



链霉菌的全局调控蛋白 DasR

黄星宇, 郭未蔚, 耿梦馨, 庄琢琛, 白利平*

中国医学科学院北京协和医学院医药生物技术研究所, 卫健委抗生素生物工程重点实验室, 北京 100050

黄星宇, 郭未蔚, 耿梦馨, 庄琢琛, 白利平. 链霉菌的全局调控蛋白 DasR. 微生物学报, 2022, 62(4): 1260–1269.

Huang Xingyu, Guo Weiwei, Geng Mengxin, Zhuang Zhuochen, Bai Liping. Global regulatory protein DasR in *Streptomyces*. *Acta Microbiologica Sinica*, 2022, 62(4): 1260–1269.

摘要: 链霉菌能够产生多种次级代谢产物, 在临床、农牧业、生物技术等领域具有重要应用价值; 对链霉菌的调控网络进行深入研究有助于提高次级代谢产物产量并发现新的次级代谢产物。链霉菌中次级代谢产物生物合成按调控通路分为全局调控与途径特异性调控, 其中全局调控蛋白可靶向多种通路特异调控基因和生物合成基因, 在链霉菌的生命活动中发挥着更为普遍、复杂的调控作用, 因此研究全局调控对于进一步认识链霉菌复杂调控网络具有重要的意义。DasR 作为一个全局调控蛋白, 在链霉菌的营养感应、形态分化和次级代谢中发挥重要作用, 本文从 DasR 的结构、序列和作用特点出发, 联系链霉菌生长发育和次级代谢、营养感应和初级代谢等讨论 DasR 的研究进展。

关键词: DasR 蛋白; 链霉菌; 全局调控; 次级代谢; 营养感应

Global regulatory protein DasR in *Streptomyces*

HUANG Xingyu, GUO Weiwei, GENG Mengxin, ZHUANG Zhuochen, BAI Liping*

NHC Key Laboratory of Biotechnology of Antibiotics, Institute of Medicinal Biotechnology, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100050, China

Abstract: *Streptomyces* produce a variety of secondary metabolites, which are highly valuable in clinical practice, agriculture, animal husbandry, biotechnology, etc. The research on the regulatory

基金项目: 国家自然科学基金(31870059); 国家重点研发计划(2018YFA0902000)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (31870059) and by the National Key Research and Development Program of China (2018YFA0902000)

*Corresponding author. Tel: +86-10-63153320; E-mail: bailiping@imb.pumc.edu.cn

Received: 10 August 2021; Revised: 23 September 2021; Published online: 15 February 2022

networks of secondary metabolites in *Streptomyces* will improve their yields and facilitate the discovery of novel secondary metabolites. The biosynthesis of secondary metabolites in *Streptomyces* can be regulated in a global or pathway-specific manner. The global regulators can target multiple pathway-specific genes and biosynthesis genes, playing a universal and complicated role. Therefore, studying the global regulation will improve the understanding of the complicated regulation networks in *Streptomyces*. DasR, a global regulator, plays a key role in the nutrient sensing, morphological changing, and secondary metabolism. In this review, we summarized the structure, sequence, and function of DasR, and reviewed the research findings on role of DasR in the growth, secondary metabolism, nutrient sensing, and primary metabolism of *Streptomyces*.

Keywords: DasR; *Streptomyces*; global regulation; secondary metabolism; nutrient sensing

链霉菌是一类在土壤中广泛分布的、具有分枝状菌丝的革兰氏阳性菌，具有复杂的形态分化和次级代谢过程，可产生种类繁多的次级代谢产物，具有多种应用价值^[1]。临床使用的抗生素中，链霉菌(包括直接和间接)来源的占三分之二以上，如四环素、红霉素、链霉素等；农业上广泛应用抗生素作为防治病虫害的手段，如阿维菌素用于抗家畜寄生虫，链霉素用于防治西红柿青枯病等；生物实验中抗性筛选常用的抗生素如卡那霉素等，均来源于链霉菌次级代谢产物。就目前报道的抗生素而言，绝大部分抗生素的生物合成基因在链霉菌染色体上成簇存在，抗生素产生也受到多层次复杂的调控。了解链霉菌次级代谢调控机制，可定向优化药物产生菌，如关闭非必要代谢途径，提高目标化合物生物合成效能；也可改善化合物产生菌发酵条件，提高目标化合物产量等。

链霉菌的生长需要碳源、氮源和无机磷酸盐等，参与链霉菌的初级代谢，而全局调控蛋白在介导链霉菌初级和次级代谢转换过程中发挥重要功能，在链霉菌的生命进程中发挥至关重要的作用。例如全局调控蛋白 GlnR^[2]和 PhoP^[3]通过分别监控链霉菌氮代谢和磷酸盐代谢状态，共同控制抗生素的生物合成。而大量

研究工作表明，全局调控蛋白 DasR 是平衡链霉菌中碳源和氮源代谢的交叉点，通过与中间代谢产物 GlcNAc-6P 和 GlcN-6P 结合，在介导链霉菌营养感应、形态分化、初级和次级代谢转换等方面发挥着重要作用^[1,4-5]。本文结合 DasR 的结构和作用特点，联系形态分化、营养感应和次级代谢等方面进行综述。

1 DasR 蛋白结构及靶序列分析

转录阻抑蛋白 DasR 最先在灰色链霉菌 (*Streptomyces griseus*) 中发现并命名，在许多链霉菌及其他放线菌如枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*)、红色糖多孢菌 (*Saccharopolyspora erythraea*) 等菌中也有发现和研究，其中以天蓝色链霉菌 (*Streptomyces coelicolor*) 为模式菌株的相关研究最多也最系统化。DasR 属于 GntR/HutC 家族，GntR 家族转录因子通常由两部分组成，N 端的 DNA 结合结构域 (DNA binding domain, DBD) 和 C 端的效应物结合结构域 (effector binding domain, EBD)^[6]。GntR 家族转录因子的特点是在 DBD 具有相对保守的二级结构，具有 3 个 α 螺旋与 2 个 β 折叠，这些二级结构元件的相对位置关系相似，按 $\alpha_1\alpha_2\alpha_3\beta_1\beta_2$ 的顺序排列，并在 α_2 和 α_3 螺旋处形成 helix-turn-helix

(HTH)结构^[7]。而 EBD 是决定 GntR 家族蛋白功能的主要部分, 根据 EBD 的不同, 可将其进一步细分为 4 个亚家族: FadR、HutC、MocR 和 YtrA。DasR 属于 HutC 亚家族, 其 EBD 由 6 个 α 螺旋与 7 个 β 折叠组成, 按 $\alpha\beta\alpha\beta\alpha\alpha\beta\beta\beta$ 的顺序排列。晶体学研究表明, 无 DNA 片段或配体分子结合时, DasR 蛋白以二聚体形式存在, 图中蓝色部分和灰色部分各为 1 个 DasR 蛋白单体(图 1A); 图 1B 中, 圆柱状部分为 α 螺旋, 带箭头部分为 β 折叠; GlcNAc-6P 与 GlcN-6P 能够占据 DasR 蛋白中 EBD 部分的效应分子结合位点(图 1C), 磷酸化糖以类似三明治状的构型结合于 α_{E1} 螺旋和 α_{E5} 螺旋中间(图 1D)。N-乙酰葡萄糖胺(N-acetylglucosamine,

GlcNAc)代谢衍生物 GlcNAc-6P 与 GlcN-6P 结合 DasR 蛋白后, 发挥变构调节作用以解除由 DasR 结合 *dre* 对下游基因的阻碍作用^[8]。体外实验进一步证实 GlcNAc-6P 与 GlcN-6P 能够降低 DasR 与 *dre* 位点的亲和力, 解除其对下游基因的抑制作用^[9]。

在天蓝色链霉菌中, 存在大量的 DasR 反应元件(DasR responsive elements, *dre*), 实验证明 DasR 能与启动子区域的 *dre* 直接结合, 并调控其下游基因的转录, 在此意义上, DasR 可被称作多效性途径特异调节蛋白^[10], 研究证实 *dre* 特征序列为 16 bp 的回文序列 A(G/C)TGGTCTA GACCA(G/C)T^[11]。这些结合位点被发现广泛分布于磷酸转移酶系统(phosphotransferase system,

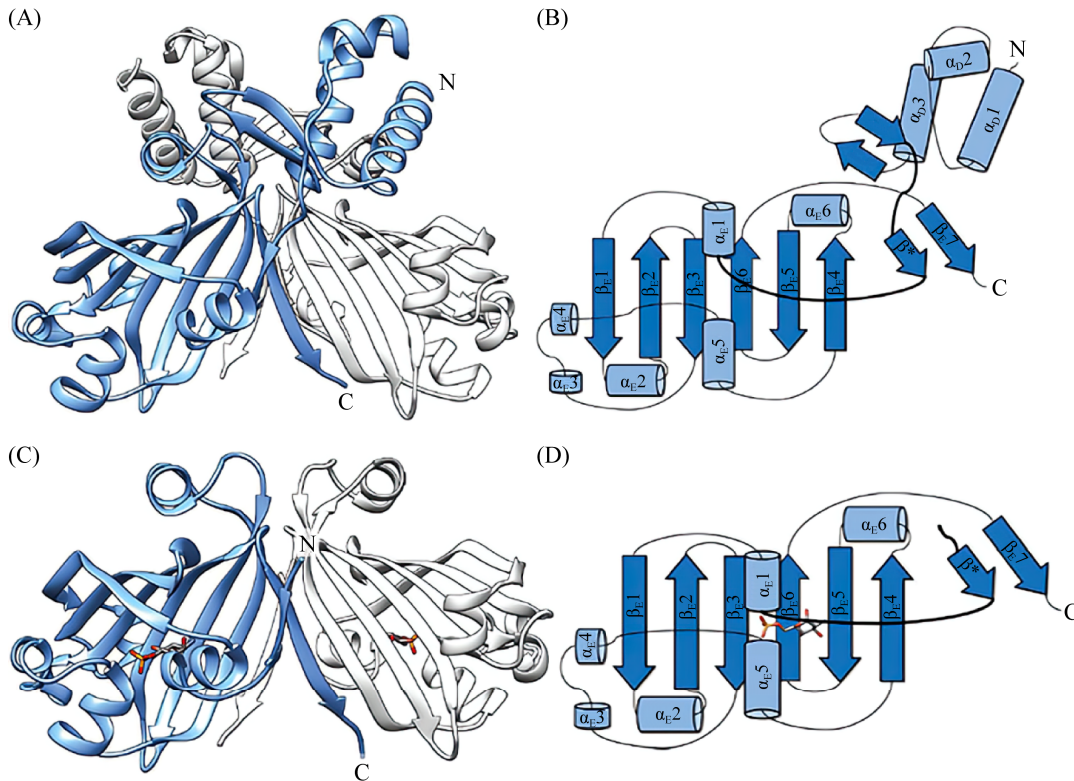


图 1 DasR 蛋白结构图^[8]

Figure 1 Structure of DasR^[8]. A: DasR dimer without DNA or a potential effector molecule; B: topology plot of full-length DasR in the ligand-free state; C: crystal structure of dimeric DasR-EBD bound to GlcN-6-P; D: topology plot of monomeric DasR-EBD in complex with GlcN-6-P.

PTS)相关基因、几丁质酶相关基因(*chi*)和抗生素次级代谢相关基因等,说明 DasR 在链霉菌营养感应和代谢系统中发挥重要作用^[12-13]。Świątek-Połatyńska 等^[14]进一步通过 *dasR* 突变株转录组分析和 DasR 体内 DNA 结合实验分析发现,具有 *dre* 特征序列的基因位点可归结为 DasR 的第一类靶位点,与 DasR 结合体现出很强的时间特异性;如在 24 h (营养生长期)时, DasR 与初级代谢相关基因 *nag*、*chi*、*pts* 的所有基因均有结合,但其中的 *chiC*、*chiH*、*sco6300*、*sco6345* 和 *sco7225* 在 54 h (孢子形成期)未观察到结合;而形态分化和抗生素合成相关的基因只在 54 h 后检测到与 DasR 有结合;这是首次在体内发现该调控蛋白只在生长发育的特定时期与特定的基因结合,而不仅仅是体外实验中亲和力强弱的改变。此外,在体内的 DNA 结合实验中还发现了与 *dre* 没有明显序列相似性的结合位点,这些位点涵盖了大量具有其他功能的基因,如 sRNA 和 DNA 转座酶等,称之为 DasR 蛋白的第二类靶位点。此外,在 DasR 的第一类靶位点中,也发现了一些 ncRNA 和 tRNA,如最近的研究中发现,非编码 RNA *scr5239* 控制链霉菌的碳源代谢,而 *scr5239* 的表达则受到全局调控蛋白 DasR 的直接调控^[15]。

本实验室研究发现的链霉菌 139 能够合成一种胞外多糖依博素,具有显著的抗炎和免疫刺激作用,体内实验显示有显著的抗类风湿性关节炎和银屑病等活性^[16-17];其生物合成基因簇中 *ste1* 编码蛋白 Ste1,与天蓝色链霉菌中 DasR 的序列一致性为 82%,可能具有与 DasR 相似的多效调控作用与调控模式^[18-19]。我们之前的研究证实^[20],Ste1 能够与分别位于 *ste1* 和 *ste5* (编码半乳糖基转移酶)上游启动子区域的含有 *dre* 特征序列的片段 promoter1 和 promoter3 结合,说明 Ste1 (DasR 类蛋白)也参与胞外多糖

生物合成的调控。近期,我们完成了胞外多糖依博素产生菌的全基因组测序^[21],生物信息学分析发现在其基因组中存在大量 *dre* 特征结合序列,可能参与调控链霉菌初级代谢、次级代谢与形态分化、DNA 复制和转座酶、转录和翻译等(表 1),部分基因与天蓝色链霉菌中已确证受 DasR 调控的基因高度同源;此外,一些全新的、与胞外多糖生物合成及 DNA 损伤修复的相关元件也正在分析确证中。

2 DasR 在生长发育与次级代谢调节中的作用

“Das”意为“Deficient in aerial mycelium and spore formation”,在灰色链霉菌^[24]和天蓝色链霉菌^[22]的 DasR 缺陷株中观察到孢子形成受阻,由此得名。*bld* 基因与链霉菌气生菌丝和孢子形成相关,*bld* 缺陷株在培养基上表现为光秃表型,不能观察到气生菌丝和孢子(图 2A),因此 *dasR* 在发现之初,被认为是 *bld* 家族的一员。Rigali 等^[22]在天蓝色链霉菌研究中,发现 *dasR* 基因阻断突变株 BAP29 在葡萄糖作为唯一碳源的培养基上,不能产生气生菌丝和孢子。不同 *bld* 基因突变株在靠近培养时,可重建附近菌落气生菌丝的形成,且遵守一个互补级联顺序。*bld* 基因突变株中的 *bldA*、*bldB*、*bldC*、*bldF* 和野生型天蓝色链霉菌在靠近培养时能够诱导 BAP29 恢复形成气生菌丝,而 *bldD*、*bldG*、*bldH*、*bldJ*、*bldK* 等则不能, BAP29 也不能使 *bld* 基因突变株恢复形成气生菌丝。说明 *dasR* 基因不在 *bld* 信号互补级联中, DasR 是调控链霉菌气生菌丝生长起始阶段的重要调节因子。本实验室^[20]在链霉菌 139 中敲除 *ste1* 后也观察到菌落生长为光秃型,扫描电镜下观察到相似的菌丝形态变化和孢子产生减少的现象(图 2B)。

表 1 链霉菌 139 中 *dre* 特征序列归类Table 1 Classification of *dre* in *Streptomyces* sp. 139

Function	Locus	Matched sequence	Position	Homologous gene	Gene name	Reference
Primary metabolism (31)						
PTS (2)	F3L20_RS08195	GGTTGTCTAGACCAGT	40	sco5841	<i>ptsH</i>	[22]
	F3L20_RS10900	TCTTGTCTGGACCACA	-131	sco1390-1391	<i>crr-pts</i>	[22]
Amino-sugar metabolism (14)	F3L20_RS12255	ACCGGCGTGGACCTCA	-2 951	sco6013	<i>chiH</i>	[11]
	F3L20_RS05695	TGTGGTTTAGACCAAT	-9	sco5236	<i>nagB</i>	[23]
	F3L20_RS10695	GATGGACTAGACCAGT	-92	sco1429	<i>chiD</i>	[11]
	F3L20_RS05010	CCTGGTCGACACCACC	-419			
	F3L20_RS21835	ACCGGTGTAGACCGCT	-148			
	9 are not listed here including F3L20_RS13615, F3L20_RS21775, F3L20_RS05695, F3L20_RS05695, F3L20_RS14405, F3L20_RS15770, F3L20_RS09085, F3L20_RS24000, F3L20_RS03630.					
ABC transporter (15)	F3L20_RS12215	ACAGGTATAGTCCACT	-436			
	F3L20_RS08285	GCCGGTGGAGACCAGC	-253			
	F3L20_RS19540	ACCGGTGACCACCACC	-93			
12 are not listed here including F3L20_RS00275, F3L20_RS02960, F3L20_RS06515, F3L20_RS23860, F3L20_RS26780, F3L20_RS05055, F3L20_RS07510, F3L20_RS12560, F3L20_RS20495, F3L20_RS07685, F3L20_RS07860, F3L20_RS13795.						
Secondary metabolism (2)	F3L20_RS12480	CCTGGTGTTCACAAGC	-428			
	F3L20_RS18840	ACCCGTCCACACCTCT	-11			
Development (6)	F3L20_RS00150	ACTGGTCCAGACGCCA	-331			
	F3L20_RS18075	TCCCGTGTACACCAGT	23			
	F3L20_RS19405	ACTGGTGGACACCGTT	-351			
3 are not listed here including F3L20_RS01690, F3L20_RS00685, F3L20_RS24680.						
Transcription and translation (18)						
Transcriptional regulator (7)	F3L20_RS11890	AATGGTTTAGACCAGC	-274	sco5231	<i>dasR</i>	[22]
	F3L20_RS13300	CGCAGTCTAGACAAGT	-5			
	F3L20_RS22085	GTTGGTGTAGACCAAT	-64			
4 are not listed here including F3L20_RS11680, F3L20_RS17605, F3L20_RS01990, F3L20_RS10690.						
Ribosome (7)	F3L20_RS10910	AGAGGTCTAGACCACC	-431			
	F3L20_RS03475	TCCGGTGTGACATCC	12			
	F3L20_RS02150	ACCGGTCAACTCCACA	-110			
4 are not listed here including F3L20_RS03150, F3L20_RS07770, F3L20_RS08895, F3L20_RS10920.						
tRNA (3)	F3L20_RS07000	GATGGTTTAGACCAGT	-225	sco5550		[14]
	F3L20_RS00865	ACCGTCTAGACAACA	-36			
	F3L20_RS03185	ACCGCTGAACACCAGT	-200			
Others (60)	F3L20_RS00060	TGTGCTGTACGCAAGT	-69			
	F3L20_RS00065	AGTGGTGTTCATCTGA	-117			
	F3L20_RS00790	AGCGGTGTGCGCCACC	-99			
57 are not listed here including F3L20_RS03790, F3L20_RS03850, F3L20_RS04710, etc.						

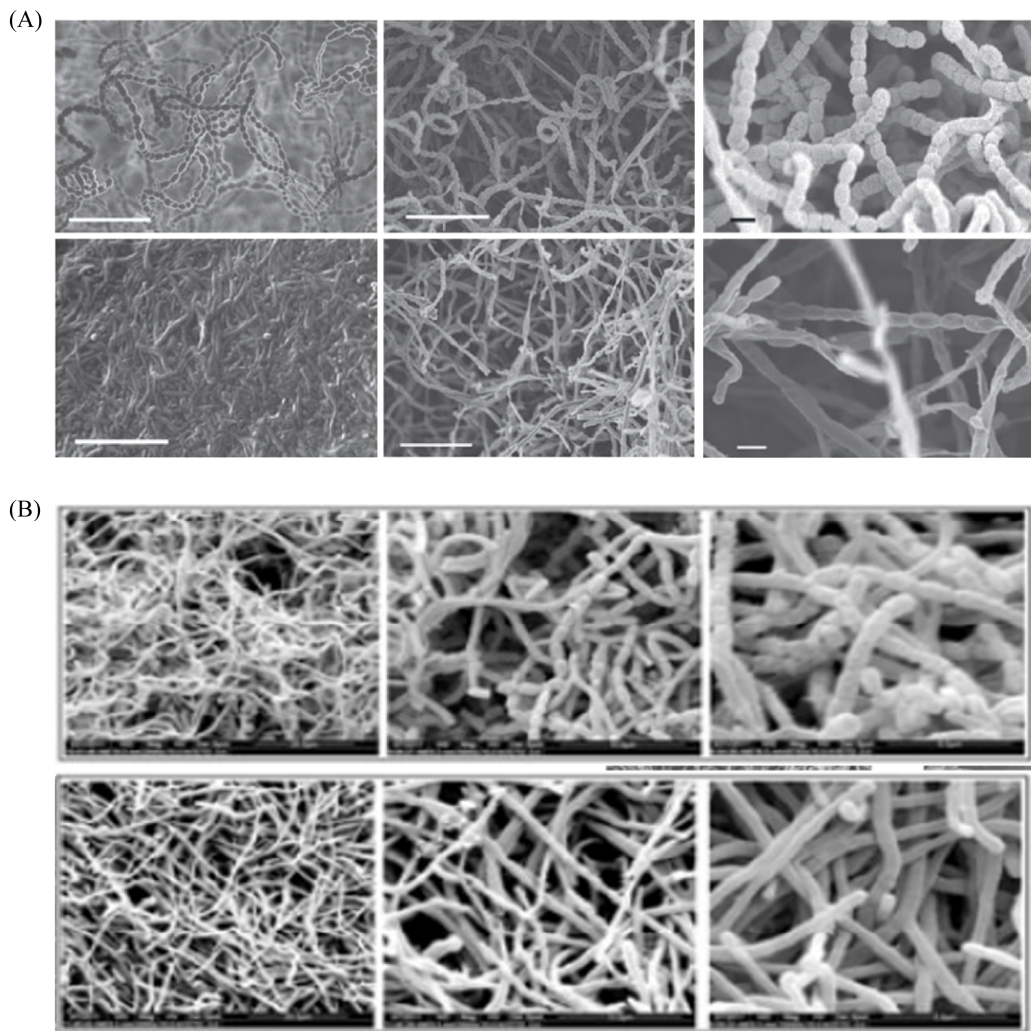


图 2 天蓝色链霉菌 M145 中敲除 *dasR*^[22]与链霉菌 139 敲除 *ste1* 的形态变化^[20]

Figure 2 Phenotype of *S. coelicolor* M145, BAP29, *Streptomyces* sp. 139 and *Streptomyces* sp. 139 D1. A: phenotype of *S. coelicolor* M145 and the *dasR* mutant BAP29; scanning electron micrographs of *S. coelicolor* M145 (above) and BAP29 (below). Bars: left and medium, 10 μm ; right, 1 μm . B: phenotype of *Streptomyces* sp. 139 and the *ste1* mutant *Streptomyces* sp. 139 D1; scanning electron micrographs of *Streptomyces* sp. 139 (above) and *Streptomyces* sp. 139 D1 (below). Bars: left, 5 μm ; medium, 2 μm ; right, 1 μm .

链霉菌次级代谢与其形态分化与营养状况密切相关, 抗生素产生往往开始于气生菌丝生长期, 此时营养菌丝体自溶降解使 GlcNAc 浓度升高, 在高浓度 GlcNAc 的贫乏培养基中也可观察到抗生素合成增加^[10]。GlcNAc 及其代谢衍生物可影响 DasR 与基因结合进而发挥调控作用, DasR 与链霉菌中许多已知的抗生素合

成基因簇均有结合, 如 *cpk*、*red*、*act*、*cda* 等, 其调节基因还包括所有与 GlcNAc 相关的分解代谢基因^[25]。在链霉菌中, DasR 结合次级代谢产物调控基因后, 通常起负调控作用, 敲除 *dasR* 后, 突变株抗生素合成增加。如在轮枝链霉菌 (*Streptomyces verticillus*) 中, DasR 缺陷突变株中目的产物博来霉素的产量相较于野生型有明

显著提高^[26], 在天蓝色链霉菌 *DasR* 缺陷突变株 BAP29 中观察到放线紫红素的产量明显提高^[22]。少数情况下, *DasR* 对抗生素产生起正调控作用: 如在肉桂链霉菌(*Streptomyces cinnamonensis*)中, *DasR* 能与途径特异性调控基因 *monRII* 和生物合成基因 *monAIX*、*monE* 和 *monT* 特异性结合, 并提高这些基因的转录水平, 从而促进莫能菌素的生物合成, 对莫能菌素的产生起到正调控作用^[27]; Liao 等^[28]在红色糖多孢菌中敲除 *dasR* 后, 红霉素生物合成基因簇表达虽未见显著差异, 但其生物合成的饲养途径相关基因 *SACE_1456-1459* 与 *SACE_5368-5340* 的表达显著下调, 说明 *dasR* 可促进红霉素生物合成过程中的前体供应, 敲除 *dasR* 后因前体供应不足进而间接导致红霉素产量显著下降, 一定程度上对红霉素生物合成也起到了正向调控作用。

3 *DasR* 联系营养感应和初级代谢

链霉菌广泛分布于土壤中, 土壤中复杂的营养环境和链霉菌的多细胞结构, 使其拥有复杂的营养感知和代谢调控系统。GlcNAc 与其多聚物壳多糖在土壤中极为丰富, 是自然界中仅次于纤维素, 含量最为丰富的有机质, 来自节肢动物的外骨骼和丝状真菌的细胞壁是链霉菌重要的碳源, 同时也可作氮源^[1]。GlcNAc 是连接 *DasR* 与初级代谢的重要物质。如图 3 所示, 土壤中的几丁质在酶的作用下分解成 GlcNAc 及其二聚体(GlcNAc)₂, 其中二聚体(GlcNAc)₂ 主要由 2 种特殊的 ABC 转运体进行吸收利用: *DasABC* 与 *NgcEFG*, 并在 *DasD* 的作用下变为单体 GlcNAc, 随后在 *NagK* 作用下磷酸化生成 GlcNAc-6P^[29]; 而胞外 GlcNAc 在链霉菌中主要

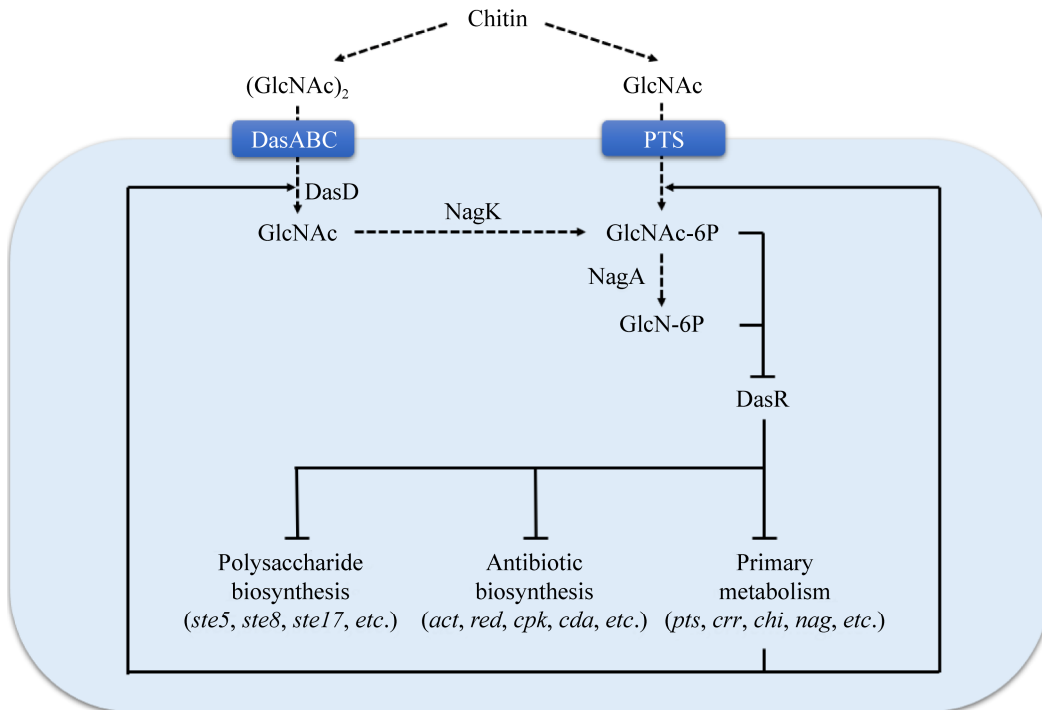


图 3 链霉菌中 *DasR* 调控模式图

Figure 3 Model of *DasR* regulating primary and secondary metabolism in *Streptomyces*. The dashed line indicates the metabolic relationship, and the solid line indicates the regulatory relationship, in which the arrow indicates promotion and the blunt end indicates inhibition.

通过 PTS 吸收, 并磷酸化生成 GlcNAc-6P。GlcNAc-6P 在 NagA 作用下去乙酰化生成 GlcN-6P^[30], GlcNAc-6P 和 GlcN-6P 均能作为效应分子与 DasR 结合, 并降低 DasR 与目标基因的亲和力。Rigali 等^[22]发现与 GlcNAc 吸收相关的基因 *ptsH*、*ptsI*、*crr* 均受 DasR 调控, (GlcNAc)₂ 的转运体合成基因簇 *dasABC* 与 *ngcEFG* 也受 DasR 调控, 且这些调控可由 GlcNAc 代谢产物 GlcN-6P 与 GlcNAc-6P 解除抑制作用, 由此形成完整的调节回路, DasR 作为代谢调节因子, 能够感知生存环境的营养状态, 维持营养生长, 直到生长环境营养缺少从而触发孢子形成。

碳代谢是链霉菌初级代谢中的重要部分, 磷酸烯醇丙酮酸羧激酶 (phosphoenolpyruvate carboxykinase, PEPCK) 是碳代谢中的关键酶, 连接三羧酸循环与糖酵解过程, 并且催化糖异生的第一步反应。在天蓝色链霉菌中, sRNA *scr5239* 抑制 PEPCK 生成。Engel 等^[15]发现, DasR 能够与其上游 *dre* 位点结合抑制其转录, 使细胞内 PEPCK 水平升高, 引起 PEP 水平升高, 使得摄入 GlcNAc 增加, 减弱 DasR 的抑制作用, 形成反馈回路调节系统。说明 DasR 在中心碳代谢中发挥着重要作用。

除链霉菌外, 在同属放线菌的红色糖多孢菌 (*Saccharopolyspora erythraea*) 的研究中发现, DasR 抑制 *acsA1* 转录, 此基因编码的乙酰辅酶 A 合成酶是红色糖多孢菌中碳代谢与氮代谢的关键酶, 说明 DasR 在放线菌碳代谢和氮代谢调控网络中发挥枢纽作用^[31], 在链霉菌中也可能存在类似的调控作用。

4 展望

在天蓝色链霉菌^[32]、变铅青链霉菌 (*Streptomyces lividans*)^[33]、灰色链霉菌^[34]、阿维链霉菌 (*Streptomyces avermitilis*)^[35] 公布的全基

因组序列中, 有约 20 个隐性次级代谢产物合成基因簇, 其中大多数尚未探明是否是抗生素合成基因簇。常规实验室条件下, 在富营养基质上的快速生长过程中, 大多数基因簇无法表达, 通过激活部分途径特异性调控基因和改变外环境营养状况可以激活部分沉默的次级代谢产物合成通路^[36-37]。DasR 作为全局调控蛋白, 调控多种途径特异性调控基因, 并且能对环境营养信号做出响应, 研究 DasR 的调控机制可能对激活隐性次级代谢产物合成基因簇具有重要意义。

本实验室^[20]在链霉菌 139 中敲除 *ste1* 基因后, 突变株表现出与 *dasR* 缺陷株相似的光秃表型, 不能观察到气生菌丝和孢子的产生, 并且胞外多糖依博素的产量得到提升。测序结果显示, *ste1* 与天蓝色链霉菌和灰色链霉菌中的 *dasR* 的序列一致性分别为 73% 和 75%。推测 Ste1 具有与 DasR 相似的全局调控作用, 其调控胞外多糖生物合成的方式可能与 DasR 调控抗生素合成类似, 并在形态分化和营养感应中发挥作用。本实验室已证实 Ste1 能与依博素合成基因簇中的 *ste1* 和 *ste5* 上游启动子区域结合, 首次将 DasR 调控蛋白与多糖生物合成联系起来, 后续实验将继续阐明 Ste1 在链霉菌中与多糖合成相关的调节通路, 完善链霉菌中次级代谢产物合成相关的调控网络, 以此帮助我们从小孢子菌中获得有应用价值的次级代谢产物。

参考文献

- [1] Urem M, Świątek-Połatyńska MA, Rigali S, Van Wezel GP. Intertwining nutrient-sensory networks and the control of antibiotic production in *Streptomyces*. *Molecular Microbiology*, 2016, 102(2): 183–195.
- [2] Santos-Beneit F, Rodríguez-García A, Martín JF. Overlapping binding of PhoP and AfsR to the promoter region of *glnR* in *Streptomyces coelicolor*. *Microbiological Research*, 2012, 167(9): 532–535.

- [3] Martín JF, Liras P. The balance metabolism safety net: integration of stress signals by interacting transcriptional factors in *Streptomyces* and related actinobacteria. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 10: 3120.
- [4] Van Der Heul HU, Bilyk BL, McDowall KJ, Seipke RF, Van Wezel GP. Regulation of antibiotic production in actinobacteria: new perspectives from the post-genomic era. *Natural Product Reports*, 2018, 35(6): 575–604.
- [5] Van Bergeijk DA, Terlouw BR, Medema MH, Van Wezel GP. Ecology and genomics of actinobacteria: new concepts for natural product discovery. *Nature Reviews Microbiology*, 2020, 18(10): 546–558.
- [6] Rigali S, Schlicht M, Hoskisson P, Nothhaft H, Merzbacher M, Joris B, Titgemeyer F. Extending the classification of bacterial transcription factors beyond the helix-turn-helix motif as an alternative approach to discover new *cis/trans* relationships. *Nucleic Acids Research*, 2004, 32(11): 3418–3426.
- [7] Rigali S, Derouaux A, Giannotta F, Dusart J. Subdivision of the helix-turn-helix GntR family of bacterial regulators in the FadR, HutC, MocR, and YtrA subfamilies. *Journal of Biological Chemistry*, 2002, 277(15): 12507–12515.
- [8] Fillenberg SB, Friess MD, Körner S, Böckmann RA, Muller YA. Crystal structures of the global regulator DasR from *Streptomyces coelicolor*: implications for the allosteric regulation of GntR/HutC repressors. *PLoS One*, 2016, 11(6): e0157691.
- [9] Tenconi E, Urem M, Świątek-Połatyńska MA, Titgemeyer F, Muller YA, Van Wezel GP, Rigali S. Multiple allosteric effectors control the affinity of DasR for its target sites. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2015, 464(1): 324–329.
- [10] Rigali S, Titgemeyer F, Barends S, Mulder S, Thomae AW, Hopwood DA, Van Wezel GP. Feast or famine: the global regulator DasR links nutrient stress to antibiotic production by *Streptomyces*. *EMBO Reports*, 2008, 9(7): 670–675.
- [11] Colson S, Stephan J, Hertrich T, Saito A, Van Wezel GP, Titgemeyer F, Rigali S. Conserved *Cis*-acting elements upstream of genes composing the chitinolytic system of streptomycetes are DasR-responsive elements. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*, 2007, 12(1/2): 60–66.
- [12] Nazari B, Kobayashi M, Saito A, Hassaninasab A, Miyashita K, Fujii T. Chitin-induced gene expression in secondary metabolic pathways of *Streptomyces coelicolor* A3(2) grown in soil. *Applied and Environmental Microbiology*, 2013, 79(2): 707–713.
- [13] Martín JF, Sola-Landa A, Santos-Beneit F, Fernández-Martínez LT, Prieto C, Rodríguez-García A. Cross-talk of global nutritional regulators in the control of primary and secondary metabolism in *Streptomyces*. *Microbial Biotechnology*, 2011, 4(2): 165–174.
- [14] Świątek-Połatyńska MA, Bucca G, Laing E, Gubbens J, Titgemeyer F, Smith CP, Rigali S, Van Wezel GP. Genome-wide analysis of *in vivo* binding of the master regulator DasR in *Streptomyces coelicolor* identifies novel non-canonical targets. *PLoS One*, 2015, 10(4): e0122479.
- [15] Engel F, Ossipova E, Jakobsson PJ, Vockenhuber MP, Suess B. sRNA *scr5239* involved in feedback loop regulation of *Streptomyces coelicolor* central metabolism. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 10: 3121.
- [16] Guo WW, Xu FY, Zhuang ZC, Liu Z, Xie JM, Bai LP. Ebosin ameliorates psoriasis-like inflammation of mice via miR-155 targeting *tnfaip3* on IL-17 pathway. *Frontiers in Immunology*, 2021, 12: 662362.
- [17] Zhang Y, Wang L, Bai L, Jiang R, Guo L, Wu J, Cheng G, Zhang R, Li Y. Effect of ebosin on modulating interleukin-1 β -induced inflammatory responses in rat fibroblast-like synoviocytes. *Cellular & Molecular Immunology*, 2016, 13(5): 584–592.
- [18] Wang LY, Li ST, Li Y. Identification and characterization of a new exopolysaccharide biosynthesis gene cluster from *Streptomyces*. *FEMS Microbiology Letters*, 2003, 220(1): 21–27.
- [19] 白利平, 李元. 链霉菌调控蛋白 DasRABC 的研究进展. *微生物学通报*, 2010, 37(9): 1369–1373.
- Bai LP, Li Y. Study of DasRABC in *Streptomyces*. *Microbiology China*, 2010, 37(9): 1369–1373. (in Chinese)
- [20] Bai LP, Qi XQ, Zhang Y, Yao C, Guo LH, Jiang R, Zhang R, Li Y. A new GntR family regulator *Stel* in *Streptomyces* sp. 139. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2013, 97(19): 8673–8682.
- [21] Ai LM, Geng MX, Ma M, Bai LP. Complete genome sequence of the ebosin-producing strain *Streptomyces* sp. 139. *Microbiology Resource Announcements*, 2019, 8(49): e01283–e01219.
- [22] Rigali S, Nothhaft H, Noens EEE, Schlicht M, Colson S, Müller M, Joris B, Koerten HK, Hopwood DA, Titgemeyer F, Van Wezel GP. The sugar phosphotransferase system of *Streptomyces coelicolor*

- is regulated by the GntR-family regulator DasR and links N-acetylglucosamine metabolism to the control of development. *Molecular Microbiology*, 2006, 61(5): 1237–1251.
- [23] Świątek-Połatyńska MA, Tenconi E, Rigali S, Van Wezel GP. Functional analysis of the N-acetylglucosamine metabolic genes of *Streptomyces coelicolor* and role in control of development and antibiotic production. *Journal of Bacteriology*, 2012, 194(5): 1136–1144.
- [24] Seo JW, Ohnishi Y, Hirata A, Horinouchi S. ATP-binding cassette transport system involved in regulation of morphological differentiation in response to glucose in *Streptomyces griseus*. *Journal of Bacteriology*, 2002, 184(1): 91–103.
- [25] Martín JF, Liras P. Cascades and networks of regulatory genes that control antibiotic biosynthesis. *Sub-Cellular Biochemistry*, 2012, 64: 115–138.
- [26] Chen H, Cui JQ, Wang P, Wang X, Wen JP. Enhancement of bleomycin production in *Streptomyces verticillus* through global metabolic regulation of N-acetylglucosamine and assisted metabolic profiling analysis. *Microbial Cell Factories*, 2020, 19(1): 32.
- [27] Zhang Y, Lin CY, Li XM, Tang ZK, Qiao JJ, Zhao GR. DasR positively controls monensin production at two-level regulation in *Streptomyces cinnamonensis*. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 2016, 43(12): 1681–1692.
- [28] Liao CH, Xu Y, Rigali S, Ye BC. DasR is a pleiotropic regulator required for antibiotic production, pigment biosynthesis, and morphological development in *Saccharopolyspora erythraea*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2015, 99(23): 10215–10224.
- [29] Colson S, Van Wezel GP, Craig M, Noens EEE, Nothaft H, Mommaas AM, Titgemeyer F, Joris B, Rigali S. The chitinase-binding protein, DasA, acts as a link between chitin utilization and morphogenesis in *Streptomyces coelicolor*. *Microbiology*, 2008, 154(2): 373–382.
- [30] Nothaft H, Rigali S, Boomsma B, Swiatek M, McDowall KJ, Van Wezel GP, Titgemeyer F. The permease gene *nagE2* is the key to N-acetylglucosamine sensing and utilization in *Streptomyces coelicolor* and is subject to multi-level control. *Molecular Microbiology*, 2010, 75(5): 1133–1144.
- [31] You D, Zhang BQ, Ye BC. GntR family regulator DasR controls acetate assimilation by directly repressing the *acsA* gene in *Saccharopolyspora erythraea*. *Journal of Bacteriology*, 2018, 200(13): e00685–e00617.
- [32] Bentley SD, Chater KF, Cerdeño-Tárraga AM, Challis GL, Thomson NR, James KD, Harris DE, Quail MA, Kieser H, Harper D, Bateman A, Brown S, Chandra G, Chen CW, Collins M, Cronin A, Fraser A, Goble A, Hidalgo J, Hornsby T, Howarth S, Huang CH, Kieser T, Larke L, Murphy L, Oliver K, O’Neil S, Rabinowitsch E, Rajandream MA, Rutherford K, Rutter S, Seeger K, Saunders D, Sharp S, Squares R, Squares S, Taylor K, Warren T, Wietzorrek A, Woodward J, Barrell BG, Parkhill J, Hopwood DA. Complete genome sequence of the model actinomycete *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Nature*, 2002, 417(6885): 141–147.
- [33] Cruz-Morales P, Vijgenboom E, Iruegas-Bocardo F, Girard G, Yáñez-Guerra LA, Ramos-Aboites HE, Pernodet JL, Anné J, Van Wezel GP, Barona-Gómez F. The genome sequence of *Streptomyces lividans* 66 reveals a novel tRNA-dependent peptide biosynthetic system within a metal-related genomic island. *Genome Biology and Evolution*, 2013, 5(6): 1165–1175.
- [34] Ohnishi Y, Ishikawa J, Hara H, Suzuki H, Ikenoya M, Ikeda H, Yamashita A, Hattori M, Horinouchi S. Genome sequence of the streptomycin-producing microorganism *Streptomyces griseus* IFO 13350. *Journal of Bacteriology*, 2008, 190(11): 4050–4060.
- [35] Ikeda H, Ishikawa J, Hanamoto A, Shinose M, Kikuchi H, Shiba T, Sakaki Y, Hattori M, Ōmura S. Complete genome sequence and comparative analysis of the industrial microorganism *Streptomyces avermitilis*. *Nature Biotechnology*, 2003, 21(5): 526–531.
- [36] Niu GQ, Chater KF, Tian YQ, Zhang JH, Tan HR. Specialised metabolites regulating antibiotic biosynthesis in *Streptomyces* spp.. *FEMS Microbiology Reviews*, 2016, 40(4): 554–573.
- [37] Kalkreuter E, Pan GH, Cepeda AJ, Shen B. Targeting bacterial genomes for natural product discovery. *Trends in Pharmacological Sciences*, 2020, 41(1): 13–26.

(本文责编 李磊)