

放线菌药物资源开发面临的问题与对策

姜 怡^{1,2} 徐 平¹ 娄 恺⁴ 徐丽华^{1*} 刘志恒³

(1. 微生物药物国家工程研究中心 云南省微生物研究所 云南大学 昆明 650091)

(2. Leibniz-Institut für Meereswissenschaften, IFM-GEOMAR, Düsternbrooker Weg 20,
D-24105 Kiel, Germany)

(3. 中国科学院微生物研究所 北京 100101)

(4. 新疆农业科学院特殊环境微生物资源重点实验室 乌鲁木齐 830000)

摘 要: 放线菌药物的开发已取得了极其辉煌的成就, 对医疗事业的发展 and 人类健康做出了重大贡献。然而, 随着放线菌药物资源的长期开发和利用, 也面临诸多问题。如: 包袱沉重, 去重复难度极大, 因而投资周期长、耗资巨, 风险大; 药物开发赶不上病原菌抗药性的增加及不断出现的新疾病; 虽然未知放线菌甚多, 但发现难度大。为此, 提出了从化学、菌种和基因三方面开展放线菌药物研究的应对策略, 以解决限制放线菌药物资源持续利用和发展的瓶颈。

关键词: 放线菌, 药物开发

Problem and Countermeasure on Development of Pharmaceuticals from Actinomycete Resources

JIANG Yi^{1,2} XU Ping¹ LOU Kai⁴ XU Li-Hua^{1*} LIU Zhi-Heng³

(1. The National Engineering Center for Research of Microbial Pharmaceuticals, Yunnan Institute of Microbiology,
Yunnan University, Kunming 650091)

(2. Leibniz-Institut für Meereswissenschaften, IFM-GEOMAR, Düsternbrooker Weg 20, D-24105 Kiel, Germany)

(3. Institute of Microbiology, Chinese Academy of Science, Beijing 100101)

(4. The Key Laboratory for Microbial Resources in Special Environments, Xinjiang Academy of Agriculture Sciences, Urumchi 830000)

Abstract: Development of antibiotics from actinomycetes has acquired enormous accomplishment. About 12000 bioactive metabolites were discovered from actinomycetes. Up to now it is very difficult to finding novel compounds with bioactivities from microorganisms. Advance of discovery of new actinomycete species from extreme environments and ocean, integration of modern chemical techniques and database, and genomic techniques are reviewed for meeting the challenge and difficulty in pharmaceutical development from actinomycetes in this paper.

Keywords: Actinomycetes, Pharmaceutical development

基金项目: 国家 973 项目(No.2004CB719601); 科技部国际合作重点项目(No. 2006DFA33550); 国家自然科学基金项目(No.30270004、30560001)

* 通讯作者: Tel: 0871-5035263; Fax: 0871-5173878; ✉ : lihxu@ynu.edu.cn

收稿日期: 2007-05-21; 接受日期: 2007-07-12

1 放线菌药物开发的辉煌成就

放线菌是一类最重要的药源微生物。100 年来,放线菌资源研究和开发利用取得了极其辉煌的成就。迄今已经发现和描述的放线菌有 4000 多种,分属至少 40 个科,180 个属^[1]。

现在,放线菌(*Actinomycetes*, *Actinobacteria*)已经独立为原核生物界中的放线菌门,放线菌分类学已经成为一门专门的学科,中国科学家对该学科的发展做出了重要贡献。从放线菌发现的生物活性物质大约有 12000 种,占整个天然生物活性物质的 50% 左右,其中从链霉菌一个属就发现近万种^[2]。目前临床和农业上使用的 150 多种抗生素中,有 100 至 120 种是由放线菌产生的,可以说放线菌药物对推动医疗保健事业的发展做出了不可磨灭的贡献。

2 放线菌药物开发面临的问题

目前,与其他天然药物开发一样,从放线菌发现新药物是越来越困难了。第一个困难是包袱沉重,去重复难度极大。到现在已经从微生物发现了 25000 多种化合物,早期去重复耗时费力,因而投资周期长(10 年以上),耗资巨(10 亿美元以上),风险大。我国总产值上 10 亿美元的药业公司没有几家,难以承受如此巨大的研发开支和风险,这也是我国创新药物极少的原因之一。第二个困难是病原菌的抗药性增加很快,许多过去已经根治的疾病,如结核病,现在又死灰复燃,而且不易治疗;一些地方还不断发现病因不明的新疾病,往往束手无策;一些重大、常见的疾病(如艾滋病,肿瘤等)仍然没有良药可治,而且治疗成本太高。第三个困难是国内外的研究一致证明,尽管已经描述、保存了大量放线菌,但仍然有至少 90%(甚至 99%)的放线菌未被发现,要拿到这些未知菌株难度很大。这三个难题交织在一起,造成了今天放线菌药物研究与开发的困境。就连放线菌分类的奠基人、获得过诺贝尔奖的瓦克斯曼创立的研究所(美国新泽西大学 瓦克斯曼微生物研究所),由于 Lechevalier 夫妇的退休,就没有人再做放线菌分类研究。

3 如何突破限制放线菌药物研发的瓶颈

我们应该看到,放线菌药物开发所遇到的问题,跟其他新药开发遇到的是一些共同性的问题。因此,

我们提出从菌种、化学、基因三个主要方面开展深入研究,以解脱今天放线菌药物开发所处的困境。

首先,化学是核心。在 20 世纪五、六十年代,我国的抗生素化学家为仿制国外已有抗生素及建立我国的抗生素工业做出了不可磨灭的贡献。自那以后,在一个时期内抗生素化学的队伍日渐缩小,许多单位的新抗生素研究室相继下马,老一辈化学家相继退休,一些年轻同志又不愿意做抗生素化学,或处于茫然状态。结果我国发现的新抗生素极少,在国际抗生素杂志的论文很少,真正属于创新药物的成果更少。这与今天提出建设创新型国家的要求相距甚远。现代创新药物本身就是化合物,化学是药物开发最直接、最重要的理论基础和技术手段。化学力量的强弱直接关系到开发成本和开发周期。现在已经清楚的微生物代谢产物至少有 25000 种以上,要淘汰这些已知化合物全靠化学家的知识积累和经验,强大的数据库和检索系统。1) 要加强微生物次生代谢产物化学队伍建设,这是一项急迫的任务。我国应该有一支矢志做微生物代谢产物化学的年轻化学家队伍。2) 加强数据库的建设和共享。我国有不少实验室的技术装备并不错,核磁共振仪,质谱仪,红外光谱仪, X 衍射仪等都有,而且很先进,很配套。但有的单位从这些大型仪器出成果的水平并不高,或者大材小用,或者利用率很低。3) 加强仪器、数据库、结构解析软件的配套、集成,提高快速、微量、在线分析能力,即建立先进的高通量筛选平台。

其次,新物种的发现。实践证明新菌种是获得新化合物的首要前提。我们主张从新物种直接分离化合物,作为放线菌药物开发的途径之一,一个原因是可以减少极为浩繁、耗时费力的筛选工作。目前已确定的放线菌新种,其 16S rRNA 序列至少有 2% 的差异,或 DNA 同源性低于 70%。根据全基因组研究的结果,一个链霉菌大约有 8000 个编码蛋白质的基因。有 20 到 50 个基因簇与次生物质合成有关。一个新物种必然包含不少合成新化合物的基因。因此,至少可以说,从新物种获得新化合物的可能性很大。目前要初步判定一个菌株是否是新种其实很简单,成本也只是 200 元左右,一般实验室都能做到。根据国内外的研究结果,自然界还存在至少 90% 以上的放线菌未被分离培养。问题是如何获得这些未知菌或新物种? 1) 要把分离方法本身始终不

渝的作为重点研究对象,不断建立,改进,更新,力求有全新的突破。2) 分离未知放线菌难,早期淘汰已知放线菌更难。因此要把建立简便实用的早期淘汰程序作为重点,使已知菌、常见菌早期被排除;同时需要研究人员长期,用心的经验积累。3) 到原始森林、原始环境、极端环境采样,用特殊方法分离其中的未知放线菌。我们用严格的条件分离嗜盐和嗜碱放线菌取得了很好的效果。这里要特别强调海洋放线菌。目前从海洋分离到的放线菌有 18 个属,仅占放线菌总属数的 10%,可见未知的海洋放线菌数量极大;从海洋放线菌发现的新化合物更少^[3]。我国东面海洋广阔,但海洋放线菌研究很落后,非常值得大力加强。应该组织全国相关力量协同开发。

再次,基因技术。基因组研究拓展了人们的知识领域,为放线菌药物开发提供了新途径^[4,5]。目前,值得研究和采用的基因操作有以下几种: 1) 基因重组。从各种环境分离大片断 DNA (它可能是一个或几个基因或一簇关联基因), 将一个甚至几个大片断外源 DNA 整合到遗传背景较清楚的细菌或放线菌,检查其产物。这种基因重组的结果往往会增加化合物的多样性,甚至出现的新化合物。2) 基因改组(gene shuffling)是一类体外定向分子进化技术。现在已经开发出 DNA 家族改组,部分基因片段改组,单链 DNA 家族改组,基因组改组(Genome Shuffling)等等各种技术,提供了一类获得产物多样性的新途径,在动、植物,微生物的改良方面很有用处。通过基因改组,大大改良有益特性和增加产物多样性的情况。3) 组合生物合成。这是将一种甚至几种次生代谢产物合成基因簇组装到遗传背景较清楚的工程菌,这些基因之间发生重组、互换,从而增加非天然

化合物的多样性,甚至产生结构奇异的新化合物。

4) 次生代谢产物合成基因组研究,将其作为改造目的化合物分子结构,提高活性和产量,改良生产菌的工艺性状的有利手段。尤其是要加强一些有应用前景化合物基因组的研究。5) 分子设计。采用计算机模拟,设计高活性、低毒性的“理想”分子,按照人工设计的“合成途径”,将各种相关基因组装到工程菌,使其表达,检测产物。6) 大承载量转座子(vector)的构建。

新化合物是新药开发的基本前提。通过发现新物种,通过基因操作增加新化合物的可能性和多样性,用集成化学技术,提高发现新先导化合物的几率,缩短研发周期,降低研发成本。这就是我们的结论。

参 考 文 献

- [1] 徐丽华, 李文均, 刘志恒, 等. 放线菌系统学, 原理, 方法及实践 (第一版). 北京: 科学出版社, 2007.
- [2] János Bérty. Bioactive microbial metabolites, a personal review. *J Antibiot*, 2005, **58**(1): 1-26.
- [3] Jensen PR, Mincer TJ, Williams PG, *et al*. Marine actinomycete diversity and natural product discovery. *Antonie van Leeuwenhoek*, 2004, **87**: 43-48.
- [4] Bentley SD, Chater KF, Cerden-Tarraga AM, *et al*. Complete genome sequence of the model actinomycete *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Nature*, 2002, **417**: 141-147.
- [5] Omura S, Ikeda H, Ishikawa J, *et al*. Genome sequence of an industrial microorganism *Streptomyces avermitilis*: Deducing the ability of producing secondary metabolites. *PNAS*, 2001, **98**: 12215-12220.