

前导肽二级结构对 bovicin HJ50 修饰和加工的影响

张杰¹, 涂铃铃², 张铮², 林宇恒², 陈卫^{1*}, 钟瑾^{2*}

¹江南大学食品学院, 无锡 214122

²中国科学院微生物研究所, 北京 100101

摘要:【目的】阐明羊毛硫细菌素 bovicin HJ50 前导肽的二级结构对原肽修饰和加工的影响规律。【方法】采用半体外生物合成系统构建 bovicin HJ50 前导肽突变体, 然后利用 MALDI-TOF 质谱鉴定成熟肽的修饰情况。同时, 结合 HPLC 和抑菌活性分析其对成熟肽加工效率的影响。【结果】我们构建了 6 个 bovicin HJ50 前导肽二级结构相关的突变体 (F-16A, V-15E, E-14L, E-8P, L-7D, L-4K)。F-16A, V-15E, L-4K 几乎不影响修饰和加工; E-14L 和 E-8P 的修饰则发生了变化; 另发现 L-7D 导致加工过程受到强烈抑制。【结论】Bovicin HJ50 前导序列中保守的螺旋结构区对修饰酶 BovM 和蛋白酶 BovT150 活性都有不同程度影响, 其二级结构的维持对 bovicin HJ50 的修饰和加工具有重要作用。

关键词: 羊毛硫细菌素, 前导肽, 修饰和加工, 定点突变, 二级结构

中图分类号: Q935 **文献标识码:** A **文章编号:** 0001-6209 (2012) 08-0969-08

羊毛硫细菌素 (lantibiotics) 是一类由核糖体合成并经翻译后修饰形成, 包含特殊氨基酸 (如羊毛硫氨酸 lanthionine) 的多环抗菌肽。它由革兰氏阳性菌产生, 对许多食品腐败或致病菌及抗药性菌株 (如 MRSA、VRE 等) 有很好的抑制或杀伤作用, 同时因其独特的杀菌模式和较低的作用浓度而不易产生抗性, 使得其在食品、制药等行业具广泛应用前景。羊毛硫细菌素按拓扑结构可以分为两类, 线性的 A 类和球形的 B 类, 而 A 类又可细分为 AI 和 AII, 分别以 nisin 和 lactacin 481 为代表^[1]。羊毛硫细菌素的合成相关基因是成簇排列的, 其生物合成过程如下 (以 AII 类为例), 首先结构基因编码的前肽 LanA (包括前导肽和原肽两部分) 被合成, 依靠

其前导肽的作用, 修饰酶 LanM 对原肽序列的丝氨酸或苏氨酸进行脱水, 然后与分子内的一个半胱氨酸的自由巯基发生加成反应而形成硫醚键, 修饰后的 LanA 被加工转运蛋白 LanT 转运至胞外并切除前导肽, 形成具有生物活性的成熟肽; 成熟肽产生大多受基因簇上的双组份调控系统 LanK /LanR 调控, 同时 LanE、LanF、LanG 等蛋白对成熟肽产生免疫作用, 防止对自身造成伤害^[2]。

前导肽在大多数天然产物的合成中起着重要作用。这些作用包括作为分泌信号, 有助于翻译后修饰酶识别, 辅助前肽折叠, 保护前肽不被降解, 中和成熟肽的毒性等^[3]。其中前导肽作为翻译后修饰酶的识别基序, 不仅有助于合成结构独特的活性产

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (31070041, 30500013); 中国科学院知识创新重要方向项目 (KSCX2-EW-Q-44, KSCX2-EW-J-6, KSCX2-EW-G-14)

* 通信作者。陈卫, Tel: +86-510-85912087, E-mail: weichen@jiangnan.edu.cn; 钟瑾, Tel: +86-40-64807401, E-mail: zhongj@im.ac.cn

作者简介: 张杰 (1986-), 男, 湖北应城人, 硕士研究生, 主要从事乳酸菌分子遗传学研究。E-mail: zwust05@163.com

收稿日期: 2012-03-13; **修回日期:** 2012-05-03

表 1 定点突变所用引物

Primers	Sequences (5'→3')
F-16A-L1	GAAAACCAAATTGCGGTTGAGACTGTGAG
F-16A-S2	AGTAGCATTTCATCATATGGTGCCTCTCAG
F-16A-L2	CTCAACCGCAATTTGGTTTTTCAGTAGCAT
F-16A-S1	ACTGTGAGTGACCAAGAATTAGAAATGTTAA
V-15E-L1	AATTTTTGAAGAGACTGTGAGTGACCAAG
V-15E-S2	TGGTTTTTCAGTAGCATTTCATCATAT
V-15E-L2	CACAGTCTCTCAAAAAATTTGGTTTTTC
V-15E-S1	AGTGACCAAGAATTAGAAATGTTAAT
E-14L-L1	AATTTTTGTTCTGACTGTGAGTGACCAAG
E-14L-S2	TGGTTTTTCAGTAGCATTTCATCATAT
E-14L-L2	CACAGTCAAGAACAAAAATTTGGTTTTTCAGT
E-14L-S1	AGTGACCAAGAATTAGAAATGTTAATTTGG
E-8P-L1	TGTGAGTGACCAACCGTTAGAAATGTT
E-8P-S2	GTCTCAACAAAAATTTGGTTTTTCAGT
E-8P-L2	TTCTAACGTTGGTCACTCAGTCTCA
E-8P-S1	ATGTTAATTTGGTGTGAGATCGTGG
L-7D-L1	GACCAAGAAGATGAAATGTTAATTTGGTGGTCA
L-7D-S2	ACTCACAGTCTCAACAAAAATTTGGTTTTTC
L-7D-L2	TAACATTTTCATCTTCTTGGTCACTCAGTCTC
L-7D-S1	ATTGGTGGTGCAGATCGTGGATGGATTA
L-4K-L1	AGAATTAGAAATGAAAAATTTGGTGGTGC
L-4K-S2	TGGTCACTCAGTCTCAACAAAAAT
L-4K-L2	CAATTTTCATTTCTAATTTCTTGGTCACT
L-4K-S1	GTGGTGCAGATCGTGGATGGATTAAGACT

声破碎,离心取上清,采用亲和层析柱(GE公司)分别纯化修饰后前肽(BovAm)和切割蛋白酶BovT150。体外切除前导肽后,用高效液相色谱仪(HPLC,C18,岛津)分离纯化酶切后产物(梯度洗脱,乙腈浓度范围30%~50%,25 min),收集成熟肽对应的色谱峰。

1.4 NEM 修饰鉴定

NEM为专一性的巯基烷化剂^[14],与一个半胱氨酸的自由巯基反应,则多肽分子量增加125 Da,在此用于检测bovicin HJ50成熟肽中硫醚键和二硫键的形成情况。将HPLC样品旋转蒸发去除乙腈后,用酶切缓冲液(50 mmol/L Na₂HPO₄, 50 mmol/L Na₂SO₄, pH 7.4)调节其pH值至7.0左右,加入终浓度为10 mmol/L NEM,冰浴反应1 h。修饰后样品采用Zip-Tip(Millipore)除盐,质谱检测分子量变化。

1.5 质谱检测蛋白分子量

MALDI-TOF MS分析由4700蛋白质组分析器质谱仪完成(美国应用生物系统公司)。采用正离子反射模式获得谱图。CHCA(α -氰基-4-羟基肉桂酸)基质溶解在含0.1% TFA(三氟乙酸)的30%乙腈水溶液中。Bovicin HJ50原肽分子量为3466 Da,

脱去两分子水(-36 Da)并形成二硫键(-2 Da)即为野生型成熟肽分子量3428 Da。若前导肽突变后,导致成熟肽脱水或二硫键形成发生改变,通过质谱检测分子量变化可以知道。

1.6 酶切效率比较

HPLC分离纯化突变体BovAm(梯度洗脱,乙腈浓度范围30%~60%,25 min),用BCA蛋白定量试剂盒(Pierce公司)进行定量。在相同浓度下,BovT150对其进行酶切,比较不同时间段成熟肽的产量。产物的抑菌活性由琼脂打孔扩散法分析,指示菌为*M. flavus* NCIB 8166。

1.7 蛋白二级结构预测

将典型的AII类羊毛硫细菌素前导肽序列输入在线软件PredictProtein(<http://www.predictprotein.org>)进行二级结构预测,结果取reliability index ≥ 3 。

1.8 蛋白序列比对

运用DNAMAN软件(美国Lynnon Biosoft公司)对典型的AII类羊毛硫细菌素前导肽序列进行比对。采用“Multiple Sequence Alignment”模式,序列相似性大于或等于50%时,以深色背景显示。

2 结果

2.1 Bovicin HJ50 前导肽的二级结构

Predictprotein软件预测显示bovicin HJ50的前导肽包含一个折叠区(-17至-13)和一个螺旋区(-10至-4)(图2)。这两个区域都与AII类羊毛硫细菌素前导肽的保守区(图3)密切相关,且折叠区与同类其它成员有明显差异。AII类羊毛硫细菌素的典型代表lacticin 481,其前导肽含有两个螺旋区(-17至-12,-10至-4),而nukacin ISK-1的被预测具有更大的螺旋区(-20至-4)(图2),且与圆二色谱(CD)结果相符。

2.2 构建前导序列突变的 BovAm

运用bovA和bovM共表达,得到修饰后的前肽,而前导肽突变体的构建都建立在此基础之上(图4)。针对其自身的特异性序列以及AII类保守序列,设计了F-16A, V-15E, E-14L 3个突变位点,以考察其对BovM修饰及BovT150切割加工活性的影响。对于前导肽的二级结构,构建了L-7D, L-4K和E-8P等突变体,主要利用亲疏水性和脯氨酸改变二级结构,以考察其对修饰及加工的影响。

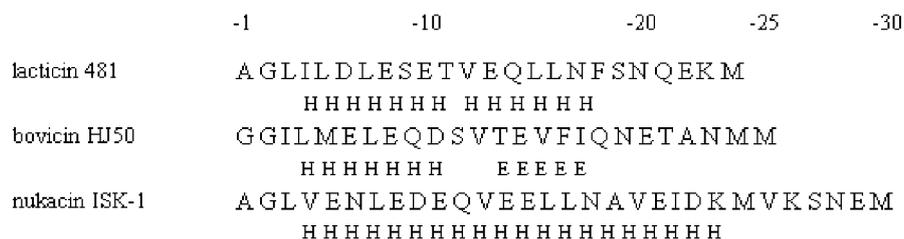


图2 典型 AII 类羊毛硫细菌素前导肽二级结构预测

Fig. 2 Prediction of secondary structure of typical type AII lantibiotic. H, helix; E, strand.

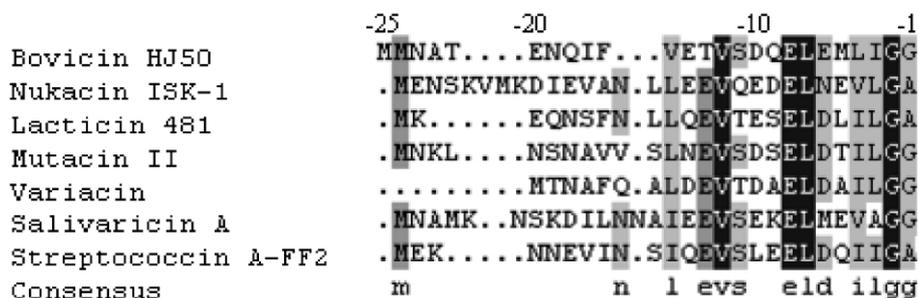


图3 AII 类羊毛硫细菌素的前导肽序列比对

Fig. 3 Sequences alignment of leader peptides of type AII lantibiotics.

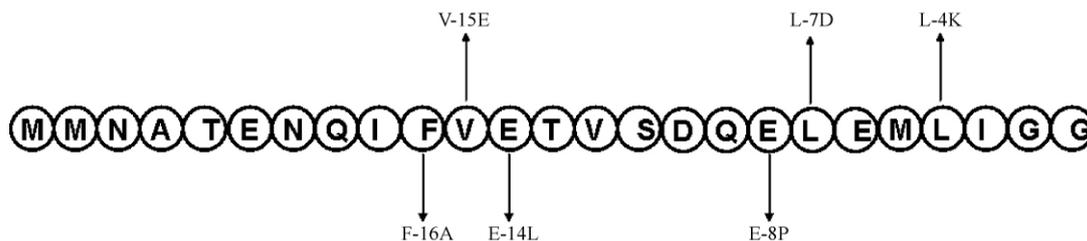


图4 Bovicin HJ50 前导肽突变位点示意图

Fig. 4 Diagram of mutant sites of leader peptide of bovicin HJ50.

利用 SLIM 技术^[13],对这 6 个位点进行了较快捷的定点突变。突变后的前肽基因 *bovA* 与修饰基因 *bovM* 共表达,产生前导序列突变、原肽序列得到不同修饰的前肽。

2.3 前导肽突变对成熟肽修饰的影响

成熟肽的修饰情况表现在脱水个数和成环方式和个数,分别由其分子量和 NEM 修饰结果判定,而液相保留时间可以间接反映整体结构的变化。由于脯氨酸性质特殊,引入蛋白序列中易导致局部二级结构变化。Glu-8 处于预测螺旋区中心,且是 AII 类羊毛硫细菌素前导肽的保守序列。E-8P 成熟肽分子量为 3428 Da,但液相保留时间与野生型有 0.7 min 差别,显示具有不同的结构(表 2)。螺旋区其它保守位点突变体 L-7D 和 L-4K,其前肽 BovAm 保

留时间都较野生型大大减少,表明这些位点严重影

表 2 突变体质谱鉴定结果和保留时间

Table 2 Results of MS analysis and retention time (R_t) of the mutants

Mutants	mature peptide ^a /Da	+ NEM ^b /Da	R_t^c /min	R_t (BovAm) ^d /min
F-16A	3428	-	19.5	19.5
V-15E	3428	-	19.5	19.5
E-14L	3428	-	20.2	21.8
E-8P	3428	-	20.2	20.8
L-4K	3428	-	19.5	17.5
L-7D	3428	3428	20.5	18

a, molecular weight (MW) of wild type (WT) is 3428 Da; b, one free sulfhydryl group reacts with one NEM and the MW will be added 125 Da; -, not detected; c, R_t of WT of the first five mutants is 19.5 min and the rest one is 20.5 min for using different C18 column; the change of R_t normally related with the whole structure change of the polypeptide; d, R_t of BovAm of WT is 20.5 min.

响 BovAm 的亲疏水性,在二级结构中起重要作用。然而 HPLC 分析显示,其对应成熟肽保留时间与野生型一致。分子量鉴定发现 L-4K 成熟肽分子量与野生型一致,NEM 修饰前后 L-7D 没有发生变化且与野生型相同(图 5-A)

Bovicin HJ50 前导肽 -17 位至 -13 位被预测为其特有的折叠区,不同于同类其它成员的螺旋区。F-16A 和 V-15E 成熟肽的保留时间与野生型相同,而 E-14L 不仅修饰后前肽保留时间比野生型大,成熟肽也是如此(表 2),说明此位点导致成熟肽结构变化。

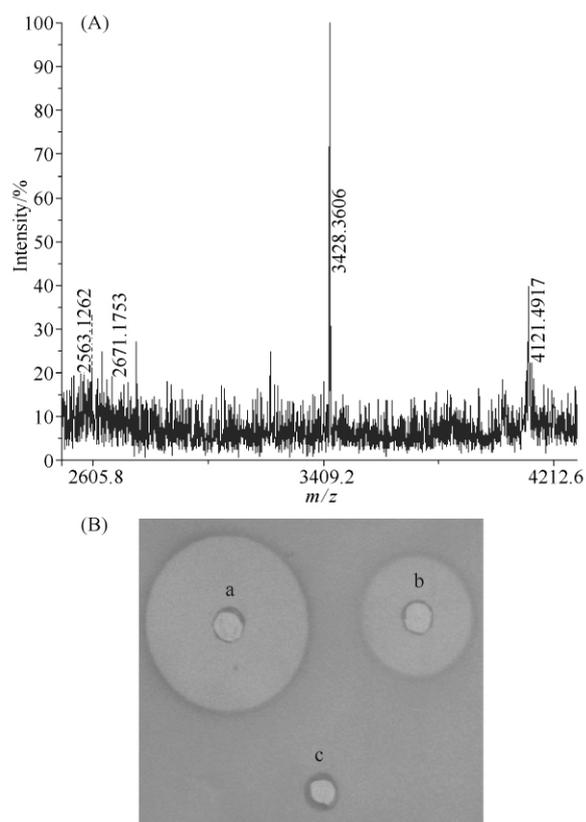


图 5 质谱(A)以及抑菌活性(B)分析突变体 L-7D 成熟肽分子量

Fig. 5 MS(A) and antimicrobial activity (B) analysis of mature peptide of the mutant L-7D. A: Sample was the enzymatic product of BovAm (L-7D) desalted by Zip-Tip before MS analysis. B: a, WT; b, enzymatic product of BovAm(L-7D); c, sterile water.

2.4 前导肽突变对成熟肽加工的影响

修饰后的前肽在 BovT 蛋白的作用下,切除前导肽,产生成熟肽。在这个过程中,BovT 蛋白酶结构

域部分 BovT150 与前导序列发生了相互作用。与功能类似的 ComA 比较发现, BovT150 具有与其相似的催化中心,而 BovA 也具有 ComC 前肽序列的保守位点,如 F-16, V-15, L-7, L-4, G-2 和 G-1 等^[15]。在相同的底物 BovAm 浓度下,以同等浓度蛋白酶 BovT150 催化前导肽切除,比较产物抑菌圈大小。结果显示(表 3), F-16A 和 V-15E 与野生型相当, L-4K 略微降低,而 E-8P 与 E-14L 明显下降。HPLC 分离纯化酶切后产物,谱图上几乎看不到 L-7D 成熟肽对应的色谱峰(图 6),说明产物量很低。增加蛋白酶量并延长反应时间, L-7D 能够见到很微弱的峰。

表 3 前导肽突变体对 BovT150 酶切效率的影响

Table 3 The effect of leader peptide mutants on enzymatic efficient of BovT150 (Diameters of inhibition zone/mm)

Time / min	WT	F-16A	V-15E	E-14L	E-8P	L-4K
30	18	18	18	0	0	16
60	20	20	20	13	13	18

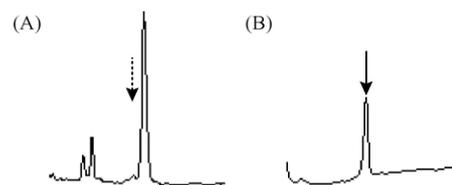


图 6 修饰后前体酶切产物 HPLC 谱图

Fig. 6 HPLC spectras of enzymatic product of BovAm. A: L-7D; B: WT. Dotted arrow meant that the mature peptide was lost at the right time.

3 讨论

羊毛硫菌素的生物合成是一个精确指导、精细调控的过程,由一系列成簇排列的功能基因完成。其分子中稀有氨基酸-羊毛硫氨酸-赋予其抗菌、抗蛋白酶降解以及热稳定(121℃, 20 min 几乎不影响其活性)等特性^[16],而羊毛硫氨酸的形成与前肽分子中前导序列密切相关。在产生菌中,前导序列不仅精确指导丝氨酸和苏氨酸脱水以及环化,而且作为加工转运蛋白的识别基序,有助于将有毒的成熟肽转运出细胞。

早期对 AI 类羊毛硫菌素 epidermin 的研究,预测其 N 端-30 至-8 区形成两性 α 螺旋^[17]。核

磁共振研究 nisin 修饰后前肽显示,在水溶液中,前导肽部分处于随机卷曲状态,而在 DOPC 脂微团中,构象没有出现明显变化^[4]。圆二色谱分析人工合成的前导肽显示,在三氟乙醇水溶液中,其采取 α 螺旋结构,且这一构象在 AI 和 AII 类中都得到了证实^[5, 18]。序列分析显示,bovicin HJ50 前导肽除含有一个普遍存在的螺旋区外,还包含一个特有的折叠区。虽然处于保守区附近,但不同结构暗示具有不一样的功能。与 ComC 前导肽序列比对后推测,此区域可能也结合蛋白酶,影响 BovT150 的切割活性。本研究结果显示 F-16A 和 V-15E 成熟肽仅出现一个与野生型保留时间完全相同的色谱峰,说明其修饰情况与野生型一致;切割效率比较发现,产物的抑菌圈大小与野生型的相同,说明二者的切割效率没有发生变化,不同于 ComC 中切割活性大大降低,说明二者与蛋白酶的结合差异较大^[19]。E-14 是 AII 类羊毛硫细菌素的保守位点,mutacin II 中 E-13K 导致成熟肽产量下降至野生型的 10%^[7],且 nukacin ISK-1 的 E-13V 在不改变前肽螺旋含量的情况下,导致产量下降很多^[5]。Bovicin HJ50 中 E-14L 成熟肽保留时间较野生型增加,说明其影响了成熟肽修饰,表现为产物的抑菌活性降低,因而可以解释其抑菌圈较小的原因(表 3)。另外,从产物量角度推测其可能导致切割效率下降。

AII 类羊毛硫细菌素前导肽-8 至-4 位,被认为是修饰酶 LanM 的结合区,在 LanM 诱导下形成 α 螺旋结构,加强两者的结合。在 lacticin 481 中,E-8P, L-7E 以及 I-4P 都导致 LctM 脱水效率降低或脱水不完全^[8]。在 bovicin HJ50 中,E-8P 成熟肽保留时间较野生型发生了变化,说明修饰情况有改变,但没有导致脱水减少,与 lacticin 481 有差异,推测是由于 LctM 与 BovM 催化机制不同。L-7D 前体浓度很高,也发生了修饰且成熟肽具有抑菌活性(图 5B),但酶切后得到的成熟肽在液相上几乎看不到对应的峰,说明其影响的是 BovT150 切割活性,从而证明由于前导肽切除效率过低而导致胞外检测不到成熟肽^[5]。L-4K 虽然导致前肽疏水性大大降低,但其修饰不受影响,切割活性略微降低,推测此位点与体内 BovT 蛋白的转运功能相关。

前导肽作为“指挥棒”,引导生物合成酶产生了大量天然活性物质,其结构与功能关系一直是受关注的焦点。本研究构建了 6 个 AII 类羊毛硫细菌素

bovicin HJ50 前导序列的突变体,其中保守位点的重要性再次得到验证,而我们也发现了其自身特有的现象,如 E-8P 脱水不受影响。保守的螺旋结构区(-10 至-4)对修饰酶 BovM 和蛋白酶 BovT150 活性都有影响,其它区域可能与加工转运蛋白 BovT 相关,相关的研究还在进行中。对比发现,BovM 具有更宽泛的前导序列选择性,而其脱水活性和环化活性具有更强的耐受力,这些都为羊毛硫细菌素工程化提供了很好的理论依据。

致谢 感谢中国科学院微生物研究所罗元明博士和王前博士在 MALDI-TOF MS 分析上的帮助。

参考文献

- [1] McAuliffe O, Ross RP, Hill C. Lantibiotics: structure, biosynthesis and mode of action. *FEMS Microbiology Reviews*, 2001, 25 (3): 285-308.
- [2] Chatterjee C, Paul M, Xie L, van der Donk WA. Biosynthesis and mode of action of lantibiotics. *Chemical Reviews*, 2005, 105 (2): 633-684.
- [3] Oman TJ, van der Donk WA. Follow the leader: the use of leader peptides to guide natural product biosynthesis. *Nature Chemical Biology*, 2010, 6 (1): 9-18.
- [4] van den Hooven HW, Rollema HS, Siezen RJ, Hilbers CW, Kuipers OP. Structural features of the final intermediate in the biosynthesis of the lantibiotic nisin. Influence of the leader peptide. *Biochemistry*, 1997, 36 (46): 14137-14145.
- [5] Nagao J, Morinaga Y, Islam MR, Asaduzzaman SM, Aso Y, Nakayama J, Sonomoto K. Mapping and identification of the region and secondary structure required for the maturation of the nukacin ISK-1 prepeptide. *Peptides*, 2009, 30 (8): 1412-1420.
- [6] Plat A, Kluskens LD, Kuipers A, Rink R, Moll GN. Requirements of the engineered leader peptide of nisin for inducing modification, export, and cleavage. *Applied and Environmental Microbiology*, 2011, 77 (2): 604-611.
- [7] Chen P, Qi FX, Novak J, Krull RE, Caufield PW. Effect of amino acid substitutions in conserved residues in

- the leader peptide on biosynthesis of the lantibiotic mutacin II. *FEMS Microbiology Letters*, 2001, 195 (2) : 139-144.
- [8] Patton GC, Paul M, Cooper LE, Chatterjee C, van der Donk WA. The importance of the leader sequence for directing lanthionine formation in lactacin 481. *Biochemistry*, 2008, 47 (28) : 7342-7351.
- [9] Xiao H, Chen X, Chen M, Tang S, Zhao X, Huan L. Bovicin HJ50, a novel lantibiotic produced by *Streptococcus bovis* HJ50. *Microbiology*, 2004, 150 (Pt 1) : 103-108.
- [10] Ni J, Teng K, Liu G, Qiao C, Huan L, Zhong J. Autoregulation of lantibiotic bovicin HJ50 biosynthesis by the BovK-BovR two-component signal transduction system in *Streptococcus bovis* HJ50. *Applied and Environmental Microbiology*, 2011, 77 (2) : 407-415.
- [11] Liu G, Zhong J, Ni J, Chen M, Xiao H, Huan L. Characteristics of the bovicin HJ50 gene cluster in *Streptococcus bovis* HJ50. *Microbiology*, 2009, 155 (Pt 2) : 584-593.
- [12] Lin Y, Teng K, Huan L, Zhong J. Dissection of the bridging pattern of bovicin HJ50, a lantibiotic containing a characteristic disulfide bridge. *Microbiological Research*, 2011, 166 (3) : 146-154.
- [13] Chiu J, March PE, Lee R, Tillett D. Site-directed, Ligase-Independent Mutagenesis (SLIM) : a single-tube methodology approaching 100% efficiency in 4 h. *Nucleic Acids Research*, 2004, 32 (21) : e174.
- [14] Phelps KK, Walker RA. NEM tubulin inhibits microtubule minus end assembly by a reversible capping mechanism. *Biochemistry*, 2000, 39 (14) : 3877-3885.
- [15] Kotake Y, Ishii S, Yano T, Katsuoka Y, Hayashi H. Substrate recognition mechanism of the peptidase domain of the quorum-sensing-signal-producing ABC transporter ComA from *Streptococcus*. *Biochemistry*, 2008, 47 (8) : 2531-2538.
- [16] Suda S, Westerbeek A, O'Connor PM, Ross RP, Hill C, Cotter PD. Effect of bioengineering lactacin 3147 lanthionine bridges on specific activity and resistance to heat and proteases. *Chemistry and Biology*, 2010, 17 (10) : 1151-1160.
- [17] Schnell N, Entian KD, Schneider U, Gotz F, Zahner H, Kellner R, Jung G. Prepeptide sequence of epidermin, a ribosomally synthesized antibiotic with four sulphide-rings. *Nature*, 1988, 333 (6170) : 276-278.
- [18] Annette G. Beck-Sickinger GJ. Synthesis and Conformational Analysis by CD Spectroscopy of Lantibiotic Leader, Pro- and Pre-Peptides. *European Journal of Organic Chemistry*, 1993, 1993 (10) : 1125-1131.
- [19] Ishii S, Yano T, Ebihara A, Okamoto A, Manzoku M, Hayashi H. Crystal structure of the peptidase domain of *Streptococcus* ComA, a bifunctional ATP-binding cassette transporter involved in the quorum-sensing pathway. *Journal of Biological Chemistry*, 2010, 285 (14) : 10777-10785.

Effects of secondary structure of the leader peptide on modification and processing of bovicin HJ50

Jie Zhang¹, Lingling Tu², Zheng Zhang², Yuheng Lin², Wei Chen^{1*}, Jin Zhong^{2*}

¹ School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China

² Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

Abstract: [Objective] Elucidating the correlation between the secondary structure of the leader peptide of lantibiotic bovicin HJ50 and its modification and processing. [Methods] The variants with mutated leader peptide were synthesized by semi-*in vitro* biosynthesis, and their modification pattern were then analyzed by MALDI-TOF MS. At the same time, the effect of leader peptide mutants on processing the modified propeptide was examined by HPLC and antimicrobial activity. [Results] We constructed 6 mutants (F-16A, V-15E, E-14L, E-8P, L-7D, L-4K) involved in forming secondary structure of the bovicin HJ50 leader peptide. F-16A, V-15E, L-4K showed very little effect on modification and processing whereas E-14L and E-8P caused changes in modification. In addition, we found that L-7D strongly affected the processing. [Conclusion] The conserved helix structure in the leader peptide of bovicin HJ50 was closely related to the activity of BovM and BovT150, and the presence of secondary structure was very important to modification and processing of bovicin HJ50.

Keywords: lantibiotics, leader peptide, modification and processing, site-directed mutagenesis, secondary structure

(本文责编:王晋芳)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (31070041, 30500013) and by the Knowledge Innovation Program of the Chinese Academy of Sciences (KSCX2-EW-Q-14, KSCX2-EW-J-6, KSCX2-EW-G-14)

* Corresponding authors. Wei Chen, Tel: +86-510-85912087, E-mail: weichen@jiangnan.edu.cn; Jin Zhong, Tel: +86-10-64807401, E-mail: zhongj@im.ac.cn

Received: 13 March 2012/Revised: 3 May 2012

《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,3-6个月之内发表。

- (1) 收到来稿后,首先要由编辑初审,通过后再送外审。将请2位专家进行审阅,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),编辑会给出作者发出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。