

海洋放线菌 *Marinactinospora thermotolerans* 的研究进展

陈柔雯^{1,2} 谢运昌¹ 田新朋^{1*}

(1. 中国科学院热带海洋生物资源与生态重点实验室 中国科学院海洋微生物研究中心 广东省海洋药物重点实验室 中国科学院南海海洋研究所 广东 广州 510301)

(2. 中国科学院大学 北京 100049)

摘要: 海洋放线菌以产生多种活性天然产物而著称, 其中部分结构新颖的活性化合物具有发展成为新药的巨大潜力, 引起国内外相关领域研究人员的极大关注。同时, 也促进了我国海洋放线菌研究工作的全面展开。本文系统综述了海洋放线菌新属种 *Marinactinospora thermotolerans* 的分类鉴定、新颖的次级代谢产物的发现及其生物合成机制以及该菌株的全基因组生物信息学分析等方面的最新研究进展, 以期能为其他海洋放线菌新属种的分类鉴定、活性次级代谢产物的发现和生物合成机制研究提供借鉴作用。

关键词: 海洋放线菌, *Marinactinospora thermotolerans*, 次级代谢产物, 生物合成, 基因簇

Advances in marine actinomycetes of *Marinactinospora thermotolerans*

CHEN Rou-Wen^{1,2} XIE Yun-Chang¹ TIAN Xin-Peng^{1*}

(1. CAS Key Laboratory of Tropical Marine Bio-resources and Ecology, RNAM Center for Marine Microbiology, CAS, Guangdong Key Laboratory of Marine Meteria Medica, South China Sea Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou, Guangdong 510301, China)

(2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: In recent years, great attentions have been paid to marine actinomycetes for their ability to synthesize new metabolites. Some of the synthesized metabolites with new lead structures have demonstrated great potential to be developed as new drugs. This situation has also prompted the development of marine actinomycetes research in China. This review mainly discusses the latest

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (No. 41276004, 41576143, 41406195); Youth Innovation Promotion Association, CAS (No. 2016307); Special Support Program for Training High-Level Talents in Guangdong (No. 2014TQ01Z154); Strategic Priority Research Program of the Chinese Academy of Sciences (No. XDA11030405)

*Corresponding author: Tel: 86-20-89023378; E-mail: xinpengtian@scsio.ac.cn

Received: December 27, 2016; Accepted: June 07, 2017; Published online (www.cnki.net): July 03, 2017

基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 41276004, 41576143, 41406195); 中科院青年创新促进会人才项目(No. 2016307); 广东省特支计划人才项目(No. 2014TQ01Z154); 中科院先导专项项目(No. XDA11030405)

*通讯作者: Tel: 86-20-89023378; E-mail: xinpengtian@scsio.ac.cn

收稿日期: 2016-12-27; 接受日期: 2017-06-07; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2017-07-03

advances regarding *Marinactinospora thermotolerans* research in terms of the taxonomy, the discovery of novel metabolites, their biosynthesis mechanisms, and the species genome analytical results, etc. *M. thermotolerans* is considered to be a good model of marine actinobacteria for mining resource research in future.

Keywords: Marine actinomycete, *Marinactinospora thermotolerans*, Metabolites, Biosynthesis, Gene cluster

海洋环境具有高盐、高压、低温、缺氧和寡营养等极端自然条件,这种特殊而又复杂的生境赋予海洋放线菌种类、遗传和生态功能的多样性,也奠定了海洋放线菌次级代谢产物丰富多样的物质基础^[1]。海洋放线菌因其能产生结构新颖、活性显著的次级代谢产物,成为新药开发的重要战略新资源,这推动其在海洋生命科学领域的发展。

近年来,科研人员从海洋来源的放线菌中发掘大批次具有复杂的立体结构、广泛的抗癌以及酶抑制活性等的新型骨架天然产物,如大环内酯类、内酰胺类及含卤素次级代谢产物等^[2]。据宋永相等统计,截至2014年从海洋放线菌中发现和描述的新化合物达到708个^[3]。中国科学院南海海洋研究所自2006年起全面开展海洋微生物天然产物及其组合生物合成研究,共分离鉴定了海洋微生物源天然产物1000多个,其中新化合物近300个,具有代表性的新型活性产物如从印度洋深海环境发现的海洋链霉菌 *Streptomyces* sp. SCSIO 03032^[4]中分离获得了 Spiroindimicins、Piericidin、Heronamides 和 Indimicins 等多个类别的20多个次级代谢产物,含15个新化合物,其中4个新型双吡啶生物碱 Spiroindimicins A-D,具有罕见 N-N 螺环结构, Spiroindimicins B-D 对多株癌细胞株有抑制性。从一株深海来源的链霉菌 *S. lusitanus* SCSIO LR32 中发现了系列新的聚酮苷(萜环)类化合物,体外抗肿瘤活性测试表明其中的 Grincamycin B (GCNB)能够选择性抑制白血病细胞系 NB4 的增殖 ($IC_{50}=0.24 \mu\text{mol/L}$)^[5]。还从海洋链霉菌 *Streptomyces* sp. SCSIO 10355 中获得一种新型笼状倍半萜化合物 Strepesquitriol^[6],对巨噬细胞 RAW264.7 中脂多糖诱导的 TNF α 具有温和抑制活性。从另外一株

海洋链霉菌 *S. rutgersensis* SCSIO 11720 中发现耐热型血红蛋白降解酶 PA720^[7], 70 °C, pH 10.5 条件下仍表现出显著抗菌活性,可作为基于血红蛋白抗菌肽的一种工具酶。从海洋链霉菌菌株 *S. rutgersensis* SCSIO 11594 中发现两个新的 C-糖基化角环素类新化合物 Marangucycline A 和 B^[8]。这些研究成果极大地丰富了南海海洋生物资源结构,为后续的先导药物开发打下坚实基础。

然而,基于传统的活性追踪结合分析鉴定的方法有很多的局限性、菌株存在大量沉默基因簇、活性化合物产量低、潜在新型化合物结构难以预测以及功能活性无法实现高通量筛选等问题,使得传统筛选活性天然产物的方法面临诸多挑战。与此同时,基于组合生物合成方法开展海洋放线菌次级代谢产物的生物合成机制研究,能够提升菌株的次级代谢能力,分离获得更多活性中间体和代谢产物,有效突破传统技术的瓶颈,越来越受到研究人员的重视。2016年张长生统计已经阐明海洋来源天然产物合成基因簇有54个,其中海洋放线菌来源的有37个^[9]。迄今南海海洋研究所鉴定了其中8种海洋放线菌来源的次级代谢产物生物合成基因簇,揭示了这些次级代谢产物的生物合成途径与机制,包括来源于 *M. thermotolerans* 的核苷类化合物 A201A,生物碱类化合物 Marinacabolines 和非核糖体肽途径合成的海沟霉素以及其他海洋放线菌来源的萜类化合物 Xiamycin^[7],聚酮途径合成的 Lobophorin^[10]和 Grincamycin^[11],聚酮/非核糖体肽杂合途径合成的 Tirandamycin^[12]和 Caerulomycin^[13]。随着分子生物学技术的不断开展,基因测序技术的不断提高和生物信息数据的爆炸式增长,利用生物信息学分析海洋放线菌基因组序列中特定酶和保

守序列, 预测酶的功能和基因簇编码产物的结构, 从中发现和激活功能活性次级代谢产物等^[14], 为利用组合生物合成技术构建结构新颖化合物及其衍生物提供可能, 为指导激活新颖的活性化合物提供新思路。

Marinactinospora 属是我国科学家在深海发现的经典放线菌新属之一, 也是全球海洋环境发现的 14 个放线菌新属之一, 对其系统研究获得的丰富成果, 能够直接反映出近年来我国科学家在海洋放线菌研究领域的趋势、方向和水平以及海洋放线菌资源的开发价值和规律。本文主要从属种的分类鉴定, 具有生物学和药理活性的新颖次级代谢产物及其生物合成机制的发现, 以及该菌株的全基因组生物信息学分析共四个方面对前期在南海深海环境发现的海洋放线菌新属新种 *M. thermotolerans* 的研究进展进行综述。系统地阐述海洋放线菌 *M. thermotolerans* 的研究状况, 展示我国在海洋放线菌研究领域的最新成果, 为我国全面开展海洋放线菌研究提供一个全面的参照。

1 *M. thermotolerans* 菌株分类鉴定及其分布

Marinactinospora 属于放线菌门, 放线菌纲, 链孢囊菌目 (Streptosporangiales), 拟诺卡氏菌科 (Nocardiopsaceae), 目前该科共包含了 11 个属级类群, 代表属是 *Nocardiopsis*。拟诺卡氏菌科内属种生境来源不同, 环境耐受力 and 适应力较好。该类群微生物通常能形成长的或短的孢子链或孢子囊, 孢子链或孢子囊上富含孢子, 有利于耐受极端环境。*Marinactinospora* 和 *Spinactinospora* 类群是从海洋沉积环境中发现的; *Nocardiopsis* 和 *Thermobifida* 是嗜热放线菌, 可以在高温 (40–50 °C) 环境下生存, *Nocardiopsis* 菌株也有报道发现于高盐环境、南极冰川和深海沉积环境等; *Haloactinospora*、*Streptomonospora*、*Lipingzhangella* 和 *Salinactinospora* 具有喜盐的生长特性; *Actinorugispora*、*Allosalinactinospora*、*Murinocardiopsis* 和 *Thermobifida* 类群报道少, 生境来源不一, 分别来源于南韩胡萝卜、新疆拉普尔撑柳根际土壤和德

国柏林霉壁。

海洋产孢放线菌属 (*Marinactinospora*) 是 Tian 等^[15]2008 年从中国南海北部 3 865 m 的深海沉积物中发现, 目前有效发表种有 2 个, 另一个种 *M. endophytical*^[16]最初在 2015 年从新疆药用植物沙柳茎中发现。根据形态学研究发现, *M. thermotolerans* 菌株能产生白色气生菌丝和黄白色基质菌丝。生理生化鉴定结果显示, 该菌株 G⁺, 好氧, 不产色素, 是能够耐受 55 °C 高温的经典丝状放线菌; 16S rRNA 基因序列 BLAST 比对结果显示菌株 SCSIO 00652 与菌株 *Nocardiopsis trehalosi* VKM Ac-942^T 具有 96.5% 的相似性, 重建系统发育树 (图 1) 显示该菌株处于该科最深处, 形成独立分支; 化学分类鉴定结果显示, 该菌株的优势醌 [MK-11(H₈, H₁₀) 和 MK-10(H₈)], 主要磷脂组分 (双磷脂酰甘油、磷脂酰甘油、卵磷脂、磷脂酸肌醇甘露醇、磷脂酸肌醇和未知磷酸糖脂) 和主要脂肪酸组分 [10-甲基-C_{18:0} (24.5%)、i-C_{16:0} (24.5%)、i-C_{16:1}G (10.9%) 和 ai-C_{17:0} (9.5%)] 与该科中其它属均显示出差异。综合形态学、生理生化、化学分类法和 16S rRNA 基因系统发育学等多相分类结果, 最终确定了 *Marinactinospora* 的新属和新物种的地位。

Tian 等^[15]在 180 m 水深的海洋沉积环境中发现了另外一株 16S rRNA 基因序列与 *M. thermotolerans* 相似性大于 99% 的菌株 SCSIO 00606, 说明该属的菌株能适应深海和浅海的海洋环境。截止至 2016 年 12 月, 在 NCBI 和 RDP 数据库中该属有 6 株菌, 分别来源于痰液 (菌株 CNM646-09)、硝尔库勒湖 (菌株 41251)、红树林土壤环境 (菌株 OAct609) 和海洋沉积物 (菌株 TPS16) 等, 显示出该属菌株较强的环境适应性。

2 *M. thermotolerans* 产生的新颖次级代谢产物

课题组近几年对 *M. thermotolerans* 典型菌株 SCSIO 00652 和野生菌株 00606 进行了系统的天然产物分析研究, 通过不同发酵培养基、发酵条件优化和操作调节基因等手段, 发现一系列结构新颖的活性天然产物和已知的活性显著的化合物。

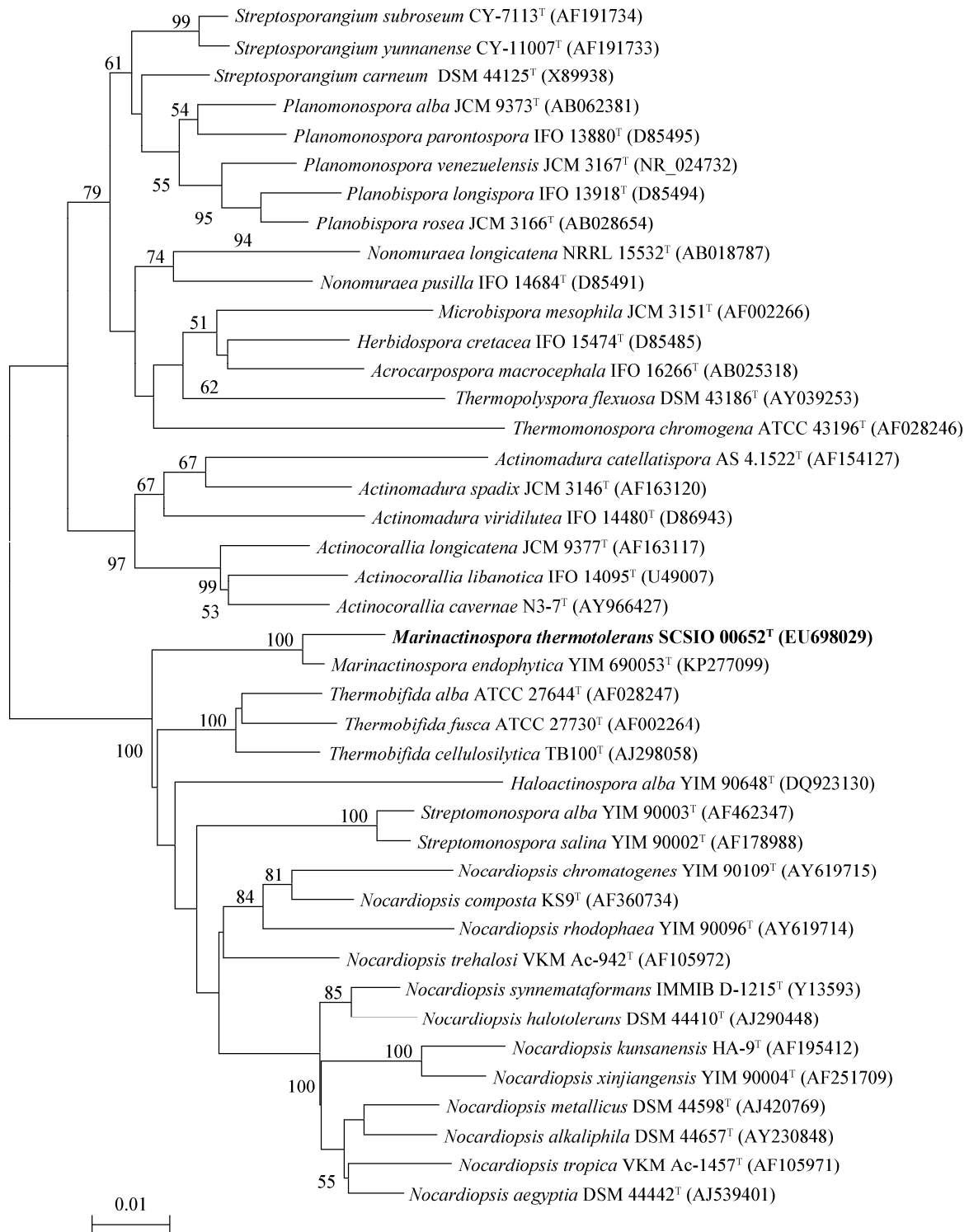


图 1 菌株 SCSIO 00652^T 及其近缘物种的系统发育树^[15]

Figure 1 Phylogenetic tree of strain SCSIO 00652^T and related strains in the family Nocardiopsaceae based on 16S rRNA gene sequences^[15]

注：节点数值为 1 000 次重复的置信值；仅显示>50%；比例尺为 1%的序列差异。

Note: Numbers at nodes are bootstrap values based on 1 000 resamplings; Only values >50% are indicated; Bar: 1% sequence divergence.

核苷类抗生素 A201A 是 *M. thermotolerans* SCSIO 00652 突变株 Ju3001 的发酵产物, 该化合物结构(图 2)包含一个 3'-氨基-3'-脱氧腺苷部分, 一个对羟基- α -甲基肉桂酸部分, 一个特殊不饱和六味喃糖基团和一个 3,4-双氧甲基- β -D-鼠李糖部分。A201A 通过抑制蛋白质中肽键合成, 能够高效抑制 G^+ 和 G^- 好氧细菌生长, 如 *Staphylococcus aureus*, 同时对卤虫(*Artemia salina*)具有致死性^[17]。通过敲除多个基因获得一系列 *mtd* 基因突变型菌株能够产生 8 个 A201A 的系列化合物, 均具有良好的抗菌活性。

菌株 SCSIO 00652 的发酵产物中发现了 5 个 β -咔啉化合物命名 Marinacarboline A-E (图 3)^[18]、两种新的九元环吲哚内酰胺化合物甲基海沟霉素的衍生物(图 4)^[18]和一个四噻唑环肽化合物, 命名为 Marthiapeptide A (图 5)^[19]。Marinacarboline A-E 含有三环吡啶结构, 这种杂环骨架使得 β -咔啉具有抗过敏、抗病毒、抗炎、抗菌和抗肿瘤等活性, 并且能够与受体相互作用发挥神经毒素和神经保护剂作用; β -咔啉化合物 A-D 是在已知化合物 EC-3 位上分别被 4-甲氧基苯丙氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸和色氨酸脱羧后取代而来, 是新的化合物, 它们对人恶性疟原虫药物敏感株 *Plasmodium falciparum* 3D7 和多药耐药株 Dd2 具有良好生长抑制作用, 其中 Marinacarboline A 的 IC_{50} 达到 $2 \mu\text{mol/L}$, 具有制备抗疟疾药物的可能。

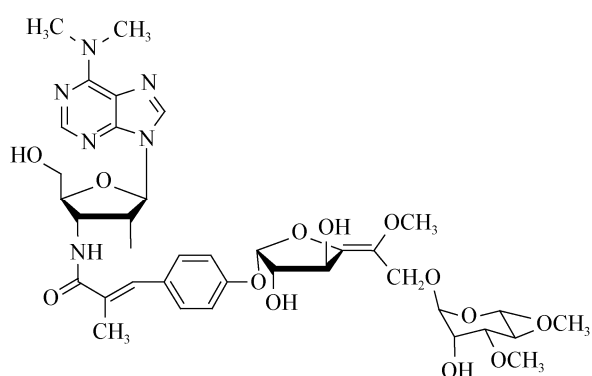


图 2 抗生素 A201A 分子结构
Figure 2 Structure of antibiotic A201A

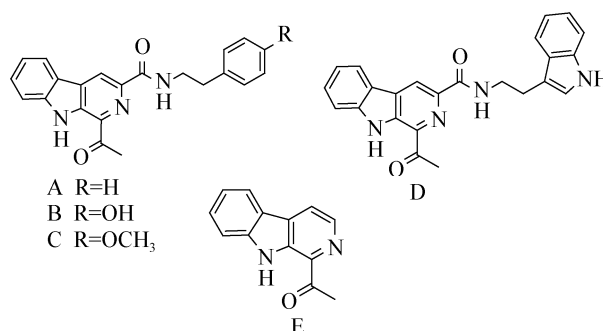


图 3 Marinacarboline A-E 的分子结构
Figure 3 Structures of Marinacarboline A-E

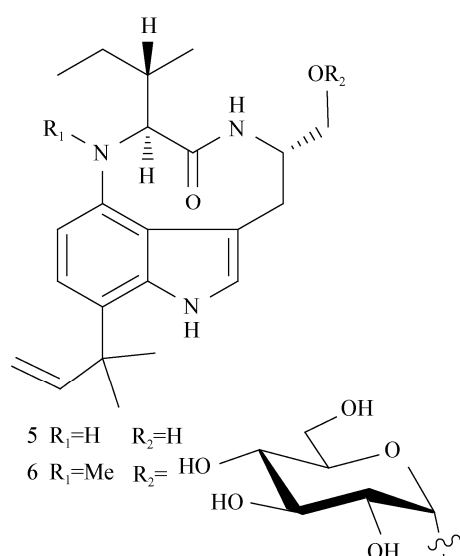


图 4 两种吲哚内酰胺化合物的分子结构
Figure 4 Structures of Indolactam compound 13-N-demethyl-methylpendolmycin (5) and methylpendolmycin-14-O- α -glucoside (6)

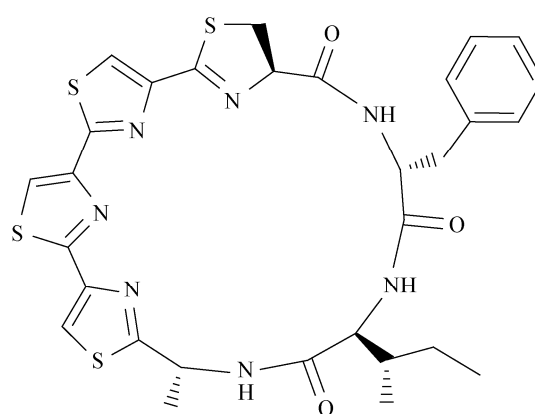


图 5 Marthiapeptide A 的分子结构
Figure 5 Structure of Marthiapeptide A

13-N-脱甲基甲基海沟霉素(5)和甲基海沟霉素-14-O- α -糖基(6)均是甲基海沟霉素的衍生物,这类抗生素显示广泛的生物活性。海沟霉素^[20]能抑制癌细胞表皮生长因子诱导的磷脂酰肌醇信号转化,抑制癌细胞生长达到抗肿瘤的效果,甲基化的海沟霉素^[21]能通过解除佛波醇对 Fas 诱导的细胞凋亡的抑制作用,达到抑制癌细胞增长的作用;新发现的两种衍生物对人恶性疟原虫药物敏感株 *Plasmodium falciparum* 3D7 和多药耐药株 Dd2 具有生长抑制作用,IC₅₀ 达到 5 $\mu\text{mol/L}$,为治疗疟疾提供新的药物选择。

化合物 Marthiapeptide A 是一个新的含四噻唑内酰胺化合物,含有四个连续的噻唑环、恶唑环和环肽结构,该类多肽类化合物具有广泛的生物活性,尤其含有噻唑环和恶唑环的环肽具有很强的细胞毒活性^[22]。化合物 Marthiapeptide A 对黄色微球菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌和苏云金芽孢杆菌有抑制作用,其最小抑制浓度在 2.0–8.0 $\mu\text{g/mL}$;同时具有细胞毒性,能显著抑制人神经胶质瘤株 SF-268、人乳腺癌细胞株 MCF-7、人肺癌细胞株 NCI-H460 和人肝癌细胞株 HepG2,其 IC₅₀ 达到 0.38–0.52 $\mu\text{mol/L}$ ^[23]。

海洋放线菌 SCSIO 00606 菌株发酵产物与 SCSIO 00652 有较大的差异,从中分离得到 3 种新的吡喃酮类化合物 Marinactinones A–C (图 6),3 种化合物均含有 γ -吡喃酮结构和甲基己基侧链, γ -吡喃酮类化合物具有广泛的生物学活性。3 种化合物对人胰腺癌 SW1990 细胞株和人肝癌 HepG2、SMCC-7721 细胞株具有不同程度的细胞毒活性,其 IC₅₀ 最小达 37 $\mu\text{mol/L}$,其中 Marinactinones B 具有抑制拓扑异构酶 II 作用,能积累 DNA 超螺旋,阻碍 DNA 聚合酶前行,从而抑制癌细胞生长^[24]。

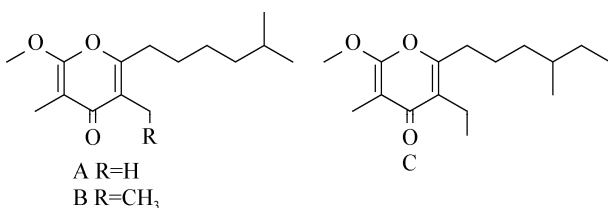


图 6 Marinactinones A–C 的分子结构

Figure 6 Structures of Marinactinones A–C

3 *M. thermotolerans* 来源化合物的合成机制

基于 *M. thermotolerans* SCSIO 00652 菌株全基因组测序和生物信息学分析,分别发现一个 Marinacarboline (MCB) 的生物合成基因簇和一个负责甲基海沟霉素和海沟霉素生物合成的基因簇,通过一系列基因工程手段和体外酶学手段阐明了二者的生物合成机制。

β -咔啉生物碱合成关键途径在植物、动物和微生物中研究较多,但负责 β -咔啉生物碱母核形成的关键生物合成酶尚未被发现。Chen 等^[25]的研究发现,Marinacarboline 的生物合成基因簇全长 4 kb,由 *mcbABC* 三个基因组成,其生物合成的前体是来自于初级代谢的色氨酸和乙酰辅酶 A。在 Marinacarboline 生物合成途径中,Mcba 是一个新的酰胺合成酶,依赖 ATP,参与催化 1-乙酰基-3-羧基- β -咔啉、 β -苯乙胺和色胺之间的酰胺键形成, Ji 等^[26]利用 Mcba 催化合成了 10 种新的 β -咔啉类似物。McbB 是一个催化 β -咔啉母核形成、具有 Pictet-Spengler 功能的新颖生物催化酶, E97 是催化活性关键位点。McbC 主要负责苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸的脱羧作用。至此,Marinacarboline 的生物合成过程中 3 个关键酶全部被发现,合成机制首次被阐明,为利用组合生物合成的方法构建其新的结构衍生物奠定了基础。

甲基海沟霉素和海沟霉素是一类九元环吡啶内酰胺类抗生素,其生物合成基因簇全长 14.3 kb,由 *mpnABCDEFG* 七个基因参与合成过程。其中 MpnB 是一种非核糖肽合成酶,能分别结合异亮氨酸和缬氨酸,参与合成甲基海沟霉素和海沟霉素分子。MpnC 是一种少数能有效催化 N-芳化的功能催化酶,解决传统合成法不容易实现 N-芳化过程。而 MpnD 负责催化色氨酸来源化合物 C-7 位上的逆异戊烯化过程^[27]。研究发现,蛋白质逆异戊烯化是在翻译后修饰并参与细胞调节过程,次级代谢产物逆异戊烯化通常表现生物学和药理活性。异戊二烯基转移酶催化的异戊二烯转移反应是生物合成中的关键步骤,能促进化合物的结构新颖性和生物学

多样性^[28]。深入研究甲基海沟霉素和海沟霉素的生物合成机制,为将来合成含色氨酸天然产物或色氨酸衍生物提供重要支撑。

4 *M. thermotolerans* 的基因组概况

我国学者及 Doe Joint Genome Institute (JGI) 分别对菌株 *M. thermotolerans* SCSIO 00652^T(=DSM 45154^T=CCTCC AA 208041^T) 进行基因组扫描测序,其中 JGI 测序结果已经公布在 GenBank (Seq Project ID 1008532)。基因组序列组装显示,染色体总长度为 5 663 781 bp,有 0.1% 的 Gap,36 个 Scaffold,G+C% 含量为 72%,预测共有 4 965 个蛋白编码基因以及大量的调控基因;随后我国学者基于三代 PacBio 测序平台,对菌株 SCSIO 00652^T 前期的基因组精细图进行完善、补 Gap 等操作,完成了 0 Gap 的基因组完成图,并最终确定菌株的基因组大小为 5.693 Mb。进一步分析发现该菌株具有多个 rRNA 拷贝数,且拷贝序列间存在差异。包

含 5 个 16S rRNA 基因拷贝,全长 1 521 bp,这些序列与 *M. thermotolerans* 发表的序列 EU698029 之间最大存在 1% 的差异,而这 5 条序列之间存在最多 10 个 bp 差异;6 个 5S rRNA 基因拷贝,长度均为 116 bp,它们之间最大有 5 个 bp 差异;以及 5 个 23S rRNA 基因拷贝,序列间的相似性差异最大达 1.4%。16S rRNA 基因的多拷贝对原核微生物的鉴定将产生一定的影响,造成这种差异的原因有待深入研究。

antiSMASH (3.0.5 版本)基因组注释预测显示共含有 18 个生物合成基因簇(表 1),包括 5 个非核糖体肽合成酶(NRPS)基因簇,4 个杂合基因簇,包括 I 型 PKS/NRPS 杂合、I 型 PKS/寡糖杂合基因簇,细菌素/羊毛硫肽杂合基因簇和 Nrps-Indole-Lasso peptide 杂合基因簇,2 个 I 型聚酮类合成酶(PKS)基因簇,其余羊毛硫肽杂合基因簇,II 型 PKS 基因簇,四氢嘧啶合成基因簇,Fused 基因簇和烯

表 1 SCSIO 00652 基因组 anti SMASH 3.0.5 分析结果
Table 1 Secondary metabolite clusters identified by anti SMASH 3.0.5

编号 No.	类型 Type	大小 Side kb	类似基因簇 Similar gene cluster	相似度 Similarity (%)
1	Ectoïne	11.2	Ectoïne	100
2	Lantipeptide	12.4	K-252a	5
3	Lantipeptide	24.5	Cinnamycin	28
4	NRPS-Indole	67.0	Methylpendolmycin	100
5	NRPS	66.8	Fuscachelin	77
6	PKS	42.8	Arsenopolyketide	8
7	NRPS	53.8	Coelibactin	90
8	PKS	33.2	—	—
9	Fused	23.6	—	—
10	Terpene	30.1	Isorenieratene	100
11	NRPS	56.1	Saframycin	17
12	NRPS-PKS	54.7	Stenothricin	9
13	PKS	59.7	Echosides	11
14	Other	41.1	Herboxidiene	4
15	PKS	101.8	Laspartomycin	12
16	NRPS	47.5	—	—
17	Other	51.2	Porothramycin	5
18	NRPS	56.9	WS9326	10

萜类基因簇各 1 个,未知合成基因簇 2 个。化合物甲基海沟霉素和海沟霉素的生物合成基因簇已被鉴定并储存在 GenBank 中,其登录号为 JN634585。海洋放线菌能通过 NRPS 和 PKS 合成途径生成结构新颖、功能多样性的次级代谢产物,是天然活性小分子的重要来源。NRPS 基因簇由腺苷酰化结构域、缩合结构域和肽酰载体蛋白结构域组成, β -内酰胺类、多肽类和糖肽类等由 NRPS 途径合成^[29]; PKS 基因簇^[30]一般由酮基合成酶编码区、酰基转移酶编码区和酰基载体蛋白编码区组成,根据聚酮合酶的结构及其他性质分型,PKS 途径能合成四环素、大环内酯类、安莎类、聚醚类等结构新颖的活性化合物。

5 *M. thermotolerans* 的研究展望

海洋放线菌因其独特的生存环境而具有与陆源放线菌不同的生理生化特征,能产生多种活性的次级代谢产物。新发现的 *M. thermotolerans* 能产生抗生素 A201A、抗疟原虫活性的 Marinacarboline A-D、潜在抗癌活性的甲基海沟霉素和海沟霉素、抗菌且具细胞毒性的噻唑环肽类化合物 Marthiapeptide A 以及抗肿瘤活性的吡喃类化合物 Marinactinones A-C 等多种新型活性产物,表明海洋放线菌是发现新型抗生素和新型药物的优良微生物资源,为研制新的抗肿瘤或抗菌药物提供了新的先导化合物。

通过前期对海洋放线菌 *M. thermotolerans* 的研究,后期在以下几个方面需要加强:(1) 新海洋放线菌资源的发掘。*M. thermotolerans* 新菌株的发现是后续研究工作的前提和契机,是新的化合物、新功能基因及新型代谢途径等发现的关键。此外,极端海洋环境中难培养或未培养微生物资源也具有产新颖化合物的巨大潜力。因此,加强稀有菌种资源的挖掘,有利于展开新物种、新产物、新机制、新应用等方面的研究。(2) 化合物分离新方法开发。由于传统化合物分离手段的局限性,分离过程中产量较低化合物的难以分离,急需开发反应灵敏而检测方便的新型分离检测方

法,配合全面的生物信息学分析能够有效从目标菌株中挖掘未知的活性次级代谢产物。(3) 发酵条件的“极端化”。首先,海洋放线菌在实验室的最适生长条件下,能够产生种类丰富的次级代谢产物。而如果适当增大发酵条件的压力,如高温、高盐、酸碱条件下对目标菌株进行胁迫发酵、固体发酵、静置液体发酵、大规模发酵等多种发酵措施,能够极大程度上提升菌株代谢产物的出新率。如鞠建华等^[23]针对 *M. thermotolerans* 采用 60 L 大规模发酵体系成功分离获得具有抗感染活性的噻唑环肽类化合物 Marthiapeptide A。(4) 调控因子的编辑和沉默基因的激活。菌株基因组上含有大量的沉默基因簇,而基因簇内存在许多潜在的调控因子和功能基因。通过对这些调控因子和潜在沉默基因进行遗传操作,能够有效激活沉默基因簇的表达而生产新颖活性化合物。例如通过敲除负调控因子 *mtdA* 基因,得到高产抗生素 A201A 的 SCSIO 00652 突变株 Ju3001^[31],其产量是野生型的 25 倍,达到 312.5 mg/L。抗生素 A201A 高产菌株 *M. thermotolerans* SCSIO 00652 突变株 Ju3001 的成功构建使抗生素 A201A 的产业化成为可能。另外,从海洋放线菌 SCSIO 00652 中重新发现抗生素 A201A,也引起同行的高度重视,完成了对其的全合成^[32]。以上工作使抗生素 A201A 的产业化成为可能,这也为该抗生素入药打下了基础,对开发中国海洋药物资源具有重要意义。此外,信号分子的级联信号传递过程中也能激活化合物的合成和释放,如链霉素合成过程中需要一些级联信号分子 A-factor 的介导。新颖化合物基因簇的发现既可以指导海洋放线菌活性化合物的定位,还能通过调控因子的功能研究提高活性化合物的产量,为开发中国海洋药物资源提供新思路。

目前海洋放线菌菌种资源挖掘有限,单个菌株的化合物发现有限,微生物全基因组信息解析程度有限,国家投入的人力物力仍然有限,因此,海洋放线菌新颖药源活性化合物的发现还需要在研究方法上有突破,才能有更好的发展。

参 考 文 献

- [1] Jaiganesh R, Kumar NSS. Marine bacterial sources of bioactive compounds[J]. *Advances in Food and Nutrition Research*, 2012, 65: 389-408
- [2] Nikapitiya C. Bioactive secondary metabolites from marine microbes for drug discovery[J]. *Advances in Food and Nutrition Research*, 2012, 65: 363-387
- [3] Song YX, Huang HB, Gui C, et al. Advances in marine actinobacterial derived natural products research[A]//Yu GL, Tan RX. *Marine Natural Products Research and Drug Development*[M]. Beijing: Science Press, 2016: 115-124 (in Chinese)
宋永相, 黄洪波, 桂春, 等. 海洋放线菌来源天然产物研究[A]//于广利, 谭仁祥. *海洋天然产物与药物研究开发*[M]. 北京: 科学出版社, 2016: 115-124
- [4] Zhang WJ, Liu Z, Li SM, et al. Spiroindimicins A–D: new bisindole alkaloids from a deep-sea-derived actinomycete[J]. *Organic Letters*, 2012, 14(13): 3364-3367
- [5] Huang HB, Yang TT, Ren XM, et al. Cytotoxic angucycline class glycosides from the deep sea actinomycete *Streptomyces lusitanus* SCSIO LR32[J]. *Journal of Natural Products*, 2012, 75(2): 202-208
- [6] Yang XW, Peng K, Liu Z, et al. Strepesquiritriol, a rearranged zizaane-type sesquiterpenoid from the deep-sea-derived actinomycete *Streptomyces* sp. SCSIO 10355[J]. *Journal of Natural Products*, 2013, 76(12): 2360-2363
- [7] Li HX, Zhang QB, Li SM, et al. Identification and characterization of xiamycin A and oxiamycin gene cluster reveals an oxidative cyclization strategy tailoring indolosesquiterpene biosynthesis[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2012, 134(21): 8996-9005
- [8] Song YX, Liu GF, Li J, et al. Cytotoxic and antibacterial Angucycline- and Prodigiosin- analogues from the deep-sea derived *Streptomyces* sp. SCSIO 11594[J]. *Marine Drugs*, 2015, 13(3): 1304-1316
- [9] Zhang CS. Advances in combinatorial biosynthesis of marine natural products[A]//Yu GL, Tan RX. *Marine Natural Products Research and Drug Development*[M]. Beijing: Science Press, 2016: 183-191 (in Chinese)
张长生. 海洋天然产物组合生物合成研究进展[A]//于广利, 谭仁祥. *海洋天然产物与药物研究开发*[M]. 北京: 科学出版社, 2016: 183-191
- [10] Niu SW, Li SM, Chen YC, et al. Lobophorins E and F, new spiro-tetronate antibiotics from a South China Sea-derived *Streptomyces* sp. SCSIO 01127[J]. *The Journal of Antibiotics*, 2011, 64(11): 711-716
- [11] Zhang Y, Huang HB, Chen Q, et al. Identification of the grincamycin gene cluster unveils divergent roles for GcnQ in different hosts, tailoring the L-rhodinose moiety[J]. *Organic Letters*, 2013, 15(13): 3254-3257
- [12] Mo XH, Ma JY, Huang HB, et al. $\Delta^{11,12}$ Double bond formation in tirandamycin biosynthesis is atypically catalyzed by TrdE, a glycoside hydrolase family enzyme[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2012, 134(6): 2844-2847
- [13] Lin QH, Zhang GT, Li SM, et al. Development of a genetic modification system for caerulomycin producer *Actinoalloteichus* sp. WH1-2216-6[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2011, 51(8): 1032-1041 (in Chinese)
林钦恒, 张光涛, 李苏梅, 等. 浅蓝霉素产生菌海洋异壁放线菌 WH1-2216-6 遗传操作体系的建立[J]. *微生物学报*, 2011, 51(8): 1032-1041
- [14] Chen LY, Wang YM, Zhao XQ. Nature product discovery of marine actinobacteria by genome mining: strategies and prospects[J]. *Microbiology China*, 2013, 40(10): 1896-1908 (in Chinese)
陈亮宇, 王玉梅, 赵心清. 基因组挖掘技术在海洋放线菌天然产物研究开发中的应用及展望[J]. *微生物学通报*, 2013, 40(10): 1896-1908
- [15] Tian XP, Tang SK, Dong JD, et al. *Marinactinospora thermotolerans* gen. nov., sp. nov., a marine actinomycete isolated from a sediment in the northern South China Sea[J]. *International Journal of Systematic & Evolutionary Microbiology*, 2009, 59(5): 222-228
- [16] Liu MJ, Khieu TN, Gao R, et al. *Marinactinospora endophytica* sp. nov., isolated from a medicinal plant[J]. *Antonie van Leeuwenhoek*, 2015, 107(6): 1577-1582
- [17] Ju JH, Zhu QH, Li J, et al. Engineered overproduction of a nucleoside antibiotic A201A from *Marinactinospora thermotolerans* SCSIO 00652: CN102373171A[P]. 2013.03.14. <http://www2.sooapat.com/Patent/201110340905?lx=FMSQ> (in Chinese)
鞠建华, 朱清华, 李军, 等. 一种核苷类抗生素 A201A 高产菌株及其构建方法: CN102373171A[P]. 2013.03.14. <http://www2.sooapat.com/Patent/201110340905?lx=FMSQ>
- [18] Huang HB, Yao YL, He ZX, et al. Antimalarial β -carboline and indolactam alkaloids from *Marinactinospora thermotolerans*, a deep sea isolate[J]. *Journal of Natural Products*, 2011, 74(10): 2122-2217
- [19] Zhou X, Huang HB, Chen YC, et al. Marthiapeptide A, an anti-infective and cytotoxic polythiazole cyclopeptide from a 60 L scale fermentation of the deep sea-derived *Marinactinospora thermotolerans* SCSIO 00652[J]. *Journal of Natural Products*, 2012, 75(12): 2251-2255
- [20] Yamashita T, Imoto M, Isshiki K, et al. Isolation of a new indole alkaloid, Pendolmycin, from *Nocardiopsis*[J]. *Journal of Natural Products*, 1988, 51(6): 1184-1187
- [21] Sun HH, White CB, Dedinas J, et al. Methylpendolmycin, an indolactam from a *Nocardiopsis* sp.[J]. *Journal of Natural Products*, 1991, 54(5): 1440-1443
- [22] Antkiewicz-Michaluk L, Rommelspacher H. Isoquinolines and beta-carboline as Neurotoxins and Neuroprotectants[M]. US: Springer, 2012
- [23] Ju JH, Zhou X, Huang HB. Antibiotic Tetrathiazomycin A and preparation method thereof and application in preparing antineoplastic drugs: CN102775427B[P]. 2014.04.09. <http://www2.sooapat.com/Patent/201210230665?lx=FMSQ> (in Chinese)
鞠建华, 周潇, 黄洪波. 抗生素 Tetrathiazomycin A 及其制备方法和在制备抗肿瘤药物中的应用: CN102775427B[P]. 2014.04.09. <http://www2.sooapat.com/Patent/201210230665?lx=FMSQ>

- [24] Wang FZ, Tian XP, Huang CG, et al. Marinactinones A–C, new Lambda-pyrone from marine actinomycete *Marinactinospora thermotolerans* SCSIO 00606[J]. The Journal of Antibiotics, 2011, 64(2): 189-192
- [25] Chen Q, Ji CT, Song YX, et al. Discovery of McbB, an enzyme catalyzing the β -carboline skeleton construction in the marinacarboline biosynthetic pathway[J]. Angewandte Chemie International Edition, 2013, 125(38): 10164-10168
- [26] Ji CT, Chen Q, Li QL, et al. Chemoenzymatic synthesis of B-carboline derivatives using McbA, a new ATP-dependent amide synthetase[J]. Tetrahedron Letters, 2014, 55(35): 4901-4904
- [27] Ma JY, Zuo DG, Song YX, et al. Characterization of a single gene cluster responsible for methylpendolmycin and pendolmycin biosynthesis in the deep sea bacterium *Marinactinospora thermotolerans*[J]. ChemBiochem, 2012, 13(4): 547-552
- [28] Winkelblech J, Fan AL, Li SM. Prenyltransferases as key enzymes in primary and secondary metabolism[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2015, 99(18): 7379-7397
- [29] Li J, Zhu QH, Zhang Y, et al. Development of a genetic system of deep sea marine actinomycete *Marinactinospora thermotolerans* SCSIO 00652[J]. Chinese Journal of Antibiotics, 2012, 37(2): 105-111 (in Chinese)
- 李军, 朱清华, 张云, 等. 深海放线菌 *Marinactinospora thermotolerans* SCSIO 00652 遗传操作系统的建立[J]. 中国抗生素杂志, 2012, 37(2): 105-111
- [30] Liu BH, Cao YY, Yan JF, et al. Gene cluster of polyketide synthase for polyketides and drug screening[J]. Biotechnology Bulletin, 2008, 18(4): 30-33 (in Chinese)
- 刘炳辉, 曹远银, 闫建芳, 等. 聚酮类化合物生物合成基因簇与药物筛选[J]. 生物技术通报, 2008, 18(4): 30-33
- [31] Zhu QH, Li J, Ma JY, et al. Discovery and engineered overproduction of antimicrobial nucleoside antibiotic A201A from the deep-sea marine actinomycete *Marinactinospora thermotolerans* SCSIO 00652[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2011, 56(1): 110-114
- [32] Nie SY, Li W, Yu B. Total synthesis of nucleoside antibiotic A201A[J]. Journal of the American Chemical Society, 2014, 136(11): 4157-4160

(上接 p.2183)

征稿简则

3.3 摘要写作注意事项

3.3.1 英文摘要: 1) 建议使用第一人称, 以此可区分研究结果是引用文献还是作者得出的; 2) 建议用主动语态, 被动语态表达拖拉模糊, 尽量不用, 这样可以避免长句, 以求简单清晰; 3) 建议使用过去时态, 要求语法正确, 句子通顺; 4) 英文摘要的内容应与中文摘要一致, 但可比中文摘要更详尽, 写完后务必请英文较好且专业知识强的专家审阅定稿后再返回编辑部。5) 摘要中不要使用缩写语, 除非是人人皆知的, 如: DNA, ATP 等; 6) 在英文摘要中, 不要使用中文字体标点符号。

3.3.2 关键词: 应明确、具体, 一些模糊、笼统的词语最好不用, 如基因、表达……

4 特别说明

4.1 关于测序类论文

凡涉及测定 DNA、RNA 或蛋白质序列的论文, 请先通过国际基因库 EMBL (欧洲) 或 GenBank (美国) 或 DDBJ (日本), 申请得到国际基因库登录号 (Accession No.) 后再投来。

4.2 关于版权

4.2.1 本刊只接受未公开发表的文章, 请勿一稿两投。

4.2.2 凡在本刊通过审稿、同意刊出的文章, 所有形式的 (即各种文字、各种介质的) 版权均属本刊编辑部所有。作者如有异议, 敬请事先声明。

4.2.3 对录用的稿件编辑部有权进行文字加工, 但如涉及内容的大量改动, 将请作者过目同意。

4.2.4 文责自负。作者必须保证论文的真实性, 因抄袭剽窃、弄虚作假等行为引发的一切后果, 由作者自负。

4.3 审稿程序及提前发表

4.3.1 来稿刊登与否由编委会最后审定。对不录用的稿件, 一般在收稿 2 个月之内通过 E-mail 说明原因, 作者登陆我刊系统也可查看。稿件经过初审、终审通过后, 作者根据编辑部返回的退修意见进行修改补充, 然后以投稿时的用户名和密码登陆我刊系统上传修改稿, 待编辑部复审后将给作者发稿件录用通知单, 稿件按照投稿先后排队发表。

4.3.2 对投稿的个人和单位一视同仁。坚持文稿质量为唯一标准, 对稿件采取择优先登的原则。

5 发表费及稿费

论文一经录用, 将在发表前根据版面收取一定的发表费并酌付稿酬、赠送样刊。

6 联系方式

地址: 北京市朝阳区北辰西路 1 号院 3 号中国科学院微生物研究所《微生物学通报》编辑部(100101)

Tel: 010-64807511; E-mail: tongbao@im.ac.cn; 网址: <http://journals.im.ac.cn/wwxtbcn>

Tel: 010-64807511; E-mail: tongbao@im.ac.cn; <http://journals.im.ac.cn/wwxtbcn>