

微生物学报 *Acta Microbiologica Sinica*
49(4):411-416; 4 April 2009
ISSN 0001-6209; CN 11-1995/Q
<http://journals.im.ac.cn/actamicrocn>

微生物次生代谢的分子调控

王琳淇, 谭华荣*

(中国科学院微生物研究所, 北京 100101)

摘要 微生物次生代谢产物在工业、农业和医药方面具有重要的应用价值, 因此其合成调控长期以来倍受关注。近些年的研究表明, 次生代谢产物的生物合成往往与产生菌的生理和发育状态紧密相关, 其合成过程错综复杂, 形成了多水平的调控网络。在目前所知的一万多种天然抗生素中, 约 60% 以上是链霉菌产生的。因此, 本文主要以链霉菌产生的次生代谢产物为主线, 以有突出进展的几种抗生素的研究为代表来介绍近年来抗生素生物合成中分子调控的相关进展, 并对未来次生代谢合成调控的发展方向提出一点建议。

关键词: 微生物; 次生代谢; 分子调控

中图分类号: Q935, Q933 文献标识码: A 文章编号: 0001-6209(2009)04-0411-06

1928 年弗莱明发现了青霉素, 开创了微生物次生代谢的先河。在青霉素发现后的 80 多年里, 次生代谢产物在医药、农业、卫生、食品安全等方面起到了具有深远意义的影响, 这种影响也赋予了它们巨大的商业价值。据统计, 在目前所报道的次生代谢产物中, 来源于链霉菌属的就占到 60% 以上。这也使得链霉菌属被作为次生代谢合成调控的模式得到了深入的研究。本文对有关最新进展进行介绍, 希望有助于读者对本领域的了解。

1 小分子化合物激发了次生代谢合成调控的起始

1.1 (p)ppGpp 的调控

1986 年, Ochi 等人发现, 在淡紫灰色链霉菌中随着氨基酸饥饿诱发的 ppGpp 的积累, 间型霉素 (Formycin) 的产量提高了近 8 倍^[1], 而 ppGpp 合成相关基因 *relC* (编码核糖体蛋白 L11) 的突变则导致 ppGpp 对氨基酸饥饿反应能力的丧失, 进而导致了间型霉素合成能力的失去。Matinez-Costa 等从天蓝

色链霉菌中克隆到 (p)ppGpp 合成酶基因 *relA*, *relA* 缺失突变株在氮源限制的条件下丧失了放线紫红素 (Act) 和十一烷基灵菌红素 (Red) 的合成能力^[2], 然而棒状链霉菌中 *relA* 的缺失导致克拉维酸和头孢霉素 C 的增产^[3], 与 *relA* 在天蓝色链霉菌中的功能完全相悖。这表明 ppGpp 对次生代谢的调控具有明显的种间特异性。这可能与次生代谢产物的合成所需的生境有关。

1.2 无机磷酸盐参与的调控

与 ppGpp 不同, 无机磷酸盐不属于生理信号而是一种环境信号。西班牙 Martín 小组发现, 过量的无机磷酸盐普遍地阻止了次生代谢产物的合成^[4]。与无机磷酸盐调控相关的双组份调控系统 *phoR-phoP* 的缺失不仅导致了天蓝色链霉菌中 Act 和 Red 大量合成, 还严重削弱了碱性磷酸酶的活性并且强烈地抑制低磷酸盐浓度下磷酸盐的转运, 因此可以推测体内存在极低浓度的磷酸盐, 这被认为是 Act 和 Red 产量提高的主因^[5]。然而 *phoP-phoR* 的阻断突变株在高浓度无机磷酸盐存在的情况下, 仍抑制

基金项目: 国家 973 项目 (2009CB118905) 国家自然科学基金 (30430030, 30870041)

* 通信作者。Tel: +86-10-64807461; E-mail: tanhr@im.ac.cn

作者简介: 王琳淇 (1980 -) 男, 吉林人, 博士研究生, 研究方向微生物遗传学。E-mail: wanglq98@sohu.com

收稿日期: 2009-02-20

两种抗生素的产生,这说明很可能内源磷酸盐本身就可以抑制次生代谢产物的合成。

1.3 γ -丁酸内酯的调控

与前面介绍的胞内生理信号和胞外环境信号不同,群感效应因子 γ -丁酸内酯更像是菌体间用于交流的“语言”。事实上,大多数 γ -丁酸内酯都是专一负责调控次生代谢而不影响产生菌的发育分化。例如,天蓝色链霉菌中 γ -丁酸内酯(SCB-1)的合成基因*scbA*的缺失虽导致了Act和Red的显著增产,但对菌体的发育分化却没有影响^[6]。反倒是第一个被发现的 γ -丁酸内酯(A因子)^[7]是一个特例。在灰色链霉菌中,A因子不仅对菌体的分化起到重要影响而且与链霉素生物合成起始有密切关系。最近,日本科学家Horinouchi等人通过一系列的生化实验确定了A因子限速合成酶是AfsA^[8],而其合成是经由两条合成途径催化完成的。A因子在合成以后通过结合A因子受体ArpA从而解除了其对AdpA的抑制。而大量表达的AdpA直接激活了链霉素的途径特异性激活子*strR*,进而开启了链霉素合成基因簇的表达^[9]。与ArpA一样,大多数 γ -丁酸内酯受体对次生代谢的合成调控都扮演着抑制子的角色。然而SpbR在对原始霉素(pristinamycin)的调控中却起到了激活子的作用^[10]。最近在圈卷产色链霉菌中SpbR的同源体SabR同样也被证实参与激活尼可霉素途径特异性激活子基因*sanG*的转录(潘园园个人交流)。尽管两者呈现了明显的趋异进化特征,它们仍与其他的受体蛋白一样对菌群次生代谢合成的同步性行使了调节。

在公布的链霉菌基因组中,都蕴含着若干个类似 γ -丁酸内酯受体蛋白的编码基因^[11],这不禁使人疑惑:它们是否可以结合相同的配体?事实上,维吉尼亚链霉菌(*Streptomyces virginiae*)中 γ -丁酸内酯受体蛋白BarA的同源体BarB就不能结合VB^[12]。而最近BarB在委内瑞拉链霉菌中的同源体JadR2被证明可以与其调控的jadomycin B直接结合(本文作者未发表的结果),这似乎可以部分解释基因组中“多余”类似 γ -丁酸内酯受体编码基因的存在。

1.4 N-乙酰葡萄糖胺参与的调控

大量证据表明,细菌的发育分化与本身的程序化死亡密不可分。而6-磷酸葡萄糖胺信号通路的发现,不仅在分子水平上揭示了链霉菌发育分化和次生代谢的关联,同时首次将原核生物的程序性死亡与次生代谢产物合成之间建立了桥梁^[13]。2008年,Wezel等人发现在丰富培养基中添加外源的N-

乙酰葡萄糖胺不仅可以阻断天蓝色链霉菌的发育分化,同时极大地促进了Red和Act的合成。事实上N-乙酰葡萄糖胺是合成细胞壁的重要前体物质。而它的大量积累也仅仅发生在基质菌丝向气生菌丝分化的阶段。此时大量的基质菌丝程序化死亡,通过自身裂解为新生菌体的增殖提供养分。而细胞壁的降解则造成了N-乙酰葡萄糖胺的大量积累。新生成的N-乙酰葡萄糖胺被转运蛋白运输到气生菌丝内部,经过一系列的酶促反应之后生成了6-磷酸葡萄糖胺。6-磷酸葡萄糖胺可以作为配体,致使抑制蛋白DasR从*actII-ORF4*和*redZ*的启动子上脱离,从而促进了Act和Red的大量合成。

2 环境压力激活“沉默”次生代谢产物的合成

在已经公布的天蓝色链霉菌、阿维链霉菌和灰色链霉菌的基因组中,超过20个甚至30多个隐性次生代谢产物生物合成基因簇(cryptic secondary metabolite biosynthetic gene cluster)被发现^[14-15]。这个数量要远远高于已经鉴定的次生代谢产物的数量。现在普遍认为,多数的隐性次生代谢产物生物合成基因簇保持着沉默状态,它们的激活与环境信号密切相关。

杰多霉素(jadomycin B)是委内瑞拉链霉菌ISP5230产生的一种非典型的角萜环类抗生素。并且也是链霉菌属中第一例被报道的环境压力依赖的抗生素。它只有在热激或乙醇刺激的情况下才能大量合成。杰多霉素合成基因簇中包含了激活基因(*jadR1*)、阻遏基因(*jadR2*)以及 γ -丁酸内酯合成基因(*jadW1*, 2, 3)。Yang等人发现*jadR2*突变株中杰多霉素的合成并不依赖环境压力^[16]。并且在委内瑞拉链霉菌野生型中引入一个*jadR1*的拷贝也能得到相似的结果^[17]。这似乎暗示了环境压力通过复杂的调控网络与杰多霉素的生物合成调控相联系。

3 次生代谢调控中一些重要蛋白家族

3.1 SARP 家族

次生代谢产物生物合成通常包括一系列的生化反应,涉及几十个基因。为了保证它们表达的同步性,这些基因往往成簇排列。在大部分次生代谢产物生物合成基因簇中都至少含有一个调控基因^[18]。由于绝大多数这类调控基因是专一地调控基因簇中相关基因的转录,因而它们编码的产物被称为途径特异性调控子。它们是次生代谢调控的最基础的执

行者。而在它们之中研究最透彻的当属 SARP 家族蛋白。SARP 家族蛋白主要存在于链霉菌中,在其他的放线菌中亦有发现。

SARP 家族蛋白具有鲜明的特征。它们无一例外的扮演着激活子的角色并且都含有两个特征结构域 - OmpR DNA 结合结构域和细菌转录激活结构域 (BTAD)^[19]。在圈卷产色链霉菌中,尼可霉素的途径特异性激活子 SanG 就是一个典型的 SARP 家族成员^[20]。它的缺失使尼可霉素合成基因簇中 3 个转录单元中的两个不能转录,从而导致尼可霉素不能生物合成。有趣的是, *sanF-X* 转录单元的转录激活似乎与 SanG 无关。这说明在尼可霉素的合成调控中除了 SanG 之外还需要其他激活子的参与。而增加次生代谢调控基因的拷贝数可以有效地提高抗生素的产量。事实上,引入多拷贝的 *sanG* 被证明只能选择性的提高尼可霉素 X 组分的产量而对 Z 组分影响不大^[20]。不只是 SanG,为了保证次生代谢产物经济的合成,很多途径特异性调控子在保证基因转录同步性的同时往往又对其提供一定的选择性。在泰勒霉素的调控中^[21], Cundliffe 等人就发现途径特异性激活子 TylR 只能选择性的激活基因簇中 43 个基因中的 13 个。并且其突变株仍然可以进行聚酮代谢。

到目前为止,报道的大多数 SARP 都是途径特异性调控子。然而 AfsR 却是一个特例。含有 993 个氨基酸的 AfsR 不仅在 N 端有 SARP 类家族的两个特征结构域,还含有可以结合 ATP 的保守 motif,并且在 C 端还包含了蛋白互作相关的 TPR 重复区^[19]。通过磷酸化介导的信号转导作用, AfsR 将若干生理和环境信号进行整合^[22],并同时对抗生素进行调控。因此 AfsR 被认为是一个多效调控子。据 Horinouchi 等人报道, AfsR 的磷酸化对于其 DNA 结合功能至关重要^[22]。而它的高能磷酸基团则主要来自于酪氨酸激酶 - AfsK^[23]。位于膜上的 AfsK 感受外界信号进行自磷酸化,自磷酸化的 AfsK 将高能磷酸基团转移到 AfsR 上,而磷酸化以后的 AfsR 呈现出更高的 DNA 结合活性,从而开启了 *afsS* 的转录^[19]。虽然只编码 64 个氨基酸的 *afsS* 功能尚未确定。但它的存在可以显著地增强 Act、Red 和钙依赖抗生素 (CDA) 的合成。除 AfsK 以外,激酶 PkaG 和 AfsL 同样也可以磷酸化 AfsR^[24]。由此也解释了 AfsR 是如何对多种环境信号进行整合的。由于 AfsR 含有 ATP 结合 motif,而这就将 AfsR 的活性与细胞的能量状态建立联系。然而 ATP 的结合并没

有改变 AfsR 的 DNA 亲和力,因此 ATP 的结合和水解被认为可能与 AfsR 与 RNAP 的开放型启动子复合物的形成有关^[19]。与 AfsR 不同,另一个含有 ATP 酶结构域的 SARP 蛋白 SanG 却被证实借助结合 ATP 改变其对 DNA 的亲和力(何希宏个人交流)。尽管两者可能存在机制上的差别,然而它们无疑都可以作为“能量传感器”,在细胞体内的能量信号和次生代谢调控之间建立桥梁。

3.2 应答调控蛋白

除了 SARP 家族的蛋白以外,应答调控蛋白是另一类可以直接参与调控次生代谢生物合成的多效或途径特异性调控蛋白。而根据接受磷酸基团的氨基酸残基保守与否,它们可以被分为两类:典型应答调控子 (RR) 和非典型应答调控子 (ARR)^[25]。

absA1A2 基因负责编码一个经典的双组份调控系统,在天蓝色链霉菌中它们是第一个被证实可以同时调控 4 种抗生素的多效调控基因。然而与多效调控子 AfsR 不同, *absA1A2* 基因坐落在抗生素 CDA 的合成基因簇中^[26],并且对 CDA 的抑制要远大于其它 3 种抗生素。由于推测的途径特异性调控子 CdaR 并不参与调控 CDA 的合成,所以典型应答调控蛋白 AbsA2 被认定对 CDA 的调控扮演着初级调控子的角色。而 AbsA1A2 的存在,同时也为四种抗生素之间的交互调控提供了机会。

与典型的途径特异性应答调控蛋白相比,非典型途径特异性应答调控蛋白在链霉菌次生代谢合成基因簇中的分布更为广泛。通过对 NCBI 已发布的抗生素合成基因簇进行统计,在链霉菌属中存在于次生代谢生物合成基因簇中的 ARR 编码基因至少有 13 个。这些 ARR 根据其 DNA 结合结构域的不同主要分为两个家族:OmpR 家族和 NarL 家族。其中 JadR1 是最早被研究的 OmpR 家族的 ARR^[17]。它的缺失导致了委内瑞拉链霉菌丧失了环境胁迫下产生杰多霉素的能力。而单拷贝 *jadR1* 的引入则导致杰多霉素产量提高 2 倍左右^[17]。近期实验表明,区别于典型的 OmpR 家族蛋白, JadR1 可以单体和二聚体两种聚合形式存在,并且可以在靶基因启动子上结合约 100 bp 以上的区域(本实验室未发表的结果)。这说明 OmpR 家族 ARR JadR1 已经进化出其特有的调控机制。有趣的是, OmpR 家族 ARR 不仅氨基酸序列较为保守,并且其编码基因全部座落在角蕈环类抗生素或含有角蕈环类抗生素母核相似结构的次生代谢产物合成基因簇中^[27-30]。这说明它们很可能来源于同一个祖先,并且暗示它们可能执

行相似的功能。

NarL 家族 ARR 氨基酸序列并不保守,推测调控的次生代谢产物的结构也是千差万别。其中 RedZ 是最早被研究的 NarL 类 ARR^[31]。与 JadR1 直接调控结构基因的表达不同,在天蓝色链霉菌中,RedZ 被认为通过激活 SARP 类途径特异性激活子 RedD,而对十一烷基灵菌红素的生物合成行使正调控。

尽管两类 ARR 存在显著的差异,但是它们中被报道的成员无一例外都是起着激活子的作用。并且它们中大多数成员并不含有完整的一套涉及接受磷酸基团的保守氨基酸位点。这似乎也暗示它们的调控机制与典型的 RR 有很大不同。Buttner 和 Chater 等人认为为了适应进化出的新角色,ARR 可能需要利用结合配体或与蛋白互作等调节机制来控制其 DNA 结合活力^[32,33]。而最近 JadR1 和 RedZ 被发现可以通过直接结合其调控的终产物从而调节自身的 DNA 结合活力(作者尚未发表的结果)。这暗示配体介导可能作为磷酸化的替代机制,在非典型应答调控子(ARR)对抗生素生物合成途径特异性调控中可能是普遍存在的。

4 次生代谢产物的自调控

在一个健全的代谢调控回路中,仅有调控蛋白的控制是不够的,往往还需要代谢中间产物以及终产物的协作。如在天蓝色链霉菌中,负责调控 Tyr 代谢途径限速酶对羟基苯丙酮酸(4HPP)双加氧酶的调控子 HpdA, HpdR 就可以直接感受体内 4HPP 的浓度,从而精细地调控对羟基苯丙酮酸双加氧酶基因的转录^[34]。而相似的现象也同样广泛地存在于次生代谢的生物合成调控中。根据机制的不同,次生代谢产物的自调控主要可分为:自抑制,自诱导。

早在 1996 年, Hutchinson 等人就发现道诺红菌素(daunorubicin)通过与激活子 DnrN 竞争结合位点从而反馈调节自身的合成。这也是有关次生代谢产物自抑制机制的首次报道^[35]。随后, Hutchinson 小组发现道诺红菌素以相似的机制调节了另一个激活子 DnrO 的活性^[36]。不仅如此,道诺红菌素的中间产物被揭示同样可以使 DnrO 丧失与 DNA 结合的能力^[36]。这一切说明,道诺红菌素和其中间体可能逐级影响途径特异性激活子的 DNA 活力从而精确地调控自身的合成。

次生代谢产物的自诱导现象最先发现于乳酸菌产生的羊毛硫抗生素的合成调控中^[37]。有趣的是

它们中的绝大多数是通过借助双组份信号转导系统来调控自身合成的。以乳酸链球菌产生的乳链菌素(nisin)为例^[38],细胞开始生长时只有微弱的乳链菌素可以被检测到,当细胞进入指数生长期后,编码一组双组份信号转导蛋白的 *nisK* 和 *nisR* 开始大量表达,而低量 *nisin* 与膜上的组氨酸激酶 NisK 结合从而使其自磷酸化。磷酸化的 NisK 将磷酸基团转移给了 NisR,进而激活了后者的转录。随后磷酸化的 NisR 进一步激活了乳链菌素生物合成基因簇的转录。从而导致了指数生长期时乳链菌素的大量合成。

5 次生代谢产物生物合成分子调控的展望

鉴于次生代谢产物的应用价值,它们的合成调控长期以来倍受青睐。这导致了大量与次生代谢合成调控相关的重要基因(正调控基因或负调控基因)的发现,为利用代谢工程的方法对菌株进行定向改造奠定了坚实的理论基础。然而,与传统的诱变相比,理性的定向改造并不具备明显的优势。并且它也很难与传统的诱变方法相整合。因此通过理性改造去提高次生代谢产物的产量仍然需要其他出路。随着基因组测序、DNA 芯片、蛋白双向电泳等的日益普及,反向代谢组学可以作为一个有效的手段去扫描高产菌株中的有效基因。由于所筛基因与次生代谢产物的产量性状直接相关,因而可以选择性地将其用于诱变菌株的定向改造上,从而将非理性的传统诱变和理性的代谢工程进行有机的结合。另外,为了应对次生代谢产物复筛率逐年增高这一瓶颈性难题,人们对微生物基因组上隐性的次生代谢产物生物合成基因簇展现出越来越浓厚的兴趣。通过阻断途径特异性抑制子或激活相关的沉默基因,成为激活隐性次生代谢产物生物合成基因簇颇有效的方法。如 Metsä 等人就通过阻断途径特异性抑制子从而导致 *Streptomyces* sp. PGA64 上一个沉默的角茴环类合成基因簇部分表达^[39]。但是,这个方法必须以获取沉默次生代谢合成基因簇的序列信息为前提,并且周期较长,因而并没有得到广泛的应用。最近, Ochi 小组通过对核糖体蛋白 S12 引入错义突变,从而在枯草芽孢杆菌和链霉菌中得到了新抗^[40]。这使得“暗物质”激活的研究获得了阶段性的进展。然而,对于激活隐性次生代谢产物生物合成基因簇广泛而又有效的方法和技术,尚需努力去建立和挖掘。

参考文献

- [1] Ochi K. Occurrence of the stringent response in *Streptomyces* sp. and its significance for the initiation of morphological and physiological differentiation. *Journal of General Microbiology*, 1986, 132(9): 2621–2631.
- [2] Chakraburty R, Bibb M. The ppGpp synthetase gene (*relA*) of *Streptomyces coelicolor* A3(2) plays a conditional role in antibiotic production and morphological differentiation. *Journal of Bacteriology*, 1997, 179(18): 5854–5861.
- [3] Gomez-Escribano JP, Martin JF, Hesketh A, et al. *Streptomyces clavuligerus* *relA*-null mutants overproduce clavulanic acid and cephamycin C: negative regulation of secondary metabolism by (p)ppGpp. *Microbiology*, 2008, 154(Pt 3): 744–755.
- [4] Martin JF. Phosphate control of the biosynthesis of antibiotics and other secondary metabolites is mediated by the PhoR-PhoP system: an unfinished story. *Journal of Bacteriology*, 2004, 186(16): 5197–5201.
- [5] Sola-Landa A, Moura RS, Martin JF. The two-component PhoR-PhoP system controls both primary metabolism and secondary metabolite biosynthesis in *Streptomyces lividans*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2003, 100(10): 6133–6138.
- [6] Flardh K, Buttner MJ. *Streptomyces* morphogenetics: dissecting differentiation in a filamentous bacterium. *Nature reviews. Microbiology*, 2009, 7(1): 36–49.
- [7] Horinouchi S, Beppu T. Regulation of secondary metabolism and cell differentiation in *Streptomyces*: A-factor as a microbial hormone and the AfsR protein as a component of a two-component regulatory system. *Gene*, 1992, 115(1-2): 167–172.
- [8] Kato JY, Funa N, Watanabe H, et al. Biosynthesis of gamma-butyrolactone autoregulators that switch on secondary metabolism and morphological development in *Streptomyces*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2007, 104(7): 2378–2383.
- [9] Kato JY, Miyahisa I, Mashiko M, et al. A single target is sufficient to account for the biological effects of the A-factor receptor protein of *Streptomyces griseus*. *Journal of Bacteriology*, 2004, 186(7): 2206–2211.
- [10] Folcher M, Gaillard H, Nguyen LT, et al. Pleiotropic functions of a *Streptomyces pristinaespiralis* autoregulator receptor in development, antibiotic biosynthesis, and expression of a superoxide dismutase. *The Journal of Biological Chemistry*, 2001, 276(47): 44297–44306.
- [11] Nishida H, Ohnishi Y, Beppu T, et al. Evolution of gamma-butyrolactone synthases and receptors in *Streptomyces*. *Environmental Microbiology*, 2007, 9(8): 1986–1994.
- [12] Matsuno K, Yamada Y, Lee CK, et al. Identification by gene deletion analysis of *barB* as a negative regulator controlling an early process of virginiamycin biosynthesis in *Streptomyces virginiae*. *Archives of Microbiology*, 2004, 181(1): 52–59.
- [13] Rigali S, Titgemeyer F, Barends S, et al. Feast or famine: the global regulator DasR links nutrient stress to antibiotic production by *Streptomyces*. *EMBO Reports*, 2008, 9(7): 670–675.
- [14] Challis GL. Mining microbial genomes for new natural products and biosynthetic pathways. *Microbiology*, 2008, 154(Pt 6): 1555–1569.
- [15] Ohnishi Y, Ishikawa J, Hara H, et al. Genome sequence of the streptomycin-producing microorganism *Streptomyces griseus* IFO 13350. *Journal of Bacteriology*, 2008, 190(11): 4050–4060.
- [16] Yang K, Han L, Vining LC. Regulation of jadomycin B production in *Streptomyces venezuelae* ISP5230: involvement of a repressor gene, *jadR2*. *Journal of Bacteriology*, 1995, 177(21): 6111–6117.
- [17] Yang K, Han L, He J, et al. A repressor-response regulator gene pair controlling jadomycin B production in *Streptomyces venezuelae* ISP5230. *Gene*, 2001, 279(2): 165–173.
- [18] Bibb MJ. Regulation of secondary metabolism in streptomycetes. *Current Opinion in Microbiology*, 2005, 8(2): 208–215.
- [19] Tanaka A, Takano Y, Ohnishi Y, et al. AfsR recruits RNA polymerase to the *afsS* promoter: a model for transcriptional activation by SARP. *Journal of Molecular Biology*, 2007, 369(2): 322–333.
- [20] Liu G, Tian Y, Yang H, et al. A pathway-specific transcriptional regulatory gene for nikkomycin biosynthesis in *Streptomyces ansochromogenes* that also influences colony development. *Molecular Microbiology*, 2005, 55(6): 1855–1866.
- [21] Stratigopoulos G, Bate N, Cundliffe E. Positive control of tylosin biosynthesis: pivotal role of TylR. *Molecular Microbiology*, 2004, 54(5): 1326–1334.
- [22] 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.
- [23] Umeyama T, Lee PC, Ueda K, et al. An AfsK/AfsR system involved in the response of aerial mycelium formation to glucose in *Streptomyces griseus*. *Microbiology*, 1999, 145(Pt 9): 2281–2292.
- [24] Horinouchi S. AfsR as an integrator of signals that are sensed by multiple serine/threonine kinases in *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 2003, 30(8): 462–467.
- [25] Hutchings MI. Unusual two-component signal transduction pathways in the actinobacteria. *Advances in Applied Microbiology*, 2007, 61: 1–26.
- [26] Anderson TB, Brian P, Champness WC. Genetic and transcriptional analysis of *absA*, an antibiotic gene cluster-linked two-component system that regulates multiple antibiotics in *Streptomyces coelicolor*. *Molecular Microbiology*, 2001, 39(3): 553–566.
- [27] Basnet DB, Oh TJ, Vu TT, et al. Angucyclines Sch 47554

- and Sch 47555 from *Streptomyces* sp. SCC-2136 : cloning , sequencing , and characterization. *Molecules and Cells* , 2006 , 22 (2) :154 – 162.
- [28] Rebets Y , Dutko L , Ostash B , et al. Function of lanI in regulation of landomycin A biosynthesis in *Streptomyces cyanogenus* S136 and cross-complementation studies with *Streptomyces antibiotic* regulatory proteins encoding genes. *Archives of Microbiology* , 2008 , 189 (2) :111 – 120.
- [29] Galm U , Schimana J , Fiedler HP , et al. Cloning and analysis of the simocyclinone biosynthetic gene cluster of *Streptomyces antibioticus* Tu 6040. *Archives of Microbiology* , 2002 , 178 (2) :102 – 114.
- [30] Ichinose K , Ozawa M , Itou K , et al. Cloning , sequencing and heterologous expression of the medermycin biosynthetic gene cluster of *Streptomyces* sp. AM-7161 : towards comparative analysis of the benzoisochromanquinone gene clusters. *Microbiology* , 2003 , 149 (Pt 7) :1633 – 1645.
- [31] White J , Bibb M. bldA dependence of undecylprodigiosin production in *Streptomyces coelicolor* A3(2) involves a pathway-specific regulatory cascade. *Journal of Bacteriology* , 1997 , 179 (3) :627 – 633.
- [32] Molle V , Buttner MJ. Different alleles of the response regulator gene bldM arrest *Streptomyces coelicolor* development at distinct stages. *Molecular Microbiology* , 2000 , 36 (6) :1265 – 1278.
- [33] Tian Y , Fowler K , Findlay K , et al. An unusual response regulator influences sporulation at early and late stages in *Streptomyces coelicolor* . *Journal of Bacteriology* , 2007 , 189 (7) :2873 – 2885.
- [34] Yang H , Wang L , Xie Z , et al. The tyrosine degradation gene hpdD is transcriptionally activated by HpdA and repressed by HpdR in *Streptomyces coelicolor* , while hpdA is negatively autoregulated and repressed by HpdR. *Molecular Microbiology* , 2007 , 65 (4) :1064 – 1077.
- [35] Furuya K , Hutchinson CR. The DnrN protein of *Streptomyces peucetius* , a pseudo-response regulator , is a DNA-binding protein involved in the regulation of daunorubicin biosynthesis. *Journal of Bacteriology* , 1996 , 178 (21) :6310 – 6318.
- [36] Jiang H , Hutchinson CR. Feedback regulation of doxorubicin biosynthesis in *Streptomyces peucetius* . *Research in Microbiology* , 2006 , 157 (7) :666 – 674.
- [37] Maldonado A , Jimenez-Diaz R , Ruiz-Barba JL. Induction of plantaricin production in *Lactobacillus plantarum* NC8 after coculture with specific gram-positive bacteria is mediated by an autoinduction mechanism. *Journal of Bacteriology* , 2004 , 186 (5) :1556 – 1564.
- [38] Kuipers OP , Beerthuyzen MM , de Ruyter PG , et al. Autoregulation of nisin biosynthesis in *Lactococcus lactis* by signal transduction. *The Journal of Biological Chemistry* , 1995 , 270 (45) :27299 – 27304.
- [39] Metsa-Ketela M , Ylihonko K , Mantsala P. Partial activation of a silent angucycline-type gene cluster from a rubromycin beta producing *Streptomyces* sp. PGA64. *The Journal of Antibiotics (Tokyo)* , 2004 , 57 (8) :502 – 510.
- [40] Ochi K. From microbial differentiation to ribosome engineering. *Bioscience , Biotechnology , and Biochemistry* , 2007 , 71 (6) :1373 – 1386.

Molecular regulation of microbial secondary metabolites – A review

Linqi Wang , Huarong Tan*

(Institute of Microbiology , Chinese Academy of Sciences , Beijing 100101)

Abstract : Microbial secondary metabolites play an important role in the field of industry , agriculture , medicine and human health . The molecular regulation of secondary metabolites is gradually becoming noticeable and intriguing . In recent years , many researches have demonstrated that secondary metabolite biosynthesis is tightly linked to the physiological and developmental status in its producer . It is suggested that the biosynthesis of secondary metabolites involves in complex process concerning multi-level regulation . Here we reviewed the recent research progress on the molecular regulation of secondary metabolites in microorganisms . In known about ten thousand kinds of natural secondary metabolites , most of them (about 60%) were produced by *Streptomyces* . Therefore , the regulation of secondary metabolites in *Streptomyces* is chosen as the mainline in this review . Additionally , several well-studied antibiotics as the representative members were targeted . Finally , some suggestions , in response to the issues at present , have been presented in this paper .

Keywords : microorganism ; secondary metabolite ; molecular regulation

(本文责编 : 王晋芳)

Supported by the Ministry of Science and Technology of China (2009CB118905) and the National Natural Science Foundation of China (30870041 , 30430030)

* Corresponding authors . Tel : + 86-10-64807461 ; E-mail : tanhr@im.ac.cn

Received : 20 February 2009