

两栖类动物皮肤分泌抗菌肽的研究进展*

肖冰,和七一,张康,李金波,余晓东

(重庆师范大学 生命科学学院 重庆市动物生物学重点实验室 重庆市生物活性物质工程研究中心,重庆 401331)

摘要 近年因病原性细菌耐药性日趋严重,迫切需要从各种自然资源中寻找新的抗菌药物;因两栖类抗菌肽具有分子量小、水溶性好、抗原性低、抗菌作用强等优点,成为筛选抗菌药物的重要研究对象。本文就两栖类抗菌肽的生物活性、分子结构、家族分类、抗菌分子机制、应用价值及研究前景等方面进行了综述。当前的研究表明,两栖类抗菌肽除具有抗菌作用外还有抗病毒抗肿瘤溶血等作用,它们因结构可分为3类:线性 α -螺旋多肽、环性肽和含10~13个氨基酸残基长度的多肽;目前已发现抗菌肽有很多家族如Magainin家族、Aurein家族、Bombinin家族、Bombinin-like家族、Brevinin家族等抗菌肽家族不同其生物活性也不同,它们杀菌主要通过膜裂解或膜不裂解机制完成,已发现两栖类抗菌肽在临床医药、食品保鲜防腐、农业生产等领域具有广阔的应用价值。随着在分子水平上深入的研究,两栖类抗菌肽将突破表达量低、特异性差、产量小、成本高等局限性,为人类制备新型抗菌药提供更多可用的资源。

关键词 两栖类动物 抗菌肽 生物学性状

中图分类号:R978.1+6,Q514+.3

文献标志码:A

文章编号:1672-6693(2012)02-0024-06

抗菌肽(Antibacterial peptides, ABPs)是一类具有抗菌活性的小分子多肽,广泛存在于多种生物体内,属于天然免疫系统的一部分^[1-2]。两栖类动物具有复杂且多样的生态类型,分布也十分广泛,裸露而潮湿的皮肤无疑给微生物提供了较好的生存环境。在长期的进化过程中,它们的皮肤分泌了大量分子结构特殊、功能复杂多样的抗菌肽类物质,逐渐形成了免疫防御机制,以对抗外源性病原体的侵袭^[3]。两栖类动物抗菌肽分子量小,耐热性好,具有广谱抗菌活性^[4];除此之外,研究发现还具有抗病毒^[5-6]、抗真菌^[7]、抗寄生虫^[8]、抗肿瘤^[9-10]等生物活性,甚至具有阻断HIV病毒感染的作用^[11]。有关两栖类动物皮肤抗菌肽的研究有40多年,目前已报道有500多种抗菌肽^[12]。抗菌肽作用于细菌等原核细胞膜,使质膜通透性增大而发挥抑菌或杀菌作用。这种独特的作用机理赋予抗菌肽抗菌谱广、对耐药菌有效等特性,且病原体不易对它产生抗药性,这使抗菌肽成为研究新的抑菌药物的首选对象^[13]。目前,两栖类动物抗菌肽已成为医药领域研究热点之一。本文结合最新研究进展,分别从生物活性、分子结构、家族分类、杀菌机制及应用价值等方面对两栖类

动物抗菌肽进行,为进一步的应用研究提供参考。

1 生物学活性

1.1 抗细菌作用

两栖类动物抗菌肽是生物天然免疫系统中重要的组成部分,抗菌谱广,对革兰氏阴性及阳性细菌如大肠杆菌(*E. coli*)、沙门氏菌(*Salmonella*)、变形杆菌(*Proteus bacillus vulgaris*)、粪链球菌(*Fecal streptococcus*)、绿脓杆菌(*Pseudomonas aeruginosa*)、草绿色链球菌(*Viridans streptococci*)、金黄色链球菌(*Staphylococcus aureus*)等40多个菌属均有抑制作用^[14],另外对真菌亦有杀伤或杀灭作用。很多抗菌多肽在很低浓度水平就显示强大而广谱的抗菌活性,如中国大蹼铃蟾(*Bombina maxima*)的抗菌肽Maximin 3在1.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的含量水平时就可以完全抑制大肠杆菌、巨大芽孢杆菌(*Bacillus magaterium*)以及痢疾杆菌(*Shigella dysenteriae*)的生长^[15]。

1.2 抗病毒作用

已发现两栖类动物抗菌肽中有部分抗菌肽具有抗病毒作用,比如从中国大蹼铃蟾皮肤得到的抗菌多肽Maximin 3显示抗艾滋病病毒活性^[15],这是首

* 收稿日期 2011-09-23 修回日期 2011-11-18 网络出版时间 2012-03-14 19:27:00

资助项目:重庆市科技创新能力建设项目(No. CSTC2010CA1010);重庆市教委基金项目(No. KJ090824)

作者简介:肖冰,女,硕士研究生,研究方向为资源动物学,通讯作者:余晓东, E-mail: yxd@cqnu.edu.cn

网络出版地址: http://www.cnki.net/kcms/detail/50.1165.N.20120314.1927.201202.24_005.html

次报道的两栖类来源的抗艾滋病病毒抗菌多肽。另外,从南美叶泡蛙(*Phyllomedusa sauragi*)皮肤得到的抗菌肽 Dermaseptin 及日本沼蛙(*Rana brevipoda porsa*)的抗菌肽 Brevinin-1 对疱疹病毒有明显抑制作用^[14,16]。

1.3 抗肿瘤作用

已发现两栖类动物抗菌肽中有部分抗菌肽具有抗肿瘤作用,如非洲爪蟾(*Xenopus laevis*)的抗菌多肽 Magainin 及中国大蹼铃蟾的抗菌多肽 Maximin 在微摩尔浓度水平就对肿瘤细胞显示杀伤作用^[14]。它们可选择性地作用于肿瘤细胞而对机体正常组织细胞无影响,这可能与两类细胞结构与代谢方式存在差异有关系。这提示该类抗菌肽杀伤肿瘤细胞具有靶向作用,并发现杀伤肿瘤细胞的机制比抑杀细菌的机制更复杂^[17]。首先,抗菌肽可以通过接触肿瘤细胞的胞膜、核膜、线粒体、DNA、细胞骨架等部位直接抑杀细胞;其次,抗菌肽亦可通过调节机体体液免疫机能以抑杀肿瘤细胞。

1.4 溶血活性

部分两栖类动物抗菌肽会引起哺乳动物血细胞的溶解,溶血性与抗菌肽的结构有直接关系:高度疏水性、高度两性性及高度螺旋性^[18-19]的抗菌肽均会作用于哺乳动物细胞膜,具有较高的溶血活性,产生不可抑制的毒性作用。研究发现,富含甘氨酸 Gly 和亮氨酸 Leu 的抗菌肽既具有溶血性又具有抗菌性,而不带电荷的抗菌肽仅有溶血性而没有抗菌性^[20]。比如中国大蹼铃蟾的 Maximin H 抗菌肽、日本沼蛙的 Brevinin-1 抗菌肽以及东方铃蟾(*Bombinator orientalis*)的 Bombinin H 抗菌肽均具有很强的溶血活性,将限制其在治疗方面的应用。

1.5 其他活性

两栖类动物抗菌肽还具有抗原虫作用、抗精子作用、胚胎毒性和调节免疫系统的作用。据报道,从南美叶泡蛙皮肤得到的抗菌多肽 Dermaseptin 对疟原虫(*Plasmodium*)显示抑制作用^[16]。中国大蹼铃蟾的抗菌肽 Maximin 1 和 Maximin 3 及非洲爪蟾的抗菌肽 Magainin 在浓度为 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时可以抑制 80% 的精子细胞^[15],而非洲爪蟾的抗菌肽 Magainin-2-amide 具有明显针对哺乳动物的胚胎毒性,实验证实当这种多肽的浓度在微克水平时就可导致小鼠(*Mus musculus*)胚胎死亡,基于该原因, Magainin-2-amide 已被用来进行有关临床避孕药物的研究^[21]。

2 家族分类

两栖类动物抗菌肽表达具有多样性,属多基因

家族,每个家族由多个基因座位组成,各种抗菌肽基因转录后有不同的剪切方式,同一抗菌肽的多基因座位可能经历不同的剪切过程,结果导致了表达的多样性。目前发现的两栖类抗菌肽家族很多,如 Magainin 家族、Aurein 家族、Bombinin 家族、Bombinin-like 家族、Brevinin 家族、Caein 家族、Citropin 家族、Esculentin 家族、Temporin 家族、Ranatuerin 家族、Ranalexin 家族等^[10,22-34]。不同家族的抗菌肽生物活性不尽相同,比如 Magainin 家族和 Bombinin 家族抗菌肽均具有较广谱的、很强的抗菌活性, Bombinin 家族抗菌肽除了抗菌性能外还有较强的溶血性。研究还证实了不同家族的抗菌肽结构也是各有特色^[35]。

目前,分离出的两栖类抗菌肽近 200 种,涉及 600 多种蛙类。蛙皮抗菌肽虽然种类繁多,但同类序列具有有限的同源性,可分为若干个家族^[12]。蛙科(Ranidae)是两栖动物中分布最广泛的一类,几乎遍及各大洲。根据氨基酸组成及结构的相似性,可以将蛙科动物抗菌肽分成 Brevinin-1、Brevinin-2、Esculentin-1、Esculentin-2、Ranatuerin-1、Ranatuerin-2、Temporin、Plaustrin、Tigerinin、Ranalexin、Japonicin、Melittin 和 Nigrocin 相关肽等 13 个家族,在 GenBank 中的蛙类抗菌肽目录已达 255 条。

3 分子结构

两栖类动物抗菌肽结构简单,大都折叠成两亲 α -螺旋结构且整个分子显阳离子性。虽然两栖动物抗菌多肽种类繁多,但在结构上主要存在 3 种类型:

1) 线性 α -螺旋多肽。它们不含二硫键不含半胱氨酸 Cys,如非洲爪蟾 Magainins 的氨基酸序列 GIGKFLHSAKKFKGAFVGEIMNS, α -螺旋是其二级结构的主要成分^[36]。

2) 环性肽。它们含有分子内二硫键^[37],如从蛙类中分离的 5 种多肽 Brevinins-1、Brevinins-2、Gaeurins、Esculentins-1、Esculentins-2。

3) 只含有 1013 个氨基酸残基长度的多肽,如从 *Rana tigerina* 皮肤分泌物中分离的 Tigerinin-1 是目前最短抗菌肽(FCTMIPIRCY)仅由 11 个氨基酸残基组成^[38]。

两栖类动物抗菌肽具有结构多样性,不仅表现在不同种类的两栖动物皮肤分泌不同种类的抗菌肽,还表现在单个种类或个体的两栖动物皮肤中分泌有大量结构不同的抗菌肽^[39]。这些两栖类动物抗菌肽一般由 1050 个氨基酸残基构成,绝大部分抗

菌肽分子都是由一条肽链构成,仅发现抗菌肽 Distinctin 为两条肽链。亮氨酸 Leu 和异亮氨酸 Ile 的存在决定着抗菌肽的疏水性,而精氨酸 Arg 和赖氨酸 Lys 的存在决定着抗菌肽带正电荷呈阳离子肽的特性。这些肽在水溶液中呈无规则卷曲构象,而在模拟膜的亲脂性溶液中几乎都是疏水的、并带正电荷,以一种两亲性的 α -螺旋的构象存在^[1,36,40]。另外,研究者发现一类阴离子抗菌肽 Maximin H^[41],其分子结构中含有多个天冬氨酸 Asp,使该抗菌肽在正常 pH 环境中带净负电荷。

抗菌肽的结构与功能间存在着密切的联系。如从澳洲几种树蛙皮肤上分离得到的具有广谱抗菌活力的 Caerin 家族,其肽链上两个脯氨酸残基 Pro 对活性是必须的,任何一个或两个氨基酸被甘氨酸 Gly 替代都将直接导致多肽的活力下降^[42]。此外,无论从 N-端或 C-端降解 2 个氨基酸残基都会导致 Caerin 1 家族多肽抗菌活性的丧失^[43-44]。随着近年来的研究,抗菌肽 Dybowskin. 2CDYa 作为一种新发现的两栖类抗菌肽与以往发现的其它蛙类抗菌肽氨基酸组成和序列的相似性很小,同其它抗菌肽相比,其具有带正电荷氨基酸数量多(10 个)、亲水性强、pI 值高(12.60)、抗菌活性强、溶血作用低等特点^[45]。

4 杀菌机制

4.1 膜裂解机制

抗菌肽主要依赖两亲的 α 螺旋结构作用于细菌的细胞膜上的脂质层,破坏其完整性并产生穿孔现象,导致膜的通透性增大,促使细菌细胞膜破裂,并最终导致细胞壁的溶解,造成内容物渗出而导致细胞死亡^[46]。两栖类抗菌肽的结构决定了它的抗菌机理。从目前得到的蛙类抗菌肽来看,大多数的氨基酸残基数目在 2127 个之间,且具有形成两亲的 α 螺旋结构的倾向,它们大多呈碱性,容易与酸性的细菌细胞膜相结合,依靠两亲的 α 螺旋结构的特点形成跨膜的离子通道,通过介导膜裂解而达到抗菌效应^[47-48]。

两亲性、带正电的抗菌肽和带负电的细菌细胞膜磷脂层的相互作用是该机制的关键。抗菌肽破坏细胞膜一般有以下 3 种模式:

1) 桶状孔道模式(Barrel-stave model)。抗菌肽靠近细菌细胞膜排列时肽分子垂直插入磷脂膜中,疏水端指向外部的脂质层,极性端向内构成桶状孔道,导致细菌细胞膜结构被破坏。

2) 地毯模式(Carpet model)。抗菌肽靠近细菌

细胞膜排列时肽分子平行于磷脂膜,部分贴在膜表面并和相关脂质基团相互作用,导致膜稳定性降低和去极化,破坏细胞膜结构。

3) 分子团聚模式(Micellar aggregate model)。抗菌肽靠近细菌细胞膜排列时肽分子以不规则形式聚集于磷脂膜,通过形成跨膜电势差引起细菌细胞膜的结构损伤。

正是由于生物抗菌肽是以物理的方式作用于细菌的细胞膜,使其与传统抗生素的抗菌机制有本质的不同,所以避免了临床耐药性的产生。另外,抗菌肽只对细菌、真菌、病毒、原虫等原核细胞和出现病变的真核生物细胞比如肿瘤细胞有抑杀作用,而对正常的真核生物细胞几乎无影响,所以抗菌肽对哺乳动物的正常细胞一般无损伤^[40,49]。抗菌肽这种独特的作用机制赋予其抗菌谱广、对耐药菌有效且本身不容易产生抗药性等特性,这使得抗菌肽成为目前医药领域的研究热点。

4.2 膜不裂解机制

某些抗菌肽不破坏细菌膜结构,而是穿过细胞膜和核膜,作用于 DNA 或 RNA、攻击线粒体、抑制蛋白质及细胞壁合成等等^[50-51]。

还有一些抗菌肽以细菌胞内酶为靶标,影响其细胞信号转导过程。通过电子显微镜观察发现,非洲爪蟾抗菌多肽 Magainin 2 可以定位于大肠杆菌的细胞内^[52]。这说明抗菌多肽可以通过作用于微生物的包括细胞内和细胞外的多个目标而发挥抗菌功能。

5 应用价值

两栖类动物抗菌肽已经被用于临床医药、食品保鲜及农业生产等方面。

5.1 临床医药方面

在国内,很多两栖类动物的皮肤被作为传统中药和民族药物而广泛应用,如中华蟾蜍等。目前,国外已有 10 多种抗菌肽作为治疗细菌、病毒性感染和抗肿瘤的新药进入人体临床实验,如美国费城马盖宁制药公司从 1990 年开始对青蛙皮肤抗菌肽 Magainin 进行结构与分子设计,筛选出对病毒和肿瘤细胞均有较好杀伤作用的多肽分子。Magainin 已用于口腔溃疡和由糖尿病引起的脚趾溃烂,该产品已完成 III 期临床试验^[53]。两栖类动物抗菌肽除具有广谱抗菌活性外,杀菌速度快,大部分可以在 5 min 内引起细菌死亡;可以中和细菌产生的内毒素而避免脓毒症。部分两栖类来源的抗菌肽还有促进伤口愈合的功效^[15,41],无致畸作用。

5.2 食品保鲜防腐方面

食品的保鲜与防腐一直是生活中的难题,目前使用的亚硝酸钠、苯甲酸钠、苯甲酸等化学合成防腐剂均具有一定的毒性。邱芳萍等研究发现,从吉林林蛙干皮中提取的抗菌肽 FSE31.5 可作为安全无毒的天然食品保鲜防腐剂,在肉制品(香肠)防腐及瓜果蔬菜(草莓)保鲜方面均具有较好的效果^[54]。

5.3 农业生产方面

两栖类动物抗菌肽亦可应用于农业生产上。据报道,马铃薯和西红柿两种抗菌肽转基因作物已成功,并取得了巨大的收益;另外,把非洲爪蟾抗菌肽基因转入烟草,大大提高了烟草对霜霉菌的抗感染能力^[13]。

6 研究展望

两栖类动物在地球上分布广泛,它们的皮肤分泌物中包含着种类繁多、功能复杂的活性多肽,在种类和数量上与哺乳类相比有着惊人的优势。更有趣的是,在哺乳类的内分泌细胞、胃肠道和神经组织中都能找到蛙类皮肤中的许多活性多肽的对应物。它们在临床方面的应用前景广阔,会越来越受关注。此外,由于抗菌肽的毒副作用小,杀菌机理独特,因而在抗药菌株此消彼长的今天,有可能成为新型的抗细菌、抗病毒和抗癌临床治疗药物,并且也有望取代传统化学防腐剂,广泛应用于食品防腐和瓜果蔬菜保鲜。

由于抗菌肽分子量小,易被蛋白酶水解,在动植物细胞或者微生物中表达都存在着表达量偏低的问题,为了消除表达产物对宿主的毒害,多采用融合表达的方式。因此如何高效表达抗菌肽是值得研究的问题。有些抗菌肽在杀灭病原微生物的同时对真核细胞也有一定的毒害,如引起溶血现象等。因此进一步研究抗菌肽的结构与功能关系问题,将为设计、合成特异性抗菌肽起到理论指导作用。此外,由于抗菌肽分子量小、分离提纯步骤复杂繁琐、收率低、生产成本高,且天然资源有限,而目前化学合成、修饰抗菌肽也无法进行大规模生产,因此经济有效的有机合成抗菌肽的方法和技术也是值得研究的问题。另外由于抗菌肽具有多种功效,进一步研究开发抗菌肽的这些潜在功效,将有利于丰富临床用药。

参考文献:

[1] Issacson T, Soto A, Iwamuro S, et al. Antimicrobial peptides with a typical structural feature from the skin of the brown

frog *Rana japonica*[J]. Peptides 2002 23(3):419-425.

- [2] 杨细媚,万祥辉. 抗菌肽的研究进展[J]. 重庆医学, 2010 39(20) 2803-2805.
- [3] Suh J Y, Lee K H H, Chi S W, et al. Unusually stable helical kink in the antimicrobial peptide-a derivative of gaegurin[J]. FEBS Lett, 1996 392(3):309-312.
- [4] Casteels P, Ampe C, Jacobs F, et al. Functional and chemical characterization of hymenoptaecin, an antibacterial polypeptide that is infection-inducible in the honeybee (*Apis mellifera*) [J]. J Biol Chem, 1993 268 :7044-7054.
- [5] Chinchar V G, Wang J, Mufti G, et al. Inactivation of frog virus 3 and channel catfish virus by esculetin-2P and ranaturin-2P, two antimicrobial peptides isolated from frog skin[J]. Virology 2001 288(2):351-357.
- [6] Robinson W E Jr, McDougal B, Tran D, et al. Anti-HIV-1 activity of indolicidin, an antimicrobial peptide from neutrophils[J]. J Leukoc Biol, 1998 63(1):94-100.
- [7] Rollins-smith L A, Carey C, Longcore J, et al. Activity of antimicrobial skin peptides from ranid frogs against batrachochytrium dendrobatidis, the chytrid fungus associated with global amphibian declines[J]. Developmental and Comparative Immunology 2002 26(5):471-479.
- [8] Kawabata S, Nagayama R, Hirata M, et al. Tachycitin, a small granular component in horseshoe crab hemocytes, is an antimicrobial protein with chitin-binding activity[J]. J Bio Chem, 1996 120(6):1253-1260.
- [9] Johnstone S A, Gelmon K D, Mayer L D, et al. Peptide-mediated cytotoxicity and peptide-enhanced cytotoxic activity of doxorubicin against wild-type and p-glycoprotein over-expressing tumor cell lines[J]. Anticancer Drug Des, 2000, 15(2):151-160.
- [10] Rozek T, Wegener K L, Bowie J H, et al. The antibiotic and anticancer active aurein peptide from the Australian Bell Frog *Litoria aurea* and *Litoria raniformis*, The solution structure of aurein. 2 [J]. Eur J Biochem 2000 267 :5330-5341.
- [11] Basir Y, Knoop F, Dulka J, et al. Multiple antimicrobial peptides and peptides related to bradykinin and neuromedin N isolated from skin secretions of the pickerel frog *Rana palustris*[J]. Biochim Biophys Acta, 2000, 1543(1):95-105.
- [12] Conlon J M, Kolodziejek J, Nowomy N. Antimicrobial peptides from ranid frogs: taxonomic and markers and a potential source of new therapeutic agents[J]. Biochim Biophys Acta 2004, 1696(1):1-14.
- [13] Zasloff M. Antimicrobial peptides of multicellular organisms[J]. Nature 2002 415(6870):389-395.
- [14] Dagan A, Efron L, Gaidukov L, et al. In vitro antiplasmodium effects of dermaseptin S4 derivatives[J]. Antimicrob

- Agents Chemother 2002 46(4):689-694.
- [15] Lai R ,Zheng Y T ,Sun J H ,et al. Antimicrobial peptides from the skin secretion of red belly toad *Bombina maxima* [J]. Peptides 2002 23(3):427-435.
- [16] Efron L ,Dagan A ,Gaidukov L ,et al. Direct interaction of dermaseptin S4 aminoheptanoyl derivative with intraerythrocytic malaria parasite leading to increased specific antiparasitic activity in culture[J]. J Biol Chem ,2002 277(27):24067-24072.
- [17] 韩俊友 ,赵瑞利 ,韩文瑜 ,等. 4种蛙皮肤活性肽的提取及生物活性比较[J]. 中国兽医学报 2009 29(5):576-579.
- [18] Hwang P M ,Vogel H J. Structure-function relationships of antimicrobial peptides[J]. Biochem Cell Biol ,1998 76(2-3):235-246.
- [19] Wu M ,Maier E ,Banz R ,et al. Mechanism of interaction of different classes of cationic antimicrobial peptides with planar bilayers and with the cytoplasmic membrane of *Escherichia coli*[J]. Biochem ,1999 38(22):7235-7242.
- [20] Vanhoye D ,Bruston F ,El Amri S ,et al. Membrane association ,electrostatic sequestration ,and cytotoxicity of Leu-rich peptide orthologs with differing functions[J]. Biochemistry 2004 43(26):8391-8409.
- [21] Mystkowska E T ,Niemierko A ,Komar A ,et al. Embryotoxicity of magainin-2-amide and its enhancement by cyclodextrin ,albumin ,hydrogen peroxide and acidification[J]. Hum Reprod 2001 16(7):1457-1463.
- [22] Bevins C L ,Zasloff M. Peptides from frog skin[J]. Annual review of Biochemistry ,1990 59:395-414.
- [23] Zasloff M. Magainins ,a class of antimicrobial peptides from *Xenopus* skin :isolation ,characterization of two active forms ,and partial cDNA sequence of a precursor[J]. Proc Natl Acad Sci USA ,1987 84(15):5449-5453.
- [24] Gibson B W ,Tang D Z ,Mandrell R ,et al. Bombini-like peptides with antimicrobial activity from skin secretions of the toad *Bombina orientalis* [J]. J Biol Chem ,1991 266(34):23103-23111.
- [25] Moore K ,Bevin C L ,Brasseur M M ,et al. Antimicrobial peptides in the stomach of *Xenopus laevis* [J]. J Biol Chem ,1991 266(29):19851-19857.
- [26] Giovannini M G ,Pouler L ,Gibson B W ,et al. Biosynthesis and degradation of peptides derived from *Xenopus laevis* prohormones[J]. Biochem J ,1987 243(1):113-120.
- [27] Simmaco M ,Mignogna G ,Barra D ,et al. Novel antimicrobial peptides from skin secretion of the frog *Rana esculenta* [J]. FEBS Lett ,1993 324(2):159-161.
- [28] Clark D P ,Durell S ,Maloy W L ,et al. A novel antimicrobial peptide from bullfrog (*Rana catesbeiana*) skin ,structurally related to the bacterial antibiotic ,polymyxin[J]. J Biol Chem ,1994 269(14):10849-10855.
- [29] Goraya J ,Knoop F C ,Conlon J M. Ranatuerins :antimicrobial peptides isolated from the skin of the bullfrog *Rana catesbeiana*[J]. Biochem Biophys Res Commun ,1998 250(3):589-592.
- [30] Simmaco M ,Mignogna G ,Canofeni S ,et al. Temporins :antimicrobial peptides from the red frog *Rana temporaria* [J]. Eur J Biochem ,1996 242(3):788-792.
- [31] Wabnitz P A ,Bowie J H ,Tyler M J. Caerulein-like peptides from the skin glands of the Australian Blue Mountains tree frog *Litoria citropa* Part1 :determination using electrospray mass spectrometry[J]. Rapid Commun Mass Spectrom ,1999 13(24):2498-2502 .
- [32] Bowie J H ,Wegener K L ,Chia B C ,et al. Host defence antibacterial peptides from the skin secretions of Australian amphibians[J]. Protein Peptide Lett ,1999 6:259-269.
- [33] Wegener K L ,Wabnitz P A ,Bowie J H ,et al. Host defence peptides from the skin glands of Australian Blue Mountains tree-frog *Litoria citropa* . Solution structure of anti bacterial citropin1. 1[J]. Eur J Biochem ,1999 265(2):627-637.
- [34] Wabnitz P A ,Bowie J H ,Wallace J C ,et al. The citropin peptides from the skin glands of the Australian Blue Mountains tree frog *Litoria citropa* . Part 2 :sequence determination using electrospray mass spectrometry[J]. Rapid Commun Mass Spectrom ,1999 13(17):1724-1732.
- [35] Ballio A ,Bossa F ,Di Giorqio D ,et al. Two-dimensional NMR ,distance geometry and molecular dynamics[J]. Eur J Biochem ,1995 234(3):747-758.
- [36] Maloy W L ,Kari U P. Structure-activity studies on magainins and other host defense peptides[J]. Biopolymers (Peptide Science) ,1995 37(2):105-122.
- [37] Charpentier S ,Ameche M ,Mester J ,et al. Structure ,synthesis ,and molecular cloning of dermaseptins B ,a family of skin peptide antibiotics[J]. J Biol Chem ,1998 273(24):14690-14697.
- [38] Sai K P ,Jagannadham M V ,Vairamani M ,et al. Tigerinins :novel antimicrobial peptides from the Indian frog *Rana tigerina*[J]. J Biol Chem ,2001 276(4):2701-2707.
- [39] Ohnuma A ,Conlon J M ,Yamauchi K ,et al. Antimicrobial peptides from the skin of the Japanese mountain brown frog *Rana ornativentris* :evidence for polymorphism among preprotemporin mRNA[J]. Peptides 2007 28(3):524-532.
- [40] Andreu D ,Rivas L. Animal antimicrobial peptides :an overview[J]. Biopolymers (Peptide Science) ,1998 47(6):415-433.
- [41] 赖仞 ,梁建国 ,张云. 两栖类皮肤抗菌多肽及其应用[J]. 动物学研究 2004 25(5):465-468.

- [42] Wong H ,Bowie J A ,Carver J A. The solution structure and activity of caerin 1. 1 an antimicrobial peptide from the green tree frog *Litoria splendida*[J]. European Journal of Biochemistry ,1997 247(2) 545-557.
- [43] Stone D J M ,Waugh R J ,Bowie J H ,et al. Peptides from Australian frogs ,the structure of the caeridins from *Litoria caerulea*[J]. J Chem Res (s) ,1993 ,138(M) :910-936.
- [44] Steinborner S T ,Waugh R J ,Bowie J H ,et al. New caerin antibacterial peptides from the skin glands of the Australian tree frog *Litoria xanthomera*[J]. Journal of peptide Science ,1997 3 :181-185.
- [45] 金莉莉 ,王秋雨. 蛙科动物抗菌肽分子多样性及功能 [J]. 遗传 2008 30(10) :1241-1248.
- [46] Jacob J ,Zaslouf M. Antimicrobial peptides[M]//Boman H G ,Marsh J ,Goode J A. Ciba Symposium 186. Chichester : Wiley ,1994 :197-223.
- [47] Andren D ,Aschauer H ,Kreil G ,et al. Solid-phase synthesis of PYLa and isolation of its natural counterpart ,PGLa [PYLa(4-24)]from skin secretion of *Xenopus laevis*[J]. Eur J Biochem ,1985 ,149(3) 531-535.
- [48] Westerhoff H V ,Juretic D ,Hendler R W ,et al. Magainins and the disruption of membrane-linked free energy transduction[J]. Proc Natl Acad Sci USA ,1989 ,86(17) : 6597-6601.
- [49] Schroder J M. Epithelial peptide antibiotics[J]. Biochemical Pharmacology ,1999 57(2) :121-134.
- [50] Kamysz W ,Okroj M ,Lukasiak J. Novel properties of antimicrobial peptides[J]. Acta Biochimica Polonica 2003 50 (2) 461-469.
- [51] Patrzykat A ,Friedrich C L ,Zhang L ,et al. Sublethal concentrations of pleurocidin-derived antimicrobial peptides inhibit macromolecular synthesis in *Escherichia coli*[J]. Antimicrob Agents Chemother 2002 46(3) 605-614.
- [52] Rinaldi A C. Antimicrobial peptides from amphibian skin : an expanding scenario[J]. Current opinion in Chemical Biology 2002 6(6) 799-804.
- [53] Ponti D ,Mignogna G ,Mangoni M L ,et al. Expression and activity of cyclic and linear analogues of esculentin-1 ,an antimicrobial peptide from amphibian skin[J]. Eur J Biochem ,1999 263(3) 921-927.
- [54] 邱芳萍 ,周杰 ,李向晖 ,等. 天然食品保鲜防腐剂林蛙皮抗菌肽 [J]. 食品科学 2002 23(8) 279-282.

Animal Sciences

Prospect on Antibacterial Peptides Secreted from Amphibian Skins

XIAO Bing , HE Qi-yi , ZHANG Kang , LI Jin-bo , YU Xiao-dong

(Key Laboratory of Chongqing Animal Biology , Chongqing Engineering Research Center of Bioactive Substance , School of Life Science , Chongqing Normal University , Chongqing 401331 , China)

Abstract : Due to drug resistance of pathogenic bacteria having been become serious in the recent years , it is rather impending to search for new antimicrobial drugs from various natural sources. Naturally , amphibian antibacterial peptides (ABPs) have been given much attentions and become an important object for our screening antimicrobial drugs from them because of ABP 's special features with small molecular weight , water-solubility and low antigenicity. This paper provides an overview on the biological activities , molecular structures , family classification , antimicrobial mechanism , application values and research prospects of ABPs. It was found that ABPs also have some anti-viral , anti-tumor and hemolytic activities in addition to anti-bacterial activity. According to their different structures there are three types of ABPs : linear α -helix peptide , loop peptide and peptide contains 10 to 13 amino acid residues , and it was found that there are many ABP families , such as Magainin family , Aurein family , Bombinin family , Bombinin-like family and Brevinin family etc. and they have the different activities because of belonging to different family. ABPs kill microorganism mainly by two mechanisms : lysis of plasma membrane or non-lysis of plasma membrane. Besides , ABPs have broad applications in clinical medicine , food preservation , and agricultural production. With in-depth study of the molecular structure of ABPs , the limitations , e. g. low expression , poor specificity , low yield and high cost during their production , will be eliminated and in the future , amphibian antimicrobial peptides will become more useful resources to produce new antimicrobial drugs for humans.

Key words : amphibian ; antimicrobial peptides (ABPs) ; biological properties