

单菌多次级代谢产物方法及其在微生物代谢产物研究中的应用

韦洪娟, 林贞建, 李德海, 顾谦群, 朱天骄*

(教育部海洋药物重点实验室, 中国海洋大学医药学院, 青岛 266003)

摘要:微生物次级代谢产物的结构多样性赋予其广泛的生物活性,是药物先导化合物的重要来源。然而传统单一的培养方法,使微生物中大量的代谢途径不能被表达,以至于许多代谢产物不能产生。因此,运用各种技术和方法激活这些沉默途径,获得结构多样的代谢产物已成为目前关注的热点。单菌多次级代谢产物(One strain many compounds, OSMAC)策略作为一种简便有效的研究手段,已成功应用于该领域的研究。本文综述了 OSMAC 策略中常用的研究手段(包括改变培养状态、混合培养及添加酶抑制剂等),以及 OSMAC 与基因组扫描技术相结合的研究进展,并介绍了本研究室利用此方法对高产细胞松弛素的海洋来源真菌曲丽穗霉(*Spicaria elegans* KLA03)进行研究的部分结果。

关键词:一株菌多种次级代谢产物(One strain many compounds, OSMAC); 微生物次级代谢产物; 混合培养; 基因组扫描

中图分类号: Q935 **文献标识码:** A **文章编号:** 0001-6209 (2010) 06-0701-09

微生物能够产生结构新颖、活性多样的次级代谢产物,一直以来都是药物先导化合物的重要来源。迄今为止,从微生物中发现的活性天然产物已达到 23000 个之多,应用于临床的微生物药物有 150 余种^[1]。微生物次级代谢产物具有抗菌、抗肿瘤、抗心血管病、免疫调节、受体拮抗、抗氧化和细胞因子诱导等多种活性,显示出巨大的药物开发价值。微生物生存于种类各异的生态环境,决定了其次级代谢产物具有化学结构多样性,结构的多样性赋予其活性的多样性,因此,从微生物中寻找药物先导化合物是目前创新药物研究最活跃的领域之一。

近年来,随着微生物基因组学研究的深入,发现微生物中存在大量常规培养条件下未被表达的代谢途径,被称为“沉默途径”^[2]。这些“沉默途径”的存在意味着更为丰富的次级代谢产物的存在,如何激活这些“沉默途径”,产生结构类型更加多样的微生物次级代谢产物,挖掘和开发潜在的药用资源,成为

研究的热点。

一株菌多种次级代谢产物(One strain many compounds, OSMAC)策略^[3]的提出,为深入开发微生物天然产物这一资源提供了一种便捷有效的手段。OSMAC 强调通过不断改变培养基成分、培养条件及添加酶抑制剂等方法,尽可能挖掘微生物合成次级代谢产物的能力,从而获得更多结构类型的次级代谢产物。随着多种微生物基因组测序的完成,微生物次级代谢产物合成酶系及其相关基因结构、功能的研究取得了很大的进展,许多微生物次级代谢产物的生合成机理被阐明。在此基础上,根据基因→合成酶系→化合物的对应关系,通过基因组扫描技术,对基因序列进行分析,实现了相应化合物结构的预测^[4]。OSMAC 方法与基因组扫描技术相结合使化合物的筛选、分离、纯化目标明确,避免了重复研究的问题,大大提高了发现新化合物和活性化合物的几率。本文将对近年来 OSMAC 方法的应用、

基金项目:国家自然科学基金项目(30772640)

* 通信作者。Tel: +86-532-82031632; E-mail: zhutj@ouc.edu.cn

作者简介: 韦洪娟(1984-),女,山东临沂人,硕士研究生,药物化学专业天然药物化学方向。E-mail: whj_yt@163.com

收稿日期: 2009-12-05; **修回日期:** 2010-02-07

OSMAC 与基因组扫描技术相结合进行的研究以及本研究室应用 OSMAC 方法对海洋来源真菌 *Spicaria elegans* KLA03 研究所取得的进展做一综述。

1 常见的 OSMAC 方法

1.1 改变培养基及培养状态

培养基成分的改变能够影响菌株代谢产物的种类和相对产量。Numata 等报道了来自海藻 *Enteromorpha intestinatis* 的真菌 *Penicillium* sp. 在不同的培养基上能产生完全不同的代谢产物。当使用

培养基 1 (葡萄糖 2%, 蛋白胨 1%, 酵母膏 0.5%, 人工海水, pH7.5) 时, 得到 13 个新化合物: penochalasin A-H (**1** - **8**), chaetoglobosins A (**9**), F (**10**) 和 O (**11**), communesins A (**12**) 和 B (**13**) (图 1), 结构以细胞松弛素类化合物为主。而以培养基 2 (葡萄糖 2%, 蛋白胨 1%, 麦芽浸膏 2%, 蒸馏水, pH7.5) 培养, 则得到结构类型完全不同的代谢产物 penostatins A-I (**14** - **22**)^[5-10] (图 1)。其中 Communesins A 和 B 对肿瘤细胞 P388 有中等强度的细胞毒活性, ED₅₀ 分别为 3.5 mg/L 和 0.45 mg/L。

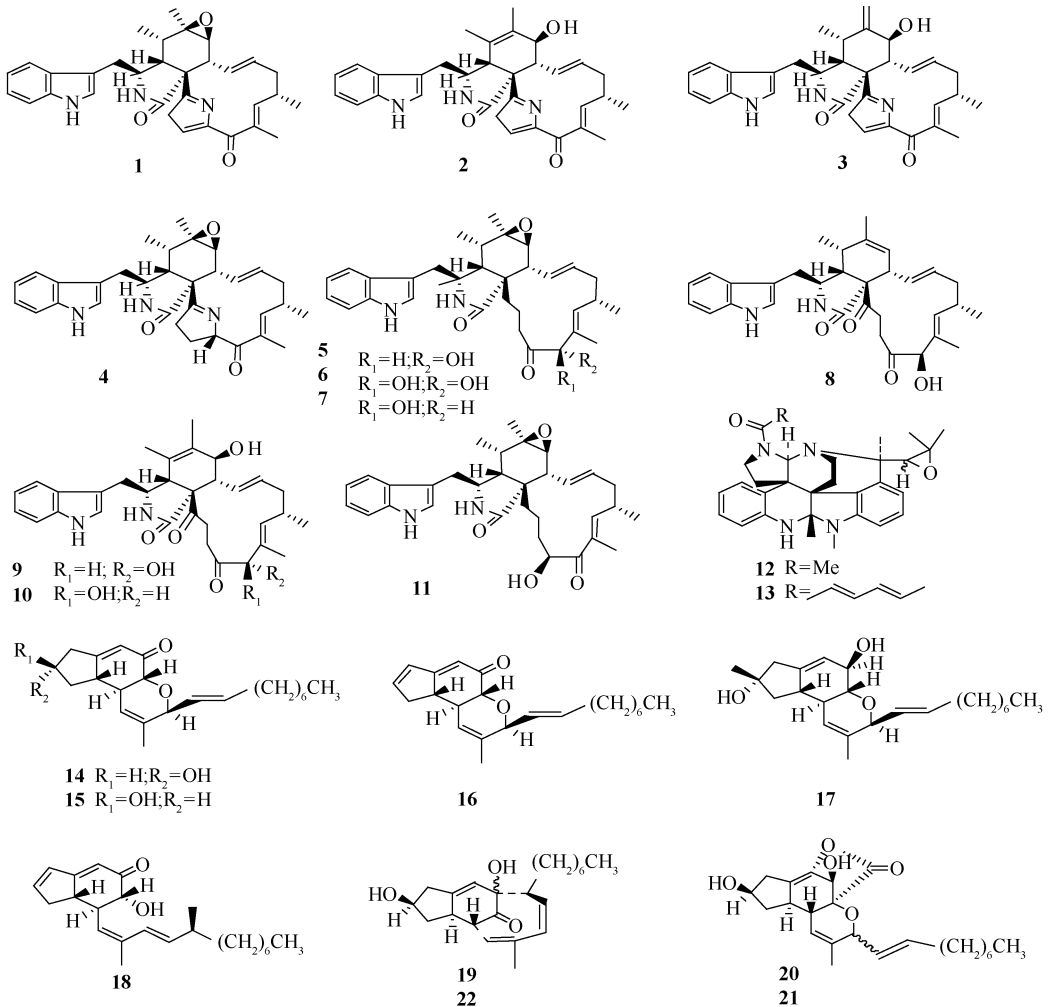


图 1 化合物 1 - 22 的结构式

Fig. 1 structures of compounds 1 - 22.

培养基中微量金属离子的含量变化也可能会引起菌株代谢产物的显著改变。Priyani 等^[11]将培养基中的自来水换为蒸馏水, 内生真菌 *Paraphaeosphaeria quadriseptata* 的主要代谢产物改变为 Cytosporones F-I (**23** - **26**), quadriseptin A (**27**), 5'-

hydroxymonocillin III (**28**) (图 2)。进一步研究发现, 实验所用自来水中 Cu^{2+} 的含量 (0.15 mg/L) 远大于其它重金属离子如 Cd^{2+} 和 Cr^{3+} 。因此, Cu^{2+} 的存在可能影响菌株代谢产物的变化, 但具体的机制尚不明确, 还需要进一步的深入研究。

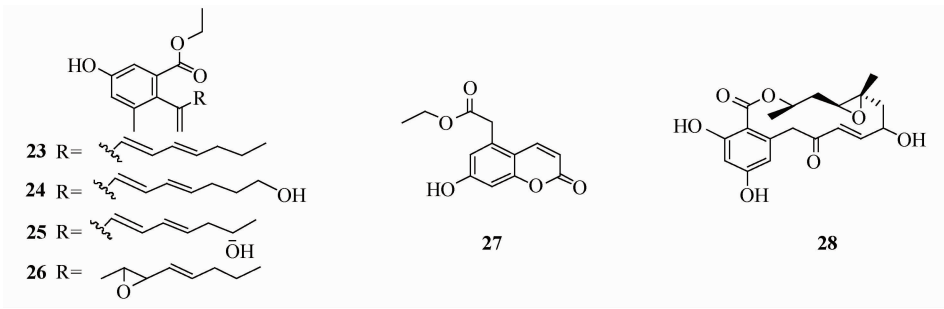


图 2 化合物 23 - 28 的结构式

Fig. 2 Structures of compounds 23 - 28.

同种培养基不同的状态培养也会引起菌株代谢产物的变化。菌株 *Chaetomium chiversii* 在液体培养基中主要产生 chaetochromin A (29) (图 3), 而在固体培养基中则主要产生 radicol (30) [11] (图 3)。因此, 改变培养基的状态也是提高微生物代谢产物多样性有效方法。

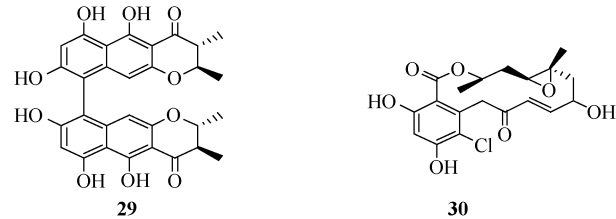


图 3 化合物 29 - 30 的结构式

Fig. 3 Structures of compounds 29 - 30.

1.2 混合培养

天然来源的抗生素多是由于微生物生存环境受到另一物种威胁而产生的竞争化学武器, 探索研究这一防御机制是寻找新抗生素资源非常有效的途径 [12]。近年来, 通过混合培养刺激菌株产生相应的新代谢产物成为 OSMAC 策略中新的研究思路。Clardy 等在研究海洋真菌 *Pestalotia* sp. CNL-365 和海洋细菌 CNJ-328 混合培养实验中发现, 混合培养导致新型抗生素 pestlone (31) (图 4) 的产生 [13]。研究还发现 pestlone 是真菌 CNL-365 在外界因子刺激下产生的, 与细菌 CNJ-328 的存在相关, 且不是通过

真菌转化细菌的代谢产物而来。Fenical 等 [14] 将海洋来源的真菌 *Emericella* 同海洋放线菌 *Salinispora arenicola* 混合培养分离出两个新的具有抗菌活性的肽类化合物 emericellamides A (32) 和 B (33) (图 4), 但真菌和放线菌相互诱导产生 emericellamides 的机制还不明确。这些研究结果表明混合培养已成为发现新的微生物活性次级代谢产物的重要途径。

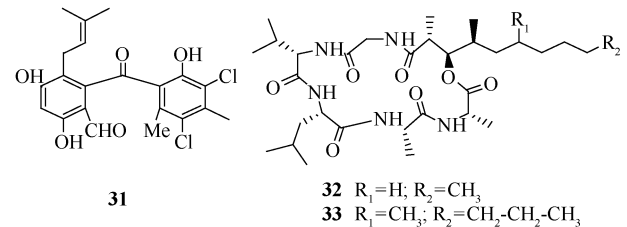


图 4 化合物 31 - 33 的结构式

Fig. 4 Structures of compounds 31 - 33.

1.3 酶抑制剂的添加

通过添加酶抑制剂, 选择性的抑制代谢途径中相关酶的活性, 可以抑制某些代谢途径, 同时促进其它通路相关代谢产物的合成。近年来多个研究小组利用添加酶抑制剂获得了许多结构相关的系列新类似物, 其中 P450 氧化酶抑制剂的应用最多。Oikawa 等 [15] 利用 P450 单加氧酶抑制剂来获得细胞松弛素类化合物的结构类似物。在菌株 *Chaetomium subaffine* 的培养基中加入 1 mmol/L 的美替拉酮获得了 6 个 chaetoglobosin A 的新类似物 (34 - 39) (图

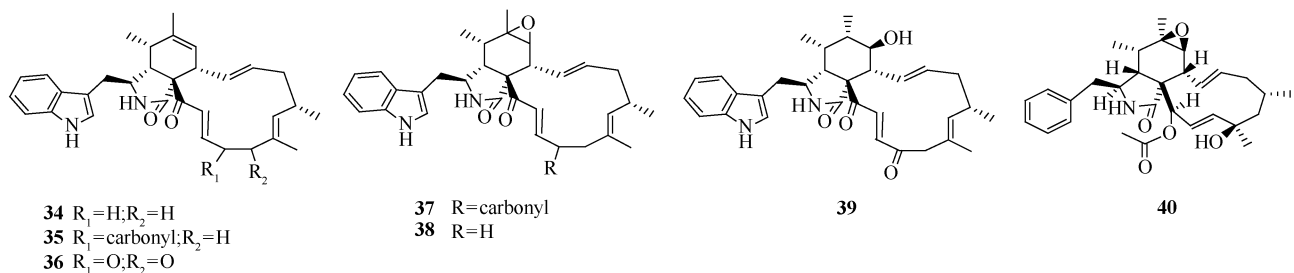


图 5 化合物 34 - 40 的结构式

Fig. 5 Structures of compounds 34 - 40.

5)。Kakeya 等人^[16]在菌株 *Phoma* sp. SNF-1778 中添加美替拉酮获得了 epoxycytochalasin H 的类似物 RKS-1778(40)(图 5)。

组蛋白去乙酰化抑制剂可以影响某些沉默基因的表达^[17],从而使菌株产生新的代谢产物。研究发现,真菌组蛋白 Lys 残基的乙酰化受两种酶的调控:组蛋白去乙酰化酶和组蛋白乙酰基转移酶。组蛋白去乙酰化酶能增加 DNA 与组蛋白之间的吸引力,使启动子不易接近转录调控元件,抑制转录;与之相反,组蛋白乙酰基转移酶有利于 DNA 构象的展开,使核小体的结构变得松弛。这种松弛的结构促进了转录因子和协同转录因子与 DNA 分子的接触,从而激活特定基因的转录过程,组蛋白去乙酰化酶抑制剂的存在,促进了这一过程,使更多的基因得以表达^[18-19]。Cichewicz 等人使用组蛋白去乙酰化酶抑制剂 suberoylanilide hydroxamic acid(SAHA)干扰菌株 *Cladosporium cladosporioides* 的正常生长,结果使其代谢产物发生根本性的改变,并得到了 2 个全新的化合物 cladochromes F(41)和 G(42)^[20](图 6)。此外,他们还发现 SAHA 能够影响菌株 *Aspergillus niger* 代谢产物的形成,进一步研究得到了 1 个新骨架化合物 nygerone A(43)(图 6)。

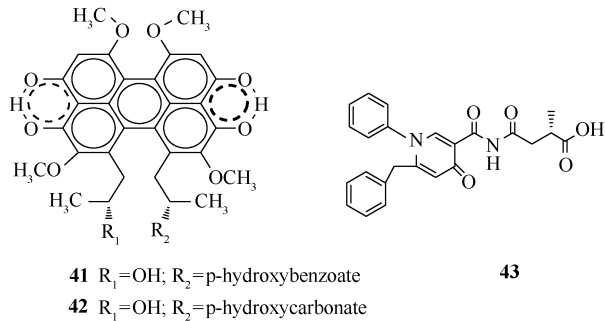


图 6 化合物 41-43 的结构式

Fig. 6 Structures of compounds 41-43.

2 OSMAC 与基因组扫描技术相结合

近年的研究表明,微生物次级代谢产物生物合成的基因通常成簇分布于微生物染色体的某一区域,通过筛选、测序、定位、表达微生物次级代谢产物的生物合成基因簇,可以针对性地获得相关结构的次级代谢产物。采用基因组扫描(genome scanning)技术通过一系列的 GST(genome sequence tags)序列就可以探测目的基因簇。由于次级代谢产物基因簇大小一般都在 20-200 kb 之间,一定数量的 GST 序列就能推测微生物中所有的代谢产物基因簇,在不需得知微生物的全基因组序列的情况下即可了解

微生物次级代谢产物合成潜力^[21-22]。利用基因组扫描技术能迅速找到微生物的次级代谢产物合成基因,通过和已知的次级代谢产物的基因数据库对比,从而发现新的代谢产物合成基因;通过分析基因结构、所编码酶系的组成与功能来预测相应化合物结构,进而可预知该化合物的一些理化性质^[4]。虽然基因组扫描等方法可以获知微生物存在什么样的代谢途径,可以合成哪一类的代谢产物,但是要使该类代谢产物得以表达,仍然十分困难。利用 OSMAC 策略,结合化合物的合成途径,选择多个经优化组合的培养基及培养方法,筛选目的化合物,并进行生物活性等深入研究,则是目前较为可行的方法。

McAlpine 等^[23]采用基因组扫描与 OSMAC 相结合的方法从一株产双环霉素的放线菌 *Streptomyces aizunensis* 中发现了 11 个新的编码新代谢产物的基因簇,其中 1 个含有 35 个开放阅读框(ORF)的基因簇能编码长链聚酮类化合物,通过分析其基因开放阅读框的排列次序预测了该化合物的结构。采用 OSMAC 方法,设计了大约 50 多种不同的培养基,用 HPLC-UV-MS 追踪分离得到了该基因的表达产物 ECO-02301(44)(图 7),经 NMR 鉴定证明了预测结构的正确性。生物活性测试显示该化合物具有很强的抗真菌活性,其中对白色念珠菌的最小抑菌浓度为 4 mg/L。

Ecopia BioSciences 公司对 1 株万古霉素生产菌 *Amycolatopsis orientali*(ATCC43491)进行了基因组扫描,除了万古霉素基因簇外,还发现了另外 12 个化合物的合成基因簇,其中 1 个为新结构类型化合物的基因簇。通过结构预测分析其分子量在 836 到 838 之间,有一定的紫外吸收。对该菌株利用 OSMAC 方法进行多样化发酵之后,通过 HPLC-UV-MS 分析找到了目的化合物 ECO-0501(45)(图 7),¹³C NMR 证明该结构与预测结构一致。生物活性测定发现,该化合物对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的抗性菌株、敏感菌株均有较强的抗性^[24]。

Hertweck 等对构巢曲霉 *Aspergillus nidulans* 进行基因组扫描,发现有 3 个新的编码邻氨基苯甲酸合成酶的基因,提示该菌株具有合成某种喹啉类生物碱化合物的潜力。采用 OSMAC 策略并结合 HPLC-DAD-MS,以含氮化合物的 MS 谱图为目标筛选了 40 种培养条件,最终确定大米培养基固体培养能获得一系列生物碱类化合物,大量发酵后获得 4 个异戊烯化的喹啉生物碱 aspoquinolones A-D(46-49)^[25](图 7)。

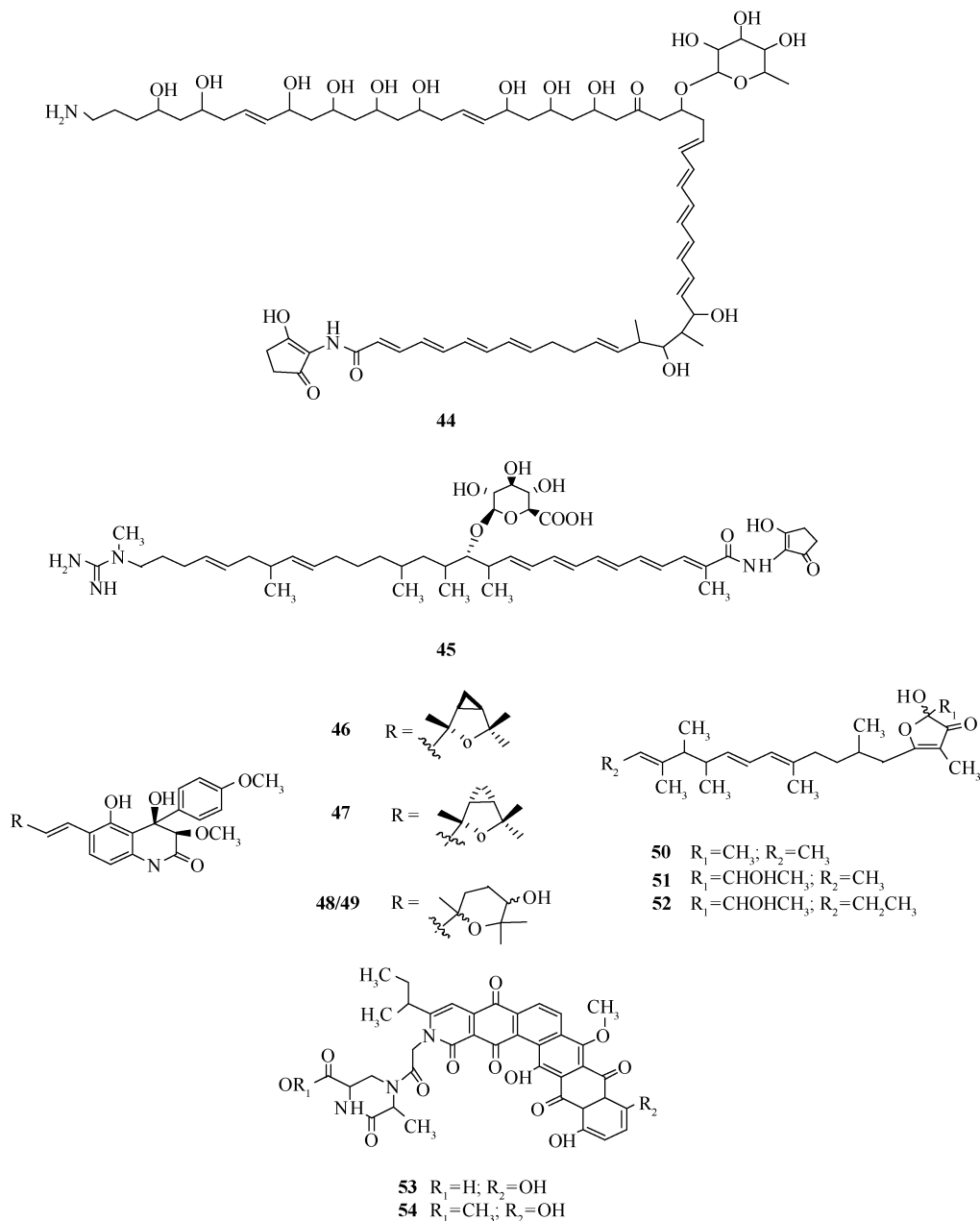


图 7 化合物 44 - 54 的结构式

Fig. 7 Structures of compounds 44 - 54.

Banskota 等^[26] 通过扫描 2 株链霉菌 *Streptomyces aculeolatus* NRRL 18422 和 *Streptomyces* sp. Eco86 的基因序列,发现这 2 株菌含有 2 个相似的编码 I 型 PKS 和非常见 Baeyer-Villiger 单加氧酶的基因簇。通过对这 2 株菌培养基进行优化筛选,并结合所预测化合物的 MS 和 UV 等理化性质,成功激活这 2 个基因簇,共获得了 3 个结构类似的活性新化合物(图 7)。其中 E-837 (**50**) 来源于链霉菌 *Streptomyces aculeolatus* NRRL 18422, E-492 (**51**) 和 E-975 (**52**) 则从菌株 *Streptomyces* sp. Eco86 中分离得到。这 3 个化合物能明显抑制 NADH 氧化酶和

NADH-延胡索酸还原酶的电子传递。

2009 年, Banskota 等^[27] 继续利用该技术对菌株 *Micromonospora echinospora* ssp. *challisensis* NRRL 12255 进行研究,发现了 13 个编码次级代谢产物的基因位点,其中包含 1 个编码萜类化合物的位点,5 个混合的 PKS/NRPS 的位点,4 个 NRPS 位点和 3 个 PKS 位点。采用 12 种培养基对该菌株的代谢产物进行筛选,并通过 HPLC/MS/UV 追踪,最终分离得到 2 个 Echinospomicin 类化合物 TLN-05220 (**53**) 和 TLN-05223 (**54**) (图 7)。这 2 个化合物都具有很强的抗真菌活性。

以上研究证明,基因组扫描技术的应用为探测微生物的沉默途径及次级代谢产物合成潜力提供了可行的检测方法,OSMAC 策略的应用则为获得这些新代谢产物提供了一种简便有效的方法,这些技术的结合应用,可以快速、有效发现新的代谢产物,对微生物次级代谢产物的结构多样性的研究具有重要意义。随着各种组学和代谢途径研究的深入,OSMAC 策略的研究内容也在不断丰富完善,并将为更多活性次级代谢产物的发现提供有力的支持。

3 OSMAC 方法在发现细胞松弛素类化合物中的应用

本研究室从源于胶州湾海泥的真菌曲丽穗霉 (*Spicaria elegans* KLA03) 中分离得到 10 个结构新颖的细胞松弛素类化合物 cytochalasins Z_7 (**55**)、 Z_8 (**56**)、 Z_9 (**57**)^[28] 和 cytochalasins, Z_{10} - Z_{15} (**58** - **63**)^[29] (图 8)。其中具有双环开链结构的 cytochalasin Z_{10} (**58**) 对酪氨酸激酶有显著抑制活性。

采用 OSMAC 策略,在已有合成研究的基础上,我们对菌株 *Spicaria elegans* KLA03 采用改变培养基组成、改变培养方法、添加酶抑制剂等方法进行了代谢产物的研究,以期通过对不同代谢途径的调

节获得结构多样的新代谢产物,并探讨其构效关系。

通过改变不同培养基及培养方法,将原培养条件 1 (培养基: glucose 2%, peptone 0.5%, malt extract 0.3%, yeast extract 0.3%, seawater, pH7.0; 静置培养 25 d) 改为培养条件 2 (培养基: soluble starch 2%, soybean flour 1.5%, yeast ext 0.5%, peptone 0.2%, sea water; 摇床培养 8 d), 得到 5 个具有新颖结构的化合物 aspochalasins M - Q (**64** - **68**)^[30] (图 9)。和原培养条件 1 所得到的化合物相比较,培养条件的改变使菌株由利用苯丙氨酸合成 cytochalasins, 改为主要利用亮氨酸合成了 aspochalasins。这也是首次发现同一株真菌能产生两种细胞松弛素的现象,为我们发现不同结构类型的细胞松弛素类化合物提供了新途径。

细胞松弛素类化合物的聚酮链上的氧化反应主要跟 P450 单加氧酶有关^[31], 因此我们尝试添加 P450 单加氧酶抑制剂获得新的代谢产物。在菌株 *Spicaria elegans* KLA03 中添加 P450 单加氧酶抑制剂美替拉酮, 获得 2 个 7 位脱氧的新胞松弛素 7-deoxy-cytochalasin Z_7 (**69**) 和 7-deoxy-cytochalasin Z_9 (**70**)^[32] (图 9)。

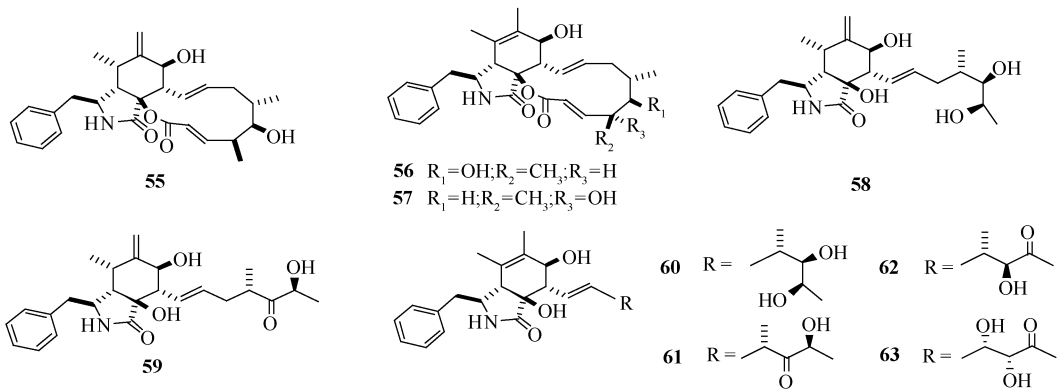


图 8 化合物 55 - 63 的结构式

Fig. 8 Structures of compounds 55 - 63.

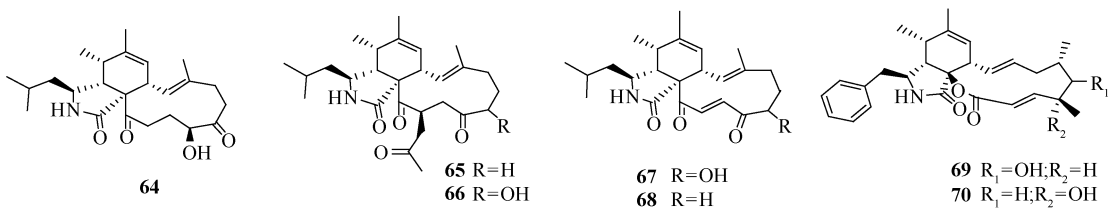


图 9 化合物 64 - 70 的结构式

Fig. 9 Structures of compounds 64 - 70.

目前,利用 OSMAC 策略对此菌的研究仍在进行中,通过添加不同前体物、改变不同的培养基、加

入 DNA 甲基转移酶抑制剂等方法对其研究,研究结果将在今后进一步报道。此外,该菌株还存在哪些

次级代谢途径,能否发现新的活性次级代谢产物,有待于基因扫描技术结合 OSMAC 方法进行深入研究。

4 结语

微生物次级代谢产物结构丰富、活性多样,是创新药物及其先导结构的重要来源,有的已成为临床应用的重要药物。而近年的研究发现,在微生物的合成途径中尚存在许多未被发掘的沉默途径,其所具有的新活性次级代谢产物的合成潜力远远超过现已发现的代谢产物数量。这些新发现,为微生物药物的研究提供了新的研究领域和契机,如何发掘和利用这一潜在的资源成为目前关注的热点。OSMAC 策略的应用,尤其是与现代基因扫描技术相结合的技术,为激活沉默基因,进行微生物次级代谢产物的多样性研究提供了一种思路和有效的方法。虽然目前 OSMAC 策略还具有一定的盲目性,但随着对微生物合成途径及其调控机制研究的深入和微生物基因组学的发展,新技术的不断引进,OSMAC 的研究将为有效的发现结构更加多样的活性代谢产物和微生物药物研究提供有效的技术支持。

参考文献

- [1] Berdy J. Bioactive microbial metabolites, a personal view. *The Journal of Antibiotics*, 2005, 58(1):1-26.
- [2] Scherlach K, Hertweck C. Triggering cryptic natural product biosynthesis in microorganisms. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 2009, 7:1753-1760.
- [3] Bode HB, Bethe B, Hofs R, Zeeck A. Big effects from small changes: possible ways to explore nature's chemical diversity. *ChemBioChem* 2002, 3:619-627.
- [4] 朱孟沼,崔晓龙,李铭刚,李一青,赵江源,彭谦,文孟良,发现微生物药物的新途径:从基因到新化合物. 天然产物研究与开发 (*Natural Product Research and Development*), 2006, 5(18):854-857.
- [5] Numata A, Takahashi C, Ito Y, Takada T, Kawai K, Usami Y, Matsumura E, Imachi M, Ito T, Hasegawa W. Communesins, cytotoxic metabolites of a fungus isolated from a marine alga. *Tetrahedron Letters*, 1993, 34(14):2355-2358.
- [6] Takahashi C, Numata A, Yamada T, Minoura K, Enomoto S, Konishi K, Nakai M, Matsuda C, Nomoto K. Penostatins, novel cytotoxic metabolites from a *Penicillium* species separated from a green alga. *Tetrahedron Letters*, 1996, 37(5):655-658.
- [7] Numata A, Takahashi C, Ito Y, Minoura K, Yamada T, Matsuda C, Nomoto K. Penochalasin, a novel class of cytotoxic cytochalasins from a *Penicillium* species separated from a marine alga: structure determination and solution conformation. *Journal of Chemical Society, Perkin Transaction. I*, 1996, 3:239-245.
- [8] Iwamoto C, Minoura K, Hagishita S, Nomoto K, Numata A. Penostatins F-I, novel cytotoxic metabolites from a *Penicillium* species separated from an *Enteromorpha* marine alga. *Journal of Chemical Society, Perkin Transaction. I*, 1998, 3:449-456.
- [9] Iwamoto C, Minoura K, Oka T. Absolute stereostructures of novel cytotoxic metabolites, penostatins A-E, from *Penicillium* species separated from an *Enteromorpha* alga. *Tetrahedron*, 1999, 55(50):14353-14368.
- [10] Iwamoto C, Yamada T, Ito Y, Minoura K, Numata A. Cytotoxic cytochalasins from a *Penicillium* species separated from a marine alga. *Tetrahedron*, 2001, 57(15):2997-3004.
- [11] Paranagama PA, Wijeratne Kithsiri EM, Leslie Gunatilaka AA. Uncovering biosynthetic potential of plant-associated fungi: effect of culture conditions on metabolite production by *Paraphaeosphaeria quadrisepata* and *Chaetomium chiversii*. *Journal of Natural Products*, 70(11):1939-1945.
- [12] Burgess JG, Jordan EM, Bregu M, Mearns-Spragg A, Boyd KA. A neglected avenue of natural products research. *Journal of Biotechnology*, 1999, 70(1-3):27-32.
- [13] Cueto M, Jensen PR, Kauffman C, Fenical W, Lobkovsky E, Clardy J. A new antibiotic produced by a marine fungus in response to bacterial challenge. *Journal of Natural Products*, 2001, 64(11):1444-1446.
- [14] Oh DC, Kauffman CA, Jensen PR, Fenical W. Induced production of emericellamides A and B from the marine-derived fungus *Emericella* sp. in competing co-culture. *Journal of Natural Products*, 2007, 70(4):515-520.
- [15] Oikawa, H. Murakami, Y. Ichihara. A useful approach to find the plausible biosynthetic precursors of secondary metabolites using P-450 inhibitors: postulated intermediates of chaetoglobosin A. *Journal of Chemical Society, Perkin Transaction. I*, 1992, 21:2949-2954.
- [16] Kakeya H, Morishita M, Onozawa C, Usami R, Horikoshi K, Kimura K, Yoshihama M, Osada H. RKS-1778, A new mammalian cell-cycle inhibitor and a key intermediate of the [11] cytochalasin group. *Journal of Natural Products*, 1997, 60(7):669-672.

- [17] Williams RB, Henrikson JC, Hoover AR, Lee AE, Cichewicz RH. Epigenetic remodeling of the fungal secondary metabolome. *Organic & Biomolecular Chemistry*,2008,6:1895-1897.
- [18] Robert H, Cichewicz. Epigenome manipulation as a pathway to new natural product scaffolds and their congeners. *Natural Product Reports*,2010,27:11-22.
- [19] 陈坚, 张晓琴. 组蛋白乙酰化与基因转录的关系. 国外医学分子生物学分册 (*Journal of Medical Molecular Biology*),2000,22(5):257-261.
- [20] Henrikson JC, Hoover AR, Joyner PM, Cichewicz RH. A chemical epigenetics approach for engineering the *in situ* biosynthesis of acryptic natural product from *Aspergillus niger*. *Organic & Biomolecular Chemistry*,2009,7:435-438.
- [21] Farnet CM, Zazopoulos E. Improving drug discovery from microorganisms. *Natural products drug discovery and therapeutic medicine*. USA: Humana Press, 2005: 95-106.
- [22] Zazopoulos E, Huang K, Staffa A, Liu W, Bachmann BO, Nonaka K, Ahlert J. Genomics-guided approach for discovering and expressing cryptic metabolic pathways. *Nature biotechnology*, 2003,21(2):187-90.
- [23] McAlpine JB, Bachmann BO, Pirae M, Tremblay S, Alarco AM, Zazopoulos E, Farnet CM. Microbial genomics as a guide to drug discovery and structural elucidation: ECO-02301, a novel antifungal agent, as an example. *Journal of Natural Products*,2005,68(4):493-496.
- [24] Banskota AH, McAlpine JB, Sørensen D. Genomic analyses lead to novel secondary metabolites. part 3 eco-0501, a novel antibacterial of a new class. *The Journal of Antibiotics*,2006,59(9):533-542.
- [25] Scherlach K, Hertweck C. Discovery of aspoquinolones A-D, prenylated quinoline-2-one alkaloids from *Aspergillus nidulans*, motivated by genome mining. *Organic & Biomolecular Chemistry*,2006,4:3517-3520.
- [26] Banskota AH, McAlpine JB, Sørensen D, Aouidate M, Pirae M, Alarco AM, Omura S, Shiomi K, Farnet C, Zazopoulos E. Isolation and identification of three new 5-Alkenyl-3,3(2H)-furanones from two streptomyces species using a genomic screening approach. *The Journal of Antibiotics*,2006,59(3):168-176.
- [27] Banskota AH, Aouidate M, Sørensen D, Ibrahim A, Pirae M, Zazopoulos E, Alarco AM, Gourdeau H, Mellon C, Farnet CM, Falardeau P, McAlpine JB. TLN-05220, TLN-05223, new Echinosporicin-type antibiotics, and proposed revision of the structure of bravomicins. *The Journal of Antibiotics*, 2009,62:565-570.
- [28] Liu R, Gu QQ, Zhu WM, Cui CB, Fan GT, Fang YC, Liu HB. 10-Phenyl-[12]-cytochalasins Z₇, Z₈, and Z₉ from the marine-derived fungus *spicaria elegans*. *Journal of Natural Products*,2006,69(6):871-875.
- [29] Liu R, Lin ZJ, Zhu TJ, Fang YC, Gu QQ, Zhu WM. Novel open-chain cytochalasins from the marine-derived fungus *Spicaria elegans*. *Journal of Natural Products*, 2008,71(7):1127-1132.
- [30] Lin ZJ, Zhu TJ, Wei HJ, Zhang GJ, Wang H, Gu QQ. Spicochalasin A and new aspochalasins from the marine-derived fungus *Spicaria elegans*. *European Journal of Organic Chemistry*,2009:3045-3051.
- [31] Schuemann J, Hertweck C. Molecular basis of cytochalasan biosynthesis in fungi: gene cluster analysis and evidence for the involvement of a PKS-NRPS hybrid synthase by RNA silencing. *Journal of American Chemical Society*,2007,129(31):9564-9565.
- [32] Lin ZJ, Zhu TJ, Zhang GJ, Wei HJ, Gu QQ. Deoxy-cytochalasins from a marine-derived fungus *Spicaria elegans*. *Canadian Journal of Chemistry*,2009,87(3):486-489.

OSMAC (One Strain Many Compounds) approach in the research of microbial metabolites-A review

Hongjuan Wei, Zhenjian Lin, Dehai Li, Qianqun Gu, Tianjiao Zhu*

(Key Laboratory of Marine Drugs, Chinese Ministry of Education, Institute of Marine Drugs and Food, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Abstract: Microbial secondary metabolites have a wide range of biological activities due to their structural diversity and have been proved a major source for drug lead compounds. However, the traditional method of a single culture restricts the metabolic pathways of microorganisms and as a result many metabolites cannot be formed. Recently, it has attracted much attention to use various techniques to activate those metabolic pathways restricted by the traditional method to get metabolic products with rich variety of structures. “One strain many compounds” (OSMAC) is a simple and effective approach for activating metabolic pathways and has been successfully applied. This review summarizes the common strategies of the OSMAC approach (altering cultivation parameters, co-cultivation, addition of enzyme inhibitors, etc) and the recent advances of OSMAC combined with genomics scanning. This review also introduces the research of our studies using the OSMAC approach on a fungus *Spicaria elegans* KLA03 which yielded a series of cytochalasins.

Keywords: One Strain Many Compounds (OSMAC); microbial secondary metabolites; co-cultivation; genome scanning

(本文责编:王晋芳)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (30772640)

* Corresponding author. Tel: +86-532-82031632; E-mail: zhutj@ouc.edu.cn

Received: 5 December 2009/ Revised: 7 February 2010

1953 年创刊以来所有文章全文上网

从 2008 年 1 月开始《微生物学报》的所有文章开始全文上网了。欢迎广大读者登陆本刊主页 (<http://journals.im.ac.cn/actamicrocn>) 浏览、查询、免费下载全文! 由于《微生物学报》历史久远, 为方便读者查阅, 将刊期变化作以下统计。

《微生物学报》刊、期统计表

2010 年 6 月统计

时间	刊期	卷号	期号
1953 - 1956	半年刊	1 - 4	1 - 2
1957 - 1958	季刊	5 - 6	1 - 4
1959	季刊	7	1 - 2
1959 - 1962	停刊 3 年		
1962	季刊	8	3 - 4
1963 - 1965	季刊	9 - 11	1 - 4
1966	季刊	12	1 - 2
1966 - 1972	停刊 6 年半		
1973 - 1988	季刊	13 - 28	1 - 4
1989 - 2007	双月刊	29 - 47	1 - 6
2008	月刊	48	1 - 12
2009	月刊	49	1 - 12
2010	月刊	50	6