



Preparation and Antimicrobial Function Research of a Defensin Polypeptides SPDef1 from *Scorpiops_pococki* in Tibet

Zhuxuan Lan, Lirong Zhang, Chen Wei, Qin Xiangya, Haiqing Long, Shijin Yin*

School of Pharmaceutical Sciences, South-Central Minzu University, Wuhan, China

Email address:

Lanzx7@163.com (Zhuxuan Lan), 598542672@qq.com (Lirong Zhang), 1395437504@qq.com (Chen Wei),

2936735106@qq.com (Qin Xiangya), longhaiqing125@163.com (Haiqing Long), yinshijinyf@163.com (Shijin Yin)

*Corresponding author

To cite this article:

Zhuxuan Lan, Lirong Zhang, Chen Wei, Qin Xiangya, Haiqing Long et al. (2025). Preparation and Antimicrobial Function Research of a Defensin Polypeptides SPDef1 from *Scorpiops_pococki* in Tibet. *Science Discovery*, 13(6), 159-165.

<https://doi.org/10.11648/j.sd.20251306.19>

Received: 4 November 2025; **Accepted:** 9 December 2025; **Published:** 24 December 2025

Abstract: Objective: This study was designed to produce the defensin peptide SPDef1 (*Scorpiops pococki defensin 1*) via the air oxidation method, evaluate its antibacterial activity, and preliminarily investigate its antibacterial mechanism. Methods: SPDef1-O was obtained through the air oxidation method. Molecular weight and structural characterization of the prepared peptides using Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF/MS) and circular dichroism spectroscopy. The minimum inhibitory concentration (MIC) of SPDef1 was determined using the broth dilution method. The antibacterial mechanism was preliminarily explored using DMAO/PI dual staining in conjunction with confocal microscopy and Transmission Electron Microscopy (TEM). Results: SPDef1-O prepared via the air oxidation method exhibits significant antibacterial activity against the Gram-positive bacterium *Staphylococcus aureus* strain AB94004, MIC as low as 0.25 μ M, also exhibits moderate antibacterial activity against the Gram-negative bacterium *Escherichia coli* ATCC 25922 (MIC = 4 μ M). DMAO/PI dual staining and TEM revealed that SPDef1-O disrupts cell membrane integrity to exert its antibacterial effect. Discussion: The defensin SPDef1 emerges as a novel member of scorpion-derived antimicrobial peptides with notable antibacterial activity. Future investigations should expand its antibacterial spectrum assessment and explore its potential as a broad-spectrum antimicrobial agent.

Keywords: *Scorpiops_pococki*, Defensin, Antimicrobial Peptide, Antimicrobial Activity

西藏波氏琵琶蝎防御素SPDef1的制备与抗菌功能初步研究

兰祝璇, 张丽蓉, 龙海庆, 尹世金*

药学院, 中南民族大学, 武汉, 中国

邮箱

Lanzx7@163.com (兰祝璇), 598542672@qq.com (张丽蓉), longhaiqing125@163.com (龙海庆), yinshijinyf@163.com (尹世金)

摘要: 目的: 本研究旨在利用空气氧化法制备西藏波氏琵琶蝎毒腺中防御素多肽SPDef1 (*Scorpiops Pococki defensin 1*, SPDef1), 并检测其抗菌活性, 初步探究其抗菌机制。方法: 通过空气氧化法制备获得SPDef1-O, 利用MALDI-TOF/MS及圆二色谱对制备多肽进行分子量及结构鉴定, 利用肉汤稀释法测定SPDef1-O的最小抑菌浓度(MIC), DMAO/PI双染色结合共聚焦显微镜及透射电镜检测初步探究抗菌机制。结果: 通过空气氧化法制备获得的SPDef1-O对革兰氏阳性菌金黄色葡萄球菌*S.aureus* AB94004表现出明显的抗菌活性, MIC低至0.25 μ M, 对革兰氏阴性菌大肠杆菌*E.coli* ATCC25922也具有中等抗菌活性(MIC = 4 μ M)。DMAO/PI双染及电镜检测结果提示SPDef1-O通过

破坏细胞膜完整性起到抗菌作用。讨论：西藏波氏琵琶蝎防御素SPDef1是蝎源抗菌肽家族的新成员，并展现出较为良好的抗菌活性，未来研究可对其抗菌谱范围进行扩大检测，发掘其作为新型广谱抗菌肽的潜力。

关键词：西藏波氏琵琶蝎，防御素，抗菌肽，抗菌活性

1. 引言

随着抗生素耐药性问题日益严重，全球医药领域开始积极寻找新型抗菌剂，抗菌肽因其广谱、高效的抗菌活性和低耐药性，成为研究热点之一[1]。防御素是一类富含半胱氨酸的小分子阳离子抗菌肽，广泛存在于生物体的不同组织和细胞中，是生物免疫系统中的重要调节分子[2]。自1985年加州大学的Dr. Robert Lehrer首次发现并命名防御素起[3, 4]，已经鉴定出了四百余种防御素，根据来源不同，可分为虫防御素、无脊椎动物防御素、植物防御素、脊椎动物防御素和未分类的防御素[5]。防御素通常由18-45个氨基酸组成，其核心特征为含有6个保守的半胱氨酸残基，可形成3对分子内二硫键，这种特殊结构使防御素具有稳定的三维构象和强大的病原体结合能力[6]。

防御素在体内和体外都表现出广谱抗菌活性，能有效对抗革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌。此外，部分防御素在抑制真菌和病毒方面也表现出良好效果[7]。防御素作为抗菌肽，主要通过其细菌细胞质膜相互作用发挥抗菌活性，其抗菌机制包括通过静电作用破坏膜屏障[8]、抑制细菌细胞壁的生物合成[9]、抑制细菌生物膜的形成[10]、在细菌周围形成捕获纳米网[11]等，与传统抗生素通常只针对特定细菌蛋白或通路不同，防御素的作用机制更加多元化。这种机制多样性使得细菌难以对其产生抗性，从而不易诱导耐药性。

蝎子作为一种古老的节肢动物，毒液中含有丰富的生物活性肽，数亿年的自然进化选择使蝎毒素多肽表现出高活性、高特异性、结构多样性[12]，成为药物开发和设计的潜在资源库。随着分子生物学技术的发展，研究人员对蝎源防御素结构及功能的研究取得了显著进展，同时也设计出了许多具有良好药理活性的衍生肽。从非洲皇帝蝎中分离出的Scorpine，不仅具有抗菌活性，还具有抗疟疾效果[13]；Scorpion衍生肽GK8以多模式方式杀死铜绿假单胞菌细胞（包括临床耐药菌株），并在小鼠皮肤皮下感染模型中，对铜绿假单胞菌感染表现出良好的体内活性[14]。东亚钳蝎来源的防御素BmKDFsin4对革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌均表现出良好的抗菌活性，同时也是首个被证实可阻断钾通道（Kv1.1/Kv1.3）的无脊椎动物防御素[15, 16]；BmKDFsin4衍生环肽Buthicyclin具有显著的镇痛效果，在急性和炎症疼痛模型中均表现出比吗啡更强且更持久的镇痛作用，同时具有低毒性和良好的安全性[17]。

为进一步推动对防御素及其抗菌机制的深入理解，本研究从课题组构建的西藏波氏琵琶蝎毒腺转录组cDNA文库中筛选到一条毒素多肽编码基因SPDef1，通过对其氨基酸序列进行分析，发现其与已知防御素具有较高同源性，同时6个保守半胱氨酸也与防御素典型结构特征相符，推测其可能属于蝎源防御素。由于从天然毒液中提取的产量极低，为对其生物活性进行研究，我们通过空气氧化法获得活性多肽，并对其最小抗菌浓度（MIC）进行了测定，对

细胞膜完整性影响进行了评估，初步探究了SPDef1的抗菌活性及机制。

2. 材料与方法

2.1. 材料与试剂

MHB培养基（Mueller-Hinton Broth, Solarbio）；金黄色葡萄球菌 *S. aureus* AB94004、大肠杆菌 *E. coli* ATCC25922菌株均由湖北工业大学曹志贱教授课题组提供，96孔板、一次性无菌接种环（Biosharp）；细菌死活染色试剂盒(DMAO/PI, Beyotime)；其他化学试剂均为国产分析纯。

2.2. 空气氧化法制备多肽

将1 mg SPDef1还原型多肽粉末（上海源肽有限公司）溶解于2 mL Tris-HCl缓冲溶液（0.1 mol/L, pH 9.0），在25°C的恒温摇床中以50 rev/min中速度持续震荡孵育48 h。氧化后的多肽在4°C下以10000 rev/min转速离心10 min，上清液通过RP-HPLC进行分离纯化，主峰收集后经MALDI-TOF-MS（autoflex™ speed, 德国）鉴定分子量。

通过圆二色谱测定氧化型多肽的二级结构。将多肽以大约 100 µg/mL 的浓度溶解在 Milli-Q水中。其中，圆二色谱（Chirascan qCD, 英国）在室温 25°C下在 190 nm 至 260 nm 的波长下获得，扫描速度为 50 nm/min，分辨率为 1 nm，响应时间为2 s。每个读数重复3次，结果显示为平均残留摩尔椭圆率u。

2.3. 抗菌活性检测

按照临床和实验室标准协会（CLSI）指南采用微量肉汤稀释法测定最小抑菌浓度（MIC）。将对数生长期的 *E. coli* ATCC25922和 *S. aureus* AB94004菌株用MHB调整至 5×10^6 CFU/mL，多肽SPDef1-O以0.0625-32 µM的浓度进行梯度稀释，以多肽100 µL+菌液100 µL比例分别接种于96孔板。对照组包括：PC：阳性对照（含细菌但不含Amp的MHB）；NC：阴性对照（含Amp但不含细菌的MHB）。在37°C孵育16小时后，测定OD值，以明显无细菌生长的最低药物浓度为MIC值。每次平行3组，重复三次。使用GraphPad Prism 9.0进行数据分析（Mean±SEM），组间差异采用单因素方差分析（One-way ANOVA）， $p < 0.05$ 为显著差异。

2.4. 细菌细胞膜完整性检测

细菌群落的存活能力采用双荧光染色法结合共聚焦激光扫描显微镜（ZEISS LSM900, 德国）进行定量评估。将对数生长期的 *S. aureus* AB94004和 *E. coli* ATCC25922菌株用MHB调整至 5×10^6 CFU/mL，在37°C下与SPDef1-O以梯度浓度（1xMIC、2xMIC）共培养12h，使用细菌死活染色试剂盒(DMAO/PI, Beyotime)根据制造商的方案进

行用双荧光染色。采用标准化参数进行共聚焦激光扫描显微镜（CLSM）成像：DMAO使用488 nm激发光，500–550 nm发射光收集；PI使用543 nm激发光，600–650 nm检测光。图像定量分析使用ImageJ分析软件完成。使用GraphPad Prism 9.0进行数据分析（Mean±SEM），组间差异采用单因素方差分析（One-way ANOVA）， $p<0.05$ 为显著差异。

为更加直观地观察SPDef1-O对*S.aureus*形态的影响，采用负染法制备样品并进行透射电镜（Talos F200X STEM，美国）检测。将对数生长期的*S. aureus* AB94004菌株用MHB调整至 5×10^6 CFU/mL，在37℃下与1xMIC SPDef1-O共培养12h，经过抗菌肽处理与未处理的细菌悬液分别滴加在Formvar/carbon支持膜铜网上，静置数分钟使菌体吸附。用滤纸从边缘吸除多余液体后，随即用1%-2%的磷酸铀溶液对样品进行负染，固定菌体结构。静置约1分钟后，再次用滤纸吸除残留染液，并在室温下自然晾干。制备好的样品直接在透射电子显微镜下观察并拍摄图像。

3. 结果

3.1. SPDef1的一级结构分析

SPDef1的编码基因信息由实验室所构建的西藏波氏琵琶毒腺转录组cDNA文库中筛选中获得，SPDef1先导cDNA序列全长572 bp，分别由5'未翻译区（5' UTR）、开放阅读框（ORF）和3'未翻译区（3' UTR）3部分组成，其中5' UTR区长88 bp，3' UTR全长298 bp，在3' UTR区可见AATAAA加尾型号（图1A）。ORF编码区编码62个氨基酸残基的前肽，SignalPV5.0在线预测提示SPDef1前肽中含有24个氨基酸残基构成的信号肽，其后为38个氨基酸残基构成的成熟肽，成熟肽中氨基酸序列显示具有4对二硫键用于其空间结构的维持。根据同源序列比对结果可

发现，SPDef1的成熟肽一级结构与已报道防御素具有较高的同源性，且二硫键配对方式也一致（图1B），提示其可能是一种防御素多肽，可能属于防御素家族。

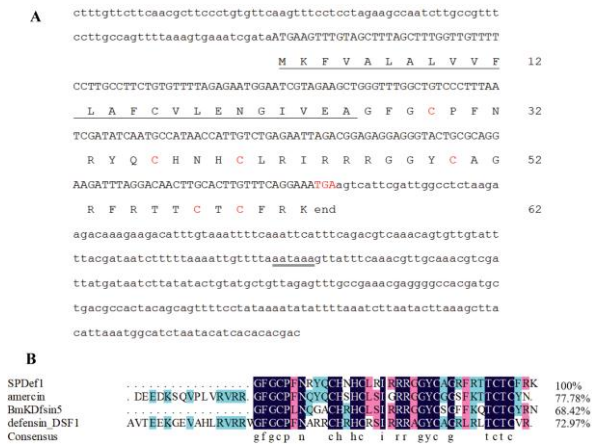
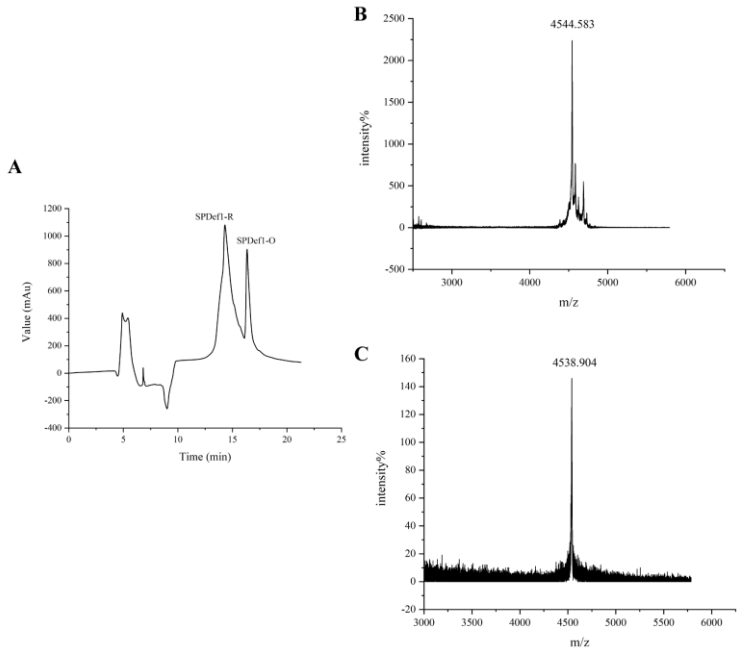


图1 SPDef1一级结构解析。

A.SPDef1一级结构解析：（单下划线：信号肽；双下划线：加尾信号aataaa；数字：氨基酸残基位次）；B. SPDef1成熟肽同源序列比对（百分比：序列一致性）

3.2. SPDef1的空气氧化制备与鉴定

由于利用重组表达方法无法获得较为理想产量和纯度的SPDef1，因此我们考虑通过在弱碱性条件下，利用空气氧化法对化学合成的线性肽进行氧化，得到具有生物活性的环肽。氧化后的样品经RP-HPLC分离在13min和18min左右出现两个峰（图2A），对其进行收集，利用MALDI-TOF/MS鉴定分子量，分子量分别为4544.583和4538.904（图2B和2C），表明在弱碱性条件下，多肽中的半胱氨酸失去6个氢原子，形成分子内二硫键，完成多肽折叠，获得活性多肽SPDef1-O，可进行后续鉴定。

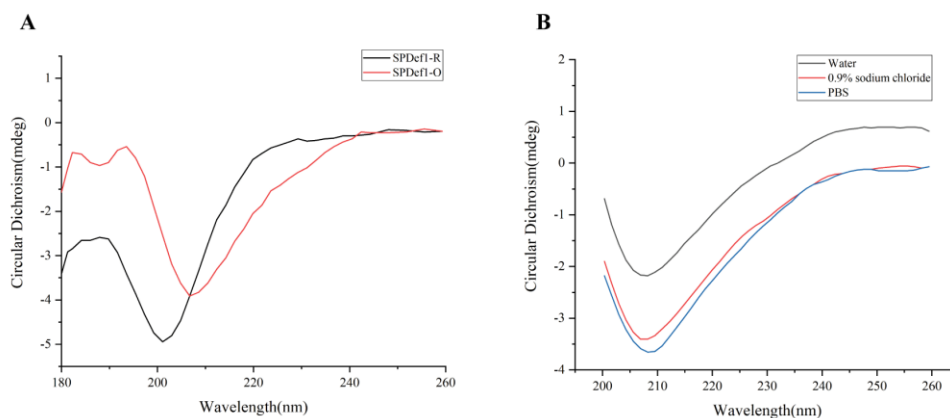


A. 氧化后SPDef1的HPLC分离纯化；B. SPDef1-R的MALDI-TOF-MS分子量鉴定；C. SPDef1-O的MALDI-TOF/MS分子量鉴定

图2 合成SPDef1的制备与质谱鉴定。

圆二色性分析表明，SPDef1-O在207 nm显示最小吸收（负峰），而在190 nm处显示最大吸收（正峰），表明SPDef1-O折叠成类似于其他具有半胱氨酸稳定的 α -螺旋和 β -片状结构的天然构象。与SPDef1-O相比，SPDef1-R

的二级结构主要以不规则的线圈为主（图3A）。此外，SPDef1-O在水、0.9%氯化钠、PBS等不同溶液中表现出的二级结构几乎相同（图3B），说明SPDef1-O在不同的溶液中具有稳定的结构，可用于进行后期的功能鉴定。



A. SPDef1-R和SPDef1-O的二级结构分析；B. 不同溶液中SPDef1-O的二级结构分析

图3 合成SPDef1的结构鉴定。

3.3. 抗菌活性检测

利用肉汤稀释法测定SPDef1-O的MIC值，结果如图4所示，SPDef1-O对金黄色葡萄球菌*S. aureus* AB94004的MIC值为0.25 μ M，对大肠杆菌*E. coli* ATCC25922的MIC值为4 μ M（图4）。SPDef1-O对革兰氏阳性菌*S. aureus* AB94004表现出较好的抗菌效果，同时对革兰氏阴性菌*E. coli* ATCC25922也有一定的抗菌能力，提示其可能具有较好的广谱抗菌潜力。高正电荷特性有利于抗菌肽通过静电相互作用，靶向结合带负电的细菌细胞膜[18]，疏水性结构域可协助肽分子在结合至膜表面后，插入并穿透磷脂双分子层的疏水核心，破坏膜完整性，最终导致细胞内容物泄漏和细菌死亡[19]。这种疏水性与正电荷的协同作用，是抗菌肽发挥抗菌活性的结构基础。分析SPDef1的氨基酸

序列可发现，SPDef1含有8个精氨酸和1个赖氨酸，理论等电点为10.53，属于强阳离子肽，含有8个疏水性氨基酸（如Phe、Leu和Ile等），但也含有大量亲水性/极性氨基酸，因此SPDef1整体具有中等疏水性，革兰氏阳性（G+）菌没有外膜，细胞壁富含磷壁酸和脂磷壁酸等大量的带负电荷分子，SPDef1的强阳离子特性使其能够精准菌体表面，其中等疏水性和刚性结构促进了抗菌作用的发挥；然而革兰氏阴性（G-）菌拥有一个额外的高度疏水性外膜[20]，SPDef1的强阳离子性维持了其抗菌的发生，但疏水性不足造成突破外膜时抗菌效率有所减弱，因此综合表现为中等抗菌活性。SPDef1对G+菌和G-菌的活性差异，也恰好体现了细菌细胞结构差异对抗菌肽活性的筛选作用。

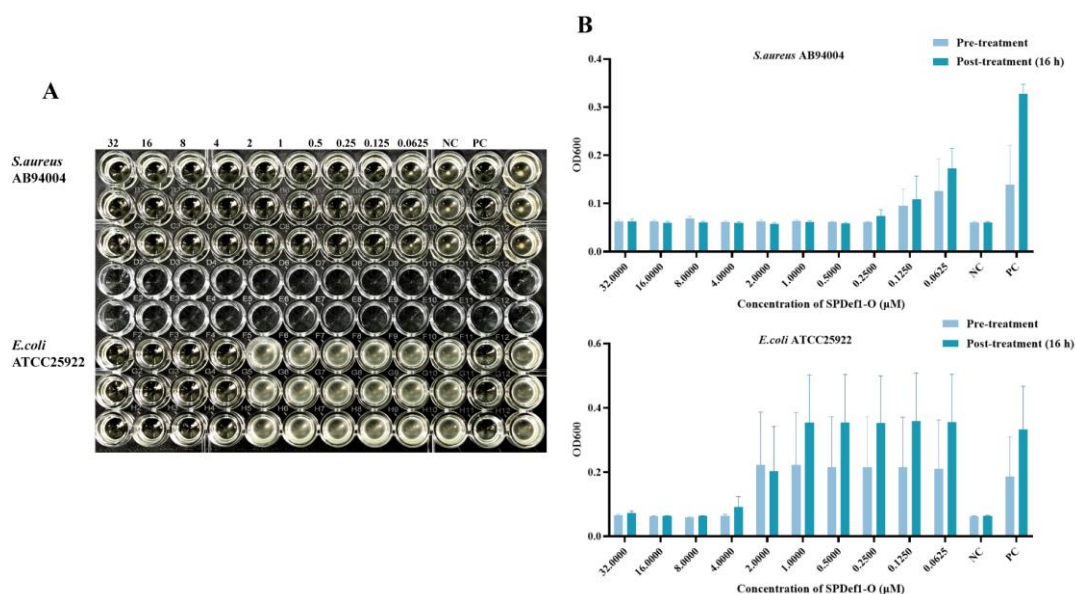


图4 肉汤稀释法测定SPDef1-O的MIC值。

A. 不同浓度SPDef1-O处理16h后金黄色葡萄球菌*S. aureus* AB94004和大肠杆菌*E. coli* ATCC25922的生长情况；B. 不同浓度SPDef1-O处理前后*S. aureus* AB94004（上）和*E. coli* ATCC25922（下）的OD600变化（ $n=3$, mean $\pm$ SEM）

3.4. 抗菌活性检测

在MIC值测定中，SPDef1-O表现出了较好的抗菌活性，为了进一步对其抗菌机制进行研究，我们采用DMAO和PI染色结合共聚焦激光扫描显微镜（CLSM）方法，初步评估了SPDef1-O对细菌细胞膜完整性的影响。PI是一种红色核酸结合染料，仅能穿透细胞膜受损的细胞，而DMAO是一种绿色荧光核酸染色剂，可同时染色活体和死亡细菌。如图5和6所示，空白对照组中的细菌仅被DMAO染色而未被PI染色，表明大多数细胞处于活体状态。而在多肽处理的细菌中，红色荧光点数量和强度呈现浓度依赖性增加趋势。提示SPDef1-O对细菌细胞膜具有破坏作用。

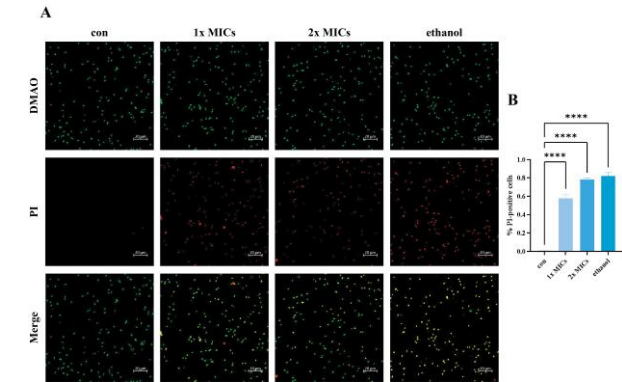


图5 SPDef1-O对金黄色葡萄球菌*S. aureus* AB94004细胞膜完整性的影响。

A. 不同浓度SPDef1-O处理12h后金黄色葡萄球菌*S. aureus* AB94004的DMAO/PI染色情况；B. 使用ImageJ软件对显微镜图像进行量化分析，并计算DMAO和PI双染叠加(Merge)黄色荧光的比值($n=3$, mean $\pm$ SEM, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$)

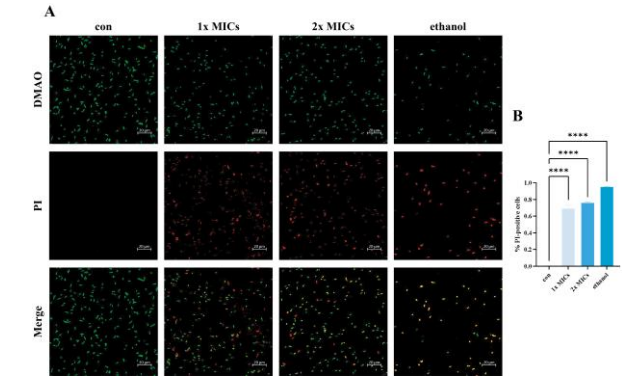


图6 SPDef1-O对大肠杆菌*E. coli* ATCC25922细胞膜完整性的影响。

A. 不同浓度SPDef1-O处理12h后大肠杆菌*E. coli* ATCC25922的DMAO/PI染色情况；B. 使用ImageJ软件对显微镜图像进行量化分析，并计算DMAO和PI双染叠加(Merge)黄色荧光的比值($n=3$, mean $\pm$ SEM, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$)

在MIC值测定中，SPDef1-O对金黄色葡萄球菌*S. aureus* AB94004表现出了更为明显的抗菌作用，通过透射电镜（TEM）进行进一步的检测，对比未经抗菌肽处理的菌体（图7），可以更加直观的看到经SPDef1-O处理后的菌体形态发生变化，菌膜发生了一定程度的皱缩与破损。TEM检测结果再次验证了SPDef1-O对细菌细胞膜的破坏作用。

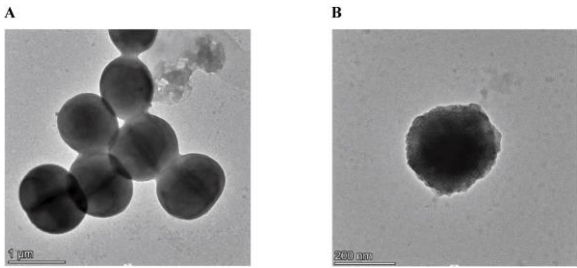


图7 SPDef1-O处理菌体的透射电镜（TEM）图像。

A. 未经抗菌肽处理的*S. aureus* AB94004 TEM 图像；B. 经抗菌肽处理的*S. aureus* AB94004 TEM图像

4. 结论

由于临床治疗中传统抗生素的滥用使细菌对抗生素的耐药性不断升级，多重耐药细菌的增加在全球范围内构成了严重威胁，抗生素耐药性问题目前已经成为一个迫切需要解决的问题[21, 22]。防御素抗菌肽作为生物体天然免疫系统的核心效应分子，兼具广谱杀菌、低耐药性与免疫调节等多重功能，为开发新一代抗感染药物提供了突破口。首先，防御素并非依赖单一靶点，而是通过多模式协同攻击病原体：其阳离子结构可利用静电作用吸附于细菌膜表面，通过“桶板模型”或“地毯模型”形成跨膜孔道，导致离子失衡和胞质泄漏，直接破坏膜完整性[23]；部分防御素可穿透细胞膜，与DNA、RNA或关键酶结合，抑制核酸合成或酶活性[24]；此外，某些防御素可干扰群体感应系统，阻断生物被膜形成，从而削弱病原体的环境适应力[10]。抗菌机制的多样性极大降低了耐药性产生的概率。其次，防御素作为生物免疫系统中的重要调节分子，可通过激活宿主模式识别受体（如TLRs、NODs），触发下游MAPK与NF- κ B通路，诱导细胞因子（如IL-1 β 、TNF- α ）和趋化因子的释放，招募巨噬细胞、中性粒细胞等免疫细胞，形成系统性防御网络，在杀灭病原体的同时，可通过调节宿主氧化应激水平与炎症反应，避免过度免疫损伤，维持组织稳态。

本研究围绕西藏波氏琵琶毒腺转录组中新发现的防御素类多肽SPDef1展开，从基因筛选、制备到抗菌活性验证，系统揭示了它作为潜在抗菌剂的生物学特性与应用前景。研究发现，SPDef1-O对革兰氏阳性菌金黄色葡萄球菌的MIC低至0.25 μ M，对革兰氏阴性菌大肠杆菌亦表现出中等活性（MIC = 4 μ M）。众所周知，细菌细胞表面通常带负电荷，静电相互作用可以促进阳离子抗菌肽吸附到细菌膜表面上，同时，疏水性结构域可协助肽分子插入并穿透细菌细胞膜，破坏膜完整性，最终导致细胞内容物泄漏和细菌死亡，因此，阳离子电荷密度和疏水性是影响抗菌肽抗菌活性的关键因素[25]，此外，G⁺菌和G⁻菌的结构差异也会影响抗菌肽发挥抗菌作用。SPDef1的强阳性和中等疏水性使其能够较好地吸附于G⁺菌发挥抗菌作用，但进入G⁻菌外膜受到一定的阻碍，使其对*S. aureus* AB94004和*E. coli* ATCC25922表现出抗菌活性差异。

同时，我们也对SPDef1的抗菌机制进行了初步研究，DMAO/PI双染色结合共聚焦显微镜结果显示，SPDef1-O处理后*S. aureus* AB94004和*E. coli* ATCC25922细胞膜完

整性显著破坏, 红色荧光强度随浓度升高而增强, 同时TEM结果也验证了其对*S. aureus* AB94004膜的破坏性, 表明其主要通过膜破坏机制杀菌, 这一机制与近年报道的多种蝎源防御素一致, 但膜破坏并非防御素抗菌的唯一机制, 因此, 未来有必要进一步深入研究其破膜机制, 通过转录组测序与蛋白互作实验等进一步解析SPDef1是否存在多重杀菌机制。尽管SPDef1初步表现出抗菌活性, 但对其抗菌谱检测范围较窄, 后期可扩大其抗菌谱检测, 进一步探究其G⁺/G⁻菌选择性, 同时可通过突变等手段验证其多肽性质是否是发挥抗菌功能及抗菌特异性的关键。此外, 蝎源防御素在抗菌之外可能具备其他生物活性, SPDef1在未来可进一步挖掘其潜在功能。

致谢

感谢湖北工业大学曹志贱教授课题组对实验菌株金黄色葡萄球菌*S. aureus* AB94004、大肠杆菌*E. coli* ATCC25922的提供。

基金项目

本文为国家自然科学基金资助项目(81373379, 81641186); 湖北省自然科学基金创新发展联合基金重点项目(2024AFD262)的阶段性成果之一。

参考文献

- [1] GUILHELMELLI F, VILELA N, ALBUQUERQUE P, et al. Antibiotic development challenges: the various mechanisms of action of antimicrobial peptides and of bacterial resistance[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2013, 4: 353. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00353>
- [2] XU D, LU W. Defensins: A Double-Edged Sword in Host Immunity[J]. *Frontiers in Immunology*, 2020, 11: 764. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00764>
- [3] FLEISCHMANN J, SELSTED M E, LEHRER R I. Opsonic activity of MCP-1 and MCP-2, cationic peptides from rabbit alveolar macrophages[J]. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 1985, 3(3): 233-242. [https://doi.org/10.1016/0732-8893\(85\)90035-5](https://doi.org/10.1016/0732-8893(85)90035-5)
- [4] LEHRER R I, DAHER K, GANZ T, et al. Direct inactivation of viruses by MCP-1 and MCP-2, natural peptide antibiotics from rabbit leukocytes[J]. *Journal of Virology*, 1985, 54(2): 467-472. <https://doi.org/10.1128/JVI.54.2.467-472.1985>
- [5] 常丹萍, 赵国先, 冯志华, 等. 抗菌肽在家禽养殖中的应用研究进展[J]. *中国家禽*, 2023, 45(04): 95-104. <https://doi.org/10.16372/j.issn.1004-6364.2023.04.016>
- [6] FU J, ZONG X, JIN M, et al. Mechanisms and regulation of defensins in host defense[J]. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2023, 8(1): 300. <https://doi.org/10.1038/s41392-023-01553-x>
- [7] GAO X, DING J, LIAO C, et al. Defensins: The natural peptide antibiotic[J]. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2021, 179: 114008. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2021.114008>
- [8] LUO Y, SONG Y. Mechanism of Antimicrobial Peptides: Antimicrobial, Anti-Inflammatory and Antibiofilm Activities[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(21): 11401. <https://doi.org/10.3390/ijms222111401>
- [9] OMARDIEN S, BRUL S, ZAAT S A. Antimicrobial Activity of Cationic Antimicrobial Peptides against Gram-Positives: Current Progress Made in Understanding the Mode of Action and the Response of Bacteria[J]. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 2016, 4: 111. <https://doi.org/10.3389/fcell.2016.00111>
- [10] PARDUCHO K R, BEADELL B, YBARRA T K, et al. The Antimicrobial Peptide Human Beta-Defensin 2 Inhibits Biofilm Production of *Pseudomonas aeruginosa* Without Compromising Metabolic Activity[J]. *Frontiers in Immunology*, 2020, 11: 805. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00805>
- [11] CHAIRATANA P, NOLAN E M. Human α -Defensin 6: A Small Peptide That Self-Assembles and Protects the Host by Entangling Microbes[J]. *Accounts of Chemical Research*, 2017, 50(4): 960-967. <https://doi.org/10.1021/acs.accounts.6b00653>
- [12] XIA Z, XIE L, LI B, et al. Antimicrobial Potential of Scorpion-Venom-Derived Peptides[J]. *Molecules*, 2024, 29(21): 5080. <https://doi.org/10.3390/molecules29215080>
- [13] CONDE R, ZAMUDIO F Z, RODRÍGUEZ M H, et al. Scorpine, an anti-malaria and anti-bacterial agent purified from scorpion venom[J]. *FEBS Letters*, 2000, 471(2-3): 165-168. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(00\)01384-3](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(00)01384-3)
- [14] LI Z, WANG H, LI S, et al. Anti-*Pseudomonas aeruginosa* Activity of the Scorpion-Derived Peptide GK8[J]. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 2025. Advance online publication. <https://doi.org/10.1007/s12602-025-10590-7>
- [15] YANG X, ZHANG H, ZUO Z, et al. Novel structural determinants and bacterial death-related regulatory effects of the scorpion defensin BmKDfsin4 against gram-positive bacteria[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2024, 282(4): 137151. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.137151>
- [16] MENG L, XIE Z, ZHANG Q, et al. Scorpion Potassium Channel-blocking Defensin Highlights a Functional Link with Neurotoxin[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2016, 291(13): 7097-7106. <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.680611>
- [17] ALIAKBARI F, RAHMATI S, GHANBARI A, et al. Identification and designing an analgesic opioid cyclic peptide from Defensin 4 of *Mesobuthus martensii* Karsch scorpion venom with more effectiveness than morphine[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2025, 188: 118139. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2025.118139>
- [18] TRAVÉ-ASENSIO S, TORT-MIRÓ A, PINHEIRO S, et al. Structure-Antimicrobial Activity Relationships of Recombinant Host Defence Peptides Against Drug-Resistant Bacteria[J]. *Microbial Biotechnology*, 2025, 18(9): e70204. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.70204>
- [19] LUO Y, DONG Z, SHI Y, et al. Design and function analysis of novel antimicrobial peptides derived from Cathelicidin-DM: Insights into structure-function relationships[J]. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2025, 300: 118173. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2025.118173>

- [20] LEWIS K. The Science of Antibiotic Discovery[J]. Cell, 2020, 181(1): 29-45. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.056>
- [21] 万爽, 吕娜, 蓝婕, 等. 多黏菌素耐药性流行背景下抗菌肽药物研究进展[J/OL]. 生物工程学报, 1-42[2025-11-04]. <https://doi.org/10.13345/j.cjb.250379>
- [22] BERTAGNOLIO S, DOBREVA Z, CENTNER C M, et al. WHO global research priorities for antimicrobial resistance in human health[J]. The Lancet Microbe, 2024, 5(11): 100902. [https://doi.org/10.1016/S2666-5247\(24\)00134-4](https://doi.org/10.1016/S2666-5247(24)00134-4)
- [23] LAMICHHANE B, MAWAD A M M, SALEH M, et al. Salmonellosis: An Overview of Epidemiology, Pathogenesis, and Innovative Approaches to Mitigate the Antimicrobial Resistant Infections[J]. Antibiotics, 2024, 13(1): 76. <https://doi.org/10.3390/antibiotics13010076>
- [24] AWANG T, PONGPRAYOON P. The penetration of human defensin 5 (HD5) through bacterial outer membrane: simulation studies[J]. Journal of Molecular Modeling, 2021, 27(10): 291. <https://doi.org/10.1007/s00894-021-04915-w>
- [25] SILVA S G, PINHEIRO M, PEREIRA R, et al. Serine-based surfactants as effective antimicrobial agents against multiresistant bacteria[J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes, 2022, 1864(9): 183969. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2022.183969>