



· 综述 ·

水产动物抗菌肽研究进展

齐志涛^{1*}, 徐杨^{1,2}, 邹钧³, 聂品^{4,5}

(1. 盐城工学院海洋与生物工程学院, 江苏 盐城 224051;

2. 盐城工学院化学化工学院, 江苏 盐城 224051;

3. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306;

4. 青岛农业大学海洋科学与工程学院, 山东 青岛 266237;

5. 中国科学院水生生物研究所, 湖北 武汉 430072)

摘要: 抗菌肽是一类广泛存在于自然界生物体内的小分子多肽物质, 为机体固有免疫系统的重要组成部分, 对革兰氏阴性菌、革兰氏阳性菌、真菌、病毒和寄生虫等均具有较好的抑制或杀伤作用。抗菌肽具有无污染、无残留、广谱抗菌及不易产生耐药性等特点, 有望代替抗生素用于水产动物病原性疾病的防控。近年来, 抗菌肽已在水生甲壳动物、水产软体动物、鱼类和两栖类等水产动物中得到报道, 但其分类和作用机制有待深入研究。本文对不同水产动物中的抗菌肽进行了分类, 对各类抗菌肽的结构特征和功能进行了分析, 并从直接杀伤作用、非膜靶向作用和免疫调节作用等三个方面对抗菌肽的免疫作用机制进行了分析, 期望能够为今后在水产动物中开展抗菌肽的相关研究和应用提供一定的理论支持。

关键词: 水产动物; 抗菌肽; 结构特征; 来源分类; 免疫机制

中图分类号: S 917.4

文献标志码: A

抗菌肽 (antimicrobial peptides, AMPs) 又称抗微生物肽、宿主防御肽 (host defence peptides, HDPs), 是一类在自然界广泛存在的且具有生物活性的小分子多肽^[1]。抗菌肽作为机体先天免疫系统的重要组成部分, 对革兰氏阴性菌、革兰氏阳性菌、真菌、病毒和寄生虫等均具有较好抑制或杀伤作用^[2-3]。此外, 部分抗菌肽还具有抗肿瘤、促进血管生产、调节细胞增殖与凋亡以及调控炎症反应等活性^[4-5]。截至 2020 年 5 月, ADP3 数据库 (<http://aps.unmc.edu/AP/>) 中收录的已知的编码抗菌肽或预测的抗菌肽基因序列已达 3 183 个, 其中来自动物的抗菌肽有 2 359 个, 来

自植物的抗菌肽有 352 个, 来自细菌的抗菌肽有 355 个; DRAMP 数据库 (<http://dramp.cpu-bioinform.org/>) 中记录有 20 434 个抗菌肽, 包含 5 619 个天然或合成抗菌肽, 14 739 个抗菌肽专利序列以及 76 个药物抗菌肽; LAMP 数据库 (<http://bio-techlab.fudan.edu.cn/database/lamp/>) 中记录有 23 253 个抗菌肽。

近年来, 我国水产业发展迅速, 水产养殖产能长期处于世界首位。但随着高密度、工厂化、集约化养殖模式的建立及推广, 水体环境污染、水产动物病害等问题已成为制约水产养殖绿色发展的主要瓶颈^[6]。目前, 行业内主要采

收稿日期: 2020-05-26 修回日期: 2020-07-06

资助项目: 国家自然科学基金 (31302221); 江苏省自然科学基金面上项目 (BK20171274); 江苏省“六大人才高峰”高层次人才项目 (NY-115)

通信作者: 齐志涛, E-mail: qizhitao@ycit.edu.cn

用抗生素类药物防治水产养殖动物的疾病。但是, 抗生素在抑制或杀灭病原微生物的同时可能会抑制某些有益微生物, 使水产动物体内外微生态平衡被打破。长期使用抗生素还会使致病菌产生耐药性, 既提高了生产成本, 又增加了防治难度。此外, 抗生素还具有致畸、致癌和致突变等作用, 水体及动物体内的药物残留会对水体环境造成污染, 通过食物链富集, 进而对人类健康造成危害^[7]。抗菌肽作为水产动物自身免疫系统的重要组成部分, 具有无污染、无残留、广谱抗菌及不易产生耐药性等特点, 可代替抗生素, 对水体中的病原微生物起杀灭作用, 还可提高水产养殖动物的生长性能, 改善其免疫功能, 增强抗病能力, 已成为国内外学者研究的热点^[8]。

1 抗菌肽的结构特征与理化性质

根据结构的不同, 抗菌肽可分为 α -螺旋(α -helica)型抗菌肽、 β -折叠(β -sheet)型抗菌肽和延伸环状(extended coil)抗菌肽^[9-10]。 α -螺旋型抗菌肽是研究最多的抗菌肽, 此类抗菌肽在水溶液中是无序的, 但一旦与生物膜接触, 就呈现两亲性 α -螺旋结构。 β -折叠型抗菌肽包含的抗菌肽种类最多, 在海洋无脊椎动物、两栖类和植物中广泛存在。与 α -螺旋型抗菌肽不同, β -折叠型抗菌肽在水溶液中有序排列, 并含有保守的半胱氨酸残基, 形成二硫键, 增强结构稳定性, 减少蛋白质降解^[11]。延伸环状抗菌肽由精氨酸、脯氨酸或色氨酸等高比例的特定氨基酸残基组成不能折叠成规则的二级结构。许多延伸环状抗菌肽不具备膜活性。

抗菌肽属于小分子肽, 一般由10~60个氨基酸组成。理化性质上, 抗菌肽具有耐高温、强阳离子性、疏水性等特点。大部分抗菌肽具有耐高温的特性, 一些肽在100℃下加热10~15 min, 仍可保持一定的生物活性; 多数抗菌肽携带有+2~+9的净正电荷, 表现出较强的阳离子特性^[12], 这种阳离子性质归因于赖氨酸、精氨酸和组氨酸等残基^[13-14]。大多数抗菌肽含有50%左右的疏水残基(脂肪族和芳香族氨基酸)。此外, 几乎所有抗菌肽在与靶膜相互作用时会形成某种两亲结构。抗菌肽的理化性质对其生物活性密切相关。

2 水产动物抗菌肽

2.1 水生甲壳动物抗菌肽

水生甲壳动物是一类古老的动物, 数量庞大, 种类繁多, 主要栖息于海洋中, 在淡水池塘和湖泊中也有一定分布, 常见的有虾、蟹等。由于甲壳动物不存在适应性免疫, 因此抗菌肽等固有免疫因子在抵御病原微生物过程中至关重要。根据结构的不同, 水生甲壳动物的抗菌肽可分为对虾素(penaeidins)、甲壳素(crustins)和抗脂多糖因子(anti-lipopolysaccharide factors, ALFs)三类。

Penaeidins是一种存在于对虾中的阳离子抗菌肽, 分子量一般在5~7 ku, 其肽链主要由N端信号肽序列(signal peptide sequence, SS)、中间富含脯氨酸结构域(proline-rich domain, PRD)和C端富含半胱氨酸结构域(cysteine-rich domain, CRD)三部分组成, 其中PRD结构域不含二硫键, 刚性较低; CRD结构域含有保守的6个半胱氨酸残基, 形成3对二硫键。根据氨基酸序列相似性的不同, Penaeidins可进一步分为Penaeidin-1/2、Penaeidin-3、Penaeidin-4和Penaeidin-5四种类型, 每种类型又包含多个亚型。不同类型的penaeidins对病原微生物的抑制作用不尽相同。墨吉明对虾(*Fenneropenaeus merguensis*) penaeidins-2对副溶血性弧菌(*Vibrio parahaemolyticus*)几乎没有抑制作用, 而penaeidins-5则对副溶血性弧菌具有弱抗菌活性^[15]。

Crustins是一类广泛存在于甲壳动物中的阳离子抗菌肽。根据结构的不同, 可将大部分Crustins分为I型Crustins、II型Crustins、III型Crustins和IV型Crustins(图1)。I型Crustins主要存在于蟹和螯虾中, 其肽链N端含有一个信号肽序列(SS), 中间是富含半胱氨酸结构域(CRD), C端含有一个乳清酸蛋白(whey acidic protein, WAP)结构域^[16]。II型Crustins主要存在于对虾中, 其肽链除了含有SS、CRD和WAP结构域外, 在SS和WAP结构域之间还有一个富含甘氨酸结构域(glycine-rich domain, GRD)^[17]。III型Crustins也称为单WAP结构域多肽(single WAP domain-containing peptides, SWDs), 不含CRD和GRD区域, 在SS和WAP结构域之间含有一个短的富含脯氨酸结构域(PRD)或富含精氨酸结构域(arginine-rich domain, ARD)^[18]。IV型Crustins则含

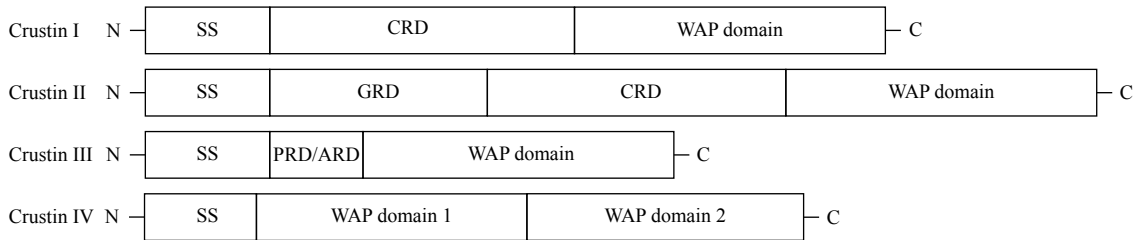


图 1 四种类型 Crustins 的结构示意图

SS. 信号肽序列; CRD. 富含半胱氨酸结构域; WAP domain. 乳清酸蛋白结构域; GRD. 富含甘氨酸结构域; PRD. 富含脯氨酸结构域; APD. 富含精氨酸结构域

Fig. 1 Schematic diagram of the structure of four types of Crustins

SS. signal peptide sequence; CRD. cysteine-rich domain; WAP domain. whey acidic protein domain; GRD. glycine-rich domain; PRD. proline-rich domain; APD. arginine-rich domain

有 2 个 WAP 结构域^[19]。功能上, I 型 Crustins 对金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*)、枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) 和巨大芽孢杆菌 (*B. megaterium*) 等革兰氏阳性菌具有较强的抗菌活性, 对溶藻弧菌和副溶血性弧菌等革兰氏阴性菌以及白色念珠菌 (*Candida albicans*) 等真菌具有一定的抑制作用^[20-22]。II 型 Crustins 通常对副溶血性弧菌和对虾白斑综合征病毒 (white spot syndrome virus, WSSV) 具有一定的抑制作用; III 型 Crustins 无蛋白酶抑制和抗菌活性, 但对 WSSV 具有显著的抑制作用; IV 型 Crustins 抗菌活性不详^[23-25]。

ALFs 是一种具有脂多糖结合域 (lipopolysaccharide-binding domain, LPS-BD/LBD) 的保守阳离子抗菌肽, 通过与脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 结合, 介导血细胞脱颗粒并激活细胞内的凝血级联反应, 以发挥其广谱抗菌性和内毒素结合生物活性。根据核苷酸和氨基酸序列的不同, Tharntada 等^[26] 将从斑节对虾 (*Penaeus monodon*) 中分离获得的 5 个 ALFs 成员 (PmALF1-5) 分为 A 型和 B 型两类, 其中 PmALF1 和 PmALF2 为 A 型 ALFs, PmALF3、PmALF4 和 PmALF5 为 B 型 ALFs。A 型 ALFs 的基因都含有 3 个外显子和 2 个内含子, 而 B 型 ALFs 的基因则由 4 个外显子和 3 个内含子组成。对 ALFs 的基因组序列与 cDNA 序列进行比对发现, A 型和 B 型 ALFs 是通过同一前体 mRNA 转录本的选择性剪接而产生的。2012 年, Ponprateep 等^[27] 从斑节对虾中分离获得一个 ALFs 新成员 PmALF6, 其 LPS-BD 结构域与 A 型和 B 型的 LPS-BD 结构域不同, 被归为 C 型 ALFs。Rosa 等^[28] 通过对几种对虾的 40 个 ALFs 序列的系统进化分析, 鉴定发现了 D 型 ALFs。D 型 ALFs 表现出强阴离子性 (等电点

为 5.58~6.10), 其序列含有不完全 LPS 结合位点, 且缺乏许多构成 B 型 ALFs LBD 的残基, 因而其 LPS 结合活性受损, 抗菌活性十分有限^[29]。Jiang 等^[30] 从日本囊对虾 (*Marsupenaeus japonicus*) 中分离获得 2 个 ALFs 成员 (MjALF-E1 和 MjALF-E2), 与前文所述 4 类 ALFs 的序列相似性低, 被归为 E 型 ALFs。Matos 等^[31] 基于多重序列比对和系统进化分析对 ALFs 的分型进行了系统分析, 将来自 10 种对虾的 47 个具有完整蛋白质编码区 (sequence coding for aminoacids in protein, CDS) 的 ALFs 分为 7 种类型, 包括 F 型和 G 型两种新定义的 ALFs 亚型。功能上, 虾类 ALF1 具有较强的抗菌活性和抑制病毒活性, 而其他 ALFs 的抑菌活性相对较弱。同时, 不同物种的 ALFs 的功能也不尽相同, 如罗氏沼虾 (*Macrobrachium rosenbergii*) ALF8 对嗜水气单胞菌 (*Aeromonas hydrophila*) 具有较强的抗菌活性, 对巨大芽孢杆菌 (*B. megaterium*) 和哈维氏弧菌 (*V. harveyi*) 仅有弱抑制作用^[32]; 三疣梭子蟹 (*Portunus trituberculatus*) ALF8 则对金黄色葡萄球菌 (*S. aureus*)、藤黄微球菌 (*Micrococcus luteus*) 等革兰氏阳性菌以及溶藻弧菌 (*V. alginolyticus*)、嗜水气单胞菌 (*A. hydrophila*) 和大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 等革兰氏阴性菌均具有较强抗菌活性^[33]。

2.2 水生软体动物抗菌肽

目前, 抗菌肽已经在翡翠贻贝 (*Perna viridis*)、厚壳贻贝 (*Mytilus coruscus*)、菲律宾帘蛤 (*Ruditapes philippinarum*)、马氏珠母贝 (*Pinctada fucata martensii*)、太平洋牡蛎 (*Magallana gigas/Crassostrea gigas*)、栉江珧 (*Atrina pectinata*)、杂色鲍 (*Haliotis diversicolor*)、紫扇贝 (*Argopecten purpuratus*)

等水生软体动物中得到报道。

关于贻贝抗菌肽家族的研究较为透彻。根据初级结构及半胱氨酸残基数量, 贻贝抗菌肽可以分为防御素 (Defensins)、贻贝素 (Mytilins)、贻贝肽 (Myticins) 和贻贝霉素 (Mytimycins) 4 类。其中 Defensins 一般由 6 个保守半胱氨酸残基组成 3 对二硫键, 具有广谱抗菌活性。Mytilins 是贻贝中发现的种类最多、丰度最高的抗菌肽家族, 主要包括 A、B、C、D 和 G1 5 个亚型, 含有 8 个保守半胱氨酸残基组成 4 对二硫键。5 个 Mytilins 亚型均具有杀菌活性, 但杀菌效果不尽相同。如 D 和 G1 需要 2~6 h 才能将藤黄微球菌完全杀灭, 而 B 和 C 则仅需要 3~10 min^[34]。Myticins 同样含有 8 个保守半胱氨酸残基, 包括 A、B 和 C 3 个亚型。Myticin A 和 Myticin B 具有不同的抑菌活性, 如 Myticin B 对大肠杆菌具有中度抑菌活性, 但 Myticin A 则无此活性^[35]。Myticin C 具有高度的分子多态性, 是唯一一个在贻贝幼体时期就表达的肽, 具有抗病毒、发育调控和免疫调节活性^[36]。贻贝霉素含有 12 个保守半胱氨酸残基, 具有抗真菌活性^[37]。

此外, 在太平洋牡蛎中还鉴定出了一类大防御素 (big defensins)。大防御素具有疏水性 N 端和强阳离子性 C 端, 并含有 6 个保守半胱氨酸残基^[38]。在脉红螺 (*Rapana venosa*) 中鉴定出 11 种富含脯氨酸的新型抗菌肽, 对革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌均有强烈的抗菌活性^[39]。在皱纹盘鲍中还分离出抗菌肽 Molluscidin, 无溶血活性, 对嗜水气单胞菌、大肠杆菌、铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*)、肠道沙门氏菌 (*Salmonella enterica*)、福氏志贺氏菌 (*Shigella flexneri*) 和副溶血性弧菌具有较强的抑菌效果, 但对白色念珠球菌 (*C. albicans*) 无抑菌活性^[40]。

2.3 鱼类抗菌肽

鱼类是最常见的水产动物之一, 广泛分布于淡水湖泊、江河和海洋中。作为古老的脊椎动物, 鱼类与哺乳动物等高等脊椎动物一样, 其免疫可分为先天性免疫和适应性免疫两部分。但是, 鱼类是水生变温动物, 非特异性免疫在其免疫应答过程中起主要作用。水环境中富含大量微生物, 直接暴露于水中的病原微生物成为了对鱼类健康生存的最大威胁。抗菌肽作为鱼类先天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, 能够迅速产生

并在体内扩散以起到防御和杀伤作用。截至目前, 鱼类抗菌肽主要分为 Piscidins、 β -defensins、Hepcidins、Cathelicidins、肝脏表达抗菌肽-2 (Liver-expressed Antimicrobial Peptide 2, LEAP-2) 和 NK-lynsins 等几类。

Piscidins 是鱼类中最常见的抗菌肽家族之一, 包括 Pleurocidins、Misgurins、Piscidins、Moronecidins、Epinecidins、Dicentracins 和 Gaduscidins 等亚型。这些 Piscidins 亚型的成熟肽通常由 18~27 个氨基酸残基组成, 呈 α -螺旋结构, 属于同一进化相关的家族, 但序列同源性相对较低^[41]。根据序列相似性和系统进化分析, Muncaster 等^[42]将 Piscidins 分为 Piscidin-1、Piscidin-2 和 Piscidin-3 3 类。Piscidin-2 和 Piscidin-3 成熟肽的序列长度相似, 并且由具有相似性质的氨基酸组成。Piscidin-2 的成熟肽 C 端具有 H-R/K 前蛋白转化酶切割基序 [底鳃 (*Fundulus heteroclitus*) 的为 F-K], 而 Piscidin-3 的切割基序为 R-R-R-H。此外, Piscidin-2 成熟肽的前两个保守甘氨酸残基间有 10 个氨基酸残基, 第 2 个保守甘氨酸与切割基序间又有 3 个氨基酸残基, 而 Piscidin-3 成熟肽的前两个保守甘氨酸残基间仅有 4 个氨基酸残基, 第 2 个保守甘氨酸与切割基序间有 7~8 个氨基酸残基。相比之下, Piscidin-1 成熟肽的序列则比 Piscidin-2 和 Piscidin-3 长得多, 在其 C 端编码一个额外的富含亲水性氨基酸 (谷氨酸和天冬氨酸) 的区域。

Defensins 是一种由多个 β -折叠构成的阳离子抗菌肽。根据 Defensins 半胱氨酸残基配对所形成的分子内二硫键位置的不同, 可将其分为 α -defensins、 β -defensins 和 θ -defensins 3 类。 θ -defensins 仅存在于非人类灵长动物中, 且在结构上不同于其他两类防御素^[43]。目前从鱼类中鉴定分离的 Defensins 均属于 β -defensins, 并无 α -defensins 的报道^[44]。虽然人类和鱼类均含有 β -defensins, 但基因结构不尽相同。人类 β -defensins 基因由 2 个外显子和 1 个内含子构成, 而鱼类 β -defensins 基因则由 3 个外显子和 2 个内含子构成。根据序列相似性和系统进化分析, 鱼类 β -defensins 亚型可分为 β -defensin 1~4 几种类型。 β -defensins 成熟肽均含有 6 个保守的半胱氨酸残基, 但不同类型的 β -defensins 的前 2 个半胱氨酸残基 (C1 和 C2) 之间被不同数量的氨基酸残基间隔分开, 其中 β -defensin 1、 β -defensin 3 和 β -defensin 4 的 C1 和

C2 被 6 个氨基酸残基间隔开, 而 β -defensin 2 的 C1 和 C2 则被 5 个氨基酸残基间隔开, 并且在 C4 和 C5 之间含有 P-R-R-Y/L-R 基序^[45]。

Hepcidins 又称铁调素, 是一种由肝脏分泌的富含半胱氨酸的抗菌多肽。Hepcidins 主要由 N 端信号肽区域、中间前肽结构域和 C 端富含半胱氨酸成熟肽区域 3 部分组成。多数 Hepcidins 在前肽结构域的 C 端含有高度保守的 R-X-K/R-R 基序, 为前肽转化酶的识别切割位点。根据序列比对和系统进化分析, 大多数鱼类 Hepcidins 可分为 HAMP1 和 HAMP2 两类。HAMP1 存在于各种鱼类中, 各个亚型以单拷贝的形式出现, 且与哺乳动物 Hepcidins 具有较高的同源性; HAMP2 仅存在于棘鳍鱼类 (Acanthopterygians) 中, 且各个亚型以多拷贝的形式出现^[46]。与 HAMP2 相比, HAMP1 通常在成熟肽 N 端区域含有一个铁调节序列 Q-S-H/N-L/I-S, 在铁调节功能和铁转运蛋白分子的内化中起重要作用。鱼类 Hepcidins 在低浓度范围内对革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌均具有广谱抗性。此外, 部分鱼类 Hepcidins 还具有抑制癌细胞生长与扩散的能力, 且可作为免疫调节因子^[47]。特别地, 作为铁调节激素, 一些鱼类的 Hepcidins 可控制巨噬细胞和肝细胞中铁的释放, 参与鱼体铁稳态的调控^[48]。

Cathelicidins 是一种阳离子抗菌多肽, 其前体肽由 N 端信号肽区域、中间保守 Cathelin 结构域和 C 端成熟肽区域构成, 在蛋白酶的酶切作用下释放出成熟肽。与其他抗菌肽不同, Cathelicidins 成熟肽之间的同源性较低。鱼类的 Cathelicidins 对革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌均具有较好的抑菌活性^[49]。

LEAP-2 是一种在肝脏中特异表达的小分子抗菌肽, 通常由信号肽、前导肽和成熟肽 3 部分组成, 在前导肽和成熟肽间具有 R-X-X-R 基序, 为成熟肽切割位点。根据序列比对和系统进化分析, 硬骨鱼类 LEAP-2 可分为 LEAP-2A、LEAP-2B 和 LEAP-2C 3 种类型。LEAP-2A 前导肽 C 端的基序为 R-X-A-R, 且在成熟肽 N 端具有 6 个高度保守的氨基酸序列 M-T-P-L-W-R; LEAP-2B 的 C 端基序为 R-X-T-R, 成熟肽 N 端保守序列为 M-S-P-L-W-R [虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*) 的为 M-T-P-L-W-R]; LEAP-2C 的 C 端基序为 R-X-K-R, 成熟肽 N 端保守序列为 (R)-S-L-L-W-R 保守序列。

NK-lysins 是由细胞毒性 T 淋巴细胞 (cytotoxic T lymphocytes, CTLs) 和自然杀伤细胞 (natural killer cells, NK cells) 合成分泌后储藏于溶细胞颗粒的阳离子抗菌肽^[50]。NK-lysins 在哺乳动物中多以单拷贝形式存在, 但在某些鱼类中存在多拷贝现象, 如斑点叉尾鲷 (*Ictalurus punctatus*) 含有 3 个 NK-lysins 拷贝、斑马鱼 (*Danio rerio*) 含有 4 个 NK-lysins 拷贝^[51-52]。NK-lysins 属于鞘脂激活蛋白样蛋白 (saposin-like proteins, ASPLIPs) 超家族成员, 富含正电荷氨基酸, 含有 saposin-B (SapB) 结构域和 6 个保守半胱氨酸残基, 由 5 个两性 α -螺旋折叠成单个球状结构^[53]。NK-lysins 的活性依赖于分子二硫键, 阳离子性则有利于其与阴离子细胞膜的结合。NK-lysins 结合到细菌细胞膜后, 不仅能破坏膜的完整性, 还可作用于胞质内 DNA。除了广谱抗菌活性外, NK-lysins 还具有抗肿瘤和免疫调节活性^[54]。

2.4 两栖动物抗菌肽

两栖动物作为水生向陆生演变的过渡群体, 具有重要进化地位。两栖纲 (Amphibian) 可分为蚓螈目 (Gymnophiona)、有尾目 (Caudata) 和无尾目 (Anura) 三目。两栖动物生活环境多样, 主要栖息于温暖、潮湿的复杂环境中, 而且皮肤裸露潮湿, 易受微生物的侵袭。在漫长的进化过程中, 两栖动物的先天免疫防御体系逐步完善, 抗菌肽作为先天性免疫的重要组成部分, 在抵御外来病原微生物的侵染中起着至关重要的作用。目前, 抗菌肽的研究主要集中在无尾目和有尾目中, 而暂无关于蚓螈目抗菌肽的报道。有尾目抗菌肽包括 β -defensins、Cathelicidins、Andricin 01 等; 无尾目抗菌肽包括 Aureins、Brevinins、Bombinins、Buforins、Cathelicidins、Esculentins、Magainins 和 Temporins 等。

根据 C 端基团和肽链氨基酸序列差异, Aureins 抗菌肽可分为 Aurein 1~5 几类, 其中 Aurein 1~3 属于短链活性肽, 而 Aurein 4 和 Aurein 5 属于长链典型非活性肽^[55]。Aurein 1~3 对革兰氏阳性菌具有较强的抑制作用^[56]。此外, Aurein 1~3 中的部分肽还具有抗癌活性, 如 Aurein 1 和 2 已被证实对大部分癌细胞株均具有抑制活性^[57]。

Brevinins 可分为 Brevinin-1 和 Brevinin-2 两种亚型。Brevinin-1 一般由 24 个氨基酸残基组成, N 端第 14 位多为脯氨酸, 在分子中产生一种稳定的纽结^[58]。大多数 Brevinin-1 的 C 端具有 Cys¹⁸-

(Xaa)₄-Lys-Cys²⁴(C-X-X-X-X-K-C)保守序列, 其中两个半胱氨酸残基相互作用, 形成二硫键桥环七肽结构, 称为 Rana-box 结构^[59]。Brevinin-2 一般由 33~34 个氨基酸组成, 其序列保守性较低。Brevinin-1 对大肠杆菌无显著杀伤作用, Brevinin-2 则对革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌均具有较好的抑菌活性。

Bombinins 可分为 Bombinin 类似肽 (bombinin-like peptides, BLPs) 和 H 型 Bombinin 多肽 (H-type peptides, HPs) 两类。BLPs 由 25~27 个氨基酸组成, 结构相对较为保守, N 端氨基酸序列可变, 而 C 端氨基酸序列相似, 形成酰胺化结构^[60]。Bombinin H 由 17~20 个氨基酸组成, N 端第二位多为 D-亮氨酸 (D-Leu) 或 D-异亮氨酸 (D-Ile), C 端同样具有酰胺化结构, 其溶血活性 (hemolytic activity) 和疏水性 (hydrophobicity) 均高于 BLPs^[61]。

Buforins 主要分为 Buforin I、Buforins II 和 Buforins II b 三类。Buforin I 由 39 个氨基酸组成, 与组蛋白 H2A 的 N 端序列完全一致。与其他两栖动物抗菌肽如 Magainin-2 相比, Buforin I 具有更强的广谱抗菌活性。Buforins II 是由 Buforin I 经内切酶 Lys-C 处理后产生的一种多肽, 含有 Buforin I 中 Thr¹⁶ 到 Lys³⁶ 的 21 个氨基酸残基, 其抗菌活性约为 Buforin I 的两倍。Buforins II b 是将 Buforins II 的 N 端 4 个冗余氨基酸 (T-R-S-S) 截去后获得一个衍生肽, 其抗菌活性显著高于 Buforins II。

Esculentins 可分为 Esculentin-1 和 Esculentin-2 亚型。Esculentin-1 一般由 46 个氨基酸组成, 且在不同物种间高度保守; Esculentin-2 一般由 37 个氨基酸组成, 一级结构保守性较低^[62]。与 Brevinins 相同, Esculentin-1 和 Esculentin-2 肽链末端的两个保守半胱氨酸残基相互作用形成分子内二硫键, 构成 C 端环状七肽结构^[63]。Esculentin-1 具有广谱抗菌活性和促胰岛素释放活性。此外, 在沼水蛙 (*Hylarana guentheri*) 体内发现的 Esculentin-1 GN 具有 LPS 结合活性、广谱抗菌活性和抗炎活性^[64]。

Magainins 主要分为 Magainin-1 和 Magainin-2 两类。Magainin-1 和 Magainin-2 均由 23 个氨基酸组成, 序列相似度较高, 仅在第 10 和 22 号位氨基酸残基存在差异, Magainin-1 为 Gly¹⁰ 和 Lys²², 而 Magainin-2 为 Lys¹⁰ 和 Asn²²^[65]。Magainin-2 的抑菌活性高于 Magainin-1。除了膜穿孔外, Magainin-

2 还可通过类似诱导细胞凋亡的活性而发挥抑菌活性^[66]。

Temporins 属于 α -螺旋型抗菌肽, 其序列较短, 一般由 8~20 个氨基酸组成, 在中性 pH 环境下携带 +1~+3 的净正电荷。不同于 Brevinins 和 Esculentins, Temporins 不具有 Rana-box 二硫键桥环七肽结构, 其 C 端由于翻译后的修饰作用而被酰胺化。Temporins 各成员间肽链长度不一, 且氨基酸序列保守度很低^[67]。多数 Temporins 对革兰氏阳性菌具有强抗菌活性, 而对革兰氏阴性菌仅具有微弱抑制作用。此外, 部分 Temporins 还具有抗病毒、抗寄生虫、免疫调节、抗移植感染、抗败血症和杀伤肿瘤细胞等功能^[68]。

3 抗菌肽的免疫作用机制

抗菌肽的确切作用机制尚未完全阐明, 但目前普遍认为抗菌肽主要通过直接杀伤作用和免疫调节机制发挥其功能。抗菌肽的作用方式取决于其结构性质, 如序列、大小、阳离子性质、疏水性和双亲性等。

3.1 直接杀伤作用

膜渗透作用机制 肽分子对抗病原体的最初驱动力是由于抗菌肽和膜之间的电荷相反而产生的静电吸引。除阴离子脂质外, 细菌外膜表面的脂多糖 (LPS) 和脂磷壁酸 (lipoteichoic acids) 也有助于静电驱动靶向^[69]。抗菌肽靶向并与病原体外膜结合后, 部分抗菌肽通过外膜扩散到内膜。由于结合作用是由静电作用驱动的, 随着更多的抗菌肽分子的到达, 渗透到内膜的程度也会增加。内膜靶点处的抗菌肽到达浓度阈值或最小肽浓度以发挥其抗菌功效^[70]。在实验过程中, 阈值浓度通常表示为肽脂比 (P/L)。肽脂比决定了 AMPs 插入膜的性质。在高肽脂比时, 抗菌肽垂直定向并形成跨膜孔; 在低肽脂比时, 抗菌肽平行于细菌膜插入^[71]。抗菌肽诱导膜渗透作用可通过如下 3 种模型解释。

桶—板模型 (barrel-stave model): 在此模型中, 单体肽分子以 α -螺旋结构在膜表面形成聚集体, 聚集体进一步插入膜中, 使其非极性侧链指向膜的疏水核心, 而肽的亲水表面则指向膜的内侧, 由此形成的跨膜孔导致细胞内物质的释放, 最终导致细胞死亡^[72]。

覆毯模型 (carpet model): 在此模型中, 抗菌

肽表面正电荷与阴离子磷脂头之间通过静电相互作用相结合,肽以平行方向与膜结合^[73]。肽积累后在磷脂膜上形成地毯状结构,从而“覆盖”微生物细胞膜表面^[74]。当达到特定阈值浓度时,肽在膜上形成各种各样的瞬时孔隙,以类似洗涤剂的方式作用,从而形成胶束,最终发生细胞溶解^[75]。

环孔模型 (toroidal pore model): 环孔模型是一种介于桶—板模型和覆毯模型之间的一种模型。一旦抗菌肽分子被吸附到双层表面并在结构上发生转变,膜就会发生弯曲,随后肽分子穿过双层形成孔^[76]。抗菌肽的亲水区与双层膜连接形成孔的外部,而疏水区形成孔的内部。环孔模型与筒壁模型的不同之处在于,环孔模型中的肽即使在孔形成后也始终与极性膜基团相联系,而桶—板模型中的肽则在中心腔形成后立即分离^[77-78]。

非膜靶向作用 虽然膜渗透机制已被证明是抗菌肽的主要作用方式,但一些其他的机制也被提出并广泛讨论,包括抑制细胞内外生物高分子合成和影响细胞内功能等非膜靶向作用机制。抗菌肽通过抑制细胞内或细胞外蛋白质、核酸、脂磷壁酸和肽聚糖等生物高分子的合成,进而影响细胞壁的合成,导致代谢异常,最终引发细胞的死亡^[79]。研究表明,除了作用于细胞壁,抗菌肽进入细胞后,可直接作用于核酸,影响DNA和RNA的复制与合成,也可直接作用于蛋白质分子,引起蛋白质结构发生转变和活性丧失^[80],从而导致细胞死亡。此外,抗菌肽也可通过阻断能量传递来发挥其作用。抗菌肽可以通过破坏ATP合酶的活性或阻断电子传递链而抑制ATP的合成,从而导致能量代谢受损。同时,抗菌肽通过直接与ATP相互作用降低ATP依赖酶的活性。由于能量代谢损伤或酶活性降低,细胞内依赖ATP的生物过程被阻断,导致细胞死亡。一些抗菌肽能够进入线粒体内,影响线粒体内酶的活性,使物质代谢发生紊乱,最终导致细胞死亡。

3.2 免疫调节作用

除了直接杀灭微生物外,抗菌肽还可通过免疫调节机制来发挥其作用。抗菌肽主要由免疫细胞分泌产生,可产生多种免疫反应,如诱导相关免疫细胞分化;激活巨噬细胞、单核细胞、树突状细胞和T细胞等免疫细胞;促进血

管的生成;调节多种免疫相关基因和细胞因子,如肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor, TNF- α)等,中和巨噬细胞和单核细胞等释放的促炎细胞因子,从而减轻炎症反应;抑制过多活性氮氧化合物的释放^[81]。研究表明,抗菌肽还可能干扰正常的细胞功能,如基因转录、细胞凋亡和细胞因子的产生等,从而提高宿主的先天免疫和适应性免疫^[82]。

参考文献 (References):

- [1] Raheem N, Straus S K. Mechanisms of action for antimicrobial peptides with antibacterial and antibiofilm functions[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 2866.
- [2] Chung C R, Jhong J H, Wang Z, *et al.* Characterization and identification of natural antimicrobial peptides on different organisms[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(3): 986.
- [3] Aisenbrey C, Marquette A, Bechinger B. The mechanisms of action of cationic antimicrobial peptides refined by novel concepts from biophysical investigations[M]// Matsuzaki K. *Antimicrobial Peptides*. Singapore: Springer, 2019: 33-64.
- [4] Leite M L, da Cunha N B, Costa F F. Antimicrobial peptides, nanotechnology, and natural metabolites as novel approaches for cancer treatment[J]. *Pharmacology & Therapeutics*, 2018, 183: 160-176.
- [5] Abdi M, Mirkalantari S, Amirmozafari N. Bacterial resistance to antimicrobial peptides[J]. *Journal of Peptide Science*, 2019, 25(11): e3210.
- [6] Secombes C. Will advances in fish immunology change vaccination strategies?[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2008, 25(4): 409-416.
- [7] 曲木, 暴丽梅, 赵子续, 等. 微生态制剂在水产养殖中的应用[J]. *生物化工*, 2019, 5(6): 102-106, 119.
Qu M, Bao L M, Zhao M X, *et al.* Application of microecological preparations in aquaculture[J]. *Biological Chemical Engineering*, 2019, 5(6): 102-106, 119(in Chinese).
- [8] Rončević T, Puizina J, Tossi A. Antimicrobial peptides as anti-infective agents in pre-post-antibiotic era?[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(22): 5713.
- [9] Koehbach J, Craik D J. The vast structural diversity of antimicrobial peptides[J]. *Trends in Pharmacological*
中国水产学会主办 sponsored by China Society of Fisheries

- Sciences*, 2019, 40(7): 517-528.
- [10] Vasilchenko A S, Rogozhin E A. Sub-inhibitory effects of antimicrobial peptides[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 1160.
- [11] Mwangi J, Hao X, Lai R, *et al.* Antimicrobial peptides: New hope in the war against multidrug resistance[J]. *Zoological Research*, 2019, 40(6): 488-505.
- [12] Semreen M H, El-Gamal M I, Abdin S, *et al.* Recent updates of marine antimicrobial peptides[J]. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 2018, 26(3): 396-409.
- [13] Oliva R, Chino M, Pane K, *et al.* Exploring the role of unnatural amino acids in antimicrobial peptides[J]. *Scientific Reports*, 2018, 8(1): 8888.
- [14] Arias M, Piga K B, Hyndman M E, *et al.* Improving the activity of Trp-rich antimicrobial peptides by Arg/Lys substitutions and changing the length of cationic residues[J]. *Biomolecules*, 2018, 8(2): 19.
- [15] Wu B, Zhang C H, Qin X M, *et al.* Identification and function of penaeidin 3 and penaeidin 5 in *Fenneropenaeus merguensis*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2019, 89: 623-631.
- [16] Li M, Ma C X, Zhu P, *et al.* A new crustin is involved in the innate immune response of shrimp *Litopenaeus vannamei*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2019, 94: 398-406.
- [17] Smith V J, Fernandes J M O, Kemp G D, *et al.* Crustins: enigmatic WAP domain-containing antibacterial proteins from crustaceans[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2008, 32(7): 758-772.
- [18] Jiang H S, Jia W M, Zhao X F, *et al.* Four crustins involved in antibacterial responses in *Marsupenaeus japonicus*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2015, 43(2): 387-395.
- [19] Jiménez-Vega F, Vargas-Albores F. A secretory leukocyte proteinase inhibitor (SLPI)-like protein from *Litopenaeus vannamei* haemocytes[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2007, 23(5): 1119-1126.
- [20] Du Z Q, Li B, Shen X L, *et al.* A new antimicrobial peptide isoform, Pc-crustin 4 involved in antibacterial innate immune response in fresh water crayfish, *Procambarus clarkii*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2019, 94: 861-870.
- [21] Wang Y, Zhang X W, Wang H, *et al.* SpCrus3 and SpCrus4 share high similarity in mud crab (*Scylla paramamosain*) exhibiting different antibacterial activities[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2018, 82: 139-151.
- [22] Du Z Q, Wang Y, Ma H Y, *et al.* A new crustin homologue (SpCrus6) involved in the antimicrobial and antiviral innate immunity in mud crab, *Scylla paramamosain*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2019, 84: 733-743.
- [23] Li M, Ma C X, Li H Y, *et al.* Molecular cloning, expression, promoter analysis and functional characterization of a new Crustin from *Litopenaeus vannamei*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2018, 73: 42-49.
- [24] Yang L W, Niu S W, Gao J F, *et al.* A single WAP domain (SWD)-containing protein with antiviral activity from pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2018, 73: 167-174.
- [25] Dai X L, Huang X, Zhang Z X, *et al.* Molecular cloning and expression analysis of two type II crustin genes in the oriental river prawn, *Macrobrachium nipponense*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2020, 98: 446-456.
- [26] Tharntada S, Somboonwiwat K, Rimphanitchayakit V, *et al.* Anti-lipopolysaccharide factors from the black tiger shrimp, *Penaeus monodon*, are encoded by two genomic loci[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2008, 24(1): 46-54.
- [27] Ponprateep S, Tharntada S, Somboonwiwat K, *et al.* Gene silencing reveals a crucial role for anti-lipopolysaccharide factors from *Penaeus monodon* in the protection against microbial infections[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2012, 32(1): 26-34.
- [28] Rosa R D, Vergnes A, de Lorgeril J, *et al.* Functional divergence in shrimp anti-lipopolysaccharide factors (ALFs): from recognition of cell wall components to antimicrobial activity[J]. *PLoS One*, 2013, 8(7): e67937.
- [29] Yang Y S, Boze H, Chemardin P, *et al.* NMR structure of rALF-Pm3, an anti-lipopolysaccharide factor from shrimp: model of the possible lipid A-binding site[J]. *Biopolymers*, 2009, 91(3): 207-220.
- [30] Jiang H S, Zhang Q, Zhao Y R, *et al.* A new group of anti-lipopolysaccharide factors from *Marsupenaeus japonicus* functions in antibacterial response[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2015, 48(1): 33-42.
- [31] Matos G M, Schmitt P, Barreto C, *et al.* Massive gene

- expansion and sequence diversification is associated with diverse tissue distribution, regulation and antimicrobial properties of anti-lipopolysaccharide factors in shrimp[J]. *Marine Drugs*, 2018, 16(10): 381.
- [32] Srisapoom P, Klongklaew N, Areechon N, *et al.* Molecular and functional analyses of novel anti-lipopolysaccharide factors in giant river prawn (*Macrobrachium rosenbergii*, De Man) and their expression responses under pathogen and temperature exposure[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2018, 80: 357-375.
- [33] Wu X D, Huang Y W, Yu Z B, *et al.* An MBT domain containing anti-lipopolysaccharide factor (PtALF8) from *Portunus trituberculatus* is involved in immune response to bacterial challenge[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2019, 84: 252-258.
- [34] 杨婷婷, 叶梦晓, 尤仲杰, 等. 抗菌肽及其在贝类中的研究进展[J]. *基因组学与应用生物学*, 2012, 31(6): 644-649.
- Yang T T, Ye M X, You Z J, *et al.* Antimicrobial peptides and their research progress in mollusk[J]. *Genomics and Applied Biology*, 2012, 31(6): 644-649(in Chinese).
- [35] Mitta G, Hubert F, Noël 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.
- [36] Balseiro P, Falcó A, Romero A, *et al.* *Mytilus galloprovincialis* myticin C: a chemotactic molecule with antiviral activity and immunoregulatory properties[J]. *PLoS One*, 2011, 6(8): e23140.
- [37] Sonthi M, Cantet F, Toubiana M, *et al.* Gene expression specificity of the mussel antifungal mytimycin (MytM)[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2012, 32(1): 45-50.
- [38] Wang L L, Song X R, Song L S. The oyster immunity[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2018, 80: 99-118.
- [39] Dolashka P, Moshtanska V, Borisova V, *et al.* Antimicrobial proline-rich peptides from the hemolymph of marine snail *Rapana venosa*[J]. *Peptides*, 2011, 32(7): 1477-1483.
- [40] Seo J K, Go H J, Kim C H, *et al.* Antimicrobial peptide, hdMolluscidin, purified from the gill of the abalone, *Haliotis discus* [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2016, 52: 289-297.
- [41] 胡媛媛, 姚波. 鱼类抗菌肽的研究进展[J]. *武汉工程大学学报*, 2020, 42(1): 8-17.
- Hu Y Y, Yao B. Advance in research of fish antimicrobial peptides[J]. *Journal of Wuhan Institute of Technology*, 2020, 42(1): 8-17(in Chinese).
- [42] Muncaster S, Kraakman K, Gibbons O, *et al.* Antimicrobial peptides within the yellowtail kingfish (*Seriola lalandi*)[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2018, 80: 67-80.
- [43] Zhao L, Lu W Y. Defensins in innate immunity[J]. *Current Opinion in Hematology*, 2014, 21(1): 37-42.
- [44] Contreras G, Shirdel I, Braun M S, *et al.* Defensins: transcriptional regulation and function beyond antimicrobial activity[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2020, 104: 103556.
- [45] Chen Y Y, Zhao H, Zhang X S, *et al.* Identification, expression and bioactivity of *Paramisgurnus dabryanus* β -defensin that might be involved in immune defense against bacterial infection[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2013, 35(2): 399-406.
- [46] Hilton K B, Lambert L A. Molecular evolution and characterization of hepcidin gene products in vertebrates[J]. *Gene*, 2008, 415(1-2): 40-48.
- [47] Vela D, Vela-Gaxha Z. Differential regulation of hepcidin in cancer and non-cancer tissues and its clinical implications[J]. *Experimental & Molecular Medicine*, 2018, 50(2): e436.
- [48] 何建瑜, 刘慧慧, 薛超波. 鱼类铁调素(Hepcidin)的研究进展[J]. *水产养殖*, 2011, 32(7): 50-53.
- He J Y, Liu H H, Xue C B. Development of hepcidin in fish[J]. *Journal of Aquaculture*, 2011, 32(7): 50-53(in Chinese).
- [49] Chen C, Wang A L, Zhang F, *et al.* The protective effect of fish-derived cathelicidins on bacterial infections in zebrafish, *Danio rerio*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2019, 92: 519-527.
- [50] Valero Y, Chaves-Pozo E, Cuesta A. NK-lysin is highly conserved in European sea bass and gilthead seabream but differentially modulated during the immune response[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2020, 99: 435-441.
- [51] Wang Q, Bao B L, Wang Y P, *et al.* Characterization of 中国水产学会主办 sponsored by China Society of Fisheries

- a NK-lysin antimicrobial peptide gene from channel catfish[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2006, 20(3): 419-426.
- [52] Pereiro P, Varela M, Diaz-Rosales P, *et al.* Zebrafish Nk-lysin: first insights about their cellular and functional diversification[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2015, 51(1): 148-159.
- [53] 王改玲, 王明成, 李传凤, 等. 草鱼NK-lysin基因的克隆、原核表达与活性分析[J]. *水产学报*, 2017, 41(10): 1500-1511.
- Wang G L, Wang M C, Li C F, *et al.* The cDNA cloning, expression and antibacterial activity of NK-lysin from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2017, 41(10): 1500-1511(in Chinese).
- [54] Kim W H, Lillehoj H S, Min W. Evaluation of the immunomodulatory activity of the chicken NK-lysin-derived peptide cNK-2[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 45099.
- [55] Raheem N, Kumar P, Lee E, *et al.* Insights into the mechanism of action of two analogues of aurein 2.2[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)- Biomembranes*, 2020, 1862(6): 183262.
- [56] Madanchi H, Akbari S, Shabani A A, *et al.* Alignment-based design and synthesis of new antimicrobial aurein-derived peptides with improved activity against Gram-negative bacteria and evaluation of their toxicity on human cells[J]. *Drug Development Research*, 2019, 80(1): 162-170.
- [57] Rozek T, Bowie J H, Wallace J C, *et al.* The antibiotic and anticancer active aurein peptides from the Australian bell frogs *Litoria aurea* and *Litoria raniformis*. Part 2. Sequence determination using electrospray mass spectrometry[J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2000, 14(21): 2002-2011.
- [58] Savelyeva A, Ghavami S, Davoodpour P, *et al.* An overview of brevinin superfamily: structure, function and clinical perspectives[M]//Grimm S. *Anticancer Genes*. London: Springer, 2014: 197-212.
- [59] Zohrab F, Askarian S, Jalili A, *et al.* Biological properties, current applications and potential therapeutic applications of brevinin peptide superfamily[J]. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, 2019, 25(1): 39-48.
- [60] Zhou C, Wang Z M, Peng X, *et al.* Discovery of two bombinin peptides with antimicrobial and anticancer activities from the skin secretion of Oriental fire-bellied toad, *Bombina orientalis*[J]. *Chemical Biology & Drug Design*, 2018, 91(1): 50-61.
- [61] Xiang J, Zhou M, Wu Y X, *et al.* The synergistic antimicrobial effects of novel bombinin and bombinin H peptides from the skin secretion of *Bombina orientalis*[J]. *Bioscience Reports*, 2017, 37(5): BSR20170967.
- [62] Kumar T V, Asha R, George S. Identification and functional characterisation of Esculentin-2 HYba peptides and their C-terminally amidated analogs from the skin secretion of an endemic frog[J]. *Natural Product Research*, 2019.
- [63] Chen X L, Wang H, Wang L, *et al.* Identification of miscellaneous peptides from the skin secretion of the European edible frog, *Pelophylax kl. esculentus*[J]. *The Protein Journal*, 2016, 35(4): 291-299.
- [64] Zeng B S, Chai J W, Deng Z H, *et al.* Functional characterization of a novel lipopolysaccharide-binding antimicrobial and anti-inflammatory peptide *in vitro* and *in vivo*[J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2018, 61(23): 10709-10723.
- [65] Patocka J, Nepovimova E, Klimova B, *et al.* Antimicrobial peptides: amphibian host defense peptides[J]. *Current Medicinal Chemistry*, 2019, 26(32): 5924-5946.
- [66] Lee W, Lee D G. Magainin 2 induces bacterial cell death showing apoptotic properties[J]. *Current Microbiology*, 2014, 69(6): 794-801.
- [67] Romero S M, Cardillo A B, Ceron M C M, *et al.* Temporins: an approach of potential pharmaceutical candidates[J]. *Surgical Infections*, 2019, 21(4): 309-322.
- [68] Mangoni M L. Temporins, anti-infective peptides with expanding properties[J]. *Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS*, 2006, 63(9): 1060-1069.
- [69] Kang H K, Kim C, Seo C H, *et al.* The therapeutic applications of antimicrobial peptides (AMPs): a patent review[J]. *Journal of Microbiology*, 2017, 55(1): 1-12.
- [70] Ciunac D, Gong H N, Hu X Z, *et al.* Membrane targeting cationic antimicrobial peptides[J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2019, 537: 163-185.
- [71] Sierra J M, Fusté E, Rabanal F, *et al.* An overview of antimicrobial peptides and the latest advances in their development[J]. *Expert Opinion on Biological Therapy*,

- 2017, 17(6): 663-676.
- [72] Shabir U, Ali S, Magray A R, *et al.* Fish antimicrobial peptides (AMP's) as essential and promising molecular therapeutic agents: a review[J]. *Microbial Pathogenesis*, 2018, 114: 50-56.
- [73] Moravej H, Moravej Z, Yazdanparast M, *et al.* Antimicrobial peptides: features, action, and their resistance mechanisms in bacteria[J]. *Microbial Drug Resistance*, 2018, 24(6): 747-767.
- [74] Lee T H, Hofferek V, Separovic F, *et al.* The role of bacterial lipid diversity and membrane properties in modulating antimicrobial peptide activity and drug resistance[J]. *Current Opinion in Chemical Biology*, 2019, 52: 85-92.
- [75] 张溪, 弓磊. 抗菌肽抗菌机制及研究热点[J]. *中国组织工程研究*, 2020, 24(10): 1634-1640.
- Zhang X, Gong L. Antimicrobial mechanism of antimicrobial peptide and research progress[J]. *Chinese Journal of Tissue Engineering Research*, 2020, 24(10): 1634-1640(in Chinese).
- [76] 汪吴晶, 高金燕, 佟平, 等. 抗菌肽的作用机制、应用及改良策略[J]. *动物营养学报*, 2017, 29(11): 3885-3892.
- Wang W J, Gao J Y, Tong P, *et al.* Antimicrobial peptides: action mechanism, application and improvement strategy[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2017, 29(11): 3885-3892(in Chinese).
- [77] Sharma K, Aaghaz S, Shenmar K, *et al.* Short antimicrobial peptides[J]. *Recent Patents on Anti-Infective Drug Discovery*, 2018, 13(1): 12-52.
- [78] 张宇, 姜宁. 抗菌肽的生物学特征与作用机制间的相关性[J]. *中国生物制品学杂志*, 2019, 32(7): 819-822, 827.
- Zhang Y, Jiang N. Relationship between biological characteristics and action mechanism of antimicrobial peptides[J]. *Chinese Journal of Biologicals*, 2019, 32(7): 819-822, 827(in Chinese).
- [79] Zhang D, He Y, Ye Y, *et al.* Little antimicrobial peptides with big therapeutic roles[J]. *Protein & Peptide Letters*, 2019, 26(8): 564-578.
- [80] van der Does A M, Hiemstra P S, Mookherjee N. Antimicrobial host defence peptides: immunomodulatory functions and translational prospects[M]//Matsuzaki K. *Antimicrobial Peptides*. Singapore: Springer, 2019: 149-171.
- [81] Kumar P, Kizhakkedathu J N, Straus S K. Antimicrobial peptides: diversity, mechanism of action and strategies to improve the activity and biocompatibility *in vivo*[J]. *Biomolecules*, 2018, 8(1): 4.
- [82] AlMatar M, Makky E A, Yakıcı G, *et al.* Antimicrobial peptides as an alternative to anti-tuberculosis drugs[J]. *Pharmacological Research*, 2018, 128: 288-305.

Review of antimicrobial peptides from aquatic animals

QI Zhitao^{1*}, XU Yang^{1,2}, ZOU Jun³, NIE Pin^{4,5}

(1. School of Marine and Biological Engineering, Yancheng Institute of Technology, Yancheng 224051, China;

2. School of Chemistry and Chemical Engineering, Yancheng Institute of Technology, Yancheng 224051, China;

3. School of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

4. School of Marine Science and Engineering, Qingdao Agricultural University, Qingdao 266237, China;

5. Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, China)

Abstract: Antimicrobial peptides (AMPs) are groups of small molecular polypeptides, which are important parts of host innate immune system, having perfect inhibiting effects or killing effects against Gram negative bacteria, Gram positive bacteria, virus and parasites. Due to their non-pollution, no residue, broad-spectrum antibacterial activity and no drug resistance, AMPs are expected to replace antibiotics in the prevention and control of pathogenic diseases in aquatic animals. In recent years, AMPs have been reported in aquatic animals including aquatic crustaceans, aquatic mollusks, fish and amphibians. However, the classifications and immune mechanisms of AMPs need further investigation. In this paper, the AMPs from different aquatic animals were classified, and their structural features and functions were analyzed. The AMPs of aquatic crustaceans were mainly divided into penaeidins, crustins and anti-lipopolysaccharide factors (ALFs), which possessed different effects against aquatic pathogens. The AMPs of aquatic mollusks include defensins, mytilins, myticins, mytimycins and big defensins, which have perfect inhibiting effects against bacteria and fungus. Fish possess complex AMPs types, including piscidins, β -defensins, hepcidins, cathelicidins, liver-expressed antimicrobial peptide 2, (LEAP-2) and NK-lysins. Different types AMPs in fish shared distinct structural features and immune functions. Amphibian AMPs include the β -defensins, cathelicidins, andricin 01 of Caudata, and aureins, brevinins, bvombinins, buforins, cathelicidins, esculentins, magainins and temporins of Anura. The immune mechanisms of AMPs including direct killing effects, non-membrane target effects and immune regulation were also analyzed. This paper would provide a basis for the future studies of AMPs and their applications in aquatic animals.

Key words: aquatic animals; antimicrobial peptides; structural features; classification; immune mechanism

Corresponding author: QI Zhitao. E-mail: qizhitao@ycit.edu.cn

Funding projects: National Natural Science Foundation of China (31302221); General Program of Jiangsu Natural Science Foundation (BK20171274); High-level Talent Project of "Six Talent Peaks" in Jiangsu Province (NY-115)