دانشگاه شهید چمران اهواز

دانشکده علوم

۹۱۳٤۲٤۲

پایان نامه کارشناسی ارشد زیست شناسی

گرایش میکروبیولوژی

عنوان :

جداسازی و شناسایی اکتینومایست‌های تولیدکننده آنتی‌بیوتیک از نواحی شمالی خلیج‌فارس

اساتید راهنما:

دکتر محمد رعایایی اردکانی **دکتر**غلامرضا زرینی

نگارنده :

سعیده فتاح‌زاده

مهر ماه ۱۳۹۱

اگر سزاوارتقدیم باشد

تقدیم مے کنم به :

او که مرا آفرید

وبهترین هاے زندگے ام

پدر عزیز و مادر مهربانم

در برابر وجود گرامیشان زانوے ادب بر زمین مے نهم و با دلے سرشار از عشق

و محبت بر دستانشان بوسه مے زنم.

سپاس و ستایش خداوند را سزاست که کسوت هستی را بر اندام موزون آفرینش بپوشانید وتجلیات قدرت لایتناهی را در مظاهر و آثار طبیعت نمایان گردانید. بار الها! من با یاد تو ، به تو تقرّب مرجویم و تو را به پیشگاه تو شفیع مرآورم و از تو خواستارم، به کرمت، مرا به خودت نزدیک گردانی و یاد خود را به من الهام کنی و بر من رحمت آوری و به آنچه بهره و نصیب من ساخته‌ای خشنودم قرار دهی و در همه حال به فروتنی‌ام وا داری.

بسی شایسته است از اساتید فرهیخته و فرزانه جناب آقای دکتر محمد رعایی اردکانی و جناب آقای دکتر غلامرضا زرینی که با کرامت چون خورشید، سرزمین دل را روشنی بخشیدند و گلشن سرای علم و دانش را با راهنمایی های کارساز و سازنده بارور ساختند. تقدیر و تشکر نمایم.

همچنین از استاد بزرگوار جناب آقای دکتر جاوید شهبازی، استادیار محترم گروه داروسازی، که در این مسیر با راهنمایی های دلسوزانه خود مرا مورد لطف خود قرار دادند کمال تشکر و قدردانی نمایم.

از اساتید محترم جناب آقای دکتر مسعود قربانزاده و سرکار خانم دکتر سیده الهام رضاتوفیق که داوری این پایان‌نامه را پذیرا شدند صمیمانه سپاسگذارم.

از سرکار خانم فاطمه خدایی مسئول محترم آزمایشگاه که در تامین وسایل مورد نیاز و همچنین پیشبرد پایان‌نامه همکاری داشتند نیز قدردانی مینمایم .

زبانم ناتوان است برای سپاسگذاری از دوستان عزیزی که مهربانی، همدلی و همراهی‌شان یاریگر من در تحمل دشواری‌ها و روشنی‌بخش ثانیه‌های تاریک ناامیدی بود.

میخواهم انسانی دیگرگونه باشم
من خواهم از درختها ایستادگی بیاموزم
من خواهم چونان مورچه ای باشم پرتلاشتر از آنکه
هرا سرداشته باشم از باران
من خواهم با گندمزار برقصم
با قاصدک ها پرواز کنم
با جیرجیرک ها آواز بخوانم
من خواهم بیکرانه باشم چون دریا
بی نشانه باشم چون باد
از چشمانم رودخانه ای جاری کنم برای چمنزار
تبر را کنار بگذارم
کمانم را بشکنم
آهو را رها کنم برای پلنگ
خرگوش را برای عقاب
پرنده ای باشم و پرواز کنم در برابر باد
...
باید انسانی دیگرگونه باشم

سعیده فتاح زاده

مهر ماه ۱۳۹۱

نام خانوادگی: فتاح‌زاده	**نام** : سعیده	**شماره دانشجویی**: ۸۸۳٤۲۰٤
عنوان پایان‌نامه: جداسازی و شناسازی اکتینومایست‌های تولیدکننده آنتی‌بیوتیک از مناطق شمالی خلیج فارس		
اساتید راهنما: دکتر محمد رعایایی اردکانی و دکتر غلامرضا زرینی		
درجه تحصیلی: کارشناسی‌ارشد	**رشته تحصیلی**: زیست شناسی	**گرایش**: میکروبیولوژی
محل تحصیل (دانشگاه): شهید چمران اهواز	**دانشکده**:علوم	**گروه**: زیست‌شناسی
تاریخ فارغ‌التحصیلی: ۱۳۹۱/۷/۲۳		**تعداد صفحات**: ۱۰۲
کلید واژه: اکتینومایست‌های دریایی، خلیج‌فارس، آنتی‌بیوتیک		

چکیده

کنترل میکروارگانیسم‌های ناخواسته در تمام زمینه‌ها ضروری است. با توجه به هزینه بالای تولید آنتی‌بیوتیک‌های سنتزی و نیز عوارض شدید برخی از این داروها، محصولات طبیعی همچنان به عنوان منابع مناسب آنتی‌بیوتیک‌ها باقی مانده‌اند. اخیراً میزان کشف ترکیبات جدید از میکروارگانیسم‌های موجود از منابع خاکی کاهش و میزان جداسازی مجدد ترکیبات شناخته شده افزایش پیدا کرده است. بنابراین یافتن گروه-های میکروبی جدید از مناطق کشف نشده به منظور یافتن منابع آنتی‌بیوتیک‌های جدید و دیگر عوامل درمانی، حیاتی به نظر می‌رسد. محیط-های آبی و میکروارگانیسم‌های آن شاید منابع جدید چنین ترکیباتی باشند. در میان میکروارگانیسم‌های آبی اکتینومایست‌ها به واسطه تنوع و توانایی تولید ترکیبات جدید در موقعیت برجسته‌ای قرار گرفته‌اند. اکتینوباکترها یک گروه متنوع مورفورلوژیکی و فیزیولوژیکی هستند، آن‌ها باکتری‌های گرم مثبت بوده، DNA با محتوای G+C بالا (>55 mol%) داشته و بر اساس ترکیب شیمیایی، تشابه در توالی 16S rRNA و DNA-DNA reassociation به گروه‌های مختلف تقسیم شده‌اند. این باکتری‌ها پروکاریوت‌های ارزشمندی از نظر بیوتکنولوژیکی و اقتصادی هستند. آن‌ها منابع مهم و قوی برای ترکیبات بیواکتیو جدید و متابولیت‌های ثانویه محسوب می‌شوند. به علت تولید فراوان اسپورهایی که به آسانی پخش می‌شوند، این باکتری‌های رشته‌ای به خوبی با محیط‌های دریا تطبیق یافته‌اند و قادر به تجزیه پلیمرهای بیولوژیکی هستند. آن‌ها درحدود ۱۰٪ توده‌های باکتریایی دریا را شامل می‌شوند و از منابع مختلف دریایی قابل جداسازی هستند.

هدف از این پژوهش، یافتن اکتینومایست‌های دریایی تولیدکننده آنتی‌بیوتیک به منظور کشف آنتی‌بیوتیک‌های جدید و موثر در برابر پاتوژن‌ها از برخی مناطق شمالی خلیج‌فارس بود. در این تحقیق از اسفند ۸۹ تا مرداد ۹۰ از آب، رسوب و اسفنج خلیج فارس نمونه‌برداری شد. اثر ضدمیکروبی اکتینومایست‌های جدا شده علیه برخی باکتری‌های بیماریزا به روش چاهک‌گذاری در آگار و کشت دو لایه انجام شد. به طور کلی ۱۷ جدایه اکتیومایست در این تحقیق به دست آمد که همگی از نمونه‌های رسوبی جدا شده بودند. ۵ مورد از آنها توانایی تولید ترکیبات ضدمیکروبی از خود نشان دادند. ۳ مورد علیه باکتری‌های گرم مثبت موثر بودند و ۲ مورد هم دارای فعالیت آنتاگونیستی علیه قارچ و مخمر بودند و فعالیت ضدباکتریایی از خود نشان ندادند، هیچ کدام از سویه‌های تولیدکننده علیه باکتری‌های گرم‌منفی تاثیری نداشتند. از بین اکتینومایست‌های تولیدکننده، در این تحقیق سویه A-1 به علت فعالیت ضدقارچی انتخابی و زمان مناسب تولید ترکیب ضدمیکروبی به عنوان سویه برتر انتخاب و آزمایشات بیشتر روی این سویه انجام شد. مقادیر حداقل غلظت مهاری و حداقل غلظت قارچ‌کشی برای این سویه تعیین شد. مقادیر MIC وMFC برابر و معادل ٤ µg/µl بود. همچنین مهمترین فاکتورهای موثر در تخمیر برای تولید ترکیب ضدمیکروبی بهینه شد. برای تخلیص اولیه ترکیب ضدمیکروبی از کروماتوگرافی لایه نازک استفاده شد. از کروماتوگرافی عصاره اتیل‌استاتی ٦ باند به دست آمد که همه دارای فعالیت ضدقارچی با هاله‌های متفاوت بودند. مقایسه اثر ضدمیکروبی با آنتی‌بیوتیک نیستاتین نشان داد که می‌توان از آن برای درمان استفاده کرد. شناسایی پنج سویه مولد ترکیب ضدمیکروبی بر اساس توالی سکانس 16S rRNA تایید شد.

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول: مقدمه

۱-۱ مقدمه ۲

۱-۲ اهداف ۸

فصل دوم: کلیات و مروری بر منابع

۲-۱ اکتینومایست‌ها ۱۰

۲-۲ خصوصیات مورفولوژیکی و چرخه سلولی ۱۱

۲-۲-۱ مدل پیشرفته جدید در تمایز *استرپتومایسس* ۱۵

۲-۲-۲ پروتئین‌های دخیل در تشکیل هیف‌های هوایی ۱۶

۲-۲-۳ نقش sapB در موفوژنز هوایی ۱۷

۲-۲-٤ شکل‌گیری "لایه رودلت" در سطح هیف‌های هوایی ۱۸

۲-۳ تاگزونومی اکتینومایست‌ها ۲۲

۲-۳-۱ زیر راسته *Actinomycinea* ۲٤

۲-۳-۲ زیر راسته *Corynebacterineae* ۲٤

۲-۳-۳ زیر راسته *Micromonosporineae* ۲۵

۲-۳-٤ زیر راسته *Streptomycineae* ۲٦

۲-٤ اکولوژی اکتینومایست‌ها ۲۹

۲-٤-۱ خاک ۲۹

۲-٤-۲ ریزوسفر ۲۹

۲-٤-۳ کامپوست و علف‌های کپک‌زده ۳۰

۲-٤-٤ محیط‌های آبی ۳۰

۲-٤-۵ سایر زیستگاه‌ها ۳۱

۲-۵ تولید متابولیت توسط اکتینومایست‌ها ۳۱
۲-۵-۱ ترپن‌ها و ترپنوئیدها ۳۲
۲-۵-۲ پلی‌کتیدها ۳۳
۲-۵-۳ پپتیدها ۳٤
۲-۵-٤ کاپرولاکتون‌ها ۳۵
۲-۵-۵ بوتنولیدها ۳۵
۲-۵-٦ گزانتون‌های پلی‌سیکلیک ۳٦
۲-۵-۷ پیرسیدین‌ها ۳٦
۲-۵-۸ کوئینون‌ها ۳٦
۲-۵-۹ ماکرولیدها ۳۷
۲-۵-۱۰ آلکالوئیدها ۳۷
۲-۵-۱۱ استرازها ۳۸
۲-۵-۱۲ چینیکومایسین ۳۸
۲-۵-۱۳ تری اکسیاکارسین‌ها ۳۸
۲-۵-۱٤ لاکتام‌ها ۳۹
۲-۵-۱۵ تری آزولوپیریمیدین ۳۹
۲-۵-۱٦ آنزیم‌ها ۳۹
۲-۵-۱۷ مهارکننده‌های آنزیم ٤۰
۲-۵-۱۸ مشتقات مانومایسین ٤۰
۲-۵-۱۹ فلاونوئیدها ٤۰
۲-٦ اهمیت بیوتکنولوژیکی اکتینومایست‌های دریایی ٤۱
۲-٦-۱ پروتئین سلول منفرد ٤۱
۲-٦-۲ پروبیوتیک‌ها ٤۱
۲-٦-۳ آنزیم‌ها ٤۲

۲-٦-٤ مهارکننده‌های آنزیم ٤٢
۲-۷ محیط دریا به عنوان منابع غنی ترکیبات بیواکتیو ٤٢
۲-۸ میکروبیولوژی دریا ٤٣
۲-۸-۱ باکتری‌های دریا ٤٤
۲-۸-۲ قارچ‌های دریایی ٤٦
۲-۹ تقسیم‌بندی محیط دریا ٤٦
۲-۱۰ خلیج فارس ٤٨
۲-۱۳ تاریخچه کشف آنتی‌بیوتیک از دریا به ویژه از اکتینومایست‌های دریایی ٤٩

فصل سوم: مواد و روش‌ها

۳-۱ مواد و وسایل مورد نیاز ٥٢
۳-۱-۱ مواد مورد استفاده ٥٢
۳-۲ روش کار ٥٥
۳-۲-۱ نمونه برداری ٥٥
۳-۳ جداسازی ٥٦
۳-۳-۱ جداسازی اکتینومایست‌ها از نمونه‌های آب و رسوب ٥٦
۳-۳-۲ جداسازی اکتینومایست‌ها از نمونه‌های اسفنج ٥٦
۳-۳-٤ خالص‌سازی باکتری‌ها ٥٦
۳-٤ سنجش اثر ضدمیکروبی اکتینومایست‌های جدا شده ٥٧
۳-٤-۱ بررسی اولیه اثر ضدمیکروبی در محیط مایع به روش چاهک‌گذاری در آگار ٥٧
۳-٤-۲ بررسی اثر ضدمیکروبی در محیط جامد ٥٧
۳-٥ انتخاب سویه برتر ٥٨
۳-٦ تهیه عصاره باکتری جهت سنجش اثر ضدمیکروبی ٥٨
۳-۷ تعیین حداقل غلظت مهاری و حداقل غلظت قارچ‌کشی ٥٩
۳-۸ بهینه‌سازی تولید ترکیب ضدمیکروبی توسط سویه توانای جدا شده از دریا ٥٩

۳-۸-۱ بهینه‌سازی منبع کربن ۶۰
۳-۸-۲ بهینه‌سازی منبع نیتروژن ۶۰
۳-۸-۳ بهینه‌سازی pH اولیه محیط تولید ۶۰
۳-۸-٤ بهینه‌سازی مدت زمان گرماگذاری ۶۰
۳-۸-۵ بهینه‌سازی شوری ۶۱
۳-۹ شناسایی اولیه ترکیب ترکیب ضدمیکروبی تولید شده ۶۱
۳-۹-۱ سونیکاسیون محیط تولید به منظور افزایش دسترسی به ترکیب ضدمیکروبی و تعیین محل تجمع آن ۶۱
۳-۹-۲ تیمار دمایی ترکیب ضدمیکروبی ۶۱
۳-۹-۳ تیمار آنزیمی ترکیب ضدمیکروبی ۶۱
۳-۹-٤ شناسایی اولیه اجزای موثر عصاره با کروماتوگرافی لایه نازک ۶۲
۳-۱۰ شناسایی اکتینومایست‌های مولدترکیب ضدمیکروبی جداسازی شده از دریا ۶۲
۳-۱۰-۱ بررسی مورفولوژیکی ۶۳
۳-۱۰-۲ آزمون‌های تشخیصی بیوشیمیایی ۶۳
۳-۱۱ نگهداری اکتینومایست‌ها ۶۶
۳-۱۲ شناسایی مولکولی سویه‌های مولد ترکیب ضدمیکروبی بر اساس توالی 16S rRNA ۶۷
۳-۱۲-۱ تخلیص ژنوم ۶۷
۳-۱۲-۲ بررسی کیفیت ژنوم استخراج شده ۶۷
۳-۱۲-۳ انتخاب پرایمرها ۶۷
۳-۱۲-٤ واکنش زنجیرهای پلیمراز ۶۸
۳-۱۲-۵ ترکیبات مخلوط واکنش زنجیرهای پلیمراز ۶۸
۳-۱۲-۶ ارزیابی محصول زنجیره واکنش پلیمراز ۶۹

فصل چهارم: نتایج

٤-۱ جداسازی اکتینومایست‌های مولد ترکیب ضدمیکروبی از آب، رسوب و اسفنج ۷۲
٤-۲ طیف اثر سویه‌های مولد ترکیب ضدمیکروبی علیه باکتری‌های آزمایشگاهی ۷۲

٤-٣ طیف اثر سویه‌های مولد ترکیب ضدمیکروبی علیه سویه‌های بیمارستانی ٧٤
٤-٤ مقایسه میزان مهارکنندگی با آنتی‌بیوتیک‌های سنتزی ٧٤
٤-٥ نتایج MIC و MFC سویه A-1 ..... ٧٥
٤-٦ نتایج بهینه‌سازی فاکتورهای موثر بر تولید ترکیب ضدمیکروبی ٧٥
٤-٦-١ تاثیر منبع کربن بر تولید ترکیب ضدمیکروبی ٧٥
٤-٦-٢ تاثیر منبع نیتروژن بر تولید ترکیب ضدمیکروبی ٧٦
٤-٦-٣ تاثیر pH اولیه بر تولید ترکیب ضدمیکروبی ٧٧
٤-٦-٣ بهینه‌سازی مدت زمان گرماگذاری ٧٨
٤-٦-٤ بهینه‌سازی درجه شوری ٧٨
٤-٧ شناسایی اولیه ترکیب ضدمیکروبی تولید شده توسط A-1 ..... ٧٩
٤-٧-١ تعیین محل تجمع ترکیب ضدمیکروبی در درون یا برون سلول ٧٩
٤-٧-٢ تعیین مقاومت دمایی ترکیب ضدمیکروبی ٧٩
٤-٧-٣ تیمار آنزیمی ترکیب ضدمیکروبی ٨٠
٤-٧-٤ شناسایی اولیه اجزاء موثر عصاره ضدمیکروبی ٨٠
٤-٨ شناسایی اکتینومایست‌های تولیدکننده ترکیب ضدمیکروبی ٨١
٤-٨-١ شناسایی بر اساس خصوصیات مورفولوژیکی و تست‌های تشخیص بیوشیمیایی ٨١
٤-٨-٢ شناسایی مولکولی بر اساس توالی 16S rRNA ٨٤

فصل پنجم: بحث

٥-١ جداسازی اکتینومایست‌ها از نمونه‌های دریایی ٨٧
٥-٢ بررسی و تحلیل ترکیبات ضدمیکروبی تولیدی توسط سویه‌های تولیدکننده ٨٩
٥-٣ تفسیر MIC و MFC ٩٠
٥-٤ تحلیل بهینه‌سازی فاکتورهای موثر در تولید ترکیب ضدمیکروبی توسط سویه A-1 ..... ٩٠
٥-٥ شناسایی و تخلیص اولیه ترکیب ضدمیکروبی تولیدی توسط سویه A-1 ..... ٩٢
٥-٦ شناسایی سویه‌های تولیدکننده آنتی‌بیوتیک ٩٣

فهرست نمودارها

نمودار ٤- ١ بهینه‌سازی منبع کربن ٧٦
نمودار ٤- ٢ بهینه‌سازی منبع نیتروژن ٧٧
نمودار ٤- ٣ بهینه‌سازی pH اولیه ٧٧
نمودار ٤- ٤ بهینه‌سازی مدت زمان گرماگذاری ٧٨
نمودار ٤- ٥ بهینه‌سازی درجه شوری ٧٩
نمودار ٤- ٦ مقاومت دمایی ترکیب ضدمیکروبی ٨٠

فهرست جداول

عنوان **صفحه**

جدول ۲- ۱ انواع دیواره سلولی در اکتینومایست‌ها ۲۲
جدول ۳- ۱ مواد مورد استفاده و شرکت سازنده آن‌ها ۵۲
جدول ۳- ۲ وسایل مورد استفاده و شرکت سازنده آن‌ها ٥٤
جدول ۳- ۳ توالی پرایمرها ٦٨
جدول ۳- ٤ اجزا و مقادیر مطلوب در مخلوط واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ٦٨
جدول ۳- ٥ برنامه دمایی تنظیم شده برای واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ٦٩
جدول ٤- ۱ تعداد اکتینومایست‌های جدا شده از نمونه‌های مختلف دریایی ۷۲
جدول ٤- ۲ تعداد اکتینومایست‌های تولیدکننده ترکیب ضدمیکروبی از هر نمونه‌برداری و منشاء آن‌ها ۷۲
جدول ٤- ۳ طیف اثر سویه‌های مولد ترکیب ضدمیکروبی علیه باکتری‌های آزمایشگاهی ۷۳
جدول ٤- ٤ طیف اثر سویه‌های مولد ترکیب ضدمیکروبی علیه سویه‌های بیمارستانی ۷٤
جدول ٤- ٥ مقایسه میزان مهارکنندگی با آنتی‌بیوتیک‌های سنتزی ۷٤
جدول ٤- ٦ نتایج MIC و MFC سویه A-1 ..... ۷٥
جدول ٤- ۷ تیمار آنزیمی ترکیب ضدمیکروبی ۸۰
جدول ٤- ۸ نتایج مربوط به ضریب پس‌افتادگی و اثر ضدمیکروبی باندهای حاصل از TLC ۸۱
جدول ٤- ۹ خصوصیات بیوشیمیایی چهار جدایه اکتینومایست مولد ترکیب ضدمیکروبی ۸۳

فهرست تصاویر

عنوان **صفحه**

شکل ۲- ۱ جایگاه باکتری‌های با در صد بالای GC در بین فیلوژنی پرکاریوت‌ها ۱۱

شکل ۲- ۲ هیف‌های بستری و هوایی ۱۲

شکل ۲- ۳ دیواره‌های عرضی در هیف‌های بستری و هوایی در *S. coelicolor* ۱٤

شکل ۲- ٤ نمونه‌هایی از اشکال اسپوری در اکتینومایست‌ها با استفاده از میکروسکوپ الکترونی ۱۵

شکل ۲- ۵ تمایز استرپتومایسس‌ها در محیط جامد ۱٦

شکل ۲- ٦ تمایز استرپتومایسس‌ها در محیط مایع ۱٦

شکل ۲- ۷ مدلی از فعالیت پروتئین‌های دخیل در مورفوژنز هیف‌های هوایی در *S. coelicolor* ۱۷

شکل ۲- ۸ ساختار لایه رودلت در سطح زنجیره‌های اسپوری ۱۹

شکل ۲- ۹ مسیر وابسته و مستقل از SapB در تشکیل هیف‌های هوایی ۲۰

شکل ۲- ۱۰ طبقه بندی سلسله *Actinobacteria* ارتباط فیلوژنیک بین راسته، زیرراسته و خانواده بر اساس اطلاعات 16S rRNA ۲۳

شکل ۲- ۱۱ نوکاردیا، *Nocardia asteroids* میسلیوم‌های هوایی و بستری و کنیدیا ۲۵

شکل ۲- ۱۲ خانواده *Micromonosporaceae* ۲٦

شکل ۲- ۱۳ رشد استرپتومایسس. ۲۷

شکل ۲- ۱٤ بافت سطح زنجیره‌های اسپوری استرپتومایسس ۲۷

شکل ۲- ۱۵ تنوع اکتینومایست‌های مشتق از دریا ۳۱

شکل ۲- ۱٦ تقسیم بندی اقیانوس‌ها ٤۷

شکل ٤- ۱ فعالیت ضدقارچ سویه A-1 علیه *A. niger* ۷۳

شکل ٤- ۲ مقایسه اثر ضدمیکروبی سویه A-6 با آنتی‌بیوتیک‌های سنتزی ۷٤

شکل ٤- ۳ تصویر ماکروسکوپی و میکروسکوپی جدایه A-1 ..... ۸۱

شکل ٤- ٤ تصویر ماکروسکوپی و میکروسکوپی جدایه A-2 ..... ۸۲

شکل ٤- ٥ تصویر ماکروسکوپی و میکروسکوپی جدایه A-4 ..... ٨٢
شکل ٤- ٦ تصویر ماکروسکوپی و میکروسکوپی جدایه A-6 ..... ٨٢
شکل ٤- ٧ کیفیت ژنوم استخراج شده ٨٤
شکل ٤- ٨ الکتروفورز محصول PCR پنج جدایه A-1، A-2، A-4، A-6 وA-8 ..... ٨٥

فصل اول

مقدمه

۱-۱ مقدمه

کنترل میکروارگانیسم‌های ناخواسته در تمام زمینه‌ها ضروری است و بیماری‌های میکروبی در انسان، حیوان و گیاه باید درمان شود (۳۰). با توجه به هزینه بالای تولید آنتی‌بیوتیک‌های سنتزی و نیز عوارض شدید برخی از این داروها (۵)، محصولات طبیعی همچنان به عنوان منابع مناسب آنتی‌بیوتیک‌ها باقی مانده‌اند (۹ و۸۲) و تلاش برای جستجوی ترکیبات جدید دارای خاصیت ضد باکتریایی از منابع طبیعی بیشتر شده است. بر خلاف داروهای سنتزی، ترکیبات ضدمیکربی با منشاء طبیعی معمولا با اثرات جانبی همراه نیستند و پتانسیل بالایی در درمان بیماری‌های عفونی دارند (۵). مقالات زیادی اهمیت ترکیبات مشتق از منابع میکربی، گیاهی و جانوری را در درمان بیماری‌های انسانی شرح داده‌اند. بین سال‌های ۲۰۰۲-۱۹۸۱ در عرصه سرطان و بیماری‌های عفونی به ترتیب ٦۰ و ۷۰ درصد داروهای جدید، از منابع طبیعی منشاء گرفته‌اند. بین سال‌های ۲۰۰۵-۲۰۰۱، ۲۳ داروی جدید از محصولات طبیعی مشتق شد که برای درمان بیماری‌هایی چون عفونت‌های قارچی و باکتریایی، سرطان، دیابت، درماتیت اتوپیک، آلزایمر و اختلالات ژنتیکی مانند تایروزینما[1] وگوشر[2] به کار گرفته شدند (٤٤).

اخیراً میزان کشف ترکیبات جدید از میکروارگانیسم‌های موجود از منابع خاکی کاهش و میزان جداسازی مجدد ترکیبات شناخته شده افزایش پیدا کرده است (١٦و٤٧)، به طوری که ۹۵٪ ترکیبات کشف شده، شناخته شده هستند (۸۷). بنابراین خاک به عنوان منبع امیدبخشی برای جداسازی محصولات طبیعی محسوب نمی‌شود (۸۸). از طرفی افزایش در تعداد پاتوژن‌های مقاوم به دارو و موفقیت‌های کم در استراتژی‌هایی چون شیمی ترکیبی برای تهیه ترکیبات جدید، آینده مبهم آنتی‌بیوتیک درمانی را نشان می‌دهد. بنابراین یافتن گروه‌های میکروبی جدید از مناطق کشف نشده به منظور یافتن منابع آنتی‌بیوتیک‌های جدید و دیگر عوامل درمانی، حیاتی به نظر می‌رسد (٤٧ و۸۲) و یکی از اولویت‌ها در تحقیقات بیولوژی به حساب می‌آید (۸۲). از آنجایی که بیش از ۷۰٪ سطح زمین به وسیله دریاها پوشیده شده است (٤٧) و زندگی در زمین منشاء دریایی دارد (۳۲)، بنابراین محیط‌های آبی و میکروارگانیسم‌های آن شاید منابع جدید چنین ترکیباتی باشند (۳۰). با

[1] Tyrosinemia
[2] Gaucher

وجود تنوع شگفت‌آور زندگی در محیط‌های خاکی، تنوع زیستی بیشتری در دنیای دریاها مشاهده شده است (١٦ و٤٣). دریاها منبع منحصر به فردی هستند که انواع مختلفی از محصولات طبیعی را فراهم می‌کنند (١٨) و به عنوان منبع غنی ترکیبات دارای ساختارهای جدید و فعالیت‌های بیولوژی در نظر گرفته می‌شود (٦١). به دلیل تنوع فراوان بیولوژیکی در سراسر دریا، به طور فزاینده‌ای مشخص شده است که تعداد عظیمی از محصولات طبیعی و شیمیایی با فعالیت بیولوژیکی در دریاها وجود دارد که ممکن است برای یافتن داروها با اثر زیاد و ویژه برای درمان بسیاری از بیماری‌های انسان مفید واقع شوند (٣٢). بنابراین محیط‌های دریایی گنجینه محصولات مفید آماده کشف برای درمان بیماری‌های عفونی هستند (١٨). علاوه بر کاربرد دارویی، مولکول‌های فعال بیولوژیکی جدا شده از فلور و فون دریایی، دارای کاربردهایی در تهیه مواد غذایی، وسایل آرایشی، پراب‌های مولکولی، آنزیم‌ها و مواد شیمیایی خاص[1] هستند (٦١).

فشارهای اکولوژیکی شامل رقابت بر سر مکان و غذا، استقرار در سطوح، تولید مثل و تکثیر موفقیت‌آمیز، منجر به تکامل متابولیت‌های ثانویه منحصر به فرد با فعالیت‌های بیولوژیکی متنوع شده است. اهمیت این متابولیت‌های ثانویه در کنترل عفونت‌ها و ارگانیسم‌های پارازیت برای سالیان دراز از نظرها دور مانده بود. این در حالی است که تعداد معدودی از گیاهان، حیوانات و میکرب‌های دریایی بیش از ١٢٠٠٠ ترکیب شیمیایی جدید و صدها ترکیب منحصر به فردی را که هر ساله کشف می‌شوند، تولید می‌کنند. تلاش‌ها در کشف ترکیبات ذکر شده باعث بهره‌برداری از متابولیت‌های بیواکتیو متعدد شده که به طور موفقیت‌آمیزی در صنعت داروسازی توسعه پیدا کرده‌اند (١٨).

تعداد فراوانی متابولیت‌های منحصر به فرد با خواص سایتوتوکسیک و آنتی‌تومور (٢٥) از بی‌مهره‌گانی مثل اسفنج‌ها، tunicates، bryozoa، حلزون‌ها (٢٤) و هم‌چنین از باکتری‌های دریایی و سیانوباکترها منشاء گرفته است (١٨) و برای آزمایشات پری‌کلینیکال و فازهای کلینیکی I تا III معرفی شده‌اند (٢٥). بسیاری از آن‌ها به طور موفقیت‌آمیزی تا مراحل نهایی آزمایشات کلینیکی پیش رفته‌اند، که به عنوان نمونه می‌توان به dolastatin10، ecteinascidin74، kahalalide F

[1] Fine chemical

و aplidine اشاره کرد. آلکالوئید ecteinascidin 743 که از tunicate Ecteinascidi turbinate جدا شده، به عنوان یک عامل آنتی‌تومور جدید در نظر گرفته شده است. در پی تلاش‌های مداوم، بسیاری از عوامل آنتی‌بیوتیکی شناخته شده است (۱۸).

اسکوالامین[1] اولین آمینواسترول جدا شده از سگ‌ماهی است که دارای فعالیت آنتی‌میکربی علیه *S. aureus* و خواص ضدرگ‌زایی[2] و آنتی‌تومور می‌باشد (۱۸). با وجود این آن‌ها از نظر اقتصادی و بنا بر نیاز بیماران، نمی‌توانند آنتی‌بیوتیک تولید کنند، از طرفی توانایی بیوتکنولوژیکی داروهای تولیدی توسط بی‌مهره‌گان محدود است (۲۵) و عموماً برای مصارف پزشکی بسیار سمی هستند (۲٤). در مقایسه با بی‌مهره‌گان دریایی به نظر می‌رسد (۲۵) میکروارگانیسم‌های دریایی منابع امیدبخش ترکیبات فعال بیولوژیکی هستند (۲۵و۲۹). تقریباً ۳۲۵۰۰ محصول طبیعی از منابع میکربی گزارش شده است که حدود ۱۰۰۰ مورد از آنها از میکرب‌های دریایی مشتق شده‌اند (۸۲). آنها متابولیت‌های متنوعی را تولید می‌کنند که برخی می‌توانند به عنوان دارو استفاده شوند. این میکروارگانیسم‌ها واقعاً منابع نامحدود ترکیبات جدید با کاربردهای درمانی فراوان هستند (۲۹). ضمنا مدارکی وجود دارد که ثابت می‌کند محصولات طبیعی دریایی که قبلا به دیگر ارگانیسم‌ها ارتباط داده شده بود، متابولیت‌های ثانویه باکتری‌های مرتبط با این ارگانیسم‌ها هستند (۸۸). ترکیبات بیواکتیو تولید شده توسط موجودات دریایی لازم است در محیط رقیق شده آبی، پتانسیل عمل بالایی داشته باشند تا علیرغم رقیق شدن در آب بتوانند تاثیر خود را اعمال کنند. میکروارگانیسم‌های دریایی به دلیل دارا بودن توانایی تولید چنین ترکیباتی مورد توجه هستند (۳۲و٤٦). باکتری‌های دریایی کشت شده، قارچ‌ها، دوتاژکداران[3] و دیگر میکروارگانیسم‌های دریایی منابع جالب دارویی هستند، زیرا به شرکت‌های دارویی اجازه می‌دهند تا بتوانند آزمایشات زیادی در تخمیر به منظور کنترل متابولیت‌های بیواکتیو انجام دهند. باکتری‌های دریایی معمولا از دریا، رسوبات دریایی، سطوح و بافت‌های جلبک‌های دریایی و مهره‌داران جدا می‌شوند (۲٤). اطلاعات کمی درباره تنوع میکروارگانیسم‌های رسوبات دریایی وجود دارد. در مقایسه با خاک‌های زمینی، رسوبات دریایی حاوی میزان محدودی از مواد آلی در دسترس و منابع زیاد کربن به شکل

[1] Squalamine
[2] Antiangiogenic
[3] Dinoflagella

کمپلکس می‌باشد. روش‌های مستقل از کشت نشان داده است که رسوبات دریایی حاوی طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌های منحصر به فرد است که در محیط‌های خاکی وجود ندارند (٤٧). علیرغم این که جداسازی باکتری‌ها به ویژه از رسوبات انجام شده است، دریاهای باز یا آب‌های سطحی هم دارای ارگانیسم‌های زنده زیادی می‌باشند (٤٥).

در میان میکروارگانیسم‌های آبی اکتینومایست‌ها به واسطه تنوع و توانایی تولید ترکیبات جدید در موقعیت برجسته‌ای قرار گرفته‌اند (٢٩و٧١) و زمینه تحقیقات زیادی را در دهه‌های اخیر به خود اختصاص داده‌اند (٨٧). اکتینوباکترها یک گروه متنوع مورفورلوژیکی و فیزیولوژیکی هستند، آن‌ها باکتری‌های گرم مثبت بوده، DNA با محتوای G+C بالا (>55 mol%) داشته (١٤و٦١) و بر اساس ترکیب شیمیایی، تشابه در توالی 16S rRNA و DNA-DNA reassociation به گروه‌های مختلف تقسیم شده‌اند (١٥). این باکتری‌ها پروکاریوت‌های ارزشمندی از نظر بیوتکنولوژیکی و اقتصادی هستند (١٦و٧٦). آن‌ها منابع مهم و قوی برای ترکیبات بیواکتیو جدید و متابولیت‌های ثانویه هستند (٤٣و٤٦). بسیاری از اکتینومایست‌ها که از اعماق دریا جدا شده‌اند دارای مسیرهای PKS[1] و NRPS[2] هستند که مشخصه‌های تولید متابولیت‌های ثانویه می‌باشند (١٦). اکتینوباکترها بیش از نیمی از ترکیبات بیواکتیو در سایت پایگاه اطلاعات نشریات آنتی‌بیوتیک[3] را تولید می‌کنند (٧٦ و٨٧)، نزدیک به ٧٠٠٠ متابولیت در مجموعه محصولات طبیعی[4] از آن‌ها گزارش شده است (١٦) و تقریباً دو سوم از هزاران آنتی‌بیوتیک رایج صنعتی از این ارگانیسم‌ها جدا شده است (٦١و٧٢و٨٣). علاوه بر آنتی‌بیوتیک‌ها، عوامل آنتی‌تومور، عوامل سرکوب‌کننده ایمنی (٤٤)، آنزیم‌ها، مهارکننده‌های آنزیمی (٧١) و علف‌کش‌ها (٦١) را نیز تولید می‌کنند. از جمله آنزیم‌های تولید شده می‌توان به سلولاکتیک، پروتئولاکتیک، آمیلولاکتیک، لیپولاکتیک و کیتینولاکتیک اشاره کرد. همچنین گزارشاتی از نقش اکتینوباکترهای دریایی در تجزیه و بازسازی ترکیبات آلی وجود دارد (٧١). به علت تولید فراوان اسپورهایی که به آسانی پخش می‌شوند، این باکتری‌های رشته‌ای به خوبی با محیط‌های دریا تطبیق یافته‌اند و قادر به تجزیه پلیمرهای بیولوژیکی هستند. آن‌ها درحدود ١٠٪

[1] Polyketide synthase
[2] Non-ribosomal polyketide synthase
[3] Antibiotic Literature Database
[4] Dictionary of natural product

توده‌های باکتریایی دریا را شامل می‌شوند و از منابع مختلف دریایی قابل جداسازی هستند (۱۶). توان فیزیولوژیکی این میکروارگانیسم‌ها نه تنها آن‌ها را برای بقاء در زیستگاه‌هایی با شرایط سخت و دشوار مناسب کرده است، بلکه آن‌ها را قادر به تولید ترکیبات با فعالیت آنتی‌تومور و دیگر فعالیت‌های دارویی جالب نموده که در نمونه‌های خاکی مشاهده نشده است (۵۵). از آن‌جایی که شرایط محیط‌های آبی بسیار متفاوت از محیط‌های خاکی است (۴۳)، تفاوت قابل ملاحظه در متابولیت‌های ثانویه آن‌ها دور از انتظار نخواهد بود (۶۱).

شرایط زندگی که اکتینومایست‌های دریایی در طول تکامل مجبور بودند با آن تطبیق یابند طیف وسیعی از فشار بالا (با حداکثر ۱۱۰۰ اتمسفر) و شرایط بی‌هوازی در دمای پایین‌تر از صفر درجه سانتیگراد در کف دریاهای عمیق تا شرایط اسیدی بالا (pH برابر۲/۸) در دماهای بالاتر از $100^{\circ}C$ نزدیک دهانه‌های آتشفشانی در برآمدگی‌های وسط اقیانوس‌ها بوده است. احتمالا این امر در تنوع ژنتیکی و متابولیکی اکتینومایست‌های دریایی تاثیر داشته است که ناشناخته باقی مانده است، به علاوه محیط دریا منبع ناشناخته اکتینومایست‌های متنوع جدید و در نتیجه متابولیت‌های جدید می‌باشد. هرچند توزیع اکتینومایست‌ها در دریا شناخته نشده است و حضور اکتینومایست‌ها در دریا به صورت راز باقی مانده است (۴۳). این اعتقاد قدیمی که تنوع اکتینوباکتری‌ها در دریا کم و محدود است به وسیله کشف و ارزیابی تنوع فیلوژنیک 16S rRNA و روش‌های کشت، کاملا بر طرف شده است. با روش‌های ذکر شده از رسوبات عمقی دریا بیش از ۱۳۰۰ واحد تاگزونومی فعال اکتینوباکتریایی مختلف شناسایی شده است که پیش‌بینی می‌شود حاوی جنس‌ها و سویه‌های جدید باشد (۹).

مدارک ابتدایی نشان داده‌اند که منشاء اکتینومایست‌های دریایی گونه *Rhodococcus marinonascens* که اولین اکتینومایست دریایی شناخته شده است، می‌باشد. مطالعات بیشتر از کشفی به دست آمد که برخی گونه‌ها سازگاری دریایی ویژه‌ای نشان داده‌اند، درحالیکه بقیه به نظر می‌رسد از نظر متابولیکی در رسوبات دریایی فعال هستند. هرچند این یافته‌های ابتدایی انگیزه کافی برای تحریک تحقیق در مورد اکتینومایست‌های جدید درمحیط‌های دریایی ایجاد نکرد، اطلاعات اخیر از مطالعات وابسته به کشت نشان داده است که اکتینومایست‌های دریایی بومی حقیقتا در دریا وجود