

天蚕素抗菌肽的研究进展

杜淑环^{1,2} 刘秀明^{1,2} 万秋^{1,2} 杨晶¹ 王艳芳¹ 李海燕^{1,2*} 李校堃^{1*}

(1. 吉林农业大学生物反应器与药物开发教育部工程研究中心, 长春 130118;

2. 吉林农业大学生命科学学院, 长春 130118)

摘要: 天蚕素抗菌肽(cecropins)是一种具有广谱抗微生物活性的新型肽类化合物,是最具潜力的抗生素替代品之一。本文综述了天蚕素抗菌肽的结构、来源、生物作用,重点介绍了天蚕素抗菌肽的应用,并对其存在的问题和未来发展前景进行分析。

关键词: 天蚕素;抗菌肽

中图分类号: S816.7

文献标识码: A

文章编号: 1006-267X(2012)01-0041-07

抗菌肽(antimicrobial peptides, AMPs)是生物体经诱导产生的具有抗菌活性的一类小分子多肽,具有抗菌谱广、抗菌活性高、不易产生耐药性、不破坏生物体细胞、无免疫原性等特点,作为理想的抗生素替代品,正受到人们越来越多的重视。目前,国内外学者主要采用基因工程技术使抗菌肽得到大批量的表达。早在1972年,瑞典科学家Boman等^[1]首次用大肠杆菌诱导惜古比天蚕(*Hyatophora cecropia*),从其血淋巴中分离得到天蚕素抗菌肽。Boman等^[2]又进一步测定了天蚕素抗菌肽A和B的一级结构,随后天蚕素抗菌肽相继被分离、纯化,并且其氨基酸的结构特征和基因序列得到确定。到目前为止,天蚕素抗菌肽共有A、B、C、D、E 5种结构^[3],另外还发现多种类似物。天蚕素抗菌肽是目前研究最清楚、效果最明显的抗菌肽。因此,本文综述了天蚕素抗菌肽的结构、来源、生物作用及天蚕素抗菌肽的应用,并对其存在的问题和未来发展前景进行分析。

1 天蚕素抗菌肽的结构

天蚕素抗菌肽一级结构由31~39个氨基酸残基组成,分子质量大约为4 ku,一般不含半胱氨

酸(Cys),此类抗菌肽不能形成分子内的二硫键,并且含有强碱性的N端和强疏水性的C端,C端酰胺化。在肽链的许多特定位置有较保守的残基,如2位上的色氨酸(Trp),5、8和9位有1个或2个赖氨酸(Lys),11位是天冬氨酸(Asp),12位是精氨酸(Arg)。有些位置尽管残基不同,但仍为保守替换^[4]。

Boman等^[5]对天蚕素抗菌肽二级结构的CD谱和二维核磁共振数据的研究表明,其分子结构含有2个 α -螺旋:5~21位为第1个螺旋,该螺旋为双亲性 α -螺旋;25~37位为第2个 α -螺旋,其疏水氨基酸含量高,故该 α -螺旋疏水性强。2个 α -螺旋间由22~24位的丙氨酸-甘氨酸-脯氨酸(Ala-Gly-Pro)组成的铰链区(也称结部)连接。天蚕素抗菌肽的螺旋-卷曲-螺旋结构特点对保持高抗菌活性具有特殊的重要性,而酰胺化的C端则对其广谱作用极为重要。

2 天蚕素抗菌肽的来源

2.1 生物提取

天蚕素抗菌肽是动植物自身产生的具有抗菌作用的一类小分子蛋白质,可以用生物提取法获

收稿日期:2011-07-07

基金项目: 吉林省科技厅“利用紫花苜蓿作为反应器生产抗菌肽的研究”(20100147);吉林农业大学校内启动基金“抗菌肽转基因紫花苜蓿的表达研究”(201032);吉林省科技厅“表达 β -Gal-3基因的转基因紫花苜蓿及抑菌活性研究”(20090244);温州市科技局“利用紫花苜蓿作为反应器生产抗菌肽的研究”(S20100043)

作者简介: 杜淑环(1987—),女,吉林长春人,硕士研究生,从事作物生物技术及植物反应器的研究。E-mail: 308269170@qq.com

*** 通讯作者:** 李海燕,教授,硕士生导师,E-mail: hylh99@163.com;李校堃,教授,博士生导师,E-mail: xiaokunli@163.net

得。生物提取法包括有机溶剂提取法、水浸提法和有机酸提取法等,具有原料来源广、工艺相对简单、产量大等优点。范涛等^[6]对家蚕进行饥饿、电击和注射大肠杆菌(*Escherichia coli*)等诱导处理后,采用乙酸浸提法提取家蚕抗菌肽,结果3种诱导源诱导家蚕产生的抗菌肽对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)和四联球菌(*Micrococcus tetragenus*)等细菌均有抑菌活性。

2.2 人工合成

随着人们对抗菌肽结构研究的深入,化学合成也是一条较好的获得抗菌肽的途径。徐飞等^[7]通过模板链编码、纯化、连接、克隆等一系列步骤获得天蚕素抗菌肽D基因。谢毅等^[8]经过分离、纯化、拼接、克隆等一系列步骤合成了一个以植物偏爱的遗传密码子编码的天蚕素抗菌肽B基因。桑春果等^[9]人工设计并合成了抗菌肽B基因的4个寡聚核苷酸片段,通过重叠区扩增法,扩增出了相当于抗菌肽B基因全长的寡聚核苷酸片段。

3 天蚕素抗菌肽的生物学作用

3.1 抗菌作用

天蚕素抗菌肽对革兰氏阴性及阳性细菌均有较强的抗菌作用。罗振福等^[10]研究结果表明,天蚕素抗菌肽对大肠杆菌、沙门氏菌(*Salmonella*)、金黄色葡萄球菌均有很强的抑制作用,但其对于链球菌(*Streptococcus*)没有抑制效果。Fedders等^[11]报道,抗菌肽Ci-MAM-A24对金黄色葡萄菌属和铜绿假单胞菌属(*Chloropseudomonas*)有很强的抗性。Wu等^[12]报道,抗菌肽对肺炎克雷伯菌(*Klebsiella pneumoniae*)、阴沟肠杆菌(*Enterobacter cloacae*)、产气肠杆菌(*Enterobacter aerogenes*)、解鸟氨酸克雷伯菌(*Klebsiella ornithinolytica*)有很强的抗性,克雷伯菌属的最小抑菌浓度在0.004~0.016 mg/mL之间,且致病菌对其不会产生抗药性。

3.2 抗病毒作用

天蚕素抗菌肽对DNA、RNA病毒有很强的抑制作用。Wachinger等^[13]报道,天蚕素抗菌肽能抑制艾滋病病毒HIV-1的基因表达,从而减少HIV-1的增殖。Chia等^[14]用鱼细胞做模型,表明抗菌肽可以黏附在神经坏死病毒的病毒簇上,使病毒溶解。

3.3 抗肿瘤作用

近年来,天蚕素抗菌肽在肿瘤细胞上的作用的研究已被广泛开展。郭玉梅等^[15]报道,天蚕素抗菌肽对肿瘤有明显的抑制作用,抑瘤率高达50.88%。胡云龙^[16]和许玉澄等^[17]报道,家蚕抗菌肽对小鼠S180肉瘤细胞和子宫瘤细胞有明显的抑制作用,抑瘤率达30%~50%,但对外周血白细胞数量没有影响。邵喜明等^[18]已合成杂合肽P18,发现P18对K562、Jurkat等多种肿瘤细胞株有抑制效果,同时不会诱导溶血。Cerón等^[19]的研究结果表明,天蚕素抗菌肽A可以诱导人早幼粒白血病细胞的死亡。孙彬斌等^[20]研究表明,天蚕素A2爪蟾素2杂合肽P18能够引起人类乳腺癌细胞株MDA2MB2435的细胞膜通透性改变而导致细胞坏死。Suttmann等^[21]报道抗菌肽家族对膀胱癌细胞有很强的抑制作用。

4 天蚕素抗菌肽的应用

4.1 天蚕素抗菌肽在微生物方面的应用

天蚕素抗菌肽在微生物方面的应用研究起步较早,主要是在大肠杆菌和毕赤酵母菌体内实现对天蚕素抗菌肽的表达。迄今为止,人们已经利用微生物成功表达合成了多种天蚕素抗菌肽(表1),利用微生物表达的天蚕素抗菌肽包括单基因、融合基因以及杂合肽等。

4.2 天蚕素抗菌肽在动物方面的应用

抗菌肽在转基因动物中的研究起步较晚,Sarmasik等^[46]将重组天蚕素抗菌肽B和天蚕素抗菌肽P1单细胞克隆入契努克鲑鱼(*Chinook salmon*)胚胎细胞(CHSE-214)中,结果发现,CHSE-214表达出来的天蚕素抗菌肽对嗜水气单胞菌(*Aeromonas hydrophila*)、荧光假单胞菌(*Pseudomonas fluorescens*)与安圭拉弧菌(*Vibrio anguillarum*)等3种鱼类病原菌均有很强的抑制作用。Durvasula等^[47]成功地获得1个转天蚕素A基因共生菌,并将此共生菌转化到昆虫长红猎蝽(*Rhodnius prolixus*)中,使长红猎蝽感染锥虫数量明显减少或消失。Kokoza等^[48]将抗菌肽A和防御素A结合的基因转化到埃及伊蚊(*Aedes aegypti*)中,结果显示转基因的蚊子感染疟疾的几率大大降低,说明抗菌肽A和防御素A可以阻断疟原虫传播。温刘发等^[49]应用含抗菌肽的柞蚕免疫血淋巴粉添加于断奶仔猪饲料中,试验结果表明,柞蚕抗菌肽可减轻

断奶仔猪的腹泻。巨噬细胞在巨噬细胞特异性启动因子的诱导下,使抗菌肽 PR-39 在巨噬细胞中进行表达,从而抑制肠炎沙门菌亚属 (*Salmonella enterica*) 在细胞中的生长^[50]。天蚕素抗菌肽 B 可以提高鼠模型的抗病能力^[51]。Pan 等^[52]用抗菌肽和鸭疫里氏杆菌 (*Riemerella anatipestifer*) 菌液直接注射到鸭子的腹部,通过电子放射显微镜观察,抗菌肽可以附在细菌质膜上使细菌溶解,从而使得鸭子的染病率和死亡率降低。

表 1 微生物表达天蚕素抗菌肽的宿主及类型
Table 1 The hosts and types of microbe expression cecropins

表达宿主 Expression hosts	表达的抗菌肽类型 Expression types of cecropins
大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i>	天蚕素抗菌肽 A ^[22-24]
	天蚕素抗菌肽 B ^[25]
	天蚕素抗菌肽 AD ^[26]
	天蚕素抗菌肽 B 突变体 ABP-S1 基因 ^[27]
	天蚕素抗菌肽 A 与蛙皮素杂合肽 ^[28]
酵母 Yeast	家蝇抗菌肽与人溶菌酶杂合肽 ^[29]
	天蚕素抗菌肽 B 和表皮生长因子融合蛋白 ^[30]
	蛔虫抗菌肽 P1 ^[31]
	天蚕素抗菌肽 B ^[32]
毕赤酵母 <i>Pichia pastoris</i>	柞蚕抗菌肽 D 与成纤维细胞生长因子基因 ^[33]
	天蚕素抗菌肽 AD ^[34-35]
	家蚕抗菌肽 ^[36]
	天蚕素抗菌肽 B ^[37-39]
	天蚕素抗菌肽 A 与蜂毒素杂合肽 ^[40]
枯草杆菌 <i>Bacillus subtilis</i>	天蚕素类杂合肽突变体 ^[41]
	天蚕素抗菌肽 AD ^[42-43]
	天蚕素抗菌肽 D ^[44]
	天蚕素抗菌肽 AD ^[45]

4.3 天蚕素抗菌肽在植物方面的应用

4.3.1 天蚕素抗菌肽在植物育种方面的应用

植物育种是培育出高产、抗病、耐旱等性状优良品种的主要方法,传统的植物育种工作量大,工作时间长,易被病虫害等因素影响而降低效率。由此,通过基因工程手段使植物定向重组遗传物质,为培育植物新品种提供了新思路。

方宏筠等^[53]用含目的基因的农杆菌 (*Agrobacterium*) 菌液侵染樱桃茎尖,将天蚕素抗菌肽 B 和 Shiva A 转化到樱桃矮化砧木,经 Gus 染色、Southern 印迹杂交和抑菌试验表明,抗菌肽基

因在转化植株中已得到有效表达,成功得到抗根瘤病植株,现在樱桃的抗菌肽植株已由农业部批准进入田间试验。贾士荣等^[54]改造并合成了比天蚕素抗菌力更强的天蚕素抗菌肽 B、m cecropin B、Shiva A 及 WHD 等基因,并导入马铃薯中,获得了 1 050 个转基因株系,转基因的马铃薯抗病性比起始品种提高 1~3 级。廖富苹等^[55]利用农杆菌介导技术获得了转柞蚕抗菌肽 D 基因辣椒,以 T4 代转基因辣椒为试验材料,从核酸和蛋白质水平对目的基因进行了检测,发现辣椒组织中含有抑菌物质,成功获得了具有抗青枯病能力的转抗菌肽基因辣椒。He 等^[56]用农杆菌介导法将 Shiva A 和天蚕素抗菌肽 B 分别侵染甜橙和脐橙的成熟腋芽,使其表达,经 PCR 和 Southern 印迹杂交结果表明,Shiva A 和天蚕素抗菌肽 B 基因都已整合入橙子基因组,转化率达到 8%。黄单胞菌 (*Xanthomonas*) 活体接种结合大田种植试验表明,转基因植株发病率明显低于原始品种。

4.3.2 天蚕素抗菌肽在植物抑菌方面的应用

在植物生产中,植物病虫害是使作物产量下降的主要原因,一般损失 40% 左右,严重时可造成绝产。为解决此类问题,人们将抗菌肽基因引入植物中,获得较高生产性能和抗病能力的植株 (表 2)。

4.3.3 天蚕素抗菌肽在植物其他方面的应用

Florack 等^[66]用天蚕素抗菌肽 B 基因转化到烟草中,发现其 mRNA 表达量提高。贾云超等^[67]研究表明,在处理种子时,用 0.12 mg/mL 抗菌肽溶液浸泡棉花去壳种子能有效地防止真菌污染,并且抗菌肽对愈伤及生芽、生根没有影响。Zakharchenko 等^[68]将天蚕素抗菌肽 P1 转化到烟草中,以抗菌肽对细菌的天然抗性为筛选标记,成功构建了无选择标记的转化体系。

5 存在的问题及展望

天蚕素抗菌肽抗菌广谱、不易产生抗药性,具有作为新一类药物的潜能,有广阔的应用前景,但是目前抗菌肽的研究开发中还存在一些问题:1) 还有一些细菌对抗菌肽不敏感,在抗菌肽应用时会存在一定的安全风险;2) 抗菌肽分子小,天然提取工艺复杂、成本昂贵,很难大规模生产;3) 抗菌肽分子在体内容易被蛋白酶降解,需要改进已有抗菌肽和设计新型抗菌肽分子,既要使其稳定性

提高,又要保持其较高的抗菌活性;4)天蚕素抗菌肽的毒理和药理、药效方面的研究还很少,抗菌肽

在动物体内和人体内的影响还需要做进一步研究。

表 2 天蚕素抗菌肽在植物抑菌方面的研究

Table 2 Researches on resistance to bacterial infection of plants by cecropins

植物受体 Plant receptors	天蚕素抗菌肽类型 Types of cecropins	研究结果 Research results
烟草 Tobacco	天蚕素抗菌肽 B 天蚕素抗菌肽 A	获得抗青枯病转基因烟草 ^[57] 转基因植株抗真菌活性增加 ^[58]
番茄 Tomatoes	天蚕素抗菌肽 B	转基因番茄对油菜黄单胞菌、青枯病菌和野油菜黄单胞菌有很强的抑制作用 ^[59]
水稻 Rice	天蚕素抗菌肽 B 天蚕素抗菌肽 A	转基因水稻产生的白叶枯病病斑减少 ^[60] 转基因水稻抗真菌能力增强 ^[61]
马铃薯 Potato	天蚕素抗菌肽 P1	转基因马铃薯感染枯萎病的几率显著降低 ^[62]
甜橘 Sweet orange	天蚕素抗菌肽 B	转基因植物对真菌、霉菌的抵抗力显著增强 ^[56]
鱼腥草 Heartleaf houttuynia herb	天蚕素抗菌肽 B 与兔 NP-1 融合基因	转基因植株对大肠杆菌和丝状真菌的抗菌活性增加 ^[63]
植物 Plants	天蚕素抗菌肽 B	转基因植物对真菌、霉菌的抵抗力显著增强 ^[64]
红薯 Sweet potato	蜂毒素类抗菌肽	转基因植株的抗细菌和真菌能力增强 ^[65]

通过以上的研究结果表明:一方面,天蚕素抗菌肽多是应用微生物进行生产,即使用植物进行表达,大多是集中在育种和抗病性方面的研究,而利用植物作为反应器生产天蚕素抗菌肽的研究未见报道。本实验室利用紫花苜蓿作为反应器生产天蚕素抗菌肽,使抗菌肽在苜蓿体内表达,降低了生产抗菌肽的成本;另一方面,收获的转基因苜蓿植株可以晾干后直接粉碎,做成一定剂型,直接食用,这样既可发挥抗菌肽的抗菌功能,又可吸收苜蓿的营养成分,真正做到“食药同源”。

在抗生素耐药性日益严重、病毒病和肿瘤仍未攻克的今天,抗菌肽的出现无疑为人们寻找理想的抗菌、抗病毒和抗肿瘤药物提供新的研究方向。随着抗菌肽及其转基因技术在理论和应用上更深入的研究,抗菌肽将为开发新的抗菌素、抗病药物和肿瘤抑制剂开辟广阔的前景,最终将会在农业、医药、食品等领域发挥重要的作用,为人类创造巨大的价值。

参考文献:

[1] BOMAN H G, NILSSON I, RASMUSON B. Inducible antibacterial defence system in drosophila [J]. Nature, 1972, 237 (5352): 232 - 235.

[2] BOMAN H G, FAY I, HOFSTEN P, et al. On the primary structures of lysozyme, cecropins and attacins

from *Hyalophora cecropia* [J]. Developmental and Comparative Immunology, 1985, 9 (3): 551 - 558.

[3] HONG S M, KUSAKABE T, LEE J M, et al. Structure and expression analysis of the cecropin-E gene from the silkworm, *Bombyx mori* [J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2008, 72 (8): 1992 - 1998.

[4] 董占鹏. 蚕类抗菌肽及其研究进展 [J]. 蚕学通讯, 2003, 23 (3): 14 - 20.

[5] BOMAN H G, FAYE I, GUDMUNDSSON G H, et al. Cell-free immunity in cecropia A model system for antibacterial proteins [J]. European Journal of Biochemistry, 1991, 201 (1): 23 - 31.

[6] 范涛,代君君,周业奉,等. 家蚕抗菌肽的诱导及其抑菌作用研究 [J]. 中国农学通报, 2009, 25 (21): 30 - 32.

[7] 徐飞,施文,王启松,等. 柞蚕抗菌肽 D 基因的合成 [J]. 科学通报, 1988 (21): 1656 - 1659.

[8] 谢毅,闵永洁,贾世荣,等. 天蚕抗菌肽 B 基因的化学合成及克隆 [J]. 生物工程学报, 1990, 6 (4): 311 - 315.

[9] 桑春果,张开春,张军科,等. 重叠区扩增法合成抗菌肽 B 基因 [J]. 西北农林科技大学学报, 2002, 30 (1): 65 - 69.

[10] 罗振福,李俊波,李俊波. 天蚕素类抗菌肽抗菌性能测定及其性质研究 [J]. 家畜生态学报, 2009, 30 (1): 73 - 77.

- [11] FEDDERS H, PODSCHUN R, LEIPPE M, et al. The antimicrobial peptide Ci-MAM-A24 is highly active against multidrug-resistant and anaerobic bacteria pathogenic for humans [J]. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2010, 36(3):264–266.
- [12] WU G Q, LI X F, FAN X B, et al. The activity of antimicrobial peptide S-thanatin is independent on multidrug-resistant spectrum of bacteria [J]. *Peptides*, 2011, 32(6):1139–1145.
- [13] WACHINGER M, KLEINSCHMIDET A, WINDER D, et al. Antimicrobial peptides melittin and cecropin inhibit replication of human immunodeficiency virus 1 by suppressing viral gene expression [J]. *Journal of General Virology*, 1998, 79(4):731–740.
- [14] CHIA T J, WU Y C, CHEN J Y, et al. Antimicrobial peptides (AMP) with antiviral activity against fish nodavirus [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2010, 28(3):434–439.
- [15] 郭玉梅,戴祝英,胡云龙. 家蚕抗菌肽的一些性质及抗肿瘤活性[J]. *南京师大学报*, 1995, 18(1):62–67.
- [16] 胡云龙. 天然抗菌肽分离、纯化及其抑制肿瘤细胞的作用[M]. 北京:中国农业出版社, 1996:89–97.
- [17] 许玉澄,张双全,戴祝英. 家蚕抗菌肽的抗癌作用[J]. *动物学研究*, 1998, 19(4):263–268.
- [18] 邵喜明,赵晓军. 源自天蚕素 A 和爪蟾素 2 的杂合肽 P18 体外抑制内皮细胞血管生成[J]. *四川动物*, 2009, 28(5):661–664.
- [19] CERÓN J M, CONTRAS-MORENO J, PUERTOLANO E, et al. The antimicrobial peptide cecropin A induces caspase-independent cell death in human promyelocytic leukemia cells [J]. *Peptides*, 2010, 31(8):1494–1503.
- [20] 孙彬斌,赵晓军. 天蚕素 A2 爪蟾素 2 杂合肽 P18 对 MDA2MB2435s 乳腺癌细胞的作用研究[J]. *四川动物*, 2010, 29(1):41–44.
- [21] SUTTMANN H, RETZ M, PAULSEN F, et al. Antimicrobial peptides of the cecropin- family show potent antitumor activity against bladder cancer cells [J]. *BMC Urology*, 2008, 8:5.
- [22] 杨细媚,文阳安,万祥辉,等. 天蚕素 A 截短肽在大肠埃希菌中的高效表达及活性分析[J]. *中国抗生素杂志*, 2010, 35(1):20–23.
- [23] XU X X, JIN F L, YU X Q, et al. Expression and purification of a recombinant antibacterial peptide, cecropin, from *Escherichia coli* [J]. *Protein Expression and Purification*, 2007, 53(2):293–301.
- [24] ZHENG X L, WANG W. High-level expression of housefly cecropin A in *Escherichia coli* using a fusion protein [J]. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 2010, 3(6):421–426.
- [25] YU F X, WANG J G, ZHANG P, et al. Fusion expression of cecropin B-like antibacterial peptide in *Escherichia coli* and preparation of its antiserum [J]. *Biotechnology Letters*, 2010, 32(5):669–673.
- [26] 张贞,柯涛,周玉玲,等. 利用融合蛋白 EDDIE 在大肠杆菌中高效表达抗菌肽 Cecropin AD [J]. *生物工程学报*, 2009, 25(8):1247–1253.
- [27] 卢强,刘维全,赵凤芹,等. 抗菌肽天蚕素 B 突变体 ABP-S1 基因在 *E. coli* 中的融合表达[J]. *中国兽医学报*, 2002, 3(15):241–243.
- [28] 冯惟萍,韩跃武,任慧子,等. 天蚕素 A – 蛙皮素杂合肽突变体的构建、表达及其抗菌活性[J]. *中国生物制品学杂志*, 2008, 21(9):752–755.
- [29] LU X M, JIN X B, ZHU J Y, et al. Expression of the antimicrobial peptide cecropin fused with human lysozyme in *Escherichia coli* [J]. *Applied Microbiology Biotechnology*, 2010, 87(6):2169–2176.
- [30] 万一,沈卫荣,韩丽萍,等. 天蚕素 B 和表皮生长因子融合蛋白的原核表达、纯化与发酵[J]. *中国生物制品学杂志*, 2009, 22(11):1075–1079.
- [31] 崔勇,仲维霞,孔凡红,等. 蛔虫抗菌肽 Cecropin P1 基因在大肠埃希菌 BL21 (DE3) 中的表达[J]. *中国病原生物学杂志*, 2009, 4(7):532–534.
- [32] JIN F L, XU X X, ZHANG W Q, et al. Expression and characterization of a housefly cecropin gene in the methylotrophic yeast, *Pichia pastoris* [J]. *Protein Expression and Purification*, 2006, 49(1):39–46.
- [33] 吴映雅,刘飞鹏,周天鸿,等. 抗菌肽与碱性成纤维细胞生长因子基因的融合及其在酵母中的表达[J]. *生物工程进展*, 1998, 18(5):11–15.
- [34] 郑青,黄自然,姚汝华,等. 人工合成 Cecropin AD 基因在酵母中表达[J]. *蚕业科学*, 1999, 25(3):175–180.
- [35] JIN F L, XU X X, YU X Q, et al. Expression and characterization of antimicrobial peptide cecropin AD in the methylotrophic yeast, *Pichia pastoris* [J]. *Process Biochemistry*, 2009, 44(1):11–16.
- [36] 唐馨,王慧,热西力·克来木,等. 新疆家蚕抗菌肽在毕赤酵母中表达及活性研究[J]. *生物技术*, 2011, 21(2):26–31.
- [37] 扈进冬,郭勇,吴远征,等. 天蚕抗菌肽 B 在毕赤酵母中的表达[J]. *山东科学*, 2006, 19(6):19–22.
- [38] 王秀青,张素芳,曹瑞兵,等. 抗菌肽天蚕素 B 基因

- 及其串联体在毕赤酵母中的表达[J]. 南京农业大学学报, 2007, 30(3): 120–123.
- [39] 扈进冬, 吴远征, 张广志, 等. 天蚕抗菌肽 B 基因在毕赤酵母中多拷贝表达载体的构建[J]. 山东科学, 2008, 21(5): 20–24.
- [40] 储卫华, 李大力. 抗菌肽基因在毕赤酵母中分泌表达及其条件优化[J]. 农业生物技术学报, 2006, 14(6): 976–980.
- [41] 王秀青, 朱明星, 张爱君, 等. 天蚕素类杂合肽 cecropin A-magainin 突变体的合成以及在毕赤酵母中的分泌表达[J]. 东北农业大学学报, 2009, 40(11): 95–98.
- [42] 王珍, 姜建阳, 祝发明, 等. 抗菌肽 Cecropin AD 在毕赤酵母中的组成型表达的研究[J]. 中国畜牧杂志, 2010, 46(5): 51–54.
- [43] 黄亚东, 郑青, 李校奎, 等. 抗菌肽 AD 基因的改造及在毕赤酵母中的表达[J]. 华南理工大学学报, 2002, 30(2): 13–16.
- [44] 尹娜, 李鸿钧, 彭梅, 等. 抗菌肽 Cecropin D 在毕赤酵母中的表达、纯化及活性鉴定[J]. 中国生物制品学杂志, 2008, 21(3): 185–189.
- [45] CHEN X, ZHU F M, CAO Y H, et al. Novel expression vector for secretion of cecropin AD in *Bacillus subtilis* with enhanced antimicrobial activity[J]. American Society for Microbiology, 2009, 53(9): 3683–3689.
- [46] SARMASIK A, CHEN T T. Bactericidal activity of cecropin B and cecropin P1 expressed in fish cells (CHSE-214): application in controlling fish bacterial pathogens[J]. Aquaculture, 2003, 220(1/2/3/4): 183–194.
- [47] DURVASULA R V, GUMBS A, PANACKAL A, et al. Prevention of insect-borne disease: an approach using transgenic symbiotic bacteria[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1997, 94(7): 3274–3279.
- [48] KOKOZA V, AHMED A, WOON S, et al. Blocking of *Plasmodium* transmission by cooperative action of cecropin A and defensin A in transgenic *Aedes aegypti* mosquitoes[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2010, 107(18): 8111–8116.
- [49] 温刘发, 何丹林, 张长明, 等. 抗菌肽酵母制剂作为饲料添加剂的应用前景[J]. 中国饲料, 2001, 23: 22–23.
- [50] WEN Y A, YU X L, XIA Q F, et al. Macrophage-specific overexpression of antimicrobial peptide PR-39 inhibits intracellular growth of *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium* in macrophage cells[J]. International Journal of Antimicrobial Agents, 2009, 34(4): 315–321.
- [51] GHISELLI R, GIACOMETTI A, CIRIONI O, et al. Cecropin B enhances beta lactams activities in experimental rat models of gram-negative septic shock[J]. Annals of Surgery, 2004, 239(2): 251–256.
- [52] PAN C Y, CHOW T Y, YU C Y, et al. Antimicrobial peptides of an anti-lipopolysaccharide factor, epinecidin-1, and hepcidin reduce the lethality of *Riemerella anatipestifer* sepsis in ducks[J]. Peptides, 2010, 31(5): 806–815.
- [53] 方宏筠, 王关林, 王火旭, 等. 抗菌肽基因转化樱桃矮化砧木获得抗根瘤病的转基因植株[J]. 植物学报, 1999, 41(11): 1192–1198.
- [54] 贾仕荣, 屈贤铭. 马铃薯抗菌肽基因工程[M]. 北京: 中国农业出版社, 1996.
- [55] 廖富苹, 钟杨生, 邓平建, 等. 转柞蚕抗菌肽 D 基因辣椒的目的基因及表达产物检测[J]. 蚕业科学, 2005, 31(2): 155–160.
- [56] HE Y R, CHEN S C, PENG A H, et al. Production and evaluation of transgenic sweet orange (*Citrus sinensis* osbeck) containing bivalent antibacterial peptide genes (shiva A and cecropin B) via a novel *Agrobacterium*-mediated transformation of mature axillary buds[J]. Scientia Horticulturae, 2011, 128(2): 99–107.
- [57] 李乃坚, 袁四清, 蒲汉丽, 等. 抗菌肽 B 基因转化烟草及转基因植株抗青枯病的鉴定[J]. 农业生物技术学报, 1998, 6(2): 178–184.
- [58] YEVTUSHENKO D P, ROMERO R, FORWARD B S, et al. Pathogen-induced expression of a cecropin A-melittin antimicrobial peptide gene confers antifungal resistance in transgenic tobacco[J]. Phyton-International Journal of Experimental Botany, 2005, 56(416): 1685–1695.
- [59] JAN P S, HUANG H Y, CHEN H M, et al. Expression of a synthesized gene encoding cationic peptide cecropin B in transgenic tomato plants protects against bacterial diseases[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2010, 76(3): 769–775.
- [60] SHARMA A, SHARMA R, IMAMURA M, et al. Transgenic expression of cecropin B, an antibacterial peptide from *Bombyx mori*, confers enhanced resistance to bacterial leaf blight in rice[J]. FERS letters, 2000, 484(1): 7–11.
- [61] COCA M, PEÑAS G, GÓMEZ J, et al. Enhanced

- resistance to the rice blast fungus *Magnaporthe grisea* conferred by expression of a cecropin A gene in transgenic rice[J]. *Planta*, 2006, 223(3):392–406.
- [62] ZAKHARCHENKO N S, RUKAVTSOVS E B, GUDKOV A T, et al. Expression of the artificial gene encoding anti-microbial peptide cecropin P1 increases the resistance of transgenic potato plants to potato blight and white rot[J]. *Doklady Biological Sciences*, 2007, 415(1):267–269.
- [63] 董燕, 张莹, 易浪, 等. 抗菌肽 cecropin B 和兔 NP-1 融合基因转化鱼腥草的研究[J]. *中国中药杂志*, 2010, 35(13):1660–1665.
- [64] OARD S V, ENRIGHT F M. Expression of the anti-microbial peptides in plants to control phytopathogenic bacteria and fungi[J]. *Plant Cell Reports*, 2006, 25(6):561–572.
- [65] VUTTO N L, GAPEEVA T A, PUNDIK A N, et al. Transgenic belarussian-bred potato plants expressing genes for antimicrobial peptides of the cecropin-melittin type[J]. *Russian Journal of Genetics*, 2010, 46(12):1433–1439.
- [66] FLORACK D, ALLEFS S, BOLLEN R, et al. Expression of giant silkworm cecropin B genes in tobacco[J]. *Transgenic Research*, 1995, 4(2):132–141.
- [67] 贾云超, 白玮, 张锐, 等. 抗菌肽在棉花、烟草组织培养中的应用初探[J]. *中国农业科技导报*, 2008, 10(3):97–101.
- [68] ZAKHARCHENKO N S, PIGOLEVA S V, IUKHMANOVA A A, et al. Use of the gene of antimicrobial peptide cecropin P1 for producing marker-free transgenic plants[J]. *Russian Journal of Genetics*, 2009, 45(8):929–933.

Cecropins as Antimicrobial Peptides

DU Shuhuan^{1,2} LIU Xiuming^{1,2} WAN Qu^{1,2} YANG Jing¹
WANG Yanfang¹ LI Haiyan^{1,2*} LI Xiaokun^{1*}

(1. *Engineering Research Center of Bioreactor and Pharmaceutical Development of Ministry of Education, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China*; 2. *College of Life Sciences, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China*)

Abstract: Cecropins are novel antimicrobial peptides, which are one of the most promising alternatives to antibiotics. They sever as a defense against microbial pathogens in a wide range. This paper reviews the structure, source, biological function of cecropins and their application in plants and animals, and discusses their existing problems and perspectives. [*Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2012, 24(1):41-47]

Key words: cecropins; antimicrobial peptides

* Corresponding author, LI Haiyan, professor, E-mail: hyl99@163.com; LI Xiaokun, professor, E-mail: xiaokunli@163.net