

海洋微生物源活性产物的发酵条件优化研究进展

左明星^{1,2}, 许言超^{1,3}, 王立平^{1,2*}

¹贵州医科大学 省部共建药用植物功效与利用国家重点实验室;

²贵州省中国科学院天然产物化学重点实验室 贵州省天然药物工程研究中心, 贵阳 550014;

³贵州医科大学药学院, 贵阳 550025

摘要:海洋微生物因其独特的生境和代谢途径,能够产生结构新颖且具有抗肿瘤、抗菌、抗病毒和免疫调节等多种生物活性的代谢产物,从而成为新活性化合物的重要源泉,并在新药物开发领域中越来越受到重视。但微生物来源的活性产物产量普遍较低,需要通过发酵优化提高其产量,为后续深入研究和开发提供物质基础。因此,本文根据化学分类介绍了来源于海洋微生物的活性化合物及其发酵条件优化,以期为其他海洋微生物资源的挖掘与利用提供相应的参考。

关键词:海洋微生物;活性代谢产物;发酵条件优化

中图分类号:R93

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2019)11-2015-09

DOI:10.16333/j.1001-6880.2019.11.023

Research progress on the optimization of fermentation conditions for active metabolites from marine microorganisms

ZUO Ming-xing^{1,2}, XU Yan-chao^{1,3}, WANG Li-ping^{1,2*}

¹State Key Laboratory of Functions and Applications of Medicinal Plants, Guizhou Medical University;

²Guizhou Provincial Engineering Research Center for Natural Drugs, Key Laboratory of Chemistry for Natural Products of Guizhou Province and Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550014, China;

³Department of Pharmacology, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, China

Abstract: Due to the unique habitats and metabolic pathways, marine microorganisms can produce diverse metabolites with remarkable biological activities, such as anti-tumor, anti-bacterial, anti-virus, immune regulation, and so on. These active substances are expected to be lead compounds. So, marine microorganisms are the important sources of new active compounds and attract more and more attention in the field of new drug development. However, the yield of active products from microbial sources is generally low. In order to improve the yield, fermentation conditions need to be optimized, which provides basis for further research and development. In this paper, the active substances derived from marine microorganisms and the optimization of fermentation conditions were reviewed depending on the chemical classification. This provides the corresponding reference for the exploitation and utilization of other marine microbial resources.

Key words: marine microorganism; active metabolites; optimization of fermentation conditions

海洋占地球表面积的70%,是生命支持系统的重要组成部分,也是人类赖以生存和发展的宝贵财富。在海洋生态系统中,微生物是不可或缺的部分,海洋微生物相对于陆地微生物而言,需要耐受海洋特有的如高盐、高压、低氧、低光照等极端环境。海

洋微生物在物种、基因组成和生态功能等方面具有多样性,不仅确保其能够在极端环境中生存,而且形成了独特的代谢方式,是其产生结构多样活性化合物的重要保障^[1],促使海洋微生物成为新的活性物质源泉,为新药的研发提供了丰富的物质基础。目前已有多种海洋微生物药物上市,如来源于海洋真菌的抗菌药物头孢菌素C和来自海洋放线菌的抗结核药物利福霉素;同时,也有已进入临床研究的候选药物,如来自于海洋真菌的抗非小细胞肺癌候选

收稿日期:2019-05-20 接受日期:2019-08-21

基金项目:贵州省科学技术基金(黔科合J字[2015]2109号);贵州省“百人领军人才”计划;黔科合院士站([2015]4009号);黔科合体(Z字[2014]4007号)

*通信作者 Tel:86-851-83809439;E-mail:lipingw2006@163.com

药物 plinabulin 和来源于海洋细菌的治疗多种癌症的候选药物 salimosporamide A 等^[2]。但是,海洋微生物代谢产物在初始发酵条件下,其发酵效价一般较低,因此需要对发酵条件进行优化以提高其产量,最佳发酵条件的确定是海洋微生物资源能够被充分利用的重要条件。本文在前人研究工作的基础上,对海洋微生物代谢产生的活性物质及其发酵条件优化进行概述,介绍了当前海洋来源微生物活性产物发酵优化的最新进展。

1 海洋微生物活性物质种类

目前,已从海洋微生物代谢产物中分离得到了结构多样的活性物质,包括蛋白酶类、肽类、生物碱类、萜类、聚酮类、脂肪酸、糖类等多种结构类型^[3]。这些化合物具有抗菌、抗病毒、抗肿瘤、抗心脑血管疾病、抗氧化、抗炎、抗寄生虫、抗过敏反应等作用^[4-6],为药物研究提供了重要的先导化合物。

2 海洋微生物活性物质的发酵优化

2.1 蛋白质及肽类活性物质

木聚糖酶是指可以降解植物半纤维素木聚糖的一类酶,主要包括 β -1,4-D-内切木聚糖酶(EC 3. 2. 1. 8)、 β -1,4-D-外切木聚糖酶(EC 3. 2. 1. 92)、 β -木糖苷酶(EC 3. 2. 1. 37)^[7],在海洋和陆地上都存在着大量可以产生木聚糖酶的微生物。董延娟等^[7]从海洋中分离得到一株能产碱性木聚糖酶的芽孢杆菌(*Bacillus* sp.) YS1069,利用单因素以及 $L_9(3^4)$ 正交实验进行发酵优化,确定了最佳培养基为:碳酸钠 21.86 g/L、麸皮 51.41 g/L、硫酸镁 0.59 g/L,酶活达到 4408.63 U/mL,与未优化前的 738.21 U/mL 相比,提高了约 5 倍。

纤溶酶类^[8]被广泛用于血栓的治疗,它可以直接作用于血纤维蛋白,从而迅速溶解血栓。Hou 等^[9]从渤海海域筛选到了一株产纤溶酶的链霉菌 MY0504,通过单因素及响应面法确定了最优培养基为:葡萄糖 21.68 g/L、酵母粉 25.31 g/L、NaCl 5.0 g/L、 $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ 3.0 g/L、 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.5 g/L、 $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.02 g/L、初始 pH = 7.5;最佳发酵条件为:装液量 50 mL/250 mL、接种量 10% (体积比)、温度 24 °C、转速 200 rpm、培养时间 4.5 天。发酵液纤溶酶活力可达 2 190.6 U/mL,是优化前酶活的 4 倍。

脓菌素(pyoverdines)是荧光假单胞菌在缺乏三价铁离子的条件下,分泌的一种水溶性、黄绿色、发荧光的分子量约为 1-2KD 的小肽^[10],目前作为一种

新型荧光标记分子被开发。Shang 等^[11]对分离自厦门海湾的产脓菌素的荧光假单胞菌 SXM-1 进行发酵优化,以琥珀酸钠培养基作为基础培养基,发现甘油、海盐和硝酸铵可对铁载体产量有明显的促进作用。优化后的培养基配方为:4 g/dm³ 琥珀酸钠、6 g/dm³ K_2HPO_4 、3 g/dm³ KH_2PO_4 、1 g/dm³ $(NH_4)_2SO_4$ 、1 g/dm³ NH_4NO_3 、5 g/dm³ 海盐、1.5% 甘油、起始 pH = 6.9;最佳发酵条件为:接种量 1.0%、培养温度 25 °C、转速 220 rpm、发酵时间为 28 h。其脓菌素产量最高可达到 265 mg/dm³,约是基础培养基产量的 7 倍,远远超过 Elena 和 Fallahzadeh 等的脓菌素产量^[12,13]。

放线菌素是一种由链霉菌产生的具有抗癌作用的环肽类抗生素,主要包括放线菌素 D、 X_2 、 $X_{0\beta}$ 等^[14]。它们通过酯肽链与 DNA 分子的脱氧鸟嘌呤发挥特异性作用,嵌入到 DNA 双螺旋的小沟中,抑制 RNA 特别是 mRNA 的合成,从而发挥抗癌作用。放线菌素 D 主要由链霉菌发酵获得,Wang 等^[15]筛选到一株产放线菌素 D 的海洋来源放线菌 *Streptomyces parvulus* OUCMDZ-2554,对其发酵条件进行优化,通过单因子优化和正交实验,确定发酵培养基为: K_2HPO_4 1.5 g、 $MgSO_4$ 0.5 g、酵母浸膏 5 g、可溶性淀粉 22.5 g、陈海水 1 000 mL,起始 pH = 7.5;最佳培养条件:种龄 4 天、装液量 150/500 mL、盐度 3%、发酵时间 12 天。优化后放线菌素 D 的产量是优化前的 3.6 倍,达到 364 mg/L。在此基础上,Wang 等^[16]从沙特沿海栖息地中分离得到一株放线菌 *Streptomyces heliomycini* WH1,该菌株能够产生放线菌素 $X_{0\beta}$ 、 X_2 和 D,通过对其发酵条件进行优化,确定最佳发酵培养基:2.0% 大豆粉、0.15% KH_2PO_4 、0.05% $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 、1 L 海水、5% 盐度、起始 pH = 8.5;最佳培养条件:装液量 150/500 mL、28 °C 摇床(180 rpm)发酵 10 天。优化后放线菌素 $X_{0\beta}$ 、 X_2 和 D 的产量分别达到 107.6 ± 4.2 、 283.4 ± 75.3 和 458.0 ± 76.3 mg/L。

2.2 生物碱类活性物质

Fu 等从威海海域海洋沉积物中分离得到 1 株异壁放线菌 *Actionalloteichus cyanogriseus* WH1-2216-6^[17],主产的浅蓝霉素 A 为联吡啶类生物碱,具有抗肿瘤活性、抗菌活性和抗变形虫活性^[18]。Jia 等^[19]通过单因素和正交实验确定了最佳培养基组成:可溶性淀粉 20 g/L、甘油 20 g/L、蛋白胨 20 g/L、 $CaCO_3$ 2 g/L、2-吡啶甲酸 4 mg/L、XAD-16 大孔吸附

树脂 50 g/L、陈海水 1L(盐度 3.3%、起始 pH = 7.5);最佳培养条件:装液量 150/500 mL、种龄 5 天、接种量 2%、28 °C 下摇床(180 rpm)发酵 12 天。优化后浅蓝霉素 A 的产量是优化前的 7.0 倍,达到 610.5 mg/L,是目前发酵法制备浅蓝霉素 A 最高产量的 4.0 倍^[20]。

Curvulamine 是由南京大学谭仁祥课题组从海洋白姑鱼 (*Argyrosomus argentatus*) 共生弯孢霉 (*Curvularia* sp. IFB-Z10) 中分离得到的一种吡啶里西啶生物碱,为全新骨架的次级代谢产物。其在抗厌氧病原菌方面显示出优异的潜力,对于临床上常见厌氧病原菌韦荣球菌 (*Veillonella parvula*)、链球菌 (*Streptococcus* sp.)、普通拟杆菌 (*Bacteroides vulgatus*) 等的抑菌活性强于广谱抗菌药物替硝唑,因此有望开发成为一种新型的抗菌类药物。此外 curvulamine 对乙酰胆碱酯酶也具有一定的抑制作用,可以制备成为一种靶向乙酰胆碱酯酶抑制剂从而用于治疗阿尔茨海默症^[21,22]。Yang 等^[23]通过对菌株 *Argyrosomus argentatus* 进行发酵工艺的优化,确定发酵培养基为:硝酸钠 3 g/L、磷酸氢二钾 1 g/L、氯化钾 0.5 g/L、七水合硫酸镁 0.5 g/L、七水合硫酸亚铁 0.01 g/L、蔗糖 30 g/L、酵母浸膏 1 g/L、pH = 5.0;培养条件:培养温度 28 °C、接种量为 12%,并通过添加代谢前体脯氨酸,最高产量达到 93.5 mg/L,为初始产量的 11.6 倍。

星形孢菌素 (staurosporine) 是一种具有非特异性的蛋白激酶抑制剂的吡啶哇唑类生物碱,能够诱导多种类型的细胞凋亡。Pu 等^[24]从南海近海泥中分离得到一株产星形孢菌素的菌株 *Actinomyces* sp. H41-38,优化后的培养基为:玉米淀粉 3%、酵母粉 3.54%、粗盐 0.23%、CaCO₃ 0.15%、KNO₃ 0.1%、七水合硫酸镁 0.06%、七水合硫酸亚铁 0.002%、三水合磷酸氢二钾 0.09%、纯净水 1 L、pH = 7.2 ~ 7.4;培养条件:培养温度 30 °C、发酵时间 96 h;其发酵摇瓶实测值为 251.3 μg/mL,比优化前提高了 4.33 倍。同时在 30 L 发酵罐(300 rpm、V_{空气} = 10 ~ 15 L/min)中扩大培养 84 h 后发酵效价达到 286.4 μg/mL,比摇瓶培养效价提高了 35.1 μg/mL。本课题组目前正在对一株深海来源的十字孢碱产生菌 OUCMDZ-3118 进行发酵条件的优化,摇瓶发酵的效价已提高到 285 mg/L。

2.3 萜类活性物质

蛇孢假壳素类化合物是一种具有 5-8-5 环系结

构的二倍半萜,该类化合物具有抗菌活性、抗肿瘤活性、植物毒性和抗线虫活性等^[25,26]。Zhu 等^[27]从海洋焦曲霉 094102 (*Aspergillus ustus* 094102) 次级代谢产物中分离得到 ophiobolin K。通过考察不同培养方式(静置和摇床)及发酵时间(20 ~ 100 天)对 ophiobolin K 含量影响,得到其最佳发酵条件为:在真菌 2 号培养基中静置培养 33 天, ophiobolin K 的发酵效价达到 28 mg/L。

角鲨烯 (squalene) 是一种脂质不皂化物,其化学名称为 2,6,10,15,19,23-六甲基-2,6,10,14,18,22-二十四碳六烯,属开链三萜。具有增强机体免疫能力、改善机体功能、抗衰老、抗疲劳、抗肿瘤等多种生理功能^[28]。Wang 等^[29]采用响应面法对产角鲨烯海洋微生物 *Pseudozyma* sp. SD301 的发酵条件进行优化,其最佳发酵培养基为:葡萄糖 67.2 g/L、酵母抽提物 20 g/L、海水晶 15 g/L;最佳培养条件:接种量 1.5%、培养温度 26 °C、装液量 41 mL/250 mL,此时角鲨烯产量为 1.2 g/L,比初始发酵条件提高了 3.6 倍。

罗汉松内酯 (podolactones) 是从罗汉松属植物中分离得到的二萜内酯类化合物,该类化合物在分子结构中的 C-19 和 C-6 位具有一个 γ 内酯环,在 C-12 和 C-14 位具有 δ 内酯环^[30]。且具有抗肿瘤、抗菌、抗炎、杀虫和植物生长调节等多种生物活性^[31]。Xu 等^[32]从热带马尾藻 *Sargassum* sp. 中分离得到一株内生真菌温特曲霉 *Aspergillus wentii* EN-48,从发酵产物中分离得到 3 个罗汉松内酯类四降二萜化合物 wentilactone A、wentilactone B、asperolides A,其对多株肿瘤细胞有显著抑制活性,且毒副作用小,有望成为新的抗肿瘤药物。通过对其发酵条件进行优化,获得最佳发酵培养基为:甘露醇 2%、葡萄糖 2%、酵母粉 0.3%、蛋白胨 0.5%、味精 0.5%、土豆汁 20%;wentilactone A 和 wentilactone B 的最佳培养条件:发酵液初始 pH = 7.4、装液量为 200 mL/L、盐度为 24.0‰、发酵时间为 27 天,asperolide A 的最适合发酵条件:发酵液初始 pH = 6.6、装液量为 200 mL/L、盐度为 24.5‰、发酵时间为 29 天,3 个化合物 wentilactone A、wentilactone B 和 asperolide A 的发酵效价分别为 13.9、6.9、4.4 mg/L,分别为原产量的 12 倍、13.5 倍和 14 倍。

2.4 聚酮类活性物质

聚酮化合物 (polyketides) 是一类普遍分布于自然界的天然产物。其数量庞大,结构多样,具有抗

菌、抗病毒、抗肿瘤、抗病原生物、抗结核和免疫抑制等多种生物活性,据预测约有1%的聚酮具有成药潜力^[33]。

大环内酯类化合物(resorcylic acid lactones)是由真菌经聚酮生源合成途径产生的含有 β -间羟苯甲酸酯的次级代谢产物,具有抗疟、抗真菌、细胞毒、抗污损、杀虫等活性^[34]。Sun等^[35]从广西涠洲岛海域的六放珊瑚中分离得到一株真菌 *Cochliobolus lunatus* TA26-46,其代谢产生大环内酯类化合物 zeaenol,具有较强的抗污损活性,通过单因素和正交试验确立了最佳发酵培养基为:可溶性淀粉 10.0 g、硝酸钠 5.0 g、乙酸钠 1.0 g、盐度为1%的人工海水 1 L;最佳培养条件:温度 28 °C、转速 120 rpm、培养时间 6 天。优化后 zeaenol 产量可达 155.4 mg/L,比优化前提高了 5 倍^[36]。

Dalesconol A (DA) 和 dalesconol B (DB) 是南京大学谭仁祥课题组从印尼红藻 (*Gracilaria* sp. SGR-1) 共生光轮层炭壳菌 (*Daldinia eschscholzii*) 发酵提取物中分离到的两个全新骨架聚酮类化合物,在体外活性实验中发现 DA 和 DB 与临床一线药物环孢菌素具有相当的免疫抑制活性,且两种化合物具有选择更广、副作用更小的优点^[37]。此外,DB 还能够通过 AKT/GSK-3 β / β -连环蛋白途径减弱 β -淀粉蛋白诱导的神经元细胞凋亡,有望成为阿尔茨海默病的潜在药物^[38]。Pan 等^[33]针对海洋来源微生物 *D. eschscholzii* 发酵生产 DA 和 DB 的产量低的问题,采用了系统发酵条件优化,获得最佳培养基为:葡萄糖 22.98 g/L、尿素 1.48 g/L、麦芽浸粉 37.5 g/L、蛋白胨 1 g/L、MgSO₄ · 7H₂O 0.5 g/L、KH₂PO₄ 0.5 g/L、FeCl₃ 0.5 mL/L、CaCl₂ 5 mM;培养条件为:接种量 14%、接种菌龄 96 h,此时 DA&DB 的产量可达到 84.3 mg/L。并采用补料-分批发酵方式,在 5 L 反应器中 DA&DB 的最高产量达到了 94.8 mg/L。

2.5 脂肪酸类活性物质

二十二碳六烯酸 (docosahexaenoic acid, DHA), 属于 omega-3 不饱和脂肪酸家族中的重要成员,有脑黄金之称,动物和人体不能自身合成二十二碳六烯酸,必须从外界摄入^[39]。DHA 能健脑、提高记忆力和视力,防止老年性痴呆及动脉粥样硬化、脑血栓等心脑血管疾病,因而受到食品界和医疗届的广泛关注^[40]。Sun 等^[41]对隐甲藻 *Cryptocodinium cohnii* LS1057 代谢产生 DHA 的发酵条件进行了系统的优

化,确定最佳培养基组成为:葡萄糖 79.76 g/L、酵母膏 14.0 g/L、K₂HPO₄ 0.5 g/L、海盐 20.0 g/L、MgSO₄ · 7H₂O 0.2 g/L、KNO₃ 8.0 g/L、FeSO₄ · 7H₂O 0.2 g/L 和 M 液 (M 液: V_{B1} 0.6 g/L, V_{B12} 0.1 mg/L) 1% (V/V); DHA 的发酵产量由 1.1 g/L^[42] 提高到了 2.1 g/L。

2.6 糖类活性物质

琼胶寡糖是琼胶的水解产物,一般是指聚合度为 2 ~ 20 的低聚糖。琼胶寡糖的活性有抗氧化^[43]、肠道益生菌增殖^[44]、抗炎^[45]、抗肿瘤^[46]、美白保湿^[47] 等。Chan 等^[48]从西太平洋深海沉积物中分离鉴定了一株能以龙须菜干粉为底物进行生长并产生琼胶寡糖的火色杆菌属新种 (*Flammeovirga pacifica* WPAGA1)。对其发酵条件进行了优化,由于粘度是影响寡糖产量的一个重要因素,提出了 200 L 罐发酵产寡糖的优化和控制策略:龙须菜干粉添加量 20 g/L, C: N 控制为 5: 1 (蛋白胨为氮源)、盐度和接种量控制在 20 g/L (NaCl) 和 3% (V: V); 发酵条件为 37 °C、150 rpm、通气比 0.375 vvm。在上述条件下,发酵 42 h 时寡糖产量可达到 1.7 g/L, 比对照组提高了 45.7%。采用单位体积发酵液所消耗的功率相等的原则进行了发酵规模放大研究,建立了 1 吨发酵罐产寡糖的发酵条件,寡糖产量达到 200 L 罐产量的 96.4%,很好地降低了粘度对发酵性能的影响。

2.7 其他活性物质

黄曲霉毒素是由黄曲霉和寄生曲霉等曲霉属真菌产生的次级代谢产物,主要包括 B 族黄曲霉毒素 (B1 和 B2)、G 族黄曲霉毒素 (G1 和 G2), 具有高度致突变与致癌性,广泛污染谷类、干果、坚果等食物,严重危害人类和动物的健康^[49]。Wang 等^[50]从南大西洋 3 203 m 水深的热液区沉积物中分离得到一株显著抑制寄生曲霉生长和黄曲霉毒素产生的环状芽孢杆菌 FA13, 并利用均匀设计对发酵培养基成分和发酵条件进行了优化。优化后的培养基为: 7.675 g/L 淀粉、0.787 g/L 酪蛋白、2.257 g/L 酵母膏、57.91% 海水用量、pH = 4.15; 培养条件: 1.02% 菌种接种量、培养温度 20.51 °C、培养时间 3.28 天。与原始方案相比,优化方案的发酵培养基成本降低了 42.76%, 发酵温度由原来的 28 °C 降低为 20.51 °C, 培养时间由 6 天减少到 3.28 天,但其依然保持较好的抑毒和抑菌效果。

(+)-Terrein 是真菌土曲霉 *A. terreus* 的标志性次级代谢产物,1935 年被首次分离获得^[51],该化合物具有抑制黑素合成^[52]、抗炎^[53]、抗氧化^[54]、细胞毒性^[55]以及植物毒性^[56]等多种活性,是一个在医药行业以及农业上及具研究价值的小分子。Zhao 等^[57]利用响应面法对海洋来源真菌 *Aspergillus terreus* PT06-2 中的 (+)-terrein 代谢产物进行发酵优化,其最适培养基和培养条件为:13.1% NaCl,3.6% 淀粉,2% 谷氨酸钠,0.05% KCl,3% 接种量、装液量为 150 mL/500 mL、pH = 5、以 180 rpm 在 28 °C 震荡培养 18 天,(+)-terrein 的产量达 8.2 ± 0.072 g/L。

FGFC1 (fungi fibrinolytic compound 1) 是具有溶血栓作用的小分子活性化合物,其特异性作用于纤溶酶原和单链尿激酶型纤溶酶原激活剂,可使生理的纤溶反应平稳进行,避免机体广泛出血风险及过敏反应,有望成为安全而高效的溶血栓新药^[58]。Su 等^[59]从东海海域的海洋中分离得到能够产 FGFC1 的长孢葡萄穗霉菌 (*Stachybotrys longispora* FG216),并利用响应面法对其发酵条件进行优化,结果表明最优培养基为:蔗糖 50 g/L、硝酸钠 3 g/L、磷酸氢二钾 0.1 g/L、硫酸镁 0.5 g/L、氯化钾 0.5 g/L、酵母提取物 1 g/L、氯化钴 0.0025 g/L、硫酸亚铁 0.015 g/L、氯化钙 0.0065 g/L、鸟氨酸盐酸盐 0.5%、pH = 5.8;最优培养条件:时间 9 天、培养温度 28 °C。该发酵条件下 FGFC1 产量可达 1978.3 mg/L。

由上述经发酵优化后的培养基可知,葡萄糖、淀粉为大多数培养基的主要碳源,葡萄糖和淀粉的主

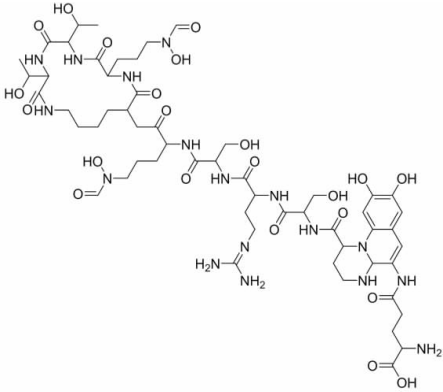
要功能是提供碳源和能量;酵母粉/浸膏为主要氮源,其主要功能是快速提供氮源营养; $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ 、 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 、 $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 为大多数培养基的主要无机盐。其主要功能分别是: K^+ 为果糖激酶、磷酸丙酮酸转磷酸酶等的辅因子,在维持电位差和渗透压及缓冲 pH 值中起重要作用; Mg^{2+} 为 EMP、TCA 途径及产赖氨酸的重要酶激活剂; Fe^{2+} 是电子呼吸传递链的重要成员之一,也是组成细胞色素、细胞色素氧化酶和过氧化氢酶的活性基团。海洋微生物因其生源的特异性,盐度对其次级代谢产物影响较大,在优化过程中盐度是重要的优化参数。海洋微生物由于受到海水潮汐等影响,活动范围较大,因此多采用摇床发酵。此外,通过合适的代谢前体添加可有效增加目标化合物的发酵效价。

3 结语

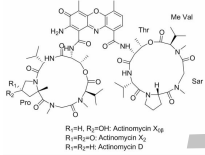
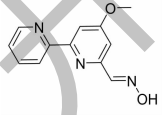
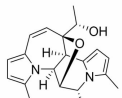
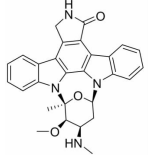
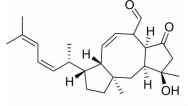
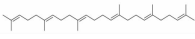
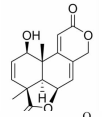
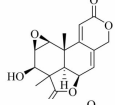
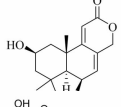
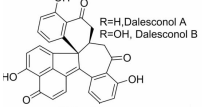
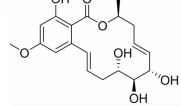
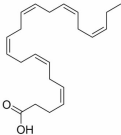
目前,已有超过 3 万种海洋来源天然产物被发掘,8 种海洋来源药物上市,近 20 种处于临床研究阶段,海洋作为天然产物的资源宝库,是具有广阔前景的药物来源地^[60]。其中海洋微生物因其独特的生境而具有耐盐或嗜盐、耐饥(寡营养)和耐碱等生理特性,为产生具有药用价值的活性化合物提供了可能性。但是,药源问题也一直困扰着新药的研发,而通过海洋微生物发酵条件优化等方式可以提高目标化合物产量,这为药源供应提供保障。本文综述了分离自海洋来源微生物的活性化合物及其发酵条件优化,并以表格形式进行了汇总(表 1),这为其他海洋微生物资源的挖掘与利用提供相应的参考,有利于促进海洋微生物资源的开发和利用。

表 1 海洋微生物来源活性物质的化学结构及优化前后产量

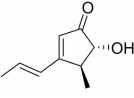
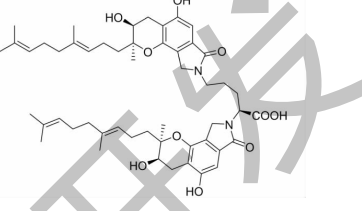
Table 1 Chemical structure of the active substance from marine microorganisms and the yield before and after optimization

海洋微生物 Marine microorganism	活性化合物 Active compound	优化前后产量提升情况 Increase of yield before and after optimization	生物活性 Bioactivity	化合物结构 Structure of compound
<i>Pseudomonas fluorescens</i> SXM-1	Pyoverdine	后:265 mg/dm ³ , 为优化前的 7 倍以上 ^[11]	荧光标记分子 ^[11]	

续表 1 (Continued Tab. 1)

海洋微生物 Marine microorganism	活性化合物 Active compound	优化前后产量提升情况 Increase of yield before and after optimization	生物活性 Bioactivity	化合物结构 Structure of compound
<i>Streptomyces heliomycini</i> WH1	actinomycin X0 β ,	前:56.8 mg/L 后:107.6 mg/L ^[16]	抗肿瘤活性;抗菌活性 ^[16]	
	actinomycin X2	前:112.4 mg/L 后:283.4 mg/L ^[16]	抗肿瘤活性;抗菌活性 ^[16]	
	actinomycin D	前:364.0mg/L 后:458.0 mg/L ^[16]	抗肿瘤活性;抗病毒活性; 蛋白酶抑制剂;抗菌活性 ^[16]	
<i>Actionalloteichus cyanorgriseus</i> Wh1 - 2216 - 6	浅蓝霉素 A	前:89.2 mg/L 后:610.5 mg/L ^[19]	抗肿瘤活性;抗菌活性;免疫 调节活性;神经保护活性; 受体结合活性;植物毒性; 抗痢疾变形虫活性 ^[18]	
<i>Curvularia</i> sp. IFB - Z10	curvulamine	前:8.07 mg/L 后:93.48 mg/L ^[23]	抗厌氧病原菌活性; 抗乙酰胆碱酯酶活性 ^[23]	
<i>Actinomycete</i> sp. H41 - 38	staurosporine	前:47.18 μ g/mL 后:251.28 μ g/mL ^[24]	蛋白激酶抑制剂, 诱导细胞凋亡 ^[24]	
<i>Aspergillus ustus</i> 094102	ophiobolin K	前:16 mg/L 后:28 mg/L ^[27]	抗肿瘤活性;抗线虫活性;抗 菌活性;植物毒性; 抗病毒活性 ^[26]	
<i>Pseudozyma</i> sp. SD301	角鲨烯	后:1.152 g/L 为优化前的 3.62 倍 ^[29]	增强机体免疫能力, 改善机体功能; 抗氧化,抗衰老; 抗疲劳;抗肿瘤活性; 抗辐射;解毒剂 ^[28]	
<i>Aspergillus wentii</i> EN - 48	asperolide A	后:4.5 mg/L 为优化前的 14 倍 ^[32]	抗菌活性;抗肿瘤活性; 诱导细胞凋亡, 抑制肿瘤细胞增殖 ^[32]	
<i>Aspergillus wentii</i> EN - 48	wentilactone A	后:13.9 mg/L 为优化前的 12 倍 ^[32]	抗肿瘤活性, 诱导细胞凋亡, 抑制肿瘤细胞增殖 ^[32]	
<i>Aspergillus wentii</i> EN - 48	wentilactone B	后:6.86 mg/L 为优化前的 13.5 倍 ^[32]	抗肿瘤活性;诱导细胞凋亡, 抑制肿瘤细胞增殖 ^[32]	
<i>Daldinia eschscholzii</i>	dalesconol A dalesconol B	前:36.66 mg/L 后:84.33 mg/L ^[33]	免疫抑制活性 ^[33]	
<i>Cochliobolus lunatus</i> TA26 - 46	zeaenol	前:30.23 mg/L 后:155.4 mg/L ^[36]	抗污损活性; 抗藤壶幼虫附着 ^[36]	
<i>Cryptocodinium cohnii</i> LS1057	DHA	前:1.057 g/L 后:2.112 g/L ^[42]	预防视力退化; 防治免疫性疾病; 增强记忆力;抑制血 栓形成;抗肿瘤活性 ^[42]	

续表 1 (Continued Tab. 1)

海洋微生物 Marine microorganism	活性化合物 Active compound	优化前后产量提升情况 Increase of yield before and after optimization	生物活性 Bioactivity	化合物结构 Structure of compound
<i>Aspergillus terreus</i> PT06-2	(+)-terrein	前:5.58 g/L 后:8.20 g/L ^[57]	抑制黑色素生成、 细胞增殖;抗炎; 抗血小板凝集; 抗菌、抗肿瘤活性 ^[57]	
<i>Stachybotrys longispora</i> FG216	FGFC1	前:700 mg/L 后:1978.33 mg/L ^[59]	溶血栓作用; 促纤溶作用 ^[58]	

致谢:感谢中国海洋大学医药学院朱伟明教授在文章写作中给予的指导。

参考文献

- Liu HS, et al. Natural products research in China from 2015 to 2016 [J]. *Front Chem*, 2018, 6:45.
- Zhang SW, et al. Progress on the research and development of marine drugs [J]. *Chin J Mar Drugs (中国海洋药物)*, 2018, 37:78-92.
- Anthony RC, et al. Marine natural products [J]. *Nat Prod Rep*, 2019, 36:122-173.
- John WB, et al. Marine natural products [J]. *Nat Prod Rep*, 2018, 35:8-53.
- Lin QF, et al. Advances in the research of bioactive steroids derived from marine microorganisms [J]. *Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发)*, 2018, 30:1266-1273.
- Jin LM, et al. New research progress on antitumor natural products from marine-derived fungi [J]. *Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发)*, 2017, 29:152-158.
- Dong YJ, et al. Optimization of the fermentation conditions for xylanase-producing strain Ys1069 [J]. *Progr Fishery Sci (渔业科学进展)*, 2016, 37:154-159.
- Chitte RR, et al. Potent fibrinolytic enzyme from a thermophilic *Streptomyces megasporus* strain SD5 [J]. *Lett Appl Microbiol*, 2000, 31:405-410.
- Hou ZX, et al. Optimization of fermentation for fibrinolytic enzyme production by *Streptomyces* MY0504 from ocean [J]. *Microbio China (微生物学通报)*, 2017, 44:1009-1016.
- Meyer J M. Pyoverdines: pigments, siderophores and potential taxonomic markers of fluorescent *Pseudomonas* species [J]. *Arch Microbiol*, 2000, 174:135-142.
- Shang WW, et al. Screening of original meidium and optimizing fermentation conditions of marine derived *Pseudomonas*

- fluorescens* for high-producing pyoverdines [J]. *J Appl Oceanogr (应用海洋学报)*, 2016, 35:166-173.
- Elena MA, et al. Biotechnological production of siderophores [J]. *Microbial Siderophores*, 2007, 12:219-231.
- Fallahzadeh V, et al. Growth and pyoverdine production kinetics of *Pseudomonas aeruginosa* TNSK2 in an experimental fermentor [J]. *J Agr Tech*, 2010, 6:107-115.
- Hollstein U. Actinomycin chemistry and mechanism of action [J]. *Chem Rev*, 1974, 74:625-652.
- Wang C, et al. Optimization of fermentation conditions for production of actinomycin D by marine-derived *streptomyces parvulus* OUCMDZ-2554 [J]. *Chin J Mar Drugs (中国海洋药物)*, 2014, 33:34-42.
- Wang DY, et al. Identification, bioactivity, and productivity of actinomycins from the marine-derived *Streptomyces heliomykini* [J]. *Front Microbiol*, 2017, 8:1147-1159.
- Fu P, et al. Cytotoxic bipyridines from the marine-derived actinomycete *Actinoalloteichus cyanogriseus* WH1-2216-6 [J]. *J Nat Prod*, 2011, 74:1751-1756.
- Mei XG, et al. Natural caerulomycins and the analogues [J]. *Chin J Mar Drugs (中国海洋药物)*, 2017, 36:87-96.
- Jia HJ, et al. Optimization of fermentation conditions for production of caerulomycin A by marine-derived *Actinoalloteichus cyanogriseus* WH 1-2216-6 [J]. *Chin J Mar Drugs (中国海洋药物)*, 2014, 33:9-15.
- Singla AK, et al. Use of bipyriding compound caerulomycin A, derivatives and analogos thereof as immunosuppressive agents; World Patent WO2007/031832 [P]. 2007-03-22.
- Han WB, et al. Curvulamine, a new antibacterial alkaloid incorporating two undescribed units from a *Curvularia* species [J]. *Org Lett*, 2014, 16:5366-5369.
- Tan RX, et al. A class of indolicidine alkaloids and their preparation methods and applications; CN201110105504. 6 [P]. 2015-04-29.

- 23 Yang J. Study on Marine-derived antibacterial compound curvulamine fermentation process [D]. Shanghai: East China University of Science and Technology (华东理工大学), 2016.
- 24 Pu XM, et al. Fermentation conditions of producing staurosporine strain H41-38 [J]. Microbiology (微生物学通报), 2009, 36: 1631-1637.
- 25 Wang QX, et al. Ophiobolins P-T, five new cytotoxic and antibacterial sesterterpenes from the endolichenic fungus *Ulocladium* sp. [J]. Fitoterapia, 2013, 90: 220-227.
- 26 Zhao XL, et al. The biological activity of Ophiobolins [J]. Hubei Agr Sci (湖北农业科学), 2016, 55: 3813-3818.
- 27 Zhu TH. Studies on fermentation optimization and preparation methods of ophiobolins [D]. Qingdao: Ocean University of China (中国海洋大学), 2015.
- 28 Liu CY, et al. Research process on squalene and bioactivities [J]. J Chin Inst Food Sci Tech (中国食品学报), 2015, 15: 147-156.
- 29 Wang XL, et al. Optimization of fermentation conditions for squalene production by marine microbe using response surface methodology [J]. Periodical Ocean Univ China: Nat Sci (中国海洋大学学报: 自科版), 2016, 46: 89-95.
- 30 Hayashi Y, et al. C-13 NMR-studies of the biologically-active nor-diterpenoid dilactones from *Podocarpus* plants [J]. Org Magn Reson, 1980, 14: 86-91.
- 31 Barrero AF, et al. Podolactones: a group of biologically active norditerpenoids [J]. Stud Nat Prod Chem, 2003, 28: 453-516.
- 32 Xu R. Optimization of the culture conditions of endophytic fungus *Aspergillus wentii* EN-48 for the anti-cancer agents tetranorditerpenoids and the secondary metabolites research on the marine-derived fungus *Penicillium simplicissimum* [D]. Beijing: University of Chinese Academy of Science (中国科学院大学), 2016.
- 33 Pan ZH. Study on the fermentation process of dalesconols A and B by a marine-derived fungus *Daldinia eschscholzii* [D]. Shanghai: East China University of Science and Technology (华东理工大学), 2017.
- 34 Sofia B, et al. Resorcylic acid lactones: a pluripotent scaffold with the therapeutic potential [J]. C R Chimie, 2008, 11: 1306-1317.
- 35 Sun JH, et al. Fermentation optimization for the marine-derived fungus *Cochliobolus lunatus* to produce antifouling resorcylic acid lactone zeaenol [J]. Chin J Mar Drugs (中国海洋药物), 2017, 36: 29-33.
- 36 Liu QA, et al. Antifouling and fungicidal resorcylic acid lactones from the sea anemone-derived fungus *Cochliobolus lunatus* [J]. J Agr Food Chem, 2014, 62: 3183.
- 37 Zhang YL, et al. Unprecedented immunosuppressive polyketides from *Daldinia eschscholzii*, a mantis-associated fungus [J]. Angew Chem, 2008, 120: 5907-5910.
- 38 Zhu X, et al. TL-2 attenuates β -amyloid induced neuronal apoptosis through the AKT/GSK-3 β / β -catenin pathway [J]. Int J Neuropsychopharmacol, 2014, 17: 1511-1519.
- 39 Ward OP, et al. Omega-3/6 fatty acids: alternative sources of production [J]. Process Biochem, 2005, 40: 3627-3652.
- 40 Sijtsma L, et al. Biotechnological production and application of the ω -3 polyunsaturated fatty acid docosahexaenoic acid [J]. Microbiol Biot, 2004, 64: 146-153.
- 41 Sun ZG, et al. Fermentation optimization by response surface methodology for enhanced yield of docosahexaenoic acid by *Cryptocodinium cohnii* LS1057 [J]. Sci Technol Food Ind (食品工业科技), 2014, 35: 258-263.
- 42 Sun ZG, et al. Screening and breeding of a high-yield docosahexaenoic acid strain of *Cryptocodinium cohnii* and optimization of its fermentation conditions [J]. Food sci (食品科学), 2013, 34: 202-206.
- 43 Chen H, et al. Antioxidant activity and hepatoprotective potential of agaro-oligosaccharides *in vitro* and *in vivo* [J]. Nutr J, 2006, 5: 31.
- 44 Guban J, et al. Relationship of dietary antimicrobial drug administration with broiler performance, decreased population levels of *Lactobacillus salivarius*, and reduced bile salt deconjugation in the ileum of broiler chickens [J]. Poultry Sci, 2006, 85: 2186-2194.
- 45 Enoki T, et al. Oligosaccharides from agar inhibit pro-inflammatory mediator release by inducing heme oxygenase 1 [J]. Biosci Biotech Bioch, 2010, 74: 766-770.
- 46 Oh C, et al. Cloning, purification and biochemical characterization of beta agarase from the marine bacterium *Pseudoalteromonas* sp. AG4 [J]. J Ind Microbiol Biot, 2010, 37: 483-494.
- 47 Fu XY. Preparation of neoagaro-oligosaccharides by enzymatic hydrolysis and their function evaluation in cosmetics [D]. Qingdao: Ocean University of China (中国海洋大学), 2006.
- 48 Chan ZH. The pilot fermentation strategies for agaro-oligosaccharides production by the deep sea bacterium *Flammeovirga pacifica* WPAFA1 and the characterizations of related enzymes [D]. Xiamen: Huaqiao university (华侨大学), 2018.
- 49 Qiao HX, et al. Progress on harm and detoxification methods of aflatoxin [J]. Progr Veterin Med (动物医学进展), 2017, 38: 89-93.
- 50 Wang Q, et al. Fermentation optimization of anti-aflatoxigenic bioactive metabolites produced by a deep-sea *Bacillus circulans* strain [J]. J Agr Sci Tech-Iran (中国农业科技导报),

- 2018,20:65-71.
- 51 Rasitrick H, et al. Studies in the biochemistry of microorganisms; the metabolic products of *Aspergillus terreus* Thom. A new mould metabolic product-terrein[J]. Bio-chem J, 1935, 29:606-611.
- 52 Park SH, et al. Terrein; a new mela-nogensis inhibitor and its mechanism[J]. Cmls Cell Mol Life Sci, 2004, 61: 2878-2885.
- 53 Mandai H, et al. Synthetic (+)-terrein suppresses interleukin-6/soluble interleukin-6 receptor induced- secretion of vascular endothelial growth factor in human gingival fibroblasts[J]. Bioorgan Med Chem, 2014, 22:5338-5344.
- 54 Trabolsy ZBKA, et al. Antioxidant activity, nmr, x-ray, ecd and uv-vis spectra of (+)-terrein; experimental and theoretical approaches[J]. J Mol Struct, 2014, 1060:102-110.
- 55 Liao WY, et al. Asperjinone, a norneolignan, and terrein, a suppressor of ABCG2-expressing breast cancer cells, from thermophilic *Aspergillus terreus* [J]. J Nat Prod, 2012, 75: 630-635.
- 56 Hill RA, et al. Biosynthesis of terrein a metabolite of *Aspergillus terreus* Thom[J]. J Chem Soc Chem Commun, 1975, 10: 380-381.
- 57 Zhao CY, et al. Improving the yield of (+)-terrein from the salt-tolerant *Aspergillus terreus* PT06-2[J]. World J Microbiol Biotechnol, 2016, 32:77-86.
- 58 Fu SQ, et al. Fibrinolysis promoting activity of a novel metabolic product of marine microbe-FGFC1[J]. Pharm Care Res (药学服务与研究) , 2015, 15:99-102.
- 59 Su TW, et al. Optimiazation of marine microbe culture conditions in fermentation of fungi fibrinolytic compound by response surface methodology[J]. Chin J Biotechnol(生物工程学报) , 2013, 29:857-861.
- 60 Zhu X. Study on the fumigaclavine C process[D]. Shanghai: East China University of Science and Technology(华东理工大学) , 2015.

《天然产物研究与开发》青年编委会

青年编委 (以姓氏笔划为序)

Members

王红兵	戈惠明	尹文兵	尹 胜	吕兆林	刘相国
WANG Hongbing	GE Huiming	YIN Wenbing	YIN Sheng	LV Zhaolin	LIU Xiangguo
孙昊鹏	孙桂波	李良成	李国友	邱 莉	汪海波
SUN Haopeng	SUN Guibo	LI Liangcheng	LI Guoyou	QIU Li	WANG Haibo
沐万孟	张炳火	陈益华	林昌俊	欧阳杰	易华西
MU Wammeng	ZHANG Binghuo	CHEN Yihua	LIN Changjun	OU Yangjie	YI Huaxi
罗应刚	周 文	胡友财	袁 涛	夏永刚	高慧敏
LUO Yinggang	ZHOU Wen	HU Youcai	YUAN Tao	XIA Yonggang	GAO Huimin
唐金山	黄胜雄	韩秀珍	韩淑燕	曾克武	蓝蔚青
TANG Jinshan	HUANG Shengxiong	HAN Xiuzhen	HAN Shuyan	ZENG Kewu	LAN Weiqing
廖晨钟	薛永波				
LIAO Chenzhong	XUE Yongbo				