



蝎毒多肽 Ctry2459 抗白色念珠菌机制研究

李紫怡, 景晓愿, 姚伟杰, 李钟杰*

河南科技大学基础医学院, 河南 洛阳 471003

李紫怡, 景晓愿, 姚伟杰, 李钟杰. 蝎毒多肽 Ctry2459 抗白色念珠菌机制研究. 微生物学报, 2022, 62(8): 3166–3175.

Li Ziyi, Jing Xiaoyuan, Yao Weijie, Li Zhongjie. Action mechanism of scorpion venom peptide Ctry2459 against *Candida albicans*. *Acta Microbiologica Sinica*, 2022, 62(8): 3166–3175.

摘要:【目的】探究蝎毒多肽 Ctry2459 抗白色念珠菌的作用机制。【方法】采用肉汤稀释法并结合平板计数法测定蝎毒多肽 Ctry2459 对白色念珠菌的最小抑菌浓度和最小杀真菌浓度; 通过平板计数法绘制蝎毒多肽 Ctry2459 对白色念珠菌的时间-杀菌动力学曲线; 通过 PI 吸收实验检测蝎毒多肽 Ctry2459 对白色念珠菌细胞膜完整性的影响; 通过核酸阻滞实验检测蝎毒多肽 Ctry2459 与核酸间是否具有结合作用; 通过流式细胞技术检测蝎毒多肽 Ctry2459 对白色念珠菌活性氧、线粒体膜电位以及凋亡/坏死的影响。【结果】蝎毒多肽 Ctry2459 对白色念珠菌的最小抑菌浓度和最小杀真菌浓度分别为 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。蝎毒多肽 Ctry2459 对白色念珠菌的杀菌作用具有时间和浓度依赖性, 并可通过直接破坏细胞膜的完整性以及通过 ROS 介导的线粒体失能导致细胞坏死的方式杀灭白色念珠菌细胞。【结论】蝎毒多肽 Ctry2459 可以作为抗白色念珠菌药物研发的候选分子或者分子模板。

关键词: 蝎毒多肽; 抗微生物多肽; 白色念珠菌; 作用机制

基金项目: 河南省科技攻关项目(222102310247); 国家自然科学基金(81703475); 国家大学生创新创业训练计划(202110464049)

Supported by the Key Specialized Research and Development Breakthrough in Henan Province (222102310247), by the National Natural Science Foundation of China (81703475) and by the National College Students' Innovation and Entrepreneurship Training Program (202110464049)

*Corresponding author. E-mail: sui_feng5217@126.com

Received: 10 December 2021; Revised: 1 February 2022; Published online: 11 February 2022

Action mechanism of scorpion venom peptide Ctry2459 against *Candida albicans*

LI Ziyi, JING Xiaoyuan, YAO Weijie, LI Zhongjie*

School of Basic Medical Sciences, Henan University of Science and Technology, Luoyang 471003, Henan, China

Abstract: [Objective] To investigate the action mechanism of scorpion venom peptide Ctry2459 against *Candida albicans*. [Methods] The broth microdilution and plate count methods were used to determine the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimal fungicidal concentration (MFC) of Ctry2459 against *C. albicans*. Time-kill curves were drawn based on the plate count method. In addition, we evaluated the influence of Ctry2459 on the integrity of the cell membrane of *C. albicans* by propidium iodide (PI) absorption experiment. DNA gel retardation assay was conducted to investigate the binding effect between Ctry2459 and nucleic acid. Also, we measured the effects of Ctry2459 on the reactive oxygen species (ROS) level, mitochondrial membrane potential, and apoptosis/necrosis induction of *C. albicans* by flow cytometry assays. [Results] The MIC and MFC of Ctry2459 against *C. albicans* were 25 $\mu\text{g/mL}$ and 50 $\mu\text{g/mL}$, respectively. Ctry2459 killed *C. albicans* in a time- and concentration-dependent manner and mainly through membrane disruption, and it could also induce *C. albicans* necrosis via a ROS-dependent pathway. [Conclusion] Ctry2459 had the potential for the development of anti-*C. albicans* drugs.

Keywords: scorpion venom peptide; antimicrobial peptides; *Candida albicans*; action mechanism

白色念珠菌(*Candida albicans*)是定殖于人体皮肤表面及开放性腔道(口腔、消化道及泌尿生殖道)的共生菌群,在一定条件下可引起从局部上皮到严重的全身感染^[1-2]。近年来,由于免疫功能低下患者的迅速增长以及侵入性医疗设备和植入物的日益普及,白色念珠菌感染急剧增加^[3]。目前,用于有效治疗白色念珠菌感染的药物有唑类、多烯类和棘白菌素类药物。但是,这些药物的过度和不规范使用,导致耐药菌株的迅速出现,进而使得白色念珠菌的感染率进一步提升^[4]。因此,探索新的更有效的抗白色念珠菌药物非常必要。

抗微生物多肽作为抗微生物药物研发中的明星分子,具有抗微生物谱广、可有效抗耐药菌株、作用模式多样且不易诱导耐药等优势,

具有非常好的开发应用前景^[5-8]。蝎子作为我国传统的名贵药材,其毒液中含有丰富的多肽组分,是获取抗微生物多肽的良好资源^[9]。蝎毒多肽 Ctry2459 (FLGFLKNLF)是西藏特里豚蝎(*Chaerilus tryznai*)中发掘出的一条抗微生物多肽,具有良好的抗丙型肝炎病毒活性^[10]。通过对 Ctry2459 的抗微生物活性进行进一步的探索发现,其对白色念珠菌具有良好的抑制活性。本研究测定了蝎毒多肽 Ctry2459 作用于白色念珠菌的最小抑菌浓度,确定了蝎毒多肽 Ctry2459 作用于白色念珠菌的最小杀真菌浓度,并对蝎毒多肽 Ctry2459 抗白色念珠菌的作用机制进行了探究。通过本研究以为抗白色念珠菌药物的研发提供新的候选分子或分子模板。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

蝎毒多肽 Ctry2459 由上海吉尔生化有限公司进行合成, 多肽的终纯度为 95%以上, 并对多肽的 C 端进行酰胺化修饰。白色念珠菌菌株 AY93025 购于中国典型培养物保藏中心。用于白色念珠菌培养的 YPD 培养基(yeast extract peptone dextrose medium)购于青岛海博生物技术有限公司。用于细胞膜完整性检测的碘化丙啶(propidium iodide, PI)购于索莱宝科技有限公司。线粒体膜电位检测试剂盒、活性氧检测试剂盒及 Annexin V-FITC/PI 细胞凋亡检测试剂盒购于碧云天生物技术有限公司。细菌培养皿及 96 孔无菌细胞培养板购于耐思生物科技有限公司。

1.2 最小抑菌浓度及最小杀真菌浓度检测

最小抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC)与最小杀真菌浓度(minimum fungicidal concentration, MFC)的检测基于我们前期所构建的检测方法^[11]。具体操作如下: 将对数生长期的 *C. albicans* AY93025 用无菌的 YPD 培养基调至 10^3 – 10^4 CFU/mL; 于无菌的 96 孔细胞培养板中, 每孔分别加入 20 μ L 梯度稀释的多肽溶液和 80 μ L 上述稀释的菌液, 每个多肽浓度设置 3 个平行样; 将上述 96 孔细胞培养板置于培养温度为 35 $^{\circ}$ C 的生化培养摇床中培养 24 h; 培养后, 无菌体生长的最低多肽浓度即为 MIC。在 MFC 检测中, 从所有无菌体生长的多肽浓度处理孔取样, 经梯度稀释后涂布 YPD 琼脂平板; 将上述 YPD 琼脂平板置于培养温度为 35 $^{\circ}$ C 的生化培养箱中培养 24 h; 培养后统计菌落数, 样本菌落数低于初始菌落数 0.1%的处理组的多肽浓度即为 MFC。

1.3 杀菌动力学检测

杀菌动力学检测基于我们前期所构建的检测方法^[11]。具体操作如下: 将对数生长期的 *C. albicans* AY93025 用无菌的 YPD 培养基调至 10^4 – 10^6 CFU/mL; 与不同浓度多肽(终浓度为 1 \times MIC、2 \times MIC 及 4 \times MIC)孵育, 以生理盐水为阴性对照; 分别在设定的时间点(0、0.25、0.50 和 1.00 h)取样, 并将所取样本进行梯度稀释; 将稀释后的样本涂布于 YPD 琼脂平板上, 并将上述平板置于培养温度为 35 $^{\circ}$ C 的生化培养箱中培养 24 h; 培养后统计菌落数, 绘制杀菌动力学曲线。

1.4 PI 吸收实验

PI 吸收实验基于我们前期所构建的检测方法^[11]。具体操作如下: 将对数生长期的 *C. albicans* AY93025 用无菌的 YPD 培养基调至 $(1-5)\times 10^5$ CFU/mL; 与不同浓度多肽(终浓度为 1 \times MIC、2 \times MIC 及 4 \times MIC)孵育, 以生理盐水为阴性对照; 每个处理中加入终浓度为 5 μ g/mL 的 PI, 并置于 35 $^{\circ}$ C 中避光孵育 30 min; 孵育后, 菌体经无菌的 PBS 洗涤并重悬; 利用 ZEISS 荧光显微镜 Axio Observer 3 进行观察, 统计并计算荧光染色阳性细胞占比。

1.5 核酸阻滞

核酸阻滞实验基于我们前期所构建的检测方法^[11]。具体操作如下: 将不同浓度多肽分别与 300 ng 质粒 DNA (pET-28a)或者单链 DNA (鲑鱼精子 DNA)混合, 多肽与质粒的最终质量比分别为 5:1、10:1、20:1 和 40:1, 并以单核酸为对照处理组; 将上述混合体系置于室温条件下孵育 30 min; 孵育后, 进行 1.5%琼脂糖凝胶电泳, 依据电泳结果评估核酸迁移的阻滞情况。

1.6 ROS 检测

将对数生长期的 *C. albicans* AY93025 用无

菌的 YPD 培养基调至 10^6 – 10^7 CFU/mL, 与不同浓度多肽(终浓度为 $1\times$ MIC、 $2\times$ MIC 及 $4\times$ MIC) 孵育, 以生理盐水为阴性对照, $28\text{ }^\circ\text{C}$ 孵育 2 h; 用 PBS 洗涤并重悬细胞, 按照试剂盒说明加入 2',7'-dichlorofluorescein diacetate (DCFHDA), 终浓度为 $10\text{ }\mu\text{mol/L}$, $28\text{ }^\circ\text{C}$ 避光孵育 30 min; 经 PBS 洗涤并重悬后, 流式细胞仪检测。

1.7 线粒体膜电势检测

将对数生长期的 *C. albicans* AY93025 用无菌的 YPD 培养基调至 10^6 – 10^7 CFU/mL, 与不同浓度多肽(终浓度为 $1\times$ MIC、 $2\times$ MIC 及 $4\times$ MIC) 孵育, 以生理盐水为阴性对照, $28\text{ }^\circ\text{C}$ 孵育 2 h; 用 PBS 洗涤并重悬细胞, 按照试剂盒说明加入 5,5',6,6'-tetrachloro-1,1',3,3'-tetraethylbenzimidazolyl carbocyanine iodide (JC-1), 终浓度为 $2.5\text{ }\mu\text{g/mL}$, $28\text{ }^\circ\text{C}$ 避光孵育 20–30 min; 经 PBS 洗涤并重悬后, 流式细胞仪检测, 并计算 FL2 与 FL1 的比值。

1.8 Annexin V/PI 双染检测

将对数生长期的 *C. albicans* AY93025 用无菌的 YPD 培养基调至 10^6 – 10^7 CFU/mL, 与不同浓度多肽(终浓度为 $1\times$ MIC、 $2\times$ MIC 及 $4\times$ MIC) 孵育, 以生理盐水为阴性对照, $28\text{ }^\circ\text{C}$ 孵育 2 h; 用 PBS 洗涤并重悬细胞, 依据试剂盒说明进行 Annexin V/PI 双染, 然后进行流式检测。

2 结果与分析

2.1 活性检测

通过微量稀释法检测, 结果显示, 蝎毒多肽 Ctry2459 对白色念珠菌 AY93025 的最小抑菌浓度(MIC)为 $25\text{ }\mu\text{g/mL}$, 最小杀真菌浓度(MFC)为 $50\text{ }\mu\text{g/mL}$ 。

2.2 杀菌动力学

为了探究蝎毒多肽 Ctry2459 的作用模式, 基于 *C. albicans* AY93025 进行杀菌动力学检

测。如图 1 所示, 经 $1\times$ MIC 浓度的多肽处理 1 h, 白色念珠菌的菌落仅下降了大约 1 个数量级; 经 $2\times$ MIC 浓度的多肽处理 15 min, 白色念珠菌的菌落数即下降大约 2 个数量级, 处理 1 h 则使白色念珠菌的菌落下降大约 4 个数量级; 而经 $4\times$ MIC 浓度的多肽处理 15 min, 即可使白色念珠菌的菌落数下降约 3.5 个数量级, 处理 1 h 则可杀灭所有白色念珠菌细胞。从以上结果中可以看出, 蝎毒多肽 Ctry2459 以时间和浓度依赖性的方式杀灭白色念珠菌细胞。

2.3 PI 吸收检测

为了探究蝎毒多肽 Ctry2459 是否会以破坏细胞膜的方式杀灭白色念珠菌, *C. albicans* AY93025 经多肽处理后进行 PI 染色, 并以无多肽处理为阴性对照。如图 2 所示, 与对照组相比, 随着蝎毒多肽 Ctry2459 作用浓度的升高, 荧光阳性细胞数逐渐增多, 且蝎毒多肽 Ctry2459 处理组与无多肽处理组间具有显著差异($P<0.01$)。无多肽处理组中, 荧光阳性细胞数的比例仅约为 0.77%, 经 $1\times$ MIC、 $2\times$ MIC 及

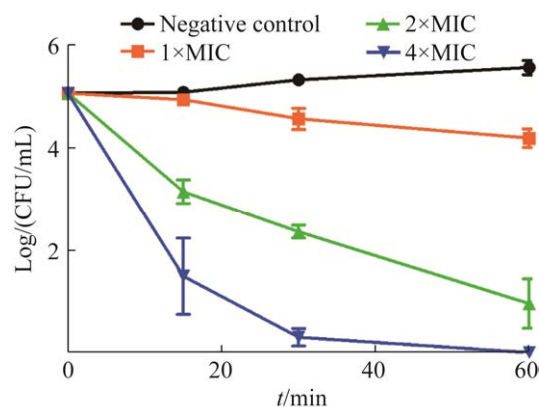


图 1 蝎毒多肽 Ctry2459 对 *C. albicans* AY93025 的杀菌动力学

Figure 1 Time-killing kinetics. Negative control: 0.9% saline; Log (CFU/mL): \log_{10} (CFU/mL). The results were expressed as mean \pm standard error of the mean.

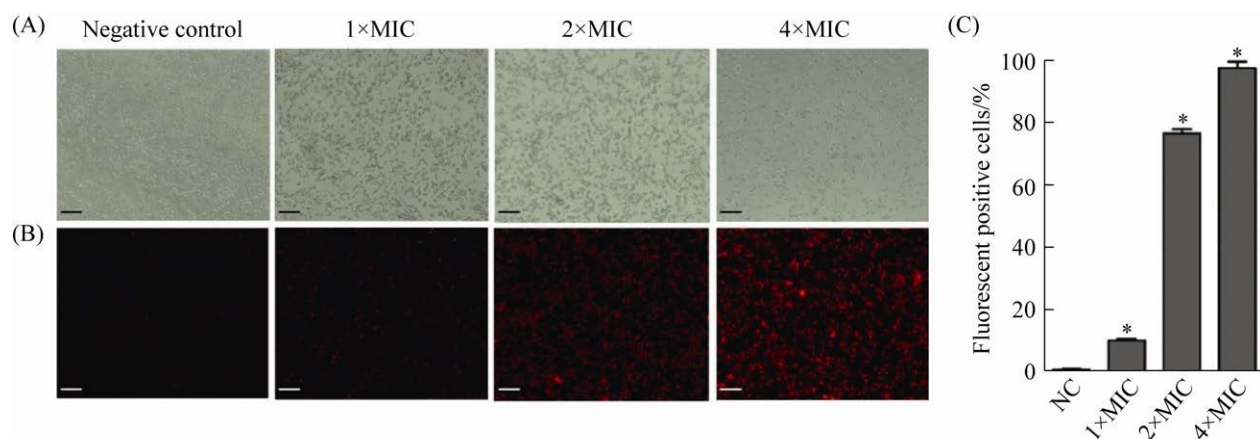


图 2 PI 吸收检测

Figure 2 PI absorption test. A: normal image; B: fluorescence image; C: percentage of fluorescent positive cells (*: $P < 0.01$). Negative control (NC): 0.9% saline. Bar=20 μm .

4×MIC 多肽浓度处理后的荧光阳性细胞比例分别为 10.12%、76.56%和 97.42%。以上结果表明，蝎毒多肽 Ctry2459 会破坏白色念珠菌的细胞膜，且随着多肽作用浓度的提升，其对白色念珠菌细胞膜的破坏能力逐渐增强。

2.4 核酸阻滞实验

进一步对蝎毒多肽 Ctry2459 是否会通过与核酸间的直接相互作用而影响白色念珠菌进行

了探究。如图 3 所示，与蝎毒多肽 Ctry2459 孵育后，双链 DNA (质粒 pET-28a) 及单链 DNA (鲑鱼精子) 在核酸凝胶电泳中的迁移情况都没有显著变化，说明蝎毒多肽 Ctry2459 与核酸间没有直接的相互作用。

2.5 ROS 检测

为了检测蝎毒多肽 Ctry2459 的杀白色念珠菌机制是否与胞内 ROS 水平有关，利用流式细

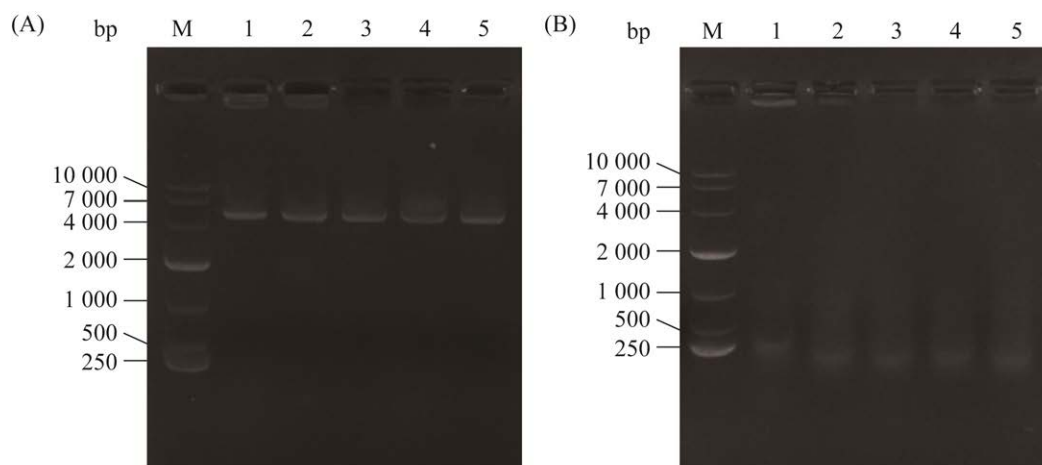


图 3 蝎毒多肽 Ctry2459 与核酸的结合作用

Figure 3 Interaction between Ctry2459 and nucleic acid. A: plasmid DNA (pET-28a); B: single-stranded DNA (salmon sperm DNA). M: marker. Rate of peptide/nucleic acid: line 1 for 40:1, line 2 for 20:1, line 3 for 10:1, line 4 for 5:1, line 5 for 0:1.

胞检测法检测了蝎毒多肽 Ctry2459 处理与非处理的白色念珠菌胞内 ROS 水平变化情况。如图 4 所示, 无多肽处理组的 ROS 水平仅为 0.3%, 1×MIC 多肽浓度处理组的 ROS 水平为 3.3%, 2×MIC 多肽浓度处理组的 ROS 水平为 6.9%, 4×MIC 多肽浓度处理组的 ROS 水平为 14.2%。由此可见, 随着蝎毒多肽 Ctry2459 作用浓度的升高, 白色念珠菌胞内 ROS 水平逐渐升高, 具有浓度依赖性。因此, 蝎毒多肽 Ctry2459 的杀白色念珠菌机制与 ROS 的积累密切相关。

2.6 线粒体膜电势检测

为了检测蝎毒多肽 Ctry2459 是否会影响白

色念珠菌线粒体功能, 利用流式细胞检测法检测了蝎毒多肽 Ctry2459 处理与非处理的白色念珠菌线粒体膜电势的变化情况。如图 5 所示, 无多肽处理组的 FL2 与 FL1 的比值为 1.04, 1×MIC 多肽浓度处理组的 FL2 与 FL1 的比值为 1.03, 2×MIC 多肽浓度处理组的 FL2 与 FL1 的比值为 0.38, 4×MIC 多肽浓度处理组的 FL2 与 FL1 的比值为 0.21。由此可见, 随着蝎毒多肽 Ctry2459 作用浓度的升高, FL2 与 FL1 的比值呈下降趋势, 且具有浓度依赖性。因此, 蝎毒多肽 Ctry2459 会影响白色念珠菌线粒体功能, 导致白色念珠菌线粒体膜电势的去极化。

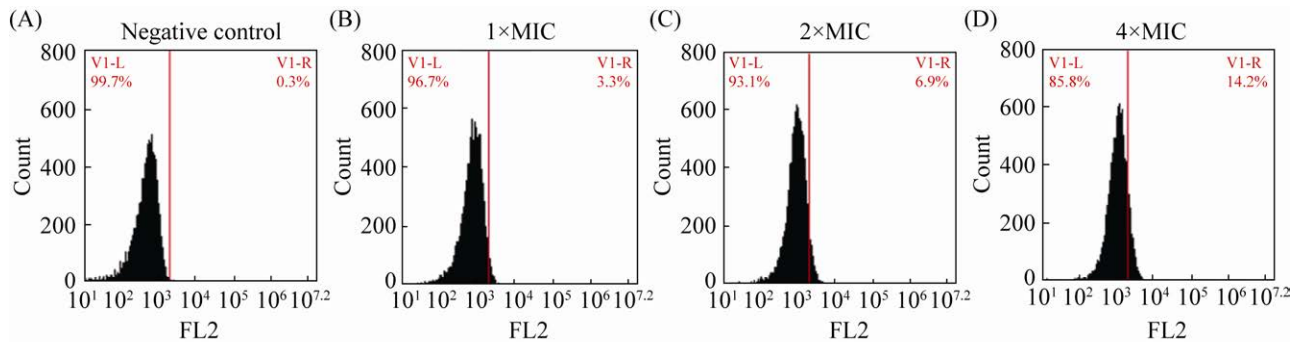


图 4 ROS 检测

Figure 4 ROS measurement. A: negative control, 0.9% saline; B: treated with peptide at 1×MIC; C: treated with peptide at 2×MIC; D: treated with peptide at 4×MIC. FL2: fluorescence intensity; Count: number of cells.

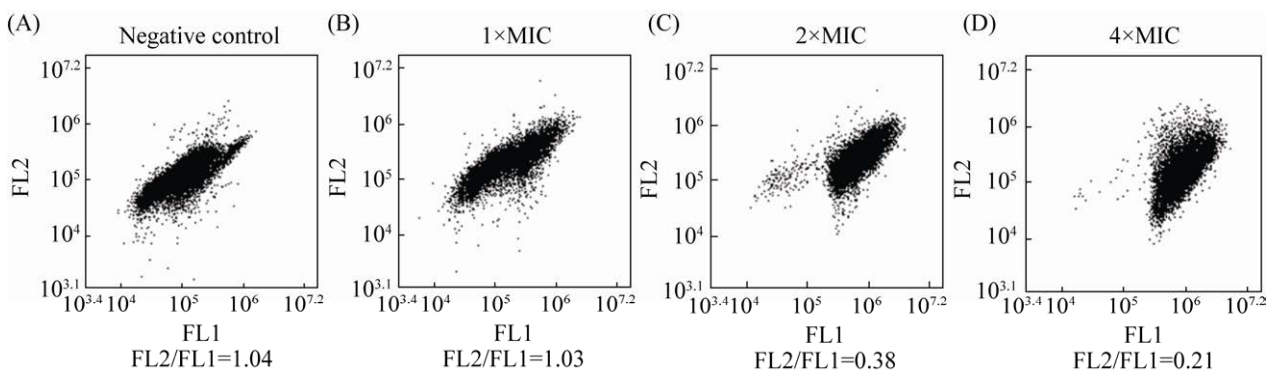


图 5 线粒体膜电势检测

Figure 5 Mitochondrial membrane potential assay. A: negative control, 0.9% saline; B: treated with peptide at 1×MIC; C: treated with peptide at 2×MIC; D: treated with peptide at 4×MIC. FL2: fluorescence intensity of aggregates JC-1; FL1: fluorescence intensity of JC-1 monomer.

2.7 Annexin V/PI 双染检测

为了检测蝎毒多肽 Ctry2459 的杀白色念珠菌机制是否与凋亡有关, 蝎毒多肽 Ctry2459 处理与非处理的白色念珠菌经 Annexin V/PI 双染后进行流式细胞检测法检测。如图 6 所示, 正常细胞(Annexin V-/PI-)区限为 Q1-LL, 早期凋亡细胞(Annexin V+/PI-)区限为 Q1-LR, 晚期凋亡细胞(Annexin V+/PI+)区限为 Q1-UR, 坏死细胞(Annexin V-/PI+)区限为 Q1-UL。与无多肽处理组相比, 多肽处理组凋亡细胞的比例变化不大, 但坏死细胞在 $1/2 \times \text{MIC}$ 多肽浓度处理下的比例仅为 1.4%, 在 $1 \times \text{MIC}$ 多肽浓度处理下的比例为 57.7%, 在 $2 \times \text{MIC}$ 多肽浓度处理下的比例为 99.4%。由此可见, 蝎毒多肽 Ctry2459 会引起白色念珠菌细胞坏死, 且具有浓度依赖性。

3 讨论

作为人类微生物组的共生真菌, 白色念珠菌可引起局部的皮肤黏膜到严重的全身系统性感染, 由于耐药菌株的出现以及免疫功能低下人群的迅速增长, 使得白色念珠菌的感染率和

死亡率逐渐升高^[12-17]。因此, 发掘及开发更加有效以及新的抗白色念珠菌药物分子及制剂势在必行。

抗微生物多肽是一类具有良好应用开发前景的药物候选分子, 对病毒、细菌、真菌及耐药菌株均表现出良好的活性, 且不易诱导产生耐药性^[18]。蝎是我国的宝贵的传统药物资源, 而蝎毒多肽则是发掘抗微生物多肽的良好资源^[18]。目前已经从我国多个蝎品种中发掘出许多的抗微生物多肽, 如来自 *Heterometrus petersii* 的 Hp1404^[19]、来自 *Chaerilus tricostatus* 的 ctriporin^[20]、来自 *Isometrus maculates* 的 imcroporin^[21], 以及来自 *Lychas mucronatus* 的 mucroporin^[22]。

蝎毒多肽 Ctry2459 是从西藏特里豚蝎 *Chaerilus tryznai* 中发掘出的一条具有良好的抗丙型肝炎病毒活性的抗微生物多肽^[10]。本研究中, 我们探究了 Ctry2459 的抗白色念珠菌活性及机制。研究结果表明, 蝎毒多肽 Ctry2459 对白色念珠菌具有良好的抑制杀灭作用, 且具有浓度和时间依赖性(图 1)。对于杀菌多肽来说, 主要通过破坏细胞膜来起作用^[23], 如抗微生物

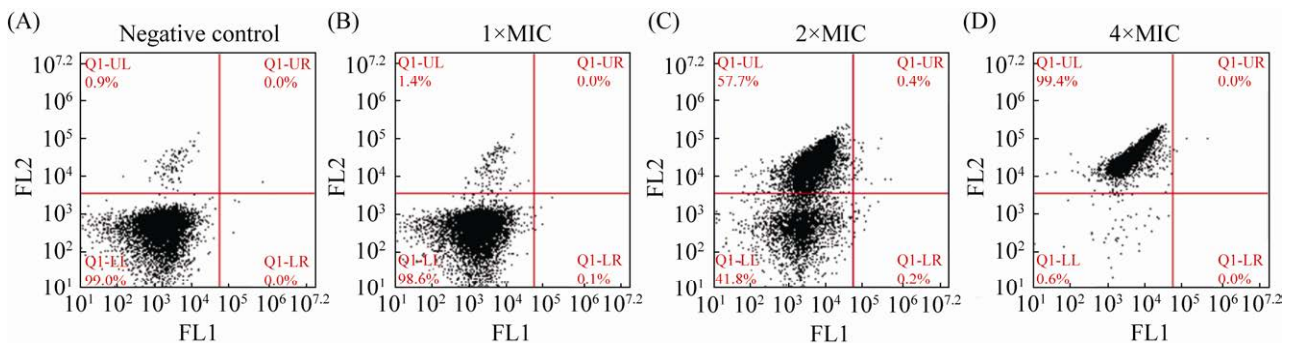


图 6 Annexin V-PI 双染检测

Figure 6 Annexin V and PI staining. A: negative control, 0.9% saline; B: treated with peptide at $1/2 \times \text{MIC}$; C: treated with peptide at $1 \times \text{MIC}$; D: treated with peptide at $2 \times \text{MIC}$. Q1-UL: necrotic cells (Annexin V-/PI+); Q1-UR: late apoptotic cells (Annexin V+/PI+); Q1-LR: early apoptotic cells (Annexin V+/PI-); Q1-LL: normal live cells (Annexin V-/PI-). FL2: fluorescence intensity of PI; FL1: fluorescence intensity of Annexin V.

多肽 AMP-17^[24]。PI 吸收实验结果表明, 蝎毒多肽 Ctry2459 可以破坏白色念珠菌细胞膜的完整性, 且其破坏能力随作用浓度的升高而增强(图 2)。对于破坏细胞膜的抗微生物多肽来说, 可以进入胞内与胞内的相关靶标相互作用, 而大多破坏细胞膜的抗微生物多肽带正电荷, 可以与胞内的带负电的组分相互作用, 特别是与核酸相互作用^[25-28]。实验结果表明, 蝎毒多肽 Ctry2459 与核酸没有直接的相互作用(图 3), 说明其胞内的直接作用靶标不是核酸, 具体的胞内靶标需要下一步进行更深入的探究。

对于杀菌药物来说, 通常会通过 ROS 介导的方式来导致白色念珠菌细胞死亡^[29], 如抗微生物多肽 pleurocidin^[30]与 hepcidin 25^[31]。因此, 我们进一步探究蝎毒多肽 Ctry2459 的杀白色念珠菌活性是否与 ROS 有关。结果表明, 蝎毒多肽 Ctry2459 可以诱导白色念珠菌细胞内的 ROS 积累, 且具有浓度依赖性(图 4)。因此, Ctry2459 的杀白色念珠菌活性与 ROS 有关。对于 ROS 来说, 其由线粒体产生, 同时又可作用于线粒体导致线粒体膜损伤而失能^[32]。为此, 我们进一步验证蝎毒多肽 Ctry2459 是否会影响线粒体功能。结果显示, 蝎毒多肽 Ctry2459 以浓度依赖性方式导致线粒体膜去极化(图 5)。由此可见, 蝎毒多肽 Ctry2459 的杀白色念珠菌效应与 ROS 介导的线粒体损伤相关。由于 ROS 积累和线粒体去极化在介导细胞凋亡过程中起着至关重要的作用, 我们进一步探究蝎毒多肽 Ctry2459 是否会导致白色念珠菌细胞凋亡。结果表明, 蝎毒多肽 Ctry2459 不会导致白色念珠菌凋亡, 而是导致白色念珠菌坏死(图 6), 这与抗微生物多肽 pleurocidin 与 hepcidin 25 不同^[30-31], 但与抗微生物多肽 MK58911 和抗真菌剂 4-AN 相似^[33-34]。因此, 蝎毒多肽 Ctry2459 主要通过破

坏细胞膜的完整性以及 ROS 介导的细胞坏死来杀死白色念珠菌细胞。

综上所述, 蝎毒多肽 Ctry2459 对白色念珠菌具有良好的抑制杀灭作用且具有时间和浓度依赖性。蝎毒多肽 Ctry2459 通过直接破坏细胞膜的完整性以及通过 ROS 介导的线粒体失能导致细胞坏死的方式杀灭白色念珠菌细胞。蝎毒多肽 Ctry2459 可以作为候选分子或者分子模板用于抗白色念珠菌药物的研发。

参考文献

- [1] Niu C, Wang CL, Yang YJ, Chen RY, Zhang J, Chen HY, Zhuge YZ, Li JQ, Cheng JH, Xu K, Chu MP, Ren CH, Zhang CX, Jia C. Carvacrol induces *Candida albicans* apoptosis associated with Ca^{2+} /calcineurin pathway. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2020, 10: 192.
- [2] Goffena J, Toenjes KA, Butler DK. Inhibition of yeast-to-filamentous growth transitions in *Candida albicans* by a small molecule inducer of mammalian apoptosis. *Yeast: Chichester, England*, 2018, 35(3): 291-298.
- [3] Ding YJ, Li YY, Li ZY, Zhang JL, Lu CH, Wang HX, Shen YM, Du LC. Alteramide B is a microtubule antagonist of inhibiting *Candida albicans*. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2016, 1860(10): 2097-2106.
- [4] Brown JCS, Nelson J, VanderSluis B, Deshpande R, Butts A, Kagan S, Polacheck I, Krysan DJ, Myers CL, Madhani HD. Unraveling the biology of a fungal meningitis pathogen using chemical genetics. *Cell*, 2014, 159(5): 1168-1187.
- [5] Jenssen H, Hamill P, Hancock REW. Peptide antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 2006, 19(3): 491-511.
- [6] Fox JL. Antimicrobial peptides stage a comeback. *Nature Biotechnology*, 2013, 31(5): 379-382.
- [7] Li ZJ, Yuan YP, Li SS, Deng B, Wang Y. Antibacterial activity of a scorpion-derived peptide and its derivatives *in vitro* and *in vivo*. *Toxicon*, 2020, 186: 35-41.
- [8] Choi H, Hwang JS, Lee DG. Identification of a novel antimicrobial peptide, scolopendin 1, derived from

- centipede *Scolopendra subspinipes mutilans* and its antifungal mechanism. *Insect Molecular Biology*, 2014, 23(6): 788–799.
- [9] 李钟杰, 吴文澜, 王勇. 东亚钳蝎多肽资源的药理活性研究进展. *中草药*, 2018, 49(21): 5179–5190.
Li ZJ, Wu WL, Wang Y. Research progress on pharmacological activity of peptides from *Buthus martensii*. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2018, 49(21): 5179–5190. (in Chinese)
- [10] Hong W, Zhang RH, Di ZY, He YW, Zhao ZH, Hu J, Wu YL, Li WX, Cao ZJ. Design of histidine-rich peptides with enhanced bioavailability and inhibitory activity against hepatitis C virus. *Biomaterials*, 2013, 34(13): 3511–3522.
- [11] 胡平, 赵卓冉, 袁亚萍, 李莎莎, 景晓愿, 李钟杰. 中药蛴螬多肽 Probrelin 抗白色念珠菌活性研究. *微生物学报*, 2021, 61(11): 3619–3630.
Hu P, Zhao ZR, Yuan YP, Li SS, Jing XY, Li ZJ. Activity of the antimicrobial peptide probrelin from traditional Chinese medicine grub against *Candida albicans*. *Acta Microbiologica Sinica*, 2021, 61(11): 3619–3630. (in Chinese)
- [12] Alby K, Schaefer D, Bennett RJ. Homothallic and heterothallic mating in the opportunistic pathogen *Candida albicans*. *Nature*, 2009, 460(7257): 890–893.
- [13] Ganguly S, Mitchell AP. Mucosal biofilms of *Candida albicans*. *Current Opinion in Microbiology*, 2011, 14(4): 380–385.
- [14] Dadar M, Tiwari R, Karthik K, Chakraborty S, Shahali Y, Dhama K. *Candida albicans*-biology, molecular characterization, pathogenicity, and advances in diagnosis and control—an update. *Microbial Pathogenesis*, 2018, 117: 128–138.
- [15] Costa-de-Oliveira S, Rodrigues AG. *Candida albicans* antifungal resistance and tolerance in bloodstream infections: the triad yeast-host-antifungal. *Microorganisms*, 2020, 8(2): 154.
- [16] Brion LP, Uko SE, Goldman DL. Risk of resistance associated with fluconazole prophylaxis: systematic review. *Journal of Infection*, 2007, 54(6): 521–529.
- [17] Liu SY, Hou YL, Chen X, Gao Y, Li H, Sun SJ. Combination of fluconazole with non-antifungal agents: a promising approach to cope with resistant *Candida albicans* infections and insight into new antifungal agent discovery. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2014, 43(5): 395–402.
- [18] Wu WL, Li ZJ, Li JB, Liang J. Research progress on medicinal values of scorpion venom components. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, 2017, 42(17): 3294–3304.
- [19] Li ZJ, Xu XB, Meng LX, Zhang Q, Cao LY, Li WX, Wu YL, Cao ZJ. Hp1404, a new antimicrobial peptide from the scorpion *Heterometrus petersii*. *PLoS One*, 2014, 9(5): e97539.
- [20] Fan Z, Cao LY, He YW, Hu J, Di ZY, Wu YL, Li WX, Cao ZJ. Ctriporin, a new anti-methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* peptide from the venom of the scorpion *Chaerilus tricostatus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2011, 55(11): 5220–5229.
- [21] Zhao ZH, Ma YB, Dai C, Zhao RM, Li S, Wu YL, Cao ZJ, Li WX. Imcroporin, a new cationic antimicrobial peptide from the venom of the scorpion *Isometrus maculatus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2009, 53(8): 3472–3477.
- [22] Dai C, Ma YB, Zhao ZH, Zhao RM, Wang Q, Wu YL, Cao ZJ, Li WX. Mucroporin, the first cationic host defense peptide from the venom of *Lychas mucronatus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2008, 52(11): 3967–3972.
- [23] Fjell CD, Hiss JA, Hancock REW, Schneider G. Designing antimicrobial peptides: form follows function. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2012, 11(1): 37–51.
- [24] Ma HL, Zhao XY, Yang LB, Su PP, Fu P, Peng J, Yang N, Guo G. Antimicrobial peptide AMP-17 affects *Candida albicans* by disrupting its cell wall and cell membrane integrity. *Infection and Drug Resistance*, 2020, 13: 2509–2520.
- [25] Soman NR, Baldwin SL, Hu G, Marsh JN, Lanza GM, Heuser JE, Arbeit JM, Wickline SA, Schlesinger PH. Molecularly targeted nanocarriers deliver the cytolytic peptide melittin specifically to tumor cells in mice, reducing tumor growth. *The Journal of Clinical Investigation*, 2009, 119(9): 2830–2842.
- [26] Phadke SM, Islam K, Deslouches B, Kapoor SA, Stolz DB, Watkins SC, Montelaro RC, Pilewski JM, Mietzner TA. Selective toxicity of engineered *Lentivirus* lytic peptides in a CF airway cell model. *Peptides*, 2003, 24(8): 1099–1107.
- [27] Sousa D, Porto W, Silva M, Da Silva T, Franco O. Influence of cysteine and tryptophan substitution on DNA-binding activity on maize α -hairpinin antimicrobial peptide. *Molecules*, 2016, 21(8): 1062.

- [28] Wang XM, Teng D, Mao RY, Yang N, Hao Y, Wang JH. Combined systems approaches reveal a multistage mode of action of a marine antimicrobial peptide against pathogenic *Escherichia coli* and its protective effect against bacterial peritonitis and endotoxemia. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2016, 61(1): e01056–e01016.
- [29] Belenky P, Camacho D, Collins JJ. Fungicidal drugs induce a common oxidative-damage cellular death pathway. *Cell Reports*, 2013, 3(2): 350–358.
- [30] Cho J, Lee DG. Oxidative stress by antimicrobial peptide pleurocidin triggers apoptosis in *Candida albicans*. *Biochimie*, 2011, 93(10): 1873–1879.
- [31] Chen RC, Lan CY. Human antimicrobial peptide hepcidin 25-induced apoptosis in *Candida albicans*. *Microorganisms*, 2020, 8(4): 585.
- [32] Terman A, Gustafsson B, Brunk UT. The lysosomal-mitochondrial axis theory of postmitotic aging and cell death. *Chemico-Biological Interactions*, 2006, 163(1/2): 29–37.
- [33] De Lacorte Singulani J, Galeane MC, Ramos MD, Gomes PC, Dos Santos CT, De Souza BM, Palma MS, Almeida AMF, Giannini MJSM. Antifungal activity, toxicity, and membranolytic action of a mastoparan analog peptide. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2019, 9: 419.
- [34] Martyna A, Masłyk M, Janeczko M, Kochanowicz E, Gielniewski B, Świercz A, Demchuk OM, Kubiński K. Antifungal agent 4-AN changes the genome-wide expression profile, downregulates virulence-associated genes and induces necrosis in *Candida albicans* cells. *Molecules: Basel, Switzerland*, 2020, 25(12): 2928.

(本文责编 张晓丽)