



链丝菌素类抗生素的研究进展

李金娥, 王敏, 陈义华*

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: 链丝菌素是人类最早发现的抗生素之一。由于链丝菌素类化合物具有广谱的抗细菌和抗真菌的活性, 目前已作为重要的农用抗生素进行应用。本文对链丝菌素的抗性机理、各个组成部分(链里啉内酰胺、氨甲酰化D-古洛糖胺和寡聚 β -赖氨酸链)的生物合成机理及链丝菌素类化合物的化学合成等方面的研究进展进行了综述, 并对链丝菌素的进一步研究方向进行了展望。

关键词: 抗生素, 链丝菌素, 生物合成, 抗性机制

链丝菌素(Streptothricin)是人类最早从链霉菌中分离得到的抗生素之一, 其历史可以追溯到1942年Waksman和Woodruff从淡紫灰链霉菌(*Streptomyces lavendulae*)的代谢物中分离得到链丝菌素F^[1]。随后, 链丝菌素的其它组分(链丝菌素A、B、C、D、E和X)也相继被报道^[2-6]。链丝菌素是一类特殊的氨基糖苷类抗生素, 其立体结构通过核磁共振、X-射线晶体衍射以及化学全合成等手段予以确定^[7-9]。

典型的链丝菌素类化合物由3个结构单元组成, 分别是: 链里啉内酰胺(streptolidine lactam)、氨甲酰化D-古洛糖胺(carbamoylated D-gulosamine)和寡聚 β -赖氨酸链(poly β -lysine chain)^[6](图1)。其中, 链里啉内酰胺和氨甲酰化D-古洛糖胺是链丝菌素特有的化学结构。链里啉内酰胺通过胍基上的亚胺基与氨甲酰化D-古洛糖胺形成的N-糖苷键

相连; 寡聚 β -赖氨酸链通过第一个 β -赖氨酸的羧基与氨甲酰化D-古洛糖胺上的氨基形成的酰胺键相连。寡聚 β -赖氨酸链中 β -赖氨酸个数从1到7个不等(分别对应链丝菌素F-A、X)(图1), 各个氨基酸之间通过末端 ϵ -酰胺键相连。除了典型的链丝菌素(D-古洛糖胺的C-10位被氨甲酰化修饰), 12-氨甲酰化链丝菌素(12-carbamoylated streptothricins, D-古洛糖胺的C-12位被氨甲酰化修饰)、链丝菌素酸(streptothricin acids)等组分也陆续被发现^[10-12]。此外, 链丝菌素类化合物还包括诺尔斯菌素(nourseothricin)、阿尔伯菌素(albothricin)、LL-AC541等几十种在不同位置修饰过的结构类似物(图1)^[9,13-15]。

链丝菌素是一类广谱抗生素, 能够抑制polyU引导的多肽合成, 并能导致蛋白翻译中的错读, 对细菌、某些病原真菌的生长有强烈的抑制作用

基金项目: 国家自然科学基金(31170037, 31522001); 中国科学院“百人计划”项目

*通信作者。Tel: +86-10-64806121; E-mail: chenjihua@im.ac.cn

收稿日期: 2015-09-15; 修回日期: 2015-12-02; 网络出版日期: 2015-12-11

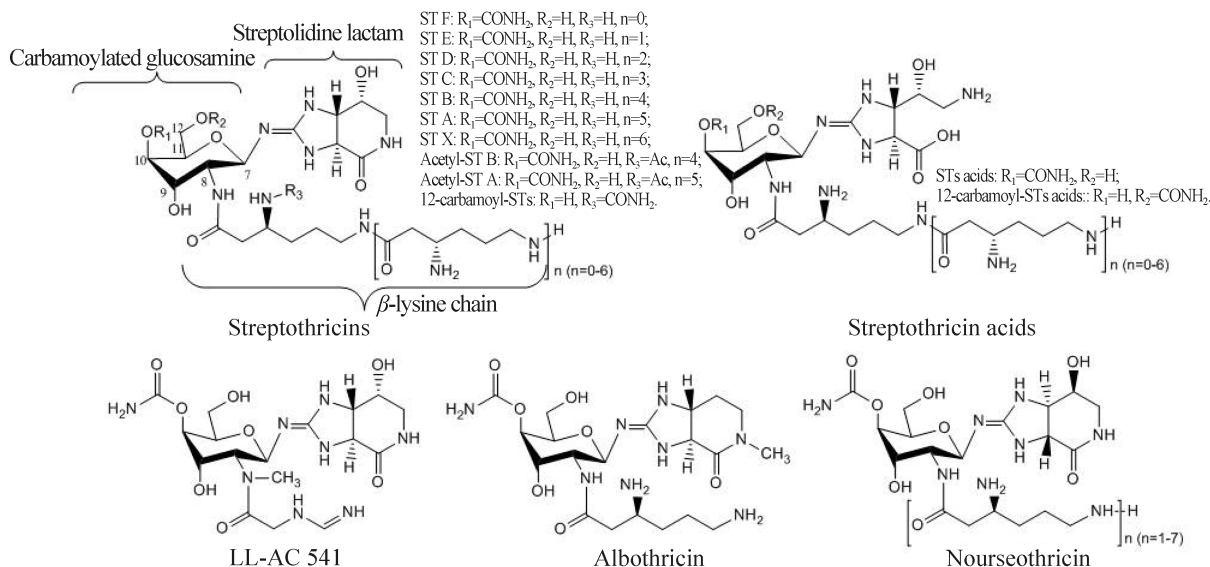


图 1. 链丝菌素及其类似化合物的化学结构^[9,13-15]

Figure 1. The structures of streptothricins and their homologs^[9,13-15].

用^[16-17]，对昆虫也有一定的杀灭作用^[18-19]。所以，链丝菌素可以作为一种广谱高效的农用抗生素进行应用。我国农业科学院生物防治研究所于20世纪80年代在淡紫灰链霉菌海南变种的代谢物中筛选出链丝菌素菌素类抗生素——中生菌素，并将其进行了大规模的推广，用于农作物的细菌性病害及部分真菌性病害的防治^[20]。此外，链丝菌素类化合物还可以作为筛选标签在植物细胞学试验中应用^[21]。由于链丝菌素具有细胞毒性(如肾毒性)，限制了它在临床上的应用^[22]。

1 链丝菌素抗性机制的研究

为了明确链丝菌素的抗性机理，科学家对链丝菌素的抗性基因进行了研究。1986年，Kobayashi等从链丝菌素的产生菌淡紫灰链霉菌中克隆到链丝菌素的抗性基因^[23]。此抗性基因编码一个乙酰转移酶，能够对链丝菌素上与糖基部分相连的 β -赖氨酸上的 β -氨基进行乙酰化修饰，从而使链丝菌素失去活性。后续的研究发现， β -氨基的乙酰化作为抗性机制广泛存在于链丝菌素的产生菌

中，所有链丝菌素的基因簇都含有类似的乙酰转移酶编码基因^[24-25]。除此之外，2009年，Maruyama和Hamano在*S. albulus* NBRC14147中克隆到一个新型的链丝菌素抗性基因 $sttH$ (编码异分枝酸类型水解酶)^[26]。 $SttH$ 能够水解打开链里啉内酰胺环上的酰胺键，形成没有抑菌活性的链丝菌素酸。

2 链丝菌素类化合物生物合成机制的研究

链丝菌素特殊的化学结构、强力的抗菌活性以及良好的应用前景，引起了人们对其生物合成机制的兴趣。目前，已有多个实验室对链丝菌素的生物合成机制进行研究，并取得了显著的进展。

伴随着分子生物学的发展，1997年，Malpartida等通过在*Streptomyces rochei* F20中筛选链丝菌素抗性基因的方法，得到了一段7.2 kb的与链丝菌素生物合成相关的DNA片段^[27]。这段DNA序列除了乙酰转移酶编码基因，还包含4个开放阅读框，分别是 $sttA$ (编码一个腺苷化酶)， $sttB$ (编码一个磷酸转移酶)， $sttC$ (编码一个水解酶)和 $sttD$ (编码蛋

白功能未知)(图2)。对这几个基因遗传阻断结果表明, *sttA*和*sttB*的阻断突变株丧失了产生链丝菌素的能力, *sttC*的阻断突变株中链丝菌素产量明显降低, 说明所克隆的基因与链丝菌素的生物合成相关。随后, Grammel等从*Streptomyces noursei*中克隆得到了一段和诺尔斯菌素生物合成相关的片段^[28], 这个片段中包含一个独立的NRPS腺苷酸化结构域编码基因*npsA*和一个具有双功能结构域的蛋白编码基因*npsB*(含有非核糖体多肽合成酶(non-ribosomal peptide synthetase, NRPS)的肽酰载体蛋白结构域和水解结构域)。NpsA能够特异性的活化 β -赖氨酸, 并将其转移到NpsB的肽酰载体蛋白结构域上。由此推测, 链丝菌素内寡聚 β -赖氨酸链由非典型的非核糖体多肽合成酶合成。随后的十多年间, 完整的链丝菌素生物合成基因簇一直未能克隆, 阻碍了对链丝菌素生物合成的深入研究。

近年来, 随着分子生物学的发展, 完整的链丝菌素生物合成基因簇分别从*S. sp. TP-A0356*、*S. rochei* NBRC12908、*S. lavendulae* NBRC 12789以及*S. lavendulae* variant BCRC 12163等菌株中克隆得到^[29-31](图2)。例如, 本实验室与上海有机所唐功利老师实验室合作, 从*S. sp. TP-A0356*基因组中克隆得到完整的链丝菌素生物合成基因簇, 并对基因簇内各个基因进行了详细的分析^[29]。此基因簇大小为30.5 kb, 包含24个开放阅读框(*orf-3*到*stnU*)。其中包括一个编码乙酰转移酶的抗性基因*stnA*, 两个转运蛋白编码基因(*stnT*和*stnU*), 两个可能的调控基因*orf-1*和*orf-3*, 以及19个与链丝菌素生物合成相关的结构基因。在*S. sp. TP-A0356*中, 此基因簇处于沉默状态, 但是将其在天蓝色链霉菌(*S. coelicolor*)中异源表达, 不仅能得到链丝菌素F等已知的链丝菌素组分, 还得到了乙酰化链丝菌素A和乙酰化链丝菌素B两个新的组分^[29]。

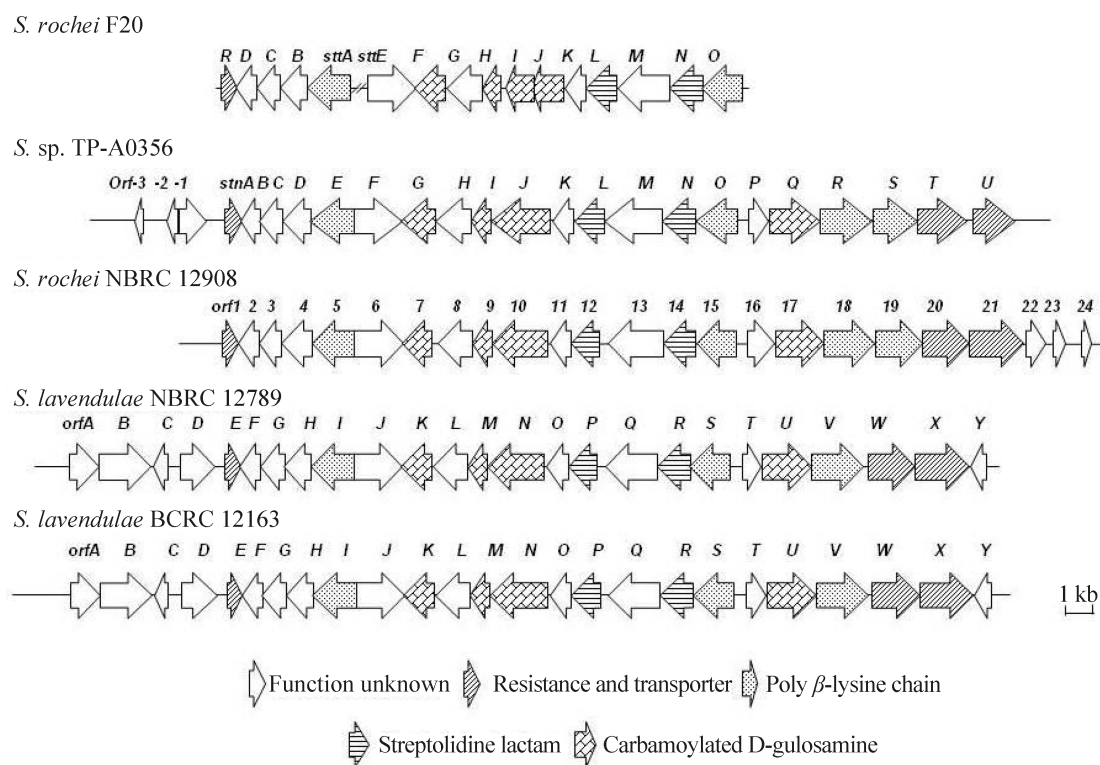


图 2. 不同链霉菌中已经测序的链丝菌素生物合成基因簇^[29-31]

Figure 2. The biosynthetic gene clusters of streptothricins from various *Streptomyces* strains^[29-31].

在得到链丝菌素生物合成基因簇的信息之后，科学家们对链丝菌素各个组成部分的生物合成机理进行了深入的研究，分别综述如下。

2.1 链里啉内酰胺部分的生物合成

链里啉内酰胺是链丝菌素特有的碱基，其特殊的化学结构一直吸引着人们的研究兴趣。1977年，Gräfe等通过同位素示踪，发现精氨酸是合成链里啉内酰胺部分的前体^[32-34]。为了明确精氨酸是怎样转化成链里啉内酰胺，Gould等利用L-[guanido-¹³C,¹⁵N₂]-精氨酸和DL-[guanido-¹³C,2-¹⁵N]-精氨酸做同位素示踪实验，明确了链里啉内酰胺中胍基上碳原子和氮原子的来源^[35](图3-A)。此外，他们还将精氨酸各个碳上的氢原子分别用氘

取代，再进行同位素示踪实验。结果表明：精氨酸C-5位的氢原子能够保留，C-2和C-3上的氢原子则会在反应过程中丢失，C-4位上的一个氢原子也会在反应过程中丢失^[36](图3-B)。因此，他们推测精氨酸在形成链里啉内酰胺的过程需要经过精氨酸C-3羟基化、闭环形成卷须霉啉(capreomycidine)，卷须霉啉再经过结构翻转等过程，形成链里啉内酰胺(图3-C)。但是，同位素标记前体物示踪实验表明，在细胞内，卷须霉啉并不能转化为链里啉，而开环的链里啉可以转化形成链里啉内酰胺。这表明，Gould等推测的这条途径存在不准确的地方。紧接着，Jockson等的同位素示踪实验发现，开环的链里啉能够进入链丝菌素的合成途

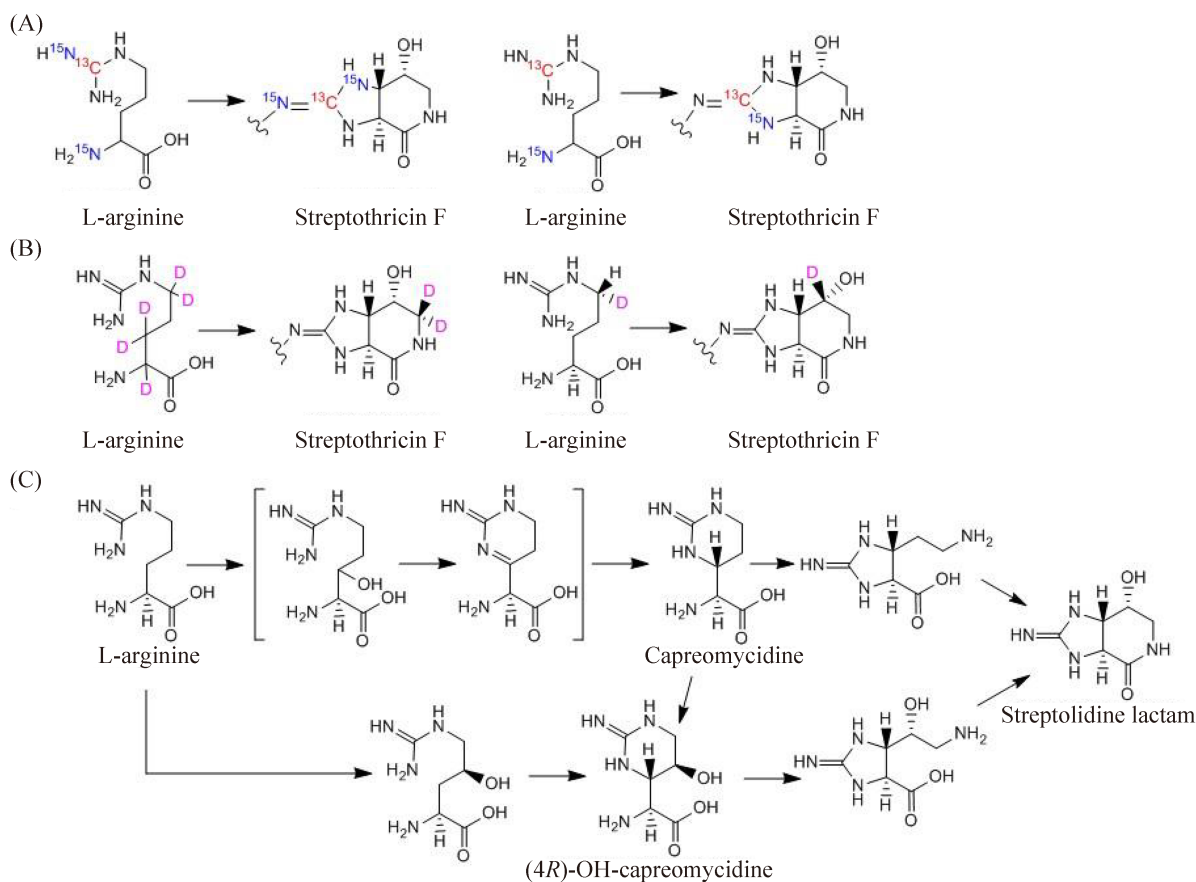


图 3. 利用同位素示踪研究链里啉内酰胺的生物合成机制^[35-36]

Figure 3. Deciphering the biosynthetic mechanism of streptolidine lactam by isotope labelling feeding experiments. A: Determination of the origins of streptolidine lactam amino atoms; B: Determination of the origins of streptolidine lactam protons; C: Putative biosynthetic pathways of streptolidine lactam biosynthesis^[35-36].

径。他们推测,除了Gould等推测的途径外,精氨酸也可能先在C-4位羟基化,再成环形成(4*R*)-OH-卷须霉啶(4*R*-OH-capreomycin), (4*R*)-OH-卷须霉啶翻转形成开环形式的链里啶,进而生成链里啶内酰胺^[37](图3-C)。但是无论是以上哪条途径,都缺少体内遗传学和酶学研究的证据。

在克隆得到链丝菌素生物合成相关基因之后,Chang等通过生物信息学分析发现OrfP和OrfR与紫霉素(viomycin)合成过程中负责capreomycin合成的酶VioC和VioD分别具有42.5%和40.2%的相似性^[31]。而VioC能够催化L-精氨酸C-3位发生羟基化形成3*R*-hydroxy-L-

arginine, VioD催化3*R*-hydroxy-L-arginine成环形成卷须霉啶^[38-39]。他们进一步通过生物化学和蛋白结构分析等研究手段发现,与VioC不同,氧化酶OrfP能够发生依赖于Fe²⁺的羟基化反应,催化L-精氨酸的C-3和C-4位分别发生羟基化,生成(3*S*)-OH-L-精氨酸和(3*R*,4*R*)-(OH)₂-L-精氨酸。随后,在环化酶OrfR的作用下发生依赖于PLP的消除-加成反应,使(3*R*,4*R*)-(OH)₂-L-精氨酸发生环化,生成(4*R*)-OH-卷须霉啶^[31](图4)。同位素示踪实验表明,(4*R*)-OH-卷须霉啶是链里啶内酰胺的前体,证实了(4*R*)-OH-卷须霉啶是链丝菌素合成过程的真正中间代谢产物,同时解释了为什么前期研究

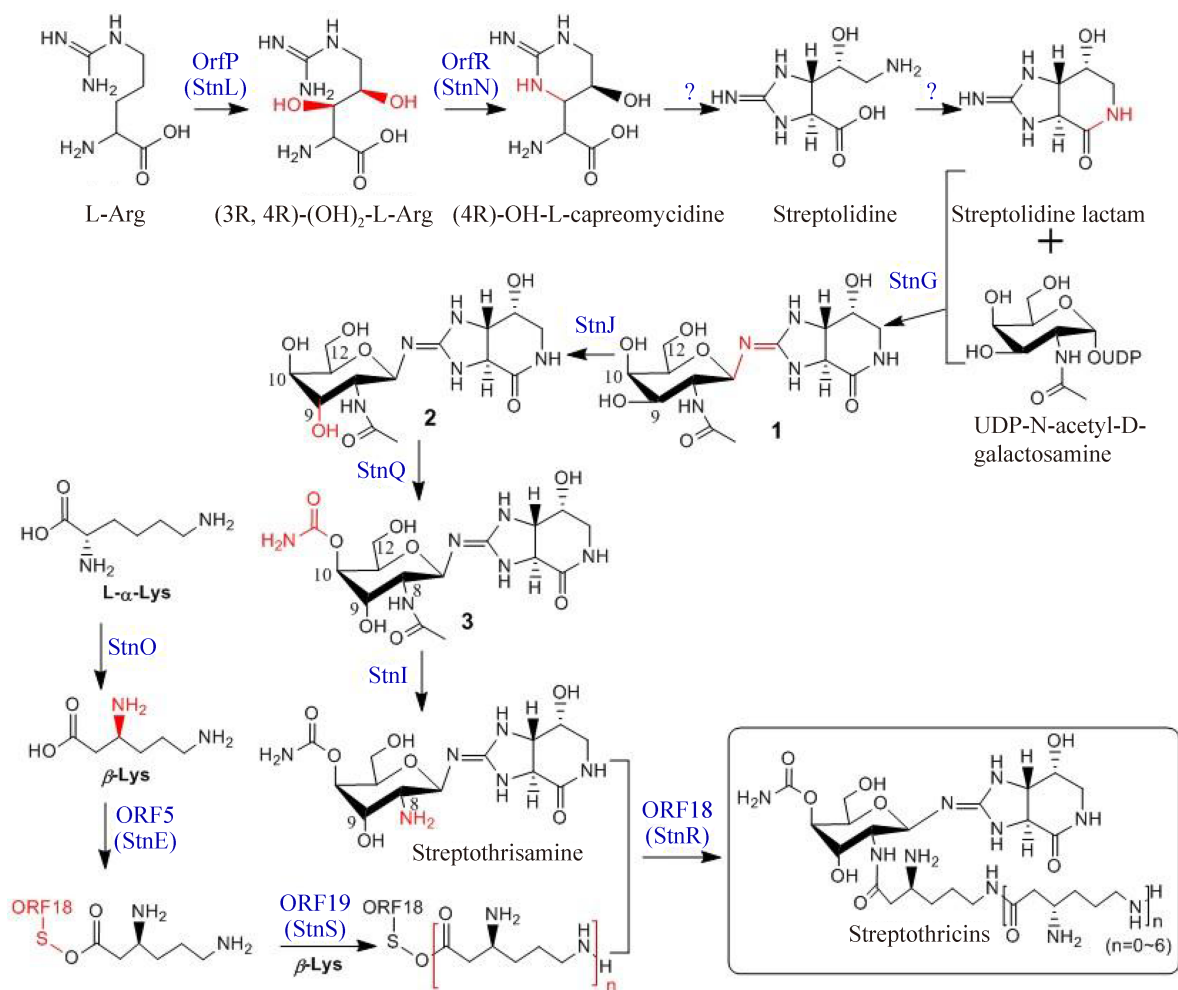


图 4. 链丝菌素的生物合成途径

Figure 4. The biosynthetic pathway of streptothricins.

中同位素标记的卷须霉啉不能转化为链里啉内酰胺。对于(4*R*)-OH-卷须霉啉需要再经过怎样的生化反应生成链里啉内酰胺的这个问题, 还有待于进一步深入研究。

2.2 氨甲酰化D-古洛糖胺部分的生物合成

同位素示踪实验结果表明氨甲酰化D-古洛糖胺由D-葡萄糖胺衍生而来^[40-41]。对于D-葡萄糖胺需要经过怎样的过程才能转化成为氨甲酰化D-古洛糖胺这个问题, 长期以来一直未能解决。直到2015年, 本实验室通过基因阻断、体外酶学实验等研究手段发现, UDP-N-乙酰-D-半乳糖胺(UDP-N-acetyl-D-galactosamine)可以经过一系列的酶学反应生成氨甲酰化D-古洛糖胺, 这一问题才得以阐明^[42]。

链丝菌素中, 氨甲酰化D-古洛糖胺部分与链里啉内酰胺胍基间连接的N-糖苷键十分独特, 而催化这个反应的酶也非常特别。在天然产物生物合成过程中, 大多数催化糖苷键形成的糖苷转移酶结构上都属于GT-B型, 而结构上属于GT-A型的糖苷转移酶往往催化初级代谢中的糖基转移反应^[43]。在链丝菌素生物合成基因簇中存在一个GT-A型糖基转移酶StnG。除此之外, 通过分析链丝菌素生物合成基因簇, 我们推测具有脱氢酶和异构化酶双结构域的蛋白编码基因*stnJ*和氨甲酰基转移酶编码基因*stnQ*可能参与氨甲酰化D-古洛糖胺部分的生物合成。因此, 将其分别进行遗传阻断, 分析基因阻断突变株中积累的代谢产物。除了*stnG*阻断突变株积累链里啉内酰胺外, 我们惊奇的发现, *stnJ*和*stnQ*阻断突变株中积累的代谢中间产物(化合物1和2)都在糖上含有一个乙酰化修饰(图4)。表明在氨甲酰化D-古洛糖胺的合成过程, 存在着一个去乙酰化的过程。因此将基因簇内的一个去乙酰化酶编码基因*stnI*进行阻断, 证实了此基因确实与氨甲酰化D-古洛糖胺合成相关^[42]。

体外酶学实验表明, StnG可以催化糖基供体UDP-N-乙酰-D-半乳糖胺(UDP-N-acetyl-D-galactosamine)与链里啉内酰胺胍基的亚胺基进行反应, 生成N-乙酰-D-半乳糖胺与链里啉内酰胺相连接的产物1。随后, StnJ催化化合物1中N-乙酰-D-半乳糖胺单元C-9位的羟基发生异构化, 使之转化为N-乙酰-D-古洛糖胺得到化合物2; 接着, StnQ在化合物2的C-10(或者C-12位)羟基处进行氨甲酰化修饰得到化合物3; 最后, 脱乙酰酶StnI将化合物3的氨甲酰化N-乙酰-D-古洛糖胺单元上的乙酰基团脱去, 生成含有氨甲酰化D-古洛糖胺结构的代谢中间产物streptothrisamine(图4)。其中, StnG是首个报道的催化胍基亚胺上糖基化反应的酶^[42]; StnI是首次发现的LmbE家族的N-乙酰-D-古洛糖胺脱乙酰化酶。

2.3 寡聚 β -赖氨酸链部分的生物合成

同位素示踪实验表明, 寡聚 β -赖氨酸链是由L- α -赖氨酸通过异构化衍生而来^[44]。生物信息学分析, *stnO*编码一个氨基变位酶。将*stnO*遗传阻断后, 阻断突变株丧失了合成完整的链丝菌素分子的能力, 但是在其发酵液中能够积累链里啉内酰胺^[29]。表明StnO参与链丝菌素中寡聚 β -赖氨酸链部分的生物合成, 将L- α -赖氨酸催化成L- β -赖氨酸。随后, L- β -赖氨酸经过一个类似NRPS的合成过程, 聚成长度在1-7不等的赖氨酸链。

NRPSs是由多个模块组成的多功能蛋白复合体。典型的NRPS由3个必需的结构域组成: 腺苷酸化结构域(Adenylation, A)、巯基化结构域(Thiolation, T; 也被称为肽酰载体蛋白结构域, PCP)和缩合结构域(Condensation, C)^[45-46]。腺苷酸化结构域识别特定的底物并将其活化成为氨酰-AMP。氨酰-AMP随后被转移到相邻的肽酰载体蛋白结构域的磷酸泛酰巯基乙胺长臂上, 形成氨酰-S-PCP中间产物。肽酰载体蛋白结构域就像一个不断摆动的手臂, 将合成的中间产物转运到各

个催化中心。缩合结构域催化上游模块的产物氨酰-S-PCP或者肽酰-S-PCP与新合成的氨酰-S-PCP间形成肽键。新合成的肽酰基中间产物再被PCP转移至下游作用模块,开始新一轮的肽链延伸过程。

在链丝菌素生物合成过程中, Maruyama等研究表明, L- β -赖氨酸被一个独立的NRPS腺苷酰化结构域(NRPS-A) ORF5 (NpsA同源蛋白)腺苷酰化形成腺苷酰化L- β -赖氨酸,随后腺苷酰化L- β -赖氨酸被转运并连接到ORF18 (NRPS类PCP-C双结构域蛋白, NpsB的同源蛋白)的PCP结构域^[30]。另外一个十分特殊的独立腺苷酰化结构域ORF19也可以活化L- β -赖氨酸,但是它并不是将活化的L- β -lysyl-O-AMP装载到ORF18的PCP上,而是催化它们与已经连在ORF18的PCP结构域的 β -赖氨酸间形成 ϵ -酰氨键,从而使寡聚 β -赖氨酸链得以延伸^[30]。最后, ORF18的C结构域催化 β -赖氨酸链和streptothrisamine之间发生缩水反应,形成寡聚 β -赖氨酸链和古洛糖胺氨基之间的酰胺键,得到链丝菌素类化合物。有趣的是, ORF19还可以将链丝菌素F作为产物,催化腺苷酰化L- β -赖氨酸与链丝菌素F上的 β -赖氨酸之间形成 ϵ -酰氨键,从而使链丝菌素上的 β -赖氨酸得以延长(图4)。由于ORF5等蛋白具有底物不专一性,通过添加L- β -赖氨酸的类似物L- β -homolysine,可以得到具有不同L- β -homolysine链长度的新型链丝菌素类化合物^[30]。

3 链丝菌素类化合物的化学合成

为了确定链丝菌素的结构并研究其构效关系,科学家们通过化学合成的方法,全合成或半合成了链丝菌素及其类似物。例如,1982年, Tetsuo Shiba等利用全合成的方法合成了链丝菌素F^[8]。他们以葡萄糖胺为起始原料,首先合成了古洛糖胺的结构,经过苯甲酰基的保护后,在碱性

条件下,糖上的C-3、C-4位形成一个三元环,醋酸酐将环打开后得到C-3、C-4位变位的糖。然后将羟基保护,C-2位的伯胺与 β 赖氨酸链上的羧基进行缩合,接着C-4位受保护的羟基与氯代异氰酸酯反应形成胺甲基。C-1位的羟基通过异硫氰酸钾,生成异硫氰酸酯,最后与链里啉进行偶合,形成链丝菌素F。

对链丝菌素各个部分的化学合成也取得一些进展。Tetsuo Shiba课题组首先对链里啉进行了全合成^[47]。他们以D-ribose为起始原料,先用对甲苯磺酸将羟基保护,接着再与叠氮化钠进行反应,在糖的C-2, C-3位形成一个三元环,接着用叠氮化钠进行开环反应得到了构型改变的Methyl 3-azido-2,5-dibenzoyloxycarbamido-2,3,5-trideoxy- β -D-arabinofuranoside,而后将C-1位脱甲酯,将C-1位羟基氧化,合成了关键的中间产物(3S,4S,5R)-3,4-diamino-5-(aminomethyl)dihydrofuran-2(3H)-one,通过与氢氧化钠以及溴乙腈反应,再经酸水解后得到链里啉。

Oftedahl课题组利用D-Xylose为起始原料合成了古洛糖胺单元^[48]。首先利用Henry reaction将五碳糖的D-Xylose转变为D-xyllo-3,4,5,6-tetraacetoxy-1-nitro-1-hexene。将此化合物溶于甲醇中,并通入氨气,最后在酸性条件下生成D-古洛糖胺。在此基础上,本实验室合成了链丝菌素中糖基转移酶StnG的底物类似物UDP-N-乙酰-D-古洛糖胺,以期验证糖基转移酶的底物^[42]。将D-古洛糖胺全乙酰化后,用结晶性磷酸将糖C-1位磷酸化,然后脱乙酰基团,最后与4-morpholine-N,N-dicyclohexylcarboxamidinium salt of uridine进行缩合得到了UDP-N-乙酰-D-古洛糖胺。

4 展望

目前,链丝菌素已经作为一种重要的农用抗生素在农业生产中应用。因此,对其进行的进一

步研究的一个重要方面是降低其生产成本、提高产品效价等。前期研究结果显示, 链丝菌素中寡聚 β -赖氨酸链的长度对活性有着直接的关系。其中, β -赖氨酸长度为3的时候(链丝菌素D), 链丝菌素分子的生物活性最强。因此, 通过基因工程、化学合成等手段提高链丝菌素D在链丝菌素总产物中的比例, 对实际生产来说意义重大。另外, 通过化学合成或者化学生物合成方法, 将链丝菌素的 β -赖氨酸链进行替换, 或者将古洛糖胺替换成其它类型的糖, 产生新的链丝菌素衍生物, 以提高其活性或者降低毒性, 也是链丝菌素重要的研究方向。关于链丝菌素生物合成机制的理解, 将帮助我们利用组合生物合成的方法合理设计新的生物合成途径, 提高化合物库的构建效率, 从而筛选得到活性更加良好的链丝菌素类化合物。

参考文献

- [1] Waksman SA, Woodruff HB. Streptothricin, a new selective bacteriostatic and bactericidal agent active against gram-negative bacteria. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 1942, 49(2): 207–210.
- [2] Vantamelen E, Whitfield GB, Dyer JR, Carter HE, Whaley HA. Constitution of streptolin-streptothricin group of *Streptomyces* antibiotics. *Journal of the American Chemical Society*, 1961, 83(20): 4295–4296.
- [3] Johnson AW, Westley JW. The streptothricin group of antibiotics. Part 1. general structural pattern. *Journal of the Chemical Society*, 1962, 1642–1655.
- [4] Taniyama H, Miyoshi F, Kageyama K. Chemical studies on antibiotics produced by actinomycetes. XI. racemomycin. (8). on racemomycin A, B, and C. *Yakugaku Zasshi*, 1962, 8287–8291.
- [5] Taniyama H, Sawada Y, Kitagawa T. Studies on the inactivation and regeneration of streptothricin. *Journal of Antibiotics*, 1971, 24(10): 662–666.
- [6] Khokhlov AS, Shutova KI. Chemical structure of streptothricins. *Journal of Antibiotics*, 1972, 25(9): 501–508.
- [7] Kusumoto S, Kambayashi Y, Imaoka S, Shima K, Shiba T. Total chemical structure of streptothricin. *Journal of Antibiotics*, 1982, 35(7): 925–927.
- [8] Kusumoto S, Imaoka S, Kambayashi Y, Shiba T. Total synthesis of antibiotic streptothricin-F. *Tetrahedron Letters*, 1982, 23(29): 2961–2964.
- [9] Kawakami Y, Yamasaki K, Nakamura S. The structures of component A1 (= LL-AB664) and component A2 (= LL-AC541), streptothricin-like antibiotics. *Journal of Antibiotics*, 1981, 34(7): 921–922.
- [10] Gan M, Zheng X, Gan L, Guan Y, Hao X, Liu Y, Si S, Zhang Y, Yu L, Xiao C. Streptothricin derivatives from *Streptomyces* sp. 108A 1776. *Journal of Natural Products*, 2011, 74(5): 1142–1147.
- [11] Gan M, Zheng X, Liu Y, Guan Y, Xiao C. Three new 12-carbamoylated streptothricins from *Streptomyces* sp. 108A 1776. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2012, 22(19): 6151–6154.
- [12] Ji Z, Wang M, Wei S, Zhang J, Wu W. Isolation, structure elucidation and antibacterial activities of streptothricin acids. *Journal of Antibiotics*, 2009, 62(5): 233–237.
- [13] Romer W, Hesse G, Miosga N, Fricke H. Chemical Determination of the streptothricin antibiotic nourseothricin. *Archiv Fur Experimentelle Veterinarmedizin*, 1986, 40(5): 693–698.
- [14] Ohba K, Nakayama H, Furihata K, Furihata K, Shimazu A, Seto H, Otake N, Yang ZZ, Xu LS, Xu WS. Albothricin, a new streptothricin antibiotic. *Journal of Antibiotics*, 1986, 39(6): 872–875.
- [15] Borders DB, Sax KJ, Lancaster JE, Hausmann WK, Mitscher LA, Wetzel ER, Patterson EL. Structures of LL-AC541 and LL-AB664: new streptothricin-type antibiotics. *Tetrahedron*, 1970, 26(13): 3123–3133.
- [16] Haupt I, Hubener R, Thrum H. Streptothricin-F, an inhibitor of protein-synthesis with miscoding activity. *Journal of Antibiotics*, 1978, 31(11): 1137–1142.
- [17] Inamori Y, Amino H, Tsuboi M, Yamaguchi S, Tsujibo H. Biological-activities of racemomycin-b, beta-lysine rich streptothricin antibiotic, the main component of *Streptomyces lavendulae* Op-2. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 1990, 38(8): 2296–2298.
- [18] Inamori Y, Kubo M, Tsujibo H. The mechanisms of delayed insecticidal action of streptothricin antibiotics. III. The mode of delayed insecticidal action of racemomycin-A. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 1987, 35(4): 1509–1514.

- [19] Kubo M, Kato Y, Morisaka K, Inamori Y, Nomoto K, Takemoto T, Sakai M, Sawada Y, Taniyama H. Insecticidal activity of streptothricin antibiotics. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 1981, 29(12): 3727–3730.
- [20] Zhu CX, Jiang XL, Sun DY, Ji JH, Tian YL, Xie DL, Ni CF. Zhongshengmycin, a new agro-antibiotics. *Fine and Specially Chemicals*. 2002, 16: 1614–1617. (in Chinese)
朱昌雄, 蒋细良, 孙东园, 姬军红, 田云龙, 谢德玲, 倪楚芳. 新农用抗生素——中生菌素. 精细与专用化学品, 2002, 16: 1614–1617.
- [21] Jelenska J, Tietze E, Tempe J, Brevet J. Streptothricin resistance as a novel selectable marker for transgenic plant cells. *Plant Cell Reports*, 2000, 19(3): 298–303.
- [22] Inamori Y, Sunagawa S, Tsuruga M, Sawada Y, Taniyama H, Saito G, Daigo K. Toxicological approaches to streptothricin antibiotics. I. Implications of delayed toxicity in mice. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 1978, 26(4): 1147–1152.
- [23] Kobayashi T, Uozumi T, Beppu T. Cloning and characterization of the streptothricin-resistance gene which encodes streptothricin acetyltransferase from *Streptomyces lavendulae*. *Journal of Antibiotics*, 1986, 39(5): 688–693.
- [24] Kobayashi T, Horinouchi S, Uozumi T, Beppu T. Purification and biochemical-characterization of streptothricin acetyltransferase coded by the cloned streptothricin-resistance gene of *Streptomyces lavendulae*. *Journal of Antibiotics*, 1987, 40(7): 1016–1022.
- [25] Krugel H, Fiedler G, Haupt I, Sarfert E, Simon H. Analysis of the nourseothricin-resistance gene (*nat*) of *Streptomyces noursei*. *Gene*, 1988, 62(2): 209–217.
- [26] Maruyama C, Hamano Y. The biological function of the bacterial isochorismatase-like hydrolase SttH. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 2009, 73(11): 2494–2500.
- [27] Fernández-Moreno MA, Vallin C, Malpartida F. Streptothricin biosynthesis is catalyzed by enzymes related to nonribosomal peptide bond formation. *Journal of Bacteriology*, 1997, 179(22): 6929–6936.
- [28] Grammel N, Pankevych K, Demydchuk J, Lambrecht K, Saluz HP, Keller U, Krugel H. A beta-lysine adenylating enzyme and a beta-lysine binding protein involved in poly beta-lysine chain assembly in nourseothricin synthesis in *Streptomyces noursei*. *European Journal of Biochemistry*, 2002, 269(1): 347–357.
- [29] Li J, Guo Z, Huang W, Meng X, Ai G, Tang G, Chen Y. Mining of a streptothricin gene cluster from *Streptomyces* sp. TP-A0356 genome via heterologous expression. *Science China. Life sciences*, 2013, 56(7): 619–627.
- [30] Maruyama C, Toyoda J, Kato Y, Izumikawa M, Takagi M, Shin-ya K, Katano H, Utagawa T, Hamano Y. A stand-alone adenylation domain forms amide bonds in streptothricin biosynthesis. *Nature Chemical Biology*, 2012, 8(9): 791–797.
- [31] Chang CY, Lyu SY, Liu YC, Hsu NS, Wu CC, Tang CF, Lin KH, Ho JY, Wu CJ, Tsai MD, Li TL. Biosynthesis of streptolidine involved two unexpected intermediates produced by a dihydroxylase and a cyclase through unusual mechanisms. *Angewandte Chemie International Edition*, 2014, 53(7): 1943–1948.
- [32] Gräfe U, Reinhardt G, Bocker H, Thrum H. Biosynthesis of streptolidine moiety of streptothricins by *Streptomyces noursei* JA 3890b. *Journal of Antibiotics*, 1977, 30(1): 106–110.
- [33] Kinoshita M, Suzuki Y. Synthesis of streptolidine lactam, a guanidine-containing amino-acid lactam moiety of streptothricin antibiotic group. *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 1977, 50(9): 2375–2378.
- [34] Sawada Y, Nakashima S, Taniyama H, Inamori Y, Sunagawa S, Tsuruga M. Biosynthesis of streptothricin antibiotics. IV. On the incorporation of L-arginine into streptolidine moiety by *Streptomyces lavendulae* OP-2. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 1977, 25(5): 1161–1163.
- [35] Gould SJ, Thiruvengadam TK. Studies of nitrogen-metabolism using C-13-Nmr spectroscopy. III. Synthesis of Dl-[3-13c,2-15n] lysine and its incorporation into streptothricin-F1. *Journal of the American Chemical Society*, 1981, 103(22): 6752–6754.
- [36] Gould SJ, Lee JN, Wityak J. Biosynthesis of streptothricin-F. 7. The fate of the arginine hydrogens. *Bioorganic Chemistry*, 1991, 19(3): 333–350.
- [37] Jackson MD, Gould SJ, Zabriskie TM. Studies on the formation and incorporation of streptolidine in the biosynthesis of the peptidyl nucleoside antibiotic streptothricin F. *Journal of Organic Chemistry*, 2002, 67(9): 2934–2941.
- [38] Ju J, Ozanick SG, Shen B, Thomas MG. Conversion of (2S)-arginine to (2S,3R)-capreomycin by VioC and VioD from the viomycin biosynthetic pathway of *Streptomyces* sp. strain ATCC11861. *Chembiochem*, 2004, 5(9): 1281–1285.
- [39] Yin X, McPhail KL, Kim KJ, Zabriskie TM. Formation of the nonproteinogenic amino acid 2S,3R-capreomycin by VioD from the viomycin biosynthesis pathway. *Chembiochem*, 2004, 5(9): 1278–1281.

- [40] Gould SJ, Tann CH, Prabhakaran PC, Hillis LR. [2,3,4,6,6-H-2(5)]-D-glucose as a general probe for sugar transformations in microbial-metabolism-application to the biosynthesis of sarubicin-a, blasticidin-S, and streptothricin-F. *Bioorganic Chemistry*, 1988, 16(3): 258–271.
- [41] Palaniswamy VA, Gould SJ. Biosynthesis of streptothricin-F. Part 6. Formation and intermediacy of D-glucosamine in *Streptomyces* L-1689-23. *Journal of the Chemical Society-Perkin Transactions 1*, 1988, (8): 2283–2286.
- [42] Guo Z, Li J, Qin H, Wang M, Lv X, Li X, Chen Y. Biosynthesis of the carbamoylated D-gulosamine moiety of streptothricins: involvement of a guanidino-N-glycosyltransferase and an N-acetyl-D-gulosamine deacetylase. *Angewandte Chemie International Edition*, 2015, 54(17): 5175–5178.
- [43] Lairson LL, Henrissat B, Davies GJ, Withers SG. Glycosyltransferases: structures, functions, and mechanisms. *Annual Review of Biochemistry*, 2008, 77: 521–555.
- [44] Thiruvengadam TK, Gould SJ, Aberhart DJ, Lin HJ. Biosynthesis of streptothricin F. Part 5. Formation of beta-lysine by *Streptomyces* L-1689-23. *Journal of the American Chemical Society*, 1983, 105(16): 5470–5476.
- [45] Velkov T, Lawen A. Non-ribosomal peptide synthetases as technological platforms for the synthesis of highly modified peptide bioeffectors--cyclosporin synthetase as a complex example. *Biotechnology Annual Review*, 2003, 9: 151–197.
- [46] Strieker M, Tanovic A, Marahiel MA. Nonribosomal peptide synthetases: structures and dynamics. *Current Opinion in Structural Biology*, 2010, 20(2): 234–240.
- [47] Kusumoto S, Tsuji S, Shiba T. Synthesis of streptolidine (Roseonine, Geamine). *Tetrahedron Letters*, 1974, (15): 1417–1420.
- [48] Sowden JC, Oftedahl ML. D-gulosamine from D-xylose. *Journal of Organic Chemistry*, 1961, 26(6): 2153–2154.

Progress in streptothricin antibiotics - A review

Jine Li, Min Wang, Yihua Chen*

State Key Laboratory of Microbial Resources, Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

Abstract: Streptothricins are a group of the earliest discovered antibiotics with broad antimicrobial spectrum, and have been used for crop protection. We reviewed the studies on streptothricin resistance, biosynthesis of the three components (streptolidine, carbamoylated D-glucosamine and poly β -lysine chain) and chemical synthesis of streptothricins. The important aspects for future streptothricin researches were also discussed.

Keywords: antibiotics, streptothricin, biosynthesis, resistance

(本文责编: 张晓丽)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (31170037, 31522001) and by the Scholar of the 100 Talents Project of Chinese Academy of Science

*Corresponding author. Tel: +86-10-64806121; E-mail: chenjihua@im.ac.cn

Received: 15 September 2015; Revised: 2 December 2015; Published online: 11 December 2015