

◆特邀栏目◆

基于单菌多次级代谢产物策略的深海来源放线菌 *Streptomyces* sp. SCSIO 15079 化学多样性研究*付春钰^{1,2}, 苏子淇², 钟莹², 陶华明^{2,3}, 李云秋^{1**}

(1. 桂林医学院, 广西桂林 541199; 2. 南方医科大学中医药学院, 广东广州 510515; 3. 广东省中药制剂重点实验室, 广东广州 510515)

摘要:采用单菌多次级代谢产物(OSMAC)策略对1株深海放线菌 *Streptomyces* sp. SCSIO 15079 进行化学多样性研究。通过在不同盐度、pH值和发酵时长条件下对菌株进行培养调控并筛选出1种适宜发酵条件, 分别进行摇床和发酵罐发酵。综合运用正相硅胶柱色谱、十八烷基硅烷(Octadecyl Silance, ODS)反相柱色谱、葡聚糖凝胶柱色谱(Sephadex LH-20)、半制备高效液相色谱(HPLC)等方法, 对菌株摇床与发酵罐发酵产物中具有差异的化学成分进行导向分离与纯化, 根据核磁数据和文献对比进行化合物结构鉴定。研究表明, 将 *Streptomyces* sp. SCSIO 15079 菌种接种到不添加海盐、pH值为7.2的A培养基中, 于28℃、180 r/min摇床发酵7 d, 可获得更丰富的代谢产物; 经分离鉴定, 从摇床发酵产物中得到的9个与发酵罐发酵产物不一样的化合物且均为含氮类化合物, 分别为吡啶甲酰胺(1)、3-羟基吡啶(2)、胸腺嘧啶(3)、尿嘧啶(4)、环-(脯氨酸-苯丙氨酸)二肽(5)、环-(亮氨酸-缬氨酸)二肽(6)、环-(丙氨酸-异亮氨酸)二肽(7)、环-(丙氨酸-缬氨酸)二肽(8)、环-(脯氨酸-缬氨酸)二肽(9)。上述结果表明改变发酵方式可影响菌株基因的转录和翻译, 调控其代谢并产生新的代谢产物。

关键词:深海放线菌 OSMAC 发酵方式 化学多样性 次级代谢产物

中图分类号: R284.1 文献标识码: A 文章编号: 1005-9164(2022)06-1206-06

DOI: 10.13656/j.cnki.gxkx.20230110.021

海洋放线菌因其特殊的生存环境, 蕴藏着丰富、结构新颖、活性独特的次生代谢产物资源, 开发潜力巨大, 其中超过50%的抗生素来自海洋放线菌^[1]。

在过去的几十年里, 海洋放线菌产生的次级代谢产物是抗生素、抗肿瘤剂、驱虫药和抗真菌剂的丰富来源^[2]。然而, 由于取样难和培养技术的限制, 对深海

收稿日期: 2022-09-19

修回日期: 2022-10-08

* 广东省自然科学基金项目(2021A1515011711)和南方医科大学科研启蒙计划项目(2022121)资助。

【作者简介】

付春钰(1997-), 女, 在读硕士研究生, 主要从事药物研发与转化研究, E-mail: 378574829@qq.com。

【**通信作者】

李云秋(1974-), 男, 博士, 教授, 主要从事天然药物活性物质基础及海洋药物发现研究, E-mail: leeyq88@126.com。

【引用本文】

付春钰, 苏子淇, 钟莹, 等. 基于单菌多次级代谢产物策略的深海来源放线菌 *Streptomyces* sp. SCSIO 15079 化学多样性研究[J]. 广西科学, 2022, 29(6): 1206-1211.

FU C Y, SU Z Q, ZHONG Y, et al. Study on the Chemical Diversity of the Deep-Sea-Derived Actinomycete *Streptomyces* sp. SCSIO 15079 Based on One-Strain Many Compounds Strategy [J]. Guangxi Sciences, 2022, 29(6): 1206-1211.

放线菌及其代谢物的研究非常有限, 远远低于浅水和陆地来源放线菌的研究^[3]。目前研究中可利用的海洋放线菌活性菌株资源依然有限, 且利用率较低, 如何深入、有效地挖掘现有深海放线菌化学多样性是其可持续利用的关键。

最近的研究发现, 在放线菌基因组中有大量生物合成基因簇, 这些基因簇在标准的实验室培养条件下似乎没有表达^[4]。激活这些神秘的基因簇有望增加发现新型天然产物的机会。因此, 需要新手段、新方法去激活基因簇的表达, 以发现更多结构新颖的次级代谢产物。

放线菌具有复杂的形态划分机制和代谢调控网络, 能产生较多次级代谢产物, 而大部分生物合成基因簇在标准的培养条件下处于休眠状态^[5]。单菌多次级代谢产物(OSMAC)策略^[6]已被证明是一种简单而强大的工具, 其通过改变培养条件、培养方法等手段, 可以激活微生物中的许多沉默生物遗传基因簇, 从而获得大量具有活性的代谢产物和天然产物。例如, Abdelmohsen 等^[7]分别使用 4 种不同培养基培养红海海绵放线菌 *Actinokineosopora* sp. EG49, 并从肉汤培养基的发酵液中分离出两种新化合物 Actinosporins A 和 Actinosporins B, 其中 Actinosporins A 对布氏锥虫(*Trypanosoma brucei*)的半抑制浓度(IC₅₀)为 15 μmol/L。Sproule 等^[8]分别采用 14 种液体培养基培养从爱德华岛沉积物中分离得到的放线菌 *Streptomyces* sp. RKND004, 在细菌种子培养基(BSM)的发酵液中分离得到两种多环聚醚离子载体 Terrosamycins A 和 Terrosamycins B, 这两种载体对革兰氏阳性菌均有较好的抗生素活性, 对两种乳腺癌细胞均有抑制活性。Wu 等^[9]分别用 7 种液体培养基培养深海放线菌 *Streptomyces* sp. YB104, 并从 ACM 液体培养基的发酵液中得到浓度为 25 mg/L 的新天然产物 Thinomycin B。此外, 据文献报道, 海洋细菌 TM104 在摇床发酵和静态发酵两种条件下产生不同的含硫抗生素(Tropodithietic acid TDA), 表明 TDA 表达受环境和培养条件的影响^[10]。

Streptomyces sp. SCSIO 15079 是一株分离自印度洋深海 -3 386 m 沉积物的放线菌, 前期通过小规模发酵罐发酵研究, 从该菌株代谢产物浸膏中分离得到 6 个新的芳香酸类化合物和 3 个新的亮氨酸衍生物, 这些化合物均有较好的降血脂活性^[11]。为了深入研究 *Streptomyces* sp. SCSIO 15079 的化学和生

物多样性, 本研究运用 OSMCA 策略, 考察海盐浓度、pH 值及发酵方式对其次级代谢产物多样性的影响, 并对发酵产物的差异部分进行分离和化学结构鉴定, 以期进一步丰富放线菌的次级代谢产物研究。

1 材料与方法

1.1 材料

放线菌 *Streptomyces* sp. SCSIO 15079 于 2013 年分离自印度洋深海沉积物样品(10. 00371667°N, 88. 72803333°E, -3 386 m), 经 16S rRNA 基因测序及形态学分析, 鉴定为链霉菌属(*Streptomyces* sp.), 编号为 SCSIO 15079, 该菌株保存在南方医科大学中医药学院中药化学实验室。

A 液体培养基: 酵母提取粉 1 g/L, 甘油 20 g/L, 葡萄糖 10 g/L, 玉米粉 5 g/L, 大豆粉 10 g/L, 牛肉膏 20 g/L, MgSO₄ 0. 1 g/L, CaCO₃ 1 g/L, 蒸馏水 1 L, pH 值为 7. 2。

仪器和试剂: AVANCE III TMHD-600 MHz 核磁共振仪(德国 Bruker 公司), 中压色谱仪(瑞士 Buchi 公司), Agilent1200/1260 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司), 半制备色谱柱(YMC-pack ODS-A, 10 mm×250 mm, 5 μm, 日本 YMC 公司), 硅胶柱色谱和薄层硅胶板(烟台江友硅胶开发有限公司), 葡聚糖凝胶 Sephadex LH-20 (美国 Amersham 公司), EYELAN-1001 型旋转蒸发器(上海爱朗仪器有限公司), CDCl₃、CD₃OD、DMSO-*d*₆ 等氘代溶剂(美国 CIL 公司), 提取分离所用试剂石油醚、乙酸乙酯、二氯甲烷、甲醇等均为分析纯(天津市津东天正精细化工试剂厂), 液相乙腈、甲醇等均为色谱纯(上海星可高纯溶剂有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 菌株发酵条件优化

菌株 *Streptomyces* sp. SCSIO 15079 经过活化后, 接种到装有 100 mL A 液体培养基的 1 L 三角瓶中, 在 28℃、180 r/min 的摇床中培养 3 d 即获得种子培养液。

将种子培养液以 3% 的接种量转移至装有 300 mL A 液体培养基的 1 L 三角瓶中, 以 A 液体培养基作为初始培养基, 控制 pH 值在 7. 2 左右, 于 28℃ 的摇床中 180 r/min 振荡培养 5 d 后对海盐的浓度(0%、3%、5%)进行考察; 取确定的海盐浓度并按原来的培养条件对 pH 值(4. 0, 5. 0, 7. 2, 8. 0, 10. 0)进行考察; 取确定的海盐浓度和 pH 值并按原来的培养

条件考察发酵时长(5 d、6 d、7 d)。每个条件设3个平行样,观察并记录菌株的生长状况。采用高速离心的方法将菌丝体和菌液分开,分别用500 mL乙酸乙酯萃取3次,再分别合并菌体和发酵液的萃取液,浓缩,得到发酵液乙酸乙酯相浸膏。通过建立指纹图谱分析比对紫外吸收,找出产物最丰富的发酵条件。

1.2.2 发酵方式对菌株次级代谢产物多样性的影响

在1.2.1节确定的发酵条件下,将种子液以3%的比例接种到装有300 mL A液体培养基的1 L三角瓶中,发酵体积28 L,28℃、180 r/min摇床培养7 d得到摇床发酵液。发酵罐发酵则是将3%的种子液接入到装有40 L发酵液的发酵罐中,通过发酵罐里面溶解氧(DO)水平来确定发酵终止时间,最终发酵时间为80 h。通过指纹图谱对比紫外吸收分析不同发酵方式对 *Streptomyces* sp. SCSIO 15079 次级代谢产物多样性的影响。

1.2.3 化合物提取分离与纯化

摇床发酵结束后,得到的发酵液通过超速离心机将菌丝体和菌液分离,分别向菌丝体和菌液中加入双倍乙酸乙酯,37℃超声30 min,浸泡过夜,抽滤后收集上清液。在38℃下进行减压蒸馏除去上清液中的乙酸乙酯,剩下菌丝体及菌液中再加入回收的乙酸乙酯,重复浸泡提取3次,最终合并菌液和菌丝体的乙酸乙酯萃取物,得粗浸膏为50.0 g。

浸膏采用正相硅胶柱色谱、十八烷基硅烷(Octadecyl Silane, ODS)反相柱色谱、葡聚糖凝胶柱色谱、半制备高效液相色谱等方法对摇床发酵产物中与发酵罐发酵具有差异的化学成分进行导向分离和纯化,并根据核磁共振方法和文献对比鉴定化合物结构。

2 结果与分析

2.1 发酵条件优化结果

所得浸膏经HPLC分析发现,随着海盐浓度的增加,菌株次级代谢产物减少;在pH值为7时,菌株的代谢产物比偏酸性和偏碱性条件的代谢产物更丰富;发酵时间为7 d时,指纹图谱中小极性吸收峰有所增加。因此,最后确定的最佳发酵条件:不添加海盐、pH值为7.2的A液体培养基,摇床发酵时长为7 d。

2.2 化合物的提取与分离结果

浸膏用硅胶拌样,用正相硅胶色谱柱进行梯度洗脱(石油醚-乙酸乙酯0-100%、乙酸乙酯-甲醇0-100%,流速50 mL/min),经薄层色谱法合并为10

个馏分Fr. 1-10。Fr. 10经ODS反相中压梯度洗脱、半制备高效液相色谱(MeOH:H₂O=75:25)纯化得到化合物6(3.2 mg)。Fr. 4经ODS反相中压梯度分离成3小段,Fr. 4-3经葡聚糖凝胶柱色谱分离合并后,采用半制备高效液相色谱(MeOH:H₂O=80:20)纯化得到化合物1(5.5 mg),采用半制备高效液相色谱(MeOH:H₂O=55:45)纯化得到化合物2(3.3 mg)。Fr. 6经ODS反相中压柱色谱、葡聚糖凝胶柱色谱分析合并得到10个组分,Fr. 6-10采用半制备高效液相色谱(MeOH:H₂O=35:65)纯化得到化合物4(4.2 mg)和化合物3(6.1 mg),Fr. 6-5再次经葡聚糖凝胶柱色谱、半制备高效液相色谱(MeOH:H₂O=60:40)纯化分别得到化合物5、化合物7、化合物8和化合物9(2-5 mg)。

2.3 化合物的结构鉴定结果

化合物1:白色片状晶体。¹H-NMR(600 MHz, CD₃OD)δ:9.90(1H, s, H-10), 8.11(1H, s, H-2), 8.17(1H, d, J = 7.7 Hz, H-5), 7.49(1H, d, J = 8.0 Hz, H-6), 7.23-7.30(2H, m, H-7, H-8);¹³C-NMR(151 MHz, CD₃OD)δ:187.1(C-10)139.4(C-2), 125.4(C-3)为138.6(C-9), 124.7(C-6), 123.3(C-7), 122.1(C-5), 119.8(C-4), 112.8(C-8)。以上数据与文献[12]报道的吡啶甲酰胺一致,确认化合物1为吡啶甲酰胺。

化合物2:白色晶体。¹H-NMR(600 MHz, CD₃OD)δ:7.16(1H, s, H-2), 7.54(1H, d, J = 7.9 Hz, H-5), 7.34(1H, d, J = 8.1 Hz, H-6), 7.09(1H, m, H-7), 7.01(1H, m, H-8);¹³C-NMR(151 MHz, CD₃OD)δ:138.0(C-3), 124.5(C-2), 128.7(C-9), 124.6(C-6), 122.4(C-7), 119.8(C-5), 109.1(C-4), 112.2(C-8)。通过对比文献[12],确认化合物2为3-羟基吡啶。

化合物3:白色粉末。¹H-NMR(600 MHz, DMSO-d₆)δ:0.95(1H, brs, NH), 10.61(H, brs, NH), 7.32(1H, s, H-6), 1.70(3H, s, H-7);¹³C-NMR(151 MHz, DMSO-d₆)δ:165.0(C-4), 151.5(C-2), 137.8(C-6), 107.7(C-5), 11.8(C-7)。通过对比文献[13],确定化合物3为胸腺嘧啶。

化合物4:白色粉末。¹H-NMR(600 MHz, DMSO-d₆)δ:10.93(2H, brs, 2NH), 7.37(1H, d, J = 7.5 Hz, H-5), 5.42(1H, d, J = 7.5 Hz, H-6);¹³C-NMR(151 MHz, DMSO-d₆)δ:164.4(C-2),

151.6(C-4), 142.3(C-6), 100.2(C-5)。通过对比文献[13], 确定化合物 **4** 为尿嘧啶。

化合物 **5**: 黄色固体。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ : 7.22 – 7.37 (5H, m, H $2'$ -6'), 4.27 (1H, dd, $J = 3.0, 10.7$ Hz, H-9), 4.08 (1H, t, $J = 7.6$ Hz, H-6), 3.67 (1H, m, Ha-10), 3.60 (2H, m, H-3), 2.78 (1H, m, Hb-10), 2.33 (1H, m, Ha-5), 2.02 (2H, m, H-4), 1.91 (1H, m, Hb-5); $^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, CDCl_3) δ : 169.5(C-1), 165.2(C-7), 136.0(C-1'), 129.5(C-2'), 129.2(C-3'), 129.5(C-6'), 129.2(C-5'), 127.7(C-4'), 59.3(C-6), 56.3(C-9), 45.6(C-3), 36.9(C-10), 28.5(C-5), 22.7(C-4)。以上数据与文献[14]报道一致, 故鉴定化合物 **5** 为环-(苯丙氨酸-脯氨酸)二肽。

化合物 **6**: 白色无定型结晶, 易溶于氯仿。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ : 4.01 (1H, d, $J = 10.0$ Hz, H-3), 3.90 (1H, m, H-6), 2.41 (1H, m, H-11), 1.89 (1H, m, H-8), 1.79 (1H, m, Ha-7), 1.67 (1H, m, Hb-7), 1.05 (3H, d, $J = 7.14$ Hz, H-12), 0.99 (3H, d, $J = 6.54$ Hz, H-12), 0.95 (6H, d, $J = 6.42$ Hz, H-9, 10); $^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, CDCl_3) δ : 169.1(C-2), 167.5(C-5), 60.3(C-3), 53.2(C-6), 31.6(C-11), 24.3(C-8), 43.8(C-7), 23.4(C-9), 21.1(C-10), 28.9(C-12), 16.5(C-13)。以上数据与文献[15]报道一致, 故鉴定化合物 **6** 为环-(亮氨酸-缬氨酸)二肽。

化合物 **7**: 黄棕色固体。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ : 4.12 (1H, m, H-6), 3.86 (1H, m, H-3), 2.11 (1H, m, H-7), 1.50 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, H-10),

1.05 (3H, d, $J = 7.1$ Hz, H-8), 0.97 (3H, d, $J = 6.84$ Hz, H-9); $^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, CDCl_3) δ : 169.4(C-5), 168.0(C-2), 61.2(C-3), 50.3(C-6), 32.7(C-7), 19.8(C-10), 18.8(C-8), 16.5(C-9)。以上数据与文献[16]报道一致, 故鉴定化合物 **7** 为环-(丙氨酸-缬氨酸)二肽。

化合物 **8**: 白色固体。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD_3OD) δ : 4.03 (1H, m, H-3), 3.90 (1H, s, H-6), 1.87 – 2.00 (1H, m, H-8), 1.51 (1H, m, H-9a), 1.43 (3H, d, $J = 7.1$ Hz, H-7), 1.20 – 1.29 (1H, m, H-9b), 1.01 (3H, d, $J = 7.1$ Hz, H-11), 0.94 (3H, t, $J = 7.4$ Hz, H-10); $^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, CD_3OD) δ : 171.3(C-2), 169.2(C-5), 60.9(C-6), 51.6(C-3), 40.3(C-8), 25.6(C-9), 20.9(C-7), 15.5(C-11), 12.2(C-10)。以上数据与文献[17]报道一致, 故鉴定化合物 **8** 为环-(丙氨酸-异亮氨酸)。

化合物 **9**: 白色固体。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 6.86 (1H, brs, H-8), 4.08 (1H, dd, $J = 10.0, 6.4$ Hz, H-6), 3.83 – 3.61 (2H, m, H-5), 3.51 (1H, m, H-9), 2.50 – 2.14 (2H, m, H-3), 2.12 – 1.69 (2H, m, H-4), 1.03 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, H-11), 0.98 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-12); $^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 168.7(C-1), 165.0(C-7), 62.6(C-9), 57.6(C-6), 45.1(C-3), 32.4(C-10), 29.0(C-5), 21.5(C-4), 19.0(C-11), 18.3(C-12)。以上数据与文献[18]报道一致, 故鉴定化合物 **9** 为环-(缬氨酸-脯氨酸)。

化合物 **1-9** 结构式如图 1 所示。

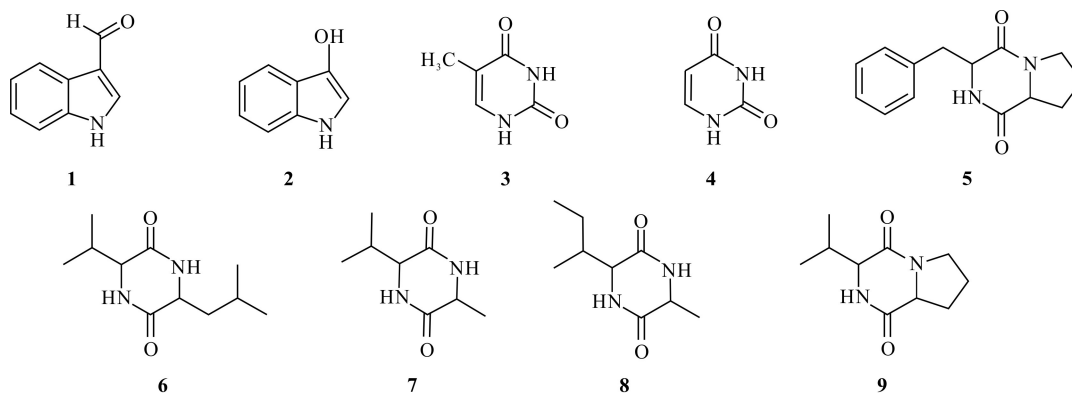


图 1 化合物 **1-9** 结构式

Fig. 1 Structure formula of compounds **1-9**

3 讨论

为了激活菌种中不同的合成基因簇, 获得更多结构新颖的化合物, 前人采用 OSMAC 策略开展菌种次级代谢产物多样性研究, 目前该类研究大多数采用改变培养基成分而发酵方式不变的方式, 改变发酵方式而培养基成分不变的方式研究较少, 因此相关实验机制尚不确定。本研究基于 OSMAC 策略, 在相同培养基条件下, 采用单因素实验研究发酵条件和发酵方式对深海来源放线菌 *Streptomyces* sp. SCSIO 15079 次级代谢产物多样性的影响。研究结果表明, *Streptomyces* sp. SCSIO 15079 在不添加海盐、pH 值为 7.2 的 A 液体培养基中摇床发酵 7 d, 可产生更多具有活性的次级代谢产物。经指纹图谱比对发现, 使用摇床和发酵罐两种不同发酵方式获得的发酵产物, 其色谱峰紫外吸收差异较大。进一步对比研究发现, 从摇床发酵产物中分离出 9 个与发酵罐发酵产物不一样的化合物, 经鉴定均为含氮类化合物, 包括 2 个吲哚类化合物, 吲哚甲醛 (1H-indole-3-carbaldehyde, **1**)、3-羟基吲哚 (3-Hydroxy-1H-indole, **2**); 2 个嘧啶类化合物, 胸腺嘧啶 (Thymine, **3**)、尿嘧啶 (Uracil, **4**); 5 个环二肽类氨基酸, 环-(苯丙氨酸-脯氨酸) 二肽 [Cyclo(Phe-Pro), **5**]、环-(亮氨酸-缬氨酸) 二肽 [Cyclo(Leu-Val), **6**]、环-(丙氨酸-缬氨酸) 二肽 [Cyclo(Ala-Val), **7**]、环-(丙氨酸-异亮氨酸) 二肽 [Cyclo(Ile-Ala), **8**]、环-(缬氨酸-脯氨酸) 二肽 [Cyclo(Val-Pro), **9**]。前期研究发现, 发酵罐发酵得到 11 个化合物, 其中有 9 个新化合物, 且均有较好的降血脂活性^[11], 而摇床发酵得到的化合物大多数为含氮类生物碱, 说明不同发酵方式同样也能影响菌株基因的转录和翻译, 调控不同的代谢途径, 这也是对 OSMAC 策略的一种补充。推测其原因: 一是两者培养基灭菌方式不同, 摇瓶是通过外流蒸汽静态加热, 发酵罐是培养基直接与蒸汽混合加热, 因此影响了培养基的质量; 二是两者在发酵过程中溶解氧含量不同, 摇瓶发酵处于密封缺氧状态, 发酵罐在发酵过程中通入无菌气体并搅拌, 具体因素有待进一步研究。本研究结果进一步丰富了放线菌的次级代谢产物研究, 并为深海来源创新药物研发提供了重要物质基础和科学依据。

参考文献

- [1] WATVE M G, TICKOO R, JOG M M, et al. How many antibiotics are produced by the genus *Streptomyces* [J]. Archives of Microbiology, 2001, 176(5): 386-390.
- [2] JAGANNATHAN S V, MANEMANN E M, ROWE S E, et al. Marine actinomycetes, new sources of biotechnological products [J]. Marine Drugs, 2021, 19(7): 365.
- [3] MANITA K, PERIYASAMY S, DENG Z, et al. Deep sea actinomycetes and their secondary metabolites [J]. Frontiers in Microbiology, 2017, 8(6): 760.
- [4] XU D, HAN L, LI C, et al. Bioprospecting deep-sea actinobacteria for novel anti-infective natural products [J]. Frontiers in Microbiology, 2018, 9: 787.
- [5] 杨红文, 程彦伟, 张敬虎. 链霉菌次生代谢和形态分化调控研究进展 [J]. 绵阳师范学院学报, 2009, 28(11): 63-68.
- [6] BODE H B, BETHE B, HÖFS R, et al. Big effects from small changes: possible ways to explore nature's chemical diversity [J]. ChemBioChem, 2002, 3(7): 619-627.
- [7] ABDELMOHSEN U R, CHENG C, VIEGELMANN C, et al. Dereplication strategies for targeted isolation of new antitrypanosomal actinosporins A and B from a marine sponge associated - *Actinokineospora* sp. EG49 [J]. Marine Drugs, 2014, 12(3): 1220-1244.
- [8] SPROULE A, CORREA H, DECKEN A, et al. Terrosamycins A and B, bioactive polyether ionophores from *Streptomyces* sp. RKND004 from prince edward island sediment [J]. Marine Drugs, 2019, 17(6): 347.
- [9] WU Q, ZHANG G, WANG B, et al. Production and identification of inthomycin B produced by a deep-sea sediment-derived *Streptomyces* sp. YB104 based on cultivation-dependent approach [J]. Current Microbiology, 2018, 75: 942-951.
- [10] GENG H, BELAS R. Expression of tropodithietic acid biosynthesis is controlled by a novel autoinducer [J]. Journal of Bacteriology, 2010, 192(17): 4377-4387.
- [11] SU Z, LI K, LUO X, et al. Aromatic acids and leucine derivatives produced from the deep-sea actinomycetes *Streptomyces chumphonensis* SCSIO 15079 with anti-hyperlipidemic activities [J]. Marine Drugs, 2022, 20(4): 259.
- [12] YANG Q, YE G. A new C-glucoside from commelina communis [J]. Chemistry of Natural Compounds, 2009, 45(1): 59-60.
- [13] 史大永, 韩丽君, 孙杰, 等. 刺状鱼栖苔化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2007, 32(11): 1035-1037.
- [14] ADAMCZESKI M, REED A R, CREWS P. New and known diketopiperazines from the caribbean sponge, *Calyx* cf. *podatypa* [J]. Journal of Natural Products,

[1] WATVE M G, TICKOO R, JOG M M, et al. How many

- 1995, 58(2):201-208.
- [15] 高昊, 唐金山, 洪葵, 等. 红树林真菌泡盛酒曲霉中的环二肽和核苷类成分[J]. 中草药, 2008, 39(4):502-504.
- [16] DING Z G, ZHAO J Y, YANG P W, et al. ^1H and ^{13}C NMR assignments of eight nitrogen containing compounds from *Nocardia alba* sp. nov (YIM 30243^T) [J]. Magnetic Resonance in Chemistry, 2009, 47(4):366-370.
- [17] 李旸, 王芳, 张普照, 等. 美洲大蠊化学成分研究[J]. 中药材, 2015, 38(10):2038-2041.
- [18] 王举涛, 张培良, 王刚, 等. 凤丹内生真菌 *Fusarium oxysporum* 次生代谢产物的研究[J]. 中草药, 2018, 49(22):5247-5253.

Study on the Chemical Diversity of the Deep-Sea-Derived Actinomycete *Streptomyces* sp. SCSIO 15079 Based on One-Strain Many Compounds Strategy

FU Chunyu^{1,2}, SU Ziqi², ZHONG Ying², TAO Huaming^{2,3}, LI Yunqiu^{1**}

(1. Pharmacy School of Guilin Medical University, Guilin, Guangxi, 541199, China; 2. School of Traditional Chinese Medicine, Southern Medical University, Guangzhou, Guangdong, 510515, China; 3. Guangdong Provincial Key Laboratory of Chinese Medicine Pharmaceutics, Guangzhou, Guangdong, 510515, China)

Abstract: The chemical diversity of a deep-sea actinomycete *Streptomyces* sp. SCSIO 15079 was investigated using one strain many compounds (OSMAC) strategy. The strains were cultured and regulated under different salinity, pH value and fermentation time, and one suitable fermentation condition was selected for shaking table and fermentor fermentation, respectively. A combination of normal phase silica gel column chromatography, Octadecyl Silane (ODS), sephadex gel column chromatography (Sephadex LH-20) and semi-preparative High Performance Liquid Chromatography (HPLC) was used to isolate and purify the different chemical components in the fermentation products of the strain shaking table and the fermentor. The structure of the compounds was identified according to the NMR data and literature comparison. The results showed that *Streptomyces* sp. SCSIO 15079 was inoculated into A medium without sea salt and pH 7.2 and fermented in shaking table at 28°C and 180 r/min for 7 d to obtain more abundant metabolites. Through separation identification, the nine compounds obtained from the shaking fermentation products that were different from those from the fermentation products in the fermentor were all nitrogenous compounds, they were identified as 1H-indole-3-carbaldehyde (1), 3-Hydroxy-1H-indole(2), thymine (3), uracil (4), Cyclo (D-Phe-L-Pro) (5), Cyclo (Leu-Val) (6), Cyclo (Ala-Val) (7), Cyclo (Ile-Ala) (8), Cyclo (D-Val-L-Pro) (9). It shows that changing the fermentation method can affect the transcription and translation of the strain's genes and regulate its metabolic pathways to produce new metabolites.

Key words: deep-sea actinomycetes; OSMAC; fermentation mode; chemical diversity; secondary metabolites

责任编辑: 陆雁