

## 链霉菌真核型丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶的研究进展

杨旭<sup>1</sup>, 关东明<sup>1\*</sup>, 王胜兰<sup>2\*</sup>, 杨克迁<sup>2</sup>

(<sup>1</sup> 中国矿业大学化学与环境工程学院, 北京 100083)

(<sup>2</sup> 中国科学院微生物研究所, 北京 100101)

**摘要:** 简要回顾了丝/苏氨酸蛋白激酶在链霉菌中的发现过程, 详细介绍了链霉菌中几个研究较为深入的丝/苏氨酸蛋白激酶的功能, 同时对天蓝色链霉菌 *Streptomyces coelicolor* A3(2) 和除虫霉菌 *Streptomyces avermitilis* MA-4680 中的丝/苏氨酸蛋白激酶的跨膜种类和蛋白结构域特点作了初步的生物信息学分析。

**关键词:** 丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶; 链霉菌; 结构域; 调节

中图分类号: Q936 文献标识码: A 文章编号: 0001-6209(2008)01-0126-06

丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 (serine-threonine protein kinase, STPK) 是一类能使特定底物蛋白中丝氨酸或苏氨酸羟基磷酸化的酶。通过催化多种功能蛋白 (如酶、受体、运输蛋白、调节蛋白、核内蛋白等) 的磷酸化, STPK 可以改变功能蛋白的构象, 导致功能蛋白活性、性质的变化, 从而调节细胞多种生命活动过程。作为蛋白激酶大家族中的一员, STPK 过去曾被认为是真核生物所独有的, 大量的相关研究也集中在真核生物中。原核生物中蛋白 Ser/Thr 残基的磷酸化虽然在 70 年代末就以被发现, 却没有深入研究<sup>[1]</sup>。直至 1991 年, 人们从黄色粘球菌 *Myxococcus xanthus* 中发现了第一个真核型丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 Pkn1, 才正式揭开了原核生物中 STPK 研究的序幕<sup>[2]</sup>。之后, STPK 也在 *Streptomyces coelicolor* A3(2)<sup>[3]</sup>、鱼腥藻 *Anabaena strain PCC 7120*<sup>[4]</sup>、集胞藻 *Synechocystis sp. PCC 6803*<sup>[5]</sup>、革兰氏阳性无乳链球菌 *Streptococcus agalactiae*<sup>[6]</sup> 等原核生物中被发现。

链霉菌是一类高 G+C 含量并具有复杂的形态分化周期的革兰氏阳性细菌, 产生了自然界发现的约 60% 的抗生素和生理活性物质。链霉菌复杂的发育分化和丰富多彩的次生代谢, 暗示它具有不同层次的调控体系及不同类型的信号传导系统。许多可能的 STPK 在链霉菌基因组中被发现, 其功能研究将为我

们深入了解链霉菌的生命活动规律提供帮助。

### 1 链霉菌中丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶的发现

Hanks 等通过对大量真核生物蛋白激酶氨基酸序列的保守性分析发现: 蛋白激酶具有一个由 250~300 个氨基酸残基构成的功能域 (包括 12 个功能亚域), 折叠为一个催化核心结构<sup>[7]</sup> (Fig.1)。不同类型蛋白激酶的催化核心结构相似而又有差别, 这些差别主要集中在 I、II、III 亚域, 如: 第 I 区丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶的保守序列为: Asp-Leu-Lys-Pro-Glu-Asn。这一催化核心结构的发现, 为在其它生物中预测蛋白功能, 发现 STPK 提供了依据。根据 STPK 家族编码基因的特有保守序列, 是人们早期从链霉菌中发现和获得同源 STPK 的主要手段。

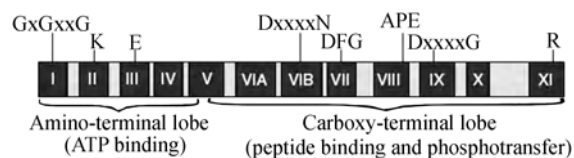


图 1 真核型蛋白激酶功能域

Fig. 1 The eukaryotic protein kinase catalytic domain. The 12 conserved subdomains are indicated by Roman numerals. The positions of amino-acid residues and motifs highly conserved throughout the eukaryotic protein kinase superfamily are indicated above the subdomains, using the single-letter amino-acid code with x as any amino acid.

\*通讯作者。Tel: +86-10-80946004; +86-10-64807457; Fax: +86-10-64807459; E-mail: gdm321@sina.com, wangsl@im.ac.cn

作者简介: 杨旭(1982-), 女, 湖南人, 硕士研究生, 主要从事天蓝色链霉菌次级代谢研究。E-mail: yxu39@126.com

收稿日期: 2007-04-06; 修回日期: 2007-07-06

AfsK 是第一个在链霉菌中发现的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶<sup>[8]</sup>。1994年, Matsumoto 等从 *S. coelicolor* 细胞裂解液中发现了一种能使全局调控蛋白 AfsR 的丝氨酸、苏氨酸残基磷酸化的蛋白激酶, 命名为 AfsK<sup>[8]</sup>。AfsK 的发现, 首次证明了 STPK 在链霉菌中的存在, 同时也引起了人们对链霉菌中 STPK 的关注。次年, Urabe 等人便以功能亚域、序列为依据设计引物, 通过 PCR 从 *S. coelicolor* 中扩增得到了两个 STPK 编码基因 *pkaA* 和 *pkaB*, 并对它们进行了蛋白表达和一系列体外功能分析<sup>[9]</sup>。而 Hiraka- ta 等人在 *pkaB* 的基础上, 又从 *S. coelicolor* 中发现除 *pkaA*、*pkaB* 和 *afsK* 外的 7 个可能的 STPK 基因<sup>[10]</sup>。以后, 这 7 个基因中有 4 个功能被进一步证实, 并命名为 *pkaD*、*pkaE*、*pkaF* 和 *pkaG*<sup>[11]</sup>。2000 年, *S. coelicolor* 中的另一个 STPK 编码基因 *pknA* 也被扩增出来<sup>[12]</sup>。

利用 PCR 的方法, 人们还从榴色链霉菌 *Streptomyces granaticolor*<sup>[13-15]</sup>、丰加链霉菌 *Streptomyces toyocaensis* NRRL 15009<sup>[16-17]</sup> 中先后发现了一系列的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶。此外, 通过放射性同位素标记探针做杂交实验, 在 *Streptomyces avermitilis*<sup>[18]</sup>、弗氏链霉菌 *Streptomyces fradiae*<sup>[19]</sup> 和山丘链霉菌 *Streptomyces collinus*<sup>[20]</sup> 中也有检测到 STPK 的报道。

一个里程碑意义的进展是链霉菌属的代表种 *S. coelicolor* 的全基因组测序于 2001 在英国剑桥 Sanger 中心完成并发表<sup>[21]</sup>。随后, 另一个有工业价值的种, *S. avermitilis* 的全基因组测序也发表<sup>[22]</sup>。利用生物信息学分析, 以已知 STPK (如 AfsK、PkaA) 的序列为引导进行 BLAST (<http://www.ncbi.nih.gov/blast>)<sup>[3]</sup>, 或者根据蛋白保守功能域进行种群分析 (<http://www.sanger.ac.uk/cgi-bin/Pfam/speciesdist.pl?acc=PF00069&id=Pkinase&depth=all>), 可以快速预测 STPK。利用这样的分析方法在基因数据库中, 发现链霉菌可能的 STPK 基因就有 78 个(表 1)。

表1 链霉菌中的丝/苏氨酸蛋白激酶  
Table 1 Serine/threonine protein kinases from *Streptomyces* sp.

Organism	Numbers	Entry name of UniProt	Gene names	Extra domains	References
<i>Streptomyces ambofaciens</i> ATCC 23877	1	Q1RQY2_STRAM			
<i>Streptomyces griseochromogenes</i>	1	Q841L9_9ACTO	<i>bls orf1</i>	LANC-like	
<i>Streptomyces fradiae</i>	1	Q45R68_STRFR		Peptidase-C14	
<i>Streptomyces violaceoruber</i>	1	Q9ZA50_STRVN	<i>gra-orf7</i>		
<i>Streptomyces toyocaensis</i>	1	PK1_STRTO	<i>stoPK-1</i>	PASTA	[17]
<i>Streptomyces granaticolor</i>	3	O54230_STRGT	<i>pkg2</i>	PQQ	[15]
		O54229_STRGT	<i>pkg3</i>	PQQ	[14]
		O54228_STRGT	<i>pkg4</i>	PQQ	[14]
<i>Streptomyces griseus</i>	4	AFSK_STRGR	<i>afsK</i>	PQQ	
		Q93L38_STRGR	<i>AmfT</i>	LANC-like	
		O32382_STRGR	<i>Pksg1</i>		
		O32383_STRGR	<i>Pksg2</i>		
<i>Streptomyces avermitilis</i> MA-4680	32				
<i>Streptomyces coelicolor</i> A3(2)	34				[3]

## 2 链霉菌中丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶的研究现状

### 2.1 与次生代谢相关的 AfsK 及其相关调控网络

AfsK 作为链霉菌中发现最早的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, 其功能及调控机制也研究得相对深入和透彻<sup>[23]</sup>。

在 *S. coelicolor* 中, *afsK* 上游有一个开放阅读框编码蛋白 KbpA, 可结合在非磷酸化的 AfsK 的具有激酶催化活性的 N 端, 抑制 AfsK 的丝氨酸/苏氨酸残基自我磷酸化<sup>[24]</sup>。接受外界信号刺激使 KbpA 与 AfsK 脱离后, AfsK 可通过自我磷酸化而被激活。

激活后的 AfsK 能够将细胞质中的 AfsR 蛋白的丝氨酸和苏氨酸残基磷酸化, 使 AfsR 的 DNA 结合能力增强。

AfsR 是 *S. coelicolor* 中放线紫红素、十一烷基灵菌红素及钙依赖型抗生素产生的顶端调控者<sup>[25]</sup>。AfsR 可结合在 *afsS* 的启动子区, 其 ATPase 活性是启动 *afsS* 转录所必需的。被磷酸化后的 AfsR 能够结合到 *afsS* 的启动子上形成一个封闭型的转录复合物, 并利用 ATP 水解释放出的能量, 将这个封闭型的转录复合物转变为开放的转录复合物, 从而诱导 *afsS* 的转录。整个过程中, AfsR 的 DNA 结合活性和 ATPase 活性都受丝氨酸/苏氨酸残基磷酸化的调

节<sup>[26]</sup>。诱导表达的 AfsS 能够激活途径特异性转录调控因子 *act II-ORF4* 和 *redD* 的转录, 进而引起放线紫红素和十一烷基灵菌红素的产生。

除了 AfsK, 目前发现的与 AfsK 相似性较高的 PkaG 和 AfsL, 在体外也能够将 AfsR 磷酸化<sup>[27]</sup>。因此也有人大胆推测, 链霉菌中其它与 AfsK 相似性较高的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶均能磷酸化 AfsR。AfsR 能够将这些蛋白激酶感受到的多个信号同时向细胞内部传导。

但是, 体外的实验并不一定能够反映菌体内的真实情况, 同一蛋白在不同菌种中的作用也未必相同, 相似性较高的蛋白未必行使的是相同的功能。如 AfsK/AfsR 系统在 *S. coelicolor* 中, 仅对次生代谢有调控作用, 而对其形态分化没有影响。但在灰色链霉菌 *S. griseus* 的 A 因子缺乏突变株 HHI 中表达 *S. coelicolor* 的 *afsK*, 可以扭转 *S. griseus* 因为 A 因子缺乏所产生的形态变化<sup>[28]</sup>。在这一发现的指引下, 人们在 *S. griseus* 中发现了控制其气生菌丝形成的 *afsK* 的同源基因 *afsK2* (同源性 74.5%)。 *afsK2* 中断不影响灰色链霉菌的链霉素产生, 但不形成气生菌丝, 说明 *afsK2* 只与形态分化有关<sup>[29]</sup>。由此可见, 同源性较高的蛋白激酶在不同的链霉菌中功能未必相同。我们推测, 链霉菌中的 STPK 必然在其生命过程中担当着多样的角色。

## 2.2 与气生菌丝形成相关的 RamC

RamC 是 *S. coelicolor* 中另一个功能研究较深入的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶。蛋白序列分析表明, RamC 的 N 端含有激酶的保守功能域, C 端为跨膜序列, 它可能是一个结合于细胞膜的受体激酶<sup>[30]</sup>。通过基因破坏发现, 它与链霉菌气生菌丝的形成密切相关。并且, 其作用过程需要 RamR、BldD 及 CprA 的共同参与<sup>[31]</sup>。目前的研究仅了解到, RamR 直接作用于 *ramC* 的启动子区域, 调节 *ramC* 的表达。此外, RamC 的激酶活性还与其二聚体的形成密切相关<sup>[32]</sup>。

## 2.3 与氧化胁迫或(及)葡萄糖代谢相关的 StoPK-1

StoPK-1 是 *S. toyocaensis* NRRL 15009 中发现的一个跨膜 STPK<sup>[17]</sup>。与真核生物 STPK 自身磷酸化 Ser 和 Thr 残基不同, 它的自身磷酸化只发生在 Thr 残基上, 这和 PkaA、PkaB 对 Thr 残基自身磷酸化的偏好相似<sup>[9]</sup>。人们曾猜测这也许是真核生物与原核生物丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶的差别之一。另外, 通过基因破坏及互补发现, StoPK-1 与 *S. toyocaensis* NRRL 15009 抗氧化胁迫或(及)葡萄糖代谢密切相关。虽然 StoPK-1 的具体作用机理还不明确, 但这一发现已经大大拓展了链霉菌中的 STPK 的调控功能范围。

由上列结果可以看出, 链霉菌中 STPK 对于次生代谢及细胞生长分化有调控作用。面对复杂多变的环境, STPK 可能在链霉菌的生长分化及细胞内信号传导起重要作用。

## 2.4 其它丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶

链霉菌中发现的其它丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶多是通过以 STPK 保守序列为依据 PCR 扩增或通过生物信息学分析预测出来的, 深入研究的并不多。少数表达得到后的蛋白, 只经过了体外的自身磷酸化验证及简单的生物信息学功能预测, 还没有深入开展蛋白质相互作用的研究。目前, 证实了能够发生体外自身丝/苏氨酸残基磷酸化的蛋白除了前面提到的蛋白激酶外, 还包括 *S. coelicolor* 中 PkaA、PkaB、PknA、PkaE 和 PkaG, *S. granaticolor* 中的 Pkg2 和 Pkg4 及 *S. toyocaensis* NRRL 15009 中 StoPK-2、StoPK-3 和 StoPK-4 等。

## 3 讨论

蛋白质的结构与功能是密切相关的。目前 STPK 功能仅定性为它们对细菌生长分化或环境适应性的调控, 大部分 STPK 的功能还是未知的。为了更好了解 STPK 在细菌生命活动中扮演的角色, 已经有人开始从蛋白结构和功能域组成方面预测蛋白的功能<sup>[3, 33]</sup>。我们也用生物信息学手段对全基因组序列明确的 *S. coelicolor* 和 *S. avermitilis* MA-4680 中编码 STPK 的基因进行了分析。

在做跨膜区(Transmembrane, TM)预测时, 使用的是 TMHMM-2.0(<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM-2.0>), 并以 DAS (<http://www.sbc.su.se/~miklos/DAS>)进行了补充(表 2)。分析表明, *S. Coelicolor* 和 *S. avermitilis* 中大部分 STPK 均含有 TM 区, 二者中不含 TM 的 STPK 仅各占其总 STPK 的 17.6%和 12.5%。

表 2 天蓝色链霉菌和除虫霉菌中丝/苏氨酸蛋白激酶的跨膜区预测





Table 2 Transmembrane regions predicted in STPKs of *S. coelicolor* A3(2) and *S. avermitilis*

Strains	T	D	-	TOTAL
<i>Streptomyces coelicolor</i> A3(2)	15	13	6	34
<i>Streptomyces avermitilis</i> MA-4680	12	16	4	32

此外, 通过保守功能域的分析(<http://www.Sanger.ac.uk/Software/Pfam>)发现, *S. Avermitilis* MA-4680 中编码 STPK 的基因比 *S. Coelicolor* 中的明显要短, 因此包含的其它功能域相对要少(表 3)。但是对于一些大蛋白, 除了 STPK 的保守功能域外, 还可

表3 天蓝色链霉菌和除虫霉菌中丝/苏氨酸蛋白激酶的结构域分析

Table 3 Domain structure analysis of STPKs in *S. coelicolor* and *S. avermitilis*

		Gene codes	Domain structure types
No Extra domain			
	PASTA	SCO2110; SCO3821; SCO3848; SAV4338; SAV4371; SAV6092	
Repeats	PQQ	SCO3344; SCO4423; SAV3816; SAV4717	
	TPR	SCO2666; SCO7240; SAV1265	
Have extra domain	WD-40	SCO2244	
	Ricin-B-lectin	SCO4481; SCO4488	
	LamGL	SCO4487	
	PG-binding	SCO4817	
	SBP-bac-3	SCO4911	
	DnaJ-C	SAP1p31	
	Peptidase-C14	SCO6861	

能含有其它与激酶活性无关的特殊结构域。其中, 大部分 STPK 的保守功能域位于蛋白的 N 端, 其它保守功能域位于蛋白的 C 端, 如重复序列 WD40 (WD or beta-transducin repeats, PF00400)、TPR (Tetrza tricopeptide repeat, PF07721、PF00515)、PQQ (Pyrroloquinoline quinone enzyme repeat, PF01011)、PASTA (Penicillin-binding proteins and Serine/Threonine kinase Associated domain, PF03793)、Ricin-B-lectin (Ricin-type beta-trefoil lectin domain, PF00652)、LamGL (LamG-like jellyroll fold domain, SM00560)、PG-binding (Putative peptidoglycan binding domain, PF01471)、SBP-bac-3 (Bacterial extracellular solute-binding proteins family 3, PF00497)、DnaJ-C (DnaJ C terminal region, PF01556) 等。但是, SCO6861 是个例外, 该蛋白的 N 端是 Peptidase-C14 (Caspase domain, PF00656) 结构域, 而 STPK 的保守功能域位于蛋白的 C 端。

以上结构信息给我们提出了指示, 为我们对蛋白如何行使具体功能提供了想像空间。比如, STPK 中高频 TM 区的出现是否说明他们的功能发生在膜上, 是膜上的受体激酶呢? 又如, WD、TPR 和 PQQ 等重复序列在真核生物蛋白质相互作用中扮演着重要的角色, 在链霉菌中又是否如此呢?

就目前的研究进展看, 整个原核生物中 *M. xanthus* STPK 研究起步最早也最为深入<sup>[34]</sup>, 而链霉菌中只有一个 AfsK 的研究是比较深入的。我们虽然知道 STPK 对于链霉菌的形态分化及次生代谢具有重要的调控作用, 但对其具体的途径、调控方式还了解

得太少。随着全基因组测序的完成, 生物信息学分析必将为我们进一步研究 STPK 功能的提供有力支持。

### 参 考 文 献

- [1] Wang JY, Koshland DE Jr. Evidence for protein kinase activities in the prokaryote *salmonella typhimurium*. *J Biol Chem*, 1978, 253(21): 7605-7608.
- [2] Muñoz-Dorado J, Inouye S, Inouye M. A gene encoding a protein serine/threonine kinase is required for normal development of *M. xanthus*, a gram-negative bacterium. *Cell*, 1991, 67(5): 995-1006.
- [3] Petř í čkov á K, Petř í ček M. Eukaryotic-type protein kinases in *Streptomyces coelicolor*: variations on a common theme. *Microbiology*, 2003, 149(7): 1609-1621.
- [4] Gonzalez L, Phalip V, Zhang CC. Characterization of PknC, a Ser/Thr kinase with broad substrate specificity from the cyanobacterium *Anabaena sp. strain PCC 7120*. *Eur J Biochem*, 2001, 268(6): 1869-1875.
- [5] Han G, Zhang CC. On the origin of Ser/Thr kinases in a prokaryote. *FEMS Microbiol Lett*, 2001, 200(1): 79-84.
- [6] Rajagopal L, Vo A, Silvestroni A, et al. Regulation of purine biosynthesis by a eukaryotic-type kinase in *Streptococcus agalactiae*. *Mol Microbiol*, 2005, 56(5): 1329-1346.
- [7] Hanks SK. Genomic analysis of the eukaryotic protein kinase superfamily: a perspective. *Genome Biol*, 2003, 4(5): 111.
- [8] Matsumoto A, Hong SK, Ishizuka H, et al. Phosphorylation of the AfsR protein involved in secondary metabolism in *Streptomyces* species by a eukaryotic-type protein kinase. *Gene*, 1994, 146(1): 47-56.

- [9] Urabe H, Ogawara H. Cloning, sequencing and expression of serine/threonine kinase -encoding genes from *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Gene*, 1995, 153(1): 99–104.
- [10] Hirakata T, Kieser H, Hopwood D, *et al.* Putative protein serine/threonine kinase genes are located in several positions on the chromosome of *Streptomyces coelicolor* A3(2). *FEMS Microbiol Lett*, 1998, 159(1): 1–5.
- [11] Ogawara H, Aoyagi N, Watanabe M, *et al.* Sequences and evolutionary analyses of eukaryotic-type protein kinases from *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Microbiology*, 1999, 145(12): 3343–3352.
- [12] Petř í čkov á K, Tichý P, Petř í ček M. Cloning and Characterization of the *pknA* Gene from *Streptomyces coelicolor* A3(2), Coding for the Mn<sup>2+</sup> Dependent Protein Ser/Thr Kinase. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, 279(3): 942–948.
- [13] Janeček J, Moravec V, Dobrová Z, *et al.* Protein phosphorylation in submerged spores and vegetative mycelium of *Streptomyces granaticolor*. *FEMS Microbiol Lett*, 1995, 133(1–2): 91–94.
- [14] Vomastek T, Nádorník R, Janeček J, *et al.* Characterisation of two putative protein Ser/Thr kinases from actinomycete *Streptomyces granaticolor* both endowed with different properties. *Eur J Biochem*, 1995, 257(1): 55–61.
- [15] Nádorník R, Vomastek T, Janeček J, *et al.* Pkg2, a novel transmembrane protein Ser/Thr kinase of *Streptomyces granaticolor*. *J Bacteriol*, 1999, 181(1): 15–23.
- [16] Neu JM, Wright GD. Inhibition of sporulation, glycopeptide antibiotic production and resistance in *Streptomyces toyocaensis* NRRL 15009 by protein kinase inhibitors. *FEMS Microbiol Lett*, 2001, 199(1): 15–20.
- [17] Neu JM, MacMillan SV, Nodwell JR, *et al.* StoPK-1, a serine/threonine protein kinase from the glycopeptide antibiotic producer *Streptomyces toyocaensis* NRRL 15009, affects oxidative stress response. *Mol Microbiol*, 2002, 44(2): 417–430.
- [18] Elizarov SM, Gavrulina AV, Danilenko VN. Modulation of Serine/Threonine Protein Kinase Activity in Chloramphenicol-Resistant Mutants of *Streptomyces avermitilis*. *Mol Biol(Mosk)*, 2004, 38(3): 394–403.
- [19] Elizarov SM, Danilenko VN. Multiple phosphorylation of membrane-associated calcium-dependent protein serine/threonine kinase in *Streptomyces fradiae*. *FEMS Microbiol Lett*, 2001, 202(1): 135–138.
- [20] Mikulík K, Suchan P, Bobek J. Changes in Ribosome Function Induced by Protein Kinase Associated with Ribosomes of *Streptomyces collinus* Producing Kirromycin. *Biochem Biophys Res Commu*, 2001, 289(2): 434–443.
- [21] Bentley SD, Chater KF, Cerdeno-Tarraga AM, *et al.* Complete genome sequence of the model actinomycete *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Nature*, 2002, 417(6885): 141–147.
- [22] Ikeda H, Ishikawa J, Hanamoto A, *et al.* Complete genome sequence and comparative analysis of the industrial microorganism *Streptomyces avermitilis*. *Nat Biotechnol*, 2003, 21(5): 526–531.
- [23] Umeyama T, Lee PC, Horinouchi S. Protein serine/threonine kinases in signal transduction for secondary metabolism and morphogenesis in *Streptomyces*. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2002, 59(4–5): 419–425.
- [24] Umeyama T, Horinouchi S. Autophosphorylation of a bacterial serine/threonine kinase, AfsK, is inhibited by KbpA, an AfsK binding protein. *J Bacteriol*, 2001, 183(19): 5506–5512.
- [25] Floriano B, Bibb M. *afsR* is a pleiotropic but conditionally required regulatory gene for antibiotic production in *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Mol Microbiol*, 1996, 21(2): 385–396.
- [26] Lee PC, Umeyama T, Horinouchi S. *afsS* is a target of AfsR, a transcriptional factor with ATPase activity that globally controls secondary metabolism in *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Mol Microbiol*, 2002, 43(6): 1413–1430.
- [27] Sawai R, Suzuki A, Takano Y, *et al.* Phosphorylation of AfsR by multiple serine/threonine kinases in *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Gene*, 2004, 334: 53–61.
- [28] Ueda K, Umeyama T, Beppu T, *et al.* The aerial mycelium-defective phenotype of *Streptomyces griseus* resulting from A-factor deficiency is suppressed by a Ser/Thr kinase of *S. coelicolor* A3(2). *Gene*, 1996, 169(1): 91–95.
- [29] 高瑾, 姜卫红, 焦瑞身. 原核生物中的信号传导与次生代谢. 国外医药抗生素分册, 2001, 22(6): 269–273.
- [30] Hudson ME, Zhang DC, Nodwell JR. Membrane association and kinase-like motifs of the RamC protein of *Streptomyces coelicolor*. *J Bacteriol*, 2002, 184(17): 4920–4924.
- [31] O'Connor TJ, Kanellis P, Nodwell JR. The *ramC* gene is required for morphogenesis in *Streptomyces coelicolor* and expressed in a cell type-specific manner under the direct control of RamR. *Mol Microbiol*, 2002, 45(1): 45–57.
- [32] Hudson ME, Nodwell JR. Dimerization of the RamC Morphogenetic Protein of *Streptomyces coelicolor*. *J Bacteriol*, 2004, 186(5): 1330–1336.
- [33] Krupa A, Srinivasan N. Diversity in domain architectures of Ser/Thr kinases and their homologues in prokaryotes. *BMC Genomics*, 2005, 6: 129.
- [34] Lux R, Shi W. A novel bacterial signalling system with a combination of a Ser/Thr kinase cascade and a His/Asp two component system. *Mol Microbiol*, 2005, 58(2): 345–348.

## An update of *Streptomyces* eukaryotic-type Ser/Thr protein kinases—A Review

Xu Yang<sup>1</sup>, Dongming Guan<sup>1\*</sup>, Shenglan Wang<sup>2\*</sup>, Keqian Yang<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>China University of Mining and Technology, School of Chemical and Environmental Engineering, Beijing 100083, China)

(<sup>2</sup>Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

**Abstract:** We review briefly the strategies and processes to identify Ser/Thr protein kinases from *Streptomyces* spp. and discussed in detail the functions of well studied Ser/Thr protein kinases, such as the AfsR-kinase(AfsK). We used bioinformatic methods to predict transmembrane regions in Ser/Thr protein kinases of *S. coelicolor* A3(2) and *S. avermitilis*. The complete sets of Ser/Thr protein kinases from genomes of *Streptomyces coelicolor* A3(2) and *Streptomyces avermitilis* MA-4680 were categorized based on domain analyses.

**Keywords:** Ser/Thr protein kinases ; *Streptomyces*; domain; regulation

\*Corresponding author: Tel: +86-10-80946004; +86-10-64807457; E-mail: gdm321@sina.com, wangsl@im.ac.cn

Received: 6 April 2007/Revised: 6 July 2007

### 答 作 者 问

问：我想发表一篇关于生物降解的文章，菌株是自己筛选的，现在只做了 16S rDNA 的鉴定(自己实验室)，请问必须要到相关部门(如北微所)做生理生化鉴定并具备有效国家证明才能在贵刊发表该菌株的相关文章吗？

答：对于您提出的问题，编辑部分 3 点回答您，请您作参考。

- (1) 关于菌种鉴定的文章必须两个要点，要么是新种，要么是已知菌但是要有新的特殊的应用价值。
- (2) 如果您实验室筛选到了一株菌，并发表文章，不必到权威部门再做测试，只是你们实验室的结果就行，但是如果是新种必须满足以下两条：一是作一下 16S rDNA 的鉴定，二是要在两个国家以上的菌种保藏中心进行保藏。
- (3) 2004 年 11 月，本刊主编建议：为了使我国的研究成果得到国际公认，建议作者将发现新种的研究报告尽快改投国外期刊“IJSEM”，以取得公认。待发表后，再告知本刊，由《微生物学报》将此消息公布。

问：如何构建系统发育树？

答：构建系统树是为了鉴定菌株的分类学地位，应使用正确的方法重新构树，制作方法如下：

- (1) 将鉴定菌的 16S rRNA 序列递交 GenBank，用 Blast 软件搜索相似的 16S rRNA，然后一起构树。
- (2) 构建树时采用能反应分支长度的软件(如 NJ 法)，并用 Boostrap 值分析分支聚类的稳定性。
- (3) 系统发育分析应该用国际上较为通用的一些建树方法，如 Neighbour-Joining 等，这样结果就更为可靠，更直观。
- (4) 请严格按照下列具体要求写作[参见：微生物学报，2004，44(2): 143.]
  - ①系统树中：菌名应列出全称，且属和种名应斜体；名称后再加括号，其内含序列号。
  - ②图注(本刊的图注全部采用英文写作)：应表明“树”上所有的内容，包括：括号中的序号、分支点上的数字涵义、0.01代表的意义。
  - ③作图要求：文件格式为\*.Tif；分辨率为 600 线；字体为“Time New Roman”，字号为 7 磅。