

特约评述

DOI: 10.12211/2096-8280.2023-090

细菌聚酮合酶间的杂合方式及聚酮化合物生物合成逻辑

张瑞, 金文铮, 陈依军

(中国药科大学生命科学与技术学院化学生物学教研室, 江苏 南京 211198)

摘要: 聚酮化合物 (polyketide) 是一类来源广泛、结构多样的活性天然产物, 聚酮合酶 (polyketide synthase, PKS) 负责聚酮骨架的生物合成。细菌次级代谢中 PKS 广泛存在, 不同类型的 PKS 在组成和生物合成机制上各不相同, 从而产生截然不同的聚酮骨架。根据细菌 PKS 功能和生物合成途径的不同, 可以将其分为 I 型、II 型和 III 型。PKS 通常能与其他生物合成酶系杂合以产生结构更为复杂的天然产物。同时, 不同类型 PKS 之间也可以形成多种内部杂合, 产生更多样的聚酮骨架。本文总结和比较 PKS 间的内部杂合, 包括 I 型 PKS 内部杂合、I 型/II 型 PKS 杂合以及 I 型/III 型 PKS 杂合, 归纳各种杂合基因簇的形成方式及其杂合特征。通过比较杂合聚酮化合物的生物合成机制并讨论杂合聚酮工程化改造的进展, 展望了多种潜在的聚酮杂合模式, 合理假设存在合成过程相反的 I 型/II 型 PKS 杂合模式, 或随着化合物的挖掘发现迄今未报道的 II 型/III 型 PKS 杂合模式等, 指出可以充分和全面地利用细菌基因组信息, 通过酶和基因的生物勘探, 发现更多更特殊的 PKS 杂合化合物等一系列针对新颖聚酮化合物进行基因组挖掘的方向, 同时也提出了工程化改造 *trans*-AT PKS 在 *cis*-AT 模块中实现不同寻常的骨架修饰等多种 PKS 的工程化改造设想, 为后续 PKS 内部杂合基因簇挖掘和表征提供一些新思路。

关键词: 天然产物; 聚酮化合物; 聚酮合酶; 聚酮内部杂合

中图分类号: Q939.92 **文献标志码:** A

Bacterial inter-PKS hybrids and the biosynthetic algorithm of polyketides

ZHANG Rui, JIN Wenzheng, CHEN Yijun

(Laboratory of Chemical Biology, School of Life Science and Technology, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, Jiangsu, China)

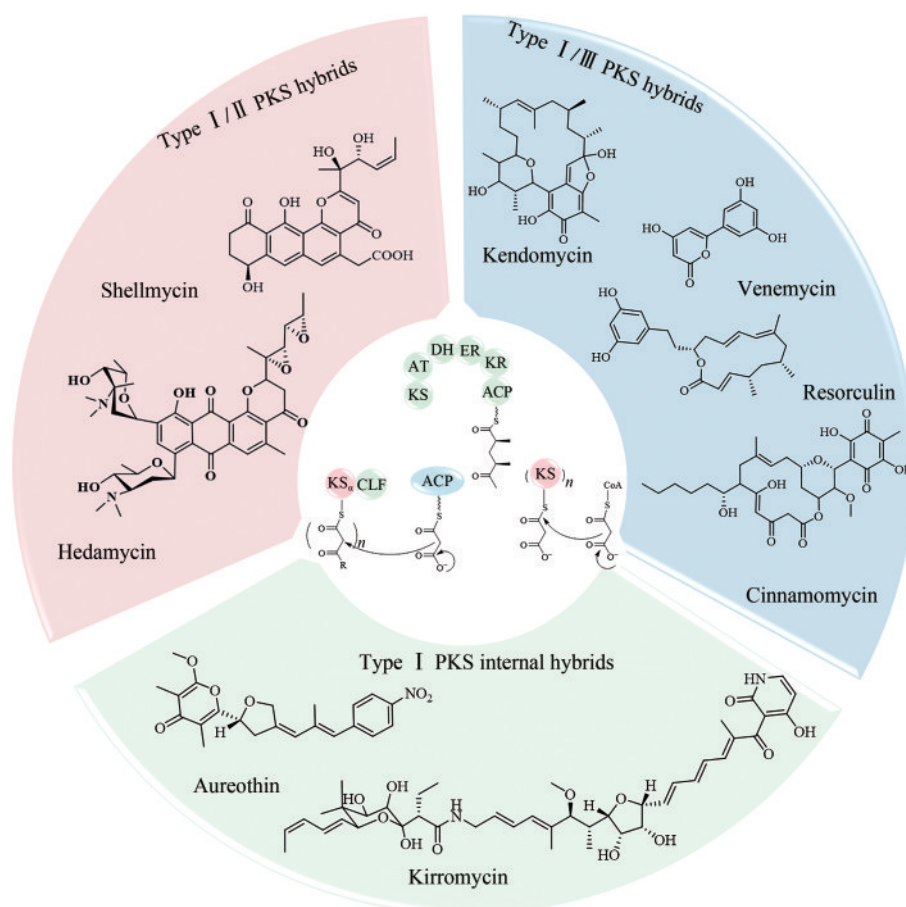
Abstract: Polyketides are a class of natural products isolated from a wide variety of species. In bacteria, diverse skeletons of polyketides lead to different biological functions, including anti-bacteria, anti-fungi, anti-tumor and immunomodulation. Polyketide synthases (PKSs) are responsible for the biosynthesis of polyketides through successive Claisen condensations of short-chain fatty acids. PKSs are classified into type I, type II and type III, producing different polyketide scaffolds. Bacterial PKSs often hybridize with other biosynthetic enzymes to form PKS

收稿日期: 2023-11-28 修回日期: 2024-03-04

引用本文: 张瑞, 金文铮, 陈依军. 细菌聚酮合酶间的杂合方式及聚酮化合物生物合成逻辑[J]. 合成生物学, 2024, 5(3): 548-560

Citation: ZHANG Rui, JIN Wenzheng, CHEN Yijun. Bacterial inter-PKS hybrids and the biosynthetic algorithm of polyketides [J]. Synthetic Biology Journal, 2024, 5(3): 548-560

hybrids, such as PKS-NRPS or PKS-Ripps, exhibiting more complicated and unique structures. Additionally, different types of PKS can also form inter-PKS hybrids to generate different skeletons. In this review, we summarize recent advances in the structures and biosynthetic mechanisms of bacterial inter-PKS hybrids, including type I PKS internal hybrids, type I/II PKS hybrids and type I/III PKS hybrids with the following context: (1) In atypical type I PKSs, some modules may iteratively catalyze multiple rounds of carbon chain growth, resulting in iterative/non-iterative PKS hybrids; (2) *trans*-AT PKS and *cis*-AT PKS can also form PKS hybrids, and the synthesis of kirromycin is a representative example; (3) Type I PKSs synthesize unique starter units for type II PKSs to produce polyketide scaffolds with the alkyl groups; (4) Type III PKSs can condense malonyl-CoA to form different aromatic acids through multiple tailoring steps, and the aromatic acids subsequently act as the starter unit or extender unit into the type I PKS assembly line. By elucidating the biosynthetic gene clusters and biosynthetic pathways of inter-PKS hybrids, the reconstructions of inter-PKS hybrids for synthesizing pharmaceutically important analogues are possible. This review also comments the discovery of new inter-PKS hybrids and the engineering of their biosynthetic machineries, to gain more insights into their biosynthetic potential for the production of diverse molecules. By comparing the biosynthetic mechanisms of PKS and discussing the progress of engineering modifications, we prospect a variety of potential inter-PKS hybrid models, highlight the direction for the genome mining of novel polyketides, and provide insights for the engineering modifications of PKS. Through further in-depth and systematic studies on various inter-PKS hybrids in bacteria, it is expected to reveal more natural conundrums, generating a large number of new natural products through adaptive transformation for the research and development of microbial drugs.



Keywords: natural products; polyketide; polyketide synthase; inter-PKS hybrids

微生物次级代谢产物是生物活性化合物的“宝库”，主要包括聚酮（polyketide）^[1]、非核糖体肽（nonribosomal peptide）^[2]、萜类（terpenoid）^[3]、翻译后修饰肽（ribosomally synthesized and post-translationally modified peptide, RiPP）^[4]等类型的天然产物。

聚酮化合物是一类广泛存在的微生物次级代谢产物，也是天然药物的重要来源，其结构多样性也带来了丰富的生物活性（图1）^[1, 5]。例如，红色糖多孢菌（*Saccharopolyspora erythraea*）中发现的具有大环内酯结构的红霉素（erythromycin）是被广泛应用于治疗细菌感染的一线药物^[6]；多烯类骨架的两性霉素B（amphotericin B）是治疗真菌感染的经典药物^[7]；蒽环类药物柔红霉素（daunorubicin）被应用于肿瘤治疗^[8]；来源于 *Streptomyces avermitilis* 的阿维菌素（avermectin）是具有杀虫、杀螨活性的十六元大环内酯化合物^[9]。

聚酮合酶（polyketide synthase, PKS）负责聚酮骨架生物合成^[10]。聚酮合酶的装配线经历了起始单元的加载、碳链骨架的合成、碳链的释放与环化的过程。根据PKS组成与催化机制的差异^[11]，细菌中的PKS被分为I型、II型和III型，随之不同类型的PKS产生的聚酮骨架也大相径庭。I型

PKS是模块化（module）的多功能酶复合体^[12]，每个模块单元包含多个不同催化功能的结构域，聚酮骨架在模块内发生一轮碳链的延长并在模块间顺序传递，组成了复杂又精密的“聚酮流水线”。以发生于一轮模块内的聚酮生物合成现象为例^[13] [图2(a)]，酰基转移酶结构域（acyltransferase, AT）识别丙二酰辅酶A作为延伸单元，并将其转移至酰基载体蛋白（acyl carrier protein, ACP）上，酮基合成酶（ketosynthase, KS）催化上一模块ACP传递而来的聚酮链与本模块ACP上挂载的丙二酰辅酶A发生克莱森缩合，从而使聚酮骨架延长一个C₂单元。AT、ACP、KS是模块内最基本的三个结构域，此外，模块内还选择性地包含酮基还原酶（ketoreductase, KR）、脱水酶（dehydratase, DH）和烯酰基还原酶（enoylreductase, ER），它们对发生了碳链增长后的聚酮链上的β-酮基进行修饰并决定了α、β位的化学结构与立体构型^[14]。另外，根据聚酮骨架在同一模块内是否实现多轮延伸，I型PKS又可分为迭代型（iterative PKS）和非迭代型（noniterative PKS）^[15]。在Gladiolin生物合成基因簇中^[16]，聚酮模块内不存在AT结构域，基因簇中的游离酰基转移酶负责在每轮碳链延伸中掺入延伸单元，人们将这类PKS称为trans-AT PKS，而模块内含有AT

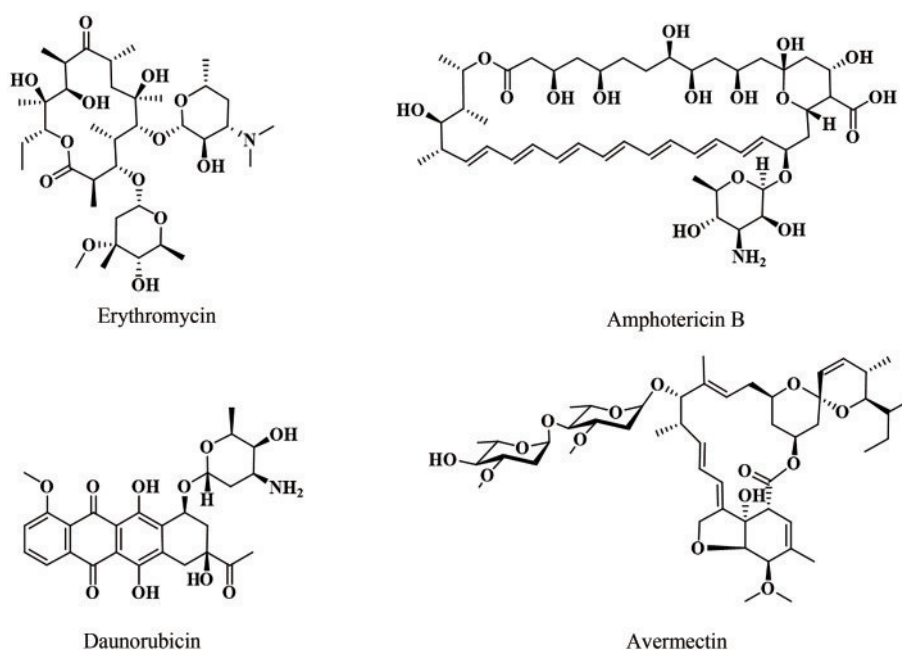
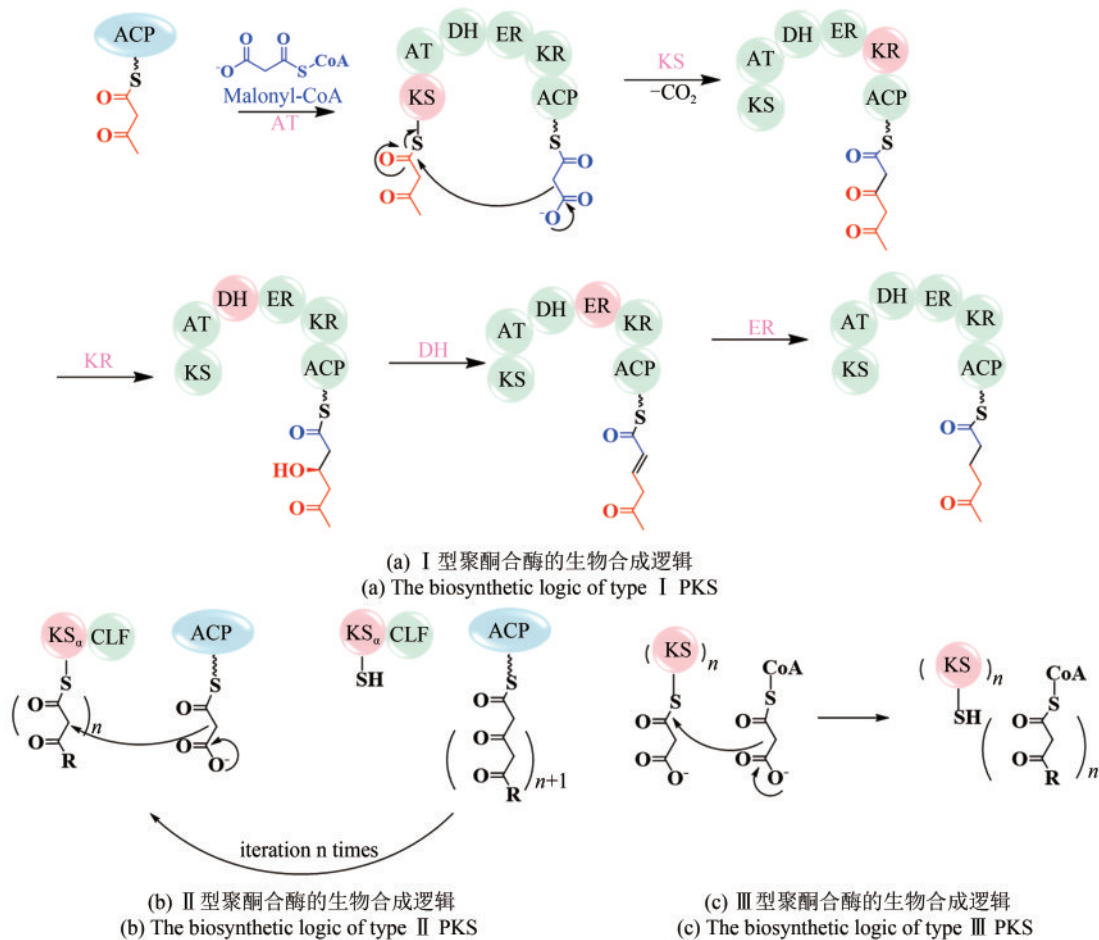


图1 临床使用的经典聚酮类药物^[1]

Fig. 1 Classic polyketides for clinical use^[1]

图2 不同类型PKS的生物合成的基本逻辑^[11]Fig. 2 Basic biosynthetic algorithm for different polyketide synthases^[11]

结构域的则称为 *cis*-AT PKS。与模块化工作的 I 型 PKS 不同, II 型 PKS 是由多个独立催化的酶组成的复杂催化体系^[17]。它只含有一套可重复使用的酶元件, 由 KS α 、CLF (chain length factor)^[18] 以及 ACP 组成, 并以迭代方式合成芳香族聚酮化合物。此外, KR、芳香酶 (aromatases) 以及环化酶 (cyclase) 同样参与到 II 型 PKS 的生物合成中, 形成了如四环素类、萜环类等多环芳香骨架^[19] [图 2 (b)]。III 型 PKS 又称为查尔酮合酶 (chalcone synthase, CHS^[20]), 它在生物合成上的最大特点是可以直接催化丙二酰辅酶 A 缩合而无需 ACP 挂载底物^[21] [图 2 (c)]。诸如 3,6,8-四羟基萘 (3,6,8-tetrahydroxynaphthalene, THN)^[22] 等单环或双环芳香类聚酮化合物是 III 型 PKS 的代表产物。

除由单一类型 PKS 合成聚酮化合物外, PKS 可以与多种生物合成酶杂合以产生结构多样的杂

合天然产物。PKS-NRPS 杂合天然产物在微生物代谢产物中分布极其广泛^[23-25]。迄今为止, 多种 PKS-NRPS 生物合成机制已被深入剖析, 并已被系统综述^[26-27]。近年来, 随着基因组挖掘技术的发展, 人们发现了罕见的 PKS-Ripp^[28] 或 PKS-萜^[29] 的杂合化合物并解析了其生物合成途径, 极大地拓展了对聚酮杂合现象和机制的理解。同时, 与不同类型酶系间的杂合相似, PKS 酶系内部同样也可以形成杂合, 产生结构新颖的杂合聚酮化合物。

本文以细菌聚酮内部杂合现象为切入点, 对已报道的 PKS 内部杂合的聚酮化合物和其生物合成机制进行了概述, 并针对性地讨论了人工重构杂合聚酮基因簇的最新进展, 随后对细菌基因组中潜在的聚酮内部杂合基因簇的挖掘和聚酮工程化重构进行了讨论和展望。

1 I型PKS的内部杂合

1.1 模块化聚酮“共线性”和“非共线性”模型间的杂合

细菌 I 型 PKS 是模块化的，每个模块都包含延伸和修饰所需的结构域，经典药物红霉素^[30] 和阿维菌素^[31] 等大环内酯类化合物的生物合成均由模块化 I 型 PKS 负责。大多数情况下，I 型 PKS 每个模块只负责一次碳链延伸，这种模块与循环数间一对一的对应关系被称为共线性规则^[32]。通过对“共线性”PKS 结构域的组成和功能进行预测，能够初步推导出该聚酮基因簇产生的化合物的基本骨架^[33-34]，助力天然产物结构的鉴定^[35]。然而，自然界也存在多种不符合“共线性规则”的 I 型聚酮合酶，它们的特定模块或特定结构域存在迭代使用^[36]、链跳跃^[37] 和折返使用^[38] 等特殊现象，其有趣的地方在于终产物存在使用共线性模型难以预测的化学基团和骨架。

Aureothin^[39] 是从 *Streptomyces thioluteus* 中分离出来的一种特殊的含有硝基苯结构的吡喃酮。

Christian Hertweck 课题组^[40] 首次报道了 Aureothin 中部分模块存在重复使用的现象，这也是最早的共线性模型-非共线性模型杂合 I 型聚酮基因簇的报道。Aureothin 生物合成基因簇的四个 PKS 模块共计催化了五次克莱森缩合反应，其中 AurA 编码的 module 1 重复使用两次，迭代催化合成骨架中二烯部分^[41]（见图 3 红色结构）。Busch 等^[42] 证明在发生第一次碳链增长后，ACP₁ 没有将聚酮链传递给下游 KS₂ 而是传递底物回到同一模块的 KS₁ 结构域上，从而启动了 module 1 的再次延伸。

阿扎霉素 F (azalomycin F) 是含有胍基支链的 36 元大环内酯类聚酮化合物，负责其生物合成的聚酮合酶共计 19 个模块，催化了 20 轮碳链延伸^[43]。孙宇辉课题组^[44] 在前期研究中发现 AzlA 的 module 1 不仅迭代催化了二轮碳链增长，其模块中的烯基还原酶结构还具有“开关”特性。AzlA 的 ER1 仅选择性催化第二轮碳链延伸中间体 α, β -双键的还原而在第一轮碳链延长的过程中丧失功能，从而在阿扎霉素骨架中引入不同的基团。该课题组还进一步揭示 ER1 同样能够催化下游模

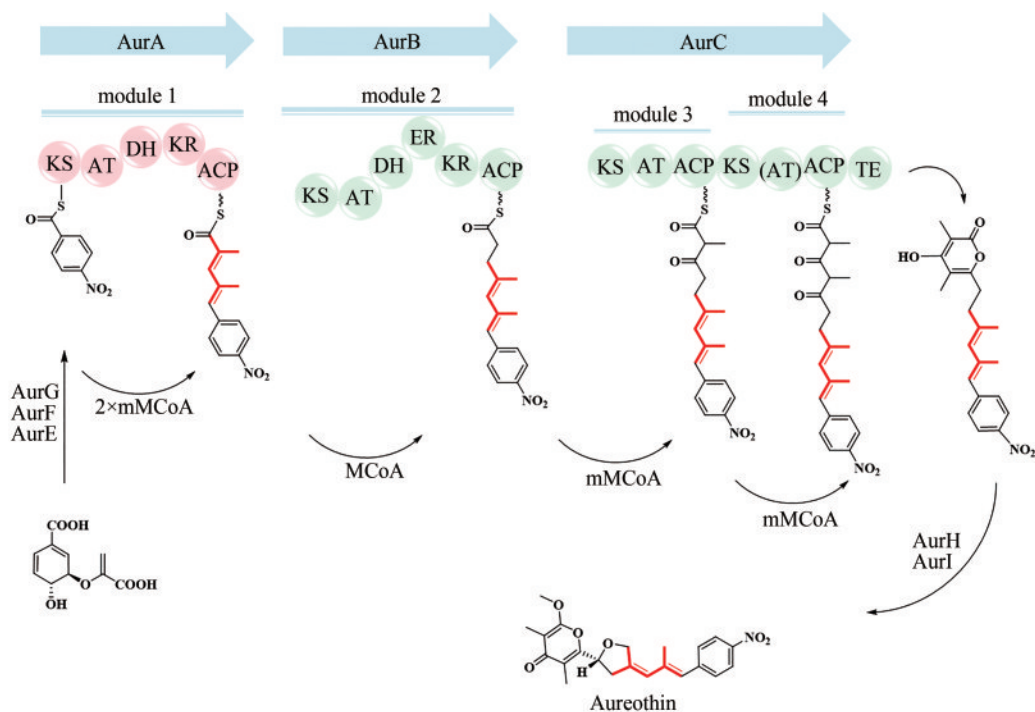


图3 Aureothin的生物合成机制^[41]

MCoA—丙二酰辅酶A；mMCoA—甲基丙二酰辅酶A

Fig. 3 Biosynthetic mechanism of Aureothin^[41]

MCoA—malonyl CoA; mMCoA—methylmalonyl-CoA

块上聚酮链中间体双键的还原^[45]，这一新颖而独特的跨模块“借用”方式打破了人们对聚酮合酶线性装配的既有观念，进一步丰富了人们对聚酮合酶装配线的认知。

在PKS的组合生物合成中，大片的插入或删除往往面临着遗传操作手段上的瓶颈，而在理解PKS工作机制的基础上，针对PKS共线性模式的工程化改造则可以克服分子生物学手段上的瓶颈，极大地拓展聚酮化合物的化学空间。研究表明，KS结构域与相连的ACP结构域之间的相互作用以及对碳链骨架的选择性识别是聚酮装配线上关键的校验机制^[46-47]。Chaitan Khosla课题组^[48]针对KS-ACP相互作用的界面对ACP进行理性重构，成功地将非迭代催化过程转变为迭代催化，并首次在“共线性”PKS中引入“非共线性”的PKS模块。

迄今为止，尚未在自然界中发现迭代I型-非迭代I型PKS（如烯二炔类聚酮化合物的合成酶^[49]）的杂合聚酮基因簇，利用基因组挖掘可针对该类杂合聚酮基因簇进行定向挖掘并填补领域空白。在对PKS装配线的分子机制和模块中的结构域-结构域相互作用有更为深入的理解的情况下，可以找到合适的“探针”来定向挖掘特殊杂合模

式的聚酮基因簇。随着基因组或宏基因组挖掘手段的完善，有望发现细菌I型PKS中多种非规范结构域^[50]和非规范模块^[51]等偏离经典规则的情况。

1.2 *cis*-AT PKS和*trans*-AT PKS间的杂合

cis-AT PKS和*trans*-AT PKS（AT-less PKS^[52]）模块组成上的最大区别在于AT结构域是否存在于模块内。*cis*-AT PKS的每个模块都包含一个AT结构域，负责将延伸单元加载到同一模块的ACP结构域上^[53]；而*trans*-AT PKS中的模块内则不包含AT结构域，*trans*-AT PKS生物合成基因簇中独立的酰基转移酶多次重复地将丙二酰辅酶A转移至一个或多个模块的ACP结构域上（图4）^[54]。

从*Streptomyces collinus* Tü 365分离的蛋白质合成抑制剂^[55]Kirromycin是首个被报道的*cis*-AT/*trans*-AT PKS杂合聚酮。Kirromycin的生物合成涉及三种不同类型的多模块酶，其生物合成组装线已成为研究*cis*-AT/*trans*-AT杂合的经典模型^[56]。KirAVI是合成组装线上唯一的*cis*-AT PKS，而KirAI-KirAV则属于*trans*-AT PKS。值得注意的是，基因簇中同时存在两个不同的酰基转移酶

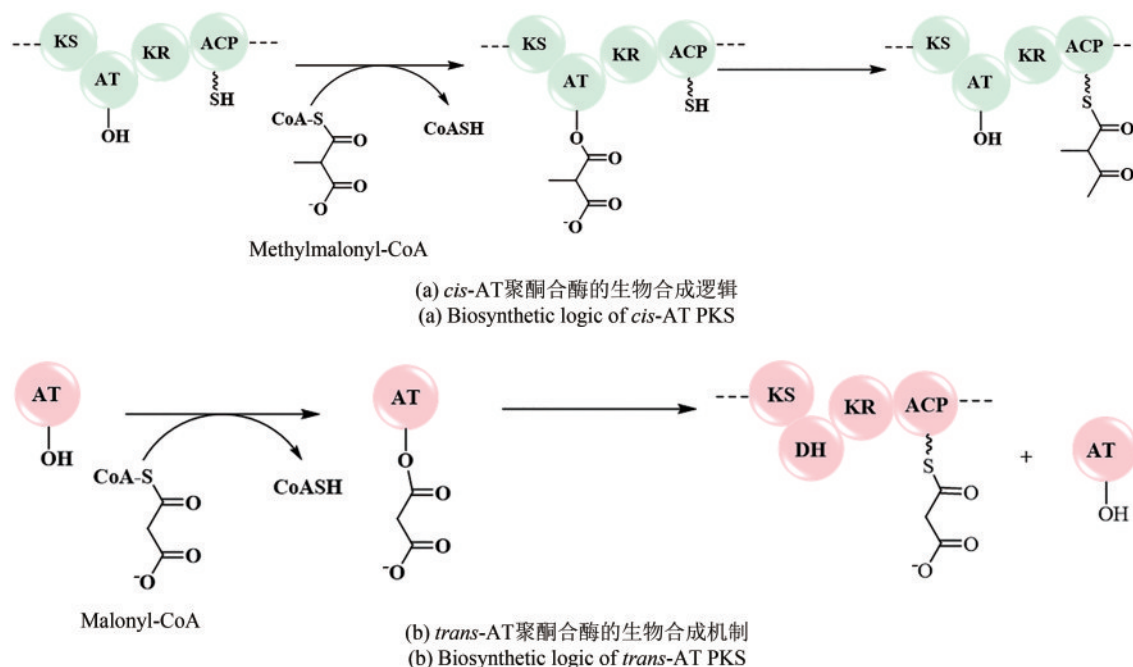


图4 *cis*-AT PKS和*trans*-AT PKS的生物催化逻辑^[54]

Fig. 4 Biocatalytic mechanisms of *cis*-AT PKS and *trans*-AT PKS^[54]

KirCI^[57]和KirCII，分别负责了不同模块中延伸单元的加载。Tilmann Weber课题组^[58]的研究表明，KirCII较为特殊，它加载 $trans$ -AT中罕见的延伸单元乙基丙二酰辅酶A至module 5的ACP结构域上。KirCI由AT₁-AT₂-ER的三结构域组成，其中KirCI-AT₂将丙二酰辅酶A加载到其余的 $trans$ -AT PKS的ACP结构域，而KirCI-AT₁在PKS校对中发挥作用^[59]。

研究者们对 cis -AT/ $trans$ -AT杂合的疑问在于这类特殊的聚酮杂合基因簇是否是典型的 cis -AT PKS中部分模块丢失了AT结构域而形成。然而，对聚酮酶的系统发育树进行分析后发现，尽管 $trans$ -AT和 cis -AT看起来如此相似， cis -AT PKS和 $trans$ -AT PKS的进化方式完全不同： cis -AT PKS通过模块复制和结构域多样化实现垂直进化^[60]，而 $trans$ -AT PKS则通过基因转移实现水平进化^[61]。截然不同的PKS进化模式也同样解答了为何特殊功能的结构域往往仅存在于 $trans$ -AT PKS模块中^[62]。

受限于 cis -AT PKS中存在的复杂的结构域-结构域相互作用，利用工程化的 $trans$ -AT以实现非天然延伸单元的掺入已成为研究的热点^[63]。2014年，Chaitan Khosla课题组^[64]报道了在Disorazole生物合成基因簇中的特殊的DszAT可以掺入多种延伸单元，并且可以回补失活的AT的功能，从而提出了由 cis -AT PKS转变为 $trans$ -AT PKS的可行策略。随后，Michelle C. Y. Chang课题组^[65]通过工程化DszAT，构建了一个人工的 cis -AT/ $trans$ -AT杂合基因簇，并首次在完整聚酮骨架中引入氟原子。

2 I型与II型PKS间的杂合

Tetracenomycin^[66]等多环芳香结构的药物是由KS α 、CLF以及ACP组成的II型PKS催化合成的[图5(a)]^[67]。II型PKS的生物合成多以简单的酰基辅酶A为起始单元，经历多轮碳链迭代增长、环化、后修饰后最终形成多环芳香结构^[68]。相较于经典的II型PKS，*Streptomyces griseoruber*产生的Hedamycin[图5(b)]^[69]以及最近从海洋链霉菌*Streptomyces sp. shell-016*分离出来的Shellmycin则具有较为特殊的烷基侧链[图5(c)]^[70]。

Jon S. Thorson课题组^[71]首先证实了Hedamycin是由Type I/II杂合聚酮基因簇负责合成的，其烷基侧链由两个I型PKS HedT和HedU顺序催化形成。HedU接受来源于HedT加载的乙酰辅酶A并产生一个独特的己烯酸起始单元，随后该起始单元转移至KS α -CLF复合酶体上启动II型PKS的生物合成(图6)。另一个Type I/II杂合聚酮Shellmycin与Hedamycin在聚酮装配线上的主要区别在于：
①细菌I型PKS合成了不同于Hedamycin起始单元的甲基二烯，随后启动II型PKS的生物合成；
②不同的CLF蛋白控制碳链增长的次数不同，从而赋予了骨架不同的芳香结构。

迄今为止，自然界中发现的Type I/II杂合基因簇的杂合方式都是相同的：I型PKS合成一个可以被KS α 利用的特殊起始单元从而在II型骨架中引入特殊的烷基支链。此外，另一种潜在的颠覆性模式是II型PKS催化合成的中间体可以作为I型PKS的起始单元或延伸单元。因而，针对I型PKS的特殊起始模块进行定向挖掘或可发现有

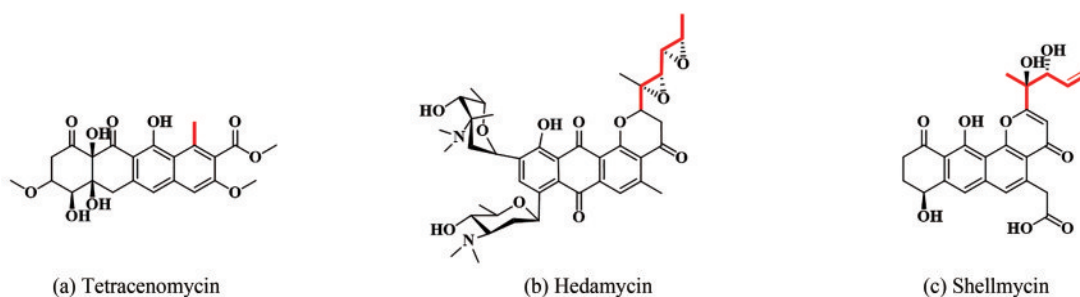
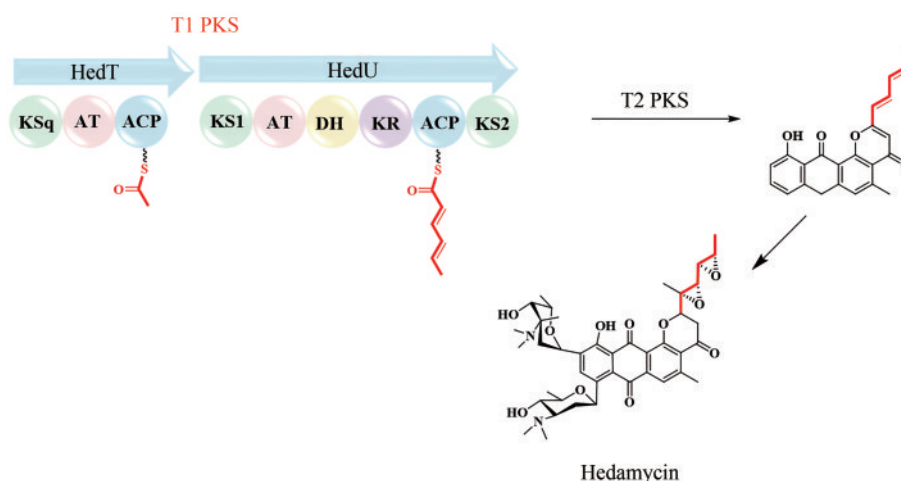


图5 II型PKS和I/II型杂合PKS对应产物的化学结构
(由聚酮酶的起始单元引入的基团以红色加粗显示)

Fig. 5 Structures of products synthesized under the catalysis of type II PKS and type I/II PKS hybrids
(The moieties from starter units in polyketidess are highlighted in red.)

图6 Hedamycin的生物合成途径^[71]Fig. 6 Biosynthetic pathway for Hedamycin^[71]

别于现有杂合模式的新型 Type I/II 杂合聚酮。总之，Type I/II 型 PKS 的杂合现象为人们提供了新的视角，对其杂合和催化机制的研究有望进一步开发利用这两大类 PKS 的潜能，产生结构和活性多样的细菌天然产物。

3 I 型与 III 型 PKS 间的杂合

III 型 PKS 是一种可重复使用的同源双亚基蛋白，不存在除 KS 外的其余结构域，并可独立催化丙二酰辅酶 A 缩合形成单环或者双环芳香结构^[72]。在细菌中，III 型 PKS 较少被发现，其往往与其他类型天然产物合成酶形成杂合，例如 Meroterpenoids 类天然产物就是由 Type III PKS-萜杂合形成的^[73]。

细菌次生代谢中，III 型 PKS 也可作为起始单元或延伸单元参与到 I 型聚酮的生物合成过程中。然而，尽管不同亚种的 III 型 PKS 可催化合成多样的聚酮分子^[74]，目前已知的 Type I/III 杂合聚酮基因簇中 II 型 PKS 的功能都是相同的。在 Type I/III PKS-NRPS 三杂合基因簇 (*tot*) 或 Type I/III 杂合基因簇 (*ken*) 中，III 型 PKS 及相关基因均催化了从丙二酰辅酶 A 到 3,5-DHPGO (3,5-dihydroxyglyoxylate) 的生物转化^[75] (图 7)。 *tot* 和 *ken* 生物合成途径中的差异点在于 3,5-DHPGO 经历了截然不同的后修饰，分别形成 D-4-氯-5,7-二羟基-6-甲基苯甘氨酸 (D-4-chloro-5,7-dihydroxy-6-methylphenylglycine, D-CIPhg) 和 3,5-二羟基苯甲酸 (3,5-dihydroxybenzoic

acid, 3,5-DHBA)。随后，在 *tot* 生物合成途径中，非天然氨基酸 D-CIPhg 作为 NRPS 模块的特殊延伸单元而嵌入骨架中；在 *ken* 生物合成途径中，3,5-DHBA 则作为罕见的起始单元而被 I 型 PKS 的起始模块活化和识别。

迄今为止，以 3,5-DHBA 作为起始单元的 Type I/III 杂合聚酮化合物家族已有 Kendomycin^[76]、Venemycin^[77]、Resorculin^[78] 以及 Cinnamomycin^[79]，它们的生物合成逻辑本质上基本相同，但结构和活性却大相径庭。中国药科大学陈依军课题组^[79] 依据 3,5-DHBA 生物合成操纵子在细菌基因组数据库进行了定向挖掘，报告了 NCBI 公共数据库中所有 26 个 Type I/III 杂合聚酮基因簇，并证实了 3,5-DHBA 作为 I 型 PKS 起始单元是细菌中 Type I/III 杂合的通用模式。由于 III 型 PKS 的产物多样，我们可以合理地期待在细菌基因组中能够挖掘获得更多全新的 Type I/III 杂合生物基因簇及其新颖产物。

4 展 望

自 1990 年和 1991 年 Peter Leadlay 和 Leonard Katz 在红霉素生物合成途径中首次解析了其 PKS 以来^[30, 80]，研究人员对以红霉素合成酶 (6-deoxyerythronolide B synthase, DEBS) 为典型的 I 型聚酮合成酶进行了全面且深入的结构和分子机制研究。与此同时，基于聚酮化合物丰富的生

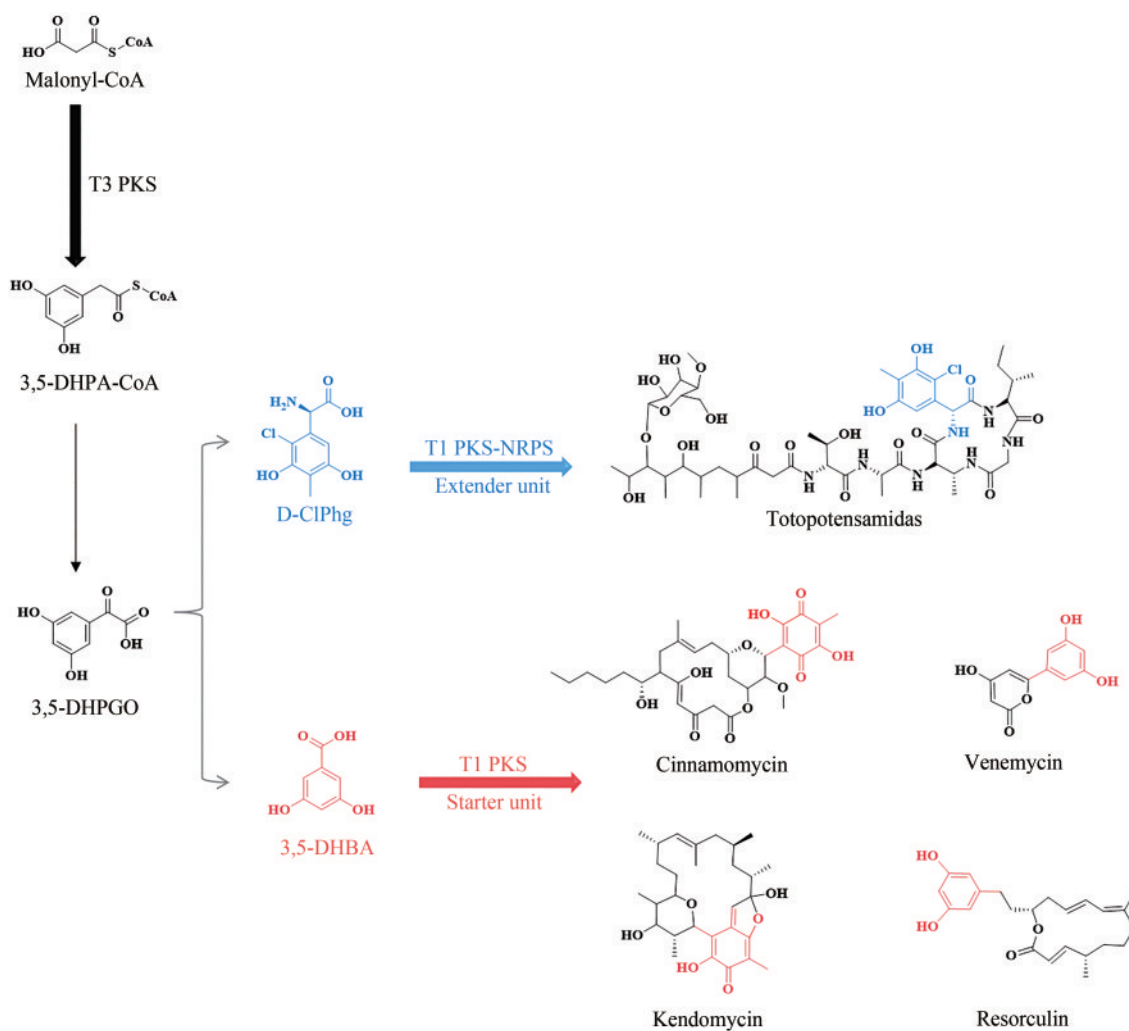


图7 I/III型杂合PKS杂合聚酮的生物合成途径

Fig. 7 Biocatalytic pathways of Type I/III PKS hybrids

物活性和良好的结构可塑性^[81], 国内外学者对聚酮化合物的研究也逐渐深入和系统, 从全新基因簇挖掘^[82]到对已知化合物的生物合成机制研究均取得了重要的进展^[83]。

细菌中PKS催化合成的天然产物是临床治疗药物的重要来源^[84], 但结构的复杂性往往带来了可及性问题^[85]。因此, 深入了解生物合成途径, 总结生物合成规律, 充分利用和改善天然的生物合成途径是解决上述问题的重要选项。随着分子生物学、生物信息学、代谢工程、合成生物学等领域的快速发展和相关研究成果的不断积累, 人们对PKS的了解越来越全面且深入。然而, I型、II型和III型PKS等较为粗略的分类并不能完全囊括所有的聚酮合酶, 特别是聚酮合酶内部的杂合

情况。因此, 本文概述和总结了已报道的PKS内部杂合化合物的结构及其特殊的生物合成特征。

尽管相较于广泛分布的PKS-NRPS杂合基因簇, PKS内部杂合基因簇的报道更为罕见, 其独特的生物合成机制仍然吸引了大量课题组对其展开定向基因簇挖掘和表征。然而, 现存的研究仍有待进一步的深入: ①是否可以实现更小的PKS催化较为复杂的杂合聚酮化合物, 从而最大限度地发挥资源的利用率; ②相较于*cis*-AT PKS, *trans*-AT PKS结构域模块的组成和装配线上的功能更为多样^[86], 针对*trans*-AT PKS的工程化改造可在*cis*-AT模块中实现不同寻常的骨架修饰; ③II型PKS合成可被I型PKS利用的生物合成起始单元的模式是否在自然界中存在; ④I型PKS合成脂

肪酸链并作为Ⅲ型PKS起始单元的聚酮杂合模式是否可通过工程化改造而实现；⑤Type II/Ⅲ杂合聚酮基因簇是否存在，其产生的结构与生物合成机制仍有待阐明。

细菌中不同类型的PKS通过杂合生物合成天然产物现象的不断发现，表明自然界可能存在着意想不到的合成新型天然产物的途径和机制。挖掘非经典PKS催化的天然产物将进一步拓展聚酮类化合物的结构多样性。为了扩大和利用PKS杂合聚酮化合物家族，未来的研究工作将体现在以下方面：①从结构和进化等不同层面深入表征PKS杂合体催化的精细方式和机制；②更充分和全面地利用细菌基因组信息，通过酶和基因的生物勘探，发现更多更特殊的PKS杂合化合物；③利用组合生物合成方式产生理化性质改善、生物活性新颖的PKS杂合化合物；④通过理解现有杂合方式和机制，发现和阐明新的杂合类型。通过进一步深入系统研究细菌中PKS内部的多种杂合，有望在揭示更多自然现象和规律的同时，通过适配性改造产生大量新型天然产物，为微生物药物研发奠定物质基础。

参 考 文 献

- [1] TOOPAANG W, BUNNAK W, SRISUKSAM C, et al. Microbial polyketides and their roles in insect virulence: from genomics to biological functions[J]. *Natural Product Reports*, 2022, 39(11): 2008-2029.
- [2] HUR G H, VICKERY C R, BURKART M D. Explorations of catalytic domains in non-ribosomal peptide synthetase enzymology[J]. *Natural Product Reports*, 2012, 29(10): 1074-1098.
- [3] AVALOS M, GARBEVA P, VADER L, et al. Biosynthesis, evolution and ecology of microbial terpenoids[J]. *Natural Product Reports*, 2022, 39(2): 249-272.
- [4] MONTALBÁN-LÓPEZ M, SCOTT T A, RAMESH S, et al. New developments in RiPP discovery, enzymology and engineering[J]. *Natural Product Reports*, 2021, 38(1): 130-239.
- [5] LI S S, YANG B W, TAN G Y, et al. Polyketide pesticides from actinomycetes[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2021, 69: 299-307.
- [6] GRAHAM E M. Erythromycin[J]. *Obstetrics and Gynecology Clinics of North America*, 1992, 19(3): 539-549.
- [7] HAMILL R J. Amphotericin B formulations: a comparative review of efficacy and toxicity[J]. *Drugs*, 2013, 73(9): 919-934.
- [8] POURMADADI M, GHAEMI A, SHAMSABADIPOUR A, et al. Nanoparticles loaded with Daunorubicin as an advanced tool for cancer therapy[J]. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2023, 258: 115547.
- [9] IKEDA H, OMURA S. Avermectin biosynthesis[J]. *Chemical Reviews*, 1997, 97(7): 2591-2610.
- [10] HOPWOOD D A. Genetic contributions to understanding polyketide synthases[J]. *Chemical Reviews*, 1997, 97(7): 2465-2498.
- [11] SHEN B. Polyketide biosynthesis beyond the type I, II and III polyketide synthase paradigms[J]. *Current Opinion in Chemical Biology*, 2003, 7(2): 285-295.
- [12] KEATINGE-CLAY A T. The structures of type I polyketide synthases[J]. *Natural Product Reports*, 2012, 29(10): 1050-1073.
- [13] HERTWECK C. The biosynthetic logic of polyketide diversity [J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2009, 48(26): 4688-4716.
- [14] KEATINGE-CLAY A T. Stereocontrol within polyketide assembly lines[J]. *Natural Product Reports*, 2016, 33(2): 141-149.
- [15] CHEN H T, DU L C. Iterative polyketide biosynthesis by modular polyketide synthases in bacteria[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2016, 100(2): 541-557.
- [16] SONG L J, JENNER M, MASSCHELEIN J, et al. Discovery and biosynthesis of gladiolin: a *Burkholderia gladioli* antibiotic with promising activity against *Mycobacterium tuberculosis*[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2017, 139(23): 7974-7981.
- [17] DAS A, KHOSLA C. Biosynthesis of aromatic polyketides in bacteria[J]. *Accounts of Chemical Research*, 2009, 42(5): 631-639.
- [18] DREIER J, KHOSLA C. Mechanistic analysis of a type II polyketide synthase. Role of conserved residues in the beta-ketoacyl synthase-chain length factor heterodimer[J]. *Biochemistry*, 2000, 39(8): 2088-2095.
- [19] HERTWECK C, LUZHETSKYY A, REBETS Y, et al. Type II polyketide synthases: gaining a deeper insight into enzymatic teamwork[J]. *Natural Product Reports*, 2007, 24(1): 162-190.
- [20] XIE S L, ZHANG L H. Type II polyketide synthases: a bioinformatics-driven approach[J]. *ChemBioChem*, 2023, 24(9): e202200775.
- [21] YU D Y, XU F C, ZENG J, et al. Type III polyketide synthases in natural product biosynthesis[J]. *IUBMB Life*, 2012, 64(4): 285-295.
- [22] LI Y Y, MÜLLER R. Non-modular polyketide synthases in myxobacteria[J]. *Phytochemistry*, 2009, 70(15-16): 1850-1857.
- [23] MIYANAGA A, KUDO F, EGUCHI T. Protein-protein interactions in polyketide synthase-nonribosomal peptide

- synthetase hybrid assembly lines[J]. *Natural Product Reports*, 2018, 35(11): 1185-1209.
- [24] JENKE-KODAMA H, DITTMANN E. Bioinformatic perspectives on NRPS/PKS megasynthases: advances and challenges[J]. *Natural Product Reports*, 2009, 26(7): 874-883.
- [25] SCHWECKE T, APARICIO J F, MOLNÁR I, et al. The biosynthetic gene cluster for the polyketide immunosuppressant rapamycin[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1995, 92(17): 7839-7843.
- [26] CHEN H, O'CONNOR S, CANE D E, et al. Epothilone biosynthesis: assembly of the methylthiazolylcarboxy starter unit on the EpoB subunit[J]. *Chemistry & Biology*, 2001, 8(9): 899-912.
- [27] DU L, SÁNCHEZ C, CHEN M, et al. The biosynthetic gene cluster for the antitumor drug bleomycin from *Streptomyces verticillus* ATCC15003 supporting functional interactions between nonribosomal peptide synthetases and a polyketide synthase[J]. *Chemistry & Biology*, 2000, 7(8): 623-642.
- [28] KOZAKAI R, ONO T, HOSHINO S, et al. Acyltransferase that catalyses the condensation of polyketide and peptide moieties of goadvionin hybrid lipopeptides[J]. *Nature Chemistry*, 2020, 12(9): 869-877.
- [29] HUANG Y, HOEFGEN S, VALIANTE V. Biosynthesis of fungal drimane-type sesquiterpene esters[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2021, 60(44): 23763-23770.
- [30] DONADIO S, STAVER M J, MCALPINE J B, et al. Modular organization of genes required for complex polyketide biosynthesis[J]. *Science*, 1991, 252(5006): 675-679.
- [31] OMURA S, IKEDA H, ISHIKAWA J, et al. Genome sequence of an industrial microorganism *Streptomyces avermitilis*: deducing the ability of producing secondary metabolites[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2001, 98(21): 12215-12220.
- [32] STAUNTON J, WEISSMAN K J. Polyketide biosynthesis: a millennium review[J]. *Natural Product Reports*, 2001, 18(4): 380-416.
- [33] HELFRICH E J N, REITER S, PIEL J. Recent advances in genome-based polyketide discovery[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2014, 29: 107-115.
- [34] WINTER J M, BEHNKEN S, HERTWECK C. Genomics-inspired discovery of natural products[J]. *Current Opinion in Chemical Biology*, 2011, 15(1): 22-31.
- [35] NIEHS S P, KUMPFMÜLLER J, DOSE B, et al. Insect-associated bacteria assemble the antifungal butenolide gladiofungin by non-canonical polyketide chain termination[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2020, 59(51): 23122-23126.
- [36] ZAZOPOULOS E, HUANG K X, STAFFA A, et al. A genomics-guided approach for discovering and expressing cryptic metabolic pathways[J]. *Nature Biotechnology*, 2003, 21(2): 187-190.
- [37] PENG H Y, ISHIDA K, HERTWECK C. Loss of single-domain function in a modular assembly line alters the size and shape of a complex polyketide[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2019, 58(50): 18252-18256.
- [38] ZHANG J J, TANG X Y, HUAN T, et al. Pass-back chain extension expands multimodular assembly line biosynthesis[J]. *Nature Chemical Biology*, 2020, 16(1): 42-49.
- [39] HIRATA Y, NAKATA H, YAMADA K, et al. The structure of aureothin, a nitro compound obtained from *Streptomyces thioluteus*[J]. *Tetrahedron*, 1961, 14(3-4): 252-274.
- [40] HE J, HERTWECK C. Iteration as programmed event during polyketide assembly; molecular analysis of the aureothin biosynthesis gene cluster[J]. *Chemistry & Biology*, 2003, 10(12): 1225-1232.
- [41] HE J, HERTWECK C. Functional analysis of the aureothin iterative type I polyketide synthase[J]. *ChemBioChem*, 2005, 6(5): 908-912.
- [42] BUSCH B, UEBERSCHAAR N, SUGIMOTO Y, et al. Interchain retrotransfer of aureothin intermediates in an iterative polyketide synthase module[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2012, 134(30): 12382-12385.
- [43] ARAI M, HAMANO K. Isolation of three main components, F3, F4 and F5, from azalomycin F-complex[J]. *The Journal of Antibiotics*, 1970, 23(3): 107-112.
- [44] YUAN G J, LIN H P, WANG C, et al. ¹H and ¹³C assignments of two new macrocyclic lactones isolated from *Streptomyces* sp. 211726 and revised assignments of azalomycins F_{3a}, F_{4a} and F_{5a}[J]. *Magnetic Resonance in Chemistry*, 2011, 49(1): 30-37.
- [45] ZHAI G F, WANG W Y, XU W, et al. Cross-module enoylreduction in the Azalomycin F polyketide synthase[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2020, 59(50): 22738-22742.
- [46] XU W, ZHAI G F, LIU Y Z, et al. An iterative module in the Azalomycin F polyketide synthase contains a switchable enoylreductase domain[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2017, 56(20): 5503-5506.
- [47] CHEN A Y, SCHNARR N A, KIM C Y, et al. Extender unit and acyl carrier protein specificity of ketosynthase domains of the 6-deoxyerythronolide B synthase[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2006, 128(9): 3067-3074.
- [48] KAPUR S, CHEN A Y, CANE D E, et al. Molecular recognition between ketosynthase and acyl carrier protein domains of the 6-deoxyerythronolide B synthase[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, 107(51): 22066-22071.
- [49] TAN F H, PUTOCZKI T L, STYLLI S S, et al. Ponatinib: a

- novel multi-tyrosine kinase inhibitor against human malignancies[J]. *OncoTargets and Therapy*, 2019, 12: 635-645.
- [50] SUGIMOTO Y, ISHIDA K, TRAITCHEVA N, et al. Freedom and constraint in engineered noncolinear polyketide assembly lines[J]. *Chemistry & Biology*, 2015, 22(2): 229-240.
- [51] FISCH K M. Biosynthesis of natural products by microbial iterative hybrid PKS-NRPS[J]. *RSC Advances*, 2013, 3(40): 18228-18247.
- [52] CHENG Y Q, TANG G L, 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.
- [53] DODGE G J, MALONEY F P, SMITH J L. Protein-protein interactions in “cis-AT” polyketide synthases[J]. *Natural Product Reports*, 2018, 35(10): 1082-1096.
- [54] KOSOL S, JENNER M, LEWANDOWSKI J R, et al. Protein-protein interactions in *trans*-AT polyketide synthases[J]. *Natural Product Reports*, 2018, 35(10): 1097-1109.
- [55] WOLF H, CHINALI G, PARMEGGIANI A. Kirromycin, an inhibitor of protein biosynthesis that acts on elongation factor Tu[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1974, 71(12): 4910-4914.
- [56] WEBER T, LAIPLE K J, PROSS E K, et al. Molecular analysis of the kirromycin biosynthetic gene cluster revealed beta-alanine as precursor of the pyridone moiety[J]. *Chemistry & Biology*, 2008, 15(2): 175-188.
- [57] ROBERTSEN H L, MUSIOL-KROLL E M, DING L, et al. Filling the gaps in the kirromycin biosynthesis: deciphering the role of genes involved in ethylmalonyl-CoA supply and tailoring reactions[J]. *Scientific Reports*, 2018, 8(1): 3230.
- [58] MUSIOL E M, HÄRTNER T, KULIK A, et al. Supramolecular templating in kirromycin biosynthesis: the acyltransferase KirC II loads ethylmalonyl-CoA extender onto a specific ACP of the *trans*-AT PKS[J]. *Chemistry & Biology*, 2011, 18(4): 438-444.
- [59] MUSIOL E M, GREULE A, HÄRTNER T, et al. The AT₂ domain of KirC I loads malonyl extender units to the ACPs of the kirromycin PKS[J]. *ChemBioChem*, 2013, 14(11): 1343-1352.
- [60] JENKE-KODAMA H, BÖRNER T, DITTMANN E. Natural biocombinatorics in the polyketide synthase genes of the actinobacterium *Streptomyces avermitilis*[J]. *PLoS Computational Biology*, 2006, 2(10): 1210-1218.e132.
- [61] NGUYEN T, ISHIDA K, JENKE-KODAMA H, et al. Exploiting the mosaic structure of *trans*-acyltransferase polyketide synthases for natural product discovery and pathway dissection[J]. *Nature Biotechnology*, 2008, 26(2): 225-233.
- [62] PIEL J. Biosynthesis of polyketides by *trans*-AT polyketide synthases[J]. *Natural Product Reports*, 2010, 27(7): 996-1047.
- [63] YEO W L, HENG E, TAN L, et al. Biosynthetic engineering of the antifungal, anti-MRSA auroramycin[J]. *Microbial Cell Factories*, 2020, 19(1): 3.
- [64] DUNN B J, WATTS K R, ROBBINS T, et al. Comparative analysis of the substrate specificity of *trans-versus cis*-acyltransferases of assembly line polyketide synthases[J]. *Biochemistry*, 2014, 53(23): 3796-3806.
- [65] SIRIRUNGRUANG S, AD O, PRIVALSKY T M, et al. Engineering site-selective incorporation of fluorine into polyketides[J]. *Nature Chemical Biology*, 2022, 18(8): 886-893.
- [66] SHEN B, NAKAYAMA H, HUTCHINSON C R. Isolation and structural elucidation of tetracenomycin F2 and tetracenomycin F1: early intermediates in the biosynthesis of tetracenomycin C in *Streptomyces glaucescens*[J]. *Journal of Natural Products*, 1993, 56(8): 1288-1293.
- [67] KOTOWSKA M, PAWLIK K. Roles of type II thioesterases and their application for secondary metabolite yield improvement[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2014, 98(18): 7735-7746.
- [68] CHEN A, RE R N, BURKART M D. Type II fatty acid and polyketide synthases: deciphering protein-protein and protein-substrate interactions[J]. *Natural Product Reports*, 2018, 35(10): 1029-1045.
- [69] DAS A, KHOSLA C. *In vivo* and *in vitro* analysis of the hedamycin polyketide synthase[J]. *Chemistry & Biology*, 2009, 16(11): 1197-1207.
- [70] HAN Y, WANG Y, YANG Y H, et al. Shellmycin A-D, novel bioactive tetrahydroanthra- γ -pyrone antibiotics from marine *Streptomyces* sp. Shell-016[J]. *Marine Drugs*, 2020, 18(1): 58.
- [71] BILILIGN T, HYUN C G, WILLIAMS J S, et al. The hedamycin locus implicates a novel aromatic PKS priming mechanism[J]. *Chemistry & Biology*, 2004, 11(7): 959-969.
- [72] ABE I. Biosynthesis of medicinally important plant metabolites by unusual type III polyketide synthases[J]. *Journal of Natural Medicines*, 2020, 74(4): 639-646.
- [73] MURRAY L A M, MCKINNIE S M K, MOORE B S, et al. Meroterpenoid natural products from *Streptomyces* bacteria—the evolution of chemoenzymatic syntheses[J]. *Natural Product Reports*, 2020, 37(10): 1334-1366.
- [74] AUSTIN M B, NOEL J P. The chalcone synthase superfamily of type III polyketide synthases[J]. *Natural Product Reports*, 2003, 20(1): 79-110.
- [75] CHEN H, TSENG C C, HUBBARD B K, et al. Glycopeptide antibiotic biosynthesis: enzymatic assembly of the dedicated amino acid monomer (*S*)-3,5-dihydroxyphenylglycine[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2001, 98(26): 14901-14906.

- [76] WENZEL S C, BODE H B, KOCHEMS I, et al. A type I /type III polyketide synthase hybrid biosynthetic pathway for the structurally unique ansa compound kendomycin[J]. *ChemBioChem*, 2008, 9(16): 2711-2721.
- [77] SONG R T, SHI H X, ZHU J, et al. A single-component flavoenzyme catalyzed regioselective halogenation of pyrone in the biosynthesis of venemycins[J]. *ACS Chemical Biology*, 2019, 14(12): 2533-2537.
- [78] LACEY H J, CHEN R, VUONG D, et al. Resorculins: hybrid polyketide macrolides from *Streptomyces* sp. MST-91080[J]. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 2023, 21(12): 2531-2538.
- [79] ZHANG B, JIN W Z, ZHANG Y Y, et al. A type I /type III PKS hybrid generates cinnamomycin A-D[J]. *Organic Letters*, 2023, 25(15): 2560-2564.
- [80] CORTES J, HAYDOCK S F, ROBERTS G A, et al. An unusually large multifunctional polypeptide in the erythromycin-producing polyketide synthase of *Saccharopolyspora erythraea*[J]. *Nature*, 1990, 348(6297): 176-178.
- [81] GOMES E S, SCHUCH V, DE MACEDO LEMOS E G. Biotechnology of polyketides: new breath of life for the novel antibiotic genetic pathways discovery through metagenomics [J]. *Brazilian Journal of Microbiology*, 2013, 44(4): 1007-1034.
- [82] ZHANG J Y, SUN Y, WANG Y J, et al. Genome mining of novel rubiginones from *Streptomyces* sp. CB02414 and characterization of the post-PKS modification steps in rubiginone biosynthesis[J]. *Microbial Cell Factories*, 2021, 20(1): 192.
- [83] BAGDE S R, MATHEWS I I, FROMME J C, et al. Modular polyketide synthase contains two reaction chambers that operate asynchronously[J]. *Science*, 2021, 374(6568): 723-729.
- [84] RISDIAN C, MOZEF T, WINK J. Biosynthesis of polyketides in *Streptomyces*[J]. *Microorganisms*, 2019, 7(5): 124.
- [85] PRUSOV E V. Total synthesis of antibiotics: recent achievements, limitations, and perspectives[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2013, 97(7): 2773-2795.
- [86] ZHANG S W, XIE Q, SUN C L, et al. Cytotoxic kendomycins containing the carbacylic *Ansa* scaffold from the marine-derived *Verrucospora* sp. SCSIO 07399[J]. *Journal of Natural Products*, 2019, 82(12): 3366-3371.



通讯作者：陈依军(1962—)，男，教授。研究方向为药物合成生物学。

E-mail: yjchen@cpu.edu.cn



第一作者：张瑞(1999—)，女，硕士研究生。研究方向为聚酮化合物的生物合成。

E-mail: zhangrui19990303@163.com