

链霉菌中广泛存在大的线型和环型质粒，以及整合到质粒上的噬菌体片段，对其复制功能的大量研究显示了多样性、新颖性和相互转换的关系。

覃重军

## 链霉菌质粒的复制与进化

覃重军

(中国科学院上海生命科学研究院 植物生理生态研究所合成生物学重点实验室 上海 200032)

**摘要:** 近年来，随着大质粒提取和检测技术的发展，尤其是高通量 DNA 测序技术的应用，使得链霉菌大的环型质粒和线型质粒的研究取得了较快的进展。相比于研究透彻的细菌 Theta 型复制的质粒，链霉菌 Theta 型质粒在复制区的结构、复制蛋白和调控蛋白作用的分子机理等方面具有多样性和新颖性。新鉴定的许多线型质粒的中心复制区表明中心复制的起始可以靠近端粒，一个质粒也可以有 2 个以上的复制区。新分离的端粒序列显示端粒“折返”不是必需的，而形成二级结构对于端粒复制是重要的。链霉菌环型和线型质粒的测序分析显示它们之间存在亲缘关系。环型质粒可以与噬菌体共整合，实验证明它们在一定条件下可以相互转换。这些研究结果表明，链霉菌环型、线型质粒和噬菌体从结构到功能到进化具有多样性、新颖性和亲缘关系。

**关键词:** 链霉菌，线型质粒，环型质粒，噬菌体，复制，进化

## Replication and evolution of *Streptomyces* plasmids

QIN Zhong-Jun

(Key Laboratory of Synthetic Biology, Shanghai Institute of Plant Physiology and Ecology, Shanghai Institutes for Biological Science, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200032, China)

**Abstract:** Recently, with the development of isolating and detecting large plasmids and

基金项目：国家自然科学基金项目(No. 31121001, 31100063, 31000042, 31200059)

\*通讯作者：Tel/Fax: 86-21-54924171/6; 信箱: qin@sibs.ac.cn

收稿日期：2013-02-15; 接受日期：2013-04-19

high-throughput DNA sequencing technology, rapid progresses have been made on *Streptomyces* large circular and linear plasmids. In contrast to bacterial theta-type plasmids, *Streptomyces* theta-type plasmids reveal diversity and novelty on the structures of replication origins, functions of replication and regulation proteins. The newly identified replication origins of linear plasmids show that it can also be located near one telomere, and two or more functional origins are observed in one molecule. The newly sequenced telomeres indicate that formation of secondary structure rather than “folding-back” is important for telomere replication. Sequences of *Streptomyces* circular and linear plasmids imply their close relationship. Sequencing results also show that co-integration of circular plasmid and phage, and experiments demonstrate their inter-conversion under certain conditions. These results indicate that diversity, novelty and evolutionary relationship of *Streptomyces* circular and linear plasmids and phages.

**Keywords:** *Streptomyces*, Linear plasmid, Circular plasmid, Phage, Replication, Evolution

链霉菌是一大类具有高 GC 含量基因组(约 70%)、产生菌丝体和孢子的革兰氏阳性细菌。已报道的大多数链霉菌的环型质粒通常较小(8–14 kb), 包括滚环复制的质粒(如 pIJ101、pSG5、pJV1、pSN22、pSVH1、pSB24.2、pSY10、pSNA1、pSLG33 和 pEN2701 等)和染色体整合/自主游离复制的质粒(如 SLP1 和 pSAM2 等)<sup>[1]</sup>。在不同细菌中滚环复制的质粒均含有复制起始 Rep 蛋白, 双链起始位点和单链起始位点, 复制的分子机制基本相同<sup>[2]</sup>。链霉菌整合/游离型质粒含有  $\lambda$  噬菌体类似的 *int* (整合)和 *xis* (切离)位点, 可以位点特异地整合到染色体上; 当游离存在时, pSAM2 可以进行滚环复制, 而 SLP1 可能进行 Theta 型复制<sup>[1]</sup>。细菌 Theta 型复制的质粒可以分为单向和双向复制, 复制蛋白、复制原点以及调控方式具有多样性<sup>[3]</sup>, 而链霉菌 Theta 型复制的质粒报道较少。

与大多数其它细菌不同的是, 利用脉冲场凝胶电泳技术, 在链霉菌中检测到线型结构的染色体<sup>[4]</sup>和质粒<sup>[5]</sup>, 在少数链霉菌菌株中检测到多个线型质粒。已报道的链霉菌线型质粒的大小从 12 kb 到 1 800 kb, 它们的端粒包含从 44 bp 到 180 kb 的倒转重复序列<sup>[6]</sup>。链霉菌线型染色体和线型质粒双链 DNA 的 5'端被末端

蛋白共价结合, 而 3'端为游离末端<sup>[7]</sup>。

近年来, 随着链霉菌大片段 DNA 检测技术的发展, 大的环型质粒(常为 Theta 型复制, 如 SCP2、pFP11、pZL12、pFP4 和 pSV1 等)的分离和复制的研究进展较快<sup>[8–12]</sup>, 一些大质粒上发现了完整功能的噬菌体片段<sup>[10–11]</sup>。随着高通量 DNA 测序技术的普及应用, 过去难以开展的质粒的进化及其分子机理的研究得以进行。本文重点综述链霉菌大的环型质粒和线型质粒的复制, 还将探讨环型、线型质粒与噬菌体的进化关系。

## 1 链霉菌质粒的 Theta 型复制

1975 年 Schrepf 等在天蓝色链霉菌中发现了第一个大的环型质粒 SCP2<sup>[13]</sup>。初步定位了参与稳定复制与接合转移相关的区域后, 构建了由 SCP2 衍生的载体<sup>[14–15]</sup>, 可以用于克隆大的抗生素生物合成基因簇(如放线紫红素)<sup>[16]</sup>。2003 年 Haug 等完成了 SCP2 测序, 并鉴定了复制区由两个功能未知的基因(*repI* 和 *repII*)和上游一段非编码序列组成<sup>[8]</sup>。RepI 蛋白可以特异性地结合到 *repI* 基因上游的非编码序列<sup>[17]</sup>, 缺失了 *repI* 基因上游 45 bp 后导致 SCP2 的拷贝数增加<sup>[18]</sup>, 暗示该区域是质粒复制的调控区域。没有直接证据显示 SCP2 是单向还是双向复制,

在 SCP2 的复制区加上链霉菌端粒后可以复制成线型 DNA, 暗示了双向复制<sup>[9]</sup>。

1980 年 Okanishi 等在紫红链霉菌中分离并在电子显微镜下检测到可疑的环型大质粒 pSV1<sup>[19]</sup>。Aguilar 等在琼脂糖凝胶上检测到了很淡的 pSV1 质粒带<sup>[20]</sup>。通过构建 Cosmid 文库和 Southern 杂交, Yamasaki 等证明 pSV1 的大小约 163 kb<sup>[21]</sup>。近年来, 利用改良的质粒提取技术可以高效分离和在琼脂糖凝胶上清晰地检测到 pSV1 的质粒带, pSV1 的复制及其调控的分子机理也进行了深入的研究(图 1)<sup>[12]</sup>。pSV1 的复制区由 2 个复制基因(*repA* 和 *repB*)和两段非编码序列[Iteron (重复序列)和 *ncs* (Non-coding sequence)]组成, 复制蛋白 RepA 可以有规律地(在 7-11-9-11-9-11-9-11-8 bp 区段含有 1 个 bp 的间隔)结合在 Iteron 的 2 对倒转重复序列, 调控蛋白 RepB 可以结合在 Iteron 的 2 个顺式重复序列和 *repA* 基因上游的序列。有趣的是宿主发育分化蛋白 BldD 可以结合在 pSV1 的 *ncs* 区, *bldD* 基因的缺失使 pSV1 的拷贝数降低<sup>[12]</sup>。

利用改良的大质粒提取方法, 在链霉菌群

体中检测到许多大的环型质粒, 对其中的一些质粒(如 pFP1、pFP11、pFP4、pWTY27、pZL12 和 pCQ4 等, 见表 1)的复制进行了研究。pFP1 和 pFP11 的复制区均含有 1 个复制基因和邻近的 Iteron 序列, 其复制蛋白可以与相应的 Iteron 序列结合<sup>[9]</sup>。pFP4 和 pWTY27 的复制区由 2 个基因(其中一个编码 DNA 多聚酶)和邻近的非编码序列组成<sup>[11]</sup>, 其中 pWTY27 的复制蛋白 RepA 可以特异结合到一段 105 bp 的倒转重复序列<sup>[22]</sup>。pZL12 和 pCQ4 的复制区只含有 1 个复制基因, 没有非编码序列, 复制蛋白作用的靶点尚未确定<sup>[10,23]</sup>。

## 2 链霉菌线型质粒的中心复制与端粒复制

1979 年 Hayakawa 等报道了利用普通琼脂糖凝胶检测到链霉菌小的线型质粒 pSLA2<sup>[24]</sup>, 但是并未引起重视。大的质粒 SCP1 早在 1969 年就推测存在于天蓝色链霉菌中<sup>[25]</sup>, 该质粒上含有次甲基霉素生物合成基因簇<sup>[26]</sup>。直到 1987 年 Kinashi 等利用脉冲场凝胶电泳技术检测到

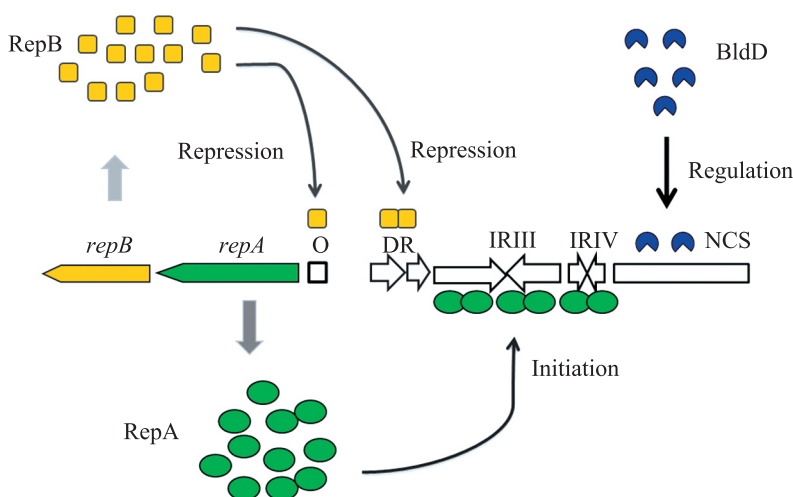


图 1 链霉菌质粒 pSV1 复制及调控的模型<sup>[12]</sup>

Fig. 1 Model of replication and regulation of *Streptomyces* plasmid pSV1<sup>[12]</sup>

Note: DR: Directed repeat; IR: Inverted repeat; NCS: Non-coding sequence.

大的线型质粒(包括 SCP1)<sup>[5]</sup>, 随后发现链霉菌群体中存在许多大的线型质粒。

与末端蛋白共价结合的线型 DNA 病毒的复制方式不同, Cohen 实验室证明链霉菌线型质粒 pSLA2 和 pSCL1 在去除端粒后仍然能够以环型质粒的形式进行复制<sup>[27-28]</sup>。进一步证明 pSLA2 从靠近线型 DNA 分子的中心处开始复制, 进行双向复制至端粒后, 留下一段约 280 nt 的单链中间体, 可能通过一种新颖的“打补丁”方式最终

完成端粒处双链 DNA 的复制<sup>[28]</sup>。

pSLA2 的中心复制区包含 2 个复制基因 (*rep1* 和 *rep2*), 其中 *rep1* 基因内部含有 1 段 Iteron 序列, *rep2* 基因编码解旋酶<sup>[29]</sup>。类似的中心复制区的结构在线型质粒 pSCL1、SCP1、SLP2 和 pSHK1 中也存在<sup>[27,30-34]</sup>。但是, 近年来在一些链霉菌线型质粒中(如 pSLA2-L、pSCL2、pRL2、pRL4、pYY8L、pSLA2-M 和 pFRL2 等)发现了不同结构的中心复制区<sup>[35-40]</sup>(表 2)。有趣

表 1 链霉菌 Theta 型质粒的复制区

Table 1 Summary of the replication loci of *Streptomyces* theta-type plasmids

质粒 Plasmids	大小 Sizes (bp)	复制区 Replication loci	文献 References
SCP2	31 317	<i>repII-repI-ncs</i>	[8,17]
pFP1	39 360	<i>pFP11.27-iteron</i>	[9]
pFP11	35 139	<i>Iteron-pFP1.14c</i>	[9]
pZL12	90 435	<i>pZL12.20c</i>	[10]
pFP4	40 949	<i>ncs-repA (helicase)-repB (polymerase)</i>	[11]
pWTY27	14 288	<i>ncs-repA-repB (polymerase)</i>	[22]
pCQ4	84 833	<i>pCQ4.37c</i>	[23]
pSV1	-163 000	<i>repB-repA-iteron-ncs</i>	[12]

Note: *ncs*: Non-coding sequence.

表 2 链霉菌线型质粒的复制区

Table 2 Summary of the replication loci of *Streptomyces* linear plasmids

质粒 Plasmids	大小 Sizes (bp)	复制区 Replication loci	文献 References
pSLA2	-17 300	<i>rep1 (iterons)-rep2 (helicase)</i>	[28]
SCP1	356 023	<i>Iterons-rep1 (helicase)-rep2</i>	[31]
SLP2	50 410	<i>Iterons-rep (helicase)</i>	[32-33]
pSCL1	11 696	<i>Iterons-rep (helicase)</i>	[27,36]
pSLA2-L	210 614	<i>Iterons-repL1-repL2</i>	[35]
pSCL2	-120 000	<i>Iterons-repC1-repC2</i>	[36]
pRL2	20 252	<i>Iterons-tpg-tap/helicase</i>	[34]
pRL4	-200 000	<i>ncs-rep</i>	[34]
pFRL2	-100 000	<i>ncs-rep</i>	[34]
SAP1	94 287	<i>ncs1-repA1, ncs2-repA2</i>	[34]
pSHK1	185 421	<i>Iterons-rep1 (helicase)-rep2</i>	[37]
pFRL1	54 288	<i>ncs-pFRL1.1-pFRL1.2, pFRL1.13-ncs</i>	[38]
pYY8L	-280 000	<i>SCP1-rep1 like</i>	[39]
pSLA2-M	113 463	<i>pFRL2.1-pFRL2.2 like</i>	[40]

Note: *ncs*: Non-coding sequence.

的是, 实验证明线型质粒 pFRL1 上存在 2 个不同的复制区, 其中 1 个紧靠端粒<sup>[38]</sup>。推测线型质粒 SAP1 上也存在 2 个不同的复制区<sup>[34]</sup>。最初鉴定的 SCP1 只有一个复制区<sup>[31]</sup>, 但是我们最近发现 SCP1 上存在 3 个不同位置的复制区(彭诗园等, 未发表的数据)。因此, 线型质粒单一的、中心复制的概念需要修正。

最初分离到的线型质粒 pSLA2、SLP2 和 pSCL1 的端粒, 以及天蓝色链霉菌和变铅青链霉菌线型染色体的端粒, 均具有保守的序列。最末端的倒转重复序列可以“折返”, 与中间的序列配对。Chen 总结了“打补丁”方式完成端粒处双链 DNA 的复制可能有 3 种模型, 包括端粒“折返”、重组和“颠换”<sup>[41]</sup>。Qin 等排除了端粒重组和“颠换”作为链霉菌端粒的复制方式, 鉴定了端粒的 4 个倒转重复序列是复制所必需, 支持了“折返”模型<sup>[42]</sup>。分离到的端粒结合蛋白可以结合到其中的 2 个重复序列, 并且可以招募

末端蛋白到端粒参与复制<sup>[7,43]</sup>, 进一步支持了“折返”模型。一个例外是线型质粒 SCP1 的端粒不具有保守的序列, 最末端的倒转重复序列不能“折返”。近年来, 分离了更多的非保守的端粒序列, 如 pRL1、pRL2、pSHK1 和 pFDY3L 等<sup>[37,39,44]</sup>, 只有 pRL2 可以“折返”。另一方面, 一些与 pSLA2 相似的保守的端粒(如 pFRL1 和 pYY223 等)并不能“折返”(图 2), 暗示端粒“折返”复制模型需要修改。链霉菌线型质粒和线型染色体端粒具有共性的特征是, 目前分离到的所有端粒均有多个倒转重复序列, 提示形成端粒二级结构对于端粒复制是重要的。

在寻找参与端粒复制的基因或蛋白的过程中, 通过直接分离的方法鉴定了与 pSLA2 端粒 DNA 共价连接的末端蛋白 Tpg<sup>[7]</sup>, 进而鉴定了与 *tpg* 基因共转录的编码端粒结合蛋白的 *tap* 基因<sup>[43]</sup>。Tap 蛋白可以特异结合到端粒的 2 个重复序列, 并负责“招募”末端蛋白 Tpg 参与端粒

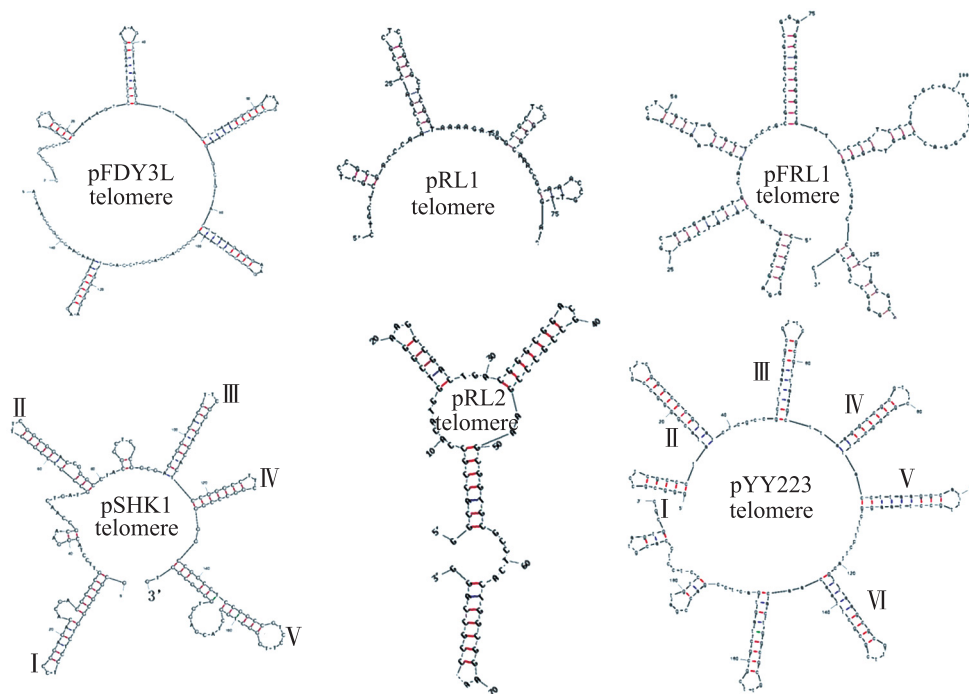


图 2 链霉菌保守和非保守端粒序列多样化的“折返”的模型

Fig. 2 Diversity of the telomere “folding-back” of *Streptomyces* linear plasmids

的复制<sup>[43]</sup>。采用类似的策略, 从非保守 SCP1 的端粒上分离到一个新的末端蛋白, 也找到了相应的端粒复制基因<sup>[45]</sup>。利用 Tap 抗体鉴定了一些与端粒相互作用的蛋白, 包括 DNA 多聚酶 I 和拓扑异构酶<sup>[46]</sup>, 但是遗传学实验不支持其参与线型质粒端粒的复制<sup>[47]</sup>。近期的遗传学实验暗示 2 个 DNA 多聚酶 IV 可能参与端粒复制<sup>[48]</sup>, 但是没有直接的体外生物化学的证据。这些结果表明虽然经过大量的探索, 分离完整的端粒复制核心复合体尚未完成。

### 3 链霉菌线型质粒、环型质粒和噬菌体的进化关系

通过人工构建的遗传系统证明了链霉菌线型质粒与环型质粒在一定条件下可以相互转换。前期的实验表明, 线型质粒(如 pSLA2 和 pSCL1 等)缺失端粒后能够以环型质粒的方式繁殖<sup>[27-28]</sup>。进一步的实验表明, 当 pSLA2 的一个端粒发生损伤时, 宿主可以采取 3 种修复的方式: 利用另一个端粒重组修复、利用非同源末端环化和形成全长的倒转重复分子, 修复的结果导致在细胞群体中形成不同大小的环型质粒和不同结构的线型质粒<sup>[49-50]</sup>。另一方面, 一些进行双向复制的 Theta 型质粒(如 pFP11、SCP2 和 pWTY27 等)在加上链霉菌线型质粒的端粒后, 可以复制成线型质粒, 并且这些人工构建的线型质粒在宿主中的遗传稳定性和拷贝数是正常的<sup>[9,22]</sup>。随着高通量 DNA 测序技术的应用, 许多链霉菌大的环型和线型质粒的序列已完成测序, 生物信息学分析提示链霉菌线型质粒与环型质粒之间存在亲缘关系。例如, 完整的次甲霉素生物合成基因簇在环型质粒 pSV1 和线型质粒 SCP1 上的序列几乎相同<sup>[21]</sup>, pSV1 与线型质粒 pSLA2-L 的复制基因具有相似性<sup>[12]</sup>。

一些大的环型质粒(如 pZL12 和 pFP4 等)

的序列分析表明质粒上存在成簇的噬菌体基因, 编码噬菌体的头、鞘、尾丝等结构蛋白。实验证明这些噬菌体基因是有功能的, 如质粒 pZL12 在培养过程中能够以低频率让细胞裂解, 释放噬菌体颗粒  $\Phi$ ZL12, 在平板上形成噬菌斑; 而烈性噬菌体  $\Phi$ ZL12 感染细胞群体后, 在一部分细胞中可以转换为“温和”的环型质粒 pZL12 (图 3)<sup>[10]</sup>。

## 4 结论

早期报道的大多数链霉菌的环型质粒通常较小, 且属于滚环复制类型。随着大质粒提取和检测技术的发展, 尤其是高通量 DNA 测序技

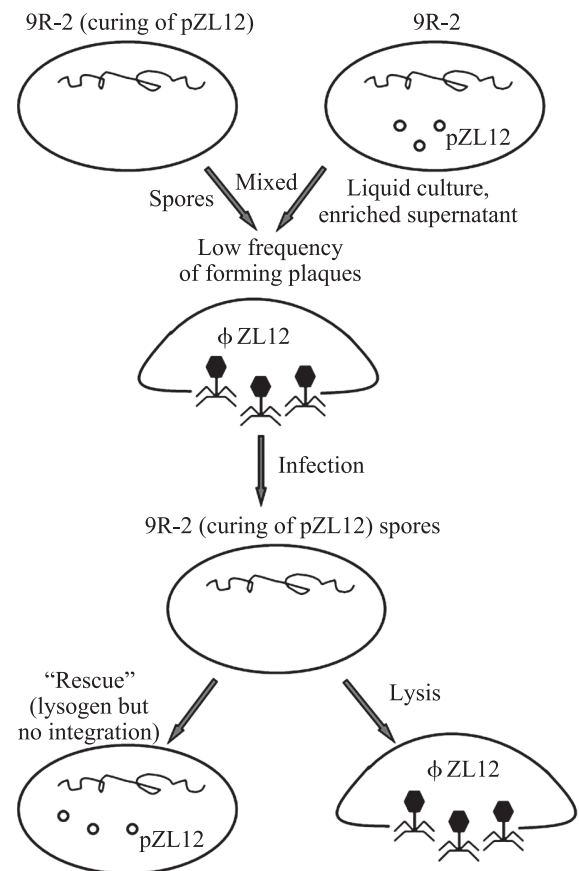


图 3 链霉菌质粒 pZL12 和噬菌体  $\Phi$ ZL12 相互转换的模型<sup>[10]</sup>

Fig. 3 Model of life cycle of *Streptomyces* plasmid pZL12 and phage  $\Phi$ ZL12<sup>[10]</sup>

术的应用,使得链霉菌大的环型质粒和线型质粒的研究取得了较快的进展。相比于研究透彻的细菌的 Theta 型复制的质粒(如 RK6、R1、F、ColE1 等),链霉菌 pSV1 和 SCP2 等大的环型质粒在复制区的结构、复制蛋白和调控蛋白作用的分子机理等方面具有多样性和新颖性。与末端蛋白共价结合的线型 DNA 病毒的复制方式不同,链霉菌的线型质粒从“中心”开始复制。随着大量的线型质粒的中心复制区的鉴定,表明中心复制的启动可以靠近端粒,一个质粒也可以由 2 个甚至更多的复制区(如 pFRL1、SAP1 和 SCP1 等)。前期的实验支持端粒“折返”的复制模型,新分离的大量的端粒序列显示,端粒“折返”不是必需的,而形成端粒的二级结构对于端粒复制是重要的。分离有功能的完整的端粒复制核心复合体是未来一项有挑战性的工作。通过大量的内源环型和线型质粒的测序,以及人工构建的测试系统,显示链霉菌环型和线型质粒有亲缘关系,在一定条件下可以相互转换。天然环型质粒可以与噬菌体共整合,在一定条件下也可以相互转换。这些研究进展表明,链霉菌环型、线型质粒和噬菌体从结构到功能到进化具有多样性、新颖性和亲缘关系。

## 参 考 文 献

- [1] Hopwood DA, Kieser T. Conjugative plasmids of *Streptomyces*[A]//Bacterial conjugation[M]. Clewell DB (ed.). New York: Plenum Press, 1993: 293-311.
- [2] Khan SA. Plasmid rolling-circle replication: highlights of two decades of research[J]. *Plasmid*, 2005, 53(2): 126-136.
- [3] del Solar G, Giraldo R, Ruiz-Echevarría MJ, et al. Replication and control of circular bacterial plasmids[J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 1998, 62(2): 434-464.
- [4] Lin YS, Kieser HM, Hopwood DA, et al. The

chromosomal DNA of *Streptomyces lividans* 66 is linear[J]. *Molecular Microbiology*, 1993, 10(5): 923-933.

- [5] Kinashi H, Shimaji M, Sakai A. Giant linear plasmids in *Streptomyces* which code for antibiotic biosynthesis genes[J]. *Nature*, 1987, 328(6129): 454-456.
- [6] Chater KF, Kinashi H. *Streptomyces* linear plasmids: their discovery, functions, interactions with other replicons, and evolutionary significance[M]. In Meinhardt F, Klassen R (ed.), *Microbial linear plasmids*. Microbiology Monographs (7). Berlin: Springer-Verlag, 2007: 1-31.
- [7] Bao K, Cohen SN. Terminal proteins essential for the replication of linear plasmids and chromosomes in *Streptomyces*[J]. *Genes & Development*, 2001, 15(12): 1518-1527.
- [8] Haug I, Weissenborn A, Brolle D, et al. *Streptomyces coelicolor* A3(2) plasmid SCP2\*: deductions from the complete sequence[J]. *Microbiology*, 2003, 149(Pt 2): 505-513.
- [9] Zhang R, Zeng A, Fang P, et al. Characterization of replication and conjugation of *Streptomyces* circular plasmids pFP1 and pFP11 and their ability to propagate in linear mode with artificially attached telomeres[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2008, 74(11): 3368-3376.
- [10] Zhong L, Cheng Q, Tian X, et al. Characterization of the replication, transfer and plasmid/lytic phage cycle of the *Streptomyces* plasmid-phage pZL12[J]. *Journal of Bacteriology*, 2010, 192(14): 3747-3754.
- [11] Chen Z, Zhong L, Shen M, et al. Characterization of *Streptomyces* plasmid-phage pFP4 and its evolutionary implications[J]. *Plasmid*, 2012, 68(3): 170-178.
- [12] 陈亚兰. 紫红链霉菌大质粒 pSV1 的测序、复制及调控的研究[D]. 上海: 中国科学院上海生命科学研究院植物生理生态研究所博士学位论文, 2013.
- [13] Schrempf H, Bujard H, Hopwood DA, et al. Isolation of covalently closed circular desoxyribonucleic acid from *Streptomyces coelicolor*[J]. *Journal of*

- Bacteriology, 1975, 121(2): 416–421.
- [14] Bibb M, Schottel JL, Cohen SN. A DNA cloning system for interspecies gene transfer in antibiotic-producing *Streptomyces*[J]. Nature, 1980, 284(5756): 526–531.
- [15] Lydiate DJ, Malpartida F, Hopwood DA. The *Streptomyces* plasmid SCP2\*: its functional analysis and development into useful cloning vectors[J]. Gene, 1985, 35(3): 223–235.
- [16] Malpartida F, Hopwood DA. Molecular cloning of the whole biosynthetic pathway of a *Streptomyces* antibiotic and its expression in a heterologous host[J]. Nature, 1984, 309(5967): 462–464.
- [17] Fong R, Vroom JA, Hu Z, et al. Characterization of a large, stable, high-copy-number *Streptomyces* plasmid that requires stability and transfer functions for heterologous polyketide overproduction[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2007, 73(4): 1296–1307.
- [18] Hu ZH, Hopwood DA, Hutchinson CR. Enhanced heterologous polyketide production in *Streptomyces* by exploiting plasmid co-integration[J]. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, 2003, 30(8): 516–522.
- [19] Okanishi M, Manome T, Umezawa H. Isolation and characterization of plasmid DNAs in actinomycetes[J]. The Journal of Antibiotics, 1980, 33(1): 88–91.
- [20] Aguilar A, Hopwood DA. Determination of methylenomycin A synthesis by the pSV1 plasmid from *Streptomyces violaceus-ruber* SANK 95570[J]. Journal of General Microbiology, 1982, 128: 1893–1901.
- [21] Yamasaki M, Ikuto Y, Ohira A, et al. Limited regions of homology between linear and circular plasmids encoding methylenomycin biosynthesis in two independently isolated streptomycetes[J]. Microbiology, 2003, 149(Pt 5): 1351–1356.
- [22] Wang T, Chen Z, Cheng Q, et al. Characterization of replication and conjugation of plasmid pWTY27 from a widely distributed *Streptomyces* species[J]. BMC Microbiology, 2012, 12: 253.
- [23] 成秋香, 钟莉, 覃重军. 青蒿植物内生链霉菌中的质粒 pCQ4 与噬菌体 ΦCQ4 的研究[J]. 微生物学报, 2012, 52(7): 825–831.
- [24] Hayakawa T, Yanaka T, Sakaguchi K, et al. A linear plasmid-like DNA in *Streptomyces* sp. producing lankacidin group antibiotics[J]. Journal of General and Applied Microbiology, 1979, 25: 255–260.
- [25] Hopwood DA, Harold RJ, Vivian A, et al. A new kind of fertility variant in *Streptomyces coelicolor*[J]. Genetics, 1969, 62(3): 461–477.
- [26] Chater KF, Bruton CJ. Resistance, regulatory and production genes for the antibiotic methylenomycin are clustered[J]. The EMBO Journal, 1985, 4(7): 1893–1897.
- [27] Shiffman D, Cohen SN. Reconstruction of a *Streptomyces* linear replicon from separately cloned DNA fragments: existence of a cryptic origin of circular replication within the linear plasmid[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1992, 89(13): 6129–6133.
- [28] Chang PC, Cohen SN. Bidirectional replication from an internal origin in a linear *Streptomyces* plasmid[J]. Science, 1994, 265(5174): 952–954.
- [29] Chang PC, Kim ES, Cohen SN. *Streptomyces* linear plasmids that contain a phage-like, centrally located, replication origin[J]. Molecular Microbiology, 1996, 22(5): 789–800.
- [30] Wu X, Roy KL. Complete nucleotide sequence of a linear plasmid from *Streptomyces clavuligerus* and characterization of its RNA transcripts[J]. Journal of Bacteriology, 1993, 175(1): 37–52.
- [31] Redenbach M, Bibb M, Gust B, et al. The linear plasmid SCP1 of *Streptomyces coelicolor* A3(2) possesses a centrally located replication origin and shows significant homology to the transposon Tn4811[J]. Plasmid, 1999, 42(3): 174–185.
- [32] Huang CH, Chen CY, Tsai HH, et al. Linear plasmid SLP2 of *Streptomyces lividans* is a composite replicon[J]. Molecular Microbiology, 2003, 47(6): 1563–1576.
- [33] Xu M, Zhu Y, Zhang R, et al. Characterization of the genetic components of *Streptomyces lividans* linear plasmid SLP2 for replication in circular and



- linear modes[J]. *Journal of Bacteriology*, 2006, 188(19): 6851–6857.
- [34] Zhang R, Xia H, Guo P, et al. Variation in the replication loci of *Streptomyces* linear plasmids[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2009, 290(2): 209–216.
- [35] Hiratsu K, Mochizuki S, Kinashi H. Cloning and analysis of the replication origin and the telomeres of the large linear plasmid pSLA2-L in *Streptomyces rochei*[J]. *Molecular and General Genetics*, 2000, 263(6): 1015–1021.
- [36] Wu W, Leblanc SK, Piktel J, et al. Prediction and functional analysis of the replication origin of the linear plasmid pSCL2 in *Streptomyces clavuligerus*[J]. *Canadian Journal of Microbiology*, 2006, 52(4): 293–300.
- [37] Guo P, Cheng Q, Xie P, et al. Characterization of the multiple CRISPR loci on *Streptomyces* linear plasmid pSHK1[J]. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica (Shanghai)*, 2011, 43(8): 630–639.
- [38] Zhang R, Peng S, Qin Z. Two internal origins of replication on *Streptomyces* linear plasmid pFRL1[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2010, 76(17): 5676–5683.
- [39] 杨勇, 代玉梅, 陈振华, 等. 五个链霉菌线型质粒端粒的克隆和分析[J]. *微生物学报*, 2010, 50(8): 1008–1013.
- [40] Yang Y, Kurokawa T, Takahama Y, et al. pSLA2-M of *Streptomyces rochei* is a composite linear plasmid characterized by self-defense genes and homology with pSLA2-L[J]. *Bioscience Biotechnology & Biochemistry*, 2011, 75(6): 1147–1153.
- [41] Chen CW. Complications and Implications of linear bacterial chromosomes[J]. *Trends in Genetics*, 1996, 12(5): 192–196.
- [42] Qin Z, Cohen SN. Replication at the telomeres of the *Streptomyces* linear plasmid pSLA2[J]. *Molecular Microbiology*, 1998, 28(5): 893–903.
- [43] Bao K, Cohen SN. Recruitment of terminal protein to the ends of *Streptomyces* linear plasmids and chromosomes by a novel telomere-binding protein essential for linear DNA replication[J]. *Genes & Development*, 2003, 17(6): 774–785.
- [44] Zhang R, Yang Y, Fang P, et al. Diversity of telomere palindromic sequences and replication genes among *Streptomyces* linear plasmids[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, 72(9): 5728–5733.
- [45] Huang CH, Tsai HH, Tsay YG, et al. The telomere system of the *Streptomyces* linear plasmid SCP1 represents a novel class[J]. *Molecular Microbiology*, 2007, 63(6): 1710–1718.
- [46] Bao K, Cohen SN. Reverse transcriptase activity innate to DNA polymerase I and DNA topoisomerase I proteins of *Streptomyces* telomere complex[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2004, 101(40): 14361–14366.
- [47] Huang TW, Chen CW. DNA polymerase I is not required for replication of linear chromosomes in *Streptomyces*[J]. *Journal of Bacteriology*, 2008, 190(2): 755–758.
- [48] Tsai HH, Shu HW, Yang CC, et al. Translesion-synthesis DNA polymerases participate in replication of the telomeres in *Streptomyces*[J]. *Nucleic Acids Research*, 2012, 40(3): 1118–1130.
- [49] Qin Z, Cohen SN. Long palindrome formed in *Streptomyces* by nonrecombinational intra-strand annealing[J]. *Genes & Development*, 2000, 14(14): 1789–1796.
- [50] Qin Z, Cohen SN. Survival mechanisms for *Streptomyces* linear replicons after telomere damage[J]. *Molecular Microbiology*, 2002, 45(3): 785–794.