



研究报告

一株海洋链霉菌 MMHS020 的抗菌活性代谢产物

柴保中^{1,2} 闫岑¹ 项仁鑫³ 陈文超⁴ 吴敏^{*1}

1 浙江大学生命科学学院 浙江 杭州 310000

2 海正药业(杭州)有限公司 浙江 杭州 311404

3 浙江海正药业股份有限公司 浙江 台州 318000

4 中国农业科学院油料作物研究所 湖北 武汉 430062

摘要:【背景】海洋微生物因其生存环境的多样性与独特性,已成为天然产物研究的重要来源。【目的】以一株太平洋海泥来源链霉菌 MMHS020 为出发菌株,筛选可促进其产生丰富代谢产物的发酵条件,挖掘菌株在抗菌抗肿瘤方面的潜力。【方法】采用单菌株多次级代谢产物策略对 MMHS020 菌株进行培养诱导,使其产生更丰富的活性代谢产物。双层平板法测定发酵产物对 6 种指示菌的抑菌活性。以硅胶柱层析、葡聚糖凝胶层析和制备层析等方法对代谢产物进行分离纯化,再通过质谱技术和 ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 对化合物进行结构解析。【结果】链霉菌属 MMHS020 菌株可在较高浓度盐离子环境中产生丰富的抑菌活性代谢产物,显示出对枯草芽孢杆菌、结核分枝杆菌和藤黄微球菌等多种指示菌的抑制活性。从发酵产物中分离鉴定了 3 个化合物,分别是诺卡胺素(1)、麦角甾醇(2)和星形孢菌素(3)。其中星形孢菌素表现出白色念珠菌的抑制活性,而诺卡胺素则对其他几个指示菌表现出较强的抑制活性。【结论】海洋链霉菌 MMHS020 菌株可代谢产生丰富多样的生物活性物质,具有开发成为新型抑菌生物制剂的潜力。

关键词: 海洋微生物, 抑菌活性, 诺卡胺素, 麦角甾醇, 星形孢菌素

Antibacterial secondary metabolites produced by marine *Streptomyces* sp. MMHS020

CHAI Baozhong^{1,2} YAN Cen¹ XIANG Renxin³ CHEN Wenchao⁴ WU Min^{*1}

1 College of Life Sciences, Zhejiang University, Hangzhou, Zhejiang 310000, China

2 Hisun Pharmaceutical (Hangzhou) Company Limited, Hangzhou, Zhejiang 311404, China

3 Zhejiang Hisun Pharmaceutical Company Limited, Taizhou, Zhejiang 318000, China

4 Oil Crops Research Institute, Chinese Academy of Agriculture Sciences, Wuhan, Hubei 430062, China

Abstract: [Background] Marine microorganisms flourishing in diverse marine environments are widely recognized as rich sources of natural products. [Objective] Based on a *Streptomyces* sp. MMHS020 strain isolated from marine sediment, this study aimed to optimize fermentation conditions for abundant metabolites, and exploit the potential of the strain in antibacterial and antitumor activities. [Methods] Using a one strain-many compounds (OSMAC) approach, active metabolites were produced by strain

*Corresponding author: Tel: 86-571-88206261; E-mail: wumin@zju.edu.cn

Received: 23-10-2020; Accepted: 30-11-2020; Published online: 28-12-2020

*通信作者: Tel: 0571-88206261; E-mail: wumin@zju.edu.cn

收稿日期: 2020-10-23; 接受日期: 2020-11-30; 网络首发日期: 2020-12-28

MMHS020. Antibacterial activity for six indicator bacteria strains were traced using two-layer plate method. The metabolites were separated and purified by silica gel column chromatography, Sephadex column chromatography, and preparative chromatography. The compounds were elucidated by means of spectral analysis including ESI-MS, ^1H -NMR, and ^{13}C -NMR. **[Results]** Strain MMHS020 could produce diverse metabolites of antibacterial activity to inhibit the growth of all indicator bacteria such as *Bacillus subtilis*, *Mycobacterium tuberculosis*, and *Micrococcus luteus* when cultivated under high salt condition. Three compounds: nocardamine (1), ergosterol (2), and staurosporine (3) were isolated from the fermentation broth of strain MMHS020. Staurosporine was of inhibitory activity to *Candida albicans*, and nocardamine for the others. **[Conclusion]** Marine-derived *Streptomyces* sp. MMHS020, which produces a variety of bioactive metabolites, could be potentially developed as a novel antimicrobial agent.

Keywords: marine microorganisms, antibacterial activity, nocardamine, ergosterol, staurosporine

由于病菌感染和癌症对人类健康造成的威胁日益严峻, 临床上迫切需要新型抗生素和抗肿瘤药物, 而天然产物及其衍生物则成为医药先导化合物的重要来源^[1]。随着陆地资源的日益匮乏, 海洋微生物资源的开发已成为天然产物研究的热点之一。在海洋生态系统漫长的演化过程中, 海洋微生物形成了独特与多样的机制来适应高压、黑暗、高盐、低温和寡营养等严酷的生存环境, 从而表现出基因型、代谢途径和生理生态功能等方面的独特性和多样性^[2]。海洋微生物通常可产生大量结构新颖和活性独特的代谢产物, 主要包括抗肿瘤活性物质、抗菌活性物质(抗生素)、抗病毒活性物质、毒素以及新型铁载体等^[3-4], 是新药开发的重要战略新资源。

海洋微生物的原生生存环境不同于陆地, 其次级代谢产物的开发研究也面临着诸多新挑战, 比如海洋微生物的分离培养策略、海洋微生物活性物质和酶的发现与利用等。在海洋资源的开发过程中, 实验室单一传统培养模式可能会导致微生物大量代谢途径不能被激活, 次级代谢产物的数量较少且骨架结构单一^[5]。单菌株多次级代谢产物(One Strain-Many Compounds, OSMAC)策略可通过改变培养环境来刺激微生物激活不同合成基因簇的表达、挖掘更加多样化的次级代谢产物, 从而有效克服了上述问题, 并在海洋微生物代谢产物开发中被广泛应用^[6]。比如研究者采用 OSMAC 策略对近海分离得到的链霉菌 USC-633 菌株的研

究发现, 培养条件的改变可导致该菌株在抗菌活性、孢子形成和色素产生方面表现出显著差异^[7]。不同种类卤化钠的添加可促使海洋木霉菌(*Trichoderma*) TPU199 菌株产生多种稀有氢化吡啶类生物碱化合物^[8]。在本研究中, 我们采用 OSMAC 策略对一株太平洋海泥分离得到的链霉菌 MMHS020 菌株开展了抑菌生物活性的开发研究, 并对相关化合物进行了分离和鉴定, 以期充分发掘菌株的代谢潜能, 为后续海洋菌株来源的医药先导化合物开发提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 材料

菌株 *Streptomyces* sp. MMHS020、铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、白色念珠菌(*Candida albicans*)、结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*)、藤黄微球菌(*Micrococcus luteus*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)均为实验室保藏菌株。

试验菌株 MMHS020 发酵采用的 M1 培养基(g/L): 可溶性淀粉 30.0, 葡萄糖 10.0, 蛋白胨 20.0, 酵母抽提粉 10.0; M2 培养基(g/L): 可溶性淀粉 10.0, 葡萄糖 2.0, 蛋白胨 5.0, 酵母抽提粉 2.0; M3 培养基(g/L): 可溶性淀粉 30.0, 葡萄糖 10.0, 蛋白胨 20.0, 酵母抽提粉 10.0, 海盐 40.0; M4 培养基(g/L): 可溶性淀粉 10.0, 葡萄糖 2.0, 蛋白胨 5.0, 酵母抽提粉 2.0, 海盐 40.0。6 种指示菌中白色念珠菌的培养基为 MYG^[9], 其余为营养肉汤(Nutrient Broth, NB)

培养基^[10], 枯草芽孢杆菌培养额外添加 5 mg/L 的 MgSO_4 。

2216E 商品化培养基、麦芽抽提物, BD 公司; 可溶性淀粉、葡萄糖、牛肉浸膏、酵母抽提粉、蛋白胨、琼脂、氯仿、甲醇、二甲基亚砜(DMSO), 国药集团化学试剂有限公司; 遗传霉素(Geneticin, G-418)、制霉菌素(Nystatin), Sigma-Aldrich 公司; PCR 反应试剂, 北京擎科新业生物技术有限公司; PCR 产物纯化试剂盒, 天根生化科技(北京)有限公司。液质联用质谱仪, Waters 公司; 核磁共振仪, Rheinstetten 公司。

1.2 菌株的分离鉴定

海洋放线菌 MMHS020 菌株的分离鉴定过程如下: 自浙江大学参与的远洋科考船队采集的深海海泥样品(东太平洋 cc 区, 水深为 4 797 m)中取湿重 3–5 g, 于 55 °C 烘干处理 12 h。烘干处理过的海泥样品研磨成粉后于 1/10 浓度的 2216E 液体培养基中进行富集, 28 °C、200 r/min 培养过夜, 用灭菌生理盐水梯度稀释为 10^{-2} 、 10^{-3} 和 10^{-4} , 再各吸取 100 μL 稀释液涂布于 1/10 浓度的 2216E 固体琼脂培养基, 置于 28 °C 培养箱中培养, 8–10 d 后取出平板, 挑取单菌落进行传代纯化。分离纯化得到一株编号为 MMHS020 的放线菌, 在 2216E 液体培养基中于 28 °C、200 r/min 培养 48 h 后采用酚-氯仿法提取总 DNA, 并根据文献[11]提供的方法以通用引物 27F (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3')和 1492R (5'-TACGGYTACCTTGTTACGACTT-3')进行 16S rRNA 基因序列的 PCR 扩增。PCR 产物纯化后测序获得的 16S rRNA 基因序列在 NCBI 和 EzBioCloud 数据库中进行比对分析, 确定 MMHS020 菌株分类的种属情况。

1.3 抑菌活性试验

抑菌生物活性试验采用滤纸片-双层平板方法^[12]进行。几种培养基的发酵培养产物, 各取 50 mL 进行乙醇萃取, 萃取产物经旋转蒸发仪浓缩后, 溶于 5 mL 的 DMSO。滤纸片等量吸取各试验样品后, 置于预先准备的指示菌双层平板培养基上,

于 30 °C 培养 12 h 后取出, 观察记录抑菌圈的形成情况。化合物的抑菌活性试验同上。其中, 滤纸片的直径为 8 mm, 抑菌圈的直径计算扣除滤纸片直径, 即抑菌圈直径(mm)=总直径-8; 阴性对照为 DMSO 溶剂, 阳性对照为遗传霉素和制霉菌素 2 种抗生素, 浓度为 100 $\mu\text{g/mL}$, 与化合物的配制浓度相同, 每组 3 个平行。

1.4 发酵代谢产物的分离纯化与鉴定

采用 50 L 发酵罐对菌株 MMHS020 进行发酵, 培养 5 d 后收集发酵液, 采用 4 000 r/min 离心 10 min 和 HP-20 树脂吸附的方法进行预处理。预处理后的混合样品依次进行硅胶柱层析、葡聚糖凝胶柱层析、制备柱层析逐级分离制备。其中硅胶柱层析以氯仿/甲醇体系梯度洗脱, 葡聚糖凝胶柱层析则以氯仿/甲醇(1:1, 体积比)体系洗脱, 分段收集样品, 通过薄层层析(Thin Layer Chromatography, TLC)显色结果合并相同或相近组分, 之后对目的化合物进行制备柱分离。制备柱采用色谱柱为 Agilent Eclipse XDB-C18 柱(9.4 mm×250 mm, 5 $\mu\text{mol/L}$), 流速为 1.5 mL/min, 检测波长为 220 nm 和 254 nm 双波长体系。其中化合物 1 制备流动相为乙腈/蒸馏水(65:35, 体积比), 保留时间 14.7 min 处收集, 干燥得到 6.7 mg 样品; 化合物 2 制备流动相为纯甲醇, 保留时间 20.6 min 处收集, 干燥得到 28.8 mg 样品; 化合物 3 制备流动相为甲醇/蒸馏水(60:40, 体积比), 保留时间 9.8 min 处收集, 干燥得到 74.1 mg 样品。分离纯化后, 化合物的分子量通过质谱进行鉴定, 化合物结构则通过 $^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$ 进行解析。

2 结果与分析

2.1 菌株 MMHS020 的鉴定与培养形态分化

自太平洋海泥样品分离得到的海洋放线菌 MMHS020 菌株, 其 16S rRNA 基因序列在 EzBioCloud 数据库的比对分析结果显示, 与其相似性最高的菌株分别是 *Streptomyces fradiae* DSM40063^T (99.79%, 登录号为 CP023696.1)、

Streptomyces coeruleoprurnus NBRC15400^T (99.31%, 登录号为 AB184651)和 *Streptomyces somaliensis* DSM40738^T (99.10%, 登录号为 AJ007403), 由此确定该菌株属于链霉菌属, 其 16S rRNA 基因序列在 GenBank 的登录号为 MW180954。

以 MYG 培养基为基础、以盐离子浓度为变量对菌株 MMHS020 进行固体培养基培养, 结果显示, 菌株 MMHS020 在低盐和高盐条件下的菌株形态分化上存在很大差异(图 1)。在低盐条件(不添加海盐, 图 1A)下, 菌落在 2–3 d 时会形成大量的白色孢子, 而海水盐浓度条件(添加 4%海盐, 图 1B)下培养至 7 d 仍无孢子形成。进一步以相同的培养基对照组合进行液体培养后, 通过镜检发现, 在高盐条件下可观察到大量的菌丝形态而在低盐条件下基本观察不到。从形态分化的现象推测, 盐浓度可能改变了菌株 MMHS020 在孢子形成与菌丝分化等方面的基因表达或调控。

2.2 菌株 *Streptomyces* sp. MMHS020 抑菌活性产物的培养诱导

根据菌落培养分化的结果, 采用 OSMAC 策略设置了 M1 (低盐富营养)、M2 (低盐寡营养)、M3 (高盐富营养)和 M4 (高盐寡营养)这 4 种培养方案对菌株 MMHS020 进行发酵培养, 观察培养条件对菌



图 1 菌株 *Streptomyces* sp. MMHS020 在不同盐浓度培养基上培养时的形态分化

Figure 1 Morphological differentiation of *Streptomyces* sp. MMHS020 cultivated on solid media with different concentrations of salt ions

注: A: 低盐浓度; B: 海水盐浓度

Note: A: Low-salt concentration; B: The salinity of seawater concentration

株代谢可能带来的影响。进一步对 4 种发酵产物进行抑菌生物活性检测, 结果如图 2 所示, 菌株 MMHS020 在添加 4%海盐浓度的 M3 和 M4 培养基发酵代谢产物对多种指示菌均有抑制作用, 而不添加盐的 M1 和 M2 培养基发酵产物则未表现出抑菌活性。其中 M3 培养基发酵代谢产物的抑菌活性尤为明显, 其对枯草芽孢杆菌、结核分枝杆菌和藤黄微球菌表现出显著抑制效果(抑菌圈直径>10 mm), 对铜绿假单胞菌和金黄色葡萄球菌表现为中等抑制效果(抑菌圈直径为 5–10 mm), 而对白色念珠菌则表现出微弱的抑制效果(抑菌圈直径<5 mm)。上述结果表明, 菌株 MMHS020 在较高浓度无机盐离子存在时可被诱导产生广谱抑菌物质, 体现了菌株的海洋性特征, 这可能是该菌株长期适应海水环境和提高生存竞争力的结果。

2.3 菌株 *Streptomyces* sp. MMHS020 抑菌活性产物的分离与鉴定

以 M3 培养基为发酵配方, 对菌株 MMHS020 的 50 L 小试发酵罐代谢产物进行分离纯化。根据薄层层析显色结果与抑菌活性跟踪, 最终制备得到 3 个化合物, 结构式如图 3 所示。

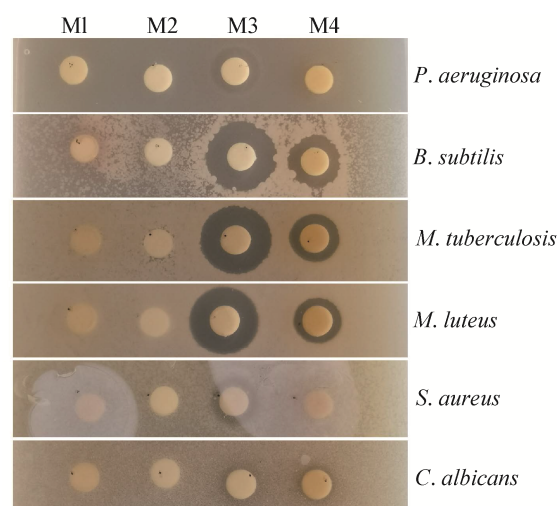


图 2 OSMAC 策略诱导菌株 MMHS020 产生抗菌活性代谢产物

Figure 2 Antibacterial metabolites were produced by strain MMHS020 using OSMAC approach

化合物 **1**: 白色粉末, ESI-MS: m/z 601 $[M+H]^+$, 提示分子量为 600, 结合 $^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$ 波谱解析推测化学式为 $\text{C}_{27}\text{H}_{48}\text{N}_6\text{O}_9$ 。该化合物的 $^1\text{H-NMR}$ (DMSO, 400 MHz)在 δ : 9.58(3H, s, N-OH), 7.71(3H, s, NH), 3.44(6H, t, H-5,14,23), 3.01(6H, d, H-9,18,27), 2.58(6H, s, H-3,12,21), 2.26(6H, d, H-2,11,20), 1.47(6H, s, H-6,15,24), 1.35(6H, t, H-8,17,26), 1.20(6H, m, H-7,16,25); 该化合物的 $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO, 100MHz) δ : 172.38(C-4,13,22), 171.92(C-1,10,19), 47.44(C-5,14,23), 38.76(C-9,18,27), 30.38(C-2,11,20), 29.13(C-8,17,26), 27.96(C-3,12,21), 26.32(C-6,15,24), 23.70(C-7,16,25)。上述结构与文献[13-14]报道基本一致, 确定化合物 **1** 为诺卡胺素(Nocardamine)。

化合物 **2**: 白色针状结晶, ESI-MS: m/z 397 $[M+H]^+$, 提示分子量为 396, 结合 $^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$ 波谱解析推测化学式为 $\text{C}_{28}\text{H}_{44}\text{O}$ 。该化合物的 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz)在 δ : 5.57(1H, dd, H-6), 5.39(1H, d, H-7), 5.23(1H, dd, H-23), 5.19(1H, dd, H-22)出现了双键的氢信号, 同时在高场区 δ : 1.04(3H, d, H-21), 0.96(3H, s, H-19), 0.92(3H, d, H-28), 0.84(3H, d, H-26/H-27), 0.83(3H, d, H-26/H-27), 0.64(3H, s, H-18)出现了 6 个甲基信号; $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100MHz) δ : 141.43(C-8), 139.80(C-5), 135.58(C-22), 131.95(C-23), 119.58(C-6), 116.29(C-7), 70.47(C-3), 55.71(C-17), 54.58(C-14), 46.21(C-9), 42.82(C-24), 42.82(C-13), 40.81(C-4), 40.49(C-20), 39.11(C-12), 38.35(C-1), 33.10(C-25), 31.98(C-2), 28.31(C-16), 23.01(C-15), 21.69(C-21), 21.11(C-11), 19.99(C-27), 19.65(C-26), 17.61(C-28), 16.30(C-19), 12.06(C-18)。上述结构与文献[15]报道基本一致, 确定化合物 **2** 为麦角甾醇(Ergosterol)。

化合物 **3**: 黄色粉末, ESI-MS: m/z 467 $[M+H]^+$, 提示分子量为 466, 结合 $^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$ 波谱解析推测化学式为 $\text{C}_{28}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}_3$ 。该化合物的 $^1\text{H-NMR}$ (MeOD, 400 MHz) δ : 9.19(1H, dd, H-4), 7.92(1H, d, H-11), 7.90(1H, dd, H-8), 7.72(1H, dd,

H-10), 7.50(1H, ddd, H-2), 7.36(1H, ddd, H-9), 7.34(1H, ddd, H-3), 7.23(1H, dd, H-1), 6.53(1H, dd, H-6'), 4.87(1H, dd, H-7a), 4.62(1H, dd, H-7b), 4.23(1H, ddd, H-3'), 4.02(1H, d, H-4'), 3.32(1H, ddd, H-5a'), 2.76(3H, s, NCH_3), 2.50(3H, s, CH_3), 2.28(3H, s, OCH_3), 2.16(1H, ddd, H-5'b); 该化合物的 $^{13}\text{C-NMR}$ (MeOD, 100MHz) δ : 174.78(C-5), 137.92(C-12a), 136.20(C-13a), 132.31(C-7a), 129.98(C-11a), 128.04(C-4), 126.15(C-2), 125.77(C-12b), 125.07(C-9), 124.98(C-7c), 124.39(C-4a), 123.00(C-8), 121.26(C-1), 120.53(C-3), 119.25(C-4c), 115.26(C-4b), 114.26(C-7b), 111.94(C-11), 107.94(C-10), 92.71(C-2'), 80.44(C-6'), 80.03(C-3'), 59.12(C-3'- OCH_3), 54.45(C-4'), 46.98(C-7), 29.91(C-4a'- CH_3), 27.64(C-2'- CH_3), 27.26(C-5')。

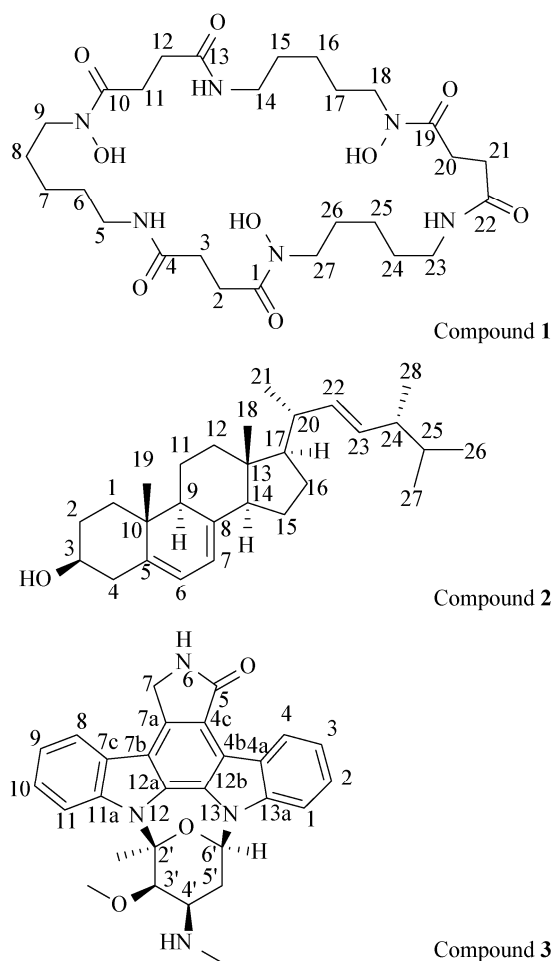


图3 化合物 1、2、3 的结构式

Figure 3 Structures of the compounds 1, 2 and 3

上述结构与文献[16]报道基本一致, 确定化合物 **3** 为星形孢菌素(*Staurosporine*)。

2.4 抑菌活性鉴定

对分离纯化的 3 个化合物进行 6 种指示菌的抑菌活性验证, 根据抑菌圈的大小(扣除滤纸片直径)标定各自的抑菌活性强度, 结果如表 1 所示: 化合物 **1** 对白色念珠菌之外的其他 5 种指示菌均表现出一定的抑制活性, 尤其是结核分枝杆菌; 化合物 **3** 则只对白色念珠菌有较强的抑制活性; 化合物 **2** 未表现出抑菌活性。

3 讨论与结论

链霉菌属 MMHS020 菌株经过较高盐离子浓度条件的培养诱导后, 可产生大量新的代谢产物。通过化合物的分离鉴定与抑菌活性测试, 发现该菌株可产生对革兰氏阳性和革兰氏阴性菌(5 种指示菌)均有抑制活性的诺卡胺素、对真菌白色念珠菌有抑制活性的星形孢菌素, 以及麦角甾醇等活性代谢产物。

化合物 **1** (诺卡胺素)属于大环内酯类化合物, 是一种非常强的铁络合剂。诺卡胺素通常被认为是微生物提高生存竞争力的代谢产物, 微生物通过分泌诺卡胺素及其衍生物形成诺卡胺素-铁络合物, 与其他微生物争夺铁元素, 从而达到间接抑制病原菌的目的^[14]。诺卡胺素的合成在一些链霉菌属菌株和施氏假单胞菌(*Pseudomonas stutzeri*)等微生物中均有报道^[17-18], 并在之前的研究中被报道具有抑制普通变形杆菌(*Proteus vulgaris*)和分枝杆菌的抑菌活性^[13,19], 这与本研究中表现出来的

抑菌现象较为吻合。

化合物 **2** (麦角甾醇)通常是真菌细胞膜的重要组成部分, 其碳骨架的合成目前在放线菌中尚未见报道。但对一株海洋来源的链霉菌 H41-59 菌株的研究却表明其可产生大量的麦角甾醇及其同系物, 原因可能是这类高 GC 含量的放线菌产生的甾醇代谢关键酶固醇氧化酶(*Cholesterol Oxidase*, ChO)等在起作用^[20]。麦角甾醇通常具有抗肿瘤活性, 比如对 H41-59 菌株来源甾醇类化合物的研究发现其对多株肿瘤细胞株具有抑制毒性, 因此本研究中同样是海洋来源的菌株 MMHS020 产生的麦角甾醇可能也具有抗肿瘤活性开发潜力。

化合物 **3** (星形孢菌素)是一类吲哚吡唑生物碱类化合物, 具有非常有效的蛋白激酶抑制活性, 是 2017 年美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准的全球首款急性髓系白血病的靶向药物米哚妥林(Midostaurin)的合成前体。大量的研究表明, 星形孢菌素具有显著的抗真菌和抗肿瘤活性^[21-23]。星形孢菌素的抗真菌活性也在农业方面被广泛研究, 比如 Park 等报道了星形孢菌素对西瓜炭疽病菌、水稻纹枯病菌、灰葡萄孢菌、黄瓜黑星病菌和辣椒疫霉等植物病原真菌的抑制活性^[24]。本研究中, 菌株 MMHS020 分离的星形孢菌素对白色念珠菌表现出了拮抗活性, 此外在进一步的抗真菌活性研究中发现其对玉米小斑病菌等真菌也有抑制活性, 这与文献[24]报道中星形孢菌素的抗真菌活性类似。

表 1 化合物 1-3 的抑菌活性(抑菌圈大小, mm)

Table 1 The antibacterial activities of compounds 1-3 (inhibitory zone diameter, mm)

Compound	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>M. tuberculosis</i>	<i>M. luteus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>C. albicans</i>
1	0.6±0.2	3.5±0.3	5.6±0.7	2.1±0.7	1.2±0.1	ND
2	ND	ND	ND	ND	ND	ND
3	ND	ND	ND	ND	ND	4.1±0.8
G-418	1.8±0.3	11.6±1.1	7.9±0.4	6.4±0.9	7.9±0.7	ND
Nystatin	ND	ND	ND	ND	ND	10.2±0.6

注: ND: 未检测到抑菌活性; 数据代表 3 份独立实验的平均值和标准差

Note: ND: The antibacterial activities were not detected; The data represent the mean and standard deviation from triplicate independent experiments

从上述的研究结果看,海洋来源的链霉菌 MMHS020 菌株可产生大量有开发价值的活性代谢产物。除了上述分离的化合物外,本研究还从该菌株中分离得到了三羟基异黄酮和 3-吡啶甲酸等化合物,三羟基异黄酮被认为具有抗肿瘤、抗真菌、降血脂以及雌激素样作用^[25],而 3-吡啶甲酸可用于合成预防和治疗癌症化疗引起的恶心和呕吐的药物托烷司琼(Tropisetron)^[26]。此外,本研究还发现硅胶柱层析分离的其他组分中也存在一些对枯草芽孢杆菌、结核分枝杆菌和藤黄微球菌具有抑制活性的化合物,但可能由于含量低等原因未能分离到。由此可见,海洋链霉菌 MMHS020 菌株多样与独特的代谢特征使得其具有新型抑菌制剂开发的潜力,同时也可作为医药前导化合物产业化开发的候选资源。

REFERENCES

- [1] Newman DJ, Cragg GM. Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019[J]. *Journal of Natural Products*, 2020, 83(3): 770-803
- [2] Zhang CS, Li WL. Marine microbiology: new opportunities and new challenges[J]. *Microbiology China*, 2018, 45(9): 1841-1842 (in Chinese)
张长生, 李文利. 海洋微生物学: 新机遇, 新挑战[J]. *微生物学通报*, 2018, 45(9): 1841-1842
- [3] Mayer AMS, Rodríguez AD, Tagliatalata-Scafati O, Fusetani N. Marine pharmacology in 2009-2011: marine compounds with antibacterial, antidiabetic, antifungal, anti-inflammatory, antiprotazoal, antituberculosis, and antiviral activities; affecting the immune and nervous systems, and other miscellaneous mechanisms of action[J]. *Marine Drugs*, 2013, 11(7): 2510-2573
- [4] Leal MC, Anaya-Rojas JM, Munro MHG, Blunt JW, Melian CJ, Calado R, Lürig MD. Fifty years of capacity building in the search for new marine natural products[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2020, 117(39): 24165-24172
- [5] Hewage RT, Aree T, Mahidol C, Ruchirawat S, Kittakoop P. One strain-many compounds (OSMAC) method for production of polyketides, azaphilones, and an isochromanone using the endophytic fungus *Dothideomycete* sp.[J]. *Phytochemistry*, 2014, 108: 87-94
- [6] Romano S, Jackson SA, Patry S, Dobson ADW. Extending the "one strain many compounds" (OSMAC) principle to marine microorganisms[J]. *Marine Drugs*, 2018, 16(7): 244
- [7] English AL, Boufridi A, Quinn RJ, Kurtböke DI. Evaluation of fermentation conditions triggering increased antibacterial activity from a near-shore marine intertidal environment-associated *Streptomyces* species[J]. *Synthetic and Systems Biotechnology*, 2017, 2(1): 28-38
- [8] Yamazaki H, Rotinsulu H, Narita R, Takahashi R, Namikoshi M. Induced production of halogenated epidithiodiketopiperazines by a marine-derived *Trichoderma* cf. *brevicompactum* with sodium halides[J]. *Journal of Natural Products*, 2015, 78(10): 2319-2321
- [9] Alijah R, Dorendorf J, Talay S, Pühler A, Wohlleben W. Genetic analysis of the phosphinothricin-tripeptide biosynthetic pathway of *Streptomyces viridochromogenes* Tü494[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 1991, 34(6): 749-755
- [10] Chen TS. Manufacture and Application of Microbial Culture Medium[M]. Beijing: China Agriculture Press, 1995: 179 (in Chinese)
陈天寿. 微生物培养基的制造与应用[M]. 北京: 中国农业出版社, 1995: 179
- [11] Weisburg WG, Barns SM, Pelletier DA, Lane DJ. 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study[J]. *Journal of Bacteriology*, 1991, 173(2): 697-703
- [12] Chen S, Zhao R, Ding SY, Zhu K. Characterization of *Paenibacillus pabuli* and its antibacterial activity against Gram-negative bacteria[J]. *Microbiology China*, 2019, 46(10): 2665-2672 (in Chinese)
陈上, 赵瑞, 丁双阳, 朱奎. 一株类芽孢杆菌的分离鉴定及其抗革兰氏阴性菌活性测定[J]. *微生物学通报*, 2019, 46(10): 2665-2672
- [13] BeBoer C, Dietz A. The description and antibiotic production of *Streptomyces hygroscopicus* var. *geldanus*[J]. *The Journal of Antibiotics*, 1976, 29(11): 1182-1188
- [14] Ueki M, Suzuki R, Takamatsu S, Takagi H, Uramoto M, Ikeda H, Osada H. Nocardamine production by *Streptomyces avermitilis*[J]. *Actinomycetologica*, 2009, 23(2): 34-39
- [15] Mei RQ, Zuo FJ, Duan XY, Wang YN, Li JR, Qian CZ, Xiao JP. Ergosterols from *Ganoderma sinense* and their anti-inflammatory activities by inhibiting NO production[J]. *Phytochemistry Letters*, 2019, 32: 177-180
- [16] Wang C, Wang K, Jiang MG, Tan XC, Lei FH, Du FK, Qiu ZY, Sun KL. Isolation and screening of actinomycetes to produce antibiotic metabolites from Beibu Gulf nearby Guangxi[J]. *Natural Product Research and Development*, 2019, 31(7): 1170-1176 (in Chinese)
王聪, 王坤, 姜明国, 谭学才, 雷福厚, 杜方凯, 邱子言, 孙坤来. 广西北部湾放线菌的分离筛选及活性产物的鉴定[J]. *天然产物研究与开发*, 2019, 31(7): 1170-1176
- [17] Meyer JM, Abdallah MA. The siderochromes of non-fluorescent pseudomonads: production of nocardamine by *Pseudomonas stutzeri*[J]. *Microbiology*, 1980, 118(1): 125-129
- [18] Lee HS, Shin HJ, Jang KH, Kim TS, Oh KB, Shin J. Cyclic

- peptides of the nocardamine class from a marine-derived bacterium of the genus *Streptomyces*[J]. Journal of Natural Products, 2005, 68(4): 623-625
- [19] Zhu D, Deng YM, Zhang ZB, Yan RM, Wang Y, Yang HL. *Streptomyces* sp. and method for preparing two kinds of antibiotics utilizing same: CN, CN103642723A[P]. 2014-03-19 (in Chinese)
朱笃, 邓映明, 张志斌, 颜日明, 汪涯, 杨慧林. 一种链霉菌及利用其制备两种抗生素的方法: 中国, CN103642723A[P]. 2014-03-19
- [20] Zhang YM, Li HY, Hu C, Sheng HF, Zhang Y, Lin BR, Zhou GX. Ergosterols from the culture broth of marine *Streptomyces anandii* H41-59[J]. Marine Drugs, 2016, 14(5): 84
- [21] Castro A, Lemos C, Falcão A, Fernandes AS, Glass NL, Videira A. Rotenone enhances the antifungal properties of staurosporine[J]. Eukaryotic Cell, 2010, 9(6): 906-914
- [22] Tamaoki T, Nomoto H, Takahashi I, Kato Y, Morimoto M, Tomita F. Staurosporine, a potent inhibitor of phospholipid/ Ca^{++} dependent protein kinase[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 1986, 135(2): 397-402
- [23] Guan HY, Li Y, Zheng JZ, Liu N, Zhang JH, Tan HR. Important role of a LAL regulator StaR in the staurosporine biosynthesis and high-production of *Streptomyces fradiae* CGMCC 4.576[J]. Science China Life Sciences, 2019, 62(12): 1638-1654
- [24] Park HJ, Lee JY, Hwang IS, Yun BS, Kim BS, Hwang BK. Isolation and antifungal and antioomycete activities of staurosporine from *Streptomyces roseoflavus* strain LS-A24[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006, 54(8): 3041-3046
- [25] Citu C, Danciu C, Pinzaru I, Ghiukai R, Vlaia L, Vlaia V, Borcan F, Dumitru C, Pavel IZ, Sas I, et al. Genistein and its fatty acid esters as new *in vitro* antitumor compounds[J]. Revista De Chimie, 2015, 66(8): 1100-1104
- [26] Kranke P, Eberhart LH, Apfel CC, Broscheit J, Geldner G, Roewer N. Tropisetron for prevention of postoperative nausea and vomiting: a quantitative systematic review[J]. Der Anaesthesist, 2002, 51(10): 805-814

征 稿 简 则

1 刊物简介与刊登内容

《微生物学通报》是由中国科学院微生物研究所和中国微生物学会主办, 以微生物学应用基础研究及技术创新与应用为主的综合性学术期刊。本刊为月刊, 被中文核心期刊、中国科技核心期刊、CSCD 核心期刊收编, 曾获国家优秀科技期刊三等奖, 中国科学院优秀科技期刊三等奖, 并在新闻出版署设立的“中国期刊方阵”中被列为“双效”期刊。从 2012 年至今, 本刊以国内“微生物、病毒学类期刊”综合评价总分第一而蝉联“百种中国杰出学术期刊奖”, 而且入选 300 种“中国精品科技期刊”, 成为“中国精品科技期刊顶尖学术论文(F5000)”项目来源期刊。

本刊刊登内容包括: 工业、海洋、环境、基础、农业、食品、兽医、水生、药物、医学微生物学和微生物蛋白质组学、功能基因组、工程与药物等领域的最新研究成果、产业化新技术和新进展, 以及微生物学教学研究改革等。设置的栏目有: 研究报告、专论与综述、生物实验室、高校教改纵横、专栏等。

2 投稿方式

投稿时请登录我刊主页 <http://journals.im.ac.cn/wwxtbcn>, 点击作者投稿区, 第一次投稿请先注册, 获得用户名和密码, 然后依照提示提交稿件, 详见主页“投稿须知”。

3 写作要求

3.1 来稿要求论点明确, 数据可靠, 简明通顺, 重点突出。

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

3.3 关键词: 应明确、具体, 一些模糊、笼统的词语最好不用, 如“基因”“表达”等。

3.4 脚注(正文首页下方):

Foundation items:

*Corresponding author: Tel: 86-; E-mail:

Received: 01-01-20xx; Accepted: 01-03-20xx; Published online: 31-03-20xx

基金项目: 基金项目(编号)

*通信作者: Tel: ; E-mail:

收稿日期: 20xx-01-01; 接受日期: 20xx-03-01; 网络首发日期: 20xx-03-31

(下转 p.2088)