

## 拟诺卡氏菌属放线菌研究进展

李文均<sup>1,2\*</sup> 张永光<sup>2</sup>

(1. 中山大学生命科学学院 广东 广州 510275)

(2. 中国科学院新疆生态与地理研究所 中国科学院干旱区生物地理与生物资源重点实验室  
新疆 乌鲁木齐 830011)

**摘要:** 拟诺卡氏菌属是一个经典的丝状放线菌类群,在近十余年来获得了快速发展,目前已合格发表 42 个种、2 个亚种。该菌群在土壤环境,尤其是天然高盐碱土样生境中广泛分布,同时从海洋、人居环境、临床样本、堆肥等生境中也能分离到。拟诺卡氏菌不仅能合成抗生素、酶抑制剂、生物表面活性剂等多种结构新颖的活性物质,而且还能产生多种具有潜在工业用途的酶,因此近年来引起了国内外学者的广泛关注。本文综述了拟诺卡氏菌分类学、生态分布与适应机制、代谢产物及遗传转化的研究进展,并对其研究趋势做了分析。

**关键词:** 拟诺卡氏菌, 分类学, 生物地理学, 代谢产物, 天然高盐碱环境

## Advances in studies on the genus *Nocardiopsis*

LI Wen-Jun<sup>1,2\*</sup> ZHANG Yong-Guang<sup>2</sup>

(1. School of Life Sciences, Sun Yat-Sen University, Guangzhou, Guangdong 510275, China)

(2. Key Laboratory of Biogeography and Bioresource in Arid Land, Xinjiang Institute of Ecology and Geography, Chinese Academy of Sciences, Urumqi, Xinjiang 830011, China)

**Abstract:** The genus *Nocardiopsis* has classical filamentous mycelium differential characterization. In the last decade, studies on this genus have got much attention and undergone fast developments. Until now, this genus comprises of 42 species and 2 subspecies reported. Members of the genus *Nocardiopsis* are widely distributed in soil, especially natural hyper saline or alkaline samples, marine habitats, clinical specimen as well as other ecosystems. Recently, researchers have isolated many bioactive metabolites from various strains in this genus, including antibiotics, enzyme inhibitors, immune regulators and biosurfactants, as well as enzymes, which have great potentials in pharmaceutical agents and biotechnology. This paper reviews the research progress of taxonomic studies, ecological diversity, adaptive mechanism, metabolites and genetic transformation of the genus, and also proposes the future directions.

**Foundation item:** Hundred Talents Program of the Chinese Academy of Sciences; Guangdong Province Higher Vocational Colleges & Schools Pearl River Scholar Funded Scheme; National Natural Science Foundation of China (NSFC)-Xinjiang Joint Fund Project (No. U1403101)

**\*Corresponding author:** Tel/Fax: 86-20-84111727; E-mail: liwenjun3@mail.sysu.edu.cn; liact@hotmail.com

**Received:** November 10, 2015; **Accepted:** January 28, 2016; **Published online** (www.cnki.net): April 14, 2016

**基金项目:** 中国科学院百人计划项目; 广东省高等学校珠江学者岗位计划项目; NSFC-新疆联合基金项目(No. U1403101)

**\*通讯作者:** Tel/Fax: 86-20-84111727; E-mail: liwenjun3@mail.sysu.edu.cn; liact@hotmail.com

**收稿日期:** 2015-11-10; **接受日期:** 2016-01-28; **优先数字出版日期**(www.cnki.net): 2016-04-14

**Keywords:** *Nocardiopsis*, Taxonomy, Biogeography, Natural products, Hyper saline-alkaline environments

自 1943 年 Waksman 从灰色链霉菌 (*Streptomyces griseus*) 中分离到对结核病具有良好疗效的链霉素以来, 放线菌作为抗生素的主要产生菌一直备受关注。近年来, 从稀有放线菌 (Rare actinomycetes) 中分离到新结构、新活性天然产物的几率逐渐增加<sup>[1]</sup>, 因而成为人们研究的热点。拟诺卡氏菌属是一个经典的丝状放线菌类群, 其基丝异常发达, 会断裂成杆状或球状, 气丝发育良好, 多为长或短的分枝<sup>[2]</sup>。该属是目前已知的在自然界分布最为广泛的菌群之一, 在土壤环境, 尤其是天然高盐碱土样中最为常见, 在沙漠、海洋、极地、人居环境、临床样本、堆肥等生境也有分布。

拟诺卡氏菌在适应多样化的生态系统过程中, 通过与其他物种以及生境中不同环境因子的相互作用形成一些特殊的遗传基因、代谢活动和生理机制, 具有产生多种活性代谢产物和酶的潜力。目前, 从该菌群已分离到大环内酯类、吡啶并咪唑类、吩嗪类、吡喃酮类等化学结构多样化的多种次级代谢产物, 以及可耐受一些极端环境的淀粉酶、碱性蛋白酶、纤维素酶等多种具有潜在工业用途的酶<sup>[2]</sup>。这些研究表明拟诺卡氏菌在医药、食品、农业、环境等领域具有广阔的应用前景。本文对拟诺卡氏菌的分类学、生态分布、环境适应机制及应用研究进展进行了综述, 并对其研究趋势做了分析。

## 1 拟诺卡氏菌分类学研究

### 1.1 拟诺卡氏菌属的建立

拟诺卡氏菌属建立于 20 世纪细菌系统学由形态分类向化学分类发展时期。1976 年, Meyer 研究发现 *Actinomadura dassonvillei* IMRU 509<sup>T</sup> 菌丝形态类似于诺卡氏菌属, 即基内菌丝断裂成球状和气生菌丝断裂为长短不一的孢子链, 且细胞壁不含马杜拉放线菌属所特有的马杜拉糖, 为此将其

划分为一个新属——拟诺卡氏菌属, 其模式种为 *Nocardiopsis dassonvillei*<sup>[3]</sup>。此后, 拟诺卡氏菌属化学组分被陆续测定, 由此明确了该属的化学分类特征: 细胞壁类型 IIIC (*meso*-DAP, 无特征性糖), 磷脂类型 PIH (磷脂酰胆碱和磷脂酰基甲基乙醇胺), 优势甲基萘醌为 MK-10 (H<sub>2</sub>, H<sub>4</sub>, H<sub>6</sub>) 和 MK-11 (H<sub>2</sub>, H<sub>4</sub>, H<sub>6</sub>, H<sub>8</sub>), 脂肪酸 3d 型 (顺式、反式和 10-甲基支链脂肪酸), 基因组 DNA G+C 含量为 64–76 mol%<sup>[2]</sup>。随着核糖体 16S rRNA 基因序列系统进化分析在原核生物分类中得到了广泛的应用, 人们对拟诺卡氏菌属的分类学地位有了新的认识。1996 年 Rainey 等<sup>[4]</sup>分析了 1 236 个原核生物 16S rRNA 基因序列 (*Escherichia coli* 16S rRNA 基因 51–1 471 bp) 的系统进化关系, 发现拟诺卡氏菌代表着放线菌目一个独立的分支, 因此将其命名为拟诺卡氏菌科 (Nocardiopsaceae), 拟诺卡氏菌属为该科的模式属。

### 1.2 拟诺卡氏菌属新物种

自拟诺卡氏菌属建立以来, 人们从土壤、天然高盐碱环境、沙漠、海洋、河流、动物、植物等环境中分离到大量拟诺卡氏菌新种。细菌分类学在经历了经典的形态分类、化学分类和分子分类阶段后发展到目前普遍采用的多相分类阶段。动态发展的细菌分类学使早期分离到的一些拟诺卡氏新物种被重新再分类<sup>[5]</sup>, 如 *Nocardiopsis africana*、*Nocardiopsis coeruleofusca*、*Nocardiopsis flava* 和 *Nocardiopsis longispora* 分别被重新划分为 *Nonomuraea africana*、*Saccharothrix coeruleofusca*、*Lechevalieria flava* 和 *Saccharothrix longispora*; 最近, 本课题组根据多相分类结果, 将原划分在拟诺卡氏菌属的 *Nocardiopsis arabia* 再分类为 *Streptomonospora arabia*<sup>[6]</sup>。截止到 2015 年 12 月, 已合格发表的拟诺卡氏菌新种有 42 个、亚种 2 个, 包括我国学者最近在国际期刊 “Antonie Van

Leeuwenhoek (ANTO)”、“International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology (IJSEM)”上发表的 4 个拟诺卡氏菌新种, 即 *Nocardiopsis mangrovei*<sup>[7]</sup>、*Nocardiopsis oceani*<sup>[8]</sup>、*Nocardiopsis nanhaiensis*<sup>[8]</sup>和 *Nocardiopsis ansamitocini*<sup>[9]</sup>。已发表的拟诺卡氏菌菌种名称及其分离生境信息汇总, 见表 1。显然, 土壤环境是拟诺卡氏菌新种的主要来源(占总菌种数的 54.8%), 且不同类型土壤来源的新种数量相差较大。天然盐碱土来源的拟诺卡氏菌种共计 13 个, 占土壤环境来源菌种的 56.5%; 其后依次是人居环境和海洋环境, 其他生境来源的新种相对较少。根据已发表拟诺卡氏菌种 16S rRNA 基因序列构建了拟诺卡氏菌属各个物种之间的无根系统进化树, 见图 1。

2 拟诺卡氏菌的生态分布及其适应机制

2.1 分布生境的多样化

拟诺卡氏菌是自然界中分布最为广泛的放线菌类群之一。该类群在土壤, 尤其是高盐碱土壤中最为常见, 在海洋、人居环境、堆肥、临床样本等环境中也有分布。拟诺卡氏菌是天然高盐碱环境中放线菌的优势菌群。Meklat 等从阿尔及利亚南部撒哈拉地区的盐土中分离到 52 株嗜盐放线菌, 30%的菌株为拟诺卡氏菌<sup>[10]</sup>; 张永光等从新疆阜康荒漠碱土中分离到的放线菌中, 20%左右隶属于拟诺卡氏菌<sup>[11]</sup>。在一些盐湖<sup>[12]</sup>、晒盐场<sup>[13]</sup>等高盐环境中也能分离到大量包括拟诺卡氏菌在内的经典嗜盐或耐盐放线菌菌株。海洋环境是寻找和发现新天然产物和生物多样性的资源。国

表 1 已发表拟诺卡氏菌新种的来源		
Table 1 Diverse sources of validly published <i>Nocardiopsis</i> species		
生境 Biotope	具体类型 Specific type	种名 Species
土壤 Soils	天然盐碱土	<i>N. quinghaiensis</i> , <i>N. xinjiangensis</i> , <i>N. gilva</i> , <i>N. rosea</i> , <i>N. rhodophaea</i> , <i>N. chromatogenes</i> , <i>N. baichengensis</i> , <i>N. halophila</i> , <i>N. salina</i> , <i>N. terrae</i> , <i>N. valliformis</i> , <i>N. ganjiahuensis</i> , <i>N. ansamitocini</i>
	碱性矿渣坑	<i>N. metallicus</i>
	盐沼泽	<i>N. lucentensis</i> , <i>N. halotolerans</i>
	盐田	<i>N. kunsanensis</i>
	沙漠沙土	<i>N. algeriensis</i> , <i>N. alkaliphila</i>
	极地土样	<i>N. fildesensis</i>
	河堤沙土	<i>N. arvandica</i>
	普通土样	<i>N. prasina</i>
海洋 Seas	岸边	<i>N. aegyptia</i> , <i>N. sinuspersici</i>
	沉积物	<i>N. oceani</i> , <i>N. nanhaiensis</i> , <i>N. flavescens</i>
	红树林沉积物	<i>N. mangrovei</i>
	海葵	<i>N. litoralis</i>
	珊瑚	<i>N. corallicola</i>
临床样本 Clinical specimen	病人	<i>N. dassonvillei</i> , <i>N. synnematafomans</i> , <i>N. listeri</i>
植物 Plants	木麻黄	<i>N. tropica</i>
人居环境 Habitat environments	室内灰尘	<i>N. exhalans</i> , <i>N. umidischolae</i>
	屋脊排水	<i>N. alba</i>
	堆肥	<i>N. yanglingensis</i> , <i>N. nikkonensis</i> , <i>N. compostus</i> , <i>N. trehalosi</i>
	生活垃圾	<i>N. potens</i>

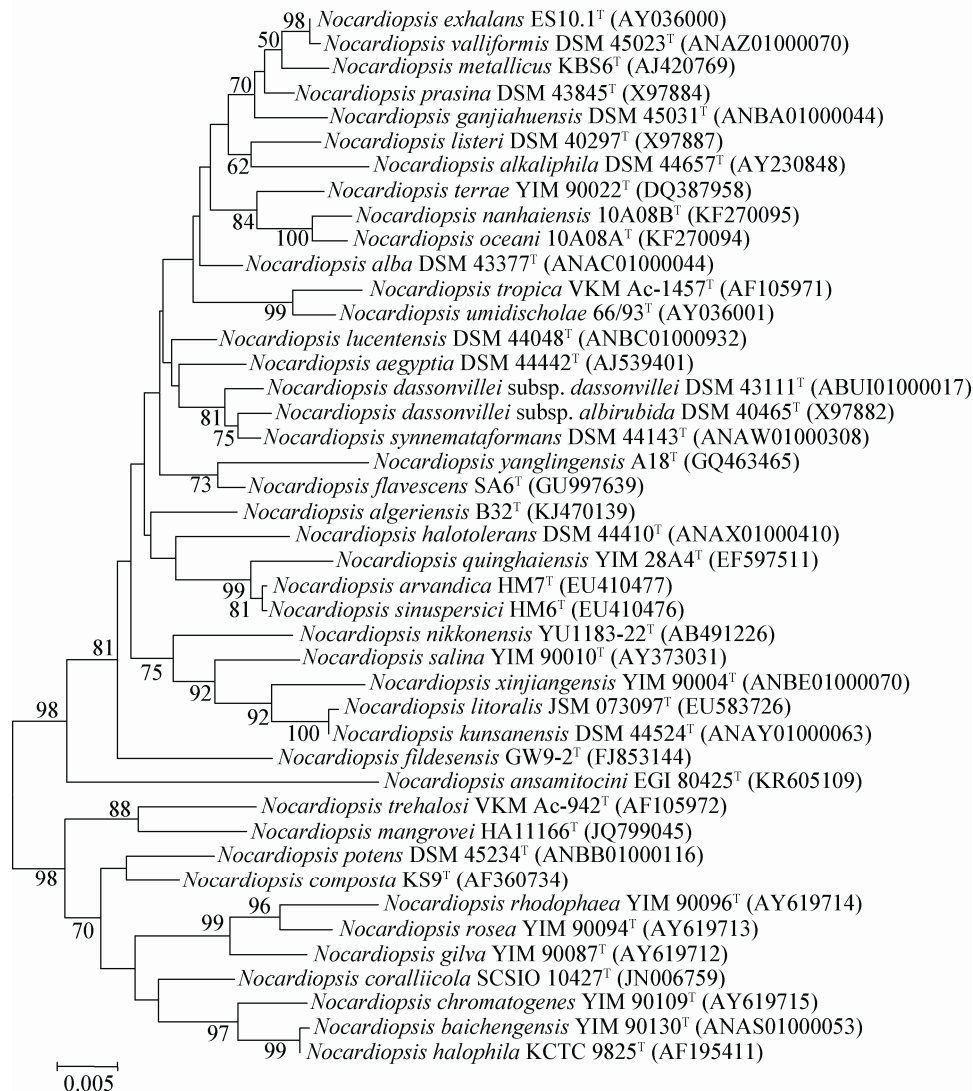


图1 基于16S rRNA基因序列构建的拟诺卡氏菌属各个种之间的无根系统进化树(N-J法)

Figure 1 Unrooted Neighbor-Joining tree derived from the 16S rRNA gene sequences of all the related species of the genus *Nocardiopsis*

内外学者在调查北冰洋楚科奇海陆架<sup>[14]</sup>、挪威特隆赫姆峡湾<sup>[15]</sup>、美国加利福尼亚海湾<sup>[16]</sup>、中国黄海<sup>[17]</sup>和南海<sup>[18]</sup>等海域沉积物中放线菌资源,以及海绵 *Halichondria panicea*<sup>[19]</sup>、海葵<sup>[2]</sup>、珊瑚<sup>[20]</sup>等动物共生放线菌资源时,分离到多个放线菌菌群,拟诺卡氏菌是最常见的菌群之一。有趣的是,近期从淡水鱼<sup>[21]</sup>和蜜蜂<sup>[22]</sup>肠道中也检测到了拟诺卡氏菌和其他放线菌菌群。另外,在人类居住生产环境,如室内、生活垃圾、堆肥<sup>[2]</sup>、废弃纸板<sup>[23]</sup>、

霉菌污染<sup>[24]</sup>的建筑等环境以及一些临床样本中,也能检测到拟诺卡氏菌<sup>[2]</sup>。

## 2.2 生物地理学研究进展

生物地理学是研究生物地理分布格局及成因的一门学科。微生物生物地理学侧重于研究微生物群落组成和多样性的空间分布格局。如上所述,拟诺卡氏菌广泛分布于多种生境,但人们对其空间地理分布格局及与遗传进化的关系知之甚少。本课题组近年来围绕天然高盐环境,尝试研

究拟诺卡氏菌生物地理分布格局及其与环境因子之间的关系<sup>[25]</sup>。从采自云南黑井盐矿、江城盐矿千年古井, 新疆七角井盐湖和艾丁湖盐湖的 8 份样品中分离到属于 5 个可操作分类单元(Operational taxonomic units, OTU), 即 *N. dassonvillei*、*N. aegyptiac*、*N. terrea*、*N. quinghaiensis* 和 *N. xinjiangensis* 的 78 株菌, 每一个 OTU 都包含有区域特有的种系和基因型。16S rRNA 基因和看家基因(*gyrB*、*rpoB* 和 *sodA*)多位点序列分型(MLST)显示: 菌株的特有序列对应其分离区域和样品采集点的环境因子(自举值大于 80%), 其中 16S rRNA 基因显著影响拟诺卡氏菌在大空间的分布(>100 km), 看家基因 *gyrB*、*rpoB* 和 *sodA* 则受局部环境中理化因子(一些阳离子和阴因子, 如  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$  或 pH)的不均一显著影响。在大范围内, 空间距离显著促进拟诺卡氏菌种间生物地理格局的形成, 而环境因子在局部(地方性的)层面上显著影响拟诺卡氏菌种内菌株的特有分布。因此, 高盐环境中的拟诺卡氏菌具有生物地理分布格局, 空间距离和环境因子对其分别具有大的和小的影响<sup>[25]</sup>。

### 2.3 拟诺卡氏菌环境适应机制研究

拟诺卡氏菌可以在包括高盐、高碱、低温、干旱等极端生境在内的多种环境广泛分布, 这表明该菌群在自然进化过程中会形成一些特殊的遗传基因或调控机制。从基因组角度比较遗传关系近、表型差异大的拟诺卡氏菌菌株, 将为我们更好地理解其物种进化过程和环境适应性机制提供更多新的线索。本课题组基于测定的 16 个拟诺卡氏菌(模式菌株)<sup>[26]</sup>和公共数据 *N. dassonvillei* DSM 43111<sup>T</sup><sup>[27]</sup>的全基因组序列进行比较基因组学研究, 发现拟诺卡氏菌属核心基因组包含 2 517 个基因, 而具开放性的泛基因组超过 22 000 个基因, 且随着每一新物种的增加, 约有 755 个新基因扩充到泛基因组中; 对旁系同源基因功能的分析发现, 基因数目最多的前十个家族主要涉及调控因子、转运蛋白、水解酶类和活性物质的合成。研究表明拟诺卡氏菌固有的遗传特征——高度动态的

基因组和核心蛋白家族的组成及附属蛋白的选择性使用——是拟诺卡氏菌具有很强环境适应性的重要原因<sup>[26]</sup>。高盐环境是拟诺卡氏菌分布的主要环境之一。目前, 从该环境中分离到的拟诺卡氏菌株大多为嗜盐或耐盐菌。相对于嗜盐细菌, 人们对拟诺卡氏菌乃至放线菌适应高盐的机制了解非常有限, 如一些嗜盐拟诺卡氏菌株在受到高盐胁迫时胞内会积累四氢嘧啶、羟基四氢嘧啶和/或海藻糖等相容性溶质<sup>[28]</sup>, 这一点已被比较基因组学的研究结果所证实, 即拟诺卡氏菌基因组含有参与相容性溶质合成、转运的基因<sup>[26]</sup>。在高盐渗透压胁迫下, 作为细胞天然屏障的细胞膜如何感应高渗透压刺激后调节物质运输及代谢以维持相对稳定的胞内环境呢? 本课题组最近与军事医学科学院徐平课题组、中国科学院微生物研究所陶勇课题组合作采用 iTRAQ 定量蛋白质组学技术研究高盐胁迫下嗜盐拟诺卡氏菌 *N. xinjiangensis* YIM 90004<sup>T</sup> 的膜蛋白组变化及功能<sup>[29]</sup>。定量比较发现 126 (18.4%) 个膜蛋白为盐诱导性变化蛋白, 其表达模式主要呈现两类: (1) 盐信号感应类: 细胞分化、小分子转运蛋白(离子和氨基酸)和次级代谢相关蛋白仅仅在最适盐浓度显著上调, 而在更高盐浓度下则保持不变或下调; (2) 盐信号适应类: 随胞外盐浓度的增加, 大多数 ABC 转运蛋白、次级主动转运蛋白、细胞运动性蛋白和信号转导激酶持续上调。该研究还证明了相容性物质 ABC 转运家族蛋白、 $\text{Na}^+$ -依赖性转运蛋白和菌毛运动性相关蛋白积极地抵御高盐胁迫。因此, 在受到高盐胁迫时拟诺卡氏菌膜蛋白会发生一些规律性变化以实现自我保护。后期, 我们将根据已有的比较基因组学和蛋白质组学研究结果, 从定量比较、关键膜转运蛋白或盐依赖性基因簇等入手, 深入解析拟诺卡氏菌适应高盐环境的分子调控机制。

### 3 拟诺卡氏菌资源的应用

拟诺卡氏菌在多种环境中广泛分布, 要完成复杂的形态分化过程, 需要根据其所处微生境的

营养、理化和环境等因素来调节胞内代谢,通过合成次级代谢产物干扰其他生物,或分泌一些对天然生物大分子具有水解活性的酶从环境获取营养。近年来的研究显示,拟诺卡氏菌可产生多种具有潜在医药、工业用途的天然活性物质和具有特殊性质的酶。

### 3.1 天然产物

拟诺卡氏菌是一类能获得多种结构新颖、活性独特天然活性产物的重要资源。目前,从该菌群中已分离到抗生素、酶抑制剂、免疫调节剂、表面活性剂等具有抗菌、抗癌、免疫调节、抗氧化或抗光老化等活性的天然产物。根据天然产物化学结构可分为大环内酯类、二酮哌嗪、吩嗪、吲哚并咔唑、生物碱等(表 2)。需特别指出以下 3 类代谢产物:(1) 吲哚并咔唑类化合物:这类化合物对蛋白激酶 C 和细胞周期蛋白依赖的激酶等肿瘤相关酶具有很强的抑制作用,具有良好的肿瘤治疗效果。最先分离到的是 *Nocardiosis* sp. k-252 产生的 k-252a,对蛋白激酶 C、钙离子依赖的 c-AMP 和 c-GMP 蛋白激酶均有很强抑制作用<sup>[46]</sup>,同时还具有抗感染和抗过敏活性;k-252b、k-252c 和 k-252d 则由拟诺卡氏菌 *Nocardiosis* sp. 290 产生<sup>[47]</sup>,对蛋白激酶 C 具有不同程度的抑制活性,但活性均低于 k-252a。目前,k-252a 作为蛋白激酶和神经生长因子(NGF)抑制剂已经商业化生产。(2) Naphthospirozone A:从云南个旧大屯锡尾矿碱性土样(pH 10.0)中分离到一株嗜碱 *Nocardiosis* sp. YIM DT266,固体(pH 12.0)培养 1 个月后,从其丙酮萃取液中获得一个结构新颖的多环化合物 Naphthospirozone A,该化合物对 HeLa、L929 和 AGZY 细胞具有中度细胞毒活性,还可抑制 *Bacillus subtilis*、*Staphylococcus aureus*、*Escherichia coli* 和 *Aspergillus niger* 生长<sup>[63]</sup>。通常活性次级代谢产物在强碱(高 pH)条件下不稳定,结构容易被破坏。而 Naphthospirozone A 的发现,拓宽了人们对活性产物产生条件的认识,高 pH 培养条件下也能获得活性产物。(3) 硫肽类抗生素

TP-1161<sup>[52]</sup>: Engelhardt 等采用 PCR 靶向筛选聚酮体类(PKS)和非核糖体多肽类(NRPS)化合物时,发现一株海绵 *Phakellia ventilabrum* 共生菌 *Nocardiosis* sp. TFS65-07 同时具有 PKS I、PKS II 和 NRPS 基因,随后从其发酵液中得到一个含稀有氨基丙酮结构的硫肽类新抗生素 TP-1161,该化合物具有抗菌活性。因此,利用重要次生代谢途径功能基因簇的保守性和海量放线菌基因组序列信息,通过对其基因组信息挖掘可以针对性地检测潜在的结构活性新颖的天然活性产物。

### 3.2 拟诺卡氏菌产生多种用途的蛋白酶

拟诺卡氏菌通过分泌一些对纤维素、淀粉、蛋白质、木聚糖等天然生物大分子具有水解活性的酶从环境中吸收营养,是其适应多种环境的生存策略之一。其中,一些酶可以耐受如低温、高温、强酸、强碱等极端环境<sup>[28]</sup>,如冷适应  $\alpha$ -淀粉酶、耐碱嗜热菊粉酶、耐热蛋白酶。*Nocardiosis* sp. KNU 可以分泌多种对羧甲基纤维素、微晶纤维素、木聚糖和秸秆等具有良好水解活性的耐热耐碱纤维素水解酶系,这包括内切葡聚糖酶、外切葡聚糖酶、木聚糖酶和葡萄糖糖化酶<sup>[68]</sup>。菌株 *N. alba* OK-5 产生的  $\text{Ca}^{2+}$ -依赖的碱性蛋白酶在 50–80 °C 范围内活性非常稳定,同时与不同阳离子、表面活性剂、 $\text{H}_2\text{O}_2$ 、 $\beta$ -巯基乙醇和商业化的去污剂具有良好的相容性<sup>[69]</sup>。而 *Nocardiosis* sp. NCIM 5124 产生的碱性丝氨酸内肽酶 NprotI 含有一个特殊的聚脯氨酸 II (PPII) 折叠区, PPII 赋予了 NprotI 对变性剂和蛋白酶降解具有良好抗性<sup>[28]</sup>,及良好的强酸稳定性<sup>[70]</sup>。有趣的是,个别拟诺卡氏菌株能产生一些非常特殊的水解酶,如 *Nocardiosis* sp. TOA-1 产生的角蛋白酶可以完全降解未经任何化学或物理处理的羊瘙痒症朊病毒<sup>[71]</sup>。采用比较基因组学和宏蛋白质组学技术,将有助于分离到诺卡氏菌来源的酶。基因组序列分析显示一些水解酶基因,可以克隆到表达载体上进而异源表达。Johnson-Rollings 等<sup>[72]</sup>设计了一种宏胞外蛋白质组学策略,目的是研究细胞胞外

表 2 拟诺卡氏菌产生的活性天然产物  
Table 2 Bioactive metabolites produced by *Nocardiopsis* strains

结构类型 Structure type	化合物名称 Chemical names	活性 Activity	产生菌株 Producer	来源 Source of strain	文献 Reference
大环内酯 Macrolides	Apoptolidins E ,F	新糖基化, 细胞凋亡诱导剂	<i>Nocardiopsis</i> sp.	未知	[30]
	Nocardiopsins	结合 FKBP12 蛋白的化合物	<i>Nocardiopsis</i> sp. CMB-M0232	澳大利亚布里斯班海岸 55 m 沉积物	[31]
	Nocardiopsins C ,D Nocardiopyrone A	脯氨酰化, $\alpha$ -吡喃酮替代的聚酮体	<i>Nocardiopsis</i> sp. CMB-M0232	澳大利亚布里斯班海岸 55 m 沉积物	[32]
	Griseusins F ,G	C <sub>23</sub> -聚酮体骨架替代了螺萘醌	<i>Nocardiopsis</i> sp. YIM DT266	云南个旧大屯锡尾矿碱性土样	[33]
哌嗪二酮 Diketopiperazines	Nocardioazines	异戊烯化, 非细胞毒抑制膜蛋白的外排泵 P-糖蛋白	<i>Nocardiopsis</i> sp. CMB-M0232	澳大利亚布里斯班海岸 55 m 沉积物	[34]
	哌嗪二酮类	微弱细胞毒活性	<i>N. alba</i> SCSIO 03039	印度洋洋沉积物	[35]
	Nocazoline A 等	3 个新的二酮哌嗪衍生物	<i>N. dassonvillei</i> HR10-5	黄河入海口沉积物	[36]
	Cyclo-(L-Pro-L-Met)	血管生成抑制剂	<i>Nocardiopsis</i> sp. 03N67	北极海藻(裙带菜)	[37]
吡喃酮 Pyrones	2 个新 2-吡喃酮化合物	抗菌活性	<i>N. alkaliphila</i> YIM 80379	埃及东部沙漠土样	[38]
	Nocapyrones A-D	无活性, 新化合物	<i>Nocardiopsis</i> sp. HB383	德国波罗的海海绵 <i>Halichondria panicea</i>	[39]
	吡喃酮	诱导 st-13 小鼠前脂肪细胞产生脂联素	<i>Nocardiopsis</i> sp. TP-A0876	日本北海道石狩湾 775 m 海洋沉积物	[40]
	Nocapyrones H-J	3,6-二氯代 $\alpha$ -吡喃酮, NO 抑制剂	<i>Nocardiopsis</i> sp. KMF-001	韩国东海 Ulleng 港海洋沉积物	[41]
	吡喃酮类	细菌 QS 信号分子抑制剂	<i>N. dassonvillei</i> subsp. <i>dassonvillei</i> XG-8-1	中国连云港海域海洋沉积物	[42]
	$\alpha$ -吡喃酮 E-G	3 个新化合物, 中度抗菌	<i>N. dassonvillei</i> HR10-5	中国黄河入海口沉积物	[36]
吩嗪 Phenazines 吡喃萘醌 Pyranonaphthoquinones	吩嗪类	抗菌	<i>Nocardiopsis</i> sp. 236	西太平洋	[43]
	Griseusin D	强抑人白血病细胞, 中度抑制肺癌细胞	<i>Nocardiopsis</i> sp. YIM 80133	中国青海盐碱土	[44]
	New Griseusins	选择性抗癌细胞	<i>Nocardiopsis</i> sp. YIM 80133	中国青海盐碱土	[45]
吲哚并吡嗪 Indolocarbazoles	K-252a	强蛋白 C 抑制剂, 抗多种癌细胞	<i>Nocardiopsis</i> sp. K-252 (NRRL15532)	日本东京 Machida-shi 土样	[46]
	K-252b , c and d , TAN-999	蛋白 C 抑制剂	<i>Nocardiopsis</i> sp. K-290	日本东京多摩市土样	[47]
		巨噬细胞激活剂(生物碱)	<i>N. dassonvillei</i> C-71425	日本鸟取县土样	[48]
吲哚内酰胺 Indolactams	Methylpendolmycin	抑制结合蛋白激酶 C 的佛波酯	<i>Nocardiopsis</i> sp.	台湾蓬雾根际土	[49]
	Pendolmycin	一种新的肿瘤促进剂	<i>Nocardiopsis</i> sp. SA1715	上海附近的一条河	[50]

(待续)

(续表)				
吲哚核苷酸 Indole nucleosides	Kahakamides A ,B	抗菌,新 Neosidomycin 类似物	<i>N. dassonvillei</i>	夏威夷 Kauai 岛浅海沉积物 [51]
硫肽 Thiopeptides	TP-1161	抗菌	<i>Nocardiopsis</i> sp.	挪威特隆赫姆峡湾 121 m 海绵 <i>Phakellia ventilabrum</i> [52]
抗菌肽 Antibiotic peptides	Lucentamycins A–D	细胞毒活性	<i>N. lucentensis</i>	小圣萨尔瓦多岛一个浅盐池 [53]
	新的抗菌物质	抗念珠菌, mw87.12 kD	<i>N. dassonvillei</i> MAD08	印度西南海岸 10–12 m 沉积物 [54]
	环四肽	心脏钙通道阻滞剂	<i>Nocardiopsis</i> sp.	太平洋中部克拉里昂与克拉伯顿断裂带 3 000 m 沉积物 [55]
	Nocardiamides A ,B	活性环己肽, 微弱抗菌	<i>Nocardiopsis</i> sp. CNX037	美国圣地亚哥 La Jolla 峡谷 18–30 m 沉积物 [56]
氯代芳香 Chloroaromatic compounds	Fijiolides A ,B	诱导 NF- $\kappa$ B 激活的 TNF $\alpha$ 抑制剂	<i>Nocardiopsis</i> sp. CNS653	斐济贝卡泻湖 Beqa 岛附近海洋沉积物 [57]
喹啉 Quinoline	喹啉类生物碱	抗菌	<i>N. terrae</i> YIM 90022	中国柴达木盆地盐土 [58]
苯并咪唑 Benzoxazoles	Nocarbenzoxazoles A–G	苯并咪唑	<i>N. lucentensis</i> DSM 44048	西班牙阿利坎特附近的盐泽 [59]
	Nocatriones A ,B	并四苯, 抗光老化活性	<i>Nocardiopsis</i> sp.	韩国东海岸 Yeonggeumjeong 20 m 未鉴定的紫色海绵 [60]
苯并噻唑 Benzothiazoles	对联三苯	抗菌、抗氧化剂	<i>N. gilva</i> YIM 90087	中国新疆盐碱土 [61]
生物碱 Alkaloids	NCS1	抗氧化剂, NCI-H460 细胞毒活性	<i>Nocardiopsis</i> sp. NCS1	印度安达曼尼科巴 Wasp Baof the Nancowry 岛沉积物 [62]
新颖结构 Unprecedented structures	Naphthospiro none A	高效抗癌, 多环新化合物	<i>Nocardiopsis</i> sp. YIM DT266	云南个旧大屯锡尾矿碱性土样 [63]
表面活性剂 Biosurfactants	脂肽类	脂肽类表面活性剂	<i>N. alba</i> MSA10	印度西南部海岸 10–15 m 海绵 <i>Fasciospongia cavernosa</i> [64]
	表面活性剂	新糖基化表面活性剂	<i>N. lucentensis</i> MSA04	印度西南海岸 10–15 m 海绵 <i>Dendrilla nigra</i> [65]
	表面活性剂	耐高温、宽 pH 和盐度	<i>Nocardiopsis</i> sp. B4	印度孟买海岸地区海洋沉积物 [66]
	表面活性剂	表面活性剂, 具有烃类强降解活性	<i>Nocardiopsis</i> sp. mrinalini9	印度南方西高止山脉药用植物朱槿 [67]

蛋白功能及其与环境的相互作用。采用这种方法, 他们从几丁质富集的土壤提取物中成功检测到了糖苷水解酶家族 18 (GH18) 的 *Nocardiopsis* 类几丁质酶, 并证实该酶是负责土壤中几丁质的降解。拟诺卡氏菌产生的蛋白酶, 尤其是一些可耐

受极端环境因子的极端酶在生化工程、工业领域均具有潜在的用途。

此外, 部分拟诺卡氏菌株具有降解石油烃、有毒物质或生物塑料的活性, 在环境修复领域具有一定的应用潜力。如分离自印度泰米尔纳德邦

钦奈海洋沉积物的 *Nocardiopsis* sp. VITSISB, 室温培养 25 d 可完全降解 2 L 海水中的 100 mL 润滑油<sup>[73]</sup>; 一株 *Nocardiopsis* sp. 对强致癌物质——2,3,7,8-二恶英(TCDD)具有较强的降解活性<sup>[74]</sup>。此外, 研究发现拟诺卡氏菌是降解聚羟基脂肪酸酯(PHAs)的主要菌群之一<sup>[75]</sup>; 菌株 *N. aegyptia* DSM 44442<sup>T</sup> 能以聚羟基丁酸酯(PHB)为唯一碳源快速生长, 对含 10%–20% 共聚物聚羟基丁酸戊酸共聚酯(PHBV)的降解速度高于 PHB<sup>[76]</sup>。部分拟诺卡氏菌株对 PHA、PHB 等生物基聚合物具有较强的降解活性, 有助于加速这些生物塑料的降解过程, 促进生态可持续发展。

#### 4 拟诺卡氏菌的遗传转化体系

近年来, 拟诺卡氏菌中一些与重要的次生代谢产物合成相关的基因簇或具有潜在工业用途的酶基因陆续被克隆和鉴定, 为深入挖掘其特有的基因资源奠定了良好的基础。然而, 拟诺卡氏菌遗传转化体系不完善, 以及缺少一个成熟的宿主表达系统的现状在一定程度上制约了人们对该资源的深入研究和开发利用。一些拟诺卡氏菌株含有野生型线型质粒<sup>[77]</sup>和环状质粒<sup>[78]</sup>, 但作为遗传转化的克隆载体, 其宿主范围、复制方式等特性需进一步的验证。通过接合转移、电穿孔的方式将外源 DNA 导入拟诺卡氏菌已有几个成功的案例。覃重军组利用一个源自中度嗜盐 *Nocardiopsis* sp. YIM 90127 与链霉菌质粒具有相似特征基因的质粒 pSQ10 构建了一个 *oriT* 介导的 *E. coli* ET12567(pUZ8002)-*Nocardiopsis* 接合转移体系, 并成功转化了 2 株中度嗜盐拟诺卡氏菌<sup>[78]</sup>。该体系也被成功用于 *Nocardiopsis alba* ATCC BAA-2165 抗菌环二肽基因簇 *albABC* 功能的验证<sup>[79]</sup>。Engelhardt 等<sup>[79]</sup>则以 *E. coli* S17.1(pRP4)为供体菌通过接合转移方式将构建的质粒 pKE24 和 pKE24 导入 *Nocardiopsis* sp. TFS65-07, 验证了硫肽类抗生素 TP-1161 合成基因簇的功能<sup>[80]</sup>。但接合转移方式也存在一定的局限性, 如 Du 等采用此法未能获

得 *Nocardiopsis* sp. FU40 转化子, 但采用电穿孔法却成功将构建的质粒导入该菌内<sup>[81]</sup>。遗憾的是, 已有的拟诺卡氏菌遗传转化研究集中在质粒分离、转化方法和基本的基因功能验证, 而与表达体系相关的研究未见报道。鉴于此, 拟诺卡氏菌特有的重要基因资源只能在异源宿主, 如大肠杆菌或链霉菌中表达, 这就导致一些重要的次生代谢产物基因簇无法表达<sup>[80]</sup>等问题的出现, 后者限制了人们对其基因资源的深入挖掘, 如通过组合生物合成技术提高抗生素产量和生产一些“非天然”的结构类似物。综上可知, 建立一个高效的拟诺卡氏菌遗传转化体系和表达系统迫在眉睫。解决的途径有: 分离和构建一个宿主范围广、易于操作的大肠杆菌-拟诺卡氏菌穿梭质粒; 构建一个不含内源型质粒、遗传背景清楚、易于转化且对外源 DNA 基本无明显限制修饰作用的拟诺卡氏菌株。

#### 5 拟诺卡氏菌资源研究趋势

##### 5.1 分离方法的探索

大量新物种的获得是拟诺卡氏菌资源开发的必要基础。拟诺卡氏菌在多种生境广泛分布的特性显示其物种资源非常丰富。迄今为止, 自然界中仅有不足 1% 的微生物能被现有的微生物培养技术培养出来<sup>[82]</sup>。近年来, 一些新的微生物培养方法<sup>[82]</sup>, 如稀释培养法、高通量培养技术和模拟自然环境的扩散盒培养法等, 被陆续用于分离目前在实验室条件下尚不可培养的自然界微生物。先前我们的研究发现, 拟诺卡氏菌对  $\text{CO}_3^{2-}$  和高浓度  $\text{K}^+$ 、 $\text{Na}^+$  不敏感<sup>[83]</sup>, 但分离温度、分离培养基以及复合盐的使用会显著降低其分离效率<sup>[84]</sup>。因此, 后续在对拟诺卡氏菌生理学充分研究的基础上设计新的分离方案和采用新的分离策略, 优化分离方法, 确定影响其分离的关键因素, 为其资源收集和挖掘提供理论依据。

##### 5.2 高盐碱环境是拟诺卡氏菌研究的热点

近年来国内外学者从海洋沉积物和海绵生境

的拟诺卡氏菌中已分离到化学结构类型多样化的天然产物(表 2), 如大环内酯类、二酮哌嗪类、喃酮类、吩嗪类等。然而, 在研究海洋放线菌时, 我们不可避免地要遇到一些问题, 如与海绵共生的菌株生长缓慢, 规模化培养时个别菌株需耐盐耐受一定压力的实验装置, 海盐的添加增大了代谢产物提取的难度等, 这些问题的解决将会加速海洋放线菌资源的挖掘。相比之下, 天然高盐碱生境拟诺卡氏菌是一个亮点, 原因如下: (1) 菌株资源丰富: 高盐碱生境来源的拟诺卡氏菌新种占已发表新种总数的 30%以上(表 1)。新菌株的获得是资源开发的前提和必要条件。新的菌株意味着具有新的基因和代谢途径, 获得新的次生代谢产物几率相对较高; (2) 次生代谢产物较为丰富: 过去近十年来, 云南大学微生物所研究人员及其合作伙伴分别从盐碱土来源的新种 *N. alkaliphila* YIM 80379、*N. terrae* YIM 90022 和 *N. gilva* YIM 90087, 分离到 2 个 2-吡喃酮新化合物<sup>[38]</sup>、喹啉类<sup>[58]</sup>和对联三苯类化合物<sup>[61]</sup>, 从菌株 *Nocardopsis* sp. YIM 80133 分离到具有吡喃萘醌类新化合物<sup>[44-45]</sup>; 从云南个旧大屯锡尾矿碱性土样中分离到一株拟诺卡氏菌 *Nocardopsis* sp. YIM DT266, 该菌合成了具有特殊骨架(C<sub>23</sub>-聚酮体)的大环内酯类抗生素 Griseusins F 和 G<sup>[33]</sup>, 以及一个结构新颖的多环化合物 Naphthospiroketone A<sup>[63]</sup>。近期, 从新疆盐碱地中分离到一株耐碱拟诺卡氏菌 *Nocardopsis* sp. EGI 80425<sup>T</sup>, 该菌株能产生一种抗肿瘤药物安莎霉素 P-3 (Ansamitocin P-3)及其 15-羟基衍生物<sup>[85]</sup>。这是首次报道除束丝放线菌属 *Actinosynnema pretiosum* subsp. *pretiosum* No. C-15003 和 *Actinosynnema pretiosum* subsp. *aurantium* ATCC 31565 外, 其他属菌株也能产生安莎霉素 P-3 及其衍生物。因此, 天然高盐碱生拟诺卡氏菌具有丰富的物种多样性和代谢产物化学多样性, 是拟诺卡氏菌资源研究的热点。

### 5.3 活性筛选与现代定向筛选技术的结合

经典的活性筛选方法在人类分离活性天然产物中起到了重要作用, 但不可避免地存在一定的

随机性。我们的比较基因组学研究显示拟诺卡氏菌基因组中存在大量参与聚酮类化合物(PKS)、非核糖体多肽类化合物(NRPS)和其他类型次生代谢产物合成的基因簇, 以及一些未知功能的基因<sup>[26]</sup>。然而, 到目前为止, 人们从这些拟诺卡氏菌株中分离到的次生代谢产物数量要远远小于其基因组中潜在的次生代谢产物数, 其原因可能是次生代谢产物基因簇处于“沉默”状态或其合成产物量太低无法被检测到。已有的研究显示一些重要的抗生素类型的次生代谢合成途径的基因簇具有一定的保守性, 其编码蛋白也存在保守功能域, 如 PKS 和 NRPS 合成途径基因簇<sup>[86]</sup>。基于此, 我们可以采用后基因组时代快速发展起来的基因组扫描(Genome mining)、核糖体工程、蛋白质组学、代谢组学或异源表达等技术来激活拟诺卡氏菌基因组中的“沉默”基因簇或“孤儿”基因<sup>[87]</sup>。Engelhardt 等通过 PCR 定向检测 PKS 和 NRPS 基因筛选到一株产硫肽类新抗生素的 *Nocardopsis* sp. TFS65-07<sup>[52]</sup>; Karuppiah 等用吩嗪类抗生素合成途径基因 *phzE* 从 197 株海绵共生放线菌中筛选到产 4 种吩嗪类抗生素的 3 株拟诺卡氏菌<sup>[19]</sup>。Chen 等<sup>[88]</sup>采用次级代谢的蛋白质组学方法(Proteomic Investigation of Secondary Metabolism, PrISM)定向检测了 26 株放线菌的 PKS 和 NRPS 或其组成模块多肽, 从中筛选到 2 个被认为是孤儿基因簇编码的天然产物。此外, 一些学者尝试通过共培养激活菌株“沉默”次生代谢产物合成基因簇的表达, 以获得对应的天然产物。Derewacz 等<sup>[89]</sup>将少量 *Escherichia coli*、*Bacillus subtilis*、*Tsukamurella pulmonis* 和 *Rhodococcus wratislaviensis* 菌体分别加入菌株 *Nocardopsis* ΔApoS 发酵液中, 在 30 °C 培养 6 d 后, 从共培养液中分离到一个先前未报道的、具有中度细胞毒活性的含吡咯烷醇的聚酮类化合物, 以及 Ciromicin A 和 B。Dashti 等<sup>[90]</sup>将分离自海绵 *Dysidea avara* 的拟诺卡氏菌 *Nocardopsis* sp. RV163 和源自 *Spheciospongia vagabunda* 的动孢放线菌 *Actinokineospora* sp. EG49 共培养, 从而获得 3 种单菌培养时不合成的 *N*-(2-羟基苯基)-乙酰胺、

1,6-二羟基吩嗪、5a,6,11a,12-四氢-5a,11a-二甲基[1,4]benzoxazino[3,2-*b*] [1,4]benzoxazine。因此,采用经典的活性筛选和先进的现代筛选技术相结合的方法,我们可以充分利用拟诺卡氏菌基因组中潜在的“沉默”基因簇和“孤儿”基因资源,挖掘其天然产物。

## 6 展望

拟诺卡氏菌是一种重要的资源微生物。近年来,从拟诺卡氏菌中陆续分离到多种结构新颖活性独特的天然代谢产物,以及可降解淀粉、蛋白质、纤维素和木聚糖等生物大分子的具有耐冷、耐碱或耐热等特殊性质酶,其代谢产物已初步显示了在医药、食品、生物和化工等领域的广阔应用潜力。过去十余年来,我国学者在拟诺卡氏菌资源收集、生态学及天然产物等方面开展了大量研究工作,并取得了一些得到国际同行普遍认可的成绩,包括有效发表了拟诺卡氏菌新种 18 个,探索了拟诺卡氏菌地理分布格局、适应极端环境机制,分离到多种化学结构丰富、活性新颖的新化合物。天然高盐碱和海洋等极端环境中拟诺卡氏菌株的收集与产物挖掘是其资源开发的大趋势。一些诸如生理学特性不清楚、重复分离,模拟自然环境条件给培养和发酵装置提出了苛刻要求,缺乏有效的遗传转化和表达体系等问题的解决,将会极大促进拟诺卡氏菌资源的收集与挖掘。而且,近年来一些新的微生物培养方法和大量微生物(包括拟诺卡氏菌)全基因组序列被陆续公开报道,再加上比较基因组学、转录组学、蛋白质组学及代谢物组学等组学技术的快速发展,为拟诺卡氏菌资源的收集、保护及开发利用提供了新的契机。

## 参 考 文 献

- [1] Bérty J. Thoughts and facts about antibiotics: where we are now and where we are heading[J]. The Journal of Antibiotics, 2012, 65(8): 385-395
- [2] Hozzein WN, Trujillo ME. Genus I. *Nocardiopsis* Meyer 1976, 487AL[A]//Goodfellow M, Kampfer P, Busse HJ, et al. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Volume 5: The Actinobacteria[M]. 2nd Edition. New York: Springer, 2012: 1891-1906
- [3] Meyer J. *Nocardiopsis*, a new genus of the order Actinomycetales[J]. International Journal of Systematic Bacteriology, 1976, 26(4): 487-493
- [4] Rainey FA, Ward-Rainey N, Kroppenstedt RM, et al. The genus *Nocardiopsis* represents a phylogenetically coherent taxon and a distinct actinomycete lineage: proposal of *Nocardiopsaceae* fam. nov.[J]. International Journal of Systematic Bacteriology, 1996, 46(4): 1088-1092
- [5] Euzéby JP. List of prokaryotic names with standing in nomenclature[EB/OL]. LPSN, 1997, <http://www.bacterio.net/>
- [6] Zhang DF, Pan HQ, He J, et al. Description of *Streptomonospora sediminis* sp. nov. and *Streptomonospora nanhaiensis* sp. nov., and reclassification of *Nocardiopsis arabia* Hozzein & Goodfellow 2008 as *Streptomonospora arabica* comb. nov. and emended description of the genus *Streptomonospora*[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2013, 63(12): 4447-4455
- [7] Huang HQ, Xing SS, Yuan WD, et al. *Nocardiopsis mangrovei* sp. nov., isolated from mangrove sediment[J]. Antonie van Leeuwenhoek, 2015, 107(6): 1541-1546
- [8] Pan HQ, Zhang DF, Li L, et al. *Nocardiopsis oceani* sp. nov. and *Nocardiopsis nanhaiensis* sp. nov., actinomycetes isolated from marine sediment of South China Sea[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2015, 65(10): 3384-3391
- [9] Zhang YG, Liu Q, Wang HF, et al. *Nocardiopsis ansamitocini* sp. nov., a new producer of ansamitocin P-3 of the genus *Nocardiopsis*[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2015. DOI: 10.1099/ijsem.0.000703
- [10] Meklat A, Sabaou N, Zitouni A, et al. Isolation, taxonomy, and antagonistic properties of halophilic actinomycetes in Saharan soils of Algeria[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2011, 77(18): 6710-6714
- [11] Zhang YG, Liu Q, Wang HF, et al. Biodiversity and enzymes of culturable facultative-alkaliphilic actinobacteria in saline-alkaline soil in Fukang, Xinjiang[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2014, 54(2): 183-190 (in Chinese)  
张永光, 刘晴, 王宏飞, 等. 新疆阜康盐碱地可培养兼性嗜碱放线菌多样性及其酶活筛选[J]. 微生物学报, 2014, 54(2): 183-190
- [12] Mwirichia R, Muigai AW, Tindall B, et al. Isolation and characterisation of bacteria from the haloalkaline Lake Elmenteita, Kenya[J]. Extremophiles, 2010, 14(4): 339-348
- [13] Ballav S, Kerkar S, Thomas S, et al. Halophilic and halotolerant actinomycetes from a marine saltern of Goa, India producing anti-bacterial metabolites[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2015, 119(3): 323-330
- [14] Yuan M, Yu Y, Li HR, et al. Phylogenetic diversity and biological activity of actinobacteria isolated from the Chukchi Shelf marine sediments in the Arctic Ocean[J]. Marine Drugs, 2014, 12(3): 1281-1297
- [15] Bredholdt H, Galatenko OA, Engelhardt K, et al. Rare actinomycete bacteria from the shallow water sediments of the Trondheim fjord, Norway: isolation, diversity and biological activity[J]. Environmental Microbiology, 2007, 9(11): 2756-2764
- [16] Becerril-Espinosa A, Freil KC, Jensen PR, et al. Marine actinobacteria from the Gulf of California: diversity, abundance and secondary metabolite biosynthetic potential[J]. Antonie van Leeuwenhoek, 2013, 103(4): 809-819
- [17] Xiong ZQ, Liu QX, Pan ZL, et al. Diversity and bioprospecting of culturable actinomycetes from marine sediment of the Yellow Sea, China[J]. Achieves of Microbiology, 2015, 197(2): 299-309
- [18] Schneemann I, Nagel K, Kajahn I, et al. Comprehensive investigation of marine *Actinobacteria* associated with the sponge *Halichondria panicea*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2010, 76(11): 3702-3714
- [19] Karupiah V, Li YX, Sun W, et al. Functional gene-based discovery of phenazines from the actinobacteria associated with

- marine sponges in the South China Sea[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2015, 99(14): 5939-5950
- [20] Li J, Dong JD, Yang J, et al. Detection of polyketide synthase and nonribosomal peptide synthetase biosynthetic genes from antimicrobial coral-associated actinomycetes[J]. Antonie van Leeuwenhoek, 2014, 106(4): 623-635
- [21] Jami M, Ghanbari M, Kneifel W, et al. Phylogenetic diversity and biological activity of culturable *Actinobacteria* isolated from freshwater fish gut microbiota[J]. Microbiological Research, 2015, 175: 6-15
- [22] Patil PB, Zeng Y, Coursey T, et al. Isolation and characterization of a *Nocardiopsis* sp. from honeybee guts[J]. FEMS Microbiology Letters, 2010, 312(2): 110-118
- [23] Suihko ML, Kroppenstedt RM, Stackebrandt E. Occurrence and characterization of actinobacteria and thermoactinomycetes isolated from pulp and board samples containing recycled fibres[J]. Journal of Industrial Microbiological and Biotechnology, 2006, 33(3): 183-191
- [24] Schäfer J, Jäckel U, Kämpfer P. Analysis of *Actinobacteria* from mould-colonized water damaged building material[J]. Systematic and Applied Microbiology, 2010, 33(5): 260-268
- [25] He ST, Zhi XY, Jiang HC, et al. Biogeography of *Nocardiopsis* strains from hypersaline environments of Yunnan and Xinjiang Provinces, western China[J]. Scientific Reports, 2015, 5: 13323
- [26] Li HW, Zhi XY, Yao JC, et al. Comparative genomic analysis of the genus *Nocardiopsis* provides new insights into its genetic mechanisms of environmental adaptability[J]. PLoS One, 2013, 8(4): e61528
- [27] Sun H, Lapidus A, Nolan M, et al. Complete genome sequence of *Nocardiopsis dassonvillei* type strain (IMRU 509<sup>T</sup>)[J]. Standards in Genomic Sciences, 2010, 3(3): 325-336
- [28] Bennur T, Kumar AR, Zinjarde S, et al. *Nocardiopsis* species: incidence, ecological roles and adaptations[J]. Microbiological Research, 2015, 174: 33-47
- [29] Zhang Y, Li YC, Zhang YG, et al. Quantitative proteomics reveals membrane protein-mediated hypersaline sensitivity and adaptation in halophilic *Nocardiopsis xinjiangensis*[J]. Journal of Proteome Research, 2016, 15(1): 68-85
- [30] Wender PA, Longcore KE. Apoptolidins E and F, new glycosylated macrolactones isolated from *Nocardiopsis* sp.[J]. Organic Letters, 2009, 11(23): 5474-5477
- [31] Raju R, Piggott AM, Conte M, et al. Nocardiopsins: new FKBP12-binding macrolide polyketides from an Australian marine-derived actinomycete, *Nocardiopsis* sp.[J]. Chemistry: A European Journal, 2010, 16(10): 3194-3200
- [32] Raju R, Piggott AM, Quezada M, et al. Nocardiopsins C and D and nocardioapyrone A: new polyketides from an Australian marine-derived *Nocardiopsis* sp.[J]. Tetrahedron, 2013, 69(2): 692-698
- [33] Ding ZG, Zhao JY, Li MG, et al. Griseusins F and G, spiro-naphthoquinones from a tin mine tailings-derived alkalophilic *Nocardiopsis* species[J]. Journal of Natural Products, 2012, 75(11): 1994-1998
- [34] Raju R, Piggott AM, Huang XC, et al. Nocardioazines: a novel bridged diketopiperazine scaffold from a marine-derived bacterium inhibits P-glycoprotein[J]. Organic Letters, 2011, 13(10): 2770-2773
- [35] Zhang QB, Li SM, Chen YC, et al. New diketopiperazine derivatives from a deep-sea-derived *Nocardiopsis alba* SCSIO 03039[J]. The Journal of Antibiotics, 2013, 66(1): 31-36
- [36] Fu P, Liu PP, Qu HJ, et al.  $\alpha$ -Pyrone and diketopiperazine derivatives from the marine-derived actinomycete *Nocardiopsis dassonvillei* HR10-5[J]. Journal of Natural Products, 2011, 74(10): 2219-2223
- [37] Shin HJ, Mondol MAM, Yu TK, et al. An angiogenesis inhibitor isolated from a marine-derived actinomycete, *Nocardiopsis* sp. 03N67[J]. Phytochemistry Letters, 2010, 3(4): 194-197
- [38] Wang ZY, Fu P, Liu PP, et al. New pyran-2-ones from alkalophilic actinomycete, *Nocardiopsis alkaliphila* sp. nov. YIM-80379[J]. Chemistry & Biodiversity, 2013, 10(2): 281-287
- [39] Schneemann I, Ohlendorf B, Zinecker H, et al. Nocapyrones A-D,  $\gamma$ -pyrones from a *Nocardiopsis* strain isolated from the marine sponge *Halichondria panicea*[J]. Journal of Natural Products, 2010, 73(8): 1444-1447
- [40] Kim Y, Ogura H, Akasaka K, et al. Nocapyrones:  $\alpha$ - and  $\gamma$ -pyrones from a marine-derived *Nocardiopsis* sp.[J]. Marine Drugs, 2014, 12(7): 4110-4125
- [41] Kim MC, Kwon OW, Park JS, et al. Nocapyrones H-J, 3,6-disubstituted  $\alpha$ -pyrones from the marine actinomycete *Nocardiopsis* sp. KMF-001[J]. Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 2013, 61(5): 511-515
- [42] Fu P, Liu PP, Gong QH, et al.  $\alpha$ -Pyrone from the marine-derived actinomycete *Nocardiopsis dassonvillei* subsp. *dassonvillei* XG-8-1[J]. RSC Advances, 2013, 3(43): 20726-20731
- [43] Lu CH, Li YY, Wang HX, et al. A new phenoxazine derivative isolated from marine sediment actinomycetes, *Nocardiopsis* sp. 236[J]. Drug Discoveries & Therapeutics, 2013, 7(3): 101-104
- [44] Li YQ, Li MG, Li W, et al. Griseusin D, a new pyranonaphthoquinone derivative from an alkaliphilic *Nocardiopsis* sp.[J]. The Journal of Antibiotics, 2007, 60(12): 757-761
- [45] He J, Roemer E, Lange C, et al. Structure, derivatization, and antitumor activity of new griseusins from *Nocardiopsis* sp.[J]. Journal of Medicinal Chemistry, 2007, 50(21): 5168-5175
- [46] Kase H, Iwahashi K, Matsuda Y. K-252a, a potent inhibitor of protein kinase C from microbial origin[J]. The Journal of Antibiotics, 1986, 39(8): 1059-1065
- [47] Nakanishi S, Matsuda Y, Iwahashi K, et al. K-252b, c and d, potent inhibitors of protein kinase C from microbial origin[J]. The Journal of Antibiotics, 1986, 39(8): 1066-1071
- [48] Tanida S, Takizawa M, Takahashi T, et al. TAN-999 and TAN-1030A, new indolocarbazole alkaloids with macrophage-activating properties[J]. The Journal of Antibiotics, 1989, 42(11): 1619-1630
- [49] Sun HH, White CB, Dedinas J, et al. Methyldendrolmycin, an indolactam from a *Nocardiopsis* sp.[J]. Journal of Natural Products, 1991, 54(5): 1440-1443
- [50] Nishiwaki S, Fujiki H, Yoshizawa S, et al. Dendrolmycin, a new tumor promoter of the teleocidin A class on skin of CD-1 mice[J]. Japanese Journal of Cancer Research, 1991, 82(7): 779-783
- [51] Schumacher RW, Harrigan BL, Davidson BS. Kahakamides A and B, new neosidomycin metabolites from a marine-derived actinomycete[J]. Tetrahedron Letters, 2001, 42(31): 5133-5135
- [52] Engelhardt K, Degnes KF, Kemmler M, et al. Production of a new thiopeptide antibiotic, TP-1161, by a marine *Nocardiopsis* species[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2010, 76(15): 4969-4976
- [53] Cho JY, Williams PG, Kwon HC, et al. Lucentamycins A-D, cytotoxic peptides from the marine-derived actinomycete *Nocardiopsis lucentensis*[J]. Journal of Natural Products, 2007, 70(8): 1321-1328
- [54] Selvin J, Shanmughapriya S, Gandhimathi R, et al. Optimization and production of novel antimicrobial agents from sponge associated marine actinomycetes *Nocardiopsis dassonvillei* MAD08[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2009, 83(3): 435-445
- [55] Shin J, Seo Y, Lee HS, et al. A new cyclic peptide from a marine-derived bacterium of the genus *Nocardiopsis*[J]. Journal of Natural Products, 2003, 66(6): 883-884
- [56] Wu ZC, Li SM, Nam SJ, et al. Nocardiamides A and B, two cyclohexapeptides from the marine-derived actinomycete *Nocardiopsis* sp. CNX037[J]. Journal of Natural Products, 2003, 76(4): 694-701
- [57] Nam SJ, Gaudêncio SP, Kauffman CA, et al. Fijiolides A and B, inhibitors of TNF- $\alpha$ -induced NF $\kappa$ B activation, from a marine-derived sediment bacterium of the genus *Nocardiopsis*[J]. Journal of Natural Products, 2010, 73(6): 1080-1086
- [58] Tian SZ, Yang YB, Liu K, et al. Antimicrobial metabolites from a novel halophilic actinomycete *Nocardiopsis terrae* YIM

- 90022[J]. Natural Products Research: Formerly Natural Product Letters, 2014, 28(5): 344-346
- [59] Sun MW, Zhang XM, Hao HL, et al. Nocarbenzoxazoles A-G, benzoxazoles produced by halophilic *Nocardiopsis lucentensis* DSM 44048[J]. Journal of Natural Products, 2015, 78(8): 2123-2127
- [60] Kim MC, Hwang E, Kim T, et al. Nocatriones A and B, photoprotective tetracenediones from a marine-derived *Nocardiopsis* sp.[J]. Journal of Natural Products, 2014, 77(10): 2326-2330
- [61] Tian SZ, Pu X, Luo GY, et al. Isolation and characterization of new *p*-Terphenyls with antifungal, antibacterial, and antioxidant activities from halophilic actinomycete *Nocardiopsis gilva* YIM 90087[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61(12): 3006-3012
- [62] Kamala K, Sivaperumal P, Gobalakrishnan R, et al. Isolation and characterization of biologically active alkaloids from marine actinobacteria *Nocardiopsis* sp. NCS1[J]. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 2015, 4(1): 63-69
- [63] Ding ZG, Li MG, Zhao JY, et al. Naphthospirozone A: an unprecedented and highly functionalized polycyclic metabolite from an alkaline mine waste extremophile[J]. Chemistry- A European Journal, 2010, 16(13): 3902-3905
- [64] Gandhimathi R, Kiran GS, Hema TA, et al. Production and characterization of lipopeptide biosurfactant by a sponge-associated marine actinomycetes *Nocardiopsis alba* MSA10[J]. Bioprocess and Biosystems Engineering, 2009, 32(6): 825-835
- [65] Kiran GS, Thomas TA, Selvin J. Production of a new glycolipid biosurfactant from marine *Nocardiopsis lucentensis* MSA04 in solid-state cultivation[J]. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2010, 78(1): 8-16
- [66] Khopade A, Biao R, Liu X, et al. Production and stability studies of the biosurfactant isolated from marine *Nocardiopsis* sp. B4[J]. Desalination, 2012, 285: 198-204
- [67] Singh MJ, Sedhuraman P. Biosurfactant, polythene, plastic, and diesel biodegradation activity of endophytic *Nocardiopsis* sp. mrinalini9 isolated from *Hibiscus rosasinensis* leaves[J]. Bioresources and Bioprocessing, 2015, 2: 2
- [68] Saratale GD, Oh SE. Production of thermotolerant and alkalotolerant cellulolytic enzymes by isolated *Nocardiopsis* sp. KNU[J]. Biodegradation, 2011, 22(5): 905-919
- [69] Gohel SD, Singh SP. Thermodynamics of a  $\text{Ca}^{2+}$ -dependent highly thermostable alkaline protease from a haloalkaliphilic actinomycete[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2015, 72: 421-429
- [70] Rohamare S, Javdekar V, Dalal S, et al. Acid stability of the kinetically stable alkaline serine protease possessing polyproline II fold[J]. The Protein Journal, 2015, 34(1): 60-67
- [71] Mitsuiki S, Hui Z, Matsumoto D, et al. Degradation of PrP<sup>Sc</sup> by keratinolytic protease from *Nocardiopsis* sp. TOA-1[J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2006, 70(5): 1246-1248
- [72] Johnson-Rollings AS, Wright H, Masciandaro G, et al. Exploring the functional soil-microbe interface and exoenzymes through soil metaexoproteomics[J]. The ISME Journal, 2014, 8(10): 2148-2150
- [73] Roy S, Chandni S, Das I, et al. Aquatic model for engine oil degradation by rhamnolipid producing *Nocardiopsis* VITSISB[J]. 3 Biotech, 2015, 5(2): 153-164
- [74] Matsumura F, Quensen J, Tsuchimoto G. Microbial degradation of TCDD in a model ecosystem[J]. Environmental Science and Pollution Research, 1983, 26: 191-219
- [75] Boyandin AN, Prudnikova SV, Karpov VA, et al. Microbial degradation of polyhydroxyalkanoates in tropical soils[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2013, 83: 77-84
- [76] Ghanem NB, Mabrouk ME, Sabry SA, et al. Degradation of polyesters by a novel marine *Nocardiopsis aegyptia* sp. nov.: application of Plackett-Burman experimental design for the improvement of PHB depolymerase activity[J]. The Journal of General and Applied Microbiology, 2005, 51(3): 151-158
- [77] Tian XL, Zhong L, Qin ZJ. Sequencing of *Nocardiopsis* linear plasmid pNPL1[J]. Microbiology China, 2014, 41(7): 1376-1381 (in Chinese)
- 田新莉, 钟莉, 覃重军. 拟诺卡氏菌线性质粒 pNPL1 的测序和分析[J]. 微生物学通报, 2014, 41(7): 1376-1381
- [78] Zeng A, Wang T, Xia HY, et al. Development of a vector and host system and characterization of replication of plasmid pSQ10 in moderately halophilic *Nocardiopsis*[J]. Acta Biochimica et Biophysica Sinica, 2011, 43(9): 738-743
- [79] Engelhardt K, Degnes KF, Zotchev SB. Isolation and characterization of the gene cluster for biosynthesis of the thiopeptide antibiotic TP-1161[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2010, 76(21): 7093-7101
- [80] Li YL, Lai YM, Lu Y, et al. Analysis of the biosynthesis of antibacterial cyclic dipeptides in *Nocardiopsis alba*[J]. Archives of Microbiology, 2014, 196(11): 765-774
- [81] Du Y, Derewacz DK, Deguire SM, et al. Biosynthesis of the apoptolidins in *Nocardiopsis* sp. FU 40[J]. Tetrahedron, 2011, 67(35): 6568-6575
- [82] van Pham HT, Kim J. Cultivation of unculturable soil bacteria[J]. Trends in Biotechnology, 2012, 30(9): 475-484
- [83] Zhang YG, Tang SK, Li WJ, et al. Preliminary studies on physiological characteristics of alkaliphilic *Actinomycetes*[J]. Microbiology China, 2004, 31(1): 30-35 (in Chinese)
- 张永光, 唐蜀昆, 李文均, 等. 嗜碱放线菌生理学特性的初步研究[J]. 微生物学通报, 2004, 31(1): 30-35
- [84] Tang SK, Jiang Y, Zhi XY, et al. Isolation methods for halophilic actinomycetes[J]. Microbiology China, 2007, 34(2): 390-392 (in Chinese)
- 唐蜀昆, 姜怡, 职晓阳, 等. 嗜盐放线菌分离方法[J]. 微生物学通报, 2007, 34(2): 390-392
- [85] Zhang YG, Li WJ, Liu Q, et al. A method for production and preparation of ansamitocin P-3 and 15-hydroxyansamitocin by *Nocardiopsis* sp. and its applications: CN: 201510187063[P]. 2015-04-20
- 张永光, 李文均, 刘晴, 等. 一种生产安萨菌素 P-3 及 15-羟基衍生物的拟诺卡氏菌及其制备方法和应用: 中国, 201510187063[P]. 2015-04-20
- [86] Zerikly M, Challis GL. Strategies for the discovery of new natural products by genome mining[J]. ChemBioChem, 2009, 10(4): 625-633
- [87] Chiang YM, Chang SL, Oakley BR, et al. Recent advances in awakening silent biosynthetic gene clusters and linking orphan clusters to natural products in microorganisms[J]. Current Opinion in Chemical Biology, 2011, 15(1): 137-143
- [88] Chen YQ, Ntai I, Ju KS, et al. A proteomic survey of nonribosomal peptide and polyketide biosynthesis in actinobacteria[J]. Journal of Proteome Research, 2012, 11(1): 85-94
- [89] Derewacz DK, Covington BC, McLean JA, et al. Mapping microbial response metabolomes for induced natural product discovery[J]. ACS Chemical Biology, 2015, 10(9): 1998-2006
- [90] Dashti Y, Grkovic T, Abdelmohsen UR, et al. Production of induced secondary metabolites by a co-culture of sponge-associated actinomycetes, *Actinokineospora* sp. EG49 and *Nocardiopsis* sp. RV163[J]. Marine Drugs, 2014, 12(5): 3046-3059