

芬芥素生物合成研究进展

闫更轩¹, 高欣策², 田 缘^{1*}

¹黑龙江省科学院微生物研究所, 黑龙江 哈尔滨

²乌海职业技术学院医学系, 内蒙古 乌海

收稿日期: 2022年4月25日; 录用日期: 2022年5月10日; 发布日期: 2022年5月19日

摘 要

芬芥素是一类具备优异抗丝状真菌活性的环状脂肽, 有望在植物保护、医疗健康、食品防腐等领域发挥重要作用。芬芥素的制备主要依赖于芽孢杆菌的生物合成。介绍了近年来在芬芥素合成途径、芬芥素合成关键基因挖掘、芬芥素合成工程菌的开发等方面取得的新进展, 以期为芬芥素的生物合成、生物活性与合成生物学的深入研究提供参考。

关键词

芬芥素, 生物合成, 芽孢杆菌, 发酵工程

Research Progress of Fengycin Biosynthesis

Gengxuan Yan¹, Xince Gao², Yuan Tian^{1*}

¹Institute of Microbiology Heilongjiang Academy of Sciences, Harbin Heilongjiang

²Department of Medicine, Wuhai Vocational and Technical College, Wuhai Inner Mongolia

Received: Apr. 25th, 2022; accepted: May 10th, 2022; published: May 19th, 2022

Abstract

Fengycin is a kind of cyclic lipopeptides with strong antifungal activity against filamentous fungi, which is expected to play an important role in plant protection, health care, food antisepsis and other fields. The preparation of fengycin mainly depends on the biosynthesis of bacillus species. The recent progress in the synthesis pathway, key gene discovery, and the development of engineering bacteria for fengycin synthesis are reviewed, in order to provide reference for the further study of fengycin biosynthesis, biological activity and synthetic biology.

*通讯作者。

Keywords

Fengycin, Biosynthesis, Bacillus, Fermentation Engineering

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

芬芥素(Fengycin)为一类芽孢杆菌经非核糖体途径特异性合成的环状脂肽分子, 结构稳定, 含有 β -羟基脂肪酸, 侧链长度为 16~19 个碳原子(图 1) [1]。芬芥素能够与真菌的细胞膜脂质双分子层及固醇分子发生作用, 从而改变细胞膜结构及通透性, 显著抑制丝状真菌活性[2]。有效防治由串珠镰刀菌(*Fusarium moniliforme*) [3]、灰葡萄孢菌(*Botrytis cinerea*) [4]、立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*) [5]等引发的植物病害。芬芥素安全风险低, 可抑制谷物、蔬菜储藏过程中发生的霉变, 以达到食品保鲜的目的[6]。在医疗领域中, 芬芥素被证实能够缓解由真菌引发的人畜局部皮肤感染, 并具有一定的抗肿瘤作用[7]。芬芥素具有低溶血活性, 独特的 D-氨基酸与环状结构使其与其它抗菌肽相比更不易被肽酶降解, 有望成为继达托霉素后一类应用于临床的新型脂肽类抗生素[8]。芬芥素的应用前景广阔, 可在真菌防治领域发挥重要作用。

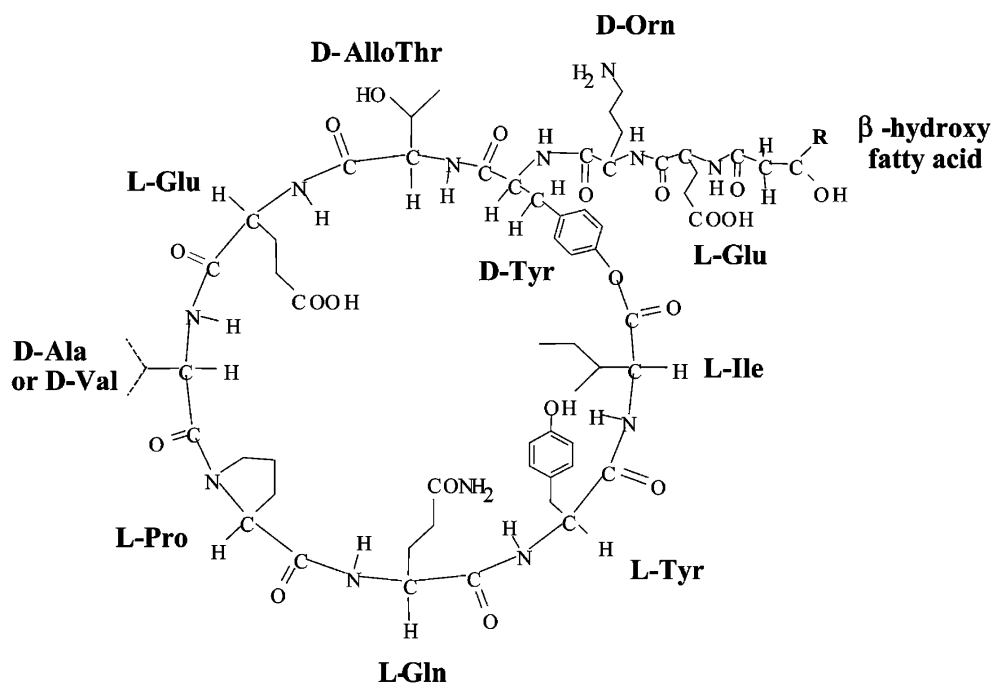


Figure 1. Chemical structural formula of fengycin
图 1. 芬芥素的化学结构式

芬芥素的制备主要依赖于菌株的生物合成提取, 其结构相对复杂, 少有高效化学合成方法的报道[9]。能够提取获得芬芥素的菌种主要有枯草芽孢杆菌、解淀粉芽孢杆菌以及地衣芽孢杆菌等[10], 但野生型菌种合成芬芥素的水平有限, 严重限制了芬芥素的产业化应用。芬芥素的生物合成涉及到多个酶催化组装

步骤, 调控机制复杂, 合成水平提高存在一定难度, 这也为底盘菌的改良、“细胞合成工厂”的构建带来了挑战。重点介绍了近年来芽孢杆菌中芬芥素的生物合成途径、调控因子挖掘、发酵条件优化及工程菌株构建等方面的研究进展, 为芬芥素的合成、制备及应用研究提供参考。

2. 芬芥素的生物合成途径

在芽孢杆菌中, 芬芥素的合成依赖于非核糖体肽合成酶(Non-ribosomal peptide synthetases, NRPS)系统(图2)[11]。NRPS的基本骨架为一系列与待合成脂肽氨基酸序列一致的线性重复排列模块, 每个模块通常包含三个核心区域, 即腺苷基(A)域、肽基载体蛋白(PCP)域和缩合(C)域, 分别对应底物识别和激活、转运催化中心及肽的形成过程, 最后一个结构域通常为终止(TE)域, 组装至该区域时即宣告此模块的合成结束[12]。第6和第7模块中的C和TE域是NRPS调控芬芥素生产的关键, 去除NRPS的第6个模块(Ala/Val)和第7个模块(Pro)可导致芬芥素在整个肽合酶系统中的缺失[13]。对于第6个模块, C和TE域的缺失导致芬芥素合成受阻, 而A域的缺失导致模块跳跃现象。芬芥素的NRPS系统由芬芥素合成酶操纵子, 即 *fenA* 到 *fenE* (在枯草芽孢杆菌中为 *ppsA* 到 *ppsE*) 的五个基因编码, 其中表达的 FenC 激活并组装第一及第二位氨基酸, FenB 则组装末位氨基酸, FenC 同时是芬芥素合成的 NRPS 启动模块[14]。芬芥素合成酶的启动子位于 FenC 转录起始位点上游 86 bp 处, 其中包含一段富含 A 及 T 碱基的 17 bp 上游元件, 直接决定了芬芥素启动子活性[15]。有研究表明, 即使上游元件仅发生点突变, 芬芥素的合成效率也会显著降低[16]。FenB 位于肽合酶基因簇的 C 端, 可调控芬芥素的生产, 释放成熟的芬芥素。当 *fenB* 基因被移除时, 合成的芬芥素不能被释放[17]。

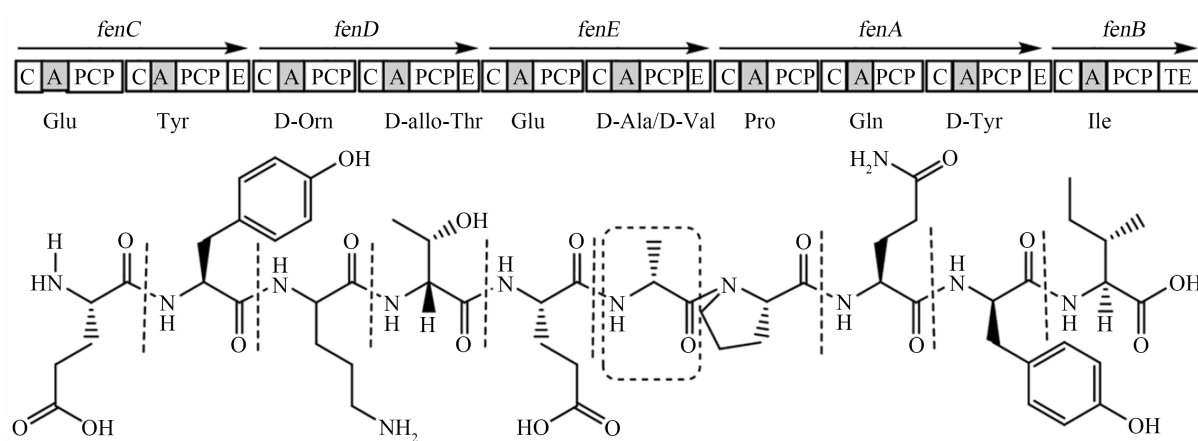


Figure 2. Biosynthesis pathway of fengycin
图2. 芬芥素的生物合成途径

尽管尚未构建完整的芬芥素合成调控网络, 但已有报道证实, 内源性因子, 如双组分调节因子(ComA/ComP)[18]、sigma A 因子和信号蛋白(DegU, DegQ)等[19]也可以影响用于芬芥素合成的环脂肽合成酶基因的表达, *sigA* 基因的上调可以增加芬芥素的产量。在低磷条件下, PhoR/PhoP 可以通过控制芬芥素合成酶基因的表达来调控芬芥素的生产[20]。PNPase 在芬芥素合成过程中对 NRPS 的调控也起着重要作用, PNPase 的缺失可以促进芬芥素合成酶基因表达的增加, 但芬芥素的产量显著下降[21]。PNPase 可能通过以下三条途径控制芬芥素的生产。首先, 通过敲除 *srfA-a* 来调节 *srfA* 的表达水平会导致芬芥素的表达显著下降, 而敲除 *srfA-c* 则对芬芥素没有影响, 因此, PNPase 可能通过调控 *comS* 和 *srfA* 来调控芬芥素的表达[22]。第二, 调节 *sigB* 的表达, PNPase 活性的丧失导致 *sigB* 基因表达水平上调, *sigB* 负向

调节芬芥素的产生[23]。最后是影响 DegQ 合成, DegQ 通过促进芬芥素基因的表达来促进芬芥素的产生。PNPase 的缺失促进了 ComK 的表达, ComK 负向调节 *degQ* 基因的表达从而改变芬芥素的合成水平。

芬芥素在芽孢杆菌内的生物合成途径已经较为明晰,但由于芬芥素的合成过程同时受到复杂的基因调控网络的作用,明确调控基因种类和功能是十分必要的。随着芬芥素合成机制研究的不断深入,芬芥素的合成调控网络将日渐趋于完整,这将为外源操纵芬芥素的生物合成带来更多可能。

3. 芬芥素生物合成发酵条件

芬芥素的生物合成产量受到培养方式及培养基质等因素的影响。已有研究显示,菌株合成脂肽的效率与发酵条件紧密关联。Pascal 等的研究表明,在无泡沫生物反应器中,枯草芽孢杆菌发酵脂肽类成分如芬芥素、表面活性素等的水平有所提高[24]。Ramkrishna 则证实在巨大芽孢杆菌中,单位时间内脂肽的合成量与接种量及发酵过程中的搅拌速率均有关联,且采用先浸没曝气、再表面曝气的方法能够显著增加芬芥素的选择合成倾向性,最高可占总脂肽合成量的 71% [25]。Sameh 等分析了枯草芽孢杆菌 BBG21 在不同溶解氧浓度下的发酵脂肽水平,发现体积溶氧系数 k_{La} 是控制脂肽合成产率和芬芥素选择性的关键参数,在恰当的供养条件下,即 $k_{La} = 0.01 \text{ s}^{-1}$ 时,芬芥素具备最高的选择性,随着搅拌速度的增加,溶解氧浓度的增大,芬芥素的产量呈现减少的趋势[26]。也有研究表明,固定化发酵培养有益于获得更高的脂肽产量。Moncef 等以 Fe^{2+} 交联聚丙烯固相载体固定莫海威芽孢杆菌 A21 进行发酵,48 h 后芬芥素的产量相比正常摇瓶培养提高了约 2.2 倍,但实验结果显示,相比发酵 48 h 进行收集,发酵 72 h 的产量反而有所下降,这可能是载体系统疏水性增加的缘故[27]。Jordan 设计了一种带搅拌器的旋转盘式生物反应器,以枯草芽孢杆菌 ATCC21332 为发酵菌种,在旋转速率为 30 min^{-1} 时,芬芥素的产量达到 944 mg/L ,脂肽选择性为 87.9%。此外,相对于应用无搅拌器的旋转盘式生物反应器发酵系统,芬芥素的产率增加了 33% [28],且改变培养基初始 pH 值仅会改变菌株的生长速率,对芬芥素的生物合成水平影响有限。由现有研究结果可知,在发酵过程中,溶解氧的动态水平是制约芬芥素生物合成的关键因素。

发酵菌种培养基质的选择也尤为重要。芬芥素的发酵产量主要与培养基中碳源、氮源的选择有关。Philippe 等通过改变枯草芽孢杆菌 BBG208 的培养底物得出以尿素或尿素铵混合物为氮源、甘露醇为碳源可诱导芬芥素合成启动子高表达的结论,研究中应用谷氨酸、牛肉膏或酪蛋白取代尿素作为补充氮源时,发现芬芥素合成启动子的表达活性大幅下降,芬芥素的合成产量显著降低;应用山梨醇、果糖、阿拉伯糖等取代甘露醇作为碳源时,芬芥素的生物合成会受到抑制,以葡萄糖作为碳源时,芬芥素的发酵产量则几乎没有受到影响[29]。南京农业大学的陆兆新团队比较了不同碳源对解淀粉芽孢杆菌 *fmb-60* 的芬芥素生物合成水平影响,结果显示,在果糖、葡萄糖、乳糖、阿拉伯糖、麦芽糖及山梨醇中,果糖作为碳源底物能够最大化的提高芬芥素的发酵产量,在果糖浓度为 25 g/L 时,检测到芬芥素合成相关调控因子 *comA*、*sigma H*、*degU* 和 *degQ* 的高表达,此时芬芥素的发酵产量达到最高,为 392.87 mg/L [30]。Edgardo 等发现解淀粉芽孢杆菌 MEP₂18 的生物量及芬芥素合成水平与发酵底物的碳氮比有关,研究团队分别以果糖、葡萄糖或蔗糖作为碳源,硝酸钾、硝酸铵或氯化铵作为氮源,比较不同组合及不同碳氮比对芬芥素合成水平的影响。研究结果显示,以葡萄糖作为碳源、以硝酸铵作为氮源,且碳氮比为 10:1 时,芬芥素的合成水平达到最高[31]。王阶平等通过改变培养基配方对贝莱斯芽孢杆菌的脂肽产量和抑菌活性进行了研究,结果显示培养基成分为蔗糖 20 g/L 、酵母浸膏 20 g/L 、牛肉浸膏 15 g/L 、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.6 g/L 、 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 9 mg/L 的条件下,芬芥素的发酵产量达 918 mg/L [32]。

结合现有研究可知,现有的芬芥素发酵底物的研究仍局限于营养基质中碳、氮源的选择上,且不同发酵菌种的最适培养基质类型有所不同。此外,大量及微量元素、生长因子等在芬芥素的生物合成中是否发挥作用、发挥怎样的作用仍需进一步研究。

4. 芬芥素工程菌的构建研究进展

芬芥素的合成基因簇序列较长, 工程菌的构建难度较大、效率较低, 国内外尚无基于编辑芬芥素合成基因簇实现芬芥素工程菌构建的报道。现有芬芥素工程菌的构建思路主要是改变芬芥素合成相关转录调控因子的表达水平, 国内外仅有少数研究, 且尚无法应用到工业生产中。南京农业大学的李响等应用强启动子 P43 实现 *sfp* 及 *degQ* 在不能合成芬芥素的枯草芽孢杆菌 168 菌株中的表达, 液相色谱分析确定 168 菌株成功合成了芬芥素, 且芬芥素合成基因簇中的 *ppsA-E* 相对表达量均提高了 10 倍以上[33]。通过代谢模型分析预测芬芥素合成调控靶点以构建高产工程菌株也是一种思路。有研究基于模型预测获得了 *accA* (编码 acetyl-CoA 羧化酶)、*cypC* (编码脂肪酸 β -羟化细胞色素 P450) 和 *gapA* (编码甘油醛-3-磷酸脱氢酶) 基因, 并分别构建了芬芥素合成工程菌株, 经检测, 芬芥素的生物合成产量分别提高了 56.4%, 46.6% 及 20.5% [34]。Yazen 等通过替换芬芥素合成酶基因簇的启动子, 将枯草芽孢杆菌 BBG21 合成芬芥素的量提高了约 10 倍, 并明确了启动子选择在芬芥素生物合成过程中的重要性[29]。淮阴工学院的周振等克隆获得了一段与 fengycin 合成代谢相关的非编码 RNA (FenSr3), 将该基因进行敲除后, 敲除工程菌株的芬芥素合成产量由 190.908 mg/L 增加到 327.598 mg/L, 提高了 72% [35]。

在代谢机制了解有限的条件下, 应用基因组重排技术能够快速获得理想的工程菌株。陆兆新团队基于基因组重排技术构建了芬芥素合成工程菌株 FMB72, 芬芥素合成水平相比原始菌株提高了 8.3 倍, 其中 *fenA* 基因表达水平上调了 12.77 倍[36]。遗憾的是, 现有研究中尚无更多应用此方法构建芬芥素合成工程菌株的报道, 同时, 以此获得的工程菌株传代时遗传稳定性和生物合成水平是否会发生改变仍然未知。限制工程菌株开发的另一因素是, 由于无合适的底盘菌株, 芬芥素只能依托芽孢杆菌属菌种进行合成, 相对于大肠杆菌等模式菌株, 进行遗传改造的难度更大。

总体来看, 现有的芬芥素工程菌株的构建目的仍然是对部分调控芬芥素合成的功能基因进行研究, 产量低、遗传稳定性差是工程菌株构建过程中面对的主要问题。芬芥素的工程菌株构建研究仍然处于起步阶段, 距离工业化应用仍然有着遥远的距离。

5. 展望

芬芥素有望在农业、医疗及食品安全行业发挥重要功能, 但受限于其复杂的生物合成系统, 芬芥素工程菌构建难度大、成本高、稳定性差、选择性较弱, 工业化生产成本过高、得率低, 难以实现市场化应用。随着芬芥素合成原理的明晰、合成生物学的发展及长片段基因簇编辑技术的成熟, 实现脂肽合成底盘菌株的基因组精简优化及芬芥素的定向合成, 有望助力芬芥素的生物合成产业迈上新的台阶。

基金项目

黑龙江省院所基本应用技术研究专项(2021JBKY002)。

参考文献

- [1] Schneider, J., Taraz, K., Budzikiewicz, H., *et al.* (1999) The Structure of Two Fengycins from *Bacillus subtilis* S499. *Zeitschrift für Naturforschung C*, **54**, 859-866. <https://doi.org/10.1515/znc-1999-1102>
- [2] Zakharova, A.A., Efimova, S.S., Malev, V.V., *et al.* (2019) Fengycin Induces Ion Channels in Lipid Bilayers Mimicking Target Fungal Cell Membranes. *Scientific Reports*, **9**, Article No. 16034. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-52551-5>
- [3] Hu, L.B., Shi, Z.Q., Zhang, T., *et al.* (2007) Fengycin Antibiotics Isolated from B-FS01 Culture Inhibit the Growth of *Fusarium moniliforme* Sheldon ATCC 38932. *FEMS Microbiology Letters*, **272**, 91-98. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2007.00743.x>
- [4] Touré, Y., Ongena, M., Jacques, P., *et al.* (2004) Role of Lipopeptides Produced by *Bacillus subtilis* GA1 in the Re-

- duction of Grey Mould Disease Caused by *Botrytis cinerea* on Apple. *Journal of Applied Microbiology*, **96**, 1151-1160. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2004.02252.x>
- [5] Hanif, A., Zhang, F., Li, P., *et al.* (2019) Fengycin Produced by *Bacillus Amyloliquefaciens* FZB42 Inhibits *Fusarium graminearum* Growth and Mycotoxins Biosynthesis. *Toxins*, **11**, 295.
- [6] Meena, K.R. and Kanwar, S.S. (2015) Lipopeptides as the Antifungal and Antibacterial Agents: Applications in Food Safety and Therapeutics. *BioMed Research International*, **2015**, Article ID: 473050. <https://doi.org/10.1155/2015/473050>
- [7] Cheng, W., Feng, Y.Q., Ren, J., *et al.* (2016) Anti-Tumor Role of *Bacillus subtilis* fmbJ-Derived Fengycin on Human Colon Cancer HT29 Cell Line. *Neoplasma*, **63**, 215-222. https://doi.org/10.4149/206_150518N270
- [8] Samel, S.A., Wagner, B., Marahiel, M.A., *et al.* (2006) The Thioesterase Domain of the Fengycin Biosynthesis Cluster: A Structural Base for the Macrocyclization of a Non-Ribosomal Lipopeptide. *Journal of Molecular Biology*, **359**, 876-889. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2006.03.062>
- [9] Rosés, C., Camó, C., Oliveras, À., *et al.* (2018) Total Solid-Phase Synthesis of Dehydroxy Fengycin Derivatives. *The Journal of Organic Chemistry*, **83**, 15297-15311. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.8b02553>
- [10] Wu, C.Y., Chen, C.L., Lee, Y.H., *et al.* (2007) Nonribosomal Synthesis of Fengycin on an Enzyme Complex Formed by Fengycin Synthetases. *Journal of Biological Chemistry*, **282**, 5608-5616. <https://doi.org/10.1074/jbc.M609726200>
- [11] Stein, T. (2005) *Bacillus subtilis* Antibiotics: Structures, Syntheses and Specific Functions. *Molecular Microbiology*, **56**, 845-857. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2005.04587.x>
- [12] Sieber, S.A., Walsh, C.T. and Marahiel, M.A. (2003) Loading Peptidyl-Coenzyme A onto Peptidyl Carrier Proteins: A Novel Approach in Characterizing Macrocyclization by Thioesterase Domains. *Journal of the American Chemical Society*, **125**, 10862-10866. <https://doi.org/10.1021/ja0361852>
- [13] Gao, L., Guo, J., Fan, Y., *et al.* (2018) Module and Individual Domain Deletions of NRPS to Produce Plipastatin Derivatives in *Bacillus subtilis*. *Microbial Cell Factories*, **17**, Article No. 84. <https://doi.org/10.1186/s12934-018-0929-4>
- [14] Zeng, Q., Xie, J., Li, Y., *et al.* (2021) Organization, Evolution and Function of Fengycin Biosynthesis Gene Clusters in the *Bacillus amyloliquefaciens* Group. *Phytopathology Research*, **3**, 1-12.
- [15] Yang, R., Lei, S., Xu, X., *et al.* (2020) Key Elements and Regulation Strategies of NRPSs for Biosynthesis of Lipopeptides by *Bacillus*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **104**, 8077-8087. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10801-x>
- [16] Ke, W.J., Chang, B.Y., Lin, T.P., *et al.* (2009) Activation of the Promoter of the Fengycin Synthetase Operon by the UP Element. *Journal of Bacteriology*, **191**, 4615-4623. <https://doi.org/10.1128/JB.00255-09>
- [17] Romero, D., de Vicente, A., Rakotoaly, R.H., *et al.* (2007) The Iturin and Fengycin Families of Lipopeptides Are Key Factors in Antagonism of *Bacillus subtilis* toward *Podosphaera fusca*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, **20**, 430-440. <https://doi.org/10.1094/MPMI-20-4-0430>
- [18] Sun, J., Liu, Y., Lin, F., *et al.* (2021) CodY, ComA, DegU and Spo0A Controlling Lipopeptides Biosynthesis in *Bacillus amyloliquefaciens* fmbJ. *Journal of Applied Microbiology*, **131**, 1289-1304. <https://doi.org/10.1111/jam.15007>
- [19] Wang, P., Guo, Q., Ma, Y., *et al.* (2015) DegQ Regulates the Production of Fengycins and Biofilm Formation of the Biocontrol Agent *Bacillus subtilis* NCD-2. *Microbiological Research*, **178**, 42-50. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2015.06.006>
- [20] Guo, Q., Dong, L., Wang, P., *et al.* (2018) The PhoR/PhoP Two-Component System Regulates Fengycin Production in *Bacillus subtilis* NCD-2 under Low-Phosphate Conditions. *Journal of Integrative Agriculture*, **17**, 149-157. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(17\)61669-1](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(17)61669-1)
- [21] Yaseen, Y., Diop, A., Gancel, F., *et al.* (2018) Polynucleotide Phosphorylase Is Involved in the Control of Lipopeptide Fengycin Production in *Bacillus subtilis*. *Archives of Microbiology*, **200**, 783-791. <https://doi.org/10.1007/s00203-018-1483-5>
- [22] Cameron, T.A., Matz, L.M. and De Lay, N.R. (2018) Polynucleotide Phosphorylase: Not Merely an RNase but a Pivotal Post-Transcriptional Regulator. *PLoS Genetics*, **14**, e1007654. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1007654>
- [23] Vahidinasab, M., Lilge, L., Reinfurt, A., *et al.* (2020) Construction and Description of a Constitutive Plipastatin Mono-Producing *Bacillus subtilis*. *Microbial Cell Factories*, **19**, 1-12. <https://doi.org/10.1186/s12934-020-01468-0>
- [24] Coutte, F., Lecouturier, D., Ait Yahia, S., *et al.* (2010) Production of Surfactin and Fengycin by *Bacillus subtilis* in a Bubbleless Membrane Bioreactor. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **87**, 499-507. <https://doi.org/10.1007/s00253-010-2504-8>
- [25] Rangarajan, V., Dhanarajan, G. and Sen, R. (2015) Bioprocess Design for Selective Enhancement of Fengycin Production by a Marine Isolate *Bacillus megaterium*. *Biochemical Engineering Journal*, **99**, 147-155. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2015.03.016>

- [26] Fahim, S., Dimitrov, K., Gancel, F., *et al.* (2012) Impact of Energy Supply and Oxygen Transfer on Selective Lipopeptide Production by *Bacillus subtilis* BBG21. *Bioresource Technology*, **126**, 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.09.019>
- [27] Hmidet, N., Ben Ayed, H., Jacques, P., *et al.* (2017) Enhancement of Surfactin and Fengycin Production by *Bacillus mojavensis* A21: Application for Diesel Biodegradation. *BioMed Research International*, **2017**, Article ID: 5893123. <https://doi.org/10.1155/2017/5893123>
- [28] Chtioui, O., Dimitrov, K., Gancel, F., *et al.* (2014) Selective Fengycin Production in a Modified Rotating Discs Bioreactor. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, **37**, 107-114. <https://doi.org/10.1007/s00449-013-0964-9>
- [29] Yaseen, Y., Gancel, F., Béchet, M., *et al.* (2017) Study of the Correlation between Fengycin Promoter Expression and Its Production by *Bacillus subtilis* under Different Culture Conditions and the Impact on Surfactin Production. *Archives of Microbiology*, **199**, 1371-1382. <https://doi.org/10.1007/s00203-017-1406-x>
- [30] Lu, H., Qian, S., Muhammad, U., *et al.* (2016) Effect of Fructose on Promoting Fengycin Biosynthesis in *Bacillus amyloliquefaciens* fmb-60. *Journal of Applied Microbiology*, **121**, 1653-1664. <https://doi.org/10.1111/jam.13291>
- [31] Medeot, D.B., Bertorello-Cuenca, M., Liaudat, J.P., *et al.* (2017) Improvement of Biomass and Cyclic Lipopeptides Production in *Bacillus amyloliquefaciens* MEP218 by Modifying Carbon and Nitrogen Sources and Ratios of the Culture Media. *Biological Control*, **115**, 119-128. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2017.10.002>
- [32] 陈燕萍, 陈梅春, 蓝江林, 郑梅霞, 刘波, 王阶平. 培养基配方对贝莱斯芽胞杆菌 FJAT-45028 脂肽产量和抑菌活性的影响[J]. 福建农业科技, 2021, 52(12): 26-31.
- [33] 李响, 伍辉军, 张阳, 鲁晴辉, 高学文. degQ 和 sfp 提高芽胞杆菌泛革素产量及其机理研究[J]. 中国生物防治学报, 2015, 31(2): 221-228.
- [34] He, M., Wen, J., Yin, Y., *et al.* (2021) Metabolic Engineering of *Bacillus subtilis* Based on Genome-Scale Metabolic Model to Promote Fengycin Production. *3 Biotech*, **11**, Article No. 448. <https://doi.org/10.1007/s13205-021-02990-7>
- [35] 周振. 解淀粉芽孢杆菌 Fengycin 合成酶基因表达调控的研究[D]: [硕士学位论文]. 淮安: 淮阴工学院, 2020.
- [36] Zhao, J., Zhang, C., Lu, J., *et al.* (2016) Enhancement of Fengycin Production in *Bacillus amyloliquefaciens* by Genome Shuffling and Relative Gene Expression Analysis Using RT-PCR. *Canadian Journal of Microbiology*, **62**, 431-436. <https://doi.org/10.1139/cjm-2015-0734>