

在微生物合成复杂肽类天然产物的途径中,非核糖体肽合成酶(NRPSs)具有重要地位。除了常规的NRPS线性装配模式之外,其他特殊装配模式也不断被发现。对于这些非常规装配模式的催化机制的探索,以及研究材料的积累,有助于人们利用组合生物合成及合成生物学方法获得更多活性天然产物。

唐功利

非核糖体肽合成酶催化的非常规装配模式

潘海学 唐功利*

(中国科学院上海有机化学研究所 生命有机化学国家重点实验室 上海 200032)

摘要: 非核糖体肽合成酶(NRPSs)催化形成复杂肽类天然产物,其中很多显示了很好的生物学活性和医疗价值。常规NRPSs具有模块化和线性催化的特点,然而在生物合成研究过程中也发现了很多具有非常规装配模式的NRPSs。本文针对其中4种非常规装配模式:重复使用、非线性、模块跳跃和非核糖体前肽模式,结合一些代表性例子做一小型综述。

关键词: 非核糖体肽合成酶, 生物合成, 天然产物

Unconventional assembling ways catalyzed by nonribosomal peptide synthetases

PAN Hai-Xue TANG Gong-Li*

(State Key Laboratory of Bio-organic and Natural Products Chemistry, Shanghai Institute of Organic Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200032, China)

Abstract: Nonribosomal peptide synthetases (NRPSs) catalyze the formation of complex peptide natural products, of which many display therapeutically useful activity. Conventional NRPSs have been characterized as modular and co-linear assembling. Recent studies of many NRPS systems revealed some examples where the catalytic logic does not directly correspond

基金项目: 国家自然科学基金委青年科学基金项目(No. 81202442)

*通讯作者: Tel: 86-21-54925113; ✉: gltang@sioc.ac.cn

收稿日期: 2013-03-06; 接受日期: 2013-04-09

to the linear arrangement of modules and domains. This mini review summarizes the recently discovered NRPS biosynthetic pathways focused on four types of unconventional assembling ways including iterative NRPSs, nonlinear NRPSs, module skipping NRPSs and the nonribosomal propeptide biosynthetic mode.

Keywords: Nonribosomal peptide synthetase, Biosynthesis, Natural product

肽类抗生素是一大类生物活性天然产物的总称, 它们被广泛应用于医药、农业、食品 and 生命科学研究中。根据肽类抗生素在生物体内的合成途径不同, 可以将其分为核糖体肽类 (Ribosomal peptides, RPs) 和非核糖体肽类 (Nonribosomal peptides, NRPs)^[1]。其中, 核糖体肽类抗生素利用核糖体方式合成前体肽链, 再通过翻译后修饰和肽链水解形成最终结构, 代表例子有羊毛硫类抗生素 Nisin^[2], 硫肽类抗生素 Thiostrepton^[3], 海洋来源环肽抗生素 Patellamides 等^[4]。除此之外, 其它不通过核糖体途径合成的肽类天然产物通常称为非核糖体肽类, 负责合成它们的酶被称为非核糖体肽合成酶 (Nonribosomal peptide synthetases, NRPSs)。在生物合成研究领域, 非核糖体肽合成酶 (NRPS) 通常特指一种模块化的合成酶, 而不包括一些特殊的途径, 如谷胱甘肽、二酮哌嗪类环二肽等的生物合成^[5-6]。常规 NRPSs 的模块化结构和线性催化方式, 决定了每个模块与最终产物中聚肽骨架的结构单元是一一对应的。模块又

由若干个功能结构域组成, 这些功能结构域负责延伸单元的引入、缩合、肽链的承载及产物的解离等^[7-8]。一个基本的线性 NRPS 延伸模块至少包括 3 个催化结构域: 缩合 (Condensation, C) 结构域, 腺苷化 (Adenylation, A) 结构域和肽酰载体蛋白 (Peptidyl carrier protein, PCP; 或称为硫酯化结构域, T) 结构域。其中 A 结构域负责底物氨基酸的选择和活化, 并将活化后的氨基酸转移至 PCP 结构域上形成氨酰化硫酯, C 结构域催化 PCP 上氨酰化硫酯的氨基与上游模块中 PCP 上的氨酰化硫酯缩合形成肽键 (图 1), 最后硫酯酶 (Thioesterase, TE) 结构域负责将聚肽链从 PCP 上解离和/或催化环合^[9-10]。这一模块化的生物合成规律可以被我们所利用, 通过功能结构域或模块的重排构建重组的 NRPSs, 从而理性设计最终形成的聚肽骨架结构, 以获得具有新型结构的非天然聚肽化合物。

然而, 随着越来越多含有聚肽结构天然产物的合成途径被阐明, 采取有别于上述常规聚肽装配方式的 NRPSs 逐渐被发现。在这些例子

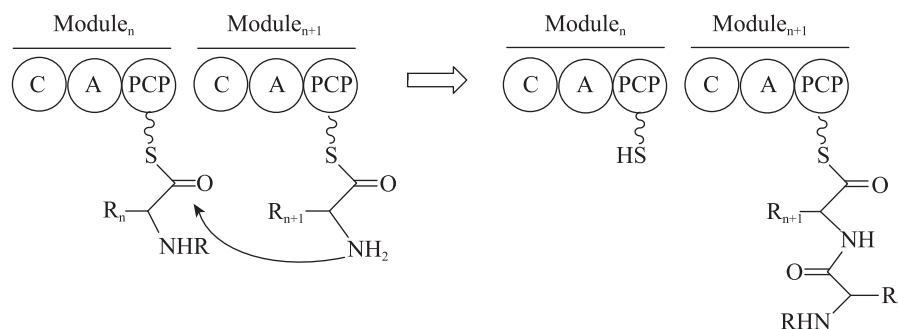


图 1 非核糖体肽合成酶的催化缩合示意图

Fig. 1 Simplified scheme of nonribosomal peptide synthetase

中, 最终产物的聚肽氨基酸残基顺序与合成酶的模块和结构域顺序不是线性对应的。随着生物合成基因簇的不断发掘, 人们逐渐意识到这些途径并不是 NRPS 常规装配方式的几个特例, 而是呈现了自然界中 NRPS 平台的多样性和生物合成潜力。已知的 NRPSs 在常规途径之外主要包括以下几种装配方式: 重复使用(Iterative) NRPSs, 指至少有一个以上的模块被重复使用, 产生两个以上的相同缩合单元^[8]; 非线性(Nonlinear) NRPSs, 指反式(*in trans*)的氨基酸上载方式; 模块跳跃(Module skipping) NRPSs, 指功能完整的模块在肽链延伸过程中被跳过; 非核糖体前肽(Nonribosomal propeptide)模式, 指 NRPS 合成的完整肽链在被肽酶部分水解后得到最终产物。对于上述特殊装配方式的探索, 有助于通过基因组挖掘发现更多的复杂肽类天然产物, 也能为 NRPSs 的组合生物合成提供更多的重组单元。

1 重复使用 NRPSs

1.1 硫酯酶结构域(TE)介导的重复肽链寡聚化

重复使用 NRPSs 在组装一个天然产物分子时会不止一次地利用它的模块, 这种策略通常用于形成某些具有重复序列的肽链。最常见的例子就是以 TE 结构域为基础, 催化形成非核糖体肽链的寡聚化和环化。采用这种方式合成的具有寡聚肽链特性的天然产物包括: 丝状真菌 *Fusarium scirpi* 产生的恩镰孢菌素(Enniatin), 它是 D-2-羟基异戊酰-N-甲基缬氨酸二肽(D-Hiv-MeVal)的环状三聚体^[11]; 缬氨霉素(Valinomycin)由链霉菌产生, 其结构中含有 3 个重复的 D-Hiv-D-Val-L-Lac-L-Val 单元^[12]; 大肠杆菌产生的铁螯合载体肠菌素(Enterobactin), 是二羟基苯甲酰丝氨酸单元的环状三聚体^[13], 与肠菌素结构相似的还有枯草芽孢杆菌产生的

Bacillibactin, 是二羟基苯甲酰甘氨酸苏氨酸的三聚体^[14]; 具有抗肿瘤活性的棘霉素(Echinomycin), 其结构由两个相同的四肽单元聚合而成, 并且在聚合后进一步形成肽链间的二硫键^[15]; 短杆菌肽(Gramicidin)由短芽孢杆菌产生, 它是由两个 5 肽单元首尾相连缩合而成^[16-17]。一般来说, 形成这类化合物的 NRPSs 只包含一套对应于终产物中重复单元(如短杆菌肽中的 5 肽)的模块, 这套模块的合成产物在最后一个 PCP 和 TE 的作用下形成最终的多聚体。也就是说, 寡聚化方式的关键是最后的 TE 结构域的作用, 因此从 C-A-PCP 催化机制来看与常规 NRPS 没有本质的区别。以肠菌素的合成为例(图 2), 单体二羟基苯甲酰丝氨酸转移到末端 TE 结构域的活性丝氨酸残基上, 因而空出最后一个 PCP 使下一轮的单体合成得以进行^[18]。第二轮合成的单体在 TE 结构域上与前一轮的产物聚合, 然后重复同样的延伸与聚合循环, 直至最终产物通过环化方式从 TE 上释放, 寡聚化作用结束。由真核微生物合成的恩镰孢菌素的 NRPSs 与一般寡聚化 NRPS 的结构域组成不同, 上述的 TE 结构域在这里被 PCP-C 结构域单元所替代, 寡聚化的中间体应该是连接在 PCP 结构域上, 而 C 结构域则同时发挥了酰基转移和最终环化的作用^[19]。在这些例子中, TE 结构域(或者 PCP-C 双结构域)不仅控制重复循环的次数, 而且形成单体链之间的不同成键。在肠菌素、Bacillibactin 和棘霉素中, 单体通过与丝氨酸或苏氨酸侧链羟基形成酯键相连; 在短杆菌肽 S 中, 两条单体肽链的首尾通过肽键相连; 在恩镰孢菌素的合成中, D-Hiv 的 α -羟基与碳端活化的缬氨酰残基形成酯键。

TE 介导的重复使用 NRPSs 在蛋白质一级结构上与线性 NRPSs 无法区分, 寡聚化过程中的生物化学机制取决于末端的 TE 结构域, 然而在与其它 TE 结构域的比对中也没有发现可

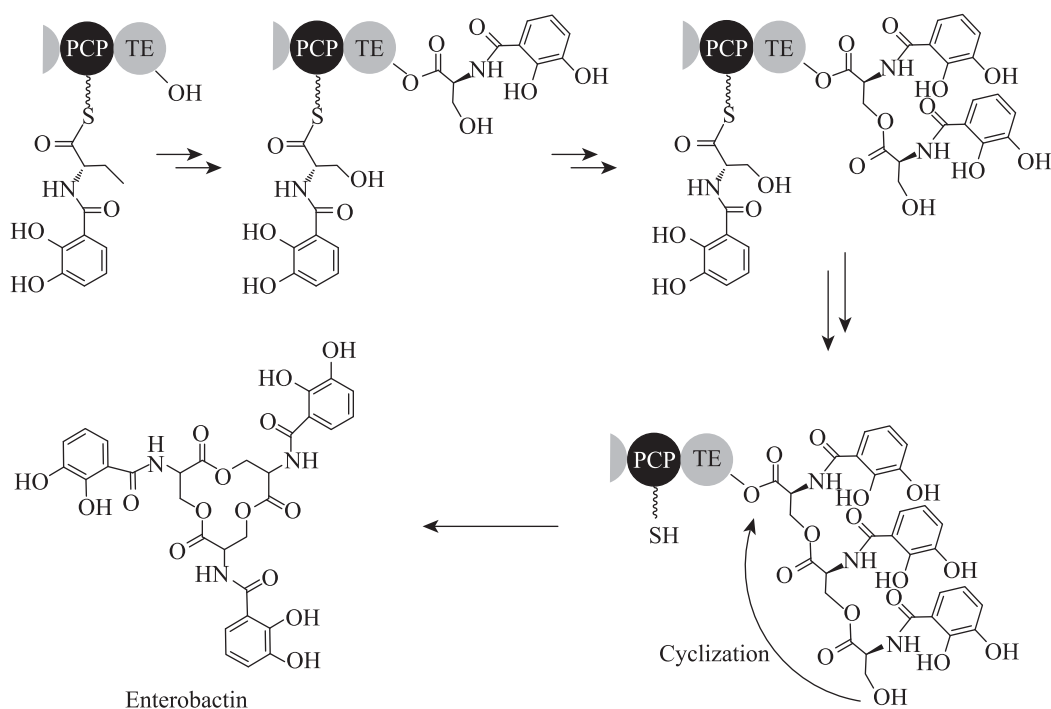


图2 肠菌素的生物合成途径

Fig. 2 Biosynthetic pathway of enterobactin

以预测重复功能的线索。在组合生物合成中,若要将这种重复功能引入到杂合 NRPS 中也是比较困难的,因为寡聚化和环化过程可能仅仅局限于与天然单体底物相近的一些肽链。

1.2 模块重复使用的 NRPSs

在另外一些例子中, NRPS 合成产物的肽链氨基酸残基数多于 NRPS 模块数,但又不是 NRPS 产物的简单寡聚化,推测为 NRPS 中的某些模块的重复使用。如在脂肽类抗生素雷莫拉宁(Ramoplanin)的生物合成中,基因簇中总共包括 16 个模块,推测负责合成雷莫拉宁 17 个氨基酸残基中的 16 个,剩余第 2 位的 L-OH-Asn 残基没有对应的模块(图 3)。基因簇中包含起始模块的 NRPS 蛋白 Ramo-Orf12 只含有一个单独的模块,根据 A 结构域的底物识别序列分析负责识别 Asn,因此推测该模块重复使用,同时担负了雷莫拉宁分子中 1 位与 2 位 Asn 的上载,2 位的 Asn 在羟化酶的催化下得到最终的

L-OH-Asn 结构^[20]。对于这种重复使用的 NRPS 起始模块,我们曾经尝试与恩拉霉素(Enduracidin)的 NRPS 模块进行替换。采用同源重组的方式导入了恩拉霉素中的第 1 和第 2 模块,结果没有得到预期的雷莫拉宁类似物^[21]。虽然不产新化合物可由很多因素导致,实验结果还是暗示了这种重复使用 NRPS 模块和常规模块之间是不可替换的。要使这种特殊的 C-A-PCP 结构能够最终应用于组合生物合成中,还有很多具体催化机制值得探索。

近年来在微生物基因组测序和基因组挖掘中,也发现了几个可能存在 NRPS 模块重复使用的例子。如作为海洋药物进入临床实验的膜海鞘素 B (Didemnin B),其生物合成途径中 NRPSs 起始 2 个模块的 A 结构域推测都是识别 Gln,而合成产物中间体中对应位置则有 3-4 个 Gln 残基,因此也可能存在起始模块重复使用的情况^[22]。由同一组科学家合作进行的另一项

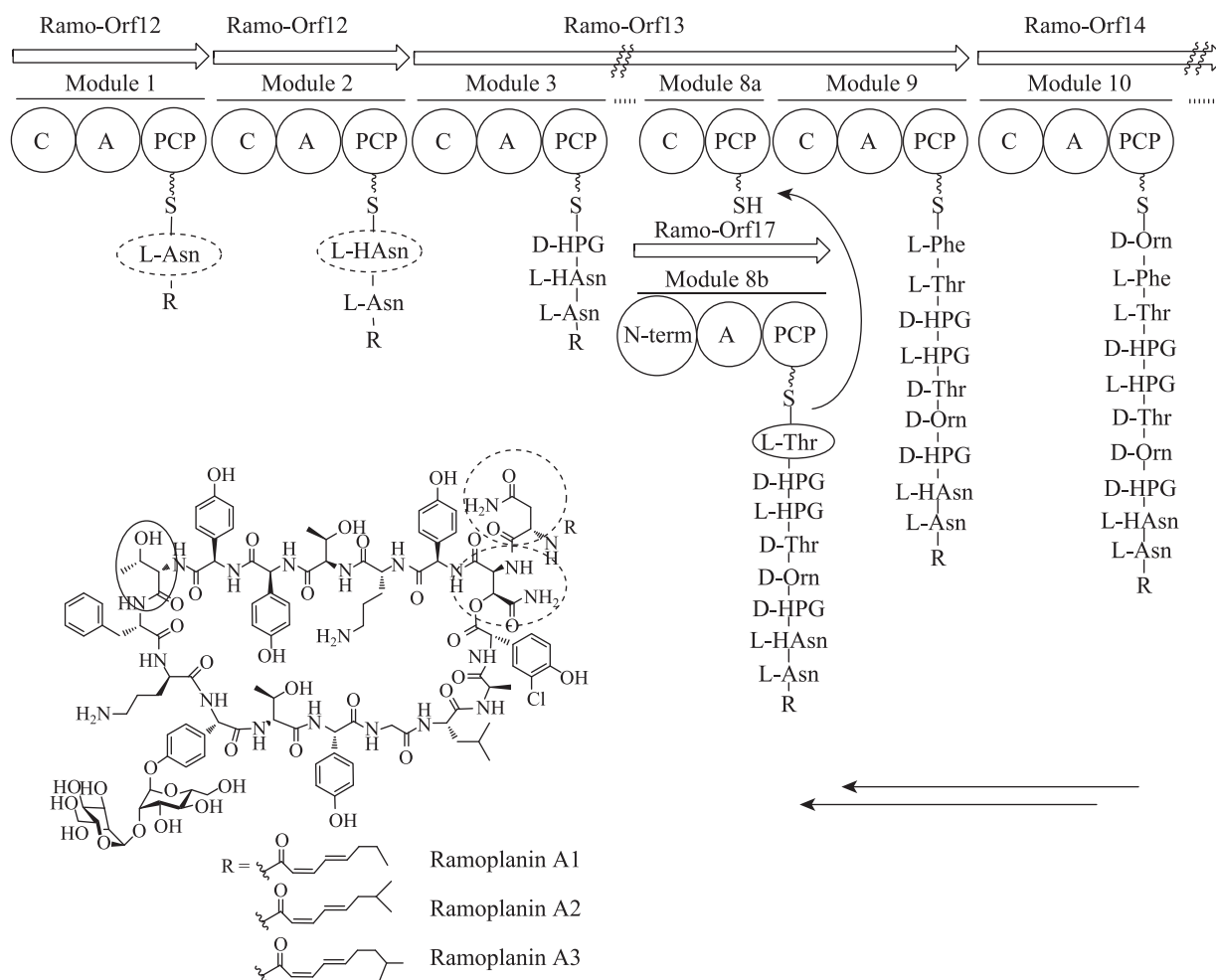


图3 雷莫拉宁生物合成中的 NRPS 途径

Fig. 3 NRPS pathway within the ramoplanin biosynthesis

研究中,发现了更为复杂的模块重复使用方式。在环脂肽类免疫抑制剂 Thalassospiramide 的生物合成中,杂合 NRPS/PKS 存在多模块(C-A_{Val}-T-C-A_{Ser}-T-KS-KR-T-T)的重复使用,形成 2-3 个重复的结构单元^[23](图 4)。推测其中末端的双 T 结构域在 3 模块的重复使用中发挥了关键作用,肽酰基链转移到第二个 T 结构域上使下一轮延伸得以进行。在 Thalassospiramide 的生物合成途径中,同时还存在其他非常规 NRPSs,如模块跳跃和非线性 NRPSs,将在后文中详述。

本课题组在四氢异喹啉生物碱家族化合物的研究中也首次发现,番红霉素 A (Saframycin

A)的 NRPS 生物合成途径中,最后一个模块可能被重复使用,负责 Saframycin A 中两个酪氨酸衍生物单元的合成^[24],并推测在其他四氢异喹啉家族化合物的基因簇中也存在同样的情况^[25-26]。后来日本科学家 Oikawa 等通过 NRPS 模块的体外表达和生化测试提出了更为细致和惊人的机制:番红霉素 NRPSs 的最后一个模块 SfmC 通过 7 步催化将带有长链酰基的二肽底物转化为复杂的番红霉素骨架,其中就包括了若干重复催化步骤,如酪氨酸衍生物的两次上载, C 结构域催化的 Pictet-Spengler (P-S)反应,以及还原结构域 (Reduction domain, RE)催化的硫酯键还原^[27](图 5)。

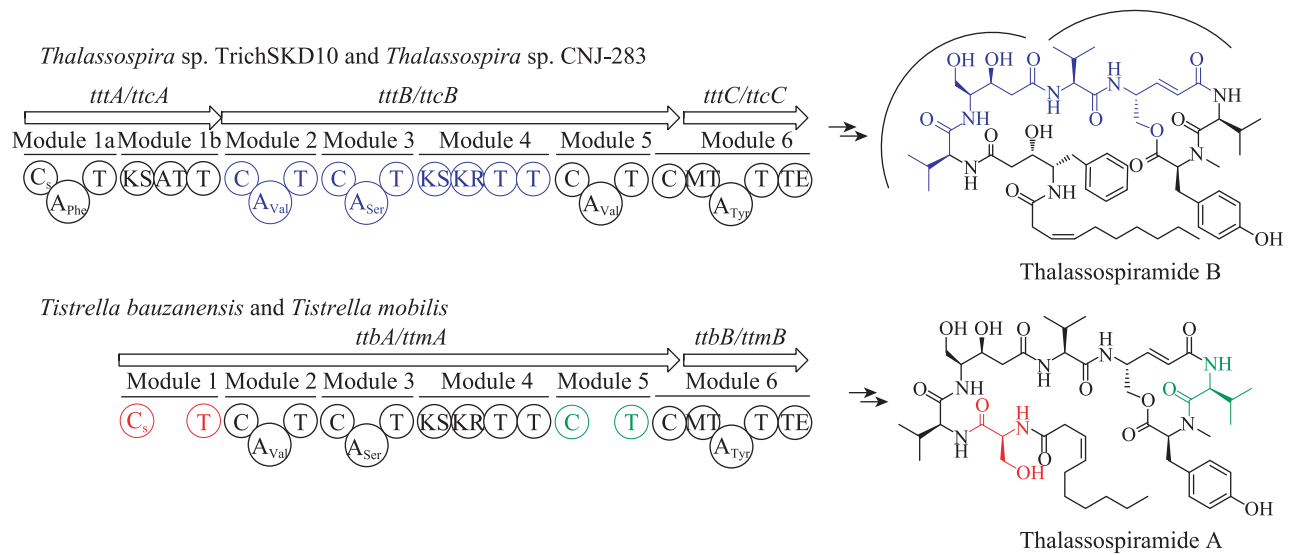


图 4 Thalassospiramide 生物合成中的 NRPS 途径

Fig. 4 NRPS pathway within the thalassospiramide biosynthesis

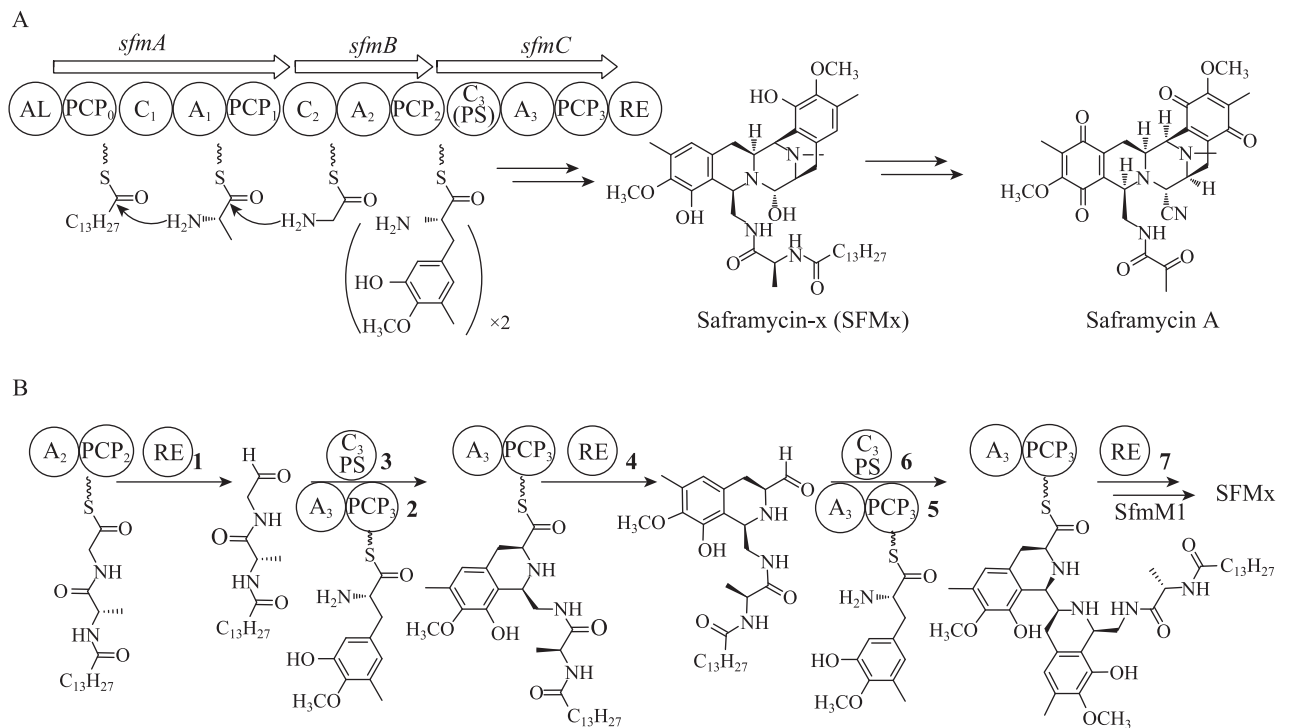


图 5 番红霉素 A 的生物合成途径

Fig. 5 Biosynthetic pathway of saframycin A

2 非线性 NRPSs

简单来说, 常规 NRPSs 中 A 结构域负责将底物活化并上载到同一个模块所在的 PCP 结构域上, 则称为顺式(*In cis*)上载, 这种 NRPSs 也称为线性(Linear) NRPSs。反之, 某一模块对应的氨基酸底物由外在的 A 结构域负责活化的, 则被称为反式(*In trans*)上载, 对应的 NRPSs 可以称为非线性 NRPSs。这里讨论的非线性 NRPSs 不包括 NRPS 催化逻辑非线性的其他情况^[28], 也不包括独立的 A 和 PCP 的底物上载方式^[29]。

在聚酮合酶(PKS)中也存在反式作用酰基转移酶(AT)负责的底物上载, 一般在含反式作用 AT 的 PKS 中, 单独基因编码的 AT 负责将相同的延伸单元从底物(如丙二酸单酰辅酶 A)转移至每个缺失 AT 的 PKS 模块中, 如 Leinamycin 和 FR901464 的生物合成^[30-31]。而本文要讨论

的非线性 NRPSs 可以分为两种类型: 第一种是反式作用 A 结构域包含在一个由“A-PCP”组成的独立模块中, 给缺失 A 的 NRPS 模块提供延伸单元; 第二种是反式作用 A 结构域包含在某个线性 NRPS 模块中, 他除了给自身模块的 PCP 上载氨基酸, 同时也能通过反式作用给其他缺失 A 的模块提供延伸单元。

第一种非线性 NRPSs 的代表例子是丁香霉素(Syngomycin)的生物合成^[32-33], 其中包含两个 NRPSs 蛋白 SyrB1 和 SyrE, SyrB1 由 A_{Thr}-PCP_{9b} 双结构域组成, SyrE 包括 8 个完整 C-A-PCP 模块(模块 1-8)和末端 TE 结构域, 以及位于模块 8 和 TE 之间的一个不完整 C₉-PCP_{9a} 模块(模块 9), 它们负责合成丁香霉素的脂九肽中间体(图 6)。推测 SyrB1 负责上载 L-Thr 到 PCP_{9b} 并在线进行修饰, 然后通过反式作用转移到 SyrE 的 PCP_{9a} 上, 再由 C₉ 负责将 8 肽底物

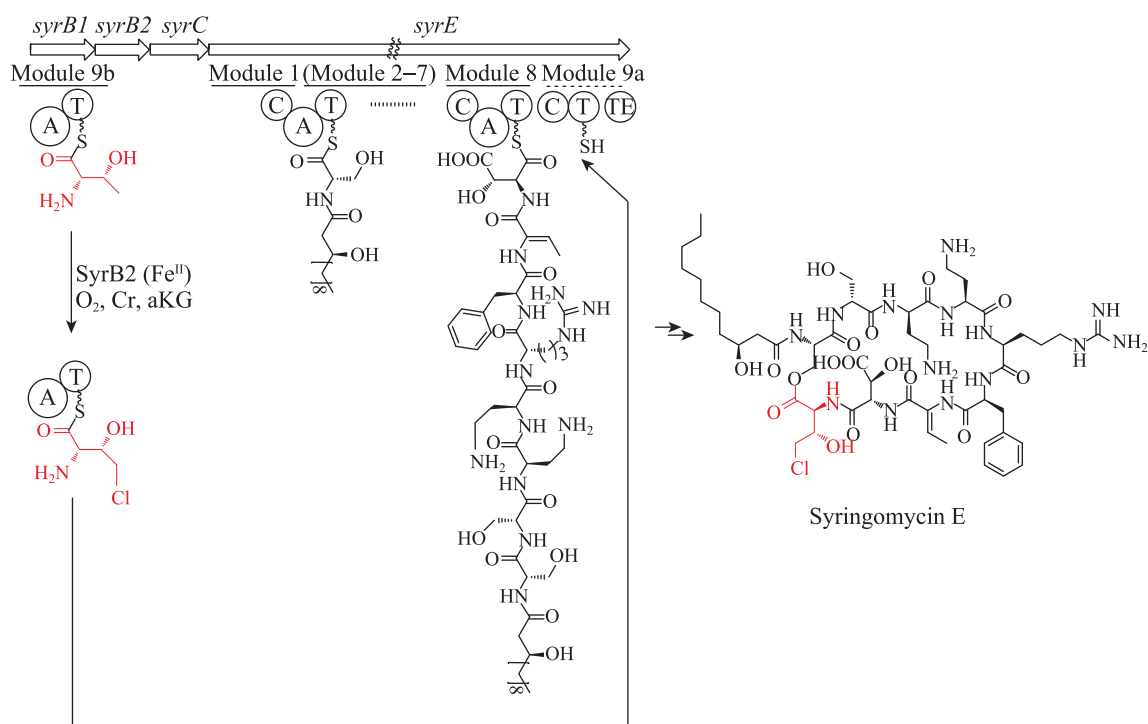


图 6 丁香霉素 E 的生物合成途径

Fig. 6 Biosynthetic pathway of syringomycin E

延伸为 9 肽, 最终由 TE 催化肽链释放。值得一提的是, 借助于 SyrB1 这个独立的双结构域蛋白, L-Thr 在 SyrB2 (非血红素 Fe^{II}、 α -酮戊二酸依赖的卤化酶) 的作用下完成了 4 位非活泼 C 原子的卤化^[34-35]。其它例子还有雷莫拉宁的生物合成途径, 在它的 NRPS 蛋白 Ramo-Orf13 中, 模块 8 根据对应产物中的氨基酸残基推测, 应该负责上载和缩合 L-*allo*-Thr, 而实际上它只包括 C-PCP 结构域, 缺少相应 A 结构域; 基因簇中存在一个含 A_{Thr}-PCP 的独立 NRPS 蛋白 Ramo-Orf17, 稍有不同的是该蛋白另外具有一个功能未知的 N 端区域。Ramo-Orf17 同样以非线性的方式实现 L-Thr 的上载并编入正确的位置^[21,36](图 3), 而以硫酯键连接的 L-Thr 转变为 L-*allo*-Thr 采用何种机制完成值得进一步研究。这种情况同样存在于跟雷莫拉宁结构类似的恩拉霉素(Enduracidin)的生物合成中^[37]。

第二种非线性 NRPSs 的代表例子是耶尔森杆菌素(Yersiniabactin)的生物合成, 这是一种更加典型的反式氨基酸上载。位于 NRPS 蛋白 HMWP2 上的 A 结构域负责识别半胱氨酸, 并同时负责 3 个 PCP 上的氨基酸上载: 一个是紧邻 A 结构域的同模块 PCP, 一个是同一蛋白上其它模块的 PCP, 还有一个是另一 NRPS 蛋白 HMWP1 上的 PCP^[38-39]。在前文提到的免疫抑制剂 Thalassospiramide 的生物合成研究中也发现了这种非线性 NRPSs, 在这个体系中非线性的情况更加特殊和复杂。在线的 A 结构域不仅能够给 C-PCP 这种不完整的模块提供底物, 而且也能够与 C-A-PCP 这种模块中的 A 结构域竞争, 产生更多样的肽链骨架^[23]。

3 模块跳跃 NRPSs

在模块重复使用 NRPSs 途径中, 产物氨基酸残基数多于 NRPSs 模块数, 这种例子比较多

见。而在少数例子中, 产物的氨基酸残基数会少于 NRPSs 的有功能模块数, 其中一种原因是在延伸过程中产生了模块跳跃(Module skipping)机制。由黏细菌产生的带有不饱和聚酮侧链的环肽化合物 Myxochromide S 是其中一例。该基因簇采用 PKS/NRPS 杂合方式合成化合物, NRPS 部分包含 6 个模块, 而最终分子中只含有 5 个氨基酸残基。通过比较 A 结构域的底物识别特异性, 推测模块 4 在延伸过程中被跳过^[40](图 7)。虽然冗余结构域和模块不完整的情况在 NRPSs 中不乏其例, 但是线性 NRPSs 中正常模块被跳过的情况并不多见, 今后随着基因组全测序和基因组挖掘的广泛开展, 可能会有更多的例子。如在对前述 Thalassospiramide 的生物合成基因簇研究中, 就发现了可能存在多种复杂的模块跳跃机制^[23]。

4 非核糖体前肽模式

另一种导致 NRPS 产物的结构单元数少于功能模块数的情况是, 通过 NRPS 模块合成的完整肽链(前肽, Propeptide)被肽酶或酯酶等所切割, 形成有生物活性的最终产物, 同时被排出微生物细胞从而发挥其生物学功能。在核糖体肽合成途径中, 这种形成前体肽链, 然后在翻译后修饰过程中切割除去前导肽(Leader peptide)的模式非常普遍^[41-43], 而在合成更多肽类天然产物的 NRPS 途径中, 采用这种模式的只有少数几个例子。目前已有报道的非核糖体前肽模式包括: 蜡样芽胞杆菌产生的双效菌素(Zwittermicin)^[44]、大肠杆菌毒素 Colibactin^[45]、嗜线虫致病杆菌产生的 Xenocoumacin(XCN)^[46]、海洋微生物来源的膜海鞘素 B(Didemnin B)^[22]、诺卡氏菌产生的诺卡菌素 A(Nocardicin A)^[47]等生物合成途径。

双效菌素、Colibactin 和 XCN 在前肽 N-端

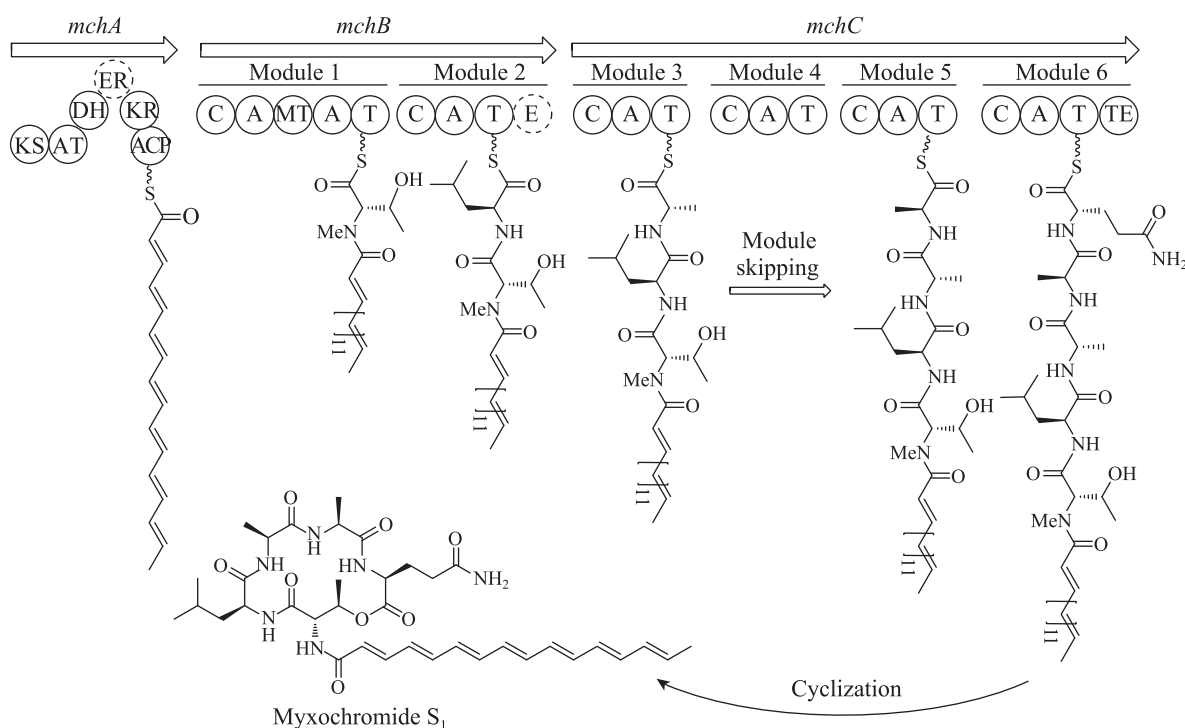


图 7 Myxochromide S 的生物合成途径

Fig. 7 Biosynthetic pathway of myxochromide S

结构以及合成途径上都有相似之处, 是最有代表性的一类非核糖体前肽合成模式。以 XCN 为例, 其 NRPS 起始模块(XcnA-Module1)的结构域组成为 C-A_{Asn}-T-E (E: 异构化结构域, Epimerization domain)(图 8), 负责 Asn 的上载以及 Asn 与脂肪酸链的缩合, 并将 L-Asn 异构化为 D-Asn, 然后在下游 NRPSs/PKSs 的催化下继续延伸。成熟的天然产物前体如 XCN-B 在离开组装线后, 被 ABC 转运子(ABC transporter)运输到细胞周质, 然后在肽酶(XcnG)的作用下, 切除前体的 *N*-acyl-D-Asn 部分, 形成具有生物活性(毒性)的分子 XCN-1, 并排出体外。由于 XCN-1 对于嗜线虫致病杆菌自身也有毒性, 因此在由细胞膜进入时会被 XcnM/N 转化成不具有毒性的 XCN-2^[46]。这 3 个非核糖体前肽合成模式的例子都具有一些共同特征, 可以归为一类。其特征如: 相同的起始模块组成, A 结构域

识别底物都是天门冬酰胺, 而且都含有异构化结构域以得到 D-Asn 残基; 天门冬酰胺的 *N*-端以酰胺键与不同长度的脂肪酸链缩合; 肽酶一端是细胞膜结合区域, 另一端是肽酶结构域, 催化肽键水解可能有 D-Asn 残基特异性; 体内的非活性中间体在细胞周质中水解形成活性分子, 同时排出体外, 是一种主动运输协助的抗性机制。

其他的例子与上述模式略有不同。在前面提到的膜海鞘素 B 的合成途径中, NRPS 起始模块 C₁-A_{1Gln}-PCP₁-C₂-A_{2Gln}-PCP₂ 通过重复使用, 得到 *N*-端连接 β-羟基脂肪酸链的 Gln_x (x=3 或 4), 在后续 PKSs/NRPSs 的催化下得到膜海鞘素中间体。由于紧邻的下游模块 A 结构域负责上载丙酮酸并且将酮基还原为羟基, 因此缩合形成的中间体中 Gln_x 与后续结构之间是以酯键连接, 相应的切割活化步骤是酯键而非肽键的

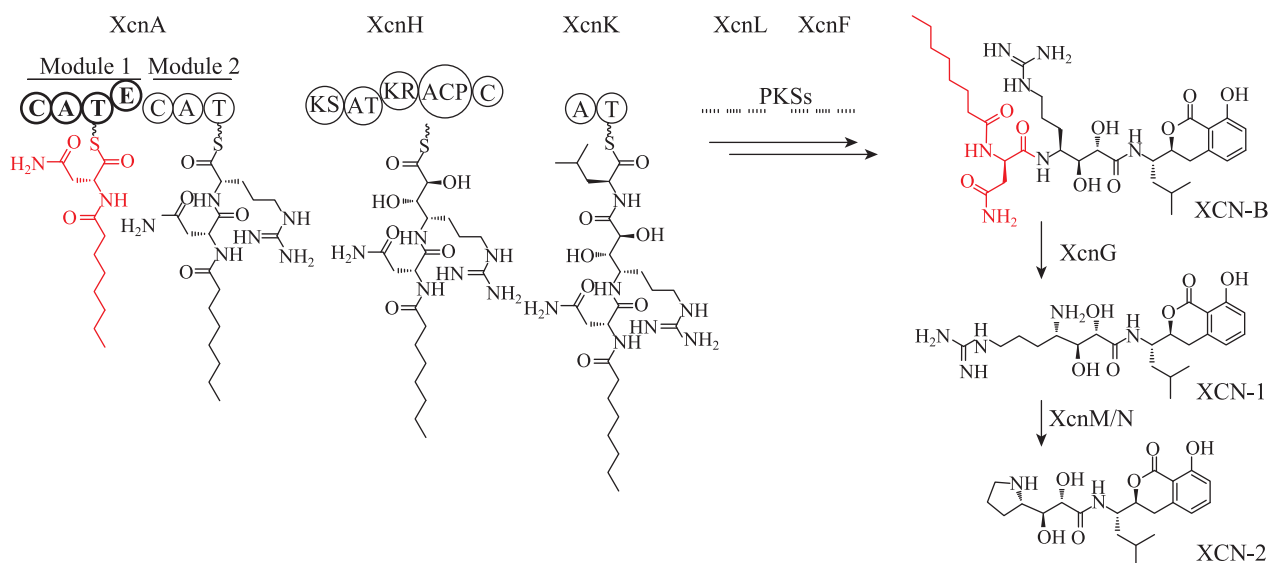


图 8 Xenocoumacin 的生物合成途径

Fig. 8 Biosynthetic pathway of xenocoumacin

水解^[22]。在另一个例子诺卡菌素 A 的生物合成中, 形成前肽的结构与上述例子差异较大: 两个 NRPSs 编码的 5 个模块催化形成 5 肽: L-*p*HPG-L-Arg-D-*p*HPG-L-Ser-L-*p*HPG, 其 N-端不存在脂肪酸链的连接, 然后通过基因簇外编码的蛋白酶或者自剪切作用在 L-Arg 残基的 C-端切割形成 2 肽和 3 肽, 其中 3 肽结构进一步修饰得到最终的诺卡菌素 A 分子^[47]。

还有一类特殊的非核糖体途径中间体, 它们的 N-端氨基酸连接脂肪酸链, 在后续合成过程中只是脂肪酸链被水解除去, 如 Saframycin A 的生物合成中间体 SFMx^[27](图 5, SFMx)。在这种情况下, 最终产物中的氨基酸残基与 NRPS 模块间是一一对应的, 但由于存在蛋白酶的水解和分子活化机制, 从中间体的角度来说, 也可以认为是一种特殊的非核糖体前肽模式。

5 结束语

综上所述, 随着肽类天然产物生物合成研究的广泛开展, 越来越多的例子证明, 具有常

规装配模式的线性 NRPSs 只是丰富多彩的合成模式中一种简单例子。这种常规 NRPS 模式最先被人们发现并了解, 一方面是由于它们在原核微生物中的确占了相当大的比重, 另一方面也是因为它们的催化机制更富有规律, 从而易于被发现和研究。对一些特殊装配模式 NRPS 途径的总结和归纳, 将有助于人们在天然产物生物合成研究中发现更多的新途径和新化合物。随着基因组测序的发展, 天然产物检测技术的进步, 以及复杂 NRPS 机制的阐明, 将会有越来越多的新型 NRPSs 途径被发现, 并最终应用于天然产物的组合生物合成中。

参考文献

- [1] Felnagle EA, Jackson EE, Chan YA, et al. Nonribosomal peptide synthetases involved in the production of medically relevant natural products[J]. *Molecular Pharmaceutics*, 2008, 5(2): 191–211.
- [2] Chatterjee C, Paul M, Xie L, et al. Biosynthesis and mode of action of lantibiotics[J]. *Chemical Reviews*, 2005, 105(2): 633–684.
- [3] Zhang Q, Liu W. Biosynthesis of thiopeptide anti-

- biotics and their pathway engineering[J]. *Natural Product Reports*, 2013, 30(2): 218–226.
- [4] McIntosh JA, Donia MS, Schmidt EW. Ribosomal peptide natural products: bridging the ribosomal and nonribosomal worlds[J]. *Natural Product Reports*, 2009, 26(4): 537–559.
- [5] Anderson ME. Glutathione: an overview of biosynthesis and modulation[J]. *Chemico-Biological Interactions*, 1998(111/112): 1–14.
- [6] Gondry M, Sauguet L, Belin P, et al. Cyclodipeptide synthases are a family of tRNA-dependent peptide bond-forming enzymes[J]. *Nature Chemical Biology*, 2009, 5(6): 414–420.
- [7] 刘文, 唐功利. 以生物合成为基础的代谢工程和组合生物合成[J]. *中国生物工程杂志*, 2005, 25(1): 1–5.
- [8] Mootz HD, Schwarzer D, Marahiel MA. Ways of assembling complex natural products on modular nonribosomal peptide synthetases[J]. *ChemBioChem*, 2002, 3(6): 490–504.
- [9] Fischbach MA, Walsh CT. Assembly-line enzymology for polyketide and nonribosomal peptide antibiotics: logic, machinery, and mechanisms[J]. *Chemical Reviews*, 2006, 106(8): 3468–3496.
- [10] Hur GH, Vickery CR, Burkart MD. Explorations of catalytic domains in non-ribosomal peptide synthetase enzymology[J]. *Natural Product Reports*, 2012, 29(10): 1074–1098.
- [11] Haese A, Schubert M, Herrmann M, et al. Molecular characterization of the enniatin synthetase gene encoding a multifunctional enzyme catalysing N-methyldepsipeptide formation in *Fusarium scirpi*[J]. *Molecular Microbiology*, 1993, 7(6): 905–914.
- [12] Cheng YQ. Deciphering the biosynthetic codes for the potent anti-SARS-CoV cyclodepsipeptide valinomycin in *Streptomyces tsusimaensis* ATCC 15141[J]. *ChemBioChem*, 2006, 7(3): 471–477.
- [13] Gehring AM, Mori I, Walsh CT. Reconstitution and characterization of the *Escherichia coli* enterobactin synthetase from EntB, EntE, and EntF[J]. *Biochemistry*, 1998, 37(8): 2648–2659.
- [14] May JJ, Wendrich TM, Marahiel MA. The *dhb* operon of *Bacillus subtilis* encodes the biosynthetic template for the catecholic siderophore 2,3-dihydroxybenzoate-glycine-threonine trimeric ester bacillibactin[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2001, 276(10): 7209–7217.
- [15] Watanabe K, Hotta K, Praseuth AP, et al. Total biosynthesis of antitumor nonribosomal peptides in *Escherichia coli*[J]. *Nature Chemical Biology*, 2006, 2(8): 423–428.
- [16] Kohli RM, Trauger JW, Schwarzer D, et al. Generality of peptide cyclization catalyzed by isolated thioesterase domains of nonribosomal peptide synthetases[J]. *Biochemistry*, 2001, 40(24): 7099–7108.
- [17] Hoyer KM, Mahlert C, Marahiel MA. The iterative gramicidin S thioesterase catalyzes peptide ligation and cyclization[J]. *Chemistry & Biology*, 2007, 14(1): 13–22.
- [18] Shaw-Reid CA, Kelleher NL, Losey HC, et al. Assembly line enzymology by multimodular nonribosomal peptide synthetases: the thioesterase domain of *E. coli* EntF catalyzes both elongation and cyclolactonization[J]. *Chemistry & Biology*, 1999, 6(6): 385–400.
- [19] Keating TA, Ehmann DE, Kohli RM, et al. Chain termination steps in nonribosomal peptide synthetase assembly lines: directed acyl-S-enzyme breakdown in antibiotic and siderophore biosynthesis[J]. *ChemBioChem*, 2001, 2(2): 99–107.
- [20] McCafferty DG, Cudic P, Frankel BA, et al. Chemistry and biology of the ramoplanin family of peptide antibiotics[J]. *Biopolymers*, 2002, 66(4): 261–284.
- [21] 潘海学. 基于雷莫拉宁生物合成途径改造的新衍生物物的发现[D]. 上海: 上海医药工业研究院博士学位论文, 2012.
- [22] Xu Y, Kersten RD, Nam SJ, et al. Bacterial biosynthesis and maturation of the didemnin anti-cancer agents[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2012, 134(20): 8625–8632.
- [23] Ross AC, Xu Y, Lu L, et al. Biosynthetic multitasking facilitates thalassospiramide structural diversity in marine bacteria[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2013, 135(3): 1155–1162.
- [24] Li L, Deng W, Song J, et al. Characterization of the saframycin A gene cluster from *Streptomyces lavendulae* NRRL 11002 revealing a nonribosomal peptide synthetase system for assembling the unusual tetrapeptidyl skeleton in an iterative manner[J]. *Journal of Bacteriology*, 2008, 190(1): 251–263.
- [25] Velasco A, Acebo P, Gomez A, et al. Molecular characterization of the safracin biosynthetic path-

- way from *Pseudomonas fluorescens* A2-2: designing new cytotoxic compounds[J]. *Molecular Microbiology*, 2005, 56(1): 144–154.
- [26] Pospiech A, Bietenhader J, Schupp T. Two multifunctional peptide synthetases and an O-methyltransferase are involved in the biosynthesis of the DNA-binding antibiotic and antitumour agent saframycin Mx1 from *Myxococcus xanthus*[J]. *Microbiology*, 1996, 142(Pt 4): 741–746.
- [27] Koketsu K, Watanabe K, Suda H, et al. Reconstruction of the saframycin core scaffold defines dual Pictet-Spengler mechanisms[J]. *Nature Chemical Biology*, 2010, 6(6): 408–410.
- [28] Marshall CG, Hillson NJ, Walsh CT. Catalytic mapping of the vibriobactin biosynthetic enzyme VibF[J]. *Biochemistry*, 2002, 41(1): 244–250.
- [29] Tang GL, Cheng YQ, Shen B. Chain initiation in the leinamycin-producing hybrid nonribosomal peptide/polyketide synthetase from *Streptomyces atroolivaceus* S-140. Discrete, monofunctional adenylation enzyme and peptidyl carrier protein that directly load D-alanine[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2007, 282(28): 20273–20282.
- [30] Cheng YQ, Tang GL, Shen B. Type I polyketide synthase requiring a discrete acyltransferase for polyketide biosynthesis[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2003, 100(6): 3149–3154.
- [31] Zhang F, He HY, Tang MC, et al. Cloning and elucidation of the FR901464 gene cluster revealing a complex acyltransferase-less polyketide synthase using glycerate as starter units[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2011, 133(8): 2452–2462.
- [32] Guenzi E, Galli G, Grgurina I, et al. Characterization of the syringomycin synthetase gene cluster. A link between prokaryotic and eukaryotic peptide synthetases[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 1998, 273(49): 32857–32863.
- [33] Zhang JH, Quigley NB, Gross DC. Analysis of the *syrB* and *syrC* genes of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* indicates that syringomycin is synthesized by a thiotemplate mechanism[J]. *Journal of Bacteriology*, 1995, 177(14): 4009–4020.
- [34] Vaillancourt FH, Yin J, Walsh CT. SyrB2 in syringomycin E biosynthesis is a nonheme Fe^{II} alpha-ketoglutarate- and O₂-dependent halogenase[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2005, 102(29): 10111–10116.
- [35] Blasiak LC, Vaillancourt FH, Walsh CT, et al. Crystal structure of the non-haem iron halogenase SyrB2 in syringomycin biosynthesis[J]. *Nature*, 2006, 440(7082): 368–371.
- [36] Pan HX, Li JA, Shao L, et al. Genetic manipulation revealing an unusual N-terminal region in a stand-alone non-ribosomal peptide synthetase involved in the biosynthesis of ramoplanins[J]. *Biotechnology Letters*, 2013, 35(1): 107–114.
- [37] Yin X, Zabriskie TM. The enduracidin biosynthetic gene cluster from *Streptomyces fungicidicus*[J]. *Microbiology*, 2006, 152(Pt10): 2969–2983.
- [38] Keating TA, Suo Z, Ehmann DE, et al. Selectivity of the yersiniabactin synthetase adenylation domain in the two-step process of amino acid activation and transfer to a holo-carrier protein domain[J]. *Biochemistry*, 2000, 39(9): 2297–2306.
- [39] Suo Z, Tseng CC, Walsh CT. Purification, priming, and catalytic acylation of carrier protein domains in the polyketide synthase and nonribosomal peptidyl synthetase modules of the HMWP1 subunit of yersiniabactin synthetase[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2001, 98(1): 99–104.
- [40] Wenzel SC, Kunze B, Höfle G, et al. Structure and biosynthesis of myxochromides S_{1,3} in *Stigmatella aurantiaca*: evidence for an iterative bacterial type I polyketide synthase and for module skipping in non-ribosomal peptide biosynthesis[J]. *ChemBioChem*, 2005, 6(2): 375–385.
- [41] Oman TJ, van der Donk WA. Follow the leader: the use of leader peptides to guide natural product biosynthesis[J]. *Nature Chemical Biology*, 2010, 6(1): 9–18.
- [42] Walsh CT, Acker MG, Bowers AA. Thiazolyl peptide antibiotic biosynthesis: a cascade of post-translational modifications on ribosomal nascent proteins[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2010, 285(36): 27525–27531.
- [43] Li C, Kelly WL. Recent advances in thiopeptide antibiotic biosynthesis[J]. *Natural Product Reports*, 2010, 27(2): 153–164.
- [44] Kevany BM, Rasko DA, Thomas MG. Characterization of the complete zwittermicin A biosynthesis gene cluster from *Bacillus cereus*[J]. *Applied and*

- Environmental Microbiology, 2009, 75(4): 1144–1155.
- [45] Brotherton CA, Balskus EP. A prodrug resistance mechanism is involved in colibactin biosynthesis and cytotoxicity[J]. Journal of the American Chemical Society, 2013, DOI: 10.1021/ja312154m.
- [46] Reimer D, Pos KM, Thines M, et al. A natural prodrug activation mechanism in nonribosomal peptide synthesis[J]. Nature Chemical Biology, 2011, 7(12): 888–890.
- [47] Davidsen JM, Bartley DM, Townsend CA. Non-ribosomal propeptide precursor in nocardicin A biosynthesis predicted from adenylation domain specificity dependent on the MbtH family protein NocI[J]. Journal of the American Chemical Society, 2013, 135(5): 1749–1759.

~~~~~  
(上接 p.1764)

## 征 稿 简 则

### 3.3 摘要写作注意事项

3.3.1 英文摘要: 1) 建议使用第一人称, 以此可区分研究结果是引用文献还是作者得出的; 2) 建议用主动语态, 被动语态表达拖拉模糊, 尽量不用, 这样可以避免长句, 以求简单清晰; 3) 建议使用过去时态, 要求语法正确, 句子通顺; 4) 英文摘要的内容应与中文摘要一致, 但可比中文摘要更详尽, 写完后务必请英文较好且专业知识强的专家审阅定稿后再返回编辑部。5) 摘要中不要使用缩写语, 除非是人人皆知的, 如: DNA, ATP 等; 6) 在英文摘要中, 不要使用中文字体标点符号。

3.3.2 关键词: 应明确、具体, 一些模糊、笼统的词语最好不用, 如基因、表达……

## 4 特别说明

### 4.1 关于测序类论文

凡涉及测定 DNA、RNA 或蛋白质序列的论文, 请先通过国际基因库 EMBL (欧洲)或 GenBank (美国)或 DDBJ (日本), 申请得到国际基因库登录号 (Accession No.)后再投来。

### 4.2 关于版权

4.2.1 本刊只接受未公开发表的文章, 请勿一稿两投。

4.2.2 凡在本刊通过审稿、同意刊出的文章, 所有形式的(即各种文字、各种介质的)版权均属本刊编辑部所有。作者如有异议, 敬请事先声明。

4.2.3 对录用的稿件编辑部有权进行文字加工, 但如涉及内容的大量改动, 将请作者过目同意。

4.2.4 文责自负。作者必须保证论文的真实性, 因抄袭剽窃、弄虚作假等行为引发的一切后果, 由作者自负。

### 4.3 审稿程序及提前发表

4.3.1 来稿刊登与否由编委会最后审定。对不录用的稿件, 一般在收稿 2 个月之内通过 E-mail 说明原因, 作者登陆我刊系统也可查看。稿件经过初审、终审通过后, 作者根据编辑部返回的退修意见进行修改补充, 然后以投稿时的用户名和密码登陆我刊系统上传修改稿, 待编辑部复审后将给作者发稿件录用通知单, 稿件按照投稿先后排队发表。

4.3.2 对投稿的个人和单位一视同仁。坚持文稿质量为唯一标准, 对稿件采取择优先登的原则。如作者要求提前发表, 请在投稿的同时提出书面报告, 说明该研究成果的重要性、创新性、竞争性和提前发表的必要性, 经过我刊的严格审查并通过后, 可予提前刊出。

## 5 发表费及稿费

论文一经录用, 将在发表前根据版面收取一定的发表费并酌付稿酬、赠送样刊。

## 6 联系方式

地址: 北京市朝阳区北辰西路 1 号院 3 号中国科学院微生物研究所《微生物学通报》编辑部(100101)

Tel: 010-64807511

E-mail: tongbao@im.ac.cn

网址: <http://journals.im.ac.cn/wswxtbcn>