

聚酮化合物 β -酮酰-ACP 合酶的计算机 对比分析与组合生物合成

唐滢 夏立秋* 王海龙 胡胜标 余子全 孙运军

(湖南师范大学生命科学学院 微生物分子生物学湖南省重点实验室 湖南 长沙 410081)

摘要: 为了合理地设计新的聚酮化合物提高组合生物合成的效率, 本文使用 ClustalW、Mega 4.0 分析了 26 种来自不同聚酮合酶的 β -酮酰-ACP 合酶结构域的序列特征, 并用 ProtParam、Phdsec、Swiss-Model 等工具对其中 9 种具有不同底物专一性的 β -酮酰-ACP 合酶的一级结构、二级结构和三级结构及活性位点进行了分析与预测。发现它们结构上的相似性大于序列上的相似性; 活性位点都富含丝氨酸; 底物含有 2 个羧酸基团的 β -酮酰-ACP 合酶的理论 pI 均小于 5.0 且其形式电荷总量也偏低; 序列 V³⁰³ELHGTGTPLGDPIEAGA³²⁰ 是这 26 种 β -酮酰-ACP 合酶的一段保守序列, 但它并不与活性位点相邻。这些研究对进行聚酮合酶的模块或结构域替换以及定点突变具有重要的指导意义, 也为探讨其的进化机制提供了参考。

关键词: 聚酮化合物, β -酮酰-ACP 合酶, 组合生物合成, 底物专一性

Comparison and Analysis of β -ketoacyl-ACP Synthase from Polyketide with Computer and Its Implication on Combinatorial Biosynthesis

TANG Ying XIA Li-Qiu* WANG Hai-Long HU Sheng-Biao YU Zi-Quan SUN Yun-Jun

(Key Laboratory of Microbial Molecular Biology of Hunan Province, College of Life Science, Hunan Normal University, Changsha, Hunan 410081, China)

Abstract: For rational design of novel polyketides and improving the combinatorial biosynthesis of polyketides. 26 β -ketoacyl-ACP synthases from several polyketide synthases were analysed with ClustalW、MEGA4.0. The primary parameters, secondary, tertiary structures and active sites of nine of them with different substrate specificity were compared or predicted in detail using ProtParam, Phdsec, Swiss-Model. The results revealed that they have more similarity in structure than in sequence and all own a high percentage of serine in their active sites; in addition, the β -ketoacyl-ACP synthases whose substrates possess two carboxyl groups were found to have a theoretical pI less than 5.0, and their formal charges sum were on the low side too; the conserved sequence of the 26 β -ketoacyl-ACP synthases is V³⁰³ELHGTGTPLGDPIEAGA³²⁰, but it is away from the active site. These conclusions have promising potential for module or domain substitution

基金项目: 国家 863 计划项目(No. 2006AA02Z187); 国家自然科学基金项目(No. 30870064); 教育部博士点基金项目(No. 20060542006)

* 通讯作者: Tel: 86-731-88872298; E-mail: xialq@hunnu.edu.cn

收稿日期: 2009-06-15; 接受日期: 2009-08-04

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 <http://journals.im.ac.cn>

and site-specific mutation of polyketide synthases; also providing a reference for the study of their evolution mechanism.

Keywords: Polyketide, β -ketoacyl-ACP synthase, Combinatorial biosynthesis, Substrate specificity

聚酮化合物(Polyketide)是一类由细菌、真菌和植物以各种低级羧酸为底物进行连续缩合反应产生的次级代谢产物,包括治疗细菌感染的红霉素(Erythromycin)、竹桃霉素(Oleandomycin);抑制真菌的 Soraphen、粘液噻唑(Myxothiazol);消灭寄生虫的阿维菌素(Avermectin);对昆虫有毒杀作用的多杀菌素(Spinosyn);具有抑癌活性的埃博霉素(Epothilone);以及免疫抑制剂子囊霉素(Ascomycin)等,它们被广泛地应用于医药、畜牧和农业^[1-3]。聚酮化合物都是由相应的聚酮合酶(Polyketide synthase, PKS)催化合成的。大多数 PKS 都是由几个多功能的多肽组成,每一个多肽上分别携带有参与聚酮生物合成所必需的各种具有不同催化功能的结构域(Domain),包括酰基转移酶(Acyltransferase domain, AT)、酰基载体蛋白(Acyl carrier protein, ACP)、 β -酮酰-ACP 合酶(β -Ketoacyl-ACP synthase, KS)、酮还原酶(Ketoreductase, KR)、脱水酶(Dehydratase, DH)、烯酰还原酶(Enoyl reductase, ER)、硫酯酶(Thioesterase, TE)等。负责延伸 1 个二碳单位的所有结构域称为 1 个模块(Module)^[4-5]。聚酮化合物的合成类似于脂肪酸的合成,底物丙酸、乙酸、甘油酸等在 PKS 各结构域的作用下不断被聚合形成碳链,然后环化,经糖基修饰后成为有功能的聚酮化合物。

聚酮链合成的底物选择、还原程度和产物的立体化学构型都是由 PKS 上相应模块中的结构域决定的。其中酰基转移酶功能域可以特异性地决定所选择的酰基辅酶 A 的种类^[6-7],而 β -酮酰-ACP 合酶负责将这些酰基辅酶 A 装配到延伸中的碳链上^[8-9]。PKS 中模块的数量则决定合成的聚酮化合物的碳链的长度。正丁烯基多杀菌素的 PKS 比多杀菌素的 PKS 多了 1 个模块,因此它的 21 位碳原子上比多杀菌素多了 2 个碳原子。

研究各种来源不同、结构各异的聚酮化合物 PKS 的不同结构域,分析其氨基酸序列、三维结构、功能及底物专一性,有助于更有效地应用聚酮合酶开发新型抗生素。已有实验表明通过突变决定酰基转移酶底物专一性的基序可以改变其底物专一

性^[10-11]。多数情况下,通过结构域置换得到的“杂合”聚酮合酶催化非天然聚酮合成的效率远远低于野生型。聚酮化合物的模块替换也大多都得不到产量高的产物。这很可能是因为杂合模块的其它催化位点或下游模块对延伸单位的限制^[12]。Peter JB 等通过体外实验证实,在非核糖体肽聚酮化合物的合成过程中,负责催化缩合反应的酶对延伸单位具有严格的专一性,能够影响链延伸的效率^[13]。这些足以说明 β -酮酰-ACP 合酶在组合生物合成中扮演着非常重要的角色,要提高聚酮化合物组合生物合成的效率,必须同时考虑酰基转移酶和 β -酮酰-ACP 合酶的底物专一性及他们之间的兼容性。

在脂肪酸的合成过程中, β -酮酰-ACP 合酶(FabB、FabF、FabH)也起着非常重要的作用,是许多新型抗菌药物的靶标位点^[14]。因此脂肪酸合酶(FAS)中的 β -酮酰-ACP 合酶的部分结构、功能及性质已被研究的较为透彻。而在 PKS 的组合生物合成中,有关酰基转移酶的报道较多,但对 β -酮酰-ACP 合酶的关注相对较少。

本文从多杀菌素等多种聚酮化合物 PKS 各模块中挑选了 26 种具有不同底物专一性的 β -酮酰-ACP 合酶来进行分析,其中包括尼达霉素 PKS 模块 5 中的 β -酮酰-ACP 合酶、红霉素 PKS 模块 5 中的 β -酮酰-ACP 合酶等^[15],这些分析对指导聚酮化合物的组合生物合成具有重要的意义;也为探讨其的进化机制提供了参考。

1 材料和方法

1.1 一级结构及基本参数的比较

通过搜索美国国立生物技术信息中心(NCBI)蛋白质序列数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)及聚酮化合物序列数据库(<http://www.nii.res.in/searchpk.html>)^[15],获得 26 种 β -酮酰-ACP 合酶的蛋白质全长序列。使用在线蛋白质序列分析工具 ProtParam (<http://www.expasy.ch/tools/protparam/html>)计算了其中 9 种具有代表性的 β -酮酰-ACP 合酶的分子量、理论等电点、带正电荷的氨基酸和带负电荷的氨基酸

数目。用 Pymol 程序分析它们表面静电势的分布情况并计算其形式电荷总量(Formal charges sum)。形式电荷总量是对表面静电势的直观描述。

1.2 多序列比对及系统树

在线使用 ClustalW 2 (<http://www.ebi.uk.ac>)对 26 种 β -酮酰-ACP 合酶进行多序列比对, 得到反应它们之间相似性程度的分值。用 MEGA4.0 (Molecular evolutionary genetics analysis)软件根据距离依靠法来构建系统树^[16], 分析它们之间的同源性。树枝上的数字表示 Bootstrap 验证中该树枝的可信度; 系统树的拓扑形状由两两序列间的进化距离决定。

1.3 二级结构的分析

在线使用工具 PHDsec 分析 9 种 β -酮酰-ACP 合酶的二级结构, 分别预测其 α 螺旋(α -Helix)、 β 折叠主链(Extended strand)、无规则卷曲(Random coil)的百分含量。

1.4 三维结构的预测

登陆 <http://swissmodel.expasy.org/Swiss-Model.html>, 按提示输入内容及蛋白质序列, 获得相应序列的最初原子模型(PDB 文件)。通过 SwissPdb-Viewer 软件查看、修改, 再退回网站以优化模型。然后用 ERRAT 验证预测的模型是否合理。ERRAT 能对模型中所有原子间的相互作用进行评价, 得分高于 50 就被认为是可以接受的, 得分越高表明所构建的模型质量越好。最后用该软件进行编辑和对比并计算 α 碳原子距离均方根, 然后转换成 SD 值以更直观的反映它们结构上的差异。差异性计算式为 $SD=RMS/(N_m/N_0)^{\alpha}$, 其中 SD 为结构差异性, RMS 为联配氨基酸残基 α 碳原子距离均方根, N_m 为联配

氨基酸残基数, N_0 为参与比对氨基酸残基数中值, $\alpha=0.15^{[17]}$ 。

2 结果与分析

2.1 一级结构和基本参数比较

根据组成蛋白质的 20 种氨基酸的物理和化学性质, 可以从理论上分析已知序列的蛋白质物化性质。比较这 9 种 β -酮酰-ACP 合酶的基本参数(表 1), 发现它们的理论等电点都在 5.0 左右, 带负电荷的氨基酸数目多于带正电荷的氨基酸数目(其比值范围为 1.56–1.16)。底物(图 1)含有 2 个羧酸根的 β -酮酰-ACP 合酶的理论等电点都在 5.0 以下且其形式电荷总量也偏低(其值为-19、-20)。蛋白质与蛋白质之间的相互作用及蛋白质周围的电荷环境主要取决于静电和疏水相互作用, 所以该酶的表面静电势分布不仅能影响其与其他酶结构域之间的相互作用, 也能影响它周围的酸碱环境。这些含有 2 个羧酸根的底物必须先脱羧然后才能被加载到碳链上, 偏低的等电点和形式电荷总量在 pH 7.0 左右的生理环境下, 能够使该酶聚集较多的 H^+ 推动脱羧反应向正方向进行。

2.2 多序列比对及进化树

ClustalW 2 的分析结果表明, 来自同一聚酮合酶不同模块中的 β -酮酰-ACP 合酶之间的相似性较高, SoraphenPKS 模块 3 和 4 中的 β -酮酰-ACP 合酶比对得分为 91; 来自不同聚酮合酶而催化底物相同的 β -酮酰-ACP 合酶也具有较高的相似性, 巨霉素 PKS 和红霉素 PKS 装载模块中的 β -酮酰-ACP 合酶的底物都是丙酰-ACP, 它们的比对得分为 88。

表 1 9 种 β -酮酰-ACP 合酶的基本参数比较								
Table 1 Comparison of the primary parameters of the nine β -ketoacyl-ACP synthases								
聚酮化合物 Polyketide	蛋白质序列号 Protein ID	模块 Module	蛋白质全长 Protein full length	等电点 pI	Asp + Glu	Arg + Lys	底物 Substrate	形式电荷总量 Formal charges sum
Erythromycin	AAQ94247.1	5	416	4.61	53	34	Methyl-malonate	-19
Megalomicin	BAA76543.1	1	426	5.43	46	34	Propionate	-12
Myxothiazol	AAF19810.1	1	424	5.91	44	38	3-me-butyrate	-6
Ascomycin	AAF86396.1	7	421	4.81	47	27	O-me-malonate	-20
Soraphen	AAA79984.2	7	428	5.22	51	34	Glycerate	-17
Ascomycin	AAF86393.1	4	416	4.90	46	27	Ethyl-malonate	-19
Oleandomycin	CAG14965.1	1	417	5.19	46	34	Acerate	-12
Erythromycin	AAQ94246.1	1	426	5.22	47	34	Propionate	-13
Soraphen	AAK19883.1	1	425	5.34	48	36	Benzoate	-12

通过比对还发现, 序列 V³⁰³ELHGTGTPGLGDPI EAGA³²⁰ 是这 26 种来自不同物种、催化底物各不相同的 β -酮酰-ACP 合酶的一段保守序列, 其在预测的三维结构中是 1 个 α 螺旋(图 2), 且不与活性位点相邻。这段仅含有 18 个氨基酸的保守序列中含有 2 个苏氨酸、2 个谷氨酸、1 个天冬氨酸及 1 个组氨酸, 这些氨基酸是原核生物主要的磷酸化位点, 因此该区

域很可能是酶的一个关键调控区域。使结核杆菌的 β -酮酰-ACP 合酶 III 的第 45 位苏氨酸磷酸化能抑制该酶的活性, 虽然这个苏氨酸位于底物进入活性位点的通道上, 而不是活性位点^[18]。这说明细菌是可以通过磷酸化来调节这个酶的活性的。这个区域也可能参与维持蛋白质的构象或负责与 PKS 中其他结构域之间的相互作用。

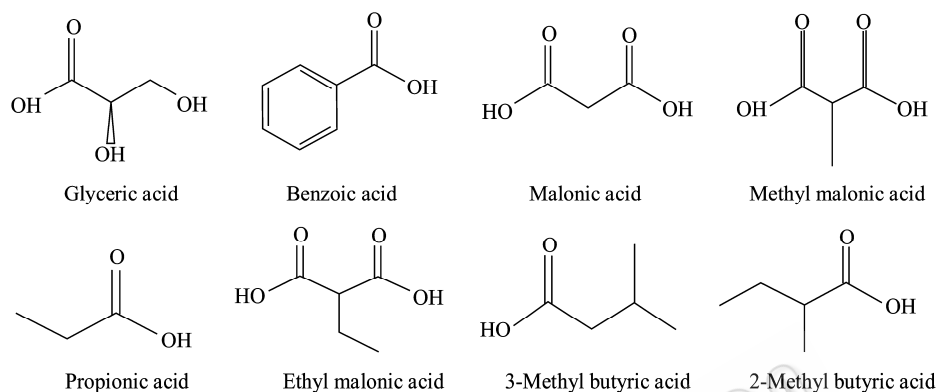


图 1 部分底物的羧酸形式

Fig. 1 The carboxylic acid form of some of the substrates

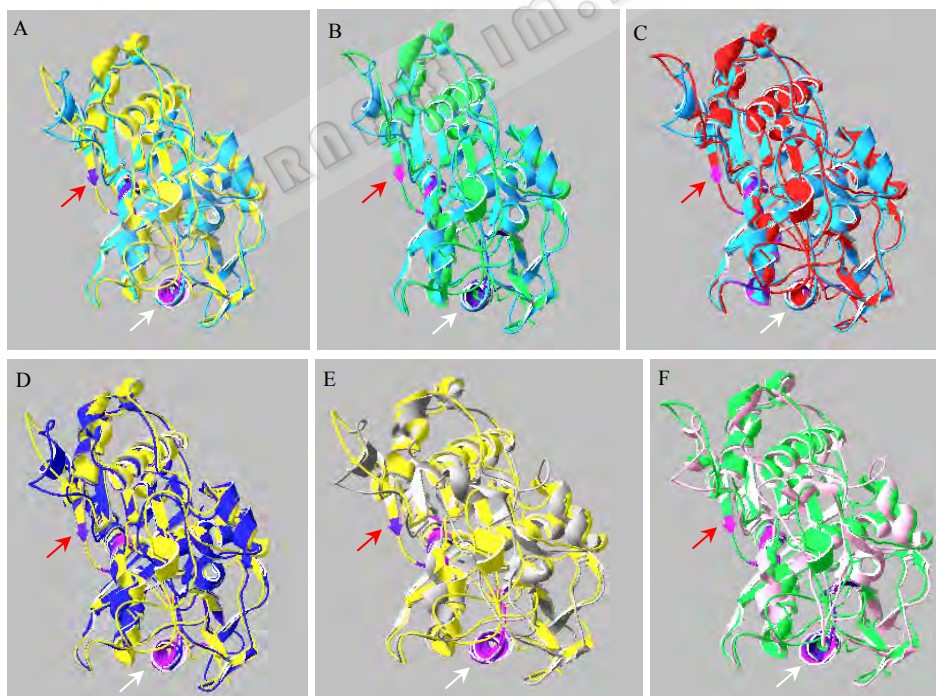


图 2 β -酮酰-ACP 合酶三维结构的预测及比较

Fig. 2 Prediction and comparison of the tertiary structures of β -ketoacyl-ACP synthases

注: A: Ascom07 (黄) + Ery05 (浅蓝); B: Ery05 (浅蓝) + EryLD (蓝); C: MegalLD (红) + EryLD (蓝); D: OleanLD (绿) + Ascom07 (黄); E: MyxalamideLD (白) + Ascom07 (黄); F: EryLD (蓝) + SoraLD (粉红)。白色箭头所指的紫色区域表示 26 种 β -酮酰-ACP 合酶保守序列所对应的区域; 红色箭头所指的紫色区域表示活性位点对应的区域。子囊霉素 PKS 模块 7 中的 β -酮酰-ACP 合酶被简称为 Ascom07。下同。
Note: A: Ascom07 (yellow) + Ery05 (cambridge blue); B: Ery05 (cambridge blue) + EryLD (blue); C: MegalLD (red) + EryLD (blue); D: OleanLD (green) + Ascom07 (yellow); E: MyxalamideLD (white) + Ascom07 (yellow); F: EryLD (blue) + SoraLD (pink). The white arrow indicates regions corresponding to the conserved sequences in 26 β -ketoacyl-ACP synthases; while red arrow represents the active sites which are both in purple. β -ketoacyl-ACP synthases in Ascomycin PKS module 7 is abbreviated to Ascom07. The same as follows.

应用 MEGA4.0 软件构建系统树(图 3), 对其同源性进行分析, 发现不同 β -酮酰-ACP 合酶之间的同源性与他们所属的 PKS 相关, 同时也与其底物特异性相关。比如: 子囊霉素 PKS 模块 4 和 7 中的 β -酮酰-ACP 合酶的底物分别是乙基丙二酰-ACP 和氧甲基丙二酰-ACP, 它们之间具有较高的同源性; 巨霉素 PKS 和红霉素 PKS 装载模块中的 β -酮酰-ACP 合酶虽来自不同的物种, 但它们的底物都是丙酰-ACP, 它们之间的同源性也较高。

从系统树中还可以看出不同 PKS 装载模块中的 β -酮酰-ACP 合酶之间具有较高同源性; 而延伸模块中的 β -酮酰-ACP 合酶的同源性与其所在的 PKS 具有较大的正相关性, 这表明 PKS 装载模块和延伸模

件很可能具有不同的进化策略。

2.3 二级结构的分析

蛋白质二级结构的预测通常是蛋白质结构预测的第一步。虽然 9 种 β -酮酰-ACP 合酶在序列上有很大的差异, 催化的底物也各不相同, 但从表 2 可看出它们形成 α 螺旋、 β 折叠主链和无规则卷曲等构象的趋势非常接近。这很可能是因为它们催化的是同一类型的反应。其中预测的 Soraphen PKS 模块 7 中的 β -酮酰-ACP 合酶形成的 α 螺旋含量最高, 而子囊霉素 PKS 模块 7 中的 β -酮酰-ACP 合酶形成的无规则卷曲含量最高。但这些微小的差异不是造成其具有不同底物专一性的原因。

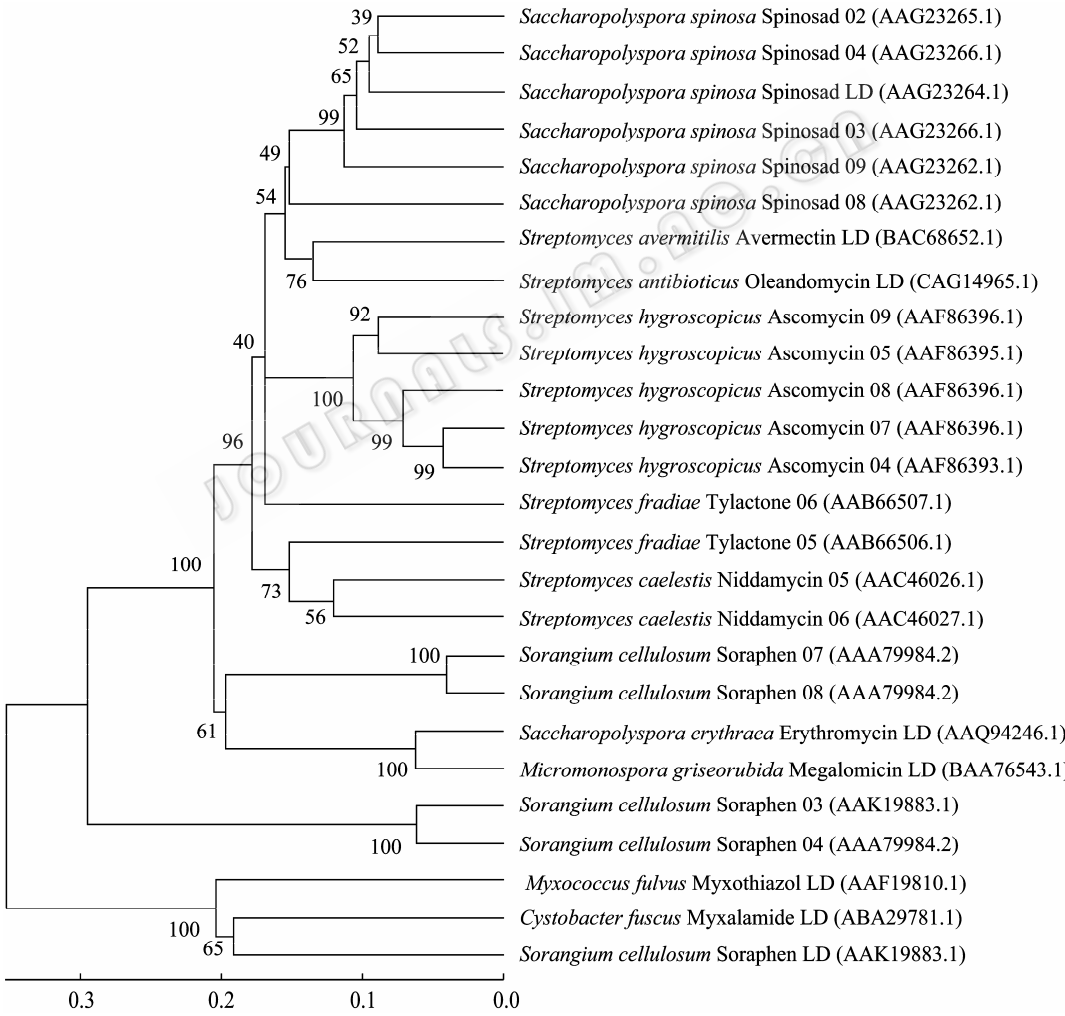


图 3 26 种 β -酮酰-ACP 合酶全序列系统树

Fig. 3 Phylogenetic tree of full length sequences of the 26 β -ketoacyl-ACP synthases

注: 树枝上的数字表示 Bootstrap 验证中该树枝的可信度。线状比例尺表示遗传距离。其后依次是菌株名称, 其合成的聚酮化合物, β -酮酰-ACP 合酶所在的模块, 括号内是 GenBank 登录号。

Note: The number at each branch points is percentage supported by Bootstrap. The scale bar indicates the genetic distance. The strain name, polyketide produced by it, the module the β -ketoacyl-ACP synthase belongs to, GenBank accession number is followed in turn.



图 4 红霉素 PKS 装载模块 β -酮酰-ACP 合酶侧面观
Fig. 4 Side face of β -ketoacyl-ACP synthase in Erythromycin PKS loading module

表 2 9 种 β -酮酰-ACP 合酶二级结构预测 Table 2 Prediction of the secondary structures of the 9 β -ketoacyl-ACP synthases				
聚酮化合物 Polyketide	模块 Module	α 螺旋 Alpha helix (%)	β 折叠主链 Extended strand (%)	无规则卷曲 Random coil (%)
Erythromycin	5	25.96	19.95	54.09
Megalomicin	1	26.76	20.19	53.05
Myxothiazol	1	31.13	18.87	50.00
Ascomycin	7	23.28	17.34	59.38
Soraphen	7	36.45	13.79	49.77
Ascomycin	4	35.10	17.07	47.84
Oleandomycin	1	28.78	19.66	51.56
Erythromycin	1	26.29	16.67	57.04
Soraphen	1	27.53	18.82	53.65

表 3 活性位点的序列 Table 3 Sequences of the active sites		
聚酮化合物 Polyketide	模块 Module	活性位点的序列 Sequence of the active site
Erythromycin	5	Gly ¹⁵² - - - Val- -AlaCycSerSerSer- - -Leu ¹⁶⁸
Megalomicin	1	Gly ¹⁹⁰ - - - Val- -AlaCycSerSerSer- - -Val ²⁰⁶
Myxothiazol	1	Gly ¹⁶² - - - Ile- -AlaCycSerSerSer- - -Ile ¹⁷⁸
Ascomycin	7	Gly ¹⁵⁹ - - - Val- -AlaCycSerSerSer- - -Leu ¹⁷⁵
Soraphen	7	Gly ¹⁶² - - - Val- -AlaCycSerSerSer- - -Leu ¹⁷⁸
Ascomycin	4	Gly ¹⁵⁹ - - - Val- -AlaCycSerSerSer- - -Leu ¹⁷⁵
Oleandomycin	1	Gly ¹⁵³ - - - Val- -AlaCycSerSerSer- - -Leu ¹⁶⁹
Erythromycin	1	Gly ¹⁶⁴ - - - Val- -AlaCycSerSerGly- - -Val ¹⁸⁰
Soraphen	1	Gly ¹⁶³ - - - Val- -AlaCycSerSerAla- - -Ile ¹⁷⁹

2.4 三维结构预测

酶的功能很大程度取决于其空间结构，因而研究 PKS 中各酶的空间结构在组合生物合成中有着极其重要的意义。组成大多数聚酮合酶的氨基酸的数量都超过 10000，其分子量高达 1100 kD，单个模块的平均长度也有 2000 多个氨基酸，要想完整地预测某个聚酮合酶的三维结构是很困难的。目前还没有完整地解析聚酮合酶的三维结构的报道，因此只能通过三维结构预测来分析其空间结构。

对 9 种 β -酮酰-ACP 合酶的三维结构进行预测，预测的结果用 ERRAT 验证，得分均在 77.59–94.514 之间，表明构建的模型都是合理的。从图 4 可以看出 β -酮酰-ACP 合酶的三维结构主要由 α 螺旋和 β 折叠构成，所有的 β 折叠形成了一个 β 折叠桶。用 SwissPdb-Viewer 软件对活性位点进行分析发现活性位点位于 β 折叠桶中的 1 个 α 螺旋上(图 2 紫色区域)，其序列中含有 1 个 Cys、2 个或 3 个 Ser(表 3)，而 *E. coli* 的脂肪酸合酶中的 β -酮酰-ACP 合酶(FabB)的活性口袋中的 3 个关键氨基酸残基分别是 Cys¹⁶³、His²⁹⁸、His³³³，其中 Cys¹⁶³ 残基的-SH 与正在延伸的碳链末端的酰基相结合，底物被 ACP 活化后通过与活性位点的其他氨基酸残基形成氢键来完成缩合反应，从而导致碳链的延长^[19]。虽然针对该活性位点进行了许多研究包括晶体结构解析，但对活性位点上其他残基的确切功能了解得还不是很透彻。两者活性位点上的残基不是完全一致的，极有可能是因为脂肪酸的合成是初级代谢而聚酮的合成属于次级代谢，它们具有不同的进化机制。由此可见，活性位点的这些氨基酸残基对这个酶的生物学功能是至关重要的。从表 3 中还可以看出第 6 位、倒数第 5 位以及最后一位氨基酸残基保守性没有其他氨基酸残基高，这 3 个位点可作为定点突变的目标位点。

对这 9 种 β -酮酰-ACP 合酶的三维结构进行对比，发现除了某些环以外，其他大部分结构都可以重叠，这些不能重叠的环很可能是他们具有不同底物专一性的原因。图 2 列出了其中 6 对差异较大的 β -酮酰-ACP 合酶的三维结构(A–F 的 SD 值分别为 2.17、1.95、1.91、1.83、3.12、2.76)。值得一提的是巨霉素 PKS 与红霉素 PKS 装载模块的 β -酮酰-ACP 合酶的空间结构也十分相似(SD 值仅为 0.04)。

3 结论和讨论

虽然将单个 β -酮酰-ACP 合酶结构域从聚酮合酶中抽出来研究使其脱离了它原来的生理环境, 但已有实验证明脱离聚酮合酶的结构域也能发挥其原有的功能^[20]; 有的聚酮化合物如雷拉霉素(Leinamycin)生物合成所需的酰基转移酶结构域甚至位于其基因簇之外^[21]。各 β -酮酰-ACP 合酶的一级结构差异很大, 但二级结构的比较表明它们形成各种二级构象的趋势非常接近, 与其三维空间结构的极相似性一致。三维结构上的细微差别主要体现在一些不能重叠的环上, 可能是造成其具有不同底物专一性的原因; 活性位点除都含有一个半胱氨酸之外还均富含丝氨酸; 结构上的相似性大于序列上的相似性。结合其底物专一性对系统树进行分析的结果表明不同的 β -酮酰-ACP 合酶之间的同源性与他们所属的物种及其底物专一性相关。底物含有 2 个羧酸根的 β -酮酰-ACP 合酶, 他们的理论等电点都在 5.0 以下且其形式电荷总量也偏低(其值为-19、-20)。通过多序列比对发现, 序列 V³⁰³ELHGTGTP LGDPIEAGA³²⁰ 为 26 种来自不同物种、催化底物各不相同的 β -酮酰-ACP 合酶的一段保守序列, 但它并不与活性位点相邻, 极有可能是该酶的关键调控位点。虽然暂时还没有实验数据来证明这一点, 但这很有趣也很值得研究。

在聚酮化合物生物合成中, 组成其骨架的碳链每延伸一个单位都需要上下游 2 个模块中具有相应底物专一性的酰基转移酶和 β -酮酰-ACP 合酶的共同参与。因此, 应该挑选一些对底物要求较宽松的或底物化学结构相近的结构域进行替换; 同时还可向培养基中添加与底物结构相似的低级羧酸盐来合成新的聚酮化合物; 运用定点突变技术改变决定结构域底物专一性的基序^[10], 也是提高组合生物合成成功率的方法之一。

运用生物信息学软件对 PKS 进行结构分析, 不仅有助于揭示 PKS 中各结构域的分子结构和相互作用机理, 同时对 PKS 的进化策略的研究也具有重要的意义。若能在建立同源模型数据库的基础上, 对整个聚酮合酶进行结构预测, 将进一步缩小预测结构与真实结构之间的误差, 更准确的体现聚酮合酶的各种特征, 为利用各种手段改造 PKS 合成新的聚

酮化合物提供理论指导。

参考文献

- [1] Van SG, Shen B. Advances in polyketide synthase structure and function. *Curr Opin Drug Discov Devel*, 2008, **11**(2): 186-195.
- [2] Huang KX, Xia LQ, Zhang YM, *et al.* Recent advances in the biochemistry of spinosyns. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2009, **82**(1): 13-23.
- [3] Vincent G, Mansfield DJ, Vors JP, *et al.* Studies toward soraphen A: an aldol-metathesis avenue to the macrocyclic framework. *Org Lett*, 2006, **8**(13): 2791-2794.
- [4] Donadio S. Organization of the enzymatic domains in the multifunctional polyketide synthase involved in erythromycin formation in *Saccharopolyspora erythraea*. *Gene*, 1992, **11**(1): 51-60.
- [5] Keda H, Nonomiya T, Usami M, *et al.* Organization of the biosynthetic gene cluster for the polyketide anthelmintic macrolide avermectin in *Streptomyces avermitilis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999(96): 9509-9514.
- [6] Reeves CD, Chung LM, Liu Y, *et al.* A new substrate specificity for acyl transferase domains of the ascomycin polyketide synthase in *Streptomyces hygroscopicus*. *J Biol Chem*, 2002, **277**(11): 9155-9159.
- [7] Buchholz TJ, Geders TW, Bartley FE, *et al.* Structural basis for binding specificity between subclasses of modular polyketide synthase docking domains. *ACS Chem Biol*, 2009, **4**(1): 41-52.
- [8] Laura J, Walton E, Gregory L. Challis mechanisms for incorporation of glycerol-derived precursors into polyketide metabolites. *Ind Microbiol Biotechnol*, 2006(33): 105-120.
- [9] Leadlay PF, Staunton J, Oliynyk M, *et al.* Engineering of complex polyketide biosynthesis—insights from sequencing of the monensin biosynthetic gene cluster. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 2001, **27**(6): 360-367.
- [10] Reeves CD, Murli S, Shley GW, *et al.* Alteration of the substrate specificity of a modular polyketide synthase acyltransferase domain through site-specific mutations. *Biochemistry*, 2001, **40**(51): 15464-15470.
- [11] Shi SP, Wanibuchi K, Morita H, *et al.* Enzymatic formation of unnatural novel chalcone stilbene and benzophenone scaffolds by plant type III polyketide synthase. *Org Lett*, 2009, **11**(3): 551-554.
- [12] Marcus H, Andreas H, Agnieszka D, *et al.* Mechanistic analysis of acyl transferase domain exchange in polyketide synthase modules. *Journal of the American Chemical Society*, 2003(125): 5366-5374.
- [13] Peter JB, Christopher TW, Torsten S. Aminoacyl-CoAs as probes of condensation domain selectivity in nonribo-

somal peptide synthesis. *Science*, 1999(284): 486–489.

[14] Castillo YP, Pérez MA. Bacterial beta-ketoacyl-acyl carrier protein synthase III (FabH): an attractive target for the design of new broad-spectrum antimicrobial agents. *Mini Rev Med Chem*, 2008, **8**(1): 36–45.

[15] Gitanjali Y, Rajesh S. SearchPKS: a program for detection and analysis of polyketide synthase domains. *Nucleic Acids Research*, 2003, **31**(13): 3654–3658.

[16] Sudhir K, Masatoshi N, Joel D, *et al.* MEGA: a biologist-centric software for evolutionary analysis of DNA and protein sequences. *Briefings in bioinformatics*, 2008, **9**(4): 299–306.

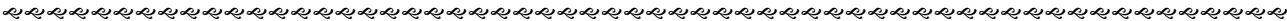
[17] Zhao XM, Xia LQ, Ding XZ, *et al.* The theoretical three-dimensional structure of *Bacillus thuringiensis* Cry5Aa and its biological implications. *Protein J*, 2009(28): 104–110.

[18] Veyron CR, Molle V, Taylor RC, *et al.* The *Mycobacterium tuberculosis* beta-ketoacyl-acyl carrier protein synthase III activity is inhibited by phosphorylation on a single threonine residue. *J Biol Chem*, 2009, **284**(10): 6414–6424.

[19] Pennyvon WK, Johan GO, Kirsten A, *et al.* Fatty acid synthesis role of active site histidines and lysine in Cys-His-His-type β -ketoacyl-acyl carrier protein synthases. *FEBS Journal*, 2006(273): 695–710.

[20] Tran L, Tosin M, Spencer JB, *et al.* Links covalent linkage mediates communication between ACP and TE domains in modular polyketide synthases. *ChemBioChem*, 2008, **9**(6): 905–915.

[21] Cheng YQ, Coughlin JM, Lim SK, *et al.* Type I polyketide synthases that require discrete acyltransferases. *Methods Enzymol*, 2009(459): 165–186



2010 年部分生物、农林类学术期刊联合征订表 (2-1)

刊物名称	邮发代号	刊 期	年价(元)	网 址	E-mail
大豆科学	14-95	双月刊	60	http://ddkx.periodicals.net.cn/gyjs.asp?ID=4606693	dadoux@sina.com
动物学研究	64-20	双月刊	150	www.zoores.ac.cn	zoores@mail.kiz.ac.cn
动物学杂志	2-422	双月刊	210	http://dwxzz.ioz.ac.cn	journal@ioz.ac.cn
激光生物学报	42-194	双月刊	120	www.jgswxb.net	jgswxb@hunnu.edu.cn
菌物学报	2-499	双月刊	480	http://journals.im.ac.cn/jwxtcn	jwxt@im.ac.cn
昆虫学报	2-153	月刊	420	www.insect.org.cn	kcx@ioz.ac.cn
昆虫知识	2-151	双月刊	150	www.ent-bull.com.cn	entom@ioz.ac.cn
林业科学	82-6	月刊	300	www.linyekexue.net	liny@forestry.ac.cn
人类学学报	2-384	季刊	100	www.ivpp.ac.cn	acta@ivpp.ac.cn
山地农业生物学报	66-66	双月	100	http://web.gzu.edu.cn/jou/jou	Sd.xb@163.com
生命科学	4-628	月刊	360	www.lifescience.net.cn	cb@lscs.ac.cn
生物工程学报	82-13	月刊	780	http://journals.im.ac.cn/cjbcn	cjb@im.ac.cn
生物技术通报	18-92	月刊	300	http://swjstb.periodicals.net.cn/gyjs.asp?ID=4615630	biotech@mail.caas.net.cn
生物技术通讯	82-196	双月	150	http://swtx.chinajournal.net.cn	swtx@263.net
生物信息学	14-14	季刊	48	http://xxsw.chinajournal.net.cn	cjb@bioinformatics@yahoo.cn
微生物学报	2-504	月刊	660	http://journals.im.ac.cn/actamicrocn	actamicro@im.ac.cn