

家蝇幼虫抗菌肽的抗菌谱及其与抗生素的协同作用研究

宫 霞^{1,2} 乐国伟² 李云飞¹

(¹上海交通大学食品科学与工程系 上海 200072)

(²江南大学食品学院 无锡 214036)

摘 要 研究 3 种家蝇幼虫抗菌肽的抗菌谱以及每种抗菌肽的最小抑菌浓度 (MIC), 初步探讨 3 种抗菌肽分别与青霉素、链霉素相结合后对抗菌活性的影响, 并采用分级抑制浓度指数 (Fractional inhibitory concentration index, FIC) 来定量检测抗菌肽与抗生素之间的抗菌作用关系。结果表明 3 种抗菌肽的抗菌谱不同, 不同的抗菌肽对不同病原菌的抗菌活性不同。3 种抗菌肽与链霉素、青霉素之间的抗菌协同关系因细菌种类不同。抗菌肽与抗生素之间并不是都存在协同关系, 有些不相关, 甚至表现为对抗关系, 表明抗菌肽、抗生素与细菌三者的相互作用关系非常复杂。

关键词 家蝇幼虫, 抗菌肽, 抗菌谱, 协同作用

中图分类号: Q935 文献标识码: A 文章编号: 0001-6209(2005)04-0516-05

自 20 世纪 70 年代中期, 瑞典斯德哥尔摩大学 Boman 等^[1] 从美国天蚕蛾中首先获得抗菌肽以后, 抗菌肽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。

抗菌肽的抗菌机理不同于常用的抗生素, 抗菌肽对细菌的作用主要是直接作用于细菌的细胞膜而达到抗菌作用, 且不易导致细菌产生耐药性, 而抗生素主要通过阻碍细菌代谢的生化过程起到抗菌作用^[2], 细菌可以通过钝化酶或产生分解酶、改变外膜的通透性、主动外排、改变靶位点等方式产生耐药机制, 并且可以通过质粒传播这种耐药性^[3]。但是随着对抗菌肽的抗菌机理和抗生素的耐药机理的深入研究发现, 抗菌肽和某些抗生素之间在抗菌过程中存在协同性, Giacometti 等^[4] 研究发现抗菌肽 buforin II、cecropinP1、magainin II 分别与抗生素青霉素、ceftazidime、meropenem、clarithromycin 相结合使用存在协同作用, 可以增强对嗜麦芽寡食单胞菌 (*Stenotrophomonas maltophilia*) 抗菌活性; Zhang 等^[5] 合成的富含 Pro 的抗菌肽与多粘菌素 E 等抗生素联合使用可增强大肠杆菌 (*Escherichia coli*) UB1005 抗菌活性; Ulvatne 等^[6] 设计 5 种不同的短肽, 分别与红霉素或利福平联合对 *E. coli* ATCC25922 具有协同作用。通过对抗菌肽与抗生素的协同性研究, 可以减少临床上抗生素的使用剂量, 或者用抗菌肽完全替代某些抗生素, 因此对抗菌药物的开发和应用具

有深远意义, 但目前国内在这方面的研究工作还没有开展。

国内外已从动物、植物、微生物中分离到 2000 余种抗菌肽^[7]。每类抗菌肽在结构、功能上有一定的共性, 但是对某一具体的抗菌肽来讲其结构又具有特殊性, 表现出功能的多样性, 所以每一种抗菌肽的抗菌谱也不可能完全一致, 抗菌谱的研究可为医药开发和临床应用提供实验依据。

本实验室已从家蝇幼虫体内分离纯化得到了 3 种抗菌肽^[8], 本文研究该 3 种抗菌肽的抗菌谱以及每种抗菌肽的最小抑菌浓度 (MIC), 初步探讨 3 种抗菌肽分别与青霉素、链霉素相结合后对抗菌活性的影响, 并采用分级抑制浓度指数 (Fractional inhibitory concentration, FIC) 来定量检测抗菌肽与抗生素之间的抗菌作用关系。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 家蝇幼虫抗菌肽 本实验室通过电泳制备抗菌肽, 并分别命名为 MDL-1、MDL-2、MDL-3, 均为阳离子抗菌肽, 其中 MDL-1 分子量为 6200D、pI 为 8.51; MDL-2 分子量为 11000D、pI 为 8.63; MDL-3 分子量为 14000D、pI 为 8.72^[8]。

1.1.2 菌株: 大肠杆菌 (*Escherichia coli*) ATCC25922、绿脓杆菌 (*Bacterium pyocyaneum*) ATCC27553、鼠伤寒沙门氏菌 (*Salmonella*

typhimurium) 50013、大肠志贺氏菌 (*Shigella dysenteriae*) 51302、金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 5538、枯草杆菌 (*Bacillus subtilis*) 9372 为无锡市预防控制中心提供; *E. coli* JM109、乳酸乳杆菌 (*Lactobacillus lactis*)、乳酸乳球菌乳酸亚种 (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*) 为本实验室保存; 青霉 (*Penicillium* sp.)、黑曲霉 (*Aspergillus niger*)、啤酒酵母菌 (*Saccharomyces cerevisiae*) 为江南大学食品学院微生物教研室提供。

1.1.3 培养基^[9]:牛肉膏蛋白胨培养基、LB 培养基、MRS 培养基、查氏培养基、YEPD 培养基。

1.1.4 试剂和仪器:注射用青霉素(80万单位)(Penicillin)和注射用链霉素(100万单位)(Streptomycin)为华北制药有限公司产品;噻唑蓝(MTT)为 Sigma 公司产品。721 型分光光度计为上海第三分析仪器厂产品;HYG-A 型恒温调速摇床柜为江苏太仓市实验设备厂产品;Multiskan MK3 酶联免疫检测仪为美国 Thermo 公司产品。

1.2 菌的培养

1.2.1 细菌的培养:将活化后的细菌转接到液体培养基中,37℃条件下培养 12h 后,3000r/min 离心 5min,弃上清,沉淀物用灭过菌的液体培养基稀释为 10^6 CFU/mL 作为测试菌液^[10](*E. coli* JM109 用 LB 培养基;乳酸乳杆菌、乳酸乳球菌用 MRS 培养基;其余细菌用牛肉膏蛋白胨培养基)。

1.2.2 真菌的培养:将活化后的真菌转接到液体培养基,入 28℃恒温培养箱中培养 24h 后,3000r/min 离心 5min,弃上清,沉淀物用灭过菌的液体培养基稀释为 2×10^4 CFU/mL 作为测试菌液(青霉、曲霉用查氏培养基,啤酒酵母用 YEPD 培养基)。

1.3 抗菌肽抗真菌活性检测

将培养后的真菌细胞用其液体培养基稀释为 2×10^4 CFU/mL,取 100 μ L 放入 96 孔板各实验孔中,然后在实验孔中分别再加入 100 μ L 一定浓度的抗菌肽,对照组设两组:一组为 100 μ L 培养液;另一组为 100 μ L 菌液,同时放入 28℃培养箱中培养 24h。培养完毕,各实验孔中加入 10 μ L 的 MTT 的 PBS 溶液,放入 37℃培养 4h。加入 40 μ L 20% SDS 溶液,37℃培养 10h。用自动酶标仪测定 OD_{630} ^[11]。(SDS 为阴离子型表面活性剂,加入 SDS 能促进真菌细胞的细胞壁破裂,MTT 进入胞内发挥作用。)

1.4 抗菌肽或抗生素最小抑菌浓度(MIC)的测定

将一定浓度的 50 μ L 抗菌肽(或抗生素)分别倍

比稀释到 96 孔板各实验孔中,然后再加入 100 μ L 10^6 CFU/mL 测试菌液,对照组设两组:一组为 100 μ L 培养液;另一组为 100 μ L 菌液,37℃ 150r/min 培养 12h,用自动酶标仪测定 OD_{630} 。(与空白对照组比较,以含抗菌肽最高稀释培养孔中不生长细菌者为最小抑菌浓度(MIC)的判定标准。)

1.5 抗菌肽与抗生素协同性检测

抗菌肽与抗生素的协同作用可用分级抑制浓度指数(Fractional inhibitory concentration, FIC)^[12]来定量检测:

$$FIC = \frac{\text{药剂 A 在结合实验中的 MIC}}{\text{药剂 A 在独立实验中的 MIC}} + \frac{\text{药剂 B 在结合实验中的 MIC}}{\text{药剂 B 在独立实验中的 MIC}}$$

当 $FIC \leq 0.5$ 时,表示药剂 A 与药剂 B 之间存在抑菌作用的协同关系。

当 $0.5 < FIC < 1.0$,表示药剂 A 与药剂 B 之间存在增强作用。

当 $1 < FIC < 4$ 时,表示药剂 A 与药剂 B 之间在抑菌作用中不相关。

当 $FIC \geq 4$ 时,表示药剂 A 与药剂 B 之间存在抑菌作用的对抗关系^[13]。

在测得抗菌肽最小抑菌浓度(MIC)和抗生素最小抑菌浓度(MIC)的基础上,取 $4 \times MIC$ 的抗菌肽与 $4 \times MIC$ 的抗生素各 75 μ L 加入 96 孔微量培养板的实验孔中,连续倍比稀释,每个原浓度孔稀释 20 个试验孔,然后每个实验孔再加入 100 μ L 的待测菌液(10^6 CFU/mL),同时设两组对照:一组为 250 μ L 培养液;另一组为 250 μ L 菌液,然后放入 37℃恒温培养箱中培养 12h。用自动酶标仪测定 OD_{630} ,计算出共同培养时抗菌肽与抗生素的最小抑菌浓度(MIC)。

2 结果

2.1 抗菌肽对真菌、乳酸乳杆菌、乳酸乳球菌乳酸亚种的抗菌结果

将测得的数据用 SPSS 统计软件进行统计处理,采用 t 检验方法。数据分析得出(表 1),每一实验组与其对照组统计后 $P > 0.05$ 。同时采用抑菌圈测量法检测 3 种抗菌肽对以上菌株的抗菌活性,观察到滤纸片周围长满菌体,没有抑菌圈,进一步表明,抗菌肽对青霉、黑曲霉、酵母、乳酸乳球菌、乳酸乳杆菌没有显著的抑制作用。

表 1 抗菌肽对真菌、乳酸杆菌、乳酸乳球菌乳酸亚种抗菌活性

Table 1 Antimicrobial activity of the different antibacterial peptides against funguses and *Lactobacillus*

Strains	MDL-1	MDL-2	MDL-3	Control
<i>Penicillium</i> sp.	0.524 ± 0.008	0.535 ± 0.007	0.529 ± 0.015	0.541 ± 0.008
<i>Aspergillus niger</i>	0.447 ± 0.015	0.479 ± 0.014	0.462 ± 0.013	0.468 ± 0.013
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0.642 ± 0.018	0.640 ± 0.011	0.649 ± 0.014	0.657 ± 0.012
<i>Lactobacillus lactis</i>	0.768 ± 0.007	0.771 ± 0.007	0.765 ± 0.005	0.767 ± 0.007
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	0.673 ± 0.088	0.671 ± 0.012	0.665 ± 0.083	0.671 ± 0.079

2.2 抗菌肽对病原菌最小抑菌浓度(MIC)

表 2 数据显示,若抗菌肽不同,则抗菌谱和抗菌活性明显不同,抗菌肽 MDL-1 对 *E. coli* JM109 的 MIC 最小,而对枯草杆菌 9372 没有抑菌作用,抗菌肽 MDL-2 对革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌都有较强的抑制作用,特别是对 *E. coli* JM109 和枯草杆菌 9372 的 MIC 相对较小。抗菌肽 MDL-3 对革兰氏阳性菌抑制活性较强,对金黄色葡萄球菌 6538 的 MIC 最小。

表 2 抗菌肽最小抑菌浓度(MIC $\mu\text{g/mL}$)Table 2 MIC of the different antibacterial peptides against the bacterial strains(MIC $\mu\text{g/mL}$)

Strains	MIC of MDL-1	MIC of MDL-2	MIC of MDL-3
<i>Bacterium yocyanum</i> ATCC27553	1.36×10^{-3}	1.69×10^{-3}	2.35×10^{-2}
<i>Escherichia coli</i> ATCC25922	2.73×10^{-4}	1.98×10^{-4}	5.53×10^{-1}
<i>Escherichia coli</i> JM109	1.06×10^{-4}	6.59×10^{-5}	9.16×10^{-1}
<i>Salmonella typhimurium</i> 50013	2.57×10^{-3}	3.38×10^{-2}	4.69×10^{-1}
<i>Shigella dysenteriae</i> 51302	1.73×10^{-2}	1.69×10^{-2}	1.38×10^{-2}
<i>Staphylococcus aureus</i> 6538	2.50×10^{-1}	3.53×10^{-4}	1.65×10^{-5}
<i>Bacillus subtilis</i> 9372	-	1.58×10^{-4}	3.34×10^{-4}

" - " means that MDL-1 do not affect on the growth of *Bacillus subtilis* 9372.

2.3 抗生素对病原菌的最小抑菌浓度(MIC)

表 3 显示,链霉素对革兰氏阴性细菌抗菌活性较强,青霉素对革兰氏阳性细菌抗菌活性较强。

表 3 抗生素最小抑菌浓度(MIC $\mu\text{g/mL}$)

Table 3 MIC of the different antibiotics against the bacterial strains

Strains	MIC of Streptomycin	MIC of Penicillin
<i>Bacterium yocyanum</i> ATCC27553	1.2×10^{-3}	9.32×10^{-1}
<i>Escherichia coli</i> ATCC25922	3.0×10^{-3}	3.98×10^{-1}
<i>Escherichia coli</i> JM109	3.0×10^{-3}	3.59×10^{-1}
<i>Salmonella typhimurium</i> 50013	6.02×10^{-3}	4.18×10^{-2}
<i>Shigella dysenteriae</i> 51302	1.25×10^{-3}	1.69×10^{-2}
<i>Staphylococcus aureus</i> 6538	2.50×10^{-1}	3.19×10^{-3}
<i>Bacillus subtilis</i> 9372	6.25×10^{-1}	5.52×10^{-3}

2.4 抗菌肽与抗生素协同性检测

数据分析得出(表 4)(1)抗菌肽 MDL-1 与链霉素相结合时对绿脓杆菌 ATCC27553、大肠杆菌 ATCC25922、大肠杆菌 JM109、大肠志贺氏菌 51302 的抗性表现出协同效应,与青霉素相结合时对大肠志贺氏菌 51302 抗性表现出协同性。(2)抗菌肽 MDL-2 与链霉素相结合时对绿脓杆菌 ATCC27533、大肠杆菌 JM109 的抗性表现出协同性,与青霉素相结合时对金黄色葡萄球菌 6538、枯草杆菌 9372 的抗性表现出协同性。(3)抗菌肽 MDL-3 与链霉素相结合时对大肠杆菌 JM109 的抗性表现出协同性,而对鼠伤寒沙门氏菌 50013 表现出对抗关系;与青霉素结合作用金黄色葡萄球菌 6538 表现出协同效应,而对绿脓杆菌 ATCC27533、鼠伤寒沙门氏菌 50013 作

表 4 抗菌肽与抗生素相结合抗菌的分级抑制浓度指数

Table 4 The FIC index for antibacterial peptides in combination with antibiotics tested against the bacterial strains

Strains	FIC(Combining streptomycin)			FIC(Combining penicillin)		
	FIC _{MDL-1}	FIC _{MDL-2}	FIC _{MDL-3}	FIC _{MDL-1}	FIC _{MDL-2}	FIC _{MDL-3}
<i>Bacterium yocyanum</i> ATCC27553	0.38	0.15	1.21	2.17	2.24	4.61
<i>Escherichia coli</i> ATCC25922	0.43	0.91	1.10	3.10	2.34	2.3
<i>Escherichia coli</i> JM109	0.21	0.37	0.50	1.15	3.21	3.16
<i>Salmonella typhimurium</i> 50013	0.78	2.40	4.13	1.89	2.03	4.02
<i>Shigella dysenteriae</i> 51302	0.45	1.91	1.17	0.46	2.05	1.43
<i>Staphylococcus aureus</i> 6538	1.77	2.31	3.65	2.43	0.43	0.26
<i>Bacillus subtilis</i> 9372	-	1.56	3.82	-	0.50	0.79

用为对抗关系。(4)其余数据表示抗菌肽与抗生素之间在抗菌作用中表现为增强作用($FIC_{0.6} \sim 1$)和抑菌作用的不相关($FIC_1 \sim 4$)。

3 讨论

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。绝大多数抗菌肽分子富含净正电荷,且带有两亲性的螺旋或折叠结构区域,结构的共性表现出功能上相似性,抗菌肽具有广谱的抗菌性,但不同的抗菌肽由于一级结构和高级结构的差异,抗菌活力不同,抗菌谱也有各自的特点。

3.1 家蝇幼虫抗菌肽的抗菌谱分析

家蝇幼虫抗菌肽 MDL-1、MDL-2 和 MDL-3 在抗菌谱中表现出只对病原细菌的生长有抑制作用而对真菌和革兰氏阳性菌乳酸杆菌、乳酸乳球菌没有明显作用,可能因为细菌为原核生物,而真菌为真核生物。细菌的细胞壁主要成分为肽聚糖、磷壁酸、脂多糖和表面蛋白,其中磷壁酸和脂多糖带有负电荷,使得整个细菌表面带负电荷,而抗菌肽是富含正电荷的两亲性分子,通过静电引力使抗菌肽更有利于与细菌的细胞结合,才能进一步有效发生抑菌作用。霉菌细胞壁主要由几丁质组成,酵母菌细胞壁主要成分为葡聚糖与甘露聚糖,少量蛋白、脂类、几丁质,因此真菌细胞表面不带电荷,抗菌肽不易通过静电引力于细胞结合,因此不能透过细胞壁影响细胞膜而起抗菌作用。由此表明,这3种家蝇幼虫抗菌肽与细菌细胞壁的结合是其发挥抗菌活性的首要条件。

3.2 家蝇幼虫抗菌肽对革兰氏阳性细菌的作用特点

金黄葡萄球菌、枯草杆菌、乳酸杆菌、乳酸乳球菌虽均为革兰氏阳性菌,但抗菌肽对其抗菌结果不同,可能原因如下:第一,细胞壁的主要结构成分为肽聚糖,但不同的菌的细胞壁中肽聚糖的含量与类型有显著差异,乳酸杆菌和乳酸乳球菌细胞壁中肽聚糖含量较高(约90%),为 Lsy-D-Asp 类型,且组成多层网状紧密结构,对抗菌肽起屏障作用,抗菌肽和其细胞壁结合后但较难破坏细胞壁。第二,细胞壁脂磷壁酸的组成不同。第三不同细菌细胞膜中膜蛋白的种类和含量有显著区别^[14]。在乳酸杆菌和乳酸乳球菌的细胞膜蛋白中有许多具有受体和酶功能的蛋白,当抗菌肽与其作用时可能导致抗菌肽分解而失去活性,从而对其没有抗菌作用。同时

说明,抗菌肽作用的最初靶位点存在于细菌细胞膜上,抗菌肽和细胞膜结合破坏其结构是抑菌发生的关键。

在乳酸菌培养过程中,由于产生酸性物质培养液的 pH 下降,但抗菌肽在偏酸的环境中仍保持较高的活性^[8],而该3种抗菌肽对乳酸杆菌、乳酸乳球菌没有表现出抗菌活性,说明细菌培养过程 pH 降低不是造成对革兰氏阳性菌之间的抗菌效果差别主要因素,而是可能由于细菌细胞结构的不同所致。

3.3 抗菌肽对 *E. coli* JM109 的抑制作用

E. coli JM109 对抗菌肽表现为极强的敏感性,MDL-1、MDL-2 对其作用的 MIC 最小,这可能与抗菌肽的膜作用机制以及耐药细胞所产生的一系列生物学改变有关,在耐药菌的细胞膜上,有许多与多药耐药(Multidrug resistance, MDR)相关的蛋白质的过度表达,影响细胞膜的结构,使细胞对膜活性物质的敏感性增加^[15]。同时 MDR 相关蛋白在发挥作用时要消耗过多 ATP,使细胞损伤的修复受到限制。另外,耐药细胞膜发生脂质的改变,使细胞膜流动性增加,对毒素的敏感性增高^[16]。

3.4 抗菌肽、抗生素和细菌之间关系探讨

抗生素为人类的健康生存和发展做出了巨大贡献,然而由于这些抗生素往往是人畜公用,耐药菌在人畜间的传递产生交叉耐药性,毫不夸张地说,细菌耐药性是21世纪全球关注的热点,它对人类生命健康构成的威胁绝不亚于艾滋病、癌症和心血管疾病。

研究发现抗菌肽具有与抗生素完全不同的抗菌机制,对目前临床出现的很多耐药菌具有很强的生物活性,是一种新的抗菌药物的来源。为提高抗菌治疗的效果,将抗菌肽和抗生素联合使用,发现不仅提高疗效而且减少了抗生素的使用剂量,对协同现象推测可能存在四种机制^[6]:(i)抗菌肽和抗生素抑制一些共同的生化代谢途径;(ii)抗菌肽抑制对细菌有保护作用的酶的活性;(iii)抗菌肽与细菌细胞壁活性成分结合;(iv)抗菌肽可增加细菌对抗菌药剂吸收,研究认为是由于抗菌肽可以增强细菌细胞膜的渗透性而引起抗菌药物的吸收量增多是产生协同现象的主要原因^[6,17,18]。

青霉素抗菌作用机制主要是通过使细菌细胞壁合成酶的失活,阻碍细胞壁的合成,链霉素通过作用于核糖体 30S 亚基,引起 mRNA 翻译起始的抑制和异常校对,使细菌细胞膜蛋白的合成抑制,当青霉素、链霉素与家蝇幼虫抗菌肽结合使用时,实验结果表明对一些细菌表现出较强的协同抗菌作用,推测

可能由于抗菌肽与细菌细胞壁、膜交互作用,由于抗菌肽与外膜上的 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 的亲合力高 3 个数量级,因而可以大量地进行竞争取代,从而导致正常细胞膜屏障破坏,形成孔洞,细胞膜的电化学梯度消失,使细菌细胞的通透性进一步增加,细菌对药物的主动外排系统破坏,增加了抗菌肽与抗生素的摄入量,导致青霉素的结合位点增加与链霉素有效的作用细菌的染色体、核糖体,造成菌体快速死亡,从而表现协同抗菌作用^[19]。但抗菌肽与抗生素之间并不是都存在协同关系,有些显示不相关,甚至表现为对抗关系。造成对抗关系的主要有 3 种原因:药物之间竞争共同的结合位点;一种药物可改变另一种药物的结合位点;一种药物可造成另一种药物失去活性^[20]。因此抗菌肽、抗生素与细菌三者的相互关系的机制是非常复杂的,本实验只是抗菌肽在此方面研究的初步探索。

参 考 文 献

- [1] Boman H G, Nilsson I, Rasmuson B. Inducible antibacterial defense system in *Drosophila*. *Nature*, 1972, **237** :232 - 235.
- [2] 徐 强, 华跃进, 徐步进, 等. 蛙类皮肤分泌物中的抗菌肽和抗癌肽. *动物学杂志*, 2002, **37** (2) :73 - 78.
- [3] 谭 艳, 方治平. 抗菌药物的作用机制及细菌耐药性机制的研究进展. *国外医药抗生素分册*, 2003, **24** (2) :65 - 69.
- [4] Giacometti A, Cirioni O, DelPrete M S, et al. *In vitro* activities of membrane-active peptides alone and in combination with clinically used antimicrobial agents against *Stenotrophomonas maltophilia*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2000, **44** (6) :1716 - 1719.
- [5] Zhang L, Roland B, Robert E, et al. Influence of proline residues on the antibacterial and synergistic activities of α -helical peptides. *Biochemistry*, 1999, **38** :8102 - 8111.
- [6] Ulvatne H, Karoliussen S, Stiberg T, et al. Short antibacterial peptides and erythromycin act synergically against *Escherichia coli*.

- Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2001, **48** :203 - 208.
- [7] 程家安, 唐振华. 昆虫分子科学, 北京: 科学出版社, 2001, 75-90.
- [8] 宫 霞, 乐国伟, 施用晖. 电泳制备家蝇幼虫抗菌肽及其生物学性质. *无锡轻工大学学报*, 2003 (6) :25 - 30.
- [9] 吴冠芸, 潘华珍, 吴 翠. 生物化学与分子生物学实验常用数据手册. 北京: 科学出版社, 2002, 119 - 132.
- [10] Bulet P, Dimarcq J-C, Herru C, et al. A novel inducible antibacterial peptide of *Drosophila* carries an O-glycosylated substitution. *J Bio Chem*, 1993, **268** :14893 - 14897.
- [11] Lee D G, Shin S Y, Kim D H, et al. Antifungal mechanism of a cysteine-rich antimicrobial peptide, Ib-AMPI, from *Impatiens balsamina* against *Candida albicans*. *Biotechnology Letters*, 1999, **21** :1047 - 1050.
- [12] Singh P K, Tack B F, Meray P B, et al. Synergistic and additive killing by antimicrobial factors found in human airway surface liquid. *American Journal of Physiology Lung Cellular and Molecular Physiology*, 2000, **279** :799 - 805.
- [13] Moody J A. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. Washington: AMS, 1992, **5** :1 - 15.
- [14] 刘志恒. 现代微生物学. 北京: 科学出版社, 2002, 202 - 205.
- [15] Winley W C, Selsted M E, White S H. Interaction between human defensins and lipid bilayers, evidence for formation of multimeric pores. *Protein Sci*, 1994, **3** :1362 - 1373.
- [16] Fujij G, Selsted M E, Eisenberg D. Defensins promote fusion and lysis of negatively charged membranes. *Protein Sci*, 1993, **2** :1301 - 1312.
- [17] Giacometti A, Cirioni O, DelPrete M S, et al. Comparative activities of polycationic peptides and clinically used antimicrobial agents against multidrug-resistant nosocomial isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2000, **46** :807 - 810.
- [18] Giacometti A, Cirioni O, DelPrete M S, et al. Combination studies between polycationic peptides and clinically used antibiotics against gram-positive and gram-negative bacteria. *Peptides*, 2000, **21** :1155 - 1160.
- [19] 陈代杰. 抗菌药物与细菌耐药性. 上海: 华东理工大学出版社, 2001, 67 - 73.
- [20] Fleming W W. *Modern Pharmacology with Clinical Applications*. 5th eds. New York: Little Brown and Company, 1997, 9 - 11.

Antibacterial spectrum of antibacterial peptides from *Musca domestica* larvae and synergic interaction between the peptides and antibiotics

GONG Xia^{1,2*} LE Guo-wei² LI Yun-fei¹

(¹ Department of Food Science and Engineering, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200030, China)

(² School of Food Science, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China)

Abstract: *In vitro* antibacterial activities of three antibacterial peptides, alone and in combination with the antibiotics were measured by MIC and antibacterial spectrum. Synergy was observed when the peptides were combined with penicillin, streptomycin by FIC. The results show that antibacterial peptides have stronger inhibition of pathogenic bacterium, and antibacterial spectrum are very different. The interaction in antibacterial peptides, antibiotics and bacterium is extraordinary complex, except synergic action, there are antagonism and indifference.

Key words: *Musca domestica* Larvae, Antibacterial peptides, Antibacterial spectrum, Synergy

Foundation item: Key Item of Expert Fund in Basic Research for Chinese National Scientific Colleges(2001DEA-20022)

* Corresponding author. Tel/Fax 86-21-66525417; E-mail: gongxia11@tom.com

Received date: 12-20-2004