

链霉菌发育与分化的分子调控

聂丽平 谭华荣*

(中国科学院微生物研究所, 北京 100080. * 联系人, Email: tanhr@sun.im.ac.cn)

发育分化是现代生物学中一个富有挑战性的前沿领域. 链霉菌具有复杂的形态分化周期, 从孢子萌发、气生菌丝产生到孢子形成, 每一个生长阶段都具有明显的形态特征, 为形态分化突变株的鉴定、分化基因的互补克隆和时空表达研究提供了有利的条件. 链霉菌的这一特点, 是枯草芽孢杆菌、黄色粘细菌等原核生物无可比拟的. 此外, 链霉菌具有复杂的生理分化过程, 其产生抗生素的能力尤为引人注目, 在目前已知的约 12 000 种抗生素中, 一半以上是由链霉菌产生的, 其中包括许多在人类医药及农业上具有重要用途的抗生素. 对这些抗生素生物合成途径中基因表达调控机制的研究, 将有助于优化链霉菌生产菌株及新型药物研究. 链霉菌与构巢曲霉等真核生物相比, 遗传物质结构简单, 便于分化基因表达调控的研究; 但是, 作为原核生物, 链霉菌基因组具有许多非同寻常的特性, 染色体一般为线状, 基因组较大, 基因数目较多^[1]. 链霉菌中数目众多的基因, 不仅是其独特的分化周期的分子基础, 而且暗示其分化过程的基因表达调控可能是错综复杂的.

在国际上, 英国 John Innes 研究所的 Hopwood 等人^[2]率先开展了链霉菌分化的遗传学研究. 链霉菌分化包括形态分化和生理分化, 其中, 与链霉菌形态分化有关的基因主要有两类, 即: 光秃型基因(*bld*)和白基因(*whi*). 光秃型基因与链霉菌气生菌丝形成直接相关. 到目前为止, 已知的光秃型基因至少有 12 个. 其中, *bldA* 是最早被克隆的一个光秃基因^[3], 它是控制气生菌丝形成的细胞外信号传递系统中的一个成员, 这个信号传递系统至少涉及 7 个不同光秃基因(*bld261*, *bldK*, *bldA/bldH*, *bldG*, *bldE* 和 *bldD*)的有序表达和一个小分子细胞外蛋白质(SapB)的合成^[4]. 在天蓝色链霉菌中 *bldA* 编码一个可以有效地翻译稀有亮氨酸密码子 UUA 的 tRNA. 已知在营养期中表达的基因中均不含 TTA 密码子, 只有少数在对数初期表达的基因(如 *act II-ORF4*, *redZ* 和 *strR* 等)中含有此密码子. *bldA* 在翻译水平上控制着含有稀有密码子 TTA 的基因的时空表达. 正在进行的天蓝色链霉菌基因组计划揭示^[1], 含有 TTA 密码子的基因数目超过 100 个, 因此可能构成了一个由 *bldA* 控制的庞大的基因调控元, 毫无疑问, 它在链霉菌分化的多水平级联调控系统中将具有重要的作用. 白基因是一大类与链霉菌孢子形成有关的分化基因. 在已知的白基因中^[5], 已有多被克隆(其中包括 *whiG*, *whiH*, *whiB*, *whiD*, *whiE* 和 *whiI* 等). 基因功能研究表明, 它们的编码产物为调控蛋白和 sigma 因子. *whiG* 是决定孢子形成的关键基因, 控制着发育过程中一个十分重要的开关. 此外, *whiB* 可能控制着一个不依赖于 *whiG* 的发育决定点^[6]. 白基因的表达调控机制十分复杂, 包括白基因的自身调控(*whiH*, *whiI*)和白基因之间的相互调控(*whiH*, *whiI*). 值得注意的是, 在链霉菌孢子形成过程中, 有类似于枯草芽孢杆菌内孢子形成过程中存在的 sigma 因子级联调控系统. 最近, 链霉菌中抗 sigma 因子的发现^[7], 提示抗 sigma 因子与 sigma 因子之间的相互作用亦是分化调控的一种方式.

链霉菌分化调控的复杂性不仅表现在形态分化方面, 同时也表现在生理分化方面. 在链霉菌中, 大多数抗生素生物合成基因是成簇排列的, 它们的表达受途径特异的转录激活子的控制, 而这些转录激活子又是多效性调节基因(如 *bldA*)或多效作用因子(A-因子, cAMP 和 ppGpp

等)的作用靶位点. 灰色链霉菌的 A-因子是研究最深入的多效作用因子之一. 它与灰色链霉菌气生菌丝的形成及链霉素的生物合成直接相关. A-因子的合成受复杂的信号传递系统控制, 其中包括 AfsK-AfsR 组成的蛋白激酶-调控蛋白二元调控系统^[8]. 最新的研究结果揭示, 在真核生物碳代谢中起信号分子作用的 cAMP 和 ppGpp, 在链霉菌中可能作为碳代谢和分化调控的双重开关发挥着重要的作用^[9,10]. 另外, *sigE* 在次级代谢中的调控作用揭示, RNA 聚合酶的多样性及启动子的串联排列方式, 可能是链霉菌不同发育时期基因选择性表达的分子基础^[1]. 综上所述, 在链霉菌的分化过程中多种调控系统共同构成了一个复杂的调控网络. 对抗生素生物合成基因的结构与功能研究, 特别是对聚酮类抗生素生物合成基因的研究^[11], 已为获得新的抗生素或生物活性物质开辟了一条新的途径.

本实验室从 90 年代初期开始在国内率先开展了链霉菌分化的分子遗传学研究, 分离了大量的圈卷产色链霉菌形态分化突变株和抗生素生物合成阻断突变株, 并建立了遗传转化系统. 自 1991 年在国际上首次克隆到了天蓝色链霉菌中两个发育控制的启动子 P_{TH4} 和 P_{TH270} 后^[12], 近年来, 对两个启动子所控制的下游基因的表达调控进行了一系列的研究^[13]. 另外, 在圈卷产色链霉菌分化的分子遗传学方面进行了大量的研究, 取得了可喜的成果. 到目前为止, 已完成了圈卷产色链霉菌基因组物理图谱和 cosmid 基因文库的构建. 与尼可霉素生物合成有关的完整基因簇已被克隆, 全序列分析可望在近期内完成. 其中 *sanA*, *sanB* 和 *sanF* 等基因的结构与功能研究表明, 这些基因是尼可霉素生物合成所必需的^[14]. 此外, 本实验室还克隆到了一系列形态分化相关基因(*saw1*, *sawB*, *sawC*, *sawD*, *scrX* 和 *samf1* 等)^[15,16], 它们在分化过程中的作用已被证实. 在分子水平上研究链霉菌分化基因的结构与功能, 旨在阐明分化过程中基因表达调控的分子机理, 弄清抗生素生物合成与形态分化的相互关系, 这不仅可以极大地丰富人类对于生命现象的认识, 同时可为定向改良抗生素生产菌和创造新的抗生素提供重要的理论依据和指导.

致谢 本工作为国家自然科学基金重点项目(批准号: 39830010), 国家杰出青年科学基金(批准号: 39925002)及微生物资源前期开发国家重点实验室资助项目.

参 考 文 献

- 1 Hopwood D A. Forty years of genetics with *Streptomyces*: from *in vivo* through *in vitro* to *in silico*. Microbiology, 1999, 145: 2183~2202
- 2 Hopwood D A, Wildermuth H, Palmer H M. Mutants of *Streptomyces coelicolor* defective in Sporulation. J Gen Microbiol, 1970, 61: 397~408
- 3 Piret J M, Chater K F. Phage-mediated cloning of *bldA*, a region involved in *Streptomyces coelicolor* morphological development, and its analysis by genetic complementation. J Bacteriol, 1985, 163: 965~972
- 4 Chater K F. Taking a genetic scalpel to the *Streptomyces* colony. Microbiology, 1998, 144: 1465~1478
- 5 Ryding N J, Bibb M J, Molle V, et al. New sporulation loci in *Streptomyces coelicolor* A3(2). J Bacteriol, 1999, 181: 5419~5425
- 6 Flardh K, Findlay K C, Chater K F. Association of early sporulation genes with suggested developmental decision points in *Streptomyces coelicolor* A3(2). Microbiology, 1999, 145: 2229~2243
- 7 Paget M, Kang J G, Roe J H, et al. σ^R , an RNA polymerase sigma factor that modulate expression of the thioredoxin system in response to oxidative stress in *Streptomyces coelicolor*. EMBO J, 1998, 17: 5776~5782
- 8 Umeyama T, Lee P, Ueda K, et al. An AfsK/AfsR system involved in the response of aerial mycelium formation to glucose in *Streptomyces griseus*. Microbiology, 1999, 145: 2281~2292

- 9 Susstrunk U J, Pidoux J, Taubert S, et al. Pleiotrophic effects of cAMP on germination, antibiotic biosynthesis and morphological differentiation in *Streptomyces coelicolor*. Mol Microbiol, 1998, 30: 33~46
- 10 Chakraborty R, Bibb M J. The ppGpp synthetase gene (*relA*) of *Streptomyces coelicolor* A3(2) a conditional role in antibiotic production and morphological differentiation. J Bacteriol, 1997, 179: 5854~5861
- 11 Marsden A F A, Wilkinson B, Cortes J, et al. Engineering broader specificity into an antibiotic-producing polyketide synthase. Science, 1998, 279: 199~202
- 12 Tan H, Chater K F. Two developmentally controlled promoters of *Streptomyces coelicolor* A3(2) that resemble the major class of motility-related promoters in other bacteria. J Bacteriol, 1993, 175: 933~940
- 13 Tan H, Yang H, Tian Y, et al. The *Streptomyces coelicolor* sporulation-specific s^{WhiG} from of RNA polymerase transcribes a gene encoding a ProX-like protein that is dispensable for sporulation. Gene, 1998, 212: 138~146
- 14 贾君永, 李文利, 陈 蔚, 等. 圈卷产色链霉菌尼可霉素生物合成基因 *sanA* 的克隆、结构和功能. 中国科学, C 辑, 2000, 30(1): 1~8
- 15 田宇清, 刘 钢, 聂丽平, 等. 圈卷产色链霉菌分化早期基因——*samfR* 的研究. 中国科学, C 辑, 1999, 29(6): 461~467
- 16 杨海花, 田宇清, 贾君永, 等. 天蓝色链霉菌分化调控基因 *scrX* 的功能研究. 中国科学, C 辑, 2000, 30(2): 153~162

(2000-03-10 收稿)