

麦迪霉素聚酮缩合酶基因的亚克隆及表达

朱学蔚* 王以光 金莲舫 徐小敏

(中国医学科学院医药生物技术研究所, 北京)

利用与麦迪霉素生物合成有类似途径的放线紫红素聚酮缩合酶基因 Act I 作为探针, 将来源于麦迪霉素产生菌基因文库的与 Act I 有同源性的阳性初级克隆 pCN8B12 进一步缩小, 亚克隆获得了 2.4kb 的麦迪霉素聚酮缩合酶基因, 将其插入 pWHM3 载体中构建了重组质粒 pCG2 DNA。pCG2 DNA 在放线紫红素聚酮缩合酶基因缺陷型变株天蓝色链霉菌 TK17 及螺旋霉素产生菌 *S. ambofaciens* 中均获得表达。前者所得产物不同于麦迪霉素和放线紫红素, 可能为新的杂合抗生素; 后者能使螺旋霉素产量得到提高。另外 pCG2 DNA 在道诺红霉素产生菌调节变株 *S. peuceetius* H6101 中的表达产物经 TLC 及 HPLC 分析表明为紫红霉素。pCG2 DNA 在 Tetracenomycin C 产生菌 *S. glaucescens* 中亦有一定的功能表达, 而在红霉素产生菌红霉内酯阻断变株 *Saccharopolyspora erythraea* WMH 15,261 中未观察到活性表达。推测 pCG2 DNA 具有一定调节或在某些聚酮类抗生素产生菌变株中起互补的功能。

关键词 麦迪霉素; 聚酮合成酶基因; 杂合抗生素

链霉菌是主要的抗生素产生菌。链霉菌基因工程技术的兴起为抗生素菌种改造和新抗生素的开发提供了有力的手段。D.A. Hopwood 等于 1985 年首次报道了将天蓝色链霉菌 *Streptomyces coelicolor* A3(2) 产生的放线紫红素的生物合成基因通过载体携带后分别转化 Medermycin 产生菌 *Streptomyces* sp AM-7161 和 Granaticin/ Dihydrogranaticin 产生菌 *Streptomyces violaceoruber* Tü22, 结果分别获得了杂合抗生素 Mederrhodin A、B 和 Dihydrogranatirhodin^[1]。在此之后, 亦有其他一些成功的报道^[2-4]。目前, 这方面的工作主要在产物化学结构相似的抗生素产生菌株中进行。

麦迪霉素属于聚酮类抗生素, 其合成过程象其他聚酮类抗生素一样, 需经过一个共同的合成途径—聚酮环的形成, 在此过程中聚酮缩合酶起着重要作用。F. Maltipartida 等^[5]认为聚酮类抗生素的聚酮合成酶基因有同源性, 利用 Act I 同源序

列, 有可能克隆其它有类似生物途径的酶基因。本文利用该特点, 用已克隆的放线紫红素聚酮缩合酶基因 (Act I) 作为探针, 克隆麦迪霉素聚酮缩合酶基因, 并分别转化数种聚酮类抗生素产生菌的野生株或聚酮酶基因缺陷型无活性变株, 探索合成途径相似, 但结构不同的抗生素生物合成基因的组配, 形成新抗生素和提高抗生素产量的可能性。

材 料 和 方 法

(一) 菌株和质粒

1. 大肠杆菌 PH-5 (LacZ⁻) 由 C.R. Hutchinson 教授提供。

2. 天蓝色链霉菌 TK17 (*S. coelicolor* TK17) 为放线紫红素生物合成聚酮缩合酶基因缺陷型变株 (Act I⁻) 由 D.A. Hopwood 教授提供。青色链霉菌 (*S. g-*

本文于 1990 年 12 月 5 日收到。

* 现地址: 浙江医科大学病生理教研室。

laucescens)为TetracenomycinC产生菌;
S. ambofaciens 为螺旋霉素产生菌野生型;
Saccharopolyspora erythraea W-MH 15,261 为红霉素产生菌红霉内酯生物合成阻断变株;
S. peucetius H6101为道诺红霉素产生菌无活性变株(调节变株),均由C.R.Hutchinson教授提供。
以上菌株皆为DNA受体菌。

3. 八叠球菌、金黄色葡萄球菌链丝菌素(*tsr^R*)抗性菌株;均为测定抗菌活性试验菌。前者由本所提供,后者由C.R.Hutchinson教授提供。

4. 质粒: pWHM3 为大肠杆菌/链霉菌穿梭质粒(Amp-R,*tsr*-R)^[6],由C.R.Hutchinson教授提供。pCN8B12 提供与放线紫红素聚酮缩合酶基因(Act I)有同源性的麦迪霉素基因克隆^[7],由王以光教授提供。

(二) 培养基

大肠杆菌培养用LB培养基,链霉菌培养主要用R₂YE改良培养基^[8]。其中斜面孢子培养*S. peucetius* H6101用合成培养基^[8],*Saccharopolyspora erythraea* WMH 15和261用R₂T₂培养基^[9],*S. glaucescens*用HT^[10]培养基。*Saccharopolyspora erythraea* 菌种原生质体制备时菌种在SGGP液体培养基^[7]中生长。*S. coelicolor* TK17,*S. ambofaciens*的孢子培养基组成(%): 黄豆饼粉2.0,葡萄糖3.0,淀粉1.0,硫酸铵0.5,碳酸钙0.3,磷酸二氢钾0.05。*S. coelicolor* TK17的发酵培养基组成(%): 淀粉3.0,葡萄糖3.5,磷酸二氢钾0.14,硫酸镁0.5,碳酸钙0.3。*S. ambofaciens*的发酵培养基组成(%): 葡萄糖2.0,淀粉4.0,鱼粉2.0,玉米浆1.0,硝酸铵0.6,碳酸钙0.5,磷酸二氢钾0.05,硫酸镁0.1,氯化钠1.0。

(三) 方法

1. DNA转化及转化子筛选:采用文献[11,12]的方法进行。

2. DNA提取及一般操作:基本按照文献[11,12]的方法。

3. 酶反应及电泳:限制酶BamHI, BglII, Pst I, EcoRI和Xho I为医科院基础所产品, HindIII为Biolabs产品, 酶切反应条件依产品说明, 酶切反应时间2—16h。T4 DNA连接酶, 碱性磷酸酶(CIAP)为医科院基础所产品, 连接反应在室温(22℃左右)下进行, 反应过夜。电泳条件基本按照文献[11]方法。

4. DNA片段从琼脂糖凝胶回收:按照S&S公司产品说明,利用S&S NA-45 DEAE膜回收。

5. DNA片段³²P同位素标记及分子杂交:按照文献[11]方法,利用BRL公司的缺口翻译试剂盒。

6. 转化子发酵、检定、提取及产物分析:种子及摇瓶发酵均为28℃,200rpm旋转摇床上培养。种子生长24—48 h,以10%的接种量接入含发酵培养基50ml的500ml装量的三角瓶中,培养2—3天。

发酵滤液用管碟法以检定菌检测抗菌活性。pCG2 DNA在*S. coelicolor* TK17中的转化子发酵活性产物提取方法:发酵液用工业草酸调至pH3约放置半小时后过滤,滤液采用Diaion HP-20大孔树脂吸附,用去离子水洗涤柱体后,用80%丙酮洗脱,洗脱液经用八叠球菌生物检测,合并有效成份,置通风柜中挥发掉丙酮后的水溶液,用适量乙酸乙酯抽提,得到脂溶部份,挥发掉乙酸乙酯后的水溶部份可直接冷冻干燥得到粗品。pCG2 DNA在*S. peucetius* H6101中的转化子的发酵、提取及产物分析方法,按照Kim.J等^[13]方法进行。

发酵产物分析采用八个溶剂系统纸层析^[14]和电泳试验。纸层析所用的八个溶剂系统为: (1)水饱和的正丁醇; (2)水饱和的正丁醇, 内含 2% 对甲苯磺酸; (3)丁醇:醋酸:水(2:1:1); (4)水饱和的正丁醇, 内含 2% 六氢吡啶; (5) 0.5 mol/L pH7.0 的磷酸缓冲液, 用正丁醇饱和; (6)正丁醇饱和的水, 内含 2% 对甲苯磺酸; (7)苯:甲醇(4:1), 滤纸用 0.5mol/L, pH7.0磷酸缓冲液处理; (8) 75%甲醇, 25%水(内含 3%氯化钠), 滤纸用 5%硫酸钠处理。

电泳所用的缓冲液及条件: 酸性系统: pH2, 甲酸:乙酸:水(2.5:7.5:990); 碱性系统: pH8, 0.4% 磷酸氢二钾。电压: 1000V, 时间: 2.5h。滤纸规格: 新华层析滤纸, 纸层析条: 28cm 长, 0.5 cm 宽; 电泳条: 35cm 长, 1 cm 宽。

pCG2 DNA 在 *S. peuceitius* H6101 中的转化子发酵产物的鉴别: 发酵液在 pH 8.0 条件下, 用乙酸乙酯抽提后, 采用 TLC, 以苯:甲醇(9:1)为溶剂展开, 然后用碘蒸气显色定位, 与螺旋霉素标准品的 TLC 结果比较。螺旋霉素效价的测定采用标准曲线法。螺旋霉素标准品购自卫生部检定所。

实验结果

(一) 麦迪霉素聚酮缩合酶基因的亚克隆

pCN8B12 是以 pNJ1 作为载体, 从麦迪霉素产生菌基因文库中分离的含有与探针 Act I 基因有同源片段的重组质粒^[11]。通过 Southern 印迹法发现其中的 Bgl II - Bgl II 2.4kb 片段与 Bgl II 探针有同源性(图版 I - A, 13.8kb 片段中含有载体 pNJ1, 与 Act I 基因有一定同源性), 用

DEAE 膜从琼脂糖中回收该片段。大肠杆菌/链霉菌穿梭质粒 pWHM3-BamHI 酶切作为载体。载体经 ClAP 处理, 在 T4 DNA 连接酶作用下, 与经膜回收的基因片段相连, 然后转化大肠杆菌 DH-5, 在含 X-gal, IPTG 的 LB 培养基中挑选白色的 Amp 抗性菌落, 获得含重组基因的转化子。由此我们获得了含有插入基因片段的重组质粒 pCG2 DNA。其技术路线如图 1。

(二) 质粒 pCG2 DNA 限制酶酶切分析

将 pCG2 DNA 分别用 Pst I、Xho I、EcoR I、Hind III 进行单酶切及 EcoR I - Hind III 双酶切, 从电泳图谱上出现的 DNA 片段数, 可以推断, EcoR I、Hind III、Xho I 分别对 pCG2 各有一切点, Pst I 对 pCG2 有两个切点(图版 I - B)。用 λ DNA 的 Hind III 酶切片段作为分子量的标准, 结果得出 Pst I 单酶切后的 pCG2 DNA 所得的两个片段分子量分别为 8.9kb, 0.7 kb, 结合 pWHM3 DNA 的限制酶酶切图谱, 可以得知在 pCG2 的插入片段中没有 EcoR I、Hind III、Xho I 的酶切位点, 而有一个 Pst I 的酶切位点, 且与 pWHM3 上的 Pst I 位点之间存在着 0.7kb 的间隔, 由此构建了 pCG2 DNA 的限制酶酶切图谱(图 2)。

(三) pCG2 DNA 在天蓝色链霉菌 TK17 中的表达

天蓝色链霉菌 TK17 为放线紫红素聚酮缩合酶基因缺陷株。由于麦迪霉素与放线紫红素同属聚酮类抗生素, 他们的生物合成过程中所需的聚酮缩合酶基因有同源性, 因此 pCG2 DNA 引入天蓝色链霉菌 TK17 有可能互补后者的基因缺陷。将质粒 pCG2 DNA 转化至天蓝色链霉菌 TK17 中, 在含 25 μ g/ml 硫链丝菌素的 R₂ YE 培

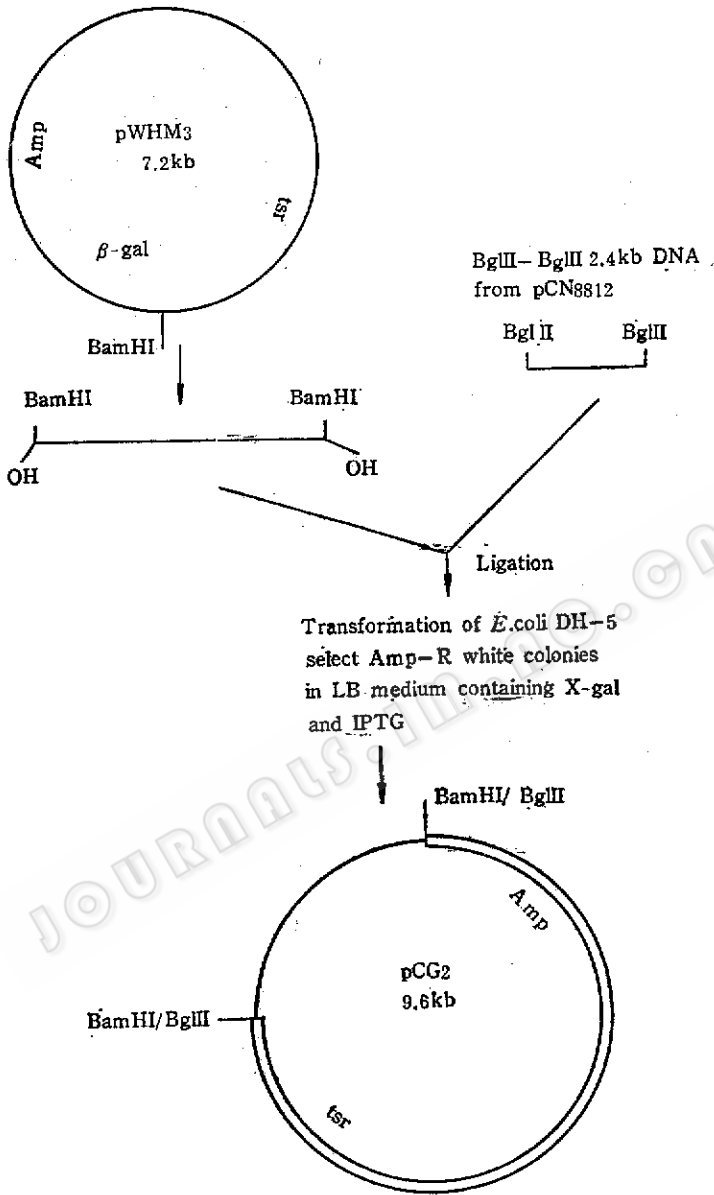


图 1 重组质粒pCG2的构建
 Fig.1 Scheme for construction of recombinant plasmid pCG2

培养基中筛选转化子，转化频率约为 $10^2/\mu\text{g}$ DNA，通过质粒提取和凝胶电泳确证转化子中含有质粒 DNA(图版 I -C)。将其中三株含质粒的转化子进行液体发酵，以八叠球菌作检定菌检测发酵液之抗菌活性，发现这些转化子的发酵液对八叠球菌均有抗菌活性。而含载体转化子的发酵液

没有抗菌活性。将所得发酵液滤液分别用乙酸乙酯及正丁醇提取，得到脂溶及水溶部分。水溶部分除抗八叠球菌外，还对金黄色葡萄球菌 209p，痢疾杆菌302等显示抗菌活性。为探讨此脂溶和水溶组份和麦迪霉素的差别，我们进行了八个溶媒系统中的纸层析和电泳试验，用八叠球菌生物

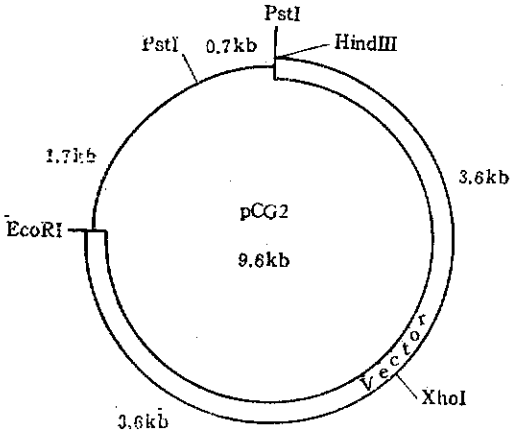


图2 质粒pCG2 DNA的酶切图谱

Fig.2 Restriction map of plasmid pCG2 DNA

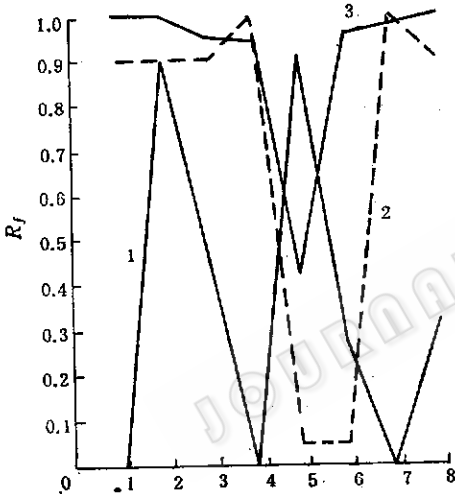


图3 含pCG2 DNA的天蓝色链霉菌TK17转化子发酵产物的纸层析结果

Fig.3 Paper chromatograph of the fermentation products from pCG2 DNA transformants in *S. coelicolor* TK17

- 1. 水溶性组份 Water soluble component
- 2. 脂溶性组份 Fat soluble component
- 3. 麦迪霉素对照 Midecamycin as control

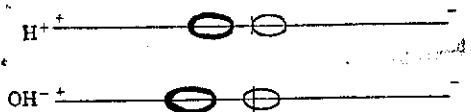


图4 含pCG2 DNA的天蓝色链霉菌TK17转化子发酵产物的电泳结果

Fig.4 Paper electrophoresis of the fermentation products from pCG2 DNA transformants in *S. coelicolor* TK17

- 脂溶部份 Fat soluble component
- 水溶部份 Water soluble component

显迹, 结果见图3、图4。

纸层析和电泳结果表明: 含 pCG2 DNA 转化子进行液体发酵后, 发酵产物的主要成分为酸性水溶性组份, 次要组份是弱碱性脂溶组份, 麦迪霉素虽也是弱碱性脂溶抗生素, 但在上述八个溶媒系统中的值明显不同于脂溶组份(特别是在 5、6 号系统中)。另外实验中也观察到所获得的转化子在 R₂YE 及其他培养基中均不产生放线紫红素所特有的色素, 说明转化子发酵所得的活性物质亦不同于放线紫红素。其化学结构正在测定中。

(四) pCG2 DNA在螺旋霉素产生菌 *S. ambofaciens* 中的表达

将 pCG2 DNA 转化螺旋霉素产生菌 *S. ambofaciens*, 在含 25μg/ml 硫链丝菌素的 R₂YE 培养基上选择转化子。随机挑取 20 个转化子, 经斜面培养后, 将转化子进行液体发酵, 发酵提取物的 TLC 分析结果图谱与螺旋霉素标准品类似。含 pCG2 DNA 转化子螺旋霉素发酵单位产量平均值见表 1。

表 1 含 pCG2 DNA *S. ambofaciens* 转化子螺旋霉素发酵单位产量

Table 1 Spriamycin production of pCG2 DNA transformants in *S. ambofaciens*

菌株 Strain	第一代 First generation (%)	第二代 Second generation (%)	第三代 Third generation (%)
转化子 Transformants	318	266	214
再生株 Regenerants	100	100	100
含载体对照株 Control	41.2		

由表 1 中结果可见, 含 pCG2 DNA 转化子螺旋霉素发酵单位产量明显高于含载体的转化子及原生质体再生株, 提示麦迪霉素聚酮缩合酶基因有可能提高螺旋

霉素的发酵单位产量。

(五) pCG2 DNA在其他聚酮类抗生素产生菌中的表达

为了进一步研究麦迪霉素聚酮合成酶基因的功能,我们选用了一些其他聚酮类抗生素产生菌变株或原株作为受体了解 pCG2 DNA 转入后基因表达情况。将 pCG2 DNA 分别转化 *S. peucetius* H6101、*Saccharopolyspora erythraea* WMH 15,261 和野生型 *S. glaucescens* 的原生质体,含 pCG2 DNA 的 *Saccharopolyspora erythraea* WMH 15,261 转化子中不能提到质粒,其发酵产物也不具有抗菌性能,*S. glaucescens* 原株所产的抗生素 Tetracenomycin C 为抗肿瘤药物,不具有抗细菌活性^[16],含 pCG2 DNA 的 *S. glaucescens* 转化子发酵液有一定抗菌活性,说明 pCG2 DNA 在 *S. glaucescens* 中

有一定的活性表达。

S. peucetius H6101 是道诺红霉素生物合成中早期阶段阻断变株,它本身不产生道诺红霉素,也不积累其他中间产物,与目前所得到的其他阻断变株也不能互补产生道诺红霉素,据此认为 *S. peucetius* H6101 为生物合成调节变株^[13]。含 pCG2 DNA 的 *S. peucetius* H6101 转化子,在液体发酵培养下,产生道诺红霉素生物合成中间物,经提取、分离、纯化后,进行 TLC 和 HPLC 分析。结果见图版 I-D 和图 5。用硅胶 60F254 制薄层,以氯仿:甲醇 = 95:5 作为溶剂系统;HPLC 采用 C₁₈ 反相柱,以甲醇:水(磷酸 pH2.5) = 75:25 为流动相,流速为 2.8ml/min。结果证明发酵液中含紫红霉酮。从转化子中也可分离到 pCG2 DNA(图版 I-E)。

讨 论

本研究表明 2.4kb 的麦迪霉素聚酮缩合酶基因,在不同聚酮类抗生素受体菌中,均获得一定功能表达。含 pCG2 DNA 的天蓝色链霉菌 TK17 转化子所产生的抗菌活性物质,既不同于放线紫红素又有别于麦迪霉素。这可能是麦迪霉素聚酮缩合酶在 TK17 菌株中识别的底物与放线紫红素的前体物有一定差异,但却利用放线紫红素产生菌的代谢物作为前体(与麦迪霉素的前体也不同),因而产物的结构与两者均不同。如进一步的化学分析予以证实,则将是利用基因工程技术在化学结构不相似,而生物合成途径相似的菌种间基因相互作用获得新抗生素成功的首例。pCG2 DNA 转入 *S. ambofaciens* 使螺旋霉素产量提高其原因可能是麦迪霉素、螺旋霉素均属于十六元环大环内酯类抗生素,其合成过程及化学结构极相似,两者的聚酮缩

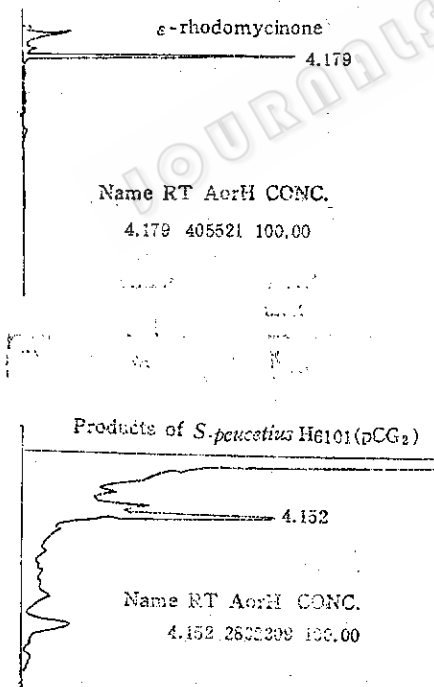


图 5 含 pCG2 DNA 的 *S. peucetius* H6101 转化子发酵提取物的 HPLC 图

Fig.5 HPLC of the fermentation products of pCG2 DNA transformants in *S. peucetius* H6101

合酶基因有较强的同源性, 故 pCG2 DNA 的引入和表达, 扩大了螺旋霉素聚酮缩合酶基因剂量, 克服了聚酮环形成过程中的“瓶颈”效应, 当然也不能排除可能具有的调控作用。紫红霉酮为道诺红霉素生物合成的中间体。C.R. Hutchinson 实验室发现在道诺红霉素生物合成基因片段中有两段调节区, 将它们分别转入 *S. peucetius* H6101 后, 后者可产生紫红霉酮 (未发表的资料)。pCG2 DNA 引入道诺红霉素调节变株 *S. peucetius* H6101 后, 转化子亦产生紫红霉酮, 由此推测 pCG2 DNA 可能具有类似的调节功能。

从 pCG2 DNA 在红霉素产生菌变株的转化子中未能检测到质粒, 这点与 C. R. Hutchinson 实验室结果一致 (个人通讯), 一般认为基因转入后是整合到染色体上。但转化子发酵产物不具有抗菌活

性, 可能是由于我们所用的红霉素菌种不属于链霉菌属, 它的基因组与聚酮合成酶基因没有同源性^[5], 因而麦迪霉素聚酮合成酶基因不能互补其基因缺陷。当然也可能是红霉素变株缺失过多或其他原因, 影响了 pCG2 DNA 基因在其中的表达, 确切原因有待进一步的研究。

抗生素的产生除抗生素生物合成基因外, 还需调节基因, 抗性基因参与, 所以单纯依靠某一生物合成基因的引入以增加抗生素产量或获得杂合抗生素可能存在一定的不利因素。我们所克隆获得的麦迪霉素聚酮缩合酶基因片段只有 2.4kb。可能只包含了部份聚酮缩合酶基因或缺少与其相邻的某些调节基因, 在今后的工作中, 应适当增加插入片段的大小, 使其含有更多的基因信息, 以在宿主菌中更有效地发挥作用。

参 考 文 献

- [1] Hopwood, D. A. et al., *Nature*, 314:642, 1985.
- [2] Strohl, W. R. et al., in: *Genetics and molecular biology of industrial microorganisms*, eds: American Society for Microbiology, Washington, 1989.
- [3] McAlpine, J. B. et al., *J. Antibiot.*, 11:1115, 1987.
- [4] Epp, J. K. et al., in: *Abstracts of the 7th International Symposium on Biology of Actinomycetes*, Tokyo, Japan, p.82, 1988.
- [5] Malpartida, F. et al., *Nature*, 325:818, 1987.
- [6] Suszara, J. E. et al., *J. Bacteriol.*, 171(11):5872, 1989.
- [7] 王以光, *生物工程学报*, 5(4):261, 1989.
- [8] 龚利民、王以光, *生物工程学报*, 2(2):24, 1986.
- [9] Yamamoto, H. et al., *J. of Antibiotics*, 39(9):1304, 1986.
- [10] Motamedi, H. et al., *J. of Bacteriol.*, 167(2):575, 1986.
- [11] Maniatis, T. et al., *Molecular Cloning: A Lab Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, 1982.
- [12] Hopwood, D. A. et al., *Genetic Manipulation of Streptomyces*, A Laboratory Manual, The John Innes Foundation, Norwich, 1985.
- [13] Kim, J. et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 86:3135, 1989.
- [14] 抗菌素纸层离图谱: 中国医学科学院医药生物技术研究所内部资料, 1966年。
- [15] Weber, W. et al., *Arch. Microbiol.*, 121:111, 1979.
- [16] Lakey, J. H. et al., *J. Gen. Microbiol.*, 129:3565, 1983.
- [17] Wright, L. F & Hopwood, D. A., *J. Gen. Microbiol.*, 95:96, 1976.

The Subcloning and Expression of Midecamycin Polyketide Condensing Enzyme Gene

Zhu Xuewei Wang Yiguang Jin Lianfang Xu Xiaoming
(Institute of Medicinal Biotechnology, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing)

The midecamycin polyketide condensing enzyme gene derived from cloned DNA pCN8B12 in genomic library of midecamycin-producing strain *Streptomyces mycarofaciens* 1748 was subcloned on to the *E. coli-Streptomyces* shuttle vector pWHM3. A recombinant plasmid DNA pCG2 was obtained and introduced into an ActI⁻ mutant of actinorhodin producer *S. coelicolor* TK17, the transformants containing the recombinant plasmid produced new hybrid antibiotic which different from midecamycin and actinorhodin by paper chromatographic analysis. The transformants of pCG2 DNA in *S. ambofaciens* showed increased production of spiramycin. The transformants of pCG2 DNA in a regulatory mutant of daunorubicin producer *S. peucetius* H6101 produced a daunorubicin intermediate ϵ -rhodomycinone, according to TLC and HPLC analysis. The tetracenomyacin producer *S. glaucescens* containing pCG2 DNA also exhibited certain antibacterial activity, but transformants of pCG2 DNA in *Saccharopolyspora erythraea* WMH 15,261 showed no antibacterial producing activity. Presumably the pCG2 DNA showed a regulatory function or ability to restore antibiotic productivity in certain polyketide synthase deficient mutants.

Key words

Midecamycin; polyketide condensing enzyme gene; hybrid antibiotic

图版说明

Explanation of plate

A. pCN8B 12 经 Bgl I 酶切后的电泳图(左), 以 Act I 基因作为探针与经 Bgl I 酶切的 pCN8B12 的 Southern 印迹法杂交结果(右)

Left: Electrophoretic pattern of pCN8B12 DNA digested with Bgl I

Right: Southern hybridization of Bgl I digest of pCN8B12 DNA with Act I gene as a probe

1. λ DNA/Hind III; 2. pCN8B12/Bgl I

B. 质粒 pCG2 DNA 酶切后的电泳图

Electrophoresis pattern of pCG2 DNA digested with restriction enzymes

- | | |
|-------------------------|---------------------------|
| 1. pCG2/Hind III | 5. pCG2/undigested |
| 2. pCG2/Hind III-EcoR I | 6. λ DNA/Hind III |
| 3. pCG2/Pst I | 7. pCG2/Xho I |
| 4. pCG2/EcoR I | |

C. 含pCG2的天蓝色链霉菌TK17转化子中质粒检测

Plasmid DNA recovered from *S. coelicolor* TK17 transformants

1. λ DNA/Hind III; 2-4. Recovered plasmid pCG2 DNA

D. 含pCG2 DNA的*S. peucetius* H6101转化子发酵提取物的TLC图

Thin layer chromatography of the fermentation products of pCG2 DNA transformants in *S. peucetius* H6101

1. *S. peucetius* H6101(pCG₂-1); 2. *S. peucetius* H6101(pCG₂-2);
3. *S. peucetius* H6101(pWHM₃); 4. ϵ -rhodomycinone

E. 含pCG2 DNA的*S. peucetius* H6101转化子中质粒检测
Plasmid DNA recovered from *S. peucetius* H6101 transformants

1. DNA/Hind III; 2,3. pCG2 DNA from *S. peucetius* H6101 transformants;
4. pCG2 DNA as control

Zhu Xuewei et al.: The subcloning and expression of midcamycin polyketide condensing enzyme gene

