

粘细菌生物活性产物及其应用研究进展

翟辰欣¹, 吕莹¹, 汪绍杰¹, 樊博¹, 王泽建², 吴杰群³, 梁剑光^{*1}

1 常州大学药学院生物与食品工程学院, 江苏 常州 213164

2 华东理工大学生物工程学院, 上海 200237

3 浙江工业大学药学院, 浙江 杭州 310014

翟辰欣, 吕莹, 汪绍杰, 樊博, 王泽建, 吴杰群, 梁剑光. 粘细菌生物活性产物及其应用研究进展[J]. 微生物学通报, 2023, 50(9): 4237-4259.

ZHAI Chenxin, LÜ Ying, WANG Shaojie, FAN Bo, WANG Zejian, WU Jiequn, LIANG Jianguang. Research progress in bioactive products of myxobacteria and their applications[J]. Microbiology China, 2023, 50(9): 4237-4259.

摘要: 粘细菌(myxobacteria)是一类具有多细胞群体行为特征的药源微生物类群。粘细菌能通过次级代谢产生大量结构新颖并具有生物活性的小分子天然产物, 还能分泌种类、功能丰富多样的酶类。这些生物活性产物使粘细菌不仅具有重要的研究价值, 还有广泛的应用前景。然而, 资源挖掘困难、次级代谢产物得率低等制约因素的存在严重阻碍了粘细菌的研究和应用。本文主要对粘细菌的生物学特征、生物活性产物、生物合成调控及在医疗、农业和食品上的应用进行归纳总结, 并结合已有成果对粘细菌研究存在的问题提出可能的对策和展望, 为今后粘细菌的深入研究和资源开发利用提供参考。

关键词: 粘细菌; 生物活性产物; 生物合成; 应用

资助项目: 国家重点研发计划(2021YFC2101000); 国家自然科学基金(32071471); 江苏省研究生科研与实践创新计划(SJCX23_1456)

This work was supported by the National Key Research and Development Program of China (2021YFC2101000), the National Natural Science Foundation of China (32071471), and the Postgraduate Research and Practice Innovation Program of Jiangsu Province (SJCX23_1456).

*Corresponding author. E-mail: liangjg@cczu.edu.cn

Received: 2022-10-23; Accepted: 2023-03-18; Published online: 2023-06-14

Research progress in bioactive products of myxobacteria and their applications

ZHAI Chenxin¹, LÜ Ying¹, WANG Shaojie¹, FAN Bo¹, WANG Zejian², WU Jiequn³,
LIANG Jianguang^{*1}

1 School of Pharmacy and School of Biological and Food Engineering, Changzhou University,
Changzhou 213164, Jiangsu, China

2 School of Biotechnology, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China

3 College of Pharmaceutical Science, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014, Zhejiang, China

Abstract: Myxobacteria are a group of medical microorganisms showing complex multicellular behaviors. On one hand, they produce a variety of natural bioactive compounds with novel structures through secondary metabolism. On the other hand, they can secrete diverse functional enzymes. Therefore, myxobacteria are valuable for basic research and applications. However, the research on them has been impeded by the difficulties in resource mining and the low yield of secondary metabolites. This review introduces myxobacteria in terms of the biological characteristics, bioactive products, regulation on biosynthesis and applications in medicine, agriculture and food industry. Based on available results, the problems in the research on myxobacteria and the possible countermeasures are presented. This review is expected to provide reference for the in-depth research and the resource development and utilization of myxobacteria.

Keywords: myxobacteria; bioactive products; biosynthesis; applications

粘细菌 (myxobacteria) 属于变形杆菌门 (*Proteobacteria*) 的 δ 分支, 目前共 3 个亚目, 有 30 个属 66 个正式命名的种^[1]。粘细菌主要生存在土壤中(表 1)^[2], 但是在草食性动物粪便与腐木中也被发现, 研究者们也从水环境中分离到粘细菌^[3]。粘细菌的生活周期有营养细胞和子实体 2 个阶段。粘细菌的营养细胞是单细胞杆状, 其中 I 型为两端尖、细长的杆状细胞, II 型为两端钝圆的圆柱状; 当粘细菌处于饥饿和干旱等不利条件时, 启动多细胞结构的分化过程, 在固体表面逐渐形成子实体, 内部形成有粘孢子^[4]。粘孢子对热、紫外线和干旱等环境具有极强的抗性和折光性^[5], I 型如原囊粘细菌科 (*Archangiaceae*) 和孢囊粘细菌科 (*Cystobacteraceae*) 的粘孢子为球形或杆状, 有

荚膜、折光性和抗逆性的细胞; II 型如多囊粘细菌科 (*Polyangiaceae*) 的粘孢子, 形态上与营养细胞区别小, 而且总是包在孢子囊内^[6]。

与其他细菌相比, 粘细菌能分泌蛋白酶、淀粉酶、纤维素酶、脂肪酶等活性酶, 这些多种多样的胞外水解酶能水解大分子物质, 如蛋白质、核酸、脂肪酸酯和纤维素等, 它们是粘细菌捕食能力及分离纯化技术的物质基础^[1]。Rolf Müller 实验室提出通过检查新属的菌株而不是同一属内的其他代表, 发现新代谢物的机会更大, 认为粘细菌新型次级代谢物与粘细菌进化距离有关, 为后期从特殊粘细菌菌株资源中发掘新的化合物提供了理论基础^[7]。Okoth 等^[8]于 2022 年从 *Vitiosangium cumulatum* MCy10943^T 中发现了新化合物 stigmatellins, 其侧链的修饰

表 1 不同粘细菌在主要生境中的分布

Table 1 Distribution of different myxobacteria in major habitats

生境	普遍	多见	常见	少见
Habitat	General	Most	Common	Rare
土壤	<i>Nannocystis exedens</i>	<i>Sorangium cellulosum</i> , <i>Archangium serpen</i> , and <i>Coralloccoccus coralloides</i>	<i>Polyangium</i> spp., <i>Cystobacter</i> spp., and <i>Melittangium</i> spp.	<i>Myxococcus fulvus</i> , <i>Myxococcus virescens</i> , and <i>Myxococcus stipitatus</i>
草食性动物粪粒	<i>Myxococcus fulvus</i>	<i>Myxococcus virescens</i> , <i>Cystobacter fuscus</i> , <i>Cystobacter errugineus</i> , and <i>Archangium serpen</i>	<i>Nannocystis exedens</i> , <i>Cystobacter</i> <i>violaceus</i> , and <i>Polyangium</i> spp.	<i>Stigmatella erecta</i> , <i>Myxococcus xanthus</i> , and <i>Melittangiu</i> spp.
Herbivore dung pellets	<i>Cystobacter</i> <i>coralloides</i>	<i>Sorangium aurantiaco</i> , <i>Chondromyces apiculatus</i> , <i>Sorangium cellulosum</i> , and <i>Cystobacter coralloides</i>	<i>Myxococcus fulvus</i>	<i>Cystobacter pediculatus</i> and <i>Haploangium</i> spp.
树木或腐木				
Trees or decaying wood				

与该化合物家族已发现的成员不同。基因组测序的最新进展揭示了微生物产生次级代谢物的基因组编码能力与检测到的数量之间存在巨大差异, 通过分析方法和培养条件的多样化扩大微生物天然产物的检测范围能增加发现新次级代谢物的机会, 为后续粘细菌新型次级代谢产物的发现提供了理论基础^[9]。国内山东大学的李越中团队早在 20 世纪就开始分离、鉴定粘细菌, 并对所分离粘细菌的次级代谢产物及其生物学活性进行探索。李越中等^[10]通过向液体发酵培养基中加入添加剂的方式提高了粘细菌中大环内脂类次级代谢产物的产量, 为其产业化提供技术支持。在探索粘细菌新天然产物的过程中, 该团队还发现了一组美沙达唑类化合物, 该类化合物由 *Myxococcus* sp. SDU36 经过培养和发酵获得, 该化合物有望增加其在促进血管生成和抗血栓活性中的应用价值^[11]。近年来其团队中的周海波等^[12]利用异源表达从纤维堆囊菌(*Sorangium cellulosum*)中挖掘到了天然新型产物, 为后续从粘细菌菌株中挖掘活性天然产物奠定了技术基础。

粘细菌作为重要的微生物资源类群, 人们对它的研究不断有新的进展出现, 本文对粘细菌的生物活性产物及其应用进行了综述, 以期

为进一步开发利用粘细菌及其生物活性物质产业化应用提供一定的参考。

1 粘细菌生物学特征

粘细菌可以分为两大类, 第 1 类是溶纤维素类群(cellulolytic group), 目前包括 *Sorangium* 和 *Byssovorax* 两个属, 它们能降解利用纤维素和糖类, 并能以无机氮化合物或有机氮化合物作为唯一氮源生活, 可以降解死细菌但不能捕食活细菌; 第 2 类是溶细菌类群(cacteriolytic group), 研究表明粘细菌可以主动捕食或者以“狼群”形式捕食猎物^[6]。粘细菌能通过一种外膜蛋白即 GluM 来识别菌丝进而附着并裂解以获取营养并繁殖^[13]。在细胞密度较高的情况下, 黄粘球菌分泌水解酶会聚集在一起, 提高细胞外的酶浓度, 产生共享水解产物池, 便于单个细胞吸收以促进生长, 各种细菌在高细胞密度下合作水解大分子验证了群体捕食的假设^[14]。Ye 等^[15]报道了粘细菌在迁移过程中通过捕食作用降低有害菌的数量, 还能调控土壤中存在的有益微生物群落结构。代威等^[16]在 2020 年通过高通量测序技术分析粘细菌捕食引起的微生物群落结构变化, 发现粘细菌捕食能够调控微宇宙中微生物的群落结构。粘细菌的捕食能

力是以其分泌的酶为基础,也被认为是在土壤菌群中维持生态平衡的“狼群”,徐欣等^[1]对粘细菌产生的水解酶种类、性质及其功能进行归纳总结,为今后粘细菌分离培养技术和开发利用等相关研究提供参考。

2 粘细菌次级代谢产物

目前已经从粘细菌中挖掘出了丰富的天然产物,其大多结构新颖且生物活性多样,其中具有新型骨架的次级代谢产物有 500 多种,研究者再对已知的化合物进行取代和衍生,产物数目更是高达 2 000 余种^[17]。粘细菌次级代谢产物有 2 个重要特点,第 1 个特点是种类多,以结构区分可以分为大环内酯类、聚酮类、肽类等;第 2 个特点是其生物学活性多样,有抗菌和细胞毒性等作用^[18]。如表 2 所示,从时间先后顺序综合了已报道的粘细菌主要化合物名称、来源、结构类型以及它们对应的生物活性。

2.1 结构类别

2.1.1 大环内酯类

如表 2 所示,粘细菌产生的大环内酯类化合物主要集中在纤维堆囊菌属,有 soraphens、chivosazols、leupyrins、carolacton、epothilones、maltepolid、sulfangolid 和 archangiumide。Soraphens 是一类十八元大环内酯类化合物,具有未取代苯环支链,它能够被研发成抗病毒

药物来治疗丙型肝炎,其中 soraphen A_{1α} 的分子靶标为来自抗性酿酒酵母的乙酰辅酶 A 羧化酶(acetyl coA carboxylase, ACC), soraphen A_{1α} 在脂肪细胞中抑制脂质积累并且干扰分化的早期阶段^[19]; Chivosazols 是一类新的大环内酯类化合物,能够抑制肌动和微管蛋白聚合,这些化合物之间的差异主要在于甲氧基的数量及双键的位置(图 1),chivosazol A 对真菌有抑制作用,对动物细胞也展现出较强毒性^[20]; Leupyrins 是 Thiede 等^[21]从纤维堆囊菌(*S. cellulosum*) So ce705 和 So ce690 中分离得到的一类大环双内酯类化合物,leupyrin A1 在抗真菌如酵母方面有较强活性,对小鼠纤维原细胞的毒性适中,对 RNA、DNA 和蛋白质的合成有抑制作用,但作用机制尚不明确; Reck 等^[22]发现具有不饱和酮酸侧链的 carolacton (图 1),其能通过丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 PknB 扰乱了链球菌突变体的膜完整性导致细胞分裂。从纤维堆囊菌(*S. cellulosum*)分离得到的大环内酯类化合物还有对不同肿瘤细胞系均有治疗效果的 epothilones; 具有适度的细胞毒性的 maltepolid; 可抗人类免疫缺陷病毒 I 型的 sulfangolid^[18]。另外,archangiumide 是 2021 年从 *Archangium violaceum* SDU8 分离得到的一类十九元大环内酯类化合物,其生物活性还有待进一步研究^[23]。

表 2 粘细菌分离到的重要化合物及其生物活性

Table 2 Some important compounds isolated from myxobacteria and their biological activities

时间 Time	化合物 Compound	结构类型 Structure type	来源菌株 Source strains	生物活性功能 Bioactive functions
1977	Ambruticin	Lactone	<i>Sorangium cellulosum</i>	Anti-fungal; Interferes with osmoregulation via the HOG pathway
1985	Corallopyronin	α-pyrone	<i>Coralloccoccus coralloides</i> CC c12	Antibacterial; Antifilarial; Inhibit of RNA polymerase
1993	Soraphens	Macrolactone	<i>Sorangium cellulosum</i> So ce26	Antimicrobial; Antiviral (HIV/HCV); Inhibitor of acetyl-CoA carboxylase(ACC)

(待续)

(续表 2)

时间 Time	化合物 Compound	结构类型 Structure type	来源菌株 Source strains	生物活性功能 Bioactive functions
1995	Chivosazol	Macrolactone	<i>Sorangium cellulosum</i> So ce12	Anti-fungal; Cytotoxic; Inhibit actin and tubulin polymerization
1995	Epothilones	Macrolactone	<i>Sorangium cellulosum</i>	Cytostatic; Antimitotic; Stabilises microtubules; Antiviral properties (HIV); Promotes axonal regeneration
2003	Leupyrrins	Macrodilactone	<i>Sorangium cellulosum</i> So ce705 and 609	Anti-fungal; Cytotoxic; Inhibits DNA, RNA and protein synthesis
2005	Spirangien	Spiroketal	<i>Sorangium cellulosum</i> So ce90	Anti-fungal; Cytotoxic; Antiviral (HIV); Modulates IL-8 expression
2008	Sorangiadenosine	Nucleoside	<i>Sorangium cellulosum</i> So ceKM0141	Antibacterial; Antimalarial
2010	Carolacton	Macrolactone	<i>Sorangium cellulosum</i> So ce960	Influence on membrane integrity; Cell division; Cell wall synthesis through interfering with PknB signaling
2012	Aetheramide	Depsipeptide	<i>Aetherobacter rufus</i> SBSr003	Antiviral(HIV-1); Cytotoxic; Moderate antifungal activity
2012	Eliamid	Polyketide	<i>Sorangium cellulosum</i> So ce439 and So ce241	Cytotoxic activity; Moderate antifungal activity
2012	Icumazol	Polyketide	<i>Sorangium cellulosum</i> So ce701	Antifungal effect; Inhibition of NADH oxidation
2012	Noricumazol	Polyketide	<i>Sorangium cellulosum</i> So ce701	Inhibitory activity on the potassium channel KscA; Antiviral (EBOV, HCV)
2013	Maltepolid	Macrolactone	<i>Sorangium cellulosum</i> So ce1485	Moderate cytotoxic activity
2013	Microsclerodermin, pedein	Cyclic peptide	<i>Sorangium cellulosum</i> So ce38	Antifungal; Inhibition of NF- κ B and apoptosis induction
2013	Sulfangolid	Macrolactone	<i>Sorangium cellulosum</i>	Antiviral HIV-1
2013	Chondramide	Depsipeptide	<i>Chondromyces</i> sp. MSr9030	Antifungal; Cytotoxic; antimetastatic; Antiviral (Ebola virus, EBOV); antiparasitic; Inhibit actin polymerisation
2014	Cystobactamid	Peptide	<i>Cystobacter</i> sp. Cb v34	Antibacterial
2014	Macyranone	Peptide	<i>Cystobacter fuscus</i> MCy9118	Moderate cytotoxic activity; Antiparasitic; Proteasome inhibitor
2015	Nannocystin	Macrocyclic epoxyamide	<i>Nannocystis</i> sp. ST201196	Strong antifungal and cytotoxic activity
2021	Myxadazoles	Unreported	<i>Myxococcus</i> sp. SDU36	Strong vasculogenesis promotion effect; Moderate antithrombotic activity
2021	Sandarazols	Unreported	<i>Sandaracinus</i> sp. MSr10575	Cytotoxic and anti-bacterial
2021	Archangiumide	Macrolide	<i>Archangium violaceum</i> SDU8	No activity reported
2021	Myxochelins N1-N3	Catechol	<i>Coralloccoccus</i> sp. MCy9049	No activity reported
2022	Myxochelin B-succinate	Catechol	Myxobacterial strain MSr12020	Antibacterial; Moderate cytotoxic activity
2022	Sandacrabins	Terpenoid-alkaloids	<i>Sandaracinus defensii</i> MSr10575	Inhibit the SARS-CoV-2 RNA-dependent RNA polymerase complex
2022	Thiamyxins	Peptide-polyketide	<i>Coralloccoccus</i> sp. MCy9487	Inhibition the RNA-viruses in cell culture models of corona, zika and dengue virus infection

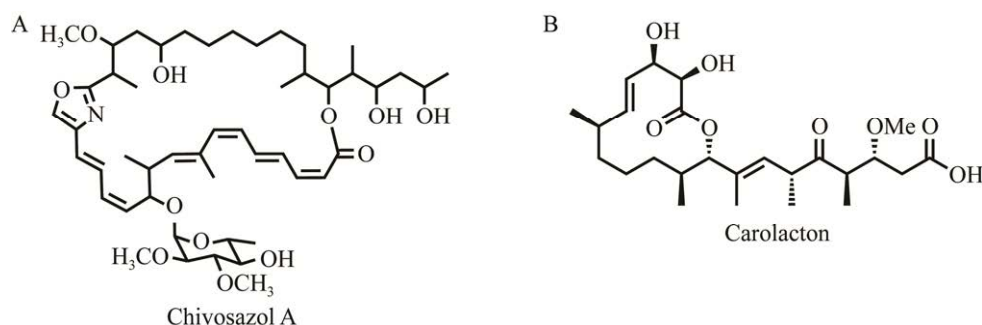


图 1 Chivosazol A (A)和 carolacton (B)的结构

Figure 1 Structures of chivosazol A (A) and carolacton (B).

2.1.2 聚酮类

从粘细菌纤维堆囊菌属中分离到的主要聚酮类化合物有 noricumazol, icumazol 和 eliamid (表 2)。Barbier 等^[24]从纤维堆囊菌(*S. cellulorum*) So ce701 分离到聚酮类化合物 noricumazol 和 icumazol, 其中 noricumazol 对丙型肝炎病毒、埃博拉病毒都存在抑制作用, 而 noricumazol A 具有钾离子通道抑制活性; Icumazol 对各种真菌如冻土毛霉菌(*Mucor hiemalis*)和核盘菌(*Sclerotinia sclerotiorum*)、灰霉菌(*Botrytis cinerea*)和腐霉菌(*Pythium debaryanum*)有抑制作用; Eliamid 是 Höfle 等^[25]在筛选抗真菌天然产品的过程中从纤维堆囊菌(*S. cellulorum*) So ce439 和 So ce241 中分离出来的聚酮类化合物, 对人淋巴瘤细胞 U-937、人表皮癌细胞 A-431、小鼠成纤维细胞 L-929 和人宫颈癌细胞 KB-3.1 都存在抑制作用。

2.1.3 肽类

粘细菌已报道的次级代谢产物中具有细胞毒性的化合物较少, 而 aetheramide、microsclerodermin、macyranone 和 chondramide 等肽类化合物展现了不同程度的细胞抑制活性(表 2)。Aetheramide 是由 Plaza 等^[26]从粘细菌 *Aetherobacter rufus* SBSr003 中分离的有独特聚酮部分和 2 个氨基酸残基的环状去脂肽(图 2), 能有效降低艾滋病病毒 I 型的感染性,

对人类结肠癌 HCT-116 细胞存在抑制作用; microsclerodermin 和 pedein 是 Hoffmann 等^[27]从纤维堆囊菌(*S. cellulorum*) So ce38 发现的环肽类化合物, 研究发现 microsclerodermin A 可以抑制核因子 κ B 蛋白(nuclear factor kappa-B, NF- κ B)的转录从而诱导细胞凋亡; macyranone 是 Keller 等^[28]从粘细菌孢囊杆菌(*Cystobacter fuscus*) MCy9118 分离到的一类多肽类化合物, 对哺乳动物细胞系如人结肠癌细胞 HCT-116、人白血病细胞 HL-60 和大鼠成肌细胞 L-6 的细胞毒性异常低, 对布氏罗得西亚锥虫(*Trypanosoma brucei rhodesiense*)和杜氏利什曼原虫(*Leishmania donovani*)的 IC_{50} 值分别为 1.6 mmol/L 和 0.2 mmol/L; chondramide 是 Herrmann 等^[29]从 *Chondromyces* sp. 中分离出来的环肽化合物, 可以稳定肌动蛋白丝, 从而发挥对细胞和真菌的抑制作用。

2.1.4 其他

另外, 如表 2 所示, 粘细菌次级代谢产物除了大环内酯、聚酮和肽类, 还存在的其他结构类型如下。Corallopyronin 是从珊瑚状珊瑚球菌(*Corallococcus coralloides*) CC c12 分离到的 5-羟基-2,4-戊二烯酸的内酯化合物, 具有抗菌以及抑制 RNA 聚合酶的生物活性^[17]。Spirangien A 和 B 是从纤维堆囊菌(*S. cellulorum*) So ce90 分离出来的螺酮缩醇化合物(图 3), spirangien A

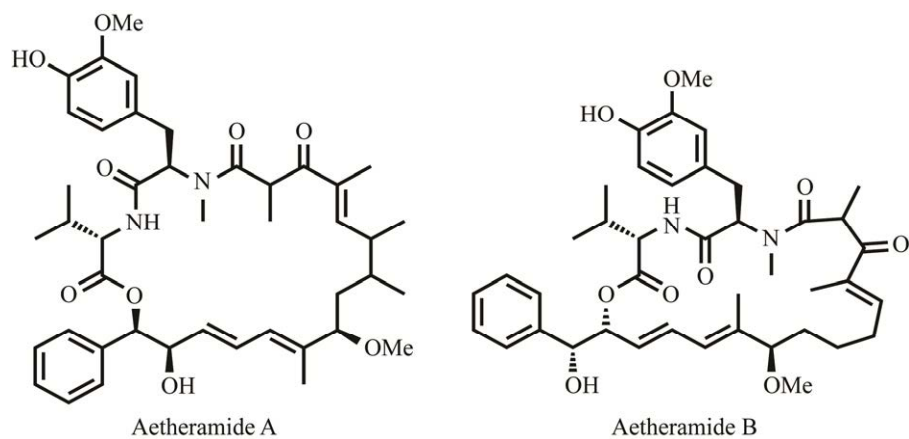


图 2 Aetheramides 的结构

Figure 2 Structures of aetheramides.

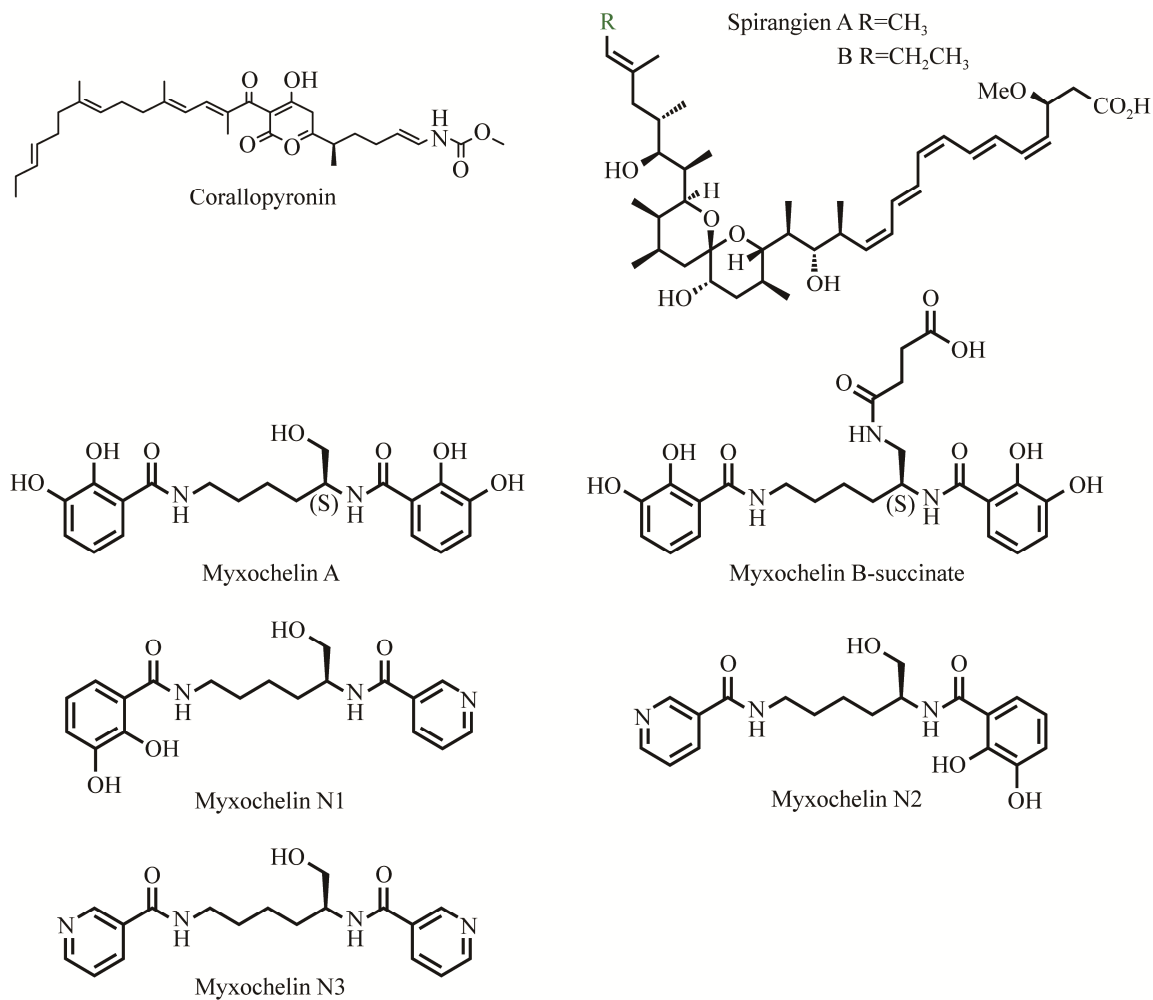


图 3 Corallapyronin、spirangien 和 myxochelin A、B-succinate、N1、N2、N3 的结构

Figure 3 Structures of corallapyronins, spirangien and myxochelin A, B-succinate, N1, N2 and N3.

在抗真菌方面有较强活性, 对小鼠 L-929 纤维母细胞具有优异的细胞毒性^[30]。Myxochelin A 早在 1989 年就被发现, 但 2021 年 Frank 等^[31]发现了来自珊瑚球菌(*Corallococcus* sp.) MCy9049 的具有特殊烟酸基团的化合物 myxochelins N1、N2 和 N3 (图 3), 然后他们利用烟酸和烟酰胺作为底物进行了前体定向生物合成(precursor directed biosynthesis, PDB)来探索新发现的 myxochelins 的生物合成来源, 以获得更高的产量。另外, 该实验室的 Okoth 等^[32]于 2022 年从陆生粘菌 MSr12020 菌株中分离、鉴定结构和生物合成了新同系物 myxochelin B-succinate (图 3), 其特点是在伯胺基上有琥珀酸修饰, 还对选定的人类癌细胞株表现出抗菌生长抑制和中度细胞毒活性, 这种独特的化学修饰可为其生物学功能和生物合成研究提供有益的帮助。Wang 等^[33]发现了来自陆生粘菌 *Archangium* sp. SDU34 的两种新化合物 myxochelin N 和 myxochelin O, 还用系统基因组学的方法探索了所有可用粘菌基因组中 myxochelin 生物合成基因簇(biosynthetic gene cluster, BGC)的进化关系, 为未来发现潜在的 myxochelin 衍生物提供了研究基础。

2.2 生物学活性

2.2.1 抗细菌次级代谢产物

粘细菌次级代谢产物能够抗革兰氏阳性细菌

活性的较多, 但是能够抗革兰氏阴性细菌活性或同时抗两种细菌的活性的较少。Cystobactamids 是从粘细菌胞囊杆菌(*Cystobacter* sp.) Cb v34 分离的一个新的抗生素化合物, 生物活性研究显示, 化合物 cystobactamid B 对各种病原体如鲍曼不动杆菌、肠球菌等显示出强大的活性^[34-35]。Okoth 等^[36]发现 2-hydroxysorangiadenosine 结构中存在氧原子(图 4), 这大大增加了倍半萜核苷支架的极性并限制了 2-hydroxysorangiadenosine 的细胞膜穿透能力; 研究表明 2-hydroxysorangiadenosine 和 sorangiadenosine 的抗菌范围相似, 它们对普通变形杆菌(*Proteus vulgaris*) ATCC 3851 和鼠伤寒沙门菌(*Salmonella typhimurium*) ATCC 14028 具有中等活性。2021 年 Panter 等^[37]发现了结构独特的 sandarazol A-G, 该化合物含有反应性很强的官能团如 α -氯化酮、环化酮和一个(2R)-2-氨基-3-(N,N-二甲氨基)-丙酸构建块(图 4), 研究发现这类化合物的生物活性主要来源于氯化反应, 氯化的同系物 sandarazol C 与其他化合物相比显示了最好的抗菌活性, 它对耻垢分枝杆菌(*Mycobacterium smegmatis*) 的最低抑菌浓度达到 14 $\mu\text{mol/L}$ 。

2.2.2 抗真菌次级代谢产物

大多粘细菌次级代谢产物都存在抗真菌活性, 而 ambruticin 和 pedein 等化合物对真菌有

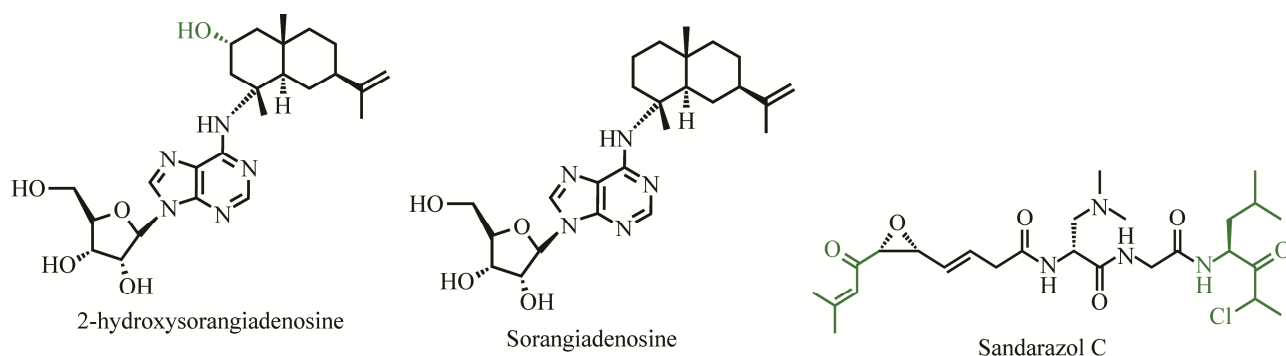


图 4 2-hydroxysorangiadenosine、sorangiadenosine 和 sandarazol C 的结构

Figure 4 Structures of 2-hydroxysorangiadenosine, sorangiadenosine and sandarazol C.

很强的抑制作用。Ambruticin 是从 *Polyangium cellulorum* var. *firlvum* 中分离出来的比较典型的抗真菌生物活性产物, 是一种环丙基-多烯-吡喃酸(图 5); ambruticin 对医学病原体如寄生虫、帽状组织胞浆和肺炎杆菌以及肺炎丝状真菌都具有高度的活性^[30]。Vetcher 等^[38]阐明了 ambruticin 通过一种第 3 组组氨酸激酶(Hik1)介导高渗透甘油信号途径(high-osmolarity glycerol, HOG)来发挥抗真菌作用。Pedein A 和 B 是从纤维堆囊菌(*S. cellulorum*) So ce38 中分离的二十四元环状六肽化合物, 由 1 个可变的色氨酸残基、甘氨酸、肌氨酸和 3 个特殊的 β -羟基和 γ -氨基酸组成(图 5); Pedein A 能诱导红细胞溶血并使粘红酵母的膜渗透性发生变化, 还能强烈抑制酵母和丝状真菌的生长^[39]。

2.2.3 抗肿瘤次级代谢产物

粘细菌能够产生多种抗肿瘤活性极高的化合物, 而且抑瘤谱较广, 作为筛选抗癌新药先导化合物的重要来源被众多学者持续关注, epothilones、nannocystin A 和 nannocystin Ax 等几种粘细菌抗癌活性药物的研究较为深入。

目前的抗癌药中, 埃博霉素因化学结构简单、易于进行化学合成和修饰^[40]等特征, 引起众多学者对埃博霉素开展了多角度的研究。国

外对埃博霉素衍生物的合成与生物学性质的研究已经十分深入, 埃博霉素的异源表达也已获得成功^[41], 但埃博霉素的研究还是不够全面, 仍需要完善^[42-44]。目前较多学者开始从分子生物学和细胞生物学方面研究埃博霉素, 希望通过分子生物学技术对菌株进行有目的的改造, 以获得特异的活性物质^[45-46]。我国较早就开始研究埃博霉素菌株的筛选、合成和发酵生产, 通过开发相关药物制剂使埃博霉素在癌症治疗方面发挥作用^[32-33]。埃博霉素是一类十六元大环内酯类聚酮化合物(图 6), 在细胞有丝分裂过程中与 β -管蛋白结合, 导致细胞凋亡或程序性死亡, 是微管稳定剂的强效诱导剂^[47-48]。Epothilones 已被公认是针对不同肿瘤细胞系的化疗药物, 包括那些受紫杉烷影响的肿瘤细胞系, 对前列腺癌、乳腺癌和肺癌等细胞系在临床前和临床试验中均显示出可控制的毒性特征, 展现出良好的治疗效果^[49], 对肝癌高危人群患者的代谢反应高^[50]。该化合物家族中最突出的成员是 epothilone B, 其衍生物伊沙匹隆已被批准可用于乳腺癌的治疗^[51], 其余衍生物如 MS-310705 和沙戈匹隆也已经进入临床研究。Gao 等^[52]用化学方法对 epothilone B 进行了半乳糖基化, 细胞毒性较游离的更大, 为埃

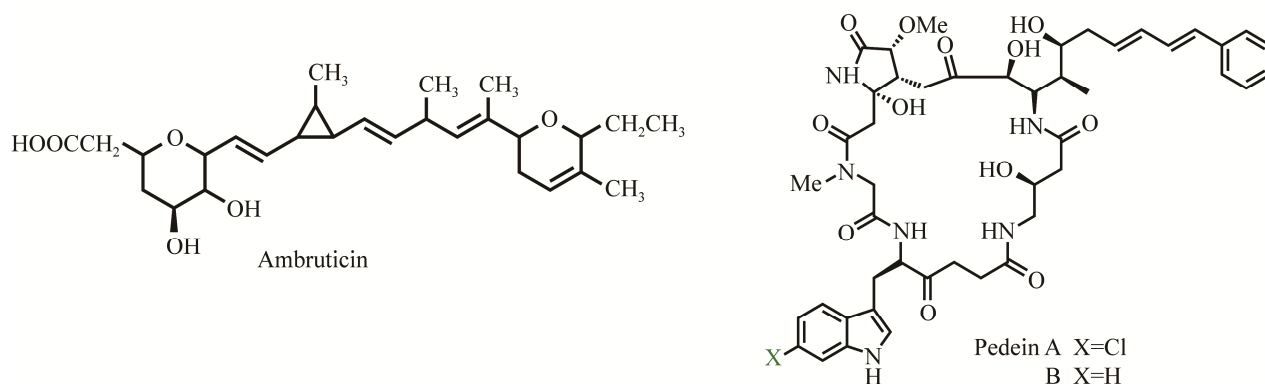


图 5 Ambruticin 和 pedein A、B 的结构

Figure 5 Structures of ambruticin, pedein A and B.

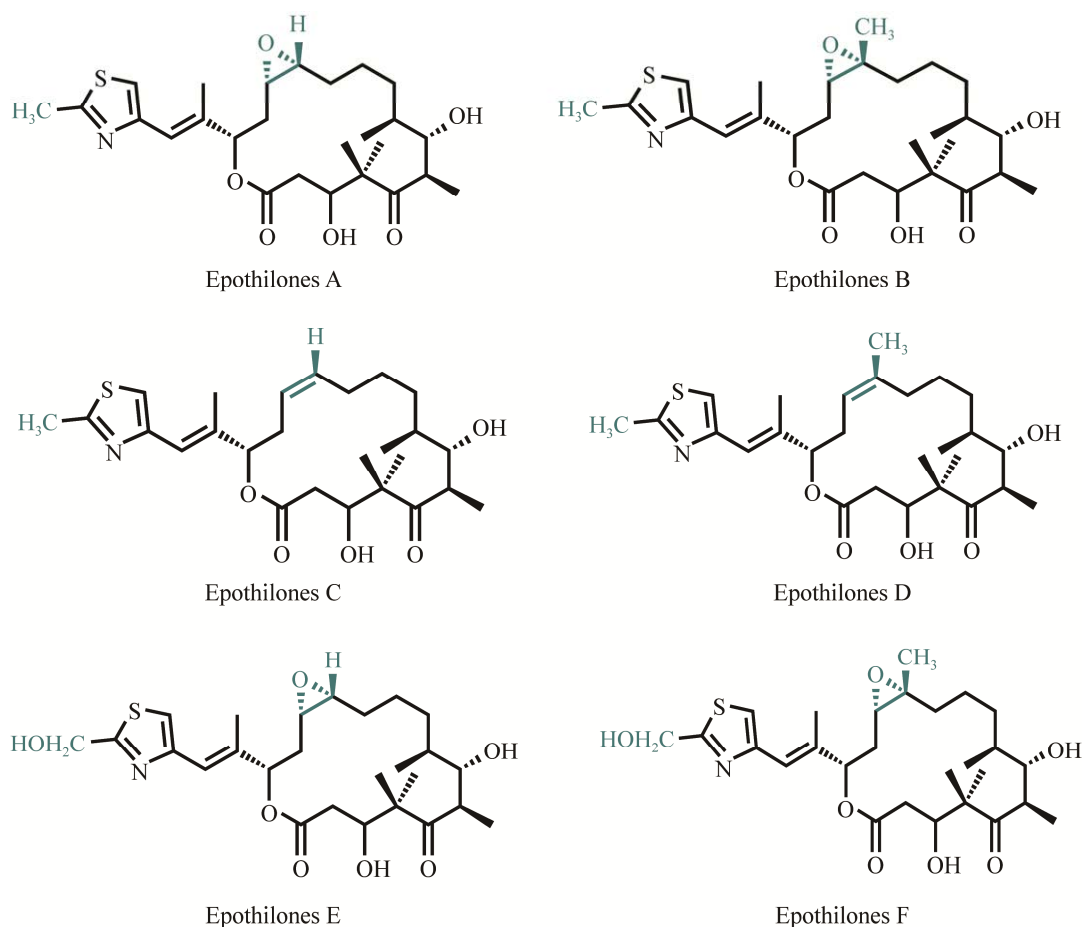


图 6 Epothilones 的结构

Figure 6 Structure of epothilones.

博霉素糖苷靶向治疗癌症奠定了基础。目前还发现埃博霉素及相关衍生物在神经学方面存在研究价值^[53-54]。

真核延伸因子 1A (eukaryotic elongation factor 1A, eEF1A)可调节核糖体蛋白合成并参与细胞骨架组织等生理活动,抑制 eEF1A 可以有效阻断 mRNA 翻译过程,从而实现抑制肿瘤细胞生长甚至杀死肿瘤细胞的目的,因此 eEF1A 被认为是具有重要潜力的抗癌治疗的靶点之一^[55]。2015 年 Hoffmann 等^[56]发现的 nannocystin A, 由一个三肽和一个带有环氧酰胺基的聚酮体组成(图 7),能显著抑制 eEF1A,

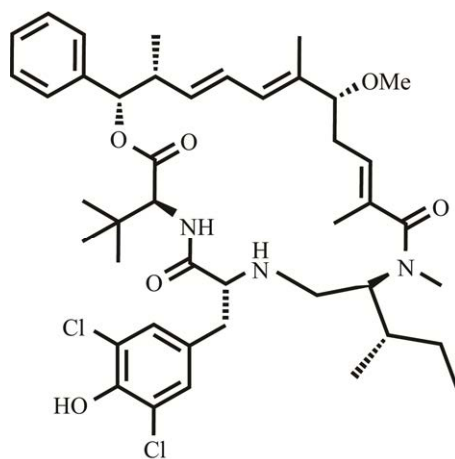


图 7 Nannocystin A 的结构

Figure 7 Structure of nannocystin A.

在低纳摩尔浓度下通过早期诱导细胞凋亡从而抑制细胞增殖。2019 年 Liu 等^[55]合成了一系列 nannocystin A 类似物, 根据 MTT 法分析和蛋白质免疫印迹分析建立了它们的结构和活性的关系, 以此关系为基础识别到结构简化的 nannocystin A 类似物 LQ18; 研究发现, LQ18 对测试细胞都表现出强大的抗增殖活性, 并抑制人肺癌细胞 A549 细胞系中 eEF1A 的表达, 在 G2 阶段抑制了细胞周期, 并通过以剂量依赖性的方式上调 caspase-3、caspase-9 和 bax 蛋白表达来诱导 A549 细胞凋亡, 同时显著降低了 B 淋巴细胞瘤-2 基因的表达。总而言之, LQ18 具有开发用于癌症治疗的结构性新型 eEF1A 抑制剂的潜力^[55]。Nannocystin Ax 是最初从 *Nannocystis* sp. 中分离出来的一种 21 元酯肽, Hou 等^[57]发现 Nannocystin Ax 对 eEF1A 也存在抑制作用, 其能够在结直肠癌细胞中通过下调周期蛋白 D1 来诱导 G1 细胞周期停止, 并促进了结直肠癌细胞中 caspase 非依赖性凋亡。2021 年 Sun 等^[58]探索了 nannocystin Ax 对 TGF-131 诱导的肺癌细胞 EMT 的影响, 他们采用蛋白质免疫印记和免疫荧光法检测蛋白质的表达和定位, 用黏附试验和伤口愈合试验评估了黏附和迁移情况, 通过实时 PCR 测定 TGF-13 受体 I 型的 mRNA 表达, 发现其能抑制 TGF-131 诱导的人肺癌细胞的上皮-间质转化、迁移和黏附, 揭示了 NAN 新的抗癌作用和机制。

3 粘细菌生物合成调控研究

目前, 几乎所有粘细菌的 PKS/NRPS 装配线都以 1995 年大环内酯类抗生素 soraphen A 的生物合成经典模块结构为基础^[59]。

聚酮类化合物合成酶(polyketide synthases,

PKS)是多功能蛋白质, 它包含重复的、协调的活性位点组, 这些活性位点组被称为模块, 其中每个模块负责催化一个完整的聚酮或多肽链延伸周期和相关功能基团的修饰, 如红霉素合成酶(6-deoxyerythronide b synthase, DEBS)的 PKS 有 7 个这样的 ACP 位点(图 8), 1 个用于聚酮链构建的起始阶段, 6 个用于伸长阶段^[60]。如图 8 所示, 常见的结构域有酰基转移酶(acyltransferase, AT)、酰基载体蛋白(acyl carrier protein, ACP)、酮基合成酶(ketosynthase, KS)、脱水酶(dehydratase, DH)、烯酰基还原酶(enoylreductase, ER)和 β -酮基还原酶(ketoreductase, KR)^[61]。在 PKS 中, 末端通常包含具有卸载活性的硫酯酶(thioesterase, TE), 负责将聚酮长链从 PKS 上水解下来, 并在其他酶域的协助下环化为大环内酯环, 对聚酮的生物合成非常重要^[62]。

非核糖体肽合成酶(non-ribosomal peptide synthetase, NRPS)是一种多模块巨型酶, 结构新颖独特且功能丰富多样, 能够对底物氨基酸进行特异选择并按一定的顺序合成多种具有各种活性的非核糖体肽^[63]。如图 8 所示, 每个 NRPS 模块通常包括 3 个必需的结构域, 即 1 个腺苷酰化(adenylation, A)结构域、1 个肽基载体蛋白(peptidyl carrier protein, PCP)结构域和 1 个缩合(condensation, C)结构域, 将特定的氨基酸缩合到新形成的肽链上。此外, 还存在能够增加产物结构多样性存在的修饰域^[61]。

Epothilone 生物合成基因簇已被分离、测序, 并发现其编码 6 个多功能蛋白, 这些蛋白由 9 个聚酮体(PKS)合成酶和 1 个非核糖体肽(NRPS)合成酶模块组成^[40]。Epothilones 的装配线涉及一个单独的酰胺键形成步骤, 随后是一系列的 8 个链伸长、碳-碳键形成步骤, 链终止发生在 epothilone F 区域, 在酶的催化下

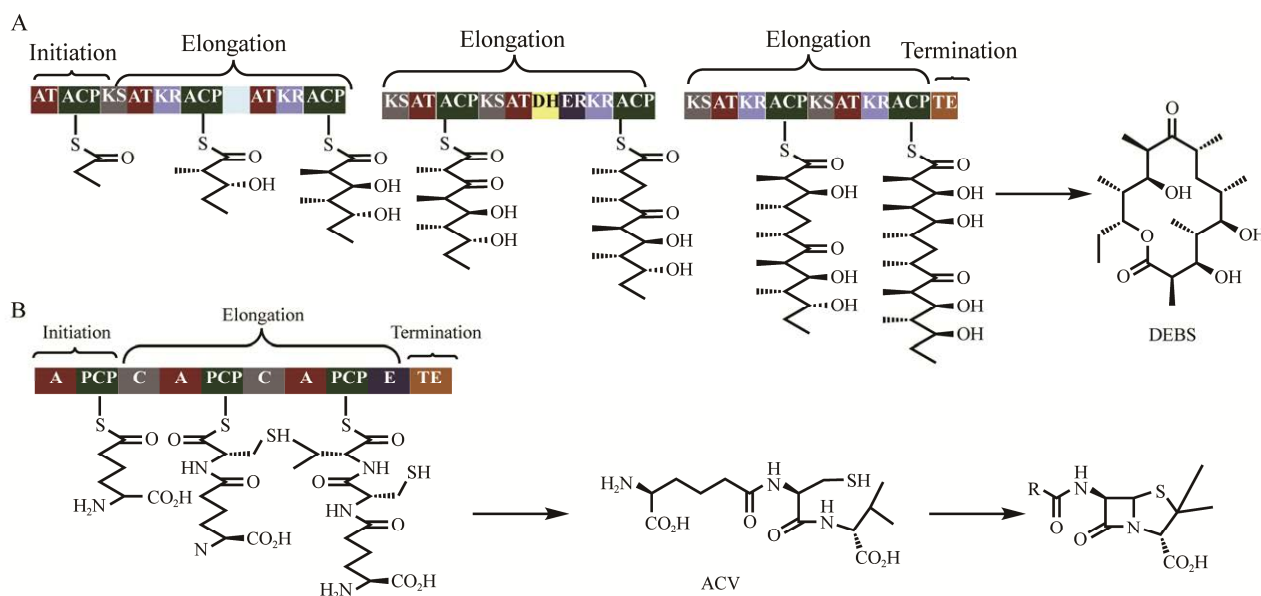


图 8 聚酮合酶和非核糖体肽合成酶复合体的模块结构和加工过程^[60] A: 红霉素前体 DEBS 生物合成的 PKS. B: 青霉素和头孢菌素前体 ACV 生物合成的 NRPS

Figure 8 Examples of modular structures and biosynthetic processes^[60]. A: Polyketide synthases DEBS. B: Non-ribosomal peptide synthetases ACV.

发生环状释放, 得到完整的十六元大内酯^[55]。Epothilone A 是聚酮化合物合成酶的装载模块, epothilone B 是酰胺键形成模块, 它们负责链合成的起始和甲基噻唑环的形成, 然后甲基噻唑基通过 NRPS/PKS 界面转移到 epothilone C 的 KS 结构域, 其余的 PKS 模块如 epothilone D-F 则通过添加丙二酰或甲基丙二酰单元来延长链, 完成聚酮的合成, 一旦链序列完成, 由 epothilone F 模块的硫酯酶促进环释放, 生成十六元大环内酯类化合物, 即 epothilone C 或 D, 用细胞色素 P450 氧化酶进行环氧化反应可分别由 epothilone C 或 D 生成 epothilone A 或 B^[44,64]。Li 等^[65]在 2021 年发现了黏菌唑 (myxadazoles), 推测该化学骨架由“碳-氮”交叉耦合形式构建而成, 他们通过基因组测序、基因插入突变、同位素标签和前体喂养的试验, 推测黏菌唑是由两条途径的融合产生, 第 1 条途径为指导脂肪酸生物合成的非经典 PKS/NRPS

混合基因簇所编码, 参与的酶有脂肪酸连接酶 (fatty acid ligase, FAL)、脱水酶 (dehydratase, DH)、酰基载体蛋白 (acyl carrier protein, ACP)、酮合成酶 (ketosynthase, KS)、酰基转移酶 (acyltransferase, AT)、氨基转移酶 (aminotransferase, AmT)、凝结酶 (condensation, C)、酮还原酶 (ketoreductase, KR)、烯酰还原酶 (enoylreductase, ER)、氧化酶 (oxidase, Ox) 和硫酯酶 (thioesterase, TE), mdzI 蛋白中最后一个推定的 TE 结构域可能是无活性的; 第 2 条途径是从维生素 B12 代谢途径产生 N-核糖醇基-5,6-二甲基苯并咪唑, ribG 基因编码催化核糖基还原转化为核糖基的酶^[65]。Okoth 等^[36]发现了 2-hydroxysorangiadenosine 并阐明了其与 sorangiadenosine 的细胞毒性, 同时提出了一种生物合成路线。如图 9 所示, 两者都由法尼基转移酶产生法尼基焦磷酸 (farnesyl pyrophosphate, FFP), 萜烯环化酶将产生的 FFP 转化为桉树型倍半萜, 桉树二烯转移酶将腺苷

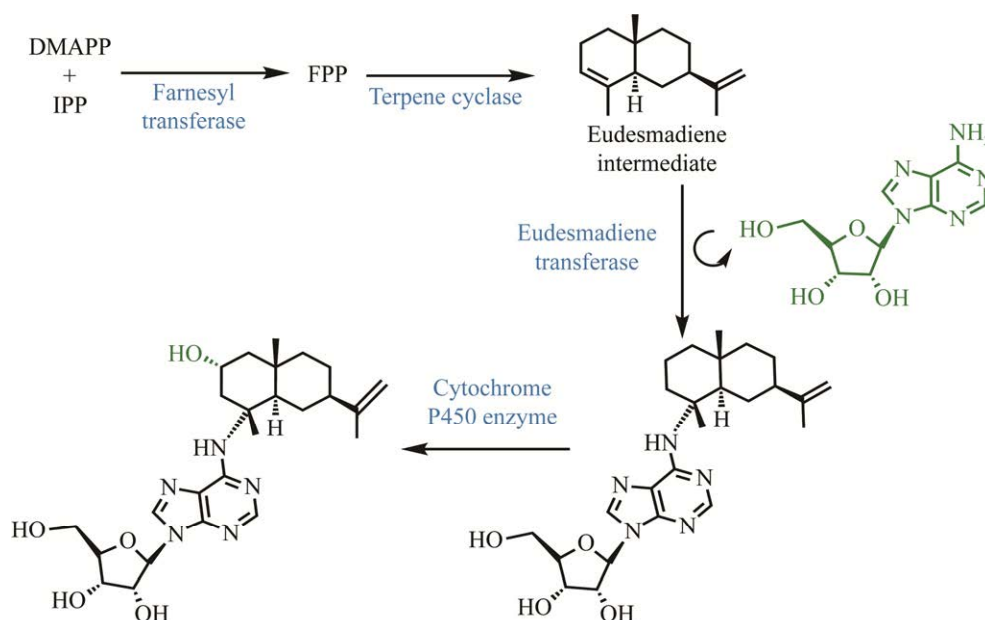


图 9 基于逆转录生物合成考虑提出的 1 和 2 的生物合成路线^[36]

Figure 9 Proposed biosynthesis route to 1 and 2 based on retrobiosynthesis considerations^[36].

结构块转移到桉树型倍半萜上; 转移腺苷的机制存在于大多数微生物中, 可能通过氢胺化(将氨或伯胺和仲胺直接添加到未活化的烯烃和炔烃中)或烷基化来实现, 2-hydroxysorangiadenosine 的结构由 sorangiadenosine 的羟基化所导致; 由于大多数细菌萜类生物合成途径都涉及通过细胞色素 P450 酶羟基化的“裁剪”步骤, 所以认为 2-hydroxysorangiadenosine 的生物合成中的最后一个“裁剪”步骤可能通过细胞色素 P450 酶催化来实现^[36,66]。

4 粘细菌生物活性产物应用前景

随着大量粘细菌生物活性产物被发现和研究, 其产生的次级代谢产物及分泌的酶类在医疗、农业和食品等方面被广泛应用, 并且取得了突破性进展。

4.1 医疗方面

纤维堆囊菌的子实体提取物为无毒物质, 未显示有遗传毒性作用, 所以可将其用作制备

药物的主要原料, 以充分发挥其降血糖、抗肿瘤和提高免疫力的作用, 因此其被称为目前可用于抗真核生物类药物研发的最具潜力微生物类群。纤维堆囊菌产生的化合物埃博霉素及其衍生物是高效抗癌药的候选者。埃博霉素 D 能够对创伤性神经病变起保护作用^[53], 具有研制成治疗神经学病症药物的潜力。埃博霉素 B 已在美国通过Ⅲ期临床试验, 英国、西班牙和希腊正在进行用于卵巢癌治疗的Ⅲ期临床试验。埃博霉素 B 的衍生物伊沙匹隆(ixabepilone)已被美国食品药品监督管理局批准作为单一疗法或与卡培他滨联合治疗局部晚期或转移性乳腺癌^[52]。尽管伊沙匹隆在治疗乳腺癌时有很好的疗效, 但文献报道, 它可能引起神经毒性不良反应, 因此后续的药物研发中解决这个问题成为重中之重, 在人肿瘤细胞系中, 通过甲基噻唑侧链 C21 上的氨基取代羟基生成的第 2 种半合成衍生物 BMS-310705 是一种微管蛋白聚合剂, 其水溶性比埃博霉素 B 高 10 倍, 比埃博

霉素 D 具有更强的细胞毒性, 而且研究显示其体内活性报告的剂量低于最大耐受剂量(maximum tolerated dose, MTD), 因此在医院开设治疗窗口在未来是可以实现的^[67]。BMS-310705 的毒性特征与伊沙匹隆相当, 而改进后的溶解度允许采用不含聚乙烯蓖麻油的配方, 从而可以避免预用药^[68]。沙戈匹隆是第 1 个完全合成的第 3 代埃博霉素 B 衍生物。这种药剂在体外相对于其他埃博霉素能够表现出更大的效力, 即使在耐多药癌细胞中也保持活性, 与紫杉醇不同, 沙戈匹隆已被证明可以穿过血脑屏障, 表明有可能渗透到中枢神经系统^[69]。沙戈匹隆在胶质母细胞瘤和中枢神经系统转移的原位模型中表现出显著的抗肿瘤活性, 表明该药品在脑肿瘤的上存在进一步的研究价值, 目前沙戈匹隆正在 II 期临床试验计划中进行调查, 包括胶质母细胞瘤、非小细胞肺癌、乳腺癌和黑色素瘤患者^[70]。

粘细菌的次级代谢产物在新药研发上的研究颇受关注。半胱氨酸蛋白酶 falcipain-2 的抑制剂是一种重要的抗疟药物靶点。Somanadhan 等^[71]从粘细菌(*Chitinophaga* sp.) Y23 中分离出的 MeOH 提取物被鉴定为一种新的酰四肽 falcitidin, 其对 falcipain-2 的 IC_{50} 值为 6 $\mu\text{mol/L}$; 虽然 falcitidin 存在产量不稳定以及产量低的问题, 但是它依然有成为新抗疟药物的潜力。脯氨酸内肽酶家族(prolyl endopeptidase, PEP)被广泛研究用来口服治疗乳糜泻^[72]。Gass 等^[73]发现的 Mx PEP 是黄色粘球菌(*Myxococcus xanthus*)分泌的一种脯氨酰内肽酶, 含有这种酶的药理剂量的原型肠衣胶囊已被成功开发。因此粘球菌属来源的蛋白酶具有成为治疗乳糜泻患者的有效药剂的潜力。严重急性呼吸系统综合征冠状病毒 2 型(severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2)是引起新

型冠状病毒感染(corona virus disease 2019, COVID-19)的主要病原体。Bader 等^[74]发现了来自粘细菌 *Sandaracinus defensii* MSr10575 的新的萜类生物碱 sandacrabins, 其中 sandacrabin B 和 sandacrabin C 对人类致病性冠状病毒 HCoV229E 的抗病毒活性均在 3 位数纳摩尔范围内; sandacrabins 能抑制 SARS-CoV-2 RNA 依赖的 RNA 聚合酶复合体, 是结构独特的非核苷 RNA 合成抑制剂, 为选择性抑制剂的药物化学优化提供了一个良好的起点。Haack 等^[75]研究者在寻找新型粘细菌天然产物的过程中发现了 thiamyxins, 它是富含噻唑和噻唑啉的非核糖体肽-聚酮类化合物, 具有强大的抗病毒活性; 在冠状病毒、寨卡病毒和登革热病毒感染的细胞培养模型中, thiamyxins 对 RNA 病毒的效力可达到 560 nmol/L, 具有进一步开发成药物的潜力。Panter 等^[76]于 2022 年从粘细菌(*Cystobacterineae*)中分离到新的化合物 myxoquinones, 研究结果显示, 由于其水溶性的增加, myxoquinones 具有开发成治疗维生素 K 缺乏症的生物可利用性药物的潜力。众所周知, 细菌病原体对抗生素的耐药性被世界卫生组织宣布为一项重大的全球健康威胁, 因此新型抗菌药物的研发需求十分迫切。Koller 等^[77]发现已知化合物 myxovalargin 对结核分枝杆菌具有极强的抑制作用, 具有开发成为新型抗菌剂的潜力。Corramycin 是 Couturier 等^[78]从珊瑚球菌中分离出来的新型天然产物, 对大肠杆菌(*E. coli*)存在抑制活性; 在大肠杆菌小鼠感染模型中, 静脉注射 30 mg/kg 的 corramycin 可使 60% 的动物存活且无毒副作用, 因此 corramycin 可以被开发成一种有效的抗菌药物来对抗医院获得性感染。

4.2 农业方面

真菌病害防治在农业方面是一大发展方

向。Kim 等^[79]发现粘菌 KYC 1126 的活性物质完全抑制了灰葡萄球菌、炭疽杆菌和稻瘟病菌的孢子萌发和其菌丝生长。Dahm 等^[80]发现从土壤中分离出来的菌株特别是 *Myxococcus* 和 *Corallococcus* 对真菌如水稻纹枯病菌(*Rhizoctonia solani*)有较强的拮抗作用, 田间试验表明粘细菌抑制了水稻纹枯病菌对松树苗的所有致病侵害。Li 等^[81]发现分离到的珊瑚球菌属(*Corallococcus*)菌株具有良好的抗真菌活性, 在平板试验和盆栽试验中, 他们观察到了其对尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)具有高效的生物控制活性, 显著降低了镰刀菌枯萎病的发病率, 减轻了其病害严重程度。因此 *Corallococcus* 菌株在控制植物病原性真菌方面有应用的潜力。Li 等^[82]发现了一株粘球菌 *Myxococcus* BS, 其可以通过胞外囊泡的捕食-食饵相互作用有效降低马蹄莲软腐病的发病率和病害指数, 提高植株的生长水平和后代块茎数量; 由于该菌株具有多种有益特性, 有可能被开发成一种植物生长促进剂和生物控制剂。基于粘细菌潜在的生防效果, 研究者进一步开展了田间试验。在连续两年的田间和温室试验中, 粘细菌中的纤维堆囊菌(*S. cellulosum*) KYC 1126 对辣椒炭疽病发病率的抑制效果明显^[79]; 纤维堆囊菌(*S. cellulosum*) KYC 3262 在田间连续 3 年应用于控制辣椒炭疽病, 其能够有效抑制炭疽菌的孢子萌发和菌丝生长, 还能提高辣椒的总产量, 但是其防控效果与田间未喷洒药剂辣椒的疾病发生率成正比^[83]; 粘细菌珊瑚球菌(*Corallococcus* sp.)菌株能够显著降低黄瓜镰刀菌枯萎病的发病率, 具有较好的生物防治效果^[15]。因此, 粘细菌许多次级代谢产物具有被开发成抗生素类农用杀菌剂的潜力^[84]。

我国是个农业大国, 每年有许多纤维素类物质如稻草、秸秆等以农业废弃物的形式被闭

置。秸秆用途广泛, 但目前仍未被充分地有效利用, 对可再生资源造成严重浪费^[85]。因此, 实现农作物秸秆这类纤维素类物质的科学开发利用对于增加土壤营养成分、促进农作物生长、实现农业可持续发展具有重大意义。纤维堆囊菌产生的纤维素酶不仅能够有效地降解滤纸, 还能快速完全地降解纤维素^[86-87], 所以粘细菌分泌的纤维素酶可能在纤维素类农业废弃物的资源开发利用中具有重要的应用价值。

4.3 食品方面

淀粉酶是一种重要的工业酶, 特别是在制糖、发酵等食品工业中。自 1995 年首次从珊瑚状粘球菌(*Myxococcus coraloides*) D 中分离纯化及鉴定 α -淀粉酶, 研究者逐渐展开对粘细菌来源的淀粉酶的研究^[88]。AmyC 是从珊瑚球菌 EGB 中克隆的一个新的淀粉酶, 并在大肠杆菌中被表达, 是一种具有独特特性的新型内源性多功能淀粉酶^[89]。AmyM 是一种可以形成麦芽六糖的 α -淀粉酶, 对高浓度的盐、洗涤剂和各种有机溶剂都具有高度的耐受性, 还能提高谷物抗氧化性能, 这些特征表明 AmyM 在工业应用中具有很大的潜力^[90-91]。IsoM 是典型的异淀粉酶, 与 AmyM 联合使用能显著提高麦芽六糖产量, 具有成为淀粉高效转化候选者的潜力^[92]。由于市场对天然凝固剂需求的不断增加, 人们开始寻找具有凝固特性的新型蛋白酶, 黄粘球菌分泌的酸性内蛋白酶可以在酸性条件下裂解 κ -酪蛋白中的 Phe-Met 键, 从而破坏酪蛋白胶束使牛奶凝结, 可以广泛应用于酸奶和奶酪的制作^[93]。另外, 全球奶酪消费的增加对牛奶凝乳酶的需求不断增加, 相较于动物凝乳酶, 微生物凝乳酶容易获得且具有分离纯化操作简便及产量高等优点^[94]。Poza 等^[95]发现 *Myxococcus xanthus* strain 422 分泌的活性凝乳酶能够显著提高牛奶凝结能力, 有作为奶酪生

产凝乳酶来源的潜力。总而言之,粘细菌在食品上具有较好的应用价值,既可以改善食品口感、简化工艺,还能提高生产效率,满足生产的不同需求。

5 结论与展望

粘细菌是存在于大自然中的捕食性微生物类群,具有复杂的生活史,能够产生丰富多样且结构新颖的生物活性产物。粘细菌次级代谢产物大多都具有抗真菌、细菌、紫外及细胞毒性等多种作用,另外还具有特殊生物活性的化合物,如能抑制 RNA 聚合酶的 *corallopyronin*、抑制钾通道活性的 *noricumazol* 和显示出良好的促血管生成和抗血栓的效能的 *myxadazoles* 等。粘细菌在医疗、农业和食品等领域的应用广泛。在医疗上,粘细菌的次级代谢产物不但具有细胞毒性,而且对多种真菌和细菌都表现出较好的抗性;此外,具有特殊生物活性的化合物也为研发相关药物提供了新的来源。粘细菌的生物活性产物在农业方面能用于真菌病害的防治,在田间也表现出良好的防控效果。纤维堆囊菌产生的纤维素酶还具有开发利用农业废弃物资源以改善土壤环境的潜力。另外,粘细菌产生的水解酶在食品应用上发挥巨大作用,不但可以改善食品口感,简化工艺,还能作为淀粉酶和凝乳酶等工业酶提供新的来源。正因如此,人们对粘细菌次级代谢产物的研究日益重视,但目前仍然存在许多难题,如粘细菌菌株的分离纯化十分困难^[96]、次级代谢产物得率低等。熟悉掌握粘细菌的分类学特性有助于发现新的天然产物。基因组测序的最新进展揭示了微生物产生次级代谢物的基因组编码能力与检测到的数量之间存在巨大差异,挖掘新技术以扩大粘细菌天然产物的检测范围是有必要的。

本团队自开展粘细菌方面的研究以来,参考了本团队先前其他同类结构化合物的研究,如大环内酯类化合物多拉菌素、阿维菌素的研究成果,这为粘细菌的生物活性产物的发酵工艺优化以及产业化应用等方面提供了一定的理论基础。具体包括以下两个方面:(1) 通过发酵工艺条件的优化以提高次级代谢产物的得率。梁剑光等^[97]采用常压室温等离子体(atmospheric room temperature plasma, ARTP)诱变技术选育了多拉菌素高产菌,该高产菌使得多拉菌素产量提高了 36.34%,在此基础上对其培养基进行优化设计以提高多拉菌素的生物发酵水平^[98],提高了其工业化应用价值。本团队采用推理选育方法选育出高产阿维菌素生产菌株,获得的高产突变菌株的效价与出发菌株相比提高了 23.4%^[99]。国内较早(2011 年)在中试规模(2 m³)发酵罐通过调节细胞生长阶段氧摄取速率(oxygen uptake rate, OUR)进行了阿维菌素 B_{1a} 的分批发酵放大研究^[100]。将常压室温等离子体(ARTP)、紫外和亚硝基弧等诱变技术与添加前体、特殊成分等诱导推理选育方法相结合,以此选育出粘细菌大环类化合物的高产菌株,在此基础上对其培养基和发酵条件进行优化设计以提高目标次级代谢物的生物发酵水平。(2) 产业化是粘细菌生物活性产物应用于新药上市、工农业生产和环境治理等的前提。然而以粘细菌为来源的次级代谢产物在发酵时产量很低,规模化发酵的培养条件和技术尚不成熟,吸附材料也十分昂贵,一定程度上影响其实现产业化。粘细菌的产物之一 *epothilones* 和阿维菌素都属于十六元大环内酯类化合物,在大环内酯类化合物下游分离纯化方面,本团队提出采用廉价的活性炭、甲苯和乙醇对发酵液进行处理以提取阿维菌素 B_{2a}, 获得的结晶阿维菌素 B_{2a} 的纯度完全达到要求,工艺简单、经

济实用^[10]。除了需要在发酵工艺和生物合成调控等方面来实现提高次级代谢产物的产量,以相同结构化合物的分离纯化方法为参考,探索新的吸附方式与材料对粘细菌的生物活性产物实现产业化具有一定帮助及推动作用。同时,随着基因组学和生物合成代谢组学时代的到来,希望能通过这些技术手段解决粘细菌研究中的难题。例如,(1)通过对高产菌株和原始菌株进行转录组测序,挖掘高产菌株培养条件和原始菌株培养条件下存在的差异表达基因,然后探索能提高转录水平的相关基因,以差异表达基因和调控基因来改造宿主菌,进而提高产物产量。另外,随着粘细菌的基因组不断被发掘,越来越多的酶类也能从基因组中获得克隆表达。(2)由于存在生物合成的负调控和目标产物的不充分表达等因素,使许多新颖的次级代谢产物未被发掘。通过分析目标产物的生物合成调控机制,挖掘其表达调控因子以促进目标产物的表达或者提高表达量。研究次级代谢产物基因簇,改造基因簇的启动子从而实现整个基因簇的高效转录,筛选与次级代谢产物合成存在竞争关系又不影响宿主状态的基因簇,通过此类基因簇的组合失活,可以提高次级代谢产物产量,同时也能精简宿主基因簇以构建高效表达次级代谢产物的底盘生物^[40]。

REFERENCES

- [1] 徐欣, 李安章, 徐帅帅, 姚青, 朱红惠. 粘细菌产生的水解酶类研究进展[J]. 微生物学通报, 2021, 48(1): 253-265.
- XU X, LI AZ, XU SS, YAO Q, ZHU HH. Research progress on hydrolytic enzymes produced by *Myxobacteria*[J]. Microbiology China, 2021, 48(1): 253-265 (in Chinese).
- [2] ZHOU XW, LI SG, LI W, JIANG DM, HAN K, WU ZH, LI YZ. Myxobacterial community is a predominant and highly diverse bacterial group in soil niches[J]. Environmental Microbiology Reports, 2014, 6(1): 45-56.
- [3] AMIRI MOGHADDAM J, JAUTZUS T, ALANJARY M, BEEMELMANN C. Recent highlights of biosynthetic studies on marine natural products[J]. Organic and Biomolecular Chemistry, 2021, 19(1): 123-140.
- [4] SHRIVASTAVA A, SHARMA RK. Myxobacteria and their products: current trends and future perspectives in industrial applications[J]. Folia Microbiologica, 2021, 66(4): 483-507.
- [5] MÜLLER S, STRACK SN, RYAN SE, SHAWGO M, WALLING A, HARRIS S, CHAMBERS C, BODDICKER J, KIRBY JR. Identification of functions affecting predator-prey interactions between *Myxococcus xanthus* and *Bacillus subtilis*[J]. Journal of Bacteriology, 2016, 198(24): 3335-3344.
- [6] 李越中, 李健, 周璐, 张勇, 胡玮, 陈琦. 我国粘细菌(*Myxobacteria*)资源的分离与鉴定[J]. 微生物学报, 2000, 40(6): 652-656.
- LI YZ, LI J, ZHOU L, ZHANG Y, HU W, CHEN Q. Isolation and identification of myxobacteria[J]. Acta Microbiologica, 2000, 40(6): 652-656 (in Chinese).
- [7] HOFFMANN T, KRUG D, BOZKURT N, DUDELA S, JANSEN R, GARCIA R, GERTH K, STEINMETZ H, MÜLLER R. Correlating chemical diversity with taxonomic distance for discovery of natural products in myxobacteria[J]. Nature Communications, 2018, 9: 803.
- [8] OKOTH DA, HUG JJ, GARCIA R, MÜLLER R. Three new stigmatellin derivatives reveal biosynthetic insights of its side chain decoration[J]. Molecules, 2022, 27(14): 4656.
- [9] BADER CD, HAACK PA, PANTER F, KRUG D, MÜLLER R. Expanding the scope of detectable microbial natural products by complementary analytical methods and cultivation systems[J]. Journal of Natural Products, 2021, 84(2): 268-277.
- [10] 李越中, 冯婉婉, 王川东, 胡玮, 岳新晶. 一种用于提高粘细菌中大环内脂类次级代谢产物产量的发酵方法: CN106755167A[P]. 2017-05-31.
- LI YZ, FENG WW, WANG CD, HU W, YUE XJ. Fermentation method for improving yield of macrolide secondary metabolites in myxobacteria: CN106755167A[P]. 2017-05-31 (in Chinese).
- [11] 李越中, 吴长生, 李岳兰, 吴姝鸽, 王晶晶. 一株产美沙达唑类化合物的黏细菌及其应用: CN113215064A[P]. 2022-04-12.
- LI YZ, WU CS, LI YL, WU SG, WANG JJ. Myxobacterium for producing methsadamazole compound

- and application of myxobacterium: CN113215064A[P]. 2022-04-12 (in Chinese).
- [12] 周海波, 申琪瑶, 陈汉娜, 王宗杰, 李越中, 张友明, 卞小莹. 利用异源表达挖掘纤维堆囊菌 So0157-2 的新型天然产物[J]. 合成生物学, 2021(5): 837-849.
- ZHOU HB, SHEN QY, CHEN HN, WANG ZJ, LI YZ, ZHANG YM, BIAN XY. Genome mining for novel natural products in *Sorangium cellulosum* So0157-2 by heterologous expression[J]. Synthetic Biology Journal, 2021(5): 837-849 (in Chinese).
- [13] LI ZK, YE XF, LIU MX, XIA CY, ZHANG L, LUO X, WANG T, CHEN Y, ZHAO YQ, QIAO Y, HUANG Y, CAO H, GU XY, FAN JQ, CUI ZL, ZHANG ZG. A novel outer membrane β -1,6-glucanase is deployed in the predation of fungi by myxobacteria[J]. The ISME Journal, 2019, 13(9): 2223-2235.
- [14] BERLEMAN JE, KIRBY JR. Deciphering the hunting strategy of a bacterial wolfpack[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2009, 33(5): 942-957.
- [15] YE XF, LI ZK, LUO X, WANG WH, LI YK, LI R, ZHANG B, QIAO Y, ZHOU J, FAN JQ, WANG H, HUANG Y, CAO H, CUI ZL, ZHANG RF. A predatory myxobacterium controls cucumber *Fusarium* wilt by regulating the soil microbial community[J]. Microbiome, 2020, 8(1): 49.
- [16] 代威, 纠敏, 王文辉, 崔中利, 王辉. 人工微宇宙下粘细菌捕食对微生物群落结构的影响[J]. 微生物学报, 2020, 60(3): 452-463.
- DAI W, JIU M, WANG WH, CUI ZL, WANG H. Effects of myxobacteria predation on microbial community structure of artificial microcosm[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2020, 60(3): 452-463 (in Chinese).
- [17] HYUN H, CHO K. Secondary metabolites of myxobacteria[J]. Korean Journal of Microbiology, 2018, 54(3): 175-187.
- [18] HERRMANN J, FAYAD AA, MÜLLER R. Natural products from myxobacteria: novel metabolites and bioactivities[J]. Natural Product Reports, 2017, 34(2): 135-160.
- [19] NAINI A, SASSE F, BRÖNSTRUP M. The intriguing chemistry and biology of soraphens[J]. Natural Product Reports, 2019, 36(10): 1394-1411.
- [20] IRSCHIK H, JANSEN R, GERTH K, HÖFLE G, REICHENBACH H. Chivosazol A, a new inhibitor of eukaryotic organisms isolated from myxobacteria[J]. The Journal of Antibiotics, 1995, 48(9): 962-966.
- [21] THIEDE S, WOSNIOK PR, HERKOMMER D, DEBNAR T, TIAN MQ, WANG TT, SCHREMPP M, MENCHE D. Total synthesis of leupyrrins A₁ and B₁, highly potent antifungal agents from the myxobacterium *Sorangium cellulosum*[J]. Chemistry-A European Journal, 2017, 23(14): 3300-3320.
- [22] RECK M, RUTZ K, KUNZE B, TOMASCH J, SURAPANENI SK, SCHULZ S, WAGNER-DÖBLER I. The biofilm inhibitor carolacton disturbs membrane integrity and cell division of *Streptococcus mutans* through the serine/threonine protein kinase PknB[J]. Journal of Bacteriology, 2011, 193(20): 5692-5706.
- [23] HU JQ, WANG JJ, LI YL, ZHUO L, WU CS. Combining NMR-based metabolic profiling and genome mining for the accelerated discovery of archangiumide, an allenic macrolide from the myxobacterium *Archangium violaceum* SDU8[J]. Organic Letters, 2021, 23(6): 2114-2119.
- [24] BARBIER J, JANSEN R, IRSCHIK H, BENSON S, GERTH K, BÖHLENDORF B, HÖFLE G, REICHENBACH H, WEGNER J, ZEILINGER C, KIRSCHNING A, MÜLLER R. Isolation and total synthesis of icumazoles and noricumazoles: antifungal antibiotics and cation-channel blockers from *Sorangium cellulosum*[J]. Angewandte Chemie (International Ed in English), 2012, 51(5): 1256-1260.
- [25] HÖFLE G, GERTH K, REICHENBACH H, KUNZE B, SASSE F, FORCHE E, PRUSOV EV. Isolation, biological activity evaluation, structure elucidation, and total synthesis of eliamid: a novel complex I inhibitor[J]. Chemistry (Weinheim an Der Bergstrasse, Germany), 2012, 18(36): 11362-11370.
- [26] PLAZA A, GARCIA R, BIFULCO G, MARTINEZ JP, HÜTTEL S, SASSE F, MEYERHANS A, STADLER M, MÜLLER R. Aetheramides A and B, potent HIV-inhibitory depsipeptides from a myxobacterium of the new genus *Aetherobacter*[J]. Organic Letters, 2012, 14(11): 2854-2857.
- [27] HOFFMANN T, MÜLLER S, NADMID S, GARCIA R, MÜLLER R. Microsclerodermins from terrestrial myxobacteria: an intriguing biosynthesis likely connected to a sponge symbiont[J]. Journal of the American Chemical Society, 2013, 135(45): 16904-16911.
- [28] KELLER L, PLAZA A, DUBIELLA C, GROLL M, KAISER M, MÜLLER R. Macyranones: structure, biosynthesis, and binding mode of an unprecedented epoxyketone that targets the 20S proteasome[J]. Journal of the American Chemical Society, 2015,

- 137(25): 8121-8130.
- [29] HERRMANN J, HÜTTEL S, MÜLLER R. Discovery and biological activity of new chondramides from *Chondromyces* sp.[J]. *Chembiochem: A European Journal of Chemical Biology*, 2013, 14(13): 1573-1580.
- [30] 张庆波, 李冬利, 陶美华, 章卫民. 纤维堆囊菌的次级代谢产物及其活性研究概况[J]. *中国药学杂志*, 2011, 46(17): 1297-1304.
- ZHANG QB, LI DL, TAO MH, ZHANG WM. A survey of secondary metabolites and their activities of *Ascomycetes cellulosa*[J]. *Chinese Pharmaceutical Journal*, 2011, 46(17): 1297-1304 (in Chinese).
- [31] FRANK NA, SZÉLES M, AKONE SH, RASHEED S, HÜTTEL S, FREWERT S, HAMED MM, HERRMANN J, SCHULER SMM, HIRSCH AKH, MÜLLER R. Expanding the myxochelin natural product family by nicotinic acid containing congeners[J]. *Molecules*, 2021, 26(16): 4929.
- [32] OKOTH DA, HUG JJ, GARCIA R, MÜLLER R. Discovery, biosynthesis and biological activity of a succinylated myxochelin from the myxobacterial strain MSr12020[J]. *Microorganisms*, 2022, 10(10): 1959.
- [33] WANG DG, NIU L, LIN ZM, WANG JJ, GAO DF, SUI HY, LI YZ, WU CS. The discovery and biosynthesis of nicotinic myxochelins from an *Archangium* sp. SDU34[J]. *Journal of Natural Products*, 2021, 84(10): 2744-2748.
- [34] MOELLER M, NORRIS MD, PLANKE T, CIRNSKI K, HERRMANN J, MÜLLER R, KIRSCHNING A. Scalable syntheses of methoxyaspartate and preparation of the antibiotic cystobactamid 861-2 and highly potent derivatives[J]. *Organic Letters*, 2019, 21(20): 8369-8372.
- [35] WANG YY, BEGLEY TP. Mechanistic studies on CysS-A vitamin B₁₂-dependent radical SAM methyltransferase involved in the biosynthesis of the *tert*-butyl group of cystobactamid[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2020, 142(22): 9944-9954.
- [36] OKOTH D, HUG J, GARCIA R, SPRÖER C, OVERMANN J, MÜLLER R. 2-hydroxysorangadienosine: structure and biosynthesis of a myxobacterial sesquiterpene-nucleoside[J]. *Molecules*, 2020, 25(11): 2676.
- [37] PANTER F, BADER CD, MÜLLER R. The sandarazols are cryptic and structurally unique plasmid-encoded toxins from a rare myxobacterium[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2021, 60(15): 8081-8088.
- [38] VETCHER L, MENZELLA HG, KUDO T, MOTOYAMA T, KATZ L. The antifungal polyketide ambruticin targets the HOG pathway[J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2007, 51(10): 3734-3736.
- [39] GUZMÁN EA, MAERS K, ROBERTS J, KEMAMI-WANGUN HV, HARMODY D, WRIGHT AE. The marine natural product microsclerodermin A is a novel inhibitor of the nuclear factor kappa B and induces apoptosis in pancreatic cancer cells[J]. *Investigational New Drugs*, 2015, 33(1): 86-94.
- [40] 岳新晶. 埃博霉素在异源宿主黄色粘球菌中的生物合成和遗传改造研究[D]. 济南: 山东大学博士学位论文, 2018.
- YUE XJ. Study on biosynthesis and genetic transformation of epothromycin in heterologous host *Myxococcus flavus*[D]. Jinan: Doctoral Dissertation of Shandong University, 2018 (in Chinese).
- [41] 崔庆文. 固氮和埃博霉素基因簇的异源表达[D]. 济南: 山东大学硕士学位论文, 2019.
- CUI QW. Heterologous expression of nitrogen fixation and epothilone gene cluster[D]. Jinan: Master's Thesis of Shandong University, 2019 (in Chinese).
- [42] LIANG JH, WANG HM, BIAN XY, ZHANG YM, ZHAO GP, DING XM. Heterologous redox partners supporting the efficient catalysis of epothilone B biosynthesis by EpoK in *Schlegelella brevitalea*[J]. *Microbial Cell Factories*, 2020, 19(1): 180.
- [43] SUZUKI M, HASHIMOTO S, SAKAMOTO S, KOGEN H, KOBAYASHI K. Studies toward the total synthesis of epothilone D: synthesis of the thiazole-containing northern segment[J]. *Natural Product Communications*, 2019, 14(9): 1934578X1986859.
- [44] CHENG H, HUANG GL. Synthesis and antitumor activity of epothilones B and D and their analogs[J]. *Future Medicinal Chemistry*, 2018, 10(12): 1483-1496.
- [45] ZHANG P, ZHANG LJ, JIANG XK, DIAO XT, LI S, LI DD, ZHANG Z, FANG JQ, TANG YJ, WU DL, WU CS, LI YZ. Docking-guided rational engineering of a macrolide glycosyltransferase glycodiversifies epothilone B[J]. *Communications Biology*, 2022, 5(1): 100.
- [46] GAO L, MEIRING JCM, HEISE C, RAI A, MÜLLER-DEKU A, AKHMANOVA A, THORN-SESHOLD J, THORN-SESHOLD O. Photoswitchable epothilone-based microtubule stabilisers allow GFP-imaging-compatible, optical control over the microtubule cytoskeleton[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2022, 61(10): e202114614.

- [47] BRAHMACHARI G. Epothilones A and B: the 16-membered natural macrolides as a fascinating template for antibreast cancer drug discovery[J]. *Discovery and Development of Anti-Breast Cancer Agents from Natural Products*, 2021: 7-28.
- [48] LONG R, YANG WJ, HUANG GL. Optimization of fermentation conditions for the production of epothilone B[J]. *Chemical Biology and Drug Design*, 2020, 96(2): 768-772.
- [49] WANG HM, LIANG JH, YUE QW, LI L, SHI Y, CHEN GS, LI YZ, BIAN XY, ZHANG YM, ZHAO GP, DING XM. Engineering the acyltransferase domain of epothilone polyketide synthase to alter the substrate specificity[J]. *Microbial Cell Factories*, 2021, 20(1): 86.
- [50] ZHANG PC, CHEN LP, WU SJ, YE BL, CHEN C, SHI LY. Construction of a metabolism-related long non-coding RNAs-based risk score model of hepatocellular carcinoma for prognosis and personalized treatment prediction[J]. *Pathology Oncology Research*, 2022, 28: 1610066.
- [51] IBRAHIM NK. Ixabepilone: overview of effectiveness, safety, and tolerability in metastatic breast cancer[J]. *Frontiers in Oncology*, 2021, 11: 617874.
- [52] GAO H, HUANG GL. Synthesis, anticancer activity and cytotoxicity of galactosylated epothilone B[J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2018, 26(20): 5578-5581.
- [53] 王鹏飞, 罗生平, 申晨, 喻哲昊, 聂祖庆, 李志伟, 文婕, 李萌, 曹霞. 埃博霉素 D 对大鼠外伤性视神经损伤的保护作用[J]. *南方医科大学学报*, 2022, 42(4): 575-583.
- WANG P, LUO S, SHEN C, YU Z, NIE Z, LI Z, WEN J, LI M, CAO X. Protective effect of Epothilone D against traumatic optic nerve injury in rats[J]. *Journal of Southern Medical University*, 2022, 42(4): 575-583 (in Chinese).
- [54] ZHAO M, CHANG QQ, YANG H, WANG M, LIU YF, LV N, LEI Q, WEI HE. Epothilone D modulates autism-like behaviors in the BTBR mouse model of autism spectrum disorder[J]. *Neuroscience*, 2022, 490: 171-181.
- [55] LIU Q, YANG XH, JI J, ZHANG SL, HE Y. Novel nannocystin A analogues as anticancer therapeutics: synthesis, biological evaluations and structure-activity relationship studies[J]. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2019, 170: 99-111.
- [56] HOFFMANN H, KOGLER H, HEYSE W, MATTER H, CASPERS M, SCHUMMER D, KLEMKE-JAHN C, BAUER A, PENARIER G, DEBUSSCHE L, BRÖNSTRUP M. Discovery, structure elucidation, and biological characterization of Nannocystin A, a macrocyclic myxobacterial metabolite with potent antiproliferative properties[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2015, 54(35): 10145-10148.
- [57] HOU Y, LIU R, XIA M, SUN C, ZHONG B, YU J, AI N, LU JJ, GE W, LIU B, CHEN X. Nannocystin ax, an eEF1A inhibitor, induces G1 cell cycle arrest and caspase-independent apoptosis through cyclin D1 downregulation in colon cancer *in vivo*[J]. *Pharmacological Research*, 2021, 173: 105870.
- [58] SUN C, LIU R, XIA M, HOU Y, WANG X, LU JJ, LIU B, CHEN XP. Nannocystin Ax, a natural elongation factor 1 α inhibitor from *Nannocystis* sp., suppresses epithelial-mesenchymal transition, adhesion and migration in lung cancer cells[J]. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2021, 420: 115535.
- [59] SCHUPP T, TOUPET C, CLUZEL B, NEFF S, HILL S, BECK JJ, LIGON JM. A *Sorangium cellulosum* (myxobacterium) gene cluster for the biosynthesis of the macrolide antibiotic soraphen A: cloning, characterization, and homology to polyketide synthase genes from actinomycetes[J]. *Journal of Bacteriology*, 1995, 177(13): 3673-3679.
- [60] CANE DE, WALSH CT, KHOSLA C. Harnessing the biosynthetic code: combinations, permutations, and mutations[J]. *Science*, 1998, 282(5386): 63-68.
- [61] 朱丽萍, 黎志凤, 韩魁, 李曙光, 李越中. 新颖的黏细菌模块化天然产物装配线[J]. *生物化学与生物物理进展*, 2012, 39(6): 525-539.
- ZHU LP, LI ZF, HAN K, LI SG, LI YZ. Novel characters of myxobacterial modular natural product assembly lines[J]. *Progress in Biochemistry and Biophysics*, 2012, 39(6): 525-539 (in Chinese).
- [62] SATO M, DANDER JE, SATO C, HUNG YS, GAO SS, TANG MC, HANG L, WINTER JM, GARG NK, WATANABE K, TANG Y. Collaborative biosynthesis of maleimide- and succinimide-containing natural products by fungal polyketide megasynthases[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2017, 139(15): 5317-5320.
- [63] MOSS NA, SEILER G, LEÃO TF, CASTRO-FALCÓN G, GERWICK L, HUGHES CC, GERWICK WH. Nature's combinatorial biosynthesis produces vatiamides A-F[J]. *Angewandte Chemie*, 2019, 131(27): 9125-9129.
- [64] 田露, 薛仁政, 张志敏, 薛春仙, 沈兰芳, 龚国利.

- 抗癌药物埃博霉素的生产及工艺发展[J]. 生物技术通报, 2019, 35(10): 198-204.
- TIAN L, XUE RZ, ZHANG ZM, XUE CX, SHEN LF, GONG GL. Production and process development of anticancer drug epothilone[J]. Biotechnology Bulletin, 2019, 35(10): 198-204 (in Chinese).
- [65] LI YL, ZHUO L, LI XB, ZHU YQ, WU SG, SHEN T, HU W, LI YZ, WU CS. Myxadazoles, myxobacterium-derived isoxazole-benzimidazole hybrids with cardiovascular activities[J]. Angewandte Chemie International Edition, 2021, 60(40): 21679-21684.
- [66] OKOTH DA, HUG JJ, MÁNDI A, KURTÁN T, GARCIA R, MÜLLER R. Structure and biosynthesis of sorangipyranone—a new γ -dihydropyrone from the myxobacterial strain MSr12020[J]. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 2021, 48(3/4): kuab029.
- [67] KAMATH AV, CHANG M, LEE FY, ZHANG YP, MARATHE PH. Preclinical pharmacokinetics and oral bioavailability of BMS-310705, a novel epothilone B analog[J]. Cancer Chemotherapy and Pharmacology, 2005, 56(2): 145-153.
- [68] SESSA C, PEROTTI A, LLADÒ A, CRESTA S, CAPRI G, VOI M, MARSONI S, CORRADINO I, GIANNI L. Phase I clinical study of the novel epothilone B analogue BMS-310705 given on a weekly schedule[J]. Annals of Oncology: Official Journal of the European Society for Medical Oncology, 2007, 18(9): 1548-1553.
- [69] KLAR U, BUCHMANN B, SCHWEDE W, SKUBALLA W, HOFFMANN J, LICHTNER RB. Total synthesis and antitumor activity of ZK-EPO: the first fully synthetic epothilone in clinical development[J]. Angewandte Chemie, 2006, 118(47): 8110-8116.
- [70] HOFFMANN J, FICHTNER I, LEMM M, LIENAU P, HESS-STUMPP H, ROTGERI A, HOFMANN B, KLAR U. Sagopilone crosses the blood-brain barrier *in vivo* to inhibit brain tumor growth and metastases[J]. Neuro-Oncology, 2009, 11(2): 158-166.
- [71] SOMANADHAN B, KOTTURI SR, YAN LEONG C, GLOVER RP, HUANG YC, FLOTOW H, BUSS AD, LEAR MJ, BUTLER MS. Isolation and synthesis of falcitidin, a novel myxobacterial-derived acyltetrapeptide with activity against the malaria target falcipain-2[J]. The Journal of Antibiotics, 2013, 66(5): 259-264.
- [72] KIVELÄ L, CAMINERO A, LEFFLER DA, PINTO-SANCHEZ MI, TYE-DIN JA, LINDFORS K. Current and emerging therapies for coeliac disease[J]. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology, 2021, 18(3): 181-195.
- [73] GASS J, EHREN J, STROHMEIER G, ISAACS I, KHOSLA C. Fermentation, purification, formulation, and pharmacological evaluation of a prolyl endopeptidase from *Myxococcus xanthus*: implications for Celiac Sprue therapy[J]. Biotechnology and Bioengineering, 2005, 92(6): 674-684.
- [74] BADER CD, PANTER F, GARCIA R, TCHESNOKOV EP, HAID S, WALT C, SPRÖER C, KIEFER AF, GÖTTE M, OVERMANN J, PIETSCHMANN T, MÜLLER R. Sandacrabins—structurally unique antiviral RNA polymerase inhibitors from a rare myxobacterium[J]. Chemistry-A European Journal, 2022, 28(10): e202104484.
- [75] HAACK PA, HARMROLFS K, BADER CD, GARCIA R, GUNESCH AP, HAID S, POPOFF A, VOLTZ A, KIM H, BARTENSCHLAGER R, PIETSCHMANN T, MÜLLER R. Thiamyxins: structure and biosynthesis of myxobacterial RNA-virus inhibitors[J]. Angewandte Chemie International Edition, 2022, 61(52): e202212946.
- [76] PANTER F, POPOFF A, GARCIA R, KRUG D, MÜLLER R. Myxobacteria of the *Cystobacterineae* suborder are producers of new vitamin K₂ derived myxoquinones[J]. Microorganisms, 2022, 10(3): 534.
- [77] KOLLER TO, SCHEID U, KÖSEL T, HERRMANN J, KRUG D, BOSHOF HIM, BECKERT B, EVANS JC, SCHLEMMER J, SLOAN B, WEINER DM, VIA LE, MOOSA A, IOERGER TR, GRAF M, ZINSHTEYN B, ABDEL SHAHID M, NGUYEN F, ARENZ S, GILLE F, et al. The myxobacterial antibiotic myxovalargin: biosynthesis, structural revision, total synthesis, and molecular characterization of ribosomal inhibition[J]. Journal of the American Chemical Society, 2023, 145(2): 851-863.
- [78] COUTURIER C, GROß S, von TESMAR A, HOFFMANN J, DECKARM S, FIEVET A, DUBARRY N, TAILLIER T, PÖVERLEIN C, STUMP H, KURZ M, TOTI L, HAAG RICHTER S, SCHUMMER D, SIZUN P, HOFFMANN M, PRASAD AWAL R, ZABURANNYI N, HARMROLFS K, WINK J, et al. Structure elucidation, total synthesis, antibacterial *in vivo* efficacy and biosynthesis proposal of myxobacterial corramycin[J]. Angewandte Chemie International Edition, 2022, 61(51): e202210747.

- [79] KIM ST, YUN SC. Biocontrol with *Myxococcus* sp. KYC 1126 against anthracnose in hot pepper[J]. The Plant Pathology Journal, 2011, 27(2): 156-163.
- [80] DAHM H, BRZEZIŃSKA J, WRÓTNIAK-DRZEWIECKA W, GOLIŃSKA P, RAI M. Myxobacteria as a potential biocontrol agent effective against pathogenic fungi of economically important forest trees[J]. Dendrobiology, 2015, 74: 13-24.
- [81] LI ZK, YE XF, CHEN PL, JI K, ZHOU J, WANG F, DONG WL, HUANG Y, ZHANG ZG, CUI ZL. Antifungal potential of *Corallococcus* sp. strain EGB against plant pathogenic fungi[J]. Biological Control, 2017, 110: 10-17.
- [82] LI ZK, WANG T, LUO X, LI XM, XIA CY, ZHAO YQ, YE XF, HUANG Y, GU XY, CAO H, CUI ZL, FAN JQ. Biocontrol potential of *Myxococcus* sp. strain BS against bacterial soft rot of calla lily caused by *Pectobacterium carotovorum*[J]. Biological Control, 2018, 126: 36-44.
- [83] YUN SC. Selection and a 3-year field trial of *Sorangium cellulosum* KYC 3262 against anthracnose in hot pepper[J]. The Plant Pathology Journal, 2014, 30(3): 279-287.
- [84] 刘新利, 李越中. 粘细菌次级代谢产物及其在农业上的应用价值[J]. 中国农业科技导报, 2007, 9(3): 44-51.
- LIU XL, LI YZ. Myxobacterial secondary metabolites and their potential applications in agriculture[J]. Journal of Agricultural Science and Technology, 2007, 9(3): 44-51 (in Chinese).
- [85] 陶少强. 秸秆还田土壤中细菌群落结构多样性分析及纤维素降解细菌的分离[D]. 合肥: 安徽农业大学硕士学位论文, 2012.
- TAO SQ. Diversity analysis of bacterial community structure in soil with straw returning and separation of cellulose-degrading bacteria[D]. Hefei: Master's Thesis of Anhui Agricultural University, 2012 (in Chinese).
- [86] 闫章才. 溶纤维素粘细菌的分离纯化、分类、及降解纤维素机理的研究[D]. 济南: 山东大学博士学位论文, 2003.
- YAN ZC. Isolation, purification, classification and mechanism of cellulolytic myxobacteria[D]. Jinan: Doctoral Dissertation of Shandong University, 2003 (in Chinese).
- [87] 王淑云. 纤维堆囊菌 So9733-1 纤维素酶复合体的蛋白质组学分析与酶基因的克隆、表征[D]. 济南: 山东大学博士学位论文, 2011.
- WANG SY. Protein genomics analysis of cellulase complex of ascomycetes cellulosa So9733-1 and cloning and characterization of enzyme gene[D]. Jinan: Doctoral Dissertation of Shandong University, 2011 (in Chinese).
- [88] FÁREZ-VIDAL ME, FERNÁNDEZ-VIVAS A, GONZÁLEZ F, ARIAS JM. Properties and significance of an α -amylase produced by *Myxococcus coralloides* D[J]. Journal of Applied Bacteriology, 1995, 78(1): 14-19.
- [89] WU JL, XIA BJ, LI ZK, YE XF, CHEN QZ, DONG WL, ZHOU J, HUANG Y, CUI ZL. Molecular cloning and characterization of a novel GH13 saccharifying α -amylase AmyC from *Corallococcus* sp. EGB[J]. Starch-Stärke, 2015, 67(9/10): 810-819.
- [90] LI ZK, WU JL, ZHANG BY, WANG F, YE XF, HUANG Y, HUANG Q, CUI ZL. AmyM, a novel maltohexaose-forming α -amylase from *Corallococcus* sp. strain EGB[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2015, 81(6): 1977-1987.
- [91] LI ZK, WU JL, WANG T, ZHENG WW, QIAO Y, HUANG Y, CUI ZL. Efficient production and characterization of maltohexaose-forming α -amylase AmyM secreted from the methylotrophic yeast *Pichia pastoris*[J]. Starch-Stärke, 2018, 70(11/12): 1700312.
- [92] LI ZK, JI K, ZHOU J, YE XF, WANG T, LUO X, HUANG Y, CAO H, CUI ZL, KONG Y. A debranching enzyme IsoM of *Corallococcus* sp. strain EGB with potential in starch processing[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2017, 105(Pt 1): 1300-1309.
- [93] LUCAS N, MAZAUD-AUJARD C, BREMAUD L, CENATIEMPO Y, JULIEN R. Protein purification, gene cloning and sequencing of an acidic endoprotease from *Myxococcus xanthus* DK101[J]. European Journal of Biochemistry, 1994, 222(2): 247-254.
- [94] ZHAO X, CAI M, YANG ZJ, LUO TQ, SARWAR A, MEGROUS S, AZIZ T, YANG ZN. Purification and characterization of a novel milk-clotting enzyme produced by *Bacillus amyloliquefaciens* GSBa-1[J]. European Food Research and Technology, 2019, 245(11): 2447-2457.
- [95] POZA M, SIEIRO C, CARREIRA L, BARROS-VELÁZQUEZ J, VILLA TG. Production and characterization of the milk-clotting protease of *Myxococcus xanthus* strain 422[J]. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 2003, 30(12): 691-698.
- [96] 蚁烁星, 周杨, 张鲜姣, 姚青, 李华平, 朱红惠. 不同分离方法对子实体形成和粘细菌分离的影响[J]. 微生物学报, 2021, 61(4): 923-934.

- YI SX, ZHOU Y, ZHANG XJ, YAO Q, LI HP, ZHU HH. Effects of different methods on the formation of fruiting bodies and isolation of myxobacteria[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2021, 61(4): 923-934 (in Chinese).
- [97] 梁剑光, 栗波, 赵明霞, 王泽建, 任敏, 凌青云. 常压室温等离子体技术快速选育多拉菌素高产菌[J]. *常州大学学报(自然科学版)*, 2021, 33(4): 30-40.
- LIANG JG, LI B, ZHAO MX, WANG ZJ, REN M, LING QY. Mutation breeding of a high doramectin producing strain by atmospheric pressure and room temperature plasma technology[J]. *Journal of ChangZhou University (Natural Science Edition)*, 2021, 33(4): 30-40 (in Chinese).
- [98] 赵明霞, 栗波, 蔡子豪, 薛佳韵, 王泽建, 梁剑光. 培养基优化设计提升多拉菌素生物发酵水平[J]. *中国抗生素杂志*, 2020, 45(11): 1121-1132.
- ZHAO MX, SU B, CAI ZH, XUE JY, WANG ZJ, LIANG JG. Improving the biosynthesis of doramectin production by mutant strain *Streptomyces avermitilis* 3D-5 by optimizing fermentation medium[J]. *Chinese Journal of Antibiotics*, 2020, 45(11): 1121-1132 (in Chinese).
- Chinese).
- [99] 梁剑光, 储消和, 储炬, 王永红. 阿维菌素高产工业菌株的推理选育研究[J]. *安徽农业科学*, 2011, 39(24): 14660-14662, 14683.
- LIANG JG, CHU XH, CHU J, WANG YH. Rational breeding of high-yield avermectin producing industrial strain[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2011, 39(24): 14660-14662, 14683 (in Chinese).
- [100] LIANG JG, CHU XH, XIONG ZQ, CHU J, WANG YH, ZHUANG YP, ZHANG SL. Oxygen uptake rate regulation during cell growth phase for improving avermectin B_{1a} batch fermentation on a pilot scale (2 m³)[J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2011, 27(11): 2639-2644.
- [101] 梁剑光, 刘亮, 陈中兵, 孙振华, 孙俊杰, 黄海涛, 赵祖亮, 罗小芳, 张华弟, 吕福亮. 一种阿维菌素 B_{2a} 的提取方法: CN103992365A[P]. 2014-08-20.
- LIANG JG, LIU L, CHEN ZB, SUN ZH, SUN JJ, HUANG HT, ZHAO ZL, LUO XF, ZHANG HD, LYU FL. Extraction method of abamectin B_{2a}: CN103992365A[P]. 2014-08-20 (in Chinese).