

文章编号 :1009 - 038X(2002)04 - 0428 - 06

次级代谢产物菌种改良的策略和手段

张星元, 潘军华, 曾媚娟, 李乃强

(江南大学 工业生物技术教育部重点实验室 江苏 无锡 214036)

摘要:从抗生素入手,介绍了次级代谢产物菌种改良的策略和手段,从代谢工程角度讨论了在初级代谢产物育种中行之有效的“设计育种”五字策略,以及在次级代谢产物生产菌种选育方面的应用前景。

关键词:设计育种;代谢工程;次级代谢产物;抗生素

中图分类号:Q 591

文献标识码:A

Strategy and Means Utilized for the Improvement of Secondary Metabolite-Producing Strains

ZHANG Xing-yuan, PAN Jun-hua, ZENG Mei-juan, LI Nai-qiang

(The Key Laboratory of Industrial Biotechnology of Ministry of Education, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China)

Abstract: Starting with antibiotics, an introduction to strategy and means utilized for the improvement of secondary metabolites-producing strains was given. Based on the theory of metabolic engineering, a further advances was made on the “five-word strategy” which was effective in designed breeding of primary metabolites, and a discussion was made in the prospect for its application in designed breeding for the overproduction of secondary metabolites.

Key words: designed breeding; metabolic engineering; secondary metabolism; antibiotics

大多数用于初级代谢产物和次级代谢产物的生产菌种,在应用于工业化生产之前,都已经接受了遗传学改造和修饰。菌种投入生产以后,也仍需进一步的改良,以提高产量或获得有利于生产的生长特性。抗生素生产菌种也不例外。在次级代谢产物中,抗生素工业化生产的历史最长,研究成果最多,因此作者从抗生素入手讨论次级代谢产物菌种改良的策略和手段。

大多数野生型抗生素产生菌株在发酵液中累

积目的抗生素(即要借助微生物生产的抗生素)的能力很差,同时还形成许多副产物。因此,工业发酵产品的成功开发,关键在于菌种。应用 DNA 重组技术,可以以一种更加定向的方式改造这些抗生素产生菌。次级代谢的代谢工程有可能使一种原来生成其他抗生素的或根本就不产抗生素的微生物合成某种新的或是已知的抗生素^[1~3];也可以用来排除某些不需要的副产物的生物合成;还可用来调整参与目的抗生素合成的前体化合物的流量,以提高目

收稿日期 2002-03-25; 修订日期 2002-04-20.

作者简介:张星元(1944-)男,江苏苏州人,工学硕士,教授。

万方数据

的抗生素的产量或产率。

一般认为,常规的“随机突变+设定的筛子”的定向筛选是代谢工程育种的原始形式。严格来说,代谢工程育种应专指在代谢分析的基础上设计细胞,进而运用现代分子遗传学的工具来改造细胞。人们从多种多样的微生物入手,研究开发它们所生成的各种次级代谢产物,探索次级代谢产物的潜在应用价值和工业生产的方法。在这种情况下,实际上不可能对育种的具体路线和方法做出硬性规定。

应用代谢工程的基本原理无疑可提高抗生素产率和产量,而提高抗生素产率和产量可以采取不同的策略,这取决于我们对微生物学和微生物代谢调节理解的深度,取决于参与这些生物合成的酶的基因是否已知,也取决于所采用的分子遗传学的手段。如果条件成熟,我们就可以将特定的扰动引入这个(代谢)体系并预测限速步骤,为定向育种创造条件。如果已通晓生物合成途径的酶的结构基因和调节基因,就可以进行定向的菌种改良。但代谢途径全都清楚和途径的每种酶的基因都已克隆出来的情况是很少见的,在这种情况下,就有可能将合成目的抗生素的整条途径克隆到另一宿主中,从而使得宿主具有产该种抗生素的能力。

次级代谢是初级代谢的继续。初级代谢产物和次级代谢产物育种策略大同小异,在手段上各不相同。作者介绍次级代谢产物菌种改良的策略及其在抗生素育种方面的成功实例。作者另文《次级代谢产物的代谢工程》已在本文所述理论的基础上较具体地讨论了二次级代谢产物的代谢工程和设计育种问题^[4]。

1 次级代谢产物(抗生素)菌种改良的基本看法

对于大多数抗生素来说,从发现到实际应用,生产菌株的产量都提高了若干个数量级。抗生素生产的历史告诉我们,菌种改良一直是提高发酵液中抗生素最终质量浓度的关键。菌种经过改造,不但可提高发酵液中抗生素的最终质量浓度,而且能够采用更便宜的、又不影响后续工序的原料,且能减少副产物的合成。

1.1 常规的菌种改良方法行之有效

当用于菌种改良的分子遗传学手段还未发展成熟的时候,仍要采用常规的菌种改良方法。常规育种是建立在将次级代谢物生成体系作为“黑箱”处理的基础上的,如果要选育连生化合成途径的酶和基因都不了解的代谢产物的菌种,则可采用这种

方法来提高其产量,在这种情况下是行之有效的,但主要的缺点是实验操作劳动强度大。对于那些新发现的次级代谢产物来说,常规的菌种改良方法最有效,因为我们根本就不了解它们的代谢途径。典型的菌种改良方案首先涉及微生物群体中基因型变异体的产生,这一步可以通过物理或化学诱变的方法,也可通过不同菌株间的遗传物质重组来实现,而那些基因型性状得到改善的高产突变菌株则可通过筛选而被分离出来。

1.2 代谢工程的方法与“随机突变+定向筛选”的菌种改良方法在策略上的一致性

一般把微生物营养性生长所需的代谢产物(直接或间接的参与细胞结构或组成)叫做初级代谢产物,把微生物在限制生长或没有生长的条件下形成的、对微生物的营养性生长并不必需的代谢产物叫做次级代谢产物。次级代谢产物种类很多,但从生物化学的角度来看,大多数次级代谢产物都是从少数初级代谢产物(如莽草酸、有关的氨基酸、酰基辅酶A等前体)组装而成的。

对于初级代谢产物的设计育种以及发酵工艺控制,作者曾提出“五字策略”^[5,6],即“进、通、节、堵、出”。它们的含义是:①进,促进细胞对碳源等营养物质的吸收;②通,使来自代谢流上游和各个“注入分支”的碳架物质能畅通地流向目的产物;③节,阻塞与目的产物的形成无关或关系不大的代谢支流,使碳架物质相对集中地流向目的产物;④堵,消除或削弱目的产物进一步代谢的途径;⑤出,促进目的产物向胞外空间分泌。这个策略也可用于次级代谢产物的育种,不过在代谢的不同层次要对该策略使用的对象作适当的调整。在涉及次级代谢产物的育种中,前面4个字主要用来增加次级代谢产物的前体的量,最后“出”字则是针对目的次级代谢产物而言的,而在第4个“堵”字和第5个“出”字之间则要插入次级代谢产物特有的内容(除了次级代谢特有的调控机制以外,还包括次级的“通、节、堵”策略的应用问题)。采用“五字策略”,已在抗生素育种中进行了成功的尝试^[7]。

抗生素菌种生产水平的提高,可归因于许多可能的机制。初级代谢某个前体的物流量的增大有可能导致抗生素产量的增加。无论是采用代谢工程的方法还是常规的方法,只要能增加这种前体物的流量,都可能增加通往该次级代谢物的物流量。有些抗生素对于生产菌株本身亦是有毒的,所以把菌株对于该抗生素的抗性作为筛子,也有可能筛得高产菌种。这种方法的应用已有报道^[9,10]。

2 用遗传工程的手段改良次级代谢产物(抗生素)菌种

用代谢工程手段巧妙地处置抗生素生物合成的代谢网络,就必须详细了解有关的生化反应途径和这些酶的基因,以及这些基因表达的调节机制.除了掌握这些生化知识和运用遗传学方法以外,应用多种不同的代谢分析手段来确定生物合成的“瓶

颈”也是非常重要的.然而,一般而言,即便并不知道这些瓶颈步骤,还是有可能从“推理的”角度增加代谢主流^[7].图1概括地介绍了用遗传工程的手段改良次级代谢产物(抗生素)菌种的策略和手段.常规的菌种改良以随机的方式改变微生物的代谢,然后根据所期望获得的性状指标来筛选有用的突变株.代谢工程则采用分子遗传学的手段,运用已有的知识对菌种进行定向、精确地改造.

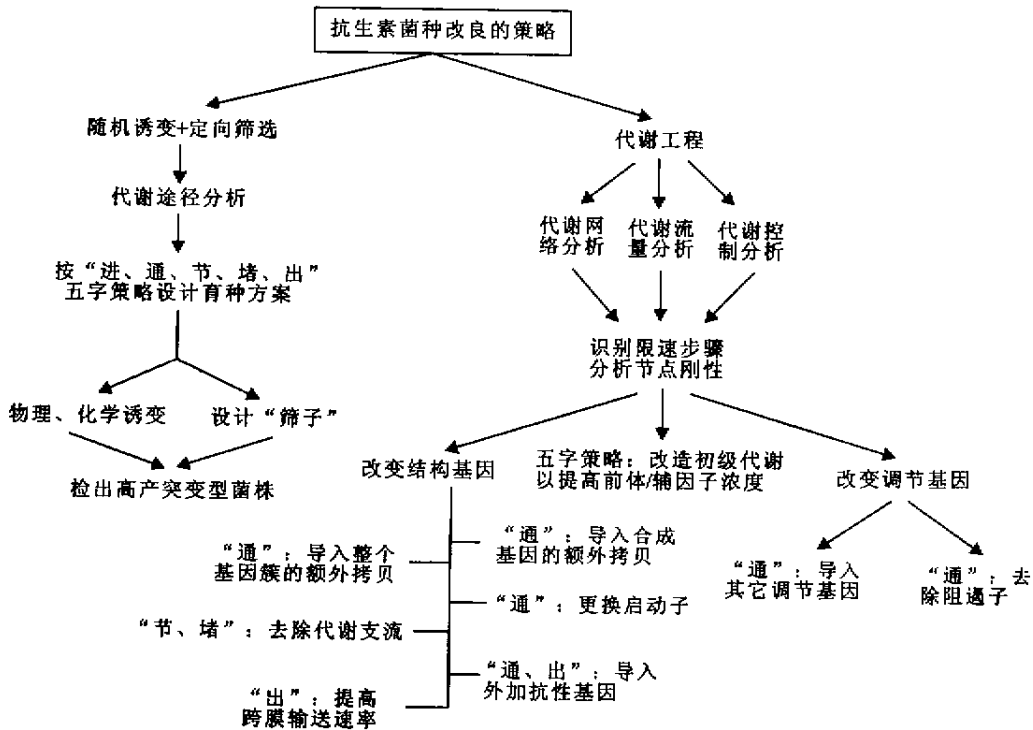


图1 抗生素菌种改良的策略和手段

Fig.1 Strategy for improvement of antibiotic-producing strains

2.1 改变结构基因

2.1.1 整条途径的扩增(五字策略中的“通”)

代谢工程的一种方法是,在该次级代谢产物生物合成途径的基因簇中扩增整条途径或该途径的一大部分.一般说来,所扩增的“途径”必须是一个反应序列,这个反应序列以把“生物砖”(building blocks,这里是指该抗生素的几种前体)砌在一起”的反应为起始反应,而且并不包括这些前体生物合成的反应序列.比如,*Streptomyces cattleya* 中编码头霉素合成途径的所有酶的整个基因簇,作为一个29.3 kb的DNA区段已被克隆^[1].用“鸟枪”克隆法从不产头霉素的*Streptomyces lividans* 筛得能产头霉素的转化子,随后将头霉素的整个基因簇作为额外的拷贝导入天然产头霉素C的*Streptomyces lactamgens* 中,其产量提高了2~3倍.不过,其产量提高的原因还没有查实,可能是结构基因的外加拷贝

在起作用,也可能是调节基因的外加拷贝在起作用.

2.1.2 途径片段的扩增(五字策略中的“通”)

尽管我们有可能扩增对应于次级代谢产物合成的整条途径的基因(可能既包含结构基因也包含调节基因),但很少有人这样去做.一般来说,这样做既没有必要,也并不见得最有效.通常的做法是,仅仅扩增其中的一个或是一部分基因来加强产物的形成.倘若所扩增的基因片段中包含限速酶的基因,那么这种方法将是最有效的(有时生物合成途径中起主要限速作用的不止一个酶,而是有多个酶在限制产物形成).如果已知哪个酶是限速酶,则扩增该酶的基因必定能提高产量.

另一方面,即使不知道哪些是限速酶,也可以通过导入该合成途径的基因簇的不同片段,从而鉴别出限速酶,并且使产量得到提高.对于后者,即通

过导入额外的基因拷贝的方法来鉴定出限速酶,基因片段可以通过质粒导入并保留在质粒中.相反,若是限速酶已知,则为了该酶的稳定表达,最好是将该基因片段整合到染色体上;因为已有报道,在带有质粒的转化子中存在着导致抗生素产量下降的“质粒效应”^[11].

抗生素 tetracenomycin 是 *Streptomyces glaucescens* 的多聚乙酰多酶复合物-II 催化合成的一种多聚乙酰.研究中发现,导入参与合成的酶的基因的额外拷贝,能强化中间化合物和终产物的生成^[12].多聚乙酰合酶(β -酮脂酰基与酰基载体蛋白合酶)和酰基载体蛋白很可能在多聚乙酰合成的初始步骤中起作用.通过提高多拷贝质粒上这些酶的基因剂量,并让它们在强大的启动子的控制下得到表达,已使中间产物 TcmD3 的积累增加了 30 倍,而 tetracenomycin 的产量则提高了 30%.

2.1.3 提高产物跨膜输出的速率(五字策略中的“出”)

抗生素产生菌株都具备保护自身免受其所产抗生素毒害的机制.细胞具备如下两种自我保护机制^[13]:①通过对抗生素分子的化学修饰、对抗生素作用的靶位的修饰,以及与抗生素结合等方式,使抗生素失活;②加强抗生素的泵出系统和(或)降低膜对抗生素的透性,以降低抗生素的胞内浓度.

许多工业微生物产抗生素的水平在每升几十毫克以上,接近生物量的水平.在高效的抗生素生产过程中,发酵液中抗生素的浓度可高达 100 mmol/L.如果没有一个对产物的主动输送机制,细胞内的抗生素浓度必定比发酵液中高才能让抗生素排出细胞从而保证细胞能够顺利地分泌.对于这样的高产菌株,必须要有一个能保证产品分泌的主动输送机制,或者在促进扩散的输送系统中,胞内必定要存在一个相当高的产物浓度.对于后者,这种情况不太可能,因为如此高的产物浓度将导致胞质的生理条件(如 pH 值)发生变化.也就是说,必有一种用来进行主动输送的输送蛋白或结合在膜上的蛋白,以消除细胞内抗生素产物的局部高浓度.

改善次级代谢产物的跨膜输送系统可能蕴藏着非常高的经济效益.在许多产抗生素的放线菌中已经发现了一些抗生素输送蛋白(以及推定的输送蛋白).有一类输送体依赖于跨膜的质子梯度,另一类被称为 ABC 输送体(ATP binding cassette transporters)^[14].随着对抗生素跨膜输送系统重要性的认识不断深化,必将成功地提高输送体跨膜输送的速率,从而显著提高发酵液中抗生素的效价.在抗药性

肿瘤的研究中已发现基因扩增对于膜移位酶的过量表达是有作用的^[15].如果抗生素产生菌株中存在特异性的输送体蛋白,那么类似的机制也应该可以用来提高抗生素输出细胞的速率;另一方面,如果其输送是被动的,那么也可以通过引入非特异性输送体蛋白的额外拷贝来提高输送速率.

2.2 改变调节基因

抗生素生物合成的调节既可发生在基因水平上,也可发生在生化水平上.对于能够生成多种次级代谢产物的链霉菌属,多效性调节子控制着抗生素的某些甚至全部生物合成途径.途径特异性的激活子(activator)一般只控制某一种抗生素的形成.除了途径特异性的激活子外,在某些情况下途径特异性阻遏子(repressor)也调节抗生素的合成^[16].

尽管在抗生素合成的控制中起调节作用的分子大多数存在于胞内,也有为数不多的几种带有激素性质的效应物分子存在于胞外.比如 A-因子对 *Streptomyces griseus* 的作用^[17]和 *virginiae butanolides* 对 *Streptomyces virginiae* 的作用^[18]等都是值得注意的例子.A-因子和 *virginiae butanolides* 都是自动调节因子,其存在不但可以促进其自身的形成,而且可以触发孢子的形成和抗生素的产生,它们分泌到细胞外后又可诱导临近细胞孢子的形成和抗生素的合成^[19].

生化水平上的调节涉及酶活性的调节,包括反馈抑制、激活和钝化.微生物还通过各种方式控制通往次级代谢的前体物和辅因子的流量,以保证在细胞生长需用这些前体物和辅因子时不受次级代谢的影响.这种类型的调节与一般的反馈抑制、阻遏和诱导不同,因为这种调节不仅涉及到单个生化合成途径,而且受整个代谢网络流量平衡的影响.

从调节的观点来看,代谢工程可从多方面入手来提高次级代谢产物的生产能力,可以通过增加正调节基因的拷贝数来增加抗生素的生成量,也可以去除那些负调节子(阻遏子)以使该途径实现组成性表达.此外,还可以使调节基因变为可诱导的,从而改变抗生素生成的过程曲线(time profile).不过,就目前对于次级代谢调节机制以及次级代谢网络与初级代谢网络之间相互影响关系的认识水平,我们还没有能力去预测改变调节结构的后果.大多数情况下,只能通过实验去观察这些结果,因为还没有找到任何切实可行的由原因推出结果的定量分析方法.

2.2.1 对调节基因的操作(五字策略中的“通”)

1) 增加途径特异性调节子(pathway specific regula-

tor)的拷贝数

在基因水平上的调节包括对生物合成途径中酶表达的诱导和阻遏.正调节基因为激活蛋白(activator protein)编码,这些激活蛋白可与次生代谢产物合成途径编码的结构基因的启动子结合.这些激活子(或者称为正调控基因)自身的转录,又受到上一级转录的调节.增加这些正调节基因产物的浓度可能会促进次生代谢产物合成途径基因的转录,进而导致次生代谢产物较高的合成水平.对于次生代谢而言,关于正调节基因表达的调节方式的改变尽管尚未见报道,但仍是有可能实现的.比如,将对应于正调节基因的启动子改造为组成型的启动子或可诱导的启动子,或许能够改变次生代谢产物形成的过程曲线.

对于合成途径的基因,其转录的启动与一种叫做 *srmR* 的调节基因(用来激活转录的蛋白质的基因)有关,这种调节基因在螺旋霉素(由 *Streptomyces ambofaciens* 生成的一种大环内酯化合物)生物合成中的作用已得到认定^[20].借助一种多拷贝载体导入该基因,螺旋霉素的最终质量浓度从 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 提高到 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$.一种途径特异性调节子 *ccaR* 也已在 *Streptomyces clavuligerus* 头霉素 C 的基因簇中得到认定^[21, 22].多拷贝质粒上该基因的额外拷贝使得头霉素和棒曲酸(clavulanic acid)的产量几乎都增加了 1 倍^[21].

2) 对全局调节子(global regulator)的操作

除了这些途径特异性调节子外,链霉菌属中的全局调节子和多效性调节子(pleiotropic regulator)也是提高次生代谢产物产量的遗传操作的潜在对象.*Streptomyces coelicolor* 的 *absA* 基因^[23]看来似乎为一种真细菌双组分传感蛋白(也就是参与抗生素合成负调节的激酶响应调节蛋白)中的一个多肽编码.破坏 *absA* 基因,抗生素 actinorhodin 和 undecylprodigiosin 得到过量合成.在 *S. lividans* 还发现

了另一与此相似的双组分信号传送系统 *cutRS*^[24], 对其 2 个基因中任何一个的插入性破坏都可使得 actinorhodin 的合成增加大约 3 倍.*S. lividans* 中另一个这样的多效调节子 *asfR2* 也已被鉴定,该基因编码一个是含 63 个氨基酸的蛋白质.当其在高拷贝数质粒上表达时,抗生素 actinorhodin 和 undecylprodigiosin 的合成都受到促进^[25].

2.2.2 消除阻遏子的作用(五字策略中的“通”)

在一些抗生素生物合成途径的基因簇中,为转录阻遏子(transcriptional repressor)编码的一些基因已被鉴定,包括:在 *S. coelicolor* 中发现的次甲霉素(methylenomycin)基因簇的 *mmyR* 和 actinorhodin 基因簇的 *act II -orf I*^[26];在 *S. glaucescens* 中发现的四联霉素 C(tetracenomycin C)基因簇的 *tcmR*^[27];在 *Streptomyces peucetius* 中发现的道诺红菌素(daunorubicin)基因簇的 *dnrO*^[28];在 *Streptomyces venezuelae* 中发现的 jadomycin B 基因簇的 *jadR2*^[29]等.调节蛋白 MmyR 参与途径特异性负调节,其失活可导致 *S. coelicolor* 中的次甲霉素过量合成^[16].其他阻遏子中有一些对邻近抗性基因表现出调节作用,去除或破坏这些阻遏子可能对抗生素的生成有正效应.不过,这种遗传改变也可能仅影响抗生素形成的过程曲线,而对于其产量的全面提高则并非必要的条件.

3 结 语

随着生物化学、细胞生物学、应用分子生物学、遗传工程和代谢工程的发展,工业发酵正在发生一个从技艺到科学的重大变化.抗生素领域的大量科学实践证明,次级代谢产物的发酵法生产及其菌种选育也有规律可循.遗传工程和代谢工程将使我们在育种理论的指导下更加有效地开发次级代谢产物.

参考文献:

- [1] CHEN C W, LIN H F, LUO C L, et al. Cloning and expression of a DNA sequence conferring cephamycin C production[J]. *Bio/Technology*, 1988, 6: 1222 - 1224.
- [2] ISOGAI T, FUKAGAWA M, ARAMORI I, et al. Construction of a 7-aminocephalosporanic acid(7ACA) biosynthetic operon and direct production of 7ACA in *Acremonium chrysogenum*[J]. *Bio/Technology*, 1991(9): 188 - 191.
- [3] CRAWFORD L, STEPAN A M, MCADA P C, et al. Production of cephalosporin intermediates by feeding adipic acid to recombinant *Penicillium chrysogenum* strains expressing ring expansion activity[J]. *Bio/Technology*, 1995, 13: 58 - 62.
- [4] 张星元, 潘军华. 次级代谢产物的代谢工程[J]. 中国抗生素杂志, 2002, 27(4): 252 - 256.
- [5] 张星元. 发酵工程专业课程设置的思考和实践[J]. 微生物学通报, 1999, 26(2): 147 - 149.

- [6] 张星元. 微生物生物工程的三个基本观点[J]. 无锡轻工大学学报, 2001, 20(4):447-449.
- [7] 张星元, 范铭琦. 庆大霉素 C_{1a} 高产菌种的推理育种的研究[J]. 中国抗生素杂志, 1998, 23(6):410-414.
- [8] ZHANG X Y. Three basic viewpoints of industrial fermentation[A]. Food of 21st Century (4th International Conference of Food Science and Technology) [C]. Beijing: China Light Industry Press, 2000.
- [9] CRAMER R, DAVIES J E. Increased production of aminoglycosides associated with amplified antibiotic resistance genes[J]. *J Antibiot*, 1986, 39:128-35.
- [10] WEISBLUM B. Method of increasing the antibiotic yield of producing organism[P]. U. S. Patent 4376823, 1983-03-01.
- [11] THOMAS D I, COVE J H, BAUMBERG S, et al. Plasmid effects on secondary metabolite production by a streptomycete synthesizing an anthelmintic macrolide[J]. *J Gen Microbiol*, 1991, 137:2331-2337.
- [12] DECKER H, SUMMERS R G, HUTCHINSON C R. Overproduction of the acyl carrier protein component of a type II polyketide synthase stimulates production of tetracenomyacin biosynthetic intermediates in *Streptomyces glaucescens*[J]. *J Antibiot*, 1994, 47:54-63.
- [13] CUNDLIFFE E. How antibiotic-producing organisms avoid suicide[J]. *Annu Rev Microbiol*, 1989, 43:207-233.
- [14] MENDEZ C, SALAS J A. ABC transporters in antibiotic-producing actinomycetes[J]. *FEMS Microbiol Lett*, 1998, 158:1-8.
- [15] LEWIS K. Multidrug resistance pumps in bacteria: variations on a theme[J]. *Trends Biochem Sci*, 1994, 19:119-123.
- [16] CHATER K F, BRUTON C J. Resistance, regulatory and production genes for the antibiotic methylenomyacin are clustered[J]. *Embo J*, 1985, 4:1893-1897.
- [17] HORINOUCI S, BEPPU T. A-factor as a microbial hormone that controls cellular differentiation and secondary metabolism in *Streptomyces griseus*[J]. *Mol Microbiol*, 1994, 12:859-864.
- [18] YAMADA Y, NIHIRA T, SAKUDA S. Butyrolactone autoregulators, inducers of virginiamycin biosynthesis[A]. *Biotechnology of Antibiotics*, 2nd ed [C]. New York: Marcel Dekker, 1997. 63-79.
- [19] BEPPU T. Signal transduction and secondary metabolism: prospects for controlling productivity[J]. *Trends Biotechnol*, 1995, 13:264-269.
- [20] GEISTLICH M, LOSICK R, TURNER J R, et al. Characterization of a novel regulatory gene governing the expression of a polyketide synthase gene in *Streptomyces ambofaciens*[J]. *Mol Microbiol*, 1992, 6:2019-2029.
- [21] PEREZ-LLARENA F J, LIRAS P, RODRIGUEZ-GARCIA A, et al. A regulatory gene (*ccaR*) required for cephamycin and clavulanic acid production in *Streptomyces clavuligerus*: amplification results in overproduction of both beta-lactam compounds[J]. *J Bacteriol*, 1997, 179:2053-2059.
- [22] WATERS N J, BARTON B, EARL A J. Regulatory gene for clavulanic acid biosynthesis[P]. International patent WO: 9418326, 1994-08-01.
- [23] BRIAN P, RIGGLE P J, SANTOS R A, et al. Global negative regulation of *Streptomyces coelicolor* antibiotic synthesis mediated by an *absA*-encoded putative signal transduction system[J]. *J Bacteriol*, 1996, 178:3221-3231.
- [24] CHANG H M, CHEN M Y, SHIEH Y T, et al. The cutRS signal transduction system of *Streptomyces lividans* represses the biosynthesis of the polyketide antibiotic actinorhodin[J]. *Mol Microbiol*, 1996, 21:1075-1085.
- [25] VOGTLI M, CHANG P C, COHEN S N. *afsR2*: a previously undetected gene encoding a 63-amino-acid protein that stimulates antibiotic production in *Streptomyces lividans*[J]. *Mol Microbiol*, 1994, 14:643-653.
- [26] CABALLERO J L, MALPARTIDA F, HOPWOOD D A. Transcriptional organization and regulation of an antibiotic export complex in the producing *Streptomyces* culture[J]. *Mol Gen Genet*, 1991, 228:372-380.
- [27] GUILFOILE P G, HUTCHINSON C R. Sequence and transcriptional analysis of the *Streptomyces glaucescens* tcmAR tetra-cenomyacin C resistance and repressor gene loci[J]. *J Bacteriol*, 1992, 174:3651-3658.
- [28] OTTEN S L, FERGUSON J, HUTCHINSON C R. Regulation of daunorubicin production in *Streptomyces peuceetii* by the *dnrR2* locus[J]. *J Bacteriol*, 1995, 177:1216-1224.
- [29] YANG K, HAN L, VINING L C. Regulation of jadomycin B production in *Streptomyces venezuelae* ISP5230: involvement of a repressor gene, *jadR*[J]. *J Bacteriol*, 1995, 177:6111-6117.

(责任编辑 杨萌 朱明)