

原核生物中土霉味化合物二甲萘烷醇和 2-甲基异茨醇生物合成研究进展

张婷 李德亮¹ 李杰^{2*}

¹湖南农业大学动物科学技术学院,长沙 410128

²中南大学生物科学与技术学院,长沙 410013

摘要:由原核生物蓝藻和放线菌引起的水体土霉异味问题备受世界的关注。本文以土霉味化合物二甲萘烷醇和 2-甲基异茨醇的研究历史为主线,综述了土霉味化合物二甲萘烷醇和 2-甲基异茨醇的化学特性、生物合成途径以及生物合成相关基因和酶等方面的研究进展,探讨了土霉味化合物二甲萘烷醇和 2-甲基异茨醇生物合成研究的重要意义,并展望了土霉味化合物二甲萘烷醇和 2-甲基异茨醇生物合成研究存在的问题及发展的方向。

关键词:二甲萘烷醇, 2-甲基异茨醇, 土霉味, 异味, 生物合成

中图分类号: Q938 文献标识码: A 文章编号: 0001-6209 (2012) 02-0152-08

异味 (off-flavor) 是一个在饮用水、饮料、食品及水产业中频繁发生的问题,美国、加拿大、日本、澳大利亚、欧洲、南非等地区^[1] 已均有报道。近年来,我国水体异味灾害事件也不断发生,在安徽巢湖、江苏太湖、武汉东湖、南京玄武湖、秦皇岛洋河水库、枣阳熊河水库以及无锡自来水等^[2-3] 均出现过不同程度的异味灾害。水体异味问题是水环境问题之一,以前极少被供水行业、水产行业及公众所了解,但因其对社会、经济的负面影响较大,主要体现在危及饮用水安全、降低水产品质量以及增加供水和水产养殖生产成本等方面,故而逐渐被供水行业、水产行业及公众所关注。水体异味种类多样,包含土霉味、氯味、草木味、沼气味、芳香味、鱼腥味、药味及化学药品味等 8 种嗅觉异味,其中由微生物所产生的“土霉异味”是世界范围内备受关注的问題^[4]。研

究表明,土霉异味通常是由化合物二甲萘烷醇 (geosmin) 和 2-甲基异茨醇 (2-methylisoborneol, 2-MIB) 所引起。在水生态系统中,部分蓝藻和放线菌等原核生物是产生上述两种土霉味化合物的主要生物源,绝大多数源水异味与之相关。目前,我国在水体异味方面的研究尚处于起步阶段,研究视野局限在宏观生态调查和生理研究水平上,而对异味化合物合成途径及其生物合成相关基因、酶类缺乏深入了解。本文综述了微生物中土霉味化合物 geosmin 和 2-MIB 生物合成研究进展,希望能对中国水体异味研究的未来发展有所启示。

1 geosmin 和 2-MIB 的化学特性

1965 年, Gerber 和 Lechevalier 从不同放线菌发

基金项目: 国家自然科学基金 (31000183, 31000179)

* 通信作者。Tel/Fax: +86-731-82650230; E-mail: jlee@mail.csu.edu.cn

作者简介: 张婷 (1981-), 女, 湖北广水人, 副教授, 博士, 从事藻类分子生理生态学研究。E-mail: tingzh0517@163.com

收稿日期: 2011-08-20; 修回日期: 2011-11-13

醇液中提取到同一种土腥味物质——geosmin, 淡黄色油状物, 分子式 $C_{12}H_{22}O$, 并于 1968 年将 geosmin 的结构首次确立为反-1,10-二甲基-反-9-萘烷醇 (*trans*-1,10-dimethyl-*trans*-9-decalol) [5-6]。随后, Gerber 又从放线菌中提取出另一种挥发性的霉味代谢物——2-MIB, 白色固体, 分子式 $C_{11}H_{20}O$, 化学结构为 1,2,7,7-四甲基-外型-二环[2,2,1]庚烷-2-醇 (1,2,7,7-tetramethyl-*exo*-bicyclo[2,2,1]heptan-2-ol) [7]。从 geosmin 和 2-MIB 的化学结构 (图 1) 可以看出, geosmin 和 2-MIB 均为饱和的环叔醇类物质, 结构非常稳定, 难以自然降解。此外, geosmin 和 2-MIB 的气味阈值 (odor threshold concentration, OTC) 极低, 分别为 4-20 ng/L 和 6-42 ng/L [8], 水体中只要含有微量的这类物质即可被人的嗅觉所觉察, 影响饮用水水质, 使消费者对饮用水的安全性产生质疑。geosmin 和 2-MIB 还可通过水产动物的鳃和皮肤吸收以及摄食的方式迅速富集于其脂肪组织中, 影响水产品品质, 降低消费者对水产品质量的可接受性。当 geosmin 或 (/ 和) 2-MIB 在脂肪组织中的浓度超过气味阈值 0.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 时, 水产品将不能出售 [9]。综上所述, 土霉味化合物 geosmin 和 2-MIB 具有气味阈值低、挥发性强、抗氧化能力强 (难降解)、双溶等化学特性, 这些特性是长期以来土霉味化合物给许多国家在水体异味处理上造成困扰的直接原因。

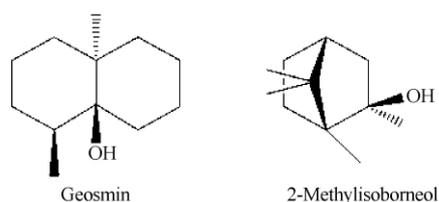


图 1 geosmin 和 2-MIB 的化学结构

Fig. 1 Chemical structures of geosmin and 2-MIB.

2 geosmin 和 2-MIB 的生物合成途径

原核生物中 geosmin 和 2-MIB 生物合成途径研究多集中于前体喂养方法来追溯天然产物的生源途径。起初在链霉菌中进行同位素标记实验 (isotope labelling experiment) 一直未获成功, 直至 1981 年 Bentley 和 Meganathan 才首获成功 [10], 其结果显示: 当添加放射性醋酸盐 ($[2-^{14}\text{C}]$ acetate 或 $[1-^{14}\text{C}]$

acetate) 到链霉菌培养物中, geosmin 和 2-MIB 均显示标记; 当添加具有 1 个示踪甲基的蛋氨酸 (L -[methyl- ^{14}C]methionine) 时, 仅 2-MIB 被示踪。由此他们推测, 2-MIB 是一个甲基化的单萜, 而 geosmin 则是一个已失去 1 个异丙基的倍半萜烯。上述研究让我们认识到, Bentley 和 Meganathan 的研究结果无疑是 geosmin 和 2-MIB 生物合成研究发展史上的一个里程碑, 它为后续的研究打下了良好的基础。

香叶基焦磷酸 (geranyl diphosphate, GPP, C_{10})、法呢基焦磷酸 (farnesyl diphosphate, FPP, C_{15}) 分别是单萜和环状倍半萜烯的直接前体 [11]。在早期的实验中, 添加法呢醇 (farnesol) 至培养物中会降低链霉菌 (*Streptomyces tendae*) 的生物量和 geosmin 产量 [12], 故极少应用此化合物研究萜类化合物的生物合成, 至此该研究在很长一段时间内处于停滞不前的状态。直至最近 10 年, 其它合成前体的使用, 才使得 geosmin 和 2-MIB 生物合成途径研究取得重大进展。遗憾的是, 同位素标记实验在蓝藻中至今尚未成功。

采用同位素标记技术 (isotope labelling technique) 现已在放线菌和粘细菌等原核生物中追溯到 3 条 geosmin 和 2-MIB 生物合成途径, 即 2-甲基赤藓糖醇-4-磷酸 (2-methylerythritol-4-phosphate, MEP) 途径 [13-17]、甲羟戊酸 (mevalonate, MVA) 途径 [10, 14-15] 和 L -亮氨酸途径 [18-19] (图 2)。根据该图可以看出, 3 条合成途径不同底物起始, 经多步反应后均可形成异戊烯基焦磷酸 (isopentenyl diphosphate, IPP), 最终经相同路径产生 2-MIB 或 geosmin。

在这 3 条合成途径中, MEP 途径格外重要, 虽为新近发现, 但在许多细菌类群中它都是 geosmin 或 2-MIB 生物合成的主要途径 [17]。对于蓝藻, 编码 MEP 途径的基因 (*dxs*、*dxr*、*mect*、*cmek*、*mecs*) 已发现于模式生物——集胞藻 (*Synechocystis* sp. strain PCC 6803) 中 [27], 尽管这个属的成员不产生 geosmin, 但也间接说明产生 geosmin 蓝藻中可能存在相似的 geosmin 合成途径。对于链霉菌, 已有多种类型的合成前体运用于 geosmin 生物合成研究中, 结果显示: 当给予被氘化的脱氧木酮糖 ($[5, 5-^2\text{H}_2]$ 1-deoxy-D-xylulose) 而非甲羟戊酸内酯 ($[4, 4, 6, 6, 6-^2\text{H}_5]$ mevalolactone) 时, 链霉菌可产生被

geosmin 生产者^[28]。此外,被氘化的亮氨酸 ($[^2\text{H}_{10}]$ Leucine)、二甲基丙烯酸酯 ($[4,4,5,5,5\text{-}^2\text{H}_6]$ dimethylacrylate)、甲羟戊酸内酯也都成功运用于粘细菌——黄色粘球菌 (*Myxococcus xanthus*) 和桔色标记菌 (*Stigmatella aurantica*) 中^[18]。由此说明,粘细菌不仅使用 MVA 途径作为合成一系列类异戊二烯化合物(包括 geosmin)的主要途径,而且还存在一个从 L-亮氨酸开始的辅助途径。至于 MVA 途径在 geosmin 生物合成中是否是一条普遍且重要的路线,现在仍然缺乏严格的证据,因此有必要发展特定的追踪技术来解决这一难题。2-MIB 的生物合成途径仅 2007 年才被发现。Dickschat 等用示踪前体蛋氨酸 ($[\text{methyl-}^{13}\text{C}]$ methionine) 喂养不同株系的粘细菌——侵蚀侏囊菌 (*Nannocystis exedens*) ,GC/MS 分析显示,源自蛋氨酸的甲基被渗入到 2-MIB 中,其剩余的 10 个碳原子则由 GPP 衍生而来^[20],即 GPP 甲基化形成新的生物合成中间体 2-methyl-GPP,再经环化形成 2-MIB。综上所述,纵观原核生物中 geosmin 和 2-MIB 生物合成途径研究的发展历程,目前至少可以得出以下几点认识:①来自不同分类群的一种或多种生物体中存在着不同的 geosmin 生物合成途径;②蓝藻可能采用 MEP 途径来合成 geosmin;③链霉菌同时采用 MEP 和 MVA 两条途径来合成 geosmin,但二者分工有所不同,即在链霉菌生长状态良好时以 MEP 途径为主,而在其生长状态不佳时则以 MVA 途径为主;④粘细菌合成 geosmin 以 MVA 途径为主,另辅以 L-亮氨酸途径;⑤ 2-MIB 的生物合成依赖于蛋氨酸的参与,为其提供甲基化所必需的甲基基团。

3 geosmin 和 2-MIB 生物合成相关基因和酶

近几年来,随着基因组学和蛋白组学研究的不断深入,一些功能未知的生物合成基因簇被鉴别和测序,新的酶被鉴定,新颖的反应机制被阐明,大大地促进了 geosmin 和 2-MIB 生物合成研究的不断进步。目前,学者们的兴趣点主要集中在阐明 geosmin 和 2-MIB 生物合成的最终步骤上,即线状的合成前体 FPP、GPP 分别如何环化形成环状的萜类化合物 geosmin、2-MIB。由于 geosmin 和 2-MIB 的合成前体 FPP、GPP 都来源于 IPP,那么萜烯合成酶的种类就成为了产物骨架结构的决定因素。

3.1 geosmin

2003 年,两个独立的研究同时从天蓝链霉菌 (*S. coelicolor* A3(2)) 中挖掘出决定 geosmin 生物合成的倍半萜烯合成酶基因,但二者所采用的研究手段有所不同。Gust 等使用 PCR-靶基因置换技术确定了 Sco6073 基因 (*cyc2*),该基因可编码一个具两个结构域的倍半萜烯合成酶,但他们认为仅其中之一是 geosmin 生物合成所必需^[29]。Cane 和 Watt 采用 PCR 扩增技术来确定合成酶的身份,他们发现 SC9B1.20 (= SCO6073) 蛋白的 N-末端结构域 (366 aa) 是一个具有完整功能的环化酶,而 C-末端结构域则无 FPP 环化酶活性^[30]。虽然两个研究的结果不尽相同,但总的来说,二者均证明了 geosmin 合成酶是一个含有两个结构域的蛋白质。此外,尽管后续的研究证实 Gust 等的推测不完全正确,但 Sco6073 基因的发现却引发了一系列关于天蓝链霉菌 (*S. coelicolor* A3(2)) 和阿维链霉菌 (*S. avermitilis*) 中 FPP 如何转化为 geosmin 的详细研究^[21,31-34]。特别值得一提的是,Cane 的研究团队在后续研究中首次发现 geosmin 不是之前所认为的是一种多步合成反应的产物,而是由 Sco6073 基因编码的一种具有两种不同功能的合成酶直接催化 FPP 转化而来,在该合成酶的 N-末端和 C-末端分别存在两个独立的功能活性位点,即 N-末端活性位点负责 geosmin 合成反应的前半部分——FPP 向菌酸烯 (germacradienol) 的转变,之后,所产生的菌酸烯会被传送到 C-末端活性位点,从而完成 geosmin 的合成^[21]。由 FPP 形成 geosmin 的生物合成过程(图 3)可看出,线状的合成前体 FPP 是先经由环化反应生成环状的中间体菌酸烯,再经由分裂-重排反应才生成环状的最终产物 geosmin。

与放线菌相比,蓝藻的 geosmin 生物合成研究相对滞后,其工作的开展最初是建立在链霉菌的研究基础之上,辅以生物信息学手段,才在产 geosmin 蓝藻——席藻 (*Phormidium* sp.) 中挖掘出与 *cyc2* (*S. coelicolor*) 和 *geoA* (*S. avermitilis*) 相似的基因 *geoA1* 和 *geoA2*^[35]。随后,Agger 等^[36] 和 Giglio 等^[22] 也同时在模式蓝藻发菜 *Nostoc punctiforme* PCC 73102 (ATCC 29133) 中发现其可能的 geosmin 合成酶,该酶具有与天蓝链霉菌 (*S. coelicolor*) geosmin 合成酶相似的生化活性。此外,作者在产 geosmin 蓝藻——库氏鞘丝藻 (*Lyngbya kuetzingii*) 中也发现了

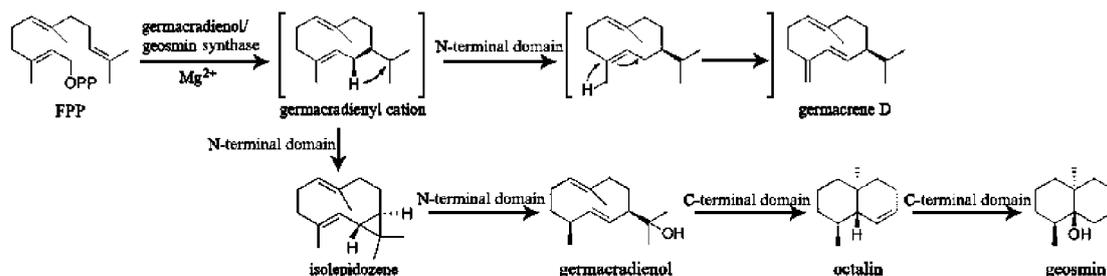
图3 由 FPP 形成 geosmin 的环化机制^[21-22, 26]

Fig. 3 Mechanisms of cyclization of FPP to geosmin.

与 *cyc2* 相似的基因 (尚未发表), 故推测蓝藻中 FPP 向 geosmin 转化的生物合成过程可能与放线菌相似。

3.2 2-MIB

长期以来, 关于 2-MIB 生物合成相关基因和酶的研究始终是一片空白, 直至 2008 年才有突破性的进展。Wang & Cane^[23] 和 Komatsu^[24] 等几乎同时在链霉菌中发现了一个负责 2-MIB 生物合成的双基因操纵子。其中, 一个基因 (*sco7701*) 的表达产物可能是一个甲基转移酶 (C-methyltransferase), 依赖腺苷

蛋氨酸 (S-adenosyl-L-methionine, SAM) 可将 GPP 转化为 2-methyl-GPP; 而另一个基因 (*sco7700*) 的表达产物则可能是一个单萜环化酶, 在 Mg^{2+} 存在条件下促使 2-methyl-GPP 形成 2-MIB (图 4)。这与 2007 年的喂养示踪实验^[22] 结果一致, 由此看来, 放线菌和粘细菌可能具有相同的 2-MIB 生物合成过程。另图 4 与图 3 相比, 不难发现, 线状的合成前体 GPP 的环化过程与 FPP 的迥然不同, 即前者的环化反应是发生在环化过程的后半部分。

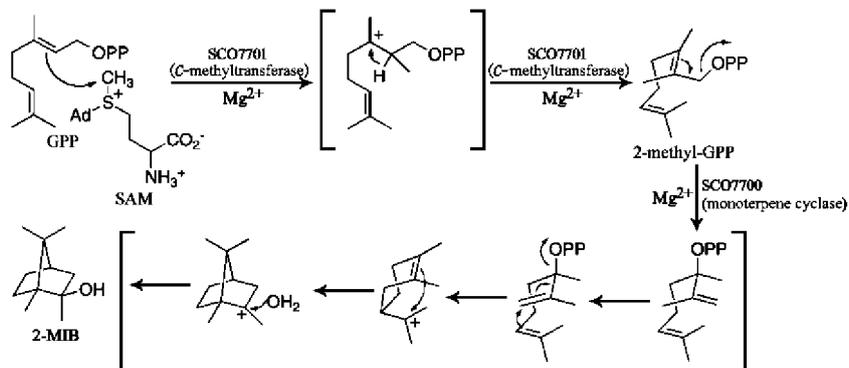
图4 由 GPP 形成 2-MIB 的环化机制^[20, 23-26]

Fig. 4 Mechanisms of cyclization of GPP to 2-MIB.

至于蓝藻是否也采用此反应过程进行 2-MIB 的生物合成, 今年最新的研究报道显示, Giglio 等^[25] 和 Wang 等^[37] 分别在产 2-MIB 蓝藻——湖泊伪鱼腥藻 (*Pseudanabaena limnetica*)、伪鱼腥藻 (*Pseudanabaena* sp.) 和 *Planktothricoids raciborskii* 中找到了负责 2-MIB 生物合成的双基因操纵子, 其基因排列顺序与绝大多数放线菌的方向相反 (图 5), 但其基因表达产物的酶学功能却均与 SCO7700、SCO7701 蛋白相同。由此可推测, 在产 2-MIB 的原核生物中, 经由线状合成前体 GPP 形成环状终产物

2-MIB 的生物合成过程可能是相同的。

4 展望

综上所述, 近 10 年来, 随着分子生物学技术的快速发展, 人们对蓝藻、放线菌的 geosmin 和 2-MIB 生物合成机制有了更加深入的认识。有关 geosmin、2-MIB 的生物合成途径被阐明, 关键的合成酶基因被鉴定, 但控制 geosmin、2-MIB 产生的关键调控机制尚不清楚, 有待深入探讨。作者研究发现, 处于不

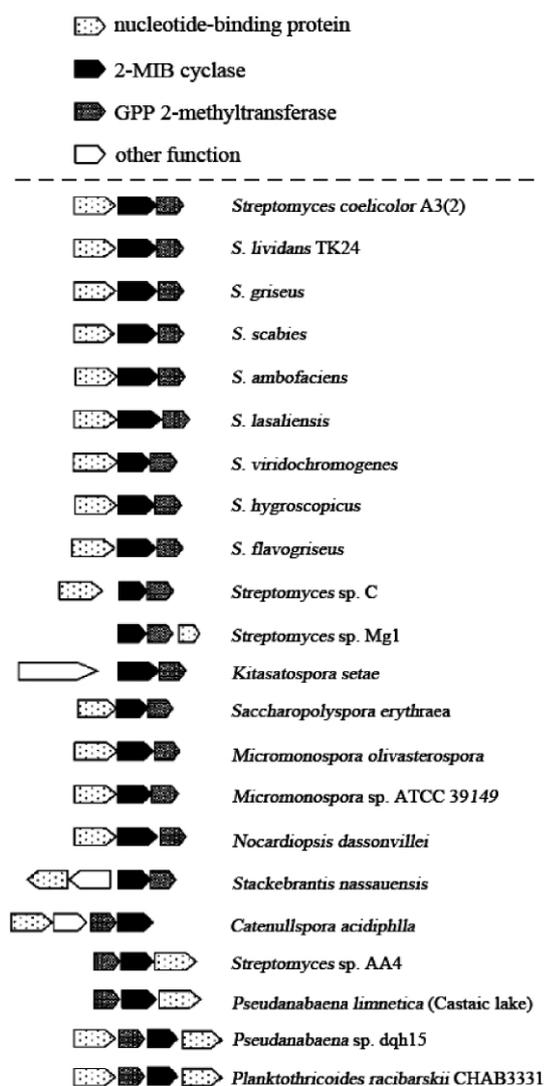


图5 蓝藻和放线菌中 2-MIB 生物合成相关基因的排列^[25, 39]

Fig. 5 Arrangement of genes associated with 2-MIB biosynthesis in cyanobacteria and actinomycetes.

同生长期的产异味蓝藻,其异味化合物产量和释放量不同,环境因子(如温度、光照)也是影响异味化合物产量和释放量的重要因素^[38],然而控制 geosmin、2-MIB 释放的生物调控机制仍有待进一步探明,从而为更好地控制水体土霉异味的发生提供更加科学的应对策略。此外,geosmin、2-MIB 的分析技术虽已日臻完善,但快速、高效的监测方法十分欠缺,基于特异性 geosmin、2-MIB 合成酶基因开发一种快速、准确、高效的水体异味早期监测技术将很有应用前景,可为水体异味突发事件的预警预报、监控管理提供有力的技术保障。

参考文献

- [1] Krishnani KK, Ravichandran P, Ayyappan S. Microbially derived off-flavor from geosmin and 2-methylisoborneol: sources and remediation. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 2008, 194: 1-27.
- [2] 宋立荣,张婷,郑凌凌. 水华蓝藻何以肆虐? 生命世界, 2007, 214(8): 36-41.
- [3] Zhang T, Li L, Zuo YX, Zhou Q, Song LR. Biological origins and annual variations of earthy-musty off-flavors in the Xionghu Reservoir in China. *Journal of Water Supply: Research and Technology-AQUA*, 2010, 59(4): 243-254.
- [4] Izaguirre G, Taylor WD. A guide to geosmin- and MIB-producing cyanobacteria in the United States. *Water Science and Technology*, 2004, 49(9): 19-24.
- [5] Gerber NN, Lechevalier HA. Geosmin, an earthy-smelling substance isolated from actinomycetes. *Applied Microbiology*, 1965, 13(6): 935-938.
- [6] Gerber NN. Geosmin, from microorganisms, is trans-1, 10-dimethyl-trans-9-decalol. *Tetrahedron Letters*, 1968, 25: 2971-2974.
- [7] Gerber NN. A volatile metabolite of actinomycetes, 2-methylisoborneol. *The Journal of Antibiotics*, 1969, 22(10): 508-509.
- [8] Davies JM, Roxborough M, Mazumder A. Origins and implications of drinking water odours in lakes and reservoirs of British Columbia, Canada. *Water Research*, 2004, 38(7): 1900-1910.
- [9] Persson PE. Sensory properties and analysis of two muddy odor compounds, geosmin and 2-methylisoborneol, in water and fish. *Water Research*, 1980, 14(8): 1113-1118.
- [10] Bentley R, Meganathan R. Geosmin and methylisoborneol biosynthesis in *Streptomyces*. Evidence for an isoprenoid pathway and its absence in non-differentiating isolates. *FEBS Letters*, 1981, 125(2): 220-222.
- [11] Jüttner F, Watson SB. Biochemical and ecological control of geosmin and 2-methylisoborneol in source waters. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, 73(14): 4395-4406.
- [12] Dionigi CP, Millie DF, Johnsen PB. Effects of farnesol and the off-flavor derivative geosmin on *Streptomyces tendae*. *Applied and Environmental Microbiology*, 1991, 57(12): 3429-3432.

- [13] Spiteller D , Jux A , Piel J , Bolan W. Feeding of [5, 5-²H₂]-1-deoxy-D-xylulose and [4, 4, 6, 6, 6-²H₅]-mevalolactone to a geosmin-producing *Streptomyces* sp. and *Fossombronia pusilla*. *Phytochemistry*, 2002, 61 (7): 827-834.
- [14] Seto H , Watanabe H , Furihata K. Simultaneous operation of the mevalonate and non-mevalonate pathways in the biosynthesis of isopentenyl diphosphate in *Streptomyces aerioiwifer*. *Tetrahedron Letters*, 1996, 37 (44): 7979-7982.
- [15] Seto H , Orihara N , Furihata K. Studies on the biosynthesis of terpenoids produced by actinomycetes. Part 4¹. Formation of BE-40644 by the mevalonate and nomevalonate pathways. *Tetrahedron Letters*, 1998, 39 (51): 9497-9500.
- [16] Rohmer M. The discovery of a mevalonate-independent pathway for isoprenoid biosynthesis in bacteria, algae and higher plants. *Natural Product Reports*, 1999, 16: 565-574.
- [17] Rodríguez-Concepción M , Boronat A. Elucidation of the methylerythritol phosphate pathway for isoprenoid biosynthesis in bacteria and plastids. A metabolic milestone achieved through genomics. *Plant Physiology*, 2002, 130(3): 1079-1089.
- [18] Dickschat JS , Bode HB , Mahmud T , Müller R , Schulz S. A novel type of geosmin biosynthesis in myxobacteria. *The Journal of Organic Chemistry*, 2005, 70 (13): 5174-5182.
- [19] Bode HB , Ring MW , Schwär G , Altmeyer M , Kegler C , Jose IR , Singer M , Müller R. Identification of additional players in the alternative biosynthesis pathway to isovaleryl-CoA in the myxobacterium *Myxococcus xanthus*. *ChemBioChem*, 2009, 10(1): 128-140.
- [20] Dickschat JS , Nawrath T , Thiel V , Kunze B , Müller R , Schulz S. Biosynthesis of the off-flavor 2-methylisoborneol by the Myxobacterium *Nannocystis exedens*. *Angewandte Chemie International Edition*, 2007, 46(43): 8287-8290.
- [21] Jiang JY , He XF , Cane DE. Biosynthesis of the earthy odorant geosmin by a bifunctional *Streptomyces coelicolor* enzyme. *Nature Chemical Biology*, 2007, 3(11): 711-715.
- [22] Giglio S , Jiang JY , Saint CP , Cane D , Monis PT. Isolation and characterization of the gene associated with geosmin production in Cyanobacteria. *Environmental Science and Technology*, 2008, 42(21): 8027-8032.
- [23] Wang CM , Cane DE. Biochemistry and molecular genetics of the biosynthesis of the earthy odorant methylisoborneol in *Streptomyces coelicolor*. *Journal of the American Chemical Society*, 2008, 130 (28): 8908-8909.
- [24] Komatsu M , Tsuda M , ōmura S , Oikawa H , Ikeda H. Identification and functional analysis of genes controlling biosynthesis of 2-methylisoborneol. *PNAS*, 2008, 105 (21): 7422-7427.
- [25] Giglio S , Chou WKW , Ikeda H , Cane DE , Monis PT. Biosynthesis of 2-methylisoborneol in cyanobacteria. *Environmental Science and Technology*, 2011, 45 (3): 992-998.
- [26] Daum M , Herrmann S , Wilkinson B , Bechthold A. Genes and enzymes involved in bacterial isoprenoid biosynthesis. *Current Opinion in Chemical Biology*, 2009, 13(2): 180-188.
- [27] Kuzuyama T. Mevalonate and nonmevalonate pathways for the biosynthesis of isoprene units. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 2002, 66(8): 1619-1627.
- [28] Lange BM , Rujan T , Martin W , Croteau R. Isoprenoid biosynthesis: the evolution of two ancient and distinct pathways across genomes. *PNAS*, 2000, 97 (24): 13172-13177.
- [29] Gust B , Challis GL , Fowler K , Kieser T , Chater KF. PCR-targeted *Streptomyces* gene replacement identifies a protein domain needed for biosynthesis of the sesquiterpene soil odor geosmin. *PNAS*, 2003, 100(4): 1541-1546.
- [30] Cane DE , Watt RM. Expression and mechanistic analysis of a germacradienol synthase from *Streptomyces coelicolor* implicated in geosmin biosynthesis. *PNAS*, 2003, 100(4): 1547-1551.
- [31] He XF , Cane DE. Mechanism and stereochemistry of the germacradienol/germacrene D synthase of *Streptomyces coelicolor* A3 (2). *Journal of the American Chemical Society*, 2004, 126(9): 2678-2679.
- [32] Jiang JY , He XF , Cane DE. Geosmin biosynthesis. *Streptomyces coelicolor* germacradienol/germacrene D synthase converts farnesyl diphosphate to geosmin. *Journal of the American Chemical Society*, 2006, 128 (25): 8128-8129.
- [33] Cane DE , He XF , Kobayashi SJ , ōmura S , Ikeda H. Geosmin biosynthesis in *Streptomyces avermītilis*. Molecular cloning, expression, and mechanistic study of

- the germacradienol/geosmin synthase. *The Journal of Antibiotics*, 2006, 59(8): 471-479.
- [34] Jiang JY, Cane DE. Geosmin biosynthesis. Mechanism of the fragmentation-rearrangement in the conversion of germacradienol to geosmin. *Journal of the American Chemical Society*, 2007, 130(2): 428-429.
- [35] Ludwig F, Medger A, Börnick H, Opitz M, Lang K, Göttfert M, Röske I. Identification and expression analyses of putative sesquiterpene synthase genes in *Phormidium* sp. and prevalence of *geoA*-like genes in a drinking water reservoir. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, 73(21): 6988-6993.
- [36] Agger SA, Lopez-Gallego F, Hoye TR, Schmidt-Dannert C. Identification of sesquiterpene synthases from *Nostoc punctiforme* PCC 73102 and *Nostoc* sp. Strain PCC 7120. *Journal of Bacteriology*, 2008, 190(18): 6084-6096.
- [37] Wang ZJ, Xu Y, Shao JH, Wang J, Li RH. Genes associated with 2-methylisoborneol biosynthesis in cyanobacteria: isolation, characterization, and expression in response to light. *Plos One*, 2011, 6(4): 1-9.
- [48] Zhang T, Li L, Song LR, Chen W. Effects of temperature and light on the growth and geosmin production of *Lyngbya kuetzingii* (Cyanophyta). *Journal of Applied Phycology*, 2009, 21(3): 279-285.

Biosynthesis of geosmin and 2-methylisoborneol in the prokaryotes—A review

Ting Zhang¹, Deliang Li¹, Jie Li^{2*}

¹College of Animal Science and Technology, Hunan Agriculture University, Changsha 410128, China

²School of Biological Science and Technology, Central South University, Changsha 410013, China

Abstract: The occurrence of off-flavor problems caused by prokaryotes cyanobacteria and actinomycetes is a worldwide water and food quality issue. Based on literatures on two earthy-muddy-smelling metabolites, (i. e., geosmin and 2-methylisoborneol (2-MIB)), we reviewed their chemical characteristics, biosynthetic pathways, genes and enzymes that are involved in biosynthesis. Then we discussed current research questions related to off-flavor and future directions. Finally, we addressed the significance of probable key regulatory mechanism for the production and release of geosmin and 2-MIB, which could provide more scientific strategies to better control off-flavors outbreaks in drinking and aquaculture water.

Keywords: geosmin, 2-methylisoborneol, earthy and musty, off-flavor, biosynthesis

(本文责编:王晋芳)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (31000183, 31000179)

* Corresponding author. Tel/Fax: +86-731-82650230; E-mail: jlee@mail.csu.edu.cn

Received: 20 August 2011/Revised: 13 November 2011