微生物学报
Acta Microbiologica Sinica
2020, 60(7): 1335–1344
http://journals.im.ac.cn/actamicrocn
DOI: 10.13343/j.cnki.wsxb.20190460

Review 综 述

放线菌中亮氨酸应答调控蛋白的生物学功能及其调控机理

唐雅倩[1]，许玉荣[2]，蔡新露[1]，吴杭[1*]，张部昌[1]

[1]安徽大学，物质科学与信息技术研究院，生命科学学院，安徽 合肥 230601
[2]合肥师范学院化学与化学工程学院，安徽 合肥 230601

摘要：放线菌是一类革兰氏阳性细菌，可产生氨基酸等初级代谢产物和抗生素等次级代谢产物，其广泛用于食品、医药、添加剂及化妆品行业。此外，还有少数放线菌，如分枝杆菌等，是可以引起人和动植物病害的病原菌。亮氨酸应答调控蛋白(Leucine-responsive regulatory protein，Lrp)是一类在氨基酸代谢及其相关代谢过程中的重要转录调控子，能够应答各种氨基酸，参与调控微生物细胞的多个生理过程，例如氨基酸代谢和转运、中心代谢、细菌的持久性和毒力等。本文总结了放线菌 Lrp 的生物学功能，并综述了放线菌中不同种属 Lrp 以及天蓝色链霉菌和红色糖多孢菌 Lrp 调控机理的研究进展。

关键词：放线菌，初级代谢，次级代谢，亮氨酸应答调控蛋白

放线菌是一类主要以孢子繁殖和菌丝状生长的革兰氏阳性细菌。放线菌目包括放线菌亚目、链霉菌亚目(含链霉菌属)、链孢囊菌亚目、小单孢菌亚目、糖霉菌亚目、细链孢菌亚目、放线多孢菌亚目、动球菌亚目、假诺卡氏亚目(含糖多孢菌属)、弗兰克氏菌属亚目、棒杆菌亚目(含棒杆菌属和分枝杆菌属)、微球菌亚目和丙酸杆菌亚目。放线菌与人类的生活密切相关，对人类的健康作出了突出的贡献。放线菌产生的次级代谢产物占到目前临床使用抗生素的三分之二[1]，它们还是许多酶、维生素、氨基酸等的产生菌，例如谷氨酸棒杆菌可产生多种氨基酸[2–3]。弗兰克氏菌属对非豆科植物的共生固氮具有重大作用[4]。此外，还有少数放线菌能引起人和动植物病害，如结核分枝杆菌[5]。

Lrp 最早被认为是影响分支氨基酸转运的基因座(*livR*)[6]。亮氨酸(Leu)通过 IHB 调控蛋白影响 *ilvIH* (乙酰羟酸合成酶，参与分支氨基酸的生物合成)和 *oppABCDF* (参与多肽转运)操纵子的转录，因此 IHB 被称为亮氨酸应答调控蛋白，它参与氨基酸代谢和多肽的转运[7]。Lrp 广泛存在于细菌和古细菌中，可调控微生物细胞的代谢过程[8]。AsnC 是第一个在大肠杆菌中发现的与 Lrp 相关的蛋白

基金项目：国家自然科学基金(31300081，31570074，31972930)
*通信作者。Tel：+86-551-63861420；E-mail：wuhang@ahu.edu.cn
收稿日期：2019-10-09；**修回日期：**2019-11-18；**网络出版日期：**2019-11-29

质，是天冬酰胺合成酶(AsnA)的一种特异性的转录激活因子[9]，因此，Lrp 也被称为 Lrp/AsnC 家族蛋白[10]，它们也因在饥饿环境中的适应性潜能而被称为贫/富调控蛋白[11]。

放线菌中最早被发现的Lrp/AsnC家族成员是结核分枝杆菌中的 LrpA(Rv3291c)[12]，与大肠杆菌中的 Lrp 具有高度同源性[11]。与大多数 Lrp 蛋白相似，LrpA 的大小约 18 kDa，包括两个功能域：一个是 N 端的螺旋-转角-螺旋 DNA 结合域，包含 HTH 结构，能够识别靶基因 DNA；另一个是 C 端的氨基酸响应结构域(RAM)，包含着 αβ 三明治结构[11]。近年来研究发现，Lrp 可控制放线菌中多样的生理代谢过程，包括抗生素生物合成、菌丝体形态分化、氨基酸代谢、细菌持久性和毒力等。基因组测序表明放线菌中(如链霉菌、红色糖多孢菌、分枝杆菌)普遍分布 Lrp/AsnC 家族蛋白。例如，天蓝色链霉菌基因组中有 9 个 Lrp/AsnC 家族蛋白编码基因，阿维链霉菌基因组中有 14 个 Lrp/AsnC 家族蛋白编码基因，红色糖多孢菌基因组中有 15 个 Lrp/AsnC 家族蛋白编码基因。但目前已被文献报道的放线菌中 Lrp/AsnC 家族蛋白仅有 10 个，包括分枝杆菌中 3 个，棒杆菌中 1 个，链霉菌中 4 个和红色糖多孢菌中 2 个(表 1)。

1 Lrp 的研究进展

1.1 分枝杆菌中的亮氨酸应答调控子

结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*)是一种引起结核病的病原菌，研究发现结核分枝杆菌中存在亮氨酸应答调控子 LrpA(Rv3291c)，它位于 *sigF* 上游，可参与细菌在饥饿环境中的应激反应[15]，调控多个基因的表达，Lat 是一种赖氨酸氨基转移酶，能够参与抗生素的合成，LrpA 与 *lat* 启动子结合形成 DNA-蛋白质复合体，促使 *lat* 的表达量提高 42 倍[11]。偶发分枝杆菌(*Mycobacterium fortuitum*)是一种不需要形成结核而可以快速生长的分枝杆菌病原菌，将偶发分枝杆菌的 MT13 分离，细菌的毒力和持久性明显下降，而在突变株中插入 LrpA，细菌的毒力和持久性得到恢复[13,16]。表明 LrpA 在体内的持久性有可能被用作抗结核病的新型药物靶点[14]。

表 1. 放线菌中 Lrp 的功能和配体

Table 1. Functions and ligands of Lrp in *Actinomycetes*

Lrp	Strains	Function of Lrp	Ligand	Reference
LrpA	*Mycobacterium tuberculosis*	Virulence and persistence	Amino acids, vitamins	[11,13–16]
AldR	*Mycobacterium tuberculosis*	Feast/famine regulator		[17–18]
AldR	*Mycobacterium smegmatis*	Regulate alanine dehydrogenase		[19–20]
Lrp	*Corynebacterium glutamicum*	Amino acid production		[2,21–22]
SCO2140	*Streptomyces coelicolor*	Antibiotic biosynthesis and morphological differentiation		[23]
BkdR	*Streptomyces coelicolor*	Antibiotic production and morphogenesis		[24]
SCO3361	*Streptomyces coelicolor*	Actinorhodin biosynthesis and morphogenesis	Phenylalanine and cysteine	[25]
SSP_Lrp	*Streptomyces spiramyceticus*	Spiramycin and bitespiramycin biosynthesis		[26]
SACE_Lrp	*Saccharopolyspora erythraea*	Erythromycin biosynthesis	Lysine, arginine and histidine	[27]
SACE_5717	*Saccharopolyspora erythraea*	Erythromycin biosynthesis	Arginine, tyrosine and tryptophan	[28]

结核分枝杆菌中还发现另一个亮氨酸应答调控子 AldR(Rv2779c)，其是一种贫/富调控蛋白，也被认为在病原体的潜伏/持续阶段中起重要作用[29]。丙氨酸脱氢酶(Ald)是利用丙氨酸作为氮源的生长所需的酶，它可以使丙氨酸通过氧化脱氨反应为细胞生长提供氮源，研究发现 Rv2779c 还可以调控丙氨酸脱氢酶的表达[19]，并且在耻垢分枝杆菌(*Mycobacterium smegmatis*)中也有相同的调控方式[20]，推测在分枝杆菌中普遍存在 AldR 调控方式。本文就已报道的结核分枝杆菌中 Lrp，总结了其调控模式图(图 1)。

1.2 谷氨酸棒状杆菌中的亮氨酸应答调控子

革兰氏阳性土壤细菌谷氨酸棒杆菌(*Corynebacterium glutamicum*)被用于工业生产各种氨基酸，每年产生超过 2160000 t 谷氨酸和 1330000 t 赖氨酸[2]。它也可被改造用于生产其他氨基酸，例如丝氨酸[30]、异亮氨酸[31]和缬氨酸[22,32–33]。有报道显示谷氨酸棒杆菌中 *brnE* 和 *brnF* 组成一个双组份的转运系统 BrnFE，属于 LIV-E 转运蛋白家族，能够特异性地转运支链氨基酸和甲硫氨酸[2,34]，*lrp* 与 *brnFE* 符合排布在相邻位置且转录方向相反的特点。当 *lrp* 基因缺失后，*brnFE* 也不能正常转录，进一步通过凝胶迁移实验(electrophoretic mobility shift assays，EMSAs)和 DNA 酶 I 足迹法(DNase I footprinting)分析，确定 Lrp 能够与 *lrp-brnF* 的间隔区域结合，表明 *brnFE* 启动子的表达受 Lrp 调控，并且同时过表达 *lrp* 和 *brnFE* 可大幅度提高异亮氨酸的产量[2–3,21]。除此之外，利用 Lrp 调控 *brnFE* 改变胞内的分支氨基酸和甲硫氨酸浓度的特征，谷氨酸棒杆菌的 Lrp 还被开发为生物传感器，用于监测胞内效应氨基酸的浓度，有效地将胞内氨基酸浓度的变化转化为荧光信号输出[34–36]。

1.3 链霉菌中的亮氨酸应答调控子

在链霉菌的模式菌株——天蓝色链霉菌(*Streptomyces coelicolor*)中已发现 3 个 Lrp 家族成员，它们分别是 BkdR、SCO2140 和 SCO3361。其中 BkdR 具有调控相邻 *bkd* 操纵子表达的作用，

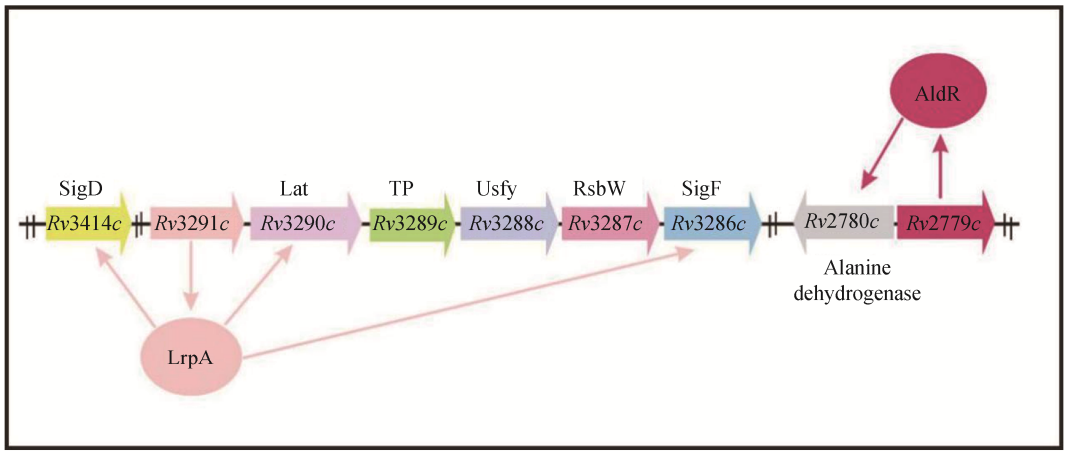

图 1. 结核分枝杆菌中亮氨酸应答调控子调控模式

Figure 1. Regulatory mode of Lrp in *Mycobacterium tuberculosis*. Rv3414c: ECF subfamily sigma subunit; Rv3290c: lysine aminotransferase; Rv3289c: a possible transmembrane protein; Rv3288c: hypothetical protein; Rv3287c: antisigma B factor; Rv3286c: ECF subfamily sigma subunit; Rv2780c: alanine dehydrogenase.

当敲除 *bkdR* 后，其突变株基本失去了产孢子和放线紫红素能力，暗示 BkdR 具有全局性的调控作用，但是该研究中并没有 BkdR 蛋白体外功能的验证[24]。而在阿维链霉菌(*S. avermitilis*)中也仅仅对 *bkd* 操纵子进行了体内缺失分析，但遗憾的是没有对 *bkd* 操纵子调控方面的研究[37]。Yu 等还发现了天蓝色链霉菌中另一个 Lrp 蛋白 SCO2140，它不仅能够调控菌丝体的生长，而且还会导致放线紫红素以及钙依赖抗生素产量的下降，但是 SCO2140 缺少典型的 DNA 结合域[23]。

本实验室研究发现另一个天蓝色链霉菌中的 Lrp 蛋白 SCO3361，它通过直接激活放线紫红素的正调控子 ActII-ORF4[38]，来提高放线紫红素的产量；并同时通过直接调控 *amfC*[39]以及间接调控 *whiB*[40]和 *ssgB*[41]，影响菌株的形态分化。SCO3361 在抑制自身的同时还可以激活其临近编码赖氨酸外排蛋白的基因 *SCO3362*，并且特异性应答苯丙氨酸(Phe)和半胱氨酸(Cys)[25]。SCO3361 与已发现红色糖多孢菌中的 SACE_Lrp 具有高度的同源性，且它们可以相互结合到彼此的启动子区，表明它们之间存在相互调控[25,27]。链霉菌和红色糖多孢菌中广泛分布着 SCO3361 的同源蛋白(图 2)，这暗示放线菌 Lrp 对抗生素生物合成具有普适性的调控作用。该研究成果一经发表就获得英国皇家科学院院士 Keith F. Chater 教授推荐，作为 F1000Prime 推荐论文 (https://f1000.com/prime/727702556)。

最近，Lu 等在螺旋链霉菌(*Streptomyces spiramyceticus*)中也发现了 Lrp 家族蛋白 SSP_Lrp，它负调控螺旋霉素和可利霉素的生物合成，通过实验发现敲除 SSP_Lrp 的 L-Leu 结合结构域，即可提高这两种抗生素的产量[26]。

1.4 红色糖多孢菌中的亮氨酸应答调控子

近年来，本实验室在研究红色糖多孢菌(*Saccharopolyspora erythraea*)的 Lrp 方面取得了一定进展，已经对红色糖多孢菌中 SACE_Lrp 和 SACE_5717 进行深入研究。SACE_Lrp 对红霉素生物合成具有负调控作用，而且 SACE_Lrp 对分支氨基酸转运等代谢过程具有调控作用，对精氨酸(Arg)、赖氨酸(Lys)和组氨酸(His)三种氨基酸有特异性的应答作用。通过在红霉素工业高产菌株中缺失 *SACE_Lrp* 并过表达靶基因 *SACE_5387*、*SACE_5386*，添加调控底物缬氨酸(Val)，在摇瓶发酵中可将红霉素产量提高 48%，在发酵罐水平下可将产量提高到 41%[27]。这是第一例对放线菌 Lrp 调控抗生素生物合成的分子机理进行深入研究的报道，为工业上提高其他放线菌次级代谢产物的产量提供了新的方法。近期研究发现，SACE_5717 对红霉素生物合成也具有负调控作用，并且它可以特异性应答精氨酸(Arg)、色氨酸(Trp)和酪氨酸(Tyr)，通过基因转录和 EMSA 分析，发现 SACE_5717 可以直接抑制自身和其临近的编码赖氨酸外排蛋白基因 *SACE_5716* 的转录，并证实 SACE_5716 可以外排赖氨酸(Lys)、组氨酸(His)、苏氨酸(Thr)和甘氨酸(Gly)，另外这四种氨基酸可以影响红霉素产量，但是其作用机理并不清楚[28]。在红霉素工业高产菌株中缺失 *SACE_5717*，并过表达其靶基因 *SACE_5716*，在摇瓶发酵情况下，可将红霉素产量提高 36%，在发酵罐水平上，能将产量提高到 41%[28]。这与本实验室之前发现的 Lrp 的功能有所不同，虽然它们都可以调控抗生素的生物合成，但 SCO3361 还可以调控菌丝体的形态分化，SACE_Lrp 是通过调控其临近基因对分支氨基酸内运来调控红霉素的生物合成，而 SACE_5717 却是

通过调控其临近基因对氨基酸的外排来调控红霉素的生物合成，这也暗示着在其他产抗生素的放线菌中 Lrp 同源蛋白行使着不同的功能。基于以上研究，我们绘制了红色糖多孢菌中 Lrp 的调控网络(图 3)。

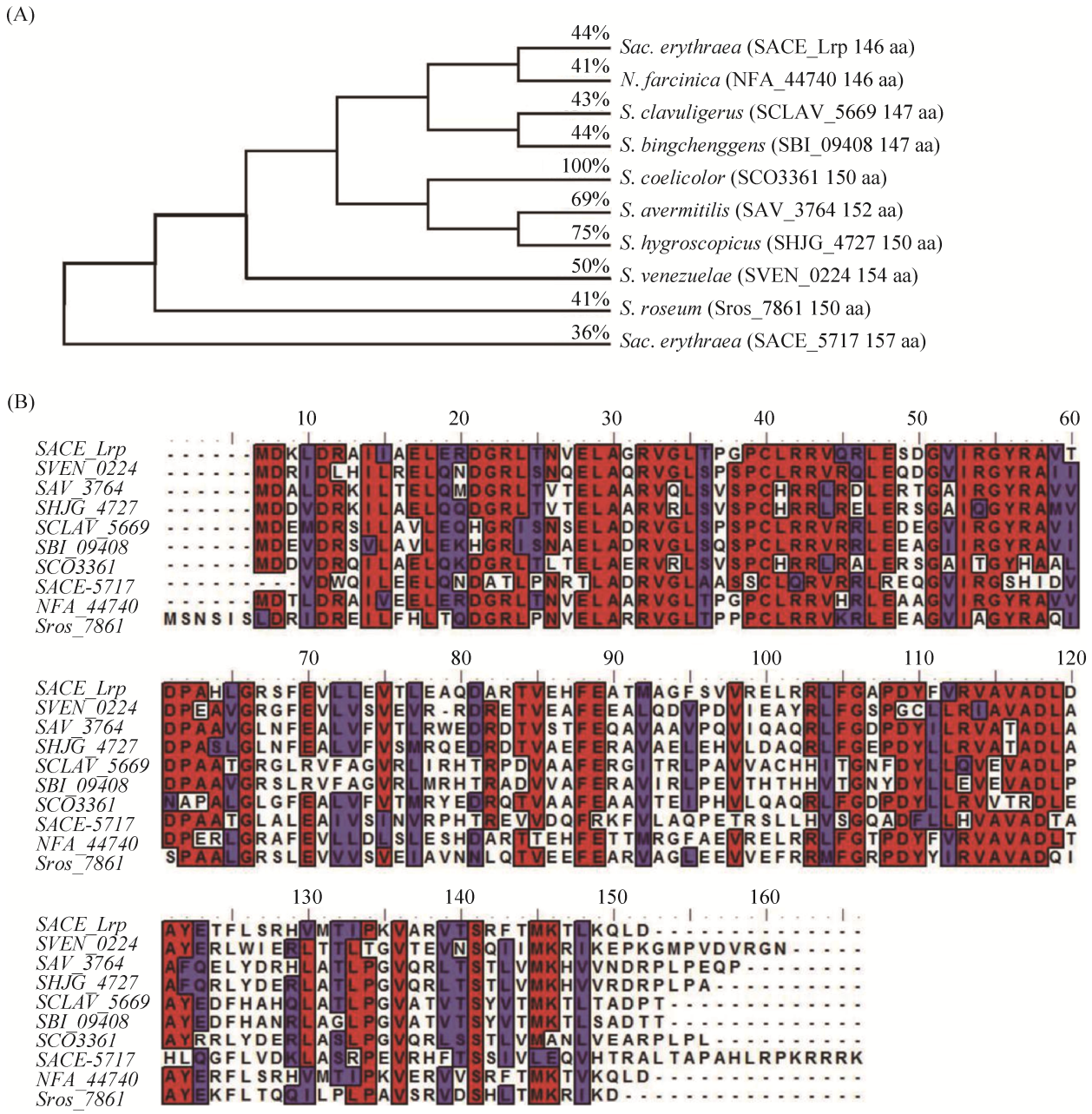

图 2.　链霉菌和红色糖多孢菌中 SCO3361 的同源蛋白

Figure 2. Homologous proteins of SCO3361 in *Streptomyces* and *Saccharopolyspora erythraea*. A: phylogenetic tree of SCO3361 homologous proteins in *Streptomyces* and *Saccharopolyspora erythraea*; B: Amino acid sequence alignment of SCO3361 homologous proteins in *Streptomyces* and *Saccharopolyspora erythraea* (*Saccharopolyspora erythraea* SACE_Lrp, *Streptomyces venezuelae* SVEN_0224, *Streptomyces avermitilis* SAV_3764, *Streptomyceshygroscopicus* SHJG_4727, *Streptomyces clavuligerus* SCLAV_5669, *Streptomyces bingchenggens* SBI_09408, *Streptomyces coelicolor* SCO3361, *Saccharopolyspora erythraea* SACE_5717, *Nocardia farcinica* NFA_44740, *Streptomyces roseum* Sros_7861).

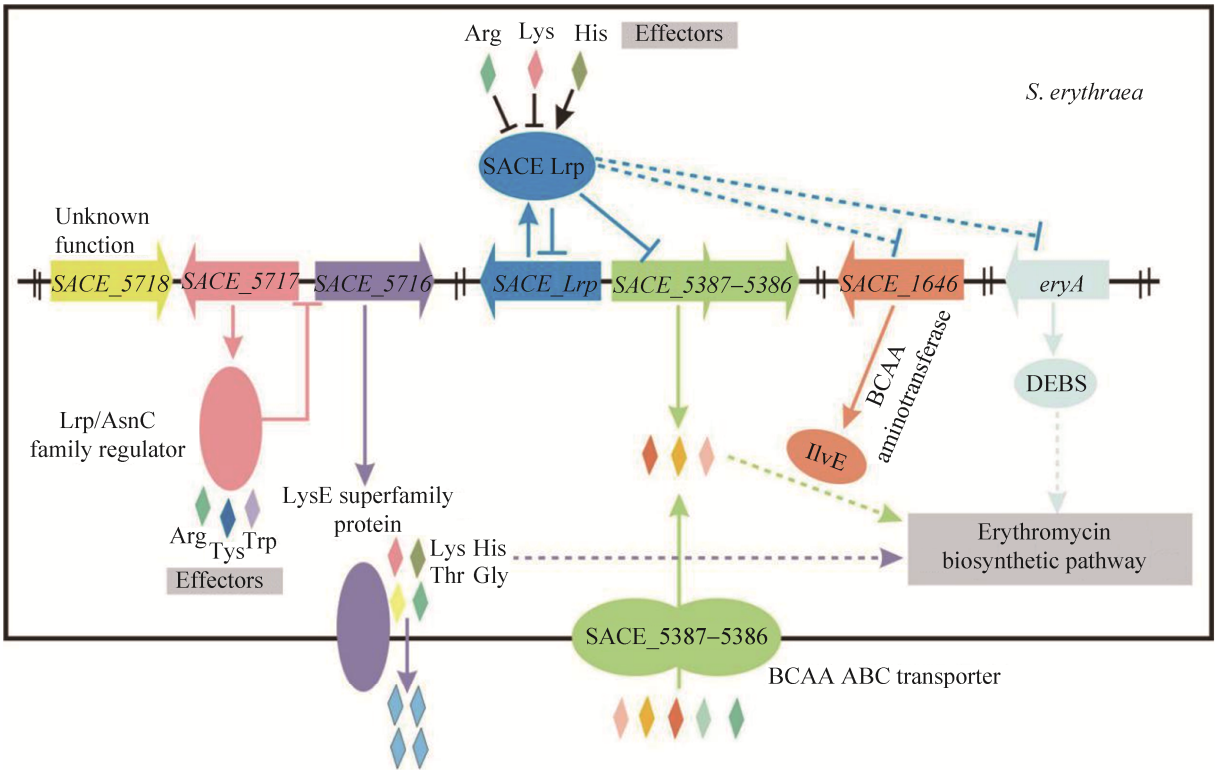

图 3. 红色糖多孢菌中亮氨酸应答调控子的调控网络

Figure 3. Regulatory network of Lrp in *Saccharopolyspora erythraea*.

2 展望

在放线菌复杂的基因调控网络中，Lrp 是非常重要的成员，在氨基酸代谢、中心代谢、物质转运等方面发挥着非常重要的作用。根据我们构建的放线菌 Lrp 系统发育树(图 4)，可以看出同样是产抗生素放线菌中的 Lrp，却分布在不同的分支上，暗示这些 Lrp 的功能存在差异性，为以后研究放线菌中 Lrp 提供一个新的视角。因此，研究放线菌中 Lrp 的功能，不仅对深入研究放线菌基因调控具有理论指导意义，而且在氨基酸或抗生素的工业生产方面也有实际应用价值。

现在对 Lrp 的研究已经取得了一些进展，人们已经了解到 Lrp 不仅是微生物代谢的重要调控子，而且还可以应答各种氨基酸，在产抗生素放线菌(链霉菌和红色糖多孢菌)中有报道 Lrp 均可应答不同的氨基酸[25,27–28]，且应答的氨基酸具有多样性，但其具体原因并不清楚。目前关于放线菌 Lrp 的研究，还有诸多问题尚未得到解答。如氨基酸作为配体或前体，甚至是信号分子，是如何参与抗生素的生物合成？Lrp 直接调控的下游靶点是否存在共性，且下游靶点如何调控抗生素的生物合成？Lrp 是单独发挥调控功能还是与其他调控子进行协同调控？这些都有待进一步去探究。随着放线菌中 Lrp 研究的进一步深入，将使人们更加清晰地认识 Lrp 作用的分子调控机制，也有助于揭示 Lrp 更多的生物学功能。

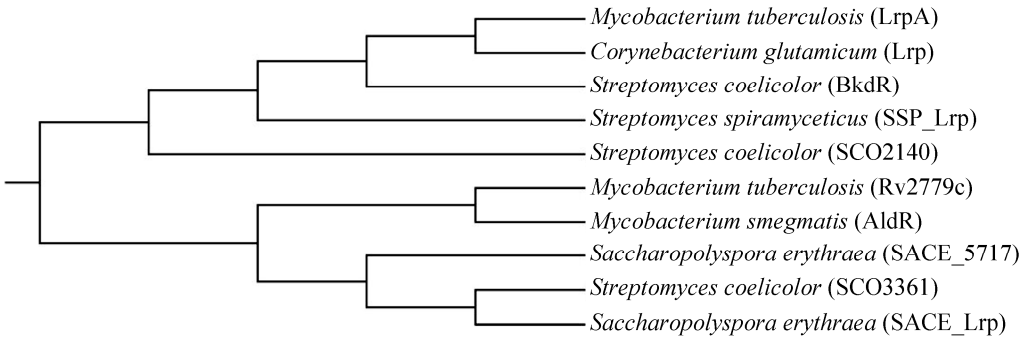

图 4　放线菌中亮氨酸应答调控子的进化树分析

Figure 4. Phylogenetic tree analysis of Lrp in actinomycetes. *Streptomyces spiramyceticus* SSP_Lrp (GenBank accession number: MH460452); *Streptomyces coelicolor* SCO2140 (GenBank accession number: NP_626396); *Streptomyces coelicolor* BkdR (GenBank accession number: NP_628020); *Streptomyces coelicolor* SCO3361 (GenBank accession number: NP_627569); *Mycobacterium tuberculosis* LrpA (GenBank accession number: NP_217808); *Mycobacterium tuberculosis* Rv2779c (GenBank accession number: NP_217295); *Corynebacterium glutamicum* Lrp (GenBank accession number: AAM46687); *Mycobacterium smegmatis* AldR (GenBank accession number: YP_886997); *Saccharopolyspora erythraea* SACE_5717 (GenBank accession number: CAM04902); *Saccharopolyspora erythraea* SACE_Lrp (GenBank accession number: CAM04626).

参 考 文 献

[1] Barka EA, Vatsa P, Sanchez L, Gaveau-Vaillant N, Jacquard C, Klenk HP, Clement C, Ouhdouch Y, van Wezel GP. Taxonomy, physiology, and natural products of *Actinobacteria*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2016, 80(4): 1–43.

[2] Lange C, Mustafi N, Frunzke J, Kennerknecht N, Wessel M, Bott M, Wendisch VF. Lrp of *Corynebacterium glutamicum* controls expression of the *brnFE* operon encoding the export system for L-methionine and branched-chain amino acids. *Journal of Biotechnology*, 2012, 158(4): 231–241.

[3] Kennerknecht N, Sahm H, Yen MR, Pátek M, Saier Jr MH, Eggeling L. Export of L-isoleucine from *Corynebacterium glutamicum*: a two-gene-encoded member of a new translocator family. *Journal of Bacteriology*, 2002, 184(14): 3947–3956.

[4] Ben Tekaya S, Guerra T, Rodriguez D, Dawson JO, Hahn D. *Frankia* diversity in host plant root nodules is independent of abundance or relative diversity of *Frankia* populations in corresponding rhizosphere soils. *Applied and Environmental Microbiology*, 2018, 84(5): e02248–17.

[5] Le Chevalier F, Cascioferro A, Majlessi L, Herrmann JL, Brosch R. *Mycobacterium tuberculosis* evolutionary pathogenesis and its putative impact on drug development. *Future Microbiology*, 2014, 9(8): 969–985.

[6] Anderson JJ, Quay SC, Oxender DL. Mapping of two loci affecting the regulation of branched-chain amino acid transport in *Escherichia coli* K-12. *Journal of Bacteriology*, 1976, 126(1): 80–90.

[7] Platko JV, Willins DA, Calvo JM. The *ilvIH* operon of *Escherichia coli* is positively regulated. *Journal of Bacteriology*, 1990, 172(8): 4563–4570.

[8] de los Rios S, Perona JJ. Structure of the *Escherichia coli* leucine-responsive regulatory protein Lrp reveals a novel octameric assembly. *Journal of Molecular Biology*, 2007, 366(5): 1589–1602.

[9] Kölling R, Lother H. AsnC: An autogenously regulated activator of asparagine synthetase A transcription in *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology*, 1985, 164(1): 310–315.

[10] Friedberg D, Midkiff M, Calvo JM. Global versus local regulatory roles for Lrp-related proteins: *Haemophilus influenzae* as a case study. *Journal of Bacteriology*, 2001, 183(13): 4004–4011.

[11] Reddy MCM, Gokulan K, Jacobs Jr WR, Ioerger TR,

Sacchettini JC. Crystal structure of *Mycobacterium tuberculosis* LrpA, a leucine-responsive global regulator associated with starvation response. *Protein Science*, 2008, 17(1): 159–170.

[12] Shrivastava T, Kumar S, Ramachandran R. Cloning, expression, purification and crystallization of a transcriptional regulatory protein (Rv3291c) from *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. *Acta Crystallographica Section D*: *Biological Crystallography*, 2004, 60: 1874–1876.

[13] Parti RPS, Shrivastava R, Srivastava S, Subramanian AR, Roy R, Srivastava BS, Srivastava R. A transposon insertion mutant of *Mycobacterium fortuitum* attenuated in virulence and persistence in a murine infection model that is complemented by Rv3291c of *Mycobacterium tuberculosis*. *Microbial Pathogenesis*, 2008, 45(5-6): 370–376.

[14] Shrivastava T, Dey A, Ramachandran R. Ligand-induced structural transitions, mutational analysis, and 'open' quaternary structure of the *M. tuberculosis* feast/famine regulatory protein (Rv3291c). *Journal of Molecular Biology*, 2009, 392(4): 1007–1019.

[15] Shrivastava T, Ramachandran R. Mechanistic insights from the crystal structures of a feast/famine regulatory protein from *Mycobacterium tuberculosis H37Rv*. *Nucleic Acids Research*, 2007, 35(21): 7324–7335.

[16] Song NN, Cui YY, Li ZL, Chen LP, Liu SG. New targets and cofactors for the transcription factor LrpA from *Mycobacterium tuberculosis*. *DNA and Cell Biology*, 2016, 35(4): 167–176.

[17] Dey A, Ramachandran R. Cloning, overexpression, purification and preliminary X-ray analysis of a feast/famine regulatory protein (Rv2779c) from *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. *Acta Crystallographica Section F*: *Structural Biology Communications*, 2014, 70: 97–100.

[18] Dey A, Shree S, Pandey SK, Tripathi RP, Ramachandran R. Crystal structure of *Mycobacterium tuberculosis H37Rv* AldR (Rv2779c), a regulator of the *ald* gene: DNA BINDING AND IDENTIFICATION OF SMALL MOLECULE INHIBITORS. *The Journal of Biological Chemistry*, 2016, 291(23): 11967–11980.

[19] Jeong JA, Hyun J, Oh JI. Regulation mechanism of the *ald* gene encoding alanine dehydrogenase in *Mycobacterium smegmatis* and *Mycobacterium tuberculosis* by the Lrp/AsnC family regulator AldR. *Journal of Bacteriology*, 2015, 197(19): 3142–3153.

[20] Jeong JA, Baek EY, Kim SW, Choi JS, Oh JI. Regulation of the *ald* gene encoding alanine dehydrogenase by AldR in *Mycobacterium smegmatis*. *Journal of Bacteriology*, 2013, 195(16): 3610–3620.

[21] Yin L, Shi F, Hu X, Chen C, Wang X. Increasing L-isoleucine production in C*orynebacterium glutamicum* by overexpressing global regulator Lrp and two-component export system BrnFE. *Journal of Applied Microbiology*, 2013, 114(5): 1369–1377.

[22] Chen C, Li YY, Hu JY, Dong XY, Wang XY. Metabolic engineering of *Corynebacterium glutamicum* ATCC13869 for L-valine production. *Metabolic Engineering*, 2015, 29: 66–75.

[23] Yu LJ, Pan YY, Liu G. A regulatory gene *SCO2140* is involved in antibiotic production and morphological differentiation of *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Current Microbiology*, 2016, 73(2): 196–201.

[24] Sprusansky O, Stirrett K, Skinner D, Denoya C, Westpheling J. The *bkdR* gene of *Streptomyces coelicolor* is required for morphogenesis and antibiotic production and encodes a transcriptional regulator of a branched-chain amino acid dehydrogenase complex. *Journal of Bacteriology*, 2005, 187(2): 664–671.

[25] 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*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2017, 101(14): 5773–5783.

[26] Lu ZL, Zhang XT, Dai JL, Wang YG, He WQ. Engineering of leucine-responsive regulatory protein improves spiramycin and bitespiramycin biosynthesis. *Microbial Cell Factories*, 2019, 18: 38.

[27] 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*. *Metabolic Engineering*, 2017, 39: 29–37.

[28] 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*. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 2019, 46(7): 1013–1024.

[29] Betts JC, Lukey PT, Robb LC, McAdam RA, Duncan K. Evaluation of a nutrient starvation model of *Mycobacterium tuberculosis* persistence by gene and protein expression profiling. *Molecular Microbiology*, 2002, 43(3): 717–731.

[30] Peters-Wendisch P, Stolz M, Etterich H, Kennerknecht N, Sahm H, Eggeling L. Metabolic engineering of *Corynebacterium glutamicum* for L-serine production. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71(11): 7139–7144.

[31] Morbach S, Sahm H, Eggeling L. L-Isoleucine production with *Corynebacterium glutamicum*: further flux increase and limitation of export. *Applied and Environmental Microbiology*, 1996, 62(12): 4345–4351.

[32] Blombach B, Schreiner ME, Holátko J, Bartek T, Oldiges M, Eikmanns BJ. L-valine production with pyruvate dehydrogenase complex-deficient *Corynebacterium glutamicum*. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, 73(7): 2079–2084.

[33] Radmacher E, Vaitsikova A, Burger U, Krumbach K, Sahm H, Eggeling L. Linking central metabolism with increased pathway flux: L-valine accumulation by *Corynebacterium glutamicum*. *Applied and Environmental Microbiology*, 2002, 68(5): 2246–2250.

[34] Trötschel C, Deutenberg D, Bathe B, Burkovski A, Krämer R. Characterization of methionine export in *Corynebacterium glutamicum*. *Journal of Bacteriology*, 2005, 187(11): 3786–3794.

[35] Mahr R, Gätgens C, Gätgens J, Polen T, Kalinowski J, Frunzke J. Biosensor-driven adaptive laboratory evolution of L-valine production in *Corynebacterium glutamicum*. *Metabolic Engineering*, 2015, 32: 184–194.

[36] Mustafi N, Grünberger A, Kohlheyer D, Bott M, Frunzke J. The development and application of a single-cell biosensor for the detection of L-methionine and branched-chain amino acids. *Metabolic Engineering*, 2012, 14(4): 449–457.

[37] Denoya CD, Fedechko RW, Hafner EW, McArthur H, Morgenstern MR, Skinner DD, Stutzman-Engwall K, Wax RG, Wernau WC. A Second Branched-Chain α-Keto acid dehydrogenase gene cluster (*bkdFGH*) from *Streptomyces avermitilis*: its relationship to avermectin biosynthesis and the construction of a *bkdF* mutant suitable for the Production of novel antiparasitic avermectins. *Journal of Bacteriology*, 1995, 177(12): 3504–3511.

[38] Liu G, Chater KF, Chandra G, Niu GQ, Tan HR. Molecular regulation of antibiotic biosynthesis in streptomyces. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2013, 77(1): 112–143.

[39] Yonekawa T, Ohnishi Y, Horinouchi S. Involvement of *amfC* in physiological and morphological development in *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Microbiology*, 1999, 145(9): 2273–2280.

[40] Davis NK, Chater KF. The *Streptomyces coelicolor whiB* gene encodes a small transcription factor-like protein dispensable for growth but essential for sporulation. *Molecular and General Genetics*, 1992, 232(3): 351–358.

[41] Keijser BJF, Noens EEE, Kraal B, Koerten HK, van Wezel GP. The *Streptomyces coelicolor ssgB* gene is required for early stages of sporulation. *FEMS Microbiology Letters*, 2003, 225(1): 59–67.

Biological function and regulation mechanism of Leucine-responsive regulatory proteins in actinomycetes

Yaqian Tang[1], Yurong Xu[2], Xinlu Cai[1], Hang Wu[1*], Buchang Zhang[1]

[1] Institution of Physical Science and Information Technology, School of Life Sciences, Anhui University, Hefei 230601, Anhui Province, China

[2] Hefei Normal University, School of Chemistry and Chemical Engineering, Hefei 230601, Anhui Province, China

Abstract: *Actinomycetes* are a class of Gram-positive bacteria that can produce primary metabolites such as amino acids and secondary metabolites such as antibiotics. Actinomycetes are widely used in food, pharmaceutical, additive and cosmetic industries. In addition, a few actinomycetes, such as *Mycobacterium*, are pathogen that can cause human, animal and plant diseases. Leucine-responsive regulatory protein (Lrp) is a category of global transcriptional regulator involved in amino acid metabolism and its relevant metabolic processes. They are capable of responding to a variety of amino acids and participating in the regulation of multiple physiological processes in microbial cells, such as amino acid metabolism and transport, central metabolism, bacterial persistence and virulence, *etc*. This paper summarizes the biological functions of Lrp in actinomycetes, and reviews the research advance of regulatory mechanism of Lrp from different actinomycetes, especially Lrp from *Streptomyces coelicolor* and *Saccharopolyspora erythraea* studied.

Keywords: *Actinomycetes*, primary metabolism, secondary metabolism, Leucine-responsive regulatory protein

（本文责编：张晓丽）

Supported by the National Natural Science Foundation of China (31300081, 31570074, 31972930)

[*]Corresponding author. Tel: +86-551-63861420; E-mail: wuhang@ahu.edu.cn

Received: 9 October 2019; Revised: 18 November 2019; Published online: 29 November 2019