

· 抗菌药物研发 ·



李敏 医学博士, 研究员, 博士生导师, 上海交通大学医学院附属仁济医院检验科主任。国家“优秀青年科学基金”获得者, 上海市卫生系统优秀学科带头人、上海市卫生系统“银蛇奖”二等奖、“中穗杯”女医师科技奖, 并被授予上海市曙光学者、浦江人才、卫生系统优秀青年人才、第三届青年科学之星及上海交通大学“SMC 晨星青年学者 (A 类)”、上海教委高原高峰“双百人”等荣誉称号。2005-2008 年以博士后身份在美国国立卫生研究院工作, 并荣获“Fellows Award for Research Excellence of National Institutes of Health”奖。现任中国中西医结合学会检验医学专业委员会常务委员及感染性疾病检验诊断学术委员会主任委员、中国妇幼保健协会临床诊断与

实验医学专业委员会副主任委员、上海微生物学会理事及临床微生物专业委员会主任委员、上海市医学会检验医学专业委员会委员兼秘书、上海市医学会分子诊断专业委员会委员兼秘书以及上海交通大学医学院检验系微生物教研室主任等。主要研究方向是临床重要病原微生物致病机理及快速诊断, 先后在 *Nat Med*、*Mol Cell*、*Proc Natl Acad Sci* 等国际专业期刊发表 SCI 论著 60 多篇, 主持国家自然科学基金 6 项。

人体共生菌及其抗菌分子研究进展

刘俊兰, 刘瑶, 吕慧颖, 刘倩, 李敏

上海交通大学医学院附属仁济医院 检验科, 上海 200127

刘俊兰, 刘瑶, 吕慧颖, 等. 人体共生菌及其抗菌分子研究进展. 生物工程学报, 2018, 34(8): 1316-1325.

Liu JL, Liu Y, Lv HY, et al. Research progress in human symbiotic bacteria and its antibacterial molecules. Chin J Biotech, 2018, 34(8): 1316-1325.

摘要: 随着耐药细菌的出现和广泛传播, 开发新型抗菌药迫在眉睫。分布在人体不同部位的共生菌能够产生多种抗菌分子以抑制病原菌的定植和感染。人体共生菌的抗菌分子为研发全新结构和作用机制的药物提供了潜在的资源宝库, 随着生物信息学、合成生物学、基因组学等组学技术的进一步发展, 对人体共生菌抗菌分子的挖掘也会更加深入, 为解决耐药问题提供了有效的途径。文中回顾了目前所发现的人体共生菌产生的抗菌分子, 并介绍了几种用于挖掘人体共生菌这一天然抗菌药物的资源宝库的方法。随着现代生物工程技术的发展, 人体共生菌的抗菌分子将会得到更加全面、系统的探索和应用。

关键词: 人体共生菌, 正常菌群, 抗生素, 抗菌分子

Received: December 26, 2017; **Accepted:** May 31, 2018

Supported by: National Natural Science Foundation of China (Nos. 81671975, 81501803, 81772139), Health System Talent Training Program of Shanghai (No. 2017BR001).

Corresponding author: Min Li. E-mail: ruth_limn@126.com

国家自然科学基金 (Nos. 81671975, 81501803, 81772139), 上海市卫生系统优秀人才培养计划 (No. 2017BR001) 资助。

Research progress in human symbiotic bacteria and their antibacterial molecules

Junlan Liu, Yao Liu, Huiying Lv, Qian Liu, and Min Li

Department of Laboratory Medicine, Ren Ji Hospital, School of Medicine, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200127, China

Abstract: With the emergence and globally spread of drug-resistant bacteria, the discovery and development of new antibacterial drugs is imminent. The symbiotic bacteria distributed in different parts of the body can produce a variety of antibacterial molecules to inhibit the colonization and infection of pathogenic bacteria. Human symbiotic bacteria provide a potential treasure house of resource for the research and development of new drugs with broad new molecular structures and action mechanism. With the further development of bioinformatics tools, synthetic biology and omics technology such as genomics, the mining of human symbiotic bacteria antibacterial molecules will be more in-depth and provide an effective way to solve the problem of drug resistance. Here, we review the antimicrobial molecules produced by human symbiotic bacteria and introduce several methods to explore the resources of natural antibacterial drugs. With the development of modern biotechnology, the antimicrobial molecules of human symbiotic bacteria will be more comprehensively and systematically explored and applied.

Keywords: human symbiotic bacteria, normal flora, antibiotics, antibacterial molecules

随着耐药细菌的出现和全球性广泛传播,许多抗生素失去了原有的疗效,感染性疾病的治疗也面临了巨大的挑战,因此加快对新型抗菌药物的开发和利用迫在眉睫。近年来研发新型抗菌药物所取得的进展十分有限,且多集中在已有抗生素的结构改造和性能优化上,新型抗菌分子很少,无法长期、有效地控制抗生素耐药性的发展。

现有抗生素多来源于环境微生物的代谢产物,只有少部分如喹诺酮类药物是全合成的抗生素,但环境微生物这一有限资源在 20 世纪 60 年代已被开发殆尽^[1]。目前对具有全新结构和作用机制的抗生素的研发尚未取得重大进展,处于临床研究阶段的抗生素屈指可数,因此需要尽快找出全新结构和特异作用机制的候选抗菌药物来克服复杂耐药菌的问题。

分布在人体不同部位的共生菌群构成了抵御病原体的一道防线,随着宿主和病原体的长期斗争,人体共生菌群逐渐进化成为一种高级生态系统,能产生作用于其他细胞的特有代谢产物,其中一种即抗菌分子。目前对土壤微生物产生的抗菌分子已经有了深入而广泛的研究,而人体共生

菌的抗菌分子结构及功能多样性的研究还处于起步阶段。用生物信息学技术筛选人体微生物组发现其中有上千个独特的未在环境微生物组中发现的生物合成基因簇,编码多种具有生态学重要意义的包括抗菌分子在内的生物活性分子^[2],是潜在抗菌药物的丰富来源。

1 人体共生菌及其抗菌作用

人体微生物群是分布在人体各处的多种微生物的总称,主要为细菌、真菌、病毒;其中长期与人体共同生活的约 100 万亿个细菌为人体共生菌,其有约 800 万个编码基因即人体微生物组^[3]。人体共生菌与人体健康密切相关:其菌群组成与肠道疾病如炎症性肠病、代谢性疾病(如 I 型糖尿病)、心血管疾病、精神性疾病密切相关;与病原体竞争营养、阻止病原体粘附定植^[4],分解和吸收宿主无法消化的碳水化合物^[5],合成分泌宿主必需的维生素^[6],对肠道黏膜免疫和机体免疫系统都产生动态而持久的影响^[7],同时还能产生非特异性物质和特异性抗菌分子物质(如细菌素)来等抵御外来病原体的入侵、感染^[8]。通过

宏基因组学等多种组学方法发现人体微生物组中有编码 3 000 多个新型生物活性分子的生物合成基因簇^[2], 表明人体微生物是新型抗生素的潜在来源, 但由于多数细菌在传统条件下无法培养和大部分生物合成基因簇在实验室培养条件下基因沉默, 实验室中能测定到的细菌生物合成产物仅代表了一小部分。

高等生物中, 抗菌肽是天然免疫的组成部分。细菌产生的抗菌肽被称为细菌素, 最初被认为主要由乳酸菌产生, 后发现多种细菌都能产生, 它们的分子量、结构、作用机制都有所不同。革兰氏阴性菌的细菌素大部分来自大肠埃希菌和其他肠球菌, 分为分子量小的小菌素 (Microcin) 和大分子量的大肠杆菌素 (Colicin); 革兰氏阳性菌的细菌素被分为 I 型羊毛硫抗生素和 II 型非羊毛硫抗生素^[9]。研究发现细菌素在控制耐药病原体上有潜在作用^[10], 且不会影响有益微生物, 但目前这些抗菌物质尚未在临床运用。大部分细菌素对同种近缘菌株呈现狭窄的抑制谱, 并通过各异的机制如干扰细胞壁合成、产生核酸酶、膜打孔等来杀伤有近缘关系的细菌, 具有微量高效、快速、特异性高的特点。

1.1 肠道菌群中的抗菌分子

正常人的肠道共生菌超过 1 000 种, 主要有拟杆菌属、放线菌属、厚壁菌门、变形菌门, 其中拟杆菌属占 30%^[11]。肠道菌群影响消化系统和黏膜免疫系统的正常结构和功能, 产生抗炎因子、抗氧化剂和维生素, 为机体提供保护和营养支持的同时阻止有害细菌的粘附和定植。肠道菌群与机体细胞之间通过不断交换营养和代谢产物紧密联系, 因此肠道共生菌也被称为“被遗忘的器官”^[12]。将有益肠道菌群作为难治性肠道感染性疾病、炎症反应甚至消化道肿瘤的治疗和预防策略正逐渐成为现实。

加氏乳杆菌 *Lactobacillus gasseri* 产生的

Gasserin A 是第一个被发现的对肠道病原体有杀伤作用的细菌素, 对包括金黄色葡萄球菌、产单核细胞李斯特氏菌在内的革兰氏阳性菌有抗菌作用, 而不会损伤肠道正常组织细胞^[13]。罗氏乳杆菌 *Lactobacillus reuteri* 产生的抗菌小分子 Reutericyclin 在低于 1 mg/L 的浓度下即可抑制一系列革兰氏阳性细菌的生长^[14]。Reutericyclin 与细菌素不同, 它是非肽类抗生素, 能选择性消散细菌的跨膜电位从而对革兰氏阳性菌有窄谱抗菌作用, 同时能够耐受蛋白水解酶水解, 通过化学修饰可提高其抗菌活性。Reutericyclin 还可快速杀伤普通抗生素难以杀伤的非生长期艰难梭菌 *Clostridium difficile*^[15]。

乳酸片球菌 *Pediococcus acidilactici* MM33 和乳酸乳球菌 *Lactococcus lactis* MM19 是从人体肠道中分离出的两株产细菌素的菌株, 分别产生片球菌素 PA-1/AcH 和细菌素 nisin Z。这两种菌株可以有效抑制小鼠肠道 VRE (Vancomycin-resistant *Enterococcus*, 耐万古霉素肠球菌) 的定植, 其上清液都有体外抗 VRE 的活性^[16], 因此有望用于控制和根治由多重耐药菌导致的肠道感染性疾病。乳酸乳球菌产生的一种名为 nisin 的细菌素对许多革兰氏阳性菌和其他乳酸菌都有抗菌作用, 其抗菌机制多种多样, 已被广泛用作食品防腐剂^[17]; 纯化的 nisin 能够抑制肺炎链球菌、金黄色葡萄球菌、万古霉素耐药的屎肠球菌、粪肠球菌等多重耐药革兰氏阳性病原菌生长^[18]。Nisin 还能抑制 MRSA (Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌) 生长, 当与万古霉素、环丙沙星联合使用时具有协同效应^[19], nisin 和雷莫拉宁 (Ramoplanin) 还具有协同抗 MRSA 和 VRE 的作用^[20]。Lacticin3147 是乳酸乳球菌产生的一种双组分羊毛硫氨酸抗生素, 通过阻断细胞壁合成和膜穿孔的双机制微量高效地杀伤艰难梭菌^[21]。人体粪便中分离的一株苏云金芽孢杆菌

Bacillus mucilaginosus DPC 6431 产生一种新型双组分窄谱细菌素 thuricin CD, 低浓度下即可抑制艰难梭菌生长, 其抗菌作用比甲硝哒唑和万古霉素更强, 而对其他肠道共生菌无明显抑制作用, 对治疗艰难梭菌感染引起的腹泻和艰难梭菌相关性疾病 (CDAD) 具有较好的临床意义^[22]。

小菌素 (Microcin) 是肠杆菌产生的分子量低于 10 kDa 的一类抗菌肽, 目前已知的小菌素的结构和抗菌作用机制都有所不同^[23]。目前应用较广泛的益生菌大肠埃希菌 Nissle 1917 分泌的小菌素能有效抵御肠道有害病原体 and 抑制炎症时肠杆菌的过度增殖, 将产小菌素的益生菌引入到患肠道易激综合症的患者机体中有望成为一种新治疗方法, 同时还能够克服耐药问题^[24]。

除了研发新型抗菌分子, 益生菌疗法也是解决耐药问题的有效办法。丰富的肠道菌群可以通过定植抗性 (Colonization resistance) 与病原体竞争营养和黏附位点来抵御感染。将健康人粪便中的正常功能菌群移植到患者胃肠道内, 以重建具有正常功能的肠道菌群, 实现患者肠道及肠道外疾病的诊疗, 称为“粪菌移植” (Fecal microbiotatransplantation, FMT)。作为重建肠道菌群的有效手段, 粪菌移植已用于艰难梭菌感染等多种菌群相关性疾病的探索性研究和治疗^[25]。

肠道菌群是一个有待挖掘的丰富天然抗菌物质的宝库, 随着对肠道菌群的代谢物 and 与宿主的相互作用的分子机制的深入了解, 将其作为新型抗生素的来源将逐渐成为现实, 为遏制耐药性的问题提供了有效的途径。

1.2 阴道菌群中的抗菌分子

阴道菌群在抵御女性泌尿生殖系统疾病中起到关键作用。阴道分泌物中已分离到 29 种之多的微生物, 其中最重要的是乳杆菌, 它在健康女性的阴道排出物标本中分离率高达 50%–80%。

加氏乳杆菌也是健康人阴道菌群中的主要

成员, 通过核磁共振、质谱、同位素标记等方法分离纯化和鉴定了其基因组上 *bgc66* 基因簇的产物 lactocillin, 它与蜡样芽孢杆菌所产生的一种高硫青霉素结构类似, 对包括金黄色葡萄球菌 (金葡菌)、阴道加德纳菌在内的多种病原体都有抗菌作用, 而对正常菌群如乳酸杆菌则无抗菌活性。

罗氏乳杆菌 RC-14 与金葡菌共培养时会抑制金葡菌毒力因子 SSL11 (Staphylococcal superantigen-like protein 11) 和 agr (Accessory gene regulator, 附属基因调节因子) P3 启动子的转录, 罗氏乳杆菌 RC-14 的培养上清液中存在能抑制 SSL11 和 P3 启动子转录的小分子物质^[26]。惰性乳杆菌是正常女性阴道中分离率最高的乳杆菌, 它与罗氏乳杆菌 RC-14 都能破坏阴道加德纳菌的生物膜形成, 从而降低细菌性阴道病的发病风险^[27]。

1.3 皮肤菌群中的抗菌分子

皮肤的共生菌群是包括厌氧菌、需氧菌如 (丙酸杆菌)、兼性厌氧菌 (如葡萄球菌) 在内的复杂而独特的系统, 细菌间通过小分子物质介导细胞间信息传递和竞争, 这种相互作用有益于维持皮肤微生物群的平衡。

在表皮葡萄球菌中纯化和鉴定出了一种表皮素 (Epidermin) NI01, NI01 耐蛋白酶水解, 理化性质稳定, 在纳摩尔浓度下即可发挥对 MRSA、VRE 等常见耐药菌的抗菌活性, 且敏感菌株不易形成耐药性; 编码 NI01 的结构基因还可以克隆入宿主菌进行高效异源表达^[28]。从表皮葡萄球菌中纯化和鉴定的 epilancin15X, 是目前报道的对包括 MRSA、VRE 在内的多种病原体的最小抑菌浓度 (Minimal inhibit concentration, MIC) 最低的羊毛硫抗生素^[29]。表皮葡萄球菌的另一种细菌素 Pep5 不仅可以抑制 MRSA, 对凝固酶阴性葡萄球菌也有显著抑制作用。表皮葡萄球菌除了产生抗菌分子外, 还可以分泌溶解酶降解金葡菌等病原

体形成的生物膜^[30], 可以作为治疗皮肤感染性疾病的候选益生菌。

1.4 呼吸道菌群中的抗菌分子

鼻腔中的营养成分比肠道中要低很多, 其微生物丰度和多样性也相对偏低, 因此鼻腔中的优势菌群可能通过更有效的竞争机制抑制其他细菌繁殖。产生抗菌肽是鼻腔细菌抑制病原菌生长的主要方式, 超过 80% 的鼻腔葡萄球菌分离株能产生抗菌谱各异的活性小分子。

金葡菌携带者在人群中的比例高达 50%, 并且主要定植在鼻腔, 鼻腔携带金葡菌的人群的感染风险显著增加^[31]。莫匹罗星是目前用于抑制鼻腔内 MRSA 定植的主要抗生素, 但莫匹罗星耐药株也在不断出现^[32]。金葡菌 A53 菌株产生的金葡菌素 A53 和表皮葡萄球菌素 Pep5 对莫匹罗星耐药和甲氧西林耐药的葡萄球菌都具有抑制作用, 两者还具有协同作用, 联合使用可以扩大抑菌谱^[33], 可用于耐药金葡菌携带者以减少耐药株传播。研究发现鼻腔定植有路登葡萄球菌的人群金葡菌携带率明显降低, 路登葡萄球菌产生一种新型环肽抗生素路登菌素, 具有抑制金葡菌定植的作用, 对预防金葡菌感染有重要价值。路登菌素还对多种革兰氏阳性菌都有高效抗菌活性, 包括难治性 MRSA、VRE 等, 且在亚抑菌浓度下不易形成耐药性。

牙龈、咽喉、扁桃体中定植了上百种微生物, 肺部也有共生菌定植^[34]。口腔微生物的生物合成基因簇有超过 1 000 种, 人体口腔微生物数据库的建立有助于进一步了解这些微生物在疾病和健康中的作用^[35]。变异链球菌是常驻人类口腔的天然菌群之一, 变异链球菌 UA159 血清型合成一种聚酮-非核糖体肽聚合物 mutanobactin A, 它可以抑制白色念珠菌入侵组织过程中酵母形态与菌丝形态之间的转换^[36], 从而降低其致病性。唾液乳杆菌 UCC118 是近来被测序的一种口腔内共生

菌, 它产生一种 IIb 型细菌素 Abp118, 这种细菌素在小鼠模型中被证实可以显著抑制单核细胞增生李斯特菌感染^[37]。

2 挖掘人体共生菌的抗菌分子的方法

2.1 生物信息学预测

人体微生物组比人体基因组要大 100 多倍, 这些微生物基因显著影响着人体的生理和代谢过程。Donia 等对人体微生物组的生物合成基因簇进行了系统性的筛选, 发现人体共生菌中广泛存在编码硫肽类抗生素 lactocillin 的生物合成基因, 该化合物与正在进行临床试验的抗艰难梭菌的活性药物 LFF571 结构相似^[2]。

对 DNA 序列进行生物信息预测相应的结构后, 可通过化学合成方法来合成一系列“生物信息天然产物”(syn-BNPs) 来检测其对常见人体共生菌和病原菌的抗菌活性。从马红球菌和红平红球菌基因组的非核糖体肽合成基因簇中分别鉴定出了抗生素 humimycinA 和 humimycinB。Humimycin 对葡萄球菌属、链球菌属都有抗菌活性。Humimycin 的抗菌作用可能是通过抑制金葡菌的必需基因 SAV1754 的表达, SAV1754 的基因产物是 MurJ 的类似物, 作为翻转酶介导肽聚糖前体定位在细胞膜外侧^[38]。

生物信息学预测方法绕开了实验室培养条件和沉默基因簇的问题, 为发掘生物活性小分子提供了新策略。

2.2 基因组学、转录组学、代谢组学

多种组学方法的综合性应用有助于发掘和探索更多新型抗生素先导化合物的化学实体。随着人类微生物组测序计划的完成, 人们也进一步了解了微生物的代谢产物合成酶及其基因的结构、功能, 以及人体共生菌基因组中存在着许多未知化合物的相关基因。枪法基因组扫描技术已经在发现放线菌属的新的天然产物合成基因中得到成

功运用^[39], 随着对微生物代谢途径进一步了解, 基于基因组的扫描技术有助于进一步预测该化合物结构, 从而针对性地筛选、分离、纯化。

人体共生菌的组成极其复杂, 其基因组多样性也十分丰富, 但多数细菌在常规培养条件下无法分离得到。功能宏基因组学是一种非培养依赖性的方法, 通过抽提微生物样本中的 DNA 并进行剪切后转入相应的载体, 再导入合适的宿主中, 根据重组克隆产生的新活性产物进行生物活性水平的筛选从而得到相应的目的基因片段。宏基因组学已被广泛用于研究环境中的微生物, 近年来逐渐应用于人体共生菌的研究中。抑制病原体耐药性的出现需要深入了解耐药基因在微生物间如何进行传播, 人体肠道微生物是抗生素耐药基因的“储存库”, 是人体对抗生素产生耐药性的重要原因之一^[40], 一旦某些耐药基因转移到人体病原菌中, 将使临床抗感染治疗面临更多新的挑战。通过宏基因组功能基因筛选的方法, 可以有效检测出肠道共生菌中的已知的或者新的耐药基因^[41], 不仅为新药物的探索和发现提供了可能的技术支持, 也为探究肠道菌群中的耐药基因的分布及传播规律提供了可靠的方法, 对遏制耐药病原体的增加至关重要。

许多严重感染都由定植于体表的机会致病菌造成, 但目前尚无能高效去定植机会致病菌的药物。通过将代谢组学和转录组学技术结合得到金黄色葡萄球菌在鼻腔定植过程的代谢谱和主要基因的表达谱, 发现氨基酸的生物合成尤其是蛋氨酸的合成对有效定植至关重要, 并根据其代谢谱合成了人工鼻腔培养基 (SNM3)^[42], 从而能在体外详尽研究鼻腔定植中的代谢过程和监测与其他细菌的竞争过程, 为新型抗菌靶点和化合物的发现提供了方法支持。

2.3 新型培养方法

目前对于人体共生菌的抗菌分子研究领域中

也存在许多限制。共生菌在人体内定植的环境是复杂、不稳定和动态变化的, 传统的实验室培养方法因其单一的营养结构无法精确模拟出共生菌本身生存的环境条件, 如肠道菌群中只有 15%–20% 是可培养的, 大部分细菌无法通过直接培养进行鉴定^[43], rRNA 和宏基因组研究表明, 这些不可培养的微生物多样性丰富, 可能是地球上最大的未知生物宝库。因此建立和发展一种非常规培养方法, 可以有效解决大多数微生物无法培养的困境, 对于目前无法分离得到的抗生素的系统研究至关重要。

对基因序列进行生物信息学分析可以发现共生菌中存在多种合成次级代谢产物的基因簇, 但这些代谢途径往往在传统培养条件下不表达, 需要特定的环境促发因素才会表达, 如培养时加入土壤提取液, 会明显改变解纤维素梭菌 *Clostridium cellulolyticum* 的代谢谱, 从中分离出了第一种多硫代酰胺类抗生素 closthioamide, 对多重耐药的葡萄球菌有高抗菌活性^[44]。在一种菌株多化合物 (One strain many compounds, OSMAC) 策略的指导下, 共培养或系统改变培养条件、培养方法 (如添加微量元素和酶抑制剂)、改变培养基等开启沉默的生物合成基因簇的表达, 为深入开发共生菌的活性天然产物提供有效手段^[45]。目前, 该方法已被广泛用于发掘海洋微生物、土壤微生物的新的次级代谢物。

分离芯片 (Isolation chip, ichip) 由数百个微型扩散室组成, 每个室可接种单个的环境细菌进行一段时间的原位培养, 环境中自然存在的生长因子可以透过半透膜扩散到培养室, 可用于大量培养和分离环境中的不可人工培养微生物^[46]。

2.4 合成生物学改造

羊毛硫抗生素 (Lantibiotics) 是许多人体共生菌尤其是革兰氏阳性菌通过核糖体合成的一类抗菌肽, 可抑制微生物尤其是革兰氏阳性菌的生

长, 并且能有效对抗耐药性病原菌如 MRSA 和 VRE, 这类全新结构的化合物有望代替传统抗生素控制耐药性病原菌。由于结构复杂难以化学合成, 使用羊毛硫-修饰酶如 LanB、LanC 等作为催化剂进行肽工程改造正在成为目前羊毛硫抗生素研究的主要方向。如欧洲国家基金委设立了专门的项目, 使用合成生物学方法用杂交修饰酶对从羊毛硫抗生素中获得的肽单元进行精确修饰后, 组装成一个后翻译体系植入基因组减化的工程菌中, 并建立一个高通量检测活性重组羊毛硫抗生素的高自动化测定系统。合成生物学在抗生素的

合成代谢途径设计中发挥着重要作用。

2.5 核糖体工程

核糖体工程 (Ribosome engineering) 是指向核糖体和 RNA 聚合酶中引入突变从而影响其基因表达水平 (原理见图 1), 提高其包括抗生素在内的次级代谢产物或者一些新天然产物的产生, 并以抗生素抗性突变筛选为指针, 筛选高产突变菌株^[47], 同时该技术还可以用于发现未知的抗菌素^[48]。随着对核糖体工程调控机制的进一步探究, 它将作为一门新的技术在挖掘共生菌潜能、调控其代谢产物生产上发挥巨大作用。

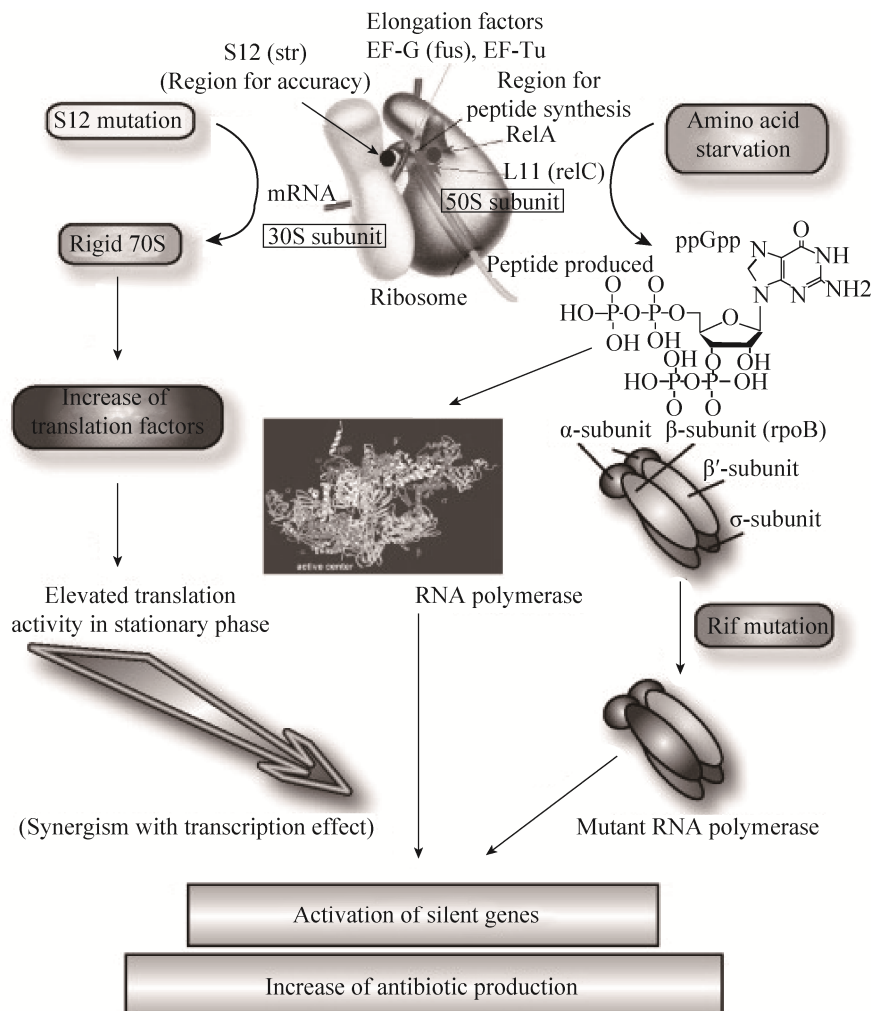


图 1 核糖体工程原理示意图^[47]

Fig. 1 Schematic diagram of ribosome engineering^[47].

3 展望

多重耐药菌感染的不断增加是对公共健康的严重威胁。发掘人体共生菌的抗菌分子是开发新型抗生素以对抗耐药性的一个有效策略,以细菌素为代表的抗菌肽将有望成为新型抗感染治疗药物。抗菌肽杀菌活性特异、作用迅速,通过对抗菌肽在临床环境中的作用机制、作用模式、毒性作用和免疫原性的深入了解,对进一步发展抗菌肽作为临床抗感染药物起到重要的作用。由于共生菌长期与宿主共进化,拥有特殊的代谢途径,故很有可能产生结构全新的生理活性物质,为研究全新抗菌机制的药物提供了宝贵的资源。

通过现代生物工程手段可以对共生菌的目标产物进行改造优化以提高产物质量,还能通过代谢调控、大规模发酵等实现工业化生产,因此共生微生物资源的利用和开发应无来源之忧。加速共生菌资源的研究与利用兼具迫切性和战略意义。

随着现代化天然产物发掘技术的进一步发展和新型工具的出现,人体共生菌群这一有待开发的天然抗菌活性物质宝库将会得到更加系统、全面的探索和发掘。

REFERENCES

- [1] Lewis K. Antibiotics: recover the lost art of drug discovery. *Nature*, 2012, 485(7399): 439–440.
- [2] Donia MS, Cimermancic P, Schulze CJ, et al. A systematic analysis of biosynthetic gene clusters in the human microbiome reveals a common family of antibiotics. *Cell*, 2014, 158(6): 1402–1414.
- [3] Feldgarden M, Pearson M, Liu B, et al. A framework for human microbiome research. *Nature*, 2012, 486(7402): 215–221.
- [4] Candela M, Perna F, Carnevali P, et al. Interaction of probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains with human intestinal epithelial cells: adhesion properties, competition against enteropathogens and modulation of IL-8 production. *Int J Food Microbiol*, 2008, 125(3): 286–292.
- [5] Sonnenburg JL, Xu J, Leip DD, et al. Glycan foraging *in vivo* by an intestine-adapted bacterial symbiont. *Science*, 2005, 307(5717): 1955–1959.
- [6] Leblanc JG, Milani C, de Giori GS, et al. Bacteria as vitamin suppliers to their host: a gut microbiota perspective. *Curr Opin Biotechnol*, 2013, 24(2): 160–168.
- [7] Frank DN, St Amand AL, Feldman RA, et al. Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(34): 13780–13785.
- [8] Guarner F, Malagelada JR. Gut flora in health and disease. *Lancet*, 2003, 361(9356): 512–519.
- [9] Hassan M, Kjos M, Nes IF, et al. Natural antimicrobial peptides from bacteria: characteristics and potential applications to fight against antibiotic resistance. *J Appl Microbiol*, 2012, 113(4): 723–736.
- [10] Piper C, Draper LA, Cotter PD, et al. A comparison of the activities of lactacin 3147 and nisin against drug-resistant *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus* species. *J Antimicrob Chemother*, 2009, 64(3): 546–551.
- [11] Tremaroli V, Bäckhed F. Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism. *Nature*, 2012, 489(7415): 242–249.
- [12] O'hara AM, Shanahan F. The gut flora as a forgotten organ. *Embo Rep*, 2006, 7(7): 688–693.
- [13] Itoh T, Fujimoto Y, Kawai Y, et al. Inhibition of food-borne pathogenic bacteria by bacteriocins from *Lactobacillus gasseri*. *Lett Appl Microbiol*, 1995, 21(3): 137–141.
- [14] Gänzle MG, Vogel RF. Contribution of reutericyclin production to the stable persistence of *Lactobacillus reuteri* in an industrial sourdough fermentation. *Int J Food Microbiol*, 2003, 80(1): 31–45.
- [15] Hurdle JG, Heathcott AE, Yang L, et al. Reutericyclin and related analogues kill stationary phase *Clostridium difficile* at achievable colonic concentrations. *J Antimicrob Chemother*, 2011, 66(8): 1773–1776.
- [16] Millette M, Cornut G, Dupont C, et al. Capacity of human nisin- and pediocin-producing lactic acid bacteria to reduce intestinal colonization by vancomycin-resistant enterococci. *Appl Environ*

- Microbiol, 2008, 74(7): 1997–2003.
- [17] Breukink E, de Kruijff B. Lipid II as a target for antibiotics. *Nat Rev Drug Discovery*, 2006, 5(4): 321–323.
- [18] Severina E, Severin A, Tomasz A. Antibacterial efficacy of nisin against multidrug-resistant Gram-positive pathogens. *J Antimicrob Chemother*, 1998, 41(3): 341–347.
- [19] Giacometti A, Cirioni O, Barchiesi F, et al. *In-vitro* activity and killing effect of polycationic peptides on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and interactions with clinically used antibiotics. *Diagnostic Microbiol Infect Dis*, 2000, 38(2): 115–118.
- [20] Brumfitt W, Salton MRJ, Hamilton-Miller JM. Nisin, alone and combined with peptidoglycan-modulating antibiotics: activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant enterococci. *J Antimicrob Chemother*, 2002, 50(5): 731–734.
- [21] Rea MC, Clayton E, O'connor PM, et al. Antimicrobial activity of lactacin 3, 147 against clinical *Clostridium difficile* strains. *J Med Microbiol*, 2007, 56(Pt 7): 940–946.
- [22] Rea MC, Sit CS, Clayton E, et al. Thuricin CD, a posttranslationally modified bacteriocin with a narrow spectrum of activity against *Clostridium difficile*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(20): 9352–9357.
- [23] Duquesne S, Destoumieux-Garzón D, Peduzzi J, et al. Microcins, gene-encoded antibacterial peptides from enterobacteria. *Nat Prod Rep*, 2007, 24(4): 708–734.
- [24] Sassone-Corsi M, Nuccio SP, Liu H, et al. Microcins mediate competition among Enterobacteriaceae in the inflamed gut. *Nature*, 2016, 540(7632): 280–283.
- [25] Borody TJ, Khoruts A. Fecal microbiota transplantation and emerging applications. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2011, 9(2): 88–96.
- [26] Laughton JM, Devillard E, Heinrichs DE, et al. Inhibition of expression of a staphylococcal superantigen-like protein by a soluble factor from *Lactobacillus reuteri*. *Microbiology*, 2006, 152(Pt 4): 1155–1167.
- [27] Saunders S, Bocking A, Challis J, et al. Effect of *Lactobacillus* challenge on *Gardnerella vaginalis* biofilms. *Colloid Surface B*, 2007, 55(2): 138–142.
- [28] Sandiford S, Upton M. Identification, characterization, and recombinant expression of epidermicin NI01, a novel unmodified bacteriocin produced by *Staphylococcus epidermidis* that displays potent activity against *Staphylococci*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2012, 56(3): 1539–1547.
- [29] Ekkelenkamp MB, Hanssen M, Hsu STD, et al. Isolation and structural characterization of epilancin 15X, a novel lantibiotic from a clinical strain of *Staphylococcus epidermidis*. *FEBS Lett*, 2005, 579(9): 1917–1922.
- [30] Wescombe PA, Tagg JR. Purification and characterization of streptin, a type A1 lantibiotic produced by *Streptococcus pyogenes*. *Appl Environ Microbiol*, 2003, 69(5): 2737–2747.
- [31] Wertheim HF, Melles DC, Vos MC, et al. The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *Lancet Infect Dis*, 2005, 5(12): 751–762.
- [32] Jones JC, Rogers TJ, Brookmeyer P, et al. Mupirocin resistance in patients colonized with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a surgical intensive care unit. *Clin Infect Dis*, 2007, 45(5): 541–547.
- [33] Nascimento JS, Ceotto H, Nascimento SB, et al. Bacteriocins as alternative agents for control of multiresistant staphylococcal strains. *Lett Appl Microbiol*, 2010, 42(3): 215–221.
- [34] Dickson RP, Erb-Downward JR, Martinez FJ, et al. The microbiome and the respiratory tract. *Ann Rev Physiol*, 2015, 78: 481–504.
- [35] Dewhirst FE, Chen T, Izard J, et al. The human oral microbiome. *J Bacteriol*, 2010, 192(19): 5002–5017.
- [36] Joyner PM, Liu JM, Zhang ZJ, et al. Mutanobactin A from the human oral pathogen *Streptococcus mutans* is a cross-kingdom regulator of the yeast-mycelium transition. *Org Biomol Chem*, 2010, 8(24): 5486–5489.
- [37] Corr SC, Li Y, Riedel CU, et al. Bacteriocin production as a mechanism for the anti-infective activity of *Lactobacillus salivarius* UCC118. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(18): 7617–7621.
- [38] Chu J, Vila-Farres X, Inoyama D, et al. Discovery of MRSA active antibiotics using primary sequence from the human microbiome. *Nat Chem Biol*, 2016, 12(12): 1004–1006.
- [39] Knight V, Sanglier JJ, Ditullio D, et al. Diversifying microbial natural products for drug discovery. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2003, 62(5/6): 446–458.

- [40] Aminov RI, Mackie RI. Evolution and ecology of antibiotic resistance genes. *FEMS Microbiol Lett*, 2007, 271(2): 147–161.
- [41] Hu YF, Yang X, Qin JJ, et al. Metagenome-wide analysis of antibiotic resistance genes in a large cohort of human gut microbiota. *Nat Commun*, 2014, 4(2): 2151–2249.
- [42] Krismer B, Liebeke M, Janek D, et al. Nutrient limitation governs *Staphylococcus aureus* metabolism and niche adaptation in the human nose. *PLoS Pathog*, 2014, 10(1): e1003862.
- [43] Gill SR, Pop M, Deboy RT, et al. Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome. *Science*, 2006, 312(5778): 1355–1359.
- [44] Lincke T, Behnken S, Ishida K, et al. Closthioamide: an unprecedented polythioamide antibiotic from the strictly anaerobic bacterium *Clostridium cellulolyticum*. *Angew Chem*, 2010, 122(11): 2055–2057.
- [45] Bode HB, Bethe B, Höfs R, et al. Big effects from small changes: possible ways to explore nature's chemical diversity. *Chembiochem*, 2015, 3(7): 619–627.
- [46] Nichols D, Cahoon N, Trakhtenberg EM, et al. Use of ichip for high-throughput in situ cultivation of “uncultivable” microbial species. *Appl Environ Microbiol*, 2010, 76(8): 2445–2450.
- [47] Ochi K, Okamoto S, Tozawa Y, et al. Ribosome Engineering and secondary metabolite production. *Adv Appl Microbiol*, 2004, 56(1): 155–184.
- [48] Hosaka T, Ohnishi-Kameyama M, Muramatsu H, et al. Antibacterial discovery in actinomycetes strains with mutations in RNA polymerase or ribosomal protein S12. *Nat Biotechnol*, 2009, 27(5): 462–464.

(本文责编 郝丽芳)