

## 微藻抗菌物质及筛选模型\*

陈丽红<sup>1,2</sup> 孙利芹<sup>2\*\*</sup> 王长海<sup>1,2</sup>

(1 大连理工大学 大连 116024 2 烟台大学 烟台 264005)

**摘要** 由于海洋环境和微藻本身的特殊性,从微藻中筛选抗菌物质已成为当今研究的热点之一,并且具有广阔的应用前景。对近年来从微藻中筛选抗菌物质的研究现状和进展进行了综述,重点总结了抗菌活性物质筛选过程中的模型选用,并介绍了新筛选模型的发展,指出了难点问题及可行的解决方法。

**关键词** 海洋微藻 抗菌物质 筛选模型

**中图分类号** Q949.2

20世纪医药界的巨大成就之一是抗生素的发现,自1929年Fleming发现青霉素以来,各种不同化学结构类型和不同生物活性的抗生素相继问世,为人类健康做出了巨大贡献。然而随着抗生素的广泛应用甚至滥用,在临床上引起两个问题:一个问题是细菌耐药性逐渐增加,甚至出现了一些超级细菌,致使一些抗生素的疗效降低乃至无效;另一问题是一些原本不致病的细菌成为条件致病菌,因而需要不断筛选新结构和新作用机制的抗菌物质。目前,广泛应用于临床的各种抗生素大部分来自于陆栖放线菌和真菌,长期的开发已使陆栖微生物资源日趋枯竭。占地球表面积71%的海洋,以其独特的高压、高盐、低营养、低光照等自然条件而具有生产特殊结构和功能活性物质的能力,越来越受到研究者的关注。国外学者在20世纪40年代就开始了海洋抗菌活性物质的研究,50年前从海洋生物中发现并成功研制了第一个海洋新抗生素——头孢菌素,开创了开发新海洋抗生素的先河。近年来,国内学者也相继从海洋藻类和微生物中发现并分离一些新颖结构和具有抗菌活性的化合物。本文将就国内外学者从微藻中分离纯化抗菌活性物质的研究概况和抗菌活性模型的应用情况进行综述。

### 1 微藻抗菌物质

已报道的海洋抗菌活性物质主要来源于海洋放线

菌、海洋细菌、海洋真菌及海洋微藻等。近年来大量生源学及生态学的研究表明,海洋生物活性物质的最初来源绝大部分为低等海洋生物,如藻类及其共生菌类<sup>[1]</sup>。

大型藻类早已为人们所熟知,而海洋微藻则是一个新兴领域。微藻是指那些在显微镜下才能辨别其形态的微小藻类群体,种类繁多,目前发现的有3万余种,资源极为丰富,存在着许多结构新颖、活性独特的代谢产物,是海洋药物开发的基础和源泉。并且利用微藻生产生物活性物质具有很多独特的优点<sup>[2-3]</sup>:(1)微藻一般是简单的分裂式繁殖,细胞周期较短,易于进行大规模培养,能保证资源供给;(2)微藻通常无复杂的生殖器官,使整体生物量容易采取和利用;(3)可塑性强,可以通过改变培养条件、人工诱导等手段来提高体内生物活性物质的含量。(4)通过基因工程,如内源基因的敲除和内外源基因的表达,对微藻进行定向改造,获得优良品种<sup>[4-5]</sup>。

作为海洋的初级生产者和海洋生物种属的主体,海洋微藻在海洋生态系统的物质循环和能量流动中起着重要作用,独特的生存环境和原始地位赋予了微藻多种结构新颖独特、具有生物活性的代谢产物<sup>[6]</sup>。从20世纪40年代起,国外学者就开展有关微藻抗菌活性的研究工作,Prattr等<sup>[7]</sup>是最早从微藻中分离抗生素的研究者,1944年他们从小球藻*Chlorella*中分离到小球藻素(chlorellin)脂肪酸混合物,该混合物具有抗菌和自身毒性的功能。1962年Starr等<sup>[8]</sup>发现夏威夷蓝藻*Lyngbya majuscula*的甲醇提取物具有抗菌活性。此

收稿日期:2011-01-05 修回日期:2011-03-04

\* 山东省自然科学基金资助项目(Y2008B21)

\*\* 通讯作者,电子邮箱:sliqin2005@163.com

后 Susann<sup>[9]</sup> 研究不同的蓝藻,发现其能产生多种抗菌物质,可作为抗生素的重要来源。1988年 Murakami<sup>[10]</sup> 从甲藻 *Alexandrium hiraoui* 中分离得到 goniodymin A (60),具有较强的抗真菌活性。Kellam 等<sup>[11]</sup> 1988 年对 132 种海水微藻和 400 种淡水微藻的有机溶剂提取物进行抗菌活性筛选,结果发现其中 18 种海水微藻及 6 种淡水微藻具有抗菌活性,表明海水微藻更具开发潜力;1989 年 Kellam 等<sup>[12]</sup> 又从 132 种海洋微藻种发现 27 种具有抗菌活性,且海洋微藻的有机相提取物对细菌有较强抑制效果,而水相提取物几乎都没有抗菌活性。1999 年,Naviner 等<sup>[13]</sup> 发现硅藻中的中肋骨条藻 *Skeletonema costatum* 的水相提取液能抑制大肠杆菌、枯草杆菌、金黄色葡萄球菌及一些海洋细菌的生长。2006 年,Herrero 等<sup>[14]</sup> 从杜氏盐藻中发现了 15 种不同的挥发性化合物(主要是棕榈酸、 $\alpha$ -亚麻酸、油酸等)具有抗菌活性。

微藻抗菌物质具体作用机理目前没有明确定论,认识比较深入的作用机理主要包括:对菌体细胞结构和功能的破坏;对菌体代谢过程的影响;对菌体核酸等生物合成的干扰<sup>[15]</sup>,而菌体通常不会对宿主通常产生明显的毒性。有些微藻中含有毒素成分。例如,引起赤潮的双鞭毛藻产生的石房蛤毒素(Saxitoxin),其  $LD_{50}$  为  $5 \sim 10 \mu\text{g}/\text{kg}$ ,是一种极强的神经毒素<sup>[16]</sup>。某些微藻毒素在适度的微剂量下具有良好的抗肿瘤、抗病毒等活性,同时也可能通过神经系统的毒性达到抑制微生物的效果。已成为海洋活性物质的研究热点之一。从海洋蓝藻鞘丝藻 *Lyngbya majuscula* 中提取到的毒素 majusculamide C,对骨髓瘤细胞和 HIV 病毒具有很强的抑制作用,同时也是一种较好的微生物抑制剂<sup>[17]</sup>。微藻毒素所产生的抑菌效果应该是其毒性作用的体现之一,对菌体和宿主均产生明显抑制或毒性作用,一般不单独作为抗菌物质使用。

此外还有众多学者对多种不同种类微藻的抗菌活性进行了筛选,大量的研究表明,许多微藻含有结构独特的抗菌物质,其有效成分逐渐被确定,已知的有脂肪酸、其它有机酸、溴酚、酚类抑制剂、丹宁、类萜、多糖和其它碳水化合物及酚类<sup>[18]</sup>,在一种微藻中可能含有以上几种不同的抗菌成分,发挥不同的抗菌作用,整体表现出协同抗菌能力;不同种类微藻中也可能存在同一种抗菌物质。由于微藻抗菌成分的多样性,不同藻类对细菌和真菌的抑制活性也有明显的差异。

我国是海洋大国,海岸线长达 1.8 万千米,海域面积 300 多万平方千米,多样的海洋生态系统造就了种类繁多的微藻,已知的接近 2 000 种,约占全球微藻种类的 10%。丰富的资源为微藻抗菌活性物质的研究提供了良好的基础,但受制于我国整体科研水平,国内在微藻抗生素的研究和开发方面起步较晚,20 世纪 80 年代开始有零星报道,经过 20 多年的积累,才逐渐成为研究热点之一。1988 年郑天凌<sup>[19]</sup> 用纸片法、涂布法和液体法研究了小等鞭金藻 *Prymnesium parvum* 的培养液和细胞抽提物对 10 株肠道菌或非肠道菌的抗菌作用,发现对其中 8 个菌株有抗菌作用。2004 年叶锦林等<sup>[20]</sup> 研究了紫球藻提取液及其多糖溶液抗病原细菌、真菌性能,表明两者对革兰氏阳性细菌的抑菌作用较为明显。2005 年陈晓清等<sup>[21]</sup> 从海水小球藻和紫球藻中提取了多糖和粗蛋白,结果表明其多糖提取物比粗蛋白提取物的抗菌谱更广;两种微藻的粗蛋白提取物抗真菌活性比抗细菌活性大。2006 年尹鸿萍等<sup>[22]</sup> 对小鼠腹腔注射感染金黄色葡萄球菌,再对其施用盐藻多糖,结果发现  $100\text{mg}/\text{kg}$  和  $200\text{mg}/\text{kg}$  剂量组的盐藻多糖能显著增加感染小鼠 24h 内存活数,表现出一定的抗菌能力。2007 年,王芹等<sup>[23]</sup> 对 22 种微藻的藻粉萃取液进行了抗菌实验,发现不同提取溶剂对抗菌活性有一定影响,但提取液对革兰氏阳性菌和阴性菌生长的抑制作用并无明显差别,并筛选出一株抑菌效果良好的藻株为进一步开发奠定了基础。

经过科研工作者多年工作积累,尤其是近年来随着开发海洋药物的浪潮,国内微藻抗菌活性物质研究取得了一定的进展,归结起来其研究方向主要集中在以下几个方面。(1) 抗菌活性物质的初步筛选。包括对咸水和淡水单细胞藻种类和细胞粗提物抗菌活性的研究,以及溶剂体系的筛选体系的研究。(2) 抗菌筛选模型的研究。(3) 抗菌物质种类确定及其可能的抗菌机理研究。但目前国内的工作与国外研究相比,尚缺乏深度,存在一些亟需解决的问题。例如,(1) 研究涉足的微藻种类有限,尚有大量未被开发利用的种类;(2) 几乎仍没有从微藻中分离出具有较强高抗菌活性的单体化合物,大部分研究集中在对细胞粗提物的抗菌活性研究;(3) 采用的活性评价指标单一,多数研究停留在体外初筛的水平,而且采用的筛选模型不外乎传统的纸片法、牛津杯法等,缺乏一种能够快速、准确定性、定量的活体筛选模型。而纵观国外、国内对海洋微藻抗菌活性物质的研究史可知,对化合物抗菌活性

的筛选和确定是工作的起点和具有决定意义的阶段,选择合适的筛选方法、建立快速有效的筛选模型是该过程十分重要的因素之一,直接影响筛选效率和筛选成果。

## 2 抗菌活性物质传统筛选方法

从天然产物中筛选抗菌活性物质的常规路线是收集含有活性物质的待测物质,选择非致病性又能代表某些类型致病菌的微生物作为试验指示菌,测定其抑菌效果。常用于抑菌实验的敏感指示菌有金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、大肠埃希氏菌、荧光假单胞菌、白假丝酵母、宛氏拟青霉等<sup>[24]</sup>。过去的几十年,这种方式被证明是有效、可行的,并已经形成了规范的操作规程而被广泛采用,帮助科学家发现了多种新型抗菌物质。

基于此路线的常用于微藻抗菌活性物质筛选的传统微生物学方法有以下几种。

### 2.1 琼脂平板扩散法

扩散法是用于测定抗生素效价的生物学定量方法之一,是将抗菌物质用不同的方法放在琼脂平板培养基上,待测样品在某一溶剂的带动下在培养基内呈放射状扩散。抗菌物质在培养基中的浓度随着化合物在琼脂中的扩散会形成自中心向边缘的一个浓度梯度,离扩散原点越远处,培养基中抗菌物质的浓度越低。细菌的繁殖被阻止于有效浓度范围之内而形成圆形透明的抑菌圈。比较对照抗生素和待测抗菌物质对指示菌的抑制作用,测量出抑菌圈的大小,理论上可计算抗生素相对效价。滤纸片法、琼脂挖块法和杯碟法(也称牛津杯法)是扩散法的典型代表。

琼脂平板扩散法抗菌活性筛选是一种简便、快速、成本低的简易活性筛选法,多年研究和应用已证明,其测定结果确实可靠且操作简单,是大部分研究者的首选。江红霞等<sup>[25]</sup>对3种海洋微藻和5种淡水微藻的提取物用纸片法测试了其对于4种细菌和3种真菌生长的抑制作用,发现不同的微藻对不同菌株的抑制作用不同,且微藻对细菌的抑制作用大于对真菌的抑制作用。王芹等<sup>[26]</sup>用杯碟法考察了旋链角毛藻提取物对4种细菌和4种真菌的抑菌活性,发现不同方式提取物的抑菌效果不同。

但此法的使用对于表达量的结果有一定的缺陷,因为用这种方法去研究一种未知抗菌物质的量的问题有许多因素,如培养基厚度及抗菌物质的扩散差异,都可以影响测定结果。所以,用纸片法测定的抑菌圈大

小,只能对同一时间、同样条件下处理的样品有相互比较的价值<sup>[19]</sup>。综上所述,扩散法较适合于抗菌谱的研究,可用于大量未知样品的初筛工作。

### 2.2 比浊法

将不同量的被检样品稀释液加入到液体培养基中,根据培养基的透射光或散射光的强度以测定抗菌程度的一种分析方法。由于少量抗菌物质的存在,使实验菌的生长受到不同程度的抑制,而产生不同程度的浑浊,因而比浊法终点的观察不是根据实验菌生长与否作为终点的判断,而是借助其抑制实验菌生长的速度不同而定。吴巧玉等<sup>[27]</sup>向含测试菌的液体培养基中添加不同剂量的沙角衣藻(*Chlamydomonas sajjiao Lewin*),用比浊法测定7种细菌和7种植物病原真菌在其中的生长量,结果显示,沙角衣藻对供试的7种细菌与7种植物病原真菌具有高效抗菌活性,并随藻体浓度的增加抗菌活性增强。

该法能够比较客观地从量的角度反映结果。具有更高的测定敏感性,并可用于区分抗性物质的抑菌作用与不同程度的杀菌作用。

### 2.3 稀释法

稀释法是将含有不同剂量抗菌物质的培养基依次分装在容器中,并于各个容器内加入对该抗菌物质有高度敏感性的实验菌,同时以只加入抗菌物质不加入指示菌作阴性对照,以不含抗菌物质只含培养基的容器接种指示菌作为阳性对照,经过一定时间和温度的培养,观察其对菌体生长的抑制情况,确定其最低抑菌浓度(MIC)。最小抑菌浓度测定试验能够大致比较各个菌株的抑菌强度,但不太适用于大量样品的测定,通常用于琼脂平板扩散法初筛出目标样品后的再筛工作。

郑天凌<sup>[19]</sup>采用稀释法对小定鞭金藻产生的抗菌物质进行了研究,发现其在最低浓度下对8个菌株有抗菌作用,且这种作用在营养物质贫乏的环境中表现更突出。牛荣丽等<sup>[28]</sup>用液体稀释法对山东沿海的39种海藻的甲醇提取物进行了抗菌实验,海藻提取物的最低抑菌浓度均大于20mg/L,认为海藻的抗菌活性与其生长期有关。

以上三种方法是目前国内微藻抗菌活性物质筛选最常用的方式,操作简便可行,在初筛过程中发挥了重要作用,缺点是工作量大,受外界因素干扰大,定量效果不佳,不利于筛选工作的深入,且抗菌结果只能反应该物质的体外抑菌作用。很多研究工作均止步于此。

### 3 新兴的抗菌物质筛选方法

随着抗菌物质筛选工作的不断深入,单纯采用传统方法已不能满足需求,为了提高筛选新抗菌物质的成功率,依赖于生物技术、信息科学、工程手段的发展,一些新兴的筛选方法被确立并不断发展成熟。

#### 3.1 细胞水平筛选 (whole-cell screening)

将活性物质与细胞相互作用,评价效果一般是通过监测细胞的生长和形态。反映的是整体细胞对活性物质作用的反应。其作用靶点可能是从配体受体的连接作用到效应蛋白的合成和分泌这一系列复杂过程中的某一步或几步<sup>[29]</sup>。初筛后选择出具有活性的化合物,采用系列浓度,进行同一模型的复筛,阐明其对该靶点的作用特点、作用强度及量效关系;还可以再选用不同但相关的细胞模型进行深入筛选和确认筛选,对其药理作用、代谢过程、毒性等多方面进行筛选<sup>[30]</sup>。日本将沿岸 300 多种海藻提取物与不同的细胞系共孵育进行体外抗癌活性研究,发现红藻 *Amphiroa zonata* 的极性溶剂提取物对人白血病细胞系产生很强的毒性作用,而对人正常的纤维原细胞 HDF 则无影响,可能是潜在的无副作用的天然抗癌资源<sup>[31]</sup>。

#### 3.2 靶点筛选 (target-based screening)

20 世纪 90 年代以来,随着生物信息学等相关学科的迅猛发展,一些影响细菌生长和致病的关键基因及蛋白新靶点陆续被发现。将其作为靶点进行新抗菌物质的筛选,具有高度的特异性和选择性。药物作用新靶点的发现并建立与之相应的筛选新模型是发现新活性物质的关键<sup>[32]</sup>。肽脱甲酰酶 (peptide deformylase, PDF) 是原核生物蛋白成熟过程中的一个关键酶,而非真核生物所必需,被视为最理想的新一代广谱抗生素药物筛选分子靶点之一,并已成功用于新药临床实验<sup>[33]</sup>。董国霞<sup>[34]</sup>以纯化的 PDF 为靶点开展了抑酶活性物质筛选和以 *E. faecium* 为检定菌的抑菌活性物质筛选,对 20 261 个微生物发酵样品进行筛选,得到若干抑酶和抗菌活性相一致的活性化合物。

#### 3.3 功能基因组学 (functional genomics)

功能基因组学是从细胞整体角度来研究基因组构成 (genomics analysis), 转录和转录水平调控 (transcriptomics), 翻译、翻译水平调控和翻译后调控 (proteomics) 侧重于从基因到机能,或从机能到基因的整体型、多水平复合型研究<sup>[35]</sup>。微生物功能基因组学的发展可以帮助科学家更好地理解微生物的生理和进化、耐

药机制和天然缺陷、基因功能,以利于直接筛选、研制新抗菌物质<sup>[36]</sup>。应用全基因组序列有可能识别大量存在于重要病原体中的蛋白质作为筛选新靶标;采用功能基因组技术快速得到目标基因突变产生的耐药谱,用于确定抗菌物质的作用方式;全表达测序技术可方便的分析抗菌物质作用下细菌生理学的特征<sup>[37]</sup>。Huang 等<sup>[38]</sup>发现有 2 300 个独特的金黄色葡萄球菌开放读框 (DRF) 表达,过度表达这些开放读框能导致抗菌物质敏感性降低,而且能够识别抗生素的靶标并说明耐药机制。这样的测试将有助于识别新抗菌物质的作用方式。

#### 3.4 高通量筛选

高通量药物筛选是十几年来国际药业研究发展过程中一门新兴技术,被世界各大医药公司广泛用于药物先导物的筛选<sup>[39]</sup>。美国 Cyanamid 公司的研究人员运用独特的高通量分子筛选技术,如基于能量转移的同质自由分子分析、荧光偏振光谱或荧光关联光谱,每天能随船对上千种海洋微生物进行测试,以找到有抗菌活性等的药物<sup>[40]</sup>。

通常所说的高通量药物筛选平台是由化合物库、靶体选择、靶体和化合物反应的测试方法的建立、靶体作用物的高通量筛选和数据的信息处理系统这几大部分组成。通过对种类繁多的化合物作针对各种药物靶体的筛选,从中寻找最佳的先导化合物,进而用于新型药物的开发。其特点是规模大、速度快、成本相对较低,缩短新药开发周期并可找到最佳新药<sup>[41]</sup>。分子水平和细胞水平的筛选模型是实现高通量药物筛选的技术基础。由于高通量药物筛选要求同时处理大量样品,实验体系必须微量<sup>[42]</sup>,通常在 96 孔板或 384 孔进行操作。

全世界微藻种类超过 2 万种,目前研究涉足的资源不足 5%,就已有的文献看,相关活性筛选仅限于有限的几种海藻或者海藻中某一方面的生物活性,缺乏批量和系统筛选<sup>[43]</sup>。可以预见,合理利用高通量筛选将极大提高开发微藻活性物质的效率。

#### 3.5 秀丽隐杆线虫感染模型

秀丽隐杆线虫是一种国际公认、简单有效的模型动物,为多细胞生物,长约 1mm,主要以雌雄同体的形式存在,其结构简单、通体透明、遗传背景清楚,生命周期短,一般只有 3~4d,可在实验室大量培养,短期内就能观察到试验结果,能够排除个体差异造成的误差,有利于试验的标准化和规范化,最早被用于细胞凋亡的研究。2002 年和 2006 年诺贝尔生理或医学奖获得者

均以秀丽隐杆线虫为试验模型开展工作<sup>[44]</sup>。近年来,其在药物筛选研究中的模型作用越来越受到重视。秀丽隐杆线虫能被相当多种类的人类致病菌感染并致死;且可以直接通过用感染菌替换线虫正常的食物来源——大肠杆菌 OP<sub>50</sub> 来实现感染,随后加入待测抗菌活性物质进行治疗,以已知抗生素为对照,以线虫的存活率为指标,可以直接筛选出可以“治愈”被细菌所感染线虫的化合物<sup>[45]</sup>。

这种模型的优势在于可以不经体外抗菌实验而直接筛选抗菌化合物,包括一些在体外实验中不表现抗菌活性的药物前体或直接靶向体内病原体存活和感染力的化合物,以及一些先天免疫系统的激活剂。因为实验结果最直观的表现就是线虫的存活率,所以这种筛选模型的另一优势就是可以直接剔除那些有毒性或者在体内因药物动力学较差而不起作用的化合物<sup>[46]</sup>。

秀丽隐杆线虫体型较小,且可以利用机器人技术在 96 孔或 384 孔微量滴定板技术进行高通量筛选,是将高通量筛选与活体研究结合在一起的一种新型筛选模型,极大提高了筛选效率和速率。Moy 等<sup>[47]</sup>利用粪肠球菌(*E. faecalis*)感染线虫建立了细菌感染的线虫模型,线虫同步化后进行感染,之后被转移到 96 孔板上的液体培养基后,线虫死亡率增加,但施用抗菌物质后,则可得到不同程度的“治愈”。并用该模型筛选了 6 000 种化合物和 1 136 种包含海洋微藻在内的天然产物提取物,共发现了 16 种化合物、9 种天然产物提取物有效提高了线虫的存活率并测定了其结构。在这些有效成分中,有一部分体内体外均表现出抗菌活性,但体内实验中效应剂量小于体外最低抑菌浓度,而作为对照的抗生素的体内抗菌浓度(MIC)是体外 MIC 的 5~20 倍,其有效剂量与人体有效血浆药浓度接近。Breger 等<sup>[48]</sup>借鉴 Ausubel 的筛选方法<sup>[47]</sup>,建立了白色念珠菌秀丽隐杆线虫感染模型,对 1 266 个已知药理活性的化合物进行抗真菌药物筛选。

研究已证实,某些致病菌在哺乳动物和秀丽隐杆线虫中致病所需的毒力因子有广泛的交叠;并且线虫和哺乳动物先天免疫应答的主要特征是进化保守的<sup>[49-50]</sup>。所以利用秀丽隐杆线虫感染模型来筛选抗菌物质将是一个非常具有发展前景的新途径。

虽然秀丽隐杆线虫具有如上所述的多种优势,但其仍存在一定的不足:感染菌选择面窄,对一些人类致病菌如 *Enterococcus faecium* 不易感;与哺乳动物在有机体复杂性、免疫系统等方面差别较大而产生的病理差

异等<sup>[45,51]</sup>需要进一步的优化,以适应工业化规模的高通量筛选。

如前所述,目前我国关于微藻抗菌活性物质的筛选工作大部分停留在运用纸片法、杯碟法等传统方法的初筛水平上,即使对于其中发现的一些具有进一步开发价值的抗菌活性物质也没有继续进行研究工作,造成了研究工作的重复和浪费,究其原因,合适的筛选模型的建立是重要的限制因素。通常采用小白鼠等传统活体模型存在耗时耗力、需要待测物质的量较大等问题。如果能建立起秀丽隐杆线虫活体筛选模型,使之适用于微藻中抗菌活性物质筛选,将对此领域产生巨大的推进作用。

## 4 展 望

近几十年来,微藻行业在我国有了长足进展。在国家的中长期发展规划中,尤其是近几年的“973”基础研究和“十二五”规划中,都将微藻产业包括微藻生物能源、微藻食品、微藻高附加值次生代谢产物的开发等列入了重点发展的内容。相比于虾青素、微藻毒素等的研究,目前对微藻抗生素成分的发现和开发还处于初级阶段,至今没有发现有自主知识产权的、具有重要开发价值的先导化合物。究其原因,微藻生物量的大量获得仍然存在困难,并因此导致从微藻细胞中分离纯化单体化合物困难;在活性化合物的筛选方面,由于目前的大部分化合物在体外试验有效,而在体内生物学测定中却表现出无活性甚至产生毒性,有的抗菌谱与人体致病菌不同等<sup>[52]</sup>影响了有价值化合物的筛选。因此,筛选评价所采用的活性评价指标有限,没有建立高效规范的筛选模型已成为抗菌活性化合物开发的瓶颈。构建我国海藻资源活性数据库,建立快速有效的筛选模型成为微藻化学的首要任务。应用基因组学、秀丽隐杆线虫感染模型等新兴的筛选模型进行微藻抗菌筛选,发现和鉴定新的活性物质将是微藻活性物质开发的中亟待解决的问题。

## 参考文献

- [1] 胡萍,王雪青.海洋微生物抗菌物质的研究进展.食品科学,2004,25(11):397-401.  
Hu P, Wang X Q. Food Science, 2004, 25(11): 397-401.
- [2] 王长海,微藻与微藻技术.渔业现代化,2006(1):20-22.  
Wang C H. Fishery Modernization, 2006(1):20-22.

- [3] 高亚辉. 海洋微藻分类生态与生物活性物质研究. 厦门大学学报(自然科学版), 2001(2):566-573.  
Gao Y H. Journal of Xiamen University(Natural Science), 2001(2):566-573.
- [4] 席超,王春梅,施定基. 蓝藻基因工程应用研究进展. 中国生物工程杂志,2010,30(3):105-111.  
Xi C, Wang C M, Shi D J. China Biotechnology,2010,30(3):105-111.
- [5] 张桂和,徐碧玉,王珺. 几种海洋微藻基因组 DNA 的分离提取及 PCR 检测. 热带海洋学报,2007,26(1):68-72.  
Zhang G H, Xu B Y, Wang J. Journal of Tropical Oceanography,2007,26(1):68-72.
- [6] Pulz O, Gross W. Valuable Products from biotechnology of microalgae. Applied Microbiology and Biotechnology, 2004;635-648.
- [7] Prattr R, Daniels T C, Eiler J J, et al. Chlorellin, an antibacterial substance from Chlorella. Science, 1944, 99(2574):351-352.
- [8] Starr T J, Deig E F, Church, K K, et al. Antibacterial and antiviral activities of algal extracts studied by acridine orange staining. Tex Rep Biol Med, 1962,20:271-278.
- [9] Susann K, Sabine M, Ulrike L. Cyanobacteria-a potential source of new biologically active substances. Progress in Industrial Microbiology, 1999,35:61-63.
- [10] Murakami K, Makabe K, Yamaguchi S, et al. Goniopseudomonin A, a novel polyether macrolide from the dinoflagellate goniopseudomonax. Tetrahedron Letters, 1988, 29(10):1149-1152.
- [11] Kellam S J, Cannell J P, Owsianka A M, et al. Results of a large scale screening programme to detect antifungal activity from marine and freshwater microalgae in laboratory culture. European Journal of Phycology, 1988,23(1):45-47.
- [12] Kellam S J, Walker J M. Antibacterial activity from marine microalgae in laboratory culture. European Journal of Phycology, 1989,24(2):191-194.
- [13] Naviner M, Bergeb J P, Durand B P, et al. Antibacterial activity of the marine diatom Skeletonema costatum against aquacultural pathogens. Aquaculture, 1999,174(1-2):15-24.
- [14] Herrero M, Ibanez E, Cifuentes A, et al. Dunaliella salina microalga pressurized liquid extracts as potential antimicrobials. Journal of Food Protection, 2006,69(10):2471-2477.
- [15] 周立刚. 植物抗菌化合物. 北京:中国农业科学技术出版社, 2005:16-18,42-53,86-89.  
Zhou L G. Antimicrobial from Plants. Beijing:China Agriculture Science and Technology Press, 2005:16-18,42-53,86-89.
- [16] 管华诗. 海洋天然产物与海洋生物技术. 生物工程进展, 1994,14(6):25-29.  
Guan H S. Progress in Biotechnology, 1994,14(6):25-29.
- [17] Lemaire A S, Savignac M., Dupuis C, et al. Intramolecular Heck-type reactions in aqueous medium: Dramatic change in regioselectivity. Tetrahedron Lett, 1996, 37(12):2003-2006.
- [18] 张成武. 微藻中的生物活性物质. 中国海洋药物, 1992, 11(3):20-29.  
Zhang C W. Chinese Journal of Marine Drugs, 1992,11(3):20-29.
- [19] 郑天凌. 小定鞭金藻的抗菌活性研究. 厦门大学学报(自然科学版), 1988,27(2):220-223.  
Zheng T L. Journal of Xiamen University (Natural Science), 1988,27(2):220-223.
- [20] 叶锦林,王明兹. 紫球藻及其多糖抗菌性能初探. 亚热带植物科学, 2004,33(3):31-33.  
Ye J L, Wang M Z. Subtropical Plant Science, 2004,33(3):31-33.
- [21] 陈晓清,郑怡,林雄平,等. 二种微藻多糖与蛋白质提取物的抗菌活性. 福建师范大学学报(自然科学版), 2005,21(2):76-79.  
Chen X Q, Zheng Y, Lin X P, et al. Journal of Fujian Normal University(Natural Science), 2005,21(2):76-79.
- [22] 尹鸿萍,盛玉青. 盐藻多糖体内抑菌及抗炎作用的研究. 中国生化药物杂志, 2006,27(6):361-363.  
Yin H P, Sheng Y Q. China Journal of Biochemical Pharmaceutics, 2006,27(6):361-363.
- [23] 王芹. 微藻抗菌活性物质的分离纯化. 大连:大连理工大学, 2009.  
Wang Q. Isolation and purification of antimicrobial components from microalgae. Dalian: Dalian University of Technology, 2009.
- [24] 周德庆. 微生物学实验手册. 上海:上海科学技术出版社, 1986:25-26.  
Zhou D Q. Microbiology Lab Manual. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1986, 25-26.
- [25] 江红霞,郑怡. 8种微藻抗菌活性研究. 福建师范大学学报(自然科学版), 2002,18(2):117-120.  
Jiang H X, Zheng Y. Journal of Fujian Normal University (Natural Science), 2002,18(2):117-120.
- [26] 王芹,刘超,张少君,等. 螺旋角毛藻活性物质的提取及抑菌作用研究. 食品科学, 2010,31(5):180-183.  
Wang Q, Liu C, Zhang S J, et al. Food Science, 2010,31(5):180-183.
- [27] 吴巧玉,兰利琼,刘萍,等. 沙角衣藻的抗菌活性研究. 四川大学学报(自然科学版), 2008,45(1):194-198.  
Wu Q Y, Lan L Q, Liu P, et al. Journal of Sichuan University (Natural Science Edition), 2008,45(1):194-198.
- [28] 牛荣丽,范晓,韩丽君,等. 海藻抗 A-549 和 HL-60 肿瘤细胞及抗菌活性研究. 中国海洋药物, 2003(4):1-4.  
Niu R L, Fan X, Han L J, et al. Chinese Pharmaceutical

- Association, 2003(4):1-4.
- [29] 何培民. 海藻生物技术及其应用. 北京:化学工业出版社, 2007,238.  
He P M. Marine Algae Biotechnology and its Application. Beijing: Chemical Industry Press, 2007, 238.
- [30] 杜冠华. 高通量药物筛选在新药研究中的应用. 基础医学与临床, 2001, 21(4):289-293.  
Du G H. Basic Medical Sciences and Clinics, 2001, 21(4):289-293.
- [31] Harada H, Kamei Y. Selective cytotoxicity of marine algae extracts to several human leukemic cell lines. Cytotechnology, 1997, 25(1):213-219.
- [32] 谢练武, 李翔, 欧阳永长, 等. 抗生素作用新靶点的发掘策略. 中国抗生素杂志, 2007, 32(11):25-30.  
Xie L W, Li X, Ou Y C, et al. Chinese Journal of Antibiotics 2007, 32(11):25-30.
- [33] 唐先兵, 司书毅, 张月琴, 等. 新一代广谱抗生素药物筛选靶点肤脱甲酰基酶的研究进展. 中国新药杂志, 2004, 13(12):1093-1097.  
Tang X B, Si S Y, Zhang Y Q, et al. Chinese Journal of New Drugs, 2004, 13(12):1093-1097.
- [34] 董国霞. 以 PDF 为靶点的新药筛选及活性组分的分离纯化、结构鉴定与活性研究. 北京:中国协和医科大学, 2009.  
Dong G X. Screening of new antibiotic agents using PDF as a drug target. Beijing: Peking Union Medical College, 2009.
- [35] Pan F, Chan, David J H, David J P. Finding the gems using genomic discovery: anti-bacterial drug discovery strategies — the successes and the challenges. Elsevier Drug Discovery Today: Therapeutic Strategies, 2004. 519-522.
- [36] 郭利, 王玉霞. 基因组学在寻找新型抗生素中的应用. 国外医学药学分册, 2001, 28(1):34-37.  
Guo L, Wang Y X. Foreign Medical Sciences Section on Pharmacy, 2001, 28(1):34-37.
- [37] 张城. 功能性基因组在抗菌药物发现中的作用. 国外医学药学分册, 2006, 33(1):53-58.  
Zhang C. Foreign Medical Sciences Section on Pharmacy, 2006, 33(1):53-58.
- [38] Huang J Z, Paul W O, Wei S, et al. Novel Chromosomally Encoded Multidrug Efflux Transporter MdeA in *Staphylococcus aureus*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2004, 48(3):909-917.
- [39] 倪志华, 张玉明, 刘龙, 等. 海洋微生物活性产物及研究方法. 安徽农业科学, 2009, 37(7):2839-2841.  
Ni Z H, Zhang Y M, Liu L, et al. Journal of Anhui Agriculture Science, 2009, 37(7):2839-2841.
- [40] Lauren S, Robert C, James R B. New assay technologies for high-throughput screening. Current Opinion in Chemical Biology, 1998, 2(3):397-403.
- [41] 孙秋, 杨慧敏, 褚红标, 等. 筛选新抗生素的方法. 云南农业科技, 2003(4):43-45.  
Sun Q, Yang H M, Chu H B, et al. Journal of Yunan Agriculture Technology, 2003(4):43-45.
- [42] 杜冠华. 创新药物研究与高通量筛选. 中国新药杂志, 2001, 10(8):561-565.  
Du G H. Chinese Journal of New Drugs, 2001, 10(8):561-565.
- [43] 胡蓓娟, 王雪青, 姚领, 等. 从微藻中分离提取生物活性物质. 食品科学, 2006, 27(07):264-269.  
Hu B J, Wang X Q, Yao L, et al. Food Science, 2006, 27(07):264-269.
- [44] 杨再昌, 杨小生. 秀丽隐杆线虫在药物筛选中的应用. 生命科学, 2009, 21(4):593-598.  
Yang Z C, Yang X S. Chinese Bulletin of Life Science, 2009, 21(4):593-598.
- [45] Amit P, Eric D B. The worm turns for antimicrobial discovery. Nature Biotechnology, 2006, 24(9):1098-1100.
- [46] Jonathan J. E Tackling both sides of the host-pathogen equation with *Caenorhabditis elegans*. Microbes and Infection, 2002, 4:247-256.
- [47] Moy T I, Ball A R, Ausubel F M, et al. Identification of novel antimicrobials using a live-animal infection model. Proc Natl Acad Sci USA, 2006, 103(27):10414-10419.
- [48] Breger J, Fuchs B B, Aperis G, et al. Antifungal chemical compounds identified using a *C. elegans* pathogenicity assay. PLoS Pathogens, 2007, 3(2):168-178.
- [49] Ausubel F M. Are innate immune signaling pathways in plants and animals conserved?. Nature Immunology, 2005(6):973-979.
- [50] Kim D H, Ausubel F M. Evolutionary perspectives on innate immunity from the study of *Caenorhabditis elegans*. Current Opinion in Immunology, 2005, 17(1):4-10.
- [51] Leopold C, Jonathan K, Jonathan J E. *Caenorhabditis elegans* for the study of host-pathogen interactions. Trends in Microbiology, 2000, 8(3):142-144.
- [52] 江红霞. 微藻脂溶性化合物抗菌活性与化学成分分析. 福州:福建师范大学, 2003.  
Jiang H X. Antimicrobial activities and chemical compositions of liposoluble compounds in some microalgae, Fuzhou: Fujian Normal University, 2003.

## Antimicrobial Components from Microalgae and Its Screening Method

CHEN Li-hong<sup>1,2</sup> SUN Li-qin<sup>1</sup> WANG Chang-hai<sup>1,2</sup>

(1 Dalian University of Technology, Dalian, China; 2 Yantai University, Yantai 264005, China)

**Abstract** Marine microalgae have proved to be an important and promising resource for antibiotics for their special growing environment. The progress of screening antimicrobial components from marine microalgae and the methods used in the screening were reviewed. Also, development on new screening strategies and the prospects and trends for future screening were briefly introduced.

**Key words** Marine microalgae Antimicrobial components Screen methods

---

## 梅特勒 – 托利多获 2011 塑料行业荣格技术创新奖

由荣格工业传媒有限公司及旗下《国际塑料商情》杂志共同举办的“第六届塑料行业荣格技术创新奖”评选结果日前在深圳揭晓。经行业协会、科研院所、用户企业的资深专家组成的独立评委团严格评选,梅特勒 – 托利多的 OneClick™ 一键称量热失重分析在“测量与检测”领域荣获“2011 年度技术创新大奖”。

梅特勒 – 托利多是全球领先的精密仪器和服务供应商,为塑料行业提供的解决方案基本覆盖到所有的科研、研发、生产及质量控制过程。