

海洋丝状真菌生物活性物质研究进展*

ADVANCES IN BIOACTIVE COMPOUNDS PRODUCED BY MARINE FILAMENTOUS FUNGI

汪天虹¹ 肖天² 朱汇源¹ 汪浩¹¹ 山东大学微生物技术国家重点实验室 济南 250100)² 中国科学院海洋研究所 青岛 266071)

自然界中存在的天然产物具有丰富的多样性和复杂的化学结构,是筛选具有不同生物学活性的新颖化合物最丰富的资源,而这些天然产物具有一定活力。从历史上看,微生物起源的生物活性产物多数来自陆栖细菌的一个分类组——放线菌 *Actinomycetales*,而许多医药产品,尤其是工业用酶则常常来自陆栖真菌。随着发现新的生物活性物质的速度不断下降,很明显,必须开辟天然生物活性产物新的来源。自60年代以来,开始了对海洋生物资源的研究,海洋生物作为一个分离新颖物质的丰富资源令人振奋。起初,海洋天然产物研究领域主要集中于研究来自海藻和无脊椎动物的代谢产物的化学特性,1995年Faulkner报道共计发现了多达3700个新的天然产物。这一研究现在已扩展到海洋微生物。毫无疑问,作为可再生资源,海洋微生物可持续为我们提供具有复杂性和多样性的新型代谢产物。世界海洋所占面积是陆地面积的2.5倍。海洋环境包括了高压、低温、无光照、局部的高温、高盐等生命极限环境,以及从营养丰富区到只有微生物能生存的营养匮乏区等等,生态环境非常复杂而多样。因此,来自海洋的微生物,大多是适应了极端或特殊环境的微生物,它们在长期的进化中,发展了独特的代谢和生理能力,并能产生陆地微生物所没有的代谢产物。这类化合物为抗菌素或具有其他生物活性的物质,因而海洋微生物是开发新颖生物活性物质极好的天然资源。

真菌是通过吸附于有机物质上进行渗透营养生长的异养真核生物。丝状真菌作为低等真核生物,既具有真核生物典型的蛋白修饰性能,又具有微生物操作上简便、快速的优点,作为新的真核生物表达系统具有巨大的潜能和广阔的应用前景。许多丝状真菌是重要的工业生产菌株,被广泛用于多种酶制剂、抗生

素、有机酸等的生产。此外有些丝状真菌还是农作物致病菌。现已发现的海洋真菌中高等真菌主要包括担子菌纲(Basidiomycota)、子囊菌纲(Ascomycota)、半知菌类(Deuteromycetes)等,较低等真菌包括壶菌亚纲(Chytridiomycota)和接合菌亚纲(Zygomycota)等。许多海洋真菌是抗生素和多种生物活性物质的产生菌,如重要的抗生素头孢菌素C最初就是由Brotzu于1945年在采自Caliani之类水集流管附近的海水标本中分离到的顶头孢霉中发现的。海洋微生物相对于陆栖微生物而言,对其研究与开发报道要少得多。据估计,所研究和鉴别过的海洋微生物不到整个海洋微生物的5%^[1]。据Okutani 1977年报道,迄今所报道和研究过的海洋真菌约有1000~2000个种。按5%估计,未被研究的海洋真菌的种类至少有20000~40000种以上。如此巨大的海洋资源尚未得到研究与开发利用,由此可见开展海洋真菌多样性研究的重要性与迫切性。

1 海洋真菌研究现状

自1929年发现青霉素G以来,陆栖真菌已成为主要的医药产品的来源。但是对海洋真菌研究相对很少。直到1991年,只对321种海洋真菌进行了相关研究。相比较,同期研究过的陆栖真菌已达69000种。

在这一领域最早期的研究报道是由一种木素色子囊菌 *Leptosphaeria omeensis* 培养物中分到的一个小内脂 *Leptosphaenin*,该菌常见栖息在水淹的木头表面。为比较同一环境组种间的化学相似性,Strogman

* 国家863计划资助项目819-01-03号。

收稿日期:2000-12-25;修回日期:2001-03-18

1987年比较了27株木素色子囊菌的抗真菌活力,发现所有的27株菌除了产Obionine和Oreamarin外,都产倍半萜二元醇大镰刀孢菌素,另外其中4株菌还产生抑制性物质。由这些工作推测,化学防御是木素色真菌为竞争底物的一个重要的适应性。在70年代后期,Okutani等1977年报道从海洋真菌*Aspergillus* sp.中分离到抗细菌毒素——胶霉毒素Giotoxin。几年后,Shin和Fenical 1987年从海洋真菌*Asteromyces cenciatus*中分离到与胶霉毒素结构类似的Giovictin。Kupka等1981年从*Halocyphina villosa*中分离到一种抗生素,为炔属氢醌千蠕孢菌素的衍生物。而第1次对深海海洋真菌的化学研究报告,应是1988年意大利Guerniero等进行海洋半知菌类*Dendryphiella salina*发酵,从发酵物中分离到主要的代谢物倍半萜类化合物Dendryphiellin A,随后又从中陆续分离到相关的代谢物Dendryphiellin B, D和E。

1991年Poch等从以前未进行过研究的*Kirschsteiniothelia*中分离到一系列化学结构上类似的萜醌,二聚体Kirschsteinin和两种新的氯化二萜酯。二聚体Kirschsteinin的两个不对称单体之间通过亚乙基桥连结,这类化合物对金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌有抑制作用,并对几种人肿瘤细胞系细胞有毒性。这个试验组还从海洋真菌*Leptophaeia obiones*中分离到一种新的多肽Obionin,这是一种耐盐的担子菌,分离于盐沼泽草*Spartina alterniflora*。Obionin A抑制多巴胺D1-选择性配体与中枢神经系统膜的结合,Poch和Gør从海洋真菌*Helicascus kanaloanus*分离到内脂Heliacolides A和B。此外,各个试验室还陆续报道从*Pneissia aurantaica*中分离到对枯草杆菌和金黄色葡萄球菌有抑制作用的抗生素Auranticin A,还从培养物中分离到一种二元酸Hymenoscyphin A。

1991年,日本Sugano报道从海洋动物中分离了一批能产生新化合物的真菌。由螃蟹*Chionoectes opilio*上分离到的*Phoma* sp.可以产生Phomactins。Shigemori 1991年由海洋鱼类*Aygon endekataenia*的内脏中分离到的*Penicillium fluitanum*产生脂肽——Fellutanides A和B,这类化合物具有细胞毒性,并显示对神经生长因子的刺激作用。Numata 1991年报道由*Pseudolabrus pabonicus*鱼内脏中分离到的*Aspergillus fumigatus*可产生3种具细胞毒性的喹啉衍生物——Furmiquinazolines A, B和C。Takahashi等1995年报道了从海洋藻类*Sargassum tortile*表面分离到丝状真菌*Leptospharia* sp.,产生一种新的Leptosins,为Chaetocin的

衍生物。

Cheng等从印度洋海绵*Jaspis* aff. *Johnstoni*上分离到真菌*Hyphomycetes*。从其发酵产物中分离到三环倍半萜类化合物Coridin B, Dehydrocoridin C, Chloridines A和C。Chloridines为氯代二环或三环倍半萜类化合物。Coridin B和Dehydrocoridin C以前曾从陆栖木腐担子菌*Coniolum consors*中分离到。据Cheng等1994年报道,Coridin B对人体乳房和CNS细胞系有强烈的抑制作用,IC₅₀值分别为0.7和0.5 μmol/L。通过对哺乳动物细胞循环抑制剂的筛选,Cui等1996年分离了一种新的2-苯并呋喃酮,在C3位置带有一个丙酮基,称为丙酮基2-苯并呋喃酮(Acetophthalidin)。Acetophthalidin是由采自日本miho海底污泥样品中分离的青霉*Penicillium*所产生的。

Fukumaki等人1994年报道从Sagami海湾1200 m深处海底污泥样品中分离到一株耐有机溶剂的酵母,经鉴定为念珠菌属(*Candida* sp.)。该菌株在有机溶剂如50%(v/v)正辛烷、异辛烷、环辛烷和煤油中生长良好。在高浓度有机溶液中能够生长的微生物对于加工水不溶性产品或是进行两相(水相-有机相)发酵是很有用的。

Kagata等^[2]从日本Okinawan海洋双壳贝*Mtilus consocius*上所分离的丝状真菌青霉中分离到一种新的代谢产物Coruscol A;采用MS和NMR技术,Afiyatullo^[3]等从海黄瓜上分离的真菌*Arenarium stnatisporum* KMM 4401菌株中分离到两种新的二松油烯糖苷酶Virescensides M和N。Christophersen C.等^[4]从海洋动物、植物和海底沉积物中分离了227种真菌,用不同的培养基培养后提取无细胞抽提物通过HPLC分离、鉴定代谢产物。其中7株真菌的提取物对*Vibrio parahaemolyticus*有活性,55种提取物对*Staphylococcus aureus*有活性,它们均来自8个子囊菌属的17种不同的真菌。61株*Penicillium citrinum*的抗细菌活性与提取物中次级代谢产物的含量呈正相关。Namikoshi^[5]从热带和亚热带海洋珊瑚礁上采集的真菌的代谢产物中分离到两种新的化合物Paecilospirone和Phomopsidin,对其特性进行了分析,并对以海洋真菌作为具生物活性的次级代谢产物来源的可能性进行了讨论。

除了从海洋真菌培养物中分离新的医药品和代谢产物之外,近几年来,对海洋真菌所产酶类的分离与克隆已有所报道,如Burtseva^[6]报道从海洋丝状真菌*Chaetomium indicum*液体培养物中分离到多种糖苷

酶和葡聚糖酶。

鉴于海洋真菌重要性,中国科学院海洋研究所和山东大学微生物技术国家重点实验室近年来已开展海洋真菌的研究工作。对海洋真菌的分离、培养及其代谢产物的筛选等研究工作目前正在进行,已从深海海底沉积物样品中分离到若干株海洋真菌,目前正在对菌株的生长特性与低温水解酶学性质等进行研究;进一步分离具生物活性的次级代谢产物的工作正在进行中。

虽然对海洋真菌已开展了一些研究,并从其代谢产物中已分离到若干新颖、有价值的抗生素与生物活性物质,但从总体上看,对海洋真菌的研究相对于海洋细菌的研究还是要薄弱得多,所研究的种类相对于陆栖真菌更是无法相比(见上述)。近年来,现代科技的飞速发展,尤其是现代生化分离技术和波谱分析技术的长足进步,使得分离鉴定一个化合物进而确定其化学结构相对变得不再那样困难。另外,对海洋真菌(当然对其他海洋微生物亦然)培养的一个主要问题是难以重现该菌株在原采集地特定的培养和生长条件。随着生化技术的发展,这些问题正在逐步得到解决。

2 海洋真菌研究展望

海洋是一个巨大而丰富的生物资源库。海洋生物技术作为海洋生物资源开发利用的关键技术,蕴藏着巨大的潜力,是 21 世纪海洋经济腾飞的支柱之一。海洋生物技术的发展将对传统的食品、医药、化工、能源和环保的发展必将产生深远的影响。深入开展对海洋真菌的研究,了解海洋真菌的多样性,无论从基础理论研究本身,亦或从应用前景考虑,都具有重要意义。对海洋生物大分子, DNA, RNA 和蛋白质的深入研究,有助于揭示海洋这个生命摇篮的秘密,了解生物进化的过程;另一方面利用海洋真菌生态环境的复杂和多样性,生产各种种类繁多、结构新颖且生理活性独特的海洋天然产物,包括药品、食品、饲料、色素、信息传递物质、酶、辅酶、酶抑制剂和激活剂等等与人类生产、生活密切相关的产品,如各种医药产品和耐受高压、高盐、低温的各种具有特殊性能的

酶类,无疑是海洋真菌研究与开发的主要方向。现代生物技术手段——细胞培养技术、基因工程技术以及真菌遗传工程的迅速发展,使我们可以分离各种有价值的海洋药物和酶类,在分子水平上分离和保存有价值的基因,研究基因表达调控和代谢调控的规律,甚至进一步构建人类所需的具有新性状的工程菌去生产人类所需的产品。这是一个富有旺盛生命力的新兴产业。利用基因工程技术,利用适宜的海洋真菌作为宿主,生产人类所需的药品与生物活性物质,较之利用原核系统更有其独特的优点。当采用原核系统生产来自真核生物的基因产物时,原核系统常常存在转录后不能正确地加工、修饰和进行糖基化等缺陷,因而产物可能存在生物活力较低或无活力的问题。另外我们也可以设想,把陆地上有价值的药用基因转移到海洋真菌中表达;同样也可把分离出的海洋真菌的药用基因转移到海水养殖生物中去表达。这样不但解决了海洋天然生理活性物质的药源问题,而且还会开发出一些新药源,这将带动现代养殖业的纵深发展。

总之,海洋真菌多样性研究是研究海洋生物多样性研究的重要的、不可缺少的组成部分。海洋真菌研究与开发的前景是光明远大的。加大对海洋真菌研究的投入,加快对海洋真菌研究的步伐必将有利于推进对海洋开发的深度和广度,并希望成为 21 世纪海洋生物技术产业的重要组成部分。

主要参考文献

- 1 Berman V. S., Greenstein M., Maiese W. M. . *Advanced in Applied Microbiology*, 1997, 43 : 57 ~ 90
- 2 Kagata T., Shigemori H., Mkami Y. *et al.* . *J. Nat. Prod.*, 2000, 63(6) : 886 ~ 887
- 3 Afiyatullo S. S., Kuznetsova T. A., Isakov V. V. *et al.* . *J. Nat. Prod.*, 2000, 63(6) : 848 ~ 850
- 4 Christophersen C., Crescente O., Frisvad J. C. *et al.* . *Mycopathologia*, 1998 ~ 1999, 143(3) : 135 ~ 138
- 5 Namikoshi M., Kobayashi H., Yoshimoto T. *et al.* . *Chem. Pharm. Bull.*, 2000, 48(10) : 1 452 ~ 1 457
- 6 Burtseva Y. V., Sova V. V., Pivkin M. V. *et al.* . *Biochemistry*, 2000, 65(10) : 1 175 ~ 1 183

(本文编辑:刘珊珊)