

DOI: 10.13376/j.cbls/2019062

文章编号: 1004-0374(2019)06-0527-07

· 评述与综述 ·

## 链霉菌调控因子***bldA***的作用机制研究进展

范佳奕<sup>1,2</sup>, 王恩多<sup>1,2,3\*</sup>

(1 中国科学院上海生物化学与细胞生物学研究所, 分子细胞科学卓越创新中心, 分子生物学国家重点实验室, 上海 200031; 2 中国科学院大学, 北京 100864; 3 上海科技大学生命科学与技术学院, 上海 201210)

**摘要:** 链霉菌是一类具有特殊的形态分化和次生代谢的放线菌。*bldA* 编码链霉菌中唯一能有效识别亮氨酸密码子 UUA 的 tRNA<sup>Leu</sup>, 是链霉菌次生代谢途径的必需基因, 目前对于其全局调控功能已有详细报道。*bldA* 突变或缺失会导致链霉菌不能完成气生菌丝分化和抗生素合成, 这种调控主要是在翻译水平上完成。UUA 密码子缺少有效的 tRNA 翻译, 导致 mRNA 翻译受影响。*bldA* 自身也受到其下游靶基因的负反馈调控。此外, *bldA* 还有很多尚不明确的调控机制, 回答这些问题能帮助我们更好地理解抗生素合成途径, 为构建有应用前景的菌株奠定理论基础。

**关键词:** 链霉菌; *bldA*; 形态分化; 抗生素合成

中图分类号: Q93 文献标志码: A

## Advance of mechanism of the regulator *bldA* in *Streptomyces*

FAN Jia-Yi<sup>1,2</sup>, WANG En-Duo<sup>1,2,3\*</sup>

(1 State Key Laboratory of Molecular Biology, CAS Center for Excellence in Molecular Cell Science, Shanghai Institute of Biochemistry and Cell Biology, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China;

2 University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100864, China;

3 School of Life Science and Technology, Shanghai Tech University, Shanghai 201210, China)

**Abstract:** *Streptomyces* is a genus of actinobacteria characterized by morphological differentiation and secondary metabolism. *bldA* in *Streptomyces* encodes the only tRNA for a rare leucine UUA, which is necessary for secondary metabolism. So far there have been detailed reports about how *bldA* works as a global regulator. Knockout or mutation on *bldA* led to failure of production of aerial hyphae and antibiotics. Which is attributed to the regulatory effect of *bldA* on the translation level, as mRNA translation is disrupted caused by the lack of an effective tRNA<sup>Leu</sup>. *bldA* also receives negative feedback signal from other genes. Besides, there are still unclear regulating mechanism of *bldA*. Solving this question will provide us with a better understanding on antibiotics synthesis and establish a theoretical foundation for construction of promising strains.

**Key words:** *Streptomyces*; *bldA*; morphological differentiation; antibiotic production

链霉菌 (*Streptomyces*) 属原核生物界放线菌目链霉菌科, 是一种在各种土壤环境中广泛分布的革兰氏阳性 (G<sup>+</sup>) 丝状细菌<sup>[1]</sup>。链霉菌有两个显著特征。一是复杂的形态分化, 如图 1<sup>[2]</sup> 所示。链霉菌的生长始于孢子 (spore) 的萌发, 形成多核菌丝定植于土壤中、生长为营养基质菌丝 (vegetative mycelium), 在外界压力下, 基质菌丝进一步分化成气生菌丝 (aerial hyphae), 再通过卷曲分隔进一步生长, 形成孢子链 (spore chains)。孢子可以抵御外界压力, 同

时在空气中传播, 迁移到合适的环境中去。二是丰富的次生代谢产物。链霉菌利用其初级代谢产生的前体化合物和能量合成次生代谢产物, 以利于在自然环境下同其他生物的竞争。目前已发现的微生物来源的生物活性物质中, 约 2/3 是来源于放线菌产

收稿日期: 2019-02-20; 修回日期: 2019-02-26

基金项目: 国家自然科学基金项目(914402304)

\*通信作者: E-mail: edwang@sibcb.ac.cn

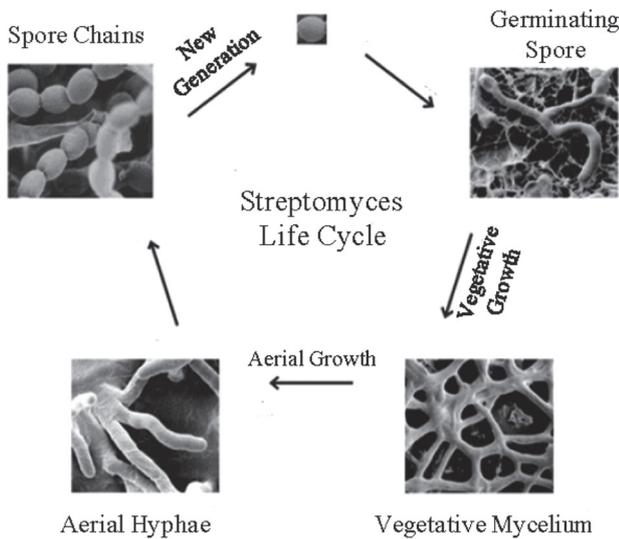


图1 链霉菌生长周期<sup>[2]</sup>

生的各种次生代谢产物，而链霉菌属合成的占了其中的 80%<sup>[2]</sup>。这些次生代谢产物不仅包括各类抗生素，还包括一些抗癌药、抗寄生虫药、除草剂、酶抑制剂等，在医学和工业上都有广泛应用。链霉菌的发育分化和次生代谢都受到复杂的网络调控，且两者密切相关。*bldA* 基因是链霉菌中到目前为止研究较详细的一个全局调控基因，既影响形态分化，又影响次生代谢。*bldA* 最早在模式菌株天蓝色链霉菌 (*Streptomyces coelicolor*) 中被鉴定到，现在已知其编码基因组中唯一有效识别稀有密码子 UUA (即基因序列含有 TTA) 的 tRNA。链霉菌是目前已知的基因组中 G+C 含量最高的一类生物，达 70%~74%<sup>[3]</sup>，因此 TTA 在链霉菌中十分罕见，天蓝色链霉菌基因组中共有 7 825 个开放阅读框<sup>[4]</sup>，但生物信息学分析表明其中仅有 145 个含有 TTA 的基因<sup>[5]</sup>。在随后的研究中也证实，*bldA* 的作用不仅仅局限于天蓝色链霉菌中，对于其他所知的大部分产抗生素的放线菌也有同样影响。本文将探讨 *bldA* 在各类链霉菌中对形态分化和抗生素产生的影响。

## 1 *bldA*对链霉菌形态变化及次级代谢变化的调控

### 1.1 形态变化

早期，Hopwood<sup>[6]</sup>就曾描述了一个特殊的不能形成气生菌丝和孢子的突变菌株，并将这种表型命名为光秃型 (bald，简称为 bld)，与之相关的一系列基因都以 *bld* 命名，*bldA* 是这一系列基因中最早被克隆的一个。但直到 1987 年，Lawlor 等<sup>[7]</sup>发现这个基因的翻译产物是一个解码 UUA 密码子的

tRNA<sup>Leu</sup>。随后，2003 年 Takano 等<sup>[8]</sup>发现 *bldA* 控制这一形态变化主要是通过一个含有 TTA 的基因 *adpA* (又名 *bldH*)。这段基因转录后含有 1 个 UUA 密码子，如果没有 *bldA* 编码的正确的 tRNA<sup>Leu</sup>，*adpA* 转录后就不能被正确翻译。*adpA* 编码一个全局性调控转录因子 AdpA，能够开启基因级联激活效应，进而控制形态分化和次生代谢，其具体作用在灰色链霉菌 (*Streptomyces griseus*) 中已经有详细研究<sup>[9]</sup>。如果把 *adpA* 中 TTA 用另外五个不同的亮氨酸简并密码子置换，如 TTG 或 CTC，能够部分恢复气生菌丝与孢子的形成<sup>[8,10]</sup>。此外，敲除 *adpA* 同样也会使天蓝色链霉菌产生光秃表型<sup>[10]</sup>，而敲除其他含有 TTA 的基因，其表型与野生型相比没有明显的变化<sup>[5]</sup>，表明这一形态变化确实是与 *adpA* 有关。敲除 *bldA* 会抑制气生菌丝生成是链霉菌属中非常普遍的一个现象，在灰色链霉菌<sup>[9]</sup>、阿维链霉菌 (*Streptomyces avermitilis*)<sup>[11]</sup>、白色链霉菌 (*Streptomyces albus*)<sup>[12]</sup> 和林可链霉菌 (*Streptomyces lincolnensis*)<sup>[13]</sup> 中都观察到此现象。

秃裸链霉菌 (*Streptomyces calvus*) 是另外一个说明 *bldA* 对菌株形态分化起作用的例子，其天然缺乏生成气生菌丝的能力，对其基因组进行分析后发现秃裸链霉菌携带的 *bldA* 编码的 tRNA<sup>Leu</sup> 带有一个 A21G 突变，不能折叠成正常的 tRNA；如果回补一个带有正确 *bldA* 序列的质粒到秃裸链霉菌中，其恢复了气生菌丝和孢子的形成<sup>[14]</sup>，但是到目前为止，并不清楚 *adpA* 在秃裸链霉菌所起的作用。值得注意的是，*bldA* 突变的菌株仅在以葡萄糖为碳源的基本培养基或者完全培养基中呈现光秃型，在一些迟效碳源，例如半乳糖、麦芽糖或者甘露醇为碳源的培养基中仍能产生气生菌丝<sup>[15]</sup>。这说明胞外营养压力对于链霉菌表型有影响。但目前发现与光秃表型相关的信号因子只有 *bldN* 编码的 sigma 因子，但这一因子并不调控 *bldA*<sup>[16]</sup>。此外，当突变体生长在野生型天蓝色链霉菌旁边，或者特定的其他三种光秃突变菌株 (*bldC*、*bldD* 和 *bldG*)，突变体能够恢复气生菌丝的形成<sup>[17]</sup>。这也说明了形态变化受到外界因素的影响。Willey 等<sup>[18]</sup>发现，bld 级联系统包括 *bld261*、*bldA*、*bldH*、*bldG*、*bldC*、*bldD*，最终调节 SapB 蛋白的合成释放。SapB 蛋白能降低水表面张力，使基质菌丝直立，才有可能分化成为气生菌丝<sup>[19]</sup>(图 2)。但在这个系统上下游仍有别的调控元件未被发现，如外界压力信号如何被传感器传到这个系统的，链霉菌细胞之间是如何交流的，菌

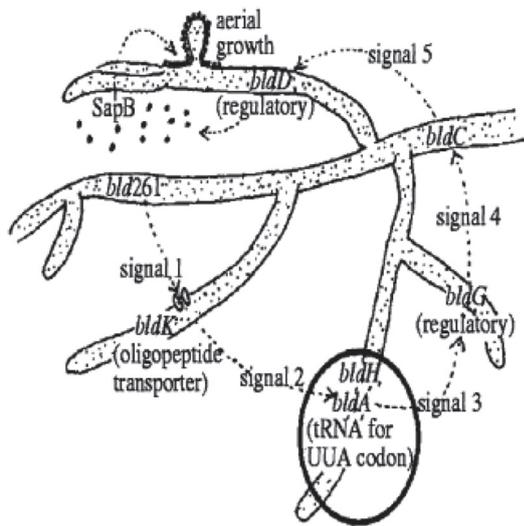


图2 天蓝色链霉菌中形态调节信号级联系统<sup>[20]</sup>

丝直立之后如何再进一步分化, 这些问题都还有待回答。

## 1.2 抗生素合成变化

链霉菌产生的抗生素具有极高的医学价值, 因此这一过程受到了科学家的重视。*bldA* 不仅调控链霉菌的形态发育, 还能够调控抗生素等次级代谢产物的合成。在链霉菌基因组中, 与特定的次生代谢途径相关的基因通常成簇排列, 成为抗生素合成基因簇。通过对数据库的检索比对, 可以预测不同属的链霉菌的抗生素合成基因簇, 在这些预测的基因簇中, 有 110 个基因簇中至少有一个基因含有 TTA, 62 个含有 TTA 的基因可能具有调节功能<sup>[21]</sup>, 这表明 *bldA* 在基因表达的翻译水平可能发挥着很重要的作用。

### 1.2.1 天蓝色链霉菌

天蓝色链霉菌 *bldA* 突变体丧失了合成放线菌紫素 (actinorhodin)、十一烷基灵菌红素 (undecylprodigiosin) 和次甲霉素 (methylenomycin) 的功能。而这些抗生素合成基因簇中都存在含有 TTA 的基因<sup>[21]</sup>。在放线菌紫素合成基因簇 (*act*) 中, 含有一个密码子的 *actII-ORF4* 编码一个途径专一性激活蛋白, 这个激活蛋白在积累到一定的量之后会进一步激活末端产物的合成基因<sup>[22]</sup>。十一烷基灵菌红素基因簇 (*red*) 中, *redZ* 基因含有一个 TTA, *redZ* 编码的蛋白质会激活其下游蛋白 *redD* 基因 (*redD*) 的转录, *redD* 编码的蛋白质与 *actII-ORF4* 同样具有正反馈作用<sup>[23]</sup>。次甲霉素合成则是一个更复杂的正反馈系统。这个合成过程由 *mmvB* 激活, 而 *mmvB* 的表达是由 *mmf* 系列基因调控。首先含有 TTA 的

*mmfL* 会与 *mmfH*、*mmfP* 共表达, 产生一种细胞外信号, 再刺激自身积累到一定水平后激活另一个含有 TTA 的调节基因 *mmvB* 的表达, *mmvB* 再经过自身反馈正调节, 积累到一定量后, 最终启动次甲霉素的合成<sup>[24]</sup>。

此外, 生化实验也证实了天蓝色链霉菌中抗生素的合成与 *bldA* 编码的 tRNA 的氨基酰化有关<sup>[25]</sup>。当 *bldA* 编码的 tRNA 不能被正确氨基酰化时, 天蓝色链霉菌的抗生素受阻, 肉眼无法在菌落上观察到放线菌紫素和十一烷基灵菌红素这两类抗生素的颜色。反之, 如果突变体 tRNA 能获得比野生型 tRNA 更高的接受亮氨酸的能力时, 天蓝色链霉菌的抗生素合成增多, 肉眼能明显观察到菌落颜色加深。

### 1.2.2 灰色链霉菌

灰色链霉菌是链霉素的主要生产菌株。携带 *bldA* 突变的灰色链霉菌菌株同样也不能产生链霉素<sup>[26]</sup>。但与天蓝色链霉菌不同的是, 除了其合成途径基因上含有 TTA 之外, *adpA* 也参与其中。*adpA* 及其下游基因都含有 TTA, 因此 *bldA* 突变会影响多个基因的翻译, 而且 *adpA* 还能反馈调节 *bldA*, 影响链霉菌体内这类 tRNA 的含量, 从而调控自身次生代谢<sup>[9]</sup>(图 3)。

### 1.2.3 林可链霉菌

林可链霉菌是一种安全低毒的厌氧细菌抗生素——林可霉素的主要生产菌株<sup>[28]</sup>。在林可链霉菌中敲除 *bldA*, 菌株会彻底失去合成林可霉素的能力, 回补 *bldA* 后, 这种能力部分恢复, 而过表达 *bldA*, 林可霉素产量会显著提高<sup>[13]</sup>。*bldA* 编码的 tRNA 是林可霉素合成基因簇 (*lmb*) 中两个重要基因 *lmbU* 和 *lmbB* 翻译所必需, 将这两个基因中的 TTA 置换为 CTA 时, 产量都可以恢复, 表明 *bldA* 直接调控这两个靶点<sup>[13]</sup>。

### 1.2.4 波赛链霉菌(*Streptomyces peucetius*)和秃裸链霉菌

波赛链霉菌体内不具有 UAA 反密码子的 tRNA, 因而被认为是一种 *bldA* 缺陷菌株, 但是波赛链霉菌能正常生产柔红霉素 (daunorubicin), 并且柔红霉素合成基因簇 (*dnr*) 上的一个关键基因 *dnrO* 包含有一个 TTA。目前这个密码子由哪个 tRNA 翻译尚不清楚, 但在波赛链霉菌体内表达 *bldA* 能显著提升柔红霉素的产量<sup>[29]</sup>。

秃裸链霉菌则是体内具有一个不能编码为正常 tRNA 的 *bldA* 基因, 而将 *bldA* 导入其体内, 秃裸链霉菌产生了 4-E/4-Z-annimycin 这种之前未被报道

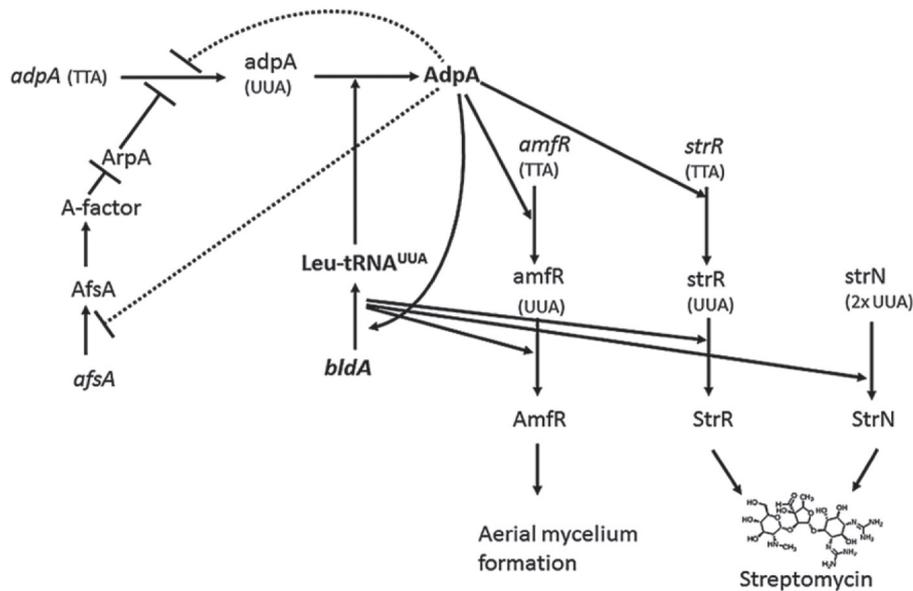


图3 灰色链霉菌中-AdpA反馈回路<sup>[27]</sup>

过的抗生素,说明 *bldA* 是这条通路的一个开关。但在这个抗生素的相关基因簇中并不包含 TTA,说明 *bldA* 不是通过合成 tRNA 直接调控,而目前这一机理尚不明确<sup>[14]</sup>。此外,秃裸链霉菌还是一类含氯核苷类似物抗生素的生产者,却不能生产不含氯的核苷类似物——核杀菌素(nucleocidin),但其体内有完整的相关合成基因簇。同样,在回补了正确表达的 *bldA* 基因后,在培养基中检测到了核杀菌素的生成<sup>[30]</sup>。这一现象为之前的链霉菌体内含有很多未被发现的抗生素合成基因会受 *bldA* 调控这一猜想提供了事实依据。

## 2 *bldA*基因表达的动态变化

*bldA* 的表达对于链霉菌形态分化和抗生素合成很重要,而这两个过程都是在链霉菌生长后期才会发生。在天蓝色链霉菌中,1993年 Leskiw 等<sup>[31]</sup>就发现 *bldA* 编码的 tRNA 在生长前 24 h 含量很少,但在 24 h 之后含量就有明显的上升,且这个上升趋势一直持续到 42 h,而其他 tRNA 的含量变化很小。随后在 2011 年, Pettersson 等<sup>[32]</sup>检测了更多种类的 tRNA,发现 *bldA* 的表达在链霉菌培养 24~42 h 快速上升,在 42 h 达到顶点后就开始逐渐下降,同样有这种表达模式的只有两种 tRNA (tRNA<sup>Leu</sup>(CAA)和 tRNA<sup>His</sup>(GUG)),而其他 10 种 tRNA 都是在第 48 h 含量才开始增加,这可能是由于 *bldA* 表达调控其他次生代谢的基因之后就可使其减少表达,而次生代谢这一过程需要大量的蛋白质合成,因此其他

tRNA 的含量上升了。

在球孢子链霉菌 (*Streptomyces globisporus*) 中,负责合成 landomycin 的基因簇 (*lnd*) 中的 *lndI* 基因含有一个 TTA, *bldA* 的积累效应就能很好地解释这个基因在转录和翻译之间的延迟。*lndI* 在 24 h 后才开始合成并逐渐增加含量,在 48~60 h 达到最大量,随后 *lndI* 的含量就开始减少。而如果将这个基因中的 TTA 替换为 CTC,这个效应就消失了, *lndI* 在 12 h 后就开始表达。说明 *bldA* 编码的 tRNA 在 24 h 后才可以被利用,而 *bldA* 也只能影响 *lndI* 的基因的翻译水平,但对其转录水平没有影响<sup>[33]</sup>。

## 3 *bldA*调控的组学分析

如上所述, *bldA* 在转录和翻译水平上的形态分化和次生代谢调控中起了重要作用。但要在庞大的基因组中筛选出几个重要的调控因子犹如大海捞针,而随着转录组学和蛋白质组学的兴起,这两种手段也被大量应用于链霉菌的调控研究。

2005 年, Kim 等<sup>[34]</sup>率先使用蛋白质组学分析了天蓝色链霉菌 pH4-7 的胞外蛋白质组和膜蛋白质组。在胞外蛋白质组中,他们发现与野生型相比, *bldA* 突变体有 21 种基因存在差异表达,有两种基因表达产物甚至高于野生型,但是这些基因都不包含 TTA。在膜蛋白质组中,他们发现了三种含量减少的蛋白质 SCO4244、SCO4252 和 SCO5249,一种含量增加的蛋白质 SCO7399,这些蛋白质的功能都尚未有研究,还有一些初级代谢相关基因的丰度

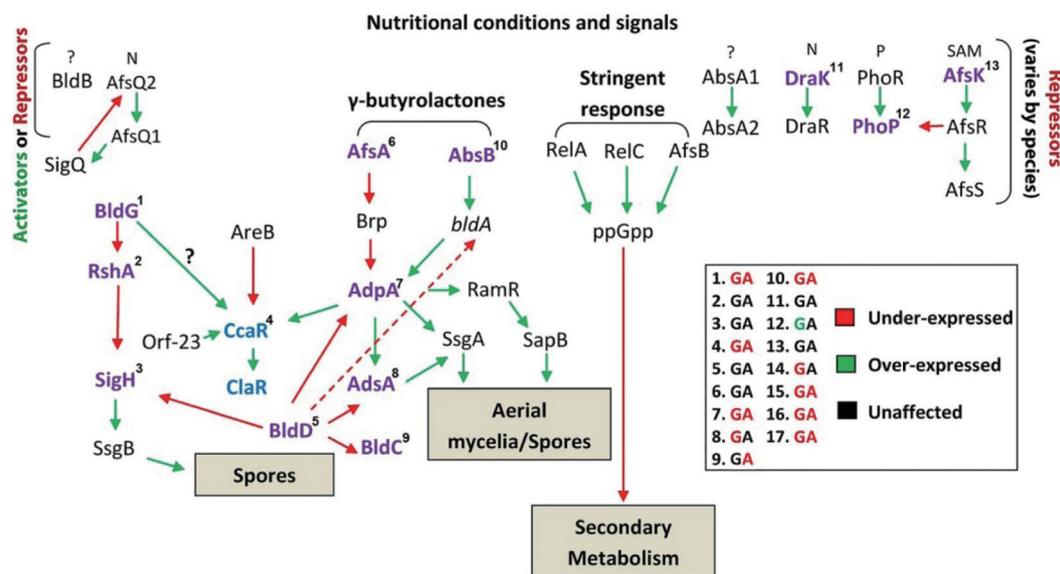
也发生了变化<sup>[35]</sup>。这也暗示了 *bldA* 在转录和翻译水平上还有很多间接调控作用尚未被发现。

蛋白质组学研究表明, 在模拟工业生产的液体培养的天蓝色链霉菌中, *bldA* 突变体的基因表达受到了很大影响。同样地, 这种条件下 *bldA* 的影响也是种积累效应。通过转录组学手段, 鉴定到了 74 种表达差异基因, 而通过蛋白质组学手段, 鉴定到了 85 种表达差异基因, 仅有 11 种基因是通过两种方法都能观察到差异表达的。同时在营养生长后期和分化时的一些相关基因也发生了差异表达, 暗示 *bldA* 可能影响一些初级生长代谢所需的基因<sup>[36]</sup>。Hesketh 等<sup>[36]</sup> 认为, *bldA* 的间接作用主要有三种: 一是, 某些基因会被含有 TTA 的基因调控, 但表达量很难以检测; 二是, 某些基因与含有 TTA 的基因表达共转录, 而只有一半的 mRNA 会被正确翻译; 三是, 在 *bldA* 突变体中, ppGpp 的水平受到了影响, 而 ppGpp 是一种响应细胞营养水平的小分子, 其丰度会影响链霉菌生长。在棒状链霉菌 (*Streptomyces clavuligerus*) 这种合成头霉素 C 和克拉维酸的链霉菌中, 根据蛋白质组学分析, Ferguson 等<sup>[37]</sup> 还针对 *bldA* 做了一个详细的调控网络 (图 4)。可以看到, *bldA* 下游仅调控 AdpA (这里不能排除有未检测到的蛋白质受到了调控), 同时 *bldA* 也受 AbsB 激活和 BldD 负向反馈。在这条通路中有一个特别的蛋白质 *ccaR*。Trepanier 等<sup>[38]</sup> 曾报道, 在 *bldA* 突变的棒状链霉菌中, 头霉素 C

和克拉霉酸的合成并不受影响, 这主要是由于 *ccaR* 蛋白不受影响。他们还进一步发现这一现象与 *ccaR* mRNA 水平无关, 而是 *ccaR* 上的 TTA 存在误翻译现象 (mistranslation), 这也是目前唯一一例链霉菌中 TTA 误翻译。但翻译成哪个氨基酸以及被哪个 tRNA 翻译都尚不明确。此外, 该研究仅列出了 *bldA* 在形态分化完整通路中的作用, 而对次生代谢产物没有详细阐述。

### 4 *bldA* 调控的生物信息学研究

首个链霉菌基因组——天蓝链霉菌 A3(2) 的基因组在 2002 年已经完成测序<sup>[4]</sup>。而后随着技术的发展, 目前同样完成测序的还有阿维链霉菌、诺尔斯氏链霉菌和抗菌素链霉菌等。根据链霉菌基因组分析显示, 它所编码的次生代谢途径远比我们目前已知的要多, 而生物信息学就能很好地帮助我们挖掘这些基因组数据所隐藏的信息。一个最直接的应用就是检索含有 TTA 的基因, 以找到所有会被 *bldA* 编码的 tRNA 直接调控的基因。在天蓝色链霉菌中发现了 145 个, 其中有 42 个是与阿维链霉菌共享的<sup>[5]</sup>, 这些基因大多数直到今天仍是功能未知。另一个例子则是将生物信息学用于检索可能的误翻译 UUA 密码子的 tRNA。Rokytsky 等<sup>[39]</sup> 将各种链霉菌的 tRNA 基因进行了比对分类解析, 同时也列出了可能的 tRNA 参与翻译后修饰相关基因, 但他们认为 UUA 密码子被误翻译的概率其实并不比



红色箭头表示抑制作用, 绿色箭头表示激活作用, 橘色字体表示在 *bldA* 突变体中表达量降低的因子。右下角方框内为在 *bldA* 突变体中有变化但在调控网络中位置尚不明确的基因。

图4 克拉维链霉菌中克拉维酸合成和形态变化调控网络<sup>[37]</sup>

其他几种亮氨酸密码子大, 而更应该考虑 *bldA* 受到的调控及转录后修饰的影响。但生物信息学手段的问题在于其结论难以得到实验数据的支持, 比如在天蓝色链霉菌中发现的 145 个基因, 阻断其中 21 种未知基因的表达, 发现这些基因不能表达, 对其形态和次生代谢都没有影响<sup>[5]</sup>。因此, 生物信息学更多地是为研究方向提供线索, 还是需要实验进一步验证这些猜想。

## 5 小结与展望

*bldA* 是链霉菌形态分化和次生代谢网络中的重要一员。1976 年发现它有调控功能, 而直到 1987 年才鉴定它为一个 tRNA 编码基因。这之后的研究大多集中于链霉菌中 *bldA* 的下游基因, 目前最主要的发现是 *bldA* 通过其编码的唯一能有效识别

UUA 密码子的 tRNA 的丰度来调控含有 TTA 的基因的表达, 同时这些基因也能调节其他基因的表达 (图 5)。*bldA* 基因还会受到其下游靶基因的负反馈调节, 比如 *AdpA* 和 *bldD*, 从而使链霉菌的次生代谢关闭 (图 5)。

但到目前为止, *bldA* 受到的调控仍不清晰。许多现象表明 *bldA* 除了负反馈调节, 还有其他的调节机制。比如在不同碳源的培养基上, *bldA* 突变的表型不同, 还有某些含有 TTA 的基因在 *bldA* 缺失的情况下仍能正常表达。此外, *bldA* 编码的 tRNA 是否完全依靠丰度来调控翻译, 这些问题都未得到解决。*bldA* 编码的 tRNA 的生化机制和转录后修饰也都不明确。回答这些问题能帮助我们更好地理解链霉菌次生代谢合成抗生素是如何被调控, 进而为抗生素高产菌株的改造奠定理论基础。

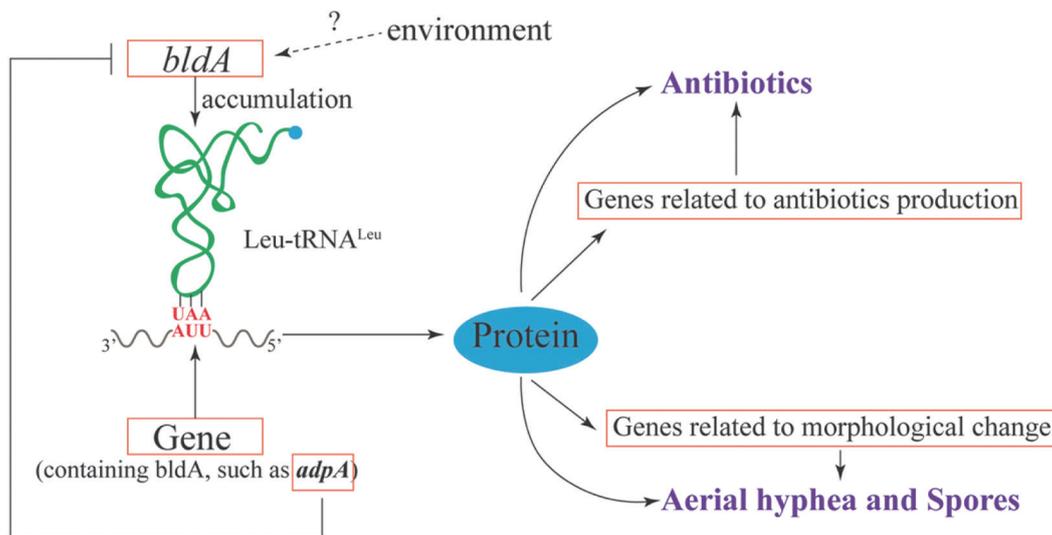


图5 *bldA*调控示意图

### [参 考 文 献]

- [1] Waksman SA, Henrici AT. The nomenclature and classification of the actinomycetes. *J Bacteriol*, 1943, 46: 337-41
- [2] Kieser T, Mervyn JB, Chater K, et al. *Practical Streptomyces Genetics* [M]. Norwich: The John Innes Foundation, 2000
- [3] Wright F, Bibb MJ. Codon usage in the G+C-rich *Streptomyces* genome. *Gene*, 1992, 113: 55-65
- [4] Bentley SD, Chater KF, Cerdeno-Tarraga AM, et al. Complete genome sequence of the model actinomycete *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Nature*, 2002, 417: 141-7
- [5] Li W, Wu J, Tao W, et al. A genetic and bioinformatic analysis of *Streptomyces coelicolor* genes containing TTA codons, possible targets for regulation by a developmentally significant tRNA. *FEMS Microbiol Lett*, 2006, 266: 20-8
- [6] Hopwood DA. Genetic analysis and genome structure in *Streptomyces coelicolor*. *Bacteriol Rev*, 1967, 31: 373-403
- [7] Lawlor EJ, Baylis HA, Chater KF. Pleiotropic morphological and antibiotic deficiencies result from mutations in a gene encoding a tRNA-like product in *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Gene Dev*, 1987, 1: 1305-10
- [8] Takano E, Tao M, Long F, et al. A rare leucine codon in *adpA* is implicated in the morphological defect of *bldA* mutants of *Streptomyces coelicolor*. *Mol Microbiol*, 2003, 50: 475-86
- [9] Higo A, Horinouchi S, Ohnishi Y. Strict regulation of morphological differentiation and secondary metabolism by a positive feedback loop between two global regulators AdpA and BldA in *Streptomyces griseus*. *Mol Microbiol*, 2011, 81: 1607-22
- [10] Nguyen KT, Tenor J, Stettler H, et al. Colonial differentiation in *Streptomyces coelicolor* depends on translation of a

- specific codon within the *adpA* gene. *J Bacteriol*, 2003, 185: 7291-6
- [11] 陶韦新, 吴菁, 邓子新, 等. 阿维链霉菌NRRL8165中**bldA<sub>a</sub>**的克隆及其对形态分化与阿维菌素合成的影响. *微生物学报*, 2007, 47: 34-8
- [12] Koshla O, Lopatniuk M, Rokytskyy I, et al. Properties of *Streptomyces albus* J1074 mutant deficient in tRNA<sup>Leu</sup>UAA gene *bldA*. *Arch Microbiol*, 2017, 199: 1175-83
- [13] Hou B, Tao L, Zhu X, et al. Global regulator BldA regulates morphological differentiation and lincomycin production in *Streptomyces lincolnensis*. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2018, 102: 4101-15
- [14] Kalan L, Gessner A, Thaker MN, et al. A cryptic polyene biosynthetic gene cluster in *Streptomyces calvus* is expressed upon complementation with a functional *bldA* gene. *Chem Biol*, 2013, 20: 1214-24
- [15] Merrick MJ. A morphological and genetic mapping study of bald colony mutants of *Streptomyces coelicolor*. *J General Microbiol*, 1976, 96: 299-315
- [16] Bibb MJ, Molle V, Buttner MJ.  $\sigma$ BldN, an extracytoplasmic function RNA polymerase sigma factor required for aerial mycelium formation in *Streptomyces coelicolor* A3(2). *J Bacteriol*, 2000, 182: 4606-16
- [17] Willey J, Santamaria R, Guijarro J, et al. Extracellular complementation of a developmental mutation implicates a small sporulation protein in aerial mycelium formation by *S. coelicolor*. *Cell*, 1991, 65: 641-50
- [18] Willey J, Schwedock J, Losick R. Multiple extracellular signals govern the production of a morphogenetic protein involved in aerial mycelium formation by *Streptomyces coelicolor*. *Genes Dev*, 1993, 7: 895-903
- [19] Tillotson RD, Wosten HA, Richter M, et al. A surface active protein involved in aerial hyphae formation in the filamentous fungus *Schizophyllum commune* restores the capacity of a bald mutant of the filamentous bacterium *Streptomyces coelicolor* to erect aerial structures. *Mol Microbiol*, 1998, 30: 595-602
- [20] 赵丽云. 天蓝色链霉菌中依赖性突变的遗传定位及克隆初探[D]. 武汉: 华中农业大学, 2006
- [21] Chater KF, Chandra G. The use of the rare UUA codon to define "expression space" for genes involved in secondary metabolism, development and environmental adaptation in *Streptomyces*. *J Microbiol*, 2008, 46: 1-11
- [22] Fernandez-Moreno MA, Caballero JL, Hopwood DA, et al. The *act* cluster contains regulatory and antibiotic export genes, direct targets for translational control by the *bldA* tRNA gene of *Streptomyces*. *Cell*, 1991, 66: 769-80
- [23] Leskiw BK, Lawlor EJ, Fernandez-Abalos JM, et al. TTA codons in some genes prevent their expression in a class of developmental, antibiotic-negative, *Streptomyces* mutants. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991, 88: 2461-5
- [24] O'Rourke S, Wietzorrek A, Fowler K, et al. Extracellular signalling, translational control, two repressors and an activator all contribute to the regulation of methylenomycin production in *Streptomyces coelicolor*. *Mol Microbiol*, 2009, 71: 763-78
- [25] Fan JY, Huang Q, Ji QQ, et al. LeuRS can leucylate type I and type II tRNA<sup>Leu</sup> in *Streptomyces coelicolor*. *Nucleic Acids Res*, 2019
- [26] Kwak J, McCue LA, Kendrick KE. Identification of *bldA* mutants of *Streptomyces griseus*. *Gene*, 1996, 171: 75-8
- [27] Hackl S, Bechthold A. The gene *bldA*, a regulator of morphological differentiation and antibiotic production in *Streptomyces*. *Arch Pharm (Weinheim)*, 2015, 348: 455-62
- [28] 陈春福, 郭一平, 王永胜, 等. 林可霉素产生菌的推理选育. *中国抗生素杂志*, 2002, 27: 394-7
- [29] Pokhrel AR, Chaudhary AK, Nguyen HT, et al. Overexpression of a pathway specific negative regulator enhances production of daunorubicin in *bldA* deficient *Streptomyces peuceetius* ATCC 27952. *Microbiol Res*, 2016, 192: 96-102
- [30] Zhu XM, Hackl S, Thaker MN, et al. Biosynthesis of the fluorinated natural product nucleocidin in *Streptomyces calvus* is dependent on the *bldA*-specified Leu-tRNA(UUA) molecule. *Chembiochem*, 2015, 16: 2498-506
- [31] Leskiw BK, Mah R, Lawlor EJ, et al. Accumulation of *bldA*-specified tRNA is temporally regulated in *Streptomyces coelicolor* A3(2). *J Bacteriol*, 1993: 1995-2005
- [32] Pettersson BM, Kirsebom LA. tRNA accumulation and suppression of the *bldA* phenotype during development in *Streptomyces coelicolor*. *Mol Microbiol*, 2011, 79: 1602-14
- [33] Rebets YV, Ostash BO, Fukuhara M, et al. Expression of the regulatory protein LndI for landomycin E production in *Streptomyces globisporus* 1912 is controlled by the availability of tRNA for the rare UUA codon. *FEMS Microbiol Lett*, 2006, 256: 30-7
- [34] Kim DW, Chater K, Lee KJ, et al. Changes in the extracellular proteome caused by the absence of the *bldA* gene product, a developmentally significant tRNA, reveal a new target for the pleiotropic regulator AdpA in *Streptomyces coelicolor*. *J Bacteriol*, 2005, 187: 2957-66
- [35] Kim DW, Chater KF, Lee KJ, et al. Effects of growth phase and the developmentally significant *bldA*-specified tRNA on the membrane-associated proteome of *Streptomyces coelicolor*. *Microbiology*, 2005, 151: 2707-20
- [36] Hesketh A, Bucca G, Laing E, et al. New pleiotropic effects of eliminating a rare tRNA from *Streptomyces coelicolor*, revealed by combined proteomic and transcriptomic analysis of liquid cultures. *BMC Genomics*, 2007, 8: 261
- [37] Ferguson NL, Pena-Castillo L, Moore MA, et al. Proteomics analysis of global regulatory cascades involved in clavulanic acid production and morphological development in *Streptomyces clavuligerus*. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 2016, 43: 537-55
- [38] Trepanier NK, Jensen SE, Alexander DC, et al. The positive activator of cephamycin C and clavulanic acid production in *Streptomyces clavuligerus* is mistranslated in a *bldA* mutant. *Microbiology* 2002, 148: 643-56
- [39] Rokytskyy I, Koshla O, Fedorenko V, et al. Decoding options and accuracy of translation of developmentally regulated UUA codon in *Streptomyces*: bioinformatic analysis. *Springerplus*, 2016, 5: 982