

海洋微生物的生物活性物质研究

STUDY ON BIOLOGICAL ACTIVE MATTER OF MARINE MICROORGANISM

周世宁 林永成 姜广策

(中山大学 广州 510275)

1 开发海洋微生物的意义

在世界医药产品中,由微生物制备的产品起着举足轻重的作用。由于抗药性问题越来越严重,过去几十年曾一度被控制住的一些疾病又开始迅速蔓延。寻找新的抗菌药物被认为是今后若干年的迫切任务。

从陆地微生物中探查筛选药物的工作,一直没有停止过。与此同时人们注意到了另一个极有前景的药物新来源,这就是海洋微生物。

长期以来,人们认为海洋没有生物演变的先决条件,因此推测海洋生物物种不会多。然而最近的调查结果表明,海底环境的生物多样性比得上陆地上物种最多的热带雨林。对比陆地生物,海洋生物被研究的数目要少得多。在过去 10 多年中已从海洋生物中分离到数百种有机化合物,其中近百种属世界上首次发现^[1]。有的化合物结构奇特,在陆地生物中从未发现过。不少具有降血压、抗心律失常、抗癌、消炎等活性。国外的研究人员也从海洋细菌、放线菌和真菌中分离到一批具抗癌、抗病毒和抗肿瘤的活性物质,有的结构罕见。过去从海绵等海洋生物分离到的很多具有强生物活性的化合物,例如河豚毒素、海葵毒素、麻壳鱼毒素、石房蛤毒素及 Discodermide 等,现在发现其真正来源是海洋微生物。这样,此类物质的大量工厂化生产有了希望。

海洋生态环境与陆地很不一样,成分复杂而高盐度的海水、极端的温度和压力、特殊的光照特征以及不同生物之间的关系都可能是产生不同于陆地来源的特殊产物的诱因。

2 源于海洋微生物的生物活性物质

Brard 和 Meadowcroft^[2]以及 ZoBell^[20]发现了海水的杀菌作用。Grein 和 Meyers^[6]发表了海洋放线菌

产生抗菌素的报告。目前已报告了 10 多属海洋细菌,几种海洋真菌以及一些微藻类能够产生有用的活性物质。

放线菌中的链霉菌在已知的产抗生素的海洋微生物中占的比例最大^[7,8,17],这与陆地微生物的情况相似,其次是 *Alteromonas*^[5,15]、着色菌 (*Chromatium*)^[13]、弧菌 (*Vibrio*)^[4]、黄杆菌 (*Flavobacterium*)^[18] 等属细菌,目前仅发现曲霉、青霉等几种真菌产活性代谢物。

迄今已从海洋微生物获得数十种有较强生物活性的化合物。

此外,海洋微生物可以产生热稳定的耐盐的酶以及有应用前景的酶抑制剂如 Cathestatin,可用于治疗骨病^[14]。其中从嗜盐或耐盐菌产生的细菌视紫红质和生物塑料,就是两种具有广阔应用前景的海洋产品。视紫红质能把光信号转成电信号^[19],科学家准备把它用于制作新型计算机的生物芯片,它也可用于制作生物传感器装配于各类机器人。生物塑料则具有耐盐、防水,生物相容性及生物可降解性,因此不但适应环保的需要,且可用作体内给药和外科手术需要的置于体内的材料^[13]。

3 海洋微生物活性物质的化学特性

与来自其他海洋生物的生物活性物质相类似,海洋微生物活性物质的一大特征是富含卤素。由 Burkholder 等在 1966 年最早报道,从海藻表面的细菌分离到的海洋微生物代谢产物是具有很好抗菌作用的高度溴化的吡咯化合物,它的含溴量高达 70 % (重量计),揭示了海洋细菌具有把溴引进有机化合物的能力。

日本 Tokyo 研究组从放线菌 *Streptomyces griseus*

收稿日期:1996 年 4 月 22 日

分离到一些更加不寻常的化合物 *Aplasmomycins A-C*。在络合中心出乎意料地含有 1 个硼原子^[7]。

最近从海洋细菌 *AIteromonas luteoviolacea* 又发现了几种复杂的肽类化合物。它们显示了异常的对铁离子的亲和力($K_a=10^{49}\sim 10^{53}$)^[11]。

表 1 海洋微生物来源的活性物质

海洋微生物	活性物质	作用
<i>AIteromonas</i>	<i>isatin</i>	抗真菌
<i>AIteromonas</i>	含溴化合物	抗细菌、抗真菌
<i>AIteromonas</i> sp.	<i>Marinostatins</i>	酶抑制剂
<i>AIteromonas</i> sp.	<i>AIteramide</i>	抗肿瘤
<i>A. haloplanktis</i>	<i>Bisucaberin</i>	增强免疫
<i>Chainia purpurigena</i>	<i>Benzanthraquinone</i>	抗肿瘤、抗细菌
<i>Chromatium purpuratum</i>		抗真菌
<i>Flavobacterium uliginosum</i>	<i>Marinactam</i>	抗肿瘤
<i>Moraxella</i>	<i>saxitoxin</i>	麻 剂
<i>Moraxella</i>		抗病毒
<i>Pseudomonas</i>	α - <i>n</i> - <i>pentylquinolind</i>	抗细菌
<i>Streptomyces griseus</i>	<i>Aplasmomycins</i>	抗 G ⁺ 菌、抗疟疾
<i>S. sioyensis</i>	<i>AItermicidin</i>	抗细菌、抗肿瘤、抗螨
<i>S. tenjimariensis</i>	<i>Istamyacin</i>	抗细菌
<i>Streptomyces</i>	<i>Octalactins</i>	抗肿瘤
<i>Streptomyces</i>	<i>Ulrauchimycins</i>	抗真菌
<i>Streptomyces</i>	<i>Antimycin</i>	抗真菌
<i>Streptomyces</i>	环肽	抗细菌
<i>Streptomyces</i>	寡霉素衍生物	抗肿瘤
<i>Vibrio</i>	<i>Bis(dibromophenyl) ether</i>	抗细菌
<i>V. anguillarum</i>	<i>Anguibactin</i>	铁传递
革兰氏阳性细菌	<i>Cuprolactams</i>	抗病毒、抗肿瘤
深海细菌	<i>Macrolactin</i>	抗病毒、抗肿瘤
细菌 SCRC-OB16	<i>Cathestatins</i>	抑制组织蛋白酶
<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Quinazolin</i>	抗肿瘤
<i>Leptosphaeria obiones</i>	<i>Obionin</i>	抗肿瘤
<i>Penicillium fellutanum</i>	<i>Lipophilic tripeptides</i>	抗肿瘤

海洋微生物代谢产物的另一特色是产生很多结构奇特的大环内酯化合物。*Macrolactins* 是从深海细菌分离的一组抗菌、抗病毒、抗肿瘤的化合物,共 6 种,是罕见的 24 元环内酯,含有 6 对两两共轭的烯键。最近从海洋真菌中也分离到几种异常的大环内酯。例如 *Trichoharzin*,是具有细胞毒性的化合物^[9]。

4 海洋微生物的分离培养

海洋微生物可以从海水、海洋沉积物和海洋动植物中得到。目前,人们只能使海洋微生物中的 5 % 左右培养成功。在海湾环境中,海水及沉积物的含菌量常在 $10^2\sim 10^6$ CFU/mL。海底沉积物一般含有比海水多的微生物。海洋动植物含有多种微生物,从中可以分离到有用的菌株。据估计海绵中共生微生物占了海绵体积的 40 %,可从中分离到包括放线菌在内的各种细菌。已发现的 500 种海洋真菌中,有 1/3 是从红树林分离的。

平板涂布法常用于一般的分离。在分离放线菌时,有的人使用了预处理的办法^[10]。

海洋微生物的培养基一般含有酵母膏、蛋白胨、NaCl 及微量元素。培养放线菌或真菌时常常增加糖类

最近报道了从两种高温 *Thermococcus* *tad-juricus* 和 *T. acidaminovorans* 分离 23 种环状多硫化物,其中有 2 种为主要的代谢产物^[12]。此外,从海洋细菌 *AIteromonas rava* sp. 中分离到另一种独特的含硫化物,具有很强的抗菌活性^[16]。

物质。对于以产生代谢产物为目的的发酵培养基,需随菌种及产物类型而变化,如以制取 *bisucaberin* 为目的时,*AIteromonas* 的发酵培养基需添加沙丁鱼和乌贼粉,且用麦芽糖作主要碳源;又如放线菌 *Chainia purpurigena* 产生 *benzanthraquinone* 的培养基需加一种称 *Kobucha* 的海草粉。目前使用的蛋白胨、糖类等并不是海洋环境中实际存在的物质,它们对于培养海洋微生物是否最合适值得研究。培养基是否提高可培养菌数量的重要因素,亦需探索。

5 海洋微生物的生物活性检测

筛选具抗菌活性的微生物取用常规的微生物学方法是有效的,对于抗病毒和抗肿瘤微生物的筛选方法相对繁琐,对于其他方面的生物活性如抗氧化作用、心血管效应、护肝功能等的检测需要更专业的处理。

对受试菌抑制效果的测量是常用的评价抗菌活性的方法。受试菌可用葡萄球菌、假单胞菌和大肠杆菌,酵母可用于抗真菌活性检测。抗病毒活性常通过病毒的幸存率评价。抗肿瘤活性的检测以肿瘤细胞作试验对象,IMC, L1210 或 P-388 等肿瘤细胞株在专门的、

添加了待检物的培养基中培养,然后测量细胞生长被抑制的情况以作出评价。有人在初筛实验中,选用海水虾作试验对象,然后再用肿瘤细胞或动物试验验证。

参考文献

- [1] 中山大学组编,1993. 龙康侯选集 中山大学出版社。
- [2] Beard, P. J. and Meadowcroft, N. F., 1935. *American Journal of Public Health* 25: 1 023-1 026.
- [3] Burgess, J. G. *et al.*, 1991. *FEMS Microbiology Letters*, 84: 301-306.
- [4] Elyakov, G. B. *et al.*, 1991. *Experientia* 47: 632-633.
- [5] Gil-Turnes *et al.*, 1989. *Science* 246: 116-118.
- [6] Grein, A. and Meyers, S. D., 1958. *Journal of Bacteriology* 76: 457-463.
- [7] Hotta, K. *et al.*, 1980. *The Journal of Antibiotics* 33: 1 515-1 520.
- [8] Imamura, N. *et al.*, *The Journal of Antibiotics* 46: 241-246.
- [9] Pisano, M. A. *et al.*, 1986. *Applied Microbiology Biotechnology* 25: 285-288.
- [10] Reid, R. T. *et al.*, 1993. *Nature* 366: 455-458.
- [11] Ritzau, M. *et al.*, 1993. *Liebigs Ann. Chem.* 8: 871-876.
- [12] Rodríguez-Valera, F. and Lillo, J. G., 1992. *FEMS Microbiology Reviews* 103: 181-186.
- [13] Seitaï, Tsuji, T. and Kondo, S., 1995. *Chemical Abstract* 122: 289054.
- [14] Shigemori, H. *et al.*, 1992. *J. Org. Chem.* 57: 4 317-4 320.
- [15] Shiozawa, H. *et al.*, 1993. *The Journal of Antibiotics* 46: 1 834-1 839.
- [16] Takahashi, A. *et al.*, 1989. *The Journal of Antibiotics* 42: 1 556.
- [17] Umezawa, H. *et al.*, 1983. *The Journal of Antibiotics* 36: 471-477.
- [18] Vsevolodov, N. N. and Dyukova, T. V., 1994. *Trends in Biotechnology* 12: 81-88.
- [19] ZoBell, C. E., 1936. *Proceedings of the Society of Experimental Biology and Medicine* 34: 113-116.