

• 论 著 •

林氏扇头蜱酰胺酶型分泌蛋白表达及抗菌功能

谢子芳^{1,2}, 彭维祺^{1,2}, 李晴^{1,2}, 黎明成^{1,2}, 陈杰^{1,2}, 朱勇川^{1,2}, 赵建国^{1,2*}, 管庆丰^{1,2}

1. 海南大学生命健康学院, 海南 海口 570228; 2. 海南大学全健康研究院, 海南 海口 570228

摘要: **目的** 探究林氏扇头蜱中的酰胺酶型分泌蛋白(R.lnPGRP-SC1a)的抗菌功能,为蜱虫先天免疫中肽聚糖识别蛋白(peptidoglycan recognition proteins, PGRPs)的功能研究提供参考依据。**方法** 依据编码区序列设计特异性引物,提取成蜱的RNA并反转录为cDNA,通过PCR扩增R.lnPGRP-SC1a蛋白基因片段,随后将该基因片段连接至质粒pET32a⁺,从而构建重组表达载体pET32a⁺-R.lnPGRP-SC1a。将该表达载体转入大肠杆菌BL21(DE3)感受态细胞,采用浓度为0.2 mmol/L的IPTG进行低温诱导,促使其在上清中表达,从而获得活性更强的上清蛋白。利用抑菌圈法评估上清蛋白对大肠埃希菌(*E.coli*)和金黄色葡萄球菌(*S. aureus*)2种常见致病细菌的抑菌效果。**结果** 扩增所得的基因片段长度为627 bp,成功构建了原核表达载体pET32a⁺-R.lnPGRP-SC1a。经过低温诱导表达,结果显示该重组蛋白为可溶性蛋白,重组蛋白R.lnPGRP-SC1a的大小约为23.63 kD。抗菌结果表明,在同一浓度下,R.lnPGRP-SC1a蛋白对大肠埃希菌无抑制作用,而对金黄色葡萄球菌有抑制作用。R.lnPGRP-SC1a在浓度为5 mg/mL时开始呈现抑菌作用,且随着浓度的升高,抑菌作用增强。与各浓度卡那霉素的抑菌效果相比,其7 mg/mL的抑菌效果相当于1 mg/mL卡那霉素的抑菌效果。同时,R.lnPGRP-SC1a对金黄色葡萄球菌的起效时间为2 h,抑菌作用可持续48 h。**结论** 本研究成功构建了R.lnPGRP-SC1a重组表达载体,其表达产物具有持久性抗革兰阳性菌的活性,为生物活性抑菌剂的开发提供了可能。

关键词: 林氏扇头蜱; 酰胺酶型 R.lnPGRP-SC1a 蛋白; 蛋白表达; 抗菌作用

中图分类号: R384.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1009-9727(2025)02-161-05

DOI: 10.13604/j.cnki.46-1064/r.2025.02.06

Expression and antibacterial function of amidase-type R.lnPGRP-SC1a in *Rhipicephalus linnaei*XIE Zifang^{1,2}, PEN Weiqi^{1,2}, LI Qing^{1,2}, LI Mingcheng^{1,2}, CHEN Jie^{1,2}, ZHU Yongchuang^{1,2},ZHAO Jianguo^{1,2}, GUAN Qingfeng^{1,2}

1. School of Life and Health Sciences, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China; 2. One Health Research Institute, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China

Corresponding author: ZHAO Jianguo, E-mail: 973878018@qq.com

Abstract: **Objective** To investigate the antibacterial properties of R.lnPGRP-SC1a in *Rhipicephalus linnaei*, and to provide a reference for the functional analysis of peptidoglycan recognition proteins (PGRPs) within the context of tick innate immunity. **Methods** Specific primers were meticulously designed based on the coding region sequence, followed by the extraction of tick RNA of adult ticks and its reverse transcription into cDNA. The *R.lnPGRP-SC1a* gene fragment was subsequently amplified via PCR and then ligated into the plasmid pET32a⁺, thereby constructing the recombinant expression vector pET32a⁺-R.lnPGRP-SC1a. This expression vector was then transferred into *E.coli* BL21 (DE3) competent cells and induced with an IPTG concentration of 0.2 mmol/L at low temperature to enhance protein expression in the supernatant, thereby obtaining a soluble protein with stronger activity. Subsequently, the inhibitory effect of the supernatant protein against two common pathogenic bacteria, *E.coli* and *S.aureus*, was assessed using the agar diffusion method. **Results** The amplified gene fragment was 627 bp in length, and the prokaryotic expression vector pET32a⁺-R.lnPGRP-SC1a was successfully constructed. Low-temperature induction showed that the recombinant protein was soluble protein, with an approximate molecular weight of 23.63 kD. Antibacterial activity results indicated that, at the same concentration, R.lnPGRP-SC1a exhibited no inhibitory effect on *E.coli* but demonstrated significant inhibition against *S.aureus*. Specifically, antibacterial activity became evident at a concentration threshold of 5 mg/mL and increased with the protein concentration. Compared with the inhibitory effects of kanamycin at various concentrations, the inhibitory effect of R.lnPGRP-SC1a at 7 mg/mL was comparable to that of kanamycin at 1 mg/mL. Furthermore, the onset of R.lnPGRP-SC1a inhibitory effect against *S.aureus* was 2 hours, and the effect lasted for 48 hours. **Conclusions** This study successfully constructed the R.lnPGRP-SC1a expression vector, its expressed product exhibited persistent activity against Gram-positive bacteria. Thereby, this provides a potential possibility for the development of bioactive bacteriostatic agents.

Keywords: *Rhipicephalus linnaei*; amidase type R.lnPGRP-SC1a; protein expression; antibacterial activity

基金项目: 海南省自然科学基金高层次人才项目(No. 324RC446)

作者简介: 谢子芳(1998—),女,硕士研究生,研究方向:病媒生物学。

***通信作者:** 赵建国, E-mail: 973878018@qq.com

林氏扇头蜱(*Rhipicephalus linnaei*)作为蜱虫的一种,其广泛分布全球,尤其在热带地区较为常见^[1-2]。它不仅传播多种疾病,危害人类和动物健康,而且严重威胁畜禽产业提质增效^[3-5]。研究蜱虫的抗菌功能,不仅有助于深入了解蜱虫的生存适应性,还可能为新型抗菌药物的研发提供新的思路和方向,为临床治疗提供新的选择。

肽聚糖识别蛋白(peptidoglycan recognition proteins, PGRPs)是昆虫中最重要的模式识别受体(pattern recognition receptors, PRRs),可以识别并结合细菌细胞壁肽聚糖(peptidoglycans, PGN),并在先天免疫中发挥重要作用。昆虫通常缺乏适应性免疫反应,主要依靠先天免疫来抵御多种细菌的入侵^[6-8]。而其先天免疫力主要依赖PRRs与细菌细胞壁肽聚糖之间互动而发挥作用。PGRPs能够识别多种细菌的入侵,通过激活免疫反应和直接杀菌作用,有效抑制细菌的生长和繁殖。在黑腹果蝇及其他昆虫中,已发现PGRPs具有受体识别、发挥调控因子以及效应因子的作用^[9]。部分PGRPs作为效应因子能够直接与细菌细胞壁结合并将其杀灭。这一类型的PGRPs大多可凭借其酰胺酶活性直接杀死细菌,并且不易使细菌产生抗性。

在本研究中,PGRP-SC1a为PGRPs家族中的短型分泌蛋白。筛选具有生物活性的PGRPs并用于人和动物病原菌的临床治疗具有重要意义^[10]。这为生物活性抑菌剂的开发提供了新思路。

1 材料与方法

1.1 试剂与耗材 DH5 α 、BL21(DE3)感受态细胞(康体生物)、Protein marker(购自Thermo公司)、IPTG(购自Sigma公司)、SDS上样缓冲液(购自Amresco公司)、胰蛋白胨和酵母提取物(购自OXOID公司)、0.22 μ m无菌滤器和透析袋(购自Millipore公司)、Ni-IDA亲和层析胶(购自Novagen公司),其他试剂均为国产分析纯。

1.2 实验仪器 Allegra 21R台式高速冷冻离心机(美国BECKMAN公司)、台式高速离心机(德国SORVAL公司)、Mini Protean II垂直平板电泳系统、Gel Doc2000成像系统(美国BIO-RAD公司)、JY92-2D超声波细胞粉碎机(中国新芝科器研究所)、超净工作台(中国苏净集团)等。

1.3 引物设计和序列比对 从NCBI主页GenBank获取R.lnPGRP-SC1a基因(XM_037645056.2),选择上游引物为GGACTAGTTGTCCGGGCGTCACCATA,下游引物为GCTCTAGAAGCAGAAGAACCTCTTA-AGCCT,分别在两引物前添加保护碱基和EcoR I/Hind III。在NCBI查找同源序列,利用MEGA 7和

Gene Doc进行多序列比对。

1.4 人工培育 林氏扇头蜱和新西兰大白兔来自于海南大学生命健康学院病媒生物学实验室,林氏扇头蜱在人工气候箱[条件:温度为(27 $\pm$ 1) $^{\circ}$ C和相对湿度为(90 $\pm$ 5)%]中培育,在新西兰兔背部进行寄生传代。

1.5 RNA提取、cDNA合成 采用Trizol法提取蜱虫中的总RNA,使用反转试剂盒合成cDNA后进行PCR扩增。PCR扩增反应经过变性、梯度退火、延伸,总共35个循环。利用1%琼脂糖凝胶电泳检测目的片段,并对其进行胶回收纯化。

1.6 重组质粒的构建、蛋白表达纯化 载体pET-30a⁺通过EcoR I/Hind III酶切形成线性化后与目的基因连接。测序正确后将该质粒转化至BL21(DE3)感受态细胞。诱导表达,收集细胞,重悬菌体,超声破碎,得到上清重组蛋白,利用Ni-NTA Resin填料与该蛋白在4 $^{\circ}$ C下混合。用洗脱液梯度洗脱,蛋白样品在透析袋中透析过夜。利用SDS-PAGE蛋白凝胶电泳,考马斯亮蓝染色观察该蛋白质分子量大小。

1.7 酰胺酶活性实验 在96孔板中,将来自大肠埃希菌(*E.coli*)、金黄色葡萄球菌(*S.aureus*)的不溶性肽聚糖分别与等量的R.lnPGRP-SC1a、磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)和溶菌酶(lysozyme)混合,溶菌酶组为阳性对照,PBS组为阴性对照。将96孔板置于恒温箱内,利用酶标仪每隔1 h测定一次反应体系在450 nm的吸光值,记录6 h内读数。

1.8 抑菌活性检测 将大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌培养到指数阶段,将其均匀涂至平板之中,随后将等量的重组蛋白R.lnPGRP-SC1a、灭菌蒸馏水、卡那霉素水溶液浸湿药敏纸片(直径10 mm,厚度为0.7 mm)。在恒温箱内倒置培养过夜。灭菌蒸馏水和卡那霉素分别作为阴性对照和阳性对照;将浓度为0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mg/mL卡那霉素等量均匀浸湿药敏纸片且置于金黄色葡萄球菌平板,等量的R.lnPGRP-SC1a涂至平板中间作为对照,培养过夜;将R.lnPGRP-SC1a和卡那霉素等量均匀浸湿药敏纸片且置于金黄色葡萄球菌平板,在恒温箱内倒置培养,观察记录1、2、6、12、24和48 h抑菌圈的情况。

2 结果

2.1 利用ClustalW程序与多个物种的PGRPs进行比对 同源性分析表明,R.lnPGRP-SC1a的氨基酸序列与肩突硬蜱(*Ixodes scapularis*)PGRPSC2之间具有最高的同源性,见图1。此外,NCBI发现R.lnPGRP-SC1a包含1个N-乙酰胞壁酰-L-丙氨酸酰胺酶活性的锌依赖性结构域(<https://www.uniprot.org/uniprotkb/A0A9D4T5S6/entry>)。该结构域能够裂解细菌细胞壁

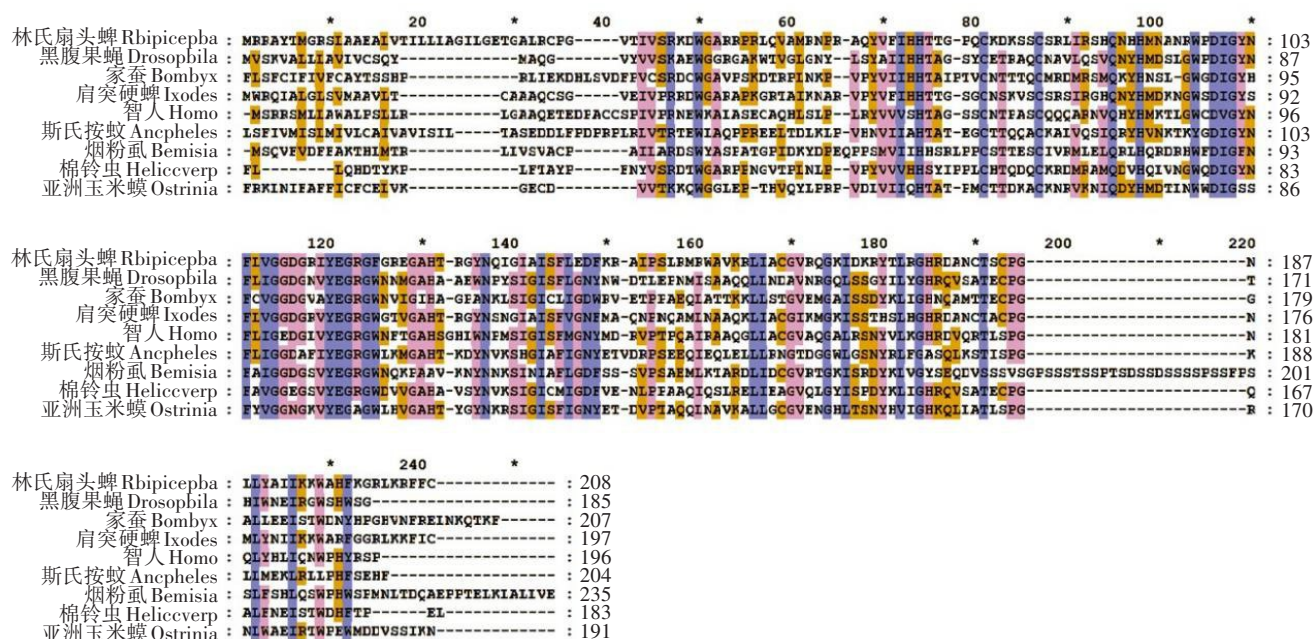


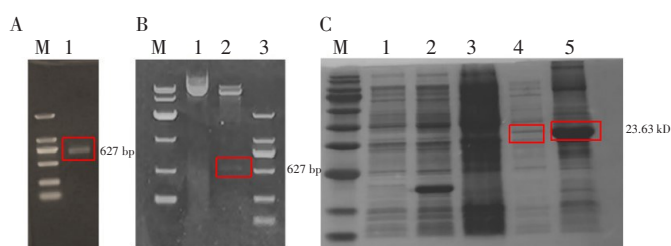
图1 林氏扇头蜱与其他物种的序列比对

Fig. 1 Alignment of *Rhipicephalus linnaei* with other known species homologues

中N-乙酰胞壁酰和L-氨基酸之间的酰胺键,表明该重组蛋白可能含有酰胺酶活性。

2.2 原核表达载体的构建与鉴定 在约627 bp处观察到特异性条带,且其大小与预期一致(图2A)。重组质粒的双酶切结果显示,在约5 900 bp和627 bp(图2B)处分别存在一条特异性条带,与预期片段大小相符,说明重组质粒连接成功。

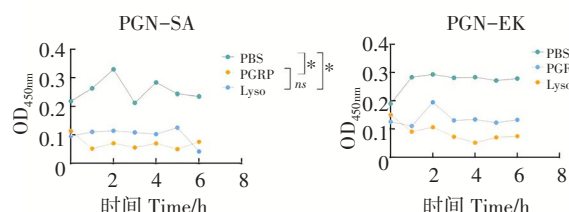
2.3 重组蛋白表达结果 IPTG诱导蛋白表达,结果显示重组蛋白分子量约为23.63 kD(图2C),符合预期。



注: A. M. DL2000 DNA marker, 1. *R.lnPGRP-SC1a* 基因; B. M. DL10000 DNA marker, 1. pET-30a⁺, 2. pET-30a⁺-PGRP 重组质粒, 3. DL2000 DNA marker; C. M. 10~180 kD 蛋白 marker, 1. 未诱导的 pET-30a⁺, 2. IPTG 诱导的空载, 3. 未诱导蛋白, 4. 诱导表达上清蛋白, 5. 诱导表达包涵体蛋白。Note: A. M. DL2000 DNA marker, 1. *R.lnPGRP-SC1a* gene; B. M. DL2000 DNA marker, 1. pET-30a⁺ Plasmid; 2. pET-30a⁺-PGRP recombinant plasmids; 3. DL2000 DNA marker; C. M. 10~180 kD a protein marker; 1. Non-induced pET-30a⁺, 2. Blank vector (pET-30a⁺) non-induced protein; 3. Non-induced protein; 4. The supernatant of induced disruption; 5. Precipitation of induced disruption.

图2 *R.lnPGRP-SC1a* 蛋白基因扩增、双酶切和重组蛋白的表达结果Fig. 2 Amplification, double digestion, and expression of *R.lnPGRP-SC1a* gene

2.4 酰胺酶活性实验结果 该重组蛋白 *R.lnPGRP-SC1a* 对来自大肠埃希菌和金黄色葡萄球菌2种类型的肽聚糖,即PGN-EK和PGN-SA的降解情况表明, *R.lnPGRP-SC1a* 与溶菌酶在降解肽聚糖方面无相同活性,因此该重组蛋白 *R.lnPGRP-SC1a* 无酰胺酶活性,见图3。

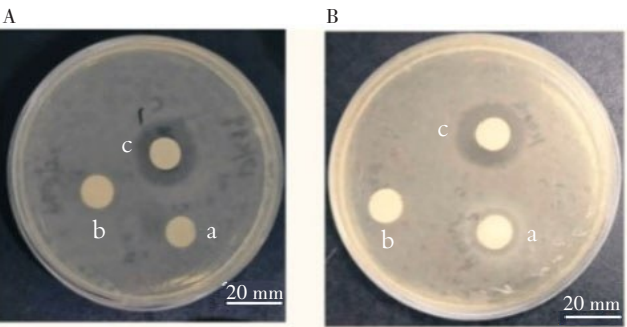


注: PBS. 磷酸盐缓冲液; PGRP. *R.lnPGRP-SC1a*; Lyso. 溶菌酶; *. $P < 0.05$; ns. $P > 0.05$. Note: PBS. phosphate buffered saline; PGRP. *R.lnPGRP-SC1a*; Lyso. Lysozyme; *. $P < 0.05$; ns. $P > 0.05$.

图3 *R.lnPGRP-SC1a*与溶菌酶对肽聚糖的降解作用

2.5 抑菌实验结果 在同一浓度条件下, *R.lnPGRP-SC1a* 蛋白对大肠埃希菌无抑菌作用(图4A),而对金黄色葡萄球菌具有抑菌作用(图4B)。针对不同浓度的 *R.lnPGRP-SC1a* 蛋白的抑菌效果进行研究,发现在1~4 mg/mL浓度范围内, *R.lnPGRP-SC1a* 蛋白无抑菌作用,当浓度达到5 mg/mL时,开始出现抑菌作用,且随着浓度的升高,抑菌效果逐渐增强(表1)。将其与各浓度卡那霉素的抑菌效果进行对比,7 mg/mL的 *R.lnPGRP-SC1a* 蛋白相当于1 mg/mL卡那霉素的抑菌效果(表2)。 *R.lnPGRP-SC1a* 蛋白对金黄色葡萄球菌

的起效时间为 2 h,并且其抑菌作用可持续 48 h,表明该蛋白的抑菌效果具有持久性(表 3)。



注: A: 大肠埃希菌平板; B: 金黄色葡萄球菌平板; a. R.lnPGRP-SC1a 重组蛋白; b. 灭菌蒸馏水; c. 卡那霉素。Note: A: *E.coli* plate; B: *S.aureus* plat; a. R.lnPGRP-SC1a; b. Sterilized distilled water; c. Kanamycin.

图 4 R.lnPGRP-SC1a 重组蛋白抑制细菌繁殖的现象
Fig. 4 The phenomenon in which R.lnPGRP-SC1a inhibit bacterial reproduction

表 1 不同浓度的 R.lnPGRP-SC1a 抑菌效果 mm
Table 1 Bacteriostatic effects of R.lnPGRP-SC1a at different concentrations mm

名称 Name	浓度 Concentrations/(mg·mL ⁻¹)						
	1	2	3	4	5	6	7
金黄色葡萄球菌 <i>S.aureus</i>	0	0	0	0	12.03	12.08	12.11
大肠埃希菌 <i>E. coli</i>	0	0	0	0	0	0	0

表 2 不同时间的卡那霉素抑菌效果 mm
Table 2 Bacteriostatic effects of kanamycin at different concentrations mm

名称 Name	1 h	2 h	3 h	4 h	5 h	6 h
金黄色葡萄球菌 <i>S.aureus</i>	12.11	14.11	16.58	17.09	18.17	18.28
大肠埃希菌 <i>E. coli</i>	0	0	0	0	0	0

表 3 不同时间的 R.lnPGRP-SC1a 抑菌效果 mm
Table 3 Bacteriostatic effects of R.lnPGRP-SC1a at different time mm

名称 Name	1 h	2 h	6 h	12 h	24 h	48 h
金黄色葡萄球菌 <i>S.aureus</i>	0	12.13	12.11	12.08	12.09	12.07
大肠埃希菌 <i>E. coli</i>	0	0	0	0	0	0

3 讨 论

林氏扇头蜱属于吸血节肢动物,在吸血过程中会摄入各种致病细菌。它依靠先天免疫中的 R.lnPGRP-SC1a 蛋白作为效应因子,与其他因子协同发挥作用,从而能够抵制致病细菌的扩散。目前 PGRPs 在黑腹果蝇和家蚕中研究地较为深入,蜱虫相关领域研究的文献较少报道。为了填补蜱虫先天免疫中

PGRPs 功能研究的空白,对林氏扇头蜱 R.lnPGRP-SC1a 重组蛋白的抗菌活性进行初步研究。

本研究抑菌实验结果显示 *R.lnPGRP-SC1a* 重组蛋白抑制革兰阳性菌金黄色葡萄球菌。研究发现,黑腹果蝇中 PGRP-SB1、PGRP-SC112、PGRP-LB^{PA/PC/PD} 均为具有抗菌活性的 PGRPs,这是因为它们具有酰胺酶活性^[11-14]。近期的研究中也发现家蚕 PGRP-S5^[15-16]、棉铃虫 HaPGRP-B/C 和文昌鱼 PGRP-S 是酰胺酶型 PGRP^[17-18],具有杀菌活性。在本研究中序列分析表明 *R.lnPGRP-SC1a* 含有 N-乙酰胞壁酰-L-丙氨酸酰胺酶活性的酰胺酶结构域,说明它属于酰胺酶型 PGRPs。换言之,重组蛋白 *R.lnPGRP-SC1a* 具有抗菌活性,其关键在于 *R.lnPGRP-SC1a* 蛋白的酰胺酶结构域。因此,该重组蛋白能够裂解细菌细胞壁中 N-乙酰胞壁酰和 L-氨基酸之间的酰胺键,从而抑制肽聚糖的产生,进而起到杀死细菌或抑制细菌生长繁殖的作用,并对 Imd 途径和 Toll 途径起到下调作用^[19-20]。而该蛋白抑制革兰阳性菌,对革兰阴性菌无抑制作用,这可能与不同细胞壁结构的作用方式有关,这一推测有待进一步深入探究。

本研究中重组蛋白 *R.lnPGRP-SC1a* 无酰胺酶活性,但有抗菌活性。PGRPs 的酰胺酶活性与抗菌活性之间是否必须同时存在? 部分 PGRPs 可凭借其自身的酰胺酶活性对肽聚糖进行裂解,然而,并非所有具备酰胺酶活性的 PGRPs 都能直接将细菌杀灭。例如,果蝇中的 DmPGRP-SC1b 虽具有酰胺酶活性,并且其酶活性与蛋清溶菌酶相当,却不具备杀菌活性^[21]。同理,不具备酰胺酶活性并不意味着没有杀菌活性。哺乳动物中的 PGRPs,即 PGLYRP1、PGLYRP3 以及 PGLYRP4 虽无酰胺酶活性,但却拥有杀菌功能^[22]。这表明 *R.lnPGRP-SC1a* 的抗菌活性不依赖于酰胺酶活性。

本研究中的 *R.lnPGRP-SC1a* 重组蛋白在原核细胞中表达,所连接的表达载体 pET32a⁺带有 TrxA 融合标签。该融合标签能够更好地促进目的蛋白正确折叠,显著提高重组蛋白在宿主细胞中的可溶性表达水平,使其活性更强。选取活性更强的上清蛋白进行功能研究,旨在更切实地反映 *R.lnPGRP-SC1a* 蛋白的功能特性。此外,该重组蛋白还具有持久的抑菌效果,这为新型抗菌药物的研发提供了崭新的思路与方向,也为临床治疗带来了新的选择。

本研究成功构建了 *R.lnPGRP-SC1a* 重组表达载体,其表达产物具有很强的抗革兰阳性菌的活性,揭示了重组蛋白 *R.lnPGRP-SC1a* 在林氏扇头蜱先天免疫中所发挥的作用。同时,重组蛋白 *R.lnPGRP-SC1a* 的抗菌活性不依赖于其酰胺酶活性,且具有持久性,

这为生物活性抑菌剂的开发提供了可能。

伦理审查与知情同意 本研究不涉及伦理审批和知情同意

利益冲突声明 所有作者声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] ŠLAPETA J, HALLIDAY B, CHANDRA S, et al. *Rhipicephalus lin-naei* (audouin, 1826) recognised as the "tropical lineage" of the brown dog tick *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato: neotype designation, redescription, and establishment of morphological and molecular reference[J]. Ticks Tick Borne Dis, 2022, 13(6): 102024.
- [2] ŠLAPETA J, HALLIDAY B, DUNLOP J A, et al. The "southeastern Europe" lineage of the brown dog tick *Rhipicephalus sanguineus* (sensu lato) identified as *Rhipicephalus rutilus* Koch, 1844: comparison with holotype and generation of mitogenome reference from Israel[J]. Curr Res Parasitol Vector Borne Dis, 2023, 3: 100118.
- [3] MADISON-ANTENUCCI S, KRAMER L D, GEBHARDT L L, et al. Emerging tick-borne diseases[J]. Clin Microbiol Rev, 2020, 33(2): e00083-18.
- [4] EFSTRATIOU A, KARANIS G, KARANIS P. Tick-borne pathogens and diseases in Greece[J]. Microorganisms, 2021, 9(8): 1732.
- [5] LIPPI C A, RYAN S J, WHITE A L, et al. Trends and opportunities in tick-borne disease geography[J]. J Med Entomol, 2021, 58(6): 2021-2029.
- [6] NEPVEU-TRAVERSY M E, FAUSTHER-BOVENDO H, BABUADZE G G. Human tick-borne diseases and advances in anti-tick vaccine approaches: a comprehensive review[J]. Vaccines, 2024, 12(2): 141.
- [7] 陈钰莹, 韩怡静, 刘相全, 等. 皱纹盘鲍肽聚糖识别蛋白在免疫防御中的作用[J]. 渔业科学进展, 2022, 43(4): 234-242.
- [8] 王之谦, 王敬文, 宋秀梅. 斯氏按蚊肽聚糖识别蛋白S2调节共生菌稳态的功能分析[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2023, 41(4): 397-403.
- [9] WANG Q, REN M J, LIU X Y, et al. Peptidoglycan recognition proteins in insect immunity[J]. Mol Immunol, 2019, 106: 69-76.
- [10] DE LA FUENTE J, ESTRADA-PÉÑA A, RAFAEL M, et al. Perception of ticks and tick-borne diseases worldwide[J]. Pathogens, 2023, 12(10): 1258.
- [11] BISCHOFF V, VIGNAL C, DUVIC B, et al. Downregulation of the *Drosophila* immune response by peptidoglycan-recognition proteins SC1 and SC2[J]. PLoS Pathog, 2006, 2(2): e14.
- [12] ZAIMAN-RÉMY A, POIDEVIN M, HERVÉ M, et al. *Drosophila* immunity: analysis of PGRP-SB1 expression, enzymatic activity and function[J]. PLoS One, 2011, 6(2): e17231.
- [13] CHARROUX B, CAPO F, KURZ C L, et al. Cytosolic and secreted peptidoglycan-degrading enzymes in *Drosophila* respectively control local and systemic immune responses to microbiota[J]. Cell Host Microbe, 2018, 23(2): 215-228.e4.
- [14] DZIARSKI R., GUPTA D. A. Balancing act: PGRPs preserve and protect[J]. Cell Host and Microbe, 2018, 23(2): 149-151
- [15] CHEN K K, LIU C, HE Y, et al. A short-type peptidoglycan recognition protein from the silkworm: expression, characterization and involvement in the prophenoloxidase activation pathway[J]. Dev Comp Immunol, 2014, 45(1): 1-9.
- [16] CHEN K K, ZHOU L, CHEN F, et al. Peptidoglycan recognition protein-S5 functions as a negative regulator of the antimicrobial peptide pathway in the silkworm, *Bombyx mori*[J]. Dev Comp Immunol, 2016, 61: 126-135.
- [17] YANG D Q, SU Z L, QIAO C, et al. Identification and characterization of two peptidoglycan recognition proteins with zinc-dependent antibacterial activity from the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* [J]. Dev Comp Immunol, 2013, 39(4): 343-351.
- [18] YAO F, LI Z H, ZHANG Y J, et al. A novel short peptidoglycan recognition protein in amphioxus: identification, expression and bioactivity[J]. Dev Comp Immunol, 2012, 38(2): 332-341.
- [19] WANG Z M, LI X N, COCKLIN R R, et al. Human peptidoglycan recognition protein-L is an N-acetylmuramoyl-L-alanine amidase [J]. J Biol Chem, 2003, 278(49): 49044-49052.
- [20] MELLROTH P, STEINER H. PGRP-SB1: an N-acetylmuramoyl L-alanine amidase with antibacterial activity[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2006, 350(4): 994-999.
- [21] MELLROTH P, KARLSSON J, STEINER H. A scavenger function for a *Drosophila* peptidoglycan recognition protein[J]. J Biol Chem, 2003, 278(9): 7059-7064.
- [22] DZIARSKI R, GUPTA D. Review: Mammalian peptidoglycan recognition proteins (PGRPs) in innate immunity[J]. Innate Immun, 2010, 16(3): 168-174.

收稿日期:2024-10-21 编辑:王佳燕