

斜纹夜蛾两个天蚕素 D 基因的克隆及序列分析

陈维春^{1,2} 宋杰³ 庞义^{1,*}

(1. 中山大学有害生物控制与资源利用国家重点实验室, 昆虫学研究所, 广州 510275; 2. 广东医学院生物化学与分子生物学研究所, 广东湛江 524023; 3. 广东医学院寄生虫学教研室, 广东湛江 524023)

摘要: 天蚕素是昆虫抵御病菌入侵的一类抗菌肽家族。根据斜纹夜蛾 *Spodoptera litura* 天蚕素 B 基因设计特异引物, 通过 PCR 扩增得到 2 个新的天蚕素基因部分序列, 分别命名为 *cecD1* 和 *cecD2* (GenBank 登录号分别为 EF555567 和 EF555568)。2 个基因编码同一个天蚕素 D 蛋白, 该蛋白的成熟肽与天蚕素 B 存在 2 个氨基酸残基差异。序列分析发现 *cecD1* 和 *cecD2* 中分别包含 568 bp 和 377 bp 的内含子序列, 它们有相同的 5' 和 3' 拼接位点, A + T 含量分别为 59.7% 和 69.8%, 符合大多数真核生物内含子高 A + T 含量的特征。

关键词: 斜纹夜蛾; 抗菌肽; 天蚕素; 内含子; 基因结构

中图分类号: Q966 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2007)07-0745-05

Cloning and sequence analysis of two cecropin D genes from the common cutworm, *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae)

CHEN Wei-Chun^{1,2}, SONG Jie³, PANG Yi^{1,*} (1. State Key Laboratory for Biocontrol, Institute of Entomology, Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510275, China; 2. Institute of Biochemistry and Molecular Biology, Guangdong Medical College, Zhanjiang, Guangdong 524023, China; 3. Department of Parasitology, Guangdong Medical College, Zhanjiang, Guangdong 524023, China)

Abstract: Cecropins are a family of antibacterial peptides synthesized in insects as a response to a bacterial infection. Two primers were designed according to cecropin B gene from *Spodoptera litura* and were used to PCR. As the result, two new cecropin genes, named *cecD1* and *cecD2*, were obtained, which encoded identical preprocecropin D. There was 2 amino acid residues difference between the mature peptide of preprocecropin D and that of cecropin B from *S. litura*. Two introns, 568 bp and 377 bp long, were found in *cecD1* and *cecD2*, respectively, both having the same 5' and 3' splicing sites. The A + T content was 59.7% in *cecD1* intron and 69.8% in *cecD2* intron, conforming to the high A + T content characteristics of most eukaryotic introns.

Key words: *Spodoptera litura*; antibacterial peptide; cecropin; intron; gene structure

昆虫没有高等动物那样包含抗原-抗体反应的免疫系统, 但有着针对细菌及其他微生物入侵的有效防御机制, 抗菌肽就是昆虫这种防御机制中的关键成分。昆虫抗菌肽是由于体表的创伤和细菌感染而主要在脂肪体和血球细胞被诱导合成的低分子量蛋白质, 具有耐热性、强碱性、抗菌谱广的特点。抗菌肽对革兰氏阳性、阴性菌均有抗性, 甚至可以杀伤真菌、病毒、原虫和癌细胞等 (Baker *et al.*, 1993)。到目前为止, 从各种昆虫和其他无脊椎动物中已分

离鉴定了约 170 种抗菌肽 (Lowenberger *et al.*, 1999); 根据其氨基酸的组成和结构特点可以分为四大类别: 天蚕素类 (cecropins)、昆虫防御素、富含甘氨酸肽、富含脯氨酸肽等 (陈留存和王金星, 1999)。

天蚕素是最早被发现的抗菌肽, 由 Boman 研究小组首先从惜古比天蚕 *Hyalophora cecropia* 蛹中分离出来, 并鉴定了其氨基酸和 mRNA 序列 (Steiner *et al.*, 1981)。天蚕素有 A、B、D 三类之分, 分子中包含 35~37 个氨基酸残基, 强碱性氨基末端和疏水性的

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30530540)

作者简介: 陈维春, 男, 1974 年生, 博士, 研究方向为分子生物学, E-mail: chenwchun@hotmail.com

* 通讯作者 Author for correspondence, Tel.: 020-84113860; E-mail: pangy@mail.sysu.edu.cn

收稿日期 Received: 2007-02-15; 接受日期 Accepted: 2007-04-27

羧基末端。天蚕素分子中含有两段 α -螺旋,中间由一段结节部位相连,这种结节部在其他一些细胞膜毒素中普遍存在,如 melittin、alamethicin 和 pardaxin 等,这种结构与其抗菌活性密切相关。Holak 等(1988)用二维核磁共振技术证实了该结构的存在。随后,天蚕素类抗菌肽从其他鳞翅目昆虫如中国柞蚕 *Antheraea pernyi*(Qu *et al.*, 1982)、家蚕 *Bombyx mori*(Tanaii *et al.*, 1992)和双翅目昆虫麻蝇(Matsuyama and Natori, 1988)、果蝇(Kylsten *et al.*, 1990)等中被分离出来,并测定了其氨基酸序列的长度介于 31~39 个氨基酸残基之间。天蚕素类抗菌肽还从被囊动物(Zhao *et al.*, 1997)、猪蛔虫 *Ascaris suum*(Pillai *et al.*, 2005)和哺乳动物猪(Lee *et al.*, 1989)中被分离鉴定出来,表明这类抗菌肽在整个动物界都可能存在,但目前昆虫纲中主要在鳞翅目和双翅目昆虫中有发现。

Choi 等(2000)从斜纹夜蛾 *Spodoptera litura* 幼虫血淋巴中分离出 cecropin A 和 cecropin B 两个天蚕素类抗菌肽,成熟肽序列分别为 36 和 37 个氨基酸残基。cecropin A 和 B 抗菌谱广,对革兰氏阳性、阴性菌都有杀伤作用;活性稳定,在 pH 5.6~8.0 条件下均有较强活性。目前斜纹夜蛾 cecropin A 和 B 基因的全序列、内含子以及在染色体中的定位等尚不清楚,深入研究这些基因的信息有助于了解在昆虫体内不同抗菌肽的差异表达和 mRNA 加工成熟过程。本实验从斜纹夜蛾 mRNA 中得到了一个新的天蚕素类抗菌肽,该抗菌肽由 2 个基因编码,各有 1 个长度分别为 568 bp 和 377 bp 的内含子。

1 材料和方法

1.1 昆虫、细菌和免疫

斜纹夜蛾由中山大学昆虫所养虫室人工饲料饲养;大肠杆菌 TG1 和 DH5 α 以及金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus* 均由本室保存。给斜纹夜蛾 4 龄幼虫注射 5 μ L 高温灭活的大肠杆菌 DH5 α 和金黄色葡萄球菌混合液,诱导 24 h 后用于总 RNA 提取。

1.2 试剂

限制性内切酶 *Bam*H I 和 *Hind* III, T₄ DNA 连接酶,质粒 pMD18-T 载体, RNA PCR Kit 均购自 TaKaRa 公司;Taq 酶购自上海博亚生物科技公司;TRIzol 试剂购自 Invitrogen 公司;DEPC 和饱和酚购自上海生物工程公司;质粒提取和胶回收试剂盒为 Omega 公司产品。其他为国产分析纯试剂。

1.3 PCR 引物的设计和反应

参照 Choi 等(2000)报道的斜纹夜蛾 cecropin B 基因设计 1 对特异引物, S1cec-P1: 5'-CTTC GTGTTGCGGTGTCTGCTC-3'; S1cec-P2: 5'-TACTGC TAATTACTTCCCAG-3'。引物由上海博亚生物科技公司合成。RT-PCR 和 PCR 反应按操作说明进行。

1.4 基因组 DNA 的提取

斜纹夜蛾基因组 DNA 的抽提参照 Sambrook 和 Russel(2001)方法进行。

1.5 产物的克隆和测序

PCR 产物经割胶纯化回收后,与 pMD18-T 载体连接,转化 TG1 感受态细胞,铺于含 X-gal、IPTG 和 Amp 的 LB 平板中,挑取单个白色菌落,接种于含 Amp 的 LB 液体培养基中,37 $^{\circ}$ C 培养过夜,经酶切鉴定正确的质粒送上海博亚生物科技公司测序。

2 结果与分析

2.1 斜纹夜蛾 cecropin D 部分氨基酸序列分析

取免疫后的斜纹夜蛾幼虫脂肪体组织提取总 RNA,用特异性引物 S1cec-P1 和 S1cec-P2 进行 RT-PCR,扩增出了 cecropin D 基因编码区部分 cDNA 序列,1.5% 琼脂糖凝胶电泳观察到一特异的约 170 bp 电泳条带(图 1)。将该片段克隆到 pMD18-T 载体后,经 PCR 筛选和酶切鉴定后测序,结果表明所获得的 cecropin D cDNA 大小为 178 bp。推导出的 cecropin D 部分氨基酸序列包含 55 个氨基酸残基,经比较发现与斜纹夜蛾 cecropin B 存在 2 个氨基酸

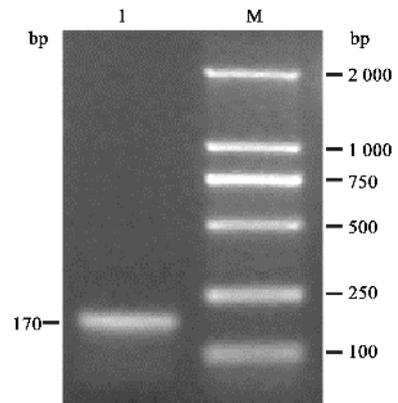


图 1 斜纹夜蛾 cecropin D 基因部分序列的 RT-PCR 结果

Fig. 1 RT-PCR result of *Spodoptera litura* cecropin D partial sequence

M: DNA 标准 DNA marker (DL2000);

1: Cecropin D 部分序列 Cecropin D partial sequence.

残基的差异,相似性为 96%,且差异位点均位于成熟肽区域(图 2)。进一步的比较发现,cecropin D 成熟肽与 cecropin A 存在 6 个位点差异,前导肽没有显

示出不同,相似性为 89%;同家蚕 cecropin A 和 B 的相似性分别为 78%和 85%,在前导肽和成熟肽区域均有不同(图 2)。

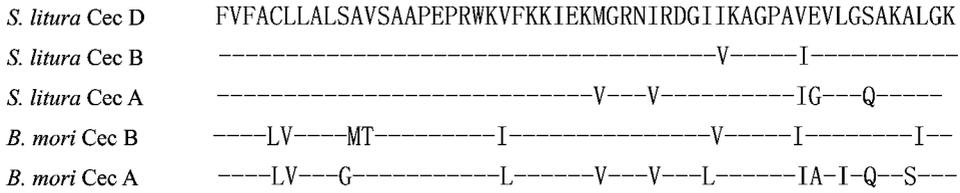


图 2 Cecropin D 氨基酸序列与斜纹夜蛾及家蚕 cecropin A 和 B 的比较

Fig. 2 Comparison of cecropin D with cecropin A, B from *Spodoptera litura* and *Bombyx mori*

箭头指示成熟肽 N 末端 N-terminal of the mature peptide are shown by an arrow head; 虚线代表 cecropin D 相同的氨基酸残基 The dashed lines indicated identical amino acids to cecropin D.

2.2 斜纹夜蛾 cecropin D 基因组两个内含子的克隆和序列分析

以斜纹夜蛾幼虫脂肪体基因组 DNA 为模板,用引物 Slcec-P1 和 Slcec-P2 进行 PCR 扩增,得到大小分别约为 750 bp 和 550 bp 的 2 条清晰条带(图 3)。PCR 产物克隆至 pMD18-T 载体后测序,结果表明获得的 cecropin D 部分基因组 DNA 大小分别为 746 bp 和 555 bp。分析发现 cecropin D 在基因组中有 2 个基因,分别命名为 *cecD1* 和 *cecD2*(GenBank 登录号分别为 EF555567 和 EF555568),两者编码同一个 cecropin D 蛋白(图 4)。

有 7 个 T 串($n > 3$)和 3 个 A 串($n > 3$),二者的 3' 端均有 3 个连续的 T 串,表明它们可能具有相同的剪接机制。

3 讨论

斜纹夜蛾 cecropin B 和 cecropin A 之间的相似性为 89%(Choi *et al.*, 2000),与天蚕 *H. cecropia* 以及家蚕 cecropin B 和 A 之间的同源性也在 70% 以上(图 2)表明天蚕素在鳞翅目昆虫中具有较高的保守性并在昆虫防御中起重要作用。本研究从中国斜纹夜蛾基因组中得到了一个新的天蚕素类抗菌肽 cecropin D,与斜纹夜蛾 cecropin B 和 cecropin A 的相似性分别为 96%和 89%。目前,cecropin 基因家族在染色体上的定位研究已经有一定的进展。天蚕家族在染色体上的长度超过 20 kb,编码紧密相邻的 cecropin B, A 和 D 的前体基因;3 个基因均有各自的内含子,大小分别为 514 bp、2 178 bp 和 2 451 bp; cecropin A 和 D 的内含子明显大于 cecropin B 的内含子,主要是由于其中含有转座因子(Gudmundsson *et al.*, 1991)。在黑腹果蝇 *D. melanogaster* 基因组中存在 3 个活跃的 cecropin 基因和 2 个假基因,均有各自相应的内含子,内含子大小介于 58 ~ 61 bp 之间,在 DNA 上的总长度小于 4 kb(Ramos-Onsins and Aguade, 1998)。

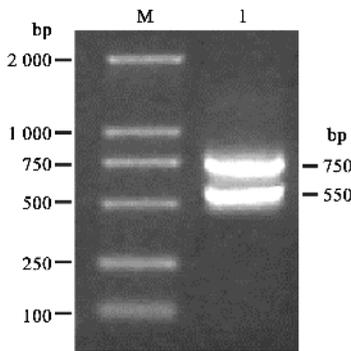


图 3 斜纹夜蛾 cecropin D 部分序列的基因组 PCR 扩增结果

Fig. 3 PCR amplification results of *Spodoptera litura*

cecropin D genomic DNA

M: DNA 标准 DNA marker (DL2000); 1: Cecropin D 基因部分序列 Cecropin D partial sequence.

cecD1 和 *cecD2* 中各有一个内含子序列,长度分别为 568 bp 和 377 bp; A + T 含量分别为 59.7%和 69.8%,明显高于它们相应的外显子的 A + T 含量。两个内含子的 5' 和 3' 拼接位点相同,分别是 5'-gtgagtac-3'和 5'-ttttccag-3'(表 1)。cecD1 内含子有 6 个 T 串($n > 3$)和 2 个 A 串($n > 3$),而 cecD2 内含子

家蚕是另一种 cecropin 基因族研究得比较清楚的昆虫。据估计家蚕单倍体基因组中可能至少有 4 拷贝的 *cecB* 基因,其中 *cecB1* 和 *cecB2* 已经被克隆和测序。*cecB1* 和 *cecB2* 基因的外显子有 15 个核苷酸不同但编码相同的氨基酸序列,两者的内含子大小分别为 931 bp 和 2 418 bp。*cecB1* 和 *cecB2* 在 DNA

CecD1

1 CTTCGTGTTCCGCGTGTCTGCTCGCGCTGAGCGCCGTCAGCGCCGCGCAGAACCGAGGTGGAAGTCTTCAAGAAGATTG
 F V F A C L L A L S A V S A A P E P R W K V F K K I △
 81 TGAGTACCTTTATACATGTTGCTTCTAATACCATCTCCTATGGTTGGTAACATCCGATTCTTGGATCAGTCAGGGAAT
 161 AGAATGACACACAGCTCTTTCTATTATTACATCACATCATCGCCAGCCTATAAGTCTTACTGCTGAGTAAATGCTTCT
 241 TCTAATTCGAAAAGGTTTGAGCACTAATCGATTAGTTGACAGCGGAGATGTTGAATTCAAACAATAAAATTTTATGG
 321 GTTAAGCCGGTAAACTAGCAGACGGATCACCTGGTGGTAAGCAATCCATGTCGCCATGGCACTTGGAAACACCAGAGGC
 401 GTTACAAGTGCCTTACCGGCTTTTGGGGACTAGGAATTTGAGAAACATTAAGATTGGGTCTCCGGTAACCTTTAAGAT
 481 ATCCAGATCCACACTTTAAGACATAGATAGATGTTCCATTTTATACAGACTCACATTAACCTGTCAAACACCAAGCGG
 561 TCACCGGTGACCGCAACCTATTGTTCTATAATTGTGTCTATAAAGACGGTACTCGACGAGTTAATCATTTTTCTTTTTAT
 641 TTCCAGGAAAAGATGGCCCGCAACATCCGTGACGGTATCATCAAGCAGGACCCGCTGTCGAGGTCCTGGGCTCAGCCA
 △ E K M G R N I R D G I I K A G P A V E V L G S A K
 721 AGGCGTGGGGAAGTAATTAGCAGTA
 A L G K stop

CecD2

1 CTTCGTGTTCCGCGTGTCTGCTCGCGCTGAGCGCCGTCAGCGCCGCGCAGAACCGAGGTGGAAGTCTTCAAGAAGATCG
 F V F A C L L A L S A V S A A P E P R W K V F K K I △
 81 TGAGTACCTTCATATATTTATTCTAATACCATCTCCTATTTGTAATATTTCCAATTCCTGGATCAGTTAAGGAATAAATC
 161 GGACACATCTCAAAAAAAAAAATAAAGATCTAGGTTATTTATTGGATCAATATTGCAACCTCTAGTATCATCTTCTAT
 241 AACCTGTGAAGATTTTACACCTGCTTATTTCAAAATTTTATTCTGGGAGAAGTAAATACCTATATTTGTAGGTATGT
 321 TACCTATGAGTCACCCCTCTGATAATATTTTTATGAACCTGGTTCAGTCTTAGATAAAATGATCCACAGAGAACAGATA
 401 AAGCGTTCATTTTATACAGACTCACACTAATCATTTTTCTTTTATTTCCAGGAAGATGGCCCGCAACATCCGA
 △ E K M G R N I R
 481 GACGGTATCATCAAGCAGGACCCGCTGTCGAGGTCCTGGGCTCAGCCAAGGCGTGGGGAAGTAATTAGCAGTA
 D G I I K A G P A V E V L G S A K A L G K stop

图 4 斜纹夜蛾 cecropin D 2 个基因部分核苷酸序列

Fig. 4 Partial nucleotide sequence of the two genes for preprocecropin D

所有的外显子用下划线标明；两个外显子下方的单字母表示氨基酸序列；外显子中的不同碱基用方框标明；△指示的是内含子剪接位点。All exons are underlined；the amino acid sequence is written in the one-letter code under the two exons；the bases in square frame are those different bases of exons；and intron splice sites are indicated by △.

表 1 几个天蚕素内含子的比较

Table 1 Comparison of the introns from several cecropins

天蚕素 Cecropins	A + T 含量 A + T content (%)	5' 拼接位点 5' splicing site	内含子长度 Length of intron (bp)	3' 拼接位点 3' splicing site	GenBank 登录号 GenBank accession no.
<i>S. litura cecD1</i> intron 1	59.7	gtgagtac	568	ttttccag	EF555567
<i>S. litura cecD1</i> intron 2	69.8	gtgagtac	377	ttttccag	EF555568
<i>H. cecropia cecB</i>	76.1	gtaagttt	514	ttttccag	X07404
<i>H. cecropia cecA</i>	66.4	gtgagttg	2 178	ctttgcag	M63845
<i>H. cecropia cecD</i>	66.3	gtaagtgt	2 451	tgttttag	M63846
<i>B. mori cecA1</i>	62.7	gtgagtac	609	aattacag	D84395
<i>B. mori cecA2</i>	60.5	gtgagtac	929	aattacag	D84396
<i>B. mori cecB1</i>	64.0	gtaagtag	931	ggtctcag	D25320
<i>B. mori cecB2</i>	56.1	gtaagtgg	2 418	tttttcag	D25321
<i>D. melanogaster cecA1</i>	65.6	gtaagttc	61	tttgaag	X16972
<i>D. melanogaster cecA2</i>	69.0	gtaagtcc	58	tttcag	X16972
<i>D. melanogaster cecB</i>	74.1	ctaaaagg	58	atccatac	X16972

上 12 kb 内串联排列,基因的方向也相同(Taniai *et al.*, 1995)。家蚕 *cecA* 基因情况也类似,由 2 个基因编码同一 cecropin A 蛋白前体,内含子大小分别为 609 bp 和 929 bp(Yamano *et al.*, 1998)。

本研究证明了斜纹夜蛾 cecropin D 蛋白存在至少 2 个编码基因, *cecD1* 和 *cecD2* 外显子 DNA 序列有 3 个碱基差异(图 4),但编码相同的氨基酸序列。两个基因的内含子大小分别为 568 bp 和 377 bp,符合真核生物绝大多数内含子的 GT-AG 规则(章国卫等 2004),也具有相同的高 AT 含量的特征。两者的长度虽然差异较大,但具有相同的 5' 和 3' 拼接位点,推测它们可能有相同的剪切机制。Lee 等(1989)发现 cecropin 内含子尽管大小各异,但位置相对保守,其下游的第 2 外显子 5' 端总是 Glu 残基。斜纹夜蛾 *cecD1* 和 *cecD2* 基因也符合这一特征。

参 考 文 献 (References)

Baker MA, Maloy WL, Zasloff M, Jacob LS, 1993. Anticancer efficacy of Magainin2 and analogue peptide. *Cancer Research*, 53(13): 3 052 – 3 057.

Chen LC, Wang JX, 1999. The antibacterial peptides from insects. *Progress in Biotechnology*, 19(5): 55 – 60. [陈留存, 王金星, 1999. 昆虫抗菌肽研究现状. 生物工程进展, 19(5): 55 – 60]

Choi CS, Lee IH, Kim E, Kim SI, Kim HR, 2000. Antibacterial properties and partial cDNA sequences of cecropin-like antibacterial peptides from the common cutworm, *Spodoptera litura*. *Comp. Biochem. Physiol. C*, 125: 287 – 297.

Gudmundsson GH, Lidholm DA, Asling B, Gan R, Boman HG, 1991. The cecropin locus. Cloning and expression of a gene cluster encoding three antibacterial peptides in *Hyalophora cecropia*. *J. Biol. Chem.*, 266(18): 11 510 – 11 517.

Holak TA, Kearsley SK, Kim Y, Prestegard JH, 1988. Three-dimensional structure of acyl carrier protein determined by NMR pseudoenergy and distance geometry calculations. *Biochemistry*, 27(16): 6 135 – 6 142.

Kylsten P, Samakovlis C, Hultmark D, 1990. The cecropin locus in *Drosophila*: a compact gene cluster involved in the response to infection. *EMBO J.*, 9(1): 217 – 224.

Lee JY, Boman A, Sun CX, Andersson M, Jornvall H, Mutt V, Boman HG, 1989. Antibacterial peptides from pig intestine: isolation of a mammalian cecropin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 86(23): 9 159 – 9 162.

Lowenberger C, Charlet M, Vizioli J, Kamal S, Richman A, Christensen BM, Bulet P, 1999. Antimicrobial activity spectrum, cDNA cloning, and mRNA expression of a newly isolated member of the cecropin family from the mosquito vector *Aedes aegypti*. *J. Biol. Chem.*, 274(29): 20 092 – 20 097.

Matsuyama K, Natori S, 1988. Purification of three antibacterial proteins from the culture medium of NIH-Sape-4, an embryonic cell line of *Sacophaga*. *J. Biol. Chem.*, 263: 17 112 – 17 116.

Pillai A, Ueno S, Zhang H, Lee JM, Kato Y, 2005. Cecropin P1 and novel nematode cecropins: a bacteria-inducible antimicrobial peptide family in the nematode *Ascaris suum*. *Biochem. J.*, 390(Pt 1): 207 – 214.

Qu Z, Steiner H, Engstrom A, Bennich H, Boman HG, 1982. Insect immunity: Isolation and structure of cecropins B and D from pupae of the Chinese oak silk moth, *Antheraea pernyi*. *Eur. J. Biochem.*, 127(1): 219 – 224.

Ramos-Onsins S, Aguade M, 1998. Molecular evolution of the cecropin multigene family in *Drosophila*: functional genes vs. pseudogenes. *Genetics*, 150(1): 157 – 171.

Sambrook J, Russell DW, 2001. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. 3rd edition. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press.

Steiner H, Hultmark D, Engström A, Bennich H, Boman HG, 1981. Sequence and specificity of two antibacterial proteins involved in insect immunity. *Nature*, 292(5 820): 246 – 248.

Taniai K, Kadono-Okuda K, Kato Y, Yamamoto M, Shimabukuro M, Chowdhury S, Xu J, Kotani E, Tomino S, Yamakawa M, 1995. Structure of two cecropin B-encoding genes and bacteria-inducible DNA-binding proteins which bind to the 5-upstream regulatory region in the silkworm, *Bombyx mori*. *Gene*, 163(2): 215 – 219.

Taniai K, Kato Y, Hirochika H, Yamakawa M, 1992. Isolation and nucleotide sequence of cecropin B cDNA clones from the silkworm, *Bombyx mori*. *Biochim. Biophys. Acta*, 1133(2): 203 – 206.

Yamano Y, Matsumoto M, Sasahara K, Sakamoto E, Morishima I, 1998. Structure of genes for cecropin A and an inducible nuclear protein that binds to the promoter region of the genes from the silkworm, *Bombyx mori*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 62(2): 237 – 241.

Zhang GW, Song HD, Chen Z, 2004. Molecular mechanism of mRNA alternative splicing. *Acta Genetica Sinica*, 31(1): 102 – 107. [章国卫, 宋怀东, 陈竺, 2004. mRNA 选择性剪接的分子机制. 遗传学报, 31(1): 102 – 107]

Zhao C, Liaw L, Lee IH, Lehrer RI, 1997. cDNA cloning of three cecropin-like antimicrobial peptides (Styelins) from the tunicate, *Styela clava*. *FEBS Lett.*, 412(1): 144 – 148.

(责任编辑:黄玲巧)