



对虾一帖的研究进展

Research developments on Penaeidins

陈皓文

(国家海洋局第一海洋研究所, 山东 青岛 266061)

中图分类号 S94 文献标识码 A 文章编号 1000-3096(2004)02-0075-02

对虾是全世界海水养殖国家、地区集约化规模养殖对象之一,其经济价值颇高,但近年来对虾养殖面临严重病害,这包括4类病毒、7种细菌、2属真菌等病原生物引起的疾病。对对虾疾病病理学研究已做了许多工作,但就病原生物的寄主反应方面的研究仍相当有限。最近几年来发现了被命名为 Penaeidins 的对虾抗微生物肽类^[1]。

Penaeidins 发现于万氏对虾 (*Penaeus vannamei*),迄今尚无相应的中译名称。根据其来源和发音等,建议起名为对虾一帖。因为(1) Penaeidin 来自对虾,其全称的前半部为 Penae-即是对虾拉丁属名称 *Penaeus* 的前半部 Penae;(2) Penaeidin 的后半部 idin 之发音相似于汉语“一帖”的发音,“帖”有妥适之意,“一帖”连起来为一定妥适,对虾一帖正是对虾借此肽一定妥帖,是对虾吉祥之意。

对虾一帖共分3种,它们分别为 Pen-1, Pen-2 和 Pen-3,分子量范围为 5.5~6.6 ku,其中 Pen-1 为 5.48 ku, Pen-2 为 5.5 ku, Pen-3 为 6.6 ku,是对虾免疫的一类抗微生物效应物,此3种对虾一帖最初均纯化自集约化虾场万氏对虾的血浆和血细胞的富细胞器部分中。它们高度同源,均由血细胞生产和贮存于粒细胞胞质颗粒内,借助脱颗粒作用和经细菌挑战后的免疫反应刺激作用(吐胞现象)释放入血液并随之全身循环而存在于不同组织和位置(包括结合至表皮组织)中^[2]。在刺激后最初的循环血细胞中对虾一帖 mRNA 水平下降,但血浆中浓度增加^[3]。

对虾一帖具有 NH₂ 末端富脯氨酸域和由6个半胱氨酸组成3个分子内二硫键的 COOH 末端域(含6个半胱氨酸残基的抗微生物肽,是最初分类出防卫素的要素之一)。两域高度保守,均为翻译后修饰。重组的对虾一帖中的 COOH 末端之非酰胺化作用于抗真菌活动无效,但轻微减退其抗细菌活性。其 NH₂ 端域含4个精氨酸残基和相对高量的脯氨酸残基,其中一

些包含在保守的 Pro-Arg-Pro 模体中。这种三联体以不同于昆虫富脯氨酸抗微生物肽密切相关成员的方式重复,该 NH₂ 端域可能包含在该肽与靶微生物膜相互作用或识别活动过程中。

对虾一帖 COOH 末端域以6个半胱氨酸为特征,其中有4个以二联体组织起来。

3种对虾一帖的生物学活性一致,这是由酵母表达的重组肽确立的。它们抗细菌和抗真菌性能较高,但主抗 G⁺ 细菌,其作用模式有不同专一性,这决定于所试菌株。它们抗巨大芽孢杆菌 (*Bacillus megaterium*)、抑藤黄微球菌 (*Micrococcus luteus*),缓慢杀死浅绿气球菌 (*Aerococcus viridans*),能大范围抑制真菌,如尖孢镰刀菌 (*Fusarium oxysporum*)。在低于 MIC (<5 μm) 时,对虾一帖减低该菌丝生长和伸长以致形态异常。高浓度(10 μm)时,可杀该真菌孢子,使其不萌发,以致后来即使用无对虾一帖的培养基培养时,也不萌发。

3种对虾一帖虽有以上许多共性,但3者间仍有一定差异。Pen-1 和 Pen-2 均含50个氨基酸残基,免疫前血清(PI)均为9.34,但残基在两者组成和排列上不一(图1)。Pen-1 从 cDNA 文库中克隆出来。3种对虾一帖虽均有两域组成,但 Pen-3a 的结构在两域中有一个6氨基酸的中间序列,它将两个保守域相连在一起。Pen-3 又可分为3种,即 Pen-3a, Pen-3b, Pen-3c。Pen-3a 和 Pen-3b 的残基数相同,而 Pen-

收稿日期:2002-05-15,修回日期:2002-07-23

基金项目:国家自然科学基金项目(40086001)

作者简介:陈皓文(1941-),男,江苏常州人,研究员,从事海洋生态环境及水产微生物学和生物活性物质研究,电话:0532-2891758, E-mail: haowen-chen@yahoo.com

3c 比它们少一个残基。该三者核苷酸序列的差别还在于第 30 位、33 位和 40 位。Pen - 3a 与 Pen - 3c 的第 30 位均为 I, 而 Pen - 3b 的是 V。第 33 位上, Pen - 3c 缺如。第 40 位上, Pen - 3a 和 Pen - 3b 均为 L, Pen - 3c 却是 V。而 Pen - 3a 的氨基酸残基总数达 62 个, 其免

疫前血清为 9.84。Pen - 3a 翻译后修饰是由一个谷氨酰胺残基(形成焦谷氨酸)的 NH₂ 端环化完成的, 而 Pen - 2 和 Pen - 3 则是借助包含在一个甘氨酸残基的消除的 COOH 端酰胺化作用实现修饰的^[3]。

万氏对虾的 3 种对虾一帖序列比较如图 1 所示。

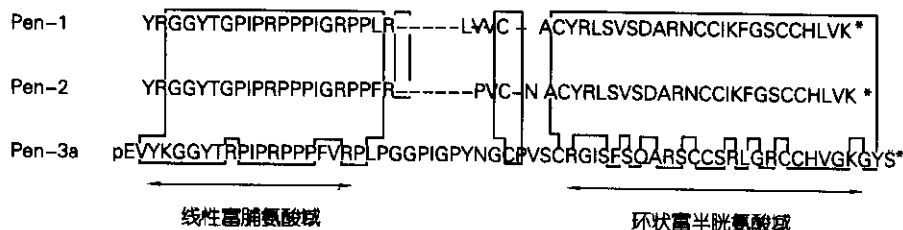


图 1 凡纳对虾 3 种对虾一帖分子结构序列

对虾一帖的完整序列划成一线, 间隙(缺口)波导至最适整列线, 半胱氨酸(C)是黑体的, 相同残基和保守替代是在框内部分, 星号(*)代表一个 C 末端的 α -酰胺, pE 代表焦谷氨酸, 引自文献[2]

对虾一帖的释放过程也与结合几丁质活动相关^[4], 它除了抗微生物活性外, 还负责几丁质的装配和对虾外骨骼的合成或伤愈以保护虾, 特别是在蜕皮周期中暴露至微生物感染时的虾的保护。因此对虾一帖在对虾免疫功能和发育功能间起重要的作用。有关其分子结构的研究进展将促进人们更好理解对虾生理学和它们对病理性创伤反应的能力。

对虾属有 10 余种, 分布于世界各海区, 它们如何抵御外来入侵, 其他种类的对虾是否也有类似作者所述的对虾一帖的抗微生物肽在发挥免疫(包括先天免疫)作用, 很值得研究。将来有可能据此人工合成, 则于对虾养殖无疑是一大福音。

参考文献:

[1] Destoumieux D, Bulet P, Stub J M, *et al.* Recombinant expression and range of activity of penaeidins, antimicrobial peptides from penaeid shrimp[J]. *Eur J Biochem*, 1999,

266: 335 - 346.

[2] Bachere E, Destoumieux D, Bulet P. Penaeidins, antimicrobial peptides of shrimp: a comparison with other effectors of innate immunity[J]. *Aquaculture*, 2000, 191: 71 - 88.

[3] Destoumieux D, Bulet P, Loew D, *et al.* Penaeidins: a new family of antimicrobial peptides isolated from the shrimp, *Penaeus vannamei* (Decapoda)[J]. *J Biol Chem*, 1997, 272(45): 28 398 - 28 406.

[4] Destoumieux D, Munoz M, Cosseau C, *et al.* Penaeidins, antimicrobial peptides with chitin-binding activity, are produced and stored in shrimp granulocytes and released after microbial challenge[J]. *J Cell Sci*, 2000, 113: 461 - 469.

(本文编辑: 刘珊珊)