

· 综述 ·

海洋动物抗菌肽研究进展^{△*}

丁云超, 张士璀*

(中国海洋大学 海洋生命学院 海洋生物多样性与进化研究所, 山东 青岛 266003)

摘 要: 抗菌肽是具有天然抗菌活性的一类生物多肽。海洋无脊椎动物和鱼类是海洋生物多样性的代表, 也是发现结构、功能具有独特性的新型抗菌肽的源泉。目前, 已从海洋无脊椎动物, 包括刺胞动物、软体动物、环节动物、甲壳动物、棘皮动物和原索动物以及脊椎动物鱼类分离出多种抗菌肽。本文章对海洋无脊椎动物和鱼类中抗菌肽的研究进展、作用机理和研究趋势作了简要概述。

关键词: 抗菌肽; 抗菌作用; 无脊椎动物; 鱼类

中图分类号: R931 文献标志码: A 文章编号: 1002-3461(2013)06-087-10

抗菌肽是指具有抗菌活性的多肽。抗菌肽进化上相当保守, 它存在于所有真核生物中, 构成天然免疫系统重要部分。越来越多证据显示, 抗菌肽不但具有广谱抗微生物(细菌和真菌)能力, 而且具有抗包膜病毒(enveloped viruses)、寄生虫和肿瘤细胞能力。抗菌肽一般由 10~50 个氨基酸残基组成的小肽, 多数由单个基因编码、通过核糖体合成。抗菌肽一般带正电荷(+2~+9), 疏水性氨基酸含量 30% 以上, 具有亲脂、亲水双亲性; 二级结构包括 α -螺旋、 β -折叠和 β 发卡结构。随着耐药性细菌的出现和传统抗生素治疗作用的下降, 对新型抗生素的开发和应用需求变得十分迫切, 这也极大地促进过去 20 多年抗菌肽的研究发展。

在占地球表面积 71% 的海洋中蕴藏着巨大的生物多样性。现在人们已经知道的海洋生物的种类大约有 275 000 种, 其中 2/3 生物门类是海洋中特有的类群或者是主要类群。海洋由于存在巨大的生物多样性与诸多独特的生命现象, 因而成为寻找和发掘包括抗菌肽在内的许多生物活性物质的宝库。本文主要就海洋生物中基因编码的抗菌肽研究现状与发展趋势, 作一简要概述。

1 海洋动物抗菌肽

迄今, 已从各种动物中获得超过 1 500 个抗菌肽的序列信息(<http://aps.unmc.edu/AP/main.php>), 它们大多来自于真菌、昆虫、尾索动物、甲壳动物、鱼类、两栖类动物、鸟类和哺乳动物(包括人)。目前, 所发现的海洋生物抗菌肽主要来源于海洋无脊椎动物, 包括刺胞动物、环节动物、软体动物、甲壳动物、棘皮动物、原索动物和鱼类。其中, 只有防御素(defensin) 1 种是海洋与陆生动物所共有的抗菌肽。多数海洋动物抗菌肽表达不需要外来刺激, 即呈组成型表达, 这一点与昆虫和淡水水螅中抗菌肽只有受到刺激时才表达, 即呈诱导型表达, 明显不同。通常情况下, 抗菌肽以前体形式合成, 由蛋白酶水解除去阴离子前导肽/信号肽之后, 释放出成熟肽^[1]。阴离子前导肽功能尚不清楚, 它可能具有中和成熟肽阳离子功能, 也可能具有某些生理或者免疫功能。除尾索动物抗菌肽之外, 绝大多数海洋动物抗菌肽含半胱氨酸。

1.1 刺胞动物

刺胞动物是 1 类水生、肉食的动物, 代表动物水螅如海葵、珊瑚以及水母如海蜇。目前, 已经从刺胞动物中分离到数种抗菌肽, 如 2006 年发现的水母素(aurelin)具有抗革兰氏阴性细菌和革兰氏

* [△]基金项目: 国家海洋高技术研究发展计划项目(2012AA092202)资助

作者简介: 丁云超(1982-), 男, 山东青岛人。博士研究生, 研究方向: 分子免疫。Tel: 18300260051, E-mail: dyc7@foxmail.com

* 通讯作者: 张士璀(1957-), 男, 江苏泗阳人。教授, 博士研究生导师, 博士, 研究方向: 发育与进化生物学。Tel: 0532-82032787, E-mail: sczhang@ouc.edu.cn

收稿日期: 2013-05-02

阳性细菌作用^[2]。水母素由 40 个氨基酸组成,氨基酸序列与已知的所有抗菌肽都没有同源性,但与海葵防御素以及钾通道阻断毒素(K^+ -channel-blocking toxin)具有部分相似性。水母素是 T 淋巴细胞膜电压门控性钾通道抑制剂。水母素已经成功进行体外重组表达^[3]。另外,从绿水螅(*Chlorohydra viridissima*)中分离的麻痹毒素水螅溶素(hydralysin)在溶液中主要以 β -结构存在,它可以在血红细胞膜上形成直径 1.2 nm 孔隙^[4]。水螅溶素虽然没有抗菌活性,但可以根据该分子设计合成具有抗菌活性、对人血红细胞相对无毒的多肽。

1.2 软体动物

软体动物包括蜗牛、蛤、贻贝、乌贼、章鱼、多板类和掘足类,种类绝对数量位居第二,仅次于节肢动物。软体动物包括陆生和水生 2 类,是抗菌肽研究最多的类群之一。在海洋贝类中,贻贝的抗菌肽研究较为透彻,它们多数是富含半胱氨酸的阳离子抗菌肽。根据一级结构和二硫键形成的不同形式,贻贝的抗菌肽可分为 4 种类型:防御素、贻贝素(mytilin)、贻贝肽(myticin)和贻贝霉素(mytimycin)。1990 年代,从蓝贻贝(*Mytilus edulis*)血液中分离到防御素 A 和防御素 B^[5],它们和节肢动物防御素序列高度相似。接着,又从贻贝(*Mytilus galloprovincialis*)血浆中分离到的另一种防御素 MGD,它包含 MGD-1 和 MGD-2,都具有 8 个半胱氨酸,都在血细胞中先以较大的前体分子合成,然后剪切成成熟肽 MGD-1 和 MGD-2^[6]。贻贝素也是从贻贝中分离出的富含半胱氨酸的阳离子抗菌肽,包括 5 个同分异构体 A、B、C、D 和 G1。贻贝素 A 和贻贝素 B 与已知的抗菌多肽没有同源性,具有抗革兰氏阳性菌的活性,而贻贝素 C、D 和 G1 则显示出互补性抗菌特性^[7]。Liu 等设计和合成贻贝素 2 个衍生肽,贻贝素衍生肽-1 和贻贝素衍生肽-2,都能抑制革兰氏阳性菌、革兰氏阴性细菌和真菌的生长。这 2 个肽在高温(热水)和人血清都表现出较高的稳定性^[8]。除防御素和贻贝素之外,从贻贝中还分离到抗真菌多肽贻贝霉素,可以抑制粗糙脉孢菌(*Neurospora crassa*)和黄色镰刀菌(*Fusarium culmorum*)的生长^[5]。贻贝霉素和蛋白质数据库中已有的多肽序列都没有同源性。另外,从贻贝

的血细胞和血浆分离到 2 种贻贝肽 A 和 B,都由 40 个氨基酸残基构成,包含 4 个二硫键^[5]。贻贝肽 A 和 B 具有抗革兰氏阳性菌功能,而且贻贝肽 B 具有抗真菌尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)和革兰氏阴性菌的活性^[9]。从紫贻贝(*Mytilus galloprovincialis*)克隆到的贻贝肽 C 有数个等位基因变体,它在贻贝幼虫发育阶段即表达,可能在贻贝幼虫发育阶段起到免疫保护作用^[10]。

防御素样多肽也存在于牡蛎(*Crassostrea virginica*)中。牡蛎中第一个防御素样多肽是从鳃中提取出来的,命名为 Cv-Def,含有 38 个氨基酸,包含 6 个半胱氨酸^[11]。第二个防御素 Cg-Def 从长牡蛎(*Crassostrea gigas*)中分离出来。重组表达 Cg-Def 具有抗革兰氏阳性菌活性,但对革兰氏阴性菌和真菌几乎没有活性^[12]。新近,从海湾扇贝(*Argopecten irradians*)血细胞 cDNA 库中分离到 1 个大防御素(big defensin),由 79 个氨基酸组成,其 N-端包含 1 个典型的信号肽,C-端的防御素结构域与哺乳动物嗜中性粒细胞的防御素结构域相似。重组表达的海湾扇贝大防御素具有广谱抗菌活性,可以抗革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌和部分真菌^[13]。

1.3 环节动物

环节动物主要由蠕虫状动物如蚯蚓、水蛭和多毛类等组成。海洋中的双齿围沙蚕(*Perinereis aibuhitensis*)是典型的环节动物,被广泛用作鱼饵。Pan 等于 2004 年首先从其全虫匀浆液中纯化得到抗菌肽沙蚕素(perinerein),对革兰氏阳性、革兰氏阴性和真菌都具有明显的抗菌活性^[14]。沙蚕素在体内呈组成型表达,其序列与已知抗菌肽序列都不同,具有独特性。从沙蚕(*Nereis diversicolor*)体腔细胞中分离到的抗菌肽 hedistin 也具有广谱抗菌活性,包括对具有甲氧西林抗性的金黄色葡萄球菌(*S. aureus*)和溶藻弧菌(*Vibrio alginolyticus*)都有抗菌活性^[15]。沙蚕素具有螺旋-转角-螺旋的结构,表现出明显的双亲(亲脂和亲水)性。Xu 等通过分子动力学模拟实验发现,其 2 个螺旋结构能与胞质膜脂质头部区域结合并进入脂质双层,折叠部分最后部分进入细胞膜^[16]。从多毛类沙蚕(*Arenicola marina*)中分离得到的 2 个由 21 氨基酸组成的抗菌肽沙蚕素 1(arenicin-1)和沙蚕素(arenicin-2),都具有抗革兰氏阳性菌、

革兰氏阴性菌和真菌的活性^[17]。每个沙蠲素都具有 1 个二硫键(Cys3-Cys20),形成 1 个典型的 β 发夹结构^[18](见图 1 A,B)。Choi 等人发现沙蠲素 1 与抗生素如氨基青霉素可以协同作用,抑制细菌生长,取得很好抗菌效果^[19]。另外,从整嵌晶蛭分离到的由 86 氨基酸组成的线性阴离子多肽水蛭素(theromyzin)和由 79 氨基酸组成的阳离子多肽水蛭杆菌素(theromacin),都含有 10 个半胱氨酸,形成已知抗菌肽中所未见的二硫键排列。水蛭素和水蛭杆菌素都具有抗革兰氏阳性菌藤黄微球菌(*Micrococcus luteus*)活性^[20]。

1.4 节肢动物

节肢动物是适应生存最成功的动物之一,包括昆虫和甲壳动物在内地球上约有 100 万种。目前,在甲壳动物(虾、蟹)和螯肢动物(鲎)中发现了多种抗菌肽。甲壳纲动物抗菌肽主要为富含半胱氨酸的硬皮素(crustin)和对虾抗菌素(penaeidin) 2 个抗菌肽家族^[21-22]。1999 年 Relf 等首先在岸蟹(*Carcinus maenas*)中发现 1 种富含半胱氨酸的抗菌肽,分子量为 11.5 kDa,后来被确定为硬皮素家族 1 个成员,仅对革兰氏阳性菌有抗菌活性。岸蟹血细胞中还存在着 1 种富含脯氨酸的抗菌肽,约为 6.5 kDa 大小,与牛嗜中性粒细胞抗菌肽(bactenecin) 7 有 60% 同源性^[23]。从青蟹(*Callinectes sapidus*)中也鉴定到 1 种阳离子抗菌肽,命名为 callinectin,其分子量约为 3.7 kDa^[24]。另外,从蜘蛛蟹(*Hyas araneus*)中分离出 1 个富含脯氨酸和精氨酸的典型抗菌肽,命名为 arasin 1,主要在蜘蛛蟹血细胞中表达;其 N-端含有大量的脯氨酸精氨酸,C-端含有 4 个半胱氨酸形成 2 个二硫键。合成的 arasin 能够抑制革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌的生长^[25]。

对甲壳纲虾类的抗菌肽研究也很多。从凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)的血淋巴中发现的对虾抗菌素,虽然对白色念珠菌和酿酒酵母没有活性,但对丝状真菌具有明显抗性^[26]。对虾抗菌素对对虾病原体尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)、某些革兰氏阳性菌和造成甲壳类动物感染的革兰氏阴性菌如弧菌都显示一定抗菌活性^[27]。Cuthbertson 等于 2004 年从凡纳滨对虾血细胞 cDNA 库中,分离到 1 种新对虾抗菌素,其序列与已知对虾抗菌素都不相同,对尖孢镰刀菌具

有抗菌活性^[28]。Shanthi 等从印度白对虾(*Fenneropenaeus indicus*)血细胞中克隆出 1 种对虾抗菌肽基因,与斑节对虾的抗菌素有 92% 的同源性,主要在血细胞、心脏、肝胰腺、肌肉、鳃、肠和眼柄中表达^[29]。此外,在淡水小龙虾(*Pacifastacus leniusculus*)中发现由 16 个氨基酸组成的抗菌肽 astacidin 1 具有广泛的抗菌活性,对革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌都有抗性。与天然 astacidin 1 相比,合成 astacidin 1 在对革兰氏阳性菌显示相似的抗菌活性,而对革兰氏阴性菌的抗菌活性明显降低^[30]。在小龙虾血细胞中发现的 astacidin 2,是 1 个由 14 个氨基酸组成的富含脯氨酸和精氨酸的抗菌肽,其 C-端酰胺化,对革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌都有抗菌活性^[31]。新近,从日本龙虾(*Panulirus japonicus*)表达序列标签(EST)中还发现防御素基因^[32],主要在血细胞、心脏、鳃和肝胰腺中表达^[33]。

螯肢动物鲎是海洋中具有珍贵药用价值的生物。目前,已经从鲎血细胞中分离、鉴定到许多抗菌肽。Muta 等于 1987 年从中华鲎(*Tachypleus tridentatus*)和美洲鲎(*Limulus polyphemus*)血细胞溶解产物中发现 1 种可以抑制鲎血淋巴凝集阳离子抗脂多糖(anti-LPS)因子,具有很强抑制革兰氏阴性菌生长的效果^[34]。此后,又从中华鲎血细胞颗粒提取液中分离到新的阳离子抗菌肽鲎抗菌肽 I(tachypleusin I),它呈组成型表达,并在微生物感染部位释放^[35-36]。鲎抗菌肽可以与细菌 LPS 形成复合物,抑制革兰氏阴性细菌和革兰氏阳性细菌如海洋双壳类动物的病原微生物包纳米虫(*Bonamia ostreae*)、贝类帕金虫(*Perkinsus marinus*)和弧菌(*Vibrio* P1)的生长^[37]。随着研究的深入,发现鲎抗菌肽还有 4 个异构肽,鲎抗菌肽 II、鲎抗菌肽 III、鲎肽素 I(Polyphemusins I)和鲎肽素 II(polyphemusins II)。其中,鲎抗菌肽 II 和鲎抗菌肽 III 来自美洲鲎血细胞,鲎肽素 I 和鲎肽素 II 来自南方鲎(*Tachypleus gigas*)血细胞^[38]。这些异构肽很可能是 1 个共同前体成熟加工过程中形成的的中间产物。小鼠体外和体内实验证实,鲎抗菌肽 III 和黏杆菌素(colistin)对具有多重抗药性的铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)有协同抗菌活性^[39]。鲎抗菌肽 II、鲎肽素 I 和鲎肽素 II 不仅对细菌有抗菌效果,对真菌如白色念

珠菌 M9 菌株也有抗菌效果。除去鲎抗菌肽, Saito 等于 1995 年还从中华鲎血细胞中发现 1 种新的类防御素分子^[40], 能够抑制革兰氏阴性菌、革兰氏阳性菌以及真菌的生长。该防御素含有 79 个氨基酸, 其 C-端的 37 个氨基酸片段, 与哺乳动物嗜中性粒细胞分离的防御素具有同源序列。

与此同时, 从中华鲎血细胞中还分离出其他抗菌肽, 分别命名为鲎抗菌肽 A、鲎抗菌肽 B 和鲎抗菌肽 C^[41], 它们对革兰氏阴性菌、革兰氏阳性菌和真菌都具有广泛的抗菌活性。其中鲎抗菌肽 C 抗菌活性最高。鲎抗菌肽 A 与鲎抗菌肽 B 具有同源性, 但两者序列与鲎抗菌肽 C 都不相同。鲎抗菌肽 A、B 和 C 都可以与几丁质特异性结合, 这可能正是它们具有抗真菌活性的原因^[42]。

1.5 棘皮动物

棘皮动物属于后生动物, 共分 5 纲: 海百合纲(海百合和海羽星)、蛇尾亚纲(筐蛇尾和海蛇尾)、海星纲(海星)、海胆纲(海胆, 沙钱, 海饼干)和海参纲(海参)。Beauregard 等于 2001 年首先从北大西洋海参(*Cucumaria frondosa*) 中发现 1 个分子量大约为 6 kDa 抗菌肽, 他们还发现一些更小分子的多肽也具有抗菌活性, 可以抑制绿脓杆菌(*Pseudomonas aeruginosa*) 和金黄色葡萄球菌的生长^[43]。Li 等从绿球海胆(*Strongylocentrotus droebachiensis*) 中也发现 2 种抗菌肽, 命名为绿球海胆素 1 (strongylocin 1) 和绿球海胆素 2 (strongylocin 2), 它们都是阳离子多肽, 富含半胱氨酸, 类似防御素。绿球海胆素对鳃弧菌(*Listonella anguillarum*)、大肠杆菌、棒状杆菌(*Corynebacterium glutamicum*) 和金黄色葡萄球菌都具有较强的抗菌活性^[44]。在大肠杆菌中重组表达的绿球海胆素 1 和绿球海胆素 2, 都对革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌具有抗菌活性。

1.6 原索动物

原索动物包括尾索动物(海鞘)和头索动物(文昌鱼)两类。从各种海鞘血细胞中已经分离几种新抗菌肽, 都呈组成型表达^[46-47]。Lee 等于 1997 年首先从柄海鞘(*Styela clava*) 血细胞纯化得到的抗菌肽 clavanin, 是有 4 个 α -螺旋、具双亲性、富含组氨酸的多肽, 由 23 个氨基酸组成, C-端有酰胺化^[48]。Clavanins A、B、C 和 D 在大小和一级结构方面与爪蟾蛙皮素(magainin)相似。人工

合成的 clavanin A 抗菌活性堪比爪蟾抗菌肽和巨型蚕蛾中的天蚕素(cecropin)^[49]。clavanin A 在 pH 为 5.5 时比 pH 为 7.4 时对大肠杆菌、李斯特氏菌(*Listeria monocytogenes*) 和白色念珠菌抑菌活性更大。在 pH 为 5.5 时, clavanin A 能够有效地渗透到膜细菌外膜和内膜。此外, clavanins 对革兰氏阳性细菌包括对耐甲氧西林的金黄色葡萄球菌有普遍的抗性。Menzel 等^[47]发现 clavanins 存在于 5 种不同类型的巨噬细胞的细胞质中或胞质颗粒中。从柄海鞘还发现 1 个富含组氨酸、C-端酰胺化的 23 个氨基酸组成的抗菌肽, 命名为 clavaspilin。人工合成的 clavaspilin 能够杀死革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌, 可以渗透到大肠杆菌外膜和内膜, 溶解磷脂酰甘油脂质体, 并可造成人和牛的红细胞溶解^[46]。Lee 等^[48]还在柄海鞘发现了 2 种富含苯丙氨酸的抗菌肽柄海鞘素 A (styelin A) 和柄海鞘素 B (styelin B), 它们都能有效对抗人体中革兰氏阴性细菌和革兰氏阳性细菌^[48]。Fedders 等^[49]从海鞘(*Ciona subspecies*) 中鉴定出 1 种特殊的耐盐型抗菌肽, 可以强烈抑制溶藻弧菌和白色念珠菌生长。

Tincu 等^[50]从皱瘤海鞘(*Styela plicata*) 血细胞中分离出 1 种抗菌肽 plicatamide, 由 8 个氨基酸组成, 能够造成野生型和耐甲氧西林金黄色葡萄球菌钾大量、快速流失, 也能使人红细胞溶解。plicatamide 在 pH 为 7.4 时略显正电性, 对其抑菌活性最理想。他们还从海鞘(*Halocynthia roretzi*) 血细胞中分离出 2 个抗菌肽 halocyanines A 和 B, 都由 4 个氨基酸组成, 是唯一比 plicatamide 分子量小的抗菌肽^[50]。halocyanine A 能抑制真菌(如酵母)、大肠杆菌和海洋细菌(*Achromobacter aquamarinus* 和 *Pseudomonas perfectomarinus*) 生长^[51]。halocyanine A 和 B 除具有抗菌活性, 对大鼠胚胎脑神经元细胞、小鼠神经瘤母细胞和人肝癌细胞也显示出细胞毒性。从海鞘(*H. roretzi*) 中还分离到 2 个抗菌肽, 分子量分别为 6.2 kDa 和 3.4 kDa。前者被称为 dicynthaurin, 是由 2 个 30 个氨基酸单体形成的二聚体, 对藤黄微球菌、金黄色葡萄球菌、李斯特菌、大肠杆菌和铜绿假单胞菌均显示抗菌活性, 但对白色念珠菌不起作用^[53]; 后者被称为 halocidin, 是通过二硫键把 2 个分别由 18 个氨基酸和 15 个氨

氨基酸组成的多肽连接成的 1 个二聚体,对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌和多重耐药性的铜绿假单胞菌的抗菌试验表明,18 个氨基酸组成的单体比二聚体和 15 个氨基酸组成的单体都显示更高抗菌活性。抗菌肽 halocidin 序列与从玻璃海鞘(*Ciona intestinalis*)体腔细胞分离到的与变态相关的蛋白 Ci-META4 表现出高度同源性。按照 Ci-META4 成熟肽 N-端 19 个氨基酸序列合成的多肽对革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌具有强力杀菌作用,对人红细胞也有溶血作用^[53]。最近,已从海樽(*Halocynthia papillosa*)中分离到 2 种新抗菌肽 halocynthin 和 papillosin,都对革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌有抗菌活性^[54]。有关头索动物抗菌肽研究相对较少,只有 Teng 等^[55]报道从文昌鱼中克隆到 1 个由 117 个氨基酸组成的大防御素,呈组成型表达,但受 LPS、脂壁酸、嗜水气单胞菌(*Aeromonas hydrophila*)和金黄色葡萄球菌感染时表达显著上调。重组表达的文昌鱼大防御素,可以抑制大肠杆菌、嗜水气单胞菌和金黄色葡萄球菌的生长。

1.8 鱼类

是最低等有颌类脊椎动物,共约 2 万余种,其中海洋鱼类约有 1.2 万种,为鱼类中最繁盛的类群。鱼类抗菌肽主要分泌到唾液、黏液和循环系统等部位。鱼类结构与组成复杂多样,不同鱼类抗菌肽的分子结构和作用机制差异比较大,即使同 1 种鱼在体内不同组织也可能产生不同的抗菌肽。鱼类抗菌肽主要分为 3 种类型:不含半胱氨酸并具有疏水或双亲性的 α -螺旋结构、含多个半胱氨酸的 β -折叠结构以及与组蛋白高度相似的组蛋白样抗菌肽。

鱼类疏水或两亲性 α -螺旋结构的抗菌肽一般富含一些碱性氨基酸,带正电荷,这有利于穿透细菌胞膜,产生直接抗菌效果。第 1 个被发现的鱼类抗菌肽就是具有 α -螺旋的豹鲷毒素(pardaxin)(见图 1C),是从石纹豹鲷(*Pardachirus marmoratus*)的皮肤腺中分离出来的,具有细胞毒性、可以在细胞膜形成孔道^[56-57]。最初认为豹鲷毒素具有抗捕食功能,但后来发现其对革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌都有杀灭作用^[58]。鱼类 α -螺旋抗菌肽还包括毒鱼豆素(piscidin)(见图 1D)^[59]和拟鲷毒素(pleurocidin)^[60]。拟鲷毒素是具有 25 个残基

的多肽,最初从美洲拟鲷的皮肤粘膜分离出来,具有广谱抗菌活性^[60],能够抑制细菌 DNA、RNA 和蛋白质的合成^[61]。毒鱼豆素是具有 22 个残基的多肽,从杂交斑纹鲈的皮肤和鳃中纯化而来^[59],它存在于其他鲈形目中。毒鱼豆素都显示出广谱的抗菌活性,可能通过形成环形孔来杀死细菌细胞^[15,61-63]。毒鱼豆素也存在溶血和细胞毒性副作用^[64]。毒鱼豆素对病毒^[65]、细菌^[64]、真菌^[66]、寄生虫^[67-68],都有强效、广谱的抗性。

鱼类含 β -折叠结构的抗菌肽包括 3 个家族:防御素、cathelicidin 和肝脏表达抗菌肽 LEAP^[67]。Zhou 等^[68]从斑马鱼和河豚鱼中发现防御素,结构上与鸟类和哺乳动物 β -防御素存在一定相似性。Falco 等^[69]证明虹鳟鱼防御素的重组蛋白能够抵抗病毒性出血败血症病毒(VHSV)功能。目前,已经从虹鳟鱼已克隆出 3 个新的 β -防御素,它们都呈组成型表达,但受到细菌和病毒侵染后表达明显增加^[70]。Chang 等^[71]在虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)中发现 cathelicidins,它对革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌都具有抗菌活性。在大西洋盲鳗(*Myxine glutinosa*)、北极红点鲑(*Salvelinus alpinus*)、大西洋鳕鱼(*Gadus morhua*)和溪红点鲑(*Salvelinus fontinalis*)中,也发现有 cathelicidin^[72-73]。LEAP 主要在鱼类肝脏中肝脏表达,是鱼类重要的富含半胱氨酸的抗菌肽之一^[67]。LEAP 家族成员包括从美洲拟鲷、大菱鲆和真鲷中克隆到的铁调素(hepcidin)、从大西洋鲑鱼中克隆到的 Sal-1 和 Sal-2、从牙鲆中克隆到的 JF-1 和 JF-2 以及从鲟鱼和鳊鱼中克隆到的 LEAP-2^[21]。斑纹鲈鱼的铁调素与人铁调素结构相似,有 2 个反平行的 β -折叠和 8 个半胱氨酸形成的 4 个二硫键组成,具有抗大肠杆菌活性^[74]。从澳洲肺鱼(*Neoceratodus forsteri*)和尖吻鲈鱼(*Lates calcarifer*)中克隆到 2 个类铁调素基因,脂多糖可以诱导其表达,其潜在应用价值还有待深入研究^[75]。

鱼类组蛋白样抗菌肽因与组蛋白高度相似而得名,这类肽在海洋动物中仅在鱼类中有发现,它们多存在于鱼类的皮肤粘膜中。从鲟、斑鲷、斑纹鲈鱼、银大马哈鱼和鲑中分离到的 parasin 1、组蛋白样多肽(HLPs)和鲑鱼抗菌肽 SAM 等都属于这类抗菌肽。其中,parasin 1 来源于鲟鱼皮肤黏膜上皮细胞,其氨基酸序列与组蛋白 H₂A 的 N-端

完全一致。parasin 1 的产生是由组蛋白 H₂A 经组织蛋白酶 D 在其 N-端 Ser 19-Arg 20 位置裂解后产生的。parasin I 含有 19 个氨基酸,具有广谱抗菌活性。Jorge 等从虹鳟鱼的表皮黏液中分离提取到 1 种新的抗菌肽,称为 Oncomycin II,分子量为 7.2 kDa,后被证明是组蛋白 H₁的 C-端 69 个氨基酸片段。Oncorhyncin II 的抗菌活性比天蚕抗菌肽 P1 大 10 倍以上,对革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌都具有杀灭作用,它主要是通过破坏细菌细胞膜的稳定来而起到杀菌作用的^[77]。

2 抗菌肽的作用机理

自从发现抗菌肽以来,对抗菌肽的作用机理已经进行了大量研究。抗菌肽可能通过多种方式作用于细菌,导致其裂解、死亡。抗菌肽最常见的作用方式是通过细胞膜破裂,直接破坏细胞。抗菌肽也可以抑制细胞壁、蛋白质或核酸合成,还可以抑制细菌细胞酶活性破坏其代谢,或者结合热休克蛋白和其他分子伴侣,抑制其对错误折叠和受损蛋白质的修复或清除而行使抗菌功能。但是,抗菌肽抗菌作用 1 个共同点是首先必须接近或接触细菌细胞表面,然后才能发挥作用。与细菌结合之后,抗菌肽对细菌的杀灭作用主要依赖于抗菌肽自身插入细菌细胞膜,引起细胞内物质的泄漏或者瓦解跨膜电位,影响细胞的正常生理过程,从而导致细胞死亡^[78-79]。目前,存在主要有 3 种模型解释抗菌肽的作用机制,即“桶栅模型(barrel-stave model)”、“环孔模型(toroidal model)”和“地毯模型(carpet model)”^[80]。

“桶栅模型”认为具有两亲性的抗菌肽的疏水区域与细菌膜表面磷脂头部先平行排列,再重新聚集到一起形垂直于膜表面的桶状通道,同时带正电的亲水性区域聚集形成通道内壁^[81]。这种通道会使外部水分渗入细胞内,内部液体渗出,细胞膜崩解,最终导致细胞死亡。不过,只有少量抗菌肽可以用这种机制来解释,例如从绿色木霉(*Trichoderma viride*)中分离得到的丙甲菌素(alame-thicin)作用机制就可以通过“桶栅模型”解释。

“环孔模型”形成也依赖于抗菌肽与细菌表面脂质的结合,亲水端插入到细菌细胞膜,与磷脂分子的亲水头部结合,诱导膜脂质单层向内凹陷直至形成穿孔。例如,从杂斑纹鲈鱼发现的鱼类抗菌

肽 piscidin 就是通过这种方式杀灭细菌的^[82]。

“地毯模型”先由抗菌肽结合到细菌表面,然后在细菌细胞表面聚集,呈地毯状覆盖于细胞表面,再以类似洗涤剂作用方式扰乱细胞膜脂质双层,从而导致细菌细胞膜瓦解。例如,来自叶泡蛙(phyllomedusa)的抗菌肽 dermaseptin 和沙蚕素就可以用“地毯模型”来解释其作用机制^[78]。

需要指出的是抗菌肽作用机制与现有多数抗生素作用于细菌特定蛋白不同,它作用于整个细菌膜表面。这使得抗菌肽具有 1 个显著优点,就是细菌很难通过突变产生抗药性,这对于开发新型抗菌药物至关重要。

3 展望

虽然海洋生物抗菌肽过去 20 年来,研究已经取得长足发展,但是,相对于陆生动物而言,仍然落后,特别考虑到海洋生物,种类繁多,数量巨大,对抗菌肽的发掘显得更为滞后。海洋生物尤其是海洋无脊椎动物和鱼类是海洋生物多样性的代表,也是发现结构、功能具有独特性的新型抗菌肽的源泉。然而,它们通常只产生少量抗菌肽,而且越是那些活性强的抗菌肽含量越少,这给抗菌肽的发现及其分离、鉴定带来诸多困难。因此,发展并运用灵敏度高、选择性强的生物分析方法和靶标导向分析方法(target-based assays)以及高通量分离、纯化和鉴定方法,将极大促进新型抗菌肽的发现。更为重要的是,新一代测序技术和生物信息学联姻,使得可以大规模于硅片中发掘(in silico mining)大量抗菌肽宝藏。这种技术对海洋无脊椎动物尤其适用,因为海洋无脊椎动物取材通常比较困难,特别是深海无脊椎动物,不容易取得足够样品用于分离、提取。从基因组数据库中,获得的“候选”抗菌肽序列,通常需要用体外重组表达,获得重组多肽,进行抑菌功能和相关机理分析,再进行体内验证。

目前,已经从海洋生物中发现许多具有特异性结构的抗菌肽。但是,这些抗菌肽往往具有细胞毒性,可以导致人血红细胞溶解。如何通过分子设计或者基因定点突变,合成新的功能强、毒性低的抗菌肽,是抗菌肽研究又一生长点。更为重要的是需要加强抗菌肽应用研究。抗菌肽不仅可以直接杀灭细菌、病毒,还可以中和内毒素,在败

血症治疗方面显示出巨大应用前景。越来越多的证据表抗菌肽在调节脊椎动物免疫反应中,抑制炎症反应,避免过度炎症,从而使机体达成稳态平衡。例如,人中性细胞多肽 HNP-1 可以结合 C1q,激活经典补体途径,促进炎症因子 TNF- α 和 IL-1 β 产生,抑制单核细胞产生 IL-10 抗炎因子^[83-84]。研究证明鱼类高磷蛋白衍生抗菌肽 Pt5 也具有免疫调节功能^[85]。医学界 1 个全新的感染性疾病的治疗策略是通过调节免疫反应,以降低炎症反应对组织的损伤。抗菌肽除了直接杀灭病原,作为免疫调节剂的功能研究也开始受到越来越多的重视^[86]。海洋动物抗菌肽也可以调节脊椎动物免疫反应,包括激活、征集免疫细胞。

参考文献

- [1] Boman H G. , Peptide antibiotics and their role in innate immunity [J]. *Annual review of immunology*, 1995, 13(1): 61-92.
- [2] Ovchinnikova T V, Balandin S V, Aleshina G M, et al. Aurelin, a novel antimicrobial peptide from jellyfish *Aurelia aurita* with structural features of defensins and channel-blocking toxins [J]. *Biochemical and biophysical research communications*, 2006, 348(2): 514-523.
- [3] Shenkarev Z O, Pantelev P V, Balandin S V, et al. Recombinant Expression and Solution Structure of Antimicrobial Peptide Aurelin from Jellyfish *Aurelia aurita* [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, 429(1-2): 63-9.
- [4] Sher D, Fishman Y, Zhang M, et al. Hydralysins, a new category of β -pore-forming toxins in Cnidaria [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2005, 280(24): 22847-22855.
- [5] Charlet M, Chernysh S, Philippe H, et al. Innate immunity Isolation of several cysteine-rich antimicrobial peptides from the blood of a mollusc *Mytilus edulis*. [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1996, 271(36): 21808-21813.
- [6] Mitta G, Hubert F, Noel T, et al. Myticin, a novel cysteine rich antimicrobial peptide isolated from haemocytes and plasma of the mussel *Mytilus galloprovincialis*[J]. *European Journal of Biochemistry*, 1999, 265(1): 71-78.
- [7] Mitta G, Vandenbulcke F, and Roch P. Original involvement of antimicrobial peptides in mussel innate immunity [J]. *FEBS letters*, 2000, 486(3): 185-190.
- [8] Liu M, Li J, Yue G, et al. Designation, solid-phase synthesis and antimicrobial activity of Mytilin derived peptides based on Mytilin-1 from *Mytilus coruscus* [J]. *Sheng wu gong cheng xue bao Chinese journal of biotechnology*, 2010, 26(4): 550.
- [9] Anderson R S, and Beaven A E. Antibacterial activities of oyster (*Crassostrea virginica*) and mussel (*Mytilus edulis* and *Geukensia demissa*) plasma [J]. *Aquatic Living Resources*, 2001, 14(6): 343-349.
- [10] Padhi A, and Verghese B. Molecular diversity and evolution of myticin-C antimicrobial peptide variants in the Mediterranean mussel, *Mytilus galloprovincialis* [J]. *Peptides*, 2008, 29(7): 1094-1101.
- [11] Seo J -K, Crawford J M, Stone K L, et al. Purification of a novel arthropod defensin from the American oyster, *Crassostrea virginica* [J]. *Biochemical and biophysical research communications*, 2005, 338(4): 1998-2004.
- [12] Gonzalez M, Gueguen Y, Desserre G, et al. Molecular characterization of two isoforms of defensin from hemocytes of the oyster *Crassostrea gigas* [J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2007, 31(4): 332-339.
- [13] Zhao J, Song L, Li C, et al. Molecular cloning, expression of a big defensin gene from bay scallop *Argopecten irradians* and the antimicrobial activity of its recombinant protein [J]. *Molecular immunology*, 2007, 44(4): 360-368.
- [14] Pan W, Liu X, Ge F, et al. Perinerin, a novel antimicrobial peptide purified from the clamworm *Perinereis aibuhitensis* Grube and its partial characterization [J]. *Journal of biochemistry*, 2004, 135(3): 297-304.
- [15] Tasiemski A, Schikorski D, Le F, et al. Hedistin: A novel antimicrobial peptide containing bromotryptophan constitutively expressed in the NK cells-like of the marine annelid, *Nereis diversicolor* [J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2007, 31(8): 749-762.
- [16] Xu G, Wu M, Wang L, et al. Conformational and dynamics simulation study of antimicrobial peptide hedistin-heterogeneity of its helix-turn-helix motif [J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 2009, 1788(12): 2497-2508.
- [17] Ovchinnikova T V, Aleshina G M, Balandin S V, et al. Purification and primary structure of two isoforms of arenicin, a novel antimicrobial peptide from marine polychaeta *Arenicola marina* [J]. *FEBS letters*, 2004, 577(1): 209-214.
- [18] Ovchinnikova T V, Aleshina G M, Balandin S V, et al. Recombinant expression, synthesis, purification, and solution structure of arenicin [J]. *Biochemical and biophysical research communications*, 2007, 360(1): 156-162.
- [19] Choi H, and Lee D G. Synergistic effect of antimicrobial peptide arenicin-1 in combination with antibiotics against pathogenic bacteria [J]. *Research in microbiology*, 2012, 163(6-7): 479-86.
- [20] Tasiemski A, Vandenbulcke F, Mitta G, et al. Molecular characterization of two novel antibacterial peptides inducible upon bacterial challenge in an annelid, the leech *Theromyzon tessulatum* [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2004, 279(30): 30973-30982.
- [21] Smith V J, Fernandes J M, Kemp G D, et al. Crustins: e-

- nigmatic WAP domain-containing antibacterial proteins from crustaceans [J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2008, 32(7): 758-772.
- [22] Cuthbertson B J, Deterding L J, Williams J G, et al. Diversity in penaeidin antimicrobial peptide form and function [J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2008, 32(3): 167-181.
- [23] Schnapp D, Kemp G D, and Smith V J. Purification and Characterization of a Proline Rich Antibacterial Peptide, with Sequence Similarity to Bactenecin-7, from the Haemocytes of the Shore Crab, *Carcinus Maenas* [J]. *European Journal of Biochemistry*, 1996, 240(3): 532-539.
- [24] Khoo L, Robinette D W, and Noga E J. Callinectin, an antibacterial peptide from blue crab, *Callinectes sapidus*, hemocytes [J]. *Marine Biotechnology*, 1999, 1(1): 44-51.
- [25] Stensvåg K, Haug T, Sperstad S V, et al. Arasin 1, a proline-arginine-rich antimicrobial peptide isolated from the spider crab, *Hyas araneus* [J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2008, 32(3): 275-285.
- [26] Destoumieux D, Bulet P, Strub J M, et al. Recombinant expression and range of activity of penaeidins, antimicrobial peptides from penaeid shrimp [J]. *European Journal of Biochemistry*, 1999, 266(2): 335-346.
- [27] Song Y. and Lee S. Characterization and ecological implication of luminous *Vibrio-harveyi* isolated from tiger shrimp (*Penaeus-monodon*) [J]. *Zool Stud*, 1993, 32(3), 217-220.
- [28] Cuthbertson B J, BüLLESBACH E E, Fievet J, et al. A new class (penaeidin class 4) of antimicrobial peptides from the Atlantic white shrimp (*Litopenaeus setiferus*) exhibits target specificity and an independent proline-rich-domain function [J]. *Biochemical Journal*, 2004, 381(Pt 1): 79.
- [29] Shanthi S, and Vaseeharan B. cDNA cloning characterization and expression analysis of a novel antimicrobial peptide gene penaeidin-3 (Fi-Pen3) from the haemocytes of Indian white shrimp *Fenneropenaeus indicus* [J]. *Microbiological research*, 2012, 167(3): 127-134.
- [30] Lee S Y, Lee B L, and Söderhäll K. Processing of an antibacterial peptide from hemocyanin of the freshwater crayfish *Pacifastacus leniusculus* [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2003, 278(10): 7927-7933.
- [31] Jiravanichpaisal P, Lee S Y, Kim Y-A, et al. Antibacterial peptides in hemocytes and hematopoietic tissue from freshwater crayfish *Pacifastacus leniusculus*: Characterization and expression pattern [J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2007, 31(5): 441-455.
- [32] Pisuttharachai D, Yasuike M, Aono H, et al. Expressed sequence tag analysis of phyllosomas and hemocytes of Japanese spiny lobster *Panulirus japonicus* [J]. *Fisheries Science*, 2009, 75(1): 195-206.
- [33] Pisuttharachai D, Yasuike M, Aono H, et al. Characterization of two isoforms of Japanese spiny lobster *Panulirus japonicus* defensin cDNA [J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2009, 33(4): 434-438.
- [34] Tatsushi M, Miyata T, Tokunaga, et al. Primary structure of anti-lipopolysaccharide factor from American horseshoe crab, *Limulus polyphemus* [J]. *Journal of biochemistry*, 1987, 101(6): 1321-1330.
- [35] Shigenaga T, Takayenoki Y, Kawasaki S, et al. Separation of Large and Small Granules from Horseshoe Crab (*Tachypleus tridentatus*) Hemocytes and Characterization of Their Components I [J]. *Journal of biochemistry*, 1993, 114(3): 307-316.
- [36] Iwanaga S, Kawabata S, and Muta T. New types of clotting factors and defense molecules found in horseshoe crab hemolymph: their structures and functions [J]. *Journal of biochemistry*, 1998, 123(1): 1-15.
- [37] Hirakura Y, Kobayashi S. and Matsuzaki K. Specific interactions of the antimicrobial peptide cyclic β -sheet tachyplesin I with lipopolysaccharides [J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 2002, 1562(1): 32-36.
- [38] Miyata T, Tokunaga F, Yoneya T, et al. Antimicrobial peptides, isolated from horseshoe crab hemocytes, tachyplesin II, and polyphemusins I and II: chemical structures and biological activity [J]. *Journal of biochemistry*, 1989, 106(4): 663-668.
- [39] Cirioni O, Ghiselli R, Silvestri C, et al. Efficacy of tachyplesin III, colistin, and imipenem against a multiresistant *Pseudomonas aeruginosa* strain [J]. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 2007, 51(6): 2005-2010.
- [40] Saito T, Kawabata S, Shigenaga T, et al. A novel big defensin identified in horseshoe crab hemocytes: isolation, amino acid sequence, and antibacterial activity [J]. *Journal of biochemistry*, 1995, 117(5): 1131-1137.
- [41] Osaki T, Omotezako M, Nagayama R, et al. Horseshoe crab hemocyte-derived antimicrobial polypeptides, tachystatins, with sequence similarity to spider neurotoxins [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1999, 274(37): 26172-26178.
- [42] Fujitani N, Kouno T, Nakahara T, et al. The solution structure of horseshoe crab antimicrobial peptide tachystatin B with an inhibitory cystine-knot motif [J]. *Journal of Peptide Science*, 2007, 13(4): 269-279.
- [43] Beauregard, K A, Truong N T, Zhang H, et al. The Detection and Isolation of a Novel Antimicrobial Peptide From the Echinoderm *Cucumaria Frondosa*, in *Phylogenetic Perspectives on the Vertebrate* [J]. *Immune System*, 2001, Springer. 55-62.
- [44] Li C, Haug T, Styrvold O B, et al. Strongylocins, novel antimicrobial peptides from the green sea urchin, *Strongylocentrotus droebachiensis* [J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2009, 33(4): 434-438.

- tive Immunology*, 2008, 32(12): 1430-1440.
- [45] Li C, Blencke H, Smith L C, et al. Two recombinant peptides, SpStrongylocins 1 and 2, from *Strongylocentrotus purpuratus*, show antimicrobial activity against Gram-positive and Gram-negative bacteria [J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2010, 34(3): 286-292.
- [46] In I H, Zhao C, Nguyen T, et al. Clavaspilin, an antibacterial and haemolytic peptide from *Styela clava* [J]. *The Journal of peptide research*, 2001, 58(6): 445-456.
- [47] Menzel L P, Lee I H, Sjostrand B, et al. Immunolocalization of clavainins in *Styela clava* hemocytes [J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2002, 26(6): 505-515.
- [48] Lee I H, Cho Y, and Lehrer R I. Styelins, Broad-Spectrum Antimicrobial Peptides from the Solitary Tunicate, *Styela clava* [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 1997, 118(3): 515-521.
- [49] Fedders H, Michalek M, Grotzinger J, et al. An exceptional salt-tolerant antimicrobial peptide derived from a novel gene family of hemocytes of the marine invertebrate *Ciona intestinalis* [J]. *Biochem. J*, 2008, 416: 65-75.
- [50] Tincu J A, Menzel L P, Azimov R, et al. Plicatamide, an antimicrobial octapeptide from *Styela plicata* hemocytes [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2003, 278(15): 13546-13553.
- [51] Azumi K, Yokosawa H and Ishii S. Halocyanins: novel antimicrobial tetrapeptide-like substances isolated from the hemocytes of the solitary ascidian *Halocynthia roretzi*. *Biochemistry*, 1990, 29(1): 159-165.
- [52] Lee I H, Lee Y S, Kim C H, et al. Dicynthaurin: an antimicrobial peptide from hemocytes of the solitary tunicate, *Halocynthia aurantium* [J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 2001, 1527(3): 141-148.
- [53] Jang W S, Kim C H, Kang M S, et al. cDNA cloning of halocidin and a new antimicrobial peptide derived from the N-terminus of Ci-META4 [J]. *Peptides*, 2005, 26(12): 2360-2367.
- [54] Galinier R, Roger E, Sautiere P, et al. Halocytin and papillosin, two new antimicrobial peptides isolated from hemocytes of the solitary tunicate, *Halocynthia papillosa* [J]. *Journal of Peptide Science*, 2009, 15(1): 48-55.
- [55] Teng L, Gao B, and Zhang S. The first chordate big defensin: Identification, expression and bioactivity [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2012, 32(4): 572-577.
- [56] Lazarovici P, Primor N, and Loew L M. Purification and pore-forming activity of two hydrophobic polypeptides from the secretion of the Red Sea Moses sole (*Pardachirus marmoratus*) [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1986, 261(35): 16704-16713.
- [57] Thompson S A, Tachibana K, Nakanishi K, et al. Melittin-like peptides from the shark-repelling defense secretion of the sole *Pardachirus pavoninus* [J]. *Science*, 1986, 233(4761): 341-343.
- [58] Oren Z, and Shai Y. A Class of Highly Potent Antibacterial Peptides Derived from Pardaxin, A Pore Forming Peptide Isolated from Moses Sole Fish *Pardachirus marmoratus* [J]. *European Journal of Biochemistry*, 1996, 237(1): 303-310.
- [59] Noga E J, and Silphaduang U. Piscidins: a novel family of peptide antibiotics from fish [J]. *Drug News Perspect*, 2003, 16(2): 87-92.
- [60] Cole A M, Weis P, and Diamond G. Isolation and characterization of pleurocidin, an antimicrobial peptide in the skin secretions of winter flounder [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1997, 272(18): 12008-12013.
- [61] Patrzykat A, Friedrich C L, Zhang L, et al. Sublethal concentrations of pleurocidin-derived antimicrobial peptides inhibit macromolecular synthesis in *Escherichia coli* [J]. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 2002, 46(3): 605-614.
- [62] Smith V J, Fernandes J. Non-specific antimicrobial proteins of the innate system, in Fish Defences [J], M. J. Zaccane G, Garcia-Ayala A, Kapoor B G, Editor. *Science Publishers*, 2009, 241-275.
- [63] Zou J, Mercier C, Koussounadis A, et al. Discovery of multiple beta-defensin like homologues in teleost fish [J]. *Molecular immunology*, 2007, 44(4): 638-647.
- [64] Silphaduang U, and Noga E J. Antimicrobials: peptide antibiotics in mast cells of fish [J]. *Nature*, 2001, 414(6861): 268-269.
- [65] Chinchar V, Bryan L, Silphadaung U, et al. Inactivation of viruses infecting ectothermic animals by amphibian and piscine antimicrobial peptides [J]. *Virology*, 2004, 323(2): 268-275.
- [66] Sung W S, Lee J, Lee D G. Fungicidal effect and the mode of action of piscidin 2 derived from hybrid striped bass [J]. *Biochemical and biophysical research communications*, 2008, 371(3): 551-555.
- [67] Andrews M, Battaglene S, Cobcroft J, et al. Host response to the chondracanthid copepod *Chondracanthus goldsmidi*, a gill parasite of the striped trumpeter, *Latris lineata* (Forster), in Tasmania [J]. *Journal of fish diseases*, 2010, 33(3): 211-220.
- [68] Dezfuli B S, Pironi F, Giari L, et al. Immunocytochemical localization of piscidin in mast cells of infected seabass gill [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2010, 28(3): 476-482.
- [69] Falco A, Chico V, Marroqui L, et al. Expression and antiviral activity of a β -defensin-like peptide identified in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) EST sequences [J]. *Molecular immunology*, 2008, 45(3): 757-765.

- [70] Casadei E, Wang T, Zou J, et al. Characterization of three novel β -defensin antimicrobial peptides in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Molecular immunology*, 2009, 46(16): 3358-3366.
- [71] Chang C, Zhang Y, Zou J, et al. Two cathelicidin genes are present in both rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and atlantic salmon (*Salmo salar*) [J]. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 2006, 50(1): 185-195.
- [72] Uzzell T, Stolzenberg E D, Shinnar A E, et al. Hagfish intestinal antimicrobial peptides are ancient cathelicidins [J]. *Peptides*, 2003, 24(11): 1655-1667.
- [73] Maier V H, Dorn K V, Gudmundsdottir, B K, et al. Characterisation of cathelicidin gene family members in divergent fish species [J]. *Molecular immunology*, 2008, 45(14): 3723-3730.
- [74] Lauth X, Babon J J, Stannard J A, et al. Bass hepcidin synthesis, solution structure, antimicrobial activities and synergism, and in vivo hepatic response to bacterial infections [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2005, 280(10): 9272-9282.
- [75] Barnes A C, Trewin B, Snape N, et al. Two hepcidin-like antimicrobial peptides in *Barramundi Lates calcarifer* exhibit differing tissue tropism and are induced in response to lipopolysaccharide [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2011, 31(2): 350-357.
- [76] Cho J H, Park I Y, Kim M S, et al. Matrix metalloproteinase 2 is involved in the regulation of the antimicrobial peptide parasin I production in catfish skin mucosa [J]. *FEBS letters*, 2002, 531(3): 459-463.
- [77] Fernandes J M, Kemp G D, Molle M G, et al. Anti-microbial properties of histone H2A from skin secretions of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* [J]. *Biochemical Journal*, 2002, 368(Pt 2): 611.
- [78] Shai Y. Mechanism of the binding, insertion and destabilization of phospholipid bilayer membranes by α -helical antimicrobial and cell non-selective membrane-lytic peptides [J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1999, 1462(1): 55-70.
- [79] Huang H W. Action of antimicrobial peptides: two-state model [J]. *Biochemistry*, 2000, 39(29): 8347-8352.
- [80] Brogden K A. Antimicrobial peptides: pore formers or metabolic inhibitors in bacteria? [J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2005, 3(3): 238-250.
- [81] Yang L, Harroun T A, Weiss T M, et al. Barrel-stave model or toroidal model? A case study on melittin pores [J]. *Biophysical journal*, 2001, 81(3): 1475-1485.
- [82] Campagna S, Saint N, Molle G, et al. Structure and mechanism of action of the antimicrobial peptide piscidin [J]. *Biochemistry*, 2007, 46(7): 1771-1778.
- [83] Befus A D, Mowat C, Gilchrist M, et al. Neutrophil defensins induce histamine secretion from mast cells: mechanisms of action [J]. *The Journal of Immunology*, 1999, 163(2): 947-953.
- [84] Chaly Y, Paleolog E M, Kolesnikova T S, et al. Neutrophil-defensin human neutrophil peptide modulates cytokine production in human monocytes and adhesion molecule expression in endothelial cells [J]. *Eur. Cytokine Netw*, 2000, 11: 257-266.
- [85] Ding Y, Liu X, Bu L, et al. Antimicrobial-immunomodulatory activities of zebrafish phosphatidylcholine-derived peptide Pt5 [J]. *Peptides*, 2012, 37(2): 309-13.
- [86] Chiou P, Khoo J, Bols N C, et al. Effects of linear cationic α -helical antimicrobial peptides on immune-relevant genes in trout macrophages [J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2006, 30(9): 797-806.

Antimicrobial peptides from marine invertebrates and fish

DING Yun-chao, ZHANG Shi-cui*

(Department of Marine Biology, Institute of Evolution & Marine Biodiversity,
Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Abstract: Antimicrobial peptides are a group of peptides that possess antimicrobial activity. Marine invertebrates and fish are representatives of marine biodiversity, and sources for finding novel antimicrobial peptides with particular structures and functions. A variety of antimicrobial peptides have been identified from marine invertebrates including Cnidaria, Mollusca, Annelida, Arthropoda, Echinodermata and Protochordata, and vertebrates such as fish. Here we make a brief introduction to the progress on study of antimicrobial peptides, mode of action and prospects.

Key words: antimicrobial peptides; antimicrobial activity; invertebrates; fish