# الفصل الثاني عشر

## البناء الحيوي لمضادّات بوليكيتيد (متعدد الكيتيد) الحيوية: مبحث إنزيمات خط- التجميع

## POLYKETIDE ANTIBIOTIC BIOSYNTHESIS: ASSEMBLY-LLINE ENZYMOLOGY

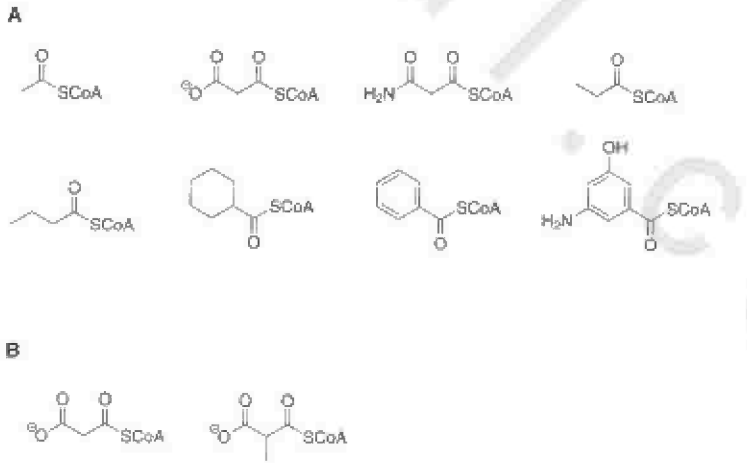
### المميزات العامة لبوليكيتيد سينثازات والمقارنة مع سينثازات الحامض الدهني

توجد الجينات التي تشفر منتجات بوليكيتيد الطبيعية في مجموعات، ويفترض أنها تسهل تنسيق التنظيم وتحريض الإظهار لجميع مكونات البروتين المطلوبة للعديد من الخطوات في مسارات البناء الحيوي المتخصصة هذه، عندما تستقبل وتحول عبرياً الإشارة المناسبة، للأنواع التي ذكرت في الفصل الحادي عشر. وتجتمع الجينات البنائية الحيوية كذلك مع مضخات التصدير وأي جينات مانحة للمقاومة أخرى وكما ذكر في الفصل السابع، لتبدأ تشغيل آليات الحماية – الذاتية في الوقت نفسه. ويوصى بالمراجع الشاملة بواسطة (رولينجز Rawlings, 1999، رولينجز Rawlings, 2001 a، رولينجز Rawlings, 2001 b) للتحليل الكامل لكل من النوع I والنوع II من بوليكيتيد سينثازات. وهذه المراجع كذلك تسمح بالدخول إلى الأدبيات الضخمة حيث ناقشت المسارات الكيميائية للبناء الحيوي لأصناف المنتجات الطبيعية في الفصول من الثاني عشر إلى الفصل الرابع عشر التي العمل بها، متيحةً إطار العمل الذي سمح بتفسير وظيفة كل حقل بروتين مع الخطوات الكيميائية المعينة في خطوط تجميع متعدِّدة الوحدات بمجرد أن أصبحت تسلسلات الجين متاحة.

الكيمياء الممارسة بواسطة بوليكيتيد سينثازات ((polyketide synthases (PKSs)) موازية بشكل مقارب لتلك في إنزيم حامض الدهن سينثازات (fatty acid synthases) (FASs)، الذي تمت دراسته بشكل مستفيض لعقود لفك آليات وتنظيم ولقد قدمت سوابق لفهم منطق PKS. كل من إنزيمات PKSs وFAS تحول السلسلة القصيرة لثيوإيسترات أسيل -CoA –S إلى منتجات أسيل- طويلة – السلسلة بواسطة سلسلة من دورات الإطالة المتكررة التي تضيف اثنين من (FAS,PKS) أو ثلاثة وحدات كربون (PKS) لكل دورة إطالة (انظر شين Shen, 2000). قوالب البناء التي تستعمل لبدء السلسلة في FAS عادة هي أسيتيل–CoA (acetyl-CoA)، في حين أن قوالب البناء للإطالة غالباً

تكون مالونيل-CoA (malonyl-CoA). وحدات أسيل للبدء في PKS يمكن أن تكون تشكيلة أكثر تنوعاً من مجموعات أسيل، وتشمل أسيتيل، مالونيل، مالوناميل (malonamyl)، بروبيونيل (propionyl)، بيوتيريل (butyryl)، سيكلوهيكسيل (cyclohexyl)، بينزويل (benzoyl)، و٣-هيدروكسي-٥-أمينو بنزويل (الشكل ١٢,١). أثناء تمديد السلسلة، تستعمل معقدات FAS مالونيل-CoA في حين أن محفزات PKS عادة ما تصنع خيار واحد أو أكثر لقوالب البناء في كل دورة إطالة، مالونيل- أو ميثيل مالونيل-CoA (methylmalonyl-CoA) (الشكل ١٢,١). ونادراً، يمكن أيضاً أن يستخدم إيثيل مالونيل وميثوكسي مالونيل-CoAs (methoxymalonyl) كوحدات مد. وكما لوحظ أدناه، فنزع الكربوكسيل (decarboxylation) من وحدات مد مالونيل أو ميثوكسي مالونيل هو ميكانيكياً ملزم لإطالة السلسلة، وهكذا يؤدي مالونيل-CoAs إلى مد السلسلة بواسطة ٢ كربونات بينما يضيف ميثيل مالونيل CoAs وحدة $C_3$- ميثيل متشعبة ($C_3$-methyl branched unit).

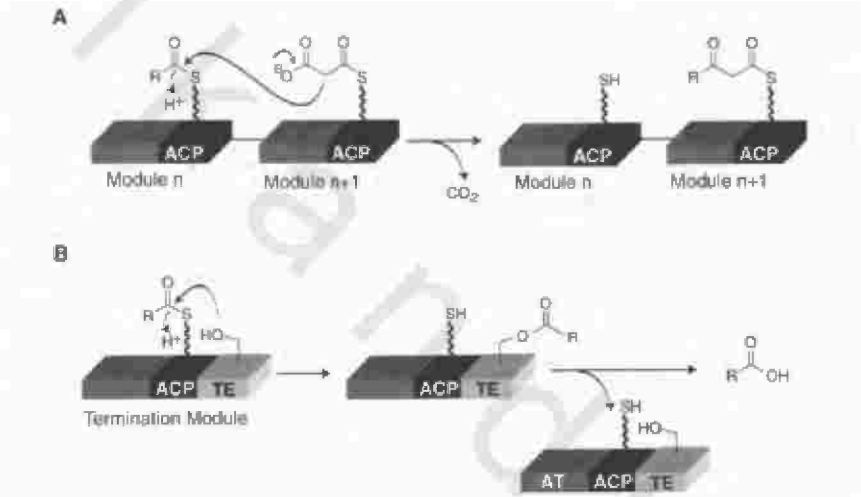
في حفّازات FAS و PKS تُوجد حقول متعدِّدة أو وحدات فرعية تشارك في خطوات نوعية لبدء السلسلة، الإطالة والإنهاء. وعندما تُجمع الحقول في *cis* كجزء من وحدات فرعية كبيرة، ومتعدِّدة الحقول، تسمى أنظمة PKS النوع I. وعندما تتناثر (تتبعثر) حقول البروتين الحفّاز والناقل كوحدات فرعية منفصلة، في ترانس *(trans)*، التي تتزامل مؤقتاً وتتفكك في كل دورة محفزة، فتسمى هذه النوع II سينثازات (type II synthases). وسوف نفحص أولاً النوع II سينثازات، في الفصل التالي، لأنها تأتي في قطع منفصلة وتسلط الضوء نحو دور الحقول الفردية التي يتم جمعها في خطوط تجميع نموذجية لسينثازات من النوع I.




**الشكل (١٢,١). قوالب البناء لـ (A) دورات البدء و(B) الإطالة بواسطة خطوط تجميع PKS.**

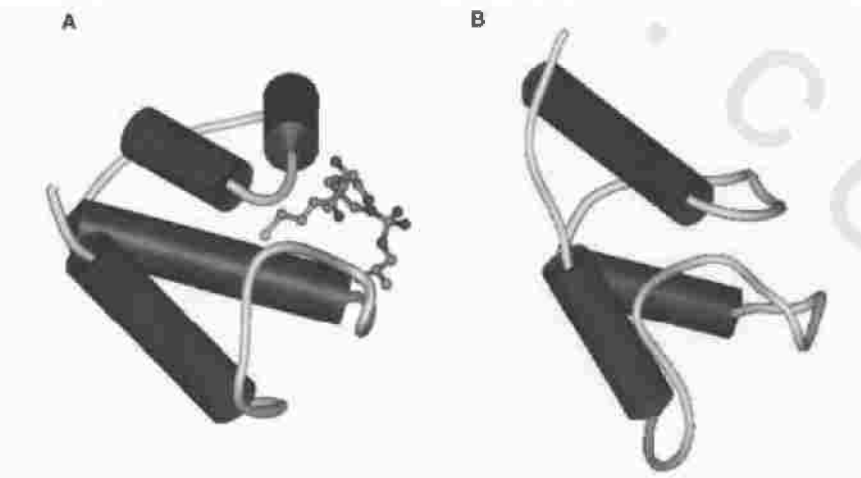
الخاصية المركزية لكل من حفّازات FAS و PKS هي أن موحودات أسيل -CoA المفعلة ديناميكياً وحرارياً (thermodynamically) والتي تخدم كل من بدء السلسلة وإطالة السلسلة تحوّل إلى وسائط إنزيم -أسيل- S (acyl-S-enzyme)

وكيمياء تشكيل الرباط-C-C (C-C bond forming chemistry) في كل دورة من إطالة السلسلة (الشكل ١٢،٢ A) تحدث على إنزيمات أسيل-S المربوطة تساهمياً. وبعد عدد مناسب من دورات الإطالة عند إنتاج الطول-الكامل لسلسلة أسيل، يكسر ارتباطها التساهمي نحو إنزيم S بواسطة حقل محفز متخصص لإنهاء السلسلة (النوع I) أو وحدة منفصلة (النوع II) تسمى ثيوإستيراز (thioesterase) (TE) (الشكل ١٢،٢ B). الثيول (thiol) المقيد على الإنزيم في جميع وسائط إنزيم أسيل-S يتم توفيره بواسطة مجموعة فوسفوبانتيثين البدلية ( phosphopantetheine prosthetic group) ذات الطول -Å – 20 التي أُدخلت بعد الترجمة على سلسلة سيرين نوعية جانبية في الحقل A – ١٠ kDa /الوحدة الفرعية المسمى بروتين حامل الأسيل (acyl carrier protein) (ACP) (انظر الشكل ١٢،٣A و B).





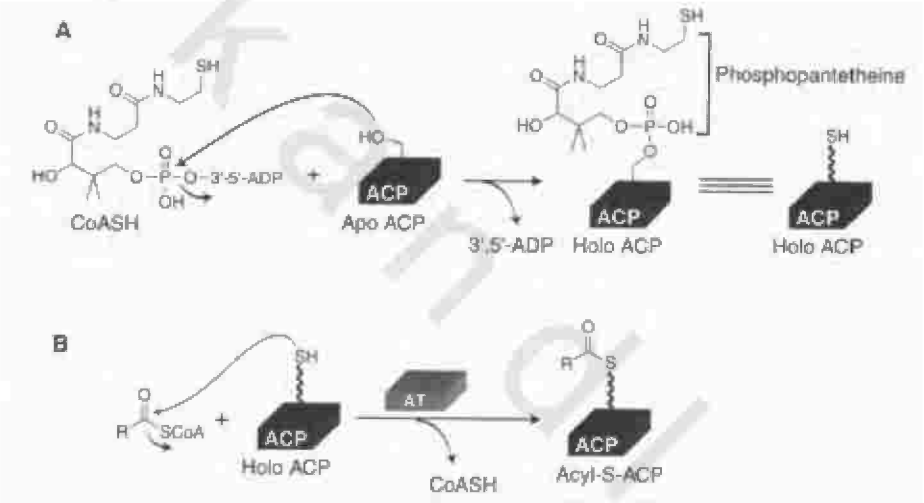

الشكل (١٢،٢). (A) إطالة السلسلة و (B) الخطوات الكيميائية لنهاء السلسلة في خطوط تجميع PKS.






الشكل (١٢،٣). تركيب حقول بروتين أسيل الناقل من (A) كامل حقل ACP للعصية الهشة FAS، مع مجموعة فوسفوبانتيثينيل البديلة المبينة في التمثيل بالكرة والعصا، (B) الشكل apo ACP لأكتينورودين سينثيتاز من المتسلسلة كوليكولر.

وهكذا فحقل ACP هو ناقل البروتين غير الحفّاز لسلسلة أسيل النامية، والمحاطة بمجموعة من الحقول الحفّازة المكرّسة، إما في *cis* (النوع I) أو في *trans* (النوع II). قبل عملية فوسفوبانتيثينيليشن (phosphopantetheinylation)، بواسطة الإنزيم المعدّل المعروف بفوسفوبانتيثينيل ترانسفيراز (phosphopantetheinyltransferase) (PPTase) (لامبالوت وآخرون Lambalot *et al.*, 1996)، والبروتين الناقل في الشكل غير الفعال (apo form) (الشكل ١٢.٤ A). بعد التعديل، ذراع HS- بانتيثينيل ((HS-pantrtheinyl (HS-pant)) من CAP الكامل هو كيميائياً مؤهل ليخدم كموضع تحميل لمجموعة أسيل التي أحضرت كأسيل-CoA ثيوإيسترات (acyl-CoA thioesters) بواسطة عبرترانسثيوليشن (transthiolation) عن طريق الفعل المحفز لحقل أسيل ترانسفيراز ((acyltransferase (AT)) (الشكل ١٢.٤ B) أثناء بدء السلسلة وللسلسلة النامية أثناء دورات الإطالة.

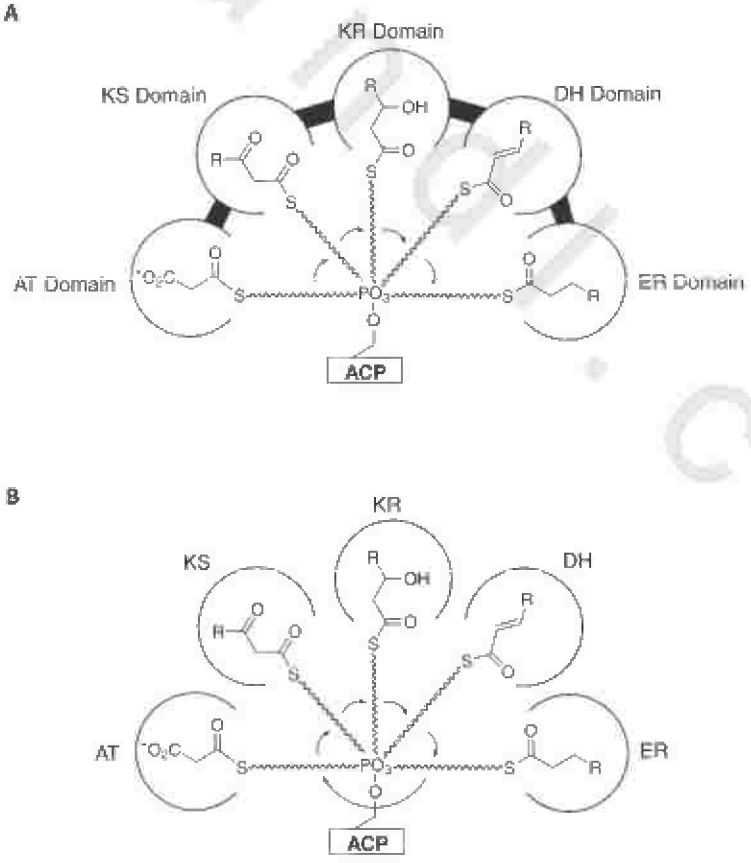



**الشكل (١٢.٤). حقل البرويتن الناقل لأسيل (A) التحويل الكامل لـ apo بواسطة التمهيد بعد الإنتساخي مع فوسفوبانتيثين، (B) توجيه holo HS-ACP مع مجموعات أسيل بواسطة ترانسثيوليشن (transthiolation) عن طريق تحفيز حقل AT.**

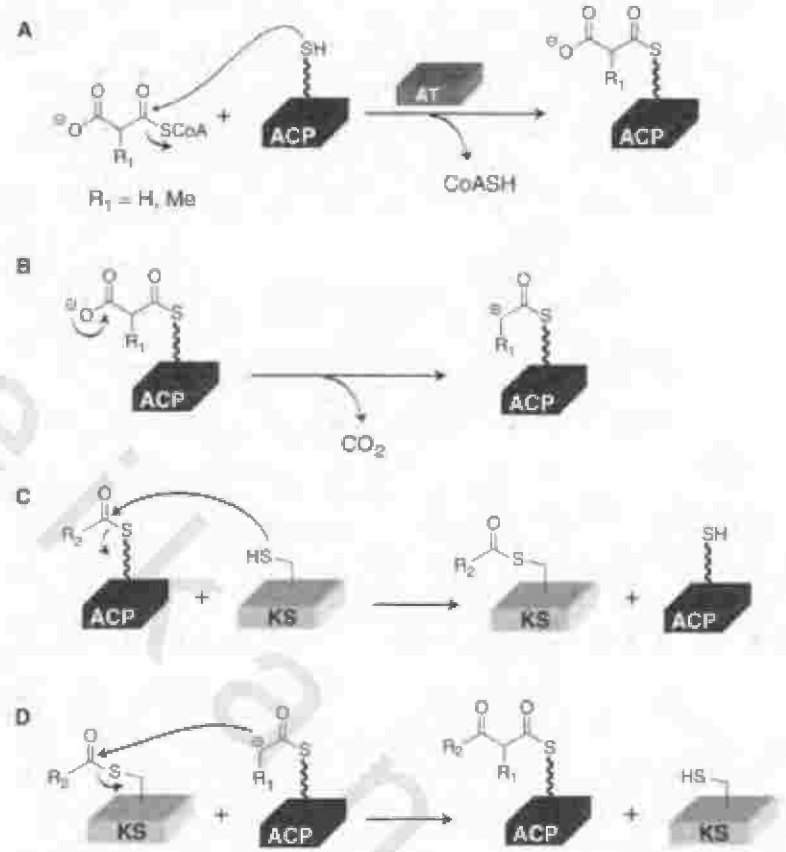
في النوع I لمعقدات FAS و PKS سوف تكوّن حقول ACP كاملة ومتعدّدة في خط التجميع، وتشمل سلسلة الإطالة تغيير موضع سلسلة أسيل النامية من أعلى تيار إلى اتجاه تيار المطبّعات (modules)، مع كل ACP كامل تخدم كمحطة تحميل (الشكل ١٢.٥ A). وتوجد في النوع II لمعقدات FAS و PKS، وحدة ACP فرعية واحدة، وبنيت سلسلة أسيل بواسطة دورات تكرارية من الإطالة بينما تظل مربوطة تساهمياً مع نفس سقالة بروتين ACP (الشكل ١٢.٥ B).

الخطوات الكيميائية التي نفذت بواسطة صفوف FAS و PKS هي نفسها. أولاً، يحمّل مالونيل- أو موحود ميثيل مالونيل-CoA على حقل HS-pant-holo ACP بواسطة ترانثيوليشن (transthiolation) تحت حماية حقل AT

لينتج مالونيل- أو ميثيل مالونيل S-ACP (الشكل ١٢,٦ A). وهذا acyl-S-ACP سوف يخدم ككربون أليف النواة، عندما يخضع إلى نزع الكربوكسيل (دي كربوكسيليشن) (decarboxylation) ليعطي $C_2$- كاربانيون المستقر المكافئ (C2-stabilized carbanion equivalent)، الممكن بواسطة ربط الثيوإيستر (الشكل ١٢,٦ B) في خطوة تكوين الرابط C-C bonding. يتم توفير مانح الأسيل الأليف الإلكترون لرابط C-C بواسطة مجموعة أسيل التي رسَيت مؤقتاً كوسيط إنزيم أسيل-إس (acyl-*S*-enzyme intermediate) عند الموقع النشط للحقل كيتوسينثيز (KS) أو الوحدة الفرعية (الشكل ١٢,٦ C). ويربط وسيط أسيل التساهمي هذا مع الموقع النشط سيستين لحقل KS وينشأ بواسطة تفاعل ترانسثيوليشن (transthiolation reaction) مماثل. وتحفز خطوة تكوين رابط C-C بواسطة حقل KS الذي يحرض نزع الأسيل من مالونيل- أو- ميثيل مالونيل (methylmalonyl-*S*-ACP) وينقل سلسلة الأسيل من الموقع النشط- سيستين إلى C2 كاربانيون/إينوليت ($C_2$ carbanion/ enolate) (الشكل ١٢,٦ D). وسواء حدث نزع الكربوكسيل (ديكربوكسيليشن) أولاً أو اقترن في نفس حالة الانتقال نحو تكوين رابط C-C لم يؤكد بالكامل. والنتيجة هي منتج *β*-keto-*S*-ACP (حيث جاءت التسمية كيتوسينثاز) حيث منبع سلسلة أسيل قد انتقل إلى نحو acyl-*S*-ACP أثناء إطالة السلسلة.

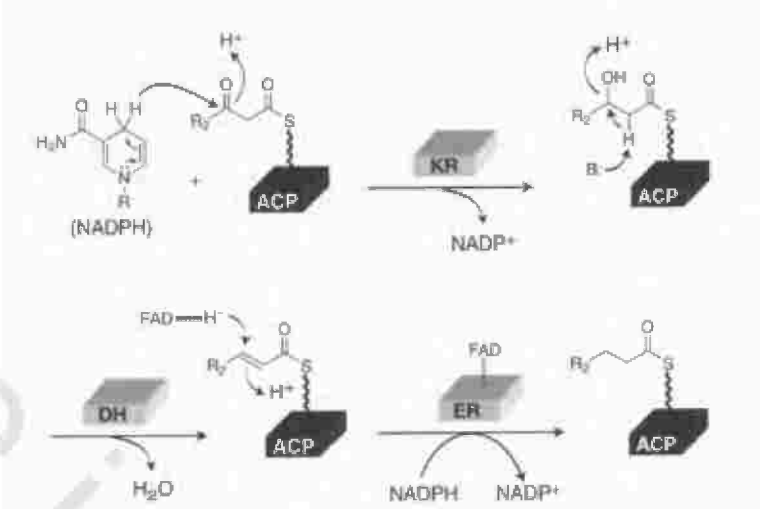



**الشكل (١٢,٥). تفاعلات ACP (A) في نوع I PKS وFAS، داخل كل وحدة قياسية، (B) في نوع PKS وFAS، بين الوحدات الفرعية المنفصلة.**




**الشكل (١٢,٦). أربع مراحل تكوين رابط C-C لخطوات إطالة السلسلة لتجميعات PKS وFAS: (A) تكوين مالونيل أو ميثيل مالونيل– ACP-*S*، (B) نزع الكربوكسيل لتوليد الكربون أليف النواة، (C) المانح acyl-*S*-Cys-KS، (D) المنتج *β*-keto-acyl-*S*-ACP.**

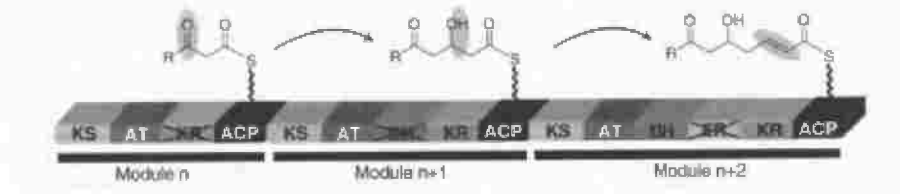
الخطوات الإنزيمية الثلاثة التالية، المقدمة في *cis* (النوع I) أو في *trans* (النوع II)، يتضمن صافي إختزال أربعة – إلكترون من *β*-keto كل الطريق إلى مجموعة بيتاميثيلين (*β*-methylene) في البناء الحيوي للحمض الدهني. وفي تحفيز FAS تأسست هذه لتحدث بواسطة الفعل التتابعي لحقول/الوحدات الفرعية كيتوريدكتيز ((ketoreductase (KR)، ديهيدراتيز ((dehydratase (DH)، وإينويل ريدكتيز ((enoyl- reductase (ER)، بالترتيب (الشكل ١٢,٧). يستعمل الحقل الحفّاز KR، NADPH ليختزل الكيتون إلى مستبدلات بيتا–هيدروكسي. وبالإمكان استخراج ألفا–هيدروجين الحامضي من *β*-OH-acyl-*S*-ACP بسهولة في الموقع النشط DH ليشرع في التخلص من مجموعة OH ينتج *αβ*-enoyl-*S*-ACP. ويمكن فيما بعد لهذه الرابطة المزدوجة المقترنة أن تختزل بواسطة إضافة بروتون–هيدريد من الإنزيم المشارك المختزل فلافين (flavin coenzyme)، $FADH^-$ في الموقع النشط لـ enoyl-*S*-ACP reductase، مع إضافة هيدريد إلى $C_\beta$ لينتج $C_\beta H_2$ $C_\alpha H_2$- المشبع بالكامل ذات اثنين – كربون وحدة باسطة.




**الشكل (١٢,٧). ثلاث–مراحل لإختزال أربع– إلكترون من مجموعة بيتا–كيتو: العمل التعاقبي لحقول KR,DH و ER.**

مع تسلسل عمل دورة الإطالة FAS كمرشد، بالإمكان تحليل دورات PKS بشكل مماثل. وتقدم الوحدة القياسية النمطية من النوع I المزيد من تنوع المجموعة الوظيفية في تراكيب المنتج النهائي بواسطة النضج غير الكامل لوحدات الإطالة عندما يكون حقل KR ,DH أو ER غير وظيفي. تحصل إطالة السلسلة، ولكن حالات الأكسدة الوسيطة تستمر ويمكن تحويلها إلى مصب الوحدة النمطية التالية. وكما يظهر في الشكل (١٢,٨) للثلاث وحدة قياسية الافتراضية نوع PKS I، هناك خلل في حقل KR للوحدة النمطية $n$ سوف يترك كربون بيتا في حالة أكسدة كيتو (keto ozidation state). وفي النمط $n + 1$ يترك الخلل عند الموقع النشط لحقل DH بيتا كربون للوحدة $C_2$ التي أُدخلت في تلك الدورة كبيتا —OH. وأخيراً، الخلل في حقل ER للنمط $n + 2$ سيسمح لـ $\alpha\beta$-ene بالبقاء. الفعل الحال للماء لحقل TE ليحرر سلسل أسيل ثمانية – كربون من ACP $_{n+2}$ سوف ينتج سلسلة بوليكيتيد العالية الوظيفة. وهكذا فإن الفرق الرئيس بين FAS وخط تجميع النوع PKS I هو خسارة الوظيفة في واحد أو أكثر من حقول التكيف (الخياطة) في النمط PKS المُعطى. وحيث ثلاث دورات من الإطالة بواسطة خط تجميع PKS سوف تنتج أوكتانويت (octanoate) المشبع بالكامل، المنتجات الطبيعية PKS قد أوقفت عند مراحل متوسطة من اختزال مجموعات بيتا–كيتو التي تنشأ في كل دورة تكثيف، وبذلك يسمح للكيمياء التالية وخواص التمييز الجزيئي لصنف هذا المنتج الطبيعي.

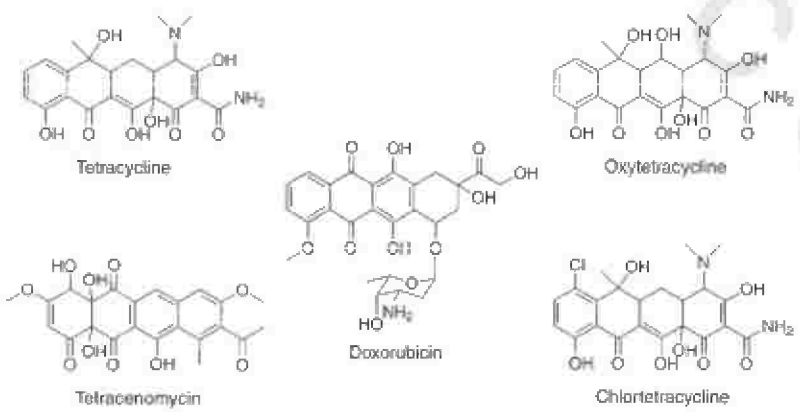
وبإمكان معقدات النوع PKS II أن تظهر كذلك تغييرات مثيرة في كل من حالات الأكسدة للوحدة الباسطة وعدد من التراكيب الحلقية عندما يطلق منتج بوليكيتيد النهائي. وكما سنلاحظ في القسم التالي، فإنه من المحتمل بأن تحدث تراكيب حلقية متعدِّدة من البوليكيتيد العطري من متوسطات بوليكيتيد بدون اختزال جوهري لمجموعات بيتا–كيتو المتعدِّدة في متوسطات acyl-*S*-ACP.



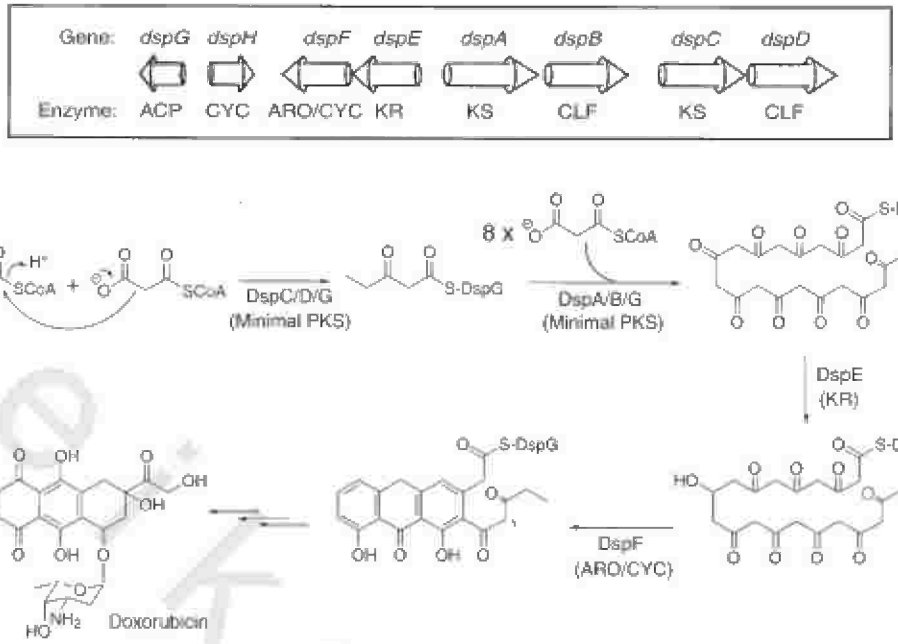

الشكل (١٢,٨). فرضية ضبط الأكسدة غير الكامل في ثلاث دورات من خط تجميع PKS.

## النوع II من تنظيم بوليكيتيد سينثازات: تتراسيكلين، تتراسينوميسين (tetracenomycin)، وكتل البناء الحيوي للدونوروبيسين وعمل سيكلازات (cyclases)

الحلقات الأربع لعائلة مضادّات تتراسيكين الحيوية، مثل أوكسيتتراسيكلين (oxytetracycline) وكلورتتراسيكلين (chlortetracycline) (الشكل ١٢,٩)، وكذلك تتراسينوميسين والمضاد الحيوي المضاد للورم دوكسوروبيسين (doxorubicin) (الشكل ١٢,٩) تنتج بواسطة النوع II بوليكيتيد سينثازات إضافة إلى بعض الإنزيمات العطرية أروماتازات (aromatases) وسيكلازات كذلك تظهر في الكتل (المجموعات) (الشكل ١٢,١٠) (انظر تشين ٢٠٠٠، للمرجع الأخير عن PKS العطرية). تختلف مجموعة أوكسيتتراسيكلين (oxytetracycline) عن تجميعة كانونيكال ( canonical assembly) بواسطة امتلاكها مجموعتين من الجينات، الأدنى الوحدات الفرعية الثلاث من PKS وهي $KS_\beta$ ، $KS_\alpha KS_\beta$ تعرف كذلك بالوحدات الفرعية CLF (chain length factor) (عنصر طول السلسلة)، وACP في ترادف، ومن ثم KP و أوماتيز ثنائي الوظيفة/ سيكلاز يبعد بعض 10 kb عنه (انظر بيتكوفيك وآخرون Petkovic *et al.*, 1999). النوع I PKS الأدنى في هذا وفي الأنظمة ذات العلاقة، مثال، البناء الحيوي لأكتينورودين (actinorhodin) بواسطة المتسلسلة كوليكولر (هوبوود Hopwood, 1997، خوسلا Khosla, 1997)، يُعتقد بأنه يستعمل زوج $KS_\alpha$ / $KS_\beta$ من الوحدات الفرعية كمثنوي وظيفي، ربما مع الوحدة الفرعية بيتا المختلة تحفيزياً التي تخدم جزئياً كـ CLF (عنصر طول السلسلة)، معدلةً عدد دورات مد السلسلة قبل حدوث التحليق (cyclization).

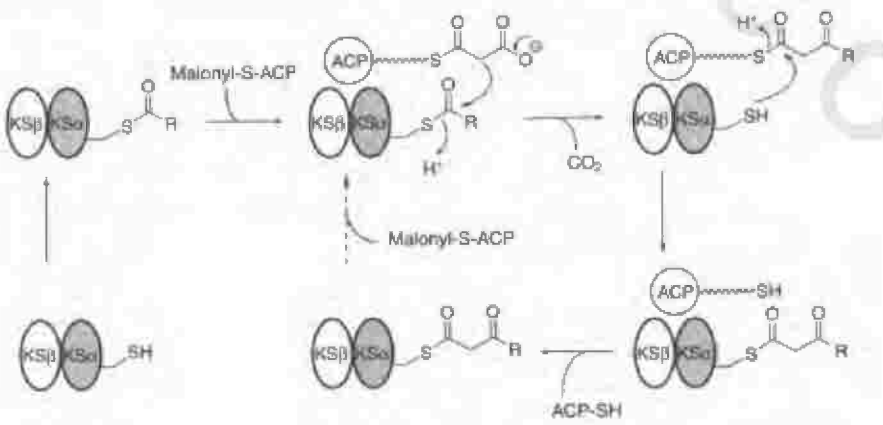



الشكل (١٢,٩). مضادّات بوليكيتيد تتراسيكلين العطرية الحيوية المتولدة بواسطة النوع PKS II: تتراسيكلين، أوكسيتتراسيكلين، كلورتتراسيكلين، تتراسينوميسين و دوكسوروبيسين.




**الشكل (١٢,١٠).** التنظيم الوحدات لـ PKS الذي ينتج مضاد تتراسيكين العطري دوكسوروبوسين.

يوفر الشكل الكامل (holo form) من HS-pant-ACP الثيول (thiol) حيث يتجمع مالونيل —*S*-ACP الأول بينما تُحمَل وحدة أسيل البادئة فوق الومقع النشط سيستين ثيول من الوحدة الفرعية $KS_\alpha$. بعد ذلك يحفز KS المؤسَل مالونيل ديكربوكسيليشن وينقل أسيل نحو انيون إينوليت (enolate anion) النامي لينتج *β*-keto-acyl-*S*-ACP ويجدد KS سيستين ثيوليت (KS cystein thiolate) لدورة الإطالة التالية (الشكل ١٢,١١). ومن الضروري نقل السلسلة ثانيةً نحو KS الموقع النشط سيستين لتسمح لتكرار آخر لتكوين رابط C-C المحفز هذا ودورة الإطالة (تظهر بواسطة إضافة مالونيل —*S*-ACP في وسط الشكل).

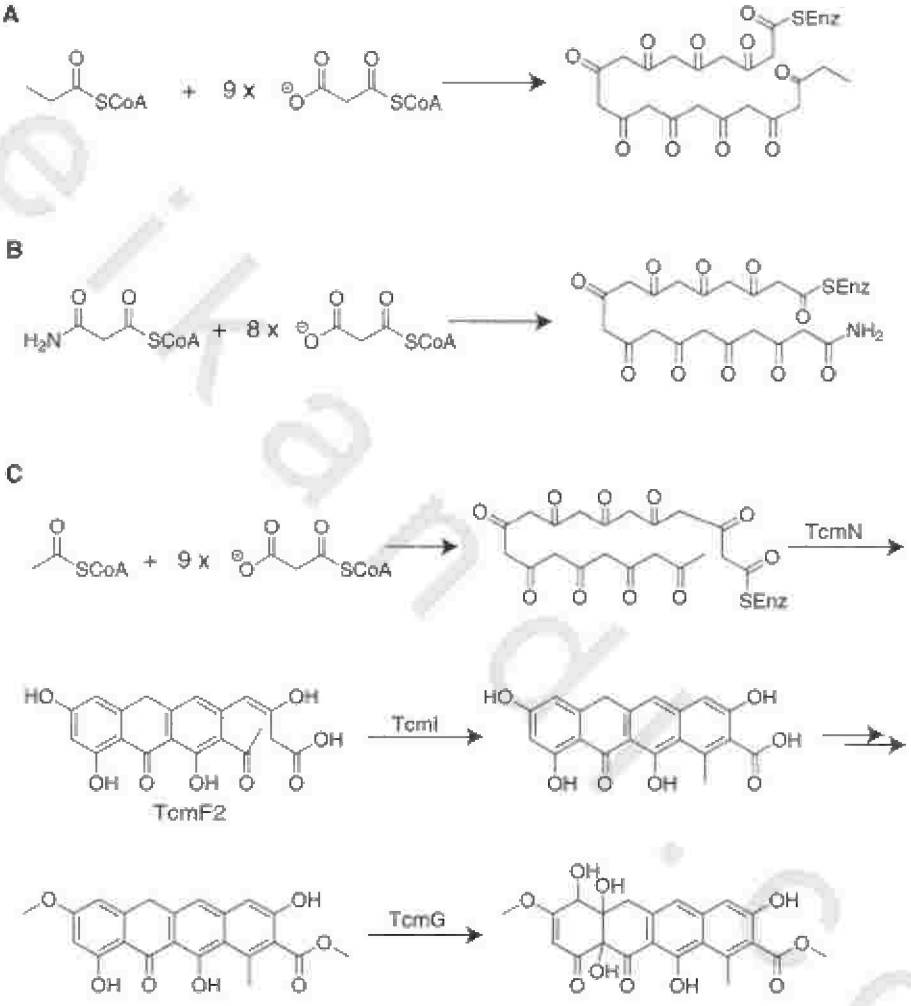



**الشكل (١٢,١١).** دورات إطالة السلسلة المتكررة لنوع PKS II و FAS.

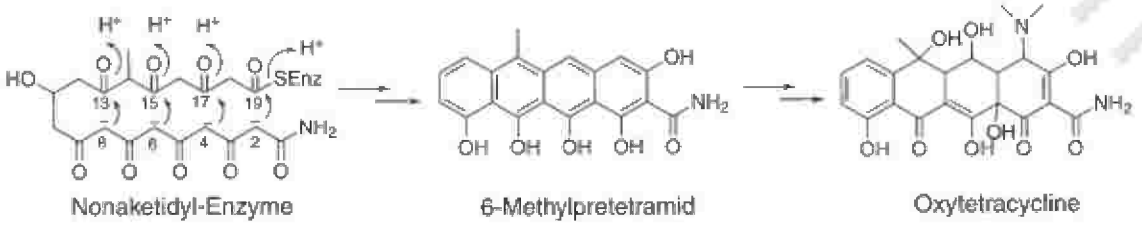
في البناء الحيوي لدونوروبيسين أو دوكسوروبيسين، الوحدة البادئة هي بوريونيل CoA (propionyl-CoA) وجميع الوحدات الباسطة هي مالونيل –CoA. وبعد تسع دورات تكثيف يبنى ديكاكيتيديل– *S*-ACP (decaketidyl-*S*-ACP) (الشكل A١٢.١٢)، حيث يعتقد بأن جميع مجموعات بيتاكيتون العشرة تبقى بدون تعديل اختزالي في سلسلة أسيل. وبشكل مشابه، يستعمل أوكسيتتراسيكلين سينثيتاز نصف الأميد التابع مالونيل -CoA، مالونواميل -CoA، كوحدة بادئة وثمانية مالونيل -CoA كوحدات باسطة لبناء ١٩-كربون-سلسلة نوناكيتيديل*S*-ACP (nonaketidyl-*S*-ACP) كسلسلة أسيل كاملة الطول قبل التحليق (الشكل B ١٢.١٢). الوحدة البادئة تتراسينوميسين هي أسيتيل -CoA، وبعد إضافة تسع وحدات مالونيل -CoA، يجري ٢٠-كربون نوناكيتيديل إنزيم *S*- (20-carbon nonaketidyl-*S* enzyme) (الشكل C ١٢.١٢) دورتان من إغلاق الحلقة متواسطة – بسيكليز (cyclase-mediated). سيكليز الأول، TcmN، يغلق ثلاث حلقات ليصنع TcmF2، ويغلق TcmI الحلقة الأخيرة ليعطي نظام الحلقات – الأربع المدمجة المشابهة لهيكل تتراسيكلين. الإنزيمات المخيطة لبعد -PKS/سيكليز تؤمثل أحد مجموعات فينوليك OH ومجموعة COOH ومن ثم تستعمل إنزيم اكسيجينيز (oxygenase)، TcmG، لتدخل مجموعات الثلاث هيدروكسيل في تتراسينوميسين C، الذي ربما ينشأ من الأكسجة – الأحادية (mono-oxygenation) للحلقة A ومن ثم epoxidation وفتح التحليل المائي لإيبوكسيد (epoxide) عند وصلة (مفصل) حلقة A / B (انظر هتشينسون Hutchinson, 1997، للمراجعة) (الشكل C ١٢.١٢).

عندما تطرد جينات أروماتيز وسيكليز (aromatase and cyclase genes) في كتل النوع PKS II هذه، مختلة، أو أن تكون غائبة، ثم تبدأ أنماط التحليق الشاذة بمجرد أن إنزيمات بوليكيتونيك أسيل (polyketonic acyl enzymes) الفعالة تتكثف غير إنزيمياً لمختلف المنتجات الحلقية التي تُطلق من هيكل ACP. لا يعطي أحد من الطرق غير الإنزيمية أنظمة تتراسيكلين (tetracyclic systems) الطبيعية، مما يدل على أن سيكلازات مهم في كلا الوضعين المشكل الثنية المنتج لسلسلة بوليكيتونيك أسيّل الحلقية ومن ثم تحفيز التحليق الموضعي النوعي والتجفافات إلى أنماط اتصال المنتج الطبيعي. تحتوي بعض كتل النوع II على سيكلازات متعدد، مثال، TcmN و TcmI في كتلة تتراسينوميسين (الشكل ١٢.١٢) و DpsF و DpsH في كتلة دونوروبوسين (الشكل ١٢.١٠ )، ويفترض بأنها تميز مختلف التراكيب اللاحلقية التحتية وتحفز عمليات التحليق جزئية (انظر هتشينسون Hutchinson, 1997، للمراجعة). الخطوط العريضة لإستراتيجيات تكوين رابط C-C ونقاط التدوير غير واضحة، ولكن التوقيت وتفاصيل الخطوات ليست مدروسة جيداً إلى الآن. وعلى سبيل المثال، في تكوين الأربع حلقات لهيكل تتراسيكلين، يفترض بأن يطوي إنزيم نوناكيتيديل في القالب مثل روابط كاربون-كاربون أُنشئت بين $C_{19}$,$C_4$ و$C_{17}$، $C_{15}$ و$C_6$، و$C_8$ و $C_{13}$ (الشكل ١٢.١٣)، مع $C_2$,$C_4$,$C_6$ و $C_8$ تعمل كمكافئات لكاربانيون (أشكال رنين إينوليت) (enolate resonance forms) لمهاجمة الكيتونز عند $C_{19}$,$C_{17}$ و$C_{13}$، بالترتيب، لتوليد نظام الأربع-حلقات المندمج العطري (٦- ميثيل بريتيترامايد) (6-methylpretetramid).

يجب أن تحدث التجفافات الآحقة والتعطير للحلقة على اليد اليسرى، عمليات إضافة الهيدروكسيل (hydroxylations)، ضبط الأكسدة والاختزال، الأمْيَنَة (amination)، والمَثْيَلة الثنائية (dimethylation) عن طريق سلسلة من الإنزيمات الحائكة لتنتج أوكسيتتراسيكلين النهائي من طليعة هذا التتراسيكلين (هتشينسون وفوجي Huchinson and Fujii, 1995).

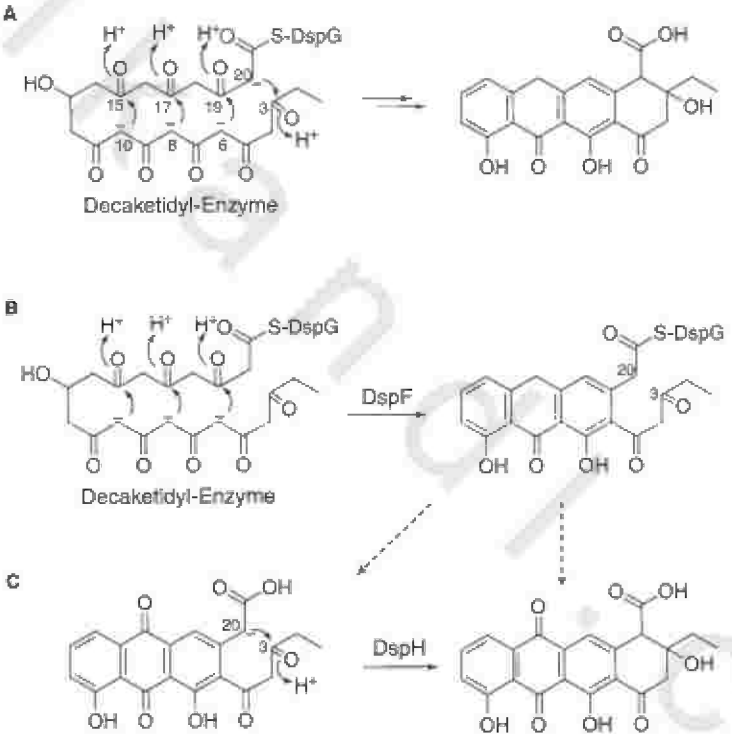



الشكل (١٢,١٢). متواسطات إنزيم بوليكيتيد-S: (A) دونوروبوسين سينثياز، (B) تتراسيكلين سينثياز، (C) تتراسينوميسين سينثياز.




الشكل (١٢,١٣). تفاعلات تكوين- الرابط في بوليكيتيد-S – تتراسيكلين سينثيزإنزيم أسيل.

في البناء الحيوي لدوكسوروبوسين يوجد اثنان من الكربونات الإضافية في طليعة ٢١- كربون ديكاكيتيديل-S-ACP (21-carbon decaketidyl-*S*-ACP) اللا حلقي، وبينما يجري له إغلاق للحلقات الأربع متواسط بسيكليز، يكون الوصل المؤسس مميز (الشكل ١٢,١٤ A)، مما يفترض هيئة مطوية مختلفة لسلسلة أسيل الآحلقية هذه. تحرض مكافئات الكاربانيون عند $C_3,C_6,C_8$ و $C_{10}$ لتهاجم مع بموضعية نوعية الكيتونات الأربع عند $C_{20},C_{19},C_{17}$ و $C_{15}$، بالترتيب، بينما تقمع جميع تفاعل التحليقات الجانبية غير الإنزيمية. ويبدو أن مُحلِقة DpsF (DpsF cyclase) يصنع الحلقات الثلاث الأولى (الشكل ١٢,١٤ B) ربما قبل فصل الارتباط لسلسلة أسيل من هيكل ACP. وعليه، DpsH (الشكل ١٢,١٤ C) ربما يُحلّق الحلقة الأخيرة، صانعاً بذلك الوصيلة $C_3$-$C_{20}$ ومطلقاً سلسلة أسيل من ACP.




**الشكل (١٢,١٤). البناء الحيوي لدوكسوروبيسين: (A) خطوات تكوين رابط C-C من قالب الإنزيم المرتبط، (B) تحليق الثلاث حلقات المتواسط بـ DpsF، (C) عمل DpsH وتفاعلات بعد حياكة سينثياز (postsynthase tailoring reactions).**

وإكمال المضاد الحيوي دوكسوروبوسين المضاد للورم يشمل الأكسجة عند $C_{16}$ و $C_{18}$ ليحدث نظام كوينون-هيدروكسيكوينون (quinone-hydroxyquinone system) الرديف في الحلقتين الوسطيين وارتباط بالغليكوزيل (glycosylation) لـ OH عند $C_9$ مع سكر أمينوديوكسي دونوسامين (aminodeoxy sugar daunosamine) غير العادي (هتشينسون Hutchinson, 1997) بواسطة الإنزيم الحائك المُرمِز بواسطة الجينات المجاورة لكتلة البناء الحيوي.

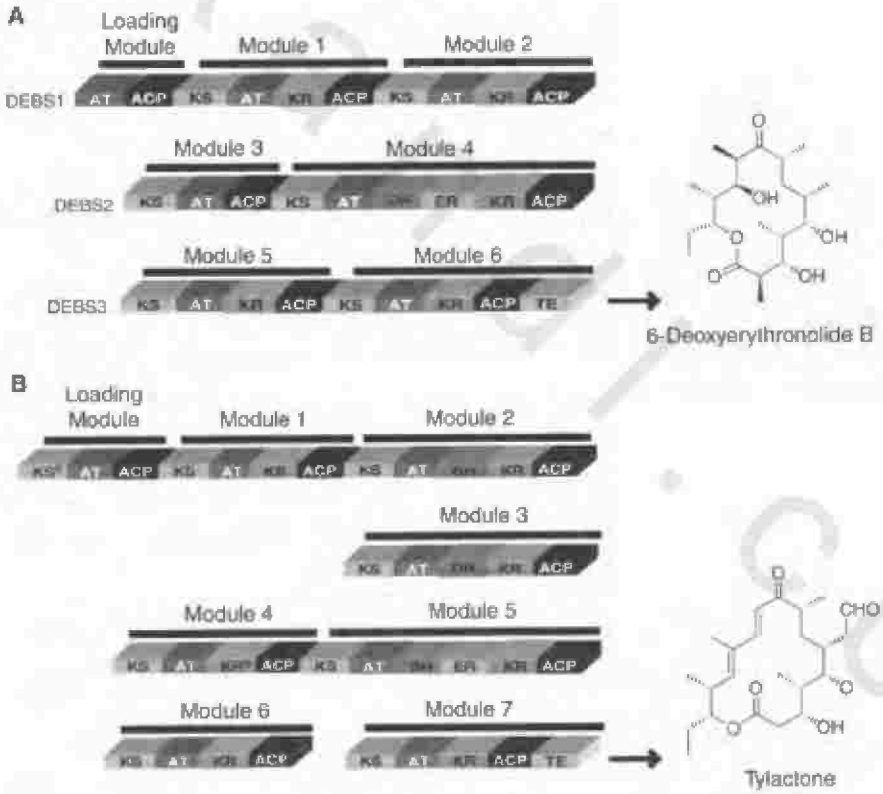
بينما الوحدات الفرعية الدنيا للنوع PKS II تبدو أن تكون $KS_{\alpha}KS_{\beta}$ و ACP، فلكتلة دوكسوروبيسين مجموعتان من $KS_{\alpha}$ و $KS_{\beta}$، DpsC/ DpsD و DpsA/ DpsB (الشكل ١٢.١٠)، والتي يُعتقد بأنها تعمل دورة التكثيف الأولى (C/D) ومن ثم الدورات الثمانية التالية (A/B). وعندما ترمَز الوحدات الفرعية KR في الكتلة، كما في كتل دوكسوروبوسين وتتراسيكلين، سوف يعمل KRs بنوعية موضعية وتجسمية. في مسار دوكسوروبوسين، يعتقد بأن اختزال كيتون $C_{13}$ إلى $C_{13}$-OH يحدث قبل التحليق، وربما يكون مهماً لقالب السكان، التحليق الموجه، و/أو التجفاف والتعطير التالي. وكيف تُحمى سلسلة البوليكيتيد النامية والمحتوية على أسيل وتُفصل بمجرد نموها على الوحدة الفرعية ACP لم يفهم جيداً ولكن ستكون مهمة لإعادة التصميم المنطقي للتحليق في جهود البناء الحيوي التوافقية للنوع PKS II. وبالإمكان صنع هجين النوع II بوليكيتيد بواسطة تبادل قلب وحدات PKS الفرعية والإنزيمات المحلّقة (سيكلازات) (انظر خوسلا Khosla, 1997).

## النوع I بوليكيتيد سينثازات: خطوط التجميع النمطية لإريثروميسين وتيلوسين

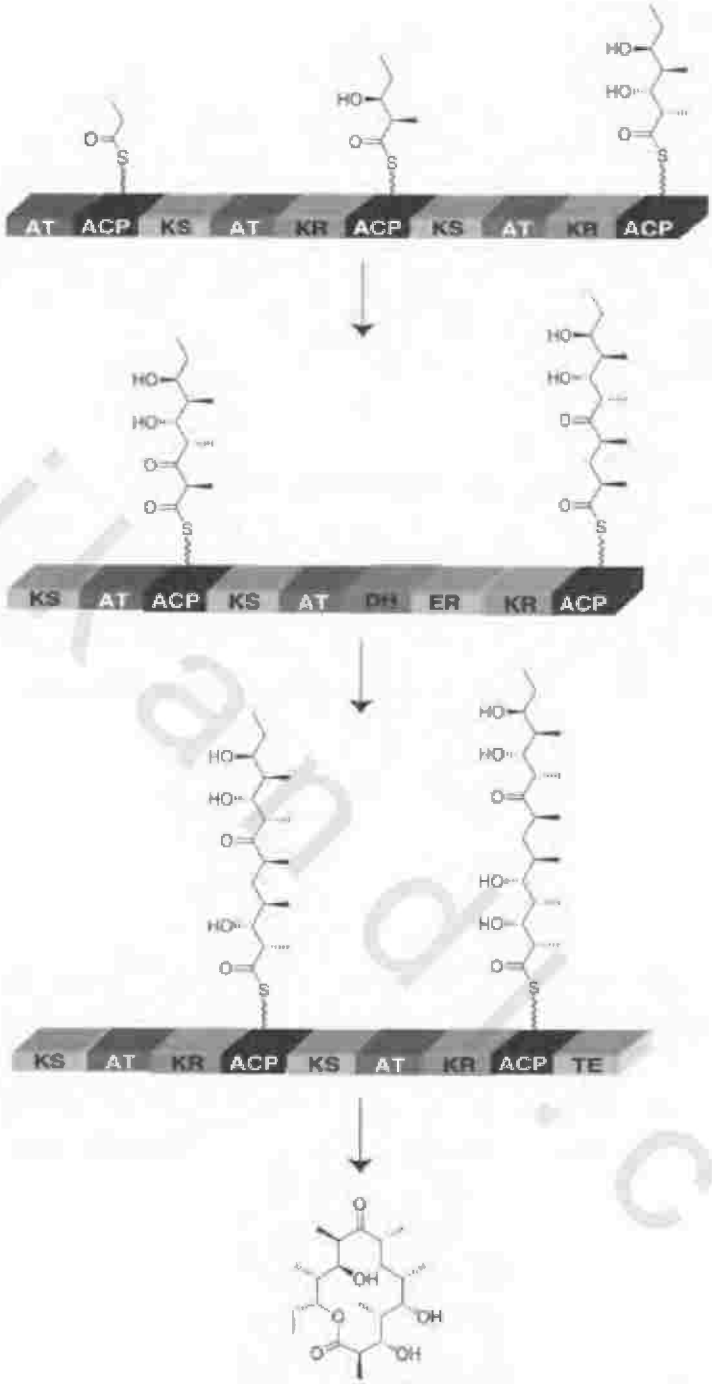
على النقيض من منطق الوحدة الفرعية المنفصل لمعقدات النوع PKS II و FAS، النوع PKS I و FAS هما نموذجان، مع العديد من الحقول المحفزة والبروتين الناقل متصلة مع بعضها ببعض في داخل الوحدات الفرعية العالية-الوزن-الجزيئي. الميكروليدز من صنف إريثروميسين يحتوي على العضوية ١٤- حلقات ماكرولاكتون في حين أن تيلوسين له ١٦- عضو حلقات (الشكل ١٢.١٥)، وهي تعكس ست وسبع دورات إطالة، بالترتيب. وكان تنظيم النموذج البدئي (prototypic organization) لميكروليد سينثازات قد كُشف عندما تسلسلت الجينات التي ترمَز أجليكون ديوكسي إريثرونوليد بي (aglycone deoxyerythronolide B) (DEB) (كورتيز وآخرون Cortes *et al.*, 1990، دونادیو وآخرون Donadio *et al.*, 1991) وكشف كذلك عن ثلاثة بوليبّتيدات في المدى الوزن الجزيئي 200-kDa والتي تشكل معاً النشاط المحفز لـ DEB سينثياز (DEBs) محولاً البادئ بروبيونيل- CoA (propionyl-CoA) وجزيئات ٦- ميثيل مالونيل- CoA (6-methylemalonyl-CoA) الباسطة إلى DEB (الشكل ١٢.١٥ A). أظهر تفتيش الوحدات الفرعية DEBS1,DEBS2 وDEBS3، أن كل واحدة تحتوي على وحدات (نمائط) (modules) اثنين للإطالة (لست دورات من إضافات ميثيل مالونيل)، على أن يبدأ DEBS1 مع مزيد من تحميل الوحدة النمطية، وأن DEBS3 له حقل TE لإنهاء السلسلة عند نهايتها C (C terminus). ووحدة التحميل عند بداية الطرف-N (N-terminal) لـ DEBS1 لها AT وحقل HS-ACP لتثبيت وحدة بروبيونيل البادئة كروبيونيل -ACP-*S*.

الحقول المركزية في نوع النمط PKS I التي تشتغل في إطالة السلسلة هي KS,AT و ACP، عادة ما توضع في ذلك الترتيب، مع AT الذي يُحمل مالونيل أو مجموعة ميثيل مالونيل من مادة acyl-CoA على holo HS-ACP. وفي

DEBS1,2,3، الحقول AT في الأنماط ١ إلى ٦ هي خاصة لميثيل مالونيل. والموقع النشط KS سيستين ثيول يؤسل – ذاتياً (يحمضل) (self-acylayes) مع مجموعة أسيل المانحة، بينما ميثيل مالونيل– ACP-*S* على ديكربوكسيليشن هي الكاربون أليف النواة لتكوين *β*-keto-acyl-*S*-ACP، نفس المنطق كما رأينا أعلاه للنوع II لتكوينات الرابط C-C. وخلافاً لمنتجات بوليكيتيد العطرية الطبيعية، التي تمر بسلسلة من التحليقات (cyclizations) لتكوّن أنظمة– حلقة مندمجة عن طريق مجموعات بوليكيتونيك (polyketonic groups) في سلسلة أسيل الكاملة الطول، وربما تختزل مجموعة بيتا–كيتون في كل دورة لنوع PKS I، بواسطة حقول إضافية. وهكذا فالحقول المركزية KS,AT و ACP للنمط PKS ربما تتحد (توصل) بواسطة حقل KR (الأنماط ١ و٢)، الحقل DH (النمط ٤)، والحقل ER (النمط ٤). وبما أن الأنماط ١ ٢ تملك حقول KR، ولكن ليس حقول DH أو ER، فسلسلة أسيل كيتيدالثلاثية (triketide acyl cahin) التي تتراكم على $ACP_2$ من DEBS1 تمتلك ستبدلات $C_3$ و $C_5$-OH (الشكل ١٢,١٦).




**الشكل (١٢,١٥). التنظيم النمطي لسينثازات لإريثروميسين وتيلوسين: (A) خط التجميع لإريثروميسين أجليكون-6- DEB، (B) خط التجميع للعضو- 16 أجليكون تيلاكتون.**

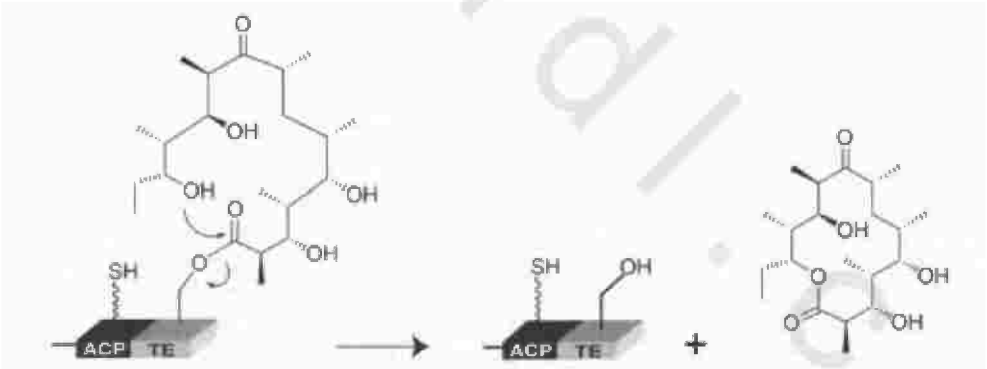



**الشكل (١٢,١٦). سلاسل أسيل متوسطة – الطول التي تتراكم على خط تجميع DEBS.**

وتتحرك سلسلة أسيّل النامية من DEBS1 إلى الوحدة الفرعية DEBS2، تمر على طول الأنماط ٣ و ٤، وتصل إلى محطة الإرساء HS-ACP عند نهاية DEBS2. ويملك النمط ٣ فقط القلب (المركز) KS-AT-ACP، وهكذا يظل الكيتون باقياً، بينما يملك النمط ٤ حقل الثالوث DH-ER-KR، وبذلك فبينا كيتون التي أُدخلت حديثاً تختزل

على كل الطريق نحو $\beta$-$CH_2$. وفي DEBS3 النمط ٥ والنمط ٦ كل منهما له حقل KR فقط كحقل اختياري، وهكذا فمرة أخرى تبقى مجموعات $\beta$-OH في دورات الإطالة الاثنين هذه. من الطلب والاستبدال للحقول الثمانية والعشرين (١٠ في DEBS1، ٩ في DEBS2، ٩ في DEBS3) في خط تجميع الوحدات الفرعية-الثلاث، يمكن لحد التنبؤ بالطول والتوظيف لكل كربون في ١٥-كربون-سلسلة أسيل الآحلقية (15-carbon-long acyclic acyl chain) وأنماط الأمثلة عند $C_{2,4,6,8,10,12}$ من مجموعات ميثيل مالونيل الستة. الكيمياء التجسمية لمستبدلات هيدروكسي الأربعة تراقب بواسطة الكيمياء التجسمية لـ KR في الأنماط ١ و ٢ و٥ و٦.

المهمة المتبقية لـ DEB سينثيتاز هي لفصل مجموعة أسيل كاملة - الطول الناضجة والتي رُسَيت عند محطة الطريق السابعة وACP الأكثر طرفية، في النمط ٦. وفقط عند مصب ذلك الـ ACP يوجد الحقل الثامن والعشرون والأخير لخط التجميع، الحقل TE. وهو يعمل كإنزيم مُحلِق (cyclase)، يُحفز القبض بين الجزيئي لثيوإستر كربونيل $C_1$ ($C_1$ thioester carbonyl) بواسطة مجموعة $C_{13}$-OH، منتجاً ١٤-عضو ماكرولاكتون ٦- DEB بمجرد توليد HS- ACP الحر وأن يصبح خط تجميع DEBS طليقاً لدورة محفزة أخرى (الشكل ١٢,١٧). سوف نلاحظ أدناه خطوات الحياكة الإنزيمية الآحقة لـ ٦- ديوكسي إريثرونوليد (6-deoxyerythronolide) الخالية من نشاط المضاد الحيوي، لتحول إلى المضاد الحيوي المؤكسج والكربوهيدراتي (oxygenate and glycosylated antibiotic).

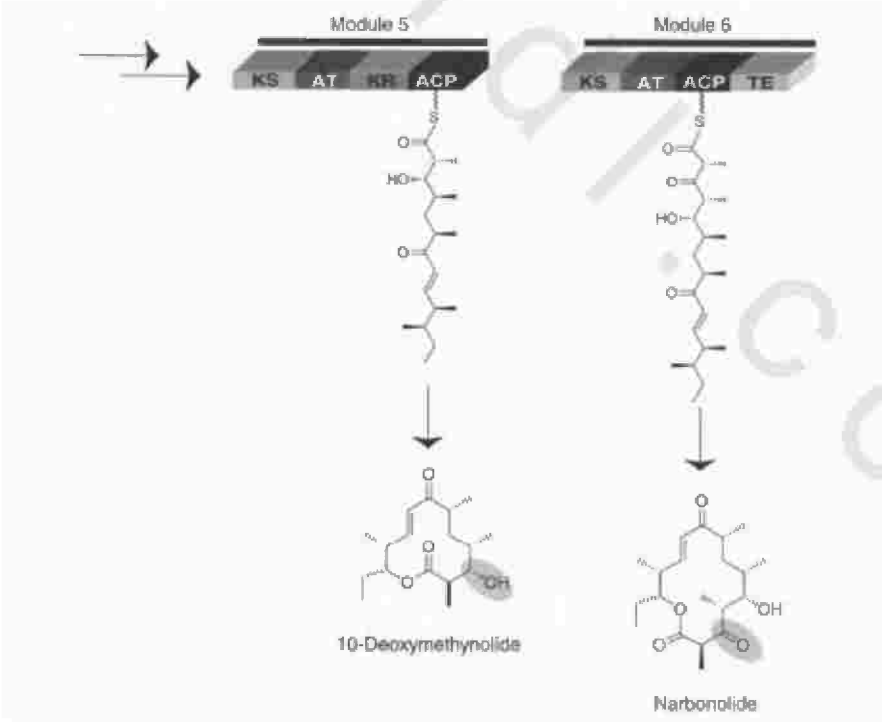



**الشكل (١٢,١٧). إطلاق سلسلة أسيل الناضجة من النمط الأخير بواسطة حقل DEBS3 TE الذي يعمل كمحلِق لينتج ماكرولاكتون 6- DEB.**

هناك اهتمام في هندسة خطوط تجميع PKS ليمنح حلقات ماكرولاكتون من أحجام مختلفة. في بيكروميسين PKS (pikromyci PKS) (إكزو وشيرمان Xue and Sherman, 2001)، لوحظ إطلاق كل من ١٤-عضو ماكرولاكتون الطبيعي (ناربونوليد) (narbonolide) و١٢-عضو لاكتون الأقصر (١٠-ديوكسي ميثينوليد) (10-deoxymethynolide) (الشكل ١٢,١٨)، مما يعكس المنافسة بين التحليق من النمط ٦ (إلى الحلقة ١٤) والتحليق المبكر للسلسلة النامية على النمط ٥ (الحلقة ١٢). والتمييز الإضافي بين الحلقة-١٢ والحلقة-١٤ لاكتونات هي أن النمط الخير، الذي

يثبت الكربون ١ و ٢ ، لا يملك KR وبذلك يترك $C_3$ كيتا لاكتون غير مختزل الذي يصبح $C_3$ كيتون في ناربونوليد وفي منتجه١٠-هيدروكسي-٥-ديسوسامينيل (10-hydroxy-5-desosaminyl) ، بيكروميسين. وبقاء هذه المجموعة ٣- كيتو يجعل بيكروميسين كيتوليد طبيعي ، كمناظرة للميكروليدات واسعة-المدى في التطوُّر السريري (الشكل ١٠،٤). ولا يُحرض بيكروميسين ، Erm rRNA methyltransferases وبذلك لا يُحرض النمط الظاهري لمقاومة ماكروليد-لينكوساميد-ستربتوجرامين B (الفصل العاشر) (انظر إكزو وشيرمان Xue and Sherman, 2001).

وبشكل مماثل ، فطفرة الفطر سكاروبوليسبورا إريثري *(Saccharopolyspora erythrae)* وُجِد أنها تصنع بعض حلقة منتج العضو-١٦ جنباً إلى جنب مع الحلقة-١٤ ديوكسي إريثرونوليد B في الطفرة. ويعزى دور دورة الإطالة الإضافية إلى النقل البطيء لسلسلة النامية من النمط ٤ إلى النمط ٥ ، مما يتيح وقتاً لإطالة إضافية على النمط ٤ (ويليكنسون وآخرون Wilkinson *et al.*, 2000). وإذا كان بالإمكان هندسة مثل هذه التفاعلات الجانبية لتصبح تدفقات رئيسة للمنتجات مازال يتعين تحديده. إدراج نمط PKS من راباميسين سينثاز (rapamycin synthase) إلى داخل DEBS1 لصنع الثلاث – أنماط الوحدة الفرعية الباسطة ، يتبعها الإظهار في *S.erythrae* أدى إلى إنتاج أوكتاكيتيد (octaketide) مع الحلقة العضوية -١٦ ، وإن كان عند كفاءة ٣-٥ ٪ مقارنة بمستويات بوليكيتيد الطبيعية من نوع DEBS1-3- البري (روي وآخرون Rowe *et al.*, 2001).






**الشكل (١٢،١٨). المنافسة على مقاسات حلقة ماكرولاكتون المختلفة في خط تجميع بيكروميسين: حلقة-١٦ ناربونوليد وحلقة-١٢ ١٠- ديوكسيميثينوليد بواسطة التحليق من النمط ٥ أو من النمط ٦، لاحظ وجود مجموعة $C_3$-keto في بيكروميسين.**

لاحظ بأنه على النقيض من نوناكيتيديل–ACP-*S* (nonaketidyl-*S*-ACP) وديكاكيتيديل– ACP-*S* (decaketidyl-*S*-ACP) إنزيمات أسيل في تتراسيكلين ودوكسوروبوسين سينثازات، حيث تتراكم ثمانية وتسعة كيتونات، غير مختزلة، خلال دورات إطالة السلسلة، يملك DEBS كامل – الطول السباعي هيبتاكيتيديل (heptaketidyl-acyl-*S*-ACP$_7$) كيتون واحد فقط، مخفضاً بشكل كبير خيارات إقتران كليسن (Claisen) ومسارات التحليق العابر الحلقي (transannular cyclization pathways). الحقول الاختيارية KR,DH وER في هذا وغيره من خطوط تجميع PKS النموذجية، التي تعمل في *cis* بطريقة اقتران محكمة، لتعيد مسار مصير سلاسل أسيل نحو التحليل المائي أو macrolactonization (الشكل ١٢,١٧ و ١٢,١٨) بدلاً من تشكيلات حلقة كربون الحلقية (carbocyclic ring).

والنقيض الثاني بين النوع I والنوع II من PKSs هو عدد حقول ACP وأنماط تبديل مكان السلسلة النامية. في النوع II FASs و PKSs، تستعمل وحدة فرعية واحدة من ACP وسلسلة بيتا – كيتو أسيل النامية التي تنتج في كل دورة تكثيف/إطالة، يبدل مكانها ثانية إلى النشط KS الموقع– النشط سيستين لتُستعمل كمانح في الدورة التالية (الشكل ١٢,١١).

وسلسلة أسيل النامية هي دائماً على KS الموقع– النشط سيستين ثيول عندما تعمل كمانح لدورة الإطالة التالية و (ميثيل) مالونيل –ACP-*S* هو دائماً الكربون أليف النواة في نزع الكربوكسيل. وفي النوع PKS I النموذجي، يوجد واحد HS—ACP لكل نمط وتنقل السلسلة النامية غير اتجاهي من النهاية –N إلى النهاية –C خلال شلال من متواسطات acyl-*S*-ACP (الشكل ١٢,١٦). ويعمل (ميثيل) مالونيل– ACP-*S* ثانيةً ككربون أليف النواة تحت KS – المتواسط نزع الكربوكسيل.

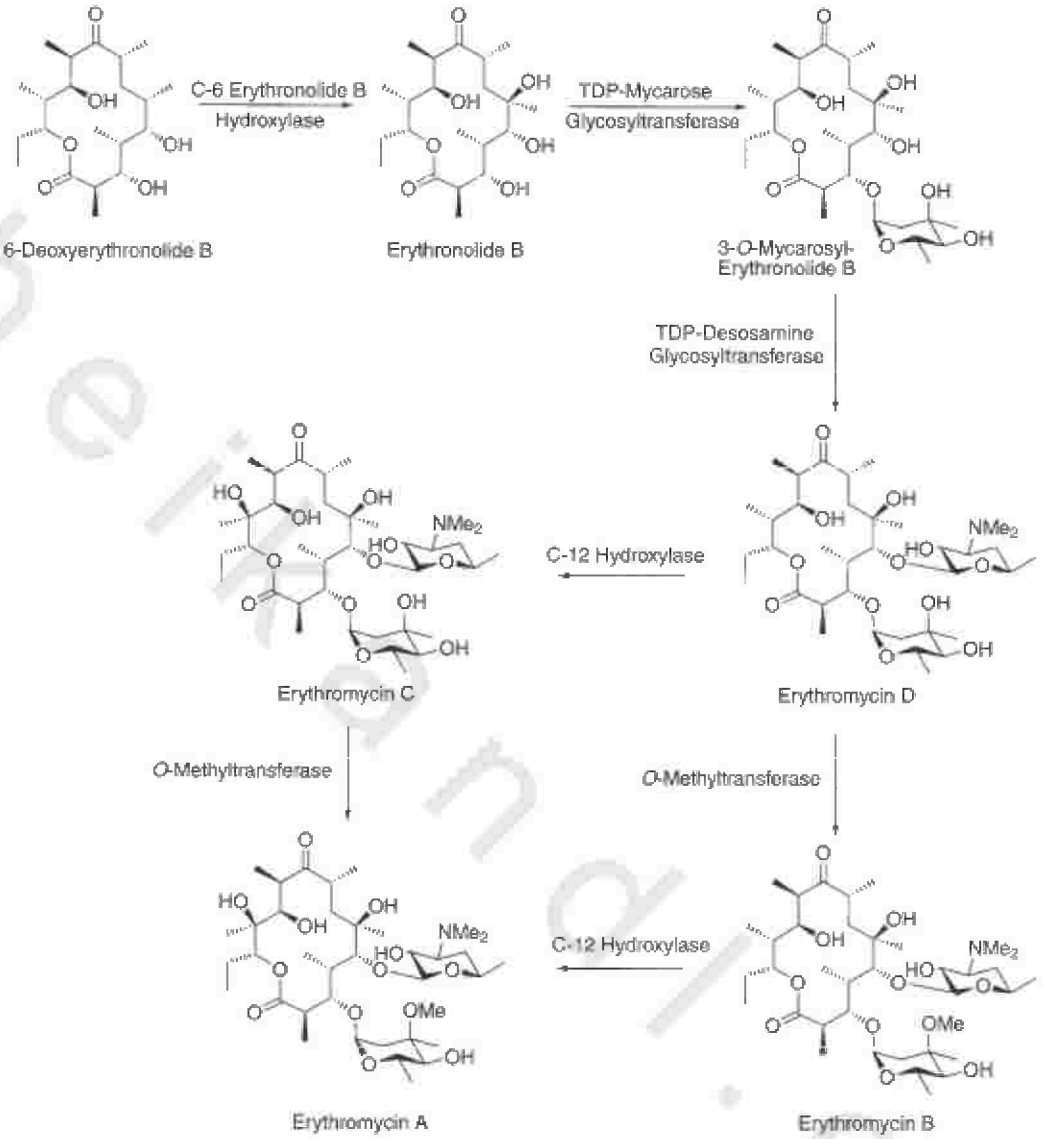
### التعديلات بعد – خط – التجميع: أكسيجينازات الأحادية (monooxygenases) وغليكوزيل ترانسفيرازات (glycosyl transferases)

كما لاحظنا في الفصل الرابع، العديد من مضادّات ماكروليد الحيوية هي كربوهيدراتية (غليكوزيليتيد) لتوفر تفاعلات رابطة الهيدروجين مع إبراز الريبوسوم 23S rRNA، بواسطة مخالطات سكر ديسوسامين (desosamine sugar) من إريثروميسين إلى $A_{2058}$ (الشكل ٤,٥). وفي الحقيقة، فتفاعلات الحياكة بعد – خط – التجميع الأكثر شيوعاً للبوليكيتيدات التي صنعت كل من النوع I والنوع II من PKSs هي الأكسجة، التسكير، وأمثلة الذرات المتغايرة. ولقد لاحظنا الميثلة الثنائية (dimethylation) والأكسجة الثلاثية (trioxygenation) لتنهي مسار تتراسينوميسين (tetracenomycin) في نوع نظم II السابقة الذكر.

في ميثلات (methylations) – بعد – خط – التجميع، يستعمل إس– أدينوسيلميثيونين (*S*-adenosylmethionine) (SAM) كمادة مشاركة مانحة للميثيل، التي توفر $CH_3^+$ متكافئ للنيتروجين، الأكسجين الليف النواة، أو ذرة كربون (كاربانيون) في منتج بوليكيتيد الناشئ. وبعض عمليات ميثلات C (C methylations) عن طريق SAM تحدث بينما السلسلة النامية ما تزال على خط تجميع PKS.

في نضوج 6-DEB إلى إريثروميسين A توجد خمس خطوات إنزيمية: إضافة الهيدروكسيل مرتين عند $C_6$( EryF) و$C_{12}$ ( EryK)، تفاعلين لغليكوزيلترانسفيرازات التي تركّب L- ميكاروز ((L-mycarose (EryBIV) عند $C_3$-OH لماكرولاكتون لينتج ٣–ألفا–ميكاروسيلإريثرونوليد B (3-α-mycarosylerythronolide B) ومن ثم D- ديسوسامين (D-desosamine) (EryCII) عند $C_5$-OH لينتج إريثروميسين D. وأخيراً مثيلة O (O methylation) (EryG) عند 3-OH لسكر ميكاروسيل (mycarosyl sugar) يكمل البناء الحيوي لإريثروميسين A (الشكل ١٢.١٩) (كاتز Katz, 1997). يعمل EryF هيدروكسيلاز hydroxylase (EryF) على 6-DEB في حين يعمل مونوكسيجينيز EryK (monooxygenase EryK) عند $C_{12}$ فقط بعد إضافة كلا السكرين. وكل هيدروكسيلاز يعدُّ عضواً في عائلة سيتوكروم P450 مونوأكسيجينيز المحتوي على–الهيم (مركب البورفورين الحديدي) (heme-containing cytochrome P450 monooxygenase)، نموذجياً للعديد من محفزات أكسجة المضاد الحيوي. والجينات الخمسة أعلاه لإنزيمات الحياكة هذه توجد في مجموعة جين البناء الحيوي لإريثروميسين، المشيرة إلى الوظيفة الأيضية المكرسة لها، وتمكن على التنظيم المنسق. في بيكروميسين، حيث الموضع–٣ هو الكيتون، لا يوجد ارتباط بالغليكوزيل عند المكان. ويوجد فقط إنزيمان للنضوج في المجموعة: سيتكروم P450 PikK وهو ١٠–هيدروكسيلاز وديسوسامينيل ترانسفيراز desosaminyltransferase (إكزو وشيرمان Xue and Sherman, 2001). وفي الكيتوليدات الأخرى، مجموعة واسعة من كيمياء بعد – التجميع المؤكسدة ستتبعها، وتشمل اقتران الحلقة العطرية والفينوليك وعمليات توليد الملح (halogenations).

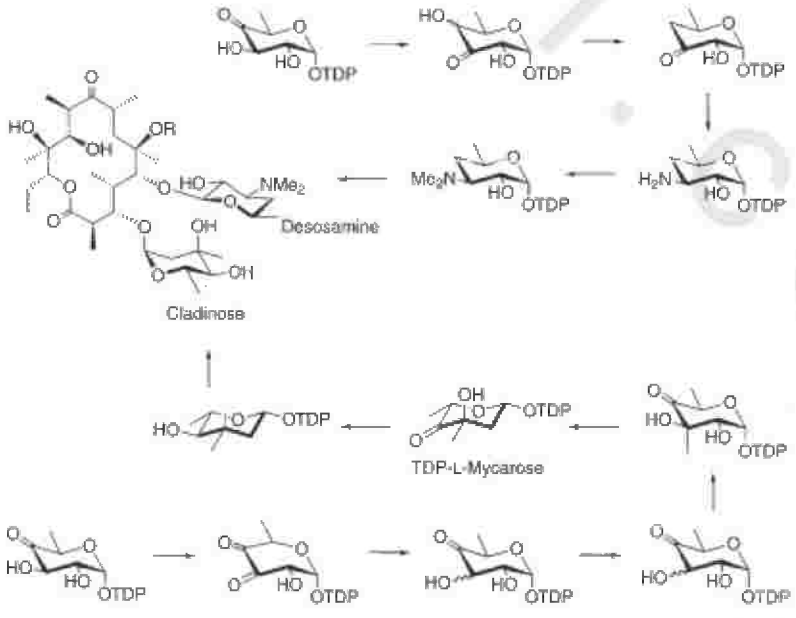
يتطلب وجود السكر على حلقات ماكرولاكتون لنشاط المضاد الحيوي كنتيجة لتوفير محددات رئيسة للربط لتمييز 23S rRNA على الوحدة الفرعية للريبوسوم 50S. وبشكل مماثل، في مسار دونوروبوسين/دوكسوروبوسين، يعدُّ سكر L- دونوسامين (L-daunosamine sugar) (الشكل ١٢.٩) العنصر الأساسي للفعاليّة الحيوية. وتلتصق السكريات بمضادّات البوليكيتيد هذه وكذلك بالمضادّات الحيوي المستندة على – البيْتيد التي شرحت في الفصل التالي التي غالباً ما تكون سكريات ديوكسي و / أو أمينو غير عادية والتي توجد فقط كمكونات للمضادّات الحيوي (ليو وثورسون Liu and Thorson, 1994). وبدورها، الجينات التي ترمّز بنائها الحيوي توجد كذلك متكتلة مع بقية البناء الحيوي للمضاد الحيوي وجينات المقاومة مع غليكوزيلترانسفيرازات معين (للمراجعة، انظر ثورسون وآخرون Thorson *et al.*, 2001).



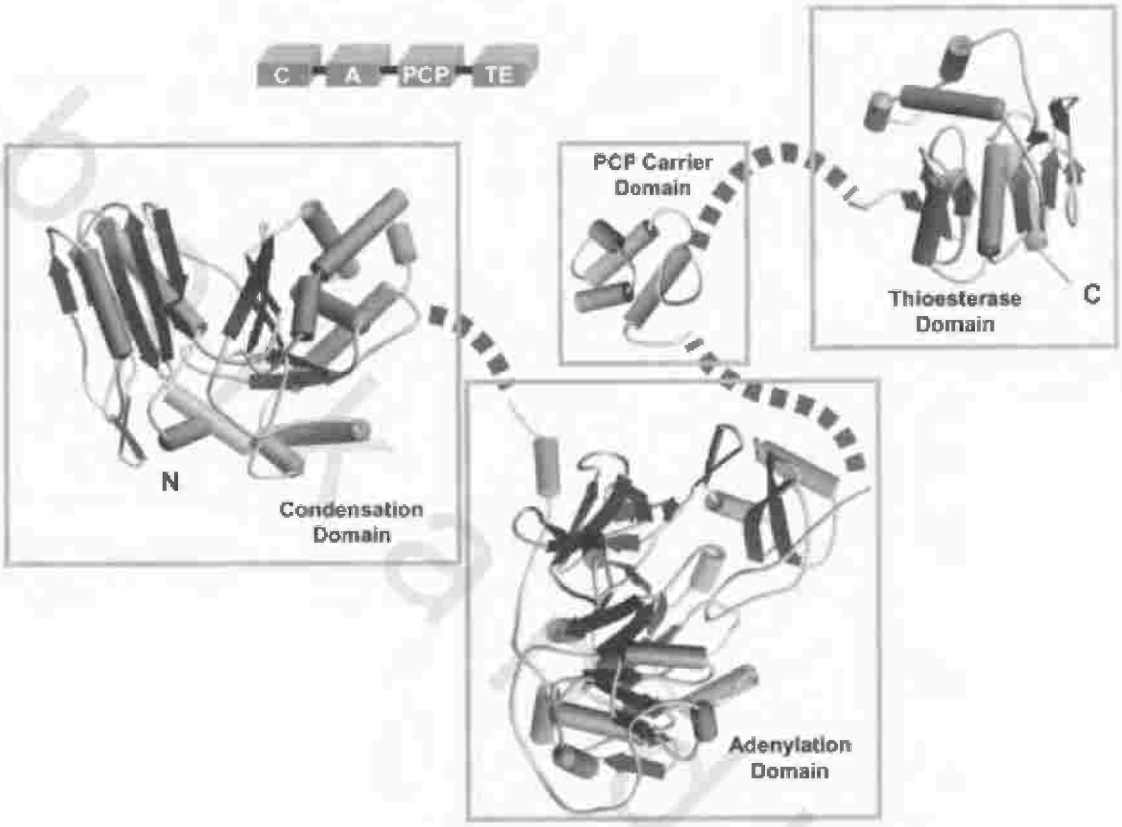

**الشكل (١٢,١٩). الخطوات الإنزيمية الخمس لتحويل 6-DEB إلى إريثروميسين A.**

الشكل الفعال بيولوجياً للسكريات التي تخدم كمادة لإنزيمات غليكوزيل ترانسفيراز هي سكريات نيوليوسيد ثنائية الفسفو (nucleoside diphospho) (NDP)، منشّطة عند $C_1$ بواسطة رابطة NDP (الشكل ١٢,٢٠) لنقلها إلى بعض المواد المشاركة أيفة النواة. وفي سكريات —NDP للمضاد الحيوي، وتكون النيوكليوسيدات نوعياً بيريميدين pyrimidine TDP (TDP) أو UDP المطابق. وهكذا فمسارات البناء الحيوي لسكريات ديوكسي هذه تنتج TDP-L-mycarose أو TDP-D-desosamine، ابتداءً من غلوكوز TDP الذي أُنتج بدوره من المستقلبات الأولية TTP و 1-P-glucose (ثورسون وآخرون Thorson *et al.*, 2001).

الخطوط العريضة لمسارات سكريات ديوكسي هذه هي لتحويل غلوكوز TDP- (TDP-glucose) إلى كيتوغلوكوز-٤ TDP- (TDP-4-ketoglucose)، ومن ثم التخلص الماء نحو 4-keto-glucose-6-ene وإنقاص الرابط المزدوج المقترن لتكوين ٤-كيتو-٦-ديوكسي غلوكوز كوسيط شائع ومبكر (الشكل ١٢,٢٠). ومن هذا ٤-كيتو-٦-ديوكسي سكر NDP هناك إنزيمات محددة التي تزامر كل من $C_3$ و $C_5$، أحدهم يمكن أن يتخلص من OH- عند $C_2$ لإحداث نقص الأكسدة (deoxygenation) الصافي واختزالياً يؤمَن (يصبح مركب أميني) (aminate) عند $C_3$ أو $C_4$. ويتيح التزامر الفوقي (epimerization) لـ $C_5$ الدخول إلى مجموعة سكر- TDP-L-. وبالإمكان أن تحدث الأمثلة لـ N و C عند مواقع كاربانيونيك (carbanionic sites) المجاورة لمجموعة ٤-كيتو. وتنتج الإنقاصات الإنطباقية (chiral reductions) لمجموعات ٤-كيتون سكريات ديوكسي- TDP المنتهية مثل دونوسامين، ديسوسامين، و L- مايكاروز في الميكروليدات أو L- فانكوسامين (L-vancosamine) في الفانكوميسين. وعلى سبيل المثال، في TDP- ديسوسامين (الشكل ١٢,٢٠)، قد تم تحويل $C_3$-OH إلى أمين بواسطة (التخفيض الأميني لوسيط $C_3,C_4$ -داي كيتو) (reductive amination of a $C_3,C_4$-diketo intermediate) و *N,N*-dimethylated بواسطة SAM، ولقد تم اختزال $C_4$ من الكحول إلى $CH_2$ واختزال $C_6$ إلى الحالة $CH_3$. لقد تم إنقاص الأكسدة من TDP-L-mycarose (الشكل ١٢,٢٠) عند $C_2$ و $C_6$، أمثلة- C عند $C_3$ وتزامرت عند $C_5$ قبل نقلها إلى سقالة ماكرولاكتون بواسطة EryBIV. وهكذا، توجد آلية إنزيمية واسعة مكرسة لإنتاج تبديلات ديوكسي و أمينو على هيكسوسيز الطبيعي المشتق من الأيض الأولي لعملية ارتباط بالغليكوزيل للبوليكيدات - بعد خط التجميع.




**الشكل (١٢,٢٠). التحويلات لإنتاج TDP-D –desosamine وTDP-L-mycarose من TDP-4-keto-6-deoxyglucose في تجميع إريثروميسين.**




الزخارف التركيبية في الحقول المحفزة والحاملة لبيْتيد سينثازات غير الريوسومية.