

林可霉素生物合成及其分子调控研究进展

许玉荣^{*1,2}, 刘梦², 王静茹¹, 吴杭^{*2}, 张部昌²

1 合肥师范学院化学与制药工程学院, 安徽 合肥 230601

2 安徽大学生命科学学院 物质科学与信息技术研究院, 安徽 合肥 230601

许玉荣, 刘梦, 王静茹, 吴杭, 张部昌. 林可霉素生物合成及其分子调控研究进展[J]. 微生物学通报, 2023, 50(11): 5097-5109.

XU Yurong, LIU Meng, WANG Jingru, WU Hang, ZHANG Buchang. Biosynthesis and molecular regulation of lincomycin: a review[J]. Microbiology China, 2023, 50(11): 5097-5109.

摘要: 林可霉素(lincomycin)是由林可链霉菌(*Streptomyces lincolnensis*)产生的酰胺类抗生素, 在临床上主要用于治疗革兰氏阳性菌引起的感染。鉴于其具有高药用价值和经济价值, 林可霉素生物合成和分子调控备受关注, 并取得了较好的研究进展。本文综述了林可霉素的特征结构和生物合成, 并重点介绍了林可链霉菌中林可霉素的分子调控机制等方面的研究进展, 有利于深入认识林可链霉菌次级代谢调控网络, 为在林可霉素高产菌中改造调控因子或其靶点元件提高产量提供理论指导。

关键词: 林可链霉菌; 林可霉素; 生物合成; 调控机制; 菌株改造

Biosynthesis and molecular regulation of lincomycin: a review

XU Yurong^{*1,2}, LIU Meng², WANG Jingru¹, WU Hang^{*2}, ZHANG Buchang²

1 Department of Chemical and Pharmaceutical Engineering, Hefei Normal University, Hefei 230601, Anhui, China

2 Institute of Physical Science and Information Technology, School of Life Sciences, Anhui University, Hefei 230601, Anhui, China

Abstract: Lincomycin, an amide antibiotic produced by *Streptomyces lincolnensis*, is mainly used to treat infections caused by Gram-positive bacteria in clinical practice. In view of its high medicinal value and economic value, progress has been achieved in the biosynthesis and molecular regulation of lincomycin. This review introduces the structural features and biosynthesis of lincomycin, and summarizes the research progress in the molecular regulatory mechanism of lincomycin in *S. lincolnensis*. The review is conducive to the in-depth

资助项目: 合肥师范学院引进高层次人才科研启动基金(2020rcjj36); 安徽省药食同源科研平台专项项目(2020PT20); 安徽省高校自然科学基金(KJ2021A0918)

This work was supported by the Scientific Research Foundation for the Introduction of High-level Talent of Hefei Normal University (2020rcjj36), the Research Foundation for Anhui Engineering Laboratory for Medicinal and Food Homologous Natural Resources Exploration (2020PT20), and the Natural Science Foundation of Universities of Anhui Province (KJ2021A0918).

*Corresponding authors. E-mail: XU Yurong, xuyurong89@hfnu.edu.cn; WU Hang, wuhang@ahu.edu.cn

Received: 2023-04-17; Accepted: 2023-06-10; Published online: 2023-07-14

understanding of the secondary metabolic regulatory network of *S. lincolnensis* and provides theoretical guidance for the transformation of regulatory factors or their target elements in the strains with high yields of lincomycin.

Keywords: *Streptomyces lincolnensis*; lincomycin; biosynthesis; regulatory mechanisms; strain modification

林可链霉菌是林可霉素工业发酵生产中的一种主要放线菌,其中活性 A 组分用于治疗金黄色葡萄球菌、肺炎链球菌等革兰氏阳性菌和某些厌氧的革兰氏阴性菌所引起的感染,与已知抗生素不表现交叉抗性,是一种重要的高效抗生素药物。林可霉素通过与细菌核糖体 50S 亚基 23S rRNA 中心环相结合,抑制 tRNA 在肽基转移酶中心中的定位从而影响蛋白质的生物合成,其抗菌谱与红霉素类似^[1]。林可霉素对组织和细胞的穿透力强,无须做皮试,应用方便,因此在一定程度上可以替代易产生过敏反应的青霉素,在临床上被广泛使用^[2]。此外,林可霉素还可作为原料药,化学半合成更为重要的临床药物克林霉素,具有很高的经济附加值^[2]。我国是林可霉素原料药的主要生产国和出口国,每年产能 3 000 t 左右,在全球的林可霉素发酵生产中占据重要的地位^[2]。

近年来,关于林可霉素生物合成分子调控的研究已取得很大进展,其异源双相的前体生物合成突显了林可霉素合成代谢通路的复杂和多样性^[3-11]。这些研究暗示林可霉素生物合成过程具有非常复杂的分子调控机理。本文重点介绍了林可霉素生物合成分子调控方面的研究进展,有助于揭示林可霉素生物合成的复杂调控机制,建立林可链霉菌次级代谢调控网络,为林可霉素高产菌中改造调控因子或其靶点元件提高产量提供理论指导。

1 林可霉素的结构性质及其应用

林可霉素是由林可链霉菌次级代谢产生的

林可酰胺类抗生素。在结构上,林可霉素主要由一个丙基脯氨酸前体和一个甲硫林可酰胺前体通过酰胺键缩合而成。在一般发酵条件下,林可链霉菌主要产生林可霉素 A 和林可霉素 B,其中林可霉素 A 具有丙基脯氨酸部分,而林可霉素 B 具有乙基脯氨酸^[2](图 1)。虽然它们只有脯氨酸部分一侧的亚甲基不同,但林可霉素 B 的效价只有林可霉素 A 的 25%,且林可霉素 B 具有极高的毒性^[2]。由于林可霉素 B 被认为是林可霉素产品中的杂质,当林可霉素 B 的含量超过 5%时,林可霉素就无法作为药物使用^[12]。在特定的发酵条件下,林可链霉菌还可以合成林可霉素 C、林可霉素 D、林可霉素 S 和林可霉素 K^[12](图 1)。临床上,林可霉素及其衍生物主要用于治疗由革兰氏阳性菌所引起的感染,尤其对葡萄球菌和链球菌具有很好的杀菌作用^[2]。此外,林可霉素对一些革兰氏阴性菌和厌氧菌也有很好的效果^[2]。

2 林可霉素的生物合成

2.1 林可霉素的生物合成基因簇

林可链霉菌 78-11 是由类似于 NRRL2936 的野生菌株经多次诱变(X-射线和紫外线)筛选的一个抗噬菌体的工业菌株。Peschke 等^[13]通过对该菌株的生物合成基因簇研究,发现林可霉素生物合成基因簇长约 35 kb,由 29 个开放阅读框构成,包括 25 个结构基因(*lmb*)、2 个抗性基因(*lmrA* 和 *lmrB*)、兼具调控和抗性特征基因 *lmrC* 和簇内调控基因 *lmbU*(图 2)。2019 年,本实验室研究发现林可霉素生物合成基因簇由

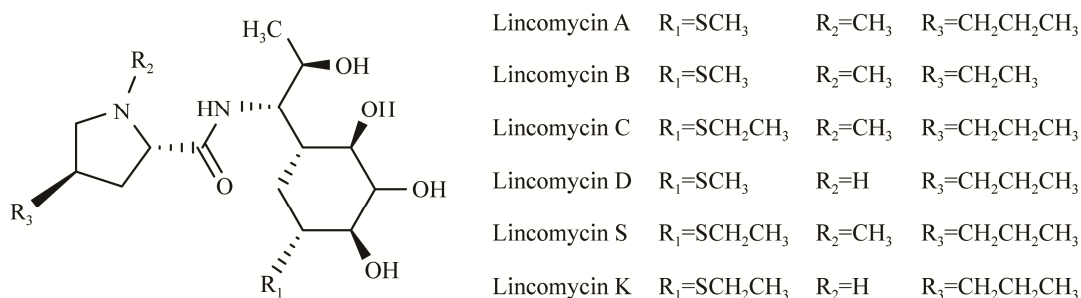


图 1 林可霉素 A 及其主要结构类似物的化学结构

Figure 1 Chemical structures of lincomycin A and its analogues.

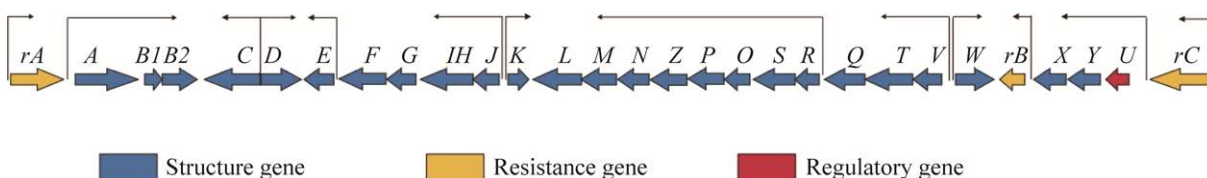


图 2 林可霉素生物合成基因簇及共转录单元示意图

Figure 2 Genetic organization and co-transcriptional unit of gene cluster for the biosynthesis of lincomycin.

13 个独立的转录单元构成, 即 *lmbC*、*lmbD*、*lmbK*、*lmbW*、*lmrA*、*lmrB*、*lmrC*、*lmbE*、*lmbA-B1-B2*、*lmbR-S-O-P-Z-N-M-L*、*lmbJ-IH-G-F*、*lmbV-T-Q* 和 *lmbU-Y-X*^[9] (图 2)。

2.2 林可霉素的生物合成途径

林可霉素生物合成过程分为 3 个部分: 林可酰胺(lincosamide, LSM)的合成, 丙基脯氨酸(propylproline, PPL)的合成, 以及 LSM 与 PPL 的缩合及其后修饰^[14]。LSM 途径中, 由转醇醛酶 *LmbR* 和 C1-C2 异构化酶 *LmbN* 参与催化 C5 受体 5-磷酸 D-核糖和 C3 供体 6-磷酸果糖或 7-磷酸景天庚糖生成 8-磷酸辛糖^[15-16]; 由磷酸激酶 *LmbP*、磷酸酶 *LmbK* 和 1-磷酸鸟苷酸转移酶 *LmbO* 催化 8-磷酸辛糖生成 GDP-辛糖^[17]; 再发生转氨(*LmbS*)、脱水(*LmbM*)和还原(*LmbZ*)等反应形成 LMS-GDP^[17]。PPL 途径中, 一种亚铁血红素型的 L-酪氨酸羟化酶 *LmbB2* 催化前体 L-酪氨酸形成 L-多巴^[18-19]; 随后 L-多巴被 L-多巴邻位双加氧酶 *LmbB1* 双加氧裂解^[20-21],

生成的产物随即被 C-甲基转移酶 *LmbW* 甲基化^[12], 谷氨酰转移酶 *LmbA* 使产物中的 C-C 键断裂^[22], 异构酶 *LmbX* 使产物异构化^[23], 氧化还原酶 *LmbY* 使不饱和双键还原^[23], 最终形成丙基脯氨酸^[22]。在 LSM 与 PPL 的缩合途径中, 腺苷化蛋白 *LmbC* 激活了 PPL 和 ATP 活化形成 PPL-AMP, 并转移到 *LmbN* 的肽酰载体蛋白结构域上^[21]; 转移酶 *LmbT* 将林可酰胺从 GDP 上转移到麦角硫因(ergothioneine, EGT)上^[3], 生成 LSM 缩合的活性形式 EGT S-林可酰胺; 缩合酶 *LmbD* 催化 PPL 和 EGT S-林可酰胺的缩合生成 EGT S-结合物^[3]; 转移酶 *LmbV* 以缩合产物 EGT S-结合物为底物, 与放线硫醇(mycothiol, MSH)生成 MSH S-结合物^[3]; 酰胺酶 *LmbE* 能切割掉 MSH 的假二糖葡萄糖胺结构^[3]; N-甲基转移酶 *LmbJ* 催化 PPL 的 N-甲基化反应^[24-25]; 磷酸吡哆醛依赖性酶 *LmbF* 能催化半胱氨酸 S-结合物生成去甲基林可霉素以及副产物丙酮酸和氨, 最后, S-甲基转移酶 *LmbG* 以 S-腺苷甲

硫氨酸(*S*-adenosylmethionine, SAM)为甲基供体对巯基甲基化,生成林可霉素 A^[4,26](图 3)。

3 林可霉素生物合成的调控

林可霉素生物合成过程中受关键转录调控因子的调控,其中包括基因簇中的调控因子、多效调控因子以及全局性的转录调控因子^[27-28],而这些调控因子在林可链霉菌的初级代谢和次级代谢中起着至关重要的作用。

3.1 途径特异性转录调控

LmbU 是林可霉素生物合成基因簇内唯一专一性调控因子(cluster-situated regulator, CSR),能够激活林可霉素物合成基因簇的表达^[29]。林可链霉菌 NRRL2936 缺失 *lmbU* 基因后,菌株不再产生林可霉素,且生物合成基因 *lmbA*、*lmbC*、*lmbJ* 和 *lmbW* 的表达显著降低,*lmbK* 和 *lmbU* 基因的表达提高^[29]。LmbU 蛋白结构分析发现其 C 端的 DNA 结合结构域(DNA-binding domain, DBD)通过螺旋-转角-螺旋(helix-turn-helix, HTH)基序与结合位点相互作用, N 端含有的自身抑制结构域(auto-inhibitory domain, AID)可抑制其与自身启动子的 DNA 结合活性;在无 AID 的情况下, LmbU 突变体可以与自身的启动子结合^[30]。此外, RNA-Seq 分析发现 LmbU 除了激活林可霉素生物合成基因和 19 个簇外基因的表达,还抑制了林可霉素前体 L-酪氨酸生物合成过程中关键基因 *hpdA* 的转录水平^[6]。

3.2 全局多效调控

3.2.1 Bld 家族调控因子

bld 基因家族在链霉菌次级代谢和形态分化的过程中具有非常重要的调控意义^[31-32]。BldA 编码链霉菌中唯一能有效识别亮氨酸密码子 UUA 的 tRNA^{L^{eu}}, *bldA* 基因不仅影响 *lmbB2* 和 *lmbU* 的翻译,也间接影响 *lmbB2* 的转录^[33]。*lmbB2* 和 *lmbU* 基因都含有 TTA 密码子,通过

改变 TTA 密码子构建出不同的 *lmbB2* 和 *lmbU* 共表达载体,并将其导入 *bldA* 突变菌株中,发现林可霉素的产量依旧未恢复到原始菌株水平,证明 BldA 在翻译水平上控制含 TTA 密码子的基因,从而调控林可链霉菌的形态分化和林可霉素的生物合成^[33]。

本实验室发现林可链霉菌中的一个重要发育调节因子 BldD_{SL}, *bldD_{SL}* 的缺失显著降低了林可霉素生物合成簇中基因的转录,从而导致林可霉素产量大幅下降甚至不产林可霉素;而且 *bldD_{SL}* 基因缺失后菌株失去产孢子能力,呈现光秃表型且生长延缓;BldD_{SL} 能直接与林可霉素生物合成基因簇 *lmrA*、*lmbA*、*lmbC-lmbD*、*lmbE*、*lmbV-lmbW*、*lmrB*、*lmbU-lmrC* 和 *lmrC* 基因的启动子结合,直接调控林可霉素生物合成基因的转录^[34]。林可链霉菌 BldD_{SL} 和糖多孢红霉菌 BldD_{SE} 之间还存在交叉调控。BldD_{SL} 可以和红霉素生物合成基因簇内 *eryAI-eryBIV* 与 *eryBVI* 基因的启动子结合,其中与 *eryAI-eryBIV* 基因启动子的结合力较强,与 *eryBVI* 基因的启动子仅微弱结合;而 BldD_{SE} 可以与林可霉素生物合成基因簇内 *lmrA*、*lmbA*、*lmbC-lmbD*、*lmbV-lmbW* 和 *lmrC* 基因的启动子结合,但其结合强度明显比 BldD_{SL} 弱,表明了 BldD 蛋白调控机制的保守性和多样性^[34]。

3.2.2 AraC/XylS 家族调节因子 AdpA

AdpA 是链霉菌中调控形态分化和次级代谢的全局性调控因子,属于 AraC/XylS 家族蛋白^[35-38]。AdpA 含有用于二聚化的 TtJ/PfpI/DJ-1 (GATase-1)结构域和 DNA 结合结构域,分别位于其 N-末端和 C-末端^[39]。AdpA 在大多数链霉菌物种的形态差异调节中起着核心作用^[35,40]。2019 年, Kang 等^[41]在林可链霉菌中发现 AdpA 正向调控林可霉素生物合成和形态分化,电泳迁移率检测(electrophoretic mobility shift assay,

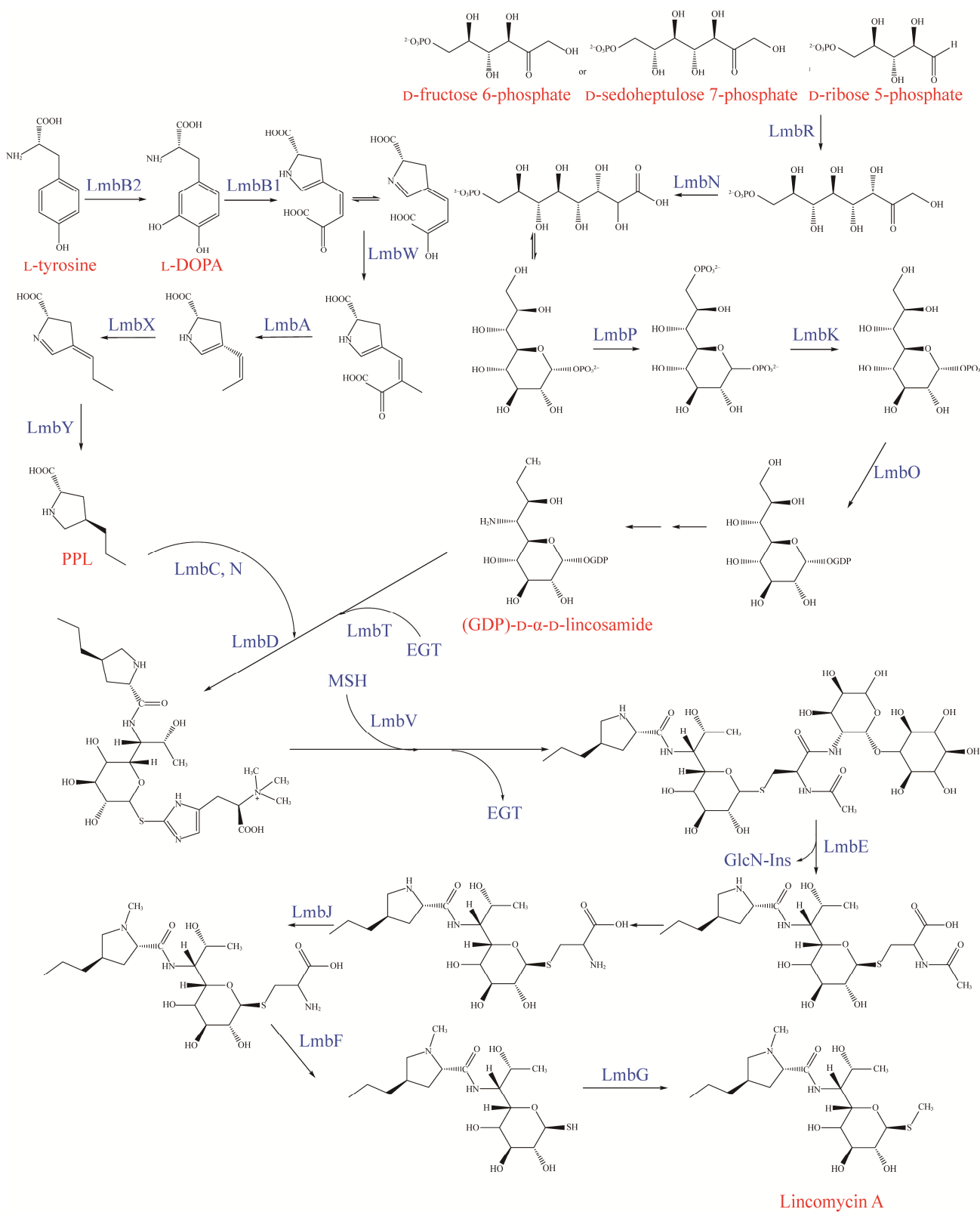


图 3 林可霉素生物合成途径示意图

Figure 3 The proposed biosynthetic pathway of lincomycin biosynthesis.

EMSA)和 RT-qPCR 分析证实 AdpA 除了直接促进林可霉素生物合成基因簇中结构基因和 CSR *lmbU* 的转录水平,还直接激活 *bldA* 及其自身的转录,从而正向调控林可霉素的生物合成。2023年,Kang等^[37]再次发现3种酪氨酸酶MelC2、MelD2 和 MelE,以及一种酪氨酸过氧化酶LmbB2,它们以不同的方式参与林可霉素和黑色素的生物合成;其中 MelD2 和 LmbB2 有利于将 L-酪氨酸转化为 L-多巴胺(L-DOPA),从而促进林可霉素的生物合成,而 MelC2 是参与黑色素生物合成的关键酶,且 MelC2 和 MelE 是林可霉素生物合成的抑制因子,其分别氧化 L-多巴产生黑色素和某些未知代谢产物;AdpA 通过直接作用于 *melC*、*melD* 和 *melE* 启动子区保守结合位点正向调控 *melC* 和 *melE* 的转录,负向调控 *melD* 的转录^[37]。综上所述,AdpA 通过直接激活 *melC*、*melE* 和 *lmbB1/lmbB2* 或抑制 *melD* 的转录水平来调节林可霉素和黑色素生物合成的前体流量。

3.2.3 TetR 家族调节因子

TetR 家族调控因子(TetR family transcriptional regulators, TFRs)是最常见的原核转录调控因子之一^[42-43]。该家族在放线菌中存在的数量最多,并且在放线菌中也存在多样的调控机制^[43]。本实验室于 2019 年在林可链霉菌中发现了 TetR 家族调控因子 SLCG_2919,林可链霉菌中 SLCG_2919 基因缺失后,林可霉素 A 的产量显著提高;RT-qPCR 分析发现 Δ SLCGL_2919 突变株中林可霉素生物合成基因簇中结构基因、抗性基因和调控基因的转录水平升高,EMSA 分析进一步发现 SLCG_2919 特异性与林可霉素生物合成基因簇中的结构基因、抗性基因和调控基因的启动子区结合;同时,SLCG_2919 可抑制其邻近基因 SLCG_2920 的转录,在林可链霉菌中过表达 SLCG_2920 基因,林可霉素 A 的产

量提高了 14%;SLCG_2920 编码一个 ATP/GTP 结合蛋白,推测可能通过偶联一个跨膜蛋白参与抗生素外排;此外,DNA 酶足迹法和碱基替换的 EMSA 分析发现 SLCG_2919 与 SLCG_2920 启动子区结合的保守位点为一段 AT 富集序列 5'-AAATTATTTA-3';利用在线软件 PRE Detector 分析可知,只有部分靶基因的结合序列含有类似的 AT 富集序列,推测 SLCG_2919 与其靶基因的结合可能存在其他序列特征^[9]。然而更加深入的调控机制并不清楚。

3.2.4 Lrp 家族调节因子

leucine-responsive regulatory protein (Lrp)家族是一类广泛存在于细菌和古细菌中的转录调控因子,能够参与调控细胞的多个生理过程,包括氨基酸代谢、中心代谢和物质转运等^[8,44-49]。林可链霉菌中存在较多与 Lrp 同源的蛋白,其中与糖多孢红霉菌 SACE_5388^[49]以及天蓝色链霉菌 SCO3361^[46]蛋白具有较高一致性的蛋白为 SLCG_Lrp (SLCG_3128)。在林可链霉菌中,SLCG_Lrp 缺失后林可霉素 A 产量下降 30%,而 SLCG_Lrp 过表达后林可霉素 A 的产量升高 24%;RT-qPCR 分析发现 Δ SLCGL_Lrp 突变株中 *lmbA*、*lmbV*、*lmrA*、*lmrB*、*lmrC*、*lmbU* 和 SLCG_3127 的表达水平显著降低,而其自身基因的转录水平显著升高^[8]。EMSA 分析进一步发现 SLCG_Lrp 可以特异性地结合 *lmrA*、*lmrB*、*lmrC*、*lmbA*、*lmbV*、*lmbW* 和 *lmbU* 启动子区以及 SLCG_3127-SLCG_Lrp 间隔区^[8]。DNA 酶足迹法分析发现 SLCG_Lrp 与 SLCG_3127-SLCG_Lrp 间隔区结合的保守序列为 5'-GGAGAATTTCCC TCATGGAT-3';此外,利用体外 EMSA 和 GFP 报告系统在体内验证了精氨酸和苯丙氨酸的配体作用;SLCG_3127 编码 LysE 家族氨基酸外排蛋白,在林可链霉菌中缺失 SLCG_3127 基因后林可霉素 A 的产量提高 24%^[8]。利用氨基酸

自动分析仪检测氨基酸含量显示, SLCG_3127 可以外排脯氨酸、半胱氨酸、天冬氨酸和苏氨酸; 在发酵培养基中添加这 4 种氨基酸后发现, 在添加了 50 mg/L 的脯氨酸和 500 mg/L 的半胱氨酸时林可霉素 A 的产量分别提高 18% 和 22%, 而添加其他两种氨基酸时林可霉素 A 的产量均无明显变化; 推测脯氨酸可能通过转化为多聚脯氨酸参与林可霉素的生物合成, 而半胱氨酸可能转化为 SAM, 为林可霉素合成提供甲基, 从而参与林可霉素 A 的生物合成; 最后, 通过 RT-qPCR 和 EMSA 分析发现 SLCG_Lrp 还受到 TetR 家族转录调控因子 SLCG_2919 的直接调控^[8]。近期, 本实验室利用 RNA-Seq 分析筛选了 SLCG_Lrp 更多靶基因, 包括脂肪酸和氮代谢基因以及转录调控基因, 进一步完善了 SLCG_Lrp 作用靶点的调控网络^[50]。然而 SLCG_Lrp 对于脂肪酸和氮代谢的具体调控机制仍需进一步深入地研究论证。

3.2.5 氧化还原调节因子 Rex

Rex 作为一种氧化还原敏感调节因子首次在天蓝色链霉菌中被发现^[51]。Rex 可以直接感知细胞 NADH/NAD⁺ 的平衡, 进而作为转录调节因子参与不同物种的硝酸盐/亚硝酸盐呼吸、氨基酸代谢、氧化应激反应、发酵、生物膜形成和碳代谢分布^[52-54]。2021 年, Hou 等^[54]通过生物信息学分析发现了林可链霉菌中的 Rex_{lin}, 在林可链霉菌 NRRL2936 中缺失此基因后细胞生长显著加速, 而林可霉素 A 的产量降低显著; RT-qPCR 结果显示 Rex_{lin} 可以促进调节基因 *lmbU* 和结构基因 *lmbA*、*lmbC*、*lmbJ*、*lmbV* 和 *lmbW* 的转录, 而 EMSA 分析显示 Rex_{lin} 不能与这些基因的启动子区结合; 综上所述, Rex_{lin} 可以间接促进林可霉素生物合成基因簇内调控基因和结构的转录, 进而促进林可霉素的产生。

3.2.6 发育调控因子 RamR

RamR 为一种发育调控因子, 是控制链霉菌形态分化的关键调控蛋白^[55-56]。2022 年, Wang 等^[7]在林可链霉菌野生型菌株 NRRL2936 中缺失 *ramR_{sl}* 基因, 发现菌株呈现“秃顶”表型, 并且生长速度变缓, 但林可霉素 A 的产量显著提高; RT-qPCR 分析表明, Δ RamR 突变株中林可霉素生物合成基因簇中所有基因的表达水平都显著增强; 此外, 在林可链霉菌培养 48 h 时 *bldA*、*SLCG_2919* 和 *glnR* 的表达水平显著降低, 而在 96 h 时上述 3 个基因的表达显著升高; EMSA 分析进一步发现, RamR 可直接调控氮代谢因子 GlnR 的表达。然而目前关于 RamR 对林可霉素生物合成调控的模式还有待进一步探究。

3.3 其他与林可霉素生物合成相关的调控因子

3.3.1 氮代谢调控因子 GlnR

“硝酸盐效应”是指当抗生素在进行生物合成时, 添加一定量的硝酸盐会对抗生素的初级代谢产生影响, 并进一步影响到抗生素产量的过程^[57-58]。这一过程在林可链霉菌中也被证实是存在的。氮代谢全局性调控因子 GlnR 被发现可以促进硝酸盐特异性转运蛋白基因的转录, 使得菌体内硝酸盐的浓度提高; GlnR 还可以通过促进硝酸盐同化途径中相关基因的转录水平, 提高细胞内谷氨酸的水平, 而林可霉素的前体物质酪氨酸可由谷氨酸经转氨作用形成; 此外, GlnR 还可直接正调控抗性基因 *lmrA* 的转录表达, 促进林可霉素的外排并提高菌株的抗性^[57]。

3.3.2 兼具抗性和调控蛋白 LmrC

LmrC 编码的蛋白属于 ATP 结合盒 (ATP-binding cassette, ABC) 转运蛋白家族, 其不含跨膜的结构, 只编码 ABC 转运蛋白的 ATP

结合结构域。在体外高浓度的林可霉素环境下, LmrC 可充分发挥其转运能力并外排进入胞内的林可霉素, 然而最新研究表明 LmrC 具备信号级联传感器的功能, 这种级联反应的主要新颖之处在于 LmrC 的耐药和调节双重功能, 该蛋白可将抗生素信号传导至 LmbU 的表达并促进林可霉素的生物合成; 此外还发现 AdoMet-MTases 超家族蛋白 LmrB 和 MFS 超家族转运蛋白 LmrA 通过抑制林可酰胺链霉菌 A 胸膜多糖抗生素来诱导 *lmrC* 表达, 从而影响级联反应^[5]。

3.3.3 选择性 σ 因子

RNA 聚合酶参与原核生物的转录过程, 其组成亚基 σ 因子在转录过程中发挥了重要作用^[59-62]。2022 年, Tu 等^[63]在林可链霉菌 NRRL2936 中鉴定了选择性 σ 因子 σ_{sl}^L , σ_{sl}^L 的缺失使细胞生长增加, 而林可霉素产量减少; 该研究还发现 σ_{sl}^L 通过直接刺激 *lmbD*、*lmbV*、*lmrC* 和 *lmbU* 的转录促进林可霉素生物合成; 此外, σ_{sl}^L 还可以通过直接促进负责 MSH 合成途径的 *mshC* 基因的转录水平来参与林可霉素的生物合成。

3.3.4 双组分系统 AflQ1-Q2

双组分系统(two-component systems, TCS)是调节抗生素生产的关键参与者^[64-65]。典型的 TCS 由一种位于膜上感应外部刺激的组氨酸激酶(histidine kinase, HK)和一种将环境变化转化为表型读数的反应调节因子(response regulator, RR)组成^[64]。2023 年 Wang 等^[66]分析了林可链霉菌中的双组分系统, 利用 CRISPR/Cas9 系统构建了 8 个 TCS 缺失突变体; 其中, 在 $\Delta 3900-3901$ 和 $\Delta 5290-5291$ 突变株中林可霉素产量显著增加, 而在 $\Delta 3415-3416$ 、 $\Delta 4153-4154$ 、 $\Delta 4985$ 和 $\Delta 7949$ 突变株中产量下降; 随后对 SLINC_5291-5290 (AflQ1-Q2)进行了详细的研究, 发现 AflQ1 通过与一个 16 bp 的回文结合基序序列(GTCAC-N6-GTCAC)结合抑制其自身以及林可霉素生物合

成基因簇中 8 个基因(*lmbA*、*lmbJ*、*lmbK*、*lmbV*、*lmbW*、*lmbU*、*lmrA* 和 *lmrC*)的转录水平; TCS 也可调控包括 *bldD*、*glnR*、*lcbR1* 和 *ramR* 的调控因子; 此外, 天冬氨酸可以影响组氨酸激酶 AflQ2 的调节行为, 作为补偿途径, AflQ1 通过 *ask-asd*、*asd2* 和 *thrA* 加速天冬氨酸代谢。总而言之, 对于 AflQ1-Q2 调控机制的解析有助于后期利用高度保守的 TCS 构建抗生素高产菌株。

4 总结与展望

林可霉素类药物作为畜禽兽医临床治疗中用途广泛的产品, 一直以来备受关注。本文聚焦于林可霉素生物合成过程和分子调控机制的研究, 从途径特异性调控、全局多效调控等多角度阐述林可霉素生物合成的关键调控因子, 并基于上述调控因子构建了林可霉素生物合成调控网络(图 4)。一方面, 有利于在理论上全面深刻地认识林可霉素生物合成的分子调控网络, 为未来通过代谢调控的策略组合操作提高林可霉素产量提供了新的方向; 另一方面, 有利于解析林可链霉菌复杂调控系统, 将有助于进一步提升林可霉素的微生物制造水平。从已有的报道中可以看出, 有关林可霉素生物合成的调控因子大多通过多条途径影响林可霉素产量, 并且不同的调控因子之间还存在互相作用。另外, 在现有的研究基础上, 使用一些新兴技术, 如功能基因组学、指数富集的配体基因组系统进化技术等系统生物学的方法, 建立林可霉素生物合成调控网络。同时, 我们也需要进一步探索小分子化合物在林可霉素生物合成中的作用, 为开发更加高效、安全的林可霉素生物合成体系提供科学依据。

目前, 林可链霉菌及其代谢产物林可霉素生物合成的分子调控研究虽然取得了一定的进展, 但其次级代谢的分子调控机制研究还不够

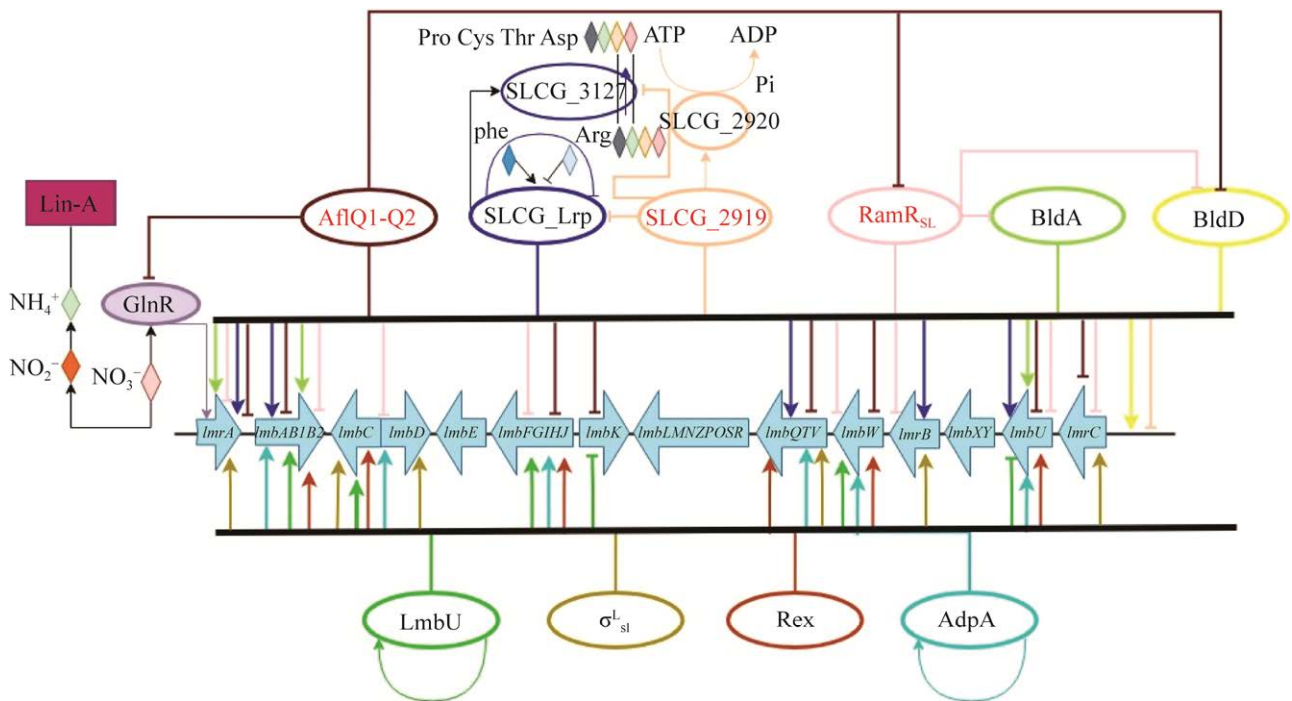


图4 林可霉素生物合成的调控网络图

Figure 4 Regulatory networks of lincomycin biosynthesis.

深入, 很多问题尚不清晰。例如, LmbU^[6]作为林可霉素生物合成基因簇唯一的途径特异性调控因子, 精确的作用靶点和转录激活的机制有待深入解析; SLCG_Lrp^[8]能够应答配体分子精氨酸和苯丙氨酸的具体应答机制, 以及林可链霉菌中其他 Lrp 家族调控因子的调控机制是否与林可霉素产量相关, 它们之间是否有直接/间接调控作用等; SLCG_2919^[9]通过直接调控林可霉素生物合成的结构基因、抗性基因和调控基因的转录水平控制林可霉素的生物合成, 其具体的结合位点是否与已鉴定的保守结合位点一致, 林可霉素生物合成前体物质是否为 SLCG_2919 的配体分子等, 这些问题都有待研究者们深入地探讨解析。

REFERENCES

[1] DUNKLE JA, XIONG LQ, MANKIN AS, CATE JHD. Structures of the *Escherichia coli* ribosome with

antibiotics bound near the peptidyl transferase center explain spectra of drug action[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2010, 107(40): 17152-17157.

[2] SPÍŽEK J, ŘEZANKA T. Lincomycin, clindamycin and their applications[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2004, 64(4): 455-464.

[3] ZHAO QF, WANG M, XU DX, ZHANG QL, LIU W. Metabolic coupling of two small-molecule thiols programs the biosynthesis of lincomycin A[J]. Nature, 2015, 518(7537): 115-119.

[4] WANG M, ZHAO QF, ZHANG QL, LIU W. Differences in PLP-dependent cysteinyl processing lead to diverse S-functionalization of lincosamide antibiotics[J]. Journal of the American Chemical Society, 2016, 138(20): 6348-6351.

[5] KOBERSKA M, VESELA L, VIMBERG V, LENART J, VESELA J, KAMENIK Z, JANATA J, BALIKOVA NOVOTNA G. Beyond self-resistance: ABCF ATPase LmrC is a signal-transducing component of an antibiotic-driven signaling cascade accelerating the onset of lincomycin biosynthesis[J]. mBio, 2021, 12(5): e0173121.

[6] LIN CY, PANG AP, ZHANG Y, QIAO JJ, ZHAO GR.

- Comparative transcriptomic analysis reveals the significant pleiotropic regulatory effects of LmbU on lincomycin biosynthesis[J]. *Microbial Cell Factories*, 2020, 19(1): 1-16.
- [7] WANG RD, CAO Y, KONG FJ, HOU BB, ZHAO JQ, KANG YJ, YE J, WU HZ, ZHANG HZ. Developmental regulator RamRsl controls both morphological development and lincomycin biosynthesis in *Streptomyces lincolnensis*[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2022, 133(2): 400-409.
- [8] XU YR, TANG YQ, WANG N, LIU J, CAI XL, CAI HY, LI J, TAN GQ, LIU RH, BAI LQ, ZHANG LX, WU H, ZHANG BC. Transcriptional regulation of a leucine-responsive regulatory protein for directly controlling lincomycin biosynthesis in *Streptomyces lincolnensis*[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2020, 104(6): 2575-2587.
- [9] XU YR, KE ML, LI J, TANG YQ, WANG N, TAN GQ, WANG YS, LIU RH, BAI LQ, ZHANG LX, WU H, ZHANG BC. TetR-type regulator SLCG_2919 is a negative regulator of lincomycin biosynthesis in *Streptomyces lincolnensis*[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1128/AEM.02091-18>.
- [10] XU YR, TAN GQ, KE ML, LI J, TANG YQ, MENG ST, NIU JJ, WANG YS, LIU RH, WU H, BAI LQ, ZHANG LX, ZHANG BC. Enhanced lincomycin production by co-overexpression of *metK1* and *metK2* in *Streptomyces lincolnensis*[J]. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 2018, 45(5): 345-355.
- [11] 许玉荣, 许婉莲, 徐晶晶, 赵明, 高亮, 吴杭. rRNA 甲基转移酶 LmrB 基因突变对林可霉素生物合成的影响[J]. *生物学杂志*, 2023, 40(1): 40-45.
XU YR, XU WL, XU JJ, ZHAO M, GAO L, WU H. Impact of gene mutation of the rRNA methyltransferase LmrB on the lincomycin biosynthesis in *Streptomyces lincolnensis*[J]. *Journal of Biology*, 2023, 40(1): 40-45 (in Chinese).
- [12] PANG AP, DU L, LIN CY, QIAO J, ZHAO GR. Co-overexpression of *lmbW* and *metK* led to increased lincomycin A production and decreased byproduct lincomycin B content in an industrial strain of *Streptomyces lincolnensis*[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2015, 119(4): 1064-1074.
- [13] PESCHKE U, SCHMIDT H, ZHANG HZ, PIEPERSBERG W. Molecular characterization of the lincomycin-production gene cluster of *Streptomyces lincolnensis* 78-11[J]. *Molecular Microbiology*, 1995, 16(6): 1137-1156.
- [14] 刘瑞华. 林可霉素生物合成的研究进展[J]. *微生物学通报*, 2018, 45(5): 1138-1145.
LIU RH. Proceedings of lincomycin biosynthesis[J]. *Microbiology China*, 2018, 45(5): 1138-1145 (in Chinese).
- [15] SASAKI E, LIN chia-i, LIN KY, LIU HW. Construction of the octose 8-phosphate intermediate in lincomycin A biosynthesis: characterization of the reactions catalyzed by LmbR and LmbN[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2012, 134(42): 17432-17435.
- [16] BRAHME NM, GONZALEZ JE, MIZSAK S, ROLLS J, HESSLER E, HURLEY LH. Biosynthesis of the lincomycins. 2. Studies using stable isotopes on the biosynthesis of methylthiolincosaminide moiety of lincomycin A[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 1984, 106(25): 7878-7883.
- [17] LIN CA, SASAKI E, ZHONG AS, LIU HW. *In vitro* characterization of LmbK and LmbO: identification of GDP-D-erythro- α -D-gluco-octose as a key intermediate in lincomycin A biosynthesis[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2014, 136(3): 906-909.
- [18] NOVOTNA J, OLISOVSKA J, NOVAK P, MOJZES P, CHALOUPKOVA R, KAMENIK Z, SPIZEK J, KUTEJOVA E, MARECKOVA M, TICHY P, DAMBORSKY J, JANATA J. Lincomycin biosynthesis involves a tyrosine hydroxylating heme protein of an unusual enzyme family[J]. *PLoS One*, 2013, 8(12): e79974.
- [19] NEUSSER D, SCHMIDT H, SPIZEK J, NOVOTNA J, PESCHKE U, KASCHABECK S, TICHY P, PIEPERSBERG W. The genes *lmbB1* and *lmbB2* of *Streptomyces lincolnensis* encode enzymes involved in the conversion of L-tyrosine to propylproline during the biosynthesis of the antibiotic lincomycin A[J]. *Archives of Microbiology*, 1998, 169(4): 322-332.
- [20] NOVOTNÁ J, HONZÁTKO A, BEDNÁŘ P, KOPECKÝ J, JANATA J, SPÍŽEK J. L-3,4-dihydroxyphenyl alanine-extradial cleavage is followed by intramolecular cyclization in lincomycin biosynthesis[J]. *European Journal of Biochemistry*, 2004, 271(18): 3678-3683.
- [21] KADLČÍK S, KUČERA T, CHALUPSKÁ D, GAŽÁK R, KOBĚRSKÁ M, ULANOVÁ D, KOPECKÝ J, KUTEJOVÁ E, NAJMANOVÁ L, JANATA J. Adaptation of an L-proline adenylation domain to use 4-propyl-L-proline in the evolution of lincosamide

- biosynthesis[J]. PLoS One, 2013, 8(12): e84902.
- [22] JIRASKOVA P, GAZAK R, KAMENIK Z, STEININGEROVA L, NAJMANOVA L, KADLCIK S, NOVOTNA J, KUZMA M, JANATA J. New concept of the biosynthesis of 4-alkyl-L-proline precursors of lincomycin, hormaomycin, and pyrrolobenzodiazepines: could a γ -glutamyltransferase cleave the C-C bond?[J]. Frontiers in Microbiology, 2016, 7: 276.
- [23] ULANOVA D, NOVOTNÁ J, SMUTNÁ Y, KAMENÍK Z, GAZÁK R, SULC M, SEDMERA P, KADLCÍK S, PLHÁCKOVÁ K, JANATA J. Mutasynthesis of lincomycin derivatives with activity against drug-resistant staphylococci[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2010, 54(2): 927-930.
- [24] NAJMANOVÁ L, KUTEJOVÁ E, KADLEC J, POLAN M, OLŠOVSKÁ J, BENADA O, NOVOTNÁ J, KAMENÍK Z, HALADA P, BAUER J, JANATA J. Characterization of *N*-demethylincosamide methyltransferases LmbJ and CcbJ[J]. ChemBioChem, 2013, 14(17): 2259-2262.
- [25] KAMENIK Z, KADLCIK S, RADOJEVIC B, JIRASKOVA P, KUZMA M, GAZAK R, NAJMANOVA L, KOPECKY J, JANATA J. Deacetylation of mycothiol-derived 'waste product' triggers the last biosynthetic steps of lincosamide antibiotics[J]. Chemical Science, 2016, 7(1): 430-435.
- [26] USHIMARU R, LIN chia-i, SASAKI E, LIU HW. Characterization of enzymes catalyzing transformations of cysteine *S*-conjugated intermediates in the lincosamide biosynthetic pathway[J]. ChemBioChem, 2016, 17(17): 1606-1611.
- [27] van WEZEL GP, McDOWALL KJ. The regulation of the secondary metabolism of *Streptomyces*: new links and experimental advances[J]. Natural Product Reports, 2011, 28(7): 1311-1333.
- [28] LIU G, CHATER KF, CHANDRA G, NIU GQ, TAN HR. Molecular regulation of antibiotic biosynthesis in streptomycetes[J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews: MMBR, 2013, 77(1): 112-143.
- [29] HOU BB, LIN YW, WU HZ, GUO MJ, PETKOVIC H, TAO LY, ZHU XY, YE J, ZHANG HZ. The novel transcriptional regulator LmbU promotes lincomycin biosynthesis through regulating expression of its target genes in *Streptomyces lincolnensis*[J]. Journal of Bacteriology, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1128/jb.00447-17>.
- [30] HOU BB, ZHU XY, KANG YJ, WANG RD, WU HZ, YE J, ZHANG HZ. LmbU, a cluster-situated regulator for lincomycin, consists of a DNA-binding domain, an auto-inhibitory domain, and forms homodimer[J]. Frontiers in Microbiology, 2019, 10: 989.
- [31] McCORMICK JR, FLÄRDH K. Signals and regulators that govern *Streptomyces* development[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2012, 36(1): 206-231.
- [32] CHATER KF, CHANDRA G. The evolution of development in *Streptomyces* analysed by genome comparisons[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2006, 30(5): 651-672.
- [33] HOU BB, TAO LY, ZHU XY, WU W, GUO MJ, YE J, WU HZ, ZHANG HZ. Global regulator BldA regulates morphological differentiation and lincomycin production in *Streptomyces lincolnensis*[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2018, 102(9): 4101-4115.
- [34] LI J, WANG N, TANG YQ, CAI XL, XU YR, LIU RH, WU H, ZHANG BC. Developmental regulator BldD directly regulates lincomycin biosynthesis in *Streptomyces lincolnensis*[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2019, 518(3): 548-553.
- [35] HUANG R, LIU HL, ZHAO WW, WANG SQ, WANG SF, CAI J, YANG C. AdpA, a developmental regulator, promotes ϵ -poly-L-lysine biosynthesis in *Streptomyces albulus*[J]. Microbial Cell Factories, 2022, 21(1): 1-20.
- [36] LU T, WU XH, CAO Q, XIA YZ, XUN LY, LIU HW. Sulfane sulfur posttranslationally modifies the global regulator AdpA to influence actinorhodin production and morphological differentiation of *Streptomyces coelicolor*[J]. mBio, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1128/mbio.03862-21>.
- [37] KANG YJ, WU W, ZHANG FX, CHEN L, WANG RD, YE J, WU HZ, ZHANG HZ. AdpA_{lin} regulates lincomycin and melanin biosynthesis by modulating precursors flux in *Streptomyces lincolnensis*[J]. Journal of Basic Microbiology, 2023, 63(6): 622-631.
- [38] LU T, WANG QD, CAO Q, XIA YZ, XUN LY, LIU HW. The pleiotropic regulator AdpA regulates the removal of excessive sulfane sulfur in *Streptomyces coelicolor*[J]. Antioxidants, 2023, 12(2): 312.
- [39] OHNISHI Y, YAMAZAKI H, KATO JY, TOMONO A, HORINOUCHE S. AdpA, a central transcriptional regulator in the A-factor regulatory cascade that leads to morphological development and secondary metabolism in *Streptomyces griseus*[J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2005, 69(3): 431-439.

- [40] PAN YY, LIU G, YANG HH, TIAN YQ, TAN HR. The pleiotropic regulator AdpA-L directly controls the pathway-specific activator of nikkomycin biosynthesis in *Streptomyces ansochromogenes*[J]. *Molecular Microbiology*, 2009, 72(3): 710-723.
- [41] KANG YJ, WANG YY, HOU BB, WANG RD, YE J, ZHU XY, WU HZ, ZHANG HZ. AdpAlin, a pleiotropic transcriptional regulator, is involved in the cascade regulation of lincomycin biosynthesis in *Streptomyces lincolnensis*[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 2428.
- [42] CUTHBERTSON L, NODWELL JR. The TetR family of regulators[J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews: MMBR*, 2013, 77(3): 440-475.
- [43] 倪静姝, 汪焰胜, 吴杭, 张部昌. 放线菌中与抗生素合成相关 TetR 家族转录因子的研究进展[J]. *微生物学通报*, 2019, 46(2): 407-414.
- NI JS, WANG YS, WU H, ZHANG BC. Progress in TetR family transcriptional regulator related to antibiotic synthesis in actinomycetes[J]. *Microbiology China*, 2019, 46(2): 407-414 (in Chinese).
- [44] LIU J, WANG YX, HE HY, DONG SN, TANG LJ, YANG ED, WANG WY, ZHANG BC. The leucine-responsive regulatory protein SCAB_Lrp modulates thaxtomin biosynthesis, pathogenicity, and morphological development in *Streptomyces scabies*[J]. *Molecular Plant Pathology*, 2023, 24(2): 167-178.
- [45] LU ZL, ZHANG XT, DAI JL, WANG YG, HE WQ. Engineering of leucine-responsive regulatory protein improves spiramycin and bitespiramycin biosynthesis[J]. *Microbial Cell Factories*, 2019, 18(1): 1-12.
- [46] LIU J, LI J, DONG H, CHEN YF, WANG YS, WU H, LI CR, WEAVER DT, ZHANG LX, ZHANG BC. Characterization of an Lrp/AsnC family regulator SCO₃361, controlling actinorhodin production and morphological development in *Streptomyces coelicolor*[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2017, 101(14): 5773-5783.
- [47] LIU J, LI L, WANG YX, LI BW, CAI XL, TANG LJ, DONG SN, YANG ED, WU H, ZHANG BC. Joint engineering of SACE_Lrp and its target MarR enhances the biosynthesis and export of erythromycin in *Saccharopolyspora erythraea*[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2021, 105(7): 2911-2924.
- [48] LIU J, CHEN YF, LI L, YANG ED, WANG YS, WU H, ZHANG LX, WANG WY, ZHANG BC. Characterization and engineering of the Lrp/AsnC family regulator SACE_5717 for erythromycin overproduction in *Saccharopolyspora erythraea*[J]. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 2019, 46(7): 1013-1024.
- [49] LIU J, CHEN YF, WANG WW, REN M, WU PP, WANG YS, LI CR, ZHANG LX, WU H, WEAVER DT, ZHANG BC. Engineering of an Lrp family regulator SACE_Lrp improves erythromycin production in *Saccharopolyspora erythraea*[J]. *Metabolic Engineering*, 2017, 39: 29-37.
- [50] XU YR, XU WL, YI J, LI BL, LIU M, ZHANG MF, ZHENG Y, LIU RH, WU H, ZHANG BC. Transcriptomics-guided investigation of the SLCG_Lrp regulon provides new insights into its role for lincomycin biosynthesis[J]. *Fermentation*, 2023, 9(4): 396.
- [51] BREKASIS D, PAGET MSB. A novel sensor of NADH/NAD⁺ redox poise in *Streptomyces coelicolor* A3(2)[J]. *The EMBO Journal*, 2003, 22(18): 4856-4865.
- [52] PAGELS M, FUCHS S, PANÉ-FARRÉ J, KOHLER C, MENSCHNER L, HECKER M, McNAMARRA PJ, BAUER MC, von WACHENFELDT C, LIEBEKE M, LALK M, SANDER G, von EIFF C, PROCTOR RA, ENGELMANN S. Redox sensing by a Rex-family repressor is involved in the regulation of anaerobic gene expression in *Staphylococcus aureus*[J]. *Molecular Microbiology*, 2010, 76(5): 1142-1161.
- [53] LIU XC, CHENG YQ, LYU MY, WEN Y, SONG Y, CHEN Z, LI JL. Redox-sensing regulator Rex regulates aerobic metabolism, morphological differentiation, and avermectin production in *Streptomyces avermitilis*[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 44567.
- [54] HOU BB, WANG RD, ZOU JY, ZHANG FX, WU HZ, YE J, ZHANG HZ. A putative redox-sensing regulator Rex regulates lincomycin biosynthesis in *Streptomyces lincolnensis*[J]. *Journal of Basic Microbiology*, 2021, 61(9): 772-781.
- [55] PAOLO SS, HUANG JQ, COHEN SN, THOMPSON CJ. Rag genes: novel components of the RamR regulon that trigger morphological differentiation in *Streptomyces coelicolor*[J]. *Molecular Microbiology*, 2006, 61(5): 1167-1186.
- [56] O'CONNOR TJ, NODWELL JR. Pivotal roles for the receiver domain in the mechanism of action of the response regulator RamR of *Streptomyces coelicolor*[J]. *Journal of Molecular Biology*, 2005, 351(5): 1030-1047.
- [57] MENG ST, WU H, WANG L, ZHANG BC, BAI LQ. Enhancement of antibiotic productions by engineered nitrate utilization in actinomycetes[J]. *Applied*

- Microbiology and Biotechnology, 2017, 101(13): 5341-5352.
- [58] ZHU YP, WANG J, SU WY, LU T, LI AY, PANG XH. Effects of dual deletion of *glnR* and *mtrA* on expression of nitrogen metabolism genes in *Streptomyces venezuelae*[J]. Microbial Biotechnology, 2022, 15(6): 1795-1810.
- [59] SUN D, LIU C, ZHU JR, LIU WJ. Connecting metabolic pathways: *Sigma* factors in *Streptomyces* spp.[J]. Frontiers in Microbiology, 2017, 8: 2546.
- [60] CHO YH, LEE EJ, AHN BE, ROE JH. SigB, an RNA polymerase sigma factor required for osmoprotection and proper differentiation of *Streptomyces coelicolor*[J]. Molecular Microbiology, 2008, 42(1): 205-214.
- [61] LEE EJ, KAROONUTHAISIRI N, KIM HS, PARK JH, CHA CJ, KAO CM, ROE JH. A master regulator σ^B governs osmotic and oxidative response as well as differentiation via a network of sigma factors in *Streptomyces coelicolor*[J]. Molecular Microbiology, 2005, 57(5): 1252-1264.
- [62] SUN D, WANG Q, CHEN Z, LI JL, WEN Y. An alternative σ factor, σ_8 , controls avermectin production and multiple stress responses in *Streptomyces avermitilis*[J]. Frontiers in Microbiology, 2017, 8: 736.
- [63] TU BB, MAO Y, WANG RD, KANG YJ, YE J, ZHANG HZ, WU HZ. An alternative σ factor σ_{sl}^L regulates lincomycin production in *Streptomyces lincolnensis*[J]. Journal of Basic Microbiology, 2023, 63(2): 190-199.
- [64] RODRÍGUEZ H, RICO S, DÍAZ M, SANTAMARÍA RI. Two-component systems in *Streptomyces*: key regulators of antibiotic complex pathways[J]. Microbial Cell Factories, 2013, 12(1): 1-10.
- [65] NI H, MOHSIN A, GUO MJ, CHU J, ZHUANG YP. Two-component system AfrQ1Q2 involved in oxytetracycline biosynthesis of *Streptomyces rimosus* M4018 in a medium-dependent manner[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2020, 129(2): 140-145.
- [66] WANG RD, ZHOU TY, KONG FJ, HOU BB, YE J, WU HZ, ZHANG HZ. AflQ1-Q2 represses lincomycin biosynthesis via multiple cascades in *Streptomyces lincolnensis*[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2023, 107(9): 2933-2945.