

评述与展望
Review and Progress

抗菌肽及其在贝类中的研究进展

杨婷婷¹ 叶梦晓² 尤仲杰³ 林志华² 包永波^{2*}

1 宁波大学海洋学院, 宁波, 315211; 2 浙江万里学院, 生物与环境学院, 宁波, 315100; 3 宁波市海洋与渔业研究院, 宁波, 315000

* 通讯作者, bobbao2001@gmail.com

摘要 贝类缺乏特异的免疫系统, 主要由细胞和体液免疫系统抵抗外界病菌的侵袭。抗菌肽是其中一种重要的免疫因子, 由于抗菌肽特殊的结构和作用机理, 不会像其它抗生素使病菌产生耐药性, 因此具有广阔的应用前景。本文主要介绍了抗菌肽的特点、作用机理及贝类抗菌肽的研究进展、应用前景和存在的问题。

关键词 贝类, 抗菌肽, 生物学特点, 作用机理, 研究进展, 应用前景

Antimicrobial Peptides and Their Research Progress in Mollusk

Yang Tingting¹ Ye Mengxiao² You Zhongjie³ Lin Zhihua² Bao Yongbo^{2*}

1 College of Ocean, Ningbo University, Ningbo, 315211; 2 College of Biological & Environment Science, Zhejiang Wanli University, Ningbo, 315100;

3 Ningbo ocean and Fisheries Research Institute, Ningbo, 315000

* Corresponding author, bobbao2001@gmail.com

DOI: 10.3969/gab.031.000644

Abstract Mollusk have no adaptive immunity, which mainly depend on the innate immune system involving cell-mediated and humoral components to recognize and eliminate pathogens. Antimicrobial peptides are an important immune factor. Since their special structure and function mechanism, antimicrobial peptides would not make organism produce resistance like other antibiotics. Thus, it has broad application perspective. This paper mainly introduced the characteristic and function mechanism of antimicrobial peptides, as well as the research progress, application perspective and exiting problems of antimicrobial peptides in mollusk.

Keywords Mollusk, Antimicrobial peptides, Biological characteristic, Function mechanism, Research progress, Application perspective

贝类养殖是我国海水养殖业的重要组成部分, 是海水养殖的支柱产业, 在沿海地区以其巨大的潜力迎合了人们对贝类产品的需求, 并获得了迅猛发展。但是随着全球环境恶化, 水质污染严重, 再加上人们过分追求产量, 使得水污染进一步加剧, 产生各种有机物、无机物富营养化, 重金属离子、农药、有害化学成分富集等现象, 从而导致养殖种类频繁遭受各种病菌的侵袭。虽然可以通过使用各种抗生素或其它药物进行防治, 但是这些药物会造成水环境微生物生态失衡, 并且长期使用会导致病菌对其产生耐药性。基于这些原因, 人们不得不寻找其它防治途径。

贝类缺乏特异的免疫系统, 抵抗外界病菌的侵袭主要依靠细胞和体液免疫。抗菌肽是无脊椎动物中广泛存在的一种免疫因子。1974年, Boman等(1980)

人开始从事抗菌肽的研究工作, 这是关于抗菌肽最早的研究。Boman等(1980)从美国惜古比天蚕(*Hyalophora cecropia*)中首次获得抗菌肽, 命名为Cecropins。此后, 相继又从细菌、真菌、高等植物、昆虫、两栖类、哺乳动物、直至人类体内提取出, 并对其结构、生物学特点和作用机理等方面进行了研究。目前对贝类抗菌肽也有一定的研究。本文简要综述了抗菌肽的生物学特点、分类、作用机理以及贝类抗菌肽的研究进展、应用前景和存在的问题。

1 抗菌肽的生物学特点

抗菌肽(antimicrobial peptides, AMPs)是广泛存在于生物界的一种具有抗菌活性的短肽, 一般其相对分子质量小于5000 Da, 氨基酸数目小于100。按

基金项目 本研究由宁波市国际合作项目(2010D10017)和浙江省大学生科技创新活动计划共同资助

其在体内产生的方式,可以分为两大类。一类是蛋白质在特定的环境下,经过一系列酶解产生,如 Lee 等(2003)研究表明抗菌肽 astacidin1 是淡水小龙虾血蓝蛋白的羧基末端部分,并且发现它是血蓝蛋白在酸性条件下由蛋白水解产生的。另一类是由基因转录,核糖体合成而来,绝大部分抗菌肽属于这一类。并且有研究发现,在节肢动物及双壳贝类中,抗菌肽基因转录是组成型的,不受外界因素影响,而是持续合成,储存在血淋巴细胞中,当受到外界刺激,这些抗菌肽分子就释放出去(李晔等, 2004)。抗菌肽在机体抵抗病原入侵方面起着重要的作用,更被认为是缺乏特异免疫系统功能生物的重要防御成分。在过去 30 多年里,对抗菌肽各方面进行了研究,发现抗菌肽具有以下一些生物学特点。

1.1 抗菌肽的结构特点

虽然抗菌肽广泛存在于各种生物体内,品种繁多,来源各异,但是它们在结构上具有一些共同点,一般抗菌肽呈阳离子特性,这主要是由于其 N 端富含 Arg、Lys 等极性氨基酸,从而导致正电荷过剩,通常情况下,抗菌肽 C 端呈疏水性,酰胺化,富含 Ala、Gly、Val 等非极性氨基酸,有研究表明这可能决定了抗菌肽是否具有广谱抗菌活性;抗菌肽的中间连接部分具有大量脯氨酸,并且末端多酰胺化,这对抗菌肽的杀菌活性有直接影响。抗菌肽的第二位多为色氨酸,这个结构特点也对杀菌活性的高低有着重要的影响(肖建光和刘文生, 2005)。

1.2 抗菌肽的功能特点

抗菌肽由于其结构上的特点,从而在生物学功能上也不同于传统的抗生素,抗菌肽与传统抗生素相比,主要具有下面 4 个特点:

(1)抗菌肽的抗菌谱很广泛,不仅可以抑制革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌,而且对真菌、原生动物和病毒均具有细胞毒性(张家国, 2009)。

(2)杀菌速度快,一般 5 min 之内就能使细胞死亡(吴甜甜和杨洁, 2009)。

(3)由于抗菌肽的特殊作用机制,不会伤害正常细胞,只作用于原核细胞和发生病变的细胞。

(4)一般长期使用抗生素,细菌都会对其产生耐药性,从而变成难以控制的超级细菌,然而,抗菌肽却不会使病原菌产生耐药性。

2 抗菌肽的分类及作用机理

到 2002 年 8 月,已有 700 多种抗菌肽从各种真

核生物中分离出,并对其中一部分抗菌肽的氨基酸结构和基因序列作了研究(黄文树等, 2005)。根据抗菌肽的结构及功能,可以分为三大类(Destoumieux et al., 2000)。第一类是具有 α 螺旋结构的两亲线性多肽,这类抗菌肽是最早发现于 1980 年, Doman 等从惜古比天蚕蛹中提取出的抗菌肽 Cecropins 是这一类的典型代表。第二类是富含半胱氨酸,形成一个或多个二硫键的多肽,这类分子的典型代表是防御素(Defensins),海洋贝类贻贝的抗菌肽属于这一类。第三类是富含某些特殊氨基酸(Pro, Gly, His)的多肽,有时这些氨基酸占氨基酸组成的比例可达到 25%以上,这类氨基酸多从昆虫中得到。然而,也有一些多肽同时具有这两类或三类的特点,如对虾的抗菌肽 penaeidin 同时具有两类特点:含有分子内二硫键,富含脯氨酸(黄文树等, 2005)。

抗菌肽不仅种类繁多,而且各种抗菌肽的作用机理也不尽相同,因此到目前为止关于抗菌肽的作用机理还得不到统一,现在主要有以下几种观点(洪旭光, 2008) 第一,离子通道学说,这个学说认为抗菌肽与病菌的细胞膜接触,形成离子通道,从而导致病原体死亡。第二,抑制细胞呼吸学说,显然这种观点认为抗菌肽是通过抑制细胞呼吸作用而达到杀菌的目的。第三,孔道学说,抗菌肽一般呈阳离子特性,它通过静电作用与带负电的微生物细胞膜接触,从而产生瞬间孔道,导致细胞内容物外流,进而将微生物杀灭。第四,毯式模型,抗菌肽通过静电作用覆盖在细胞膜表面,当抗菌肽达到一定的浓度时,细胞膜脂质双层的曲率就遭到破坏、裂解(张家国, 2009)。第五,抑制细胞壁形成学说,此学说认为抗菌肽通过抑制细菌细胞壁的形成而阻止细菌的正常生长。

对于这些观点,大家更倾向于认为抗菌肽是通过与病原菌的细胞膜作用,增加膜的通透性,从而导致病原体死亡。这一点不同于传统抗生素的作用机理,传统抗生素与病原体特定部位的受体相结合,造成病原体正常结构的破坏或使某些生物合成受阻,从而达到抑菌或杀菌的作用(Breithaupt, 1999)。所以当作用靶位点发生改变时,抗生素对这些病菌就失去了抗性。而抗菌肽的靶点主要是病原体的细胞膜,因此不易产生抗性。

3 贝类抗菌肽的研究进展

贝类和其它无脊椎动物一样,缺乏特异的免疫防御系统,主要依靠天然免疫保护机体免受外界病原的危害。相对于脊椎动物来说,关于贝类抗菌肽的

研究还比较少。目前,贝类抗菌肽研究较为透彻的是贻贝抗菌肽,其它贝类还有待进一步研究。

3.1 贻贝抗菌肽的研究进展

贻贝抗菌肽是一种富含半胱氨酸的阳离子多肽,按其一级结构和二硫键形成的不同可以分为4类,分别为防御素(Defensins)、贻贝素(Mytilins)、贻贝肽(Myticins)和贻贝霉素(Mytimycins)(Mitta et al., 2000)。

3.1.1 贻贝防御素

贻贝防御素属于防御素家族,目前已经发现了4种:MGD1、MGD2、Mytilus defensins A 和 Mytilus defensins B。贻贝防御素最早发现于地中海贻贝(*Mytilus galloprovincialis*)中,Hubert等(1996)先后从地中海贻贝的血浆和血细胞中分离到分子量为4 kD的MGD1;MGD2最初是从地中海贻贝血细胞cDNA文库中筛选得到的,随后又发现在翡翠贻贝(*M. smaragdinus*)体内存在MGD2的mRNA(于道德等,2009)。Charlet等(1996)在紫贻贝(*M. edulis*)中分离到Mytilus defensins A 和 Mytilus defensins B,它们是昆虫抗菌肽防御素家族的两个成员。MGDs主要抑制革兰氏阳性菌,对革兰氏阴性菌除大肠杆菌外作用不明显(杨丽佳等,2011)。Yang等(2000)发现从地中海贻贝中分离出的MGD1和防御素A具有相似的抗革兰氏阳性菌活性,它们的正电荷和疏水侧链分布得很典型,正是这种典型的分布导致了抗菌活性的产生及其对革兰氏阳性菌的特异性。

3.1.2 贻贝素

贻贝素是目前贻贝中发现的种类最多、丰度最高的抗菌肽家族。主要包括MytilinA、MytilinB、MytilinC、MytilinD和MytilinG1五种(Charlet et al., 1996)。在地中海贻贝(*Mytilus galloprovincialis*)和紫贻贝(*Mytilus edulis*)等主要贻贝中均发现了Mytilin,而在厚壳贻贝(*Mytilus coruscus*)中尚未发现。Mitta等(2000a)通过Edman降解和质谱方法从地中海贻贝的血细胞中分离出MytilinB、MytilinC、MytilinD和MytilinG1。研究表明,MytilinA在紫贻贝中被发现,MytilinB在地中海贻贝和紫贻贝中均有发现,MytilinC、MytilinD和MytilinG1则主要发现于地中海贻贝。这五种贻贝素的抗菌活性有所不同。研究发现MytilinB、MytilinC和MytilinD对革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌均有抑制活性,而MytilinG1则只对革兰氏阳性菌有抗菌活性(Mitta et al., 2000a)。还有研究发现MytilinA对革兰氏阳性菌的抗菌性强于对阴性菌的,MytilinB和

MytilinD对丝状真菌均具有活性,而MytilinC和G1则不具有(Mitta et al., 2000b)。

3.1.3 贻贝肽

关于贻贝肽,目前主要鉴定到MyticinA、MyticinB、MyticinC三种。Mitta等(1999)在地中海贻贝的血清和血细胞中发现了对革兰氏阳性菌有抗菌活性的MyticinA,而MyticinB只存在于血细胞中,并且MyticinB对真菌和革兰氏阴性菌具有活性。他们通过血细胞cDNA文库联合使用Edman降解、质谱以及DNA克隆确定了这两个抗菌肽完整的氨基酸序列,它们的结构不同于先前发现的富含半胱氨酸的抗菌肽,这两个抗菌肽由40个残基构成,分子内含有4个二硫键。此外,通过cDNA的序列分析还发现Myticin前体由96个氨基酸组成,包括一个具有20个氨基酸的信号肽,抗菌肽序列以及36个残基的C末端,这一结构说明了MyticinA和MyticinB是由前体通过一系列的蛋白水解产生的。他们还发现Myticin前体主要存在于血细胞中。Abinash Padhi等(2008)发现MyticinC具有高度的分子多态性,而MyticinA和MyticinB不具有此现象。

3.1.4 贻贝霉素

贻贝霉素分布在紫贻贝中,目前对其研究还不透彻,仅对它的N端部分序列作出了鉴定,其相对分子质量为6.5 kD左右,分子中含12个半胱氨酸,具有抗真菌活性(刘梅,2010)。

3.2 其它贝类的研究进展

除了贻贝抗菌肽外,研究发现其他贝类中也存在着一些相应的抗菌肽。比如,文蛤(*Meretrix meretrix*)、菲律宾蛤仔(*R. philippinarum*)、美洲牡蛎(*Crassostrea Irginica*)、长牡蛎(*C. gigas*)、栉孔扇贝(*Chlamys farreri*)、海湾扇贝(*Argopecten irradians*)、马氏珠母贝(*Pinctada martensi*)、皱纹盘鲍(*Haliotis discus discus*)等。

3.2.1 蛤类抗菌肽

到目前为止,蛤类中的抗菌肽发现得还不多。其中,蛤素是Schmee等(1964)从文蛤中提取出的多糖类化合物,该物质对黑色素瘤和Hela细胞均有较强抑制作用,除此之外,还具有抗肿瘤、降糖、降血脂、抗突变和抗衰老等作用。研究发现,在酶用量0.5%,时间8h,温度40℃的水解条件下,用胰蛋白酶水解的文蛤肉的酶解产物具有明显的抗菌性,酶解液经抗菌性检测,结果显示分子质量为1650 Da的小分子肽具有显著的抗菌活性。此外,Kang等(2006)研究发现,菲

律宾蛤仔受到 *Perkinsus olseni* 感染时,在它的 cDNA 文库中有一条 EST 序列与贻贝中的防御素 MGD-1 相似。Gestal 等(2007)在 *Ruditapes decussatus* 中发现了分别与 Mytilins 和 Myticins 相似的 4 种抗菌肽,分别命名为 Clam myticin isoforms 1、Clam myticin isoforms 2、Clam myticin isoforms 3 和 Clam mytilin,Q-PCR 表明它们的表达受细菌侵袭的影响。

3.2.2 牡蛎抗菌肽

牡蛎中发现的抗菌肽主要有美洲牡蛎中的 AOD 以及长牡蛎中的 Cg-Def1、Cg-Def2 和 Cg-Prp。Seo 等(2005)最先从美洲牡蛎(*Crassostrea virginica*)中获得对革兰氏阳性和阴性菌都有抗性的 AOD,此外,Tamplin 等(1989)发现美洲牡蛎的血清也有抑菌作用。Gonzalez 等(2007)在长牡蛎(*C. gigas*)的血细胞中发现抗菌肽 Cg-Def1、Cg-Def2 和 qRT-PCR 分析表明 Cg-Def2 在 *C. gigas* 的血细胞中组成型表达,当遭受细菌侵袭时,Cg-Def2 可能从血细胞向其它组织转移,这表明当牡蛎遭受细菌侵袭时 Cg-Def2 的重要作用。研究发现这三种抗菌肽都属于防御素这一类。Yannick 等(2009)在长牡蛎中发现 37 个氨基酸残基的多肽 Cg-Prp 与富含脯氨酸的抗菌肽相似,并且发现它与 Cg-Def 具有协同抗菌性。

3.2.3 扇贝抗菌肽

目前关于扇贝抗菌肽也有一定研究,刘晓萍等(2001)和阎春玲等(2005)研究表明扇贝中的一些多肽能够抵抗紫外线辐射损伤,对紫外线损伤的小鼠胸腺淋巴细胞具有一定的保护作用。杜伟等(2000)从栉孔扇贝(*Chlamys farreri*)中分离出可以增强细胞免疫活性的多肽,这种扇贝多肽能够明显降低地塞米松对免疫细胞的抑制作用。赵建民等(2007)在海湾扇贝(*Argopecten irradians*)中发现一种多肽,其氨基酸序列与 *Tachypleus tridentatus* 和 *Branchiostoma belcheri tsingtaunese* 中的 Defensins 高度相似,这表明这种多肽应该是 Defensins 家族的一员,将其命名为 AiBD,生物活性测定表明 AiBD 不仅对革兰氏阴性和阳性菌有活性,而且对表达宿主具有强大的杀菌性。此外李成华等(2007)在栉孔扇贝中也发现了抗菌肽,这类抗菌肽来自扇贝组蛋白 H2A 的氮末端,研究发现其与脊椎动物中的抗菌肽 buforin 同源,对革兰氏阳性菌和阴性菌均有活性,且对阳性菌的活性是阴性菌的 2.5 倍。

3.2.4 其它贝类抗菌肽

除了上述的贝类抗菌肽,还发现了一些存在于

其它贝类中的抗菌肽。张英霞等(2010)从马氏珠母贝(*Pinctada martensi*)鳃组织中发现了具有抗菌活性的组分,用纸片琼脂扩散法和微量测定法对制备的马氏珠母贝鳃组织匀浆物进行抗菌活性分析的结果表明,该组分具有抗革兰氏阴性菌的活性,对革兰氏阳性菌也有一定的抑制作用,此外还发现该组分利用胰蛋白酶消化后会失去抗菌活性,由此推测其为蛋白质。de Zoysa 等(2009)在皱纹盘鲍(*Haliotis discus discus*)中发现了 40 个氨基酸残基的抗菌肽 Abhisin,它来自组蛋白 H2A 的氨基末端,研究结果表明 Abhisin 对革兰氏阴性菌,革兰氏阳性菌以及真菌皆有活性,并且对革兰氏阳性菌的活性强于阴性菌。Ramasamy 等(2011)研究发现乌贼(*Sepia prashadi*)的组织提取物具有相当好的抗菌活性,这些提取物能够抑制革兰氏阳性,阴性菌,但是对真菌没有活性。

4 抗菌肽在贝类养殖中的应用前景及问题

目前水环境日益恶化,使得底栖、滤食性的贝类频繁遭受病菌的侵袭,并且尚无有效的防治措施,这严重制约着贝类养殖业的发展。南方的马氏珠母贝(*Pinctada martensi*)、墨西哥湾扇贝(*Argopecten irradians concentricus*)和杂色鲍(*Haliotis diversicolor*)等,以及北方的海湾扇贝(*A. irradians*)等养殖贝类都曾因病害流行而大面积死亡,造成了巨大的经济损失(张朝霞等,2006)。因此,当务之急,我们应该加快对贝类养殖种类免疫防御的研究,实现贝类养殖的又好又快发展。

贝类生活的水环境富含各种微生物,通过长期的适应生活,其发展出有效的自身防御机制。其中抗菌肽被认为是贝类自身免疫的重要参与者。随着各种抗菌肽的发现以及对其结构和功能的研究,发现抗菌肽在开发抗细菌、抗真菌、抗病毒药物方面具有广阔的前景。在贝类养殖中,随着各种抗生素的长期使用,使得病原菌产生了耐药性,成为难以对付的超级菌,进而降低了水产养殖种类的单位产量及品质。通过基因工程将改造并合成的抗菌肽基因,在合适的细胞中进行表达,产生的抗菌肽具有很多优点:(1)具有稳定高效抗菌活性;(2)具有特异抗菌谱;(3)对宿主无害;(4)不会产生耐药菌;实现批量生产的抗菌肽有可能成为替代传统抗生素的新型抗菌肽药物,为药物开发提供新来源和新思路,将其作为新型饲料添加剂,不仅对环境没有污染,而且能够使贝类的抗病能力得以提高,同时还能改善贝类养殖种类的质量。因此抗菌肽成为贝类养殖的救星,是人们眼中新一代抗生素的候选者。

但是,在实际开发和利用过程中,还存在一系列亟需解决的问题:(1)来源问题:天然抗菌肽产量低,分离纯化复杂、耗时,合成成本昂贵;(2)活性问题:活性容易降低;(3)应用问题:难以产业化,另外在药物应用上,还必须加强药理、药代动力学、药效、毒理性等的研究(吴甜甜和杨洁,2009)。虽然还存在这么多难题,但是相信随着科学的发展,技术的进步,以及对抗菌肽的深入研究,对其结构和作用机制的进一步了解,我们一定能够找到突破口,对目的抗菌肽进行人工设计改造,以使其满足贝类养殖需求,从而为贝类养殖业带来福音。

作者贡献

杨婷婷阅读文献,整理并撰写论文;包永波负责论文构思,解答疑问,审阅论文并提出修改意见;尤仲杰和林志华负责审阅论文并提出修改意见。

致谢

感谢宁波市国际合作项目(2010D10017)和浙江省大学生科技创新活动计划的资助。

参考文献

- Boman H.G., Nilsson-Fayel., and Paul K., 1974, Insect immunity . characteristics of an inducible cell-free antibacterial reaction in hemolymph of samia cynthia pupae, *Infection and Immunity*, 10(1): 136-145
- Breithaupt H., 1999, The new antibiotics: Can novel antibacterial treatments combat the rising tide of drug-resistant infections, *Nature Biotechnology*, 17: 1165-1169
- Camino G., Marimar C., Antonio F., and Beatriz N., 2007, Analysis of differentially expressed genes in response to bacterial stimulation in hemocytes of the carpet-shell clam *Ruditapes decussatus*: Identification of new antimicrobial peptides, *Gene*, 406(2): 134-143
- Charlet M., Chernysh S., Philippe H., Hétru C., Hoffmann J., and Bulet P., 1996, Innate immunity: Isolation of several cysteine-rich antimicrobial peptides from the blood of a mollusk, *Mytilus edulis*, *The Journal of Biological Chemistry*, 271: 21808-21813
- Du W., Liu X.P., and Liang H., 2000, The protective action of PCF on lymphocyte and the analysis of it by a reversed phase high performance liquid chromatography (RPLC), *Zhongguo Haiyang Yaowu Zazhi (Chinese Journal of Marine Drugs)*, 19(5): 27-29 (杜卫, 刘晓萍, 梁惠, 2000, 扇贝多肽对淋巴细胞的保护作用 and 反相液相色谱分析, *中国海洋药物*, 19(5): 27-29)
- Destoumieux D., Munoz M., Bulet P., and Bachère E., 2000, Penaeidins, a family of antimicrobial peptides from penaeid shrimp (*Crustacea, decapoda*), *Cell Mol. Li. Fe. Sci.*, 57(8-9): 1260-1271
- De Zoysa M., Nikapitiya C., Whang I., Lee J.S., and Lee J., 2009, Abhisin: A potential antimicrobial peptide derived from histone H2A of disk abalone (*Haliotis discus discus*), *Fish and Shellfish Immunology*, 27(5): 639-646
- Gonzalez M., Gueguen Y., Desserre G., Lorgeril J., Romestand B., and Bachère E., 2007, Molecular characterization of two isoforms of defensin from hemocytes of the oyster *Crassostrea gigas*, *Dev. Comp. Immunol.*, 31(4): 332-339
- Gueguen Y., Romestand B., Fievet J., Schmitt P., Destoumieux-Garçon D., Vandembulcke F., Bulet P., and Bachère E., 2009, Oyster hemocytes express a proline-rich peptide displaying synergistic antimicrobial activity with a defensin, *Molecular Immunology*, 46(4): 516-522
- Huang W.S., Wang K.J., and Li S.J., 2005, Research progress on the study of antimicrobial peptide from crustacea, *Haiyang Kexue (Marine sciences)*, 29(2): 64-68 (黄文树, 王克坚, 李少菁, 2005, 甲壳动物抗菌肽研究进展, *海洋科学*, 29(2): 64-68)
- Hong X.G., 2008, A study on Antibacterial peptide *Haliotis discus hannai* and *Chlamys farreri*, Dissertation for Ph.D., Ocean University of China, Supervisor: Sun X.Q., pp.7-8 (洪旭光, 2008, 皱纹盘鲍和栉孔扇贝抗菌肽的研究, 博士学位论文, 中国海洋大学, 导师: 孙修勤, pp.7-8)
- Hubert F., Noël T., and Roch P., 1996, A member of the arthropod defensin family from edible Mediterranean mussel (*Mytilus galloprovincialis*), *Eur J. Biochem*, 240(1): 302-306
- Kang Y.S., Kim Y.M., Park K.L., Cho S.K., Choi K.S., Cho M., 2006, Analysis of EST and lectin expression in hemocytes of Manila clams (*Ruditapes philippinarum*) (Bivalvia: Mollusca) infected with *Perkinsus olseni*, *Dev. Comp. Immunol.*, 30(12): 1119-1131
- Liu X.P., Wang Y.Z., and Wang C.B., 2001, Effect of polypeptide from *Chlamys Farreri* on the proliferation of immune cells and its protection against ultraviolet *in vitro*, *Haiyang Yuhuzhao (Oceanologia Et Limnologia Sinica)*, 32(4): 414-419 (刘晓萍, 王玉贞, 王春波, 2001, 扇贝多肽在体外对免疫细胞活性的影响及其抗紫外线的氧化损伤作用, *海洋与湖沼*, 32(4): 414-419)
- Li Y., Su X.R., Li T.R., and Song L.S., 2004, Research progress of antimicrobial peptides in invertebrate such as molluscs, *Shuichan Kexue (Fisheries Science)*, 23(9): 40-43 (李晔, 苏秀榕, 李太武, 宋林生, 2004, 贝类等无脊椎动物抗菌肽的研究进展, *水产科学*, 23(9): 40-43)
- Liu M., 2010, Isolation, characterization, gene cloning of Mytilin from *Mytilus coruscus*, Thesis for M.S., Zhejiang Ocean University, Supervisor: Shi Y., pp.9 (刘梅, 2010, 厚壳贻贝抗

- 菌肽 Mytilin 的纯化, 鉴定及基因克隆, 硕士学位论文, 浙江海洋学院, 导师: 石戈, pp.9)
- Lee S.Y., Lee B.L., and Söderhäll K., 2003, Processing of an antibacterial peptide from hemocyanin of the fresh water crayfish *pacifastacus leniusculus*, *Biological Chemistry*, 278(10): 7927-7933
- Li C.H., Song L.S., Zhao J.M., Zhua L., Zou H.B., Zhang H., Wang H., and Cai Z.H., 2007, Preliminary study on a potential antibacterial peptide derived from histone H2A in hemocytes of scallop *Chlamys farreri*, *Fish and Shellfish Immunology*, 22(6): 663-672
- Mitta G., Hubert F., Noël T., and Roch P., 1999, Myticin, a novel cysteine-rich antimicrobial peptide isolated from haemocytes and plasma of the mussel *Mytilus galloprovincialis*, *Eur. J. Biochem*, 265(1): 71-78
- Mitta G., Vandenbulcke F., Hubert F., Salzet M., and Roch P., 2000a, Involvement of mytilins in mussel antimicrobial defense, *The Journal of Biological Chemistry*, 275(17): 12954-12962
- Mitta G., Vandenbulcke F., Roeh P., 2000b, Original involvement of antimicrobial peptides in mussel innate immunity, *FEBS Letters*, 486(3): 185-190
- Padhi A., and Verghese B., 2008, Molecular diversity and evolution of myticin-C antimicrobial peptide variants in the mediterranean mussel, *Mytilus galloprovincialis*, *Peptides*, 29(7): 1094-1101
- Ramasamy P., Vino A.B., Saravanan R., Subhapradha N., Shanmugam V., Shanmugam A., 2011, Screening of antimicrobial potential of polysaccharide from cuttlebone and methanolic extract from body tissue of *Sepia prashadi* Winkworth, 1936, *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 1(4): 244-248
- Seo J.K., Noga E.J., Crawford J.M., and Stone K.L., 2005, Purification of a novel arthropod defensin from the American oyster, *Crassostrea virginica*, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 338: 1988-2004
- Tamplin M.L., and Fisher W.S., 1989, Occurrence and characteristics of agglutination of *Vibrio cholerae* by serum from the eastern oyster *Crassostrea virginica*, *Appl. Environ. Microb.*, 55(11): 2882-2887
- Wu T.T., and Yang J., 2009, Progress in investigation of natural antimicrobial peptides and application prospect, *Shengwu Jishu Tongbao (Biotechnology Bulletin)*, 1: 27-30 (吴甜甜, 杨洁, 2009, 天然抗菌肽的研究进展及应用前景, *生物技术通报*, (1): 27-30)
- Xiao J.G., and Liu W.S., 2005, Advances in immune peptide studies on aquaculture animals, *Shuili Yuye (Reservoir Fisheries)*, (1): 4-5 (肖建光, 刘文生, 2005, 水产动物抗菌肽的研究进展, *水利渔业*, (1): 4-5)
- Yan C.L., Zhang G.L., and Zhan S.M., 2005, Protective effects of polypeptides from *Chlamys farreri* (PCF) on murine thymocytes damaged by ultraviolet ray, *Zhongguo Haiyang Yaowu (Chinese Journal of Marine Drugs)*, 24(6): 28-31 (阎春玲, 张国梁, 战松梅, 2005, 扇贝多肽对紫外线辐照小鼠胸腺淋巴细胞的保护作用, *中国海洋药物*, 24(6): 28-31)
- Yu D.D., Ning X.X., and Ren G.R., Guan S.G., Gao X., Liu M.X., Li S.B., Guan J., Yu F.S., and Liu H.J., 2009, Research advance of antimicrobial peptides isolated from mussels, *Haiyang Kexue (Marine sciences)*, 33(11): 95-99 (于道德, 宁璇璇, 任贵如, 官曙光, 高翔, 刘梦侠, 李绍彬, 关键, 于发盛, 刘洪军, 2009, 贻贝抗菌肽的研究进展, *海洋科学*, 33(11): 95-99)
- Yang L.J., Wu M., Wang X.C., Li N.N., Yang L., Chen M.J., and Liao Z., 2011, Analysis of antimicrobial peptides from blood and serum of *Mytilus coruscus*, *Zhongguo Nongye Tongbao (Chinese Agricultural Science Bulletin)*, 27(23): 58-64 (杨丽佳, 武梅, 王信超, 李楠楠, 杨林, 陈铭杰, 廖智, 2011, 厚壳贻贝血细胞及血清抗菌肽的分析, *中国农业通报*, 27(23): 58-64)
- Yang Y.S., Mitta G., Chavanieu A., Calas B., Sanchez J.F., Roch P., and Aumelas A., 2000, Solution structure and activity of the synthetic four-disulfide bond Mediterranean mussel defensin (MGD-1), *Biochemistry*, 39: 14436-14447
- Zhang J.G., 2009, Recent development of research on antibacterial peptide in aquatic animals, *Dalian Shuichan Xueyuan Xuebao (Journal of Dalian Fisheries University)*, 24(s1): 130-133 (张家国, 2009, 水产动物抗菌肽研究的最新进展, *大连水产学院学报*, 24(s1): 130-133)
- Zhang Z.X., Wang J., Ding S.X., and Su Y.Q., 2006, Recent progresses of shellfish's immunology, *Xiamen Daxue Xuebao (Journal of Xiamen University)*, (s2): 90-96 (张朝霞, 王军, 丁少雄, 苏永全, 2006, 贝类免疫学研究新进展, *厦门大学学报*, (s2): 90-96)
- Zhang Y.X., Zhou Y.H., Man C.R.G., and Zhou Y.C., 2010, Antimicrobial activity in gills of shellfish *Pinctada martensii*, *Shuichan Kexue (Fisheries Science)*, 29(8): 465-468 (张英霞, 邹瑗徽, 满初日嘎, 周永灿, 2010, 马氏珠母贝鳃组织抗菌活性的研究, *水产科学*, 29(8): 465-468)
- Zhao J., Song L., Li C., Ni D., Wu L., Zhu L., Wang H., and Xu W., 2007, Molecular cloning, expression of a big defensin gene from bay scallop *Argopecten irradians* and the antimicrobial activity of its recombinant protein, *Molecular Immunology*, 44(4): 360-368