



综述

DOI:10.14188/j.ajsh.2021.03.005

海洋放线菌资源、研究方法与生物活性研究进展

吕佩帅^{1,2}, 张丽红^{1*}, 徐福洲², 马港庆¹

(1. 山西师范大学 生命科学学院, 山西 临汾 041000;

2. 北京市农林科学院 畜牧兽医研究所, 北京 100097)

摘要: 海洋放线菌生活的环境如养分、光照、氧气浓度、压力、盐度和温度等与陆地环境存在极大差异,因此海洋放线菌形成了独特的生物化学代谢和生理能力。近年来,海洋放线菌成为生物资源开发和研究的热点。海洋放线菌分布广泛,种类多样。海洋放线菌活性代谢产物具有极强的医药应用潜力,其代谢产物的功能研究及重要代谢产物的开发成为海洋放线菌研究的重要方向。此外,海洋放线菌在环境保护以及生产应用等方面展现出的潜能,引起研究人员极大的兴趣。本文结合近年来海洋放线菌的分离种类与生境、海洋放线菌的研究策略与手段以及代谢产物功能多样性进行了归纳总结,以期对海洋放线菌的认识更全面、系统。

关键词: 海洋放线菌;种质资源;次级代谢产物;生物活性物质;合成生物学技术

中图分类号: Q939.9

文献标志码: A

文章编号: 2096-3491(2021)03-0232-14

Advances in the resources, research methods and biological activities of marine actinomycetes

LÜ Peishuai^{1,2}, ZHANG Lihong^{1*}, XU Fuzhou², MA Gangqing¹

(1. School of Life Science, Shanxi Normal University, Linfen 041000, Shanxi, China;

2. Institute of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Beijing 100097, China)

Abstract: The available nutrients, light, oxygen concentration, pressure, salinity and temperature of habitats where marine actinomycetes live are greatly different from those of terrestrial environment, which makes marine actinomycetes develop unique biochemical metabolisms and physiological capabilities. In recent years, marine actinomycetes have become a hotspot in the development and research of biological resources. Marine actinomycetes are widely distributed and diverse. Bioactive metabolites of marine actinomycetes have great potential for medical application. The study on the function of metabolites and the development of important metabolites have become an important direction of marine actinomycete research. In addition, researchers are interested in the potential of marine actinomycetes in environmental protection and production applications. In this paper, the isolation species and habitats, the research strategies and means of marine actinomycetes, and the functional diversity of the metabolites are summarized in order to have a more comprehensive and systematic understanding of marine actinomycetes.

Key words: marine actinomycete; germplasm resource; secondary metabolite; bioactive substance; synthetic biology technology

收稿日期: 2021-01-13 修回日期: 2021-03-25 接受日期: 2021-06-03

作者简介: 吕佩帅(1995-),男,硕士生,主要从事微生物学研究。Email: lvpeishuai0308@163.com

* 通讯联系人: 张丽红(1978-),女,博士,副教授,研究方向:微生物资源。Email: zhangyongyuan0@163.com

基金项目: 山西师范大学优质课程(2019YZKC-10);山西师范大学大学生创新项目(2019DCXM-84)

引用格式: 吕佩帅,张丽红,徐福洲,等. 海洋放线菌资源、研究方法与生物活性研究进展[J]. 生物资源, 2021, 43(3): 232-245.

Lü P S, Zhang L H, Xu F Z, *et al.* Advances in the resources, research methods and biological activities of marine actinomycetes [J]. Biotic Resources, 2021, 43(3): 232-245.

0 引言

放线菌门(Actinobacteria)是规模最大、种类最丰富的细菌门之一。目前为止,放线菌仍然是推动发现新的生物分子、酶活性物质等生物重要资源的活跃研究领域。其生活方式、形态、生理代谢活动以及遗传学表现出多样性^[1]。作为生物活性物质的天然生产者,放线菌是药物应用的新型次生代谢物的重要来源^[2]。

自20世纪50年代以来,人们对陆地来源的放线菌进行了研究和筛选,获得了许多重要的抗生素、抗癌药物、抗肿瘤药物和免疫抑制剂等。但是由于对抗生素的广泛使用,导致细菌的耐药性迅速增加^[3],继而陆续出现如被称为“超级细菌”的耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA)等多种耐药菌,对绝大多数抗生素不再敏感^[4]。因此在规范抗生素使用的同时也迫切需要新的抗生素来对抗耐药菌的出现。

随着人类对新生物活性物质需求的不断提高,近年来,在药物筛选方面,陆生放线菌的吸引力逐渐下降。而海洋因其高压、高盐及低温等复杂环境,使海洋生物形成了复杂的生理结构和形态分化,从海洋环境中分离出来的放线菌因其次生代谢产物的结构多样性和独特的生物活性而受到广泛关注^[5]。它们是新的次生代谢物的高效生产者,具有抗细菌、抗真菌、抗癌、抗肿瘤、细胞毒性、细胞抑制、抗炎、抗寄生虫、抗疟疾、抗病毒、抗氧化、抗血管生成等一系列生物活性^[6~11]。海洋放线菌中的生物活性化合物具有独特的化学结构,可能是合成新药物的基础,这些药物可用于对抗耐药病原体。随着科学技术的不断进步,未来对各种海洋来源放线菌合成的新型生物活性化合物的需求将越来越大。海洋放线菌尤其是深海放线菌资源的探索与开发,不仅扩大了人们对海洋放线菌多样性的认识,更为获得新的代谢产物与新的生物功能活性物质提供可能^[12~14]。目前,有研究还发现海洋放线菌的某些代谢产物可用于制作生物絮凝剂、表面活性剂、防污剂等,在环境保护具有较好的应用前景^[15~18]。本文主要对目前海洋放线菌的种质资源、研究方法思路、代谢产物生物活性功能等方面进行概述。

1 海洋放线菌种质资源

随着深海放线菌样品采集与分离技术的突破,越来越多的深海放线菌被发现^[19]。这些研究对了解海洋放线菌在海洋中的分布及对环境的适应,以及

发现新的次级代谢产物研究具有重要意义。

1.1 海洋放线菌资源概述

海洋放线菌的分离生境包括海水、海洋沉积物、藻类、红树林、海绵、珊瑚、被膜动物、软体动物等。按照海洋放线菌的生活方式分为自由生活放线菌与共附生放线菌。

1.1.1 自由生活放线菌

自由生活放线菌是指广泛分布在土壤、海水以及红树林等不同自然环境中独立生活的放线菌。海洋中发现的自由放线菌主要栖息于海水及海底沉积物中^[20]。除了海水中及海底沉积物中发现的放线菌外,红树林作为海岸潮间带的木本植物群落,在热带和亚热带沿海地区比较普遍,独特的理化环境和丰富的腐殖质为微生物多样性创造了有利的条件,因此红树林这一特殊海洋生物环境也备受关注^[9,21~24]。目前已知的海洋自由放线菌见表1。

1.1.2 共附生放线菌

共附生放线菌是指附生在植物或动物上生存的放线菌。近年来,海洋动植物共附生放线菌的研究也逐渐增多。在四齿大额蟹(*Metopograpsus quadridentatus*)、海绵(sponge)、海参(*Stichopus japonicus*)、澳大利亚海鞘(ascidians)以及深海珊瑚礁无脊椎动物等海洋动物中均发现了共附生放线菌。此外海洋植物海草和绿藻中也发现了共附生放线菌,包括小单胞菌属(*Micromonospora*)、假诺卡氏菌属(*Pseudonocardia*)、产丝菌属(*Myceligenans*)、稀有放线菌放线孢菌属(*Actinomycetospora*)、土壤球菌属(*Agrococcus*)、赖氏菌属(*Leifsonia*)、诺卡菌属(*Nocardiopsis*)、原小单胞菌属(*Promicromonospora*)、红球菌属(*Rhodococcus*)、盐孢菌属(*Salinispora*)、束村氏菌属(*Tsukamurella*)、皮生球菌属(*Dermacoccus*)以及链霉菌属新物种 *Streptomyces tirandamycinicus* sp. nov.^[25~32]。

根据目前海洋放线菌纯种分离的情况来看,自由放线菌和共附生放线菌在属的分类上没有明确的区分。到目前为止在全球海洋环境中已报道的放线菌属已超过60属(详见表1)。尽管部分放线菌是从海洋环境中分离到的新种(属),但从海洋环境中分离的放线菌是否具有天然性仍然是一个悬而未决的问题。只有将表型特征与基因组分析相结合,才能提供海洋适应的证据。目前盐孢菌属、*Marinophilus*、海孢菌属(*Marinospora*)、迪茨氏菌属(*Dietzia*)、气微菌属(*Aeromicrobium*)、海洋分支杆菌(*Mycobacterium marinum*)、阿穆斯基湾盐水杆菌(*Salinibacterium*)被公认为专性海洋放线菌^[33~37]。

表 1 从海洋中分离培养的放线菌
Table 1 Culturable actinomycetes isolated from marine habitats

放线菌类别	菌属
自由生活放线菌	气微菌属(<i>Aeromicrobium</i>)、迪茨氏菌属(<i>Dietzia</i>)、弗莱德门菌属(<i>Friedmanniella</i>)、姜氏菌属(<i>Jiangella</i>)、考克氏菌属(<i>Kocuria</i>)、马杜拉菌属(<i>Actinomadura</i>)、小杆菌属(<i>Microbacterium</i>)、海洋放线孢菌属(<i>Marinactinospora</i>)、节杆菌属(<i>Arthrobacter</i>)、短状杆菌属(<i>Brachbacterium</i>)、短杆菌属(<i>Brevibacterium</i>)、野村氏菌属(<i>Nonomuraea</i>)、棒状杆菌属(<i>Corynebacterium</i>)、 <i>Chainia</i> 、中村氏菌属(<i>Nakamurella</i>)、糖多孢菌属(<i>Saccharopolyspora</i>)、红球菌属(<i>Rhodococcus</i>)、链孢囊菌属(<i>Streptosporangium</i>)、盐孢菌属(<i>Salinispora</i>)、疣孢菌属(<i>Verrucosispora</i>)、盐杆菌属(<i>Salinibacterium</i>)、拟无枝菌酸菌属(<i>Amycolatopsis</i>)、海孢菌属(<i>Marinospora</i>)、贫养杆菌属(<i>Modestobacter</i>)、南海海洋所菌属(<i>Sciscionella</i>)、丝氨酸球菌属(<i>Serinicoccus</i>)、 <i>Nesterenkonion</i> 、威廉姆斯菌属(<i>Williamsia</i>)、类诺卡氏菌属(<i>Nocardioioides</i>)、分支杆菌属(<i>Mycobacterium</i>)、 <i>Marinophilus</i>
共附生放线菌	珊瑚状放线菌属(<i>Actinocorallia</i>)、砷球菌属(<i>Arsenicococcus</i>)、土壤球菌属(<i>Agrococcus</i>)、放线孢菌属(<i>Actinomycetospora</i>)、橘橙孢放线菌属(<i>Actinoaurantispora</i>)、酸微菌属(<i>Acidimicrobium</i>)、去甲基醌菌属(<i>Demequina</i>)、赖氏菌属(<i>Leifsonia</i>)、小双孢菌属(<i>Microbispora</i>)、分支杆菌属(<i>Mycobacterium</i>)、白蚁菌属(<i>Isopterocola</i>)、微丝菌属(<i>Microthrrix</i>)、四叠球菌属(<i>Tessaracoccus</i>)、戈登氏菌属(<i>Gordonia</i>)、微球菌属(<i>Micrococcus</i>)、普氏菌属(<i>Prauserella</i>)、糖霉菌属(<i>Glycomyces</i>)、海藻菌属(<i>Phycicola</i>)、原小单孢菌属(<i>Promicromonospora</i>)、血杆菌属(<i>Sanguibacter</i>)、尤泽比氏菌属(<i>Euzebya</i>)、诺尔士菌属(<i>Knoellia</i>)、 <i>Iamia</i>
自由生活放线菌和共附生放线菌的共同属	皮球菌属(<i>Dermacoccus</i>)、小单胞菌属(<i>Micromonospora</i>)、假诺卡氏菌属(<i>Pseudonocardia</i>)、链霉菌属(<i>Streptomyces</i>)、拟诺卡氏菌属(<i>Nocardiopsis</i>)、产丝菌属(<i>Myceligeners</i>)、诺卡氏菌属(<i>Nocardia</i>)、游动放线菌属(<i>Actinoplanes</i>)、冢村氏菌属(<i>Tsakamurella</i>)

1.2 海洋放线菌的纯种培养

1.2.1 培养影响因素

海洋放线菌的分离培养受取样技术、分离技术以及培养技术的影响。有研究显示考虑样品的培养条件(介质成分、稀释因子、海水需求量、人工海水和培养时间)、温度、营养物质含量、抗生素种类以及分离方法能显著增加可培养海洋放线菌的数量^[38]。目前,分离培养大多使用稀释培养技术,这种培养方法倾向于选择丰度最大而不是营养感应与耐受性最强的微生物。

1.2.2 培养基的选择

目前海洋放线菌的分离和培养,主要集中在如何优化培养基中的营养成分、温度及酸碱性等培养条件,从而获得纯培养物,进一步研究其生长、代谢等情况。目前报道的海洋放线菌培养基种类约10余种,包括410、19、333、400、MMM、OM、SGG、R2A、ISP2和2216E等(见表2)^[39,40]。不同培养基中分离到的海洋放线菌的数量和多样性存在差异,营养环境影响着放线菌的分布与丰度。

除了上述培养基外,也可根据已知培养基分离物种的情况来推断其近缘物种的培养基,Oberhardt等人结合NCBI的微生物分类和微生物培养基数据库以及德国微生物菌种保藏中心(Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen, DSMZ)等,建立了网址 [\[seed.org\]\(http://seed.org\),依据传递预测模式\(transitive prediction schema\)和协同过滤预测\(collaborative filtering predictor\)来综合优化放线菌的营养环境^{\[41\]}。](http://komodo.modelle-</p></div><div data-bbox=)

对海洋放线菌的探索往往受到获取具有生产潜力代谢产物的培养策略的限制。目前,依赖纯培养的方法仍然被认为是一种有用的生物探索方法,特别是纯培养菌株能够进行下一步的菌株操作、化合物提纯以及后续基因组信息挖掘、代谢组学分析研究等^[42,43]。

1.3 海洋放线菌多样性研究

尽管选择性分离方法能够培养出相当数量的纯培养物,但受培养条件、技术的局限,可以被纯培养的细菌种类数量仍然很低,而海洋环境更为特殊,平板培养无法获得大多数海洋环境中的微生物。高通量测序作为一种非培养分子生物学技术,具备检测快速、准确、信息全面且丰富等特点。该技术通过对海洋采集样品基因组DNA提取,16S rRNA基因扩增,序列处理,软件比对,最终确定分类单元OTUs,进而进行数据比对,确定海洋样品中放线菌的种类及丰度^[44,45]。

随着高通量测序技术的不断升级换代以及成本的大幅下降,该方法在环境微生物分子生态学研究中得到广泛应用,帮助人类探索海洋放线菌的多样性和群落组成情况,为海洋环境中放线菌资源的认识与开发提供了证据^[46]。

表 2 培养基及配方
Table 2 Media and formulae

组成	培养基种类										g
	19	333	400	410	MMM	OM	SGG	R2A	ISP-2	2216E	
葡萄糖		5	10	10	10		10	0.5	4		
甘油				10			10				
甘露醇	20										
酪蛋白氨基酸				15							
酪蛋白胨					5						
玉米粉							2.5				
牛肉膏			3								
麦芽提取物									10		
麦片				5	20						
蛋白胨	20	3	3	10			5	0.5		5	
可溶性淀粉		10	20		20		10	0.5			
酵母提取物		3	5	5	5		2	0.5	4	1	
酪蛋白水解物								0.5			
碳酸钙		2	3	1	1		3				
氯化钠							1			19.45	
磷酸氢二钾								0.3			
磷酸氢二钠										0.008	
硼酸										0.022	
硝酸钠										0.0016	
氟化钠										0.0024	
硅酸钠										0.004	
氯化锶										0.034	
溴化钾										0.08	
碳酸钠										0.16	
氯化钾										0.55	
氯化钙										1.8	
硫酸钠										3.24	
氯化镁										5.98	
柠檬酸铁										0.1	
硫酸镁								0.024			
丙酮酸钠								0.3			
硝酸铵		3									
pH	7.5	7.2	7.0	7.0	7.6	7.3	7.3	7.3	7.3	7.6	

2 海洋放线菌活性物质的研究方法

海洋环境的特殊性赋予了海洋放线菌特定的生理性状和遗传代谢,可能产生与陆栖放线菌不一样的代谢产物,研究显示有些代谢物质拥有较独特的药用潜力^[6,47]。因此,研究活性物质的方法十分重要。

2.1 传统分析方法

传统的分析代谢产物的方法一般为硅胶凝胶层析、高效液相色谱以及质谱联用等。用这些方法对

活性物质进行筛选和结构鉴定。如 Al-Dhabi 用气相色谱-质谱联用的方法对沙特阿拉伯地区海洋链霉菌属放线菌代谢产物进行了分析,并鉴定出主要化合物为 1-(2,6-二甲基-4-丙氧基苯基)丙-1-酮和 2-丙基苯基乙酯^[48]。对从吉林省河流淤泥与珊瑚中分离得到的放线菌采用正相硅胶和凝胶 Sephadex LH-20 层析、制备型和半制备型高效液相色谱分离纯化,核磁共振波谱和高分辨质谱分析等方法对单体化合物进行了结构鉴定,从代谢产物中鉴定出包括

戊二酰亚胺类化合物在内的多种化合物^[49,50]。研究红海绵中放线菌抗菌代谢物结构时,有研究者用了核磁共振(NMR)和高分辨率电喷雾质谱(HRESIMS)技术,发现了三种新的氯化苯丙酸衍生物^[51]。在对来自海鞘的放线菌抑菌代谢物研究时,除了上述分析方法对发酵产物分离纯化外,X-ray单晶衍射技术对化合物的结果进行分析验证,最终分离鉴定出了3个化合物 anthracimycin C、anthracimycin 和 anthracimycin B^[52]。

2.2 基因组挖掘

基因组挖掘是一种基于基因簇序列和生物合成途径发现天然产物的综合策略^[53]。基因组挖掘工具使我们能够预测生物合成基因簇,这些基因簇能够编码具有工业和医学应用价值的化合物。随着测序基因组数量的不断增加,为了指导生物合成基因簇的有效排序,找到最有前途的化合物,需要了解生物合成基因簇的多样性、系统发育关系和分布模式。将基因组与亚基因组测序技术结合生物信息学分析,进一步挖掘放线菌中特殊代谢物生物合成途径,这一方法极大地促进了海洋放线菌天然化合物的发现。

利用系统发育特征和基因组学的方法分析了生物合成基因簇的位置以及产生代谢产物的潜力,除此之外还发现水平和垂直基因转移在获得和维持有价值的次生代谢物方面起着重要作用,这为了解次级代谢产物基因簇之间的相互联系提供了一种在寻找和发现新化合物时优先考虑生物合成途径的方法^[54]。常用于注释次级代谢物合成基因簇的平台及网页详见表3。

2.3 合成生物学技术

合成生物学策略由“设计-构建-测试”三个部分组成。首先,通过基因组挖掘发现特异代谢物质生

物合成基因簇(specialized metabolites-biosynthetic gene clusters, SM-BGCs);其次,基于原宿主基因组 SM-BGCs 分析,构建 SM-BGC 异源表达质粒,探索最佳的异源表达系统;最后,利用高通量测试方法检测基因组激活情况。通过不断改进,最终获得相应代谢产物^[55,56]。

2.4 构建基因组模型

近年来,利用基因组信息构建模型开发新天然代谢产物成为海洋放线菌研究的新思路。有研究者对模式海洋放线菌——盐孢菌属放线菌构建保守代谢能力的相关模型进行研究,指导特定代谢产物的生产,同时,也可构建具有高新生物技术潜力的基因组代谢模型进而获得相关次级代谢产物^[57]。还有研究者在对一株新的稀有放线菌次级代谢产物研究时除了应用硅胶柱色谱和高效液相色谱,整合质谱(mass spectrometer, MS)和核磁共振波谱法(nuclear magnetic resonance, NMR)等方法进行结构分析外,还在菌株全基因组测序的基础上,以基因组序列中编码杂合的聚酮合酶-非核糖体肽合成酶(polyketide synthase-nonribosomal peptide synthetase, PKS-NRPSs)基因 1609 为目标基因,利用 PCR-targeting 介导的基因置换技术构建重组质粒,通过接合转移的方式导入野生菌株;结果从代谢产物中鉴定出7个化合物,且建立了该菌的遗传操作系统^[58]。

大多数次级代谢产物无法在实验条件下产生,这可能与生物合成基因表达环境因素,如温度、pH、盐度、信号分子等有关。解决这个问题最直接的方法是在已建立的细菌宿主中异源表达次级代谢物基因簇,虽然抗生素生物合成基因簇成功异源表达的第一个例子可以追溯到1987年,但是在后来的研究中发现内源性次生代谢物基因簇可能会干扰引入的

表3 常用于注释次级代谢物合成基因簇的平台及网页链接

Table 3 Platforms and web links for annotating secondary metabolite synthesis gene clusters		
软件	官方网址	功能
antiSMASH	http://antismash.secondarymetabolites.org/	可预测和注释微生物次级代谢物合成基因簇
BAGEL4	http://bagel.molgenrug.nl/	挖掘细菌(元)基因组 DNA 中的细菌素和 RiPP;提供数据库和针对核心肽数据库的 BLAST;分析 RefSeq 数据库的公共可用基因组的信息,其中包括生物体的染色体和质粒
NaPDos	http://napdos.ucsd.edu/	用于快速检测和分析次级代谢产物基因;被测基因序列被提取、修剪、翻译,并进行特定领域的系统发育聚类,以预测它们假定的产物,并确定这些产物是否可能产生与先前已知的生物合成途径相似或不同的化合物
NP.searcher	http://dna.sherman.lsi.umich.edu/	在基因组数据中识别 I 型 PKS, NRPS 和混合的 PKS / NRPS;使用已识别的催化域上的信息来预测 BGC 编码的代谢物的结构
PRISM	http://magarveylab.ca/prism	用于天然产物基因组挖掘,能够识别生物合成基因簇;根据识别的遗传信息生成假设结构的文库

外源途径等问题,在异源宿主工程和高效表达系统的开发方面仍需要相当大的努力^[59]。

2.5 宏基因组学与生物信息学结合

有学者在国家海洋保护区的表层沉积物中,首次使用宏基因组学方法建立宏基因文库,并与生物信息学相结合,对微生物进行分类,这是一种研究微生物多样性、开发新的生物活性物质(或获得新基因)的新理念和新方法^[60]。宏基因组学无需获得纯培养物,可以对从任何混合微生物群体中采集的整个DNA/基因组进行深入描述,通过基于序列和功能的筛选,已经发现和合成了许多具有重要生物学意义的化合物。此外,宏基因组测序有助于揭示负责合成这种新生物活性代谢物的物种的代谢和细胞途径。这项技术通过节省时间和减少实验室培养微生物的依赖性,使得从难以培养的物种中探索生物活性化合物成为可能^[61]。

随着人类对海洋放线菌多样性的认识以及对具有工业和医学应用价值的次级代谢产物化合物基因簇的深入挖掘,生物合成基因簇多样性、菌株系统发育关系与分布模式之间是否存在一定联系逐渐被人们关注。目前生态学与系统发育相结合的研究策略已经成为探索新代谢化合物的新研究思路^[62]。对放线菌拟无枝菌酸菌(*Amycolatopsis*)进行菌株及其生物合成潜力的基因组比较分析,发现可以区分出四个主要的谱系,它们在产生次生代谢物的潜力各不相同^[54]。对87株海洋链霉菌进行比较基因组分析,系统基因组分析表明,绝大多数海洋链霉菌物种可分为3个分支(I、II、和III);Clade I与海洋沉积物衍生链霉菌具有更特异的SMBGs(次级代谢生物合成基因簇),由几种常见的SMBGs组成;而Clade II与海洋无脊椎动物衍生的链霉菌具有更多的SMBGs,是开采次生代谢物的更为丰富的资源。进一步统计分析研究表明系统型和生态型均与SMBGs的分布模式有关^[63]。

2.6 生态学与系统发育结合

2019年,Parera-Valade等提出利用生态学策略与系统发育策略,探索海洋放线菌的多样性。该研究团队对尤卡坦半岛沿海区域内多点采样,并借助采样地信息、培养物是否需要海水以及基于由16S rRNA基因文库基础获得的OTUs等信息整合分析,最终实验结果表明:简单的生态特征可以作为链霉菌菌株海洋适应的标志,也可以作为天然产物发现菌株的选择标准,进而提出海洋放线菌区域系统发育与海洋适应性能够被用来作为寻找生物活性代谢产物菌株的生态标识。作者同时强调利用微生物

生态学技术作为工具,在不借助其他花费昂贵的手段同时,能增加生物活性放线菌菌株的选择性分离^[62]。了解这些微生物在海洋地区的分布和海洋适应性,有助于确定海洋适应性放线菌不同种群在分类中的位置,从而增加发现新化合物的机会。

3 活性物质的功能

海洋放线菌及其代谢产物的应用潜力不仅仅局限在抗菌抗肿瘤等方面,在海洋环境保护等方面也表现出较好的研究与应用潜力。这些研究都预示着海洋放线菌的研究价值和开发应用前景。

3.1 药理活性

3.1.1 抗细菌活性

海洋放线菌的次级代谢产物对细菌具有一定的抑菌活性。沙特阿拉伯3个不同地点的海洋环境中分离得到链霉菌AS11,对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)表现出显著的抑菌能力,粗提物对癌细胞也有细胞毒作用^[64]。从海洋绿藻中分离得到的放线菌代谢粗提物具有抗多重耐药革兰氏阴性菌的潜能^[21]。从海洋沉积物中分离出五种新型海洋放线菌:节杆菌属、短状杆菌属、短杆菌属(*Curtobacterium*)、红球菌属和链霉菌属,对多种革兰氏菌具有较强的抑菌能力^[65]。

海洋放线菌介导金属纳米颗粒技术已用于临床抗菌效果研究。从海藻中分离的海洋内生放线菌介导铜纳米颗粒的合成,体外抑菌试验表明放线菌辅助合成的铜纳米颗粒可以用于抑制肺炎克雷伯菌(*Klebsiella*)、变形杆菌(*Klebsiella*)、大肠杆菌(*Escherichia coli*)、鼠伤寒沙门氏菌(*Salmonella typhimurium*)和耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*)^[31]。2020年,有研究发现海洋新型拟诺卡氏菌属放线菌 *Nocardiosis dassonvillei*-DS013可以通过简单的一步合成方法制备出环保型银纳米粒子(AgNPs)。与纯培养的放线菌相比,利用该放线菌介导的银纳米颗粒对选定的临床分离株大肠杆菌、肠球菌(*Enterococcus*)、假单胞菌(*Pseudomonas adaceae*)、克雷伯菌(*Klebsiella*)、变形杆菌(*Proteus*)、志贺氏菌(*Shigella Castellani*)、枯草芽胞杆菌(*Bacillus subtilis*)和链球菌(*Streptococcus*)具有更好的抗菌活性^[66]。

3.1.2 抗真菌活性

近十几年来,真菌感染(尤其是侵袭性的真菌病)在艾滋病、免疫抑制剂、血液系统恶性肿瘤和移植受体中急剧增加,增加了对新型抗真菌药物的需求。目前使用的杀菌剂不如抗菌物质多样化,由于

其对生物系统的严重不良影响,使得其运用受到了限制。所以寻求高效的抑真菌物质来缓解临床压力刻不容缓。有研究者在黄海与日照海岸线均发现能高效抑制黄曲霉等在内的病原真菌的放线菌,主要以链霉菌为主^[67,68]。在海口湾海泥中发现的放线菌具有较高的抗芒果炭疽病菌(*Colletotrichum gloeosporioides*)活性,这是首次在微生物发酵液中分离得到了 β -腺苷^[8]。从印度泰米尔纳德邦西南海岸红树林河口沉积物土壤样品中采用交叉条带法和琼脂孔扩散法筛选出具有抗皮肤真菌活性的链霉菌属放线菌 *Streptomyces* sp. ACT2,从其活性组分中鉴定出抗皮肤癣菌的化合物为 bahamaolides 和 polyenepolyol,是针对皮肤真菌具有较好前景的物质^[24]。印度海洋红树林沉积物中分离得到两株链霉菌属放线菌 *Streptomyces* sp. VITGAP240 和 *Streptomyces* sp. VITGAP241 对白色念珠菌(*Monilia albican*)具有较高的抗真菌活性,化合物属于杂环类、多酮类和多肽类化合物,这些菌株可以产生重要的生物活性代谢物,具有广泛的抗真菌特性^[9]。

3.1.3 抗肿瘤活性

抗肿瘤与抗菌药物的开发是海洋微生物天然产物的主要研究方向。海洋放线菌产生的具有抗肿瘤与抗菌的天然代谢产物包括醌类(quinones)、大环内脂类(macrolides)、内酯环(macrocyclic actones)、生物碱类(alkaloids)、肽类物质(peptides)、二酮哌嗪类(actinoflavoside)、萜类(terpenoids)、吡喃酮苷等^[69]。除了上述天然产物外,保洛霉素G、角环素糖苷类化合物、环状脂肽 iturin A₆等也均具有良好的抗癌抗肿瘤活性^[70~72]。越南沿海地区首次报道海洋链霉菌所产生的呋喃类化合物的核磁共振波谱和生物活性,对多种类型的癌细胞具有抗增殖活性,该化合物对人胃腺癌细胞(human gastric adenocarcinoma cell line, AGS)、人胶质母细胞瘤细胞系(U87MG)和肺癌细胞(A549)的生长抑制活性较黑色素瘤更为敏感^[73]。从浙江省洞头县海洋沉积物里发现的链霉菌菌株和利福平抗性突变株代谢产物中纯化出3个新型吡啶并咪唑类似物 3'-*epi*-N-Acetyl-holyrine A、3'-N-Acetyl-holyrine A 和 3'-N-Formyl-holyrine A,对前列腺癌细胞有抑制作用^[74]。而在拉各斯泻湖沉积物中发现的放线菌通过生物活性引导提取,得到两种纯化的抗癌化合物其分子式为 C₃₄H₃₅N₁₃O₁₃ 和 C₂₈H₂₆N₄O₃,首次揭示了拉各斯泻湖放线菌的抗癌潜力,可用于治疗目的^[10]。

近年来,有报道显示,海洋链霉菌属放线菌产生的胞外多糖也具有抗肿瘤活性。该菌株通过

16S rRNA 与哈尔滨链霉菌(*Streptomyces harbinensis*)和腕链霉菌(*Streptomyces carpaticus*)序列比对相似度不到94%,可能为新物种。胞外多糖体外抗肿瘤细胞结果表明,该物质具有特殊的抗肿瘤和保护脏器的作用。对其胞外多糖(exopolysaccharides, EPS)主要成分进行分析,其中单糖有半乳糖酸、葡萄糖、木糖、半乳糖、甘露糖和果糖,其摩尔比例为3:1:1:2:2:1,多糖中还包括0.507%醛酸和21.75%单糖硫酸盐,该物质具有明显的清除自由基和抗肿瘤活性^[75]。海洋链霉菌属放线菌胞外多糖在体外小鼠抗肿瘤实验中表明,该多糖对环磷酰胺诱导的肝损伤和心损伤有良好的保护作用^[76]。海洋放线菌抗菌抗肿瘤的活性代谢产物的多样性,为以后临床医疗提供新方法。

3.1.4 抗寄生虫活性

寄生虫引起的疾病具有高死亡率和高发病率。目前全世界较为严重的寄生虫引发的疾病包括利什曼病(leishmaniasis)和恰加斯病(Chagas' disease)。但目前所有可用的化疗药物都有严重的副作用和长时间的肠外给药,这些寄生虫引起的惊人死亡率和抗生素耐药性的出现,加剧了对新的有效药物的需求。

环去肽-缬霉素(cyclic depsipeptide valinomycin)、吡啶卡巴唑生物碱-斯塔霉素(indolocarbazole alkaloid staurosporine)和丁烯内酯(butenolide)是从地中海海绵次级代谢产物中分离出的化合物,这是首次报道从海洋来源分离出缬霉素,这些化合物表现出独特的抗寄生虫活性^[77]。来普霉素B是从一株海洋链霉菌中分离出的生物活性化合物,在后期研究中发现该化合物对纤毛虫刺激隐核虫(ciliate *Cryptocaryon irritans*)具有显著的抗寄生虫功效^[78]。在杀虫与抗疟疾方面,在印度东南沿海的巴吉佩泰红树林生态系统的土壤样品中分离得到了具有杀埃及伊蚊(*Aedes aegypti*)幼虫活性的菌株——杀真菌链霉菌(*Streptomyces fungicidicus*)、灰色链霉菌(*Streptomyces griseus*)、白色链霉菌(*Streptomyces albus*)、白黄链霉菌(*Streptomyces alboflavus*)和娄彻氏链霉菌(*Streptomyces rochei*),并对埃及伊蚊有较高的致死率^[79]。而从来自海鞘的链霉菌发酵提取物中发现了两种聚酮化合物 herbimycin 和 elaiophylin,它们对氯喹敏感(3D7)和抗氯喹(Dd2)的恶性疟原虫具有抗疟原虫活性^[80]。

3.1.5 免疫抑制活性

在对抗原过敏或器官移植情况下,免疫系统抑制率非常高。在病人接受捐赠器官的情况下,必须坚持终生服药,以防止身体免疫系统的排斥反应,因

此这些药物应该是特异性抑制药物。为防止这种自身免疫性对供体的防御和排斥反应,迫切需要新的特异性免疫抑制剂。

有研究发现用含有海洋放线菌诺卡氏菌(*Nocardiosis alba*) mccb 110的复合饲料喂养斑节对虾(*Penaeus monodon*)可有效提高其血淋巴中酚氧化酶、总蛋白、酸性和碱性磷酸酶活性; α 2巨球蛋白、对虾抗菌肽3、谷氨酰胺转氨酶、proPO、甲壳素和过氧化物酶等6个免疫基因上调,存活率提高了23%。对虾非特异性免疫基因转录水平的升高和非特异性免疫增加表明 *Nocardiosis alba* mccb 110对斑节对虾的免疫调节作用^[81]。

抗补体药物作为治疗人体补体系统不适当激活引起的多种疾病的药物,受到了广泛的关注。2018年,对海洋放线菌 *Streptomyces* sp. DUT11基因组序列进行了分析,发现了与 tunicamycin 和 nonactin 高度相似的基因簇,并从中分离出 tunicamycin I、V 和 VII。抗补体实验显示, tunicamycin I, V, VII 通过经典途径抑制补体激活,这是首次报道 tunicamycins 具有此活性^[82]。

3.1.6 抗炎活性

炎症是具有血管系统的活体组织应对内外界感染刺激所发生的防御反应,在疾病的发生发展中具有重要作用。在海洋资源的开发中,人们从海洋生物中提取出了许多具有抗炎活性的天然产物。如从培养的海洋链霉菌属放线菌 *Streptomyces* sp. 中分离出的 Cyclomarin A,在体内体外实验中均显示出显著的抗炎活性,这些代谢物可用作抗生素和消炎剂^[83]。有研究者从海洋海绵中分离出90种放线菌,对临床相关的革兰氏阳性菌如粪肠球菌(*Enterococcus faecalis*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*),革兰氏阴性菌如大肠杆菌、铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*),真菌(白色念珠菌)和人体寄生虫如利什曼原虫(*Leishmania major*)、布氏锥虫(*Trypanosoma brucei*)进行了抗感染活性测试,结果显示自海洋海绵中分离的放线菌具有高度多样性,同时也显示出它们产生抗感染剂的潜力^[84]。N-substituted brominated monoterpene phenazine 1 和 N-substituted isoprenylated phenazine 2 是从一株海洋链霉菌发酵液中分离出的化合物,在哺乳动物细胞培养研究中,能抑制PGE2的产生和NF- κ B的活性,这些强效化合物表现出了显著的抗炎活性^[11]。

3.1.7 抗病毒活性

从海洋这一独特环境中发现的抗病毒物质的报道逐渐增多,如从海洋链霉菌菌株的发酵液中获得的

抗生素提取物对对虾白斑综合征病毒(white spot syndrome virus, WSSV)具有明显的抗病毒作用^[85]。3-氯四氢喹诺酮类生物碱是从硝化链霉菌(*Streptomyces nitrosporeus*)中分离得到的化合物,对水泡性口炎病毒(vesicular stomatitis virus, VSV)具有较强的抗病毒作用^[86]。抗霉素A1a是一种由海洋沉积物中链霉菌产生的化合物,通过抑制细胞线粒体电子传递链(mETC)复合体III发挥作用而对西马脑炎病毒有显著的抗病毒作用^[87]。从链霉菌的粗提物中获得的丁烯内酯,可以作为一种显著的抗腺病毒药物^[88]。

3.1.8 抗氧化活性

氧自由基与人类健康密切相关,当氧自由基产生过多或者机体的清除氧自由基能力下降时,会引起一系列疾病。而抗氧化物能够切断自由基链反应,抑制机体的自由基损伤。为了减轻自由基的危害,寻找高效、低毒的阻断自由基反应的抗氧化物也成为了非常重要的研究方向。

束村氏菌属(*Pseudospumae*)菌株次级代谢产物中分离出的化合物 lipocarbazoles,具有强大的自由基清除活性^[89]。在马里亚纳海沟沉积物中分离出的皮霉素C具有较高的自由基清除活性,其IC₅₀值达到了8.4 μ mol/L^[90]。面对海洋这一巨大的资源宝库,对氧化等活性物质的研究和开发也在全面开展。

3.1.9 细胞毒活性

有研究者从棘冠海星(*Acanthaster planci*)中分离出一株链霉菌,代谢产物中产生两种 α 吡喃酮衍生物 violapyrones H 和 violapyrones I,该类化合物对10株人癌细胞株具有细胞毒性,GI₅₀值达到1.10~26.12 μ g/mL,这是首次报告紫萁酮的细胞毒性潜力测试^[91]。一种新的生物活性聚酮类化合物 monacyclinone F 是从波多黎各莫纳岛的加勒比海海绵中获得的海洋链霉菌属放线菌 *Streptomyces* sp. M7-15 中分离出来的,通过评估该化合物对某些细菌和癌细胞系的生物潜力,结果显示 monacyclinone F 对人横纹肌肉瘤 SJCRH30 细胞具有较强的细胞毒性,EC₅₀ 值为0.73 μ mol/L,该化合物对枯草芽胞杆菌等革兰氏阳性菌也具有较强的生物活性^[92]。在澳大利亚昆士兰州海洋沉积物样品来源的链霉菌(*Streptomyces* sp.) CMBM0150 次级代谢产物中发现了2个新的萜环类抗生素 aranciamycins I 和 aranciamycins J,其中 aranciamycins I 对人直肠癌细胞(SW620)和肝癌细胞(HepG2)具有较好的细胞毒作用,IC₅₀ 分别为7.5 μ mol/L 和9.0 μ mol/L^[93]。在红树林地区海洋沉积物中提取的海洋链霉菌发酵菌丝体的乙基提取物中

分离出一个新的酯类生物分子链霉菌C,该化合物对人乳腺癌细胞系MCF-7具有细胞毒活性,其 IC_{50} 值为 $27.0\text{ }\mu\text{g/mL}$ ^[94]。2015年有研究者从越南东部海域沉积物样品来源的小单孢菌(*Micromonospora* sp.)次级代谢产物中发现1个新的angucycline抗生素类化合物。该化合物对小鼠卵巢表面上皮细胞和小鼠输卵管上皮细胞具有一定的细胞毒活性,其 LC_{50} 分别为 $9.80\text{ }\mu\text{mol/L}$ 和 $10.8\text{ }\mu\text{mol/L}$ ^[95]。

3.1.10 延缓衰老活性

海洋放线菌特殊的次级代谢产物除了早期发现的抗菌和抗肿瘤等活性外,还发现了具有其他生物特性的物质。如在海南西海岸红树林植物根际土壤中筛选出了具有延缓秀丽隐杆线虫(*Caenorhabditis elegans*)衰老表型的链霉菌属放线菌中华单孢菌(*Sinomonas flava*)、浅玫瑰链霉菌(*Streptomyces roseolus*)、暗棕灰产色链霉菌(*Streptomyces fuscichromogenes*)和天蓝黄链霉菌(*Streptomyces coelicolor*),为后期探索具有延缓衰老活性的新化合物提供重要的菌种资源^[22]。

3.2 其他功能

3.2.1 抗污损活性

海洋生物污染是由微小和大型生物附着在水层表面形成海洋生物膜,严重影响水产养殖、航运和其他依赖于沿海和离岸基础设施的行业。2019年,有研究发现海洋源链霉菌属放线菌MAR4菌株产生的代谢物可抑制金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)和碳酸氢镁海洋杆菌(*Marinobacter hydrocarbonoclasticus*)的生物膜形成,并证实了纳吡二霉素SF2415B3对金黄色葡萄球菌的抗生物膜活性^[96]。2020年,有研究者从马德拉群岛海洋沉积物中分离得到一种急性链霉菌(*Streptomyces aculeolatus*),其代谢产物那吡拉霉素衍生物具有较高的防污活性,研究结果表明,那吡拉霉素对80%的海洋生物膜形成菌具有抑制作用,并对其他生物的生存影响很小^[15]。海洋放线菌代谢产物防污活性的发现揭示其生物活性物质具有被开发和利用的潜力。

3.2.2 新型聚合生物絮凝剂

生物凝絮剂具有高效、廉价、无毒、无二次污染等优点,被广泛应用于饮用水与废水处理以及食品发酵工业等领域。近年来,海洋生物絮凝剂的开发研究多集中在海洋细菌与蓝细菌中,有关放线菌来源的絮凝剂鲜有报道。2020年有研究者从海洋放线菌链霉菌属中分离和表征出一种新型高分子生物絮凝剂,该生物絮凝剂的产量为 4.94 g/L ,总糖和蛋白质摩尔质量占比分别为86.9%和12.8%。生物

絮凝剂的单糖组成为72%半乳糖、22%葡萄糖和6%甘露糖,该絮凝剂与一般化学药剂相比絮凝效果更好,这种基于多糖的生物絮凝剂可以通过一种绿色和生态友好的技术用于微藻的絮凝收集^[16]。作为环境友好型功能材料,探索发现新型生物絮凝剂对人体健康和环境保护均有着重要的现实意义。

3.2.3 生物表面活性剂

2014年,从深海热液场分离得到海洋放线菌迪茨氏菌(*Dietzia maris*)As-13-3,并从该菌株中分离到di-rhamnolipid物质作为生物表面活性剂^[97]。2019年还有研究者从日本岩手县大池湾海洋沉积物中分离到一株产生物表面活性剂的链霉菌新种*Streptomyces otsuchiensis* sp. nov.。与化学合成的活性剂相比,生物表面活性剂除了不会污染环境外,还能够显著降低表面张力,临界胶束浓度较低等特点,在医药、环境等方面有良好的应用潜力^[18]。

4 结语与展望

高度复杂的海洋环境,使不同生物形成了特殊的生理及代谢功能。海洋放线菌生物活性代谢物的分子新颖性和多样性对解决当前和未来医学、农业和环境方面的难题提供了巨大的可能性。对于海洋放线菌的研究多数还是沿海地区为主,放眼整个海洋系统,目前的研究还只是冰山一角,海洋仍然具有广阔的研究前景。

海洋微生物的研究手段、技术、方法的改进,甚至是新策略的引入,都将极大推动海洋放线菌的研究进程。因此未来对海洋放线菌可以在以下几个方面进行深入的研究:

(1)海洋放线菌产生多种抗肿瘤、抗氧化等生物活性物质,随着这些生物活性物质不断被发现,在化学成分、结构特点、调控机制等方面的进一步研究与开发,将对治疗人类疾病具有重要意义。目前全球抗生素滥用以及超级耐药细菌的出现,使得耐药细菌带来的疾病预计将超过癌症,成为人类健康的头号杀手。海洋放线菌抗菌活性物质的研究与开发,结合医疗手段技术的进步,将对人类的健康产生深远的影响。

(2)海洋放线菌在环境保护方面的潜能有待进一步挖掘。生态防污活性物质、生物絮凝剂以及生物表面活性剂等物质不断被发现并显示出化学合成物无法比拟的优势。海洋放线菌在生物技术方面的潜力将会引起人们更大的兴趣。

(3)目前研究放线菌代谢产物的热点之一集中在如何去挖掘具有较高开发价值的代谢产物以及加

强其生产效率,海洋放线菌菌株特异性模型的构建有助于更好地了解菌株代谢情况,帮助研究人员建立遗传数据以及代谢表型之间的联系。此外,模型开发可用来系统地分析相应菌株代谢及生长能力,创建适应过程并帮助研究人员指导促进相关代谢产品的生产。同时,活性代谢产物产量的提高研究还应该集中在产物的分离纯化技术的开发与优化。

纯培养、高通量测序技术的发展以及新技术手段的开发应用对放线菌的研究至关重要,同时,基于次级代谢产物活性物质在调节水平、代谢组学研究及生物技术研究应用中的进一步探索,必将为特殊生境中放线菌多样性的认识以及后期的开发、探索及应用提供有力的技术保障,尽可能全面地挖掘活性物质,更高效地用于人类医疗、生产及生活中。

参考文献

- [1] Tischler D, van Berkel W J H, Fraaije M W. Editorial: Actinobacteria, a source of biocatalytic tools [J]. *Front Microbiol*, 2019, 10: 800.
- [2] Jakubiec-Krzesniak K, Rajnisz-Mateusiak A, Guspier A, *et al.* Secondary metabolites of actinomycetes and their antibacterial, antifungal and antiviral properties [J]. *Pol J Microbiol*, 2018, 67(3): 259-272.
- [3] 杜鹃, 谢峻, 郑颖城, 等.《抗生素耐药: 全球监测报告 2014》解读与反思[J]. *华南国防医学杂志*, 2014, 28(8): 814-817.
Du J, Xie J, Zheng Y C, *et al.* Interspersion and learning of antimicrobial resistance: global report on surveillance 2014 from WHO [J]. *Mil Med J South China*, 2014, 28(8): 814-817.
- [4] 王磊, 曹巍. 全球抗生素耐药性现状分析及对策建议[J]. *军事医学*, 2017, 41(5): 329-333.
Wang L, Cao W. Current global antimicrobial resistance and countermeasures [J]. *Mil Med Sci*, 2017, 41(5): 329-333.
- [5] Goodfellow M, Brown R, Ahmed L, *et al.* *Verrucosipora fiedleri* sp. nov., an actinomycete isolated from a fjord sediment which synthesizes proximicins [J]. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 2013, 103(3): 493-502.
- [6] Nathan J, Kannan R R. Antiangiogenic molecules from marine actinomycetes and the importance of using zebrafish model in cancer research [J]. *Heliyon*, 2020, 6(12): e05662.
- [7] Manivasagan P, Venkatesan J, Sivakumar K, *et al.* Pharmaceutically active secondary metabolites of marine actinobacteria [J]. *Microbiol Res*, 2014, 169(4): 262-278.
- [8] 吉才娟, 王佩, 梅文莉, 等. 海洋放线菌 *Streptomyces* sp. HNWSW-49 的次生代谢产物研究[J]. *热带作物学报*, 2018, 39(4): 758-762.
- Ji C J, Wang P, Mei W L, *et al.* Second metabolites of a marine *Streptomyces* sp. HNWSW - 49 [J]. *Chin J Trop Crop*, 2018, 39(4): 758-762.
- [9] Pavan K J, Ajitha G, Gothandam K. Bioactivity assessment of Indian origin-mangrove Actinobacteria against *Candida albicans* [J]. *Marine drugs*, 2018, 16(2): 60.
- [10] Davies-Bolorunduro O F, Adeleye I A, Akinleye M O, *et al.* Anticancer potential of metabolic compounds from marine actinomycetes isolated from Lagos Lagoon sediment [J]. *J Pharm Anal*, 2019, 9(3): 201-208.
- [11] Kondratyuk T P, Park E J, Yu R, *et al.* Novel marine phenazines as potential cancer chemopreventive and anti-inflammatory agents [J]. *Mar Drugs*, 2012, 10(2): 451-464.
- [12] Intra B, Panbangred W, Inahashi Y, *et al.* *Micromonospora pelagivivens* sp. nov., a new species of the genus *Micromonospora* isolated from deep-sea sediment in Japan [J]. *Int J Syst Evol Micr*, 2020, 70(5): 3069-3075.
- [13] 章卫民, 叶伟, 李浩华, 等. 深海真菌抗肿瘤药物先导化合物及其生物合成基因研究[M]. 广州: 广东省微生物研究所, 2019.
Zhang W M, Ye W, Li H H, *et al.* Study on lead compounds and biosynthetic genes of deep-sea fungal antitumor drugs [M]. Guangzhou: Guangdong Institute of Microbiology, Guangdong Province, 2019.
- [14] 苏世源. 北极深海放线菌 *Nocardiopsis* sp. Y469 多组学分析及其套索肽生物合成基因簇初步探索[D]. 上海: 上海海洋大学, 2019.
Su S Y. Multiomics and lasso peptide biosynthetic gene cluster mining of an Arctic deep-sea actinobacterium, *Nocardiopsis* sp. Y469 [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2019.
- [15] Pereira F, Almeida J R, Paulino M, *et al.* Antifouling napyradiomycins from marine-derived actinomycetes *Streptomyces aculeolatus* [J]. *Marine Drugs*, 2020, 18(1): 63.
- [16] Sivasankar P, Poongodi S, Lobo A O, *et al.* Characterization of a novel polymeric bioflocculant from marine actinobacterium *Streptomyces* sp. and its application in recovery of microalgae [J]. *Int Biodeter Biodegr*, 2020, 148.
- [17] Rahman P, Sekhon R. Commentary: oil degradation and biosurfactant production by the deep sea bacterium *Dietzia maris* As-13-3 [J]. *Front Microbiol*, 2015, 6: 1557.
- [18] Terahara T, Naemura T, Nampo Y, *et al.* *Streptomy-*

- ces otsuchiensis* sp. nov., a biosurfactant-producing actinobacterium isolated from marine sediment [J]. *Int J Syst Evol Micr*, 2019, 69(12): 3740-3744.
- [19] Manita K, Periyasamy S, Deng Z, *et al.* Deep sea actinomycetes and their secondary metabolites [J]. *Front Microbiol*, 2017, 8: 760.
- [20] 穆大帅, 卢德臣, 郑维爽, 等. 我国海洋细菌新物种鉴定与资源研发进展[J]. *生物资源*, 2017, 39(6): 391-397.
Mu D S, Lu D C, Zheng W S, *et al.* Advances in marine bacterial identification and resource development in China [J]. *Biotic Resources*, 2017, 39(6): 391-397.
- [21] Sangkanu S, Rukachaisirikul V, Suriyachadkun C, *et al.* Evaluation of antibacterial potential of mangrove sediment-derived actinomycetes [J]. *Microb Pathog*, 2017, 112: 303-312.
- [22] 候师师, 李蜜, 姜舒, 等. 海南西海岸四种真红树根系土壤放线菌物种多样性及其延缓衰老活性初筛[J]. *广西植物*, 2020, 40(3): 320-326.
Hou S S, Li M, Jiang S, *et al.* Species diversity and anti-aging activity of actinobacteria from four true mangrove rhizosphere soils in the west coast of Hainan [J]. *Guihaia*, 2020, 40(3): 320-326.
- [23] Jiang Z K, Tuo L, Huang D L, *et al.* Diversity, novelty, and antimicrobial activity of endophytic actinobacteria from mangrove plants in Beilun estuary national nature reserve of Guangxi, China [J]. *Front Microbiol*, 2018, 9: 868.
- [24] Suresh R S S, Younis E M, Fredimoses M. Isolation and molecular characterization of novel *Streptomyces* sp. ACT2 from marine mangrove sediments with antidermatophytic potentials [J]. *Journal of King Saud University-Science*, 2020, 32(3): 1902-1909.
- [25] 田云方, 傅泽钦, 叶莹莹. 海洋动物共附生放线菌分离及拮抗菌筛选[J]. *安徽农业科学*, 2018, 46(21): 1-4, 17.
Tian Y F, Fu Z Q, Ye Y Y. Separation of marine actinomycetes and screening of antagonistic bacteria [J]. *J Anhui Agric Sci*, 2018, 46(21): 1-4, 17.
- [26] 杜英侠. 海绵共附生放线菌筛选与抑制海水养殖病原弧菌研究[D]. 大连: 大连海洋大学, 2017.
Du Y X. Screening of actinomycetes epipitic to sponge and inhibition of *Vibrio* pathogenic in mariculture [D]. Dalian: Dalian Ocean University, 2017.
- [27] 张艳凤, 许勇, 陈雷, 等. 海绵内/共生稀有放线菌 *Dermacoccus* sp. X4 次级代谢产物分离纯化及结构解析[J]. *生物工程学报*, 2016, 32(5): 599-609.
Zhang Y F, Xu Y, Chen L, *et al.* Isolation, identification and structural characterization of secondary metabolites from a marine sponge-derived rare actinobacterium *Dermacoccus* sp. X4 [J]. *Chin J Biotechnol*, 2016, 32(5): 599-609.
- [28] Huang X, Kong F, Zhou S, *et al.* *Streptomyces tirandamycinicus* sp. nov., a novel marine sponge-derived actinobacterium with antibacterial potential against *Streptococcus agalactiae* [J]. *Front Microbiol*, 2019, 10: 482.
- [29] Buedenbender L, Carroll A, Ekins M, *et al.* Taxonomic and metabolite diversity of actinomycetes associated with three Australian ascidians [J]. *Multidisciplinary Digital Publishing Institute*, 2017, 9(4): 53.
- [30] Sarmiento-Vizcaino A, González V, Braña A F, *et al.* Pharmacological potential of phylogenetically diverse actinobacteria isolated from deep-sea coral ecosystems of the submarine Avilés canyon in the Cantabrian sea [J]. *Microb Ecol*, 2017, 73(2): 338-352.
- [31] Rasool U, Hemalatha S. Marine endophytic actinomycetes assisted synthesis of copper nanoparticles (CuNPs): characterization and antibacterial efficacy against human pathogens [J]. *Materials Letters*, 2017, 194.
- [32] Xu D, Han L, Li C, *et al.* Bioprospecting deep-sea actinobacteria for novel anti-infective natural products [J]. *Front Microbiol*, 2018, 9: 787.
- [33] Sobolevskaya M P, Kuznetsova T A. Biologically active metabolites of marine actinobacteria [J]. *Russ J Bioorg Chem*, 2010, 36(5): 560-573.
- [34] Jensen P R, Mincer T J, Williams P G, *et al.* Marine actinomycete diversity and natural product discovery [J]. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 2005, 87(1): 43-48.
- [35] Zotchev S B. Marine actinomycetes as an emerging resource for the drug development pipelines [J]. *J Biotechnol*, 2012, 158(4): 168-175.
- [36] Maldonado L A, Fragosó-Yáñez D, Pérez-García A, *et al.* Actinobacterial diversity from marine sediments collected in Mexico [J]. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 2009, 95(2): 111-120.
- [37] Kwon H C, Kauffman C A, Jensen P R, *et al.* Marinomycins A-D, antitumor-antibiotics of a new structure class from a marine actinomycete of the recently discovered genus "marinispora" [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2006, 128(5): 1622-1632.
- [38] 张晓婷, 赫卫清. 海洋放线菌天然活性产物的发掘[J]. *中国酿造*, 2019, 38(2): 21-25.
Zhang X T, He W Q. Exploration of natural active products from marine actinomycetes [J]. *China Brew*, 2019, 38(2): 21-25.
- [39] Liu T, Wu S, Zhang R, *et al.* Diversity and antimicrobial potential of Actinobacteria isolated from diverse ma-

- rine sponges along the Beibu Gulf of the South China Sea [J]. FEMS Microbiol Ecol, 2019, 95(7): fiz089.
- [40] Goodfellow M, Fiedler H P. A guide to successful bio-prospecting: informed by actinobacterial systematics [J]. Antonie Van Leeuwenhoek, 2010, 98(2): 119-142.
- [41] Oberhardt M A, Zarecki R, Gronow S, *et al.* Harnessing the landscape of microbial culture media to predict new organism-media pairings [J]. Nat Commun, 2015, 6(1): 455-459.
- [42] Milshteyn A, Schneider J S, Brady S F. Mining the metabiome: identifying novel natural products from microbial communities [J]. Chem Biol, 2014, 21(9): 1211-1223.
- [43] Crüsemann M, O'Neill E C, Larson C B, *et al.* Prioritizing natural product diversity in a collection of 146 bacterial strains based on growth and extraction protocols [J]. J Nat Prod, 2017, 80(3): 588-597.
- [44] Prieto-Davó A, Villarreal-Gómez L J, Forschner-Dancause S, *et al.* Targeted search for actinomycetes from nearshore and deep-sea marine sediments [J]. FEMS Microbiol Ecol, 2013, 84(3): 510-518.
- [45] Chen P, Zhang L, Guo X, *et al.* Diversity, biogeography, and biodegradation potential of actinobacteria in the deep-sea sediments along the Southwest Indian Ridge [J]. Frontiers in Microbiology, 2016, 7: 1340.
- [46] 王新珍, 王凤花, 孙瑞波, 等. 高通量测序技术在微生物分子生态学研究中的应用[J]. 中国生态农业学报, 2018, 26(10): 1593-1600.
- Wang X Z, Wang F H, Sun R B, *et al.* Application of high-throughput DNA sequencing in microbial ecology [J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2018, 26(10): 1593-1600.
- [47] 任建委, 杜宝中. 放线菌资源及主要次级代谢产物活性概述[J]. 西藏科技, 2020(4): 15-18, 28.
- Ren J W, Du B Z. A review of actinomycete resources and activities of main secondary metabolites [J]. Tibetan Science and Technology, 2020(4): 15-18, 28.
- [48] Al-Dhabi N A, Esmail G A, Ghilan A, *et al.* Metabolite profiling of *Streptomyces* sp. Al-Dhabi-100 isolated from the marine environment in Saudi Arabia with antibacterial, anti-tubercular and anti-oxidant potentials [J]. Journal of King Saud University-Science, 2020, 32(2): 1628-1633.
- [49] 薛长艳, 李建宋, 郝之奎, 等. 一株放线菌次级代谢产物分离鉴定研究[J]. 中国医药生物技术, 2019, 14(6): 512-516.
- Xue C Y, Li J S, Hao Z K, *et al.* Isolation and identification of secondary metabolites from a strain of Actinomycetes [J]. Chin Med Biotechnol, 2019, 14(6): 512-516.
- [50] 林玉坤, 谢春兰, 贾凌云, 等. 珊瑚来源放线菌 *Streptomyces albidoflavus* M13.1 的次级代谢产物化学成分研究[J]. 广西科学, 2020, 27(5): 564-569.
- Lin Y K, Xie C L, Jia L Y, *et al.* Study on chemical constituents of the secondary metabolites of coral-derived actinomycete *Streptomyces albidoflavus* M13.1 [J]. Guangxi Sciences, 2020, 27(5): 564-569.
- [51] Shaala L A, Youssef D, Alzughaibi T A, *et al.* Antimicrobial chlorinated 3-phenylpropanoic acid derivatives from the Red Sea marine actinomycete *Streptomyces coelicolor* LY001 [J]. Marine Drugs, 2020, 18(9): 450.
- [52] 凌春耀, 黄洪波, 高程海, 等. 海鞘来源放线菌 *Streptomyces pratensis* SCSIO LCY05 中 anthracimycin 类化合物及其抗菌活性研究[J]. 中国海洋药物, 2020, 39(3): 7-14.
- Ling C Y, Huang H B, Gao C H, *et al.* Antibacterial anthracimycins from *Streptomyces pratensis* SCSIO LCY05 isolated from ascidian [J]. Chin J Mar Drugs, 2020, 39(3): 7-14.
- [53] Yang Z, He J, Wei X, *et al.* Exploration and genome mining of natural products from marine *Streptomyces* [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2020, 104(1): 67-76.
- [54] Adamek M, Alanjary M, Sales-Ortells H, *et al.* Comparative genomics reveals phylogenetic distribution patterns of secondary metabolites in *Amycolatopsis* species [J]. BMC Genom, 2018, 19(1): 1-15.
- [55] Lee N, Hwang S, Lee Y, *et al.* Synthetic biology tools for novel secondary metabolite discovery in *Streptomyces* [J]. J Microbiol Biotechnol, 2019, 29(5): 667-686.
- [56] Seghal Kiran G, Ramasamy P, Sekar S, *et al.* Synthetic biology approaches: towards sustainable exploitation of marine bioactive molecules [J]. Int J Biol Macromol, 2018, 112: 1278-1288.
- [57] Contador C A, V Rodríguez, Andrews B A, *et al.* Use of genome-scale models to get new insights into the marine actinomycete genus *Salinispora* [J]. Bio Med Central, 2019, 13(1): 11.
- [58] 余志银, 颜一军, 刘重喜, 等. 稀有放线菌 *Lechevalieria rhizosphaerae* NEAU-A2 的次级代谢产物研究及遗传操作系统的建立[J/OL]. 微生物学通报: 1-12 [2021-05-07]. <https://doi.org/10.13344/j.microbiol.china.210187>.
- Yu Z Y, Yan Y J, Liu C X, *et al.* Study on secondary metabolites and genetic system of the rare actinobacteria *Lechevalieria rhizosphaerae* NEAU-A2 [J/OL]. Microbiol china, 1-12 [2021-05-07]. <https://doi.org/10.13344/j.microbiol.china.210187>.
- [59] Zotchev S B. Marine actinomycetes as an emerging re-

- source for the drug development pipelines [J]. *J Biotechnol*, 2012, 158(4): 168-175.
- [60] Lh A, Saa B, Jpb C. Whole metagenomic sequencing to characterize the sediment microbial community within the Stettin Bank National Marine Sanctuary and preliminary biosynthetic gene cluster screening of *Streptomyces scabrisporus* [J]. *Marine Genomics*, 2020, 50: 100718.
- [61] Mahapatra G P, Raman S, Nayak S, *et al.* Metagenomics approaches in discovery and development of new bioactive compounds from marine actinomycetes [J]. *Curr Microbiol*, 2020, 77(4): 645-656.
- [62] Parera-Valadez Y, Yam-Puc A, López-Aguilar L K, *et al.* Ecological strategies behind the selection of cultivable actinomycete strains from the Yucatan Peninsula for the discovery of secondary metabolites with antibiotic activity [J]. *Microb Ecol*, 2019, 77(4): 839-851.
- [63] Xu L, Ye K X, Dai W H, *et al.* Comparative genomic insights into secondary metabolism biosynthetic gene cluster distributions of marine *Streptomyces* [J]. *Marine Drugs*, 2019, 17(9): 498.
- [64] Aa A, Mk B, Maa C, *et al.* Optimization of medium components for the production of antimicrobial and anticancer secondary metabolites from *Streptomyces* sp. AS11 isolated from the marine environment [J]. *Journal of King Saud University-Science*, 2020, 32(3): 1993-1998.
- [65] Undabarrena A, Beltrametti F, Claverías F P, *et al.* Exploring the diversity and antimicrobial potential of marine actinobacteria from the Comau fjord in northern Patagonia, Chile [J]. *Front Microbiol*, 2016, 7: 1135.
- [66] Suresh D, Somanathan T, Henry A J, *et al.* Novel marine *Nocardiopsis dassonvillei*-DS013 mediated silver nanoparticles characterization and its bactericidal potential against clinical isolates [J]. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 2020, 27(3): 991-995.
- [67] 梁光杰, 车程川, 曹利, 等. 日照海岸线可培养放线菌的抑菌活性及其多样性研究[J]. *中国酿造*, 2019, 38(1): 118-124.
- Liang G J, Che C C, Cao L, *et al.* Antibacterial activity and diversity of culturable Actinobacteria in the Rizhao coastline [J]. *China Brew*, 2019, 38(1): 118-124.
- [68] 曹利, 车程川, 刘金锋, 等. 拮抗黄曲霉海洋放线菌的筛选及发酵条件优化[J]. *中国酿造*, 2019, 38(3): 104-109.
- Cao L, Che C C, Liu J F, *et al.* Screening and fermentation conditions optimization of marine actinomycetes of antagonistic *Aspergillus flavus* [J]. *China Brew*, 2019, 38(3): 104-109.
- [69] 丁衍, 苏雨欣, 庞启华. 海洋放线菌抗肿瘤活性物质的研究进展[J]. *天然产物研究与开发*, 2020, 32(2): 323-333, 357.
- Ding Y, Su Y X, Pang Q H. Research progress on the bioactive substances of marine actinomycetes and their antitumor activities [J]. *Nat Prod Res Dev*, 2020, 32(2): 323-333, 357.
- [70] Aida S V, Alfredo B, Ignacio P V, *et al.* Paulomycin G, a new natural product with cytotoxic activity against tumor cell lines produced by deep-sea sediment derived *Micromonospora matsumotoense* M-412 from the Avilés Canyon in the Cantabrian Sea [J]. *Marine Drugs*, 2017, 15(9): 271.
- [71] Kafle G K, Bhattarai S, Sang H K, *et al.* Grincamycins I-K, cytotoxic angucycline glycosides derived from marine-derived actinomycete *Streptomyces lusitanus* SC-SIO LR32 [J]. *Planta Medica*, 2018, 84(3): 201-207.
- [72] Aftab U, Sajid I. Antitumor peptides from *Streptomyces* sp. SSA 13, isolated from Arabian Sea [J]. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, 2017, 23(2): 199-211.
- [73] Hue N T, Pokhrel A R, Nguyen C T. *Streptomyces* sp. VN1, a producer of diverse metabolites including non-natural furan-type anticancer compound [J]. *Scientific Reports*, 2020, 10(1): 1756.
- [74] Qin L L, Zhou B, Ding W J, *et al.* Bioactive metabolites from marine-derived *Streptomyces* sp. A68 and its rifampicin resistant mutant strain R-M1 [J]. *Phytochemistry Letters*, 2018, 23: 46-51.
- [75] Selim M S, Amer S K, Mohamed S S, *et al.* Production and characterisation of exopolysaccharide from *Streptomyces carpaticus* isolated from marine sediments in Egypt and its effect on breast and colon cell lines [J]. *J Genet Eng Biotechnol*, 2018, 16(1): 23-28.
- [76] Abdallah H, Abdel-Rahman R F, Awdan S, *et al.* Protective effect of some natural products against chemotherapy-induced toxicity in rats [J]. *Heliyon*, 2019, 5(5): e01590.
- [77] Pimentel-Elardo S M, Kozytska S, Bugni T S, *et al.* Anti-parasitic compounds from *Streptomyces* sp. strains isolated from Mediterranean sponges [J]. *Mar Drugs*, 2010, 8(2): 373-380.
- [78] Yin F, Sun P, Tang B, *et al.* Anti-parasitic effects of leptomycin B isolated from *Streptomyces* sp. CJK17 on marine fish ciliate *Cryptocaryon irritans* [J]. *Vet Parasitol*, 2016, 217: 89-94.
- [79] Balakrishnan S, Santhanam P, Srinivasan M. Larvicidal potency of marine actinobacteria isolated from mangrove environment against *Aedes aegypti* and *Anopheles*

- stephensi* [J]. J Parasit Dis, 2017, 41(2): 387-394.
- [80] Larissa B, Luke P R, Leonardo L, *et al.* HSQC-TOC-SY fingerprinting - directed discovery of antiplasmodial polyketides from the marine ascidian-derived *Streptomyces* sp. (USC - 16018) [J]. Marine Drugs, 2018, 16(6): 189.
- [81] Sunish K S, Biji M, Rosamma P, *et al.* Marine actinomycetes *Nocardioopsis alba* MCCB 110 has immunomodulatory property in the tiger shrimp *Penaeus monodon* [J]. Fish Shellfish Immunol, 2020, 102: 125-132.
- [82] Xu X N, Chen L Y, Chen C, *et al.* Genome mining of the marine actinomycete *Streptomyces* sp. DUT11 and discovery of tunicamycins as anti - complement agents [J]. Front Microbiol, 2018, 9: 1318.
- [83] Renner M K, Shen Y C, Cheng X C, *et al.* ChemInform Abstract: Cyclomarins A-C, new antiinflammatory cyclic peptides produced by a marine bacterium (*Streptomyces* sp.) [J]. Chem Inform, 2000, 31(10): 178-187.
- [84] Abdelmohsen U R, Pimentel-Elardo S M, Hanora A, *et al.* Isolation, phylogenetic analysis and anti-infective activity screening of marine sponge-associated actinomycetes [J]. Mar Drugs, 2010, 8(3): 399-412.
- [85] Rosamma P, Kumar S S, Achuthankutty C T. Antiviral property of marine actinomycetes against white spot syndrome virus in penaeid shrimps [J]. Current Science, 2006, 91(6): 807-811.
- [86] Lee J G, Yoo I D, Kim W G. Differential antiviral activity of benzastatin C and its dechlorinated derivative from *Streptomyces nitrosporeus* [J]. Biol Pharm Bull, 2007, 30(4): 795-797.
- [87] Raveh A, Delekta P C, Dobry C J, *et al.* Discovery of potent broad spectrum antivirals derived from marine actinobacteria [J]. PLoS One, 2013, 8(12): e82318.
- [88] Strand M, Carlsson M, Uvell H, *et al.* Isolation and characterization of anti-adenoviral secondary metabolites from marine actinobacteria [J]. Mar Drugs, 2014, 12(2): 799-821.
- [89] Kathrin S, Jonny N, Anne H, *et al.* Lipocarbazoles, secondary metabolites from *Tsukamurella pseudo-spumae* Acta 1857 with antioxidative activity [J]. Journal of Natural Products, 2009, 72(10): 1768-1772.
- [90] Wael M A, Bruce F M, Marcell W, *et al.* Dermacozines, a new phenazine family from deep-sea dermacocci isolated from a Mariana Trench sediment [J]. Organic & Biomolecular Chemistry, 2010, 8(10): 2352-2362.
- [91] Shin H J, Lee H S, Lee J S, *et al.* Violapyrones H and I, new cytotoxic compounds isolated from *Streptomyces* sp. associated with the marine starfish *Acanthaster planci* [J]. Mar Drugs, 2014, 12(6): 3283-3291.
- [92] Vicente J, Stewart A K, van Wagoner R M, *et al.* Monacyclinones, new angucyclinone metabolites isolated from *Streptomyces* sp. M7_15 associated with the Puerto Rican sponge *Scopalina ruetzleri* [J]. Mar Drugs, 2015, 13(8): 4682-4700.
- [93] Khalil Z G, Raju R, Piggott A M, *et al.* Aranciamycins I and J, antimycobacterial anthracyclines from an Australian marine-derived *Streptomyces* sp. [J]. J Nat Prod, 2015, 78(4): 949-952.
- [94] Fu S N, Wang F, Li H Y, *et al.* Secondary metabolites from marine - derived *Streptomyces antibioticus* strain H74-21 [J]. Natural Product Research, 2016, 30(21): 2460-2467.
- [95] Mullooney M W, Ó hAinmhire E, Tanouye U, *et al.* A pimarane diterpene and cytotoxic angucyclines from a marine-derived *Micromonospora* sp. in Vietnam's east sea [J]. Mar Drugs, 2015, 13(9): 5815-5827.
- [96] Bauermeister A, Pereira F, Grilo I R, *et al.* Intra-clade metabolomic profiling of MAR4 *Streptomyces* from the Macaronesia Atlantic region reveals a source of anti-bio-film metabolites [J]. Environ Microbiol, 2019, 21(3): 1099-1112.
- [97] Wang W, Cai B, Shao Z. Oil degradation and biosurfactant production by the deep sea bacterium *Dietzia maris* As-13-3 [J]. Front Microbiol, 2014, 5: 711.

□

(编辑: 张丽红)