

国家“863”计划资源环境技术领域

第三届海洋生物高技术论坛



海洋生物高技术论坛

FORUM FOR MARINE BIOTECHNOLOGY

论文集

(下册)

COLLECTION OF THESIS

福建·厦门, 2005.08

国家“863”计划资源环境技术领域
第三届海洋生物高技术论坛

福建·厦门

2005.08

目 录

海洋微生物卫星会议

1. 关于发展我国海洋微生物学及微生物技术的几点思考与实践	艾云灿 (1)
2. 海洋微生物及其产生的生物活性物质的研究进展	胡申才, 谭仁祥, 洪葵* (6)
3. 海洋微生物活性物质研究开发进展	宁喜斌*, 林敏 (14)
4. 海底深部生物圈微生物的研究进展	党宏月*, 宋林生, 李铁刚 (18)
5. 研究海洋微生物——海洋微生物的生活模式和培养发酵	李越中*, 吴志红 (26)
6. 与海洋动、植物共生及共栖的海洋微生物资源研究	胡江春*, 马成新, 薛德林, 张立新, 刘丽, 范延辉, 徐洪利, 王书锦 (28)
7. 红树附生微生物的化学成分研究	林文翰 (41)
8. 微生物多样性的探索与宏基因组海洋药物开发	李翔*, 张偲, 黄良民, 吴军, 姜淑梅, 戴世鲲, 秦岭 (48)
9. 中国东海海洋微生物种群多样性初步研究	宋志刚, 许强芝, 鲁心安, 焦炳华 (55)
10. 中国东海和南海海洋微生物资源及其新的代谢产物	林永成*, 余志刚, 李厚金, 周世宁 (61)
11. 海洋中硫酸盐还原细菌抗菌活性研究	穆军, 焦炳华 (72)
12. 极地微生物及其低温酶	曾胤新*, 陈波, 俞勇, 李会荣 (77)
13. 东海药用微生物资源的初步调查研究	杨好, 艾峰, 刘小宇, 施晓琼, 焦炳华* 许强芝* (84)
14. 深海适冷菌 <i>Pseudoalteromonas</i> sp. SM9913 分泌的适冷蛋白酶 MCP-01 的自溶机制探讨	陈秀兰, 潘军, 孙彩云, 张玉忠* (88)
15. 抗艾滋病病毒海洋微生物的筛选及其活性化合物的初步分离	曾润颖, 林昱*, 乔文涛, 陈启民 (98)
16. 海洋共附生微生物的研究现状与趋势分析及相关建议	李志勇*, 白林泉, 张治洲 (102)
17. 极端嗜盐古菌蛋白类抗生素 HalC8 的生物合成及抗性机制	厉云, 孙超岷, 梅双双, 陆秋鹤, 周利刚, 向华* (106)
18. 粘细菌次级代谢产物研究进展	施晓琼, 许强芝, 焦炳华* (113)
19. 深海沉积物中细菌对有机碳源的反应: 细菌群落和酶活的变化	曾湘, 王风平, 肖湘* (117)
20. 海洋细菌 <i>Bacillus pumilus</i> PLM4 抗肿瘤多糖的分离纯化及结构研究	梁静娟*, 庞宗文, 王松柏, 詹萍, 马丽 (1124)
21. Cyclodipeptides of Marine Bacteria from Eastern Chinese Sea	QZ Xu, HP Zhu, F Ai, XY Liu, Y Yang, YY Guo, BH Jiao* (130)
22. 产杀虫活性物质海洋放线菌的筛选和初步鉴定	潘云娣, 杨文鸽*, 候温甫, 裘迪红 (133)

23. Four new Polyketide Antibiotics Isolated from the Mangrove Endophytic Fungus *Dothiorella* sp. HTF3.....
..... DU Xi-ping, SHEN Yue-mao, ZHENG Zhong-hui, HUANG Yao-jian,
..... SONG Si-yang, SU Wen-jin* (138)
24. 两株海洋聚球蓝细菌 (*Synechococcus* spp.) 的 16s rDNA 系统发生及生理生态特征分析.....
.....王晨阳, 赵三军, 岳海东, 肖天* (143)
25. 副溶血弧菌耐热直接溶血素基因的克隆与表达.....
.....林天龙*, 李巧苹, 许斌福, 杨金先 (149)
26. 海洋 *Pseudoalteromonas* sp. CY24 中一种新琼胶酶的克隆和性质分析.....
.....路新枝, 韩峰, 褚艳, 于文功* (155)
27. 哈氏弧菌 EcGY020401 优化培养.....陶家发, 吴淑勤*, 石存斌, 潘厚军 (162)
28. Biomineralisation by marine bacteria.....Long-Fei WU, Tian XIAO, Zhenming CHI (167)
29. Cytotoxic and antimicrobial metabolites from marine lignicolousfungi, *Diaporthe* sp.....
.....Xin Lin, Yaojian Huang, Meijuan Fang,, Jianfeng Wang,
.....Zhonghui Zheng, Wenjin Su, Yuemao Shen (169)
30. 海洋小单孢菌 FIM03-1149 产生的抗真菌抗生素.....
.....聂毅磊, 江红*, 林如, 谢阳, 郑卫, 程元荣 (177)
31. Marine yeasts and their applications in mariculture:Perspectives.....
.....Z. M. Chi*, Z. Q. Liu, L. M. GAO, F. Gong, C. L. MA, X. H. Wang, P. Wang (185)
32. 红树林土壤宏基因组文库的构建及生物活性筛选.....许云, 阎冰, 谢晴宜, 洪葵* (199)
33. 南海海绵共附生细菌优势种群的 PCR-DGGE 指纹与系统发育分析.....
.....何丽明, 李志勇*, 吴杰, 胡叶, 蒋群 (204)
34. 海绵及其共附生微生物的活性物质与化学防御.....黄奕, 李志勇* (212)
35. 海洋细菌 CCTCC M203005 产生的一种蓝色素及其抗肿瘤活性.....
.....温露, 袁保红, 林永成*, 周世宁* (217)
36. 海洋真菌 H-3 次级代谢产物分离研究.....陈融, 郑忠辉, 黄耀坚, 宋思扬* (227)
37. 南极微生物的分离及抗肿瘤活性筛选.....朱天骄*, 朱伟明, 顾谦群 (234)
38. 海洋假单胞杆菌碱性蛋白酶性质研究及其在羊毛加工中的初步应用.....
.....郝建华, 孙谧*, 王跃军, 王清印 (238)
39. 具细胞毒活性链霉菌 060524 菌株的次级代谢产物研究.....
.....胡中才, 洪葵*, 闫莉萍, 庄令, 史达华, 谭仁祥 (245)
40. 海洋碳样小单孢菌产生的异黄酮类化合物—染料木素和大豆黄素.....
.....江红*, 林如, 谢阳, 聂毅磊, 郑卫, 程元荣 (253)
41. 海洋小单孢菌 FIM 02-523 产生的脂肽类化合物 FW523 的化学鉴别和生物学活性.....
.....江红*, 林如, 程元荣 (259)
42. 红鳍东方豚体内共生存产毒细菌的微生态分布及 B3B 菌株生物学特性.....
.....范延辉, 胡江春*, 马成新, 薛德林, 刘丽, 王书锦 (267)
43. 海洋微生物 *Aeromonas caviae* CB101 中几丁质酶表达的调控研究与工业化生产菌株的定向筛选.....李强, 肖湘, 王风平* (272)

44. 利用微波诱变提高 B1 菌株的抑菌活性..... 张久明, 裴月湖, 田黎* (278)
45. 海洋磁细菌及磁小体的合成.....陈琦*, 李金华, 孙婷婷, 李越中, 陈冠军 (285)
46. 海洋放线菌产铁载体活性及其对抑菌性的影响.....
.....游剑岚, 刘广锋, 林永成, 周世宁* (286)
47. Detection of proliferating cell nuclear antigen analog in marine dinoflagellate *Prorocentrum donghaiense* Lu..... Jingwen Liu*, Nianzhi Jiao (290)
48. 海洋环境病原微生物功能基因组学..... 秦启伟*, 张嵘, 周胜 (296)
49. 粘细菌合成埃博霉素(Epothilones)的代谢改造.....
.....李越中*, 胡玮, 刘红, 刘新利, 刘巍峰 (301)
50. Isolation and characterization of *Bacillus fusiformis*, RG3B6, tetrodotoxin-producing bacterium from the puffer fish *Fugu rubripes*..... Wu Zhenlong, Xie Liping, Fan Yanhui, Guoliang Xie, Hu Jiangchun, Wang Shujin, Zhang Rongqing* (303)
51. 海洋真菌 H-3 代谢产物偏苯三酚细胞毒活性研究.....
.....陈融, 黄耀坚, 郑忠辉, 宋思扬* (312)
52. 从深海沉积物中筛选具有抗菌、抗肿瘤活性的海洋真菌.....
.....熊枫, 郑忠辉*, 黄耀坚, 宋思扬, 徐庆妍, 苏文金 (317)
53. Analysis of angiotensin-I-converting inhibitory peptides from *Bacillus* sp. SM98011 protease-hydrolyzed marine shrimp *Accedes chinensis*
.....He Hai-Lun, Chen Xiu-Lan, Sun Cai-Yun, Zhang Yu-Zhong, Zhou Bai-Cheng (323)
54. Using capillary electrophoresis for high throughput and rapid screening of marine organism hydrolysates enriched with peptides containing angiotensin-I-converting enzyme inhibitory activity
.....He Hai-Lun, Chen Xiu-Lan, Wu Hao, Sun Cai-Yun, Zhang Yu-Zhong, Zhou Bai-Cheng (336)
55. 温度对厚指海绵 *Pachychalila* sp.体内真细菌组成的影响.....
.....方再光*, 邓中日, 黄勃, 鲍实翔 (345)
56. 一株毛壳霉属(*Chaetomium* sp.)海藻内生真菌次生代谢产物研究.....
.....王松, 张翼, 李晓明, 王斌贵* (351)
57. 源于极地海洋的生防细菌的筛选、培养工艺及其活性物质的研究.....
.....王伟*, 李元广, 郭少华, 陈波 (355)
58. 红树林细胞毒活性放线菌研究..... 朱九滨, 洪葵*, 庄令, 张鹏 (364)
59. 共培养海绵微生物诱导抗菌活性物质的研究.....
.....靳艳, 郭鹏飞, 张海涛, 虞星炬, 张卫* (369)
60. 海洋蜡状芽孢杆菌041381菌株所产抗真菌活性物质的分离纯化及生物活性研究.....
.....张鹏, 洪葵*, 庄令, 林海鹏 (374)
61. 海洋放线菌2305菌株的形态及所产胞外多糖.....
.....郭彩华, 蔡慧农, 杨秋明, 卢珍华, 苏文金* (378)
62. 海洋来源共附生微生物及耐盐真菌的抗肿瘤活性代谢产物的研究.....
.....辛志宏, 刘睿, 王文良, 贾铁争, 朱伟明*, 顾谦群*, 崔承彬, 方玉春, 刘红兵, 朱天骄, 王磊, 段琳, 范国焘 (385)

63. 海洋生物活性物质与海洋微生物.....	刘晋, 刘丽, 孙际佳 (392)
64. 南海红树林真菌 1403#代谢产物的研究.....	余志刚, 黄华容, 夏雪奎, 林永成*, 姜广策 (397)
65. 深海微生物产低温淀粉酶发酵条件研究.....	戴世鲲, 郑天凌*, 王晓颖, 郑伟 (402)
66. 深海沉积物中产淀粉酶细菌多样性的研究.....	戴世鲲, 郑天凌*, 郑伟, 王晓颖 (411)
67. 热带太平洋区深海酵母的多样性与碳代谢特征研究.....	骆祝华, 王祥敏, 黄翔玲, 叶德赞* (417)
68. 海洋苯酚降解酵母菌的分离鉴定及降解特性.....	胡忠*, 吴奕瑞, 徐艳, 黄通旺 (424)
69. 一株海洋发光细菌 XB6 的分离及发光性能的初步研究.....	王静雪*, 林洪, 杜亚楠 (433)
70. <i>Pseudoalteromonas elyakouii</i> 发酵生产褐藻胶寡糖时 KLa 值的预测和发酵规模的放大.....	张香治, 薛长湖, 许萍, 刘鑫, 张永勤 (440)
71. 发酵法生产褐藻胶寡糖的 pH 优化策略.....	张香治, 薛长湖, 许萍, 刘鑫, 赵雪 (446)

关于发展我国海洋微生物学及微生物技术的 几点思考与实践⁺

艾云灿^{*}

(中山大学生命科学学院, 有害生物控制与资源利用国家重点实验室 广州 510275)

摘要: 本文综合介绍我们近年来关于中国海洋微生物学及微生物技术发展策略的思考与实践。

内容涉及: (1)、学科内涵与外延; (2)、远海与近海研究定位策略; (3)、全局性的几个关键科学问题; (4)、近岸关键区域示范的选择与实践。

关键词: 海洋微生物学, 海洋微生物技术, 发展战略

中国海洋微生物学学科发展经历了从无到有从外延到内涵的必然阶段。长期以来, 国内“微生物学”专业中“海洋微生物学或海洋微生物技术”不是主干分支科目; 海洋(水产)大学“海洋生物学”专业内虽有类似科目但缺乏微生物学专业主干课程体系支撑。当时跟踪美国 WHOI 海洋微生物学研究团队, 发现也不景气。体现出海洋微生物学长期冷门的事实。直到 1997 年我国“九五”期间启动“国家 863 计划海洋生物技术领域项目指南”, 增列 818 (海洋监测) 和 819 (海洋生物技术) 主题, “项目招标”内容涉及微生物应用, 才吸引更多学者进入该冷门领域。根据微生物学学科内涵并结合项目指南需求及技术发展趋势提出一定前瞻性的项目申请书, 往往难以被评审专家理解。我们通过深入调研国内和国外相关领域的发展动态, 规划本实验室的发展策略及努力方向, 几年来思考和实践积累了若干体会。值此“中国微生物学会海洋微生物专业委员会筹备成立”和“国家‘863’计划资源环境技术领域海洋生物高技术论坛暨海洋微生物专题研讨会”之际, 谨以此文汇报本实验室几年来的若干思考和实践情况, 与同行学习交流 and 讨论。

1 学科内涵及外延

海洋微生物学长期“冷门”, 原因在于自身学科体系不成熟, 研究难度大。现在逐渐成为“热门”, 动力来自于国家产业发展需求。1999 年和 2000 年有机会与粤港澳同行们讨论交流中国海洋微生物技术的发展策略问题, 取得以下基本共识^[1, 2]:

“海洋微生物学”属于“微生物学”或“海洋生物学”的分支领域; “海洋微生物技术”则属于“生物技术”或“海洋生物技术”的分支领域。除开考虑“海洋”这个特殊环境外, 都可以广泛继承现代生命科学和生物技术的理论和技术体系, 同时在研究对象、研究环境、研究方法等诸方面

⁺国家自然科学基金 (No.39870579; No.30270064; No.40370046)、教育部高等学校骨干教师资助计划、教育部回国留学人员科研启动基金、广东省自然科学基金 (No.031624)、中山大学 985-II 期资助课题。

^{*} 通讯作者: Email: Issayc@zsu.edu.cn; Tel/Fax: +86-20-34027366

本文部分观点曾经先后在“粤港台海岸海洋资源与环境学术研讨会”(1999)、“广东青年科学家论坛”(2000)、“香山科学会议, 第 225 次”(2004)、“香山科学会议, 第 231 次”(2004)、“丹麦-中国海洋环境科学及生物技术双边研讨会”(2004)上邀请报告。

又将赋予许多新挑战。每个方面的突破都会带来理论和技术的深刻进步。

如果仅着眼于中短期效益, 依赖实用主义肢解性应用开发, 缺乏与之配套的基础研究支撑, 就不利于学科发展和技术进步, 将制约我国海洋资源深度开发利用和综合管理。必须从学科发展高度促进海洋微生物学基础理论和应用技术协同并进相辅相成系统研究和开发^[1, 2]。

1.1 洋微生物学的生命科学基础研究意义

从海洋微生物的进化先锋作用、海洋古细菌、现代“生命三域”学说及“内共生起源”假说多角度, 都可预期海洋微生物学基础研究, 将积累丰实成果, 改写生命科学教科书^[1, 2]。

1.2 海洋微生物的生物地质化学及生态学意义

从生物地质化学效应、生态学效应(多样性调节、抗性、溶源性、遗传交换)等全局性变化角度, 可以系统认识海洋微生物所扮演的中心调节功能, 是理解和维护及适度利用海洋微生物资源的理论基础^[1, 2]。

1.3 海洋微生物的医学及药学意义

海洋微生物医学(含医学生态学)的重要性体现在三个方面: 海洋野生生物资源保护、沿海人工增殖水产生物病害防治基础、水陆两栖人畜共患的烈性传染病病原菌(含可移动毒力因子遗传元件)及耐药性菌群(含可移动耐药性因子遗传元件)的富集扩散和监控治理。海洋生命系统安全研究, 成为新世纪多学科多界面多层次科学大会战的主战场之一。向海洋微生物要新特药, 无论采用基因工程途径和微生物工程表达生产稀有生物资源的活性物质, 还是微生物本身产生丰富活性物质潜力, 都决定海洋微生物不可替代的主力军地位^[1, 2]。

1.4 海洋微生物与增殖产业及水体环境保护意义

增殖产业与水体环境保护有直接的因果互动关系。海洋微生物特殊类群的污染检测、扩散监控和生物净化方法学研究, 都是学科发展的新制高点^[1, 2]。

1.5 海洋其他高技术产业中的海洋微生物技术问题

随着海洋生物 100

开发的深度和广度不断拓展, 海洋微生物在许多方面将展示特殊魅力。包括极端环境微生物资源、非常规微生物的分离培养技术、极端环境微生物生理学、附着与反附着、腐蚀与防腐蚀、表面活性剂、石油污染治理、核辐射监控和治理、生物遥感感应器、生物毒素、重金属污染、有机农药污染、治理富营养化水体与控制赤潮爆发性危害等^[1, 2]。

2 远海与近海研究的定位策略

分析国际海洋微生物学发展历史与现状, 结合中国综合国力实际情况, 我们在许多学术场合一贯主张“由近及远、由浅及深、由特殊目标及一般原理”的定位策略^[1, 2, 3, 4]。现阶段我国海洋微生物学及技术研究的重点应该围绕国家产业发展的现实需求, 解决“家门口”的迫切难题。同时, 顶层设计规划少数已具备条件的国家队开展深海微生物研究, 为国家储备战略资源和知识积累。作为欠发达国家, 在发展深海和极端环境海洋微生物学研究开发过程中鼓励多学科交叉背景团队“专业优势互补、资源共享、平台互用”的发展策略^[3, 4]。

3 全局性的几个关键科学问题

3.1 海洋微生物学及生物技术应用的关键问题

1999 年^[1]提出研究开发海洋微生物资源的几个研究策略建议：非常规微生物资源的分离纯化和培养若干技术难题；高密度养殖水体生态系统维护、建立疫情爆发的预警预报系统和生态防治系统；海洋生物废弃资源转化微生物技术；海洋微生物资源多样性与新型药物开发中的微生物细胞分子筛选模型。

3.2 海洋微生物学及生物技术的学科内涵及外延

2000 年^[2]评述学科内涵和外延，从学科建设及产业化发展层面上重点评述几个重要方面的研究现状与发展方向：海洋微生物的生命科学基础研究意义；海洋微生物生物地质化学与生态学意义；海洋微生物医学与药学意义；海洋微生物与增养殖水产业及水体环境保护意义；海洋其他高新技术产业相关微生物技术问题。

3.3 海洋——陆地界面（近岸带）生态系统的微生物基因资源

2004 年^[3]提出“海洋——陆地界面（近岸带）生态系统”概念，强调要关注近岸海域的增养殖业作业区和富营养化水域等关键海域，关系到“海洋——陆地——人群社会”多界面上多环节多向性动态生态链。是以往公共防疫医学微生物学研究的薄弱环节。随着海洋开发向深度和广度发展，由这个特定生态界面所关联的人民公共防疫和国家安全相关的重大烈性病原微生物“负向”基因资源的系列问题，正在逐渐突显出来，远远超出一般养殖生物病害诊治范畴，而是在微生物分子遗传学层面发生重大烈性病原菌（由可移动毒力元件（大片段基因组元件）引发的基因水平转移，介导水陆两栖人畜共患的烈性病原菌的宿主范围跃迁等重大问题，已成为公共防疫、经济发展和国家安全相关联的关键科学问题。这类“负向”的微生物基因资源，经过安全性转化后将是最终研究防范特定敏感海域重大疫情爆发或反国际生物恐怖的关键资源。整合国家力量，深入研究分子机制基础，积累关键基因资源，对实施国家生物安全资源战略储备有现实意义。需要集中微生物分子遗传学、功能基因组学、生物信息学等前沿研究手段，集团军协作攻关。是在国家水平上顶层设计的一个良好问题方面。

3.4 深海和极端环境的海洋微生物研究原则问题

2004 年^[4]评述发展深海和极端环境的海洋微生物研究应该注意的四个原则问题：

3.4.1 关于深海和极端环境微生物

地球，海洋和生命，是最大的科学主题，容纳了多学科多领域的前沿科学命题。微生物的生命活动，很可能是连接有光食物链和黑暗食物链的主导生物过程。在微生物学教科书中描述：依赖光能的光能自养类型与依赖化学能的化能自养类型的微生物类群，是能量的捕获富集和生产者，而异养性微生物类群则是通过氧化有机物释放二氧化碳来完成这两种能量主导的生命过程。地球早期是无氧的还原状态，主要有化能自养型微生物来完成能量转化过程。稍后出现不放氧的光合作用微生物类型，再晚些时候出现了可以放氧的光合作用类型微生物（如蓝细菌）。现代地球，是由放氧光合作用生物来维持的氧化状态。深海等极端环境中发现微生物的休眠态是意料之中事。微生物有特别强的休眠能力和相应休眠结构体。重要的是，

如何将深海极端微生物从休眠态激活为可生长状态,可能是在同几千万年前的微生物生命体对话了。而以化石材料研究生命起源问题时要小心求证,要尽可能提供生命体征证据。

3.4.2 关于研究方法和科学方法论

地学领域学者擅长于野外考察和资源收集,生命科学学者擅长于实验室研究。来自地学和生命科学领域同行们在探索深海极端微生物生态系统过程中,扬长避短发挥专业优势互补,共同承担国家层面上的重大科技攻关任务,而不是一方试图取代另一方。如何有效共享呢?需要同行学者共同思考。比如功能基因研究,我国经过“863 计划”等连续建设,已经形成了陆地上研究平台,分布在有关大学和研究机构,是国家大平台。同时近年来“中国大洋协会”已经支持启动开展深海微生物资源项目,已获得一些有价值的深海资源。大家充分共享这些平台和资源,加快我国研究开发深海极端微生物资源的国际竞争步伐。

3.4.3 关于古细菌

古细菌是近年来发现的最新进展之一。虽然目前在生命树上,该菌的分枝较小,但不能认为就是种类少。一方面,系统进化树的构建过程,决定了依赖对具体属种描述记载,才能通过聚类方法展示在已有系统树中。事实上,目前关于古细菌具体属种的微生物学特征描述极少,因而当出现依据新序列数据分析而不能给出常规属种比对归宿时,很可能这就是一个以往不清楚的古细菌。从微生物生理学功能角度看,目前已知的古细菌是从产甲烷类古细菌开始的,关于甲烷合成机制已有清楚描述。但是现在来自深海的另一类古细菌,能够反过来氧化甲烷,就是很有趣的生命过程。对深海极端微生物生命过程研究,将有可能极大地改写生命科学教科书。这是深海极端微生物研究的基础科学意义所在。

3.4.4 关于生物安全性

深海探索过程中还应该关注生物安全性。深海中微生物经过了几亿年进化,对陆地环境适应性本身是科学屏障。不容易取来在地球上培养是天理。如果人为地打破这个屏障,使得在陆地环境下任意放大培养,对现有的人类控制措施构成挑战,构成生物安全性威胁。美国现在考虑上火星计划的重点就在于如何控制地球微生物对星际的污染,如何控制来自星际的微生物对地球的污染。值得深海极端环境探索活动借鉴。

4 近岸关键区域示范的选择与实践

2004 年^[3]我们在“香山科学会议第 225 次学术讨论会”专题评述报告中提出“海洋——陆地界面(近岸带)生态系统”概念,建议加强“界面生态系统微生物基因资源”研究框架顶层设计。内容包括三个方面:

4.1 国际生长点领域

突出国际海洋微生物学及微生物技术研究领域的三个热点主题,即公共健康、经济发展和国家安全。简要介绍美国北部马里兰海洋生物技术研究中心对切斯皮克湾(Chesapeake Bay)和南部南佛罗里达大学对墨西哥湾(Mexico Gulf)系统研究,突出噬菌体等可移动遗传元件介导海洋病原细菌致病性和耐药性因子大规模基因水平转移研究成果。同时介绍由美国十个部委联合启动“迎战微生物抗性公共健康行动计划”,及美国国家科学议程优先资助领域。

4.2 中国之特点与任务

结合近年来具体示例, 全面分析海洋生物养殖业主要作业区(近岸带)面临的履行国际道义之机遇与挑战并存的五个方面问题: 海域养殖业安全之可持续发展、WTO 后绿色贸易之国际制裁、人民公共防疫之纵深难题、国家生物安全之反国际生物恐怖、维护世界海洋大国之国际道义形象等。指出解决海洋产业潜在重大国际争端的几个重要方面, 迫切需要加强基础研究积累。倡议将近岸带海域作为关键区域示范, 围绕几个中心议题开展系统研究(图1):

(1)、保障 300 万平方公里专属海域健康开发的国家发展策略;(2)、确保敏感海域相关联的重大潜在争端问题上国家科学立场的主动权;(3)、提高国家安全和公共防疫能力的生物安全资源战略储备;(4)、启动敏感海域生物安全监控和生物预警系统等基础研究和技術储备。

4.3 研究框架示例

介绍本实验室近 8 年来围绕上述问题已经在南海珠江口海域系统开展研究工作框架内容:

(1)、一片区域(南海珠江口);(2)、二类资源(病原细菌/噬菌体);(3)三层安全(基因-基因岛-基因组/分子-细胞-群体);(4)、四类应用(健康养殖/公共防疫/新药筛选/国家安全)。着眼点是建立生物安全保障服务体系、储备战略资源、特殊生态系统的生命过程及调控监测机制、促进发展新产业链所需求的核心技术。

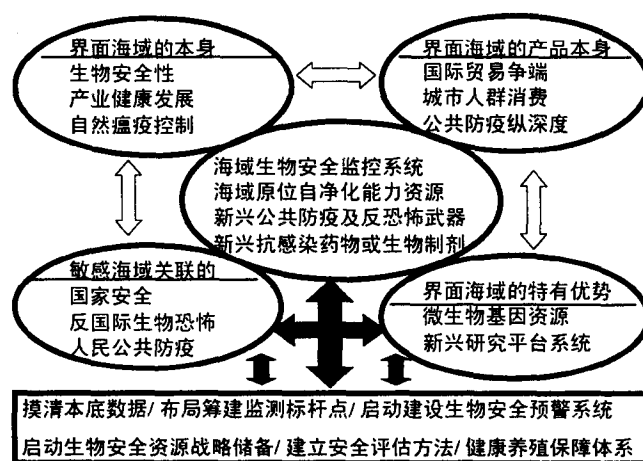


图1 近岸关键海域的系统研究之概念框架

Fig.1 Conceptual framework of systematic researches for the key coastal areas

海洋微生物及其产生的生物活性物质的研究进展*

胡申才^{1,2}, 谭仁祥², 洪葵^{1,3}

(¹中国热带农业科学院热带作物生物技术国家重点实验室, 海口, 570110)

(²南京大学医药生物技术国家重点实验室, 南京, 210093)

摘要: 海洋中含有丰富的微生物类群, 生活于海洋这样一个特殊生境中的微生物, 演化出了独特的代谢能力, 因此能产生大量的结构新颖、作用独特的具有一定生理活性的化合物。本文对海洋微生物资源的分布、多样性及其产生的结构新颖、作用独特的代谢产物作一介绍。

关键词: 海洋微生物; 次级代谢物; 生物活性

自从 1929 年 Fleming 发现青霉素以来, 在全球范围内掀起了开发抗生素等微生物代谢产物的热潮。在过去 70 多年中, 已从微生物中发现了 30000~50000 种天然产物, 其中 10000 多种有生物活性, 8000 多种具有抗菌或抗肿瘤活性。就活性物质而言, 通过微生物发酵生产的抗生素就有 100 多种了。除此之外, 还有应用于临床的抗肿瘤剂、免疫抑制剂、酶抑制剂及应用于农业生产的生物农药。微生物产生的酶、维生素和氨基酸等代谢物质, 在食品工业等领域也都有广泛应用。可见微生物资源在工、农业生产上起着极其重要的作用。

随着抗生素的广泛使用, 菌株产生的耐药性问题日益突出。抗生素主要是由放线菌产生的, 现对其研究仍然很广泛, 但经过对陆地放线菌资源几十年的大量开采, 现要从陆地微生物寻找到具新结构的活性物质的可能性越来越小, 并且开发的重复率几近 90%。再者, 对新病菌和其它疑难疾病仍缺乏疗效好的药物, 因此亟待去寻找新的资源以进行生物活性物质的开发研究。

海洋面积占地球面积的 70% 以上, 且海洋生境极其特殊, 为一封闭、高压、高盐、高温和严寒的环境。微生物在海洋中的分布极其广泛, 长期生活于海洋这样一个特殊的环境当中, 演化出了特殊的代谢途径, 能产生有别于陆地微生物的结构新颖和作用独特的代谢产物。因此海洋微生物成为生物活性物质开发的又一大新资源。

在不同的培养条件下, 微生物会产生不同的代谢产物, 因此, 有理由相信, 采用新的培养条件, 会增加筛选到活性物质的几率。根据下列理由, 可预期从尚未开发的巨大天然资源宝库—海洋微生物中开发出大量的具生物活性的化合物。

(1) 微生物体内活性物质的含量往往很低, 达几毫克/升, 甚至于几纳克/升, 在原有筛选模型的条件, 低含量的活性物质未必能发现到。引进更敏感、更精确的筛选靶标和测定方法来筛选, 采用更有效的分离方法来纯化, 筛选到新生物活性化合物的几率将大为增加。

(2) 从简单的菌落特征来进行菌株的筛选, 很难确定新种, 这就造成筛选的困难, 通过分子生物学手段测定 16S rDNA 的序列将有利于筛选到新种, 及建立种质资源库。

*基金项目: 国家高技术研究发展专项 863 海洋生物技术青年基金 (2002AA628140); 教育部基金 (104195)

³ 通讯作者: hongkui@scuta.edu.cn。

(3) 目前已有各种先进的设备用于极端环境(高压、高温或严寒)条件下样品的采集,这就增加了筛选到新种的可能性,也为发现具生物活性的新化合物增加了可能性。

(4) 各种极端环境条件(如高压等)的模拟,也使得原来不被培养的微生物而得以培养,或因改变了环境条件而不产生活性物质的菌株重新产生了活性物质。

近二十年来,从海洋微生物中分离到了大量的结构新颖、作用独特的具有一定生理活性的化合物,因此海洋微生物资源的开发研究正日益受到科学家、企业家和各国政府的广泛关注。下面将对海洋微生物资源的分布及其多样性及其产生的结构新颖、作用独特的代谢产物作一介绍。

1 海洋微生物的栖息地及其多样性

从多样性的观点来看,海洋生物的种类要比陆地生物多得多。微生物在海洋中的分布极其广泛,有的自由生活在海水中,有的存在于一些海洋沉积物和海泥的表面,还有一部分与海洋动、植物处于共生、共栖、寄生或附生的关系中。海洋微生物在海洋当中的分布数量以海泥或海绵为最,其中海绵当中微生物的含量可达40%。据估计海洋微生物种类大约有100—200万种,目前仅有1%的微生物能被分离培养。正常海水中微生物数量在 10^6 CFU/ml以下,动植物表面附生的细菌数为 $1.0 \times 10^4 \sim 1.0 \times 10^6$ CFU/g,放线菌为 $7.7 \times 10^3 \sim 5.2 \times 10^4$ CFU/g,真菌数为 $5.4 \times 10^4 \sim 3.1 \times 10^5$ CFU/g。海洋动物肠道细菌数为 $1.12 \times 10^5 \sim 1.45 \times 10^6$ CFU/g,放线菌数为 $1.0 \times 10^3 \sim 8.2 \times 10^3$ CFU/g,真菌数为 $1.0 \times 10^3 \sim 2.1 \times 10^4$ CFU/g (刘志鸿和牟海聿,1998)。

来自海洋的微生物常与陆地微生物有着许多相同的特征,固有人推测其来源于陆地微生物,只是因为雨水的冲刷或其它因素而使其到达了海洋生境,为了适应环境它们演化出了耐受盐能力和液化琼脂的代谢能力。一般来说,海洋细菌在含2%~4%盐的培养基中生长较好。而对放线菌来说,大多数海洋链霉菌比陆地链霉菌对盐的耐受能力要高,一般可耐受1~7%的盐浓度。

静压力是海洋中的一个很重要的参数。只有那些嗜压的和耐压菌才能在深海中繁衍生殖,以革兰氏染色呈阴性的假单胞菌为常见。在近海区链霉菌占优势,而随着海洋深度的增加链霉菌数越来越少,而代之以小单胞菌和诺卡氏菌占优势。

海洋微生物的栖息在某种程度上,也依赖于环境特异的底物。由于环境的不同,不同地区具有明显不同的微生物区系,例如在产生琼脂的海区出现能液化琼脂的微生物,而在陆地上要分离到能分解液化琼脂的微生物却很困难。大海深处也蕴藏着丰富的石油资源,常造成海域的污染,而发现某些海洋节杆菌属(*Arthrobacter*)和短杆菌属(*Brevibacterium*)菌株能分解石油。

2 海洋微生物的种类

2.1 真细菌

许多海洋细菌,包括蓝细菌,都归为真细菌。它们几乎都是单细胞的,为革兰氏阳性和

革兰氏阴性菌,但革兰氏阴性菌占到95%。以16SrRNA片断作探针,以FISH杂交法对样品得微生物类群进行分析时发现主要为一些放线菌,G+C%含量低的革兰氏阳性菌、 β -和 γ -亚门紫细菌、黄杆菌、绿硫细菌、绿非硫细菌,同时低估了革兰氏阳性菌的比例,而这些革兰氏阳性菌大多为放线菌(Nicole et al, 2001)。

2.2 古细菌

更为原始的古细菌是存在于极端海洋环境当中的重要栖息者,例如嗜盐菌常只发现于具饱和盐度的环境中,至少需12~15%的盐度才能生长,一些耐盐菌可达24%。另外,一些嗜热酸菌,可在温度达90℃以上,酸度为pH 1的环境条件下生长,为严格厌氧产甲烷菌。古细菌是异源生物类群,除多生活于极端环境中外,也发现其广泛地分布于大洋、近海、沿岸等非极端的海洋环境中(Abreu et al.,2001)。在海洋微型浮游生物中古菌广泛分布,水深100米以下的含量可达微型浮游生物中原核生物rRNA的20-30%(Massana et al., 1997)。

尽管,古细菌的代谢途径知之甚少,但其产生潜在具新型结构代谢的能力却不容低估。

2.3 真菌

海洋真菌的分布极为广泛,可从来源于海洋的不同基质中找到,如红树林的树干、树叶、气根、海藻、海洋漂浮的木头、海水浸泡的沼泽地、死亡的珊瑚、海洋沙滩种植物、海底沉积物、海洋中各种动植物体内、体外的共生菌等。根据2000年最新统计结果,被真菌学家所描绘的较高等的海洋真菌只有444种,还有许多新的海洋真菌等待着人们去发现。主要类群为:青霉属(*Penicillium*)、曲霉属(*Aspergillus*)、枝顶孢霉属(*Acremonium*)、链格孢属(*Alternaria*)、小球腔菌属(*Leptophaeria*)和茎点霉属(*Phoma*)等。

低等真菌在海洋环境中常见,但只有极少数几个种被研究。它们是多种海洋无脊椎动物、海藻、藻类的著名寄生菌,真菌是海洋环境中的严重致病菌。尽管许多真菌可培养,并且表现出可能是新次级代谢产物的资源,但尚未作为天然产物产生菌而广泛研究。近年来,有不少研究报道到从海洋真菌中可筛选分离得到很多结构新颖和作用独特的生理活性物质(Gautschi et al., 2004)。

3 海洋微生物次级代谢物及其生物活性

海洋微生物的次生代谢产物种类繁多,结构新颖,作用独特。但由于采集样品的困难和一种慑于对海洋环境的神秘感,对海洋微生物次级代谢物的研究起步较晚。对于海洋微生物次生代谢物的研究应该始于1966年,当时Burkholder等(1966)从附生于海草的一株海洋假单胞菌中分离得到新抗生素pentabromopseudilin。该抗生素具有很好抗菌活性,且高度溴化,含溴量达70%之多,含溴量如此之高这在陆地生物甚至其它海洋生物中也是非常罕见的。这引起了科学家的极大兴趣,使得越来越多的科学家加入到开发海洋微生物次级代谢物的队伍中来。但囿于实验条件的限制,对于海洋微生物次生代谢物的研究在21世纪才迅猛发展起来,据美国Scripps研究所的Fenical教授报道,于1995-1999年间全世界发现的新化合物有270多种,而仅2000-2001两年间,所报道的新化合物就已经接近这个数字。这些活性物质包括生物

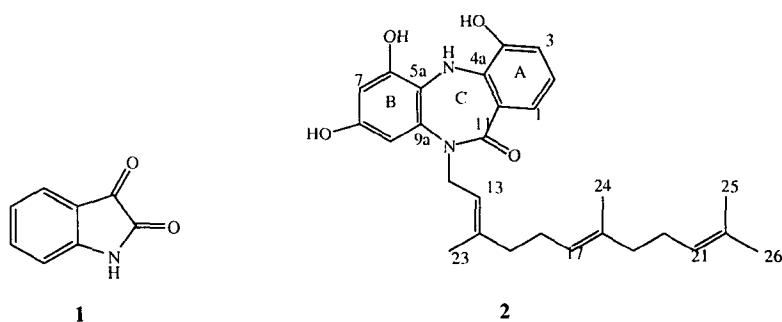
碱类、大环内酯类、肽类、核苷类、吡喃酮类、醌类、醚类和有机酸类等等，而每一类化合物又包含有许多结构相异的化合物，其中很多在陆地生物中从未发现过。下面就对近年来，特别是 2003、2004 年已报道的从海洋微生物中分离鉴定得到的具有一定生物活性的化合物作一简述。

3.1 生物碱类

生物界除去生物体必须的含氮化合物，如氨基酸、多肽、蛋白质和 B 族维生素等外，其它所有的含氮化合物都可视为生物碱。生物碱大多数具有较复杂的氮杂环结构。在近几年报道发现的海洋微生物的代谢产物中，生物碱是最多的一类。海洋微生物产生的生物碱分子中氮原子所处的主要状态有：酰胺类，氮杂缩醛类和亚胺 (C=N) 等。

Gil-Turnes 等对河口海虾 (*Palaemon crodaactylus*) 的抗病性进行研究后发现，当用抗生素对其卵进行处理后，该海虾的卵很快就会被致病真菌感染，这一奇特现象引起了他们极大的研究兴趣，而后发现是因为抗生素将卵表面的起保护作用的附生菌变单胞菌 (*Alteromonas* sp.) 杀死了。并且从该附生菌的发酵液中分离到了一种抗真菌化合物吲哚满二酮 (2,3-indolinedione) (1)，亦称靛红。通过 SEM 发现该变单胞菌紧密地附着于卵的表面 (Gil et al., 1989)。

从日本的 Shishijima 海岛采集的 *Didemnum proliferum* 样品中分离的一株 Actinomycete DPJ12 菌株中分离获得了一个 dibenzodiazepine 类的新生物碱 diazepinomicin (2)，diazepinomicin 对革兰氏阳性菌有一定的抗菌作用，MIC 约为 32 $\mu\text{g/mL}$ (Romila et al., 2004)。



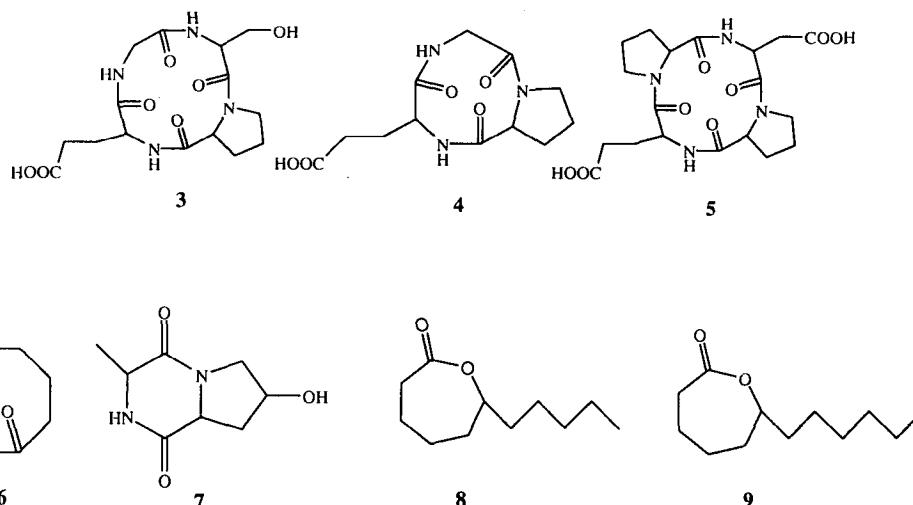
3.2 环肽类

环肽类化合物是由多个氨基酸通过肽键连接形成的环状化合物。海洋微生物产生的环肽类化合物有时含有不常见的氨基酸，甚至还是陆地生物不具有的。环肽类化合物往往具有很强的生物活性，特别是抗肿瘤活性。

从 α -紫细菌亚群中的 *Ruegeria* SDC-1 菌株中分离到五个环肽类化合物，其中化合物 3 和 4 对枯草芽孢杆菌的 MIC 值分别为 25 $\mu\text{g/mL}$ and 50 $\mu\text{g/mL}$ ，而化合物 5、6 和 7 则无抑菌作用 (Maya et al., 2004)。

3.3 大环内酯类化合物

大环内酯类化合物是形成环状结构的内酯类化合物, 其环通常是大于 12 元环的大环。大环内酯类化合物原来在陆地微生物活性物质的研究开发中常见, 在海洋微生物的代谢产物中也较为常见且一般都具有较强的活性。



从一株海洋链霉菌B6007菌株中分离到两个己内酯类化合物(R)-10-methyl-6-undecanolide (8) 和(6R,10S)-10-methyl-6-dodecanolide (9), 该两个化合物是通过对发酵液的乙酸乙酯萃取浓缩液进行GC-MS跟踪分离获得。它们具有较好的抗真菌活性, 且化合物9比化合物8活性要强, 同时也发现它们还具有较强的抗肿瘤活性, 其中对肝癌和乳腺癌的 IC_{50} 值都在2-5 $\mu\text{g/ml}$ 左右, 且处于G1期的细胞最为敏感, 为细胞周期分裂的抑制剂, 因此具有潜在的市场开发前景 (Katja et al., 2004)。

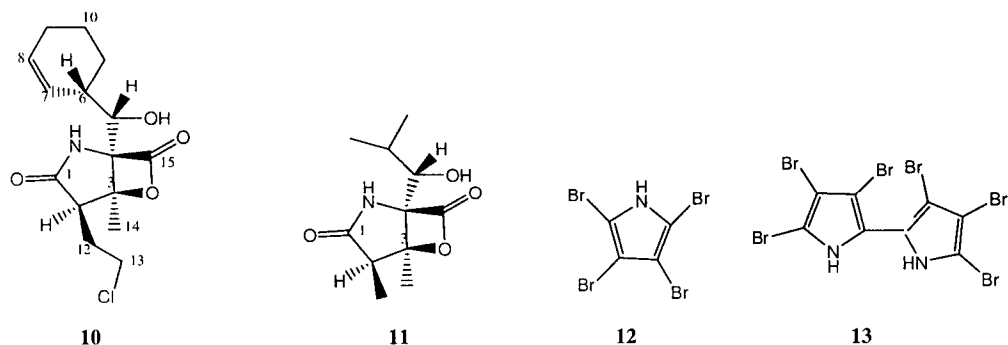
从浅海水区 (海水深 1 m) 采集的海泥中分离到一株稀有放线菌 (*Salinospora*) CNB-392 菌株。*Salinospora* 属是新定义的一个属, 其的 16S rDNA 序列与已知的几个属序列明显不同, 且该属放线菌从深达 1100 m 的海域都分离到过, 因此可以推断该菌广泛分布于海域, 而且所有的菌株的生长均依赖于钠盐, 说明了该菌已经很好的适应了海洋环境。*Salinospora* CNB-392 菌株能产生两个内酯类化合物 salinosporamide A (10) and clasto-lactacystin- β -lactone (omuralide, 11)。salinosporamide A (10)对一系列细胞系显示了很强的细胞毒性, 其中对结肠癌 HCT116 细胞系的 IC_{50} 值达 11 ng/ml。并且 salinosporamide A (10)对胰凝乳蛋白酶样蛋白酶体的水解活性 (proteasomal chymotrypsin-like proteolytic activity) 的抑制作用比化合物 11 的活性强 35 倍之多, IC_{50} 值为 1.3 nmol/L (Robert et al., 2003)。

3.4 含硫和含卤化合物

在海洋的环境当中卤素化合物和含硫化合物都比较丰富, 因此长期生长在其中的海洋微生物演化出了独特的代谢途径而能产生一些含硫和含卤的结构特异、作用独特的化合物。

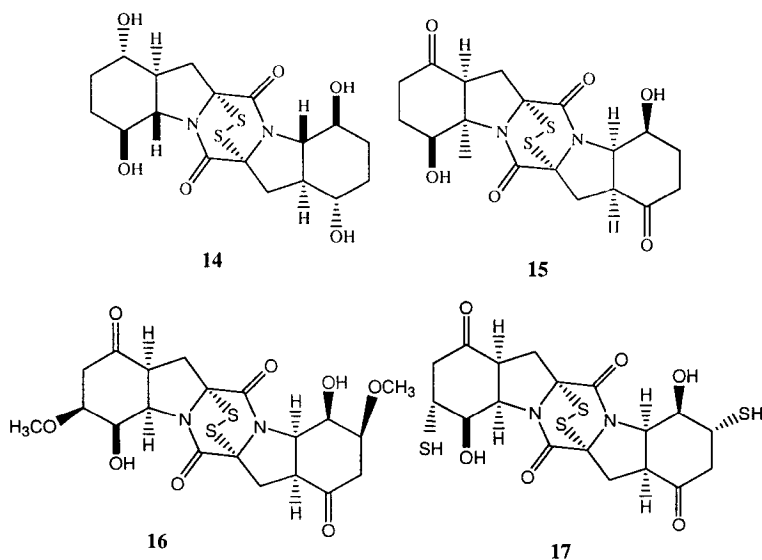
海洋生物能够产生丰富的卤化次级代谢产物, 这些卤素原子往往是以其亲电特性处在分

子结构的关键部位发挥其在生化反应中的作用。目前已发现在很多种类海洋生物体内存在着卤过氧化物酶, 正是因为该酶发挥了 X^+ -卤化作用才使得海洋微生物能产生丰富的含卤化合物。



Faulkner研究小组从具有自体毒性的紫红细菌 (*Chromobacterium* sp.) 中分离获得了 tetrabromopyrrole (12) 和 hexobromo-2, 2'-bipyrrole (13) 两种含氯化合物, 此外也获得了抗生素 pentabromopseudilin。

海洋微生物除产生含卤代谢物外, 还能产生含硫的结构复杂的化合物。从采集的蓝细菌菌垫样品中分离到的一株真菌 (*Exserohilum rostratum*) 中分离到四个含硫的环二肽化合物。rostratins A, B, C, and D (14—17) 对结肠癌(HCT-116细胞系具有体外细胞毒活性, IC_{50} 值分别为 8.5, 1.9, 0.76和16.5 $\mu\text{g/ml}$ (Tan et al., 2004)。



3.5 萜类

萜类化合物是天然的烃类化合物及其衍生物, 分子中往往含有具有异戊二烯的多单元结