



放线菌中与抗生素合成相关 TetR 家族转录因子的研究进展

倪静姝¹ 汪焰胜¹ 吴杭^{2*} 张部昌¹

1 安徽大学物质科学与信息技术研究院 安徽 合肥 230601

2 安徽大学生命科学学院 安徽 合肥 230601

摘要: 放线菌是天然抗生素的重要来源, 放线菌中存在着种类繁多的转录因子, 精细控制着作为次级代谢产物的抗生素生物合成。作为原核生物单组分信号传递系统中的一个重要家族, TetR 家族转录调控因子(TetR family transcriptional regulators, TFRs)广泛参与调控抗生素生物合成、药物外排、初级代谢等多种生理过程。本文综述了近几年放线菌 TFRs 的研究进展, 并结合本实验室的研究工作, 从 TFRs 作用靶基因的角度着重阐述了放线菌 TFRs 参与几种重要抗生素生物合成的分子调控机制, 概述其应答的配体, 并总结与展望了放线菌 TFRs 在抗生素产量提高、沉默基因簇激活、调控元件设计与开发等方面的应用进展。

关键词: TetR 家族调控因子, 放线菌, 抗生素, 靶基因, 配体

Progress in TetR family transcriptional regulator related to antibiotic synthesis in actinomycetes

NI Jing-Shu¹ WANG Yan-Sheng¹ WU Hang^{2*} ZHANG Bu-Chang¹

1 Institutes of Physical Science and Information Technology, Anhui University, Hefei, Anhui 230601, China

2 School of Life Sciences, Anhui University, Hefei, Anhui 230601, China

Abstract: Actinomycetes are an important source of natural antibiotics, and have a wide variety of transcription factors that precisely control the biosynthesis of antibiotics as secondary metabolites. As an important family of prokaryotic single-component signaling systems, TetR family transcriptional regulators (TFRs) are involved in the regulation of multiple cellular activities such as antibiotic biosynthesis, drug efflux, primary metabolism. On the basis of the recent studies in our lab and the research advances published, we review here the molecular regulatory mechanism of TFRs involved in the biosynthesis of several important antibiotics from the perspective of regulated target genes, and outlined the ligands of TFRs. Finally, this review summarizes and indicates the application of TFRs in increasing antibiotic production, activating silent cryptic gene clusters and artificially exploiting synthetic biology elements.

Keywords: TetR family transcriptional regulators, Actinomycetes, Antibiotics, Targets, Ligand

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (31300081, 31570074, 31600064)

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

Received: 20-11-2018; **Accepted:** 22-01-2019; **Published online:** 25-01-2019

基金项目: 国家自然科学基金(31300081, 31570074, 31600064)

***通信作者:** Tel: 0551-63861420; E-mail: wuhang@ahu.edu.cn

收稿日期: 2018-11-20; **接受日期:** 2019-01-22; **网络首发日期:** 2019-01-25

抗生素是微生物通过复杂生物合成途径产生的具有结构多样与生物活性广泛的次级代谢产物^[1],例如阿维菌素、红霉素、井冈霉素、林可霉素、多杀菌素等。随着基因组测序技术的发展,许多放线菌的基因组序列被测定完成,发现放线菌基因组含有大量次级代谢物生物合成基因簇,一般包括生物合成的结构基因、抗性基因和调控基因^[2]。除了位于抗生素生物合成基因簇内的途径特异性调控基因外,放线菌还编码多效调控或全局性调控等种类繁多的转录因子,形成复杂多样的分子调控模式^[3]。

近年来,应用基因工程技术与分子生物学等方法^[4],对放线菌转录调控基因的功能和作用机制进行了研究,发现 TetR 家族转录调控因子(TetR family transcriptional regulators, TFRs)不仅可以调控抗生素的生物合成,还可以调节放线菌形态分化、药物外排、初级代谢、群体感应、应对渗透胁迫等生理过程^[5-7]。TetR 是以该家族第一个成员四环素抗性阻遏蛋白(Tet repressor, TetR)命名的^[7],常以二聚体形式发挥作用,二聚体包括两个同型单体结构,每个单体含两个结构域:DNA 结合结构域和配体结合结构域,前者一般在 N 端,序列保守,存在一个螺旋-转角-螺旋基序;后者位于 C 端,一级序列差异大,表明 TFRs 配体具有多样性^[7]。

TFRs 广泛分布在细菌或古菌等微生物中,其中在放线菌中该家族成员数量最多。天蓝色链霉菌(*Streptomyces coelicolor*)编码 153 个 TFRs,阿维链霉菌(*Streptomyces avermitilis*)编码 115 个 TFRs,灰色链霉菌(*Streptomyces griseus*)编码 104 个 TFRs,红色糖多孢菌(*Saccharopolyspora erythraea*)编码 101 个 TFRs 等,说明 TFRs 在放线菌复杂的形态分化和生理代谢途径中发挥着重要作用^[8-9]。研究发现,TFRs 可作用抗生素生物合成基因簇,还可调控簇外基因的表达,进而负调控或正调控抗生素的生物合成^[10-11]。本文从 TFRs 作用靶基因的角度

出发,结合本实验室的研究工作,综述了近几年放线菌中 TFRs 参与几种重要抗生素生物合成的分子调控机制(表 1),并概述其应答的配体。在此基础上,总结与展望了 TFRs 在抗生素产量提高、沉默基因簇激活和调控元件设计上的应用。

1 TFRs 调控簇内基因

TFRs 通过其 DNA 结合结构域与靶基因的启动子区结合,从而调控靶基因的转录。TFRs 直接调控抗生素生物合成的方式是与抗生素生物合成基因簇内基因启动子区结合。

红霉素是由红色糖多孢菌产生的一类大环内酯类抗生素,但其合成基因簇中不存在调控基因,推测簇外调控因子在红霉素生物合成中扮演着重要的角色^[8,30]。红色糖多孢菌全基因组中存在大量的转录调控基因,最早报道的多效转录因子 BldD 可直接调控红霉素生物合成^[30]。这些基因编码多种转录调控蛋白家族,其中成员最多的是 TFRs。本实验室研究发现两个 TFRs (SACE_7301 和 SACE_3446),直接与红霉素生物合成基因簇中聚酮合成酶基因 *eryA1* 和抗性基因 *ermE* 启动子区结合,分别正向和负向调控红霉素的生物合成^[11-12,30]。近期,本实验室在林可链霉菌(*Streptomyces lincolnensis*)中鉴定了第一个 TFR (SLCG_2919),可与林可霉素基因簇中所有结构基因、抗性基因与调控基因启动子区结合,通过直接控制这些基因的转录,负调控林可霉素的生物合成^[10]。

在阿维链霉菌中阿维菌素生物合成基因簇编码一个特异性调控蛋白 AveR^[31],近年来研究发现的两个 TFRs (AveR1 和 AveR2)都可与 *aveR* 启动子区结合,负调控阿维菌素的生物合成^[16-17]。在模式放线菌天蓝色链霉菌中,发现一个 TFR (XdhR)通过与放线紫红素生物合成基因簇内编码途径特异性调节蛋白的两个基因 *acII-4* 和 *actII-1* 启动子区结合,进而负调控放线紫红素的产生^[23]。在产达托霉素的玫瑰孢链霉菌(*Streptomyces roseosporus*)

表 1 放线菌抗生素合成相关 TFRs 调控的靶基因

Table 1 Target genes regulated by TFRs related to antibiotic biosynthesis in actinomycetes

TFRs	菌株 Strains	调控的靶基因 Target genes	调控抗生素生物合成 Antibiotics	参考文献 References
SACE_7301	<i>Saccharopolyspora erythraea</i>	<i>eryA, ermE</i>	+: Erythromycin	[11]
SACE_3446	<i>Saccharopolyspora erythraea</i>	<i>eryA, ermE</i>	-: Erythromycin	[12]
SACE_3986	<i>Saccharopolyspora erythraea</i>	<i>SACE_3985</i>	-: Erythromycin	[13]
SACE_5754	<i>Saccharopolyspora erythraea</i>	<i>SACE_0388, SACE_6194</i>	-: Erythromycin	[14]
SACE_3396	<i>Saccharopolyspora erythraea</i>	<i>pccBC, pccA, SACE_3880–3884</i>	-: Erythromycin	[15]
SLCG_2919	<i>S. lincolnensis</i>	<i>lm cluster, SCGL_2920</i>	-: Lincomycin	[10]
AveR1	<i>S. avermitilis</i>	<i>aveR, aco, cyp17, avaR1, avaR2, avaR3, aveT, rpsQ, rpmB, sav3560, sig29, pstB, nuoB, leuD, amfC</i>	-: Avermectin	[16]
AveR2	<i>S. avermitilis</i>	<i>aveR, aco, cyp17, avaR1, avaR2, avaR3, aveT, sav1230, sav3560, sig29, pstB, nuoB1, leuD, sav2051, rpsQ, rpmB, folp2, amfC</i>	-: Avermectin	[17]
SAV7471	<i>S. avermitilis</i>	<i>sav1104, sav1258, sav7472-sav7473</i>	-: Avermectin	[18]
SAV151	<i>S. avermitilis</i>	<i>sav152-sav153-sav154</i>	-: Avermectin	[19]
SAV576	<i>S. avermitilis</i>	<i>sav575, sav576, sav577</i>	-: Avermectin	[20-21]
SAV577	<i>S. avermitilis</i>	<i>sav575, sav576</i>	-: Avermectin	[21]
AveT	<i>S. avermitilis</i>	<i>aveT, pepD2, aveM</i>	+: Avermectin	[22]
XdhR	<i>S. coelicolor</i>	<i>xdhR, sco1134, act II-4, act II-1, xdhABC</i>	-: Actinorhodin	[23]
AtrA	<i>S. roseosporus</i>	<i>dptE, atrA</i>	+: Daptomycin	[24]
DepR1	<i>S. roseosporus</i>	<i>dptE, depR1</i>	+: Daptomycin	[25]
JadR*	<i>S. venezuelae</i>	<i>jadY, jadR1, jadI, jadE</i>	-: Jadomycin	[26]
JadR2	<i>S. venezuelae</i>	<i>jadR1, jml</i>	-: Jadomycin	[27]
CHIF1	<i>S. antibioticus</i>	<i>chlJ, hIF1, chlG, chlK</i>	+: Chlorothricin	[28]
RifQ	<i>Amycolatopsis mediterranei</i>	<i>rifP</i>	-: Rifamycin	[1]
PaaP	<i>S. pristinaespiralis</i>	<i>paa cluster</i>	+: Pristinamycin PI	[29]

注: +: 促进或激活抗生素生物合成; -: 抑制抗生素生物合成.

Note: +: Enhancing or activating antibiotics biosynthesis; -: Repressing antibiotics biosynthesis.

中, 目前已报道两个 TFRs (AtrA 和 DepR1) 可直接结合达托霉素生物合成基因簇中 *dptE* 的启动子, 激活达托霉素基因簇的转录表达, 正调控达托霉素的生物合成^[24-25], 其中 AtrA 同源蛋白在链霉菌中广泛存在(图 1), 调控着多种类型抗生素的生物合成, 暗示 TFRs 调控功能的保守性。

2 TFRs 调控簇外基因

2.1 抗生素生物合成前体代谢基因

微生物次级代谢物大多数源自一些关键初级代谢物, 如短链脂肪酸、氨基酸、糖与氨基糖等^[32], 这些前体是决定次级代谢物生物合成产量的关键^[33]。

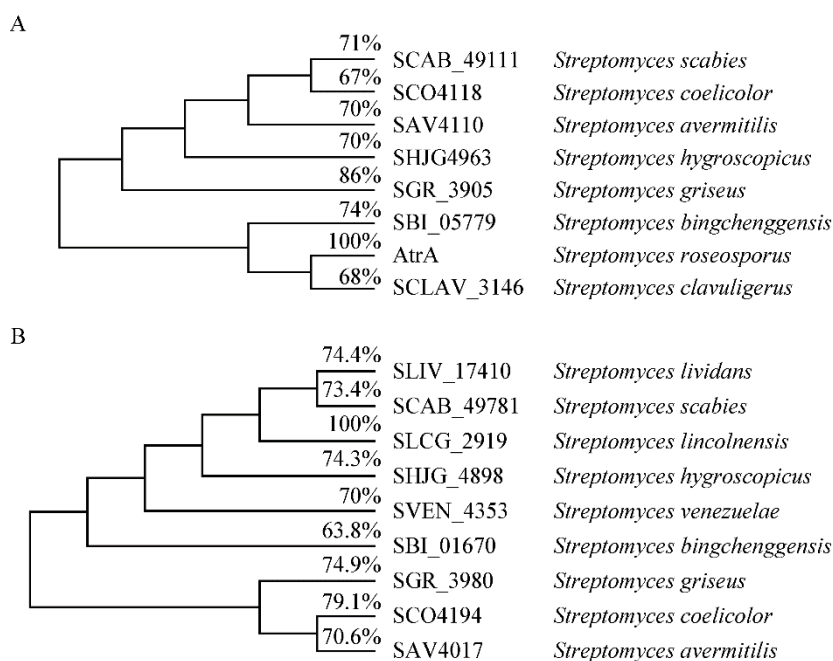


图 1 玫瑰孢链霉菌 AtrA 与林可链霉菌 SLCG_2919 的系统进化树

Figure 1 Phylogenetic tree of AtrA and SLCG_2919 in *Streptomyces*

注: A: 玫瑰孢链霉菌 AtrA 的进化树; B: 林可链霉菌 SLCG_2919 的进化树. 分支点上数字表示蛋白的相似性.

Note: A: Phylogenetic tree of AtrA; B: Phylogenetic tree of SLCG_2919. The number at each knot represents protein identities.

红色糖多孢菌中红霉素生物合成的直接前体是丙酰辅酶 A 和甲基丙二酰辅酶 A^[34-36], 甲基丙二酰辅酶 A 可通过甲基丙二酰辅酶 A 变位酶途径和丙酰辅酶 A 羧化酶途径合成^[15], 丙酰辅酶 A 可以通过乙酰辅酶 A 羧化酶途径和分支氨基酸降解途径生成^[37-38]. 近期发现了一个 TFR (PccD), 可通过负调控下游的丙酰辅酶 A 羧化酶基因簇的转录, 影响甲基丙二酰辅酶 A 的供应; 同时下调分支氨基酸降解的 *bkd* 操纵子转录水平, 减少丙酰辅酶 A 的供应, 进而负调控红霉素的生物合成^[15,37].

阿维菌素的生物合成直接前体是异丁酰基辅酶 A、2-甲基丁酰辅酶 A、丙二酰辅酶 A 和甲基丙二酰基辅酶 A, 合成过程需要大量的辅酶 A 供应^[39]. *sav7472-sav7473* 编码的产物可能与泛酸和辅酶 A 的代谢有关, TFR SAV7471 可以直接抑制下游 *sav7472-sav7473* 操纵子转录, SAV7471 可能是通过抑制 CoA 浓度影响前体的形成从而负调控阿维

菌素的生物合成^[18]. 另一个 TFR (SAV151) 是通过直接抑制临近基因簇 *sav152-sav153-sav154*, 负调控阿维菌素的生物合成. *sav152* 和 *sav154* 分别编码的脱氢酶和水解酶可能为阿维菌素生物合成提供能量或前体^[19].

始旋链霉菌(*Streptomyces pristinaespiralis*)中, L-苯基甘氨酸是原始霉素 I 生物合成前体, 可由苯乙酰辅酶 A 生成. TFR PaaR 因为抑制 *paa* 簇内基因的表达, 使得苯乙酰辅酶 A 更多流向 L-苯基甘氨酸生物合成途径, 从而促进原始霉素 I 的生物合成^[29].

2.2 其他初级代谢基因

TFR 除了可以调控上述前体代谢, 还可以参与调控脂质代谢、嘌呤代谢等. 本实验室发现 SACE_3986 通过抑制其上游编码短链脱氢酶/还原酶 SACE_3985 基因的转录, 间接负调控红霉素生物合成^[13]; SACE_3446 抑制上游编码长链脂肪酸

辅酶 A 连接酶基因 *SACE_3447* 的转录, 抑制红霉素的产生^[12]。阿维链霉菌中, SAV7471 还可以直接结合靶基因 *sav1104* 和 *sav1258* 启动子区, 这两个基因都编码乙酰辅酶 A 合成酶/长链脂肪酸辅酶 A 连接酶, 可能参与脂质代谢^[18]。*xdhABC* 基因簇编码黄嘌呤脱氢酶复合物, XdhR 通过直接抑制靶基因簇 *xdhABC* 的转录调控放线紫红素的生物合成^[23]。

2.3 簇外调控基因与抗性基因

TFRs 还可以通过调控簇外调控基因以及自身参与抗生素的生物合成。阿维链霉菌中两个相邻 TFRs (SAV576 和 SAV577) 都负调控阿维菌素的生物合成, 两者互相抑制对方转录, 其中 SAV576 还抑制自身的转录表达^[20-21]。

细菌具有不同的抗性机制对抗有毒成分, 这些有毒成分包括药物和抗生素等。TFR 家族发现的第一个成员 TetR, 就是调控四环素的转运被命名的^[7]。研究发现林可链霉菌 *SLCG_2919* 调控的临近靶基因 *SLCG_2920* 编码了一个 ATP/GTP 结合蛋白, 推测 *SLCG_2919* 与 *SLCG_2920* 蛋白之间形成了一个反馈调节回路, *SLCG_2920* 过表达可提高林可链霉菌对林可霉素的抗性^[10], *SLCG_2919* 及其临近编码 ATP/GTP 结合蛋白的基因组合广泛存在于多种链霉菌中(图 1)。AveT 作用的靶基因之

一 *aveM* 编码一个跨膜外排蛋白, 该蛋白能够抑制阿维菌素的生物合成, AveT 通过抑制 *aveM* 的转录表达提高阿维菌素的产量^[22]。

2.4 γ -丁酸内酯类信号分子的生物合成基因

γ -丁酸内酯等自调控因子可作为信号分子, 控制相关次级代谢物的产生与形态分化, 如最初发现的灰色链霉菌中的 A 因子和最近在圈卷产色链霉菌发现的 3 个丁烯羧酸内酯 SAB1、2、3^[40-42]。在阿维链霉菌中, AveR1 和 AveR2 编码 γ -丁酸内酯受体同系物。Avenolide 是阿维链霉菌中的一种新型的丁烯羧酸内酯类小分子, 该物质在低浓度下能够诱导阿维菌素的生物合成^[43]。AveR1 和 AveR2 则可与 Avenolide 生物合成基因 *aco* 启动子区结合, 抑制 *aco* 的转录, 从而负调控阿维菌素的生物合成^[16-17]。

3 TFRs 的配体

TFRs 与其作用靶点的结合受到一些小分子配体的调控, 即 TFRs 与配体结合后改变其构象, 增强或抑制其与靶基因的结合力, 进而控制其靶基因的转录表达^[7]。近年来研究发现, 放线菌中与抗生素合成相关的 TFRs 主要应答 γ -丁酸内酯类信号分子、ppGpp、GTP 和抗生素及其生物合成中间体或前体(表 2)。阿维链霉菌中 AveR1 和

表 2 TFRs 的配体与保守的 DNA 结合序列

Table 2 Ligands and conserved DNA-binding sequences of TFRs

TFRs	配体 Ligand	N 端结合的保守序列 Conserved sequence of TFRs (5'→3')	参考文献 References
RifQ	Rifamycin B	ACCGACCCCTTATATGGTGTATAAGAA	[1]
PccD	Methylmalonic acid	t/aTGACGg/cTGt/cTGt/a	[15]
AveR1	Avenolide	AWWCCRBBHDDNMSGTWT	[16]
AveR2	Avenolide, Apramycin, Jadomycin B, Hygromycin B	AWWCCRBBHDDNMSGTWT	[17]
AveT	C-5-O-B1	CGAAACGKTKYCGTTTCG	[22]
XdhR	ppGpp, GTP	AACGGACAGTTGTCCGCT	[23]
JadR*	Jadomycin B (JdB), 2,3-Dehydro-UWM6 (DHU), Dehydrabelomycin (DHR), Jadomycin A (JdA)		[26]
CHIF1	Chlorothricin, Demethylsalicyloyl-chlorothricin, Deschloro-chlorothricin	GTAANNATTTAC	[28]
PaaP	Phenylacetyl coenzyme A (PA-CoA)	ACCGA-n4-TCGGT AACGA-n4-TCGGT	[29]
JadR2	Jadomycin, Chloramphenicol		[44]

AveR2 可以结合 γ -丁酸内酯类信号分子, 此外 AveR2 还能结合外源抗生素如杰多霉素 B、安普霉素和潮霉素 B^[16-17]; AveT 则是应答阿维菌素 B1 生物合成的中间体 C-5-O-B1^[22]。地中海拟无枝酸菌(*Amycolatopsis mediterranei*)利福霉素生物合成基因簇中 TFR RifQ 与利福霉素形成了自反馈调控回路, 调节胞内利福霉素的浓度^[1]。天蓝色链霉菌 XdhR 结合 ppGpp 或 GTP 后减弱了其与靶基因启动子区的结合力^[23]。在抗生链霉菌(*Streptomyces antibioticus*) chl 基因簇中 CHIF1 不仅可以响应终产物氯丝霉素, 还可以结合该抗生素生物合成的中间产物去甲基水杨酸-氯丝霉素(Demethylsalicycloyl-chlorothricin) 和脱氯-氯丝霉素(Deschloro-chlorothricin), 从而调节胞内抗生素的浓度^[28]。红色糖多孢菌 PccD 通过结合甲基丙二酸调控下游靶基因^[15]。委内瑞拉链霉菌(*Streptomyces venezuelae*) JadR* 和 JadR2 是杰多霉素生物合成基因簇中的两个调控因子, 其中 JadR* 与 2,3-脱氢-UWM6 (2,3-Dehydro-UWM6, DHU)、脱氢腊伯罗霉素(Dehydrorabelomycin, DHR)结合形成前馈调控回路, 通过及时供应辅因子 FMNH₂/FADH₂ 使 DHR 转化为杰多霉素 A, 此外 JadR* 还可以应答杰多霉素 B 和杰多霉素 A^[26]; 而 JadR2 则是通过结合杰多霉素和氯霉素对这两种抗生素的生物合成进行交叉调控^[44-45]。

4 总结与展望

越来越多的研究表明 TFRs 作用多样的靶基因, 有的甚至作为全局转录因子调控抗生素生物合成, 如阿维链霉菌中 AveI 不仅调控抗生素的生物合成, 还参与蛋白质合成和脂质代谢等其他重要生理过程^[46]。本文主要从 TFRs 作用靶基因的角度进行阐述, 是为了更好了解 TFRs 多元化调控的分子机制, 以便通过对 TFRs 及其靶基因的改造提高放线菌抗生素的产量。如阿维链霉菌中 aveT 基因的过表达及其编码转运蛋白的靶基因 aveM 的缺失都可提高阿维菌素的产量^[22]; 红色糖

多孢菌中缺失 SACE_5754 后再过表达靶基因 SACE_0388 和 SACE_5754 可显著提高野生菌与高产菌的红霉素产量^[14]。通过基因工程改造 TFRs 还可以激活沉默的隐性基因簇从而合成新型的天然产物。在天蓝色链霉菌中敲除 scbR2 激活了 cpk 基因簇, 产生了新的抗生素 Coelimycin^[47-48]。在委内瑞拉链霉菌中敲除 jadR2 后, 即使没有乙醇胁迫也可以合成杰多霉素 B^[27,45]。此外, 利用 TFRs 与靶基因启动子区结合高亲和力的特性, 可以设计与开发智能合成生物学元件, 如 Kouprina 等利用 TetR 与启动子区 tetO 稳定结合的特性, 设计了 alphoid^{tetO}-HAC 组合元件, 用于人类染色体以及基因组和癌症的研究^[49]。作为一类别构转录因子(Allosteric transcription factor, aTF), TFRs 应答配体后可将信号关联至其调控的 DNA 分子, Cao 等应用 TetR 开发出可检测环境中四环素的新型生物传感器, 具有灵敏度高和实际应用性强等特性^[50]。

目前寻找转录因子靶基因的方法有: 染色质免疫共沉淀(ChIP)^[20]、基因组水平的指数富集配体进化系统技术(gSELEX)^[51]、转录组技术^[14]以及利用相关生物信息学软件预测等方法^[18,52]。近年来, 研究者利用上述方法在不同的放线菌中构建了 TFRs 作用靶基因的调控网络, 但目前仍很少涉及到 TFRs 时序性调控网络的构建, 如在抗生素生物合成的不同时期, TFRs 作用靶基因是否有差异? 又是如何参与调控作用的? 调控过程中又有哪些配体参与, 其信号如何传导? 揭示 TFRs 控制抗生素生物合成的动态调控网络, 并将其应用到合成生物学元件开发及其微生物药物的高效制造是未来的研究热点之一。

REFERENCES

- [1] Lei C, Wang JZ, Liu YY, et al. A feedback regulatory model for RifQ-mediated repression of rifamycin export in *Amycolatopsis mediterranei*[J]. Microbial Cell Factoris, 2018, 17(1): 14
- [2] Nett M, Ikeda H, Moore BS. Genomic basis for natural product biosynthetic diversity in the actinomycetes[J]. Natural Product Reports, 2009, 26(11): 1362-1384

- [3] van der Heul HU, Bilyk BL, McDowall KJ, et al. Regulation of antibiotic production in actinobacteria: new perspectives from the post-genomic era[J]. *Natural Product Reports*, 2018, 35(6): 575-604
- [4] Ray S, Maitra A, Biswas A, et al. Functional insights into the mode of DNA and ligand binding of the TetR family regulator TylP from *Streptomyces fradiae*[J]. *Journal of Biology Chemistry*, 2017, 292(37): 15301-15311
- [5] Barbey C, Chane A, Burini JF, et al. A rhodococcal transcriptional regulatory mechanism detects the common lactone ring of AHL quorum-sensing signals and triggers the quorum-quenching response[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 2800
- [6] He XH, Li H, Pan YY, et al. SCO3129, a TetR family regulator, is responsible for osmotic stress in *Streptomyces coelicolor*[J]. *Synthetic and Systems Biotechnology*, 2018, 3(4): 261-267
- [7] Cuthbertson L, Nodwell JR. The TetR family of regulators[J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2013, 77(3): 440-475
- [8] Oliynyk M, Samborsky M, Lester JB, et al. Complete genome sequence of the erythromycin-producing bacterium *Saccharopolyspora erythraea* NRRL23338[J]. *Nature Biotechnology*, 2007, 25(4): 447-453
- [9] Ahn SK, Cuthbertson L, Nodwell JR. Genome context as a predictive tool for identifying regulatory targets of the TetR family transcriptional regulators[J]. *PLoS One*, 2012, 7(11): e50562
- [10] Xu YR, Ke ML, Li J, et al. TetR-type regulator SLCG_2919 is a negative regulator of lincomycin biosynthesis in *Streptomyces lincolnensis*[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2019, 85: e02091-18
- [11] Wu H, Chen M, Mao YR, et al. Dissecting and engineering of the TetR family regulator SACE_7301 for enhanced erythromycin production in *Saccharopolyspora erythraea*[J]. *Microbial Cell Factories*, 2014, 13: 158
- [12] Wu H, Wang YS, Yuan L, et al. Inactivation of SACE_3446, a TetR family transcriptional regulator, stimulates erythromycin production in *Saccharopolyspora erythraea*[J]. *Synthetic and Systems Biotechnology*, 2016, 1(1): 39-46
- [13] Wu PP, Pan H, Zhang CM, et al. SACE_3986, a TetR family transcriptional regulator, negatively controls erythromycin biosynthesis in *Saccharopolyspora erythraea*[J]. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 2014, 41(7): 1159-1167
- [14] Wu H, Chu ZL, Zhang WX, et al. Transcriptome-guided target identification of the TetR-like regulator SACE_5754 and engineered overproduction of erythromycin in *Saccharopolyspora erythraea*[J]. *Journal of Biological Engineering*, 2019, 13: 11
- [15] Xu Z, Wang M, Ye BC. TetR family transcriptional regulator PccD negatively controls propionyl coenzyme A assimilation in *Saccharopolyspora erythraea*[J]. *Journal of Bacteriology*, 2017, 199(20): e00281-17
- [16] Zhu JY, Chen Z, Li JL, et al. AvaR1, a butenolide-type autoregulator receptor in *Streptomyces avermitilis*, directly represses avenolide and avermectin biosynthesis and multiple physiological responses[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 2577
- [17] Zhu JY, Sun D, Liu WS, et al. AvaR2, a pseudo γ -butyrolactone receptor homologue from *Streptomyces avermitilis*, is a pleiotropic repressor of avermectin and avenolide biosynthesis and cell growth[J]. *Molecular Microbiology*, 2016, 102(4): 562-578
- [18] Liu YP, Yan TT, Jiang LB, et al. Characterization of SAV7471, a TetR-family transcriptional regulator involved in the regulation of coenzyme A metabolism in *Streptomyces avermitilis*[J]. *Journal of Bacteriology*, 2013, 195(19): 4365-4372
- [19] He F, Liu WS, Sun D, et al. Engineering of the TetR family transcriptional regulator SAV151 and its target genes increases avermectin production in *Streptomyces avermitilis*[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2014, 98(1): 399-409
- [20] Guo J, Zhang X, Luo S, et al. A novel TetR family transcriptional regulator, SAV576, negatively controls avermectin biosynthesis in *Streptomyces avermitilis*[J]. *PLoS One*, 2013, 8(8): e71330
- [21] Guo J, Zhang X, Chen Z, et al. Two adjacent and similar TetR family transcriptional regulator genes, SAV577 and SAV576, co-regulate avermectin production in *Streptomyces avermitilis*[J]. *PLoS One*, 2014, 9(6): e99224
- [22] Liu WS, Zhang QL, Guo J, et al. Increasing avermectin production in *Streptomyces avermitilis* by manipulating the expression of a novel TetR-family regulator and its target gene product[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2015, 81(15): 5157-5173
- [23] Fu JF, Zong GL, Zhang PP, et al. XdhR negatively regulates actinorhodin biosynthesis in *Streptomyces coelicolor* M145[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2017, 364(22). DOI: 10.1093/femsle/fnx226
- [24] Mao XM, Luo S, Zhou RC, et al. Transcriptional regulation of the daptomycin gene cluster in *Streptomyces roseosporus* by an autoregulator, AtrA[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2015, 290(12): 7992-8001
- [25] Yuan PH, Zhou RC, Chen XP, et al. DepR1, a TetR family transcriptional regulator, positively regulates daptomycin production in an industrial producer, *Streptomyces roseosporus* SW0702[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2016, 82(6): 1898-1905
- [26] Zhang YY, Pan GH, Zou ZZ, et al. JadR*-mediated feed-forward regulation of cofactor supply in jadomycin biosynthesis[J]. *Molecular Microbiology*, 2013, 90(4): 884-897
- [27] Xu GM, Wang J, Wang LQ, et al. "Pseudo" γ -butyrolactone receptors respond to antibiotic signals to coordinate antibiotic biosynthesis[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2010, 285(35): 27440-27448
- [28] Li Y, Li JJ, Tian ZH, et al. Coordinative modulation of chlorothricin biosynthesis by binding of the glycosylated intermediates and end product to a responsive regulator ChlF1[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2016, 291(10): 5406-5417
- [29] Zhao YW, Feng RR, Zheng GS, et al. Involvement of the TetR-type regulator PaaR in the regulation of pristinamycin I biosynthesis through an effect on precursor supply in *Streptomyces pristinaespiralis*[J]. *Journal of Bacteriology*, 2015, 197(12): 2062-2071
- [30] Chng C, Lum AM, Vroom JA, et al. A key developmental regulator controls the synthesis of the antibiotic erythromycin in *Saccharopolyspora erythraea*[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2008, 105(32): 11346-11351

- [31] Wen Y, Zhang LX. Avermectins, intelligently made in China[J]. *Hereditas* (Beijing), 2018, 40(10): 888-899 (in Chinese)
文莹, 张立新. 阿维菌素的中国“智”造[J]. *遗传*, 2018, 40(10): 888-899
- [32] Betina V. *Bioactive Secondary Metabolite of Microorganisms*[M]. Amsterdam: Elsevier, 1994: 69
- [33] Wu MC, Styles MQ, Law BJC, et al. Engineered biosynthesis of enduracidin lipoglycopeptide antibiotics using the ramoplanin mannosyltransferase Ram29[J]. *Microbiology*, 2015, 161(7): 1338-1347
- [34] Zhang BC, Huang XD. Erythromycin drug genetic engineering[J]. *Biotechnology & Business*, 2009(1): 66-71 (in Chinese)
张部昌, 黄训端. 红霉素类药物基因工程[J]. *生物产业技术*, 2009(1): 66-71
- [35] Marsden AF, Caffrey P, Aparicio JF, et al. Stereospecific acyl transfers on the erythromycin-producing polyketide synthase[J]. *Science*, 1994, 263(5145): 378-380
- [36] Hopwood DA, Sherman DH. Molecular genetics of polyketides and its comparison to fatty acid biosynthesis[J]. *Annual Review of Genetics*, 1990, 24: 37-62
- [37] Xu Z, Liu Y, Ye BC. PccD regulates branched-chain amino acid degradation and exerts a negative effect on erythromycin production in *Saccharopolyspora erythraea*[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2018, 84(8): e00049-18
- [38] Liu J, Chen YF, Wang WW, et al. Engineering of an Lrp family regulator SACE_Lrp improves erythromycin production in *Saccharopolyspora erythraea*[J]. *Metabolic Engineering*, 2017, 39: 29-37
- [39] Chen JS, Liu M, Liu XT, et al. Interrogation of *Streptomyces avermitilis* for efficient production of avermectins[J]. *Synthetic and Systems Biotechnology*, 2016, 1(1): 7-16
- [40] Wu H, Zhang BC, Ma QJ. Advances in *Streptomyces* autoregulators[J]. *Chinese Journal of Antibiotics*, 2007, 32(12): 712-718 (in Chinese)
吴杭, 张部昌, 马清钧. 链霉菌自动调控因子的研究进展[J]. *中国抗生素杂志*, 2007, 32(12): 712-718
- [41] Wang WX, Zhang JH, Liu X, et al. Identification of a butenolide signaling system that regulates nikkomycin biosynthesis in *Streptomyces*[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2018, 293(52): 20029-20040
- [42] Penzikova GA, Levitov MM, Anisova LN, et al. Formation of streptomycin by an inactive mutant strain of *Actinomyces streptomycini* under the effect of the stimulating factors[J]. *Antibiotiki*, 1971, 16(1): 27-32
- [43] Kitani S, Miyamoto KT, Takamatsu S, et al. Avenolide, a *Streptomyces* hormone controlling antibiotic production in *Streptomyces avermitilis*[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, 108(39): 16410-16415
- [44] Zhang YY, Zou ZZ, Niu GQ, et al. *jadR** and *jadR2* act synergistically to repress jadomycin biosynthesis[J]. *Science China Life Sciences*, 2013, 56(7): 584-590
- [45] Yang KQ, Han L, Vining LC. Regulation of jadomycin B production in *Streptomyces venezuelae* ISP5230: involvement of a repressor gene, *jadR2*[J]. *Journal of Bacteriology*, 1995, 177(21): 6111-6117
- [46] Chen L, Chen J, Jiang YQ, et al. Transcriptomics analyses reveal global roles of the regulator Avel in *Streptomyces avermitilis*[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2009, 298(2): 199-207
- [47] Gottelt M, Kol S, Gomez-Escribano JP, et al. Deletion of a regulatory gene within the *cpk* gene cluster reveals novel antibacterial activity in *Streptomyces coelicolor* A3(2)[J]. *Microbiology*, 2010, 156(8): 2343-2353
- [48] Gomez-Escribano JP, Song LJ, Fox DJ, et al. Structure and biosynthesis of the unusual polyketide alkaloid coelimycin P1, a metabolic product of the *cpk* gene cluster of *Streptomyces coelicolor* M145[J]. *Chemical Science*, 2012, 3(9): 2716-2720
- [49] Kouprina N, Petrov N, Molina O, et al. Human artificial chromosome with regulated centromere: a tool for genome and cancer studies[J]. *ACS Synthetic Biology*, 2018, 7(9): 1974-1989
- [50] Cao JQ, Yao YP, Fan KQ, et al. Harnessing a previously unidentified capability of bacterial allosteric transcription factors for sensing diverse small molecules *in vitro*[J]. *Science Advances*, 2018, 4(11): eaau4602
- [51] Wu H, Mao YR, Chen M, et al. Capturing the target genes of BldD in *Saccharopolyspora erythraea* using improved genomic SELEX method[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2015, 99(6): 2683-2692
- [52] Munch R, Hiller K, Grote A, et al. Virtual footprint and PRODORIC: an integrative framework for regulon prediction in prokaryotes[J]. *Bioinformatics*, 2005, 21(22): 4187-4189