



章启慧, 李昆太, 王会, 等. 黑水虻抗菌肽研究进展[J]. 江西农业大学学报, 2022, 44(4): 996-1004.
ZHANG Q H, LI K T, WANG H, et al. Research progress of antimicrobial peptides from black soldier fly[J]. Acta agriculturae universitatis Jiangxiensis, 2022, 44(4): 996-1004.

黑水虻抗菌肽研究进展

章启慧^{1,2,3}, 李昆太^{1,2*}, 王会³, 王飞^{3*}, 王雷雨³, 陈玉梁³, 杨钰妮⁴

(1. 江西农业大学 生物科学与工程学院, 江西 南昌 330045; 2. 广东海洋大学 食品科技学院, 广东 湛江 524088; 3. 中国热带农业科学院 农产品加工研究所, 广东 湛江 524001; 4. 百色学院 农业与食品工程学院, 广西 百色 533000)

摘要: 目前细菌对抗生素的耐药性已经成为全球性问题, 滥用抗生素使细菌的耐药性急剧增加, 尤其是当前严令禁止在动物饲料中添加抗生素, 迫使人们寻找抗生素的替代品。昆虫因其自身免疫系统而产生的抗菌肽因具有良好的抑菌活性、稳定性及安全性, 被认为是最有可能替代抗生素的产品之一。黑水虻腐生性水虻科昆虫, 具有生长繁殖迅速且有极佳的农业或餐厨有机废弃物吸收转化的能力, 加之所产生的抗菌肽具有稳定且广谱的抗菌性能, 成为昆虫抗菌肽领域中最具有代表性的昆虫之一。通过回顾近年研究成果, 从黑水虻抗菌肽的制备与纯化方法、黑水虻抗菌肽的产生机制、黑水虻抗菌肽的抑菌机制与评价方法、黑水虻抗菌肽的应用等方面进行了系统阐述, 以为黑水虻抗菌肽的开发与利用提供一定参考。

关键词: 昆虫; 黑水虻; 抗菌肽; 抑菌

中图分类号: S899.9; Q969.44+7.5 文献标志码: A 文章编号: 1000-2286(2022)04-0996-09

Research Progress of Antimicrobial Peptides from Black Soldier Fly

ZHANG Qihui^{1,2,3}, LI Kuntai^{1,2*}, WANG Hui³, WANG Fei^{3*},
WANG Lei-yu³, CHEN Yuliang³, YANG Yu-ni⁴

(1. College of Biological Sciences and Engineering, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China; 2. College of Food Science and Technology, Guangdong Ocean University, Zhanjiang, Guangdong 524088, China; 3. Agricultural Products Processing Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Zhanjiang, Guangdong 524001, China; 4. College of Agricultural and Food Engineering, Baise University, Baise, Guangxi 533000, China)

Abstract: Bacterial resistance to antibiotics has become a global problem. The misuse of antibiotics has

收稿日期: 2021-12-18 修回日期: 2022-02-21

基金项目: 海南省自然科学基金青年基金项目(SQ2021QNJJ0380)和广东省普通高校重点领域专项(2021ZDZX4010)
Project supported by the Natural Science Foundation of Hainan Province of China(SQ2021QNJJ0380) and the Special Projects in Key Fields of Colleges in Guangdong Province of China(2021ZDZX4010)

作者简介: 章启慧, orcid.org/0000-0002-6167-7483, qihuizhang@jxau.edu.cn; *通信作者: 李昆太, 教授, 博士, 博士生导师, 主要从事天然生物活性物质研究, orcid.org/0000-0001-6678-5531, ktli@gdou.edu.cn; 王飞, 副研究员, 博士, 主要从事农业有机废弃物资源化利用研究, orcid.org/0000-0002-9952-8432, rain-wf@163.com。

led to a rapid increase in bacterial resistance, especially with the current strict ban on the addition of antibiotics into animal feed, forcing the search for alternatives to antibiotics. Due to their good antibacterial activity, stability and safety, antimicrobial peptides produced by the immune system of insects are considered to be one of the most likely alternatives to antibiotics. Among them, black soldier fly (*Diptera: Stratiomyidae*), growing up and reproducing rapidly, has excellent ability to absorb and transform agricultural or kitchen organic garbage, and the produced antimicrobial peptide has stable and broad-spectrum antimicrobial properties. Therefore, black soldier fly is regarded as one of the most representative insects in the field of insect antimicrobial peptides. By reviewing the literature in recent years, this paper systematically introduces the preparation and purification methods of antimicrobial peptides from black soldier fly, the production mechanisms, the inhibition mechanisms and evaluation methods, and the application, thus providing reference for the development and utilization of antimicrobial peptides from black soldier fly.

Keywords: insects; black soldier fly; antimicrobial peptide; antibacterial

滥用抗生素导致病原菌抗药性增强,甚至催生“超级致病菌”,从而减弱抗生素使用效果。目前,抗生素耐药性与安全性已被世界卫生组织列为全球公共卫生的威胁之一。尤其是在抗生素越来越被严格限制使用的背景下,寻找绿色安全高效的抗生素替代品成为行业迫切所需。

昆虫源抗菌肽因具有良好的抑菌活性、稳定性及安全性,被认为是潜在的抗生素替代品之一。作为昆虫宿主防御机制的代表,抗菌肽广泛存在于许多昆虫体内,是昆虫宿主天然免疫系统的主要构成成分。昆虫抗菌肽主要是由小分子次级代谢物,以及小蛋白和肽组成,对细菌、真菌及病毒等病原体都有着防御机制^[1],具有较大的“替抗”潜力。本文综述了近年来昆虫抗菌肽的研究进展,其中就黑水虻抗菌肽的产生机制、评价标准及其应用进行重点阐述,以为黑水虻抗菌肽的研究与应用提供一定参考。

1 黑水虻抗菌肽的制备与纯化方法

在实验室研究水平,主要是根据已知的黑水虻抗菌肽基因,通过软件预测抗菌肽并通过分子生物学技术进行表达抗菌肽是常用方法,也是近年来发现黑水虻新型抗菌肽的主要方式,但是在实际产业中,直接从黑水虻幼虫体内提取天然抗菌肽是较为经济实用的方法,也是挖掘黑水虻天然抗菌肽的重要手段。

1.1 黑水虻抗菌肽制备方法

1.1.1 分子技术法 通过分子生物学技术,从黑水虻幼虫中的cDNA库中克隆出抗菌肽编码基因或是根据已知的黑水虻抗菌肽编码序列制备黑水虻抗菌肽。Park等^[2]利用cDNA末端快速扩增技术克隆得到黑水虻抗菌肽编码基因 *DLPI-DLP4* 及 *CLP1*, Shin等^[3]同样是利用cDNA末端快速扩增等技术得到黑水虻抗菌肽 rHI-attacin, Elhag等^[4]从黑水虻幼虫的cDNA中筛选到7种抗菌肽基因,并利用大肠杆菌表达系统成功表达 stomoxynZH1, 胡珊珊等^[5]通过已知的黑水虻抗菌肽编码序列设计引物,从黑水虻幼虫的RNA中扩增得到 DLP-5 抗菌肽序列, Xu等^[6]通过黑水虻转录组及基因组的交叉验证,得到在黑水虻幼虫中表达水平较高的3个来自于不同家族的抗菌肽基因 *Hidefensin-1*, *HiCG13551* 和 *Hidiptericin-1*, 并将其转入转基因家蚕系,使得家蚕对昆虫病原细菌的抗性得到了提高。黑水虻新型抗菌肽的发现得益于分子生物学技术以及生物信息学的迅速发展,也是当前获得黑水虻新型抗菌肽的主要来源。

1.1.2 血淋巴收集法 对个体较大,血淋巴较多的昆虫一般采用血淋巴收集法。为了防止黑化,在收集昆虫血淋巴时,收集管内一般含有苯基硫脲及相关蛋白酶抑制剂,收集到血淋巴后,需要立即离心,恢复成无细胞的血淋巴,避免凝血,获得黑水虻抗菌肽粗提物。冯群等^[7]使用断头取血法收集黑水虻幼虫免疫后的血淋巴, Alvarez等^[8]使用刀剖黑水虻幼虫腹部,用注射器收集幼虫血淋巴,获得抗幽门螺旋杆菌的

抗菌肽,周义文等^[9]为收集家蝇幼虫含抗菌肽的血淋巴,使幼虫表面布满细菌悬液,用不锈钢针刺透皮肤,造成损伤感染,24 h后剪去幼虫头部,收集血淋巴。血淋巴收集方法可以得到较纯的含有抗菌肽的血淋巴。

1.1.3 研磨提取法 对于个体较小以及血淋巴难以收集的昆虫,为获得大量抗菌肽时一般采用研磨或匀浆提取法。Lee等^[10]为获得大量的黑水虻抗菌肽,将感染后的4.5 kg黑水虻进行微波干燥,干燥后研磨成粉末,获得黑水虻抗菌肽粗制品,Vogel等^[11]将黑水虻幼虫经有机试剂粉碎等步骤获得黑水虻粗制抗菌肽,Kim等^[12]将双叉犀金龟幼虫进行干燥研磨,以获得幼虫抗菌肽粉末。研磨提取获得的是昆虫的粗蛋白制品,由于昆虫脂肪和其他蛋白较多,存在抗菌肽有效浓度不高的问题。

1.2 黑水虻抗菌肽纯化工艺

昆虫抗菌肽一般为2~7 ku左右大小的小分子肽,在纯化过程中,需要考虑昆虫蛋白种类较多,难以分离出较多种类不同的抗菌肽,纯化方式也各有不同。Bhagavathula等^[13]使用配备C18反相柱HPLC进行粗抗菌肽提取物的分级。在不同的线性梯度进行洗脱,通过UV-DAD检测器监测肽峰,根据保留时间不同收集到4个抗菌肽组分,Ge等^[14]通过DEAE-Sephacryl离子色谱分离获得抗菌肽粗提取物,然后通过Sephacryl-200HR凝胶过滤层析对粗提物进行分离和纯化,减少不可逆结合造成的蛋白质损失和失活。Hirsch等^[15]通过固相合成技术在聚合物载体树脂上制备抗菌肽,经反相色谱分析,再通过紫外吸收和电喷雾电离质谱检测抗菌肽的存在并进一步测定抗菌肽含量。上述方法中,Sephacryl-200HR凝胶过滤层析方法过程简短,同时也能尽最大可能保持蛋白质活性及分子量,但由于抗菌肽特性并不相同,在纯化时仍要根据抗菌肽种类进行纯化工艺选择及优化。

2 黑水虻抗菌肽的产生机制及抗菌肽基因

2.1 黑水虻抗菌肽产生机制

昆虫抗菌肽是在昆虫进化中获得的具有抑菌功效的活性物质,其中黑水虻是目前被发现具有较多抗菌肽基因的昆虫之一。目前普遍认为,昆虫抗菌肽产生于脂肪体。作为双翅目模式生物的代表,有关果蝇抗菌肽的产生机制已有大量研究,这也给研究黑水虻抗菌肽产生机制带来很大启发。Tzou等^[16]发现Toll和IMD通路在诱导果蝇产抗菌肽中起作用,Hason和Lemaitre^[17]发现抗菌肽在塑造肠道生物区系中的作用没有得到相同程度的表征,但IMD缺陷导致果蝇肠道中较高的细菌数量,进一步支持肠道抗菌肽控制微生物群的观点,不过IMD途径不仅在抗菌免疫反应中起着重要作用,它也参与了许多过程,像细胞竞争、病毒控制、抗脱水等过程,这表明抗菌肽不是一个简单的免疫效应器。Huang等^[18]通过对黑水虻肠道系统免疫的研究,认为肠道微生物直接或间接影响肠道上皮细胞的免疫功能,进而影响宿主体内环境和发育,并发现缺乏抗菌肽表达的Toll途径突变体黑水虻幼虫通常表现为抗药性降低,遭受由肠道感染导致的致死效应,确定黑水虻幼虫是利用DUOX-ROS免疫系统和Toll信号通路作为肠道免疫防御的手段,BsfDuox和BsfTLR3能调节肠道关键细菌Providencia和Dysgonomonas的动态平衡。目前关于黑水虻产生抗菌肽的机制尚不明确,现有研究表明,Toll和IMD通路在产抗菌肽的过程中起关键作用,但仍需深入研究产生其作用机制,明确黑水虻抗菌肽分泌的信号转导机制。

2.2 黑水虻抗菌肽基因

因采用的注释方式及数据库不同,所获得的黑水虻抗菌肽基因也略有不同。Moretta等^[19]借助生物信息学手段从黑水虻幼虫及雄雌成虫的转录组中推断出57种不同的抗菌肽,包括防御素、抗菌肽、附着蛋白和溶菌酶等,Zhan等^[20]从黑水虻幼虫基因中筛选出能够编码50种抗菌肽的基因,其中包括36种cecropin抗菌肽基因。NCBI上现有黑水虻蛋白质组学(BioProject:PRJNA683030)数据显示,被成功注释的黑水虻抗菌肽共有52种(表1),其中cecropin类抗菌肽36种,attacin类抗菌肽4种,防御素类抗菌肽12种。

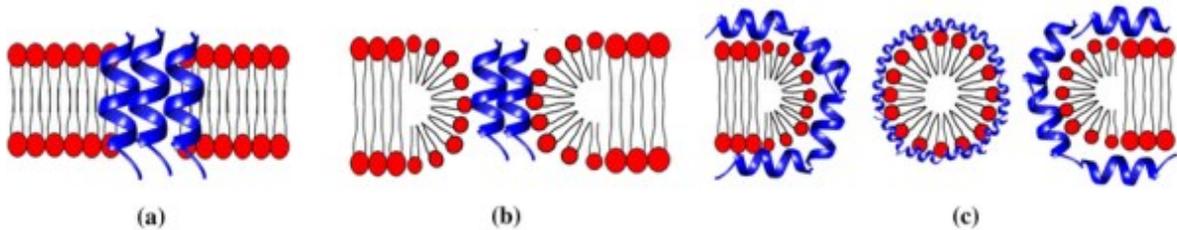
表1 黑水虻抗菌肽基因的基本信息
 Tab.1 Basic information of antimicrobial peptide gene of black soldier fly

类别 Class	蛋白质ID Protein ID	蛋白质分子量 Molecular weight	不稳定系数 Instability index	理论等电点 Theoretical pI
Attacin-a-like	XP_037916366.1	21 706.37	28.74	10.65
Attacin-b-like	XP_037919996.1	18 884.66	20.84	10.20
Attacin-b-like	XP_037919997.1	10 600.36	23.68	6.81
Attacin-b-like	XP_037921329.1	19 064.96	20.72	11.30
Defensin-like	XP_037913820.1	7 760.13	27.93	10.13
Defensin-like	XP_037920865.1	6 695.85	22.43	9.81
Defensin-a-like	XP_037926361.1	6 118.39	2.30	9.45
Defensin-a-like isoform x	XP_037918984.1	7 432.63	29.67	11.00
Defensin-a-like isoform x	XP_037918985.1	7 500.7	38.04	10.45
Defensin-a-like isoform x	XP_037918986.1	7 526.74	33.69	10.88
Defensin-a-like isoform x	XP_037918987.1	7 440.65	31.23	10.42
Defensin-like	XP_037918988.1	7 498.73	32.46	10.42
Defensin-like	XP_037918989.1	7 470.67	32.46	10.42
Defensin-a-like	XP_037918990.1	7 526.74	33.69	10.88
Defensin-like	XP_037918991.1	7 539.82	35.96	11.00
Defensin-b-like	XP_037918992.1	7 470.67	32.46	10.42
Cecropin	XP_037918994.1	7 497.74	34.40	11.00
Cecropin-like peptide	XP_037918995.1	7 526.74	33.69	10.88
Cecropin-like peptide	XP_037918996.1	7 467.71	34.40	11.00
Cecropin-like peptide	XP_037918997.1	7 493.75	34.49	11.45
Cecropin-like peptide	XP_037918998.1	7 526.74	33.69	10.88
Cecropin-like peptide	XP_037918999.1	7 498.73	32.46	10.42
Cecropin-like peptide	XP_037919000.1	7 526.74	33.69	10.88
Cecropin-like peptide	XP_037919001.1	7 554.79	35.25	10.88
Cecropin-like peptide	XP_037919002.1	7 569.81	37.19	11.45
Cecropin-like peptide	XP_037919003.1	7 526.74	33.69	10.88
Cecropin-like peptide	XP_037920141.1	8 102.57	33.81	10.62
Cecropin-like peptide	XP_037920142.1	7 241.52	16.24	10.55
Cecropin-like peptide	XP_037920496.1	7 315.60	21.01	10.55
Cecropin-like peptide	XP_037920591.1	7 255.55	21.59	10.55
Cecropin-like peptide	XP_037920771.1	13 300.45	26.79	10.97
Cecropin-like peptide	XP_037920876.1	7 846.31	31.93	11.48
Cecropin-like peptide	XP_037921144.1	7 368.71	26.06	11.05
Cecropin-like peptide	XP_037921712.1	7 792.22	36.13	11.48
Cecropin-like peptide	XP_037921713.1	7 804.23	33.09	11.48
Cecropin-like peptide	XP_037921714.1	7 368.71	24.81	11.05
Cecropin-like peptide	XP_037921715.1	7 398.73	36.46	11.05
Cecropin-like peptide	XP_037921716.1	7 368.71	26.06	11.05
Cecropin-like peptide	XP_037921717.1	7 382.73	26.06	11.05
Cecropin-like peptide	XP_037921719.1	7 382.73	26.06	11.05
Cecropin-like peptide	XP_037915075.1	10 771.38	74.04	6.80
Cecropin	XP_037926332.1	10 975.51	78.93	5.06
Cecropin-like peptide	XP_037915083.1	10 914.48	82.19	5.25
Cecropin-like peptide	XP_037915091.1	10 914.48	82.19	5.25
Cecropin-like peptide	XP_037915096.1	10 914.48	82.19	5.25
Cecropin-like peptide	XP_037915100.1	10 914.48	82.19	5.25
Cecropin-like peptide	XP_037927036.1	10 963.71	54.58	6.06
Cecropin-like peptide	XP_037905135.1	8 638.13	53.56	8.57
Cecropin-like peptide	XP_037915071.1	10 837.50	81.10	5.85
Cecropin-like peptide	XP_037915109.1	10 861.49	73.04	6.26
Cecropin-like peptide	XP_037921786.1	10 596.36	38.17	6.87
Cecropin-b	XP_037926601.1	10 870.75	53.69	8.09

3 黑水虻抗菌肽的抑菌机制及评价方法

3.1 黑水虻抗菌肽的抑菌机制

不同抗菌肽的抑菌机制有所不同,目前抗菌肽与细菌相互作用机制,较被认可的两种观点分别是抗菌肽对细菌膜作用机理和抗菌肽对细菌细胞内杀伤机理^[21]。抗菌肽可通过膜溶解机制导致细菌膜上的孔隙形成,或与磷脂相互作用,导致脂膜中的微观异质性,从而致使病原细菌死亡^[22]。抗菌肽对细菌细胞膜的透过作用机制分为三类:桶壁模型,抗菌肽渗透通过双层磷脂;环孔模型,抗菌肽与脂质头部基团相互作用,诱导双层弯曲并垂直插入膜双层;地毯模型,抗菌肽覆盖整个细胞膜,使得抗菌肽的非极性侧链与膜疏水核结合,而极性残基与磷脂结合,与碎片膜形成胶束^[23]。抗菌肽对细菌细胞内杀伤机理主要是通过与细胞膜内的特异性酶结合或作用于细胞内DNA、RNA^[24],此类抗菌肽不作用于细菌细胞膜,而是进入细胞膜内进行杀菌。



a:桶壁模型;b:环孔模型;c:地毯模型。

a: Barrel-stave model; b: Toroidal model; c: Carpet model.

图1 抗菌肽与细菌膜相互作用模型^[23]

Fig.1 Interaction model between antimicrobial peptides and bacterial membrane^[23]

3.2 黑水虻抗菌肽的抗菌活性和稳定性评价方法

3.2.1 评价抗菌活性及抑菌率 对于抗菌活性及抑菌率的评价,尽管目标病原菌不同,但采用的评价方法相对一致。Lee等^[10]采用径向扩散法研究了干酪乳杆菌免疫的黑水虻血淋巴对3种沙门氏菌的抗菌活性,根据径向扩散的面积来评价抑菌率。与径向扩散法较为相似的是抑制区试验法。抑制区试验法是最简单也是较为通用的抑菌评价方法,其中又能分为牛津杯法、滤纸片法、打孔法等。Elhag等^[4]采用牛津杯法,将纯化的抗菌蛋白加入牛津杯中,培养后测量抑菌圈直径。Choi等^[25]采用滤纸片法,将滤纸片浸入黑水虻幼虫不同抗菌肽提取液,培养后以滤纸片周边透明圈为抑菌圈直径, Park等^[26]使用打孔法在固体培养基中打直径为3 mm的孔洞,每孔加入抗菌肽样品,培养后测量透明带直径,以抑菌圈直径大小来评价抑菌活性及抑菌率。

液体抑菌法也是评价抗菌肽活性的方法之一,在病原菌培养的过程中,添加抗菌肽稀释液能一定程度上抑制病原菌的生长,也可以根据稀释液浓度测定最小抑菌浓度来评价抑菌活性及抑菌率。李尚伟等^[27]在96孔板中加入100 μL 对数期细菌,再加入10 μL 抗菌肽样品,经过24 h培养后,用酶标仪在600 nm处测定吸光值,以此确定细菌生长的最小抑菌浓度。液体抑菌所用抗菌肽样品量少,适用于小型试验。

3.2.2 评价抗菌肽稳定性 抗菌肽的稳定性多从pH、温度、紫外照射等方面进行评价研究。赵启凤^[28]将黑水虻抗菌肽样品放置温度为25, 37和50 $^{\circ}\text{C}$ 水浴加热10 min,同时也用盐酸与氨水配比好的pH为1、3、5、7、9、11的溶液与黑水虻抗菌肽样品等体积混合,发现黑水虻幼虫抗菌肽热稳定性较好,同时也具有一定的抗酸碱能力,在一定的pH范围内能维持抗菌肽活性。岳阳^[29]以100 $^{\circ}\text{C}$, 20 min条件处理蚕蛹抗菌肽,发现其对大肠杆菌的抑菌效果基本保持不变,同时也发现分离得到的蚕蛹抗菌肽是性质稳定的抗菌肽,在室温下一定时间内能够保持稳定活性。黑水虻抗菌肽与大多数昆虫抗菌肽一样,都有着较强的耐热性,能够在一定条件下维持抑菌活性的稳定。

4 黑水虻抗菌肽的应用及前景

黑水虻是一种高蛋白昆虫资源,联合国FAO曾在2013年推出《可食用昆虫报告》,其中黑水虻作为替代畜禽蛋白饲料前景最具优势的昆虫。同时,黑水虻在不同饲养基质下可表达不同种类的抗菌肽,这为黑水虻养殖过程高产抗菌肽提供了科学依据。图2为黑水虻资源及抗菌肽应用方案,即通过将黑水虻转化不同底物获得鲜虫过程作为黑水虻转化处理系统,对鲜虫中的抗菌肽进行深加工,最终应用到生物医学、养殖行业和食品行业等领域。

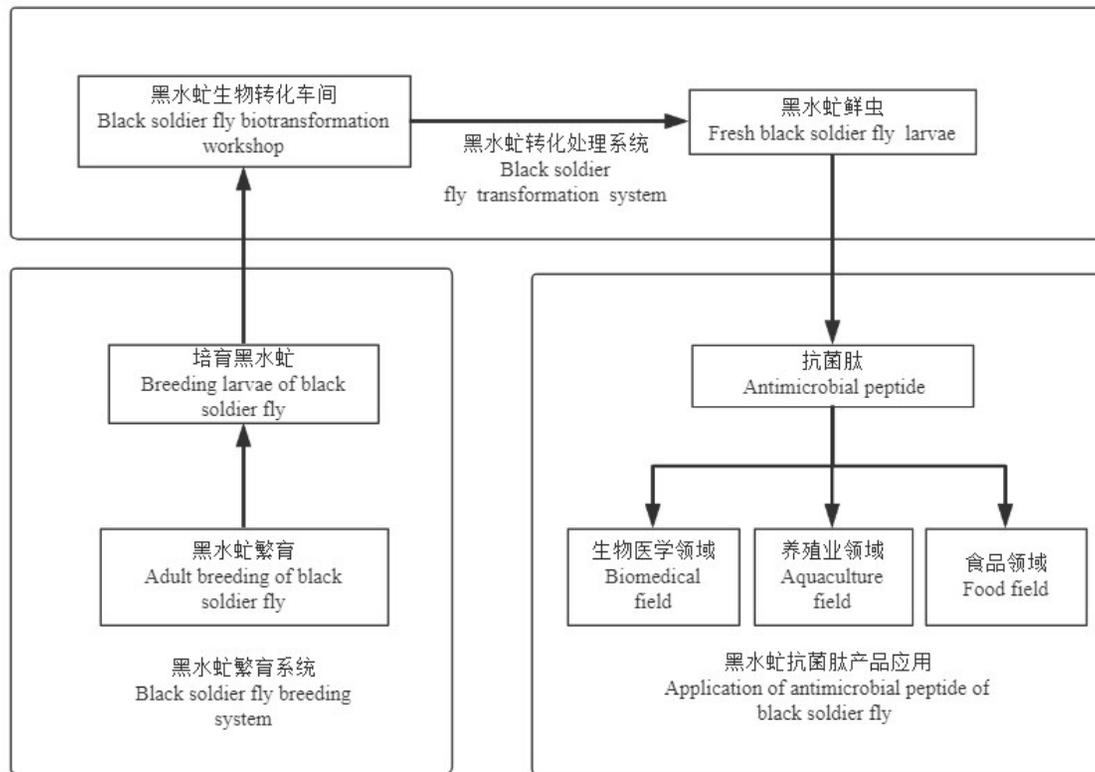


图2 黑水虻资源及抗菌肽应用方案

Fig.2 Black soldier fly resources and application scheme of antimicrobial peptides

4.1 在生物医学领域的应用

在中医历史上,昆虫抗菌肽的药用价值非常丰富。例如家蝇幼虫粉与其他中药混合,是治疗传染病的有效复方药物。抗菌肽在国际上已应用于临床治疗脑膜炎、幽门螺杆菌感染和真菌感染。德国和美国临床应用抗菌肽治疗术后真菌感染和重症肺炎的报道较多。Hong等^[30]开发自组装的纳米抗菌肽,可作为伤口愈合的抗感染剂。Kalsy等^[31]发现来自大蜡蛾的天蚕素A可以破坏尿病原性大肠杆菌的生物膜,从而解决抗生素无法彻底根除由尿病原性大肠杆菌导致的尿路反复感染的问题。Xu等^[32]发现家蚕抗菌肽对人食管癌细胞具有抗肿瘤活性。冯群等^[7]研究发现黑水虻抗菌肽粗提物对癌细胞的增殖具有一定抑制作用。黑水虻抗菌肽种类繁多且具有较广的抑菌谱,是未来生物医药研究的来源之一,同时也是解决细菌耐药性的方案之一。

4.2 在养殖业领域的应用

喂养抗菌肽不仅可以提高生产性能,还能抑制养殖中的病原菌。如免疫柞蚕蛹血淋巴可减轻断奶仔猪的腹泻,在饲养奶牛时,在日粮中添加抗菌肽可以显著提高奶牛乳蛋白率和奶牛奶量^[33]。将抗菌肽添加到肉鸡日粮中,显著提高肉鸡的活重、屠体重、全净膛重、腿肌重和腿肌率等^[34]。抗菌肽Surfactin可对吉富罗非鱼肠道健康指标产生有益影响^[35],可提高吉富罗非鱼肠道皱襞高度,调节肠道菌群,提高肠道抗氧化能力,从而改善吉富罗非鱼肠道健康状态。黑水虻目前可以作为替代蛋白加入到养殖日粮中,同时黑水虻抗菌肽替代养殖抗生素,展现出非常可期的发展潜力和前景。

4.3 在食品领域的应用

在食品领域中,因化学防腐剂对人体具有一定的危害,使得绿色安全高效的生物防腐剂备受关注。Nisin是目前使用最广泛的细菌素,同样也是抗菌肽的一种,在美国已被授予食品公认安全的地位,并已被用于各种食品中以控制和预防单核细胞增多性李斯特菌。Yaron等^[6]从树蛙皮肤中分离得到抗菌肽,在苹果汁有明显的抑菌活性,表明抗菌肽可以作为潜在的食品防腐剂。黑水虻抗菌肽可以杀灭食品来源性的大肠杆菌和金黄色葡萄球菌,为黑水虻抗菌肽在食品领域发挥抗菌效果提供基础。

5 结论与展望

昆虫抗菌肽的作用机制非常保守,并且在数百年的进化中已经形成,这表明其耐药性的风险较低。黑水虻抗菌肽可以保护生物体免受细菌和真菌的侵袭,最有可能成为替代抗生素的产品之一,要促进黑水虻抗菌肽大规模的生产与应用,未来研究可侧重以下几方面:

(1)进一步明确黑水虻抗菌肽的产生机制。通过明确黑水虻肠道菌群与抗菌肽之间的关系,阐释黑水虻抗菌肽的分泌特征和虫体抗菌肽分泌的信号转导机制,为抗菌肽高产工艺提供理论指导。

(2)建立黑水虻抗菌肽的评价体系。因黑水虻抗菌肽为小分子抑菌蛋白,在评价黑水虻抗菌肽时,可以从抑菌性和蛋白质特性进行评价,同时根据黑水虻抗菌肽在不同领域的应用,一并形成一套较为完整黑水虻抗菌肽评价体系。

(3)黑水虻抗菌肽的推广应用。黑水虻对固体废物的转化,能把废弃物转化为高蛋白,其被认为是优质蛋白质来源,并且黑水虻抗菌肽的热稳定性较好,可以忍受饲料生产的温度。因此,黑水虻抗菌肽用作饲料添加剂极具推广价值。尽管黑水虻体内抗菌肽的产生,能使基质的病原菌减少,但不管是黑水虻本身还是黑水虻抗菌肽作为饲料添加剂,其应用的安全性需要充分考虑,这也是促进建立黑水虻抗菌肽评价体系的原因之一。

致谢:广东海洋大学科研启动费资助项目(060302042006)同时对本研究给予了资助,谨致谢意!

参考文献 References:

- [1] MONTAÑO A M, TSUJINO F, TAKAHATA N, et al. Evolutionary origin of peptidoglycan recognition proteins in vertebrate innate immune system[J]. BMC evolutionary biology, 2011, 11(1): 1-10.
- [2] PARK S I, KIM J W, YO E S M. Purification and characterization of a novel antibacterial peptide from black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae[J]. Developmental and comparative immunology, 2015, 52(1): 98-106.
- [3] SHIN H S, PARK S I. Novel attacin from *Hermetia illucens*: cDNA cloning, characterization, and antibacterial properties[J]. Preparative biochemistry and biotechnology, 2019, 49(3): 279-285.
- [4] ELHAG O, ZHOU D, SONG Q, et al. Screening, expression, purification and functional characterization of novel antimicrobial peptide genes from *Hermetia illucens* (L.) [J]. PLoS One, 2017, 12(1): e0169582.
- [5] 胡珊珊, 陈开莉, 陈红贤, 等. 黑水虻抗菌肽的克隆及其生物信息学分析[J]. 江苏农业科学, 2020, 48(24): 4.
HU S S, CHEN K L, CHEN H X, et al. Cloning and bioinformatics analysis of antimicrobial peptides from black soldier fly [J]. Jiangsu agricultural sciences, 2020, 48(24): 4.
- [6] XU J, LUO X, FANG G, et al. Transgenic expression of antimicrobial peptides from black soldier fly enhance resistance against entomopathogenic bacteria in the silkworm, *Bombyx mori* [J]. Insect biochemistry and molecular biology, 2020, 127: 103487.
- [7] 冯群, 高嘉敏, 夏婧. 黑水虻幼虫抗菌肽粗提物敏感肿瘤细胞株筛选及溶血作用研究[J]. 医学综述, 2020, 26(6): 1214-1218.
FENG Q, GAO J M, XIA Q. Selection of tumor cells sensitive to crude extracts of antibacterial peptides from *H. illucens* larvae and study on related hemolysis [J]. Medical recapitulate, 2020, 26(6): 1214-1218.
- [8] DANIELA A, WILKINSON KA, MICHEL T, et al. Prospecting peptides isolated from black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) with antimicrobial activity against *Helicobacter pylori* (Campylobacteriales: Helicobacteraceae) [J]. Journal of insect sci-

- ence, 2019, 19(6):17.
- [9] 周义文. 家蝇抗菌肽分离纯化抗菌活性及分子结构研究[D]. 重庆: 重庆医科大学, 2004.
ZHOU Y W. Study on separation, purification, antibacterial activity and molecular structure of *Musca domestica* antibacterial peptide[D]. Chongqing: Chongqing Medical University, 2004.
- [10] LEE K S, YUN E Y, GOO T W. Antimicrobial activity of an extract of *Hermetia illucens* larvae Immunized with *Lactobacillus casei* against *Salmonella* species[J]. *Insects*, 2020, 11(10):704.
- [11] VOGEL H, MÖLLER A, HECKEL D, et al. Nutritional immunology: diversification and diet-dependent expression of antimicrobial peptides in the black soldier fly *Hermetia illucens* [J]. *Developmental and comparative immunology*, 2018, 78: 141-148.
- [12] KIM K, BAE G D, LEE M, et al. *Allomyrina dichotoma* larva extract ameliorates the hepatic insulin resistance of high-fat diet-induced diabetic mice[J]. *Nutrients*, 2019, 11(7):1522.
- [13] BHAGAVATHULA N, MEEDIDODDI V, BOURQUE S, et al. Characterization of two novel antimicrobial peptides from the cuticular extracts of the ant *Trichomyrmex criniceps* (Mayr), (Hymenoptera: Formicidae) [J]. *Archive insect biochemistry & physiology*, 2017, 94(4):e21381.
- [14] GE Q S, ZHANG H M, LIU X, et al. Crude extract of maggots: antibacterial effects against *Escherichia coli*, underlying mechanisms, separation and purification[J]. *World journal of gastroenterology*, 2015, 21(5):1510.
- [15] HIRSCH R, WIESNER J, BAUER A, et al. Antimicrobial peptides from rat-tailed maggots of the drone fly *Eristalis tenax* show potent activity against multidrug-resistant gram-negative bacteria[J]. *Microorganisms*, 2020, 8(5):626.
- [16] TZOU P, GREGORIO E D, LEMAITRE B. How *Drosophila* combats microbial infection: a model to study innate immunity and host-pathogen interactions[J]. *Current opinion in microbiology*, 2002, 5(1):102-110.
- [17] HANSON MA, LEMAITRE B. New insights on *Drosophila* antimicrobial peptide function in host defense and beyond[J]. *Current opinion immunol*, 2020, 62:22-30.
- [18] HUANG Y, YU Y, ZHAN S, et al. Dual oxidase *Duox* and Toll-like receptor 3 *TLR3* in the Toll pathway suppress zoonotic pathogens through regulating the intestinal bacterial community homeostasis in *Hermetia illucens* L. [J]. *PloS one*, 2020, 15(4)e0225873.
- [19] MORETTA A, SALVIA R, SCIEUZO C, et al. A bioinformatic study of antimicrobial peptides identified in the Black Soldier Fly (BSF) *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae) [J]. *Science report*, 2020, 10(1):16875.
- [20] ZHAN S, FANG G, CAI M, et al. Genomic landscape and genetic manipulation of the black soldier fly *Hermetia illucens*, a natural waste recycler [J]. *Cell research*, 2020, 30(1):50-60.
- [21] 单安山, 田昊天, 邵长轩, 等. 抗菌肽抗细菌机理研究进展[J]. *东北农业大学学报*, 2018, 49(3):84-94.
SHAN A S, TIAN H T, SHAO C X, et al. Research advance on antibacterial mechanism of antimicrobial peptides [J]. *Journal of Northeast agricultural university*, 2018, 49(3):84-94.
- [22] 赵东红, 戴祝英. 昆虫抗菌肽的功能、作用机理与分子生物学研究最新进展[J]. *生物工程进展*, 1999, 19(5):14-18.
ZHAO D H, DAI Z Y. The research advances in function, mechanism and molecular biology of insect antibacterial peptides [J]. *Advances in bioengineering*, 1999, 19(5):14-18.
- [23] MANNIELLO M D, MORETTA A, SALVIA R, et al. Insect antimicrobial peptides: potential weapons to counteract the antibiotic resistance [J]. *Cellular and molecular life sciences*, 2021, 8(9):4259-82.
- [24] 张宇, 姜宁, 张爱忠. 抗菌肽抑菌机理及其研究方法[J]. *现代畜牧兽医*, 2018(1):52-57.
ZHANG Y, JIANG N, ZHANG A Z. Bacteriostatic mechanism and research methods of antibacterial peptides [J]. *Modern journal of animal husbandry and veterinary medicine*, 2018(1):52-57.
- [25] CHOI W, YUN J, CHU J, et al. Antibacterial effect of extracts of *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae) larvae against Gram-negative bacteria [J]. *Entomological research*, 2012, 42(5):219-226.
- [26] PARK S I, CHANG B S, YO E S M. Detection of antimicrobial substances from larvae of the black soldier fly, *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae) [J]. *Entomological research*, 2014, 44(2):58-64.

- [27] 李尚伟,赵柏松,杜娟.九香虫抗菌肽CcAMP1的分离纯化和抗菌活性检测[J].昆虫学报,2015,58(6):610-616.
LI S W, ZHAO B S, DU J. Isolation, purification, and detection of the antimicrobial activity of the antimicrobial peptide CcAMP1 from *Coridius chinensis* (Hemiptera: Dinidoridae) [J]. Acta entomologica Sinica, 2015, 58(6): 610-616.
- [28] 赵启凤.黑水虻抗菌肽诱导及粗提物活性研究[D].遵义:遵义医学院,2012.
ZHAO Q F. Preliminary research on functional roles in antimicrobial peptides from crude extracting in black soldier fly [D]. Zunyi: Zunyi Medical College, 2012.
- [29] 岳阳.蚕蛹抗菌肽的理化性质及其应用研究[D].长春:吉林农业大学,2013.
YUE Y. Physicochemical properties and applications research of silkworm chrysalis antimicrobial peptides. [D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2013.
- [30] WEI H, XIANG G, PENG Q, et al. Synthesis, construction, and evaluation of self-assembled nano-bacitracin A as an efficient antibacterial agent in vitro and in vivo [J]. International journal of nanomedicine, 2017, 12: 4078.
- [31] KALSY M, TONK M, HARDT M, et al. The insect antimicrobial peptide cecropin A disrupts uropathogenic *Escherichia coli* biofilms [J]. NPJ biofilms and microbiomes, 2020, 6(1): 1-8.
- [32] XU P, LYU D, WANG X, et al. Inhibitory effects of *Bombyx mori* antimicrobial peptide cecropins on esophageal cancer cells [J]. European journal of pharmacology, 2020, 887: 173434.
- [33] 唐宇,李秀岭,王艳,等.抗菌肽提高奶牛生产性能和降低体细胞数的试验研究[J].中国乳业,2020,226(10):12-15.
TANG Y, LI X L, WANG Y, et al. Experimental study on antimicrobial peptides to improve the production performance of dairy cows and reduce the number of somatic cells [J]. China dairy, 2020, 226(10): 12-15.
- [34] 苗旭,刘彦,贺军,等.抗菌肽对肉鸡屠宰性能和肉品质影响的研究[J].国外畜牧学(猪与禽),2020,40(10):27-31.
MIAO X, LIU Y, HE J, et al. The effect of antimicrobial peptides on the slaughter performance and meat quality of broilers [J]. Animal science abroad (pigs and poultry), 2020, 40(10): 27-31.
- [35] 翟少伟,史庆超,陈学豪.饲料中添加抗菌肽Surfactin对吉富罗非鱼肠道健康的影响[J].水生生物学报,2016,40(4):823-829.
ZHAI S W, SHI Q C, CHEN X H. Effect of dietary antimicrobial peptides-surfactin supplementation on parameters of intestinal health indices of genetically improved farmed tilapia (gift, *Oreochromis niloticus*) [J]. Acta hydrobiologica Sinica, 2016, 40(4): 823-829.
- [36] YARON S, RYDLO T, SHACHAR D, et al. Activity of dermaseptin K4-S4 against foodborne pathogens [J]. Peptides, 2003, 24(11): 1815-1821.