

鱼类抗菌肽的研究进展

单 红,周国勤,朱银安,王 庆

(南京市水产科学研究所,江苏 南京 210036)

摘 要 抗菌肽是一类广泛存在于生物界的小分子短肽,具有广谱的抗菌、抗病毒、抗寄生虫及抗癌等生物活性。它是鱼类自身先天免疫系统的重要组成部分,结构复杂,种类繁多。本文综述了目前发现的鱼类抗菌肽的结构特点、种类、生物学功能、抗菌机制以及基因工程上的研究进展。

关键词 鱼类抗菌肽;生物学功能;抗菌机制;基因工程

中图分类号:Q176 文献标识码:A 文章编号:1004-2091(2012)01-0020-06

抗菌肽(Antimicrobial Peptides,AMP)原指昆虫体内经诱导而产生的一类分子量在 4 KD 左右,具有抗菌活性的碱性多肽物质。最初是瑞典科学家 Boman^[1]在研究惜古比天蚕(*Hyatophora cecropia*)的免疫机制时,发现其滞育蛹经外界刺激诱导后,其血淋巴中产生了具有抑菌作用的多肽物质,这类抗菌多肽即被命名为天蚕素(Cecropins)。后来,从其他昆虫以及两栖类动物、哺乳动物甚至人中,也分离到结构相似的抗菌多肽。迄今为止,在不同动物组织中已发现了很多具有抗菌作用的蛋白质和多肽,已有 100 多种抗菌多肽的结构被测定,抗菌肽已成为免疫学和分子生物学研究的热点。

鱼类是一种低等脊椎动物,生活在富含各种微生物的水环境中,其免疫系统还不够完善,但非特异性免疫系统却非常发达,抗菌肽作为鱼类非特异性免疫系统的重要组成部分,在其受到损伤或病原微生物侵袭时,能够迅速产生并在体内扩散以防御和杀伤病原微生物的侵入。因此,鱼类抗菌肽的开发研究,将会为鱼类病害防治开辟新途径,促进渔业的新发展。

1 鱼类抗菌肽的结构特点和分类

鱼类抗菌肽是一类具有广谱抗菌活性的小分子多肽,结构与组成复杂多样,对于不同鱼类,分子结构和作用机制差异比较大。同一种鱼在体内不同组织也可能产生不同的抗菌肽。从已报道的鱼类抗菌肽氨基酸序列分析,它们并没有很高的同源性,但结构上存在一定的共同特征,如含有较多精氨酸

或赖氨酸而使分子带正电;含有较多疏水氨基酸,可使分子折叠成疏水或双亲性 α 螺旋结构等^[2-3]。根据不同的蛋白质序列组成和结构特点可分为 4 种类型。

1.1 不含半胱氨酸形成 α 螺旋结构

该类抗菌肽能折叠成疏水或双亲性 α 螺旋结构,有利于其穿透细菌胞膜,产生直接抗菌活性。这类分子包括来源于虹鳟血清的 salmocidin、八目鳗小肠的 HFIAPs (hag fish intestinal antimicrobial peptides)、泥鳅整体提取的 misgurin、杂交斑纹鲈鱼皮肤、鳃和血液肥大细胞的 piscidins 以及分离自美洲黄盖蝶体表黏液的 pleurocidins 和豹鲟皮肤黏液的 pardaxins 等^[4-7]。

1.2 含多个半胱氨酸形成 α 折叠结构

该类抗菌肽由于含有多个半胱氨酸而形成多个二硫键,其二级结构呈 α 折叠,与哺乳动物中发现的 corticostatin 或 defensin 等防御素分子类似^[8]。在鱼类中这类抗菌肽包括来源于虹鳟的 hepcidin 和七鳃鳗的 LCRP (lamprey corticostatin-related peptide)等。其中 hepcidin 前体肽一般含有 80~100 个氨基酸残基,由信号肽、前域和成熟肽三部分组成,其成熟肽由 61 个氨基酸组成,含 6 个半胱氨酸;目前已从多种鱼类中克隆到 hepcidin 的 cDNA,包括杂交斑纹鲈、美洲黄盖蝶、尼罗罗非鱼、大西洋鲑、斑马鱼、鳊鱼、海鲈、红海鲷、牙鲆、黑鲷、大菱鲆、黑岩鱼、大西洋鳕鱼等。LCRP 由 19 个氨基酸残基组成,包括 6 个胱氨酸,其中 Cys1 与 Cys5、Cys2

作者简介:单 红(1980-),女,工程师,从事遗传育种研究。E-mail: h.shanny@gmail.com

与 Cys4、Cys3 与 Cys6 分别形成 3 对二硫键。

1.3 与组蛋白高度相似的组蛋白样蛋白 (histone-like proteins, HLPs)

该类抗菌肽是水生动物中鱼类所特有的,包括从鳢、斑鲷、银大麻哈鱼、斑纹鲑鱼和鲑等鱼类中分离的 parasin I、HLPs 和 SAM (salmo antimicrobial peptide)等。氨基酸序列及质谱分析表明它们与组蛋白 H2A、H2B 或 H1 非常相似。parasin I 是从受伤的鳢鱼皮肤黏膜中分离得到的具有强烈抗菌活性的多肽,由 19 个氨基酸组成,其氨基酸序列与组蛋白 H2A 的 N 端完全一致。对其形成机制的研究发现,parasin I 是由 H2A 组蛋白经 cathepin D 酶在其 N 端 Ser19-Arg20 间发生裂解作用后产生的^[9]。HLPs 包括从斑鲷皮肤中分离的 3 种抗菌蛋白,其氨基酸序列及分子结构与 H1 或 H2B 非常相似;SAM 则是从鲑肝脏中分离的分子质量为 2017 ku 的抗菌肽,经鉴定为组蛋白 H1^[10]。

1.4 经酰胺化、糖基化修饰的抗菌肽

该类抗菌肽是由核糖体合成后在高尔基体浓缩时,在相关酶作用下脱掉 C-端一个或多个氨基酸,或再与一些糖基结合而成的有活性的成熟肽。包括从鲤鱼体表黏液中分离的 27 ku 疏水蛋白和从虹鳟、丁鲷和鳗鲡皮肤黏液中分离的 65 ku (65Tr)、49 ku (49Te)和 45 ku (45Ee)抗菌蛋白等^[11]。

2 鱼类抗菌肽的生物学功能和作用机制

2.1 鱼类抗菌肽的活性和功能

鱼类抗菌肽是鱼体非特异性免疫系统的重要组成部分,当鱼体受到损伤或病原微生物侵袭时,能迅速产生以预防和杀伤病原微生物,其具有的合成速度快,在体内扩散迅速、灵活的特点是其他大分子蛋白质(如抗体等)和免疫细胞所不具备的^[12]。目前有关鱼类抗菌肽的活性和功能研究多数在体外进行,许多抗菌肽对鱼类特异的甚至其他动物的病原微生物都具有杀伤活性,Cole 等^[13]从美洲黄盖鲈 (*Pleuronectes ferruginea*)中得到 Pleurocidin 抗菌肽,对革兰阳、阴性细菌产生抑制作用,对鱼体三种寄生菌-杀鲑气单胞菌 (*A. salmonicida*)、水生噬纤维菌 (*C. aquatilis*)和水霉菌 (*L. mucur*)也都有抑制作用, Park 等从泥鳅 (*Misgurnus anguillicaudatus*)中分离的 misgurin^[14]和从鳢鱼 (*Parasilurus asotus*)皮肤中分离的 Parasin I 抗菌肽^[15]对革兰阳性菌、革兰阴性菌和真菌都有强烈的抑制作用,其最小抑菌浓度

(MIC)都在 0.5~2.0 mmol/L,并且两者都没有溶血现象。2001 年 Richards 等^[16]从大西洋鲑 (*Salmon salar*)中得到一种抗菌肽,其序列与 HistoneH1 极为相似,对大肠杆菌 (*E. coli*) 最小抑菌浓度 (MIC) 31 g/mL。Noga 等^[4]还发现,虹鳟和鲑鱼的 HLPs 对某些寄生虫也具有致死力,但其杀伤作用需要较高的浓度,而且其活性主要针对滋养体时期。2004 年 Fernandes 等^[17]从虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*) 皮肤中分离纯化得到分子量为 7.2 kDa 的 oncorhyncin II,分析表明它对革兰阳性细菌 (*M. luteus* 和 *P. citreus*) 的 MIC 在 0.2~0.4 μmol ,对革兰阴性细菌 (*E. coli* 和 *L. anguillanum*) 的 MIC 在 0.4~0.8 μmol ,且均无明显的溶血作用。冬鲈 (*Pseudopleuronectes americanus*) 的 pleurocidins 抗菌肽家族^[18]具有广谱抗菌活性,而且对酵母菌(如白色假丝酵母)也有抑制作用,当 C-端被酰胺化后,其抗菌价效会得到提高,对一些抗生素抗性病原菌如铜绿假单胞菌 (*P. aeruginosa*)、金黄色葡萄球菌 (*S. aureus* Rosenbach) 和白色念珠菌 (*M. albican*) 均有抑菌效果。这些结果对于研制鱼类病原菌感染的预防剂和治疗剂提供了一定的依据,特别是对鱼类的细菌感染中的免疫缺陷起到了改善的作用。

2.2 鱼类抗菌肽的作用机制

自抗菌肽发现以来,已对抗菌肽的作用机制进行了大量的研究,目前已知的是,抗菌肽是通过作用于细菌细胞膜而起作用的,在此基础上,提出了多种抗菌肽与细胞膜作用的模型。在鱼类中,人们研究发现有 2 种重要的抗菌肽抗菌机制,即“桶-桶板”结构模型和“地毯”结构模型。

“桶-桶板”模型是由 Ehrenstein 最早提出的,认为抗菌肽分子通过 3 个步骤表现其杀菌活性:首先通过静电作用快速结合到细菌外膜并扰乱外膜分子结构,然后通过疏水作用插入并转移到膜脂双分子中,当含量达到一定阈值后,聚合形成“桶”样结构,以其外围疏水基团与膜脂肪酸链相结合;最后在膜上形成离子通道,改变细菌胞内外的渗透压而使细菌死亡。此结构模型主要集中在对 pardaxin 及其类似物的研究中, Oren 等^[7]通过圆二色谱和核磁共振分析表明, pardaxin 分子的第 7-11 位和 14-26 位氨基酸组成的片段皆为 α 螺旋结构,12-13 位作为一个“结合部”连接两个 α 螺旋并形成“L”形的“螺旋-转角-螺旋”结构。Pardaxin 的这种结构在许

多抗菌肽中都有发现,当去除其 C 端 11 个氨基酸残基,破坏了第二个 α 螺旋结构后,其溶血活性显著下降,表明 α 螺旋结构的存 在 与 抗 菌 肽 生 物 活 性 有 着 重 要 联 系。

此外, Pouny 等^[19]通过对 dermaseptin S 及其荧光标记类似物的研究提出了“地毯”式结构模型,该模型认为,抗菌肽在杀菌时,并不插入细胞膜内部,而是在电荷作用下,像地毯样展开平行排列在细胞膜表面或形成颗粒,利用疏水作用和分子张力改变细胞膜表面张力,扰乱膜脂分子排列,影响细胞膜的结构和功能,从而起到杀菌作用。

除了上述 2 种主要作用机制外,鱼类抗菌肽还可通过其他作用机制发挥杀菌活力,如 Paul 等^[20]发现 pardaxin 酰化后能够进入细胞并聚集在核仁中,与细胞内 DNA 或 RNA 结合,通过影响细胞功能而杀菌。由此说明,抗菌肽在经过静电作用穿透细胞膜之后,可与膜分离,进入到细胞质内部,然后与细胞内部的聚阴离子分子如 DNA、RNA 等结合,破坏细胞正常功能,从而起到抑制细菌生长的作用,达到抗菌的效果。

3 鱼类抗菌肽基因工程研究

3.1 鱼类抗菌肽的基因克隆

由于分子生物学技术的日益成熟,鱼类抗菌肽 cDNA 陆续被克隆和分离出来,这对认识鱼类抗菌肽氨基酸序列及其结构、分子改造、基因表达调控、基因工程、cDNA 文库的构建和表达序列标签 (ESTs) 的研究等均有重要意义。

Cole 等^[13]从美洲黄盖鲈 (*Pleuronectes ferruginea*) 皮肤 cDNA 文库及精巢基因组文库分别得到长为 317 bp 和 1601 bp 的 pleurocidin cDNA 片段及上游启动子序列。该基因由 4 个外显子和 3 个内含子组成,与哺乳动物抗菌肽 PR239 的结构十分相似,成熟肽序列有 25 个氨基酸,含有 4 个赖氨酸残基,表现出显著的阳离子特性;Douglas 等^[9]克隆了 4 个 Pleurodidin 样基因 (WF1-WF4),发现该基因家族内含子数目、位置和各个外显子的编码情况与 Cole 等的报道相似,同时还发现,在 pleurocidin 家族中,信号肽和酸性羧基端片段的序列高度保守,成熟肽的序列虽不很保守,但都能形成双亲性 α 螺旋结构。Ren 等^[21]采用 RT-PCR 和 RACE 方法从日本花鲈 (*Lateolabrax japonicus*) 肝脏中克隆得到长为 581 bp 的 hepcidin cDNA,其中 258 bp 为开放阅读

框,编码 86 个氨基酸,理论相对分子质量为 9.4 ku,在 GenBank 上检索得知该 hepcidin 基因含有 2 个内含子和 3 个外显子,上游区段存在几个转录调控元件和转录因子的识别位点;刘碧莲等^[22]从鳊 (*Siniperca chuatsi*) 肝脏组织中克隆了 381 bp 的 hepcidin cDNA,并通过序列分析确定从 20~277 位碱基为 ORF,编码 86 个氨基酸,形成由信号肽、前肽和成熟肽 3 部分序列组成的前体肽,含有 8 个保守的 cysteine 残基,可形成 4 个链内二硫键;Salerno 等^[23]根据 moronecidin 基因的保守片段序列进行 PCR 引物设计,对狼鲈 (*Dicentrarchus labrax*) 头肾白细胞 cDNA 文库进行筛选克隆 moronecidin 抗菌肽基因,研究发现了 moronecidins 家族新成员 dicentracin,该基因 cDNA 全长 483 bp,编码由信号肽、成熟肽和酸性羧基端片段组成的含 79 个氨基酸残基的 dicentracin 前体蛋白。

3.2 鱼类抗菌肽的表达调控

目前,对鱼类抗菌肽基因表达水平的研究多停留在 mRNA 水平上,并且对各种抗菌肽基因的表达调控机制也往往局限于推测。另外,对于是否存在负向调控抗菌肽基因表达的元件也知之甚少。

李伟等^[24]从牙鲈 (*Paralichthys olivaceus*) 肝脏中克隆了牙鲈 hepcidin 抗菌肽基因,该基因在正常牙鲈的肝脏、头肾、鳃、脾脏中表达量较高,在心脏、小肠中表达量较低;受到病原体感染的牙鲈各组织该基因表达量均明显上升;Wang 等^[2]研究表明,斑点叉尾鲷 (*Ictalurus punctatus*) I 型 NK-lysin 基因具有明显的组织表达特异性,鳃、头肾、小肠、脾和体肾的表达水平较高,皮肤和肝脏的表达水平较低,肌肉中最低。用爱德华菌 (*E. ictaluri*) 感染后 4 h, NK-lysin 基因的表达水平降低,但在第 3~7 天其表达水平明显提高,表明 NK-lysin 在鱼类免疫反应中可能起着重要的调控作用;Chang 等^[25]在研究 rtCATH 基因时发现,rtCATH2 基因在健康状态和病理状态下的虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*) 鳃、头肾、小肠、皮肤和脾中均可持续表达。而 rtCATH1 基因在健康状态下几乎检测不到,但在感染杀鲑气单胞菌 (*A. salmonicida*) 后的鳃、头肾和脾中转录水平显著提高,推测该 rtCATH1 基因 5' 侧翼区域存在转录调控元件。这与 Lauth 等^[26]的研究结果相似,用杀鲑气单胞菌 (*A. salmonicida*) 和链球菌 (*S. iniae*) 感染杂交条纹鲈鱼 (*Morone chrysops* × *Morone saxatilis*) 其

肝脏中 hepcidin 抗菌肽基因转录水平显著提高。Shike 等^[27]对斑马鱼(*Brachydanio rerio*)2 种 Hepcidins 基因进行克隆和测序,发现其转录起始位点上游-1.6~-1.0 kb 处都存在 TATAbox 序列、转录调控元件和转录因子识别的位点,推测这些调控序列对 Hepcidins 基因表达起着重要的调控作用。此外, Bao 等^[28]分别从斑点叉尾鲷和长鳍叉尾鲷中克隆得到了 LEAP-2 的 cDNA 序列并研究其在时空表达上的规律,发现其基因结构及编码的多肽都与虹鳟 LEAP-2 的相似,在组织表达特异性方面,斑点叉尾鲷 LEAP-2 基因可在广泛的组织中表达,并且在刺激后的脾脏显示出表达的上调;在时空表达方面,受精卵孵化第 6 天才可检测出成熟的 LEAP-2 mRNA,此后其表达水平达到稳定,不过在受精后 48h 就可检测出未经剪切加工的 LEAP-2 mRNA,表明鲶鱼 LEAP-2 基因的表达调控是发生在 mRNA 的剪切水平上的。

3.3 利用微生物系统(大肠杆菌、酵母等)表达鱼类抗菌肽

基于大肠杆菌的原核表达系统是迄今在基因工程领域中应用最多、最完善的系统,其主要优点是成本低、产量高、易于操作,但由于抗菌肽对原核细胞具有很强的杀菌作用,故一般采用融合表达方式。李伟等^[29]用从大菱鲂(*Scophthalmus maximus*)肝脏中分离得到的 hepcidin 基因,构建了谷胱甘肽-S 转移酶抗菌肽(GST2-hep)融合表达载体,实现了抗菌肽在大肠杆菌中的融合表达。采用原核表达系统虽然能实现抗菌肽的高效表达,但也存在诸如宿主细胞毒性、容易被降解等弊端。

近年来,以酵母作为工程菌表达外源蛋白技术日益发展,酵母作为低等真核生物,细胞生长快、营养要求低、易于规模化生产和遗传操作,能够对表达的蛋白质进行正确加工、修饰及合理的空间折叠,不会产生内毒素,非常有利于真核生物基因的表达。利用酵母表达系统进行鱼类抗菌肽的基因工程研究,主要方法是对鱼类抗菌肽基因进行修饰,构建鱼类抗菌肽基因的胞内型酵母基因工程载体,使其在酵母工程菌体内高效表达。Burrowes 等^[30]尝试在毕赤酵母表达系统中表达 pleurocidin,结果在转录水平检测到了 pleurocidin 的表达,但未能能在培养上清液中检测到蛋白;Chen 等^[31]从真鲷(*Chrysophrys major*)脾脏 cDNA 文库筛选得到一种

Hepcidin 基因,确定了其结构及其在不同组织中表达水平,同时构建了真鲷 Hepcidin 表达载体并首次在酵母中表达,生产了鱼类重组抗菌肽。

3.4 鱼类抗菌肽的转基因研究

借鉴已成功各种抗菌肽转基因的案例,把特异的抗菌肽基因导入到鱼类特定的细胞(特别是生殖细胞)让其表达,从而产生具有更强抗菌能力的新品种鱼类,将会对鱼类养殖业产生重大的影响,意义深远。然而,国内外对于通过转移抗菌肽基因获得新的鱼类抗病品种的报道还不多。Dunham 等^[32]将惜古比天蚕的抗菌肽 Cecropin B 基因导入到斑点叉尾鲷(*Ictalurus punctatus*),获得的子代鱼抗病原菌能力明显增强。Sarmasika 等^[33]分别将构建好的几种 cecropins 基因导入至鲑鱼胚胎细胞(CHSE-214)中表达,经 Southern 印迹杂交检测到 cecropins 基因成功融入鲑鱼胚胎细胞的基因组中,并在后来的抑菌试验中发现由 CHSE-214 表达的 cecropins 具有抗嗜水气单胞菌(*Aeromonas hydrophila*)、荧光假单胞菌(*Pseudomonas fluorescens*)和安吉拉弧菌(*Vibrio anguillarum*)等一些鱼类病原菌的活性。

鱼类抗菌肽的研究加深了人们对低等脊椎动物非特异性免疫防御机制的认识,为日益严重的渔业养殖病害的防治开辟新的途径,同时可能通过转基因改良出新型抗病性品种。可以相信,随着研究的不断深入,鱼类抗菌肽将对世界水产渔业的可持续发展起到重要的作用。

参考文献:

- [1] Boman HG, Nilsson I, Rasmuson B. Inducible antibacterial defense system in Drosophila [J]. Nature, 1972, 237(5352): 232-235
- [2] Wang Q, Wang Y, Xu P, et al. NK-lysin of channel catfish: Gene triplication, sequence variation, and expression analysis[J]. Mol Immunol, 2006, 43(10): 1676-1686
- [3] 张书剑. 几种鱼类抗菌肽的研究进展 [J]. 水生动物营养, 2007, 12: 58-61
- [4] Silphaduang U, Noga EJ. Antimicrobials: peptide antibiotics in mast cells of fish[J]. Nature, 2001, 414(6861): 268-269
- [5] Douglas SE, Gallant JW, Gong Z, et al. Cloning and developmental expression of a family of pleurocidin-like antimicrobial peptides from winter flounder, *Pleuronectes americanus* (walbaum)[J]. Dev Comp Immunol, 2001, 25(2): 137-147

- [6] Lauth X , Shike H , Burns JC , *et al.* Discovery and characterization of two isoforms of moronecidin , a novel antimicrobial peptide from hybrid striped bass [J]. *J Biol Chem* , 2002 , 277 (7): 5030–5039
- [7] Oren Z , Shai Y. A class of highly potent antibacterial peptides derived from pardaxin: a pore-forming peptide isolated from moose sole fish *Pardachirus marmoratus* [J]. *FEBS J* , 1996 , 237(1): 303–310
- [8] Conlon JM , Sower SA. Isolation of a peptide structurally related to mammalian corticostatins from the lamprey *Petromyzon marinus*[J]. *Comp Biochem Physiol* , 1996 , 114 (2): 133–137
- [9] Cho JH , Park IY , Kim HS , *et al.* Cathepsin D produces antimicrobial peptide parasin I from histone H2A in the skin mucosa of fish[J]. *FASEB J* , 2002 , 16(3): 429–431
- [10] Noga EJ , Fan Z , Silphaduang U. Histone-like proteins from fish are lethal to the parasitic dinoflagellate *Amyloodinium ocellatum*[J]. *Parasitology* , 2001 , 123 (Pt1): 57–65
- [11] Ebran N , Julien S , Orange N , *et al.* Pore-forming properties and antibacterial activity of proteins extracted from epidermal mucus of fish [J]. *Comp Biochem Physiol* , 1999 , 122(2): 181–189
- [12] Lehrer RI , Ganz T. Defensins of vertebrate animals [J]. *Curr Opin Immunol* , 2002 , 14(1): 96–102
- [13] Cole AM , Darouiche RO , Legarda D , *et al.* Characterization of a fish antimicrobial peptide: gene expression , subcellular localization and spectrum of activity [J]. *Antimicrob Agents CH* , 2000 , 44(8): 2039–2045
- [14] Park CB , Lee JH , Park IY , *et al.* A novel antimicrobial peptide from the loach , *Misgurnus anguillicaudatus* [J]. *FEBS Letters* , 1997 , 411(2–3): 173–178
- [15] Park IY , Chan BP , Kim MS , *et al.* Parasin I , an antimicrobial peptide derived from histone H2A in the catfish , *Parasilurus asotus*[J]. *FEBS Letters* , 1998 , 437(3): 258–262
- [16] Richards RC , O'Neil DB , Thibault P , *et al.* Histone H1: an antimicrobial protein of Atlantic Salmon (*Salmo salar*) [J]. *Biochem Biophys Res Commun* , 2001 , 284(3): 549–555
- [17] Fernandes JMO , Molle G , Kemp GD , *et al.* Isolation and characterisation of oncorhynchin II , a histone H1-derived antimicrobial peptide from skin secretions of rainbow trout , *Oncorhynchus mykiss* [J]. *Dev Comp Immunol* , 2004 , 28 (2): 127–138
- [18] Douglas SE , Patrzykat A , Pytyck J , *et al.* Identification , structure and differential expression of novel pleurocidins clustered on the genome of the winter flounder , *Pseudopleuronectes americanus* (Walbaum)[J]. *FEBS J* , 2003 , 270 (18): 3720–3730
- [19] Pouny Y , Rapaport D , Mor A , *et al.* Interaction of antimicrobial dermaseptin and its fluorescently labeled analogues with phospholipid membranes[J]. *Biochemistry* , 1992 , 31(49): 12416–12423
- [20] Paul Y , Weiss A , Adermann K , *et al.* Translocation of acylated pardaxin into cells[J]. *FEBS Letters* , 1998 , 440(1–2): 131–134
- [21] Ren HL , Wang KJ , Zhou HL , *et al.* Cloning and organization analysis of a hepcidin-like gene and cDNA from Japan sea bass , *Lateolabrax japonicus* [J]. *Fish and Shellfish Immun* , 2006 , 21(3): 221–227
- [22] 刘碧莲 , 白俊杰 , 劳海华 , 等. 鳊 hepcidin cDNA 的分子克隆及序列分析[J]. *中国水产科学* , 2006 , 13(6) : 995–1000
- [23] Salerno G , Parrinello N , Roch P , *et al.* cDNA sequence and tissue expression of an antimicrobial peptide , dicentracin; a new component of the moronecidin family isolated from head kidney leukocytes of sea bass , *Dicentrarchus labrax* [J]. *Comp Biochem Physiol* , 2007 , 146(4): 521–529
- [24] 李伟 , 陈松林 , 张玉喜. 牙鲆抗菌肽 hepcidin 基因的克隆及表达分析[J]. *高技术通讯* . 2007(1): 78–82
- [25] Chang CI , Zhang YA , Zou J , *et al.* Two cathelicidin genes are present in both rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and atlantic salmon (*Salmo salar*) [J]. *Antimicrob Agents CH* , 2006 , 50(1): 185–195
- [26] Lauth X , Babon JJ , Stannard JA , *et al.* Bass Hepcidin Synthesis , Solution Structure , Antimicrobial Activities and Synergism , and in Vivo Hepatic Response to Bacterial Infections. *Bio Chem* , 2005 , 280(10): 9272–9282
- [27] Shike H , Shimizu C , Lauth X , *et al.* Organization and expression analysis of the zebrafish hepcidin gene , an antimicrobial peptide gene conserved among vertebrates [J]. *Develop and Compar Immun* , 2004 , 28(7–8): 747–754
- [28] Bao B , Peatman E , Xu P *et al.* The catfish liver-expressed antimicrobial peptide 2 (LEAP-2) gene is expressed in a wide range of tissues and developmentally regulated [J]. *Mol Immunol* , 2006 , 43(4): 367–377
- [29] 李伟 , 陈松林 , 赵晓杰. 大菱鲆 hepcidin 抗菌肽基因的克隆及在大肠杆菌中的高效表达 [J]. *长江大学学报 (农学卷)* , 2007 , 4(3): 84–87
- [30] Burrowes OJ , Diamond G , Lee TC. Recombinant expression of pleurocidin cDNA using the pichia pastoris expression system[J]. *J Biomed Biotechnol* , 2005 , 4(1): 374–384
- [31] Chen SL , Xu MY , Ji XS , *et al.* Cloning , characterization , and expression analysis of hepcidin gene from red sea bream (*Chrysophrys major*) [J]. 2005 , 49(4): 1608–1612
- [32] Dunham RA , Warr GW , Nichols A *et al.* Enhanced bacte-

rial disease resistance of transgenic Channel catfish *Ictalurus punctatus* processing cecropin genes[J]. Marine Biotech, 2002, 4(3): 338-344

[33] Sarmasika A, Chen TT. Bactericidal activity of cecropin B and cecropin P1 expressed in fish cells (CHSE-214): applica-

tion in controlling fish bacterial pathogens [J]. Aquaculture, 2003, 220(1-4): 183-194

(收稿日期 2011-10-09)

Research progress on antimicrobial peptides in fish

Shan Hong, Zhou Guoqin, Zhu Yinan, Wang Qing

(Institute of fishery science of Nanjing, Nanjing 210036, Jiangsu China)

Abstract Antimicrobial peptides, a family of short-chain peptides, are widely spread in biological world. Besides broad-spectrum antibacterial activity, Antimicrobial peptides have biological activities on the resistance of virus, parasite and tumor. Antimicrobial peptides is a key component of the innate immune systems of fish, these molecules structures are complicated and diversiform. Based on the findings of antimicrobial peptides from fish, this review discusses the structural features, categories, biological properties, antibacterial mechanisms, and its progress in the field of gene engineering.

Key words antimicrobial peptides of fish, biological properties, antibacterial mechanisms, gene engineering

中草药防治海参肠炎有效率超八成

记者从山东省海洋与渔业厅获悉,山东省渔业资源修复行动计划项目“中草药制剂用于海参养殖病害防治的研究”近日通过专家组验收。试验表明,中草药制剂防治海参肠炎病临床治疗有效率超过八成,发病率降低一半。

据山东省海洋与渔业厅介绍,“中草药制剂用于海参养殖病害防治的研究”项目研发出了中草药制剂(大黄复方制剂)、植物源免疫增强剂和微生物制剂等海参防病系列产品,集成了刺参的健康苗种培育和安全养成技术。

山东省海洋与渔业厅近日组织有关专家对这个省海水养殖研究所承担的渔业资源修复行动计划项目“中草药制剂用于海参养殖病害防治的研究”进行了鉴定,专家组听取了课题组汇报,审查了有关资料,经质询和答疑,认为项目资料完整,数据翔实可信。

对比试验表明,大黄复方制剂对防治海参肠炎病效果明显,临床治疗有效率达 83% 以上,综合使用复方中草药制剂、植物源免疫增强剂、微生物制剂,育苗生产试验 6 700 m³,共育出参苗 91 200 万头(规格 12.6 万头/kg),池塘养殖试验 158 亩,亩产 283 kg,工厂化养殖 5 000 kg,产量 5 kg/m³;育苗和养成试验期间未使用抗生素类药品,依靠中草药制剂等防病系列产品,发病率降低 50%,试验养成的海参质量符合无公害水产品标准。

山东省海洋与渔业厅表示,使用中草药制剂防治海参病害对避免滥用抗生素、提高刺参质量具有重要意义,应用前景广阔,总体达到国际先进水平。

(www.bbwwfish.com)