

链霉菌中双组分系统调控次级代谢产物合成的研究进展

刘子越¹, 王娇¹, 赵乐¹, 刘大群^{1,2}, 李亚宁^{1*}

1 河北农业大学 植物保护学院, 河北省农作物病虫害生物防治技术创新中心, 国家北方山区农业工程技术研究中心, 河北 保定

2 中国农业科学院研究生院, 北京

刘子越, 王娇, 赵乐, 刘大群, 李亚宁. 链霉菌中双组分系统调控次级代谢产物合成的研究进展[J]. 微生物学报, 2025, 65(8): 3468-3491.

LIU Ziyue, WANG Jiao, ZHAO Le, LIU Daqun, LI Yaning. Research progress in regulation of secondary metabolite synthesis by two-component systems in *Streptomyces*[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2025, 65(8): 3468-3491.

摘 要: 链霉菌能够产生多种活性次级代谢产物, 可广泛应用于医疗、工业、农业等领域。链霉菌调控次级代谢产物的基因包括途径特异性、多效性以及全局性调控基因。其中, 双组分系统作为原核生物中的主要信号转导系统, 参与链霉菌的多种生理生化反应, 并可对次级代谢产物进行全局性调控。特定双组分系统基因的缺失或过表达可显著影响次级代谢产物的生物合成。鉴定双组分系统的功能并揭示其调控机制, 有助于通过基因工程手段提高次级代谢产物的生产效率。本文总结了近年来微白黄链霉菌等多种链霉菌中双组分系统的研究现状, 尤其对其次级代谢产物合成的调控机制进行了总结和阐述。

关键词: 链霉菌; 双组分系统; 次级代谢产物; 调控机制

资助项目: 国家自然科学基金(32272605)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (32272605).

*Corresponding author. E-mail: yaning22@163.com

Received: 2025-01-15; Accepted: 2025-03-20; Published online: 2025-06-05

Research progress in regulation of secondary metabolite synthesis by two-component systems in *Streptomyces*

LIU Ziyue¹, WANG Jiao¹, ZHAO Le¹, LIU Daqun^{1,2}, LI Yaning^{1*}

¹ Technological Innovation Center for Biological Control of Crop Diseases and Insect Pests of Hebei Province, National Engineering Research Center for Agriculture in Northern Mountainous Areas, College of Plant Protection, Hebei Agricultural University, Baoding, Hebei, China

² Graduate School, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing, China

Abstract: *Streptomyces* can produce various active secondary metabolites, which can be widely used in medical, industrial, agricultural, and other fields. The secondary metabolite synthesis in *Streptomyces* is regulated by pathway-specific, pleiotropic, and global regulatory genes. The two-component system, as the main signal transduction system in prokaryotes, participates in various physiological and biochemical reactions of *Streptomyces* and can globally regulate secondary metabolites. The deletion or overexpression of specific two-component system genes can significantly affect the biosynthesis of secondary metabolites. Identifying the functions of two-component systems and elucidating their regulatory mechanisms can contribute to enhancing the production efficiency of secondary metabolites by genetic engineering. This paper reviews the research trends of two-component systems in various *Streptomyces* species such as *Streptomyces albidoflavus* in recent years and particularly summarizes and elaborates on the regulatory mechanisms of their secondary metabolite synthesis.

Keywords: *Streptomyces*; two-component system; secondary metabolites; regulatory mechanism

放线菌是一类具有巨大经济价值的微生物群体,是细菌域分类的30个主要门中最大的门之一^[1]。其中链霉菌属(*Streptomyces*)是放线菌中规模最大且物种多样性极为丰富的一类丝状革兰氏阳性细菌(G⁺)^[2],可通过复杂的代谢网络合成众多具有生物活性的次级代谢产物,包括抗生素、免疫抑制剂、抗真菌药物等,在农业、工业和医学领域具有重要地位^[3-4],是目前生物活性化合物的主要生产者之一^[5]。近几十年来,链霉菌被用于抵御植物病原体的侵染,并提高作物产量^[6],在生态系统的维持和恢复方面具有关键作用^[7]。

链霉菌在陆地和海洋环境中无处不在,在土壤这一动态复杂的环境中分布最为广泛^[8]。这使得链霉菌不断应对来自环境条件变化与养分

稀缺的挑战,推动着链霉菌在进化过程中形成极强的适应能力^[9]。无论栖息地如何,链霉菌在正常和极端条件下产生的天然产物都表现出丰富的结构多样性和显著的生物活性^[10]。在基因组水平上,链霉菌通常具有6–12 Mb的线性染色体,G+C含量约为69%–78%,是已知G+C含量最高的生物类群之一^[11]。

1 双组分系统简介

细菌面临着来自环境和内部的大量信号,因此其必须具备检测、整合及处理这些复杂信号的能力,以便迅速做出相应反应,这种高效的信号感知与转导机制是细菌维持生存和适应动态环境的重要保障。信号转导在此过程中扮演着关键角色,而在原核生物中主要由双组分

系统(two-component systems, TCS)来执行这一功能^[12]。作为一种全局性的调控系统, TCS 不仅能感知内外部的刺激, 引发细胞响应, 还能调控细菌绝大多数的生理过程, 包括细菌生长、趋化性、初级代谢、渗透压调节、次级代谢产物的生物合成, 也能参与病原菌的毒力和群体感应等致病过程^[13]。

典型的双组分系统由 2 部分构成: 一是作为传感器的组氨酸激酶(histidine kinase, HK)负责感知特定的信号; 二是作为效应器的应答调控蛋白(response regulator, RR)负责产生针对这些信号进行的细胞响应^[14]。

1.1 组氨酸激酶

HK 通常为跨膜蛋白, 嵌入质膜中形成同型二聚体, 其功能结构域主要包括信号感受域(sensor domain)、二聚体化及磷酸转移结构域(dimerization/phosphotransfer domain, DHp)及具有激酶活性的 ATP 结合结构域(catalytic and ATP-binding domain, CA)。信号感受域高度可变, 主要在周质中或胞外参与信号识别; DHp 通过自磷酸化将外部刺激转化为内部信号; CA 含有 N、G1、F、G2 这 4 个相对保守的序列^[15], 用于特异性结合 ATP, 并将磷酸基团转移到组氨酸残基上。DHp 和 CA 这 2 个结构域高度保守, 共同构成 HK 的催化核心。HK 能够感知的物理和化学刺激种类繁多, 包括温度、光照、氧浓度、抗生素和各类营养物质等^[16]。

1.2 应答调控蛋白

RR 通常为细胞质蛋白, 负责传递来自 HK 的化学信号, 其核心结构包括 N 端的信号接受域(receiver domain, REC)和 C 端的效应结构域(effector domain, ED)^[17]。REC 高度保守, 包含关键的天冬氨酸残基(Asp), 该残基在磷酸转移过程中被 HK 磷酸化, 从而激活 RR。效应结构域通常为 DNA 结合域, 通过与目的基因启动子序列结合调节基因表达, 触发细胞反应^[18]。

1.3 双组分系统的信号转导过程

细胞信号转导起始于 HK 感知外界环境信号刺激, DHp 结构域中保守的组氨酸残基发生自磷酸化, 将磷酸基团转移到 REC 结构域中的天冬氨酸残基上, 激活结构域并引起蛋白构象的改变^[19]。磷酸化后的 RR 与 DNA 结合能力显著增强, 形成同源二聚体参与下游靶基因的转录调控(图 1)。在信号转导过程中, 每个 HK 通常与一个特定的 RR 相关联。基因组层面上, HK-RR 对通常在同一操纵子中相邻排列, 从而确保信号转导的准确性和高效性。此外, 不同 TCS 之间可能存在交叉调控, 使细菌更好地适应复杂环境^[20]。

作为重要的工业微生物, 链霉菌生产了近 60% 的微生物来源的天然抗生素^[21]。在原始菌株中, 由于抗生素自身较强的毒性对菌体产生抑制作用, 其产量很低, 有些仅有几微克。明确链霉菌中次级代谢产物的调控网络, 有助于后续设计更高效的菌株, 改进抗生素的生产。双组分系统接收并传递信号分子给下游的调控基因包括某些全局调控因子, 实现次级代谢产物的多级调控。目前, 双组分系统主要在模式菌微白黄链霉菌(*Streptomyces albidoflavus*)中进行研究。本文总结了当前链霉菌中 TCS 调控抗生素合成的研究现状, 并作图分别描述了 TCS 直接(图 2)或间接(图 3)调控次级代谢产物合成的机制, 以及这些 TCS 在未来改进抗生素生产的可能。

2 微白黄链霉菌中的双组分系统

微白黄链霉菌(*S. albidoflavus*)是链霉菌研究的主要模式菌株, 其全基因组测序已于 2002 年完成。基因组分析发现其含有编码次级代谢产物合成酶的基因 400 多个, 可产生 29 种次级代谢产物, 包括蓝色的放线紫红素(actinorhodin, ACT)、红色的十一烷基灵菌红素(undecylprodigiosin,

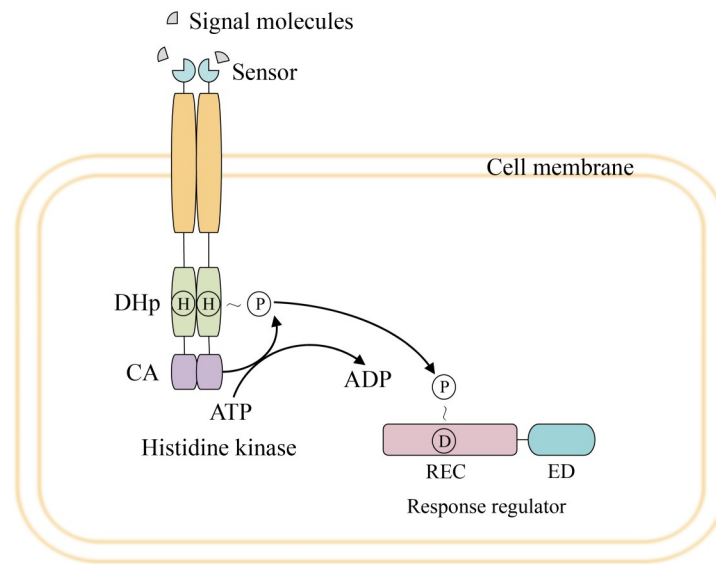


图1 典型双组分系统的结构示意图

Figure 1 Schematic structure of a typical two-component system.

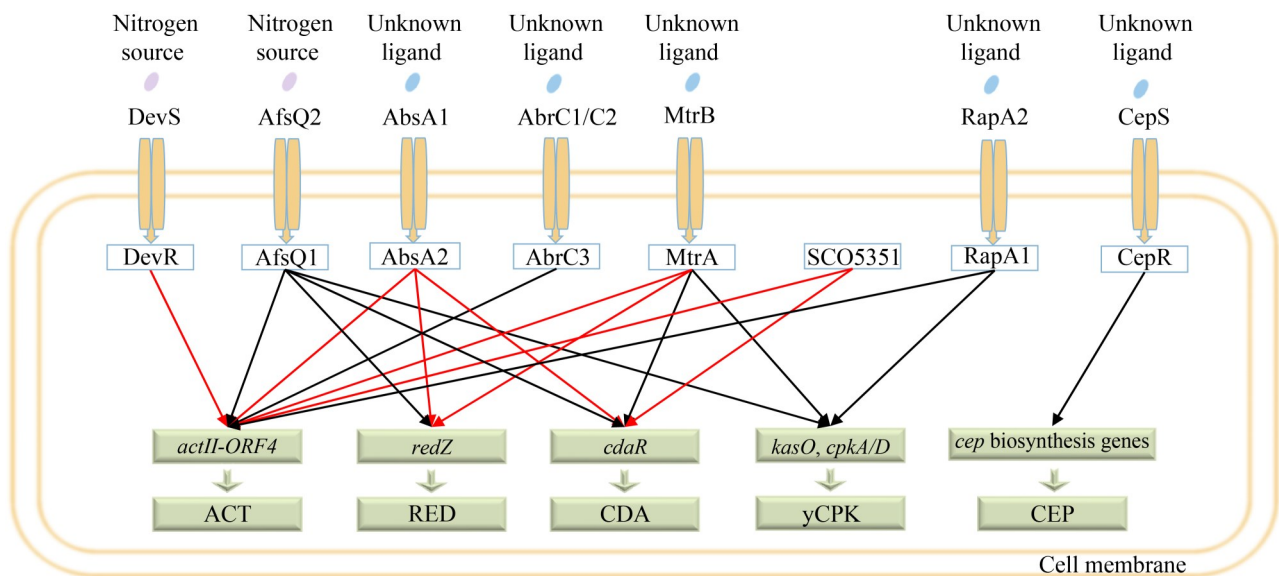


图2 双组分系统通过不同触发信号介导的直接调控示意图。组氨酸激酶(HKs)通过实线箭头与其对应的反应调节蛋白(RRs)相连接; 实线为代谢物生物合成或调控途径相关基因介导的直接调控, 其中黑色实线代表正调控, 红色实线表示负调控。ACT: 放线紫红素; RED: 十一烷基灵菌红素; CDA: 钙依赖抗生素; yCPK: 黄色色素; CEP: 头霉素。

Figure 2 Schematic diagram of direct regulation mediated by two-component system through distinct triggering signals. Arrows connect histidine kinases (HKs) with their cognate response regulators (RRs); Continuous lines indicate a direct effect through genes involved in synthesizing or regulating the metabolite; Black arrow headed lines indicate positive regulation, while red arrow headed lines denote negative regulation. ACT: Actinorhodin; RED: Undecylprodigiosin; CDA: Calcium-dependent antibiotic; yCPK: Coelimycin P2; CEP: Cephamycin.

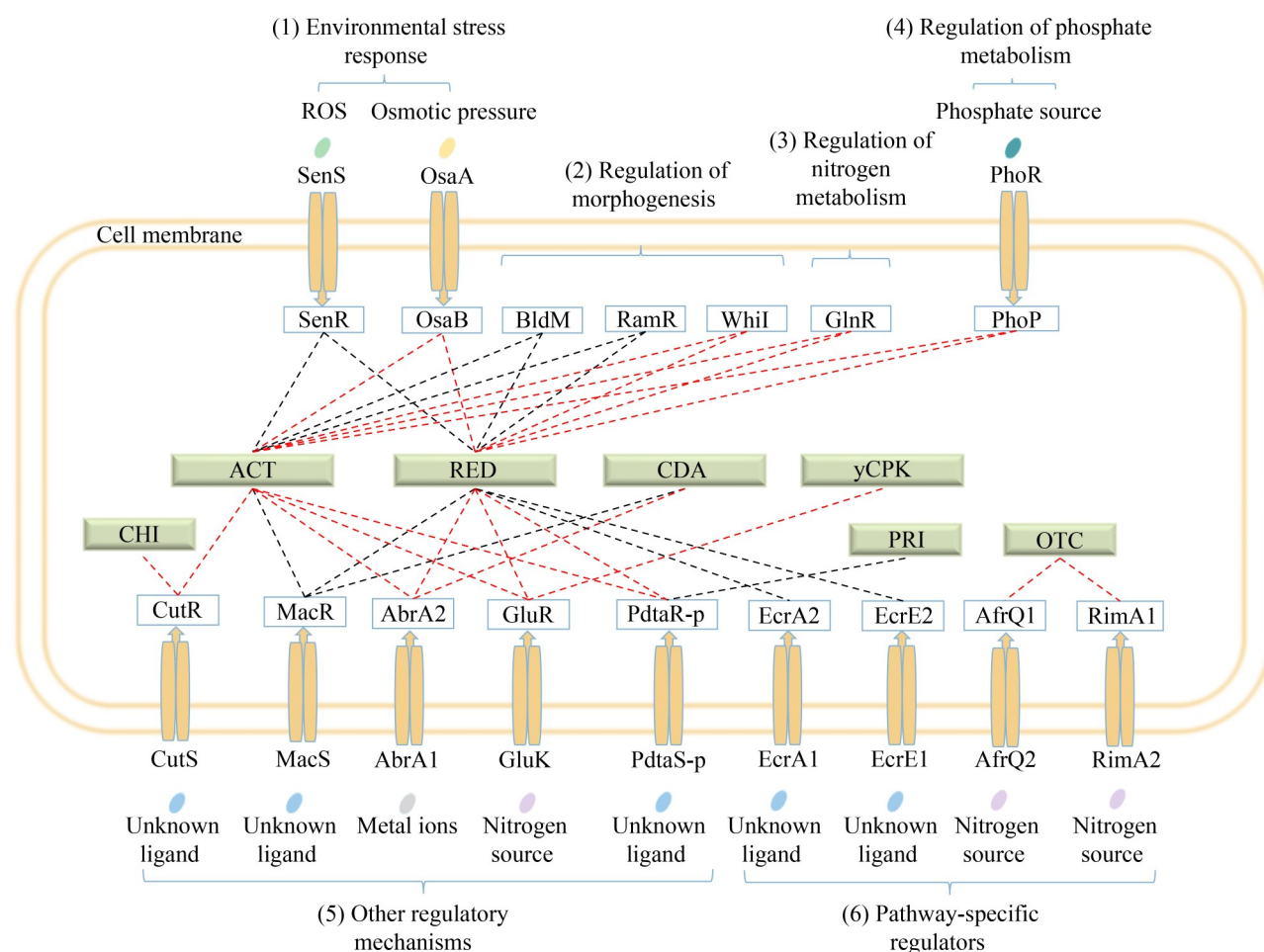


图3 双组分系统通过不同触发信号介导的间接调控示意图。组氨酸激酶(HKs)通过实线箭头与其对应的反应调节蛋白(RRs)相连接;虚线表示间接或未知的调控关系,其中黑色线条代表正调控,红色线条表示负调控。(1)环境应激响应(通过氧化应激或渗透压等信号间接调控次级代谢):SenS/R(响应氧化应激并调控抗氧化分子合成);OsaA/B(响应渗透压应激并维持胞内渗透压平衡);(2)形态发育调控(通过控制菌丝分化或孢子形成间接调控次级代谢):BldM(调控气生菌丝发育)、WhiI(控制孢子形成)、RamR(调控形态发生肽SapB的合成);(3)氮代谢调控:GlnR(调控谷氨酰胺合成酶、铵同化及硝酸盐/亚硝酸盐同化相关基因);(4)磷代谢调控:PhoR/P(在磷限制条件下抑制初级与次级代谢基因以优先恢复磷稳态);(5)未探明的调控方式;(6)调控全局调控因子(通过激活或抑制全局转录因子/ σ 因子间接调控次级代谢):EcrA1/A2和EcrE1/E2(调控途径特异性调控因子 $redZ$ 、 $redD$)、AfrQ1/Q2和RimA1/A2(调控途径特异性调控因子 $otcR$)。ACT:放线紫红素;RED:十一烷基灵菌红素;CDA:钙依赖抗生素;yCPK:黄色色素;Chl:氯霉素;PRI:普那霉素;OTC:土霉素。

Figure 3 Schematic diagram of indirect regulation mediated by two-component system through distinct triggering signals. Arrows connect histidine kinases (HKs) with their cognate response regulators (RRs); Discontinuous lines indicate indirect or unknown regulation; Black arrow headed lines indicate positive regulation, while red arrow headed lines denote negative regulation. (1) Environmental stress response (indirect modulation of secondary metabolism through stress signals such as oxidative or osmotic stress): SenS/R

(responds to oxidative stress and regulates antioxidant molecule synthesis), OsaA/B (responds to osmotic stress and maintains intracellular osmotic balance); (2) Regulation of morphological development (indirect modulation of secondary metabolism *via* control of hyphal differentiation or sporulation): BldM (regulates aerial hyphae development), WhiI (controls sporulation), RamR (regulates the synthesis of morphogenic peptide SapB); (3) Regulation of nitrogen metabolism: GlnR (regulates genes such as glutamine synthetase, ammonium assimilation, and nitrate/nitrite assimilation); (4) Regulation of phosphate metabolism: PhoR/P (under phosphate-limiting conditions, inhibits primary and secondary metabolism genes to prioritize phosphate homeostasis restoration); (5) Unresolved regulatory approaches; (6) Cross-regulation of other regulators (indirect modulation of secondary metabolism *via* activation or inhibition of global transcription factors or σ factors): EcrA1/A2, EcrE1/E2 (regulate pathway-specific regulators *redZ*, *redD*); AfrQ1/Q2, RimA1/A2 (regulate pathway-specific regulators *otcR*). ACT: Actinorhodin; RED: Undecylprodigiosin; CDA: Calcium-dependent antibiotic; yCPK: Coelimycin P2; Chl: Chloramphenicol, PRI: Pristinamycin.

RED)、黄色色素(coelimycin P2, yCPK)、钙依赖抗生素(calcium-dependent antibiotic, CDA)等。基于 P2CS 数据库(<http://www.p2cs.org/>), 于 2025 年 2 月 19 日访问发现, *S. albidoflavus* 中含有 100 个 HK 和 87 个 RR, 其中 63 对 HK-RR 相匹配组成典型的双组分系统, 另有 1 个三联体(SCO0870/0871/0872, RR-HK-RR)、1 个四连体(SCO3638/

3639/3640/3641, RR-HK-RR-HK)、34 个孤儿 HK 和 20 个孤儿 RR (表 1)。目前, *S. albidoflavus* 中已有 34 对双组分系统被鉴定研究^[20]。本文对已有研究报道的双组分系统作简要总结, 重点对近 5 年 *S. albidoflavus* TCS 的研究进展按字母顺序进行了总结, 尤其是主要调控次级代谢的双组分系统。

表1 微白黄链霉菌中已知的典型和孤儿双组分系统

Table 1 Known typical and orphan two-component systems in *Streptomyces albidoflavus*

HK	Type	RR	Family	HK	Type	RR	Family
SCO0203	Classic	SCO0204	NarL	SCO0211	Classic	–	–
SCO0422	Classic	SCO0421	NarL	SCO0551	Classic	SCO0552	OmpR
SCO0588	Classic	–	–	SCO0599	Classic	–	–
SCO0946	Classic	–	–	SCO1071	Classic	SCO1070	NarL
SCO1137	Classic	SCO1136	IclR	SCO1160	Classic	–	–
SCO1217	Classic	–	–	–	–	SCO1220	LytTR
SCO1259	Classic	SCO1260	NarL	SCO1369	Classic	SCO1370	NarL
SCO1402	Classic	–	–	SCO1596	Classic	–	–
SCO1630	Classic	–	–	–	–	SCO1654	NarL
SCO1744	Classic	SCO1745	NarL	SCO1802	Classic	SCO1801	NarL
–	–	SCO2013	AmiR_NasR	SCO2121	Classic	SCO2120	NarL
SCO2142	Classic	SCO2143	OmpR	SCO2166	Classic	SCO2165	NarL
SCO2215	Classic	SCO2216	NarL	–	–	SCO2281	NarL
SCO2307	Classic	SCO2308	NarL	SCO2359	Classic	SCO2358	NarL
SCO2518	Classic	SCO2517	NarL	SCO2800	Classic	SCO2801	OmpR
SCO2879	Classic	–	–	–	–	SCO3008	NarL
SCO3012	Classic	SCO3013	OmpR	SCO3062	Classic	SCO3063	OmpR
SCO3119	Classic	–	–	–	–	SCO3134	NarL

(待续)

(续表1)

HK	Type	RR	Family	HK	Type	RR	Family
–	–	SCO3144	NarL	SCO3225	Classic	SCO3226	NarL
SCO3284	Classic	–	–	SCO3359	Classic	SCO3358	OmpR
SCO3390	Classic	SCO3389	NarL	SCO3589	Classic	SCO3590	OmpR
SCO3654	Classic	SCO3653	NarL	SCO3740	Classic	SCO3741	OmpR
SCO3750	Classic	–	–	SCO3757	Classic	SCO3756	NarL
SCO3796	Classic	–	–	–	–	SCO3818	NarL
SCO3948	Classic	–	–	–	–	SCO4009	Unclassified
SCO4021	Classic	SCO4020	OmpR	SCO4073	Classic	SCO4072	NarL
SCO4120	Classic	–	–	SCO4124	Classic	SCO4123	NarL
SCO4155	Classic	SCO4156	OmpR	–	–	SCO4201	RsbU
SCO4229	Classic	SCO4230	OmpR	SCO4275	Classic	SCO4276	NarL
SCO4362	Classic	SCO4363	NarL	–	–	SCO4596	NarL
SCO4597	Classic	–	–	SCO4598	Classic	–	–
SCO4667	Classic	SCO4668	NarL	–	–	SCO4768	NarL
SCO4791	Classic	SCO4792	NarL	SCO4906	Classic	SCO4907	OmpR
–	–	SCO5006	Unclassified	SCO5131	Classic	SCO5132	NarL
SCO5239	Classic	–	–	SCO5282	Classic	SCO5283	OmpR
SCO5289	Classic	–	–	SCO5304	Classic	–	–
–	–	SCO5351	CheY	SCO5378	Classic	SCO5377	NarL
SCO5404	Classic	SCO5403	OmpR	SCO5435	Classic	SCO5434	IclR
SCO5454	Classic	SCO5455	NarL	SCO5460	Classic	–	–
SCO5540	Classic	–	–	SCO5544	Classic	–	–
–	–	SCO5567	Unclassified	SCO5683	Classic	SCO5684	NarL
SCO5748	Hybrid	–	–	–	–	SCO5749	Unclassified
SCO5779	Classic	SCO5778	OmpR	SCO5784	Classic	SCO5785	NarL
SCO5824	Classic	SCO5825	NarL	SCO5829	Classic	SCO5828	Unclassified
SCO5863	Classic	SCO5862	OmpR	SCO5871	Classic	SCO5872	OmpR
–	–	SCO5881	NarL	–	–	SCO6029	NarL
SCO6069	Classic	–	–	SCO6139	Classic	SCO6140	NarL
SCO6163	Classic	SCO6162	NarL	SCO6253	Classic	SCO6254	NarL
SCO6268	Classic	–	–	SCO6353	Classic	SCO6354	OmpR
SCO6362	Classic	SCO6363	NarL	–	–	SCO6364	OmpR
SCO6369	Classic	–	–	SCO6421	Classic	SCO6422	NarL
SCO6424	Classic	–	–	SCO6668	Classic	SCO6667	NarL
–	–	SCO6685	NarL	SCO6794	Classic	–	–
SCO6943	Classic	–	–	SCO7076	Classic	SCO7075	OmpR
SCO7089	Classic	SCO7088	NarL	SCO7231	Classic	SCO7230	OmpR
SCO7297	Classic	SCO7298	TrxB	SCO7327	Hybrid	–	–
SCO7422	Classic	–	–	SCO7463	Classic	–	–
SCO7534	Classic	SCO7533	OmpR	SCO7649	Classic	SCO7648	NarL
SCO7711	Classic	SCO7712	NarL	–	–	–	–

该表格按SCO编号列出了微白黄链霉菌中鉴定出的所有组氨酸激酶(HKs)和应答调控蛋白(RRs)。–表示缺少对应的组分；孤儿激酶和蛋白单独标出。

The table lists all histidine kinases (HKs) and response regulator proteins (RRs) identified in this bacterium according to their SCO numbers. – is used to indicate that the corresponding component is absent; Orphan kinases and proteins are labelled separately.

2.1 AbsA1/A2 (SCO3225/SCO3226)

AbsA1/A2 位于 CDA 生物合成基因簇内部, AbsA1 通过自我磷酸化启动信号传导链, 磷酸化的 AbsA2 分别结合于途径特异性调控基因 *actII-ORF4*、*redZ* 以及 *cdaR* 的启动子区域抑制转录, 负调控放线紫红素(actinorhodin, ACT)、十一烷基灵菌红素(undecylprodigiosin, RED)和钙依赖抗生素(calcium-dependent antibiotic, CDA)的生物合成。AbsA1 的跨膜结构域与典型的 HK 不同, 在 N 端附近缺少大的胞外感知结构域, 因此将其排除在常见的胞外感知组氨酸激酶之外, 通过构建 AbsA1 C-末端缺失融合蛋白 EGFP, 检测发现胞外 C 末端结构域对信号响应很重要^[22]。AbsA2 还与 CDA 生物合成基因簇内的多个位点(SCO3215、SCO3217 和 SCO3230)结合, 表明它通过负向调节 *cdaR* 的活性抑制转录^[23]。AbsA1 同时具有激酶和磷酸酶活性, AbsA2 的磷酸化状态由 AbsA1 的激酶和磷酸酯酶活性之间的平衡决定, 并且 AbsA2-P 直接或间接地抑制抗生素生物合成基因的表达^[24]。在异源链霉菌中表达 AbsA1 可显著改变次级代谢, 如果异源链霉菌含有内源性 AbsA 操纵子, 在表达来自 *S. albidoflavus* 的 AbsA1 时, 会使内源性 AbsA2 蛋白的磷酸化水平下降, 从而减轻其对目标启动子的抑制作用^[25]。

2.2 AfsQ1/Q2 (SCO4907/SCO4906)

AfsQ1/Q2 参与 *S. albidoflavus* 的初级代谢、次级代谢和形态发育的调控。在正常条件下培养时, Δ *afsQ1/Q2* 的表型及抗生素产量均未受到影响; 然而, 在含 0.075 mol/L 谷氨酸钠的基本培养基(minimal medium, MM)中培养时, Δ *afsQ1/Q2* 表现出气生菌丝较早地发育, ACT、RED、CDA 和 yCPK 的产量显著降低; 凝胶迁移实验(electrophoretic mobility shift assay, EMSA)和逆转录实时定量聚合酶链式反应(quantitative reverse transcription polymerase chain reaction, RT-qPCR)分析显示, AfsQ1/Q2 通过与 *actII-*

ORF4、*redZ* 和 *cdaR* 相互作用激活抗生素的生物合成; AfsQ1 还可激活假定的 sigma 因子 *sigQ* 作为抗生素产生的负调节因子, 与 AfsQ1/Q2 相互拮抗, 平衡菌体抗生素的合成; 此外, 体外磷酸化实验分析发现, σ Q 的拮抗作用是通过调控下游靶点——跨膜蛋白 AfsQ4 来间接实现的, AfsQ4 又反过来影响 AfsQ2 的自磷酸化水平, 进而拮抗 TCS AfsQ1/Q2 的功能^[26]。利用 Dnase I 足迹分析法, 确定了 AfsQ1 的保守结合位点为 GTnAC-n₆-GTnAC。AfsQ1/Q2 也能作为氮同化过程的抑制因子发挥作用, AfsQ1 与 GlnR 竞争 *glnA* 和 *nirB* 的启动子区域, 表明 AfsQ1/Q2 与 GlnR 在氮代谢中存在交叉调控^[27]。在 Δ *afsQ1/Q2* 突变株中, colimycin P2 基因簇中的 *cpkO*、*cpkN* 和 *scbR2* 这 3 个簇内调控因子(cluster-situated regulator, CSR)的转录均下调, 表明 AfsQ1/Q2 正调控 colimycin P2 的生物合成^[28]。AfsQ1/Q2 在直接调控 coelimycin P2 生物合成过程中起到关键作用, 这种调控并非通过位于基因簇内的调控基因而是通过直接作用于结构基因实现的。

2.3 CutS/R (SCO5862/SCO5863)

CutS/R 是链霉菌中发现的第一对双组分系统, 高度保守, 并负调控 ACT 的生物合成。染色质免疫共沉淀(chromatin immunoprecipitation, ChIP-seq)发现其结合位点并不位于 ACT 生物合成基因簇内, 表明其调控作用是间接的。在添加额外葡萄糖的情况下, Δ *cutR/S* 突变株中的 actinorhodin 生物合成酶显著上调, 但其机制尚不清楚。此外, CutR/S 还参与细胞的分泌应激反应, 并直接调控 HtrA3、HtrB (HtrA 家族折叠酶)以及 SCO1507 [维生素 K 环氧化物还原酶(vitamin K epoxide reductase, VKOR)]的产生^[29]。

2.4 DevS/R (SCO0203/SCO0204)

DevS/R (又称 OsdK/R)可感知 *S. albidoflavus* 中一氧化氮(NO)的浓度, 作为正调控因子在 ACT 合成中起重要作用, 缺失 DevS/R 会导致

ACT 产量下降。内源性 NO 可作为信号分子通过 DevS/R 正负双向调节 ACT 的产生, 当 NO 浓度达到一定水平时, 激活的 DevR 直接与 *actII-ORF4* 的启动子结合, 正调控 ACT 生物合成; 而低浓度的 NO 可能不足以有效激活 DevS; 过高浓度的 NO 则可能抑制 DevS 的自磷酸化活性, 从而降低 ACT 的生物合成, 这种调节机制类似于结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*) 中的 DosS-T/R 双组分系统^[30]。同时, 构建 NO 生成能力降低的突变株表现出抗生素产量和孢子形成显著减少, 而添加外源性 NO 能恢复这些表型^[31], 进一步表明 NO 对 DevS/R 的信号调节作用。在缺氧条件下, OsdK 可通过激活 *nar2* 操作子的表达促使菌丝体中 NarG2 硝酸还原酶的合成^[32]。

2.5 DraR/K (SCO3063/SCO3062)

DraR/K 在 *S. albidoflavus* 的生理和形态分化、初级代谢及次级代谢中发挥多效性及全局性的调节作用, 是次级代谢产物 ACT 的正调控因子, RED 和 yCPK 的负调控因子。在含有高浓度氮源(0.075 mol/L 谷氨酸钠)的培养条件下, DraR/K 可直接激活途径特异性调控基因 *actII-ORF4* 的转录促进 ACT 的生物合成; 与 $\Delta draR$ 相比, 双敲除突变株($\Delta draR/afsQ1$)的 *actII-ORF4* 转录显著减少, 证明 DraR/K 与 AfsQ1/Q2 协调激活 *actII-ORF4* 转录, 促进 ACT 的合成^[33]。DraR/K 与 *kasO* 基因的启动子区域相互作用, 抑制 yCPK 的生成; 对 RED 的负调控并不依赖于途径特异性基因 *redD/redZ*。DraR/K 还间接影响其他次级代谢产物基因簇的表达, 包括激活铁载体和四羟基萘的产生, 抑制锌离子载体、土霉素和类胡萝卜素的生物合成; DraR/K 的缺失导致锌响应抑制因子 Zur 及其靶基因强烈上调表达, 表明 DraR/K 在锌吸收和调动中起着关键作用^[34]。在工业模型菌株阿维菌素链霉菌(*S. avermitilis*) NRRL-8165 中, DraR-KsaV 与 *S. albidoflavus* 中的 DraR/K 同源, 突变株 $\Delta draR-ksaV$ 中 *olmRI*、*olmRII* 和 *olmA4* (寡霉素

合成基因)的转录水平显著下降, 而 *aveR* 和 *aveC* (阿维菌素合成基因)的转录水平上升^[33], 表明 DraR-KsaV 正调控寡霉素并负调控阿维菌素。

2.6 GarR/S (SCO6162/SCO6163)

GarR/S 是 *S. albidoflavus* 在葡萄糖存在时 ACT 和 RED 生物合成的重要负调控因子。葡萄糖作为常用碳源, 在促进链霉菌生长的同时, 通过碳源代谢抑制(carbon catabolite repression, CCR)途径抑制次级代谢产物的合成^[35]。在葡萄糖抑制条件下, GarR/S 的表达受到抑制。GarR/S 与 SCO5784/SCO5785 有很高的相似性(HK 58.86%, RR 77.52%); 在 0.5% 葡萄糖抑制条件下, GarR/S 缺失突变株中 *actII-ORF4* 和 *redD/redZ* 的表达出现上调, 表现出更高的 ACT 和 RED 产量, 而通过向突变株中回补带有标签的 GarR 和 GarS 蛋白, 可以恢复到接近野生型的抗生素产量水平^[36], 因此为通过基因工程手段提升抗生素产量提供了潜在的靶点。

2.7 GluK/R (SCO5779/SCO5778)

GluK/R 位于与编码谷氨酸摄取系统(*gluABCD* 操纵子)反向平行的位置, 参与谷氨酸的感知和摄取。谷氨酸可作为 GluK 的直接信号, 在高谷氨酸浓度下磷酸化的 GluR 直接与启动子区域相互作用促进 *gluABCD* 基因(编码谷氨酸摄取系统)的表达, 从而促进从环境中摄取谷氨酸; 在低谷氨酸浓度下, 即使 GluK/R 被激活, 其活性仅可调节抗生素的生物合成; GluK/R 是 ACT 合成的负调节因子, 也是 yCPK 和 RED 合成的正调节因子, EMSA 显示 GluR 并不与 *actII-ORF4*、*redZ/redD* 和 *kasO* 的启动子区域结合, 表明 GluK/R 调控抗生素合成的方式是间接的^[37]。

2.8 MacS/R (SCO2121/SCO2120)

MacR/S 是 *S. albidoflavus* 中的全局性调控系统, 是形态发育的负调控因子和 ACT、RED、CDA 生物合成的正调控因子。突变株 $\Delta macR/S$

中编码 ACT 和 CDA 的基因簇表达量显著下降, 而 RED 基因簇表达未产生差异; 研究发现 MacR 并未在体内与 *actII-ORF4* 和 *cdaR* 的启动子直接相互作用^[38]。在 *actII-ORF4* 的上游设计一个更强的 MacR 位点, 可提高 ACT 的产量, 这种通过修饰预测的识别序列来调节目标基因表达的策略, 为调节抗生素生物合成提供了新思路; MacR/S 还能参与锌稳态调控, 突变株 $\Delta macR$ 中 Zur 调控基因和基因簇的转录明显减少^[39]。编码假定膜蛋白的 *mmpA-C* (*mmpA-mmpC* 的 6 个基因) 是 MacR 的直接靶标, 缺失 *mmpA-C* 可导致气生菌丝体的形成加速。MacR 通过 2 个 7 nt 反向重复序列组成的识别位点 (TGAGTACnnGTACTCA) 激活或抑制该基因; 在突变株 $\Delta macR$ 中, *mmpA-C* 的转录显著下调, 表现为促进气生菌丝早期生长^[40]。

2.9 MtrA/B (SCO3013/SCO3012)

MtrA/B 参与调控 *S. albidoflavus* 的形态分

化、磷酸盐代谢和抗生素生物合成, 在其他放线菌的抗生素生产中具有重要调控作用, 并在多种链霉菌中保守存在(图 4)。MtrA/B 通过直接调控 *actII-ORF4*、*redZ*、*cdaR* 和 *cpkAD*, 抑制 ACT 和 RED 的生物合成, 并激活 CDA 和 yCPK 的生物合成。MtrA 可以通过结合预测的 *aveR* 上游的 MtrA 位点, 调控阿维菌素链霉菌 (*S. avermitilis*) 中阿维菌素的生产; 还可以特异性地结合井冈霉素基因簇中 *valA* 和 *valK* 之间的特定序列, 调控吸水链霉菌 (*S. hygroscopicus*) 5008 中井冈霉素的生物合成^[41]。在 *S. albidoflavus* 中, MtrA 可激活 *chpA-chpH*、*rdlA*、*rdlB*、*ramB*、*ramC*、*ramS* 和 *ramR* 的转录, 并上调 *whiH* 和 *whiI*, 从而调控气生菌丝的发育; 突变株 $\Delta mtrA$ 表现出典型的光秃表型^[42]。GlnR 与 MtrA 竞争结合部分识别结合位点, 在富营养条件下 MtrA 抑制氮代谢基因和 GlnR 的转录表达, 同时激活包括 *phoP* 在内的磷代谢基因, 维持细胞内的氮

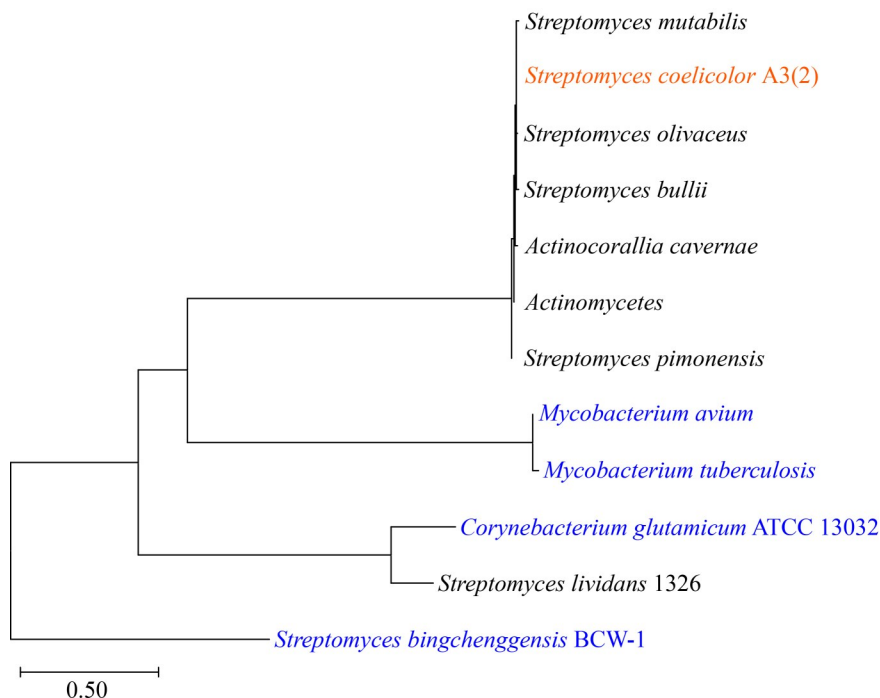


图4 MtrA在细菌中的同源分布。微白黄链霉菌标注为橙色, 其他已研究的细菌标注为蓝色。

Figure 4 Homologous distribution of the two-component system MtrA in bacteria. The orange font represents *Streptomyces albidoflavus*, and the blue font indicates other bacteria that have been studied.

磷平衡；生物信息学分析显示，在链霉菌属和其他放线菌的多个抗生素生物合成基因簇中发现了很多 MtrA 识别位点，表明 MtrA 是一个多效性抗生素生物合成调控因子^[43]。

2.10 PhoR/P (SCO4229/SCO4230)

PhoP/R 在链霉菌的磷酸盐代谢、氮代谢、形态分化和次级代谢等生理过程中发挥全局性作用^[44]。在缺磷培养基中培养时，PhoP (RR)可作为主要的调节因子抑制中心代谢、次级代谢和发育途径，直到吸收足够的磷酸盐以支持进一步的生长和最终的形态发育^[45]。PhoP/R 能够激活与磷代谢相关的基因，同时抑制氮代谢的主要调控因子的表达，以维持菌体内氮磷的平衡；PhoR/P 对抗生素生物合成的调控并不是直接结合途径特异性调控基因，而是与全局性转录激活蛋白 AfsR 拮抗，竞争性结合 *afsS* 的启动子，影响 AfsS 的表达，从而影响抗生素的合成^[46]。此外 PhoP 还可以抑制 RNA 聚合酶 ω 因子 *rpoZ* 的转录^[47]，使 *S. albidoflavus* 中 ACT 和 RED 的产量剧烈下降。

2.11 SCO4155/SCO4156

SCO4155/SCO4156 与结核分枝杆菌 (*M. tuberculosis*) 中的 MprA/B 序列一致性较高，可调控 *S. albidoflavus* 中气生菌丝形成和 ACT 的生物合成，还参与多种酶编码基因的调控。在突变株 Δ *sco4155/4156* 中，ACT 生物合成基因簇相关基因 *sco5082* (酰基载体蛋白)、*sco5083* (酮还原酶)、*sco5086* (聚酮合酶) 和 *sco5087* (β -酮酰基合酶) 在 36 h 和 48 h 时均表现出显著上调；EMSA 证实 SCO4156 蛋白可直接结合 *sco4157* 基因启动子区，直接抑制 SCO4157 的表达；*sco4157* 编码一种 HtrA-like 丝氨酸蛋白酶，该酶属于 HtrA 家族，通常在细菌中参与细胞膜压力应激响应等环境应激反应^[48]。

2.12 SCO5282/SCO5283

在研究 *S. albidoflavus* 2L12 时发现该菌株在液体培养中呈现分散生长的形态，其菌丝分散

性生长特性有效抑制了传统培养中常见的菌丝团聚现象，改善了氧气和营养物质的利用效率。基因组分析揭示，这一表型变化与组氨酸激酶 SCO5282 (HK) 的 HAMP 结构域中天冬氨酸残基 (D125) 被甘氨酸取代的突变密切相关，表明 SCO5282 在调控液体培养菌丝形态发育中发挥关键作用；进一步代谢组学分析显示，突变菌株的碳源利用策略发生改变：糖酵解途径关键基因表达受到抑制；而糖异生途径的核心调控酶——磷酸烯醇式丙酮酸羧化激酶 (phosphoenolpyruvate carboxykinase, PEPCK) 活性显著增强；同时，菌体展现出对氨基酸和嘌呤等非典型碳源的高效利用能力^[49]。这种代谢重编程不仅缓解了深层菌丝因氧气和营养扩散受限导致的生长抑制，还通过优化胞内能量分配显著提升了目标蛋白的合成效率。上述发现为工业发酵中通过靶向调控双组分系统改善丝状菌形态及代谢特性提供了新的理论依据，同时揭示了 SCO5282/SCO5283 信号通路在链霉菌环境适应中的潜在调控网络。

2.13 SCO5784/SCO5785

SCO5784/5785 直接影响 *S. albidoflavus* 从初级代谢向次级代谢转变的过程，对 ACT 和 RED 的生物合成、气生菌丝分化及孢子形成具有正调控作用，同时显著影响分泌蛋白的表达。SCO5784/5785 可通过对次级代谢的时间调节来响应环境变化。当 SCO5785 表达水平下降时，ACT 和 RED 合成及孢子形成会暂时性延迟，而且核糖体基因簇 SCO4701–4721 (编码 50S 核糖体蛋白 L23、L29 等) 表达上调 2–5 倍，表明 *S. albidoflavus* 可能在抑制次级代谢相关通路的同时，转向对初级代谢产物的快速合成；当 SCO5785 过表达时，ACT 和 RED 合成及孢子形成提前且增强，上述核糖体基因显著下调，表明在生长早期或比正常情况下更早的时间点，菌体就开始投入资源进行抗生素的生物合成并启动孢子形成^[50]。这种代谢重编程可使菌体在竞争激烈的环境中尽早建立防御屏障，更有效

地繁殖和扩散。RT-qPCR 显示, 一些分泌蛋白编码基因(如 *sco0762*, 编码枯草杆菌蛋白酶抑制剂)在过表达 SCO5785 菌株中显著上调表达^[50]。该发现为通过基因工程改造 SCO5785 表达水平来优化工业菌株的外泌蛋白生产能力提供了新思路, 特别是在丝状放线菌作为异源蛋白表达宿主的应用中。

本文将其他已研究的与次级代谢相关的双组分系统总结于表 2。

3 其他链霉菌中的双组分系统

3.1 AflQ1/Q2 (SLINC_5291/SLINC_5290)

林肯链霉菌(*S. lincolnensis*)中的 AflQ1/Q2 与 *S. albidoflavus* 中的 AfsQ1/Q2 同源, 且 AflQ1 (RR)可通过抑制自身表达并下调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*)的转录水平负调控林可霉素的合成^[63]。AflQ1 通过其 C 端 HTH (螺旋-旋转-螺旋)结构域特异性识别并结合一个 16 bp 的回文序列 motif (GTCAC-N₆-GTCAC), 直接抑制上述靶基因的转录; 同时 *lmb* 基因簇内的其他基因 *lmbC*、*lmrB* 和调控基因 *bldA*、*SLCG_Lrp* 及 *SLCG_2919* 也受到 AflQ1 的间接控制; 另外, AflQ2 (HK)通过信号分子天冬氨酸激活下游的 AflQ1, AflQ1 通过上调天冬氨酸代谢通路基因 *ask-asd*、*asd2* 和 *thrA* 的表达加速天冬氨酸代谢, 间接影响林可霉素的生物合成^[64]。AflQ1 的 HTH 结构域在放线菌中具有极高的序列保守性(>95%), 表明针对 AflQ1/Q2 的操作策略可能广泛适用于其他抗生素高产菌株的代谢工程改造, 对多种抗生素的生产都有潜在的优化效果。

3.2 AfrQ1/Q2

龟裂链霉菌(*S. rimosus*) M4018 中的 AfrQ1/Q2 与 *S. albidoflavus* 中的 AfsQ1/Q2 同源, 可作为全局性调控因子通过下调土霉素(oxytetracycline, OTC)生物合成和调节相关基因(*oxyB*、*otrB*、

otcG、*otcR* 和 *otrC*)来负调控 OTC 产生^[65]。 Δ *afrQ1* 在 TSB 或 MS 中培养时, OTC 产量并未表现出明显差异, 这一表型与 *S. albidoflavus* 中的 AfsQ1/Q2^[66]和 DraR/K^[33]相似; 在以 50 mmol/L Gly 为唯一氮源时, OTC 的产量显著提高。另外, 在氧化胁迫和高糖浓度的压力环境下, 缺失 AfrQ1/Q2 可减小 OTC 产量下降的幅度^[65]。

3.3 CepR/S (BB341_RS13780/BB341_RS13785)

带小棒链霉菌(*S. clavuligerus*) F613-1 中的 CepR/S 正调控头霉素(cephamycin C, cep)的生物合成, 对克拉维酸(clavulanic acid, CA)的生物合成无显著影响。突变株 Δ *cepR* (RR)、 Δ *cepS* (HK)及 Δ *cepRS* 的头霉素产量均显著降低, 但并不影响菌体表型和菌株生长; CepR/S 调控大多数头霉素生物合成基因的表达, RT-qPCR 显示, 突变株 Δ *cepRS* 中头霉素生物合成基因簇基因 *pcbC*、*pcbAB*、*lab* (早期)、*cefD*、*cefE* (中期)以及 *cmcI*、*cmcJ*、*cefF*、*cmcH* (晚期)均下调表达; 突变株 Δ *cepRS* 中克拉维酸生物合成相关基因(*cla*、*blp*、*orf10* 等)表达水平未发生显著变化; 过表达 CepR/S 对头霉素生物合成基因的转录水平无显著调控作用, 但可能通过翻译后修饰或协同调控等机制小幅促进头霉素的合成; EMSA 显示, CepR 能与 *cefD-cmcI* 基因区间(P3 区域)特异性结合, 直接与 *cefD* 和 *cmcI* 的启动子相互作用^[67], 这为通过代谢工程策略优化抗生素生产提供了新靶点。

3.4 CseB-C_{SR} (M271_22640/M271_22645)

在雷帕霉素链霉菌(*S. rapamycinicus*) NRRL5491 中, CseB-C_{SR} 通过正调控 *sigE_{SR}*、*cseA_{SR}*、*rapA*、*rapP*、*rapG*、*rapH* 和 *elaI* 等生物合成基因簇中基因的转录, 促进雷帕霉素的生物合成。同时, 它通过负调控 *rapS/R*、*rapY*、*elaA*、*elaB*、*ela3* 和 M271_22625 等基因的转录, 减少洋橄榄叶素的生物合成。EMSA 显示, CseB_{SR} 蛋白可与 *sigE_{SR}* 的启动子区域结合, 调

表2 链霉菌中已知的其他双组分系统

Table 2 Known two-component systems in *Streptomyces*

TCS 名称 TCS name	编号 No.	功能 Function	调控机制 Regulatory mechanism	文献 References
AbrA1/A2	SCO1744/ 1745	Negatively regulates ACT, RED, CDA biosynthesis and morphological differentiation	Strains deficient in AbrA1/A2 serve as host bacteria with a significantly improved ability to produce the heterologous compound ovedomycin. Fe may be the activation signal for this system, and the self-regulation of AbrA1/A2 is dependent on the concentration of ferric ions	[51]
AbrB1/B2	SCO2165/ 2166	Negative regulation of ACT and RED biosynthesis and positive regulation of vancomycin resistance	Mechanisms not yet clear	[52]
AbrC1/ C2/C3	SCO4598/ 4597/4596	Positive regulation of ACT, RED, and CDA biosynthesis and morphological differentiation	AbrC3 directly activates <i>actII-ORF4</i> transcription and positively regulates ACT biosynthesis. AbrC3 may indirectly regulate RED biosynthesis by affecting AfsS. The regulatory mechanism of CDA is unclear	[53-54]
CagR/S	–	Regulating the biosynthesis of clavulanic acid	CagR binds directly to the promoter regions of the key genes in the CA biosynthesis pathway, <i>ceaS1</i> , <i>oat1</i> , <i>oat2</i> , as well as <i>claR</i> . CagRS also extensively regulates genes involved in primary metabolism, particularly metabolic pathways related to the biosynthesis of the CA precursors glyceraldehyde-3-phosphate (G3P) and arginine	[55]
EcrA1/A2	SCO2518/ 2517	Located near the RED locus, it positively regulates the biosynthesis of RED	It regulates the biosynthesis of RED by affecting the transcription of <i>redD</i> and <i>redZ</i>	[56]
EcrE1/E2	SCO6421/ 6422	Located near the RED site and is regulating RED biosynthesis	Regulates RED biosynthesis by affecting <i>redD</i> and <i>redZ</i> transcription	[57]
OsaA/B	SCO5748/ 5749	Negatively regulates ACT and RED biosynthesis and is involved in morphological differentiation and osmotic pressure regulation	In R2YE containing 10.3% sucrose, deletion of OsaB resulted in impaired aerial mycelium formation, phenotypic baldness (no effect of deletion of OsaA), as well as a 3- to 5-fold increase in ACT and RED production	[58]
RapA1/A2	SCO5403/ 5404	Positive regulation of ACT and coelimycin biosynthesis	Deletion of RapA1/A2 decreased CpkI protein abundance and reduced the transcript levels of <i>actII-ORF4</i> and <i>kasO</i>	[59]
–	SCO3134	May be involved in the regulation of carbon sources, secondary metabolites, and morphogenesis	Mechanisms not yet clear	[60]
–	SCO4020/ 4021	May be involved in the regulation of carbon sources, secondary metabolites, and morphogenesis	SCO4020 (RR) expression is up-regulated under glucose-containing culture conditions. Mechanisms not yet clear	[61]
–	SCO5351	Positively regulates ACT and CDA biosynthesis, aerial mycelium development and spore production	<i>ActII-orf4</i> and <i>cdaR</i> expression are down-regulated in the <i>Δsco5351</i> mutant	[62]

–表示未在文献中查到准确的名称或编号。

– denotes unavailable nomenclature or designation in existing references.

控 *sigE_{SR}* 的转录从而影响雷帕霉素和洋橄榄叶素的生物合成^[68]。在 *S. albidoflavus* 中, CseC/B (SCO3359/3358) 中的 RR CseB 可在镁离子(Mg^{2+}) 浓度较低条件下激活 *sigE* 的转录, 以维持细胞壁完整性; 突变株 $\Delta cseB$ 中 ACT 产量显著增加, 表明 CseB 在 ACT 合成中起负调控作用^[69]。

3.5 CutS/R

在洛蒙德链霉菌(*S. lomondensis*) S015 中, TCS CutR/S 对洛蒙真菌素的生物合成起负调控作用。通过 qPCR 分析发现, 在 *cutR* 和 *cutS* 单基因敲除突变株中, 与洛蒙真菌素侧链羟基化相关的基因 *lomo14* 和 *lomo10*, 以及涉及前体物质生物合成的关键基因 *lphzB*、*lphzC*、*lphzE* 和 *lphzG* 的表达水平均有显著上调^[70], 表明 CutR 和 CutS 对吩嗪中间产物的合成路径及洛蒙真菌素侧链修饰过程中的基因表达具有抑制效应, 从而间接降低了洛蒙真菌素的产量。

3.6 KasW/X

KasW/X 是春日井链霉菌(*S. kasugaensis*) 中的全局性调控因子, 负调控春雷霉素生物合成^[71]。在低产菌株 LY 中, KasW/X 通过调控下游基因 *kasT* 的转录水平间接调控春雷霉素生物合成基因的表达, 缺失 KasW/X 使春雷霉素产量相较于 LY 提高了 19%; 在高产菌株 HY 中, 缺失 RR KasW 可显著提高 *kasJKLMNO*、*kasQP* 和 *kasRABCDEFG* (春霉素生物合成相关基因的转录单元) 的转录水平, 且途径特异性正调控基因 *kasT* 和 MerR 家族的负调控因子 *kasV* 的表达均显著增加; 在 HY 中敲除 KasW/X, 春雷霉素产量提高了 58%^[72]。

3.7 MtrA/Bsbh (SBI_06494/06495)

冰城链霉菌(*S. bingchengensis*) 中的 MtrA/Bsbh 与 *S. albidoflavus* 中的 MtrA/B 同源, 其中全局性调控子 MtrAsbh 是米尔贝霉素产生的关键激活子。MtrA_{sbh} 可通过影响米尔贝霉素基因簇和前体合成相关基因的表达间接正调控米尔贝霉素的产生。米尔贝霉素生物合成基因簇

中的代表性基因 *milA2*、*milA4*、*milF*、*milR* 和 *milA1* 在突变株 $\Delta mtrA_{sbh}$ 中大幅下调甚至不表达, 而在过表达时则表现出不同程度的显著上调; 负责丙二酸单酰辅酶 A 合成的 *sbi_02769*、*sbi_02770* 和 *sbi_08290*, 以及甲基丙二酸单酰辅酶 A 合成基因 *sbi_4601* 在过表达 MtrA_{sbh} 时也显著上调^[73], 表明 MtrA_{sbh} 能够通过影响前体合成相关基因的表达进而调控米尔贝霉素的合成。

3.8 RimA1/A2

RimA1/A2 是 *S. rimosus* M4018 中响应不同环境胁迫并以培养基依赖性方式负调控土霉素(oxytetracycline, OTC) 生产的全局调节因子, 与 *S. albidoflavus* 中的 RapA1/A2 同源。RapA1/A2 分别通过调控 *actII-ORF4*、*actIII* 和 *kasO*, 作为 ACT 和 coelimycin 生物合成的正调控因子^[74]。RimA1/A2 可通过下调 *otcR* 负向调节 OTC 生产, 在以 Gly 为唯一氮源的 MM 条件下, 突变株 $\Delta rimA1$ 中参与 OTC 生物合成的部分基因(*oxyB*、*otrB*、*otcG*、*otcR* 和 *otrC*) 转录增加, OTC 产量显著提高^[75]。RimA1/A2 在渗透胁迫和氧化胁迫下参与 OTC 生产的调节。在氧化胁迫条件下, 突变株 $\Delta rimA1/A2$ 的 OTC 产量下降幅度缩小; 而在高渗条件(氯化钾)下, OTC 生产水平下降幅度反而增大, 过表达 RimA1/A2 更有利于维持 OTC 的生物合成^[76]。

3.9 RspA1/A2

白色链霉菌(*S. albus*) 中的 RspA1/A2 与 *S. albidoflavus* 中的 AfsQ1/Q2 同源, 正调控盐霉素的生物合成。RR RspA1 可以特异性地结合在途径特异性激活基因 *slnR* 的启动子区域, 正调控其转录, 从而促进盐霉素的生物合成。EMSA 表明, RspA1 可作为氮同化相关基因(*gdhA*、*amtB*、*glnA* 等) 的转录抑制因子直接与上游启动子区域结合, 负调控氮代谢; *sigW* 编码一种胞质外功能的 sigma 因子, 位于 RspA1/A2 下游, 被 RspA1 直接激活, 负调控盐霉素的生物合成并促进细胞生长, 与 RspA1/A2 的作用相拮抗^[77]。

3.10 SmrA/B

SmrA/B 是在 *S. avermitilis* 中发现的一对双组分调控系统, 位于 $\sigma 25$ (编码 ECF σ 因子 $\sigma 25$) 的上游, 通过 $\sigma 25$ 因子调控阿维菌素和寡霉素 A 的生物合成。缺失 *smrA/B* 基因会导致阿维菌素产量提高约 1 倍, 而回补 *smrAB* 后, 阿维菌素的产量基本恢复到野生型水平; 此外, SmrA 的活化严格依赖于感应激酶 SmrB, 而 SmrB 还可以磷酸化除 SmrA 外的应答调控蛋白^[78]。SmrA 结合到 *sig25* 基因上游区域的 2 个直接重复序列(CTGTGA-n5-CTGTGA), 激活 $\sigma 25$ 的表达, $\sigma 25$ 通过抑制 *aveR* (阿维菌素途径特异性激活基因)的转录和激活 *olmRI* (寡霉素途径特异性激活基因)的转录来实现其调控作用^[79]。

3.11 SRO293/294

弗氏链霉菌(*S. fradiae*) Men-myc-93-63 是本课题组筛选并多年研究的一株生防链霉菌(中国普通微生物菌种保藏管理中心编号 CGMCC NO.1471)^[80]。近年来, 该生防菌被发现产生

一组五烯大环内酯类抗生素——roflamycoin & men-myc-A (R&M, 图 5), 对镰孢菌属、链格孢属等 9 个属 17 种常见植物病原真菌具有较好的抑制作用; 抑菌谱检测发现, roflamycoin 具有广谱的抗真菌特性, 对棉花黄萎病菌、葡萄灰霉病菌等 9 个属 17 种常见植物病原真菌都有较好的抑制作用, EC_{50} 介于 1.82–12.18 mg/L 之间^[81] (表 3)。

SRO293/294 是 *S. fradiae* Men-myc-93-63 中一对典型的双组分系统, 与 *S. albidoflavus* 中的 MtrA/B 相似度较高, 负调控 R&M 等多种次级代谢产物的生物合成。 $\Delta sro293$ 对辣椒疫霉 (*Phytophthora capsica*) 的抑菌活性与野生株无差异, 而 $\Delta sro293/294$ 的抑菌活性明显降低, 其 HK SRO294 的敲除突变株 $\Delta sro294$ 则对辣椒疫霉基本丧失了抑菌活性。进一步对突变株进行 HPLC 检测, 发现 $\Delta sro294$ 中 R&M 产量高于野生株; $\Delta sro293$ 中 R&M 产量与野生株无差异; $\Delta sro293/294$ 不产 R&M。由此推测, 该 TCS 与

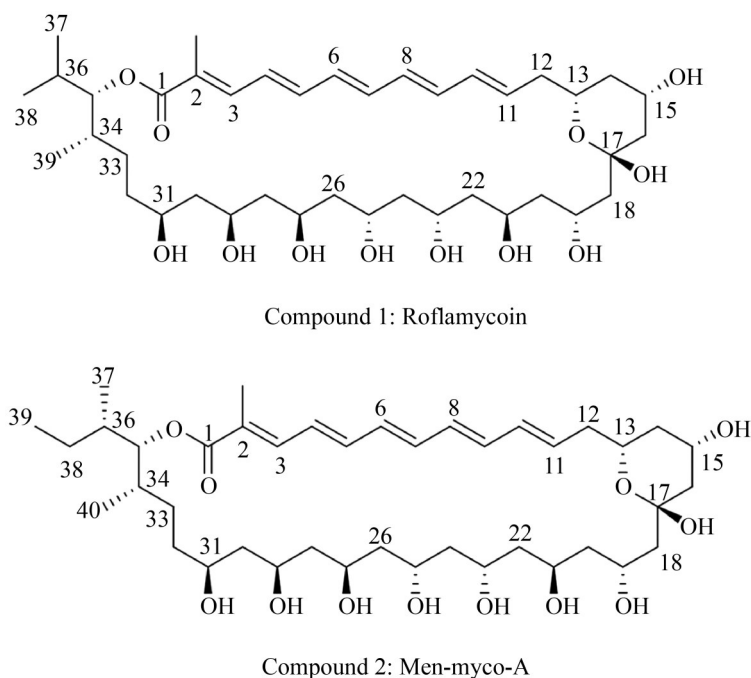


图5 Roflamycoin & men-myc-A的化学结构^[81]

Figure 5 Chemical structures of the roflamycoin & men-myc-A^[81].

表3 粗提抗生素对17种植物病原真菌的毒力测定

Table 3 Toxicity of the crude antibiotic against 17 plant-pathogenic fungi

No.	Plant disease	Pathogen	R&M		Natamycin	
			EC ₅₀ (μg/mL)	EC ₉₀ (μg/mL)	EC ₅₀ (μg/mL)	EC ₉₀ (μg/mL)
1	Wheat sharp eyespot	<i>Rhizoctonia cerealis</i>	2.05	7.44	6.18	27.17
2	Wheat scab	<i>Fusarium graminearum</i>	2.14	4.32	2.50	12.42
3	Apple and pear fruit ring rot	<i>Botryosphaeria berengeriana</i>	2.21	6.67	4.27	12.38
4	Wheat common rot	<i>Bipolaris sorokiniana</i>	2.49	19.87	1.62	3.59
5	Potato early blight	<i>Alternaria soari</i>	3.27	32.56	2.81	8.03
6	Apple and pear <i>Valsa</i> canker	<i>Valsa ceratosperma</i>	3.37	7.06	5.81	22.68
7	Pear black spot	<i>Alternaria alternata</i>	4.16	16.06	2.76	7.45
8	Potato mole	<i>Rhizoctonia solani</i>	4.24	26.87	0.50	5.20
9	Cotton <i>Fusarium</i> wilt	<i>Fusarium oxysporum</i>	4.43	14.27	4.61	14.44
10	Apple <i>Alternaria</i> blotch	<i>Alternaria brassicae</i>	4.51	14.88	3.22	12.62
11	Celery <i>Septoria</i> leaf spot	<i>Septoria apicola</i>	4.73	24.93	3.69	13.59
12	Tomato early blight	<i>Alternaria solani</i>	5.72	23.13	2.97	10.63
13	Cotton <i>Verticillium</i> wilt	<i>Verticillium dahliae</i>	5.80	22.01	12.45	32.44
14	Crucifers <i>Alternaria</i> leaf spot	<i>Alternaria oleracea</i>	5.95	16.60	3.46	12.54
15	Cotton pink smut	<i>Cephalothecium roseum</i>	6.79	16.11	2.25	6.31
16	Chrysanthemum root rot	<i>Fusarium solani</i>	6.89	54.45	3.04	23.35
17	Grape gray mold	<i>Botrytis cinerea</i>	7.09	22.48	2.29	14.91

S. fradiae Men-myc-93-63 拮抗疫霉的活性有关, 且在 R&M 及其他次级代谢产物中起到至关重要的调控作用^[82]。

4 非典型的双组分系统

非典型的双组分系统是指在结构、功能或调控机制上与传统 TCS 存在显著差异的细菌信号传导系统, 包括孤儿 HK 和孤儿 RR、多联体、杂合型 HK、非典型效应结构域等, 其特性主要体现在: (1) 基因层面上出现独立表达的 HK 或 RR, 打破经典基因对的共定位原则, 其间存在交叉调控和非磷酸化直接互作^[83]; (2) 形成杂合系统(hybrid systems), 即 HK 与 RR 的结构域或其他功能域(如环化酶、甲基转移酶)融合为单一多肽链, 形成功能高度整合的信号转导模块, 有利于信号的高效和特异性传递, 实现信号感知、传递与基因调控的高效耦合^[84]; (3)

“绕过”磷酸化限制进行磷酸化非依赖性调控。部分 RR 因关键磷酸化位点保守天冬氨酸突变或缺失而无法通过磷酸化激活, 转而依赖与配体直接结合(如代谢物或抗生素)、与蛋白质互作调控(如支架蛋白结合)或翻译后修饰(post-translational modifications, PTMs)等替代途径激活功能, 这有益于菌体在营养胁迫或应激条件下提高响应效率, 快速整合多重信号, 动态平衡基因表达^[85]。这些创新机制赋予细菌更高的信号可塑性与环境响应效率, 也为合成生物学设计模块化调控工具提供了天然的分子框架。

4.1 Aor1 (SCO2281)

Aor1 是孤立的应答调节蛋白, 在 *S. albidoflavus* 中正调控 ACT、RED、CDA 的生物合成和形态分化过程, 缺失 *aor1* 会导致突变株 ACT、RED 和 CDA 产量显著下降, 且形态发育出现延迟。转录组分析显示, 在突变株

Δaor1 中, 包括 *actII-ORF4*、*cdaR* 和 *cpkO* 在内的 27 个基因的表达水平显著下调; 过表达 *aor1* 未显著提升抗生素产量, 可能因其对 AbsA2 (SCO3226, 全局性负调控因子) 的负调控已达阈值(*absA2* 在突变株 *Δaor1* 中上调 1.8 倍); *Aor1* 通过 SigB 途径参与渗透压应激反应, 在突变株 *Δaor1* 中, sigma 因子 SigB 调控的基因簇(SigL、SigM 等)上调表达, 一些间接或直接与 SigB 相关的靶基因(*whiB* 和 *dpsA*)也有所上调, 表明当 *aor1* 功能缺失时, 细胞可能激活了 SigB 调控下的渗透压防护机制以应对环境变化; *Aor1* 还参与 sigma 因子 SigU 介导的分泌蛋白调控^[86]。

4.2 AtcR/K (SBI_06838/SBI_06839)

冰城链霉菌(*S. bingchengensis*)中的 AtcR (RR)和 AtcK (HK)位于不同操纵子中, 其开放阅读框呈头对头排列, 因此被定义为非典型的双组分系统。AtcR 通过 MilR3 介导的级联反应正调控米尔贝霉素的生物合成, 负调控南昌霉素的生物合成; 磷酸化的 AtcR 特异性激活 MilR3 转录, MilR3 直接激活 *mil* 和 *kel* 簇的转录, 同时通过激活 *nanR4* (*nan* 簇中的抑制因子编码基因)抑制 *nan* 簇的转录; 通过在 *ΔatcR* 突变株中引入由 *PkasO** 启动子驱动的 NanR1 和 NanR2 (南昌霉素生物合成的关键激活因子), 南昌霉素的产量相较于对照菌株 TMB-C 提高了大约 45 倍, 达到 6.08 g/L; 过表达 MilR 和 MilR3, 并缺失 PKS 基因(*sbi_06843-sbi_06845*), 同时抑制黄色化合物和南昌霉素的生物合成, 使米尔贝霉素的产量显著增加, 从基础水平提升至 1.34 g/L, 具备了工业化生产的潜力^[87]。

4.3 JadR1

JadR1 是链霉菌中发现的首个非典型双组分系统, 是委内瑞拉链霉菌(*S. venezuelae*)中杰多霉素(jadomycin B, JdB)生物合成基因簇的关键调控蛋白。JadR1 缺失典型 RR 中结合 Mg^{2+} 的 2 个氨基酸, 无法被磷酸化, 因此属于非典型应答

调控蛋白(atypical response regulator, ARR)^[88]。JadR1 位于杰多霉素合成基因簇中第一个结构基因 *jadJ* 的上游, 可特异性结合到 *jadJ* 启动子的上游激活 *jadJ* 的转录。JadR1 同样结合自身启动子的上游区域, 低浓度 JadR1 优先结合启动子较上游区域(-4--60); 高浓度 JadR1 则覆盖整个启动子区域(-4--112), 完全阻断 RNA 聚合酶的结合, 实现对自身的负调控。此外, 低浓度的 JdB 可与 JadR1 结合, 诱导其构象变化, 增强 JadR1 与 *jadJ* 启动子的结合能力, 进一步激活转录; 而当 JdB 浓度过高时, JadR1 完全从 *jadJ* 启动子脱离, 终止激活作用, 形成负反馈调节^[88]。JadR1 还受到 JadR2 (TetR 家族阻遏蛋白)和 JadR* (TetR 样阻遏蛋白)的协同抑制, JadR2 和 JadR*可直接结合 *jadR1* 的启动子, 抑制其转录。双突变株 *ΔjadR*-R2* 中, *jadR1* 的表达显著增加, 导致杰多霉素产量大幅提升, 表明两者协同抑制 JadR1 的表达^[89]。

4.4 OhkA (SCO1596)和 OrrA (SCO3008)

孤儿组氨酸激酶 OhkA 是 *S. albidoflavus* 中次级代谢产物 ACT、RED 和 CDA 的负调控因子, 同时也是气生菌丝形成和孢子形成的正调控因子。负责编码乙酰辅酶 A 羧化酶(acetyl-CoA carboxylase, ACCase)的 *accA2*、*accB* 和 *accE* 基因在 *ΔohkA* 突变株中的转录显著下调; ACCase 可将乙酰辅酶 A 转化为丙二酸单酰辅酶 A (malonyl-CoA), 而 malonyl-CoA 是 ACT 和 RED 合成的共同前体, 因此突变株 *ΔohkA* 可提高 ACT 和 RED 生物合成的前体供应; 在 *S. albidoflavus* 中敲除抑制基因 *ohkA* 或敲除 ACT、CDA 的生物合成基因簇均可显著提高 RED 的产量^[90]。缺失 *ohkA* 会显著降低气生菌丝形成所必需的 *chpABCDEFGH* 基因的转录, 但会增加负责 SapB 形成和调控的 *ramS/C/R* 基因的转录; 在 *S. avermitilis* 中敲除 *OhkA sav* 的表型与 *S. albidoflavus* 相似, 气生菌丝变薄, 孢子形成受阻且寡霉素 A 产量大幅增加, 表明 OhkA 的调控机制在链霉菌属中是保守的; 转录组分

析显示多效性调控基因 *wblA* 和 *nsdA* 在 $\Delta ohkA$ *sav* 突变株中的表达下调^[91]。OrrA 是孤立的应答调控蛋白, 已鉴定出 OrrA 是 OhkA 的同源 RR。突变株 $\Delta orrA$ 与 $\Delta ohkA$ 表型高度相似, 生长早期较慢, 生长后期呈粉红色, 且 ACT 和 RED 的合成水平均高于野生型 M145^[92]。*wblA* (负调控 ACT, 促进形态发育的全局性调控基因) 和 *sco1375* 是 OrrA 的靶基因, OrrA 能够结合其启动子, 且在突变株 $\Delta orrA$ 中过表达 *sco1375* 或 *wblA* 可部分恢复野生型表型^[93]。过表达 OrrA 的菌株产生的气生菌丝少于野生菌株 M145, 且过量产生 ACT^[94]。

4.5 PdtaS-p 和 PdtaR-p (SSDG_02492 和 SSDG_04087)

PdtaS-p/PdtaR-p 是始旋链霉菌 (*S. pristinaespiralis*) 中 ACT 和 RED 生产的负调节因子以及分化过程的正调节因子; PdtaS-p 和 PdtaR-p 在基因组中并不相邻, 属于“孤儿”基因^[95]。体外磷酸转移实验 (PdtaS-p 可磷酸化 PdtaR-p 的 D75 位点) 和表型分析证实 PdtaS-p 与 PdtaR-p 同源; 突变株 $\Delta pdtaS-p$ 和 $\Delta pdtaR-p$ 表型相似, 在 MS 培养基上表现出光秃表型, 且普那霉素 (pristinamycin, PRI) 合成减少; 在 *S. albidoflavus* 中, PdtaS-c 和 PdtaR-c 分别与 PdtaS-p 和 PdtaR-p 同源, 缺失 *pdtaS-c* 或 *pdtaR-c* 会导致形态分化受损和 ACT 产量增加, 表明 PdtaR-p/PdtaS-p 介导的调控在链霉菌中可能是保守的^[96]。传统 RR 的效应结构域多为 DNA 结合域 (HTH、OmpR 等), 而 PdtaR-p 及其同源物的 C 端具有一个假定的 ANTAR RNA 结合结构域, 可通过反终止作用在转录后水平调节基因表达, 这是首次在链霉菌中报道功能明确的 ANTAR 调控因子, 显著区别于传统 TCS 的调控机制。

4.6 SCO1135

TetR 家族的孤立调控蛋白 SCO1135 是 *S. albidoflavus* 中的全局性调控因子, 参与孢子

形成和次级代谢产物的全局性调控。编码气生菌丝表面疏水性外鞘组分的 *chp* 基因簇中 *chpA*、*chpC* 和调控形态发育的基因 *whiH* 在突变株 $\Delta sco1135$ 中表达下调约 50%; RT-qPCR 发现, 在 72 h 时 ACT 生物合成基因簇中调控基因 *sco5085*、结构基因 *sco5072* 和 *sco5086* 的转录水平较野生型上调 13–20 倍^[97]。在 YBP 固体培养基上, 突变株 $\Delta sco1135$ 气生菌丝的形成和产孢明显延迟于野生型 M145, ACT 产量为野生菌株的 2–3 倍^[98]。

4.7 SCO1979

孤立调控蛋白 SCO1979 是 XRE 家族的全局性调控因子, 通过与 *actII-ORF4*、*redZ*、*cdaR* 等基因的启动子直接结合抑制其转录活性, 负调控 ACT、RED 和 CDA 的生物合成, 还可间接调控 *chp*、*rdl*、*ram* 等发育相关基因簇的表达, 导致突变株 $\Delta sco1979$ 气生菌丝分化延迟及孢子产量显著减少^[99]。此外, SCO1979 是一种转录抑制因子, 可以与自身启动子序列 (–120–35 区域) 相互作用, 抑制 *sco1979* 的表达; 且 SCO1979 在链霉菌属中高度保守, 与 *S. venezuelae* 中的 SVEN_6384 (84% 一致性)、灰色链霉菌 (*S. griseus*) 中的 SGR_1055 (81% 一致性) 及 *S. avermitilis* 中的 SAV_6253 (90% 一致性) 的蛋白同源性较高, 暗示其功能在进化中高度保守^[100]。

5 总结与展望

链霉菌属因其复杂的形态分化和生产抗生素、免疫抑制剂和抗肿瘤药物等多种重要次级代谢产物的强大能力而闻名。这些生理过程受到复杂而严格的 TCSs 调控。截至目前, TCSs 的功能及其调控机制主要是在模式菌株 *S. albidoflavus* 中完成的, 而在非模式链霉菌中, 许多 TCS 的具体功能和调控机制仍未被充分揭示。识别并揭示这些 TCS 对理解链霉菌的生理调控至关重要。

TCS 几乎参与所有的生理生化过程, 包括形态发育和分化、初级代谢和次级代谢等, 以及各种应激反应。大多数 TCS 可以参与多种生化过程, 其信号级联重叠, 调控同一个靶基因, 对同一过程具有不同的调控, 这使得链霉菌全局调控水平的深入研究更加困难。不同 TCS 之间或 TCS 与其他调节蛋白家族之间可能存在相互作用, 而这部分存在交叉调控的 TCS (如 PhoP/R、GlnR、MtrB/A) 通常还控制着菌体的初级代谢。另外, 组氨酸激酶可感知的信号分子种类繁多, 具体何种信号分子可被识别也还有待研究。

大部分 TCS 可直接或间接地通过控制途径特异性调节因子或生物合成簇基因参与抗生素的生物合成, 甚至一些应答调控蛋白如 RedZ 本身就是生物合成簇的一部分。不同 TCS 在调控不同链霉菌中次级代谢产物产生的作用是高度保守的。例如, DraK/R 在 *S. albidoflavus* 中调控 ACT 和 RED 的产生, 同时也在 *S. avermitilis* 中调控阿维菌素和寡霉素的产生。通过敲除抗生素生产的负调控因子, 或者修饰预测的识别序列来调节目标基因的表达, 可显著提高抗生素的生产能力。控制菌株初级代谢、形态发育和分化过程的 TCS 对于工业生产特定代谢产物同样重要, 改良在液体培养中呈现颗粒状生长的链霉菌的形态特性, 促进前体物质的合成, 缩短形态分化和发酵周期, 均有利于菌体在发酵罐中的生长和抗生素的合成。特定的 TCS 可以调控多个生物合成基因簇的表达, 通过操纵这种 TCS (例如 AtcR/K), 重新布线调控通路, 可以减少工程菌株改造的复杂性和步骤, 显著提高抗生素的产量。另外, 调节培养基组成、pH 值、温度等形态学工程也有利于提高抗生素的产量。总的来说, 链霉菌中不同 TCS 的功能和调控作用机制仍有待深入探索和揭示, 研究 TCS 组成的调控网络有巨大的生物技术潜力。

作者贡献声明

刘子越、王娇: 论文构思和设计、资料收集和处理及论文撰写; 赵乐: 资料收集和参与论文讨论; 刘大群、李亚宁: 论文修改及参与论文讨论。

作者利益冲突公开声明

作者声明不存在任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

参考文献

- [1] MANTECA Á, YAGÜE P. *Streptomyces* as a source of antimicrobials: novel approaches to activate cryptic secondary metabolite pathways[M]//Antimicrobials, Antibiotic Resistance, Antibiofilm Strategies and Activity Methods. London: IntechOpen, 2019.
- [2] PARTE AC, SARDÀ CARBASSE J, MEIER-KOLTHOFF JP, REIMER LC, GÖKER M. List of prokaryotic names with standing in nomenclature (LPSN) moves to the DSMZ[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2020, 70(11): 5607-5612.
- [3] KUMAR M, KUMAR P, DAS P, SOLANKI R, KAPUR MK. Potential applications of extracellular enzymes from *Streptomyces* spp. in various industries[J]. *Archives of Microbiology*, 2020, 202(7): 1597-1615.
- [4] CHALLIS GL. Exploitation of the *Streptomyces coelicolor* A3(2) genome sequence for discovery of new natural products and biosynthetic pathways[J]. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 2014, 41(2): 219-232.
- [5] LASKARIS P, KARAGOUNI AD. *Streptomyces*, Greek habitats and novel pharmaceuticals: a promising challenge[J]. *Microbiology Research*, 2021, 12(4): 840-846.
- [6] ABDELGHANY WR, YASSIN AS, ABU-ELLAIL FFB, AL-KHALAF AA, OMARA RI, HOZZEIN WN. Combatting sugar beet root rot: *Streptomyces* strains' efficacy against *Fusarium oxysporum*[J]. *Plants*, 2024, 13(2): 311.
- [7] ROMANO-ARMADA N, YAÑEZ-YAZLLE MF, IRAZUSTA VP, RAJAL VB, MORAGA NB. Potential of bioremediation and PGP traits in *Streptomyces* as strategies for bio-reclamation of salt-affected soils for agriculture[J]. *Pathogens*, 2020, 9(2): 117.
- [8] QUINN GA, BANAT AM, ABDELHAMEED AM, BANAT IM. *Streptomyces* from traditional medicine: sources of new innovations in antibiotic discovery[J]. *Journal of Medical Microbiology*, 2020, 69(8): 1040-1048.
- [9] Van der MEIJ A, WORSLEY SF, HUTCHINGS MI, van WEZEL GP. Chemical ecology of antibiotic production

- by *Actinomycetes*[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2017, 41(3): 392-416.
- [10] GIORDANO D. Bioactive molecules from extreme environments[J]. Marine Drugs, 2020, 18(12): 640.
- [11] BARKA EA, VATSA P, SANCHEZ L, GAVEAU-VAILLANT N, JACQUARD C, MEIER-KOLTHOFF JP, KLENK HP, CLÉMENT C, OUHDOUCH Y, van WEZEL GP. Taxonomy, physiology, and natural products of *Actinobacteria*[J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2015, 80(1): 1-43.
- [12] 芦银华, 姜卫红. 链霉菌次级代谢调控相关的双组分系统研究进展[J]. 微生物学通报, 2013, 40(10): 1847-1859. LU YH, JIANG WH. Perspectives on two-component systems involved in regulation of secondary metabolism in *Streptomyces*[J]. Microbiology China, 2013, 40(10): 1847-1859 (in Chinese).
- [13] WANG MX, GUO Q, ZHU KF, FANG B, YANG YF, TENG MK, LI X, TAO YY. Interface switch mediates signal transmission in a two-component system[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2020, 117(48): 30433-30440.
- [14] ZHANG B, ZHANG Y, LIANG F, MA YN, WU XG. An extract produced by *Bacillus* sp. BR3 influences the function of the GacS/GacA two-component system in *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000[J]. Frontiers in Microbiology, 2019, 10: 2005.
- [15] DUTTA R, QIN L, INOUE M. Histidine kinases: diversity of domain organization[J]. Molecular Microbiology, 1999, 34(4): 633-640.
- [16] CAMPA AR, SMITH LM, HAMPTON HG, SHARMA S, JACKSON SA, BISCHLER T, SHARMA CM, FINERAN PC. The Rsm (Csr) post-transcriptional regulatory pathway coordinately controls multiple CRISPR-Cas immune systems[J]. Nucleic Acids Research, 2021, 49(16): 9508-9525.
- [17] STOCK AM, ROBINSON VL, GOUDREAU PN. Two-component signal transduction[J]. Annual Review of Biochemistry, 2000, 69: 183-215.
- [18] GALPERIN MY. Diversity of structure and function of response regulator output domains[J]. Current Opinion in Microbiology, 2010, 13(2): 150-159.
- [19] FANG XW, YANG YY, GUO Q, ZHANG Y, YUAN M, LIANG XY, LIU J, FANG SG, FANG C. Two-component system LiaSR negatively regulated the acid resistance and pathogenicity of *Listeria monocytogenes* 10403S[J]. Food Microbiology, 2024, 119: 104428.
- [20] JIN SP, HUI M, LU YH, ZHAO YW. An overview on the two-component systems of *Streptomyces coelicolor*[J]. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 2023, 39(3): 78.
- [21] BÉRDY J. Bioactive microbial metabolites[J]. The Journal of Antibiotics, 2005, 58(1): 1-26.
- [22] McKENZIE NL, NODWELL JR. Transmembrane topology of the AbsA1 sensor kinase of *Streptomyces coelicolor*[J]. Microbiology, 2009, 155(Pt 6): 1812-1818.
- [23] LEWIS RA, WAHAB A, BUCCA G, LAING EE, MÖLLER-LEVET CS, KIERZEK A, SMITH CP. Genome-wide analysis of the role of the antibiotic biosynthesis regulator AbsA2 in *Streptomyces coelicolor* A3(2)[J]. PLoS One, 2019, 14(4): e0200673.
- [24] SHEELER NL, MacMILLAN SV, NODWELL JR. Biochemical activities of the AbsA two-component system of *Streptomyces coelicolor*[J]. Journal of Bacteriology, 2005, 187(2): 687-696.
- [25] McKENZIE NL, THAKER M, KOTEVA K, HUGHES DW, WRIGHT GD, NODWELL JR. Induction of antimicrobial activities in heterologous *Streptomyces* using alleles of the *Streptomyces coelicolor* gene *absA1*[J]. The Journal of Antibiotics, 2010, 63(4): 177-182.
- [26] 陈允亮, 杨云鹏, 李国权, 毛雪芳, 贾卫东, 施爱平, 芦银华. 天蓝色链霉菌中抗生素合成相关双组分调控系统 AfsQ1/Q2 上游信号传导机制的研究[J]. 生物化学与生物物理进展, 2021, 48(4): 450-464. CHEN YL, YANG YP, LI GQ, MAO XF, JIA WD, SHI AP, LU YH. Investigation into the upstream signal transduction pathway of AfsQ1/Q2, a two-component regulatory system involved in regulation of antibiotic synthesis in *Streptomyces coelicolor*[J]. Progress in Biochemistry and Biophysics, 2021, 48(4): 450-464 (in Chinese).
- [27] WANG R, MAST Y, WANG J, ZHANG WW, ZHAO GP, WOHLLEBEN W, LU YH, JIANG WH. Identification of two-component system AfsQ1/Q2 regulon and its cross-regulation with GlnR in *Streptomyces coelicolor*[J]. Molecular Microbiology, 2013, 87(1): 30-48.
- [28] CHEN SS, ZHENG GS, ZHU H, HE HQ, CHEN L, ZHANG WW, JIANG WH, LU YH. Roles of two-component system AfsQ1/Q2 in regulating biosynthesis of the yellow-pigmented coelimycin P2 in *Streptomyces coelicolor*[J]. FEMS Microbiology Letters, 2016, 363(15): ffw160.
- [29] McLEAN TC, BEATON ADM, MARTINS C, SAALBACH G, CHANDRA G, WILKINSON B, HUTCHINGS MI. Evidence of a role for CutRS and actinorhodin in the secretion stress response in *Streptomyces coelicolor* M145[J]. Microbiology, 2023, 169(7): 001358.
- [30] KUMAR A, TOLEDO JC, PATEL RP, LANCASTER JR Jr, STEYN AJC. *Mycobacterium tuberculosis* DosS is a redox sensor and DosT is a hypoxia sensor[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2007, 104(28): 11568-11573.
- [31] HONMA S, ITO S, YAJIMA S, SASAKI Y. Nitric oxide signaling for actinorhodin production in *Streptomyces coelicolor* A3(2) via the DevS/R two-component system[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2021, 87(14): e0048021.
- [32] FISCHER M, FALKE D, RÖNITZ J, HAASE A, DAMELANG T, PAWLIK T, GARY SAWERS R. Hypoxia-induced synthesis of respiratory nitrate reductase 2 of *Streptomyces coelicolor* A3(2) depends on the histidine kinase OsdK in mycelium but not in spores[J]. Microbiology, 2019, 165(8): 905-916.
- [33] YU ZY, ZHU H, DANG FJ, ZHANG WW, QIN ZJ, YANG S, TAN HR, LU YH, JIANG WH. Differential

- regulation of antibiotic biosynthesis by DraR-K, a novel two-component system in *Streptomyces coelicolor*[J]. *Molecular Microbiology*, 2012, 85(3): 535-556.
- [34] YU ZY, ZHU H, ZHENG GS, JIANG WH, LU YH. A genome-wide transcriptomic analysis reveals diverse roles of the two-component system DraR-K in the physiological and morphological differentiation of *Streptomyces coelicolor*[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2014, 98(22): 9351-9363.
- [35] RUIZ-VILLAFÁN B, CRUZ-BAUTISTA R, MANZO-RUIZ M, PASSARI AK, VILLARREAL-GÓMEZ K, RODRÍGUEZ-SANOJA R, SÁNCHEZ S. Carbon catabolite regulation of secondary metabolite formation, an old but not well-established regulatory system[J]. *Microbial Biotechnology*, 2022, 15(4): 1058-1072.
- [36] CRUZ-BAUTISTA R, ZELARAYAN-AGÜERO A, RUIZ-VILLAFÁN B, ESCALANTE-LOZADA A, RODRÍGUEZ-SANOJA R, SÁNCHEZ S. An overview of the two-component system GarR/GarS role on antibiotic production in *Streptomyces coelicolor*[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2024, 108(1): 306.
- [37] LI L, JIANG WH, LU YH. A novel two-component system, GluR-GluK, involved in glutamate sensing and uptake in *Streptomyces coelicolor*[J]. *Journal of Bacteriology*, 2017, 199(18): e00097-17.
- [38] 于晓秋. 天蓝色链霉菌双组分信号转导系统 SCO2120/SCO2121 的功能研究[D]. 济南: 山东大学硕士学位论文, 2015.
- YU XQ. The study on SCO2120/SCO2121: a novel two-component signal transduction system in *Streptomyces coelicolor* A3(2)[D]. Jinan: Master's Thesis of Shandong University, 2015 (in Chinese).
- [39] LIU M, XU WH, ZHU YP, CUI XQ, PANG XH. The response regulator MacR and its potential in improvement of antibiotic production in *Streptomyces coelicolor*[J]. *Current Microbiology*, 2021, 78(10): 3696-3707.
- [40] LIU M, ZHANG PP, ZHU YP, LU T, WANG YM, CAO GX, SHI M, CHEN XL, TAO MF, PANG XH. Novel two-component system MacRS is a pleiotropic regulator that controls multiple morphogenic membrane protein genes in *Streptomyces coelicolor*[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2019, 85(4): e02178-18.
- [41] ZHU YP, ZHANG PP, ZHANG J, WANG J, LU YH, PANG XH. Impact on multiple antibiotic pathways reveals MtrA as a master regulator of antibiotic production in *Streptomyces* spp. and potentially in other *Actinobacteria*[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2020, 86(20): e01201-20.
- [42] ZHANG PP, WU LL, ZHU YP, LIU M, WANG YM, CAO GX, CHEN XL, TAO MF, PANG XH. Deletion of MtrA inhibits cellular development of *Streptomyces coelicolor* and alters expression of developmental regulatory genes[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 2013.
- [43] 朱延平. 链霉菌保守应答调控蛋白 MtrA 的作用机制解析[D]. 济南: 山东大学博士学位论文, 2022.
- ZHU YP. The regulatory mechanism of the conserved response protein MtrA in *Streptomyces*[D]. Ji'nan: Doctoral Dissertation of Shandong University, 2022 (in Chinese).
- [44] MILLAN-OROPEZA A, HENRY C, LEJEUNE C, DAVID M, VIROLLE MJ. Expression of genes of the Pho regulon is altered in *Streptomyces coelicolor*[J]. *Scientific Reports*, 2020, 10(1): 8492.
- [45] ALLENBY NEE, LAING E, BUCCA G, KIERZEK AM, SMITH CP. Diverse control of metabolism and other cellular processes in *Streptomyces coelicolor* by the PhoP transcription factor: genome-wide identification of *in vivo* targets[J]. *Nucleic Acids Research*, 2012, 40(19): 9543-9556.
- [46] SANTOS-BENEIT F, RODRÍGUEZ-GARCÍA A, MARTÍN JF. Overlapping binding of PhoP and AfsR to the promoter region of glnR in *Streptomyces coelicolor*[J]. *Microbiological Research*, 2012, 167(9): 532-535.
- [47] SANTOS-BENEIT F, BARRIUSO-IGLESIAS M, FERNÁNDEZ-MARTÍNEZ LT, MARTÍNEZ-CASTRO M, SOLA-LANDA A, RODRÍGUEZ-GARCÍA A, MARTÍN JF. The RNA polymerase omega factor RpoZ is regulated by PhoP and has an important role in antibiotic biosynthesis and morphological differentiation in *Streptomyces coelicolor*[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2011, 77(21): 7586-7594.
- [48] 张晶. 天蓝色链霉菌中双组分信号转导系统 SCO4155/SCO4156 的生物学功能研究[D]. 济南: 山东大学硕士学位论文, 2021.
- ZHANG J. The study on SCO4155/SCO4156: the biological function of the two-component signal transduction system in *Streptomyces coelicolor*[D]. Jinan: Master's Thesis of Shandong University, 2021 (in Chinese).
- [49] ARROYO-PÉREZ EE, GONZÁLEZ-CERÓN G, SOBERÓN-CHÁVEZ G, GEORGELLIS D, SERVÍN-GONZÁLEZ L. A novel two-component system, encoded by the *sco5282/sco5283* genes, affects *Streptomyces coelicolor* morphology in liquid culture[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 1568.
- [50] ROZAS D, GULLÓN S, MELLADO RP. A novel two-component system involved in the transition to secondary metabolism in *Streptomyces coelicolor*[J]. *PLoS One*, 2012, 7(2): e31760.
- [51] YEPES A, RICO S, RODRÍGUEZ-GARCÍA A, SANTAMARÍA RI, DÍAZ M. Novel two-component systems implied in antibiotic production in *Streptomyces coelicolor*[J]. *PLoS One*, 2011, 6(5): e19980.
- [52] RICO S, YEPES A, RODRÍGUEZ H, SANTAMARÍA J, ANTORAZ S, KRAUSE EM, DÍAZ M, SANTAMARÍA RI. Regulation of the AbrA1/A2 two-component system in *Streptomyces coelicolor* and the potential of its deletion strain as a heterologous host for antibiotic production[J]. *PLoS One*, 2014, 9(10): e109844.
- [53] WANG GJ, IZAWA M, YANG XG, XU DB, TANAKA Y, OCHI K. Identification of a novel lincomycin resistance mutation associated with activation of antibiotic

- production in *Streptomyces coelicolor* A3(2)[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2017, 61(2): e02247-16.
- [54] RICO S, SANTAMARÍA RI, YEPES A, RODRÍGUEZ H, LAING E, BUCCA G, SMITH CP, DÍAZ M. Deciphering the regulon of *Streptomyces coelicolor* AbrC3, a positive response regulator of antibiotic production[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2014, 80(8): 2417-2428.
- [55] FU JF, QIN RH, ZONG GL, LIU C, KANG N, ZHONG CQ, CAO GX. The CagRS two-component system regulates clavulanic acid metabolism via multiple pathways in *Streptomyces clavuligerus* F613-1[J]. Frontiers in Microbiology, 2019, 10: 244.
- [56] LI YQ, CHEN PL, CHEN SF, WU D, ZHENG J. A pair of two-component regulatory genes *ecrA1/A2* in *S. coelicolor*[J]. Journal of Zhejiang University Science, 2004, 5(2): 173-179.
- [57] WANG CX, GE HX, DONG HJ, ZHU CG, LI YQ, ZHENG J, CEN PL. A novel pair of two-component signal transduction system *ecrE1/ecrE2* regulating antibiotic biosynthesis in *Streptomyces coelicolor*[J]. Biologia, 2007, 62(5): 511-516.
- [58] BISHOP A, FIELDING S, DYSON P, HERRON P. Systematic insertional mutagenesis of a *Streptomyces* genome: a link between osmoadaptation and antibiotic production[J]. Genome Research, 2004, 14(5): 893-900.
- [59] BEDNARZ B, KOTOWSKA M, PAWLIK KJ. Multi-level regulation of coelimycin synthesis in *Streptomyces coelicolor* A3(2)[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2019, 103(16): 6423-6434.
- [60] ROMERO-RODRÍGUEZ A, ROCHA D, RUIZ-VILLAFAN B, TIERRAFRÍA V, RODRÍGUEZ-SANOJA R, SEGURA-GONZÁLEZ D, SÁNCHEZ S. Transcriptomic analysis of a classical model of carbon catabolite regulation in *Streptomyces coelicolor*[J]. BMC Microbiology, 2016, 16: 77.
- [61] ROMERO-RODRÍGUEZ A, RUIZ-VILLAFÁN B, TIERRAFRÍA VH, RODRÍGUEZ-SANOJA R, SÁNCHEZ S. Carbon catabolite regulation of secondary metabolite formation and morphological differentiation in *Streptomyces coelicolor*[J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2016, 180(6): 1152-1166.
- [62] LU T, ZHU YP, ZHANG PP, SHENG DH, CAO GX, PANG XH. SCO5351 is a pleiotropic factor that impacts secondary metabolism and morphological development in *Streptomyces coelicolor*[J]. FEMS Microbiology Letters, 2018, 365(17): fny150.
- [63] 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 YR, LIU M, WANG JR, WU H, ZHANG BC. Biosynthesis and molecular regulation of lincomycin: a review[J]. Microbiology China, 2023, 50(11): 5097-5109 (in Chinese).
- [64] 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.
- [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] SHU D, CHEN L, WANG WH, YU ZY, REN C, ZHANG WW, YANG S, LU YH, JIANG WH. afsQ1-Q2-sigQ is a pleiotropic but conditionally required signal transduction system for both secondary metabolism and morphological development in *Streptomyces coelicolor*[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2009, 81(6): 1149-1160.
- [67] FU JF, QIN RH, ZONG GL, ZHONG CQ, ZHANG PP, KANG N, QI XY, CAO GX. The two-component system CepRS regulates the cephamycin C biosynthesis in *Streptomyces clavuligerus* F613-1[J]. AMB Express, 2019, 9(1): 118.
- [68] 金尚萍. 雷帕链霉菌中 CseB-C_{SR} 调控机制研究与 SPACE 碱基编辑器开发[D]. 郑州: 河南工业大学, 2023.
- JIN SP. Study on the regulatory mechanism of CseB-C_{SR} in *Streptomyces rapamycinicus* and development of SPACE base editor[D]. Zhengzhou: Henan University of Technology, 2023 (in Chinese).
- [69] PAGET MS, LEIBOVITZ E, BUTTNER MJ. A putative two-component signal transduction system regulates sigmaE, a sigma factor required for normal cell wall integrity in *Streptomyces coelicolor* A3(2)[J]. Molecular Microbiology, 1999, 33(1): 97-107.
- [70] 严若冰, 王威, 张雪洪. 洛蒙德链霉菌 S015 中 cutR/cutS 双组分调控系统对洛蒙真菌素合成的调控[J]. 微生物学通报, 2019, 46(2): 261-268.
- YAN RB, WANG W, ZHANG XH. Function of cutR/cutS two component system in lomofungin biosynthesis in *Streptomyces lomondensis* S015[J]. Microbiology China, 2019, 46(2): 261-268 (in Chinese).
- [71] ZHU CC, KANG QJ, BAI LQ, CHENG L, DENG ZX. Identification and engineering of regulation-related genes toward improved kasugamycin production[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2016, 100(4): 1811-1821.
- [72] 朱琛琛. 春雷霉素生物合成调控及高产菌株改造[D]. 上海: 上海交通大学博士学位论文, 2016.
- ZHU CC. Identification and engineering of regulation-related genes toward improved kasugamycin production[D]. Shanghai: Doctoral Dissertation of Shanghai Jiao Tong University, 2016 (in Chinese).
- [73] 祝亚杰, 王佳彬, 李珊珊, 向文胜, 张艳艳. 全局调控子 MtrA_{sbh} 影响米尔贝霉素生物合成的研究[J]. 中国生物防治学报, 2023, 39(5): 1083-1093.
- ZHU YJ, WANG JB, LI SS, XIANG WS, ZHANG YY. Effect of the global regulator MtrA_{sbh} on the biosynthesis of milbemycins[J]. Chinese Journal of Biological Control, 2023, 39(5): 1083-1093 (in Chinese).
- [74] LU YH, WANG WH, SHU D, ZHANG WW, CHEN L,

- QIN ZJ, YANG S, JIANG WH. Characterization of a novel two-component regulatory system involved in the regulation of both actinorhodin and a type I polyketide in *Streptomyces coelicolor*[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2007, 77(3): 625-635.
- [75] NI H, XIONG ZQ, MOHSIN A, GUO MJ, PETKOVIC H, CHU J, ZHUANG YP. Study on a two-component signal transduction system RimA1A2 that negatively regulates oxytetracycline biosynthesis in *Streptomyces rimosus* M4018[J]. *Bioresources and Bioprocessing*, 2019, 6(1): 3.
- [76] 倪辉. 龟裂链霉菌双组分系统RimA1A2和AfrQ1Q2调控土霉素生物合成研究[D]. 上海: 华东理工大学, 2019. NI H. Study on the regulation of oxytetracycline biosynthesis in *Streptomyces rimosus* by two-component systems RimA1A2 and AfrQ1Q2[D]. Shanghai: East China University of Science and Technology, 2019 (in Chinese).
- [77] 章魁普. 盐霉素高产菌株诱变育种和双组分系统RspA1/A2全局调控机理研究[D]. 上海: 华东理工大学博士学位论文, 2020. ZHANG KP. Study on mutagenesis screening of high-yield salinomycin mutant and the global regulation mechanism of two-component systemRspA1/A2 in *streptomyces albus*[D]. Shanghai: Doctoral Dissertation of East China University of Science and Technology, 2020 (in Chinese).
- [78] 罗帅, 王晓杰, 张虎成, 刘霖颖, 简伟杰, 朱华, 朱建亚. 阿维链霉菌中ECF-Sig25的调控通路[J]. *中国农业科技导报*, 2024, 26(6): 122-132. LUO S, WANG XJ, ZHANG HC, LIU LY, JIAN WJ, ZHU H, ZHU JY. Regulatory pathway of ECF-Sig25 in *Streptomyces avermitilis*[J]. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 2024, 26(6): 122-132 (in Chinese).
- [79] LUO S, SUN D, ZHU JY, CHEN Z, WEN Y, LI JL. An extracytoplasmic function sigma factor, $\sigma(25)$, differentially regulates avermectin and oligomycin biosynthesis in *Streptomyces avermitilis*[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2014, 98(16): 7097-7112.
- [80] LIU DQ. Biological control of *Streptomyces Scabies* and other plant pathogens[D]. Minneapolis: University of Minnesota, 1992.
- [81] HAN X, WANG J, LIU LN, SHEN FY, MENG QF, LI X, LI YN, LIU DQ. Identification and predictions regarding the biosynthesis pathway of polyene macrolides produced by *Streptomyces roseoflavus* men-myc-93-63[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2021, 87(10): e03157-20.
- [82] 王娇, 焦甜甜, 刘晓宁, 刘大群, 李亚宁. 双组分系统SRO293/294在玫瑰黄链霉菌抑制辣椒疫霉中的调控作用[C]//中国植物病理学会2023年学术年会论文集. 泰安, 2023: 610.
- [83] FENG XH, WALTHERS D, OROPEZA R, KENNEY LJ. The response regulator SsrB activates transcription and binds to a region overlapping OmpR binding sites at *Salmonella* pathogenicity island 2[J]. *Molecular Microbiology*, 2004, 54(3): 823-835.
- [84] RAGHAVAN V, GROISMAN EA. Orphan and hybrid two-component system proteins in health and disease[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2010, 13(2): 226-231.
- [85] 于静晨, 张文婷, 姚玉峰. 细菌蛋白质磷酸化修饰研究进展[J]. *微生物学报*, 2021, 61(2): 357-367. YU JC, ZHANG WT, YAO YF. Research progress in bacterial protein phosphorylation[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2021, 61(2): 357-367 (in Chinese).
- [86] ANTORAZ S, RICO S, RODRÍGUEZ H, SEVILLANO L, ALZATE JF, SANTAMARÍA RI, DÍAZ M. The orphan response regulator Aor1 is a new relevant piece in the complex puzzle of *Streptomyces coelicolor* antibiotic regulatory network[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 2444.
- [87] YAN YS, ZOU LS, WEI HG, YANG MY, YANG YQ, LI XF, XIA HY. An atypical two-component system, AtcR/AtcK, simultaneously regulates the biosynthesis of multiple secondary metabolites in *Streptomyces bingchenggensis*[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2024, 90(1): e0130023.
- [88] WANG LQ, TIAN XY, WANG J, YANG HH, FAN KQ, XU GM, YANG KQ, TAN HR. Autoregulation of antibiotic biosynthesis by binding of the end product to an atypical response regulator[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2009, 106(21): 8617-8622.
- [89] ZHANG YY, ZOU ZZ, NIU GQ, TAN HR. *JadR** and *jadR2* act synergistically to repress jadomycin biosynthesis[J]. *Science China Life Sciences*, 2013, 56(7): 584-590.
- [90] LIU PP, ZHU H, ZHENG GS, JIANG WH, LU YH. Metabolic engineering of *Streptomyces coelicolor* for enhanced prodigiosins (RED) production[J]. *Science China Life Sciences*, 2017, 60(9): 948-957.
- [91] LU YH, HE JM, ZHU H, YU ZY, WANG R, CHEN YL, DANG FJ, ZHANG WW, YANG S, JIANG WH. An orphan histidine kinase, OhkA, regulates both secondary metabolism and morphological differentiation in *Streptomyces coelicolor*[J]. *Journal of Bacteriology*, 2011, 193(12): 3020-3032.
- [92] ZHENG GS, LIU PP, HE WY, TAO HN, YANG Z, SUN CW, WANG WF, LU YH, JIANG WH. Identification of the cognate response regulator of the orphan histidine kinase OhkA involved in both secondary metabolism and morphological differentiation in *Streptomyces coelicolor*[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2021, 105(14/15): 5905-5914.
- [93] ZHU YP, WANG XY, ZHANG J, NI X, ZHANG X, TAO MF, PANG XH. The regulatory gene *wblA* is a target of the orphan response regulator OrrA in *Streptomyces coelicolor*[J]. *Environmental Microbiology*, 2022, 24(7): 3081-3096.
- [94] 王新圆. 天蓝色链霉菌调控蛋白SCO3008的功能研究[D]. 济南: 山东大学硕士学位论文, 2019. WANG XY. The study on SCO3008 as a novel regulatory protein in *Streptomyces coelicolor*[D]. Jinan: Master's Thesis of Shandong University, 2019 (in Chinese).

- [95] ZHAO YW, LI L, ZHENG GS, JIANG WH, DENG ZX, WANG ZJ, LU YH. CRISPR/dCas9-mediated multiplex gene repression in *Streptomyces*[J]. Biotechnology Journal, 2018, 13(9): e1800121.
- [96] LI L, ZHAO YW, MA JJ, TAO HN, ZHENG GS, CHEN J, JIANG WH, LU YH. The orphan histidine kinase PdtA-S-p regulates both morphological differentiation and antibiotic biosynthesis together with the orphan response regulator PdtA-R-p in *Streptomyces*[J]. Microbiological Research, 2020, 233: 126411.
- [97] 马军霞, 张佩佩, 王世立, 曹广祥. *sco1135* 基因对天蓝色链霉菌 M145 孢子形成及次级代谢产物合成的调控研究[J]. 生物技术通报, 2017, 33(1): 141-147.
- MA JX, ZHANG PP, WANG SL, CAO GX. Regulatory effects of gene *sco1135* on the sporulation and secondary metabolite synthesis of *Streptomyces coelicolor* M145[J]. Biotechnology Bulletin, 2017, 33(1): 141-147 (in Chinese).
- [98] 马军霞. 天蓝色链霉菌 *sco1135* 调控孢子生长和 ACT 次级代谢产物生物合成的分子机制研究[D]. 济南: 济南大学硕士学位论文, 2017.
- MA JX. Regulatory effects of gene *sco1135* on the sporulation and secondary metabolite synthesis of ACT of *Streptomyces coelicolor* M145[D]. Jinan: Master's Thesis of University of Jinan, 2017 (in Chinese).
- [99] 朱延平. 天蓝色链霉菌调控蛋白 SCO1979 的功能研究[D]. 济南: 山东大学硕士学位论文, 2018.
- ZHU YP. The study on SCO1979 as a DNA-binding regulatory protein in *Streptomyces coelicolor*[D]. Jinan: Master's Thesis of Shandong University, 2018 (in Chinese).
- [100] ZHU YP, LU T, ZHANG J, ZHANG PP, TAO MF, PANG XH. A novel XRE family regulator that controls antibiotic production and development in *Streptomyces coelicolor*[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2020, 104(23): 10075-10089.