

昆虫抗菌肽对病原微生物作用的研究进展

徐进署, 张双全

(南京师范大学生命科学学院, 南京 210097)

摘要: 在诱导和非诱导情况下, 昆虫能产生各种类型的具有体液免疫功能的小分子物质——抗菌肽, 参与机体对入侵病原微生物的免疫应答反应, 构成了机体独特的免疫系统和免疫机制。这类抗菌肽或抗菌蛋白也存在于其它动物。研究表明, 抗菌肽对细菌、真菌、病毒和原虫都具有作用, 甚至对癌细胞也具有杀伤作用。随着抗菌肽家族的不断扩大, 其结构研究的深入, 相继提出了一些崭新的杀菌方式和作用机制。本文从目前国内外这方面的研究入手, 分析各抗菌肽的作用特点、杀菌作用模式, 展望了基因工程及临床应用的前景。

关键词: 昆虫; 抗菌肽; 病原微生物; 作用机制

中图分类号: Q965 **文献标识码:** A **文章编号:** 0454-6296 (2002) 05-0673-06

Advances in the research of the functions of insect antibacterial peptides against pathogenic organisms

XU Jin-Shu, ZHANG Shuang-Quan (School of Life Science, Nanjing Normal University, Nanjing 210097, China)

Abstract: Insects produce a variety of antibacterial peptides which act synergistically to kill invading microorganisms. Antibacterial peptides are also found in other animals. They are highly effective against bacteria, fungi, viruses and protozoan parasites and also act as tumecides. With the number of antibacterial peptides increasing and their structure becoming known, some new mechanisms for their activity are proposed. With the aim of developing this field of research, we present a broad overview of the function, action mechanism, genetic engineering and clinical application of these substances.

Key words: insect; antibacterial peptide; pathogenic organism; action mechanism

抗菌肽是一类免疫效应因子, 它在机体的先天非特异性免疫中起重要作用, 构成了低等动物机体快速有效的免疫机制。抗菌肽最初从昆虫中发现, 随后在各种其它动物乃至植物中也发现了抗菌肽, 其家族不断扩大, 种类不断增多。大多数抗菌肽分子富含碱性氨基酸, 有些带有两性的 α -螺旋结构区域, 这是抗菌肽的特征之一。抗菌肽不会产生耐药性, 不具有抗原性, 表现出广谱的抗菌性。它不仅能杀死各种细菌、真菌、原虫等病原微生物, 而且也能杀死癌细胞, 抑制病毒的繁殖与扩散。

抗菌肽的研究始于二十世纪 70 年代中叶, 此后一直是生命科学研究的热点之一。特别是在目前抗生素的耐药性日益严峻的情况下, 抗菌肽的应用价值倍受重视, 有望成为抗生素的最佳替代者, 因而吸引了医学界和生物学的广泛关注。随着抗菌肽结构及其抗菌机制的不断完善, 它的研究极大丰

富了生物免疫学和生物化学相关领域的知识, 也为新药设计、基因工程改造及设计合成新抗菌分子提供了全新的思路 and 手段。本文中, 我们就国内外对抗菌肽与病原微生物作用的最新研究成果, 结合我们的研究作综述如下。

1 抗菌肽对细菌的作用

已知抗菌肽对许多革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌都有杀伤作用 (Hultmark, 1993; Hoffmann, 1995)。由于昆虫抗菌肽与抗菌蛋白不是一类均一的物质, 结构和功能的差别使它们属于不同的家族, 不同家族成员的作用方式和机制不完全相同是正常的。因而不存在一个统一的学说来解释所有抗菌肽的作用机制。结构的多样性决定了抗菌肽功能和作用方式的多样性。目前主要存在这样一些观

点。(1) 孔洞学说。这一学说认为正离子肽如防御素(defensin)通过静电作用于负电性的细菌膜磷脂头部,然后疏水部分插入平面双脂层或脂质体,形成瞬间通道或孔洞(Hara and Yamakawa, 1995; Bulet *et al.*, 1993)。孔洞形成导致细胞内容物泄漏和细菌死亡。尽管大量证据表明在膜系统模型中存在膜崩溃现象,但测定细菌细胞膜渗透屏障的资料微乎其微。(2) 离子通道学说。Christensen 等(1988)用脂双层详细描述了天蚕素 A(cecropin A)在膜上形成离子通道的现象。他们认为离子通道形成可分为 3 步:首先,抗菌肽分子靠静电吸引作用到膜表面;其次,抗菌肽分子的疏水端插入胞膜中;然后,该肽分子的两性 α -螺旋结构区插入胞膜内,多个肽分子共同作用形成了离子通道。Clague (1989)则认为抗菌肽作用于膜蛋白,遂引起蛋白质凝集失活,细胞膜变性而形成离子通道,从而改变了膜的通透性,影响了生物大分子的合成。(3) 抑制细胞呼吸学说。Fehlbaum 等(1996)从刺肩蝽 *Podisus maculicentris* 成虫分离得到一种抗菌肽——Thanatin(属防御素家族),该肽为 21 个氨基酸残基,与蛙皮肤(brevinins)有较高同源性。该肽 C 末端的半胱氨酸后拖连着 3 个氨基酸,表现出抗菌作用。因其对细菌和真菌都有很强的杀菌活性,所以被称为死亡素。用不同浓度的肽对细菌作用,检测不到细胞内 K^+ 的外流,证明细胞膜不是肽作用的靶点,不是形成孔洞的肽。用 $40 \mu\text{mol/L}$ 死亡素处理细胞,1 小时后,细胞呼吸减弱,6 小时后,呼吸完全停止。因而认为,死亡素可能是通过控制细胞的呼吸作用来杀菌的。(4) 抑制细胞壁形成学说。由于存在膜结构的细微差别及不同成分的抗菌肽,存在不同种类抗菌机制也是可能的。比如,从麻蝇体内获得的麻蝇毒素 II(sarcotoxins II),分子量为 30 kD,是已知昆虫抗菌肽分子量较大的一种,只对少数革兰氏阳性菌有作用;麻蝇毒素主要抑制细菌正在形成的细胞壁,而对已形成的细胞壁没有作用,因此被认为通过阻止正常细胞壁形成达到杀菌效果(Ando and Naton, 1988)。(5) 可变“毯”模型。Shai (1995)发现在模拟膜系统与肽作用过程中,需要一个很高的肽脂比率,只有当肽达到一定浓度才能诱发膜的变化。因此,他提出了可变“毯”式模型,在这一模型中肽相通过与膜脂相互作用来破坏膜屏障而不是形成通道。正离子抗菌肽先是聚集覆盖在膜表面,多个肽分子形成肽聚体,直至触发浓度(即当肽饱和了膜表面),肽聚体相互协作,

向内部塌陷,毁坏了膜屏障。

抗菌肽分子较小,常常以聚合体方式发挥作用,多个抗菌肽分子结合到膜上改变了膜的动态平衡。当肽分子由膜外表面翻转到膜内侧时,带动类脂一起翻转,导致质膜快速渗透性破坏。Matsuzaki 等(1998)阐述这一作用模型时认为,形成了肽-脂超分子复合体,起到了脂和肽相互耦合跨双层膜运输(转移)作用。肽聚合体有亲水和疏水表面,能各自与膜脂的疏水碳链和外部介质及脂类头部相互作用。毋庸置疑,这些聚合体形成一个不规则的水通道,它允许至少是离子,也可能是大分子自由通过。对大多数肽来说,通道大小和持续时间长短是变化的,在抗菌肽与模拟膜系统和大肠杆菌质膜相互作用实验中也证明了这一点(Wu *et al.*, 1999)。

用膜电势敏感性染料 3, 5-二丙基硫碳花菁素(3, 5-dipropylthiacarbocyanine)对大肠杆菌 DC2 的外膜进行研究发现,不同肽对膜电势的去极化有一定的差异(Wu *et al.*, 1999),质膜渗透和抗菌肽活性之间没有绝对的相关性。显然各个抗菌肽对大肠杆菌膜电势去极化的能力是不同的,象环状肽和 α -螺旋肽在最低致死浓度时不能引起去极化,而其它肽在低于致死浓度时仍能引起最大去极化。可见,抗菌肽作用机制有多种方式而不仅仅是质膜渗透性的崩溃。

事实上抗菌肽除与膜作用外,也能与细胞内部的结构和分子发生作用,与天蚕素相似,也具有两性亲性 α -螺旋结构的马盖宁(magainins)能穿过膜,进一步引起细胞内变化。又比如,抗菌肽能刺激一些水解酶产生活性;干扰细菌 DNA 或蛋白质的稳定性;阻止 DNA 合成,形成 DNA 片段;正离子肽还能结合到核酸并抑制其合成(Zhang *et al.*, 1999),来破坏细菌的生长。在其它细胞也存在这种作用机制,王芳等(1999)在研究抗菌肽抗癌机理时发现,抗菌肽能影响 DNA 的合成,造成 DNA 的断裂。我们用中国家蚕抗菌肽 CM4 与细菌 DNA 和 RNA 的结合实验,也验证了抗菌肽具有与核酸结合的性质(待发表)。

2 抗菌肽对病毒的作用

抗菌肽的抗病毒作用是最近才被逐渐认识的。80 年代初,钟文彪等(1982)曾报道添食或注射聚肌胞核苷酸(poly I: C)和注射 2', 5'-寡腺苷酸

(2', 5'-P₃A₃) 都可以提高家蚕对引起家蚕中肠型脓病的病原体多角体病毒 (CPV) 的抵抗力, 家蚕的发病指数降低 40% ~ 50%, 说明两性抗菌肽具有抗病毒潜力。大量研究表明, 两性抗菌肽如天蚕素等能抑制病毒感染细胞的融合及病毒颗粒的扩散。

抗菌肽可以从核酸复制到病毒颗粒包装的全过程, 对病毒施加影响。蜂毒素 (melittin) 是一种细胞毒性的毒蛋白, 许多国外文献也把它归为抗菌肽类。蜂毒素经过改造后, 便失去溶血性特征, 亦为人们研究抗菌肽作用机理提供新的佐证。对于有包膜的病毒来说, 蜂毒素的抗病毒活性也是直接作用于病毒外膜 (Esser *et al.*, 1979)。但蜂毒素在极低浓度也表现抗病毒的事实, 说明也存在其它作用方式。Baghian 等 (1997) 研究发现, 用合成的蜂毒素类似物与疱疹病毒 (HSV-1) 作用, 能抑制 HSV-1 感染细胞的破裂和病毒扩散。已知 HSV-1 病毒中至少有 6 个基因涉及感染细胞的溶解, 其中 2 个关系密切的是糖蛋白 B (gB) 和糖蛋白 K (gK)。抗菌肽的存在一方面能降低糖蛋白 B、C、D 和 H 合成, 而不影响其向细胞表面的运输。另一方面, 由于抗菌肽对宿主细胞的蛋白质合成和生长没有影响, 蜂毒素通过调整细胞 Na/K 泵而保全了细胞, 阻止了细胞的裂解。同时还发现, 病毒 gK 的变化 (甚至有一个氨基酸残基的改变) 或 gK 的缺失, 都会造成抗菌肽对它的强烈抑制, 降低病毒的产生。

抗菌肽分子还能对病毒粒子的组合起干扰作用。在研究蜂毒素对烟草花叶病毒 (tobacco mosaic virus, TMV) 抑制作用中, 发现烟草花叶病毒衣壳蛋白的部分氨基酸序列和蜂毒素序列存在相似性, 而这部分序列在病毒颗粒组装中与 RNA 和蛋白质结合密切相关。这样蜂毒蛋白分子可以伪装成病毒包被蛋白, 参与病毒合成, 被病毒 RNA 结合 (Marcos *et al.*, 1995), 导致 RNA 的构象改变, 不能与正常蛋白结合, 病毒颗粒无法正常组装。抗菌肽对病毒的抑制作用取决于蜂毒素与烟草花叶病毒衣壳蛋白的相似程度。但这并不是惟一抑制因素。

特征显著的两性抗菌肽天蚕素及蜂毒素分子在对 I 型人免疫缺陷病毒 (human immunodeficiency virus, HIV-1) 的作用中充当了抑制因子的角色。HIV-1 通过病毒表面的包膜糖蛋白吸附并侵染靶细胞, 包膜糖蛋白的前体蛋白要经过蛋白酶水解, 才能成为一个位于膜表面能结合受体的蛋白 gp120 和一个跨膜蛋白 gp41。它们对病毒与宿主细胞之间

的膜融合是必需的。由于蜂毒素与 gag/pol (内膜结构蛋白和反转录酶) 前体的紧密结合, 阻止了 HIV 蛋白水解酶的作用过程, Gag (内膜结构蛋白) 抗原水平随之降低。另一方面, 抗菌肽也降低了 HIV 长末端重复序列 (long terminal repeat, LTR) 活性, 最终导致 HIV-1 mRNAs 水平急剧下降。在用 HIV 长末端重复 (LTR) 启动抗菌肽基因质粒的瞬间转染实验和在人体细胞内通过转染反转录病毒表达质粒携带的天蚕素和蜂毒素基因的实验, 都表明抗菌肽直接抑制 HIV LTR 的活性。因此, 可以认为抗菌肽可通过抑制 HIV-1 基因表达而抑制 HIV-1 的细胞内产物量。Wachinger 等 (1998) 通过天蚕素和蜂毒素处理离体 HIV 感染 T-细胞和成纤维细胞, 也得出同样结论, 即病毒感染性降低伴随着 HIV 基因在细胞内合成的减小和 LTR 活性的降低。另外, 蜂毒素抗病毒活性的浓度不具有细胞毒性, 也不降低无细胞病毒的感染性, 这表明这些抗病毒活性的两性肽不是通过细胞溶解或病毒外膜的溶解, 而是降低 HIV 基因表达来抑制病毒繁殖。

抗菌肽抑制基因途径是多样的, 有报道蜂毒素能降低钙调蛋白活性和细胞内蛋白激酶活性, 进而改变了 HIV 转录激活因子如 NF- κ B, AP-1 和 NFAT 的平衡及活性或诱发了类似于细胞内干扰素的 HIV 转录因子的抑制因子 (Tissot and Mechti, 1995)。蜂毒素还能干扰 HIV 基因表达的转录后调节, 对大片、中等片段的 mRNAs 降低程度大, 而小片段 mRNAs 相对较少。因此, 蜂毒素可以在几个不同水平抑制 HIV 基因表达。

天蚕素和蜂毒素对 HIV 基因表达的抑制体现了先天免疫系统可能包括一个抗病毒途径, 通过抑制细胞内病毒复制来快速抵御病毒扩散。在 HIV 感染的 CD⁺ 细胞中某些因子对 HIV 转录的抑制可能也是通过相似的机制, 表明细胞内存在着自然发生的直接抗 HIV 机制。推广来看, 这种机制在血清因子保护受补体依赖的细胞溶解中也可能是非常重要的。

3 抗菌肽的抗真菌作用

Iijima 等 (1993) 首次从麻蝇幼虫血淋巴分离出一小肽, 该肽抑制白色假丝酵母 *Candida albicans* 生长, 因此命名为 AFP (anti-fungal peptide)。AFP 中高含量的组氨酸, 在抗真菌活性中起关键作用。其抗菌活性受环境影响颇大, 在蒸馏水中 AFP 可

快速杀死真菌, 在盐溶液中效果甚微, 在 Sabouraud 培养基中无作用。在杀菌过程中, 首先是 AFP 与真菌的结合, 但二者结合可被多种正离子抑制。因此即使有微量抗菌肽与真菌结合都会使它致死。我们发现, 用中国家蚕抗菌肽 CM₁ 处理串珠链孢等孢子, 孢子的萌发率明显下降, 菌丝萌发不完全, 出现残缺、断裂现象。

目前已发现抗真菌肽包括天蚕素、死亡素、果蝇抗真菌肽 (droso mycin)、黑鳃金龟毒素 III (holotricin 3)、线肽素 (metchnikowin)、贻贝素 (mytilmycin)、蝎血素 (androctonin) 及人工改造的各种抗菌肽等。其中有些还兼具抗细菌功能。

和细菌不同, 真菌属真核细胞, 具真正的细胞核, 有甲壳质或纤维素构成的细胞壁结构。但为什么有些抗菌肽分子同时具有抗细菌和真菌两种功能? 看来, 抗菌肽与质膜的作用仍是一个重要的因素。也不排除通过其它途径杀死真菌。但有一点是确切的, 即正在萌发的真菌孢子比非萌发的真菌孢子对抗菌肽要敏感得多。而抗菌肽对真菌菌丝体的抑制很微弱。推测真菌孢子在萌发时给抗菌肽以与膜作用的机会, 招致其致命的伤害。Lee 等 (1998) 设计的实验也正说明这个问题, 他们截取了天蚕素 A 和蜂毒素分子的片段, 合成杂合肽分子 CA-ME。用杂合肽 CA-ME 处理真菌孢子原生质体, 发现不但真菌细胞壁无法恢复, 而且细胞也被破坏, 无法保持正常的细胞形态。表明抗菌肽对细胞质膜起作用, 由于膜上孔洞形成而达到杀菌目的。

抗菌肽杀真菌性因真菌的属、种和孢子的状态而异。用天蚕素 A 处理曲霉属 *Aspergillus* 和镰孢菌属 *Fusarium* 真菌孢子, 显示不同结果, 串珠镰孢 *F. moniliforme* 的萌发孢子和非萌发孢子对抗菌肽敏感, 黄曲霉 *A. flavus* 的萌发孢子同样对抗菌肽敏感, 而非萌发孢子的敏感性较低。De Lucca 等 (1997) 研究发现, 黄曲霉的孢子能产生一种孢外酶, 对抗菌肽有水解作用, 而孢子萌发时孢外酶消失。串珠镰孢对抗菌肽没有水解作用。可见, 抗菌肽的抗真菌活性机制, 与化学制剂唑类是完全不同的。它可以通过整体和局部作用达到抗菌目的, 而且杀菌作用非常有效。

4 抗菌肽对原虫的作用

天蚕素和其合成类似物对病原原生动物包括引起疟疾和锥虫病的寄生虫都有作用。较早报道对原

虫有作用的是 Gwadz 等 (1989)、Jaynes 等 (1989)、Boman 等 (1989) 等。Jaynes 等 (1989) 以天然抗菌肽天蚕素 B 为蓝本, 置换了其中许多氨基酸, 人工合成一新肽, 并保持这些位置原有的极性, 结果新抗菌肽分子的抗菌活性增强了, 而且可以杀死原虫。

抗菌肽先是作用于原虫的膜, 间接引起细胞的内部结构和细胞器的变化, 干扰细胞的正常代谢过程。Diaz-Achirica 等 (1998) 研究抗菌肽对杜氏利什曼原虫 *Leishmania donovani* 的作用时, 也设计合成一段杂合肽。取正离子性天蚕素 A 的 N 末端序列 8 个氨基酸残基与疏水性的蜂毒素的 N 末端序列的 18 个氨基酸残基作“头”“尾”连接, 合成杂合肽 CA (1~8) M (1~18)。这个新分子由 26 氨基酸残基构成。用杜氏利什曼原虫 *Leishmania donovani* 前鞭毛体与杂合肽 CA (1~8) M (1~18)、天蚕素 A、蜂毒素及类似物分别进行作用, 结果微小浓度的 CA (1~8) M (1~18) 导致细胞 H⁺/OH⁻ 的快速渗透, ATP 合成下降, 呼吸减弱, 外膜塌陷, 原生质膜形态遭破坏。富含阴离子的磷脂聚糖 (lipophosphoglycan) 能抑制抗菌肽的抗菌活性。说明杂合肽作用于利什曼原虫也是以质膜为靶目标, 正离子端吸引于膜表面, 然后疏水端插于脂膜, 形成通道, 结果细胞无法保持其内部正常代谢, 导致线粒体解偶联, 微管、微丝收缩。在体外, 用杂合肽 CA (1~8) M (1~18) 处理仓鼠精子、鼠肝细胞, 均发现线粒体解偶联的现象。可见抗菌肽也起到了解偶联因子的功能。另有报道, 柞蚕抗菌肽 D 对困扰妇科疾病的阴道毛滴虫也有损伤作用 (韩献萍等, 1994)。

5 抗菌肽基因工程

抗菌肽基因结构和基因调控的完善为抗菌肽基因工程的研究打下了基础。同时, 人们不再满足天然获得的抗菌肽, 开始谋求通过基因工程技术手段生产抗菌肽、改造抗菌肽、设计新的抗菌肽, 合成抗菌新药, 并把抗菌肽基因转移到动植物体内, 提高它们抵抗细菌的能力。Mellers 等 (1991) 将天蚕素 A 的基因克隆到苜蓿斜纹核型多角体病毒 (AcNPV) 启动子下游, 成功感染天蚕滞育蛹, 获高产量表达。Reichert 等 (1992) 将绿蝇防御素 A (defensin A) 基因在真核细胞酵母体系中完成表达。贾士荣等 (1996) 也尝试了抗菌肽在大肠杆菌和昆

虫细胞中表达, 进行了抗菌肽的人工改造, 培育出抗病性的转基因植物即烟草和马铃薯。谢维等(1997)根据已知家蚕抗菌肽 CM4 的氨基酸序列, 选用大肠杆菌偏爱的密码子, 人工合成家蚕 CM4 基因, 在大肠杆菌中表达融合蛋白, 经裂解获得高活性的抗菌肽 CM4; 王芳等(1999)在此基础上增加 FXa 酶切位点, 在 P^{GEX-KG} 中表达融合蛋白, 获得高效表达的活性菌株, 可以在大肠杆菌中大量表达。抗菌肽在植物基因工程中成绩喜人。崔晓江等(1995)将各种抗菌肽基因导入与农杆菌并感染烟草, 获得了具抗细菌的烟草。Jaynes 等(1993)把改造过的天蚕素 B 基因导入烟草, 再感染青枯菌 *Pseudomonas solanacearum*, 发现转基因烟草植株发病率和死亡率明显降低。黄大年(1997)等把含有天蚕素 B 基因的转化载体(P^{CB1})用基因枪转化法导入水稻未成熟胚, 获得了一些转基因水稻植株, Northern 印迹分析证实了天蚕素 B 基因在 RNA 水平上的表达, 转基因水稻增强了对水稻白叶枯病和细条病的抗性。Martemyanov 等(1997)还建立了一个非细胞的转录/翻译系统, 可以使 PCR 扩增的线性 DNA 表达出具有生物活性的天蚕肽。日本农林省正大规模的开展此项工作, 以消除病虫害对农作物和林业的影响。

6 展望

近年来, 由于抗生素的广泛临床应用, 抗生素的耐药性已引起了人们的极大关注, 发展新型抗生素日益重要。在许多可能的候选者中, 正离子抗菌肽已吸引人们去研究, 探索其临床应用的价值。正离子抗菌肽来源广泛, 如两栖动物、哺乳动物、昆虫、植物和细菌, 包括蛙皮肽、防御素、天蚕素、蜂毒素、果蝇肽、AFP 和硫素(thionin)等。这些正离子肽和其它肽具有相当宽的抗菌活性, 对革兰氏阴性菌、革兰氏阳性菌、真菌、有包膜的病毒和原虫有杀伤性。同时, 抗菌肽的研究为人们设计合成新的抗生素提供了蓝本。

有理由相信, 进一步了解和阐明抗菌肽在机体的先天免疫系统中的作用机制, 将对医疗卫生领域产生积极的推动力, 给人们在寻找新药的困境中带来希望。在食品工业和农业生产上也将显示它的优越性, 这些抗菌肽可以发展成有用的抗菌添加剂和抗菌药物, 服务于食品业、农业保护和医院临床。在许多情况下, 抗菌肽可以辅助抗生素而起作用,

特定情况下, 可完全替代抗生素和化学药物。因为抗菌肽活性方式完全不同于抗生素和贮存剂, 基因工程培育植物抗病幼苗也已起步。

与此同时, 抗菌肽作用模式和结构特征的研究, 也将给生物化学、分子生物学和免疫学增添了新的知识, 极大地丰富了这些领域, 使人们更多地从分子水平熟悉机体防御系统的一系列问题。

参 考 文 献 (References)

- Ando K, Naton S, 1988. Inhibitory effect of sarcotoxin II A, an antibacterial protein of *Sarcophaga peregrine*, on growth of *Escherichia coli*. *J. Biochem.*, 103: 735 - 741.
- Baghian A, Jaynes J, Enright F, 1997. An amphipathic alpha-helical synthetic peptide analogue of melittin inhibits herpes simplex virus-1 (HSV-1) -induced cell fusion and virus spread. *Peptides*, 18: 177 - 183.
- Boman H G, Wade D, Boman I A, 1989. Antibacterial and antimalarial properties of peptides that are cecropin-melittin hybrids. *FEBS Lett.*, 259: 103 - 106.
- Bulet P, Dimarcq J-L, Hetru C, 1993. A novel inducible antibacterial peptide of *Drosophila* carries an O-glycosylated substitution. *J. Biol. Chem.*, 268: 14 893 - 14 897.
- Christensen B, Fink J, Merrifield R B, 1988. Channel-forming properties of cecropins and related compounds incorporated into compounds into planar lipid membranes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 85: 5 072 - 5 076.
- Clague M J, Cherry R J, 1989. A comparative study of band 3 aggregation in erythrocyte membranes by melittin and other cationic agents. *BiochemBiophys. Acta*, 980: 93 - 99.
- Cui X J, Liu Z Q, Tian Y C, Peng X X, 1995. Advances in research of antibacterial peptide and prospects of their application. *Progress in Biochemistry and Biophysics*, 22 (1): 5 - 8. [崔晓江, 刘枝俏, 田颖川, 彭学现, 1995. 杀菌肽的研究进展及应用前景. 生物化学与生物物理进展, 22 (1): 5 - 8]
- De Lucca A J, Bland J M, Jacks T J, 1997. Fungicidal activity of cecropin A. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 41 (2): 481 - 483.
- Diaz-Achirica P, Ubach J, Guinea A, 1998. The plasma membrane of *Leishmania donovani promastigotes* is the main target for CA (1 - 8) M (1 - 18), a synthetic cecropin A-melittin hybrid peptide. *J. Biochem.*, 330: 453 - 460.
- Esser A F, Bartholomew R M, Jensen F C, 1979. Disassembly of viral membranes by complement independent channel formation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 76: 5 843 - 5 847.
- Fehlbaum P, Bulet P, Gudmundsson G H, 1996. Structure-activity analysis of thanatin, a 21-residue inducible insect defense peptide with sequence homology to frog skin antibacterial peptides. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 93: 1 221 - 1 225.
- Gwadz R W, Kaslow D, Lee J Y, 1989. Effects of magainins and cecropins on the sporogonic development of malaria parasites in mosquitoes. *Infect. Immun.*, 57 (9): 2 628 - 2 633.

- Han X P, Peng C H, Xu B, 1994. The antibacterial peptide inhibited the growth of cell line of carcinoma and colptrichomonas. *Biotechnology Communication*, 5: 1–2. [韩献萍, 彭朝晖, 徐冰等, 1994. 柞蚕抗菌肽 D 对宫颈癌细胞系和阴道毛滴虫生长的损伤作用. 生物技术通讯, 5: 1–2]
- Hara S, Yamakawa M, Moricin, 1995. A novel type of antibacterial peptide isolated from the silkworm, *Bombyx mori*. *Biochem J.*, 310: 651–656.
- Hoffmann J A., 1995. Innate immunity of insects. *Curr. Opin. Immunol.*, 7: 4–10.
- Huang D N, Zhu B, Yang W, Xue R, Xiao H, Tian W Z, Li L C., 1997. The gene B of the antibacterial peptide introduced into rice and determination of the transplant. *Science in China (C)*, 27 (1): 56–62. [黄大年, 朱冰, 杨炜, 薛锐, 肖晗, 田文忠, 李良材, 1997. 抗菌肽 B 基因导入水稻及转基因株的鉴定. 中国科学 (C 辑), 27 (1): 56–62]
- Hultmark D, 1993. Immune reactions in *Drosophila* and other insects: a model for innate immunity. *Trends Genet.*, 9: 178–183.
- Iijima R, Kurata S, Nator S, 1993. Purification, characterization, and cDNA cloning of an antifungal protein from the hemolymph of *Sarcophaga peregrina* (flesh fly) larvae. *J. Biol. Chem.*, 268: 12 055–12 061.
- Jaynes J M, Burton C A, Barr S B, 1989. *In vitro* cytotoxic effect of novel lytic peptides on *Plasmodium falciparum* and *Trypanosoma cruzi*. *FASEB J.*, 2: 2 878–2 883.
- Jaynes J M, Nagpala P, Destefano-Beltran L, 1993. Expression of a Cecropin B lytic peptide analog in transgenic tobacco confers enhanced resistance to bacterial with caused by *Pseudomonas solanacearum*. *Plant Sci.*, 89: 43–53.
- Jia S R, 1996. Gene Engering of Tomato Antibacterial Peptide. Beijing: China Agricultural Sciencetech Press. 1–12. [贾士荣, 屈贤铭, 冯兰香等. 马铃薯抗青枯病基因工程 1987-1995 年研究报告. 见: 贾士荣主编, 1996. 马铃薯抗菌肽基因工程. 北京: 中国农业科技出版社. 1–12]
- Lee D G, Sin S Y, Maeng C-Y, 1998. Cecropin A-melittin hybrid peptide exerts its antifungal effects by damaging on the plasma membranes of *Trichosporon beigeli*. *Biotechnology Letter*, 20 (3): 211–214.
- Marcos J F, Beachy R N, Houghten R A, 1995. Inhibition of plant virus by melittin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 92: 12 466–12 469.
- Martemyanov K A, Spirin A S, Gadkow A T, 1997. Direct expression of PCR products in a cell-free transcription/translation system: synthesis of antibacterial peptide cecropin. *FEBS Lett.*, 414 (2): 268–270.
- Matsuzaki K, Mitani Y, Akada K Y, 1998. Mechanism of synergism between antimicrobial peptides magainin 2 and PGLa. *Biochemistry*, 37: 15 144–15 153.
- Mellers M, Grunne H, Steiner H, 1991. Expression of post-translational processing of prepro cecropin A using abaculovirus vector. *Eur. J. Biochem.*, 199: 435–439.
- Reichart J M, Petit I, Legrain M D, 1992. Expression and secretion in yeast of active defensin, an inducible antibacterial peptide from the fley flesh fly. *Invert. Reproduct Develop.*, 21: 15–24.
- Shai Y, 1995. Molecular recognition between membrane-spanning polypeptides. *Trends Biochem. Sci.*, 20: 460–464.
- Tissot C, Mechti N, 1995. Molecular cloning of a new interferon-induced factor that represses human immunodeficiency virus type 1 long terminal repeat expression. *J. Biol. Chem.*, 270: 14 891–14 898.
- Wachinger M, Kleinschmidt A, Winder D, 1998. Antimicrobial peptides melittin and cecropin inhibit replication of human immunodeficiency virus 1 by suppressing viral gene expression. *J. Gen. Virol.*, 79: 731–740.
- Wang F, Zhan S Q, 1999. Advance in mechanism of antibacterial peptide against cancer. *Progress in Natural Science*, 9 (2): 97–102. [王芳, 张双全, 1999. 抗菌肽抗癌作用机理的研究进展. 自然科学进展, 9 (2): 97–102]
- Wang F, Zhang S Q, Dai Z Y, 1999. Cloning and expression of insect antibacterial peptide. *Progress in Natural Science*, 12 (Suppl.): 1 250–1 253. [王芳, 张双全, 戴祝英, 1999. 昆虫抗菌肽的基因克隆与表达. 自然科学进展, 12 (增刊): 1 250–1 253]
- Wu M H, Maier E, Benz R, 1999. Mechanism of interaction of different classes of cationic antimicrobial peptides with planar bilayers and with the cytoplasmic membrane of *Escherichia coli*. *Biochemistry*, 38: 7 235–7 424.
- Xie W, Dou F, Wu H H, Dong X Y, Hua Z C, Xu X X, 1997. Studies on fusion express of mutation gene of antibacterial peptide in *E. coli*. *Science in China (C)*, 27 (3): 278–283. [谢维, 窦非, 吴海宏, 董雪吟, 华子春, 徐贤秀, 1997. 抗菌肽 CM4 突变基因在 *E. coli* 中融合表达的研究. 中国科学 (C), 27 (3): 278–283]
- Zhong W B, Huang Z R, Lu Y L, 1982. Studies on CPV inhibited by *Bombyx mori* induced with Poly I : C and 2', 5' - P₃A₃. *Chinese Science Bulletin*, 12: 761–763. [钟文彪, 黄自然, 卢蕴良, 1982. 聚肌胞核苷酸及 2', 5'-寡腺苷酸诱导家蚕对细胞质多角体病毒抑制作用的研究. 科学通报, 12: 761–763]
- Zhang L J, Benz R, Robert E W, 1999. Influence of proline residues on the antibacterial and synergistic activities of α -helical peptides. *Biochemistry*, 38: 8 102–8 111.