

特殊生境微生物及其活性代谢产物研究进展*

唐永红^{1,2} 曹庸^{1**} 卢成瑛¹ 黄早成¹

(湖南省林产化工工程重点实验室 张家界 427000)¹

(湖南吉首大学生物资源与环境科学学院 吉首 416000)²

摘要: 微生物是一种重要的生物资源,特别是近年来,从特殊生境微生物中寻找具有重要生物活性代谢产物成为一个热点研究领域。主要就特殊生境微生物代谢产物的特殊性、特殊生境适应机制及其活性代谢产物等方面的研究进展和前景进行了简要的阐述,为特殊生境微生物的研究与开发提供参考。

关键词: 特殊生境微生物, 活性代谢产物, 适应机制, 进展

中图分类号: Q93-3 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2654 (2006) 04-0163-04

Research Progress of the Active Metabolites of Special Eco-environment Microorganisms*

TANG Yong-Hong^{1,2} CAO Yong^{1**} LU Cheng-Ying¹ HUNG Zao-Cheng¹

(Key Laboratory for Forest Products and Chemical Industry Engineering of Hunan, Zhangjiajie 427000)¹

(College of Biological Resources and Environmental Sciences, Jishou University, Jishou 416000)²

Abstract: The microorganisms were very important biotic resources, and recently searching the new activated metabolites from microbes had become a research hotspot. In this paper, research progress and prospects of activated metabolites and adaptive mechanism of special eco-environment microorganisms were summarized, which provided some references for research and development of special eco-environment microorganisms.

Key words: Special eco-environment microorganisms, Activated metabolites, Adaptive mechanism, Progress

微生物次生代谢产物或其衍生物(如抗生素)对人类做出了重要的贡献,而且人们逐渐认识到微生物次级代谢产物也是新药发现的重要源泉。随着陆栖微生物在抗生素、酶、酶抑制剂、多糖等生物活性物质方面的大量开发与应用,通过寻找新种属的微生物或特殊性状的微生物来开发新型微生物天然活性物质的难度越来越大,于是人们把目光开始转向具有更大开发前景的特殊生境微生物。尤其是近几年,人们从特殊生境微生物中寻找到的具有重要生物活性的某些代谢产物已经进入了临床研究,并且表现出了良好的应用前景。

1 特殊生境微生物及其适应机制

1.1 特殊生境微生物 特殊生境(special eco-environment)即特殊生态环境的简称,是指那些在结构与功能上具有明显的特殊性(或异质性),并导致生态元的数量或品质明显不同的生态环境^[1]。特殊生境微生物是指包括生活在极端环境、极地冰川、海洋、动植物内环境、植物根际等环境的微生物。来源特殊生境的微生物绝大多数都具有耐

* 湖南省科技厅资助项目 (No. 03JZY3020)

** 通讯作者 Tel: 13319642181 0744-6188321, E-mail: caoyong2181@yahoo.com.cn

收稿日期: 2005-10-09, 修回日期: 2006-01-17

冷、耐压、耐盐、耐酸和耐碱等特性,另外还有耐高压、耐高辐射、耐高毒性环境等特性。

1.2 特殊生境适应机制

1.2.1 低温适应机制:低温微生物能在寒冷的环境中成功地生长与繁殖,是因为长期的生物进化形成了一系列适应低温的机制。现阶段,人们研究微生物的低温适应机制主要有:营养物质的吸收与转运、DNA的复制、蛋白质的合成与分解代谢的正常进行、能量代谢的正常进行以及细胞的分裂。但主要集中在两方面:(1)膜的结构与功能。研究内容涉及微生物在低温条件下调节膜流动性和通透性的能力、对营养物质的吸收及转运能力、通过膜蛋白和脂多糖的磷酸化作用响应环境温度等^[2]。(2)蛋白的结构、功能与合成。这方面的研究包括低温酶、抗冻蛋白/多肽、嗜冷蛋白、冷激蛋白、冰核蛋白、延长因子蛋白以及酰基辅酶A硫酯酶等众多与微生物低温适应性有关的蛋白在生理、生化及分子生物学等方面的特性。另外,对细胞质中物质(多元醇、可溶性糖、不饱和脂肪酸以及部分氨基酸)冷冻防护也有研究^[3]。由于微生物的低温适应机制涉及菌体自身的生理、生化、遗传物质以及所处生态环境与营养条件等众多因素,目前还没有全面、系统的科学结论。

1.2.2 嗜盐菌的特点:嗜盐菌的生长虽需高钠环境,但胞内浓度并不高,这因为嗜盐菌具有能浓缩、吸收外部的 K^+ 而向胞外排放 Na^+ 的能力^[4]。也有专家学者对嗜盐菌的基因组进行了分析,如Kennedy等人分析了嗜盐菌NCR-1的基因组分,揭示了生活在高盐、强光极端环境下的相关特性^[5]。嗜盐菌还能产生大量的中性物质,但其发生的生理机制是个谜^[6]。

目前关于嗜酸、嗜碱、抗压、抗紫外等极端生境下微生物的适应机制研究较少,但随着人类社会的发展和科学技术的进步,人类最终会揭开神秘的面纱。

2 特殊生境微生物活性代谢产物

2.1 活性代谢产物的特殊性 极地具有变化极大的光照辐射、季节性的光照时间、极低的温度等独特的地理及气候特征,造就了极地微生物特殊的生物学特征。大量研究表明:极地是个潜在的、重要的微生物资源库,也可能是产生新型活性物质和先导化合物(如酶、抗生素、多糖及脂类等)菌株的潜在种源地。

海洋面积占地球面积的70%,高盐、高压、低温、低营养和无光照等多样性和特殊性生态环境共同造就了海洋微生物种类的多样性和特殊性。这使海洋微生物具备耐盐和液化琼脂的能力,具有独特的代谢途径和遗传背景,能产生独有结构和功能的活性物质,为寻找特殊活性物质提供了前提。

植物内生菌生活在活体植物中,其生长代谢受宿主、外界环境因子等多方面因素的制约。通过对植物(特别是药用植物)内生菌多样性研究,可找到产生与宿主相同、相似甚至全新结构活性成分的菌株。因此,在寻找新的抗肿瘤、抗感染和抗植物病虫害活性物质方面,植物内生菌提供了一个新的平台,且已显示出潜在的应用价值。

其它特殊生境微生物中最为重要的是极端微生物。极端环境是指高温、低温、高pH、低pH、高盐度、高压等普通微生物所不能生存的环境。因极端微生物具有独特的基因型、机制和产物,为人类解决一些重大的问题如生命起源及演化等有很大的帮助,且是宝贵的新型酶资源,如古生菌产生的极端酶比普通酶更耐严酷条件(如高温、酸

碱、有机溶剂等)。因此,极端微生物在生物技术等领域成为热门研究。

2.2 活性代谢产物的作用 与普通微生物相比,特殊生境微生物具有不同的遗传背景和代谢途径,所产生的次生代谢产物也具有特殊的作用,主要用于抗肿瘤、抗菌抑菌、杀虫、酶的抑制及其它调节、免疫等方面。

2.2.1 抗肿瘤代谢产物:微生物所产生能抗肿瘤的活性代谢产物非常多,如从海洋微生物代谢产物中得到的有显著抗肿瘤活性的化合物 *sesbanimide A* (1) 和 *C* (2)^[7], 对克隆细胞系 205 和黑色素瘤细胞系有较强细胞毒性的新的环脂肽 *sansalvamide*^[7] 等。从植物内生菌代谢产物中分离出的能引起癌细胞凋亡的新物质 *hormonmate* (1)^[8], 能破坏哺乳动物细胞的微纤丝从而破坏癌细胞的新的生物碱 *nomofungin*^[8], 开辟了抗癌药物生产的新途径。另外,胡继兰等^[9]分离到理化性质与抗肿瘤抗生素 *sandramycin* 相同的物质,极地微生物抗肿瘤活性代谢产物也开始被人们关注。

2.2.2 抗菌抑菌活性物质:人们发现微生物能产生抗菌抑菌活性代谢产物这一现象很早,特别近年来,科学家从海洋和植物微生物中发现了大量的抗菌抑菌活性代谢产物。从海泥细菌中分离出 3 个大环内酯化合物均具有抗菌活性^[7], 乌贼体内共生的发光细菌 (*Vibrio fischeri*) 能产生一种过氧化物酶,同哺乳动物嗜中性粒细胞产生的抗菌活性的髓过氧化物酶具有相似的生化性质^[7]。从植物内生菌中的分离出一种新的细菌抗生素 *altersetin*^[8] 对多种细菌抗药菌株有抑制作用, 缩氨酸物质 *munumbicins B*^[8] 对葡萄球菌的青霉素抗药菌株和分枝结核杆菌抗药菌株均有抑制作用。分离抗菌抑菌活性代谢产物研究也有涉及其它极端环境微生物,鲁敏等^[10]首次从南极土壤微生物嗜冷真菌 C3438 代谢产物中分离得到 *ferrichrome*, 并显示对有些菌具有明显拮抗作用。

2.2.3 酶抑制剂:微生物次生代谢产物中的酶抑制剂也是一类重要的化合物, Lsao 等分离出两个有抑制半胱氨酸蛋白酶活性的新化合物 B1371A 和 B1371B^[7], Kohama 等分离出一系列能抑制 SPH 激活酶的新的活性代谢物^[7]。代谢物 *cathestatins A, B* 显示有效和不可逆的体外抑制半胱氨酸木瓜蛋白酶活性^[7]。

2.2.4 免疫抑制剂、调节剂:微生物产生的一些免疫抑制剂、调节剂等,如二萜吡酮类化合物 *subglutanol A* 和 *B* 均具有免疫抑制活性且缺乏细胞毒性^[11], 二者将具有诱人的应用前景。非肽类代谢物 (*L-783* 和 *281*) 具有模拟胰岛素降血糖作用,且在口服时不被胃肠道酶破坏^[11], 生物利用度高,有望开发成口服拟似胰岛素的药物。

2.2.5 杀虫物质:这方面人们研究得最多是由植物内生菌产生的次生代谢产物,而其它微生物来源的涉及较少。禾本科植物内生真菌产生的有机胺类等多达数 10 种生物碱对线虫和大多数食草昆虫具较强的毒性^[8]。植物 *Muscodor vitigenus* 内生真菌产生的萘类物质 (*naphthalene*) 具有杀虫能力^[11]。吡啶二萜类化合物 *nodulisporic acids* 具有杀灭大苍蝇幼虫的活性^[12]。

3 展望

随着近 20 年来生命科学的发展以及相关新技术的应用,人们利用新的分子靶点筛选模型,组合筛选模型等各种筛选模型,为微生物新活性代谢产物的多样性提供了可能性,采用各种筛选方法如高通量药物筛选等是发现微生物新药的有效途径^[12]。虽然人们在发现微生物新活性代谢产物的途径方面做了不少研究,但还是存在许多问题等待人们去解决。

特殊生境微生物天然活性物质的筛选首先是微生物的分离筛选。这需要大量的研究工作,因筛选时要考虑其来源、种类与特定生长环境,因此一套有效的快速培养筛选方法是必不可少的。筛选常采用活性引导型方法来寻找活性化合物,目前实验室或公司常用 HTS 或快速分子筛选方法进行筛选^[13]。

对已筛选到的含有活性物质的微生物还存在有效成分含量低、难分泌到胞外、培养生物量低、培养难度大等问题,这都限制了天然活性物质生产的工业化和临床应用。采用现代生物技术是最好的解决途径。现代生物技术在基因工程、细胞工程、发酵工程及生物反应器等方面的充分发展,可实现工业化培养目的微生物菌株生产出成本低廉的大量所需天然活性物质。特别是利用基因工程对原微生物菌株的改良或将天然活性物质的基因克隆到其它易于培养、生长繁殖迅速或代谢物易分泌到胞外的微生物,如常用陆生酵母菌、枯草杆菌、大肠杆菌等进行表达、合成和发酵培养,以提高天然活性物质的含量和产量,大大降低生产成本。利用细胞工程可实现不同种属生物间的融合杂交,从而改良菌种来提高活性物质含量或增强分泌而简化提取工艺,从而大量生产所需天然活性物质。利用微生物发酵技术的成熟工艺、后处理工艺、分离纯化技术及高度自动化生物反应器等实现特殊生境微生物天然活性物质生产的工业化并不断降低生产成本,加速从研究开发到产品化过程。

从利用微生物资源的角度来讲,微生物资源是颇具潜力的可再生资源。目前所利用的微生物资源仅仅只是自然界存在微生物资源的一小部分,而且毫无疑问,微生物是个巨大的资源库,其丰富的内涵已表现出了巨大潜力,尤其是特殊生境微生物,其独特的次生代谢产物更是引起人们研究的兴趣。但现存的微生物资源急需有效的保护、大量的分离和培养菌种,这将导致现代生物技术、生化技术、临床医学等多学科的介入与联合,并加速在鉴定天然活性物质化学结构、提高活性成分含量、缩短培养周期、简化提高纯化工艺和降低生产成本等方面的协同发展,再加之产学研一体化在我国的初步形成和发展,必将促进特殊生境微生物天然活性物质的开发、生产和应用的崭新局面的形成。

参考文献

- [1] 车裕斌, 韩冰华. 咸宁师专学报(自然科学版), 1997, 17(3): 72~73.
- [2] Margesin R, Schinner F. Journal of Biotechnology, 1994, 33: 1~14.
- [3] 林影凌, 晨晖. 海洋科学, 1999, 2: 19~21.
- [4] 沈萍. 微生物学. 北京: 高等教育出版社, 2000. 87~90.
- [5] Kennedy S P. Genome Res, 2001, 11(10): 1641~50.
- [6] O'Connor E M, Shand R F. J Ind Microbiol Biotechnol, 2002, 28(1): 23~31.
- [7] 林永成, 周世宁. 海洋微生物及其代谢产物. 北京: 化学工业出版社, 2003.
- [8] 李能章, 彭远义. 生物技术, 2004, 2(14): 69~71.
- [9] 胡继兰, 张春颖, 娜仁, 等. 微生物学报, 2000, 40(6): 646~651.
- [10] 鲁敏, 王文翔, 王丽萍, 等. 中国抗生素杂志, 2002, 27(1): 9~12.
- [11] Wu F L, Chen D J, Qian X P. 中国抗生素杂志, 2004, 3(29): 184~192.
- [12] 吴慧. 医学理论与实践, 2005, 18(2): 146~147.
- [13] 周世东. 微生物学杂志, 2002, 22(2): 42~43.