

# 红霉素基因工程研究进展

张部昌<sup>1,2</sup> 赵志虎<sup>1</sup> 马清钧<sup>1</sup>

(1 军事医学科学院生物工程研究所 北京 100850) (2 安徽大学生命科学学院 合肥 230039)

**摘要** 红霉素是一类广谱大环内酯类抗生素,在临床上具有广泛的应用。近 10 年来用基因工程方法对红霉素结构改造已经取得了很大的进展。通过基因工程不仅可以改造红霉素内酯环环的大小、环的骨架和环的侧链,而且可以对后修饰的羟基、糖基和甲基进行改造。迄今用基因工程方法合成的新的大环内酯环结构已超过 100 种,所合成的各种红霉素类似物也有数十种,且经过基因改造的红霉素类似物都具有生物活性。但基因工程产物产量都普遍降低,抑菌活性也不理想,因此未来红霉素基因工程研究的重点应加强产量和高活性结构筛选的研究。

**关键词** 糖多孢红霉菌 红霉素 基因工程 大环内酯类

红霉素(erythromycin, Er)是由糖多孢红霉菌(*Saccharopolyspora erythraea*)合成的次生代谢产物,为一类广谱大环内酯类抗生素。自 1952 年发现以来红霉素及其衍生物在临床上得到了广泛的应用,但红霉素有两个致命的弱点:一是口服时易为胃酸降解;二是对其耐药性致病菌逐年增多,为此,人们不断地对其结构进行改造。通过化学途径改造红霉素结构已经取得了可喜的成果:对红霉素大环 C26 位羟基进行甲基化、对大环结构进行脲化等形成了当前临床上广泛使用的第二代红霉素,如阿奇霉素、克拉霉素等。第二代红霉素虽然能够克服胃酸对红霉素的降解,但仍不能解决细菌耐药性问题。现在正在研制和推向市场的第三代红霉素酮内酯类抗生素(ketolide),不仅可以增强红霉素的酸稳定性,而且对许多耐药性细菌也具有杀死或抑制作用<sup>[1]</sup>。目前红霉素类抗生素年销售额超过 35 亿美元,位居抗生素销售额第三位,被认为是下一代治疗耐药性细菌的抗生素<sup>[2]</sup>。在对红霉素结构进行化学改造的同时,也在积极探索通过基因工程途径对红霉素的结构进行改造,以期获得抗酸和对耐药性细菌具有活性的新的红霉素类抗生素药物。

红霉素的基因工程研究是建立在对红霉素生物合成分子生物学认识基础上的,红霉素的生物合成可分为两部分:大环内酯环的合成和大环内酯环的后修饰。

红霉素的大环内酯环为 62 脱氧红霉内酯 B(62 deoxyerythronolide B, 62dEB),62dEB 的生物合成类似于饱和脂肪酸的合成,是由小分子羧酸经缩合、酮还原、脱水和烯还原等多轮循环完成。与脂肪酸合成

不同的是 62dEB 由一个复合酶系(聚酮合成酶(polyketide synthase, PKS)完成。因该酶合成的最终产物为 62dEB,故也称为 62 脱氧红霉内酯 B 合成酶(62 deoxyerythronolide B synthase, DEBS)。DEBS 由 DEBS1、DEBS2 和 DEBS3 三条肽链组成。每条肽链有两套结构和功能都相近的酶域(domain),每套酶域称为一个模块(module, M),每个模块催化完成一轮碳链的延伸和还原。每个模块都有三个最基本的酶域:酮酰合成酶(KS)、酰基转移酶(AT)和酰基载体蛋白(ACP),它们可以完成小分子脂肪酸的缩合反应。但每个 M 包含对酮基还原的酶域不尽相同, M1、M2、M5 和 M6 四个模块除了三个最基本的酶域外,还有酮还原酶域(KR);M4 具有全套的酮还原酶域:KR、脱水酶域(DH)和烯酰还原酶域(ER);而 M3 没有任何酮还原酶域。故 62dEB 的结构不同于饱和脂肪酸,在分子中不仅有饱和的亚甲基,而且有酮基和羟基,但在红霉素结构中没有烯基。除了 6 个 M 外,在 DEBS1 的 N2 端有两个负载酶域(loading domain, LD)AT<sub>L</sub> 和 ACP<sub>L</sub>,负责选择和结合起始单元小分子羧酸;在 DEBS3 的羧基端有一个将合成聚酮长链水解下来,并协助进行环化成 62dEB 的硫酯酶酶域(thioesterase, TE)。与脂肪酸合成还有一个不同之处是 62dEB 所用的前体小分子羧酸不同:脂肪酸合成所使用的全是乙酸,而 62dEB 所用的是 1 个丙酸和 6 个甲基丙二酸。

62dEB 的后修饰包括 C26 羟基化、C23 和 C25 O2 糖基化、C23 O2 糖基上 C23 $\alpha$ O2 甲基化及 C12 羟基化。C26 羟基化酶、C23 $\alpha$ O2 甲基化酶和 C12 羟基化酶都是独立的酶。C23 结合的 mycarose 的合成和转

移由 6 个酶完成; C25 结合的 desosamine(红霉素糖胺)合成和转移也是由 6 个酶完成。

在糖多孢红霉菌染色体上,红霉素生物合成基因成簇存在,参与 62dEB 合成的三个基因( $\epsilon$ ryA1、 $\epsilon$ ryA2 和  $\epsilon$ ryA3)位于基因簇的中间,约 33 kb。62dEB 后修饰酶的基因分布于  $\epsilon$ ryA 的两侧,直接参与红霉素合成的整个基因簇长度约 56 kb。

有关红霉素生物合成的详尽过程及其相关基因结构可参考作者撰写的综述<sup>[3]</sup>。

红霉素的基因工程研究开始于 Cortes<sup>[4]</sup> 和 Donadio<sup>[5]</sup> 对  $\epsilon$ ryA 基因测序和提出 62dEB 合成模型以后,他们认为 62dEB 的合成基因与相应的酶域成——对应关系。为了验证模型的正确性,Donadio<sup>[5]</sup> 用染色体同源重组方法破坏了 KR5 酶域基因。正如预料的那样,突变体 AKR5 合成了新的红霉素类基因工程产物))) 5, 6,2 脱氧23,24mycarosyl25,26 羧基红霉内酯 B (5, 6,2dideoxy23,24mycarosyl25,26oxoerythronolide B)。不仅证实了 62dEB 生物合成模型的正确性,而且给人们以极大的启示:在 DEBS 中酶域的结构和功能是相对独立的;DEBS 以及 62dEB 后修饰酶对底物的要求并不十分严格,完全可以通过基因工程方法改变 DEBS 中的酶域,来对红霉素的大环结构进行改造。

对红霉素后修饰基因改造是红霉素结构改造的另一重要途径,也可以通过改造后修饰酶基因实现。

目前红霉素基因工程研究,主要在于通过基因工程方法改造 DEBS 基因和 62dEB 后修饰酶基因,从大环和修饰基团两方面来改造红霉素结构,以期获得新的红霉素类药物。

## 1 大环内酯环结构的改造

111 通过基因工程改变内酯环的大小 在大环内酯类抗生素中,既有红霉素、螺旋霉素等常见的 14 元环和 16 元环抗生素,又有 12 元环的酒霉素(methymycin),甚至 26 元环的 pimaricin。改变内酯环的大小是发现新红霉素类结构的途径之一,在红霉素合成过程中内酯环的大小由 DEBS 中模块数决定,故可以利用基因工程方法构建不同的模块而合成不同大小的内酯环结构。迄今已构建了 1 个模块、2 个模块、3 个模块、5 个模块和 7 个模块的合成基因,分别合成了开环的二聚酮及 62 元环、122 元环和 162 元环的聚酮化合物<sup>[6-11]</sup>。减少模块只需将 TE 酶域融合到相应模块的羧基端即可实现;而添加模块直到不久前才获得成功。Rowe<sup>[11]</sup> 将 Streptomyces

hygroscopicus rapM2 或 rapM5 插入到 DEBS2TE 的 M1 和 M2 基因间,合成了四聚酮;而将 rapM2 整合到野生型糖多孢红霉菌染色体的 M1 和 M2 基因间,则合成了 162 元环的聚酮化合物。

除了改变模块数可以控制内酯环的大小而外,还可以用基因工程方法破坏 DEBS 中 KS1 活性,通过添加适当前体合成 16- 元环的聚酮化合物<sup>[12,13]</sup>。

但这些非 142 元环的聚酮都未进行糖基化等修饰研究,因此还不知它们能否成为具有抗生素活性的前体化合物。

112 通过基因工程改变内酯环骨架结构 在 62dEB 合成时,内酯环骨架结构由小分子羧酸缩合而成,小分子羧酸先缩合成酮基,再由 KR 还原成羟基, DH 脱水成烯基,以及由 ER 还原成烷基。因此,可以通过增加或减少还原酶域改造内酯环的骨架结构。在减少还原程度方面,可以通过破坏各模块 KR 使酮基保留<sup>[2,5,10,14]</sup>,也可以破坏 ER4 使原先的 C<sub>6</sub>C<sub>7</sub> 位亚甲基变成甲烯基<sup>[15]</sup>。但仅仅替换 DH4 中的 1 个组氨酸时就没有任何聚酮化合物合成,其原因目前还不清楚<sup>[16]</sup>。

在 DEBS 的 M2、M5 和 M6 中,可以增加 DH 酶域或 DH+ ER 酶域使羟基进一步还原。已有报道用 Rap M4 KR+ DH 替换 DEBS 中的 KR2、KR5 或 KR6,使相应位置脱水产生烯基<sup>[2,10,17]</sup>;或用 RapM1 DH+ ER+ KR 取代 DEBS M2 和 M5 中 KR 在相应位置产生亚甲基<sup>[2,10,18]</sup>。因 M1 产生的羟基用于形成内酯环,故没有探索增加 M1 修饰酶域的研究,至今也未见对 M3 增加酶域的报道。在 M6 中虽有用 Rap M1 中 DH+ ER+ KR 替换 DEBS KR6 的研究,但没有获得预期的亚甲基产物,而是产生了酮基或烯基<sup>[2]</sup>,这是因为在聚酮链合成过程中,聚酮链越过了外加的酶域,这种/跳跃(skipling)现象在红霉素的基因工程中较为普遍<sup>[11,19]</sup>。

在 62dEB 的立体结构中,其羟基有 S- 和 R- 两种构型,而羟基的构型由相应模块中的 KR 酶域决定,通过替换 KR 酶域可以改变 62dEB 的立体结构。在 DEBSPCH999 或 S1 lividans 系统,用 RapKR2 替换 DEBS KR6 合成了 3 位羟基差向异构的 62dEB 类似物<sup>[2]</sup>。

113 通过基因工程方法改变内酯环的侧链结构

62dEB 内酯环的侧链有甲基和乙基, C213 位的乙基来源于合成 62dEB 的起始单元丙酸,而其余位置的甲基由延伸单元甲基丙二酸保留。

11311 通过替换延伸模块 AT 使环甲基侧链改变

62dEB 生物合成中延伸单元的选择由模块中 AT 决定<sup>[20, 21]</sup>, DEBS 模块中的 AT 专一性选择 2S2 甲基丙二酰CoA 作延伸单元, 而来源于 *Streptomyces hygroscopicus* 和 *Streptomyces venezuelae* 的 RapAT2、RapAT14、Hyg AT2 和 VenAT 选择结合丙二酰CoA, 用它们替换 DEBS 中的 AT 可使环上相应位置的甲基侧链去除<sup>[2, 10, 20, 22, 23]</sup>; 而来源于 *Streptomyces caelestis* 的 NidAT5 对乙基丙二酰CoA 具有专一性, 以其基因替换糖多孢红霉菌染色体上 AT4 基因则合成了 C26 位乙基化的红霉素类似物<sup>[21]</sup>。

11312 通过替换负载域使环上 C213 位乙基侧链改变 62dEB 生物合成起始物的选择由 AT<sub>L</sub> 决定<sup>[24, 26]</sup>, DEBS AT<sub>L</sub> 以丙酰CoA 作起始物。不同的负载域对底物的选择性不同, 合成 avermectin 的 Ave LD 对起始物要求非常宽松, 在 *Streptomyces avermitilis* 突变体中, 使用合成化合物作前体可以合成 40 多种 avermectin 的类似物<sup>[27]</sup>。Marsden<sup>[24]</sup> 用 ave LD 取代 ery LD 构建的糖多孢红霉菌突变体 ERME, 通过添加不同的前体合成了新的 C213 位为异丙基、22 丁基 (sec2butyl) 等 Er A、Er B 和 Er D 类似物。Pfeifer<sup>[28]</sup> 用来源于合成 rifamycin 的 rif LD (A 和 T 酶域) 替换 ery LD 也合成了在 C213 位结合苯环的 62dEB 类似物。

11313 通过 KS1 失活使 DEBS 选择更多的起始物 Jacobsen<sup>[13]</sup> 将 DEBS KS1 中活性位点 Cys729 换成 Ala 构建了表达质粒 pJR52, 以此想越过负载域对起始单元的选择性作用。虽然 pJR52 在 CH999 中没有 62dEB 及其衍生物的合成, 然而向培养液中添加二聚酮化合物的各种前体时, 不仅可以合成 C213 位带多种侧链的 62dEB 的类似物<sup>[12, 29]</sup>, 而且可以合成 C212 位侧链为乙基的红霉素 C 类似物<sup>[30]</sup>。

11314 通过替换 KS 改变甲基侧链立体结构 62dEB 甲基侧链的构型是在碳链的延伸过程中形成的<sup>[6, 31]</sup>, 除 C26 位甲基为 ER4 决定外, 其余由 KS 决定<sup>[23, 32]</sup>。Holzbaur<sup>[32]</sup> 将 DEBS1 的 LD2KS1 融合到 DEBS3 的 AT5 氨基端构建了 TSK2AR1, 其合成的三聚酮化合物除与 DEBS3 合成的三聚酮相同成分外, 还有在 C24 和 C25 位立体结构不同的三聚酮化合物。但至今尚没有合成甲基侧链立体异构的 62dEB 类似物。

## 2 大环内酯环的后修饰

### 211 后修饰羟基的基因工程

在红霉素生物合成过程中, 62dEB 的 C26 位和 C212 位需经羟基化修饰。早在 1991 年, Weber<sup>[33]</sup> 用

同源重组方法破坏了 C26 位羟化酶基因 eryF, 合成了 62位脱氧的 Er A 和 Er C 类似物。而 Srassi<sup>[34]</sup> 同时破坏 C26 和 C212 位羟基化酶基因 eryF 和 eryK, 合成了 6, 12二脱氧 ErA 和 62脱氧 ErD。仅仅破坏两个羟化酶基因时, 突变体以 62脱氧 ErD 为主要产物, 但若在 ery 基因簇中再插入一个甲基化酶基因 eryG, 可使主产物变为 6, 12二脱氧 ErA。虽然可以通过破坏羟化酶基因获得脱氧的红霉素衍生物, 但至今没有在 62dEB 其它位置添加羟基的研究。

### 212 后修饰糖基的基因工程

红霉素的生物活性与其上的糖基密切相关, 红霉素糖基基因工程研究有三条途径:

21211 改变脱氧糖合成酶基因使原来的脱氧糖基结构改变 红霉素含有 mycarose 和 desosamine 两种脱氧糖, 它们的合成和转移分别由 6 个 eryB 和 6 个 eryC 基因控制。通过破坏基因 eryBII、eryBIII、eryBIV、eryBV 和 eryBVI, 合成了 mycarose 结构改变的红霉素类似物<sup>[35, 37]</sup>; 而破坏 eryCIV 则获得了带羟基 desosamine 的红霉素 A、B 和 C 的衍生物<sup>[35]</sup>。

21212 通过基因工程替换连接的糖基 Doumith<sup>[38]</sup> 在研究 oleandomycin 生物合成基因 oleG2 生物功能时, 发现 OleG2 可以将鼠李糖连接到 62dEB 或 EB 的 C2 位, 合成 C23 位为鼠李糖的红霉素衍生物。Gaiser<sup>[39]</sup> 不仅证实了 oleG2 的作用, 而且发现将来源于 *S1 fradiae* 的 tylM2 整合于糖多孢红霉菌突变体染色体上时可以将外加的 162元环 tyllactone 进行 desosamine 糖基修饰, 为进行 162元环新的大环内酯环糖基化修饰提供了一条途径, 但还没有对 62dEB 衍生的 162元环糖基化修饰的报道。

21213 在链霉菌宿主中糖基化修饰 在 100 多种基因工程合成的新大环内酯环结构中, 绝大多数都是在链霉菌宿主中首先合成的, 而链霉菌宿主菌体内没有糖基化修饰酶。为了检验这些新大环内酯结构潜在的生物活性, Tang<sup>[40]</sup> 将从委内瑞拉链霉菌来源的 desosamine 合成酶和糖基转移酶基因簇整合到 *S1 lividans* K42114 染色体上构建了 *S1 lividans* K39222 菌株, 该菌株不仅可以将添加到培养基中的 narbonolide, 162deoxymethylolide, 62dEB, 32ket62dEB 进行 desosamine 修饰, 而且用含有合成上述化合物基因的质粒转化该菌株时, 也可合成相应的 desosamine 糖基化的大环内酯类化合物, 经检验这些糖基化的化合物都具有生物活性。

### 213 后修饰甲基的基因工程

在红霉素合成过程中, 甲基化修饰发生在

mycarose 的 3dOH 上,迄今尚没有在红霉素其它位置进行甲基化的研究。前不久, Gaisser<sup>[41]</sup>将来源于 *Saccharopolyspora spinosa* 的甲基化酶基因 *spnI* 和 *spnK* 转入糖多孢红霉菌突变体 SGT2 中时,可把 32O2 鼠李糖 2 红霉内酯 B 转化成 32O2(2d, 3d 双 2O2 甲基鼠李糖)2 红霉内酯 B 和 32O2(2d, 3d 双 2O2 甲基鼠李糖)2 红霉内酯 B。而如在糖多孢红霉菌 SGT2 中再转入 *eryCII*, 则可以合成 32O2(2d, 3d 双 2O2 甲基鼠李糖)2 红霉素 D。

### 3 红霉素基因工程研究展望

红霉素基因工程的研究只不过 10 年时间,已合成了 100 多种非天然的大环内酯环结构,这些新结构数量是自然界已发现大环结构的数倍,为开发新的抗生素药物提供了前体母核结构。同时还有几十种新的红霉素类似结构用基因工程方法合成。特别是近两三年来红霉素基因工程研究更为迅速, Xue 等<sup>[10]</sup>创建的链霉菌多质粒共表达体系,将合成 62dEB 的三个基因分别克隆于三个质粒,它们同时转化链霉菌宿主可实现真正意义上的组合性生物合成。从理论上说,只需改变有限的酶域基因,这种组合性系统就可以合成成千上万种新的大环结构。前不久 Pfeifer<sup>[28]</sup>在大肠杆菌体内合成了完整的 62dEB,使红霉素基因工程变得方便快捷;而 Tang<sup>[40]</sup>将糖基合成和转移酶基因整合到链霉菌染色体上,将红霉素基因工程研究新结构和研究生物活性成为一体化。

从现在来看,红霉素基因工程研究还有两方面工作需要加强。

一是提高产量,基因工程产物产量是衡量基因工程产品经济价值的一个重要指标,然而经过基因改造以后合成的红霉素类似物或其前体产量都普遍降低<sup>[2,42]</sup>。产量减少的原因可能是:基因重组蛋白结构不稳定;重组蛋白结构处于非最佳状态;对非天然底物利用效率低等<sup>[43]</sup>,但产量降低的真正原因只有在研究聚酮合成酶空间结构及与底物的相互关系后才可能搞清楚。不过目前已有一些途径对提高产量提供了可靠的依据,如在染色体上增加拷贝数或使用强启动子可使产量提高 10 倍<sup>[44]</sup>;通过替换整个亚基而不是单个酶域可以使产量提高 100 倍以上<sup>[19]</sup>;而将具有血红蛋白性质的 *vhb* 基因整合到糖多孢红霉菌染色体上,甚至可以使工业菌株红霉素产量提高 60%<sup>[45]</sup>。

二是加强红霉素类基因工程产物结构与活性关系的研究,虽然用基因工程方法合成的红霉素类似

物种类很多,但至今仅对一些产物进行了抑菌活性试验,绝大多数红霉素基因工程类似物都较红霉素活性低,因此迫切需要研究红霉素结构与活性的关系。从已有的红霉素结构和活性关系的研究报道,可以归纳为三个方面基本结论:(一)通过基因工程方法改变内酯环结构获得的各种红霉素 A、B、C 或 D 的类似物都具有生物活性;(二)所有具有活性的红霉素类结构中都至少含有一个糖基,且 C25 位必须有糖基;(三)在内酯环 C2C7 间为饱和键有利于保持高活性。但更多的红霉素类化合物结构与活性的关系还需要积累更多的数据。因此,除用基因工程方法合成更多的新结构供选择外,还应当加强高活性结构的筛选,以指导红霉素基因工程的定向改造。近年化学方法对红霉素结构改造为红霉素基因工程提供了可借鉴的途径,研究<sup>[1]</sup>表明红霉素 C23 位糖基去除不会降低生物活性,同时将 C23 位糖基变为羰基改造的酮内酯类抗生素(ketolide),不仅可以提高红霉素对酸的抗性,而且对许多耐药性细菌也具有生物活性。据此, Xue<sup>[10]</sup>和 McDaniel<sup>[2]</sup>在链霉菌体内合成了 C23 位为酮基的 62dEB 类似物;而作者<sup>[14]</sup>利用染色体同源重组在糖多孢红霉菌体内合成了 C23 位为酮基的红霉内酯 B 类似物。所有这些工作都为用基因工程方法合成第三代红霉素奠定了基础。

### 参考文献

- [1] Agouridas C, Denis A, Auger JM, et al. J Med Chem, 1998, 41: 4080- 4100
- [2] McDaniel R, Thamchaipenet A, Gustafsson C, et al. Proc Natl Acad Sci USA, 1999, 96(5): 1846- 1851
- [3] 张部昌, 赵志虎, 马清钧. 生物技术通讯, 2001, 12(2): 151- 160
- [4] Cortes J, Haydock SF, Roberts GA, et al. Nature, 1990, 348 (6297): 176- 178
- [5] Donadio S, Staver MJ, McAlpine JB, et al. Science, 1991, 252 (5006): 675- 679
- [6] Bohm I, Holzbaur IE, Hanefeld U, et al. Chem Biol, 1998, 5(8): 407- 412
- [7] Kao CM, Luo G, Katz L, et al. J Am Chem Soc, 1995, 117: 9105 - 6
- [8] Jacobsen JR, Cane DE and Khosla C. Biochemistry, 1998, 37: 4928 - 4934
- [9] Kao CM, Luo G, Katz L, et al. J Am Chem Soc, 1996, 118: 9184- 9185
- [10] Xue Q, Ashley G, Hutchinson CR, et al. Proc Natl Acad Sci USA, 1999, 96(21): 11740- 11745
- [11] Rowe CJ, Bohm IU, Thomas IP, et al. Chem Biol, 2001, 8(5): 475

- [12] Kinoshita K, Williard PG, Khosla C, et al. *J Am Chem Soc*. 2001, 123(11): 2495- 2502
- [13] Jacobsen JR, Hutchinson CR, Cane DE, et al. *Science*, 1997, 277: 367- 369
- [14] 张部昌, 赵志虎, 王以光, 等. *生物工程学报*, 2002, 18(2): 198 - 203
- [15] Donadio S, McAlpine JB, Sheldon PJ, et al. *Proc Natl Acad Sci US A*, 1993, 90(15): 7119- 23
- [16] Bevit DJ, Staunton J and Leadlay PF. *Biochemical society transactions*. 1992, 21, 30s
- [17] McDaniel R, Kao CM, Fu H, et al. *J Am Chem Soc*, 1997, 119: 4309- 10
- [18] Kao CM, McPherson M, McDaniel RN, et al. *J Am Chem Soc*, 1997, 119: 11339- 40
- [19] Tang L, Fu H and McDaniel R. *Chem Biol*, 2000, 7(2): 77- 84
- [20] Ruan X, Pereda A, Stassi DL, et al. *J Bacteriol*, 1997, 179(20): 6416- 25
- [21] Stassi DL, Kakavas SJ, Reynolds KA, et al. *Proc Natl Acad Sci US A*, 1998, 95(13): 7305- 9
- [22] Liu L, Thanchaipenat A, Fu H, et al. *J Am Chem Soc*, 1997, 119: 10553- 4
- [23] Lau J, Fu H, Cane DE, et al. *Biochemistry*, 1999, 38: 1643- 51
- [24] Marsden AFA, Wilkenson B, Cortes J, et al. *Science*, 1998, 279: 199- 202
- [25] Aparicio JF, Caffrey P, Marsden AF, et al. *J Biol Chem*, 1994, 269(11): 8524- 8
- [26] Hunziker D, Yu TW, Hutchinson CR, et al. *J Am Chem Soc*, 1998, 120: 1092- 3
- [27] Dutton KS, Gibson SP, Goudie AC, et al. *J Antibiotics*, 1991, 44(3): 357- 65
- [28] Pfeifer BA, Admiraal SJ, Gramajo H, et al. *Science*, 2001, 291: 1790- 2
- [29] Hunziker D, Wu N, Kenoshita K, et al. *Tetrahedr Lett*, 1999, 40: 635- 8
- [30] Jacobsen JR, Keatinge2Clay AT, Cane DE, et al. *Bioorg Med Chem*, 1998, 6(8): 1171- 1177
- [31] Weissman KJ, Timoney M, Bycroft M, et al. *Biochemistry*, 1997, 36(45): 13849- 55
- [32] Holzbaur IE, Ranganathan A, Thomas IP, et al. *Chem Biol*, 2001, 8(4): 329- 40
- [33] Weber JM, Leung JO, Swanson SJ, et al. *Science*, 1991, 252(5002): 114- 7
- [34] Stassi D, Post D, Satter M, et al. *Appl Microbiol Biotechnol*, 1998, 49: 725- 31
- [35] Salah2Bey K, Doumith M, Michel JM, et al. *Mol Gen Genet*, 1998, 257(5): 542- 53
- [36] Gaiser S, Bohm GA, Doumith M, et al. *Mol Gen Genet*, 1998, 258(1- 2): 78- 88
- [37] Summers RG, Donadio S, Staver MJ, et al. *Microbiology*, 1997, 143(Pt 10): 3251- 62
- [38] Doumith M, Legrand R, Lang C, et al. *Mol Microbiol*, 1999, 34(5): 1039- 48
- [39] Gaiser2S, Reathe2J, Wirt2G, et al. *Mol Microbiol*, 2000, 36(2): 391- 401
- [40] Tang L, McDaniel R. *Chem Biol*, 2001, 8(6): 547- 55
- [41] Gaiser S, Lill R, Wirtz G, et al. *Mol Microbiol*, 2001, 41(5): 1223- 1231
- [42] Cane DE, Walsh CT and Khosla C. *Science*, 1998, 282: 63- 8
- [43] Gokhale RS, Tsuji SY, Cane DE, et al. *Science*, 1999, 284(5413): 482- 5
- [44] Rowe CJ, Cortes J, Gaiser S, et al. *Gene*, 1998, 216(1): 215- 23
- [45] Brunker P, Minas W, Kallio PT, et al. *Microbiology*, 1998, 144: 2441- 8

## Progress in Erythromycin Genetic Engineering

Zhang Buchang<sup>1,2</sup> Zhao Zhihu<sup>1</sup> Ma Qingjun<sup>1</sup>

<sup>1</sup>(Beijing Institute of Biotechnology Beijing 100850 China)<sup>2</sup>(School of Life Sciences, Anhui University Hefei 230039 China)

**Abstract** Erythromycin is a broad spectrum macrolide antibiotic and clinically used widely. Great progresses have been made in changing erythromycin structures with genetic manipulation in recent 10 years. By means of genetic engineering, not only could the ring size, the ring backbone and the side chains of erythromycin aglycone be changed, but also the post2modified hydroxyl, glycosyl and methyl could be altered. Until now more than 100 types of novel macrolactones and tens of erythromycin analogs have been produced, and almost all of erythromycin analogs possess biological activity. However, the yield of the genetic products is commonly low, and the antibacterial activity is not satisfactory. So future researches on erythromycin genetic engineering should focus on the output of novel products and the selection of structures with high biological activity.

**Key words** *Saccharopolyspora erythraea*, Erythromycin, Genetic engineering, Macrolide