占据有利于 12 位羟化反应的位置, 与酶形成多个氢键和疏水作用。G297 和 G298 主链氨基与 2,3-dehydro-UWM6 的羟基间形成强氢键, 可能是酶与底物间形成特异性识别的关键。总之, 疏水作用和氢键是 JadH 与底物 2,3-dehydro-UWM6 识别与结合的结构基础。

4 讨论和展望

杰多霉素生物合成中的后修饰氧化酶已得到较深入的研究, 确定 JadF、JadG 和 JadH 均参与了杰多霉素形成配糖体杰多霉素 A 的后修饰过程, 并对可能催化各步反应的酶做了推测: 2,3 位脱水可能由 JadF/G 共同催化完成; 4a, 12b 位脱水和 C12 位氧化由 JadH 催化完成; 氨基酸插入则被认为是自发发生的反应。只有 B 环氧化开环中参与的酶和反应机制仍不清楚。体内基因敲除实验和体外生化实验都证明 JadH 是催化 4a, 12b 位脱水和 C12 位氧化的双功能酶^[28]。在参与聚酮合成的黄素依赖型单加氧酶中, 这是第一个得到确切证据的双功能酶。然而脱水反应发生的机制仍然不清楚。由于有多种黄素依赖型单加氧酶被推测也具有脱水活性, 对脱水反应机制展开深入的研究有普遍意义。另外 B 环氧化开环反应机制也是迫切需要深入研究的课题。由于开环后可以进一步形成新的环系, 因此氧化开环/重新成环可以成为已有聚酮化合物改造的方法之一。从已有基因敲除实验的结果来看, 杰多霉素合成中 B 环氧化开环应是发生在两步脱水及 12 位氧化之后。序列比较显示, JadG 可能是开环过程中一个重要角色。但是, 开环反应的底物和反应机制仍不能确定。

聚酮合酶合成的聚酮化合物核心结构一般没有生物活性, 经过后修饰酶的后期修饰才产生了活性各异的聚酮化合物。所以, 对后修饰酶的研究有利于增加对聚酮化合物活性和结构之间关系的理解。不同后修饰反应产生的结构不同的聚酮化合物是其结构多样性的一个重要来源。利用底物专一性较低的后修饰酶, 将它们与不同聚酮合酶进行组合, 可以产生更多有新颖结构的聚酮化合物。对聚酮后修饰酶的研究, 还有助于发现一些具有特殊活性或特殊性质的酶。正是由于聚酮后修饰酶研究的这些潜在

意义, 使这些酶越来越受到人们的重视。

利用组合生物学方法创造新的聚酮化合物的策略, 在 I 型聚酮合成中已经取得很大的成功。其采用的策略是将不同来源的基因或者模块进行组合, 通过对基因或者模块的添加、敲除或者取代, 改变催化单位的数量和顺序, 导致生物合成途径的改变。由于聚酮合酶对外来基因或者模块具有不寻常的兼容性, 组合后已经产生了大量新的聚酮化合物。但是, 组合生物合成的方法也应该包含后修饰酶。由于那些非正常的杂交聚酮化合物并不是催化修饰作用酶的有效底物, 那些具有底物多样性的修饰酶可以作为组合生物合成的候选酶, 例如后修饰氧化酶和糖基转移酶。

参考文献

- [1] Austin MB, Bowman ME, Ferrer JL, et al. An aldol switch discovered in stilbene synthases mediates cyclization specificity of type III polyketide synthases. *Chemistry & biology*, 2004, 11(9):1179-1194.
- [2] McDaniel R, Ebert-Khosla S, Fu H, et al. Engineered biosynthesis of novel polyketides: influence of a downstream enzyme on the catalytic specificity of a minimal aromatic polyketide synthase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1994, 91(24):11542-11546.
- [3] 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.
- [4] Fetzner S. Oxygenases without requirement for cofactors or metal ions. *Applied microbiology and biotechnology*, 2002, 60(3):243-257.
- [5] Rein KS, Borrone J. Polyketides from dinoflagellates: origins, pharmacology and biosynthesis. *Comparative biochemistry and physiology. Part B, Biochemistry & molecular biology*, 1999, 124(2):117-131.
- [6] Rafanan E R Jr, Le L, Zhao L, et al. Cloning, sequencing, and heterologous expression of the elmGHIJ genes involved in the biosynthesis of the polyketide antibiotic elloramycin from *Streptomyces olivaceus* Tu2353. *Journal of natural products*, 2001, 64(4):444-449.
- [7] Sciarra G, Kendrew SG, Miele AE, et al. The structure of ActVA-Orf6, a novel type of monooxygenase involved in actinorhodin biosynthesis. *The EMBO journal*, 2003, 22(2):205-215.
- [8] Kendrew SG, Federici L, Savino C, et al. Crystallization and preliminary X-ray diffraction studies of a monooxy-

- genase from *Streptomyces coelicolor* A3(2) involved in the biosynthesis of the polyketide actinorhodin. *Acta crystallographica. Section D, Biological crystallography*, 2000,56(Pt 4):481-483.
- [9] Okamoto S, Taguchi T, Ochi K, et al. Biosynthesis of actinorhodin and related antibiotics; discovery of alternative routes for quinone formation encoded in the act gene cluster. *Chemistry & biology*, 2009,16(2):226-236.
- [10] 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.
- [11] 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.
- [12] Rix U, Wang C, Chen Y, et al. The oxidative ring cleavage in jadomycin biosynthesis: a multistep oxygenation cascade in a biosynthetic black box. *Chembiochem: a European journal of chemical biology*, 2005,6(5):838-845.
- [13] Liu T, Fischer C, Beninga C, et al. Oxidative rearrangement processes in the biosynthesis of gilvocarcin V. *Journal of the American Chemical Society*, 2004,126(39):12262-12263.
- [14] Gould SJ. Biosynthesis of the Kinamycins. *Chemical reviews*, 1997,97(7):2499-2510.
- [15] Palmu K, Ishida K, Mantsala P, et al. Artificial reconstruction of two cryptic angucycline antibiotic biosynthetic pathways. *Chembiochem: a European journal of chemical biology*, 2007,8(13):1577-1584.
- [16] Filippini S, Solinas MM, Breme U, et al. *Streptomyces peucetius* daunorubicin biosynthesis gene, *dnrF*; sequence and heterologous expression. *Microbiology*, 1995,141(Pt 4):1007-1016.
- [17] Faust B, Hoffmeister D, Weitnauer G, et al. Two new tailoring enzymes, a glycosyltransferase and an oxygenase, involved in biosynthesis of the angucycline antibiotic urdamycin A in *Streptomyces fradiae* Tu2717. *Microbiology*, 2000,146(Pt 1):147-154.
- [18] Kallio P, Liu Z, Mantsala P, et al. Sequential action of two flavoenzymes, PgaE and PgaM, in angucycline biosynthesis; chemoenzymatic synthesis of gaudimycin C. *Chemistry & biology*, 2008,15(2):157-166.
- [19] Lombo F, Abdelfattah MS, Brana AF, et al. Elucidation of oxygenation steps during oviedomycin biosynthesis and generation of derivatives with increased antitumor activity. *Chembiochem: a European journal of chemical biology*, 2009,10(2):296-303.
- [20] Kharel MK, Zhu L, Liu T, et al. Multi-oxygenase complexes of the gilvocarcin and jadomycin biosyntheses. *Journal of the American Chemical Society*, 2007,129(13):3780-3781.
- [21] Zhu L, Ostash B, Rix U, et al. Identification of the function of gene *IndM2* encoding a bifunctional oxygenase-reductase involved in the biosynthesis of the antitumor antibiotic landomycin E by *Streptomyces globisporus* 1912 supports the originally assigned structure for landomycinone. *The Journal of organic chemistry*, 2005,70(2):631-638.
- [22] Rix U, Rensing LL, Hoffmeister D, et al. Urdamycin L: a novel metabolic shunt product that provides evidence for the role of the *urdM* gene in the urdamycin A biosynthetic pathway of *Streptomyces fradiae* TU 2717. *Chembiochem: a European journal of chemical biology*, 2003,4(1):109-111.
- [23] Novakova R, Bistakova J, Homerova D, et al. Cloning and characterization of a polyketide synthase gene cluster involved in biosynthesis of a proposed angucycline-like polyketide auricin in *Streptomyces aureofaciens* CCM 3239. *Gene*, 2002,297(1-2):197-208.
- [24] Trefzer A, Pelzer S, Schimana J, et al. Biosynthetic gene cluster of simocyclinone, a natural multihybrid antibiotic. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 2002,46(5):1174-1182.
- [25] Pang X, Aigle B, Girardet JM, et al. Functional angucycline-like antibiotic gene cluster in the terminal inverted repeats of the *Streptomyces ambofaciens* linear chromosome. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 2004,48(2):575-588.
- [26] Decker H, Haag S. Cloning and characterization of a polyketide synthase gene from *Streptomyces fradiae* Tu2717, which carries the genes for biosynthesis of the angucycline antibiotic urdamycin A and a gene probably involved in its oxygenation. *Journal of bacteriology*, 1995,177(21):6126-6136.
- [27] Gibson M, Nur-e-alam M, Lipata F, et al. Characterization of kinetics and products of the Baeyer-Villiger oxygenase *MtmOIV*, the key enzyme of the biosynthetic pathway toward the natural product anticancer drug mithramycin from *Streptomyces argillaceus*. *Journal of the American Chemical Society*, 2005,127(50):17594-17595.
- [28] Chen YH, Wang CC, Greenwell L, et al. Functional analyses of oxygenases in jadomycin biosynthesis and identification of *JadH* as a bifunctional oxygenase/dehydrase. *The Journal of biological chemistry*, 2005,280(23):22508-22514.

Post-modification oxygenases in the biosynthesis of aromatic polyketides—A review

Junjie Ji¹, Keqiang Fan², Xiaojing Peng³, Xiuyun Tian², Meixue Dai^{1*}, Keqian Yang^{2*}

(¹Shandong Normal University, Jinan 250014, China)

(²State key Laboratory of Microbial Resources, Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

(³China University of Mining and Technology, School of Chemical and Environmental Engineering, Beijing 100083, China)

Abstract: Oxygenases are common tailoring enzymes involved in the biosynthesis of aromatic polyketides, they are critical determinants of the final structure of aromatic polyketides. Here we review the structures and functions of several classes of oxygenases found in the biosynthetic gene clusters of aromatic polyketides. We used the oxygenases (JadFGH) in jadomycin biosynthesis as examples to elucidate the complex roles these oxygenases play and discussed the future prospects of using oxygenases in combinatorial biosynthesis.

Keywords: aromatic polyketide; jadomycin; tailoring reactions; oxygenase

(本文责编:王晋芳)

Supported by the Natural Science Foundation of Shandong Province (Y2007D40)

* Corresponding authors. Tel/Fax: +86-10-64807459, E-mail: yangkq@im.ac.cn; Tel: +86-531-86180795, E-mail: daimeixue@sdu.edu.cn

Received: 8 October 2009 / Revised: 8 November 2009

《微生物学报》审稿程序

问:贵刊的审稿程序是怎样的?一般多长时间可以知道稿件是否被录用?

答:本刊严格遵守“三审制”,即:编辑部内审,专家外审,主编总审。从投稿日期开始,争取在2个月之内给出审稿结果,5-7个月之内发表。

(1)收到来稿后,首先将请2位专家进行初审,再送主编进行最后的总审,这个过程一般不会超过2个月。如果初审2位专家的意见分歧较大,编辑部将再请第3位专家进行初审,之后再送主编总审,那么此稿的审理时间可能会超过2个月。

(2)完成审稿后(即主编给出总审意见),编辑会给作者发出E-mail告知修改意见(包括学术上的和写作格式上的)。作者在返回修改稿后,经本刊审核合格后方可被录用。

在此提醒作者,在没有完成全部审稿之前,不要在远程系统中看到初审意见时就急于返回修改稿件。