

多粘类芽孢杆菌及其脂肽化合物研究进展

郭赛赛, 张敬泽*

(浙江大学 农业与生物技术学院 生物技术研究, 杭州 310058)

摘要: 芽孢杆菌 (*Bacillus* spp.) 和类芽孢杆菌 (*Paenibacillus* spp.) 可产生丰富的代谢化合物, 尤其是拮抗微生物类的脂肽化合物, 是挖掘天然抗菌素的宝库, 其中多粘类芽孢杆菌 *Paenibacillus polymyxa* 最具有代表性。多粘类芽孢杆菌的生防机制与其脂肽化合物相关。已发现与微生物拮抗作用相关的脂肽主要有杀镰孢菌素、多粘菌素和十三肽素, 是由大的多酶复合体非核糖体肽合成酶 (NRPSs) 产生。本文在简介多粘类芽孢杆菌脂肽在植物病害防治和医疗应用的基础上, 综述了其产生的脂肽化合物的类型和功能, 并结合作者的研究工作, 重点介绍了与抗菌作用相关的杀镰孢菌素、多粘菌素和十三肽素化合物的结构、生物活性、作用机制、类似物的合成和质谱检测等方面的研究进展, 并展望了该领域的未来研究发展趋势, 旨在为进一步发现、挖掘和利用脂肽化合物的自然资源提供参考。

关键词: 多粘类芽孢杆菌; 脂肽; 抗生素; 杀镰孢菌素; 多粘菌素; 十三肽素; 拮抗微生物; 非核糖体肽合成酶; 研究进展

中图分类号: TQ458.1; S482.292

文献标志码: A

文章编号: 1008-7303(2019)5-6-0787-12

Research progress of *Paenibacillus polymyxa* and its lipopeptide compounds

GUO Saisai, ZHANG Jingze*

(Institute of Biotechnology, College of Agriculture and Biotechnology, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

Abstract: The *Bacillus* spp. and *Paenibacillus* spp. produce abundant secondary metabolic compounds, especially of which the antimicrobial lipopeptides are being mined the treasury of natural antibiotics and *Paenibacillus polymyxa* is a best representative among them. The biocontrol mechanisms of *P. polymyxa* are related to its lipopeptide compounds, mainly including fusaricidins, polymyxins and tridecaptins. Those lipopeptides related to antagonistic microorganisms in *P. polymyxa* have been found to be produced by non-ribosomal peptide synthase (NRPSs) being a large multienzyme complexes. Based on a brief introduction of application of *P. polymyxa* in plant disease control and medicine use, types and functions of lipopeptide compounds produced by *P. polymyxa* have been reviewed in this paper. Combing our studied on biocontrol work, the research progress in chemical structure, antimicrobial activities, mechanisms of action, analogue synthesis and mass spectrometry detection of fusaricidins, polymyxins and tridecaptins were summarized. The prospects for the trend of future researches have been made, which could provide a reference for further discovery, exploitation and utilization of natural resources of lipopeptide compounds.

收稿日期: 2019-08-20; 录用日期: 2019-08-27.

基金项目: 公益性行业 (农业) 科研专项资金 (201503109); 浙江省重点研发计划项目 (2015C02023).

作者简介: 郭赛赛, 女, 硕士研究生, E-mail: 1437956541@qq.com; *张敬泽, 通信作者 (Author for correspondence), 男, 博士, 副教授, 主要从事真菌病害和生物防治研究, E-mail: jzzhang@zju.edu.cn

Keywords: *Paenibacillus polymyxa*; lipopeptide; antibiotic; fusaricidins; polymyxins; tridecapins; antimicrobia; non-ribosomal peptide synthases (NRPSs); research progress

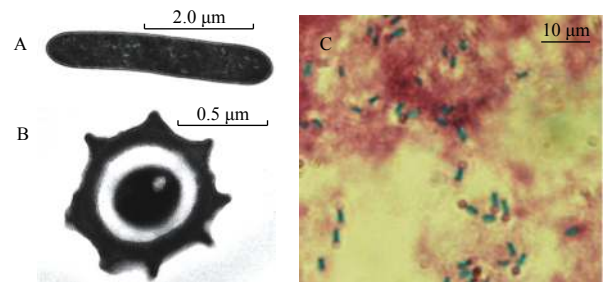
化学杀菌剂的长期广泛使用，容易引起人们对环境和健康问题的担忧以及病原菌抗药性问题。为了减少甚至替代化学农药的使用，许多研究集中于利用拮抗微生物防治植物病害，并已取得很大进展^[1]。生防菌主要通过产生抗生素或细菌素抑制病原菌生长，或诱导寄主植物产生抗病性，从而发挥其防治植物病害的作用。在分离和筛选生防菌的研究中，芽孢杆菌 (*Bacillus* spp.) 和类芽孢杆菌 (*Paenibacillus* spp.) 常常以较高的频率出现，这与其产生的活性次生代谢物相关。它们通常产生丰富的次生代谢物，包括非核糖体肽 (NRPs) 化合物、聚酮化合物 (PKs)、NRP-PK 混合物和细菌素等，在农业生物防治和医学应用方面已显示出潜在的应用前景，是一类引人注目的自然资源^[2-4]。许多研究表明，生防菌株的生防效果主要与其产生的脂肽化合物密切相关^[5-6]。多粘类芽孢杆菌产生的脂肽化合物 (如杀镰孢菌素、多粘菌素和十三肽素) 可抑制植物病原真菌和细菌的生长。目前多粘类芽孢杆菌已被用作微生物杀菌剂，而其脂肽化合物已作为抗菌素应用于医疗领域。

然而，相同种的不同株系对相同病原菌具有不同的拮抗活性^[5]；同样，虽然不同株系间的次生代谢基因簇序列相似，但它们产生的脂肽化合物却存在很大差异，被认为是与环境条件和株系相关^[5]。为了克服引入株系存在适应性的问题，筛选适合当地生态条件的生防株系仍然是生物防治研究的重要任务，但也面临脂肽化合物的鉴定和揭示生防机制较难等问题。基质辅助激光解析电离飞行时间质谱 (MALDI-TOF-MS) 技术的发展，为脂肽化合物的鉴定提供了快速、可靠和强大的工具^[7]。本文拟结合本课题组近年来的研究工作和国内外相关研究进展，对多粘类芽孢杆菌产生的脂肽化合物的结构特征、鉴定方法及其作用机制进行综述。

1 多粘类芽孢杆菌及其在植物病害生物防治中的应用

多粘类芽孢杆菌 *Paenibacillus polymyxa* 是一种非病原性的细菌，是革兰氏阳性、杆状细菌 (图 1A)，具有周鞭鞭毛，可以运动，能产生芽孢 (图 1B)，可经常在根围土壤和海洋沉积物等环境

中被发现。其芽孢对辐射、热、干燥、极端 pH 值和有毒化学物有很强的抵抗能力，休眠状态下可以保持活力达数年至数十年；同时，芽孢具有繁殖速度快、营养要求简单和易于在植物根围定殖的特点。这些属性是生防制剂开发需考虑的重要方面。为制备含有芽孢的生防制剂，通过孔雀绿染色技术可快速检测营养细胞 (红色) 和芽孢 (绿色) 形成的数量 (图 1C)。另外，最近笔者从超微结构水平上揭示了多粘类芽孢杆菌从营养细胞向芽孢转化的发育过程的特征^[5]，提供了理解芽孢发育和形成的信息。



A. 一个营养细胞；B. 从孢子囊释放出的芽孢；
C. 孔雀绿染色后的芽孢 (绿色)。
A. A vegetative cell; B. A endospore released from a sporangium;
C. Endospores stained by malachite green dye.

图 1 多粘类芽孢杆菌营养细胞和芽孢
Fig. 1 Vegetative cells and endospores of *Paenibacillus polymyxa*

多粘类芽孢杆菌原先为多粘芽孢杆菌 *Bacillus polymyxa*，属于芽孢杆菌属 (*Bacillus*) 的成员，但经过 16S rRNA 基因序列的系统发育分析，发现其与芽孢杆菌属存在明显差异，遂于 1993 年作为新组合转移到类芽孢杆新属 (*Paenibacillus*) 名下^[8]。类芽孢杆新属包括 10 个种，通过 16S rRNA 基因序列结合脂肪酸成分分析，可明确区分多粘类芽孢杆菌与同属的种^[5]。

多粘类芽孢杆菌在植物根围旺盛生长，能够固氮，抑制植物病原菌，促进植物生长。它具有广谱的拮抗活性，可有效防治由多种真菌、细菌和线虫引起的病害^[9-10]，比如：多粘类芽孢杆 HKA-15 可有效防治柑橘溃疡病^[11]；GBR-1 可有效抑制番茄根结形成^[12]；A21 可有效防治番茄灰霉病^[6]；SQR-21 对尖孢镰刀菌有拮抗活性^[13]；笔者筛选的多粘类芽孢杆菌 ShX301 能有效防治大丽

轮枝菌引起的棉花黄萎病和茄子黄萎病^[5,14]等。多粘类芽孢杆菌也可用于防治由细菌引起的植物病害,如 M-1 可防治由解淀粉欧文氏菌 *Erwinia amylovora* 引起的火疫病和 *E. carotovora* 引起的软腐病, HKA-15 可抑制野油菜黄单胞菌 *Xanthomonas campestris*^[15], 而笔者最新筛选的多粘类芽孢杆菌 IAM5 (M2019335) 可有效防治由茄雷尔氏菌 *Ralstonia solanacearum* 引起的茄子青枯病 (论文待发表)。目前,多粘类芽孢杆菌已作为微生物杀菌剂产品进行登记,在美国登记的商品名为 Hydroguard,在韩国登记的商品名为 Topseed 和 NH^[16],而笔者筛选的 ShX301 也作为菌肥产品正在注册登记中。

大量研究认为,多粘类芽孢杆菌对植物病原菌的作用机制主要与脂肽化合物相关。多粘类芽孢杆菌能产生两类脂肽化合物,包括拮抗细菌的多粘菌素 (polymyxins)、尼柯霉素 (polyxin)、谷丙缬丝素 (gavaserin)、丝丙亮苏缬素 (saltavalin) 和乔利肽菌素 (jolipectins) 以及抗真菌、阳性细菌和放线菌的系列 LI-F 抗菌素、谷天苏丙缬素 (gatavalin)、杀镰孢菌素 (fusaricidins) 和十三肽素 (tridecap-tins)^[17-19]。笔者的研究结果也表明,不同来源或相同来源的同种株系对相同病原菌显示出不同的拮抗活性,涉及不同脂肽化合物的差异^[5,14]。因此,针对不同病原菌,分析和明确生防株系的主要脂肽化合物成分,是生防产品开发和应用的基础。

2 多粘类芽孢杆菌产生的脂肽化合物的结构特征

多粘类芽孢杆菌能产生多种化合物,包括挥发性拮抗化合物^[19-20],但与生防相关的拮抗化合物主要涉及脂肽化合物杀镰孢菌素、多粘菌素和十三肽素,其中杀镰孢菌素和多粘菌素通常是优势产物,也是生物防治和医学领域最感兴趣的化合物^[21],其结构特征、抗菌活性、作用机制和作为抗菌素的应用性研究均有报道。而较早发现的谷丙缬丝素、谷天苏丙缬素、丝丙亮苏缬素和乔利肽菌素中,虽然都含有 2,4-二氨基丁酸 (2,4-diaminobutyric acid),但迄今为止尚未见有关其化学结构详细特征的报道,也未被归属到相应的家族中^[22]。另外,尼柯霉素的化学结构迄今未明确。

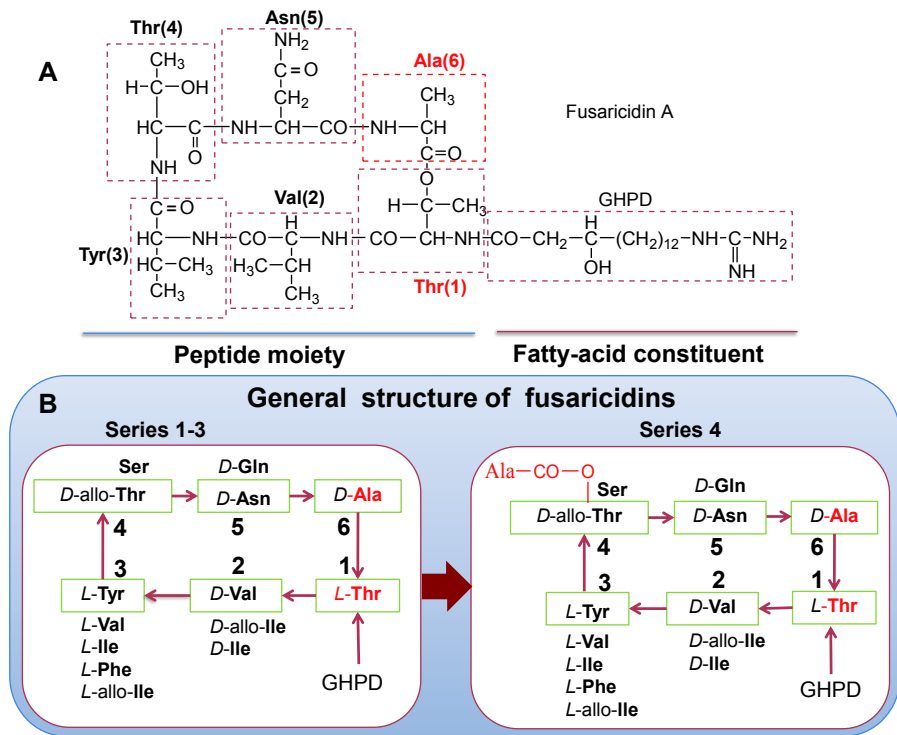
2.1 杀镰孢菌素的结构特征

杀镰孢菌素是一类非阳离子型的环脂六肽化合物,含有超过 20 变体的复合体^[21]。在结构

上,它们均含有 15-胍基-3-羟基十五烷酸 (15-guanidino-3-hydroxypentadecanoic acid, GHPD),其结合到了含有 6 个氨基酸形成的环的苏氨酸 (Thr) 上,以图 2A 显示的杀镰孢菌素 A 的分子结构为例,GHPD 是严格保守的,但由于氨基酸及其序列的不同,形成了不同的变体。图 2B 显示了杀镰孢菌素结构的一般结构模式。

在 6 个氨基酸形成的环上 (图 2B),1 位苏氨酸 (Thr) 和 6 位碳末端的缬氨酸 (Ala) 是严格保守的,而其余氨基酸是可变的。依据氨基酸成分 (图 3),Vater 等^[21]把质谱在 m/z 860~925 范围内的峰分为系列 1 (Series 1),特征是 2 位和 3 位含有缬氨酸、异亮氨酸和 allo-异亮氨酸,包括杀镰孢菌素 A (LI-F04a)、杀镰孢菌素 B (LI-F04b)、LI-F05a、LI-F06a、LI-F05b、LI-F06b、LI-F08b 和 1 个未知化合物 (m/z 869.8);把 m/z 947~975 范围内的峰分为系列 2 (Series 2),特征是 3 位缬氨酸被酪氨酸 (Tyr) 替代,包括杀镰孢菌素 C (LI-F03a)、LI-F07b、杀镰孢菌素 D (LI-F03b) 和 1 个未知化合物 (m/z 975.8);把 m/z 931~959 范围内的峰分为系列 3 (Series 3),特征是 3 位缬氨酸被苯丙氨酸 (Phe) 替代,包括 LI-F07a、LI-F07b 和 1 个未知化合物 (m/z 959.8)。此外还发现和证实,在 m/z 954.8、968.9、982.9、996.9、1 002.9、1 016.9、10 198 和 1 032.9 处的峰是与系列 1~3 相关的化合物的变体,但与系列 1~3 变体间的相对分子质量相差 71,这是由于系列 1~3 变体的 4 位酪氨酸上分别连接了 1 个缬氨酸,这类化合物被分为系列 4 (Series 4)。图 2B (右) 显示了系列 4 的一般结构模式。目前已报道杀镰孢菌素 LI-F 序列变体有 12 个^[23],虽然 LI-F05a、LI-F06a 和 LI-F06b 中的氨基酸成分和抗菌活性均已明确^[24-28],但氨基酸序列连接关系和结构特征尚不完全清楚。Vater 等^[21]将 LI-F05a、LI-F06a 和 LI-F06b 归为系列 1,但没有相应可利用的质谱峰。杀镰孢菌素 B 和 LI-F05b 存在同分异构体变体,3 个新变体的结构特征尚未被表征 (图 3)。系列 4 包括含有 8 个质谱峰的化合物,推测它们是系列 1~3 成员结合丙氨酸形成的新变体,如 m/z 1 032.8 是丙氨酸-杀镰孢菌素 A (图 3),但并未通过化学结构分析证实,其生物活性也未知。

不同多粘类芽孢杆菌株系产生的杀镰孢菌素不同。刘晶晶等^[14]报道,虽然 ShX301、ShX302、



A. 杀镰孢菌素 A 分子结构，由肽和脂肪酸 2 部分构成；GHPD：15-胍基-3-羟基十五烷酸。
B. 杀镰孢菌素一般结构，系列 4 (Series 4) 变体是由系列 1~3 变体在 4 位氨基酸连接 1 个丙氨酸形成的。
A. Molecular structure of Fusaricidins A. It is composed of the peptides and fatty acid. GHPD: 15-guanidino-3-hydroxypentadecanoic acid.
B. General structure of fusaricidins. The variants of the series 4 are composed of the series 1-3 variants linking a Ala.

图 2 杀镰孢菌素结构

Fig. 2 Structures of fusaricidins

	<i>m/z</i>	Chemical structure of fusaricidin variants	Fusaricidin
Series1	869.8	GHPD→Thr→Val→Val→Ser→Asn→Ala	unknown
	883.8	GHPD→Thr→Val→Val→Thr→Asn→Ala	Fusaricidin A
	897.8	GHPD→Thr→Val→Val→Thr→Gln→Ala	Fusaricidin B; LI-F04b
		GHPD→Thr→Val→Ile→Thr→Asn→Ala	
	911.8	GHPD→Thr→Val→Ile→Thr→Gln→Ala	LI-F05b
		GHPD→Thr→Ile→Val→Thr→Gln→Ala	
	925.8	GHPD→Thr→Ile→Ile→Thr→Gln→Ala	LI-F08b
Series2	947.8	GHPD→Thr→Val→Tyr→Thr→Asn→Ala	Fusaricidin C; LI-F03a
	961.8	GHPD→Thr→Val→Tyr→Thr→Gln→Ala	Fusaricidin D; LI-F03b
	975.8	GHPD→Thr→X→Tyr→Thr→Gln→Ala	unknown
Series3	931.8	GHPD→Thr→Val→Phe→Thr→Asn→Ala	LI-F07a
	945.8	GHPD→Thr→Val→Phe→Thr→Gln→Ala	LI-F07b
	959.8	GHPD→Thr→X→Phe→Thr→Gln→Ala	unknown
Series4	1032.8	GHPD→Thr→Val→Val→ ^{Ala} Thr→Asn→Ala	Ala-Fusaricidin A

图 3 杀镰孢菌素变体成分 (质荷比值 *m/z* 来自 Vater 等^[21])

Fig. 3 Composition of the fusaricidin variants (The *m/z* values are from Vater et al^[21])

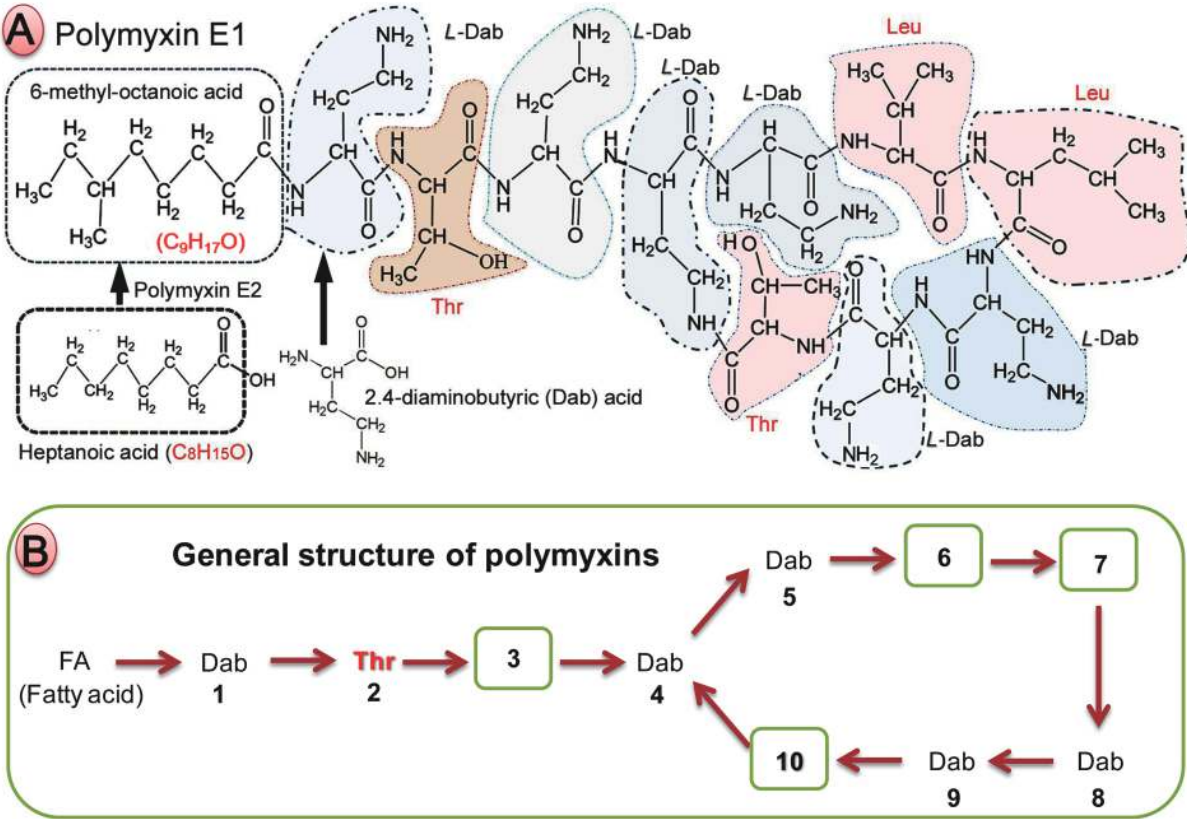
ShX303、Hb1 和 Hb2 株系都能产生杀镰孢菌素 A、B、C、D、LI-F05b、LI-F08b、LI-F07a 和 LI-F07b, 但株系间各变体质谱峰的强度明显不同。

2.2 多粘菌素的结构特征

多粘菌素是由多粘类芽孢杆菌产生的抗菌素而得名的, 是一类抗微生物的环肽。其由 1 个多阳离子七肽环连接到酰基化三肽的 10 个氨基酸和 1 个 *N*-末端修饰的脂肪酸构成。图 4A 显示了多粘菌素 E1 的分子结构^[29]。在多粘菌素 E1 中, 10 位苏氨酸的羧基与 4 位 2, 4-二氨基丁酸 (Dab) 侧链

上的 γ -氨基残基环化形成肽环。2,4-二氨基丁酸 (Dab) 是 1 个不通常的氨基酸 (unusual amino acids), 它被整合 6 次, 构成了主要氨基酸 (图 4A)。脂肪酸与肽末端的 1 个氨基连接, 其主要成分是庚酸 (heptanoic acid) 和辛酸或其甲基化衍生物, 如多粘菌素 E1 脂肪酸是 6-甲基辛酸 (6-methyl-octanoic acid), 而被庚酸替代后成为多粘菌素 E2 变体 (图 4A)。

多粘菌素变体间差异主要在 3、6、7 和 10 位氨基酸成分或脂肪酸的类型^[30]。图 4B 显示了多粘菌素变体的一般结构模式。



A. 多粘菌素 E1 的分子结构, Dab: 2,4-二氨基丁酸; B. 多粘菌素一般结构模式, 2 位氨基酸通常是保守的, 而 3、6、7、10 位是可变的。
A. Molecular structure of polymyxin E1. Dab: 2,4-Diaminobutyric acid; B. General structure of polymyxins.
Amino acid at position 2 is usually conserved but position 3, 6, 7 and 10 are variable.

图 4 多粘菌素的结构

Fig. 4 Structures of polymyxins

在多粘菌素 B(B1、B1-Ile、B2、B3、B4、B5 和 B6) 中, 6 位氨基酸都是 *D*-苯丙氨酸, 变体间的差异仅在酯酰部分的变化和 7 位氨基酸的不同 (亮氨酸或异亮氨酸)。在多粘菌素 E 中, 7 位氨基酸的变化将产生许多变体, 包括 E1-异亮氨酸 [环杆菌素 (circulin)]、E1-缬氨酸 (E1-val) 或 E1-正缬氨酸 (E1-NVal) (表 1), 其余变化发生在脂肪酸侧链。2 位和 10 位氨基酸相对保守, 仅在 2 个

变体中存在, 如: 丝氨酸替代 2 位苏氨酸形成 E1-丝氨酸-2[E1-(ser-2)]^[31]; 亮氨酸替代 10 位苏氨酸形成多粘菌素 T^[32]。

多粘菌素的结构特征与其抗菌活性密切相关。脂肪酸与 6 位和 7 位氨基酸决定了多粘菌素分子的疏水特性, 其余氨基酸是极性的, 2, 4-二氨基丁酸的氨基赋予了多粘菌素具有更多阳离子的特性。自从 1947 年发现第 1 个多粘菌素 B 以来^[33-34],

表 1 多粘菌素结构和质谱检测的峰
Table 1 Structures and detected peaks of polymyxins

多粘菌素 Polymyxins	脂肪酸尾 Fatty acyl tails	氨基酸位置 Positions of amino acids				质荷比 <i>m/z</i>
		3位 Position 3	6位 Position 6	7位 Position 7	10位 Position 10	
A1	6-Methyloctanoyl	<i>D</i> -Dab	<i>D</i> -Leu	<i>L</i> -Thr	<i>L</i> -Thr	1 158.5 [*]
A2	6-Methylheptanoyl	<i>D</i> -Dab	<i>D</i> -Leu	<i>L</i> -Thr	<i>L</i> -Thr	-
B1	(<i>S</i>)-6-Methyloctanoyl	<i>L</i> -Dab	<i>D</i> -Phe	<i>L</i> -Leu	<i>L</i> -Thr	1 203.4
B1-Ile	(<i>S</i>)-6-Methyloctanoyl	<i>L</i> -Dab	<i>D</i> -Phe	<i>L</i> -Ile	<i>L</i> -Thr	1 203.4
B2	6-Methyheptanoyl	<i>L</i> -Dab	<i>D</i> -Phe	<i>L</i> -Leu	<i>L</i> -Thr	1 189.7
B3	Octanoyl	<i>L</i> -Dab	<i>D</i> -Phe	<i>L</i> -Leu	<i>L</i> -Thr	1 189.7
B4	Heptanoyl	<i>L</i> -Dab	<i>D</i> -Phe	<i>L</i> -Leu	<i>L</i> -Thr	1 175.7 [*]
B5	Nonanoyl	<i>L</i> -Dab	<i>D</i> -Phe	<i>L</i> -Leu	<i>L</i> -Thr	1 203.7 [*]
B6	3-Hydroxy-6-methyloctanoyl	<i>L</i> -Dab	<i>D</i> -Phe	<i>L</i> -Leu	<i>L</i> -Thr	1 219.1 [*]
C1	6-Methyloctanoyl	<i>L</i> -Dab	<i>D</i> -Phe	<i>L</i> -Thr	<i>L</i> -Thr	-
C2	6-Methylheptanoyl	<i>L</i> -Dab	<i>D</i> -Phe	<i>L</i> -Thr	<i>L</i> -Thr	-
D1	6-Methyloctanoyl	<i>D</i> -Ser	<i>D</i> -Leu	<i>L</i> -Thr	<i>L</i> -Thr	1 144.0 [*]
D2	6-Methylheptanoyl	<i>D</i> -Ser	<i>D</i> -Leu	<i>L</i> -Thr	<i>L</i> -Thr	1 130.0 [*]
E1	(<i>S</i>)-6-Methyloctanoyl	<i>L</i> -Dab	<i>D</i> -Leu	<i>L</i> -Leu	<i>L</i> -Thr	1 169.7
E2	6-Methyheptanoyl	<i>L</i> -Dab	<i>D</i> -Leu	<i>L</i> -Leu	<i>L</i> -Thr	1 155.7
E3	Octanoyl	<i>L</i> -Dab	<i>D</i> -Leu	<i>L</i> -Leu	<i>L</i> -Thr	1 155.7 [*]
E4	Heptanoyl	<i>L</i> -Dab	<i>D</i> -Leu	<i>L</i> -Leu	<i>L</i> -Thr	1 141.7 [*]
E7	7-Methyloctanoyl	<i>L</i> -Dab	<i>D</i> -Leu	<i>L</i> -Leu	<i>L</i> -Thr	1 169.7 [*]
E1-Ile	(<i>S</i>)-6-Methyloctanoyl	<i>L</i> -Dab	<i>D</i> -Leu	<i>L</i> -Ile	<i>L</i> -Thr	1 169.7 [*]
E1-Val	(<i>S</i>)-6-Methyloctanoyl	<i>L</i> -Dab	<i>D</i> -Leu	<i>L</i> -Val	<i>L</i> -Thr	1 155.7 [*]
E1-Nval	(<i>S</i>)-6-Methyloctanoyl	<i>L</i> -Dab	<i>D</i> -Leu	<i>L</i> -Nval	<i>L</i> -Thr	1 141.7 [*]
E2-Val	6-Methyheptanoyl	<i>L</i> -Dab	<i>D</i> -Leu	<i>L</i> -Val	<i>L</i> -Thr	1 141.7 [*]
E2-Ile	6-Methyheptanoyl	<i>L</i> -Dab	<i>D</i> -Leu	<i>L</i> -Ile	<i>L</i> -Thr	1 155.7 [*]
E8-Ile	7-Methylnonanoyl	<i>L</i> -Dab	<i>D</i> -Leu	<i>L</i> -Ile	<i>L</i> -Thr	1 183.7 [*]
M1	6-Methyloctanoyl	<i>L</i> -Dab	<i>D</i> -Leu	<i>L</i> -Thr	<i>L</i> -Thr	1 158.7 [*]
M2	6-Methylheptanoyl	<i>L</i> -Dab	<i>D</i> -Leu	<i>L</i> -Thr	<i>L</i> -Thr	1 158.7 [*]
S1	6-Methyloctanoyl	<i>D</i> -Ser	<i>D</i> -Phe	Thr	Thr	-
T1	6-Methyloctanoyl	Dab	<i>D</i> -Phe	Leu	Leu	-
T2	6-Methylheptanoyl	Dab	<i>D</i> -Phe	Leu	Leu	-
P1	6-Methyloctanoyl	<i>D</i> -Dab	<i>D</i> -Phe	<i>L</i> -Thr	<i>L</i> -Thr	1 192.9 [*]
P2	6-Methylheptanoyl	<i>D</i> -Dab	<i>D</i> -Phe	<i>L</i> -Thr	<i>L</i> -Thr	1 178.9 [*]

注：*质荷比 (*m/z*) 来自 Tambadou 等^[21]。
Note: *The *m/z* values are from Vater et al^[21].

已有超过 30 个化合物变体被报道^[35-36]。其中，多粘菌素 M 由 *P. kobensis* 产生^[37]，而多粘菌素 F 是由环状芽孢杆菌 *P. circulans* 产生^[38](未列入表 1 中)。另外，虽然多粘菌素 A2、C1、C2、S1、T1 和 T2 结构均已明确^[29, 36]，但还未见可用的 MALDI-TOF-MS 数据。

表 2 为笔者采用 MALDI-TOF-MS 对不同株系 ShX301、ShX302、ShX303、Hb1 和 Hb2 测定的结果，发现多粘菌素在不同株系间也存在很大差异，其中，株系 ShX302、ShX303 和 Hb1 产生多粘菌素 B1(或 B1-Ile)、B2(或 B3)，但 ShX301

仅产生多粘菌素 E1，而 Hb2 未产生任何多粘菌素。

2.3 十三肽素的结构特征

十三肽素是线性阳离子脂肽，由 13 个氨基酸与脂肪酸构成^[3]。13 个氨基酸中包括几个 2, 4-二氨基丁酸残基，氨基酸酰化的 *N*-末端与羧基脂肪酸的侧链相连接。以十三肽素分子结构为例(图 5)：典型的十三肽素脂肪酸链中通常含有 8~12 碳，通常具有 α 或 β -羟基。由于脂肪酸成分、长度和构象变化以及多肽部分的氨基酸取代位置的变化，形成了不同的变体，构成了十三肽素家族(图 5 和图 6)。

分, 对蛋白酶敏感^[51], 分子质量为 10 000 Da^[22], 但其化学结构迄今不清楚。

除杀镰孢菌素、多粘菌素和十三肽素外, 一些新化合物也在多粘类芽孢杆菌产物中被发现^[42]。如类脂七肽素 (paenilipoheptin) 是由 7 个氨基酸 (Ser-Dab-Trp-Val-Phe-Tyr-Glu) 和 1 个 C₁₃- β -氨基脂肪酸构成。氨基脂肪酸氨基与谷氨酸 C-末端羧基连接形成环。离子峰 m/z 1 123.59 [M + H]⁺ 对应于 C₁₃- β -氨基脂肪酸的类脂的七肽素 A1, 而 m/z 1 109.66 [M + H]⁺ 对应于 C₁₂- β -氨基脂肪酸七肽素 A2^[42]。它们被认为是一个未知家族的脂肽化合物, 目前还不清楚其是否具有抗菌活性。

3 脂肽化合物的抗菌活性和作用机制

3.1 杀镰孢菌素

杀镰孢菌素对真菌、革兰氏阴性细菌和一些阳性细菌具有抑制活性, 但其作用机制尚不完全清楚, 推测其细菌膜是潜在靶标^[52]。Bionda 等^[53]依据杀镰孢菌素 A 或 LI-F04a 的自然产物, 人工合成了 13 个修饰的环肽化合物, 揭示了环脂肽的疏水性和净正电荷氨基酸残基增加可提高抗细菌的活性, 其作用机制是细菌的生物膜被破坏。虽然不同杀镰孢菌素变体的化合物对真菌显示出不同程度的抗菌活性, 但对真菌的作用机制迄今未见报道。

杀镰孢菌素 A、B、C 和 D 对尖孢镰刀菌 *Fusarium oxysporum* 和灰葡萄孢菌 *Botrytis cinerea* 具有抑制活性^[6, 13], 而 LI-F03、LIF04、LI-F05、LI-F06、LI-F07 和 LI-F08 对革兰氏阳性的金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus* 具有很高活性^[23, 27]。杀镰孢菌素对多种病原菌有抑制作用, 如对由辣椒疫霉 *Phytophthora capsici* 引起的辣椒疫病和大丽轮枝菌 *V. dahliae* 引起的茄子黄萎病均有很好的防治效果^[14, 54]。比较 5 个株系 (ShX301、ShX302、ShX303、Hb1 和 Hb2) 中的杀镰孢菌素, 发现虽然它们都产生杀镰孢菌素 A、B、C、D、LI-F05b、LI-F08b、LI-F07a 和 LI-F07b, 但株系间各变体质谱峰的强度明显不同。其中, 株系 ShX301 对大丽轮枝菌的抑制活性最高^[14], 但哪些杀镰孢菌素对大丽轮枝菌起主要抑制作用尚不清楚。

3.2 多粘菌素

多粘菌素对革兰氏阴性细菌, 尤其对假单胞菌 *Pseudomonas* spp. 和大肠杆菌 *Coliform* spp. 具有显著的抗菌活性^[22]。多粘菌素 B1 和 E1 对革兰

氏阴性细菌的作用机制已被清楚揭示^[55], 其作用靶标是膜的脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS)。其中, LPS 由 3 个域构成, 1 个保守的内核 2-酮基-3-脱氧羧酸 (Kdo) 结合到脂质 A 和由各种多糖的重复单位构成的 1 个可变的 O-抗原上。脂质 A 的结构通式是由 β -1-6-连接的 D-葡萄糖胺 (GlcN) 双糖构成, GlcN 在 1 和 4 位上被磷酸化。脂肪酸 (通常碳链长度是 C₁₂ 和 C₁₄) 连接到葡萄糖胺 4 个酰基链上, 即 β -羟酯酰链 (β -hydroxyacyl chains) (通常长度是 C₁₂ 和 C₁₄)。脂质 A 作为疏水固定物, 紧密包裹脂酰链, 有助于稳定整个外壁结构。多粘菌素 B1 或 E1 通过脂多糖的脂质 A 直接互作渗透细菌外膜, 多粘菌素脂肪酸链和环上 D-6 位苯丙氨酸-L-7 位亮氨酸 (多粘菌素 B1) 或 D-6 位亮氨酸-L-7 位亮氨酸疏水域的插入, 弱化了相邻脂质 A 的包裹, 引起外膜单层的扩大和破裂。其他多粘菌素对革兰氏阴性细菌作用机制被认为与多粘菌素 B1 或 E1 的机制类似^[55]。

多粘菌素主要抑制革兰氏阴性细菌, 而最著名的多粘菌素 B 和 E 广泛用于医疗, 如医用的硫酸多粘菌素 B 和 E, 尤其对感染的革兰氏阴性细菌抑制效果明显^[22], 如铜绿假单胞菌 *Pseudomonas aeruginosa*、鲍曼不动杆菌 *Acinetobacter baumannii* 和肺炎克雷伯菌 *Klebsiella pneumoniae* 等。多粘菌素 P1 和 P2 可抑制植物病原欧文氏菌 *Erwinia* spp., 具有应用于防治火疫病和软腐病的潜力^[56], 但不同的多粘菌素变体存在差异, 如多粘菌素 S1 和 T1 虽然都能抑制革兰氏阴性细菌, 但多粘菌素 T1 对革兰氏阳性细菌的抑制活性比其他多粘菌素高^[32, 57]。

3.3 十三肽素

十三肽素是一类线性阳离子脂肽, 氨基酸成分与多粘菌素类似, 均含有 2, 4-二氨基丁酸。十三肽素 A1 对常见食物传播的病原空肠弯曲杆菌 *Campylobacter jejuni* 具有显著的抑制活性^[43, 46, 58], 通过修饰或移掉十三肽素 A1 脂质尾的合成类似物证实, 十三肽素 A1 脂肪酸尾对生物活性并不重要, 但脂质尾部缺失的十三肽素本身是失活的, 同时促使细菌对小分子抗菌素如万古霉素和利福平敏感。另外, 通过丙氨酸的位置扫描组合法, 发现了十三肽素 A1 抗菌活性与氨基酸成分的重要性^[52], 发现 5 位色氨酸 (D-Trp5)、8 位二氨基丁酸 (D-Dab8) 和 12 位异亮氨酸 (D-allo-Ile12) 对革兰氏

阴性细菌是必需的,而 8 位二氨基丁酸对抗菌活性是必不可少的。随后的研究发现,十三肽素 A1 渗透到细胞内外膜上与细胞膜上的细胞壁前体脂质 II 结合,形成十三肽素 A1-脂质 II 复合物,中断了质子动力,是杀死革兰氏阴性细菌的作用机制^[3]。另外,一些抗非核糖体十三肽素的细菌通过产生肽酶 (TriF),在 5 位色氨酸 (*D*-Trp5) 和 6 位丝氨酸 (*D*-Ser6) 间水解十三肽素,使其失活^[59],因此肽酶被认为是细菌的保护机制。为此, Ballantine 等^[47] 设计合成了含抗肽酶 (TriF) 的十三肽素类似物,用半胱氨酸替代 6 位和 9 位氨基酸,并使这 2 个氨基酸残基硫形成二硫键,阻止了肽酶的水解,保留了其抗菌活性。这为十三肽素新抗菌素合成提供了范例。

十三肽素 A、B 和 C 主要拮抗革兰氏阴性细菌,很少对革兰氏阳性菌有活性^[39],但由于它们低的细胞毒性、溶血活性和在人的原生质体中的稳定性以及低水平的抗性发展,十三肽素被作为治疗多药耐药性革兰氏阴性细菌的候选抗菌素^[60-61]。由于十三肽以细胞膜为靶标,可促进其他抗菌素通过革兰氏阴性细菌的细胞膜,因此可与其他抗生素结合用于医疗。

4 展望

芽孢杆菌和多粘类芽孢杆菌可产生多种潜在的抗微生物脂肽。这些细菌产生多种脂肽化合物,是挖掘自然界潜在抗菌素的金矿,而其中多粘类芽孢杆菌是最具代表性的。目前,多粘类芽孢杆菌产生的多种脂肽化合物已作为农业和医学领域开发抗生素的先导化合物或生物源^[61]。多粘类芽孢杆菌中对真菌和细菌具有拮抗作用的杀镰孢菌素、多粘菌素、十三肽素和类脂七肽素,是通过非核糖体肽合成酶 (NRPSs) 复合物合成的,可利用生物信息学对其基因组上非核糖体肽合成酶的生物合成基因簇进行分析,揭示和预测其脂肽化合物的产物^[42],尤其是 MALDI-TOF-MS 检测技术的发展,为迅速揭示(或鉴定)脂肽化合物变体提供了强大的工具^[62]。本文中列出了已知的脂肽化合物的质谱检测结果以及作者积累的部分研究结果,为新的未知株系产生的脂肽化合物的检测提供了有用信息。

然而,分析多粘类芽孢杆菌脂肽化合物拮抗机制还面临着许多问题。多粘类芽孢杆菌株系

ShX301 对大丽轮枝菌的抑制活性最高,拮抗效果主要与杀镰孢菌素活性有关^[14],但杀镰孢菌素化合物具有多个变体,究竟是哪些变体起主要作用尚不清楚。相似的研究也发现,非核糖体肽合成酶基因簇在不同的多粘类芽孢杆菌株系间几乎没有差异,都有产生杀镰孢菌素的潜力,但经过 MALDI-TOF-MS 技术检测发现,杀镰孢菌素化合物变体在不同株系间存在显著差异,其中一些变体因含量太低而检测不到^[6]。株系间产生脂肽化合物量的差异表现在对相同病原菌引起的病害抑制效果明显不同上,这也解释了为什么要针对不同病原菌筛选专化性生防株系的原因。另外,不同脂肽家族的化合物对同一微生物的作用存在明显差异,虽然通过人工合成的类似物可揭示其差异的机制,但尚未涉及许多化合物变体的研究。尤其是关于杀镰孢菌素对真菌的作用机制未见报道,其变体结构尚不清楚,新发现的类脂七肽素是否有生物活性也还不清楚。因此,本文就多粘类芽孢杆菌产生的脂肽化合物及其作用机制研究进展进行综述,旨在为进一步深入挖掘和利用脂肽化合物提供引导作用。

作者简介:



郭赛赛,女,2017 年在西北农林科技大学获学士学位,2017 年进入浙江大学攻读硕士研究生。主要开展蔬菜病害研究工作,涉及微生物拮抗化合物相关工作。



张敬泽,男,1988 年获得学士学位,1994 年获得硕士学位,2005 年获得博士学位,现为浙江大学农业与生物技术学院副教授。1988—1991 年在水市农业科学研究所从事植物病害研究,1994 年在浙江大学(原浙江农业大学)从事植物病理学研究至今。

主要从事植物病原真菌及其生物防治研究,涉及真菌分类、植物病原菌相关的超微结构、基因功能和生物信息学以及生防机制的研究。作为访问学者先后两次赴澳大利亚昆士兰大学国际农业研究中心、比利时鲁汶大学植物病理和植物保护实验室、意大利那不勒斯大学植物及植物病理学系及美国马萨诸塞州大学生物化学与分子生物学系进行合作研究。先后主持参加国家自然科学基金项目、国家

公益性行业(农业)科研专项、浙江省重点研发计划项目、浙江省自然科学基金项目、中奥和中意国际科技合作项目等多项科研项目, 获国家科学技术进步二等奖1项(第4), 省部级科技进步一等奖1项(第4)。现任《农药学报》编委。

参考文献 (References):

- [1] ALMONEAFY A A, KAKAR K U, NAWAZ Z, et al. Tomato plant growth promotion and antibacterial related-mechanisms of four rhizobacterial *Bacillus strains* against *Ralstonia solanacearum*[J]. *Symbiosis*, 2014, 63(2): 59-70.
- [2] ALETI G, SESSITSCH A, BRADER G. Genome mining: prediction of lipopeptides and polyketides from *Bacillus* and related firmicutes[J]. *Comput Struct Biotechnol J*, 2015, 13: 192-203.
- [3] COCHRANE S A, FINDLAY B, BAKHTIARY A, et al. Antimicrobial lipopeptide tridecaptin A1 selectively binds to Gram-negative lipid II[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113(41): 11561-11566.
- [4] ZHAO X, KUIPERS O P. Identification and classification of known and putative antimicrobial compounds produced by a wide variety of *Bacillales* species[J]. *BMC Genom*, 2016, 17: 882.
- [5] ZHANG F, LI X L, ZHU S J, et al. Biocontrol potential of *Paenibacillus polymyxa* against *Verticillium dahliae* infecting cotton plants[J]. *Biol Control*, 2018, 127: 70-77.
- [6] LIU W C, WU X L, BAI X L, et al. Fusaricidins in *Paenibacillus polymyxa* A21 and their antagonistic activity against *Botrytis cinerea* on tomato[J]. *Front Agr Sci Eng*, 2018, 5(2): 262-270.
- [7] SAJITHA K L, DEV S A, MARIA FLORENCE E J. Identification and characterization of lipopeptides from *Bacillus subtilis* B1 against sapstain fungus of rubberwood through MALDI-TOF-MS and RT-PCR[J]. *Curr Microbiol*, 2016, 73(1): 46-53.
- [8] ASH C, PRIEST F G, COLLINS M D. Molecular identification of rRNA group 3 bacilli (ash, farrow, wallbanks and collins) using a PCR probe test[J]. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 1993, 64(3-4): 253-260.
- [9] TIMMUSK S, WEST P V, GOW N A R, et al. *Paenibacillus polymyxa* antagonizes oomycete plant pathogens *Phytophthora palmivora* and *Pythium aphanidermatum*[J]. *J Appl Microbiol*, 2009, 106(5): 1473-1481.
- [10] WESELOWSKI B, NATHOO N, EASTMAN A W, et al. Isolation, identification and characterization of *Paenibacillus polymyxa* CR1 with potentials for biopesticide, biofertilization, biomass degradation and biofuel production[J]. *BMC Microbiol*, 2016, 16: 244.
- [11] MAGESHWARAN V, WALIA S, GOVINDASAMY V, et al. Antibacterial activity of metabolite produced by *Paenibacillus polymyxa* strain HKA-15 against *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli*[J]. *Indian J Exp Biol*, 2011, 49(3): 229-233.
- [12] KHAN Z, KIM S G, JEON Y H, et al. A plant growth promoting rhizobacterium, *Paenibacillus polymyxa* strain GBR-1, suppresses root-knot nematode[J]. *Bioresour Technol*, 2008, 99(8): 3016-3023.
- [13] RAZA W, YANG X M, WU H S, et al. Isolation and characterisation of fusaricidin-type compound-producing strain of *Paenibacillus polymyxa* SQR-21 active against *Fusarium oxysporum* f. sp. *neuvium*[J]. *Eur J Plant Pathol*, 2009, 125(3): 471-483.
- [14] 刘晶晶, 庞叶洲, 张敬泽. 茄子黄萎病原菌致病型分化及其生物防治[J]. *浙江大学学报(农业与生命科学版)*, 2019, 45(4): 407-417.
- [15] LIU J J, PANG Y Z, ZHANG J Z. Pathogenic differentiation and biological control of *Verticillium* wilt of eggplant[J]. *J Zhejiang Univ (Agric & Life Sci)*, 2019, 45(4): 407-417.
- [16] MAGESHWARAN V, WALIA S, ANNAPURNA K. Isolation and partial characterization of antibacterial lipopeptide produced by *Paenibacillus polymyxa* HKA-15 against phytopathogen *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* M-5[J]. *World J Microbiol Biotechnol*, 2012, 28(3): 909-917.
- [17] KABALUK T, GAZDIK K. Directory of microbial pesticides for agricultural crops in OECD countries[J]. *Agriculture and Agri-Food*, 2007.
- [18] PICHARD B, LARUE J, THOUVENOT D. Gavaserin and saltavalin, new peptide antibiotics produced by *Bacillus polymyxa*[J]. *FEMS Microbiol Lett*, 1995, 133(3): 215-218.
- [19] LAL S, TABACCHIONI S. Ecology and biotechnological potential of *Paenibacillus polymyxa*: a minireview[J]. *Indian J Microbiol*, 2009, 49(1): 2-10.
- [20] DENG Y, LU Z X, LU F X, et al. Identification of LI-F type antibiotics and di-*n*-butyl phthalate produced by *Paenibacillus polymyxa*[J]. *J Microbiol Meth*, 2011, 85(3): 175-182.
- [21] RYBAKOVA D, RACK-WETZLINGER U, CERNAVA T, et al. Aerial warfare: a volatile dialogue between the plant pathogen *Verticillium longisporum* and its antagonist *Paenibacillus polymyxa*[J]. *Front Plant Sci*, 2017, 8: 1294.
- [22] VATER J, NIU B, DIETEL K, et al. Characterization of novel fusaricidins produced by *Paenibacillus polymyxa*-M1 using MALDI-TOF mass spectrometry[J]. *J Am Soc Mass Spectrom*, 2015, 26(9): 1548-1558.
- [23] RAZA W, SHEN Y R. *Paenibacillus polymyxa*: antibiotics, hydrolytic enzymes and hazard assessment[J]. *J Plant Pathol*, 2008, 90(3): 419-430.
- [24] HAN J W, KIM E Y, LEE J M, et al. Site-directed modification of the adenylation domain of the fusaricidin nonribosomal peptide synthetase for enhanced production of fusaricidin analogs[J]. *Biotechnol Lett*, 2012, 34(7): 1327-1334.
- [25] KURUSU K, OHBA K, ARAI T, et al. New peptide antibiotics LI-F03, F04, F05, F07, and F08, produced by *Bacillus polymyxa*. I. Isolation and characterization[J]. *J Antibiot*, 1987, 40(11): 1506-1514.
- [26] KAJIMURA Y, KANEDA M. Fusaricidin A, a new depsipeptide antibiotic produced by *Bacillus polymyxa* KT-8 taxonomy, fermentation, isolation, structure elucidation and biological activity[J]. *J Antibiot*, 1996, 49(2): 129-135.
- [27] KAJIMURA Y, KANEDA M. Fusaricidins B, C and D, new depsipeptide antibiotics produced by *Bacillus polymyxa* KT-8: isolation, structure elucidation and biological activity[J]. *J Antibiot*, 1997, 50(3): 220-228.
- [28] KURODA J, FUKAI T, KONISHI M, et al. LI-F antibiotics, a family of antifungal cyclic depsipeptides produced by *Bacillus polymyxa* L-1129[J]. *Heterocycles*, 2000, 53(7): 1533-1549.
- [29] KURODA J, FUKAI T, NOMURA T. Collision-induced dissociation of ring-opened cyclic depsipeptides with a guanidino group by electrospray ionization/ion trap mass spectrometry[J]. *J Mass Spectrom*, 2001, 36(1): 30-37.
- [30] TAMBADOU F, CARADEC T, GAGEZ A L, et al. Characterization of the colistin (polymyxin E1 and E2) biosynthetic gene cluster[J]. *Arch Microbiol*, 2015, 197(4): 521-532.
- [31] ORWA J A, GOVAERTS C, GEVERS K, et al. Study of the stability

- of polymyxins B1, E1 and E2 in aqueous solution using liquid chromatography and mass spectrometry[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2002, 29(1-2): 203-212.
- [31] KLINE T, HOLUB D, THERRIEN J, et al. Synthesis and characterization of the colistin peptide polymyxin E1 and related antimicrobial peptides[J]. *J Pept Res*, 2001, 57(3): 175-187.
 - [32] SHOJI J, KATO T, HINOO H. The structure of polymyxin T1. Studies on antibiotics from the genus *Bacillus* XXII[J]. *J Antibiot*, 1977, 30(12): 1042-1048.
 - [33] AINSWORTH G C, BROWN A M, BROWNLEE G. 'Aerosporin', an antibiotic produced by *Bacillus aerosporus* Greer[J]. *Nature*, 1947, 160(4060): 263-263.
 - [34] STANSLY P, SCHLOSSER M E. Studies on polymyxin: an agar diffusion method of assay[J]. *J Bacteriol*, 1947, 54(5): 585-597.
 - [35] SHAHEEN M, LI J, ROSS A, et al. *Paenibacillus polymyxa* PKB1 produces variants of polymyxin B-type antibiotics[J]. *Chem Biol*, 2011, 18(12): 1640-1648.
 - [36] RABANAL F, CAJAL Y. Recent advances and perspectives in the design and development of polymyxins[J]. *Nat Prod Rep*, 2017, 34: 886-908.
 - [37] MARTIN N I, HU H, MOAKE M M, et al. Isolation, structural characterization, and properties of mattacin(polymyxin M), a cyclic peptide antibiotic produced by *Paenibacillus kobensis* M[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(15): 13124-13132.
 - [38] PARKER W L, RATHNUM M L, DEAN L D, et al. Polymyxin F, a new peptide antibiotic[J]. *J Antibiot*, 1977, 30(9): 767-769.
 - [39] KATO T, HINOO H, SHOJI J. The structure of tridecaptin A. Studies on antibiotics from the genus *Bacillus* XXIVb[J]. *J Antibiot*, 1978, 31(7): 652-661.
 - [40] SHOJI J, HINOO H, SAKAZAKI R, et al. Isolation of tridecaptins A, B and C. Studies on antibiotics from the genus *Bacillus* XXIIIb[J]. *J Antibiot*, 1978, 31(7): 646-651.
 - [41] COCHRANE S A, LOHANS C T, VAN BELKU M M J, et al. Studies on tridecaptin B1, a lipopeptide with activity against multidrug resistant Gram-negative bacteria[J]. *Org Biomol Chem*, 2015, 13(21): 6073-6081.
 - [42] VATER J, HERFORT S, DOELLINGER J, et al. Genome mining of the lipopeptide biosynthesis of *Paenibacillus polymyxa* E681 in combination with mass spectrometry: discovery of the lipopeptide paenilipoheptin[J]. *ChemBioChem*, 2018, 19: 744-753.
 - [43] LOHANS C T, HUANG Z, VAN BELKUM M J, et al. Structural characterization of the highly cyclized lantibiotic paenicidin A via a partial desulfurization/reduction strategy[J]. *J Am Chem Soc*, 2012, 134(48): 19540-19543.
 - [44] SHOJI J, KATO T, TERABE S, et al. Resolution of peptide antibiotics, cerexins and tridecaptins, by high performance liquid chromatography[J]. *J Antibiot*, 1979, 32(4): 313-319.
 - [45] COCHRANE S A, FINDLAY B, VEDERAS J C, et al. Key residues in octyl-tridecaptin A1 analogues linked to stable secondary structures in the membrane[J]. *ChemBioChem*, 2014, 15(9): 1295-1299.
 - [46] COCHRANE S A, LOHANS C T, BRANDELLI J R, et al. Synthesis and structure-activity relationship studies of N-terminal analogues of the antimicrobial peptide tridecaptin A1[J]. *J Med Chem*, 2014, 57(3): 1127-1131.
 - [47] BALLANTINE R D, LI Y X, QIAN P Y, et al. Rational design of new cyclic analogues of the antimicrobial lipopeptide tridecaptin A1[J]. *Chem Commun*, 2018, 54(75): 10634-10637.
 - [48] JANGRA M, KAUR M, TAMBAT R, et al. Tridecaptin M, a new variant discovered in mud bacterium shows activity against colistin- and extremely drug-resistant Enterobacteriaceae[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2019, 63(6): e00338-19.
 - [49] NAKAJIMA N, CHIHARA S, KOYAMA Y. A new antibiotic, gatavalin[J]. *J Antibiot*, 1972, 25(4): 243-247.
 - [50] ITO M, KOYAMA Y. Jokipeptin, a new peptide antibiotic. I. Isolation, physico-chemical and biological characteristics[J]. *J Antibiot*, 1972, 25(5): 304-308.
 - [51] PIURI M, SANCHEZ-RIVAS C, RUZAL S M. A novel antimicrobial activity of *Paenibacillus polymyxa* strain isolated from regional fermented sausages[J]. *Lett Appl Microbiol*, 1998, 27(1): 9-13.
 - [52] BIONDA N, STAWIKOWSKI M, STAWIKOWSKA R, et al. Effects of cyclic lipodepsipeptide structural modulation on stability, antibacterial activity, and human cell toxicity[J]. *ChemMedChem*, 2012, 7(5): 871-882.
 - [53] BIONDA N, FLEEMAN R M, DE LA FUENTE-NÚÑEZ C, et al. Identification of novel cyclic lipopeptides from a positional scanning combinatorial library with enhanced antibacterial and antibiofilm activities[J]. *Eur J Med Chem*, 2016, 108: 354-363.
 - [54] LEE S H, CHO Y E, PARK S H, et al. An antibiotic fusaricidin: a cyclic depsipeptide from *Paenibacillus polymyxa* E681 induces systemic resistance against *Phytophthora* blight of red-pepper[J]. *Phytoparasitica*, 2013, 41(1): 49-58.
 - [55] VELKOV T, THOMPSON P E, NATION R L, et al. Structure-activity relationships of polymyxin antibiotics[J]. *J Med Chem*, 2010, 53(5): 1898-1916.
 - [56] NIU B, VATER J, RUECKERT C, et al. Polymyxin P is the active principle in suppressing phytopathogenic *Erwinia* spp. by the biocontrol rhizobacterium *Paenibacillus polymyxa* M-1[J]. *BMC Microbiol*, 2013, 13(1): 137.
 - [57] SHOJI J, KATO T, HINOO I. The structure of polymyxin S1. Studies on antibiotics from the genus *Bacillus* XXI[J]. *J Antibiot*, 1977, 30(12): 1035-1041.
 - [58] LOHANS C T, VAN BELKUM M J, COCHRANE S A, et al. Biochemical, structural, and genetic characterization of tridecaptin A1, an antagonist of *Campylobacter jejuni*[J]. *ChemBioChem*, 2014, 15(2): 243-249.
 - [59] LI Y X, ZHONG Z, HOU P, et al. Resistance to nonribosomal peptide antibiotics mediated by d-stereospecific peptidases[J]. *Nat Chem Biol*, 2018, 14(4): 381-387.
 - [60] COCHRANE S A, VEDERAS J C. Unacylated tridecaptin A1 acts as an effective sensitiser of Gram-negative bacteria to other antibiotics[J]. *Int J Antimicrob Agents*, 2014, 44(6): 493-499.
 - [61] COCHRANE S A, VEDERAS J C. Lipopeptides from *Bacillus* and *Paenibacillus* spp.: A gold mine of antibiotic candidates[J]. *Med Res Rev*, 2016, 36(1): 4-31.
 - [62] DEBOIS D, ONGENA M, CAWOY H, et al. MALDI-FTICR MS imaging as a powerful tool to identify *Paenibacillus* antibiotics involved in the inhibition of plant pathogens[J]. *J Am Soc Mass Spectrom*, 2013, 24(8): 1202-1213.

(责任编辑: 曲来娥)