

# 新疆家蚕抗菌肽抗菌作用的超微结构 观察及抗菌机理初探

刘忠渊 金芝赛 郑树涛 徐 涛 张富春\*

(新疆大学生命科学与技术学院 新疆生物资源基因工程重点实验室 乌鲁木齐 830046)

**摘要:** 为探讨基因工程表达的新疆家蚕(*Bombyx mori*) 抗菌肽(cecropin XJ) 的抗菌机制, 通过紫外分光光度法研究抗菌肽的抑菌动力学, 并采用透射电镜观察抗菌肽作用于金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*) 后的超微结构, 对抗菌肽抗菌机理进行初步探讨。结果表明, 抗菌肽抑菌作用比较明显, 抗菌肽的活性与作用时间有关。抗菌肽可能是通过“桶板”模式渗透细胞膜, 从而影响细胞膜的结构和功能, 使细胞膜形成许多孔道, 增强了金黄色葡萄球菌细胞的通透性, 造成细胞内的原生质扩散, 并从孔道向胞外渗漏, 影响了细菌的代谢系统, 从而起到抑菌、杀菌作用。抗菌肽使金黄色葡萄球菌细胞内容物大量渗漏而死亡, 死亡细胞的细胞壁保持完整, 表明细胞膜是抗菌肽作用的主要靶位点。

**关键词:** 新疆家蚕抗菌肽; 金黄色葡萄球菌; 超微结构; 抗菌机理

中图分类号: Q952 文献标识码: A 文章编号: 0250 3263(2008)02- 14 07

## Antimicrobial Effects and Antimicrobial Mechanism of Antimicrobial Peptides from Xinjiang Silkworm

LIU Zhong-Yuan JIN Zhi-Sai ZHENG Shu-Tao XU Tao ZHANG Fu-Chun\*

(College of Life Science and Technology, Xinjiang University, Xinjiang Key Laboratory of Biological Resources and Genetic Engineering, Urumchi 830046, China)

**Abstract:** The purpose of this study was to understand the antimicrobial effects of cecropin XJ expressed by genetic engineering from Xinjiang Silkworm *Bombyx mori*. To further characterize the antimicrobial activity of cecropin XJ, antimicrobial curve was drawn. Ultrastructural observation of *Staphylococcus aureus* treated with cecropin XJ was also performed. It was showed that the ability of cecropin XJ to kill *S. aureus* was effective and time dependent. It might be through the “barrel stave pore” mechanism that cecropin XJ quickly penetrated and damaged the cell membrane. And then cecropin XJ affected cytoplasmic membrane, disturbed the ordered arrangement of membrane lipid, and changed permeability of cytoplasmic membrane, leading to the leaking out of cytoplasmic contents. Finally, the affected *S. aureus* died due to leakage of the cell contents. The cell wall kept intact after cecropin XJ treatment, suggesting that cecropin XJ does not damage cell wall. These results indicate that cytoplasmic membrane is the main target attacked by cecropin XJ.

**Key words:** Cecropin XJ; *Staphylococcus aureus*; Ultrastructure; Antimicrobial mechanism

基金项目 新疆自治区高技术研究与发展计划项目(No. 200311118), 高校科研计划青年教师科研基金项目(No. XJEDU2006S04);

\* 通讯作者, E-mail: fcc@xju.edu.cn;

第一作者介绍 刘忠渊, 男, 讲师, 博士; 研究方向: 分子生物学及基因工程; E-mail: lzy1168@163.com.

收稿日期: 2007-08-15, 修回日期: 2008-01-05

抗菌肽(antimicrobial peptides)是在外源性病原体诱导条件下,生物机体免疫防御系统产生的一类防御性肽类活性物质,具有广谱抗菌、抗原虫、抗病毒、抗真菌和杀伤肿瘤细胞等作用<sup>[1~3]</sup>。更为重要的是抗菌肽对真核细胞几乎没有破坏作用,仅作用于原核细胞及发生病变的真核细胞<sup>[4]</sup>。实验表明,抗菌肽无致畸变作用,无蓄积毒性,还不容易产生抗药性<sup>[5]</sup>。抗菌肽可望成为新一代抗生素的来源和抗菌、抗病毒、抗癌的药物。

抗菌肽结构的多样性决定其功能和作用方式的多样性,因此抗菌肽的抗菌机理没有统一的解释,国内外许多学者对抗菌肽的抗菌机理进行了研究,例如, Melittin 和 Pandinin 是通过 $\alpha$ -螺旋的疏水中心垂直地插入到细胞膜内,破坏膜的正常结构<sup>[6,7]</sup>, Cecropin A 是以“毯式模型”方式作用于脂质双分子层<sup>[8]</sup>。徐进署等利用激光共聚焦扫描显微镜观察了家蚕抗菌肽 CM4 杀菌过程,证明细胞膜结构是 CM4 攻击的首要靶位点<sup>[9]</sup>。尽管国内外学者提出了不同的抗菌肽作用机理,但到目前为止,尚未完全揭示出抗菌肽导致细菌死亡过程的全部细节。

为进一步深入研究抗菌肽杀菌作用的机理,本研究通过分光光度法初步分析新疆家蚕抗菌肽作用于金黄色葡萄球菌的抑菌动力学,采用透射电镜技术观察抗菌肽作用于金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)的形态变化,研究其对细菌超微结构的影响,初步探讨其作用机理。

## 1 材料与方法

**1.1 新疆家蚕抗菌肽** 本实验室通过基因工程方法表达,发酵获得新疆家蚕(*Bombyx mori*)新蚕 3 号抗菌肽 Cecropin XJ<sup>[10]</sup>,浓度为 200 mg/L。

**1.2 仪器** 紫外光谱仪:UV3010 紫外分光光度计(日本 HITACHI 公司);H-600 透射电子显微镜 TEM(日本 HITACHI 公司)。

**1.3 受体菌和试剂** 金黄色葡萄球菌为新疆大学生命科学与技术学院微生物室保存,常用

试剂为分析纯。

**1.4 抗菌肽抑菌活性检测** 将金黄色葡萄球菌在 LB 液体培养基内培养至 OD<sub>600</sub> 值为 0.6,参照琼脂孔穴扩散法<sup>[11]</sup>,取 400  $\mu$ l 菌悬液与 100 ml 固体培养基(含 1.3% 琼脂)在 45 $^{\circ}$ C 混匀,并铺在无菌培养皿中,待凝固后于 4 $^{\circ}$ C 保存备用;使用时,在平皿中打直径为 2 mm 的若干小孔,并在孔中分别滴入 10  $\mu$ l 抗菌肽,37 $^{\circ}$ C 条件下培养过夜。第二天测量抑菌圈大小。以氨苄青霉素(10  $\mu$ l, 8 000 U)为阳性对照。5 mg/ml BSA 为阴性对照。

**1.5 抗菌肽对金黄色葡萄球菌生长曲线的影响** 按 1% 的接种量,培养金黄色葡萄球菌至对数生长期,3 000 r/min 离心 5 min,沉淀菌体用 0.1 mol/L pH 7.4 磷酸盐缓冲液稀释为  $1 \times 10^6$  CFU/ml。取 9 份 1 ml 菌液,各加入 100  $\mu$ l 抗菌肽,37 $^{\circ}$ C 培养。分别在 0 min、15 min、30 min、60 min、120 min、180 min、240 min、300 min、360 min 时,用紫外分光光度计测定其 600 nm 波长的吸光值。实验重复 3 次,以确保获得相同的生长趋势曲线。

**1.6 抗菌肽对金黄色葡萄球菌细胞通透性的影响** 参考 Laura 等<sup>[12]</sup>的方法:培养细菌至对数生长期,3 000 r/min 离心 5 min 沉淀菌体,用 0.1 mol/L pH 7.4 磷酸盐缓冲液稀释为  $1 \times 10^6$  CFU/ml。实验分为两组:一组为金黄色葡萄球菌中加入抗菌肽(体积比 10:1),37 $^{\circ}$ C 共同培养 0 min、30 min、60 min、120 min、180 min、240 min、300 min、360 min;另一组菌液中未加抗菌肽,而是加入 2 mg/ml 的 Triton X-100 处理 1 h,使菌体死亡破裂;对照组为稀释菌液。混合液分别经 0.22  $\mu$ m 纤维素酯微孔滤膜过滤,滤液于紫外分光光度计 260 nm 波长测定其吸光值,并计算紫外通透率  $PDL = A/A_t \times 100$ ,A 为菌液中加入抗菌肽后的吸光值或未加抗菌肽的吸光值,A<sub>t</sub> 为菌液中加入 Triton X-100 处理后的吸光值。滤液用琼脂培养,如有菌生长,则该样品无效,以保证实验结果的准确性。

**1.7 透射电镜观察抗菌肽对金黄色葡萄球菌超微结构的影响** 按 1% 的接种量,培养金黄

色葡萄球菌至对数生长期, 3 000 r/min 离心 5 min 沉淀菌体, 用 0.1 mol/L pH 7.4 磷酸盐缓冲液稀释为  $1 \times 10^6$  CFU/ml。取 5 份 1 ml 菌液, 各加入 100  $\mu$ l 抗菌肽, 37  $^{\circ}$ C 培养。分别在培养 0 min、30 min、60 min、120 min、180 min 及过夜时, 将菌液 12 000 r/min 离心 5 min, 沉淀的菌体用 2% 的戊二醛固定 2~4 h, 再用锇酸处理 1.5~2 h, 乙醇及丙酮洗涤 30 min, 环氧树脂包埋, 超薄切片后置于铜网上烘干, 用醋酸铀染色 20 min,

柠檬酸铅染色 20 min, 待镜检。

## 2 结果

2.1 抗菌肽对金黄色葡萄球菌的抑菌活性  
琼脂孔扩散实验检测表明, 过夜培养以后, 在加有 10  $\mu$ l 抗菌肽和氨苄青霉素的孔周围形成一透明抑菌圈, 加有 10  $\mu$ l BSA 的孔周围无抑菌圈 (图 1)。结果表明, 抗菌肽具有很强的抑菌活性。

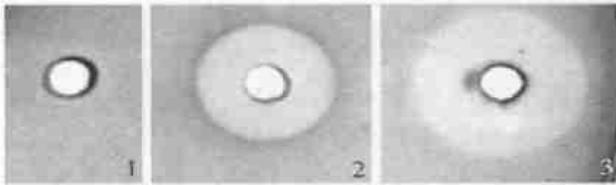


图 1 抗菌肽的抑菌结果

Fig. 1 Cecropin XJ effect on the *S. aureus*

1. 小牛血清白蛋白; 2 抗菌肽; 3. 氨苄青霉素。1. BSA; 2 Cecropin XJ; 3. Ampicillin.

### 2.2 抗菌肽影响金黄色葡萄球菌的生长曲线

图 2 显示, 实验组与对照组在 0~30 min 之间, 菌液的 OD<sub>600</sub> 值均处于上升趋势, 实验组略低于对照组, 表明在 30 min 内抗菌肽就发挥了抗菌作用, 作用较弱; 60 min 后, 实验组 OD<sub>600</sub> 值低于对照组, 表明抗菌肽开始发挥有效的抗菌作用; 120 min 作用效果更明显, 尤其是到 180 min 后, 对照组金黄色葡萄球菌生长旺盛, OD<sub>600</sub> 值增高, 而实验组 OD<sub>600</sub> 值趋于平稳, 表明抗菌肽完全抑制了金黄色葡萄球菌的生长。结果提

示, 抗菌肽抑菌作用迅速、高效, 且与时间呈正相关。

2.3 抗菌肽对金黄色葡萄球菌细胞通透性的影响  
金黄色葡萄球菌经抗菌肽作用后, 与对照相比菌液 260 nm 的紫外吸光度明显升高, 且随着作用时间的延长呈现上升趋势 (图 3); 相应的通透率也大幅度提高, 当作用 150 min 后通透率近 50%, 当作用 360 min 时通透率近 100% (图 3)。说明抗菌肽对金黄色葡萄球菌细胞的通透性作用强, 致使菌体内容物泄漏, 导致细菌死亡。

正常情况下, 细菌细胞的微孔仅容小于 1 nm 的分子通过<sup>[13]</sup>。本实验表明金黄色葡萄球菌在正常情况下不可能有紫外吸收物从细胞渗漏, 当细菌与抗菌肽作用后随着时间延长, 260 nm 波长的紫外吸光度显著升高。金黄色葡萄球菌在与抗菌肽作用 30 min 前只有少量紫外吸收物泄漏, 从 30 min 开始大量的紫外吸收物漏出; 说明随着细菌细胞与抗菌肽作用时间的延长, 细菌细胞通透性屏障受损, 其核心也遭到破坏, 使细胞内的组分包括具有紫外吸收特性的物质漏出。

### 2.4 透射电镜观察抗菌肽对金黄色葡萄球菌

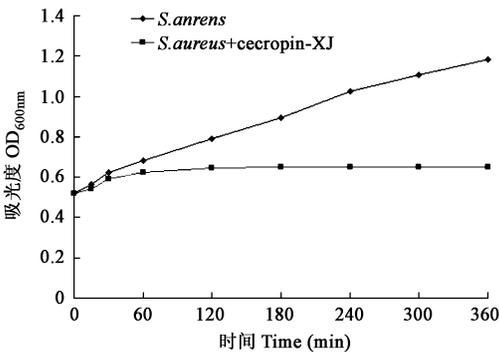


图 2 经抗菌肽作用后的金黄色葡萄球菌生长曲线

Fig. 2 The growth curve of *S. aureus* treated by Cecropin XJ

超微结构的影响 如图 4 所示, A 是正常的、没有被抗菌肽作用的金黄色葡萄球菌细胞, 其结构完整, 表面光滑, 细胞壁层次分明、清晰可见; B 细胞是抗菌肽作用 30 min 的金黄色葡萄球菌细胞, 其表面部分区域变模糊、粗糙, 表明由于抗菌肽的作用, 金黄色葡萄球菌细胞的内容物开始泄漏; C、D、E 细胞分别是抗菌肽作用 60 min、120 min 的金黄色葡萄球菌细胞, 此时的细胞表面模糊、粗糙区域逐渐增大; 至抗菌肽作用 180 min 后, 视野中大多数细胞的表面全部出现模糊、粗糙现象(如 F 细胞), 表明随着时间的延长, 有更多的抗菌肽作用在金黄色葡萄球菌细胞上, 直至整个细胞都被抗菌肽包围, 抗菌肽的作用使细胞内容物外渗并附着在细胞壁上, 细胞表面变模糊、粗糙。

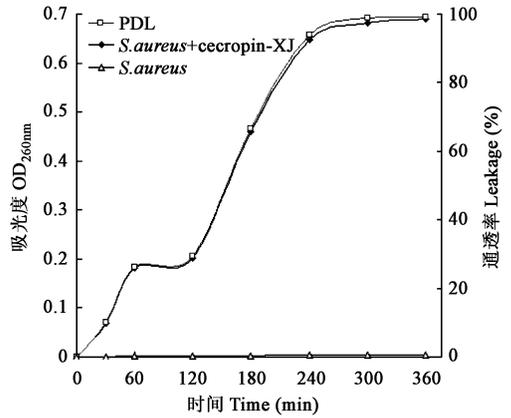


图 3 抗菌肽对金黄色葡萄球菌通透性的影响

Fig. 3 Cecropin XJ effect on membrane permeability of *S. aureus*

PDL. 通透率 Represent leakage (%)

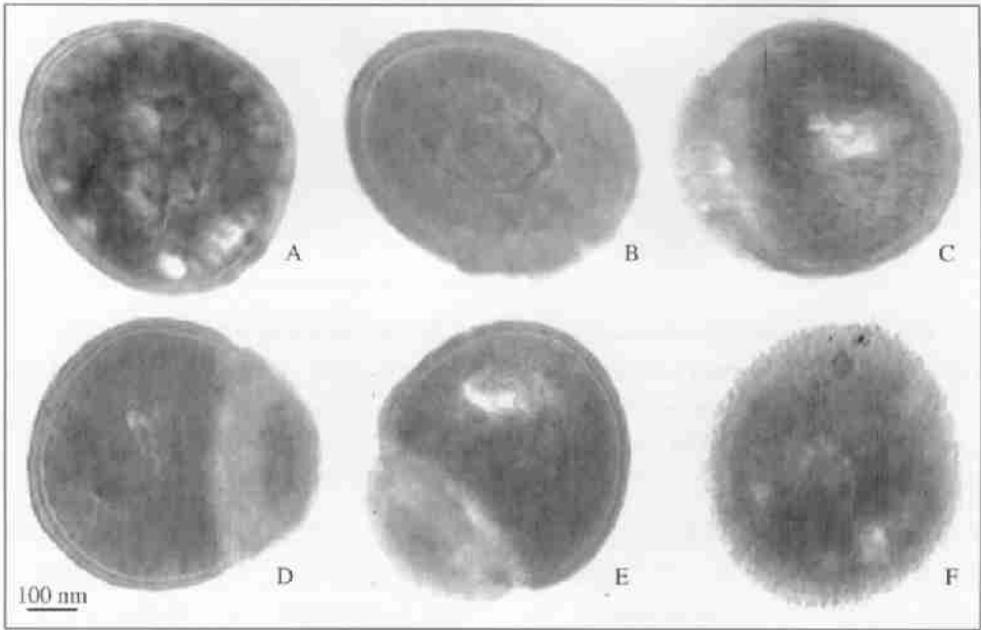


图 4 抗菌肽作用不同时间的金黄色葡萄球菌外部形态透射电镜图(× 60 000)

Fig. 4 Transmission electron micrographs of *S. aureus* untreated (A) and treated with cecropin XJ (B– F) for different times

A: 没有被抗菌肽作用的对照细胞; B: 抗菌肽作用 30 min; C: 抗菌肽作用 60 min; D、E: 抗菌肽作用 120 min; F: 抗菌肽作用 180 min。

A: *S. aureus* was untreated; B: *S. aureus* was treated for 30 min; C: *S. aureus* was treated for 60 min;

D, E: *S. aureus* was treated for 120 min; F: *S. aureus* was treated for 180 min.

研究中发现, 二分裂期金黄色葡萄球菌细胞同样被抗菌肽作用致死(图 5)。A 是正常

的、没有被抗菌肽作用的金黄色葡萄球菌细胞, 其结构完整, 表面光滑, 细胞壁层次分明、清晰

可见; B、C、D 细胞是抗菌肽分别作用 60 min、120 min、180 min 的金黄色葡萄球菌细胞, 此时的细胞表面变模糊、粗糙, 并随着时间的延长, 模糊区域逐渐增大; 但在短时间内, 处于二分裂期的分裂缢痕处的细胞壁光滑、清晰(图 5: B,

C), 到作用 180 min 后, 分裂缢痕处的细胞壁开始模糊(图 5: D), 表明抗菌肽能够在金黄色葡萄球菌细胞分裂缢痕处发挥作用, 使细胞内容物外渗并附着在细胞壁上, 细胞表面变模糊、粗糙。

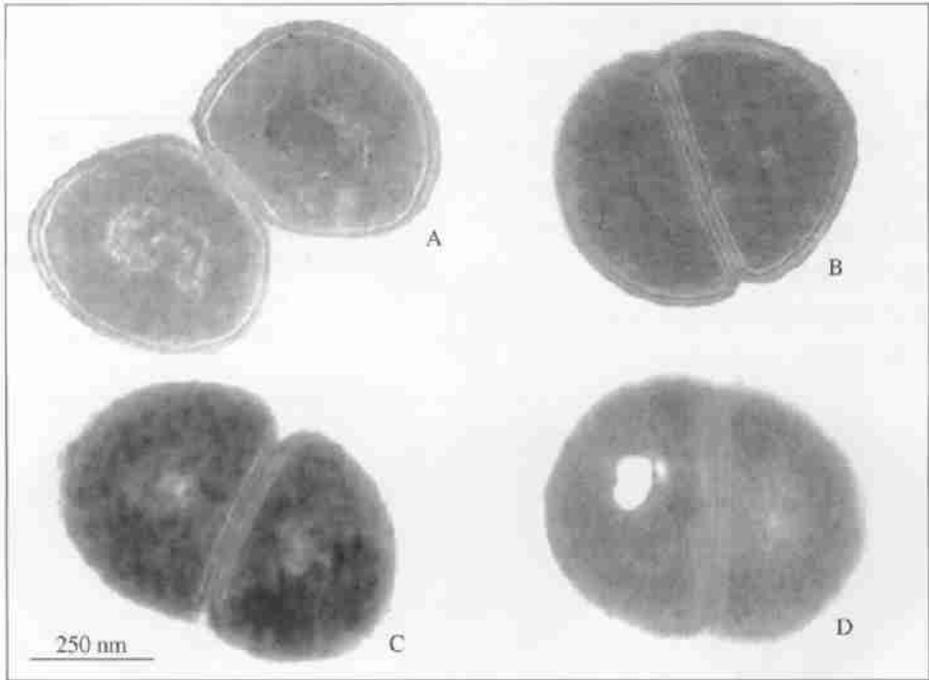


图 5 抗菌肽作用不同时间的二分裂期金黄色葡萄球菌外部形态透射电镜图(× 60 000)

Fig. 5 Transmission electron micrographs of *S. aureus* (in the phase of cell division) untreated (A) and treated with cecropin XJ (B– D) for different times

A: 没有被抗菌肽作用的对照细胞; B: 抗菌肽作用 60 min; C: 抗菌肽作用 120 min; D: 抗菌肽作用 180 min.

A: *S. aureus* was untreated; B: *S. aureus* was treated for 60 min; C: *S. aureus* was treated for 120 min; D: *S. aureus* was treated for 180 min.

用抗菌肽过夜处理金黄色葡萄球菌后, 透射电镜下所观察到的都是中空的结构(图 6: B, C), 其中 B 是处于二分裂初期的细胞。结果表明, 抗菌肽作用于金黄色葡萄球菌细胞, 内容物全部漏出, 但是细胞壁完整, 暗示抗菌肽主要是作用在金黄色葡萄球菌细胞的细胞膜上, 使之内容物泄漏, 导致细菌死亡。

### 3 讨论

迄今为止, 已分离获得 700 多种抗菌肽<sup>[14]</sup>, 大多数抗菌肽可杀死各类微生物, 但对正常的哺乳类动物细胞没有毒性, 可成为有潜

力的新一代药物。抗菌肽结构的多样性决定了其功能的多样性, 不同种类的抗菌肽结构和功能有显著的差异。关于抗菌肽的抗菌机理看法不一, 不管以哪种模式作用, 现在普遍认为抗菌肽分子首先要通过其两亲性  $\alpha$  螺旋上的正电荷与细菌细胞质膜磷脂分子上的负电荷之间的静电吸引而被吸附在细胞质膜上; 其次, 抗菌肽分子中的疏水端借助分子中的连接结构柔性插入细胞质膜上, 从而打乱了质膜上蛋白质和脂质原有的排列顺序; 多个肽分子共同作用形成了离子通道或瞬间通道或孔洞, 导致细胞内容物泄漏和细菌死亡<sup>[15]</sup>。

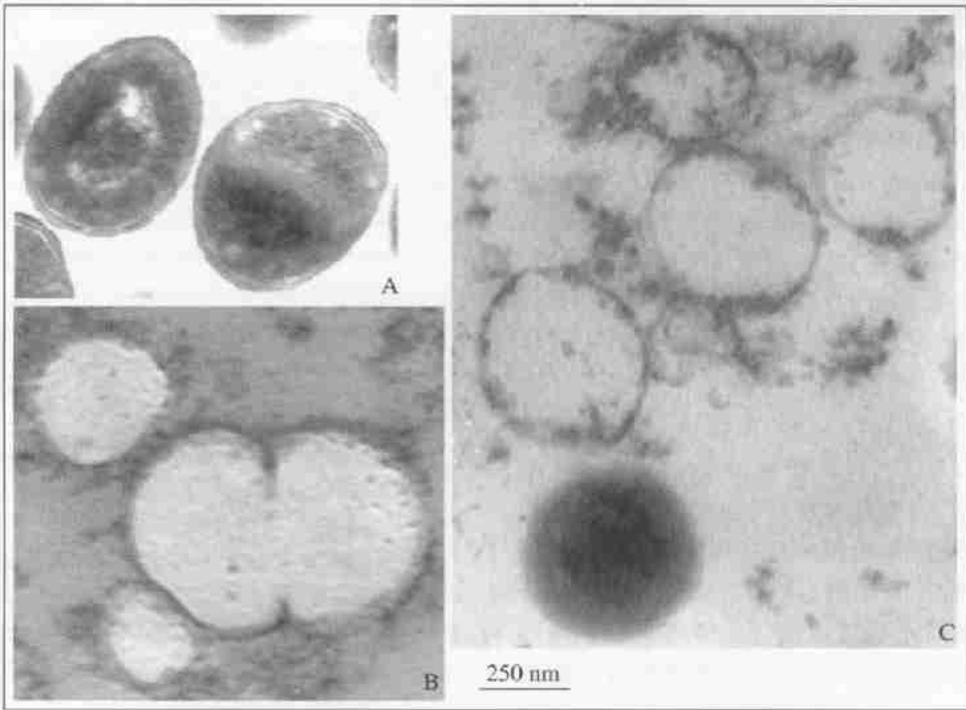


图6 经抗菌肽过夜处理的金黄色葡萄球菌外部形态( $\times 40\ 000$ )

Fig. 6 Transmission electron micrographs of *S. aureus* untreated (A) and treated with cecropin XJ (B, C) overnight

A: 没有被抗菌肽作用的对照细胞; B: 经抗菌肽过夜处理的二分裂期金黄色葡萄球菌; C: 经抗菌肽过夜处理的金黄色葡萄球菌。

A: *S. aureus* was untreated; B: *S. aureus* (in the phase of cell division) was treated overnight; C: *S. aureus* was treated overnight.

目前抗菌肽对磷脂膜的渗透有两种比较公认的模式<sup>[16]</sup>:“桶板”模型(barrel-stave pore)和“毯式”模型(carpet model),不同类型的抗菌肽可能采用不同模式的作用机制。根据“毯式”模型,当抗菌肽结合到磷脂膜的表面,以地毯的方式覆盖,形成瞬间的孔洞,引起膜的渗透乃至崩溃;而根据“桶板”模型,多肽彼此识别,多聚体化,形成了跨膜核心。

本实验采用透射电镜研究了新疆家蚕抗菌肽对金黄色葡萄球菌的作用过程。结果发现,抗菌肽处理金黄色葡萄球菌,细胞表面部分区域变模糊、粗糙,并且随着时间的延长模糊、粗糙的区域在增大,表明抗菌肽的作用使金黄色葡萄球菌内容物泄漏,是导致细菌死亡的主要原因,且作用效果与时间呈正相关;在经过长时间的抗菌肽处理的金黄色葡萄球菌细胞是中空的圆环结构,细胞壁完整,处于二分裂初期的细

胞也有同样的结果,提示抗菌肽主要是作用在金黄色葡萄球菌细胞的细胞膜上,使之内内容物泄漏,导致细菌死亡。王云起等研究发现抗菌肽 magainin II 以“毯式”作用方式瓦解了 *E. coli* 的外壁到达内膜,抗菌肽分子环绕着菌体切断胞膜,使 *E. coli* 细胞从中部断裂成两节<sup>[17]</sup>。假设新疆家蚕抗菌肽采用“毯式”作用模型杀菌,则金黄色葡萄球菌细胞应该是断裂、残缺的,而在透射电镜下却未观察到此类细胞残骸。推测新疆家蚕抗菌肽很可能是通过“桶板”模式渗透细胞膜,几个抗菌肽分子多聚体化,插入细胞膜形成孔洞,使细胞内容物从孔道向胞外渗漏,影响了细菌的代谢系统从而起到抑菌杀菌作用,关于抗菌肽的膜定位方式有待于进一步的研究。

抗菌肽对细菌的抑制和杀灭作用可用菌液光吸收值的变化来检测,研究发现,当金黄色葡

萄球菌悬液加入抗菌肽后,其对细菌的杀伤作用迅速表现出来,抗菌肽抑菌作用迅速、高效,且与时间呈正相关。抗菌肽对金黄色葡萄球菌细胞通透性影响的研究发现,随着抗菌肽作用时间延长,260 nm 波长的紫外吸光度显著升高,推测抗菌肽可能扰乱质膜分子的排列,改变了细胞膜的通透性,在细胞膜上形成许多孔道,胞内大量的紫外吸收物漏出。这与电镜观察到内容物泄漏的结果一致,表明抗菌肽可能通过膜上孔道进入细胞,破坏细胞质中低电子密度核区的DNA,与DNA结合,使细菌DNA原本紧凑的结构变松散,细胞松散的DNA片段、原生质扩散,从孔道向胞外渗漏,造成溶液的紫外吸收值升高,进而影响细胞膜的结构和功能,破坏细菌的正常生理代谢,从而起到抑菌、杀菌作用。但抗菌肽是否可以通过孔道进入细胞内影响基因的复制与转录?对此还需要更深入的研究。从本实验结果也可以看出,抗菌肽抗菌机理与通过抑制细菌的大分子生物合成来发挥作用的传统抗生素的抗菌机理完全不同,细菌不易对抗菌肽产生耐药性,抗菌肽有望成为新一代替代抗生素的抗菌药物,因而对抗菌肽进一步研究有重要的理论意义和实际应用价值。

## 参 考 文 献

- [ 1 ] Hu Y L, Hu T S, Lin S K, *et al.* The site directed mutagenesis and expression of cecropin B gene. *Pharmaceutical Biotechnology*, 1999, **6**(4): 193~ 197.
- [ 2 ] Jaynes JM, Cartherine A, Burton C A, *et al.* *In vitro* cytotoxic effect of novel lytic peptides on *Plasmodium falciparum* and *Trypanosoma cruzi*. *FASEB J*, 1988, **2**(13): 2 878~ 2 883.
- [ 3 ] Koczulla A R, Bals R. Antimicrobial peptides: current status and therapeutic potential. *Drugs*, 2003, **63**: 389~ 460.
- [ 4 ] 吴代飞,曾宪松,张银东等.抗菌肽B基因的点突变及在昆虫细胞中的表达. *热带作物学报*. 1999, **20**(3): 54~ 58
- [ 5 ] Pag U, Oedenkoven M, Papo N, *et al.* *In vitro* activity and mode of action of diastereomeric antimicrobial peptides against bacterial clinical isolates. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2004, **53**: 230~ 239.
- [ 6 ] Toraya S, Nishimura K, Naito A. Dynamic structure of vesicle bond melittin in a variety of lipid chain lengths by solid state NMR. *Biophys J*, 2004, **87**: 3 323~ 3 335
- [ 7 ] Nomura K, Corzo G, Nakajima T, *et al.* Orientation and pore forming mechanism of a scorpion pore forming peptide bound to magnetically oriented lipid bilayers. *Biophys J*, 2004, **87**: 2 497 ~ 2 507.
- [ 8 ] Marassi F M, Opella S J, Juvvadi P, *et al.* Orientation of cecropin A helices in phospholipid bilayers determined by solid state NMR spectroscopy. *Biophys J*, 1999, **77**: 3 152~ 3 155.
- [ 9 ] 徐进署,张双全.家蚕抗菌肽CM4组分杀菌机理的激光共聚焦显微镜观察. *自然科学进展*, 2001, **11**(10): 1 105 ~ 1 109.
- [ 10 ] 刘忠渊,张富春,蔡伦等.酵母菌中表达的新疆家蚕抗菌肽的特性研究. *微生物学报*, 2003, **43**(5): 635~ 641.
- [ 11 ] Hultmark D, Steiner H, Rasmuson T, *et al.* Purification and properties of three inducible bactericidal proteins from hemolymph of immunized pupae of *Hydophora cecropia*. *European Journal of Biochemistry*, 1980, **106**: 7~ 16.
- [ 12 ] Laura M, Romano D, Daniela M. The novel antimicrobial peptide ceratoxin A alters permeability of the inner and outer membrane of *Escherichia coli* K-12. *Current Microbiology*, 1996, **33**: 40~ 43.
- [ 13 ] 翟培,韩晋辉,侯丽霞等.家蝇抗菌肽的抑菌动力学研究及其机理初探. *中国生物工程杂志*, 2006, **26**(11): 33 ~ 39.
- [ 14 ] Wei S Y, Wu J M, Kuo Y Y, *et al.* Solution structure of a novel tryptophan rich peptide with bidirectional antimicrobial activity. *Journal of Bacteriology*, 2006, **188**(1): 328~ 334
- [ 15 ] Hirami S, Jimmy B F. Peptide-membrane interactions and mechanisms of membrane destruction by amphipathic  $\alpha$  helical antimicrobial peptides. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2006, **1 758**: 1 245~ 1 256.
- [ 16 ] Tim S, Chenghao L, Alexander S. Structure of antimicrobial peptides and lipid membranes probed by interface sensitive X-ray scattering. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2006, **1 758**: 1 483~ 1 498.
- [ 17 ] 王云起,蔡继业,马淑媛等.抗菌肽magainin II对 *E. coli* 杀伤作用的AFM观察. *电子显微学报*, 2006, **25**(1): 52~ 56.