

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2011.01087

放线菌萜类化合物生物合成研究进展

李文利, 湛桂花, 郑华

中国海洋大学医药学院海洋药物教育部重点实验室, 青岛 266003

摘要: 萜类化合物(Terpenoids)是自然界中化学结构最为丰富的一类化合物。近年来, 从放线菌中分离到了一系列结构新颖的萜类化合物。通过直接克隆或基因组采掘(Genome mining)的方法, 它们的生物合成基因簇被相继分离和鉴定, 从而推动了放线菌中萜类化合物生物合成途径及关键酶的分子作用机理的研究。文章主要综述了近 5 年放线菌萜类化合物生物合成研究进展。

关键词: 放线菌; 萜类化合物; 生物合成; 基因簇; 直接克隆; 基因组采掘

Advances on actinomycetic terpenoid biosynthesis

LI Wen-Li, ZHAN Gui-Hua, ZHENG Hua

Key Laboratory of Marine Drugs, Chinese Ministry of Education, School of Medicine and Pharmacy, Ocean University of China, Qingdao 266003, China

Abstract: Terpenoids are the most diverse class of natural products. Recently, a series of terpenoids with novel structures have been isolated from actinomycetes. Their biosynthetic gene clusters have been identified and characterized either by direct cloning or genomic mining, which promoted investigations of their biosynthetic pathways, as well as the key enzymatic mechanisms. This paper provides a brief overview of the major research published in the last five years.

Keywords: actinomycetes; terpenoid; biosynthesis; gene cluster; direct cloning; genomic mining

萜类化合物(Terpenoids)又称类异戊二烯(Isoprenoids), 是自然界中结构多样性最为丰富的一类化合物^[1~4], 其基本结构骨架是由异戊二烯(C₅)单元组成的, 根据所含C₅数目的不同, 可分为单萜(Monoterpenes, C₁₀)、倍半萜(Sesquiterpenes, C₁₅)、双萜(Diterpenes, C₂₀)、三萜(Triterpenes, C₃₀)和四萜(Tetraterpenes, C₄₀)。萜类化合物的结构多样性决定了其生物功能的多样性, 可作为抗生素、激素、抗癌药物、杀虫剂等应用于医药和农业等领域。

在生物体内, 萜类化合物的合成主要分为 4 个阶段: 第一阶段是异戊二烯单元——异戊烯焦磷酸(Isopentenylallyl diphosphate, IPP)和二甲丙烯焦磷酸(Dimethylallyl diphosphate, DMAPP)的合成。有两条来源途径: 其一是甲羟戊酸(Mevalonate, MVA)途径; 其二是甲基赤藓醇 4-磷酸(2C-Methyl-D-erythritol-4-phosphate, MEP)途径, 亦称脱氧木酮糖-5-磷酸(1-Deoxy-D-xylulose-5-phosphate, DXP)途径。前者主要存在于真核生物中, 后者则存在于

收稿日期: 2011-05-17; 修回日期: 2011-07-18

基金项目: 国家自然科学基金项目(编号: 31070072), 教育部新世纪优秀人才支持计划项目(编号: NCET-09-0717)和长江学者和创新团队发展计划项目(编号: IRT0944)资助

作者简介: 李文利, 博士, 教授, 研究方向: 海洋药物生物合成。Tel: 0532-82031813; E-mail: liwenli@ouc.edu.cn

网络出版时间: 2011-9-5 8:12:53

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20110905.0812.001.html>

原核生物和光合生物的质体中,许多综述已经进行了详尽的总结^[1,3,5]。第二阶段是在聚异戊二烯焦磷酸合酶(Polyisoprenyl diphosphate synthase)作用下,IPP和DMAPP缩合形成不同长度的聚异戊二烯焦磷酸链。第三阶段是聚异戊二烯焦磷酸链在萜环化酶(Terpene cyclase)的催化下,进行环化与重排形成萜骨架。典型的细菌萜环化酶包含一个富含Asp的结构域及其下游与Mg²⁺相结合的催化三元体(Triad),能够通过线性异戊二烯链末端双键的直接质子化或二磷酸的切割来引发环化反应^[6];另外,通过线性异戊二烯链的环氧化也可以引发环化反应^[7]。最后是在修饰酶的作用下进行骨架修饰(如羟基化、甲基化、糖基化等)形成结构和功能各异的萜类化合物。

长期以来,植物和真菌一直是萜类化合物的主要来源。近年来,人们相继从放线菌中分离到了一系列结构新颖的萜类化合物,如pentalenolactone^[8]、terpentecin^[9]、napyradiomycins^[10]、longestin(KS-505a)^[11]、furaquinocins A^[12]、BE-40644^[13]、brasiliardin A^[14]等,并对它们的生物合成途径及关键酶的分子作用机理进行了一系列研究,本文主要综述了近 5 年放线菌萜类化合物生物合成方面的研究进展。

1 放线菌萜类化合物的生物合成基因簇

近年来,通过直接克隆或基因组采掘(Genome mining)的方法,一些放线菌产生的结构独特的萜类化合物的生物合成基因簇被相继分离和鉴定出来,从而促进了放线菌中萜类化合物生物合成分子机制的研究。一般而言,萜类化合物的生物合成基因簇编码 3 类酶:其一是IPP单体合成相关酶,其二是催化IPP单体缩合所需的聚异戊二烯合酶和催化聚异戊二烯中间体环化所需的环化酶,其三是负责基团转移和氧化反应的修饰酶^[4]。根据IPP前体的合成途径,及其相关基因与萜类化合物生物合成基因簇的关系,本文将近期报道的放线菌萜类化合物生物合成基因簇进行了归纳和总结。

1.1 含有 MVA 途径合成基因的萜类化合物基因簇

大多数细菌(如大肠杆菌和变铅青链霉菌)中只含有MEP途径,Dairi等^[15]研究发现,同时具备MEP途径和MVA途径的链霉菌往往具备产生萜类次级代谢产物的能力,而且它们的生物合成基因经常与

MVA途径合成基因相邻。他们首先从*Streptomyces griseolosporeus* strain MF730-N6(后来称为*Kitasatospora griseola*)和*Actinoplanes* sp. strain A40644 中分别克隆了MVA合成途径相关基因,进一步通过对其上下游DNA序列进行分析,分别发现了二萜terpentecin^[16]和倍半萜BE-40644 的生物合成基因簇^[17]。其中,terpentecin的基因簇中包含 2 个二萜环化酶基因,相应的编码序列中分别含有DDXXD和DXDD结构域,以不同的方式催化环化反应,这是首例细菌二萜环化酶的报导。有趣的是,当采用同样策略从*Streptomyces* sp. strain KO-3988 中克隆聚酮-类萜(Polyketide-isoprenoid)杂合化合物furaquinocin A的生物合成基因簇时,他们得到了两个独立的MVA合成途径基因簇,并且在相邻的DNA区域内分别发现了furaquinocin A和二萜viguiepinol的生物合成基因簇^[18]。

2007 年,Moore研究组以四羟基萜合酶(THN synthase)和异戊二烯基转移酶基因片段为探针从*Streptomyces* sp. CNQ-525 中克隆得到了另外一个聚酮-类萜杂合化合物napyradiomycin的基因簇,同时采用基因组挖掘策略从*Streptomyces aculeolatus* NRRL 18422 基因组中也鉴定了napyradiomycin的基因簇,二者在核苷酸水平上的一致性为 97%。其中均包含了 1 个GGPP合酶基因、2 个异戊二烯转移酶基因和MV途径合成IPP的所有基因,将完整基因簇在白色链霉菌(*Streptomyces albus*)中进行异源表达,得到了至少 7 个napyradiomycins^[19]。

有意思的是,Heide研究组发现,*Streptomyces cinnamonensis* DSM 1042 中聚酮-类萜杂合化合物furanonaphthoquinone I和endophenazine A的基因簇只含有一个MVA途径合成基因——MV激酶基因^[20]。进一步通过同位素示踪实验,他们证明furanonaphthoquinone I和endophenazine A组装所需的IPP前体实际上是由MVA(80%)和MEP(20%)途径共同提供的^[21]。

1.2 含有 MEP 途径合成基因的萜类化合物基因簇

大多数细菌是通过 MEP 途径合成 IPP 前体的。2006 年,Bechthold 研究组以 NDP-葡萄糖-4,6-脱水酶基因片段为探针从*Streptomyces* sp. Tu⁻ 6071 中克隆得到了二萜 phenalinolactones 的生物合成基因簇,

其中包含了 1 个 GGPP (Geranylgeranyl-pyrophosphate) 合酶基因(*plaT4*)、1 个萜环化酶基因(*plaT2*)、1 个异戊二烯转移酶基因(*plaT3*)和 2 个 MEP 途径合成基因——*plaT5* (HMBDP 合酶基因)和 *plaT6* (DXP 合酶基因), 这是首次克隆到含有 MEP 途径合成基因的萜类次级代谢产物生物合成基因簇^[22]。Dairi 研究组以聚异戊二烯二磷酸合酶基因片段为探针从 *Streptomyces argenteolus* 和 *Nocardia brasiliensis* IFM 0406 中, 分别克隆得到了四萜 longestin (KS-505a)^[23] 和二萜 brasilicardin A^[24] 的基因簇, 并在两个基因簇中都发现了与 phenalinolactones 基因簇中 *plaT5* 和 *plaT6* 同源的 MEP 途径合成基因, 这暗示着这两个基因及其产物 HMBDP 合酶和 DXP 合酶的重要性。phenalinolactone 和 brasilicardin A 的结构类似, 都具有一个三环的萜骨架, 且 C3 位与氧相连。通过比对, 在二者的基因簇中均发现了 1 个鲨烯环氧化酶(*plaT1/bra5*)和一个萜环化酶基因(*plaT2/bra4*), 并且萜环化酶 *PlaT2/Bra4* 都缺乏富酸的结构域。因此, 推测 phenalinolactone 和 brasilicardin A 的二萜骨架是通过相同途径合成的, 其中线性聚异戊二烯链是先被环氧化, 然后再环化形成三环骨架结构。

最近, Shen 研究组从 *Streptomyces platensis* MA7327 中克隆了平板霉素 (Platensimycin) 和 platencin 的生物合成基因簇, 其中包含 3 个 MEP 途径合成基因——HMBDP 还原酶基因(*orf24*)、HMBDP 合酶基因(*orf25*)和 DXP 合酶(*orf26*)^[25]。通过对基因簇中编码 GntR 家族负调控蛋白的 *ptnR1* 基因进行阻断, 使 *S. platensis* MA7327 中 platensimycin 和 platencin 产量都比野生型菌株提高了 100 倍^[26]。采用同样策略使另外一株只产 platencin 的菌株 *S. platensis* MA7339 中 platencin 的产量也增加了 100 倍, 同时还产生了 8 种新的 platencin 类似物 A2-A9^[27]。

1.3 不含 IPP 合成基因的萜类化合物基因簇

随着基因组测序技术的飞速发展, 越来越多的萜类化合物的生物合成基因簇被揭示出来, 其中许多都不含 IPP 合成相关基因。例如, 阿维链霉菌 (*Streptomyces avermitilis*) 和天蓝色链霉菌 (*Streptomyces coelicolor*) 的基因组都编码了倍半萜土腥素 (Geosmin) 和 epi-isozizaene/albaflavenone 的生物合成: 土腥素的合成只涉及一个 germacradienol/geosmin

合酶 (SAV2163^[28]/SCO6073^[29]); epi-isozizaene/albaflavenone 则是由 epi-isozizaene 合酶 (SAV3032^[30]/SCO5222^[31]) 及其下游细胞色素 P450 氧化酶 (SAV3032^[30]/SCO5223^[31]) 催化合成的。另外, 阿维链霉菌基因组还编码了半倍萜化合物——pentalenolactone^[32] 和 avermitilol^[33] 的生物合成。其中 pentalenolactone 基因簇是由 13 个转录方向一致的开放阅读框组成的, 包含 1 个 pentalenene 合酶基因、1 个 FPP 合酶基因和 8 个氧化还原酶。将完整基因簇在 *S. lividans* 1326 中进行异源表达, 结果积累了 pentalenolactone 合成中间体 pentalenic acid。同位素示踪实验表明 pentalenolactone 是通过 MEP 途径合成的, 但是其基因簇中不存在任何 MEP 途径相关基因^[32]。在阿维链霉菌野生型菌株中 epi-isozizaene/albaflavenone 和 avermitilol 的生物合成途径都处于沉默状态。当将相应的合成基因导入 *S. avermitilis* SUKA17 工程菌株之中, 在 *rpsJp* 启动子控制下进行组成型表达时, 都分别检测到了 epi-isozizaene/albaflavenone^[30] 和 avermitilol 的产生^[33]。

采用基因组采掘和序列比对策略, Ikeda 研究组在包括天蓝色链霉菌在内的 7 种放线菌基因组中都发现了一个由单萜环化酶基因和 SAM 依赖性甲基转移酶基因组成的转录单元, 并在其中 4 种链霉菌中检测到了 2-甲基异茨醇 (2-Methylisoborneol) 的产生。将这两个基因导入阿维链霉菌中进行异源表达, 使其获得了合成 2-甲基异茨醇的能力^[34]。可见, 放线菌合成萜类化合物的能力实际上超出了人们的预想。

2 放线菌萜类化合物生物合成相关酶及其分子作用机制

放线菌萜类化合物遗传信息的不断增加, 促进了人们对相关酶作用机理的理解。Cane 和其合作者发现土腥素并非以前所想象的那样是多步生物合成的结果, 而是由 germacradienol/geosmin 合酶 SCO6073 直接催化 FPP 而形成的。他们推测 germacradienol 必须先被释放, 然后重新与酶结合, 进一步转化为土腥素。germacradienol/geosmin 合酶具有两个独立的活性位点, 分别位于氨基端和羧基端。氨基端的活性位点负责将 FPP 转化为 germacradienol, 羧基端的活性位点则负责催化底物的转移和最后生成土腥素^[35]。进一步研究表明 germacradienol 合成的中

间体并非nerolidyl diphosphate, 而是从定点突变株*S. avermitilis* (S233A)中分离到的isolepidozene^[36]。germacradienol经反向-Prins片段化释放一分子丙酮, 进一步桥头氢发生 1,2-氢负离子迁移最终生成土脛素^[37]。

通过对天蓝色链霉菌 2-甲基异茨醇的生物合成机制进行研究, 发现GPP(Geranyl diphosphate)首先在SAM依赖性甲基转移酶的催化下生成 2-甲基GPP, 然后在Mg²⁺存在的条件下由单萜环化酶催化 2-甲基GPP环化形成 2-甲基异茨醇, 这正好与“先环化后修饰”的一般萜类化合物的合成模式相反^[34]。epi-isozizaene是albaflavenone生物合成的中间体。将epi-isozizaene合酶(SCO5222)与含重氢的FPP一起孵育, 检测了FPP环化生成epi-isozizaene的过程。在SCO5222作用下, FPP发生离子化、异构化、氢负离子迁移、甲基迁移、环化等一系列反应生成三环萜骨架结构epi-isozizaene。然后, 由细胞色素P450 氧化酶(SCO5223)催化烯丙基氧化, 先发生羟基化接着进一步氧化为酮基, 生成albaflavenone^[31,38]。

迄今为止, 人们从 30 多种链霉菌中都分离到了倍半萜 pentalenolactone。Cane 研究组对倍半萜 pentalenolactone 的生物合成相关酶进行了翔实的研究。pentalenene 合酶 PtlA 负责催化 FPP 生成 pentalenene, 其晶体结构已经早在 90 年代被解析^[39]。通过对由 pentalenene 生成 pentalenolactone 的途径进行研究, 分离得到了不同氧化程度的中间产物, 证实了相应酶的功能。其中, 细胞色素P450 单加氧酶 PtlI 将 pentalenene 上 13 位上的甲基氧化为醛基^[40]。晶体结构已经被解析的非血红素铁氧化酶 PtlH 催化 1-desoxypentalenic acid 羟基化生成 1-deoxy-11 β -hydroxypentalenic acid^[41]。接着, 在NAD⁺依赖性脱氢酶 PtlF 的作用下进一步氧化生成 1-deoxy-11-oxopentalenic acid^[42]。从 1-deoxy-11-oxopentalenic acid 生成 pentalenolactone 还需要 4 个不同的氧化反应: 首先是通过与 Baeyer-Villiger 相类似的反应, PenD/PntE 催化 1-deoxy-11-oxopentalenic acid 形成相应的内酯 pentalenolactone D^[43]; 然后, pentalenolactone D 在 α -酮戊二酸依赖性双加氧酶 PenD/PntD/PtlD 作用下形成 pentalenolactone E 和 F; 最后, 在细胞色素P450 氧化酶 PenM/PntM 催化下进一步发生氧化重排生成最终产物 pentalenolactone D^[44]。

最近, Moore 研究组在研究聚酮-类萜杂合化合物 napyradiomycin 的生物合成途径时, 发现其生物合成基因簇中不含萜环化酶基因, 而是含有 3 个钒依赖性氯过氧化物酶(Vanadium chloroperoxidases, V-CIPOs)基因 *napH1*、*napH3* 和 *napH4*^[19]。他们推测在四羟基萜合酶(NapB1)的作用下 5 个丙酰CoA 组装成四羟基萜, 然后经一系列修饰步骤, 被甲基化(NapB2, B5)、异戊二烯基化(NapT8, T9)和氯化(NapH2)生成 napyradiomycin SF2415B1, 进一步由钒依赖性氯过氧化物酶 NapH1 催化一个具有高度立体选择特异性的氯化—环化反应, 形成 napyradiomycin SF2415B3^[45], 这是首例也是迄今为止唯一一例有关细菌 V-CIPO 的报导。

3 结语与展望

在过去的 5 年中, 越来越多的放线菌萜类化合物的生物合成基因簇被分离和鉴定, 为研究 IPP 单元的起源, 复杂的萜环化过程、修饰反应等分子组装机理提供了宝贵的遗传信息, 也为新型酶与新颖酶学机理的发现提供了可能。在未来几年里, 对于放线菌萜类化合物生物合成的研究一方面在于继续探索和发现与萜类化合物结构多样性相关的分子基础, 另一方面将着重加深我们对于关键酶酶学机理的理解, 包括它们对反应中间体的高度立体选择性和在生物合成过程中所涉及的酶分子之间的复杂相互作用。

参考文献(References):

- [1] Daum M, Herrmann S, Wilkinson B, Bechthold A. Genes and enzymes involved in bacterial isoprenoid biosynthesis. *Curr Opin Chem Biol*, 2009, 13(2): 180–188. DOI
- [2] Kirby J, Keasling JD. Biosynthesis of plant isoprenoids: perspectives for microbial engineering. *Annu Rev Plant Biol*, 2009, 60(1): 335–355. DOI
- [3] Ajikumar PK, Tyo K, Carlsen S, Mucha O, Phon TH, Stephanopoulos G. Terpenoids: opportunities for biosynthesis of natural product drugs using engineered microorganisms. *Mol Pharm*, 2008, 5(2): 167–190. DOI
- [4] Walsh CT, Fischbach MA. Natural products version 2.0: connecting genes to molecules. *J Am Chem Soc*, 2010, 132(8): 2469–2493. DOI
- [5] Muntendam R, Melillo E, Ryden A, Kayser O. Perspectives and limits of engineering the isoprenoid metabolism

- in heterologous hosts. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2009, 84(6): 1003–1019. [DOI](#)
- [6] Komatsu M, Tsuda M, Ōmura S, Oikawa H, Ikeda H. Identification and functional analysis of genes controlling biosynthesis of 2-methylisoborneol. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(21): 7422–7427. [DOI](#)
- [7] Brown GD. The biosynthesis of steroids and triterpenoids. *Nat Prod Rep*, 1998, 15(6): 653–696. [DOI](#)
- [8] Cane DE, Rosshi T, Pachlatko JP. The biosynthesis of pentalenolactone. *Tetrahedron Lett*, 1979, 20(38): 3639–3642. [DOI](#)
- [9] Tamamura T, Sawa T, Isshiki K, Masuda T, Homma Y, Inuma H, Naganawa H, Hamada M, Takeuchi T, Umezawa H. Isolation and characterization of terpentecin, a new antitumor antibiotic. *J Antibiot*, 1985, 38(12): 1664–1669. [DOI](#)
- [10] Shiomi K, Nakamura H, Inuma H, Naganawa H, Isshiki K, Takeuchi T, Umezawa H, Iitaka Y. Structures of new antibiotics napyradiomycins. *J Antibiot*, 1986, 39(4): 494–501. [DOI](#)
- [11] Nakanishi S, Osawa K, Saito Y, Kawamoto I, Kuroda K, Kase H. KS-505a, a novel inhibitor of bovine brain Ca^{2+} and calmodulin-dependent cyclic-nucleotide phosphodiesterase from *Streptomyces argenteolus*. *J Antibiot*, 1992, 45(3): 341–347. [DOI](#)
- [12] Komiyama K, Funayama S, Anraku Y, Ishibashi M, Takahashi Y, Omura S. Novel antibiotic, furaquinocins A and B. Taxonomy, fermentation, isolation and physico-chemical and biological characteristics. *J Antibiot*, 1990, 43(3): 247–252. [DOI](#)
- [13] Torigoe K, Wakasugi N, Sakaizumi N, Ikejima T, Suzuki H, Kojiri K, Suda H. BE-40644, a new human thioredoxin system inhibitor isolated from *Actinoplanes* sp. A40644. *J Antibiot*, 1996, 49(3): 314–317. [DOI](#)
- [14] Komaki H, Nemoto A, Tanaka Y, Takagi H, Yazawa K, Mikami Y, Shigemori H, Kobayashi J, Ando A, Nagata Y. Brasilicardin A, a new terpenoid antibiotic from pathogenic *Nocardia brasiliensis*: fermentation, isolation and biological activity. *J Antibiot*, 1996, 52(1): 13–19. [DOI](#)
- [15] Daiiri T. Studies on biosynthetic genes and enzymes of isoprenoids produced by actinomycetes. *J Antibiot*, 2005, 58(4): 227–243. [DOI](#)
- [16] Daiiri T, Hamano Y, Kuzuyama T, Itoh N, Furihata K, Seto H. Eubacterial diterpene cyclase genes essential for production of the isoprenoid antibiotic terpentecin. *J Bacteriol*, 2001, 183(20): 6085–6094. [DOI](#)
- [17] Kawasaki T, Kuzuyama T, Furihata K, Itoh N, Seto H, Daiiri T. A relationship between the mevalonate pathway and isoprenoid production in actinomycetes. *J Antibiot*, 2003, 56(11): 957–966. [DOI](#)
- [18] Kawasaki T, Hayashi Y, Kuzuyama T, Furihata K, Itoh N, Seto H, Daiiri T. Biosynthesis of a natural polyketide-isoprenoid hybrid compound, furaquinocin A: identification and heterologous expression of the gene cluster. *J Bacteriol*, 2006, 188(4): 1236–1244. [DOI](#)
- [19] Winter JM, Moffitt MC, Zazopoulos E, McAlpine JB, Dorrestein PC, Moore BS. Molecular basis for chloronium-mediated meroterpene cyclization: cloning, sequencing, and heterologous expression of the napyradiomycin biosynthetic gene cluster. *J Biol Chem*, 2007, 282(22): 16362–16368. [DOI](#)
- [20] Bringmann G, Haagen Y, Gulder TAM, Gulder T, Heide L. Biosynthesis of the isoprenoid moieties of furanonaphthoquinone I and endophenazine A in *Streptomyces cinnamonensis* DSM 1042. *J Org Chem*, 2007, 72(11): 4198–4204. [DOI](#)
- [21] Haagen Y, Glück K, Fay K, Kammerer B, Gust B, Heide L. A gene cluster for prenylated naphthoquinone and prenylated phenazine biosynthesis in *Streptomyces cinnamonensis* DSM 1042. *Chembiochem*, 2006, 7(12): 2016–2027. [DOI](#)
- [22] Dürr C, Schnell HJ, Luzhetskyy A, Murillo R, Weber M, Welzel K, Vente A, Bechthold A. Biosynthesis of the terpene phenalinolactone in *Streptomyces* sp. Tü6071: analysis of the gene cluster and generation of derivatives. *Chem Biol*, 2006, 13(4): 365–377. [DOI](#)
- [23] Hayashi Y, Onaka H, Itoh N, Seto H, Daiiri T. Cloning of the gene cluster responsible for biosynthesis of KS-505a (longestin), a unique tetraterpenoid. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2007, 71(12): 3072–3081. [DOI](#)
- [24] Hayashi Y, Matsuura N, Toshima H, Itoh N, Ishikawa J, Mikami Y, Daiiri T. Cloning of the gene cluster responsible for the biosynthesis of brasilicardin A, a unique diterpenoid. *J Antibiot*, 2008, 61(3): 164–174. [DOI](#)
- [25] Shen B, Smanski MJ. Sequence of *Streptomyces platensis* platensimycin biosynthetic gene cluster and methods of producing platensimycin, platencin antibiotics and their analogs and antibacterial screening. *U S Pat Appl Publ*, 2009, 68. [DOI](#)
- [26] Smanski MJ, Peterson RM, Rajski SR, Shen B. Engineered *Streptomyces platensis* strains that overproduce antibiotics platensimycin and platencin. *Antimicrob Agents Chemother*, 2009, 53(4): 1299–1304. [DOI](#)
- [27] Yu ZG, Smanski MJ, Peterson RM, Marchillo K, Andes D, Rajski SR, Shen B. Engineering of *Streptomyces platensis* MA7339 for overproduction of Platencin and congeners. *Org Lett*, 2010, 12(8): 1744–1747. [DOI](#)

- [28] Cane DE, He XF, Kobayashi S, Omura S, Ikeda H. Geosmin biosynthesis in *Streptomyces avermitilis*. Molecular cloning, expression, and mechanistic study of the germacradienol/geosmin synthase. *J Antibiot*, 2006, 59(8): 471–479. [DOI](#)
- [29] Jiang JY, He XF, Cane DE. Geosmin biosynthesis. *Streptomyces coelicolor* germacradienol/germacrene D synthase converts farnesyl diphosphate to geosmin. *J Am Chem Soc*, 2006, 128(25): 8128–8129. [DOI](#)
- [30] Takamatsu S, Lin X, Nara A, Komatsu M, Cane DE, Ikeda H. Characterization of a silent sesquiterpenoid biosynthetic pathway in *Streptomyces avermitilis* controlling *epi*-isozizaene albaflavenone biosynthesis and isolation of a new oxidized *epi*-isozizaene metabolite. *Microb Biotechnol*, 2011, 4(2): 184–191. [DOI](#)
- [31] Zhao B, Lin X, Lei L, Lamb DC, Kelly SL, Waterman MR, Cane DE. Biosynthesis of the sesquiterpene antibiotic albaflavenone in *Streptomyces coelicolor* A3(2). *J Biol Chem*, 2008, 283(13): 8183–8189. [DOI](#)
- [32] You Z, Omura S, Ikeda H, Cane DE. Pentalenolactone biosynthesis. Molecular cloning and assignment of biochemical function to PtlH, a non-heme iron dioxxygenase of *Streptomyces avermitilis*. *J Am Chem Soc*, 2006, 128(20): 6566–6567. [DOI](#)
- [33] Chou WKW, Fanizza I, Uchiyama T, Komatsu M, Ikeda H, Cane DE. Genome mining in *Streptomyces avermitilis*: cloning and characterization of SAV_76, the synthase for a new sesquiterpene, avermitilol. *J Am Chem Soc*, 2010, 132(26): 8850–8851. [DOI](#)
- [34] Komatsu M, Tsuda M, Omura S, Oikawa H, Ikeda H. Identification and functional analysis of genes controlling biosynthesis of 2-methylisoborneol. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(21): 7422–7427. [DOI](#)
- [35] Jiang JY, He XF, Cane DE. Biosynthesis of the earthy odorant geosmin by a bifunctional *Streptomyces coelicolor* enzyme. *Nat Chem Biol*, 2007, 3(11): 711–715. [DOI](#)
- [36] He XF, Cane DE. Mechanism and stereochemistry of the germacradienol/germacrene D synthase of *Streptomyces coelicolor* A3(2). *J Am Chem Soc*, 2004, 126(9): 2678–2679. [DOI](#)
- [37] Jiang JY, Cane DE. Geosmin biosynthesis. Mechanism of the fragmentation-rearrangement in the conversion of germacradienol to geosmin. *J Am Chem Soc*, 2008, 130(2): 428–429. [DOI](#)
- [38] Lin X, Cane DE. Biosynthesis of the sesquiterpene antibiotic albaflavenone in *Streptomyces coelicolor*. Mechanism and stereochemistry of the enzymatic formation of *epi*-isozizaene. *J Am Chem Soc*, 2009, 131(18): 6332–6333. [DOI](#)
- [39] Lesburg CA, Zhai GZ, Cane DE, Christianson DW. Crystal structure of pentalenene synthase: mechanistic insights on terpenoid cyclization reactions in biology. *Science*, 1997, 277(5333): 1820–1824. [DOI](#)
- [40] Quaderer R, Omura S, Ikeda H, Cane DE. Pentalenolactone biosynthesis. Molecular cloning and assignment of biochemical function to PtlI, a cytochrome P450 of *Streptomyces avermitilis*. *J Am Chem Soc*, 2006, 128(40): 13036–13037. [DOI](#)
- [41] You Z, Omura S, Ikeda H, Cane DE, Jögl G. Crystal structure of the non-heme iron dioxxygenase PtlH in pentalenolactone biosynthesis. *J Biol Chem*, 2007, 282(50): 36552–36560. [DOI](#)
- [42] You Z, Omura S, Ikeda H, Cane DE. Pentalenolactone biosynthesis: molecular cloning and assignment of biochemical function to PtlF, a short-chain dehydrogenase from *Streptomyces avermitilis*, and identification of a new biosynthetic intermediate. *Arch Biochem Biophys*, 2007, 459(2): 233–240. [DOI](#)
- [43] Seo MJ, Zhu DQ, Endo S, Ikeda H, Cane DE. Genome mining in *Streptomyces*. Elucidation of the role of Baeyer-Villiger monooxygenases and non-heme iron-dependent dehydrogenase/oxygenases in the final steps of the biosynthesis of pentalenolactone and neopentalenolactone. *Biochemistry*, 2011, 50(10): 1739–1754. [DOI](#)
- [44] Zhu DQ, Seo MJ, Ikeda H, Cane DE. Genome mining in *Streptomyces*: Discovery of an unprecedented P450-catalyzed oxidative rearrangement that is the final step in the biosynthesis of pentalenolactone. *J Am Chem Soc*, 2011, 133(7): 2128–2131. [DOI](#)
- [45] Bernhardt P, Okino T, Winter JM, Miyanaga A, Moore BS. A stereoselective vanadium-sepdependent chloroperoxidase in bacterial antibiotic biosynthesis. *J Am Chem Soc*, 2011, 133(12): 4268–4270. [DOI](#)