



研究报告

纳他霉素高产菌株 *Streptomyces gilvosporeus* F607 基因组及其生物合成基因簇分析付加芳¹ 张晶³ 张严洁² 杨纯² 曹广祥¹ 宗工理^{*1}¹ 山东省医药生物技术研究中心 山东第一医科大学(山东省医学科学院) 山东 济南 250062² 济南大学医学与生命科学学院 山东 济南 250200³ 山东大学生命科学学院 山东 济南 250100

摘要:【背景】纳他霉素(Natamycin)是一种天然、广谱、高效的多烯大环内酯类抗真菌剂,褐黄孢链霉菌(*Streptomyces gilvosporeus*)是一种重要的纳他霉素产生菌。目前 *S. gilvosporeus* 基因组序列分析还未有报道,限制了该菌中纳他霉素及其他次级代谢产物合成及调控的研究。【目的】解析纳他霉素高产菌株 *S. gilvosporeus* F607 的基因组序列信息,挖掘其次级代谢产物基因资源,为深入研究该菌株的纳他霉素高产机理及生物合成调控机制奠定基础。【方法】利用相关软件对 F607 菌株的基因组序列进行基因预测、功能注释、进化分析和共线性分析,并预测次级代谢产物合成基因簇;对纳他霉素生物合成基因簇进行注释分析,比较分析不同菌种中纳他霉素生物合成基因簇的差异;分析预测 *S. gilvosporeus* F607 中纳他霉素生物合成途径。【结果】F607 菌株基因组总长度为 8 482 298 bp, (G+C)mol%为 70.95%,分别在 COG、GO、KEGG 数据库提取到 5 062、4 428、5 063 个基因的注释信息。同时,antiSMASH 软件预测得到 29 个次级代谢产物合成基因簇,其中纳他霉素基因簇与 *S. natalensis*、*S. chattanoogensis* 等菌株的纳他霉素基因簇相似性分别为 81%和 77%。除 2 个参与调控的 *sngT* 和 *sgnH* 基因和 9 个未知功能的 *orf* 基因有差异外, *S. gilvosporeus* F607 基因簇中其他纳他霉素生物合成基因及其排列顺序与已知的纳他霉素基因簇高度一致。【结论】分析了 *S. gilvosporeus* 全基因组信息,预测了 *S. gilvosporeus* F607 中纳他霉素生物合成的途径,为从基因组层面上解析 *S. gilvosporeus* F607 菌株高产纳他霉素的内在原因提供了基础数据,为揭示纳他霉素高产的机理及工业化生产和未来新药的发现奠定了良好的基础。

关键词: 褐黄孢链霉菌, 纳他霉素生物合成基因簇, 次级代谢

Foundation items: Shandong Provincial Natural Science Foundation (ZR2017BC040); Innovation Project of Shandong Academy of Medical Sciences (201604)

***Corresponding author:** Tel: 86-531-82919606; E-mail: zonggongli.mf@163.com

Received: 11-09-2018; **Accepted:** 09-01-2019; **Published online:** 28-02-2019

基金项目: 山东省自然科学基金(ZR2017BC040); 山东省医学科学院医药卫生科技创新工程项目(201604)

***通信作者:** Tel: 0531-82919606; E-mail: zonggongli.mf@163.com

收稿日期: 2018-09-11; **接受日期:** 2019-01-09; **网络首发日期:** 2019-02-28

Analysis of genome sequence and natamycin biosynthetic gene cluster on high producing strain *Streptomyces gilvosporeus* F607

FU Jia-Fang¹ ZHANG Jing³ ZHANG Yan-Jie² YANG Chun² CAO Guang-Xiang¹
ZONG Gong-Li^{1*}

1 Shandong Medicinal Biotechnology Center, Shandong First Medical University & Shandong Academy of Medical Sciences, Jinan, Shandong 250062, China

2 School of Medicine and Life Sciences, University of Jinan, Jinan, Shandong 250200, China

3 School of Life Sciences, Shandong University, Jinan, Shandong 250100, China

Abstract: [Background] Natamycin is a natural, broad-spectrum and efficient polyene macrolide antifungal antibiotic. *Streptomyces gilvosporeus* is an important natamycin-producing bacterium. However, the genome sequence analysis of *S. gilvosporeus* has not been reported until now, limiting studies on the biosynthesis and regulation of natamycin and other secondary metabolites in *S. gilvosporeus*. [Objective] The genomic sequence information of the *S. gilvosporeus* F607 (a natamycin high-producing strain) was analyzed to explore the genetic resources of secondary metabolite genes and lay a foundation for further study on the mechanisms of high producing and regulation of natamycin biosynthesis. [Methods] The genome sequence of F607 was analyzed with softwares to predict genes, to annotate function of genes, to analyze phylogenetic tree and colinear analysis, and to predict the secondary metabolite synthetic gene cluster; The differences of natamycin biosynthetic gene clusters in different strains were analyzed and compared through annotating analysis of natamycin biosynthetic gene clusters; the biosynthetic pathway of natamycin was analyzed and predicted according to gene function. [Results] The complete genome sequence of F607 is 8 482 298 bp ((G+C)mol%, 70.95%). 5 062, 4 428, 5 063 genes were respectively predicted in COG, GO and KEGG databases. The antiSMASH software predicted that there are 29 secondary metabolite biosynthetic gene clusters in F607 genome. The homology of natamycin biosynthetic gene cluster in F607 shared 81% and 77% with that in *S. natalensis* and *S. chattanoogensis* respectively. Although there were differences among 2 regulatory genes (*sngT*, *sgnH*) and 9 unknown function genes (*orf1-9*), the analysis of natamycin biosynthetic gene clusters in different strains indicated that the other genes and their arrangement in natamycin biosynthetic gene cluster are highly conserved. [Conclusion] In this study, the complete genome sequence of strain F607 was first analyzed and the biosynthetic pathway of natamycin of F607 was predicted. This study provides basic data for analysis of the molecular mechanism of high-yield natamycin in *S. gilvosporeus* F607, and aids in the development of useful strategies for revealing the mechanism of high yield of natamycin, improving industrial strains and innovating drug discovery.

Keywords: *Streptomyces gilvosporeus*, Natamycin biosynthetic gene cluster, Secondary metabolism

临床真菌感染和食品真菌污染是威胁人类健康的两大重要因素。对哺乳动物细胞无显著毒副作用的纳他霉素(Natamycin, 又称匹马霉素, Pimaricin)是一种天然、广谱、高效的多烯大环内酯类抗真菌剂, 其分子式为 $C_{33}H_{47}NO_{13}$ (图 1), 被广泛应用于临床抗真菌治疗和食品防腐保鲜, 具有重要的经济价值^[1]。

褐黄孢链霉菌(*Streptomyces gilvosporeus*)、纳塔尔链霉菌(*Streptomyces natalensis*)、恰塔努加链霉菌(*Streptomyces chattanoogensis*)和利迪链霉菌(*Streptomyces lydicus*)均可以合成纳他霉素。目前,

S. natalensis^[2]、*S. chattanoogensis*^[3]和 *S. lydicus*^[4]中纳他霉素生物合成基因簇及基因组序列已公开发表, 数据显示纳他霉素生物合成基因簇及其生物合成途径具有高度的一致性^[5]。纳他霉素的生物合成受到多个调控因子的复杂调控。途径特异性调控因子 PimM^[6]、PimR^[7-8]及其同源基因^[3,9]可专一性调控纳他霉素的生物合成; 此外, 多个全局调控因子也参与调控那他霉素的合成: AdpA 和 WhiG 可以间接调控纳他霉素的生物合成^[10-11]; 双组分系统(Two component system, TCS)如 PhoR-PhoP 可负调控纳

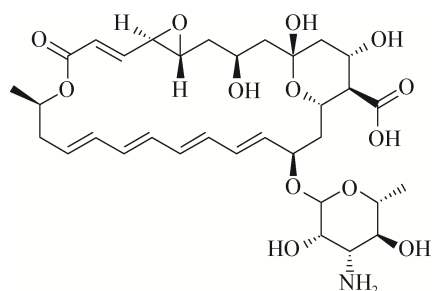


图1 纳他霉素化学结构式

Figure 1 Chemical structure of Natamycin

他霉素生物合成,但在纳他霉素生物合成基因簇上并未发现其结合位点^[12];群体感应诱导物 PI 因子也参与纳他霉素生物合成的调控^[13-14]; γ -丁内酯受体蛋白在 *S. natalensis* 中负调控纳他霉素的生物合成^[15],而在 *S. chattanoogensis* 中发挥正调控作用^[16]。由此可见,虽然纳他霉素生物合成基因簇及生物合成途径高度一致,但在不同菌株中其调控方式并不完全一致。

S. gilvosporeus 发酵纳他霉素产量高、副产物少,日益成为重要的纳他霉素生产菌株。*S. gilvosporeus* Ins1 菌株的纳他霉素生物合成基因簇已完成测序^[17],但其基因组序列尚未报道,因此尚无法对其中的全局性调控因子或新调控因子进行深入研究。*S. gilvosporeus* F607 是本实验室通过菌种选育获得的纳他霉素高产菌株,已经完成基因组测序^[18] (GenBank 登录号为 CP020569.1)。本研究对 F607 菌株进行了基因组功能注释和比较基因组学分析,预测了次级代谢产物合成基因簇,对比分析了 F607 与已知纳他霉素生物合成基因簇的差异,并分析预测了 F607 中纳他霉素生物合成途径。*S. gilvosporeus* F607 菌株基因组序列的分析,有利于新生物合成基因簇的发现及在基因组水平上了解 F607 高产纳他霉素的遗传物质基础,更有利于深入了解纳他霉素在褐黄孢链霉菌中的生物合成调控网络及高产机理,为工业化生产奠定良好的基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌种

褐黄孢链霉菌(*Streptomyces gilvosporeus*) F607 为纳他霉素高产菌株,由本实验室保存。*S. gilvosporeus*

ATCC 13326 购自美国菌种保藏中心。白色念珠菌(*Monilia albican*)为生物效价测定的指示菌,由本实验室保存。

1.1.2 培养基

产孢子培养基 MS 培养基(g/L): 甘露醇 20.0, 黄豆粉 20.0, 琼脂 20.0; 种子活化培养基(g/L): 葡萄糖 10.0, 酵母提取物 3.0, 大豆蛋白胨 5.0, 麦芽浸粉 3.0; 发酵培养基(g/L): 大豆蛋白胨 20.0, 酵母提取物 4.5, 氯化钠 2.0, 结晶硫酸镁 1.0, 葡萄糖 60.0, pH 7.5; 半固体 YPD 培养基(g/L): 酵母提取物 10.0, 胰蛋白胨 20.0, 葡萄糖 20.0, 琼脂 8.0。

1.1.3 主要试剂和仪器

葡萄糖、氯化钠、甘露醇、结晶硫酸镁,国药集团化学试剂有限公司;黄豆粉、胰蛋白胨、大豆蛋白胨、琼脂、酵母提取物,北京索莱宝科技有限公司。

离心机,湖南凯达科学仪器有限公司;恒温摇床,上海新苗医疗器械制造有限公司;高效液相色谱仪,安捷伦科技有限公司;DNA 测序公司为深圳华大基因公司。

1.2 *S. gilvosporeus* F607 高产纳他霉素稳定性分析

将 F607 菌株在 MS 固体培养基上连续培养 10 代,每传一代刮取孢子,制备成 10^8 个/mL 的孢子悬液。取 0.5 mL 孢子悬液接种于种子培养基,28 °C、220 r/min 培养 24 h,按接种量 10%转接至液体发酵培养基(250 mL 三角瓶装液量 30 mL),28 °C、220 r/min 发酵 120 h 后测定纳他霉素产量。种子培养液活化后,10 000 r/min 离心 10 min,收集菌体送至华大基因公司进行基因组测序。

1.3 纳他霉素发酵产量测定

纳他霉素发酵液处理:取 1.0 mL 发酵液,加入 9.0 mL 无水甲醇,500 W 超声萃取 20 min,10 min/次,萃取液 10 000 r/min 离心 10 min,0.22 μ m 微孔滤膜过滤上清用于 HPLC 测定纳他霉素含量。

纳他霉素 HPLC 测定:色谱柱:Zorbax Eclipse XDB-C18 柱(4.6 mm \times 150 mm, 5 μ m);流动相: $V(0.3\% \text{ NH}_4\text{Cl}, 0.02\% \text{ NH}_4\text{Ac}):V(\text{乙腈}):V(\text{四氢呋喃})=75:20:5$;流速:1.0 mL/min;柱温:30 °C;进样量:10 μ L;检测波长:303 nm。

纳他霉素生物活性检测: 纳他霉素活性测定以白色念球菌作为测试菌, 用牛津杯进行双层平板抑菌实验, 详见参考文献[19-20]。

1.4 *S. gilvosporeus* F607 的进化分析

以菌株 *S. coelicolor* A3(2)、*S. chattanoogensis* NRRL ISP5002、*S. natalensis* ATCC 27448、*S. natalensis* NRRL B-5314、*S. lydicus* A02 的基因组 DNA 序列为参考, 根据最大似然值法(Maximum likelihood, ML)原则, 利用 TreeBeST 构建系统进化树。

1.5 基因组功能注释和比较基因组学分析

对 F607 菌株的全基因组 DNA 序列进行编码基因、重复序列和非编码 RNA 的预测。将基因的氨基酸序列分别于 GO (Gene ontology)、KEGG (Kyoto encyclopedia of genes and genomes)、COG (Cluster of orthologous groups of proteins)数据库比对, 进行蛋白序列功能注释。将 F607 的基因组 DNA 序列与已知的纳他霉素产生菌基因组 DNA 序列进行比对, 获得基因组的共线性关系。

1.6 次级代谢产物合成基因簇预测

用 antiSMASH 4.2.0 软件对 F607 基因组中次级代谢产物合成基因簇进行预测分析。

1.7 纳他霉素生物合成基因簇比较分析

通过 NCBI BLAST 将 F607 菌株的纳他霉素基因簇与 NCBI 数据库中已知的纳他霉素基因簇进行

对比分析, 并对 F607 纳他霉素基因簇中的特异基因进行 BLAST 搜索, 分析该基因的同源基因。

2 结果与分析

2.1 *S. gilvosporeus* F607 表型及纳他霉素产量

S. gilvosporeus F607 和 ATCC 13326 在 MS 培养基上产孢后, 接入孢子到摇瓶发酵检测纳他霉素发酵产量。实验结果显示, *S. gilvosporeus* F607 经 ATCC 13326 诱变后, 其孢子发育并无明显变化(图 2A)。相同发酵条件下, F607 菌株在发酵 120 h 时纳他霉素发酵产量为 6.74 g/L, 相较于出发菌株 ATCC 13326 的纳他霉素产量(2.42 g/L)提高了 2.7 倍左右(图 2B)。以白色念珠菌为指示菌的生物活性测定法与 HPLC 法测定结果一致(图 2C)。

2.2 *S. gilvosporeus* F607 高产纳他霉素稳定性

纳他霉素高产菌株 F607 连续 10 代传代培养, 检测纳他霉素的发酵产量。测定结果表明, 连续转接 10 代后 F607 菌株的纳他霉素产量都稳定在第一代菌株产量的 90%以上, 遗传稳定性较好(表 1)。

2.3 *S. gilvosporeus* F607 菌株进化树

以菌株 *S. coelicolor* A3(2)、*S. chattanoogensis* NRRL ISP5002、*S. natalensis* ATCC 27448、*S. natalensis* NRRL B-5314、*S. lydicus* A02 的基因组 DNA 序列构建进化树, 结果见图 3。

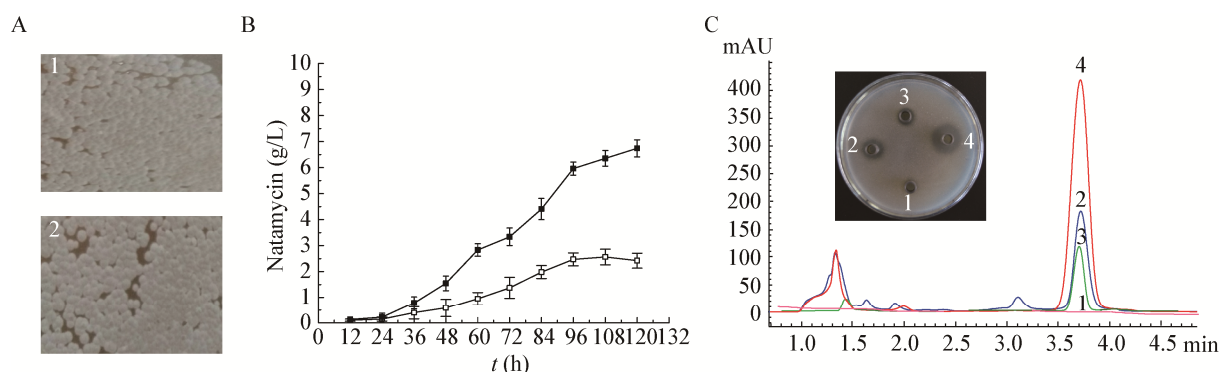


图 2 *S. gilvosporeus* F607 产孢及纳他霉素产量测定

Figure 2 Sporulation and natamycin production of *S. gilvosporeus* F607

注: A: *S. gilvosporeus* F607 (1)与 ATCC 13326 (2)菌株在 MS 平板上的孢子; B: *S. gilvosporeus* F607 (■)与 *S. gilvosporeus* ATCC 13326 (□)纳他霉素发酵曲线; C: 纳他霉素 HPLC 及生物活性产量测定, 甲醇-水对照(1), 纳他霉素标准品(2), *S. gilvosporeus* ATCC 13326 (3), *S. gilvosporeus* F607 (4)。

Note: A: Sporulation of *S. gilvosporeus* F607 (1) and *S. gilvosporeus* ATCC 13326 (2) on MS agar medium; B: Natamycin accumulation with the strains *S. gilvosporeus* F607 (■) and *S. gilvosporeus* ATCC 13326 (□); C: HPLC and bioassay analysis, (1) Methanol-H₂O for control, (2) Natamycin, (3) Methanol-extracted broth from *S. gilvosporeus* ATCC 13326, (4) Methanol-extracted broth from *S. gilvosporeus* F607.

表 1 *S. gilvosporeus* F607 遗传稳定性测定结果
Table 1 Genetic stability determination results of *S. gilvosporeus* F607

代数 Generation	纳他霉素产量 Natamycin production (g/L)
1	6.74±0.08
2	6.70±0.09
3	6.52±0.10
4	6.51±0.11
5	6.72±0.13
6	6.63±0.06
7	6.42±0.06
8	6.57±0.11
9	6.31±0.23
10	6.49±0.10

2.4 基因通用功能注释

2.4.1 GO 功能分类

GO 功能分类是依据产物性质将基因归属到细胞学组件(Cellular component)、分子功能(Molecular function)和生物学途径(Biological process)中一类或多类中。通过 GO 数据库注释,可以依据基因在不同大类中注释的情况判断其可能的功能。*S. gilvosporeus* F607 基因组中,5 062 个基因能够在 GO 数据库提取到注释信息,并分别归类到生物学途径的 15 个分支、细胞学组件的 10 个分支和分子功能的 11 个分支共 36 个分支中(图 4)。其中,生物学途径类别中涉及基

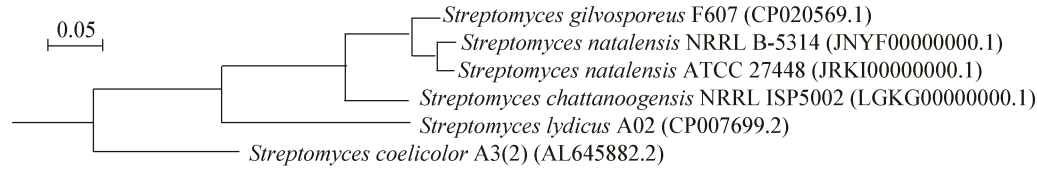


图 3 *S. gilvosporeus* F607 系统进化树
Figure 3 Phylogenetic tree of *S. gilvosporeus* F607

注: 括号内代表 GenBank 中序列登录号; 标尺代表进化距离。

Note: The numbers in the bracket denote GenBank accession number. The scale plate denote evolutionary distance.

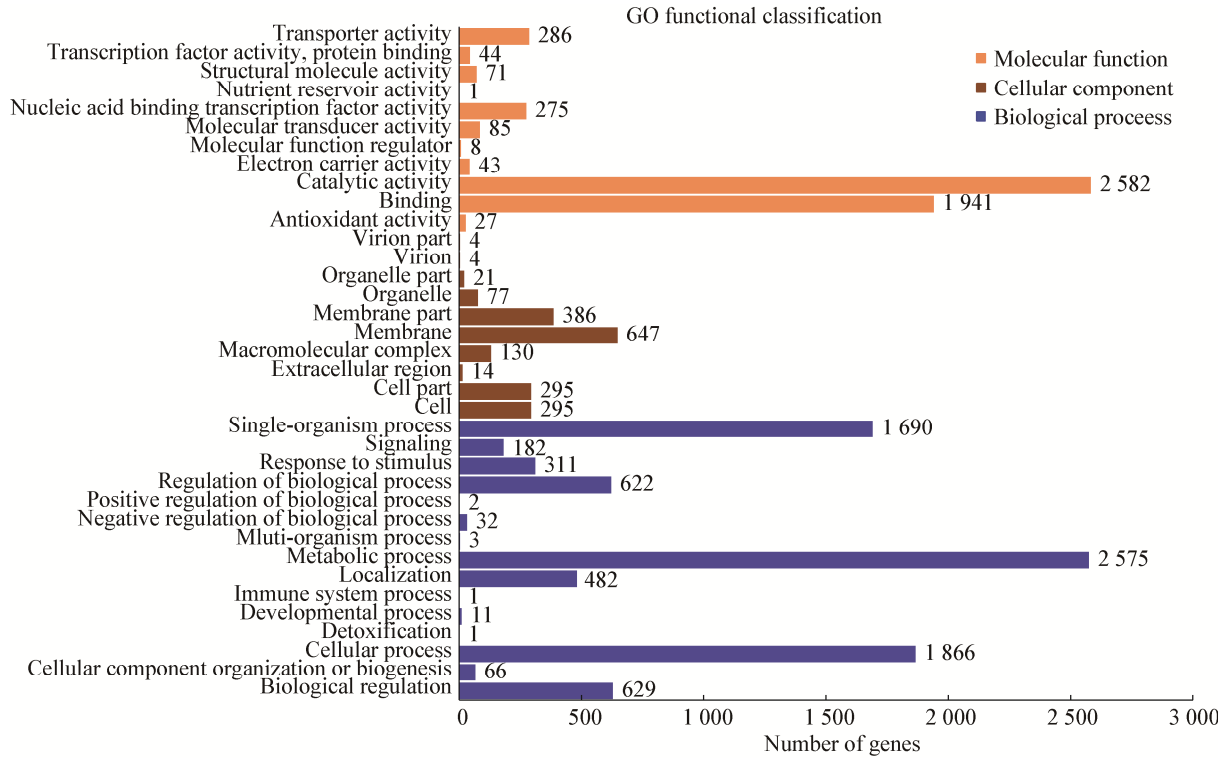


图 4 *S. gilvosporeus* F607 基因组 GO 功能分类图
Figure 4 GO functional classification map of *S. gilvosporeus* F607 genome

因最多的是细胞过程和代谢过程; 细胞学组件类别中注释最多的基因与细胞膜和细胞膜组分相关; 分子功能类别中注释最多的基因与结合和催化活性相关。

2.4.2 KEGG 代谢途径分析

KEGG 代谢途径分析是依据 KEGG Pathway 数据库中八大类生物通路进行富集分析。通过该数据库注释, 可以方便地寻找与行使某一类功能相关的所有注释上的基因。KEGG 富集分析显示(图 5), 能对应到 KEGG pathway 的 4 428 个基因, 富集在 257 条代谢通路中, 其中涉及基因最多的通路主要有: 次级代谢途径(Biosynthesis of secondary metabolites, ko01110) (563 个基因), 环境响应代谢途径(Microbial metabolism in diverse environments, ko01120) (511 个基因), 抗生素生物合成途径(Biosynthesis of antibiotics, ko01130) (429 个基因), 碳代谢(Carbon metabolism, ko01200) (233 个基因), 氨基酸生物合成途径(Biosynthesis of amino acids, ko01230) (189 个基因), 双组分系统(Two component system, ko02020) (183 个基因), 以及 ABC 转运蛋白(ABC transporters, ko02010) (147 个基因)。KEGG 富集分析显示 *S.*

gilvosporeus F607 中除细菌生产代谢途径外, 以次级代谢产物的生物合成途径、双组分系统及转运蛋白途径的基因富集最多, 暗示 *S. gilvosporeus* F607 的次级代谢产物合成及其调控网络复杂。

2.4.3 COG 代谢途径分析

COG 代谢途径分析是依据 NCBI 的 COG 蛋白数据库进行的同源富集分析。通过比对, 将某个蛋白序列注释到某一个 COG 中, 每一簇 COG 由直系同源序列构成, 从而可以推测该序列的功能。根据 COG 富集分析显示(图 6), *S. gilvosporeus* F607 以转录调控相关基因(Transcription, 734 个基因)、氨基酸转运与代谢相关基因(Amino acid transport and metabolism, 519 个基因)和信号传导基因(Signal transduction mechanisms, 493 个基因)为最多。以上结果与 GO 功能分类结果及 KEGG 代谢通路分类结果基本一致, 表明 F607 菌株中存在丰富的调控基因和信号传导蛋白, 暗示 F607 菌株中可能存在复杂而庞大的调控网络。

2.5 比较基因组学分析

S. gilvosporeus F607 与参考菌株的全基因组共线性分析结果如图 7 所示。分析发现, *S. gilvosporeus*

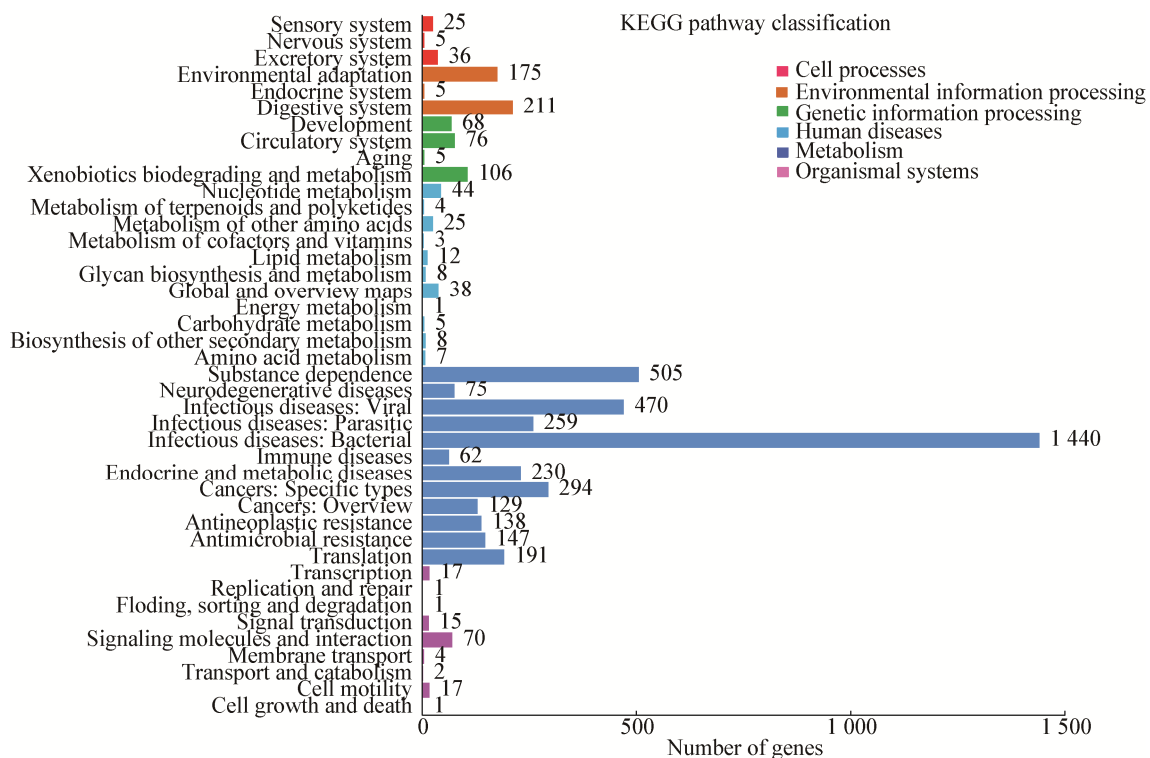


图 5 *S. gilvosporeus* F607 基因组 KEGG 代谢通路分类图

Figure 5 KEGG classification of metabolic pathways map of *S. gilvosporeus* F607 genome

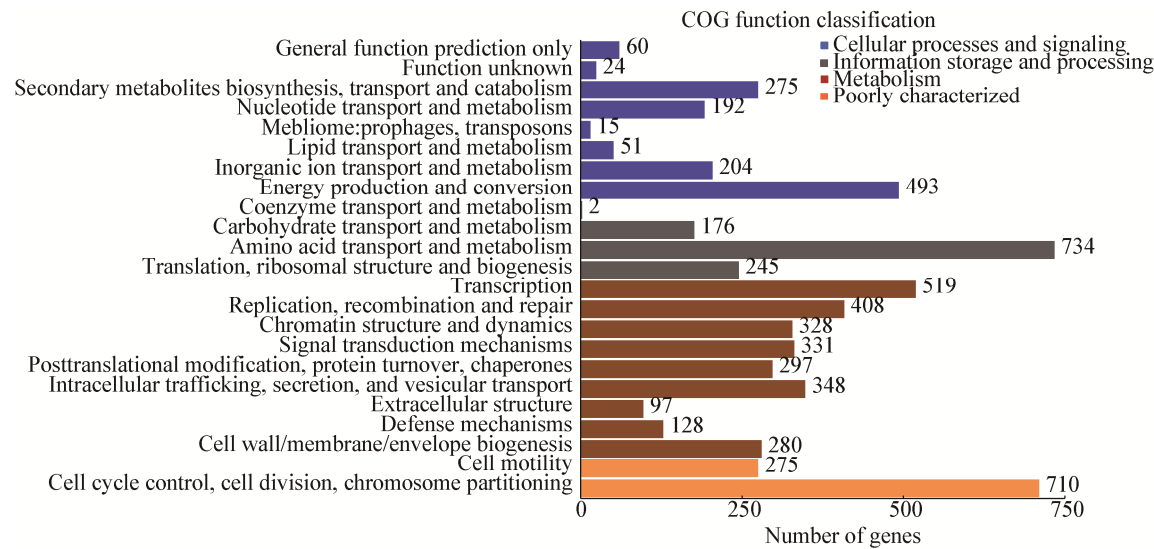


图 6 *S. gilvosporeus* F607 基因组 COG 代谢通路分类图
Figure 6 COG function classification of *S. gilvosporeus* F607 genome

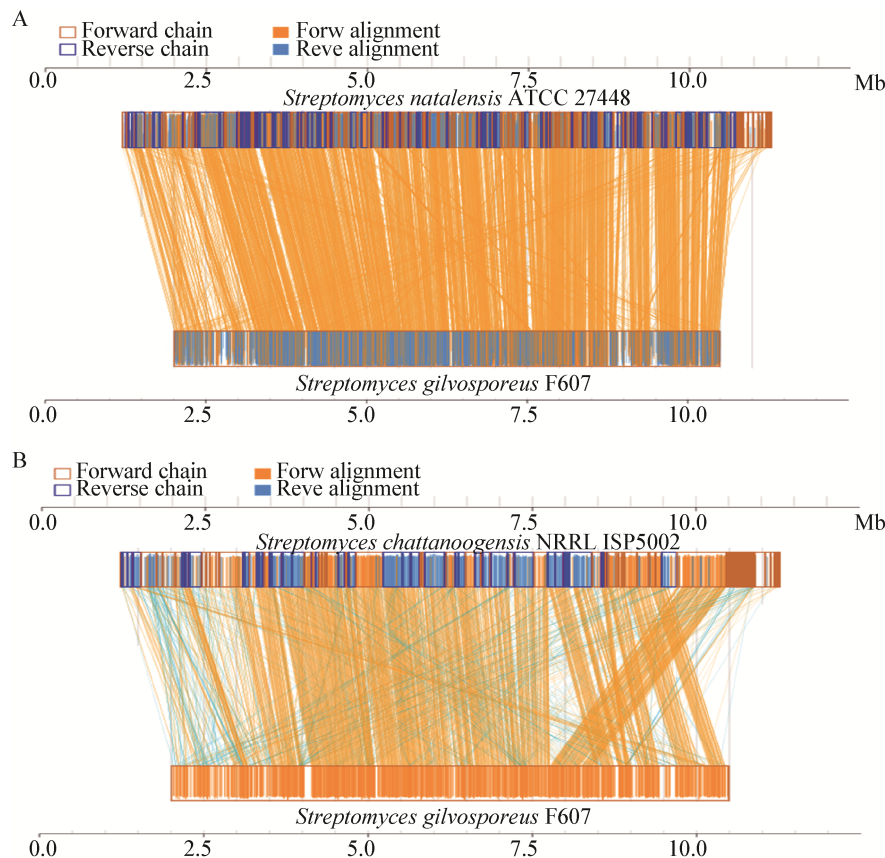


图 7 *S. gilvosporeus* F607 与 *S. natalensis* ATCC 27448 和 *S. chattanoogensis* NRRL ISP5002 核酸序列共线性分析
Figure 7 Synteny analysis of *S. gilvosporeus* F607, *S. natalensis* ATCC 27448 and *S. chattanoogensis* NRRL ISP5002
注: A: *S. gilvosporeus* F607 与 *S. natalensis* ATCC 27448 的共线性分析; B: *S. gilvosporeus* F607 与 *S. chattanoogensis* NRRL ISP5002 的共线性分析.

Note: A: Synteny analysis of *S. gilvosporeus* F607 with *S. natalensis* ATCC 27448; B: Synteny analysis of *S. gilvosporeus* F607 with *S. chattanoogensis* NRRL ISP5002.

F607 与 *S. natalensis* ATCC 27448 和 *S. chattanoogensis* NRRL ISP5002 的基因组相似性较高, 其中 F607 基因组与 ATCC 274484 具有较好的共线性, 但与 NRRL ISP5002 基因组右端序列差异性较大。

2.6 次级代谢产物合成基因簇预测分析结果

通过 antiSMASH 软件对 F607 基因组中的次级代谢产物合成基因簇进行预测, 分析结果显示 F607 基因组中存在 29 个次级代谢产物合成基因簇 (表 2)。其中与聚酮合酶(Polyketide synthase, PKS)

合成相关的基因簇有 4 个(T1PKS, T2PKS, T3PKS, 纳他霉素基因簇), 与非核糖体多肽合成酶合成相关的(Non-ribosomal peptide synthase, NRPS)基因簇 1 个。其余 24 个基因簇被预测为萜烯类、套索肽、铁载体、四氢嘧啶类、铁载体、羊毛肽和丁内酯等化合物的生物合成基因簇。预测结果表明 *S. gilvosporeus* F607 具有合成多种次级代谢产物的基因元件和潜力, 但其能否合成这些次级代谢产物还有待于进一步研究。

表 2 *S. gilvosporeus* F607 次级代谢产物合成基因簇
Table 2 Gene clusters of secondary metabolites of *S. gilvosporeus* F607

基因簇编号 Cluster ID	基因簇类型 Cluster type	起始位置 Start	终止位置 End	最相似的已知基因簇 Most similar known cluster	相似基因比例 Ratio of genes show similarity (%)
Cluster 1	Terpene	1	19 202	--	--
Cluster 2	Otherks	339 476	362 076	--	--
Cluster 3	Lasso peptide	450 489	471 580	Nocathiacin biosynthetic gene cluster	4
Cluster 4	Terpene			--	--
Cluster 5	Terpene	536 628	594 550	Streptomycin biosynthetic gene cluster	14
Cluster 6	Siderophore	904 633	917 713	--	--
Cluster 7	Bacteriocin	972 541	1 031 257	A-503083 biosynthetic gene cluster	7
Cluster 8	Bacteriocin Terpene-T1pks-Siderophore	1 063 375	1 217 187	Natamycin biosynthetic gene cluster	81
Cluster 9	Lantipeptide	1 285 104	1 309 902	--	--
Cluster 10	Lantipeptide	1 478 260	1 502 848	--	--
Cluster 11	Bacteriocin Lantipeptide	1 604 865	1 647 645	Herbimycin biosynthetic gene cluster	23
Cluster 12	Siderophore	1 849 787	1 865 097	Vibrioferrin biosynthetic gene cluster	18
Cluster 13	Nrps	1 998 908	2 100 104	Calcium dependent antibiotic biosynthetic gene cluster	25
Cluster 14	Siderophore	2 515 604	2 527 406	Desferrioxamine B biosynthetic gene cluster	80
Cluster 15	Ectoine	2 602 984	2 613 400	Ectoine biosynthetic gene cluster	100
Cluster 16	Bacteriocin	4 599 424	4 609 708	Nocathiacin biosynthetic gene cluster	4
Cluster 17	Terpene	5 033 202	5 055 451	Salinomycin biosynthetic gene cluster	6
Cluster 18	Siderophore	6 619 315	6 633 824	--	--
Cluster 19	Bacteriocin	6 861 664	6 872 966	--	--
Cluster 20	T1pks	6 880 961	6 961 254	ECO-02301 biosynthetic gene cluster	46
Cluster 21	Terpene	7 003 497	7 060 886	Kutznerides biosynthetic gene cluster	6
Cluster 22	Lasso peptide	7 078 183	7 100 709	SSV-2083 biosynthetic gene cluster	25
Cluster 23	T3pks	7 353 927	7 394 973	Kanamycin biosynthetic gene cluster	7
Cluster 24	Lasso peptide	7 480 287	7 502 822	Azinomycin B biosynthetic gene cluster	6
Cluster 25	Other	7 530 560	7 574 513	A-500359s biosynthetic gene cluster	5
Cluster 26	T2pks-Terpene	7 769 482	7 831 840	Spore pigment biosynthetic gene cluster	83
Cluster 27	Terpene	8 019 057	8 040 385	2-Methylisoborneol biosynthetic gene cluster	100
Cluster 28	Terpene	8 104 245	8 125 147	--	--
Cluster 29	Butyrolactone	8 447 308	8 482 298	Chlorizidine A biosynthetic gene cluster	11

Note: --: No similar cluster predicted.

此外, *S. gilvosporeus* F607 基因组中 Cluster 8 与 *S. chattanoogaensis* L10 纳他霉素合成基因簇的相似性为 81%, 与 *S. natalensis* 纳他霉素合成基因簇的相似性为 77%, 说明 F607 的纳他霉素基因簇具有较高的特异性。

2.7 纳他霉素生物合成基因簇分析

2.7.1 纳他霉素生物合成基因簇对比

依据上述纳他霉素生物合成基因簇预测分析

结果, 对 *S. gilvosporeus* F607 中 Cluster 8 (纳他霉素生物合成基因簇) 与已知的纳他霉素生物合成基因簇进行对比分析, 参照菌株分别为 *S. gilvosporeus* Ins1、*S. chattanoogaensis* L10、*S. natalensis* ATCC 27448 和 *S. lydicus* A02 (表 3)。

结果显示在 *S. gilvosporeus* F607 菌株中纳他霉素生物合成基因簇(*sgn*)中有 30 个基因, 有 20 个基因在 *S. natalensis* ATCC 27448 (*pim*)和 *S. gilvosporeus*

表 3 不同菌株中纳他霉素生物合成基因簇比较

Table 3 Comparison of natamycin biosynthetic gene clusters from different strains

<i>S. gilvosporeus</i> F607	<i>S. gilvosporeus</i> Ins1	<i>S. chattanoogaensis</i> L10	<i>S. natalensis</i> ATCC27448	<i>S. lydicus</i> A02	所编码蛋白的功能 Function of proteins
<i>sgnT</i> ^a	<i>sgnT</i> ^b	A	<i>pimT</i> ^b	A	Natamycin inducer PI factor secretion
<i>sgnM</i>	<i>sgnM</i>	<i>scnRII</i>	<i>pimM</i>	<i>sclM</i>	PAS-LuxR regulator
<i>sgnR</i>	<i>sgnR</i>	<i>scnRI</i>	<i>pimR</i>	<i>sclR</i>	SARP-LAL regulator
<i>sgnK</i>	<i>sgnK</i>	<i>scnK</i>	<i>pimK</i>	<i>sclK</i>	Mycosamine transferase
<i>sgnS4</i>	<i>sgnS4</i>	<i>scnS4</i>	<i>pimS4</i>	<i>sclS4</i>	PKS extension module 12
<i>sgnS3</i>	<i>sgnS3</i>	<i>scnS3</i>	<i>pimS3</i>	<i>sclS3</i>	PKS extension module 11
<i>sgnS2</i>	<i>sgnS2</i>	<i>scnS2</i>	<i>pimS2</i>	<i>sclS2</i>	PKS extension modules 5–10
<i>sgnI</i>	<i>sgnI</i>	<i>scnI</i>	<i>pimI</i>	<i>sclI</i>	Type II thioesterase
<i>sgnJ</i>	<i>sgnJ</i>	<i>scnJ</i>	<i>pimJ</i>	<i>sclJ</i>	GDP-mannose 4,6-dehydratase
<i>sgnA</i>	<i>sgnA</i>	<i>scnA</i>	<i>pimA</i>	<i>sclA</i>	ABC transporter
<i>sgnB</i>	<i>sgnB</i>	<i>scnB</i>	<i>pimB</i>	<i>sclB</i>	ABC transporter
<i>sgnE</i>	<i>sgnE</i>	<i>scnE</i>	<i>pimE</i>	<i>sclE</i>	Cholesterol oxidase
<i>sgnC</i>	<i>sgnC</i>	<i>scnC</i>	<i>pimC</i>	<i>sclC</i>	GDP-3-keto-6-deoxymannose aminotransferase
<i>sgnG</i>	<i>sgnG</i>	<i>scnG</i>	<i>pimG</i>	<i>sclG</i>	P450 monooxygenase
<i>sgnF</i>	<i>sgnF</i>	<i>scnF</i>	<i>pimF</i>	<i>sclF</i>	Ferredoxin
<i>sgnS0</i>	<i>sgnS0</i>	<i>scnS0</i>	<i>pimS0</i>	<i>sclS0</i>	PKS loading module
<i>sgnL</i>	<i>sgnL</i>	<i>scnL</i>	<i>pimL</i>	<i>sclL</i>	Tyrosine phosphatase
A	A	<i>Tnp</i>	A	A	Transposase
<i>sgnS1</i>	<i>sgnS1</i>	<i>scnS1</i>	<i>pimS1</i>	<i>sclS1</i>	PKS Extension modules 1–4
<i>sgnD</i>	<i>sgnD</i>	<i>scnD</i>	<i>pimD</i>	<i>sclD</i>	P450 monooxygenase (C4,5 epoxidase)
<i>orf1</i>	A	A	A	A	--
<i>orf2</i>	A	A	A	A	--
<i>orf3</i>	A	A	A	A	--
<i>orf4</i>	A	A	A	A	--
<i>orf5</i>	A	A	A	A	--
<i>orf6</i>	A	A	A	A	--
<i>orf7</i>	A	A	A	A	--
<i>orf8</i>	A	A	A	A	--
<i>orf9</i>	A	A	A	A	--
<i>sgnH</i>	<i>sgnH</i>	A	<i>pimH</i>	A	PIM efflux pump

Note: A: Absent; ^a: Homologous genes located between *orf5* and *orf6* in the cluster; ^b: Homologous genes located upstream of *sgnM* in the cluster; --: No similar genes predicted.

InS1 (*sgn1*)中存在同源基因, 有 18 个基因在 *S. chattanoogensis* L10 (*scn*)和 *S. lydicus* A02 (*sln*)基因簇中存在同源基因。在以上 5 个菌株中都存在的基因分别为纳他霉素生物合成途径特异性调控基因(*sgnM* 和 *sgnR*)、纳他霉素生物合成基因(*sgnI*、*sgnS4*、*sgnS3*、*sgnS2*、*sgnS1*、*sgnS0*、*sgnG*、*sgnJ*、*sgnC*、*sgnK*、*sgnD*)、纳他霉素分泌相关蛋白(*sgnA* 和 *sgnB*)、未明确功能的纳他霉素合成必需基因(*sgnE*) 和其他相关基因 (*sgnF* 和 *sgnL*)。 *S. gilvosporeus* F607 与其他纳他霉素生产菌中纳他霉素生物合成基因簇在结构及基因排列顺序上具有一致性。

S. gilvosporeus F607 与其他纳他霉素生物合成基因簇也存在差异。*sngT*、*sgnH* 基因或其同源基因存在于 *S. gilvosporeus* F607、*S. gilvosporeus* Ins 1 和 *S. natalensis* ATCC 27448 的纳他霉素生物合成基因簇中, 但 *S. gilvosporeus* F607 中 *sgnT* 基因排列于基因簇末端(*sgnD* 下游), 而 *S. gilvosporeus* Ins1 和 *S. natalensis* ATCC 27448 中 *sgnT/pimT* 位于基因簇前端(*sgnM* 上游); 在 *S. chattanoogensis* L10 和 *S. lydicus* A02 中并无该基因或其同源基因。 *S. chattanoogensis* L10 纳他霉素基因簇中存在一个转座基因(*Tnp*), 在 *S. gilvosporeus* F607、*S. gilvosporeus* Ins1 和 *S. natalensis* ATCC 27448 中未发现该基因。

此外, *S. gilvosporeus* F607 的纳他霉素生物合成基因簇中存在 9 个未知功能的基因(命名为 *orf*), 其中分别为 *orf1-orf5* 位于 *sgnD* 与 *sgnT* 之间, *orf6-orf9* 位于 *sgnT* 与 *sgnH* 之间。

2.7.2 *S. gilvosporeus* F607 纳他霉素基因簇中特异基因分析

S. gilvosporeus F607 的纳他霉素生物合成基因簇中 9 个未知功能的基因 *orf1-orf9*, 在目前已知的纳他霉素生物合成基因簇中均未发现。分别将 *orf1-orf9* 进行 NCBI BLAST 比对分析, 以寻找与其相似性最高的基因的功能。分析结果如表 4 所示, 与 *orf1* 高度同源的基因编码的蛋白属于 GNAT 家族的 N-乙酰基转移酶, *orf2-orf5* 相似性最高的基因都来自于另一个纳他霉素产生菌 *S. lydicus* A02; *orf6*、*orf7* 相似性最高的基因来自 *S. sp.* RTd22, 且在纳他霉素产生菌中并未发现该基因的同源基因; 而 *orf8*、*orf9* 是 *S. gilvosporeus* F607 菌株特有基因。*orf* 基因是否参与纳他霉素生物合成及其调控未知, 尚需进一步研究证实。

2.7.3 *S. gilvosporeus* F607 纳他霉素生物途径

在 *S. natalensis* 和 *S. chattanoogensis* 中, 纳他霉素由 PimS0-S4/ScnS0-S4 的 12 个功能模块 (Model)催化 11 个乙酸和 1 个丙酸形成其骨架结构。PimS0/ScnS0 (Model 0)起转载蛋白的作用,

表 4 *S. gilvosporeus* F607 纳他霉素基因簇中特异基因
Table 4 Specific genes of natamycin gene cluster in *S. gilvosporeus* F607

基因编号 <i>orf</i> ID	基因注释名称 Names	最相似的基因 Most similar gene	覆盖度 Query cover	一致性 Identity (%)	同源基因菌株来源 Strain of homologous gene
<i>orf1</i>	GNAT family N-acetyl transferase	GNAT family N-acetyltransferase	97	86	<i>S. lydicus</i> 103
<i>orf2</i>	Class II aldolase	Putative aldolase class 2 protein	96	94	<i>S. lydicus</i> A02
<i>orf3</i>	2-Hydroxyacid dehydrogenase	Hypothetical protein/Putative aldolase class 2 protein	100	92	<i>S. lydicus</i> A02
<i>orf4</i>	Sodium/solute symporter	Hypothetical protein	100	94	<i>S. lydicus</i> A02
<i>orf5</i>	PucR family transcriptional regulator	Hypothetical protein	98	88	<i>S. lydicus</i> A02
<i>orf6</i>	AraC family transcriptional regulator	Isonitrile hydratase	98	81	<i>S. sp.</i> RTd22
<i>orf7</i>	DJ-1/PfpI family protein	DJ-1/PfpI family protein	99	81	<i>S. sp.</i> NRRL S-1448
<i>orf8</i>	Hypothetical protein	--	--	--	--
<i>orf9</i>	Hypothetical protein	--	--	--	--

Note: --: No similar genes predicted.

PimS1/ScnS1 (Model 1–4)则催化缩合纳他霉素骨架延伸,完成延伸的4个循环后,与PimS2/ScnS2 (Model 5–10)共同催化形成共轭双键发色团。PimS3/ScnS3 (Model 11)与PimS4/ScnS4 (Model 12)将形成的双键氧化成环氧的结构并催化骨架链延伸的结束。在骨架延伸过程中,PimI/ScnI负责起始酰基单元的识别及延伸单元的移动。*pimG/scnG* 编码的细胞色素 P450 单氧化酶完成内酯环修饰,PimJ/ScnJ 与 PimC/ScnC 负责 GDP-海藻糖胺的合成,*pimK/scnK* 基因编码的糖基转移酶(Glycosyl transferase)负责海藻氨基糖与内酯环骨架结构的缩合,另一个细胞色素 P450 单氧化酶 PimD/ScnD 将纳他霉素骨架上 C4、C5 上的双键催化形成环氧^[5]。

S. gilvosporeus F607 中以上基因与 *S. natalensis* 和 *S. chattanoogaensis* 中基因具有高度同源性,且氨基酸序列及功能模块的结构及排列顺序上具有高度一致性。因此,*S. gilvosporeus* F607 中纳他霉素生物合成途径推测见图 8。

3 讨论与结论

S. gilvosporeus 是一种重要的纳他霉素生产菌株。在目前已知的纳他霉素生产菌株中,纳他霉素生物合成基因簇及生物合成途径高度一致,但各个菌株中纳他霉素生物合成的调控方式却不完全相同。另外,*S. gilvosporeus* Ins1 的纳他霉素生物合成基因簇序列已有报道,但 *S. gilvosporeus* 全基因组

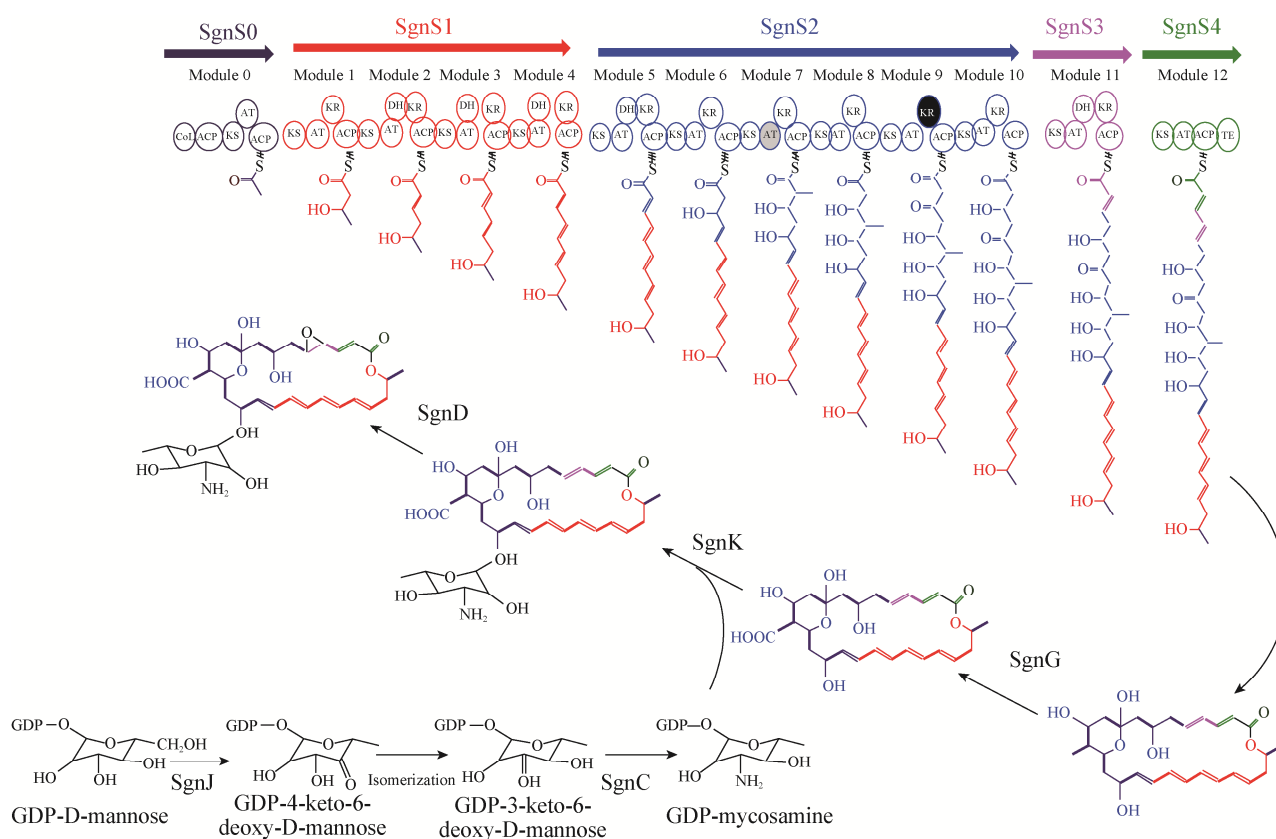


图 8 *S. gilvosporeus* F607 中纳他霉素生物合成途径^[5]

Figure 8 Biosynthesis of natamycin in *S. gilvosporeus* F607^[5]

注: ACP: 酰基载体蛋白; AT: 酰基转移酶; CoL: 羧酸:辅酶 A 连接酶; DH: 脱水酶; KR: 酮基还原酶; KS: 酮基合成酶; TE: 硫酯酶; SgnS2 中 Model 7 的 AT (灰色)以甲基丙酰 CoA 为底物, Model 9 的 KR 结构域推测没有活性。

Note: ACP: Acyl carrier protein; AT: Acyltransferase; CoL: Carboxylic acid:CoA ligase; DH: β -Hydroxyacyl-thioester dehydratase; KR: β -Ketoacyl-ACP reductase; KS: β -Ketoacyl-ACP synthase, and TE: thioesterase; The KR domain in black (in SgnS2) is predicted to be inactive; The AT SgnS2 (grey) is predicted to incorporate a propionyl extender unit.

序列尚未明确, 其纳他霉素生物合成及调控的研究只能依据基因簇相似性较高的 *S. natalensis* 推测该基因簇的途径特异性调控因子, 以及某些已知上层调控因子的调控作用, 尚无法从基因组水平上进行纳他霉素生物合成调控的全局性调控研究, 更无法进行有潜力的次级代谢产物的挖掘。本研究中 *S. gilvosporeus* F607 是一株纳他霉素高产菌株, 其纳他霉素产量在摇瓶中能达到 6.74 g/L。我们前期已经公开发表了 *S. gilvosporeus* F607 基因组序列^[18], 但尚未对其基因组序列蕴藏的信息进行分析。因此, 本文进一步对 *S. gilvosporeus* F607 基因组的功能进行了预测和分析, 这对通过基因改造提高纳他霉素产量及生物合成调控机制研究具有重要意义。

S. gilvosporeus F607 全基因组序列的测定结果显示该菌株的基因组总长度为 8 482 298 bp, (G+C)mol%含量为 70.95%, 包含预测编码蛋白基因 7 145 个^[18]。本文通过对基因组进行功能注释和比较基因组学分析, 发现 *S. gilvosporeus* F607 基因组与另外两株纳他霉素产生菌(*S. natalensis* ATCC 27448 和 *S. chattanoogensis* NRRL ISP5002)的基因组具有明显的相似性。此外, *S. gilvosporeus* F607 基因组中预测存在 29 个次级代谢产物合成基因簇, 而且这些潜在的次级代谢产物无纳他霉素的类似物。在 *S. gilvosporeus* 基因组中发现相关生物活性化合物合成的基因簇, 为解析 *S. gilvosporeus* 中纳他霉素及其他次级代谢产物的合成与调控提供新的思路, 为解析纳他霉素及其他次级代谢产物的合成与调控奠定基础。

通过比对 *S. gilvosporeus* F607 与 *S. gilvosporeus* Ins1、*S. chattanoogensis* L10、*S. natalensis* ATCC 27448 和 *S. lydicus* A02 中纳他霉素生物合成基因簇, 我们发现 *S. gilvosporeus* F607 的纳他霉素生物合成基因簇中存在 9 个其他纳他霉素产生菌没有且功能未知的 *orf* 基因, *orf* 1-7 相似性最高的基因分别来自于 3 种链霉菌 *S. lydicus* 103、*S. lydicus* A02 和 *S. sp.* RTd22。*orf* 1 基因为组蛋白乙酰转移酶复合物编码

基因, 有研究表明该蛋白参与转录激活、基因沉默、细胞周期调控、DNA 复制、修复以及染色体组装等许多重要的生理过程^[21]。*orf* 2、*orf* 3 基因分别编码 II 型醛缩酶和 2-醇酸脱氢酶, 可能分别在糖酵解及糖异生途径和脂肪酸代谢中发挥作用^[22-23]。*orf* 4 基因编码 Na⁺/溶质协同转运蛋白, 用于细胞渗透压的维持^[24]。*orf* 5 编码一个 PucR 家族转录激活因子, 该因子被证实在枯草芽孢杆菌中调控脯氨酸/L-亮氨酸的代谢和孢子发育^[25]。*orf* 6 基因编码一个 AraC 家族的转录调控因子, 有研究报道阿维链霉菌中转录调控因子 SAV742 (AraC 家族)可以直接调控阿维菌素、寡霉素和南昌霉素等多种链霉菌抗生素的生物合成^[26-27]。*orf* 7 编码一个 DJ-1/PfpI 蛋白, *orf* 6 与 *orf* 7 可能分别编码 AdpA 的 C 端和 N 端, 在形态分化和次级代谢调控中具有重要作用^[28]。*orf* 8、*orf* 9 是 *S. gilvosporeus* F607 菌株特有基因, 无相似基因的发现。上述 9 个 *orf* 基因是否参与纳他霉素生物合成及其调控尚需研究。

sgnT、*sgnH* 基因的排列位置在 *S. gilvosporeus* F607、*S. gilvosporeus* Ins1 和 *S. natalensis* ATCC 27448 纳他霉素生物合成基因簇中的位置不同。有研究证实 *SgnT* 的同源蛋白 *PimT* 是一种氨基酸转运蛋白, 可以通过与群体感应诱导物-PI 因子的相互作用影响纳他霉素的生物合成^[13], 该基因排列位置的变化是否影响纳他霉素生物合成及其调控尚未可知。

目前, *S. gilvosporeus* 中纳他霉素高产菌株构建的研究还停留在常规诱变育种、高溶氧菌株及途径特异性调控因子或超表达基因簇基因的工程菌株构建, 前期进行的 *vgb* 和 *pimM*、*pimE* (即 *sgnM*、*sgnE*)工程菌株的构建表明, 仅从基因簇的层面改造来提高纳他霉素产量的能力有限^[19-20]。

本研究首次对 *S. gilvosporeus* 进行了基因组功能注释和初步的比较基因组学分析, 预测了次级代谢产物合成基因簇, 进行了比较基因组学研究, 对比了已知的纳他霉素生物合成基因簇。通过对 *S. gilvosporeus* F607 菌株全基因组序列的分析, 有助

于在基因组水平上了解 F607 高产纳他霉素的遗传物质基础,同时有利于深入了解纳他霉素在褐黄孢链霉菌中的生物合成调控网络及新抗生素生物合成基因簇的发现,为揭示纳他霉素高产的机理及工业化生产、未来新药发现奠定良好的基础。

REFERENCES

- [1] Bolard J. How do the polyene macrolide antibiotics affect the cellular membrane properties?[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Biomembranes*, 1986, 864(3/4): 257-304
- [2] Aparicio JF, Fouces R, Mendes MV, et al. A complex multienzyme system encoded by five polyketide synthase genes is involved in the biosynthesis of the 26-membered polyene macrolide pimarinin in *Streptomyces natalensis*[J]. *Chemistry & Biology*, 2000, 7(11): 895-905
- [3] Du YL, Chen SF, Cheng LY, et al. Identification of a novel *Streptomyces chattooensis* L₁₀ and enhancing its natamycin production by overexpressing positive regulator ScnRII[J]. *The Journal of Microbiology*, 2009, 47(4): 506-513
- [4] Wu HL, Liu WC, Shi LL, et al. Comparative genomic and regulatory analyses of natamycin production of *Streptomyces lydicus* A02[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7(1): 9114
- [5] Aparicio JF, Barreales EG, Payero TD, et al. Biotechnological production and application of the antibiotic pimarinin: biosynthesis and its regulation[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2016, 100(1): 61-78
- [6] Antón N, Santos-Aberturas J, Mendes MV, et al. PimM, a PAS domain positive regulator of pimarinin biosynthesis in *Streptomyces natalensis*[J]. *Microbiology*, 2007, 153(9): 3174-3183
- [7] Santos-Aberturas J, Vicente CM, Payero TD, et al. Hierarchical control on polyene macrolide biosynthesis: PimR modulates pimarinin production via the PAS-LuxR transcriptional activator PimM[J]. *PLoS One*, 2012, 7(6): e38536
- [8] Santos-Aberturas J, Payero TD, Vicente CM, et al. Functional conservation of PAS-LuxR transcriptional regulators in polyene macrolide biosynthesis[J]. *Metabolic Engineering*, 2011, 13(6): 756-767
- [9] Sun ZH. The study of the pathway-specific regulation of natamycin biosynthesis in *Streptomyces chattooensis*[D]. Hangzhou: Master's Thesis of Zhejiang University, 2013 (in Chinese)
孙志豪. 恰塔努加链霉菌纳他霉素生物合成的途径特异性调控机制研究[D]. 杭州: 浙江大学硕士学位论文, 2013
- [10] Du YL, Li SZ, Zhou Z, et al. The pleiotropic regulator AdpA_{ch} is required for natamycin biosynthesis and morphological differentiation in *Streptomyces chattooensis*[J]. *Microbiology*, 2011, 157(5): 1300-1311
- [11] Liu SP. Molecular mechanism of natamycin high efficiency biosynthesis in *Streptomyces chattooensis*[D]. Hangzhou: Doctoral Dissertation of Zhejiang University, 2015 (in Chinese)
刘水平. 恰塔努加链霉菌纳他霉素高效生物合成的分子机制[D]. 杭州: 浙江大学博士学位论文, 2015
- [12] Mendes MV, Tunca S, Anton N, et al. The two-component *phoR-phoP* system of *Streptomyces natalensis*: inactivation or deletion of *phoP* reduces the negative phosphate regulation of pimarinin biosynthesis[J]. *Metabolic Engineering*, 2007, 9(2): 217-227
- [13] Vicente CM, Santos-Aberturas J, Guerra SM, et al. PimT, an amino acid exporter controls polyene production via secretion of the quorum sensing pimarinin-inducer PI-factor in *Streptomyces natalensis*[J]. *Microbial Cell Factories*, 2009, 8: 33
- [14] Recio E, Colinas Á, Rumbero Á, et al. PI Factor, a novel type quorum-sensing inducer elicits pimarinin production in *Streptomyces natalensis*[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2004, 279(40): 41586-41593
- [15] Lee KM, Lee CK, Choi SU, et al. Cloning and in vivo functional analysis by disruption of a gene encoding the γ -butyrolactone autoregulator receptor from *Streptomyces natalensis*[J]. *Archives of Microbiology*, 2005, 184(4): 249-257
- [16] Du YL, Shen XL, Yu P, et al. Gamma-butyrolactone regulatory system of *Streptomyces chattooensis* links nutrient utilization, metabolism, and development[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2011, 77(23): 8415-8426
- [17] Wang YM, Tao ZS, Zheng HL, et al. Iteratively improving natamycin production in *Streptomyces gilvosporeus* by a large operon-reporter based strategy[J]. *Metabolic Engineering*, 2016, 38: 418-426
- [18] Zong GL, Zhong CQ, Fu JF, et al. Complete genome sequence of the high-natamycin-producing strain *Streptomyces gilvosporeus* F607[J]. *Genome Announcements*, 2018, 6(1): e01402-17
- [19] Wang SH, Liu F, Hou ZW, et al. Enhancement of natamycin production on *Streptomyces gilvosporeus* by chromosomal integration of the *Vitreoscilla* hemoglobin gene (*vgb*)[J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2014, 30(4): 1369-1376
- [20] Wang M, Wang SH, Zong GL, et al. Improvement of natamycin production by cholesterol oxidase overexpression in *Streptomyces gilvosporeus*[J]. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2016, 26(2): 241-247
- [21] Jurénas D, Chatterjee S, Konijnenberg A, et al. AtaT blocks translation initiation by N-acetylation of the initiator tRNA^{fMet}[J]. *Nature Chemical Biology*, 2017, 13(6): 640-646
- [22] Wu LJ. Biological and structural study of a novel no aldolase derived from *Streptomyces coelicolor*[D]. Hefei: Master's Thesis of University of Chinese Academy of Sciences, 2013 (in Chinese)
吴丽静. 天蓝色链霉菌醛缩酶的生化性质和结构生物学研究[D]. 合肥: 中国科学院大学硕士学位论文, 2013
- [23] Holton SJ, Anandhakrishnan M, Geerloff A, et al. Structural characterization of a D-isomer specific 2-hydroxyacid dehydrogenase from *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *Bulgaricus*[J]. *Journal of Structural Biology*, 2013, 181(2): 179-184
- [24] Padan E, Bibi E, Ito M, et al. Alkaline pH homeostasis in bacteria: new insights[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 2005, 1717(2): 67-88
- [25] Lin TH, Wei GT, Su CC, et al. AdeR, a PucR-type transcription

- factor, activates expression of L-Alanine dehydrogenase and is required for sporulation of *Bacillus subtilis*[J]. Journal of Bacteriology, 2012, 194(18): 4995-5001
- [26] Sun D. Regulatory mechanisms of transcriptional regulator SAV742 and alternative σ factor σ^8 in *Streptomyces avermitilis*[D]. Beijing: Doctoral Dissertation of China Agricultural University, 2017 (in Chinese)
- 孙地. 阿维链霉菌中转录调控因子 SAV742 和选择性 σ 因子 σ^8 的调控机制[D]. 北京: 中国农业大学博士学位论文, 2017
- [27] Yu Q. Multiple pathway-associated regulations of nanchangmycin and oligomycin[D]. Shanghai: Doctoral Dissertation of Shanghai Jiao Tong University, 2012 (in Chinese)
- 于晴. 南昌霉素和寡霉素次级代谢合成的调控研究[D]. 上海: 上海交通大学博士学位论文, 2012
- [28] Zhao JL, Wen Y, Chen Z, et al. An *adpA* homologue in *Streptomyces avermitilis* is involved in regulation of morphogenesis and melanogenesis[J]. Chinese Science Bulletin, 2007, 52(5): 623-630 (in Chinese)
- 赵金雷, 文莹, 陈芝, 等. 阿维链霉菌 *adpA-a* 调控形态分化和黑色素形成[J]. 科学通报, 2007, 52(2): 170-176

征订启事

欢迎订阅《微生物学通报》

《微生物学通报》创刊于 1974 年, 月刊, 是中国科学院微生物研究所和中国微生物学会主办, 国内外公开发行, 以微生物学应用基础研究及技术创新与应用为主的综合性学术期刊。刊登内容包括: 工业、海洋、环境、基础、农业、食品、兽医、水生、药物、医学微生物学和微生物蛋白质组学、功能基因组、工程与药物等领域的最新研究成果、产业化新技术和新进展, 以及微生物学教学研究改革等。

本刊为中文核心期刊, 中国科技核心期刊, CSCD 核心期刊, 曾获国家优秀科技期刊三等奖, 中国科学院优秀科技期刊三等奖, 北京优秀科技期刊奖, 被选入新闻出版总署设立的“中国期刊方阵”并被列为“双效”期刊。

据中国科学技术信息研究所信息统计, 本刊 2012 年至今以国内“微生物、病毒学类期刊”综合评价总分第一而蝉联“百种中国杰出学术期刊奖”, 并入选“中国精品科技期刊”, 成为“中国精品科技期刊顶尖学术论文(F5000)”项目来源期刊。

欢迎广大读者到邮局订阅或直接与本刊编辑部联系购买, 2019 年每册定价 80 元, 全年 960 元, 我们免邮费寄刊。

邮购地址: (100101)北京朝阳区北辰西路 1 号院 3 号中国科学院微生物研究所《微生物学通报》编辑部

Tel: 010-64807511; E-mail: bjb@im.ac.cn, tongbao@im.ac.cn

网址: <http://journals.im.ac.cn/wwxtbcn>

国内邮发代号: 2-817; 国外发行代号: M413