

# 抗菌肽 BF2-A/B 对细菌表面特性的影响及与脂质体的相互作用

郝刚<sup>1\*</sup> 乐国伟<sup>2</sup> 施用晖<sup>2</sup> 唐俊妮<sup>1</sup>

(1. 西南民族大学 生命科学与技术学院 四川 成都 610041)

(2. 江南大学 食品学院 江苏 无锡 214122)

**摘要:** 研究抗菌肽 Buforin II 的衍生肽 BF2-A/B 对细菌表面特性的影响, 以及与脂质体的作用模式。Zeta 电位仪和十六烷萃取法检测发现 BF2-A/B 作用  $G^-$  菌和  $G^+$  菌后, 能够提高细胞表面电负性和疏水性。选用卵磷脂和心磷脂制备包裹钙黄绿素的脂质体, 模拟细菌胞膜, 考察发现 BF2-A/B 能够引起荧光素从脂质体中泄漏, BF2-B 对膜的扰动作用更大, 引起的泄漏率比 BF2-A 高, 但它们都不破裂脂质体膜。用 FITC 标记衍生肽, 研究发现加入脂质体后, FITC-肽荧光光谱蓝移, 量子产率增大, 并且脂质体保护 FITC-肽免受丙烯酰胺的荧光淬灭, 说明 BF2-A/B 的 N-端插入了脂质体的磷脂双分子层中。

**关键词:** 抗菌肽, Buforin II, 细菌, 表面特性, 脂质体

## Antimicrobial peptides, BF2-A/B, on the influence to bacterial surface characteristics and interaction with liposomes

HAO Gang<sup>1\*</sup> LE Guo-Wei<sup>2</sup> SHI Yong-Hui<sup>2</sup> TANG Jun-Ni<sup>1</sup>

(1. College of Life Science and Technology, Southwest University for Nationalities, Chengdu, Sichuan 610041, China)

(2. School of Food Science and Technology, JiangNan University, Wuxi, Jiangsu 214122, China)

**Abstract:** In this paper, the influence to bacterial surface characteristics and interaction mode with liposomes of antimicrobial peptides BF2-A and BF2-B, two analogues of Buforin II, had been researched. The both peptides could enhance the electronegativity and hydrophobicity of cell surface of Gram-positive bacteria and Gram-negative bacteria, which determined by Zeta potential electrometer and hexadecane extraction, respectively. BF2-A/B could cause calcein release from large unilamellar liposomes consisted of the anionic lipid phosphatidylglycerol and the zwitterionic lipid phosphatidyl-

choline, which reflected the compositions of bacterial cytoplasmic membrane. BF2-A displayed much weaker leakage than that of BF2-B, suggesting that BF2-B might cause perturbation of the phospholipid bilayer of the plasma membrane. However, BF2-A/B didn't collapse the membrane of liposomes. Then the peptides were labeled with FITC. The blue shift of fluorescence spectra and the augmentation of quantum yield of FITC-peptides were discovered after the addition of liposomes. And the fluorescence quenching of FITC-peptides by acrylamide was prevented under the protection of liposomes, which implied that the N-terminal of BF2-A/B inserted into the phospholipid bilayer of membrane.

**Keywords:** Antimicrobial peptide, Buforin II, Bacteria, Surface characteristics, Liposomes

自 20 世纪 70 年代瑞典科学家 Boman 等<sup>[1]</sup>在蚕血淋巴中首次发现抗菌肽后,人们相继在两栖动物、昆虫、鱼类、哺乳动物等<sup>[2-3]</sup>各种生物中发现了大量的抗菌肽。抗菌肽不仅对细菌和真菌有广谱抗菌性,而且还能有效抑杀病毒、寄生虫,还具有抑制肿瘤细胞生长的作用,因此在医药、食品工业、畜牧业和农业领域有着广阔的应用前景<sup>[2]</sup>。抗菌肽种类繁多,不同抗菌肽抑菌的作用机制不同,尚没有一个涵盖所有抗菌肽作用机理的理论。目前假设的作用机理有破坏细胞膜、抑制生物大分子的合成、破坏细胞器引起 DNA 断裂、抑制酶活性等。由于天然抗菌肽大多以细胞膜为主要作用靶点,因此各国学者研究抑菌机理主要集中在膜作用机制上<sup>[4-5]</sup>。

抗菌肽 Buforin II 是韩国学者 Park 等人<sup>[6]</sup>从亚洲蟾蜍的胃组织中分离纯化的有 21 个残基的抗菌肽。Buforin II 抗菌活性很强,抗菌谱广<sup>[7]</sup>, Park 等人在研究它的构效关系时,在其 N-端截去了 4 个冗余残基后产生了一个衍生肽,它的抑菌活性比 Buforin II 还要强<sup>[8]</sup>。在本实验室的前期研究中,我们将此衍生肽命名为 BF2-A (RAGLQFPVGRVHRLLRK),并在其结构特征基础上,设计并化学合成了一个新的衍生肽,命名为 BF2-B (RAGLQFPLGRLLRLLRLLR)<sup>[9]</sup>。研究发现 BF2-B 的抗菌活性比 BF2-A 强,杀菌也比 BF2-A 迅速。为了研究 2 个衍生肽对细菌细胞质膜的相互作用,本文考察了 BF2-A/B 对 G<sup>-</sup>菌(大肠杆菌)和 G<sup>+</sup>菌(金黄色葡萄球菌)的细胞表面电荷及疏水性的影响,并选取卵磷脂(不带电荷)和心磷脂(带负电荷)作为磷脂双分子层的成分,构建脂质体,模拟带负电荷的细菌细胞膜的结构,研究了衍生肽与脂质体的作用模式。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 菌种:** 大肠杆菌(*Escherich coli* ATCC 25922)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus* 6538), 本实验室保藏。

**1.1.2 衍生肽 BF2-A/B:** 目的肽由上海波泰生物科技有限公司采用固相化学合成法合成,纯度 $\geq 95\%$ 。

**1.1.3 试剂与设备:** 蛋黄卵磷脂(磷脂酰胆碱), 蛋黄心磷脂(磷脂酰甘油), 钙黄绿素(Calcein), 生工生物工程(上海)有限公司; 异硫氰酸荧光素(FITC), 北京拜尔迪生物技术有限公司; Sizer 2000 Zeta 电位测定仪, 英国 Malvern 公司; Zenyth 3100 荧光/化学发光分析仪, Anthos 公司; 二元中高压半制备系统, Amersham Pharmacia 公司; 650-60 荧光分光光度计, 日本日立公司。

### 1.2 抗菌肽对细菌细胞表面特性的影响

**1.2.1 抗菌肽对细菌表面电荷的影响:** 将培养至稳定期的待测菌液离心, 无菌超纯水洗涤 2 次并重悬, 加入抗菌肽溶液使终浓度为 5 mg/L, 混匀, 37 °C 孵育 10 min, 用 1 mmol/L KNO<sub>3</sub> (pH 6.2) 溶液清洗 2 次, 重悬并稀释至 10<sup>7</sup> CFU/mL, 室温下用 Zeta 电位测定仪测细菌表面电位。以加无菌水的菌液为阴性对照。

**1.2.2 抗菌肽对细菌表面疏水性的影响:** 将培养至稳定期的待测菌液离心, 无菌生理盐水洗涤 2 次, 用 0.1 mol/L KNO<sub>3</sub> (pH 6.2) 溶液重悬至 10<sup>8</sup> CFU/mL, 加入抗菌肽使终浓度为 5 mg/L, 阴性对照为加入生理盐水, 混匀, 37 °C 孵育 15 min, 取菌液在 600 nm 处测 OD 值(OD<sub>0</sub>); 再取 1.2 mL 菌液加入 0.2 mL 十六烷, 混匀, 室温孵育 10 min, 两相完全分离, 15 min 后移取水相测 OD 值(OD<sub>1</sub>)<sup>[10]</sup>。实验重复 3 次, 取具有代

表性的一组数据。细菌吸附率 $= (1-OD_1/OD_0) \times 100\%$ 。

1.3 抗菌肽与脂质体的相互作用

1.3.1 包裹荧光素的脂质体制备: 称取 0.2 g 磷脂(卵磷脂与心磷脂质量比为 4:1)于烧杯中, 加无水乙醚 30 mL 溶解, 加 10 mL 50 mmol/L 钙黄绿素/PBS 溶液, 如果是制备空白脂质体, 则直接加入 10 mL PBS 溶液, 搅匀。置超声波细胞粉碎机, 功率 200 W, 冰浴间歇式超声 30 min, 直至溶液不分层, 产生均一相。然后置旋转蒸发仪上减压蒸发(0.03 MPa)除去乙醚, 温度 $<40\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 直至溶液呈胶状。补足 PBS 溶液 1–2 mL, 将瓶壁凝胶洗脱, 0.09 MPa 压力下再次蒸发 15–30 min, 充氮气至乙醚味消失。形成的脂质体通过直径 0.22  $\mu\text{m}$  的聚碳酸酯滤器挤出, 得到大单层囊泡<sup>[11]</sup>。再上葡聚糖凝胶 G-50 柱(1.5 cm $\times$ 30 cm), PBS 缓冲液(pH 7.4)洗脱, 分离脂质体和未被包裹的钙黄绿素, 收集脂质体, 4  $^{\circ}\text{C}$  避光保存, 空白脂质体则无需分离。

1.3.2 抗菌肽引起包裹荧光素的脂质体的泄漏: 在 96 孔细胞培养板上, 每孔加入 100  $\mu\text{L}$  包裹了钙黄绿素的脂质体, 再加入 100  $\mu\text{L}$  不同浓度的抗菌肽 BF2-A/B, 室温下孵育 5 min, 荧光/化学发光分析仪检测荧光强度  $F$ , 激发波长为 485 nm, 发射波长为 535 nm。以加入 100  $\mu\text{L}$  的 PBS 缓冲液为阴性对照, 荧光强度为  $F_0$ , 加入 100  $\mu\text{L}$  的 PBS 缓冲液后再加入 2  $\mu\text{L}$  10% 的 Triton X-100 为阳性对照, 荧光强度为  $F_t$ 。实验重复 3 次, 取具有代表性的一组数据。钙黄绿素泄漏率按下式计算:

$$\text{泄漏率}(\%) = (F - F_0) / (F_t - F_0) \times 100\%$$

1.3.3 抗菌肽对脂质体膜破裂实验: 在 96 孔培养板上, 每孔加入 100  $\mu\text{L}$  空白脂质体, 再加 100  $\mu\text{L}$  不同浓度的抗菌肽 BF2-A/B, 室温下孵育 5 min, 荧光/化学发光分析仪检测在 595 nm 处的 OD 值。以加入 100  $\mu\text{L}$  的 PBS 缓冲液为阴性对照, 加入 100  $\mu\text{L}$  的 PBS 缓冲液后再加入 10  $\mu\text{L}$  10% 的 Triton X-100, 为阳性对照。实验重复 3 次, 取具有代表性的一组数据。

1.3.4 异硫氰酸荧光素(FITC)标记抗菌肽: 于冰浴中, 将 FITC 溶解于 pH 9.1 的碳酸盐缓冲液中, 浓度为 1 g/L。吸取 0.5 mL 400 mg/L 的抗菌肽 BF2-A/B

溶液, 加入 1.5 mL FITC 溶液。于 4  $^{\circ}\text{C}$  避光孵育 16 h 后, 加入 500  $\mu\text{L}$  500 mmol/L 的  $\text{NH}_4\text{Cl}$  溶液反应掉残留的 FITC<sup>[8]</sup>。反应液用二元中高压半制备系统分离 FITC-肽和游离的 FITC。柱子为 Superdex Peptide 10/300 GL 凝胶柱, 流速 0.6 mL/min, 洗脱液 PBS 缓冲液。收集到的 FITC-肽真空冷冻干燥, 并按实验要求的浓度重悬于水中, 在  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  保存。

1.3.5 脂质体对 FITC-肽的荧光光谱的影响: 荧光分光光度计在 PBS 缓冲液中测定 FITC-肽的荧光光谱, 加入空白脂质体后, 再测定 FITC-肽的荧光光谱。扫描速度为 120 nm/min, 激发波长 490 nm。

1.3.6 脂质体保护 FITC-肽免受淬灭剂荧光淬灭: 在 96 孔培养板上, 每孔加入 100  $\mu\text{L}$  10 mg/L 的 FITC-肽, 再分别加入 10–50  $\mu\text{L}$  0.5 mol/L 的荧光淬灭剂丙烯酰胺溶液, 用 PBS 缓冲液补足至 200  $\mu\text{L}$ 。脂质体对照组为加入 10–50  $\mu\text{L}$  的淬灭剂后, 再加入 50  $\mu\text{L}$  的空白脂质体, 最后用 PBS 缓冲液补足至 200  $\mu\text{L}$ <sup>[12]</sup>。阴性对照为直接加入 100  $\mu\text{L}$  的 PBS 缓冲液。荧光/化学发光分析仪检测荧光强度  $F$ , 激发波长为 485 nm, 发射波长为 535 nm。 $F_0$  为阴性对照的荧光强度。实验重复 3 次, 取具有代表性的一组数据。

2 结果与分析

2.1 抗菌肽对细菌膜电位的影响

抗菌肽与细菌细胞表面作用是抗菌肽与细菌接触的第一步。从表 1 可以看出, 经抗菌肽 BF2-A/B 处理后, 细菌表面电负性都增强了。BF2-A 引起细菌表面电负性增强的程度要比 BF2-B 大, 并且结果也显示抗菌肽对  $\text{G}^+$  菌细胞表面电荷的改变大于对  $\text{G}^-$  菌的改变。

表 1 抗菌肽对细菌表面 Zeta 电位的影响 Table 1 Effect of the antibacterial peptide on the bacterial cell surface charge			
Antimicrobial peptide concentration (5 mg/L)	细菌表面 Zeta 电位 Zeta potential on the bacterial surface (mV)		
	Negative	BF2-A	BF2-B
<i>Escherichia coli</i> ( $\text{G}^-$ )	−37.0	−38.5	−37.7
<i>Staphylococcus aureus</i> ( $\text{G}^+$ )	−29.5	−37.1	−33.0

## 2.2 抗菌肽对细菌表面疏水性的影响

十六烷是疏水性溶液,它对细菌的吸附率的改变体现了细菌表面疏水性的变化。从表 2 可看出,抗菌肽 BF2-A/B 作用后,细菌表面疏水性都不同程度地提高。其中,BF2-A 对大肠杆菌、BF2-B 对金黄色葡萄球菌的表面疏水性的提高相对较大。这可能是抗菌肽分子中的正电荷残基通过静电作用吸附在带负电荷的细菌表面,使两亲性的疏水性一面暴露在表面,从而提高了细菌表面的疏水性。

表 2 抗菌肽对细菌表面疏水性的影响  
Table 2 Effect of the antibacterial peptide on the bacterial cell surface hydrophobicity

细菌 Bacteria	抗菌肽浓度 Peptide concentration (5 mg/L)	十六烷吸附率 Adsorption rate of hexadecane (%)	
		BF2-A	BF2-B
<i>Escherichia coli</i>	No antimicrobial peptide	0	1.44
	Antimicrobial peptide	3.28	2.56
<i>Staphylococcus aureus</i>	No antimicrobial peptide	4.12	3.80
	Antimicrobial peptide	4.34	7.17

## 2.3 抗菌肽引起钙黄绿素的泄漏

大部分阳离子肽与膜相互作用的研究是通过构建脂质体模型来实施,而磷脂成分的选择反应了细菌质膜的组成,例如带负电的磷脂酰甘油及中性的磷脂酰胆碱。我们使用的脂质体是由卵磷脂及心磷脂按 4:1 (*W/W*)混合组成。通过研究肽引起脂质体包裹的荧光素的泄漏来考察肽与膜作用的方式。从图 1 中可以看出,经过 BF2-A/B 处理后,钙黄绿素都能从脂质体中泄露出来,但 BF2-A 引起的荧光染料泄漏率与 BF2-B 相比要低得多。BF2-B 引起的泄漏是浓度依赖性的,BF2-A 则不是。随着肽浓度增加,即使达到 50 mg/L, BF2-A 引起的荧光素泄漏也没有相应提高,始终低于 30%的泄漏率。而 BF2-B 在 2 mg/L 时,都能引起约 40%的泄漏率。这说明 BF2-B 可能引起质膜的磷脂双分子层的紊乱。

## 2.4 抗菌肽对脂质体膜的破裂

我们随后考察了抗菌肽对脂质体膜的破裂作用,从图 2 可以看出,与阴性对照 PBS 一样,无论

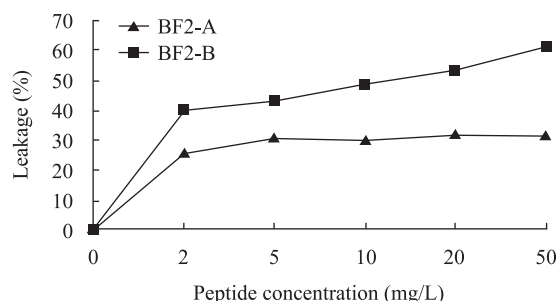


图 1 抗菌肽 BF2-A/B 引起脂质体包裹的荧光染料泄漏率

Fig. 1 Percent leakage of the fluorescent dye calcein from large unilamellar vesicles composed of EYPC/EYPG (4:1) induced by BF2-A and BF2-B

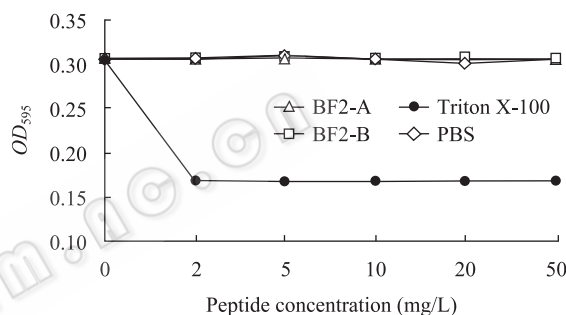


图 2 抗菌肽 BF2-A/B 对脂质体膜的破裂

Fig. 2 The breakage of the membrane of liposomes induced by BF2-A and BF2-B

BF2-A 还是 BF2-B,即使在 50 mg/L 浓度时,都不引起脂质体的膜破裂,而 0.5%的 Triton X-100 就能引起脂质体的全部破裂。这暗示我们,BF2-A/B 可能都不能使细胞质膜崩塌。

## 2.5 脂质体对 FITC-肽的荧光光谱的影响

由于抗菌肽 BF2-A/B 没有色氨酸和酪氨酸残基,因此它们没有自身荧光。我们将异硫氰酸荧光素(FITC)与肽孵育,标记到肽链 N-端自由的-NH<sub>2</sub>基团上,使抗菌肽分子具有荧光。随后检测并比较了加入脂质体前后,FITC-肽的荧光光谱的变化,来估计肽在脂质体膜上的位置。由于 FITC-BF2-A/B 加入脂质体后的荧光光谱几乎是一样的,因此只做出了 FITC-BF2-A 加入脂质体前后的荧光光谱,如图 3 所示。蛋白质分子在极性溶剂中发射的荧光波长比它在非极性溶剂中的要长。即溶剂极性降低,荧光

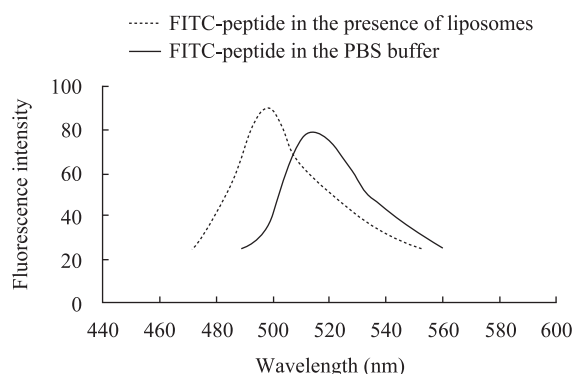


图3 FITC-肽的荧光光谱图

Fig. 3 The change of FITC-peptides fluorescence spectra in the PBS buffer and in the presence of liposomes

光谱蓝移,与此同时,荧光强度增大。当蛋白质或多肽处于极性溶剂中时,若最大荧光强度的波长( $\lambda_{\max}$ )蓝移,则荧光基团必定处于疏水环境。从图3可看出, FITC-肽中加入脂质体后, FITC 基团最大荧光强度的波长从 516 nm 蓝移到 500 nm,同时量子产率也增大了。这说明 FITC 基团是处于膜上磷脂双分子层的疏水环境中。由于 FITC 是标记在肽的 N-端,因此可以推测, BF2-A/B 的 N-端插入到了脂质体的膜中。

## 2.6 脂质体保护 FITC-肽免受淬灭剂丙烯酰胺(Acr)的荧光淬灭

丙烯酰胺(Acr)是一种不带电荷的极性淬灭剂,它通过碰撞过程淬灭荧光基团的荧光,无论荧光基团位于蛋白质的表面还是非极性的内部, Acr 作为探针均能淬灭与其发生碰撞被激发的荧光基团的荧光。为了进一步地说明肽与脂质体的作用,我们检测了在有或无脂质体存在的情况下, 丙烯酰胺对 FITC-肽的荧光淬灭。如图4所示,在 PBS 缓冲液中, BF2-A/B 的荧光基团 FITC 被 Acr 淬灭了,而当加入脂质体后, FITC 受到了脂质体的保护, 荧光淬灭比较轻微。这说明荧光基团位于水溶性淬灭剂无法进入的脂质双分子层的疏水环境中。而 FITC 位于肽链 N-端,结合前文的荧光光谱的试验结果,可得知抗菌肽 BF2-A/B 的 N-端的确包埋进了脂质体的磷脂双分子层中。

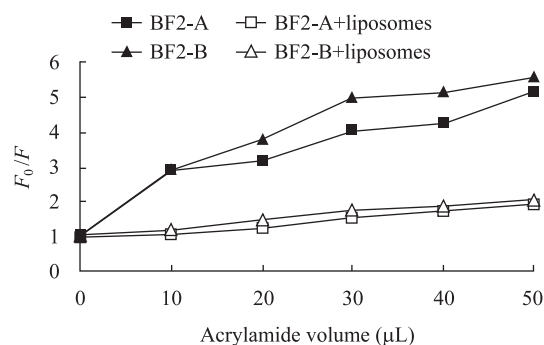


图4 丙烯酰胺对 FITC-肽的荧光淬灭

Fig. 4 FITC fluorescence quenching by acrylamide. FITC-BF2-A (square) and FITC-BF2-B (triangle) solutions were quenched with acrylamide in the absence (solid) or the presence (blank) of liposomes

## 3 讨论

抗菌肽在与细菌作用时首先必须吸附到细胞表面,显而易见的机制为阴离子或阳离子与细菌表面结构的静电结合。阳离子抗菌肽可能首先吸引存在于 G<sup>-</sup>菌外被膜的阴离子,例如位于脂多糖(LPS)上带负电的磷脂或者磷酸盐基团,及 G<sup>+</sup>菌表面的磷壁酸。一旦靠近细菌表面,对于 G<sup>-</sup>菌,肽在能够与质膜作用之前还需要穿过荚膜多糖,其中含 LPS;对于 G<sup>+</sup>菌而言,它们要穿越肽聚糖和磷壁酸。肽到达质膜后,就可以与脂双分子层相互作用。抗菌肽对细菌胞膜的作用是抗菌肽与细胞综合作用的结果,细菌表面电荷与疏水性可以影响抗菌肽与细胞的结合及相互作用。细菌细胞壁可以保护细菌抵抗外界不良环境,防止渗透性溶解并具分子筛的功能<sup>[13]</sup>,也是抗菌肽作用的主要屏障之一。我们推测抗菌肽对细菌表面特性作用会影响抗菌肽与细胞膜的相互作用。因此我们考察了衍生肽 BF2-A/B 对 G<sup>-</sup>菌和 G<sup>+</sup>菌的细胞表面电荷及疏水性的影响,发现它们都提高了细菌表面电负性和疏水性。这说明 BF2-A/B 分子中的正电荷残基通过静电作用吸附在带负电荷的细菌表面,使两亲性的疏水性一面暴露在表面。

我们构建了脂质体模型来研究阳离子肽与膜的相互作用,选取带负电荷的磷脂酰甘油及中性的磷脂酰胆碱作为脂质体的成分,模拟带负电的细菌胞膜。综合肽与脂质体作用模式的研究结果来看,

BF2-A/B 是先结合到脂质体膜上,然后依靠其 N-端的两亲性,插入到磷脂双分子层中。在此过程中,可能扰动了脂质体膜,使脂质体包裹的荧光素泄漏,而 BF2-B 对膜的扰动程度比较大,致使钙黄绿素的泄漏相对 BF2-A 较高,但它们都不能使脂质体膜破裂崩塌。BF2-B 对磷脂双分子层较大的破坏作用可能是它的抑菌活性比 BF2-A 高的原因之一。

## 参考文献

- [1] Boman HG, Nilsson I, Rasmuson B. Inducible antibacterial defense system in *Drosophila*[J]. *Nature*, 1972, 237(5352): 232–235.
- [2] 顾莉娟, 吴健伟, 苏晓庆, 等. 抗菌肽的研究进展[J]. *中国生化药物杂志*, 2006, 27(6): 282–286.
- [3] Zasloff M. Antimicrobial peptides of multicellular organisms[J]. *Nature*, 2002, 415(6870): 389–395.
- [4] Hancock REW, Rozek A. Role of membranes in the activities of antimicrobial cationic peptides[J]. *FEMS Microbiol Lett*, 2002, 206(2): 143–149.
- [5] Gottler LM, Ramamoorthy A. Structure, membrane orientation, mechanism, and function of pexiganan-a highly potent antimicrobial peptide designed from magainin[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1788(8): 1680–1686.
- [6] Park CB, Kim MS, Kim SC. A novel antimicrobial peptide from *Bufo bufo gargarizans*[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1996, 218(1): 408–413.
- [7] Park CB, Kim HS, Kim SC. Mechanism of action of the antimicrobial peptide Buforin II: Buforin II kills microorganisms by penetrating the cell membrane and inhibiting cellular functions[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1998, 244(1): 253–257.
- [8] Park CB, Yi KS, Matsuzaki K, et al. Structure-activity analysis of buforin II, a histone H<sub>2</sub>A-derived antimicrobial peptide: the proline hinge is responsible for the cell-penetrating ability of buforin II [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97(15): 8245–8250.
- [9] Hao G, Shi YH, Tang YL, et al. The membrane action mechanism of analogs of the antimicrobial peptide Buforin 2[J]. *Peptides*, 2009, 30(8): 1421–1427.
- [10] Schär-Zammaretti P, Ubbink J. The cell wall of lactic acid bacteria: surface constituents and macromolecular conformations[J]. *Biophys J*, 2003, 85(6): 4076–4092.
- [11] Zhu WL, Lan HL, Park IS, et al. Design and mechanism of action of a novel bacteria-selective antimicrobial peptide from the cell-penetrating peptide Pep-1[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 349(2): 769–774.
- [12] Imura Y, Nishida M, Ogawa Y, et al. Action mechanism of tachyplesin I and effects of PEGylation[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2007, 1768(5): 1160–1169.
- [13] Reddy KVR, Yedery RD, Aranha C. Antimicrobial peptides: premises and promises[J]. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2004, 24: 536–547.

## 稿件书写规范

### 论文中计量单位的表示方法

为执行国务院发布的《关于在我国统一实行法定计量单位的命令》的规定,计量单位和单位符号按国家技术监督局发布的《量和单位》GB3100-3102-93 执行。单位符号均用英文小写(正体),不允许随便对单位符号进行修饰。现将本刊常用计量单位和符号介绍如下,希望作者参照执行。

时间:日用 d; 小时用 h; 分钟用 min; 秒用 s 等表示。

溶液浓度:用 mol/L, 不用 M (克分子浓度)和 N(当量浓度)等非许用单位表示。

旋转速度:用 r/min, 不用 rpm。

蒸汽压力:用 Pa 或 kPa、MPa 表示。

光密度:用 OD(斜体)表示。

生物大分子的分子量:蛋白质用 D 或 kD, 核酸用 bp 或 kb 表示。

图表中数值的物理量和单位:物理量符号采用斜体,单位用正体并用括号括起,例如:  $t$  (h) (表示时间,单位是小时)。带数值的计量单位:计量单位不能省略,跟数字之间加一空格(%除外),例如: 20 cm×0.3 cm, 不能写成 20×0.3 cm; 3 °C–5 °C 不可写成 3–5 °C; 3%–6%不可写成 3–6%等。