

# 假单胞菌 M18 株 *pltZ* 基因转录阻抑藤黄绿菌素 ABC 转运系统

黄显清 葛宜和 张雪洪 许煜泉\*

(上海交通大学生命科学技术学院 上海 200240)

**摘 要:** 假单胞菌(*Pseudomonas* sp.) M18 株的藤黄绿菌素(Pyoluteorin, Plt)生物合成基因簇下游存在一个 Plt 生物合成负调控基因 *pltZ* 和一个负责 Plt 分泌及自身抗性的 ABC ATP-binding cassette 转运系统基因簇。利用启动子探针载体 pME6015 和 pME6522 分别构建 ABC 转运基因 *pltH* 与 *lacZ* 的翻译和转录融合表达质粒 pHZLF 和 pHZCF, 分别引入野生型假单胞菌 M18 株和 *pltZ* 突变菌株 M18Z<sub>Δ</sub>。半乳糖苷酶活性的测定结果表明: 在 *pltZ* 突变株 M18Z<sub>Δ</sub> 中, *pltH*'-'*lacZ* 翻译融合表达水平约比野生型提高 3.7~8.4 倍, *pltH*'-'*lacZ* 转录融合表达水平显著提高了 2.8~7.4 倍, 表明 *pltZ* 能在转录水平上阻抑 Plt ABC 转运系统的表达, *pltZ* 很可能通过阻抑 Plt ABC 转运系统的表达, 间接地负调控 Plt 的生物合成。

**关键词:** 假单胞菌 M18 藤黄绿菌素 *pltZ* ABC 转运系统 转录阻抑

**中图分类号:** Q75 **文献标识码:** A **文章编号:** 0001-6209(2005)03-0344-05

细菌中存在着多种转录调控蛋白家族, 这些蛋白依靠螺旋-转角-螺旋(Helix-Turn-Helix, HTH)模体与靶基因 DNA 结合调控转录。TetR 家族调控蛋白依靠其 N 端约 60 个氨基酸残基组成的 HTH 模体与 DNA 结合, 调控基因的表达, C 端区域涉及自身寡聚化以及与诱导因子(如药物)的结合。近年来, 该家族中报道的新成员越来越多, 如 AcrR、QacR、MtrR、TetC、TetR、PsrA 等。许多 TetR 家族调控蛋白主要作为膜转运基因或操纵子的转录阻抑因子, 控制细菌对疏水抗生素等代谢产物的敏感性水平<sup>[1, 2]</sup>。

广泛存在于原核生物和真核生物中的 ABC(ATP-binding cassette)转运系统是通过水解 ATP 驱动化合物的吸收与外排的一组膜结合蛋白, 是最大的蛋白家族之一。一个典型的 ABC 转运系统由 4 个结构域组成, 其中: 两个高度疏水, 各包含 6 个跨膜片段; 2 个亲水, 为 ATP 结合结构域, 负责 ATP 的结合与水解。ABC 转运系统能驱除细胞内的毒性化合物, 防止它们的积累, 保护细胞不受毒性物质危害。在合成抗生素的微生物中, ABC 转运系统的主要功能是促进抗生素分泌、增强对抗生素的自身抗性以提高免疫保护<sup>[3, 4]</sup>。

假单胞菌(*Pseudomonas* sp.) M18 菌株是从上海

郊区甜瓜根际土壤中分离获得的植物根际促生细菌(Plant growth promoting rhizobacterium, PGPR), 它能同时合成两种不同类型的抗生素, 聚酮类抗生素藤黄绿菌素(Pyoluteorin, Plt)和吩嗪类抗生素吩嗪-1-羧酸(Phenazine-1-carboxylic acid, PCA)属国内外首次报道<sup>[5]</sup>。在 M18 菌株中, 藤黄绿菌素生物合成基因簇下游存在一个 TetR 家族调控蛋白编码基因 *pltZ*, 负调控藤黄绿菌素的生物合成<sup>[6]</sup>。但对其具体的调控机制如调控路线、作用位点、是直接作用在 *plt* 操纵子还是通过其它中间因子实施间接调控都还未了解。紧邻 *pltZ* 下游存在一个 ABC 转运系统负责 Plt 的分泌<sup>[7]</sup>。*pltZ* 是否也转录阻抑 Plt ABC 转运系统的表达、通过调控 Plt 的转运分泌间接调控 Plt 的生物合成? 本文研究了 *pltZ* 对 Plt ABC 转运基因 *pltH*'-'*lacZ* 转录、翻译融合报道系统的调控作用, 结果表明 *pltZ* 对 Plt ABC 转运系统进行转录阻抑调控。

## 1 材料和方法

### 1.1 菌株和质粒

本研究所涉及的菌种、质粒及其来源见表 1。

基金项目: 国家“十五”科技攻关项目(2004BA308A21-6); 国家自然科学基金项目(30370041)

\* 通讯作者。Tel: 86-21-54743347; Fax: 86-21-54743348; E-mail: xuyq@sjtu.edu.cn

作者简介: 黄显清(1974-)男, 湖南安仁人, 博士研究生, 研究方向为微生物次生代谢的分子调控。E-mail: xqhuang66@126.com

收稿日期: 2004-11-08, 修回日期: 2005-03-10

表 1 菌株和质粒

Table 1 Strains and plasmids

Strains or pasmids	Genotype and /or relevant characteristics	Reference
Strains		
<i>Pseudomonas</i> sp. M18		
Wild type	Rhizosphere isolated , Plt <sup>+</sup> PCA <sup>+</sup> Ap <sup>r</sup> Sp <sup>r</sup>	This Lab
M18Z	M18- <i>pltZ</i> <sup>-</sup> , <i>pltZ</i> : Km <sup>r</sup> Plt <sup>+</sup> PCA <sup>+</sup> Ap <sup>r</sup> Sp <sup>r</sup> Km <sup>r</sup>	[ 6 ]
<i>E. coli</i> DH5 $\alpha$	<i>supE44</i> $\Delta$ <i>lacU169</i> $\phi$ 80 <i>lacZ</i> $\Delta$ M15 ) <i>hsdR17</i> <i>recA1</i> <i>endA1</i> <i>gyrA96</i> <i>thi-1</i> <i>relA1</i>	This Lab
Plasmids		
pLAP2	One of positive cosmids containing part of <i>plt</i> gene cluster screened from M18 genomic library	[ 6 ]
pME6032	pVS1-p15A <i>E. coli</i> - <i>pseudomonas</i> shuttle vector ; <i>lacI</i> <sup>q</sup> - <i>Ptac</i> Expression vector , Tc <sup>r</sup>	Dieter Haas
pZX141	14kb <i>Eco</i> RI fragment from pLAP2 cloned into pME6032 , Tc <sup>r</sup>	This study
pME6015	pVS1-p15A <i>E. coli</i> - <i>pseudomonas</i> shuttle vector for translational <i>lacZ</i> fusions and promoter probing , Tc <sup>r</sup>	Dieter Haas
pME6522	pVS1-p15A <i>E. coli</i> - <i>pseudomonas</i> shuttle vector for transcriptional <i>lacZ</i> fusions and promoter probing , Tc <sup>r</sup>	Dieter Haas
pHZLF	371bp <i>Eco</i> RI- <i>Pst</i> I PCR amplified fragment containing the first 35 codons and 243bp DNA sequence upstream of translational start site( ATG ) of <i>pltH</i> cloned into pME6015 , Tc <sup>r</sup>	This study
pHZCF	238 bp <i>Eco</i> RI- <i>Pst</i> I PCR amplified fragment containing 214 bp DNA sequence upstream of transcriptional start site of <i>pltH</i> cloned into pME6522 , Tc <sup>r</sup>	This study

## 1.2 试剂和培养条件

限制性内切酶、DNA 连接酶、DNA 分子量标记物均购自 MBI 公司。DNA *Taq* 聚合酶、胶回收试剂盒购自上海申能博彩生物科技有限公司。LB 培养基按文献 [ 8 ] 配制 ;King 's B 培养基 :每升含蛋白胨 20g ,K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.3g ,甘油 15mL ,MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 1.5g , pH 7.5 相应固体培养基每升加 15g 琼脂粉。抗生素用量(  $\mu$ g/mL ):卡那霉素( Km ) 50 ,氨基青霉素( Ap ) 100 ,壮观霉素( Sp ) 100 ,四环素( Tr ) 25( 大肠杆菌 ) ,100( 假单胞菌 ) 。培养温度 :大肠杆菌为 37 $^{\circ}$ C ;假单胞菌为 28 $^{\circ}$ C 。

## 1.3 DNA 常规操作技术

质粒抽提、酶切、凝胶电泳、连接、转化等步骤均根据文献 [ 8 ] 进行。

## 1.4 PCR 反应

根据假单胞菌 M18 的 *pltH* 基因及其上游区域核苷酸序列设计 3 条引物 :Phf1( 5'-ATTCTA GAAT-TCCAGCTTCCTCGCAGA-3' ) 划线序列为 *Eco*R I 酶切位点 ) Phr1( 5'-TGCGAT CTGCAGGTCGAAATCAAA TTC-3' ) 和 Phr2( 5'-ATCATT CTGCAGCAGTTTCAGGG CATC-3' ) ( 划线序列均为 *Pst* I 酶切位点 ) ,由上海博亚生物技术有限公司合成。以 Phf1 和 Phr2 为引物 ,pZX141 质粒为模板 ,PCR 扩增 371bp 片段。以 Phf1 和 Phr1 为引物 ,pZX141 质粒为模板 ,PCR 扩增 238 bp 片段( 图 1-A ) 。PCR 反应体系( 50 $\mu$ L ) :10  $\times$

PCR Buffer 5 $\mu$ L , dNTP( 2.5mmol/L ) 4 $\mu$ L ,引物 1 和引物 2( 100pmol/ $\mu$ L ) 各 0.5 $\mu$ L ,模板 DNA 1 $\mu$ L ,*Taq* 酶 ( 5U/ $\mu$ L ) ,重蒸水 38.5 $\mu$ L。PCR 扩增条件 :94 $^{\circ}$ C 5min ,94 $^{\circ}$ C 1min ,60 $^{\circ}$ C 1min ,72 $^{\circ}$ C 1min ,30 个循环 ;72 $^{\circ}$ C 10min。

## 1.5 DNA 序列分析

采用鸟枪法 ( Shot-gun ) 进行 DNA 测序 ,序列结果的 ORF 分析采用 GeneMark .hmm 程序 [ 9 ] 进行。利用 NCBI 的 BLAST 程序进行蛋白序列的同源性搜索 ,蛋白质可能结构域的同源性搜索在 Pfam [ 10 ] 和 PROSITE [ 11 ] 数据库中进行。DNA 序列的启动子分析采用 NNPP( Promoter Prediction by Neural Network ) 程序 [ 12 ] 进行。

## 1.6 $\beta$ -半乳糖苷酶活性测定

将携带 *pltH*<sup>-</sup> *lacZ* 转录、翻译融合表达质粒的假单胞菌野生型菌株 M18 和 *pltZ* 突变菌株 M18Z 的过夜培养物按 1% 的接种量接种于装有 50mL King 's B 培养基的 250mL 三角瓶中 ,培养基中添加相应抗生素和 0.05% 的 Triton X-100 ,在 28 $^{\circ}$ C、转速为 220r/min 的摇床中培养。分别在不同培养时间点取样测定  $\beta$ -半乳糖苷酶活性 ,测定方法参照文献 [ 8 ] 。

## 2 结果

### 2.1 Plt ABC 转运系统基因簇的组织 and 鉴定

*pltZ* 位于 Plt 生物合成基因簇中 *nlIARCDEFG*

转录子的下游,单独构成一个反向转录的开放阅读框,属于细菌调控蛋白 TetR 家族的一个新成员<sup>[6]</sup>。紧邻 *pltZ* 基因下游是一个 ABC 转运系统编码基因簇 (GenBank 序列号:AY394844)。该基因簇由 *pltH*、*I*、*J*、*K*、*N*、*O* 共 6 个基因组成。序列分析表明, *pltH* 与 *E. coli* 的 *emrA*、*hlyD* 家族同源,编码一个膜融合蛋白; *pltI* 与 *Streptomyces antibioticus* 的 *oleB*、*Yersinia pestis* 的 *elsE*、*E. coli* 的 *macB* 等基因同源,编码 ATP 结合蛋白,负责 ATP 的结合与水解; *pltJ* 和 *pltK*、*Yersinia pestis* 的 *elsD*、*E. coli* 的 *ybhS*、*ybhR*、*Streptomyces kasugaensis* 的 *kasM* 等基因同源,编码 ABC 转运系统的内膜通透酶成分,各包含 6 个跨膜片段; *pltN* 与 *Pseudomonas putida* KT2440 的 *oprN*、*Pseudomonas aeruginosa* 的 *oprM*、*oprJ* 等基因同源,编码外膜通道蛋白; *pltO* 编码一个跨膜蛋白,与 CmaU、LysE 家族同源,可能为 ABC 转运系统辅助蛋白,这 6 个基因组成一个最完整的转运系统。该 ABC 转运系统能促进 Plt 的转运分泌,能提高合成菌株的自身抗性和免疫保护能力<sup>[7]</sup>。

## 2.2 *pltZ* 与 ABC 转运基因间隔区域序列分析

*pltZ* 与 ABC 转运基因簇反向排列,ABC 转运基因簇由 *pltH*、*I*、*J*、*K*、*N*、*O* 等 6 个基因组成一个操纵子,共用一个启动子。在 *pltZ* 与 *pltH* 之间有 110bp 的距离,该区域包含了 *pltZ* 和 *pltH* 的前导序列,如 RBS 位点、启动子、调控区域等成分。在 *pltH* 起始密码子 ATG 上游 7bp 间隔处存在一段 RBS 序列 AAGGGA,在转录起始位点上游存在  $\sigma^{70}$  启动子的 -10 成分 (TTGAT) 和 -35 成分 (TTTACT),共同组成 *pltHIJKNO* 操纵子的启动子。

## 2.3 *pltH*'-'*lacZ* 翻译、转录融合报道质粒 pHZLF、pHZCF 的构建

以 Phf1 和 Phr2 为引物, pZX141 质粒为模板, PCR 扩增的 371bp 片段 (图 1-A) 包含 *pltH* 基因前 35 个密码子及起始密码子上游 243bp, 该序列包含 *pltH* 基因的启动子区域和 SD 序列 (即 RBS 位点)。PCR 产物经 *EcoRI* 和 *PstI* 酶切后克隆在启动子探针载体 pME6015 得到带有 *pltH*'-'*lacZ* 翻译融合的表达质粒 pHZLF (图 1-B)。

以 Phf1 和 Phr1 为引物, pZX141 质粒为模板, PCR 扩增的 238 bp 片段 (图 1-A) 包含 *pltH* 基因转录起始位点上游 214 bp 的序列, 该序列包含 *pltH* 基因的启动子区域但不包括 SD 序列 (即 RBS 位点)。PCR 产物经 *EcoRI* 和 *PstI* 酶切后克隆在启动子探针载体 pME6522, 创造带 *pltH*'-'*lacZ* 转录融合的表达质粒 pHZCF (图 1-B)。

## 达质粒 pHZCF (图 1-B)

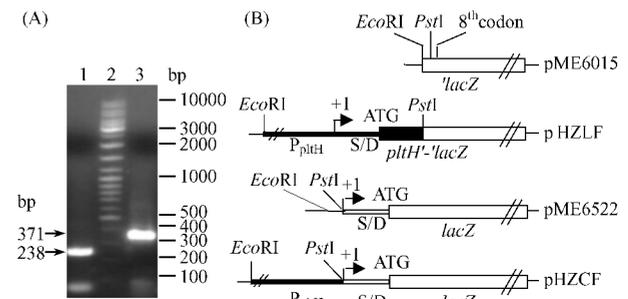


图 1 *pltH*'-'*lacZ* 翻译、转录融合表达质粒的构建

Fig.1 Construction of translational and transcriptional *pltH*'-'*lacZ* fusion expression plasmids

A: PCR products for constructing *pltH*'-'*lacZ* fusions. 1. 238bp PCR fragments; 2. Molecular marker; 3. 371bp PCR fragments. B: Physical map of translational and transcriptional *pltH*'-'*lacZ* fusion constructs. SD, Putative Shine Dalgarno sequence. *pltH* sequences are shown by heavy black lines, *lacZ* by white boxes.  $P_{pltH}$ , the promoter of the *pltH* gene.

## 2.4 *pltZ* 阻抑 *pltH*'-'*lacZ* 翻译融合的表达

将 *pltH*'-'*lacZ* 翻译融合表达质粒 pHZLF 分别引入假单胞菌野生型菌株 M18 和 *pltZ* 基因突变菌株 M18Z, 测定  $\beta$ -半乳糖苷酶活性, 分析 *pltZ* 基因的突变对 *pltH*'-'*lacZ* 翻译融合表达的影响。菌株 M18 (pHZLF) 和 M18Z (pHZLF) 在 King's B 培养基中的生长曲线见图 2-A, 结果表明这两个菌株的生长情况 ( $OD_{600}$ ) 无显著差异。然而整个生长周期内 M18Z (pHZLF) 菌株的 *pltH*'-'*lacZ* 翻译融合表达水平显著高于 M18 (pHZLF) 菌株 (图 2-B), 在 12h、24h、36h、48h 的  $\beta$ -半乳糖苷酶活性 (Miller units) 测定结果显示, M18Z (pHZLF) 菌株的 *pltH*'-'*lacZ* 翻译融合表达水平比 M18 (pHZLF) 菌株分别提高了 3.7、6.8、7.4 和 8.4 倍。 *pltH*'-'*lacZ* 翻译融合表达水平在 24h 达到高峰, M18Z (pHZLF) 菌株高达 82.3 单位, 而此

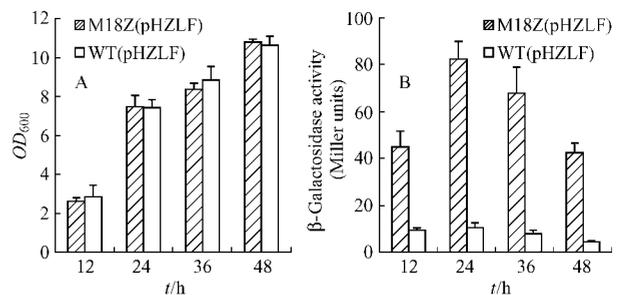


图 2 *pltZ* 对 *pltH*'-'*lacZ* 翻译融合表达的影响

Fig.2 Influence of *pltZ* on translational *pltH*'-'*lacZ* fusion expression

A. Strains' growth was measured as  $OD_{600}$ ; B.  $\beta$ -Galactosidase activities.

时 M18(*pHZLF*) 仅为 10.5 单位。由于 *pltZ* 基因的突变, *pltH*'-'*lacZ* 翻译融合表达水平得到了显著提高, 说明 *pltZ* 基因可能在翻译, 也可能在转录水平上阻抑 *Plt* ABC 转运基因的表达。

## 2.5 *pltZ* 阻抑 *pltH*'-'*lacZ* 转录融合的表达

将 *pltH*'-'*lacZ* 转录融合表达质粒 *pHZCF* 分别引入假单胞菌野生型菌株 M18 和 *pltZ* 基因的突变菌株 M18Z, 得到 M18(*pHZCF*) 和 M18Z(*pHZCF*) 两个菌株, 分别测定在 King's B 培养基中的生长情况 ( $OD_{600}$ ) 和  $\beta$ -半乳糖苷酶活性 (Miller units)。M18(*pHZCF*) 和 M18Z(*pHZCF*) 菌株的生长无显著差异 (图 3-A)。图 3-B 结果显示, *pltH*'-'*lacZ* 转录融合表达水平由于 *pltZ* 基因的突变得到了显著提高, 在 12h、24h、36h、48h 的 4 个时间点, M18Z(*pHZCF*) 菌株的 *pltH*'-'*lacZ* 转录融合表达水平比 M18(*pHZCF*) 菌株分别提高了 2.8、4.2、6.6 和 7.4 倍。 $\beta$ -半乳糖苷酶活性在 24h 达到最大值, M18Z(*pHZCF*) 为 86.4 Miller units, 而 M18(*pHZCF*) 仅为 16.5 Miller units。结果说明 *pltZ* 基因对 *pltH*'-'*lacZ* 转录融合表达存在显著的阻抑作用, 也说明 *pltZ* 对 *Plt* ABC 转运基因进行转录阻抑调控。

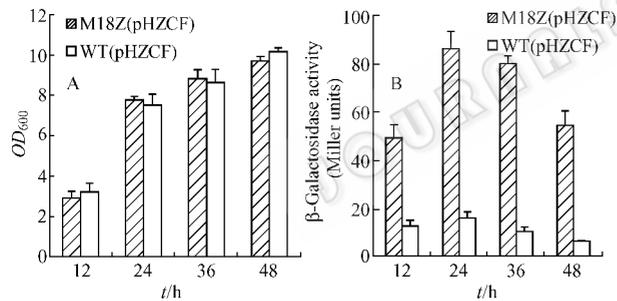


图 3 *pltZ* 对 *pltH*'-'*lacZ* 转录融合表达的影响

Fig.3 Influence of *pltZ* on transcriptional *pltH*'-'*lacZ* fusion expression  
A. Strains' growth was measured as  $OD_{600}$ ; B.  $\beta$ -Galactosidase activities.

## 3 讨论

在合成抗生素的微生物中, 抗生素生物合成结构基因、调控基因及转运、抗性相关基因通常成簇分布。本课题组首次报道了在 *Plt* 生物合成基因簇下游存在一个 TetR 家族调控蛋白编码基因 *pltZ* 和一个促进 *Plt* 分泌的 ABC 转运系统基因簇。已报道 *pltZ* 负调控 *Plt* 的生物合成, 但准确的调控机制还不清楚<sup>[6]</sup>。本文研究结果显示, *pltZ* 阻抑 *pltH*'-'*lacZ* 翻译融合的表达, 由于翻译融合构建包括翻译水平和转录水平两个层次, 这说明 *pltZ* 可能在翻译或转录水平上阻抑 ABC 转运系统的表达。同时 *pltZ* 又

阻抑 *pltH*'-'*lacZ* 转录融合的表达, 说明 *pltZ* 肯定在转录水平上阻抑 *Plt* ABC 转运系统的表达, 至于是否存在翻译水平上的阻抑调控, 还有待于进一步研究。*PltZ* 调控蛋白可能通过其 N 端 HTH 模体结合在 ABC 转运基因 *pltH* 的启动子区域以阻抑 ABC 转运基因的转录。因此, 我们可以推测 *pltZ* 有可能通过调控 *Plt* 的 ABC 转运系统来间接调控 *Plt* 的合成。*pltZ* 的突变能促进 ABC 转运系统的表达, 进而提高细胞外排分泌 *Plt* 的效率, 同时提高细胞自身对 *Plt* 的抗性, 降低 *Plt* 细胞内积累、毒性, 维持理想的细胞内环境, 从而显著提高 *Plt* 合成。此外, *pltZ* 是否同时还直接作用在 *Plt* 生物合成结构基因簇的启动子区域参与调控, 需要进一步研究。

假单胞菌 M18 *Plt* 生物合成调控基因 *pltZ* 及其 ABC 转运系统的发现, 对运用基因工程技术如定向突变 *pltZ*、过表达 ABC 转运系统来构建 *Plt* 高产菌株, 提高 *Plt* 的抗生素产量, 改善生物防治能力可能具有重要意义。

## 参 考 文 献

- [1] Hillen W, Berens C. Mechanisms underlying expression of Tn10 encoded tetracycline resistance. *Annu Rev Microbiol*, 1994, **48**: 345-369.
- [2] Pan W, Spratt B G. Regulation of the permeability of the gonococcal cell envelope by the *mtr* system. *Mol Microbiol*, 1994, **11**(4): 769-775.
- [3] M ndez C, Salas J A. The role of ABC transporters in antibiotic-producing organisms: drug secretion and resistance mechanisms. *Res Microbiol*, 2001, **152**(3-4): 341-350.
- [4] M ndez C, Salas J A. ABC transporters in antibiotic-producing actinomycetes. *FEMS Microbiol Lett*, 1998, **158**(1): 1-8.
- [5] 朱栋华, 徐汪节, 耿海峰, 等. 荧光假单胞菌 M18 *rhoD* 基因克隆及其对抗生素合成的影响. *微生物学报*, 2003, **43**(3): 315-323.
- [6] Huang X Q, Zhu D H, Ge Y H, et al. Identification and characterization of *pltZ*, a gene involved in the repression of pyoluteorin biosynthesis in *Pseudomonas* sp. M18. *FEMS Microbiol Lett*, 2004, **232**(2): 197-202.
- [7] Huang X Q, Ge Y H, Zhang X H, et al. Identification and characterization of a putative ABC transporter involved in pyoluteorin secretion and resistance in *Pseudomonas* sp. M18. *Microbiology (SGM)*, 2004, submitted.
- [8] Sambrook J, Fritsch E F, Maniatis T. 分子克隆实验指南. 金冬雁, 黎孟枫, 等译. 第二版. 北京: 科学出版社, 1999.
- [9] Lukashin A V, Borodovsky M. GeneMark.hmm: new solutions for gene finding. *Nucleic Acids Res*, 1998, **26**: 1107-1115.
- [10] Bateman A, Birney E, Durbin R, et al. The Pfam protein families database. *Nucleic Acids Res*, 2000, **28**: 263-266.

- [ 11 ] Sigrist C J A , Cerutti L , Hulo N , *et al.* PROSITE : a documented database using patterns and profiles as motif descriptors . *Brief Bioinform* , 2002 , 3 : 265 - 274 .
- [ 12 ] Reese M G . Application of a time-delay neural network to promoter annotation in the *Drosophila melanogaster* genome . *Comput Chem* , 2001 , 26 ( 1 ) : 51 - 56 .

## Transcriptional repression of *pltZ* on pyoluteorin ABC transporter of *Pseudomonas* sp. M18

HUANG Xian-qing GE Yi-he ZHANG Xue-hong XU Yu-quan\*

( School of Life Science & Biotechnology , Shanghai Jiaotong University , Shanghai 200240 , China )

**Abstract :** A *pltZ* gene involved in negatively regulating pyoluteorin ( Plt ) biosynthesis , and an ABC ( ATP-binding cassette ) transporter involved in pyoluteorin secretion and itself resistance , were identified downstream of Plt biosynthesis gene cluster in *Pseudomonas* sp. M18 . The ABC transporter gene *pltH*<sup>-1</sup>-*lacZ* translational and transcriptional fusion expression plasmids , pHZLF and pHZCF , were constructed using promoter probe vector pME6015 and pME6522 respectively , and then were introduced into the wild-type strain of *Pseudomonas* sp. M18 and the *pltZ* mutant strain M18Z . The chromosomal *pltZ* disruption mutant gave rise to 3.7 ~ 8.4-fold enhancement of translational *pltH*<sup>-1</sup>-*lacZ* fusion expression and 2.8 ~ 7.4-fold enhancement of transcriptional *pltH*<sup>-1</sup>-*lacZ* fusion expression compared with those in the wild-type strain M18 . These results suggested that *pltZ* can repress transcription of Plt ABC transporter , and it can indirectly regulate Plt biosynthesis negatively through the Plt ABC transporter system .

**Key words :** *Pseudomonas* sp. M18 , Pyoluteorin , *pltZ* , ABC transporter , Transcriptional repression

Foundation item : The 10th Five-Year Programs of Chinese National Science ( 2004BA308A21-6 ) ; Chinese National Natural Science Foundation ( 30370041 )

\* Corresponding author . Tel : 86-21-54743347 ; Fax 86-21-54743348 ; E-mail : xuyq@sjtu.edu.cn

Received date : 11-08-2004

## 《微生物学报》近况通报

为了提高学术期刊质量 , 鼓励科技工作者发表高水平的学术论文 , 促进学科发展和人才成长 , 中国科协学术交流工作委员会决定 : 从 2003 年起 , 开展“中国科协期刊优秀学术论文评比活动” , 每年评选一次 . 2004 年 7 月《微生物学报》推荐中国科学院微生物研究所陈远童等人的论文参加第二届评比活动(陈远童, 庞月川, 郝秀珍. 微生物发酵生产十三碳二元酸的研究. 39 (3) 279-281) , 经专家评审委员会评审 , 此文荣获第二届中国科协期刊优秀学术论文奖 , 全国共计 99 篇科技论文获此殊荣 .

本刊编辑部希望能有更多的作者参与此项活动 , 明年将是第三届 , 若您在 2000 - 2004 年有文章刊登在本刊 , 欢迎您于 2005 年 6 月 30 日前将一些相关的证明材料(详见以下 3 条)寄回到本刊编辑部 , 信封上请注明 : 优秀论文评比 . 今后我们将进一步改进工作 , 更好的为科研工作者服务 , 使本刊成为您真正的朋友 , 以下为参加优秀论文评比时需要提供的材料 .

1. 在 2000 ~ 2004 年 , 发表在本刊的论文或相关成果的获奖情况(包括 2000 年前发 , 2000 年后获奖的) . 包括 : 论文题目、作者、发表时间(年 - 卷 - 期 - 页码) , 获奖名称(国家、省部级) , 并提供奖状或证书复印件一份 .
2. 在 2000 ~ 2004 年 , 由于论文或相关成果在本刊发表 , 促进了相关研究成果在应用和推广中获得的经济效益和社会效益情况 . 包括 : 论文题目、作者、发表时间(年 - 卷 - 期 - 页码) , 并提供经济效益的证明材料(包括转让金额、投产规模、专利等)(加盖公章) , 提供社会效益的简单文字材料 .
3. 您的论文被国内外权威检索系统(检索期刊和数据库)收录情况 .