

微生物学报 *Acta Microbiologica Sinica*
51(2):161-169; 4 February 2011
ISSN 0001-6209; CN 11-1995/Q
<http://journals.im.ac.cn/actamicrocn>

海洋放线菌研究进展

田新朋^{1,2}, 张偲^{1*}, 李文均^{2*}

¹ 中国科学院海洋生物资源可持续利用重点实验室, 中国科学院海洋微生物研究中心, 广东省海洋药物重点实验室, 中国科学院南海海洋研究所, 广州 510301

² 云南大学省微生物研究所, 教育部微生物多样性可持续利用重点实验室, 昆明 650091

摘要: 海洋放线菌因其产生独特的次生代谢产物而备受世界的关注。本文以海洋放线菌的研究历史为主线, 综述了海洋放线菌研究的发展历程, 海洋放线菌的概念、生物资源、多样性及其分布状况、次生代谢产物以及基因组研究等方面, 探讨了其生态功能, 最后展望了我国海洋放线菌研究存在的问题及未来发展的前景。

关键词: 海洋放线菌, 次生代谢产物, 生物资源, 多样性

中图分类号: Q938 **文献标识码:** A **文章编号:** 0001-6209 (2011) 02-0161-09

丰富多样的海洋沉积环境, 蕴含着极其丰富的海洋生物资源, 是人类的宝贵财富, 如何合理开发利用这些资源是目前面临的重大研究课题。虽然多个临海国家把目光集中到这个尚未开启的、巨大的资源宝库, 但对其中生物资源的研究开发仍处于初期阶段。海洋微生物特别是深海极端环境中重要的生物资源, 因其独特的生物学特性和生态功能, 而逐步受到重视。放线菌是一类具有高 G + C 含量的革兰氏阳性细菌, 因产生丰富的活性次生代谢产物而著名, 它是海洋微生物中一个重要的类群, 广泛分布在海洋各种环境中, 如近岸、浅滩、海洋动植物体内、海水、深海沉积物、海雪、海底沉积物深层以及海底冷泉区、结核矿区等。近岸和红树林沉积以及浅海动植物等采样容易的海洋环境放线菌研究相对较多, 并有一定研究历史和深度。特别是海绵共附生放线菌, 目前已经发现丰富的类群, 并从中发现大量活性次级代谢产物。2000 年后海洋放线菌的研究受到

极大的关注, 特别是海洋“土著”放线菌 *Salinispora* 及其高效抗肿瘤活性次级代谢产物 salinisporamide A 的发现, 强烈地吸引着各个相关领域的研究者。目前国内对海洋放线菌研究的关注程度仍然有限, 本文就海洋放线菌研究方面做一综述。

1 海洋放线菌研究历史和概念

海洋沉积环境微生物研究的历史比较久远^[1], 1884 年 Certes 从 Talisman 海洋调查远征队采集到的一些深海(达 5100 米)沉积物中分离到细菌菌株。1894 年德国的 Fischer 从深海分离到细菌菌株, 并推测深海细菌在海洋物质循环、能量流动中可能扮演着重要的角色。早期研究非常少, 主要是对微生物进行简单的分离和培养, 由于培养和采样等条件的限制, 有关深海微生物的研究在长达 80 年的时间里一直仅停留在简单的描述水平上。1946 年, 美国 ZoBell 的《海洋微生物学》一书问世, 促使海洋

基金项目: 国家“973 项目”(2010CB833801); 国家自然科学基金项目(40906075, 40906076); 中国科学院创新项目(KSCX2-YW-G-073, KSCX2-YW-G-065 和 KSCX2-YW-Z-1018); 中国科学院南海海洋研究所青年人才领域前沿项目(SQ200901)

* 通信作者。张偲, Tel/Fax: +86-20-89023103, E-mail: zhsimd@sesio.ac.cn; 李文均, Tel/Fax: +86-871-5033335, E-mail: wjli@ynu.edu.cn

作者简介: 田新朋(1980-), 男, 河南人, 助理研究员, 博士, 从事海洋微生物资源及生态学研究。E-mail: xinpengtian@sesio.ac.cn

收稿日期: 2010-08-20; **修回日期:** 2010-11-19

微生物的研究进入以生理、生态为基础的阶段。1959年以后,苏联学者克里斯连续出版著作,首次系统地提出海洋微生物学的研究设想。1961年国际海洋微生物学讨论会的召开,标志着以海洋细菌研究为主的海洋微生物学已成为独立的学科。随着海洋微生物学学科的建立以及各国对海洋探测计划的实施,海洋微生物研究不断深入,特别是研究方法和技术不断得到完善,如采样器、高压、厌氧培养罐的出现、更新等,都极大的推动了海洋微生物的研究。

伴随着海洋微生物的研究,海洋放线菌的研究也缓慢逐渐地得到发展深入。1926年Aronson描述了*Mycobacterium marinum*新种;1944年ZoBell和Upham从海泥里分离出2个*Actinomyces*新种;1946年Humm和Shepard分离到3株琼脂分解放线菌,其中2株*Proactinomyces*和1株*Actinomyces*。同年ZoBell在《*Marine microbiology*》一书总结了海洋来源的放线菌包括了*Mycobacterium*, *Actinomyces*, *Nocardia*和*Micromonospora*4个属。1954年Freita和Bhat分离到海洋*Nocardia*和*Streptomyces*。1956年出版的《*Bergey's manual*》记录了4株海洋来源的放线菌,其中2株*Nocardia*,1株*Streptomyces*和1株*Mycobacterium*。前人对海洋放线菌的研究,主要证实了放线菌在海洋中的存在,简单记录了在不同海洋环境中的放线菌数量和分布,并以简单的形态描述进行分类。由于对海洋放线菌是否是海洋土著类群存在着争论^[2],因此后来这些描述的物种均未被认可。

海洋是一个开放的环境,与陆地等通过风、雨、河流等密切相连,因此对海洋放线菌来源问题一直存在着争议^[2]。有些研究人员认为海洋环境中本身就自然存在着放线菌类群,但并没有足够的证据证明这一观点。而另一些研究人员认为海洋环境中不存在固有的“土著”类群,其中的放线菌是由各入海河流从陆地携带进入海洋的,流入海洋环境后它们有些以孢子形态存在,能耐受海洋环境而继续生存,繁衍;而有些不能耐受海洋环境的则处于休眠状态或死亡。证据一是因为他们发现随着海岸距离的增加,海洋环境中放线菌的数量是逐渐减少的,但此证据并不能排除距离陆地很远的远海具有海洋原著放线菌类群。证据二是*Thermoactinomyces*(原属于放线菌门,现为厚壁菌门)的内生孢子通过海流能传递到远海,支持“海洋中不存在土著类群”的

观点。

直到1982年Nesterenko发表*Rhodococcus maris*(1995年更名为*Dietzia maris*)和1984年由Helmke和Weyland发表的*Rhodococcus marinonascens*海洋放线菌新的分类单元,因其独特的海水生长依赖特性才逐渐缓解了海洋放线菌是海洋来源还是陆源污染的长期争论。2002年Mincer等^[3]发现大量必须在添加海水的培养基才能生长的新放线菌类群;此外2005年Jensen等^[4]从关岛附近采集的274份样品中分离到6425株放线菌,发现其中的58%需要添加海水才能生长,显示出其明显的海洋适应性与依赖性,有力地证明了海洋放线菌的“海洋土著”的生理特性,海洋放线菌的研究从此才真正展开。但是目前仍旧有许多研究人员认为使用“海洋来源的放线菌”来定义海洋放线菌比较合适。

对于地球这个生命星球来讲,微生物存在于任何一个开放的环境。由于微生物的微小,可随风或各种流体移动,使得各种环境中微生物都存在着一定程度的交叉,对于微生物来讲整个地球只是一个完整的“大”生存环境,各“小”环境之间早已失去了严格的界限。对于每个原始或极端环境,都会有其土著居群,但早期外源污染的微生物,部分类群经过长期的适应与进化使其自身能够耐受其所处新环境并生存下来,今天我们仍旧将其称为该环境的“土著”居群。因此,笔者认为对海洋环境是否存在海洋放线菌土著类群的争议并没有太大的科学意义。

2 海洋放线菌资源分布

2.1 数量

海洋环境中可培养放线菌的数量和类群都低于陆生环境,海洋沉积环境中放线菌的数量随着海洋深度的增加呈下降趋势。在不同深度沉积环境中放线菌占可培养微生物的比例有较大的不同,表1^[5]。Bredholt等^[6]2008年报道在Trondheim Fjord区470m每克新鲜沉积样品中检测到 6.7×10^3 个放线菌。而Grossart^[7]从海雪中分离到50个菌株中,有5个为放线菌,占10%。另外,在海洋最深处的马里亚纳海沟(the Mariana Trench)10898米的沉积环境,利用常温、常压等分离条件,仍旧发现了6个属(*Dermacoccus*, *Kocuria*, *Micromonospora*, *Streptomyces*, *Tsakumurella*和*Williammsia*)^[8]的38株放线菌。

虽然海洋沉积环境中放线菌占纯培养微生物的

比例较低(表1),但通过DNA检测,已经证明海洋沉积环境存在丰富的放线菌类群^[9-10]。同时有数据显示在某些特殊海洋沉积环境中放线菌占据着优势地位,如在Gulf of Mexico^[11]和日本的南开海槽(Nankai Trough)水合物沉积环境中30% - 40%原核生物为放线菌类群^[12-13]。在Barcelona海表层水体中检测到放线菌占27%^[14]。也有资料^[15]显示在开放海域放线菌占总浮游生物的0 - 35%。目前丰富的资料表明环境中99%的微生物未得到培养,而海洋极端环境中可培养比例可能更低。

表1 不同深海沉积环境放线菌组成

Table 1 Culturable actinobacteria in marine sediments

Depth /m	Actinobacteria/%		
	Weyland (1981)	Goodfellow (1984)	Takizawa (1993) Colquboun (1998)
0 - 200	0.06 - 6.0	0.04 - 2.00	0.2 - 9.0
200 - 2000	0.1 - 17(60a)		<0.01 - 0.4(65b)
2000 - 6000	4.7 - 14(26c)	0	
>6000		0.8	

a, North Atlantic Ocean; b, Okinawa Trough; c, Bay of Biscay.

2.2 放线菌物种资源及生物多样性

目前已发现的36个门的生物有34个门在海洋环境中均有分布,而陆生环境仅有其中的17个门存在,显示出海洋环境丰富的生物多样性。这些数据大多数是大型海洋动植物以及原生生物统计的结果,而对海洋环境特别是深海环境微生物的研究,截止到目前,仍旧非常有限,但由于现阶段各个临海国家的高度重视,其发现的速度正在稳步上升。

早期人们很容易从海洋环境中分离出 *Micromonospora*, *Rhodococcus* 和 *Streptomyces* 3个类

群,这些放线菌普遍存在于包括沉积物等各种海洋环境,是海洋放线菌的优势类群。随着对海洋放线菌的深入分离,更多属级类群正在被发现和描述。据 Venter 统计^[16],在百慕大群岛附近海域平均一升贫瘠的海水里就至少有一个海洋微生物新种。物种资源的多样性,反映出基因资源的丰富性,决定了其代谢产物的多样性和新颖性。Jensen 等^[17]从热带太平洋海域发现包括 *Salinispora*, *Marinospora* 等共13个新的海洋放线菌类群,并从中发现一系列新骨架强活性次生代谢产物。这些类群中 MAR1 必需海水才能生长,是典型海洋环境土著放线菌类群。2003年 Stach 等^[10]设计一套适合于陆生和海洋放线菌的特异性引物,从海洋沉积环境中检测到大量的全新类群^[9-10]。目前新的海洋放线菌资源正在被快速发现,从2003年到2010年发现并描述了 *Salinibacterium* (2003), *Salinispora* (2005) 等12个海洋放线菌新属(表2),其中我室发表两个 [*Sciscionella* (2009) 和 *Marinactinospora* (2009)], 另外日本学者从海参中发现新科 *Euzebyaceae* (2010) 和我国学者从南海海水中分离到新属 *Ornithinibacter* (2010) 已经被国际系统分类与进化微生物学杂志 (IJSEM) 接受,等待发表。2009年在 IJSEM 上发表的海洋相关的细菌新属达22个(除放线菌),新种100多个,显示海洋环境丰富的微生物资源;而2010年 Goodfellow 等^[18]统计了目前在海洋环境中发现的放线菌属有50个,其中在海洋环境首次描述的新属仅有12个(表2),预示着海洋放线菌研究广阔的前景。

表2 海洋环境中分离到的海洋放线菌类群

Table 2 Culturable actinobacterial taxa isolated from marine habitats

Isolates assigned to known genera			
<i>Actinocorallia</i>	+ <i>Actinomadura</i>	<i>Actinoplanes</i>	* <i>Aeromicrobium</i>
<i>Amycolatopsis</i>	<i>Arthrobacter</i>	<i>Arsenicococcus</i>	<i>Brevibacterium</i>
+ <i>Corynebacterium</i>	** <i>Dermaococcus</i>	*, + <i>Dietzia</i>	<i>Glycomyces</i>
+ <i>Gordonia</i>	<i>Isoptericola</i>	<i>Knoella</i>	** <i>Kocuria</i>
<i>Microbacterium</i>	<i>Microbispora</i>	<i>Micrococcus</i>	**+ <i>Micromonospora</i>
+ <i>Mycobacterium</i>	<i>Nocardia</i>	<i>Nocardioides</i>	<i>Nocardiosis</i>
<i>Nonomuraea</i>	<i>Prauserella</i>	**+ <i>Pseudonocardia</i>	*+ <i>Rhodococcus</i>
<i>Saccharopolyspora</i>	+ <i>Sanguibacter</i>	+ <i>Streptosporangium</i>	<i>Tessaracoccus</i>
** <i>Streptomyces</i>	**+ <i>Tsakumurella</i>	<i>Verrucosipora</i>	**+ <i>Williamsia</i>
Isolates assigned to novel genera			
<i>Demequina</i>	<i>Euzebya</i>	<i>Iamia</i>	<i>Marinactinospora</i>
<i>Marisediminicola</i>	<i>Miniimonas</i>	<i>Ornithinibacter</i>	<i>Phycicola</i>
** <i>Salinibacterium</i>	** <i>Salinispora</i>	<i>Sciscionella</i>	** <i>Serinicoccus</i>

* Contains or is ** composed of indigenous marine actinomycetes; + includes strains isolated from sediments collected from the Atlantic and Pacific Oceans and Norwegian fjords, and ** from the Challenger Deep of the Mariana Trench.

放线菌在生物技术上的重要性使得人们对海洋环境放线菌的关注比其它原核微生物更多,但是因为在海洋环境放线菌研究方面的投入较少,加上样品采集的限制,很大程度地制约了对其研究的深入。很多研究者用免培养方法在海洋环境中检测出丰富的海洋放线菌类群,但通过经典的分离培养获得的海洋放线菌无论是数量还是类群都非常少。2005年 Maldonado 等^[19]利用放线菌门 16S rRNA 基因特异性引物检测到海洋沉积环境样品中存在丰富的特有类群,但用培养方法无法实现复苏。有资料显示深海沉积环境动物的物种多样性和丰度比近岸的更为丰富^[20],海洋放线菌是否也是如此?这是一个非常值得思考的问题。

3 海洋放线菌次生代谢产物

目前已经从海洋微生物体发现 3400 多个新化合物^[21](2000 年文献报道 2000 多个,本实验室从 Natural Product Reports 统计,2000(2008 年共发现 1322 个)。2002 年统计结果显示^[22],在已鉴定的海洋微生物代谢物中,含氮化合物约占 56%,乙酸酯类化合物约占 30%,甲羟戊酸酯约占 13%。含硫化物约占 13%,卤化物约占 8%,其中以氯代物为主。放线菌产生的活性次生代谢产物约占目前已发现微生物活性次生代谢产物的 50%^[23]。结构新颖、多样的天然产物仍旧是新药开发的良好药源,对其的发现主要通过两种途径,其一是使用新的筛选方法,其二是通过筛选新的、丰富多样的生物资源^[18]。海洋放线菌次生代谢产物结构新颖,很多为活性较强的新化合物,为海洋药物开发提供了丰富的先导化合物资源^[18]。新颖次生代谢产物的发现和新药开发也是目前海洋放线菌资源研究最大的驱动力。

20 世纪 70 年代日本的 Okami 及其同事从 Sagami 海湾的泥样里分离到一株依赖海藻粉的独特选择性海水培养基中生长时才产生抗生素的放线菌菌株,显示出海洋放线菌独特的生理特性,他们的研究工作,开启了海洋微生物抗生素发展的先河。Fiedler 等^[24]从太平洋和大西洋沉积样品中分离到 600 多株放线菌,发现活性菌株中 *Streptomyces* 占 22%, *Micromonospora* 占 29%, *Pseudonocardia* 占 15%, *Rhodococcus* 占 33%; Grein 和 Meyer^[25]发现从海洋分离的链霉菌 50% 都具有抗菌活性。链霉菌

和小单孢菌两个类群仍然是海洋放线菌次生代谢产物的主要产生菌,从海洋链霉菌中不但发现了陆生链霉菌中分离到的已知的抗生素如放线菌素(actinomycin D)、棘霉素(echinomycin)、抗霉素 A(antimycins A)、脂霉素(lipomycins)、孢绿菌素(sporaviridin A1)、喷他霉素(pentamycin)、色霉素(chromomycin A3)、bafilomycins、filipin、聚酮类化合物(tetracenomycin D1)等系列活性天然产物,还发现了独特海洋来源的肠球菌素(enterocin)、actiphenol、巨内酰胺类(macrolactam)、吩嗪类(phenazine)、maltophilin、elalomycin 等活性较好的新的次生代谢产物^[24]。 γ -indomycinone^[26]是深海海洋链霉菌产生的抗肿瘤活性物质,对 HCT116 细胞有微弱的细胞毒性,与其一起分离出来的还有 rubiflavinone C-1 和 p-indomycinone 等已知的活性化合物。

Fenical 研究组首次从 Bahamas 热带海域分离到全新分支类群的小单孢菌科(*Micromonosporaceae*) 海洋放线菌——盐孢菌属(*Salinispora*),经培养提取分离、鉴定出一系列结构新颖的化合物^[27]。这些化合物具有很强的抗菌及抗肿瘤活性。特别是 salinosporamide A 它具有 γ -lactam- β -lactone bicycle 双环结构,是抗癌活性极强的蛋白酶抑制剂,在 National Cancer Institute's (NCI's) 对包括 NCI-H226(人肺癌细胞),SF-539 CNS 癌细胞,SK-MEL-28(黑素癌)和 MDA-MB-435(乳腺癌)等 60 个癌细胞模型检测结果显示其 IC50 低于 <10 nmol/L,由于其较强的细胞毒选择活性,因此在被发现不到 3 年的时间就进入临床一期实验。Salinosporamide A 由于与蛋白酶体抑制剂 omuralide 有相同的母核结构,蛋白酶体抑制活性的测试发现其对糜凝乳蛋白酶体的 IC50 达到 1.3 nmol/L,抑制活性约为 omuralide 的 35 倍。另外 salinosporamide A 对人疟原虫有很好的抑制作用,可望开发出抗疟疾的良好药物^[28],对其化学全合成已经完成^[29]。目前从海洋各个环境中分离到的 *Salinispora* 菌株中,有 90 多株均能产生抗癌次生代谢产物^[15]。

从小单孢菌科(*Micromonosporaceae*) 其它属如 *Verrucosipora*, *Micromonospora* 等也分到丰富的强活性次级代谢产物^[30],如 abyssomicin B-D 和

diazepinomicin (ECO-4601) 等。其中 abyssomicin C 是一类磺胺类药物前体,对 MRSA(耐甲氧西林金葡萄菌)有强烈的抑制作用;对 MRSA N315 的 MIC 为 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$,对耐万古霉素的 MRSA Mu50 的 MIC 为 13 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。其机理是抑制细菌体内 PABA 的合成从而抑制叶酸辅酶的生物合成,这与磺胺类药物作用机制不同,是一种新的抑菌作用靶点,对寻找新型高效抗生素具有积极作用。Diazepinomicin^[31] 分离自小单孢菌株,表现出良好的抗菌、抗干扰以及细胞毒活性。

从海洋放线菌(CNH-099)^[32]分离到的含倍半萜的新萜醌类抗生素 neomarinone 和 marinones 系列化合物对人结肠癌(HCT-116)等在体外有中等细胞毒性(IC₅₀ = 0.8 mg/L),而 neomarinone 对 NCI(美国国家癌症研究所)的 60 个人类肿瘤细胞模型同样具有非常强的抑制活性,其 IC₅₀ 平均值为 10 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 。据 Lam^[33]不完全统计 2003 年至 2005 年 3 年期间从海洋放线菌中分离到 23 个具有很好开发潜力的新的药源化合物,包括抗菌、抗癌等良好的活性!它们主要分离自 *Verrucosispora*、*Streptomyces*、*Actinomadura*、*Marinispora*、*Salinispora*、*Nocardiosis* 等重要的已有或新描述的属种中。其中 *Marinispora* (MAR 2)能产生系列 marinomycin 活性代谢产物,marinomycin A 具有非常强的抑制 MRSA 的活性(MIC = 0.13 $\mu\text{mol}/\text{L}$),marinomycins B-C 同样具有较强的细胞毒活性(MIC = 2.6 - 3.1 $\mu\text{mol}/\text{L}$)和较强的抗菌活性(MIC = 0.25 $\mu\text{mol}/\text{L}$),目前这些化合物已经申请专利。

日本的 Imada^[34]从海洋沉积物中分离到多株海水依赖性放线菌,这些菌株多数能产生活性次生代谢产物,但都需要在培养基中添加 60% - 110% 的海水。从这些菌株中还分离到 β -葡萄糖苷酶、谷氨酸胺酶(pyroglutamyl peptidase)、 α -淀粉酶等肿瘤治疗上重要酶的多种抑制剂;另外他们从太平洋的 3569 米和 5974 米的沉积物中和其它 2 个样点第一次分离、发现了产强活性酶抑制剂——河豚毒素的 8 株链霉菌和 1 株未知菌株。河豚毒素系小分子量非蛋白质神经毒素,存在于河豚、蝾螈、斑足蟾等动物中的海洋毒素,在医疗上可以用于治疗癌症、止痛等,是新型海洋药物开发的潜在药源。

4 海洋放线菌生态功能

海洋占地球表面积的 70% 以上,海洋生物占地

球生物总量的 90% 以上,由于深海超强的自净能力吸引着微生物学者对深海微生物在自净中的作用的探索。2005 年 Arrigo^[35]在 Nature 上发表文章指出海洋微生物负责将近一半的地球初级产物的降解,是全球包括陆地、海洋、大气营养物质循环的一个重要组成部分;另外,日本学者^[36]从深海沉积物中分离到许多耐苯的石油分解微生物,这些微生物可以用于重油中正烷烃的分解,也可以用于水中不溶或难溶物质转化为可溶物方面。这对于海洋石油污染和将来污染环境的净化治理都有较好的开发潜力。

目前海洋放线菌生态学方面的研究相当滞后,存在很多问题,诸如海洋放线菌在海洋范围内是否普遍分布,在海洋沉积环境中发挥什么样的作用,对全球海洋沉积环境碳氮源物质循环、能量流动以及全球生态的具体影响等都有待研究。在一些独特的海洋环境如深海冷泉生态区海洋放线菌占据优势地位,物种丰富多样,是什么因素导致它在这样独特的环境占据优势地位?它与冷泉的形成和演化是否有一定的内在关系?是否存在冷泉特有放线菌物种?在冷泉外的其它环境是否也存在着同样的问题?海洋放线菌在沉积物地质环境中扮演什么样的角色?不同沉积层代表着不同的地质构造,记录着海洋环境的变化历史,其中放线菌在各地质层中的分布如何?它们之间在进化和演变中有哪些联系?海洋放线菌与海洋其它动植物及微生物之间的化学生态关系怎样?等等问题都需要一步步深入研究。

5 海洋放线菌基因组研究

受人类基因组计划影响,生物基因组研究目前已经成为整个生命科学研究的前沿。很多实验室对各个环境中的生物进行基因组测序,从宏观的动植物,到基因组相对较小的微生物。基因组序列信息的研究,为从分子水平上探索整个生物遗传、进化机制、寻找重要功能基因资源以及研究群体间的相互关系提供重要资料。

由于海洋放线菌 *Salinispora* 产生卓越抗生素,引起研究者们强烈的兴趣。为了深入探索次生代谢产物的合成途径和精确评价其生物合成潜力,研究者们对此属的菌株进行了基因组测序。2007 年该属的第一个菌株 *Salinispora tropica* CNB-440 完成了测序^[37],其序列已经公开发表(http://genome.jgi-psf.org/finished_microbes/saltr/saltr_download).

html)。

基因组图显示, *S. tropica* 基因组呈简单的环状, 包含 5.18 Mb 碱基, 其中 G + C 含量平均值为 69.5%, 预测有 4536 个蛋白编码基因, 这与其它环状放线菌基因组相似(表 3), 但小于其它线性放线菌基因组(如 *Rhodococcus* sp. RHA1)。研究发现了 17 个次生代谢合成基因簇, 包括 PKS, NRPS, siderophore, melanin, terpenoid 和 aminocyclitol, 其次生代谢产物合成基因簇占总基因组的 10%。目前 *S. tropica* 已经成为一个分析天然产物合成基因簇的模式生物, 从基因组分析发现了很多新的合成基因。因此, 为了获得更多次生代谢产物, 应该更加深入研究由基因组指导的发酵及组合生物合成。此外, 本属的另一个种 *S. arenicola* CNS-205 也进行了全基因组测序, 并已经完成, 通过这两个小单孢类群(*Micromonosporaceae*)物种的基因序列比较、印证,

表 3 *Salinispora* 菌株与其它放线菌天然产物合成基因簇的比较

Table 3 *Salinispora* strains genome data in comparison to other actinomycete natural product producer

Organism	Size, Mb	Chr. org.	% G + C content	% GDSM	Major NP clusters, n						
					PKS				Mixed PKS /NRPS	NRPS	Non-NRPS siderophore
					Modular type I	Ened -iyne	Type II	Type III			
<i>S. tropica</i> CNB-440	5.18	C	69.5	≈9.9	1	2	2	1	4	3	1
<i>S. coelicolor</i> A3(2)	8.72	L	72	≈8	2	-	2	3	-	3	1
<i>S. arenicola</i> CNS-205 ^[38]	5.79	C	69.5	≈10.9	4	2	1	1	2	5	1
<i>M. tuberculosis</i> H5N1	4.41	C	67	ND	7	-	1	3*	-	2	-
<i>Frankia</i> sp. CcI3	5.43	C	70	ND	4	-	2	-	1	3	1
<i>N. farcinica</i> IFM10152	6.01	C	70	ND	4	-	1	1	1	7	-

NP, nonribosomal peptide; Mb, megabases; Chr. org., chromosome organization; % GDSM, percentage of the genome dedicated to secondary metabolism; C, circular; L, linear; ND, not determined; -, not applicable. * Two type III PKS enzymes are associated with the modular type I PKSs *pks7*, *pks8*, *pks9*, and *pks17*.

6 我国海洋放线菌研究概述

对于海洋放线菌的研究, 我国目前的实力与国际上差距较大, 仅在次生代谢产物方面进行了系统的研究, 发现了一些优良的抗菌、抗肿瘤活性代谢产物, 但具有显著开发价值的抗生素尚未见报到。对海洋特别是深海环境海洋放线菌资源进行广泛、系统研究的单位或团队较少, 偶见中国极地研究所俞勇有关北极海洋沉积环境放线菌研究的报道^[40]。而我国放线菌资源研究的权威单位, 中国科学院微生物研究所放线菌资源研究组最近几年也开展了少量近海沉积物和海绵共生放线菌的研究工作^[41-42]。云南大学省微生物所放线菌室和中国科学院南海海洋研究所开始向着海洋放线菌方向发展并取得了良

显示次生代谢产物与该类微生物海洋环境的适应能力、生态分布和物种分化等有很大联系^[38]。对全基因组信息更深入的研究将会对该属次生代谢产物情况、此类放线菌的海洋环境适应机制等特征以及其在海洋生态中的作用等重大科学问题提供解答的机会。

目前, 除了对这个海洋放线菌“明星”属的菌种进行了基因组测序, 其它海洋放线菌的基因组工作也正在策划或实施阶段^[15,18], 如日本海域发现的另一个小单孢类放线菌 *Verrucosipora maris* AB-18-032 能产生 abyssomicin B, C, D, G, H 和 atrop-abyssomicin C, 其中由于 abyssomicin C 和 atrop-abyssomicin C 优良的活性, 已经实现了对其的全合成^[30]。最新研究发现该菌还产生 proximicin A、B、C 等抗癌活性很强的化合物^[39]。此菌株的基因组测序工作也已经完成, 后续的分析工作正在进行中。

好的研究成果。

目前国内海洋放线菌的研究范围大多数定位在近海或近岸等水生、沉积环境以及动植物共生海洋放线菌方面, 对于深海沉积环境放线菌全面、系统的研究少有报道。通过文献发现, 目前我国研究海洋放线菌资源的分离技术十分落后, 多数研究单位没有对分离方法深入研究改进, 只是套用陆生放线菌分离方法, 严重制约了海洋放线菌资源的挖掘。2006 年至今, 我们实验室每年采集大量南中国海沉积物样品, 通过经典放线菌培养基的改良与设计, 分离出大量的放线菌类群, 通过初步鉴定已经发现了 7 亚目、13 科、28 属的放线菌, 这些属级类群包括我们描述的两个新属 *Marinactinospora* 和 *Sciscionella*, 以及 *Actinomadura*, *Arthrobacter*, *Blastococcus*, *Citricon-*

ccus, *Dietzia*, *Gordonia*, *Jiangella*, *Microbacterium*, *Micromonospira*, *Micromonospora*, *Modestobacter*, *Nocardia*, *Nocardiosis*, *Nonomuraea*, *Prauserella*, *Polymorphospira*, *Promicromonospora*, *Pseudonocardia*, *Rhodococcus*, *Salinispora*, *Saccharomonospora*, *Saccharopolyspora*, *Sphaerosporangium*, *Streptomyces*, *Tsukamurella* 和 *Verrucosipora*, 共 123 种, 显示出我国南海热带海域丰富的放线菌资源, 值得深入开发研究。这些分类单元的 16S rRNA 基因序列数据正在逐步上传至 GenBank 等数据库。

7 展望

我国海洋放线菌研究目前还存在着较多的限制因素, 主要有两点: 其一, 海洋样品的采集难度较大, 包括深层海水和大于 200 米水深的海洋沉积物样品, 以及多种海洋生物如珊瑚、海绵等, 限制了研究单位和研究人员的参与程度。其二, 海洋放线菌资源研究的力量比较薄弱, 而且很少有研究单位或团队投入到海洋放线菌分离方法的研究。放线菌是一类特殊的细菌, 建立有效的分离方法是研究海洋放线菌资源的关键, 如日本早期对放线菌分离方法的研究, 为其后放线菌来源抗生素的发展奠定了基础。

由于大多数实验室尚未模拟深海理化因素直接进行海洋极端环境放线菌的分离, 这极大地限制了海洋原始环境中放线菌资源的复苏、培养和挖掘。可以预见, 随着培养技术的发展和完善, 海洋极端环境微生物全新的资源将会逐步被发现和利用。

2008 年国家正式启动“重大新药创制”科技重大专项“十一五”计划, 显示出国家对新药开发的重大战略需求。因此系统开展我国海洋沉积环境放线菌资源的研究, 为我国海洋新药筛选搭建平台, 时间已经相当紧迫! 可喜的是 2009 年国家立项第一个以海洋微生物资源研究为基础的重大科技计划项目(973 计划项目), 中国科学院成立海洋微生物研究中心等, 显示出国家已经着手部署我国海洋微生物研究领域。

相信通过大家不懈的努力, 我国海洋微生物包括海洋放线菌的研究能够快速、健康的发展, 在不久的将来能够为我国重大新药创制提供宝贵的海洋生物资源。

参考文献

- [1] Azam F. Introduction, history and overview: the 'methods' to our madness. In: J. H. Paul (ed), *Methods in Microbiology Vol 30 Marine Microbiology*, Academic Press, 2001.
- [2] Goodfellow M, Haynes JA. Actinomycetes in marine sediments. In: Ortiz-Ortiz L. (ed), *Biological, biochemical and biomedical aspects of actinomycetes*. Academic Press Inc., New York, 1984.
- [3] Mincer TJ, Jensen PR, Kauffman CA, Fenical W. Widespread and persistent populations of a major new marine actinomycete taxon in ocean sediments. *Applied and Environmental Microbiology*, 2002, 68: 5005-5011.
- [4] Jensen PR, Gontang E, Mafnas C, Mincer TJ, Fenical W. Culturable marine actinomycete diversity from tropical Pacific Ocean sediments. *Environmental microbiology*, 2005, 7: 1039-1048.
- [5] Bull AT, Stach JEM, Ward AC, Goodfellow M. Marine actinobacteria: perspectives, challenges, future directions. *Antonie van Leeuwenhoek*, 2005, 87: 65-79.
- [6] Bredholt H, Fjarvik E, Johnsen G, Zotchev SB. Actinomycetes from Sediments in the Trondheim Fjord, Norway: Diversity and Biological Activity. *Marine Drugs*, 2008, 6(1): 12 - 24.
- [7] Grossart HP, Schlingloff A, Bernhard M, Simon M, Brinkhoff T. Antagonistic activity of bacteria isolated from organic aggregates of the German Wadden Sea. *FEMS microbiology ecology*, 2004, 47: 387-396.
- [8] Pathom-aree W, Stach JEM, Ward AC, Horikoshi K, Bull AT, Goodfellow M. Diversity of actinomycetes isolated from Challenger Deep sediment (10,898 m) from the Mariana Trench. *Extremophiles*, 2006, 10: 181-189.
- [9] Mincer TJ, Fenical W, Jensen PR. Culture-dependent and culture-independent diversity within the obligate marine actinomycete genus *Salinispora*. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71: 7019-7028.
- [10] Stach JEM, Maldonado LA, Ward AC, Goodfellow M, Bull AT. New primers for the class Actinobacteria: application to marine and terrestrial environments. *Environmental microbiology*, 2003, 5 (10): 828-841.
- [11] Lanoil BD, Sassen R, La Duc MT, Sweet ST, Nealson KH. Bacteria and archaea physically associated with Gulf of Mexico gas hydrates. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, 67: 5143-5153.

- [12] Colwell F, Matsumoto R, Reed D. A review of gas hydrates, geology and biology of the Nankai Trough. *Chemical Geology*, 2004, 205: 391-404.
- [13] Reed DW, Fujita Y, Delwiche ME, Blackwelder DB, Sheridan PP, Uchida T, Colwell FS. Microbial communities from methane hydrate-bearing deep marine sediments in a forearc basin. *Applied and Environmental Microbiology*, 2002, 68: 3759-3770.
- [14] Agogue H, Casamayor EO, Bourrain M, Obernosterer I, Joux F, Herndl GJ, Lebaron P. A survey on bacteria inhabiting the sea surface microlayer of coastal ecosystems. *FEMS microbiology ecology*, 2005, 54: 269-280.
- [15] Bull AT, Stach JEM. Marine actinobacteria: new opportunities for natural product search and discovery. *Trends in microbiology*, 2007, 15: 491-499.
- [16] Venter JC, Remington K, Heidelberg JF, Halpern AL, Rusch D, Eisen JA, Wu D, Paulsen I, Nelson KE, Nelson W, Fouts DE, Levy S, Knap AH, Lomas MW, Nealson K, White O, Peterson J, Hoffman J, Parsons R, Baden-Tillson H, Pfannkoch C, Rogers YH, Smith HO. Environmental genome shotgun sequencing of the Sargasso sea. *Science*, 2004, 304: 66-74.
- [17] Fenical W, Jensen PR. Developing a new resource for drug discovery: marine actinomycete bacteria. *Nature chemical biology*, 2006, 2: 666-673.
- [18] Goodfellow M, Fiedler HP. A guide to successful bioprospecting: informed by actinobacterial systematics. *Antonie van Leeuwenhoek*. 2010, 98(2): 119-42.
- [19] Maldonado LA, Stach JEM, Ward AC, Bull AT, Goodfellow M. Diversity of cultivable actinobacteria in geographically widespread marine sediments. *Antonie van Leeuwenhoek*, 2005, 87: 11-18.
- [20] Gray JS. Species richness of marine soft sediments. *Marine Ecology Progress Series*, 2002, 244: 285-297.
- [21] Rinehart KL. Antitumor compounds from tunicates. *Medicinal research reviews*, 2000, 20: 1-27.
- [22] Faulkner DJ. Marine natural products. *Natural Product Reports*, 2002, 19: 1-48.
- [23] Berdy J. Bioactive microbial metabolites. *The Journal of antibiotics* (Tokyo), 2005, 58: 1-26.
- [24] Fiedler HP, Bruntner C, Bull AT, Ward AC, Goodfellow M, Potterat O, Puder C, Mihm G. Marine actinomycetes as a source of novel secondary metabolites. *Antonie van Leeuwenhoek*, 2005, 87: 37-42.
- [25] Grein A, Meyer SP. Growth, characteristics and antibiotic production of actinomycetes isolated from littoral sediments and materials suspended in sea water. *Journal of bacteriology*, 1958, 79: 453-463.
- [26] Schumacher RW, Davidson BS, Montenegro DA, Bernan VS. Gamma-indomycinone, a new pluramycin metabolite from a deep-sea derived actinomycete. *Journal of Natural Products*, 1995, 58 (4): 613-617.
- [27] Williams PG, Buchanan GO, Feling RH, Kauffman CA, Jensen PR, Fenical W. New Cytotoxic Salinosporamides from the Marine Actinomycete *Salinispora tropica*. *The Journal of Organic Chemistry*, 2005, 70: 6196-6203.
- [28] Prudhomme J, McDaniel E, Ponts N, Bertani S, Fenical W, Jensen P, Le Roch K. Marine Actinomycetes: A New Source of Compounds against the Human Malaria Parasite. *PLoS ONE*, 2008, 6 (3): e2335.
- [29] Mosey RA, Tepe JJ. New synthetic route to access (\pm) salinosporamide A via an oxazolone-mediated ene-type reaction. *Tetrahedron letters*, 2009, 50(3): 295-297.
- [30] Nicolaou KC, Harrison ST. Total Synthesis of Abyssomicin C, Atrop-abyssomicin C, and Abyssomicin D: Implications for Natural Origins of Atrop-abyssomicin C. *Journal of the American Chemical Society*, 2007, 129: 429-440.
- [31] Charan RD, Schlingmann G, Janso J, Bernan V, Feng X, Carter GT. Diazepinomicin, a new antimicrobial alkaloid from marine *Micromonospora* sp. *Journal of Natural Products*, 2004, 67: 1431-1433.
- [32] Hardt IH, Jensen PR, Fenical W. Neomarinone, and new cytotoxic marinone derivatives, produced by a marine filamentous bacterium (actinomycetales). *Tetrahedron letters*, 2000, 41: 2073-2076.
- [33] Lam KS. Discovery of novel metabolites from marine actinomycetes. *Current Opinion in Microbiology*, 2006, 9: 245-251.
- [34] Imada C. Enzyme inhibitors and other bioactive compounds from marine actinomycetes. *Antonie van Leeuwenhoek*, 2005, 87: 59-63.
- [35] Arrigo KR. Marine microorganisms and global nutrient cycles. *Nature*, 2005, 437: 349-355.
- [36] 方金瑞, 黄维真. 深海微生物的研究进展. *海洋通报 (Marine Science Bulletin)*, 1995, 14(2): 65-69.
- [37] Udvary DW, Zeigler L, Asolkar RN, Singan V, Lapidus A, Fenical W, Jensen PR, Moore BS. Genome sequencing reveals complex secondary metabolome in the marine

- actinomycete *Salinispora tropica*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*,2007,104(25): 10376-10381.
- [38] Penn K, Jenkins C, Nett M, Udvary DW, Gontang EA, McGlinchey RP, Foster B, Lapidus A, Podell S, Allen EE, Moore BS, Jensen PR. Genomic islands link secondary metabolism to functional adaptation in marine Actinobacteria. *The ISME Journal*. 2009,3(10): 1193-203.
- [39] Fiedler HP, Brunter C, Riedlinger J, Bull AT, Knutsen G, Goodfellow M, Jones A, Maldonado L, Pathom-aree W, Beil W, Schneider K, Keller S, Sussmuth RD. Proximicin A, B and C, novel aminofuran antibiotic and anticancer compounds isolated from marine strains of the actinomycete *Verrucosipora*. *The Journal of antibiotics* (Tokyo),2008,61: 158-163.
- [40] Yu Y, Li HR, Zeng YX, Chen B. Isolation and phylogenetic assignation of actinomycetes in the marine sediments from the Arctic Ocean. *ACTA OCEANOLOGICA SINICA*,2005,24(6): 135-142.
- [41] Huang Y, Dai X, He L, Wang YN, Wang BJ, Liu ZH, Liu SJ. *Sanguibacter marinus* sp. nov., isolated from coastal sediment. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*,2005,55: 1755-1758.
- [42] Zhang HT, Zheng W, Huang JY, Luo HL, Jin Y, Zhang W, Liu ZH, Huang Y. *Actinoalloteichus hymeniacidonis* sp. nov., an actinomycete isolated from the marine sponge *Hymeniacidon perleve*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*,2006,56: 2309-2312.

Advance in Marine Actinobacterial research-A review

Xinpeng Tian^{1,2}, Si Zhang^{1*}, Wenjun Li^{2*}

¹ Key Laboratory of Marine bio-resources Sustainable Utilization, CAS; RNAM Center for Marine Microbiology, CAS; Guangdong Key Laboratory of Marine Materia Medica; South China Sea institute of Oceanology, Chinese Academy Sciences, Guangzhou 510301, China

² Key Laboratory for Microbial Resources of the Ministry of Education of China, Yunnan Institute of Microbiology, Yunnan University, Kunming 650091, China

Abstract: The research on marine actinobacteria has worldwide interest because of their potential to produce special and new metabolites. Based on the research history of marine actinobacteria, we reviewed the research progress, conception, bio-resources and diversity, secondary metabolites, ecological function, genomics of marine actinobacteria and finally introduced the status of marine actinobacterial research in China.

Keywords: marine actinobacteria, secondary metabolities, bio-resources, biodiversity

(本文责编:张晓丽)

Supported by the Major Project of Chinese National Programs for Fundamental Research and Development(2010CB833801), by the National Natural Science Foundation of China (40906075,40906076), by the Knowledge Innovation Programs of the Chinese Academy of Sciences (KSCX2-YW-G-065, KSCX2-YW-G-073 and KSCX2-YW-Z-1018) and by the Frontier science project for talent youth of South China Sea institute of Oceanology, CAS (SQ200901)

* Corresponding authors. Si Zhang, Tel/Fax: +86-20-89023103, E-mail: zhsimd@sesio.ac.cn; Wenjun Li, Tel/Fax: +86-871-5033335, E-mail: wjli@ynu.edu.cn

Received:20 August 2010/Revised:19 November 2010