

通过遗传工程产生杂种抗生素

庄增辉

(中国科学院微生物研究所, 北京)

众所周知, 抗生素是次生代谢产物, 它的合成需要一整套的酶, 也即需要一整套的基因, 遗传学上已得到证实; 链霉菌中抗生素合成基因在染色体上有簇聚在一起的倾向, 这将有利于克隆这些基因。但近年来发展链霉菌分子克隆技术^[1], 只克隆到与抗生素生物合成有关的个别基因, 或者是一套不完整的基因: 如与新霉素抗性有关的氨基糖苷磷酸转移酶 (aph) 及氨基糖苷乙酰基转移酶 (aac); 紫霉素磷酸转移酶基因 (vph); 次甲基霉素抗性基因 (mmr) 等。直到 1984 年 F. Malpartida 及 D. A. Hopwood^[2] 报道克隆了放线紫红素 (actinorhodin) 生物合成的整个途径, 而且在异源寄主小小链霉菌中得到表达。主要步骤如下: 他们把 76 株不产放线紫红素的突变株 (act) 通过共合成, 分成 7 大类, 并由此推导出放线紫红素生物合成的途径。之后采用质粒 pIJ 922 作为载体, 以不产放线紫红素的突变体 JF4 [act 109 (v)] 为受体, 克隆了天蓝色链霉菌中携带 act⁺ 的染色体片段 (15—30kb), 从 8000 个转化子中获得了 2 个产蓝色的克隆 (蓝色是放线紫红素在碱性条件下的反应)。把这两个克隆 (命名为 pIJ 2300 和 pIJ 2301) 分别转化到 7 类的每个 act 突变体中去。结果 pIJ 2300 不能同第 VI 类的 act 突变体互补, 插入片段为 34kb。而 pIJ 2301 不能同 I、III 和 IV 类的 act 突变体互补, 插入片段为 16kb, 它们之间有一段重叠区约 12kb, 而 VI 类 act 突变体只能同 pIJ 2301 这段重叠区互补。为此利用 pIJ 2300 同 pIJ 2301 构建带有能合成放线紫红素的染色体片段 (32.5kb) 的

载体 pIJ 2303。它能同合成途径中所有类型的 act 突变体互补。而且把 pIJ 2303 转化到不产放线紫红素的, 亲缘较远的小小链霉菌 ATCC 12424 中后, 也产生了蓝色色素的转化子, 通过有关特性的检测, 证实为放线紫红素, 这样就克隆了整套合成放线紫红素的基因。

根据上述结果, 1985 年 Hopwood 等人^[3] 想验证一下; 把合成放线紫红素的这一整套基因转移到产生属于同一大类, 但是不同的抗生素产生菌中去, 是否会产生新的抗生素的设想?

他们把携带放线紫红素整套基因的质粒 pIJ 2303 以及带有 act 区域不同转录单位的质粒 pIJ 2300, pIJ 2301 等转化到同属异色醌类抗生素 (isochromanone antibiotics) 的一些产生菌中; 如麦迪霉素 (medermycin) 的产生菌 *streptomyces* sp. AM-7161, 榴菌素 (granaticin) 的产生菌紫红链霉菌 Tü22 (*S. violaceoruber* Tü22) 以及榴菌素合成阻断的 Tü22 突变体 B1140 中去, 分析转化子所产的抗生素发现如下结果。

在麦迪霉素产生菌 *S. sp.* AM-7161 中出现了; AM-7161/pIJ 2303: 既产麦迪霉素又产放线紫红素。AM-7161/pIJ 2301: 既产麦迪霉素又产麦迪紫红素 A。AM-7161/pIJ 2315: 既产麦迪霉素又产麦迪紫红素 A 以及麦迪紫红素 B。

在榴菌素产生菌 Tü22 (也产双氢榴菌素) 中: Tü22/pIJ 2303: 只产放线紫红素和双氢榴菌素。在 B1140 中出现了, B1140/pIJ 2303·

同时产生榴菌素,双氢榴菌素和放线紫红素。

从以上结果可以发现一个有意义的现象:当 AM-7161 和 Tü22 都含有整套放线紫红素生物合成基因 (pIJ2303) 时,出现的后果不同。在 AM-7161 中供体的和受体的基因组似乎各行其事,结果产生两个亲本各自的抗生素,即既产生麦迪霉素又产生放线紫红素,但不产新的抗生素,可是当不完整的 act 片段(如 pIJ 2301) 转移到 AM-7161 里时,就形成杂种抗生素——麦迪紫红素 A。同样当 pIJ 2303 进入 Tü22 之后,结果几乎完全排除了受体菌 Tü22 本身所产的榴菌素,而产生了供体的放线紫红素以及杂种抗生素——双氢榴紫红素。造成这种不同结果的原因,推测可能是涉及到抗生素生物合成酶对底物的相对专一性和亲和性,基因表达的调节以及个别生物合成途径中前体可能的分

路有关。

总之从上述结果出现了杂种抗生素——麦迪紫红素和双氢榴紫红素。经进一步分析杂种抗生素的出现,不是由于激活受体中潜在的遗传信息的结果,而确实是“杂种”生物合成途径的产物,是两个不同链霉菌的结构基因所编码的酶之间相互作用而产生的。笔者认为这是通过遗传工程获得杂种抗生素的第一篇报导。

参 考 文 献

- [1] Chater, K. F. et al.: *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 96: 69—95, 1982.
- [2] Malpartida, F. and D. A. Hopwood,: *Nature*, 309(5967): 462—464, 1984.
- [3] Hopwood, D. A. et al.: *Nature*, 314 (6012): 642—644, 1985.