



吕银凤,于伟康,李国雨,等. 抗菌肽构效关系解析及分子设计研究进展[J]. 南京农业大学学报,2026,49(5):1163-1184.

Lü Y F, Yu W K, Li G Y, et al. Research advances in structure-activity relationship analysis and molecular design of antimicrobial peptides[J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2026, 49(5): 1163-1184.

特约综述

抗菌肽构效关系解析及分子设计研究进展

吕银凤,于伟康,李国雨,闫迪,苏运哲,郭旭,单安山*

(东北农业大学动物科学技术学院,黑龙江 哈尔滨 150030)

摘要:细菌耐药性持续加剧,开发新型、安全且高效的抗菌剂已成为生命科学和农业领域亟待解决的重要问题。抗菌肽(antimicrobial peptides, AMP)作为天然免疫系统的重要效应分子,因兼具广谱抗菌、免疫调节及较低耐药诱导风险等优势,被视为传统抗生素的潜在替代品。然而,抗菌效能、生物安全性、体内稳定性和规模化制备成本等问题,仍是制约其应用的关键瓶颈。本文系统综述了 AMP 的理化特性与构效关系,重点解析了净电荷、疏水性、两亲性等核心参数对 AMP 生物学功能的影响,概述了 AMP 发挥抗菌、抗生物被膜和免疫调节作用的分子机制,系统总结了基于构效关系的序列优化、化学修饰、环化与二聚化、纳米化改造以及人工智能辅助设计和高通量筛选等 AMP 优化与设计策略,概述了原核与真核表达系统在 AMP 制备中的应用,总结了 AMP 在畜牧业等多领域应用的研究进展,并对 AMP 未来发展方向进行了展望,旨在为高效、安全 AMP 的理性设计、规模化制备及应用转化提供参考。

关键词:抗菌肽;构效关系;分子设计;人工智能;表达与应用

中图分类号:S881.2

文献标志码:A

文章编号:1000-2030(2026)05-1163-22

Research advances in structure-activity relationship analysis and molecular design of antimicrobial peptides

LÜ Yinfeng, YU Weikang, LI Guoyu, YAN Di, SU Yunzhe, GUO Xu, SHAN Anshan*

(College of Animal Science and Technology, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract: The escalating crisis of bacterial resistance has made the development of novel, safe, and highly effective antimicrobial agents a critical challenge in the life sciences and agricultural sectors. Antimicrobial peptides (AMP), as essential effector molecules of the innate immune system, are regarded as promising alternatives to conventional antibiotics due to their broad-spectrum antimicrobial activity, immunomodulatory properties, and relatively low risk of inducing drug resistance. However, challenges related to antimicrobial efficacy, biosafety, *in vivo* stability and the cost of large-scale production remain key bottlenecks restricting their practical application. This review systematically summarizes the physicochemical properties and structure-activity relationships of AMP, with particular emphasis on elucidating the effects of core parameters such as charge, hydrophobicity, and amphipathicity on their biological functions. The molecular mechanisms underlying the antimicrobial, antibiofilm, and immunomodulatory activities of AMP are also discussed. Furthermore, this article comprehensively reviewed strategies for AMP optimization and design based on structure-activity relationships, including sequence optimization, chemical modification, cyclization and dimerization, nanoengineering, artificial intelligence-assisted design, and high-throughput screening. The applications of prokaryotic and eukaryotic expression systems for AMP preparation are outlined, and recent advances in their application in animal husbandry and other fields are highlighted. Finally, future directions for AMP research and development are discussed. This review aims to provide a reference for the rational design, scalable production, and translational application of safe and highly effective AMP.

Keywords: antimicrobial peptides; structure-activity relationships; molecular design; artificial intelligence; expression and application

抗生素是 20 世纪生物医学领域最重要的发现之一。1928 年,亚历山大·弗莱明发现青霉素,标志着现代抗生素研究时代的开启,极大地推动了感染性疾病治疗和现代医学的发展^[1-3]。20 世纪 40 年代以

收稿日期:2026-04-27

基金项目:国家自然科学基金区域创新发展联合基金重点项目(U25A20708);国家自然科学基金项目(32272914);国家重点研发计划项目(2022YFD1300700)

作者简介:吕银凤,博士,教授,主要研究方向为饲用抗生素替代技术及功能性肽产品的创制与应用,E-mail:yflyu@neau.edu.cn。* 通信作者:单安山,博士,教授,主要从事饲料资源开发与饲用抗生素替代技术研究,E-mail:asshan@neau.edu.cn。

来,研究人员发现在饲料中添加抗生素能够降低动物细菌感染风险,并改善肠道菌群,提高动物生长速度和生产性能^[4]。然而,抗生素在畜牧生产中的长期和不规范使用,导致耐药菌及耐药基因的产生和传播,动物源性食品中药物残留超标,对动物健康、食品安全和公共卫生构成潜在威胁^[5-6]。为应对抗菌药物耐药性问题,欧盟于 2006 年全面禁止抗生素作为促生长剂使用^[7]。2015 年,世界卫生组织发布《全球遏制抗微生物耐药性行动计划》。我国农业农村部于 2019 年发布第 194 号公告,明确要求在饲料端全面停止除中药外的促生长类药物饲料添加剂使用。在此背景下,开发安全、有效的抗生素替代策略已成为畜牧业绿色发展和公共卫生安全领域亟须解决的重大问题。

抗菌肽(antimicrobial peptides, AMP)是一类广泛存在于生物体内的小分子活性肽,在先天免疫防御系统中发挥重要作用^[8-9]。AMP 通常由较短的氨基酸序列构成,对细菌、真菌、病毒及寄生虫等多种病原体发挥抑制或杀灭作用。与传统抗生素相比,AMP 通常具有作用多靶点、抗菌谱广以及诱导耐药风险相对较低等特点^[10]。除直接抗感染作用外,部分 AMP 还能够调节炎症反应、募集免疫细胞、促进组织修复和维持黏膜屏障稳态,因此具有抗感染与免疫调节协同作用^[11-12]。基于上述优势,AMP 作为传统抗生素的替代策略,受到越来越多的关注。然而,AMP 在研发与应用中仍存在一定局限性。本文围绕 AMP 的理化性质、构效关系及作用机制展开综述,总结了影响其生物学活性的关键结构因素,并系统介绍针对不同应用需求所发展的序列优化、修饰改造及人工智能辅助设计等分子优化策略。同时,概述了 AMP 高效制备方法以及在不同领域的最新应用进展和挑战,以期高效、安全和可规模化应用的 AMP 设计与开发提供参考。

1 AMP 的理化特性与功能

1.1 AMP 的理化特性

AMP 作为广泛存在于自然界各类生物中参与免疫防御的小分子活性肽,通常由 12~50 个氨基酸残基组成^[13]。天然 AMP 根据其来源主要分为四大类,分别为动物源 AMP、植物源 AMP、昆虫源 AMP、微生物源 AMP(图 1)。

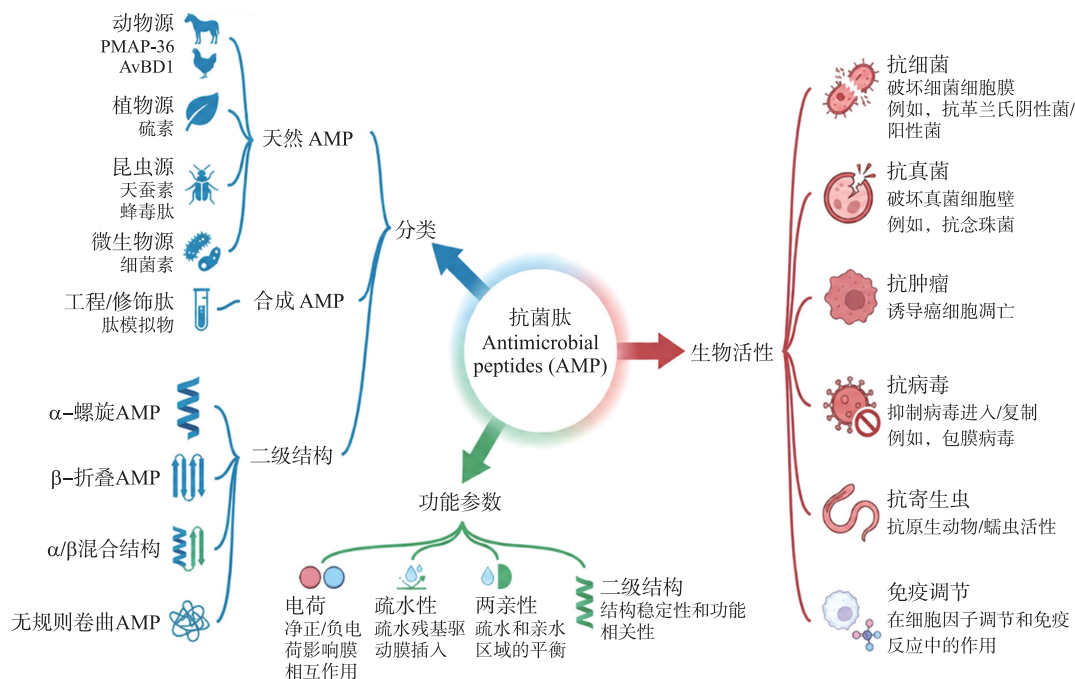


图 1 抗菌肽(AMP)的分类、理化参数、生物学功能

Fig. 1 Classification, physicochemical parameters, and biological functions of antimicrobial peptides(AMP)

1) 动物源 AMP 通常以前体肽形式存在,本身不具有或仅具有较弱的生物活性。当机体受到病原微生物侵袭时,嗜中性粒细胞等免疫细胞被激活,并释放弹性蛋白酶等蛋白水解酶,通过对前体肽的精准切割,使其发生结构变化,转化为具有生物活性的成熟肽^[14]。常见的动物源 AMP 包括 Cathelicidin 家族成员猪源的 PMAP-36、牛源的 Bac5、人源的 LL-37;防御素家族成员鸡源 β-防御素 AvBD1、人源 α-防御素和

β -防御素等^[15-17]。2)植物源 AMP 通常为相对分子质量为 $(2\sim 10)\times 10^3$ 的小分子碱性肽,广泛存在于植物的不同组织中,且在植物表皮及其他外层组织中分布相对丰富。根据半胱氨酸残基形成的二硫键数量与连接模式以及肽序列结构特征,可将植物源 AMP 分为植物防御素(plant defensins)、硫素(thionins)、蛻皮素(snakins)、Hevein 样多肽(hevein-like peptides)和 Knottin 类多肽(knottin-type peptides)等^[18]。3)昆虫源 AMP 是昆虫抵御病原微生物侵袭的重要先天免疫因子。1937 年,人们首次发现了天蚕素,随后开启了人们对昆虫源 AMP 及其他类型 AMP 的挖掘^[19]。昆虫源 AMP 具有多种生物学活性,表现出较大的应用潜力。例如:蜂毒中的蜂毒肽对曲霉属、木霉属、青霉属和假丝酵母等真菌均表现出较强的抗真菌活性;家蝇产生的 Md-AMP 可抑制冷冻猪肉中的细菌生长,起到保鲜防腐的作用^[20-21]。4)微生物源 AMP 是由细菌、真菌和其他微生物产生的小分子活性肽,其种类和结构类型较为丰富。微生物源 AMP 根据合成方式,可以分为核糖体合成途径和非核糖体多肽合成酶(nonribosomal peptide synthetases, NRPS)介导的合成途径^[22]。由于部分天然 AMP 存在提取困难、活性低、毒性高和稳定性差等劣势限制了其实际应用。针对 AMP 的上述劣势,研究者们开展了一系列研究。Tram 等^[23]设计的 BTT1-3A 能够自组装成肽纳米网。在感染 mcr-1 阳性大肠杆菌 M2 的小鼠模型中, BTT1-3A 表现出与等剂量黏菌素相当的抗菌效力,同时具有较强的蛋白酶水解抵抗能力、良好的体内治疗效果和生物安全性。

根据二级结构特征, AMP 还可分为 α -螺旋 AMP、 β -折叠 AMP、 α/β 混合结构 AMP 以及无规则卷曲 AMP 等类型^[24]。

近年来,随着对 AMP 结构与功能关系认识的不断深入,发现净电荷、疏水性、两亲性和二级结构是影响 AMP 抗菌活性、毒性等生物学特性的主要因素。首先,净正电荷是决定 AMP 功能的核心参数之一。阳离子 AMP 通常通过静电作用与微生物细胞膜表面的阴离子组分,如脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)和脂磷壁酸(lipoteichoic acid, LTA)结合,促进 AMP 在膜表面富集;当其局部浓度达到一定阈值后,可进一步破坏膜结构并发挥抗菌作用^[25]。在生理条件下,阳离子 AMP 所携带的正电荷主要由赖氨酸(Lys, $pK_a \approx 10.5$)、精氨酸(Arg, $pK_a \approx 12.5$)以及组氨酸(His, $pK_a \approx 6.0$)等碱性氨基酸及其衍生物提供。在一定范围内,提高上述氨基酸在肽序列中的比例,可增加 AMP 的净正电荷,进而增强其抗菌活性。其次,疏水性也是影响 AMP 活性的重要因素,主要由肽序列中疏水性氨基酸残基所占的比例决定。适当的疏水性有助于 AMP 插入细菌膜的疏水核心,破坏膜结构的完整性并导致膜通透性增加^[26]。因此,在一定范围内提高 AMP 的疏水性可以增强其抗菌活性。然而,当疏水性超过最佳阈值之后,易导致 AMP 发生自聚集,从而降低其抗菌活性;同时,过高的疏水性还可能增强其与真核细胞膜的非特异性相互作用,增加细胞毒性^[27]。再次,亲水性和疏水性残基在肽分子中的空间分布及相对比例所形成的两亲性也是 AMP 重要结构功能参数之一。研究表明,通过对 AMP 进行策略性截短、氨基酸取代或序列添加,可以调节其两亲性,并进一步改善抗菌活性和细胞选择性^[28]。最后,在 AMP 与细胞膜相互作用的过程中,其肽链构象通常由无规卷曲状态转变为相对稳定的 α -螺旋、 β -折叠等结构。稳定的二级结构有助于维持 AMP 的空间构象,促进其与细胞膜或胞内靶标发生相互作用。Zhang 等^[29]研究发现,在 KR-12 第 5 位谷氨酰胺和第 9 位天冬氨酸残基处采用铰链装订技术进行改造,获得的改造肽与原肽相比,螺旋含量与净正电荷均显著升高,表现出更高的治疗指数。需要指出的是,AMP 的净电荷、疏水性、两亲性和二级结构等参数之间存在复杂的相互关系,单独增强某一参数并不一定能够持续提高 AMP 的功能,参数失衡还可能导致抗菌效果下降、细胞毒性增加或生物利用度降低。因此,在 AMP 的设计和改造过程中,需要综合考虑各结构参数之间的协同关系,在抗菌活性、生物安全性和体内稳定性之间寻求合理平衡,从而提升其整体生物学性能并促进其在生产实践中的应用。

1.2 AMP 的功能

AMP 因其多样的分子结构和独特的作用机制,表现出多种生物学活性。总体而言,AMP 的生物学功能主要包括抗细菌、抗真菌、抗病毒、抗寄生虫、抗肿瘤及免疫调节等方面。

在抗细菌和抗真菌方面,多种 AMP 对革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌等常见细菌,以及禾谷镰孢菌、新生隐球菌等真菌均具有较强的抑制或杀灭作用,部分 AMP 对多重耐药菌也表现出良好的抗菌活性^[30-31]。近年来发现的 Lysocin E 对临床耐甲氧西林金黄色葡萄球菌具有较强的抑制作用,其最小抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC)仅为 $0.125\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,且不易诱导耐药性,为耐药菌感染防治提供了新方向^[32]。抗病毒方面,AMP 主要通过直接灭活病毒、阻断病毒吸附和抑制病毒复制等发挥抗病毒作

用。例如,HBD-2 可以与冠状病毒 SARS-CoV-2 受体结合域(receptor-binding domain,RBD)结合,阻断其与具有表达血管紧张素转换酶(angiotensin-converting enzyme,ACE)受体的细胞结合,从而抑制病毒感染和传播^[33]。AMP 的抗肿瘤作用主要依赖于肿瘤细胞膜表面负电荷富集的特异性,带正电荷的 AMP 可以优先与肿瘤细胞膜结合,并通过破坏膜完整性、增加膜通透性等方式诱导肿瘤细胞死亡。此外,部分 AMP 还可能通过诱导肿瘤细胞凋亡、抑制肿瘤血管生成或调节肿瘤微环境等途径发挥抗肿瘤作用。抗寄生虫方面,Rincón-Cortés 等^[34]发现蝎毒及其中的 AMP 对疟原虫、绦虫、弓形虫、锥虫和利什曼原虫等多种寄生虫亦具有较广泛的抑制活性。其作用机制可能涉及破坏寄生虫细胞膜、影响胞内细胞器功能,以及干扰核酸和关键蛋白质的合成等过程,最终抑制或杀灭寄生虫。

在先天性免疫防御方面,AMP 是机体抵御外源性病原体的第一道重要防线,并在免疫调节过程中发挥重要作用。除直接杀灭病原体外,AMP 还可通过趋化免疫细胞、调节 T 细胞分化、影响炎症信号通路以及抑制过度炎症反应等方式参与宿主免疫应答。典型的 LL-37、天蚕素和 cathelicidin 家族成员均已被证实具有多重免疫调节活性^[35-37]。因此,AMP 不仅能够直接发挥抗感染作用,还可通过调控病原体清除、炎症控制和组织修复等过程,形成直接抗菌与宿主免疫调节相结合的综合防御效应。

2 AMP 的作用机制

2.1 抗菌机制

2.1.1 靶向细胞膜机制 AMP 与细胞膜的相互作用是其发挥抗菌活性的起始环节,传统的桶板模型、环孔模型和地毯模型理论认为,AMP 主要依赖其两亲性结构与细菌细胞膜结合、插入磷脂双分子层,并在膜上形成稳定的跨膜孔道,最终导致膜通透性增加、胞内物质泄漏及细菌死亡(图 2-A)。然而,近年来研究发现,也有部分高效 AMP 仅结合在膜表面而不插入磷脂双分子层。有研究基于时间分辨小角 X 射线散射和分子动力学模拟提出了一种新的膜作用机制;AMP 可促进局部脂质翻转,并诱导形成瞬态水通道,无需形成稳定的结构性孔道,即可实现离子的快速跨膜转移,引起细胞膜去极化并导致细菌死亡^[38]。这一机制可解释部分主要分布于膜外周的 AMP 仍可引发快速、显著膜透化效应的原因。例如,IL-37 和吡咯酸肽能够显著破坏脂质膜的结构完整性,但并不形成稳定的结构性孔洞,其抗菌作用可能与短暂水通道介导的离子转运和膜去极化有关^[38]。此外,除直接作用于细胞膜外,部分 AMP 还可通过自组装形成具有特殊空间结构的抗菌材料。纤维状肽自组装形成纳米纤维网后,可通过物理捕获高运动性细菌,并下调鞭毛相关基因的表达,进而削弱细菌运动能力,限制其扩散,并在一定程度上延缓耐药性的产生^[39]。因此,利用自组装纳米纤维网捕获细菌已成为一种新型抗菌机制。

2.1.2 靶向胞内分子靶点机制 部分 AMP 在透化或扰动细胞膜后,可进一步进入细胞内部,并通过靶向核酸、核糖体、细胞分裂相关蛋白及代谢关键酶等胞内分子靶点,干扰细菌多种生理活动(图 2-A)。在核酸调控方面,AMP 除可直接与 DNA 或 RNA 结合外,还可通过诱导核酸相变干扰转录和翻译过程。针对蛋白质合成与折叠,富含脯氨酸的 AMP 可与核糖体结合,通过干扰密码子识别及翻译等过程抑制蛋白质合成;部分 AMP 还可靶向分子伴侣,阻碍蛋白质的正确折叠^[40]。例如,富含脯氨酸的改造肽 Api137 可通过同时与核糖体多肽出口通道和释放因子结合的方式抑制细菌蛋白质表达,从而耗尽细胞中的释放因子池,并导致核糖体在终止密码子处停滞,从而阻断蛋白质翻译过程^[40]。此外,AMP 还可通过诱导异常囊泡形成或结合细胞分裂相关蛋白,干扰细胞分裂进程^[41];亦可靶向代谢通路中的关键酶,破坏物质合成与能量供给^[42]。上述胞内靶向作用可与细胞膜破坏效应协同发生,从多个层面抑制细菌生长或诱导其死亡,从而提高 AMP 的整体抗菌效能。

2.2 抗生物被膜机制

AMP 在亚抑菌浓度下仍表现出显著的抗生物被膜活性,提示其抗生物被膜作用并不完全依赖于直接杀菌效应。针对生物被膜形成、成熟和分散的不同阶段,AMP 可通过多靶点、多途径发挥抑制作用(图 2-B)。在生物被膜形成初期,AMP 可通过干扰鞭毛组装、抑制细菌运动性或改变细菌表面黏附特性,阻断细菌在材料表面或宿主组织表面的初始附着。例如,蜂毒肽在亚抑菌浓度下即可抑制铜绿假单胞菌胞外多糖和毒力因子分泌,同时抑制细菌运动,进而阻碍生物被膜形成^[43]。在生物被膜基质增殖和成熟阶段,AMP 除可破坏生物被膜内细菌的细胞膜外,还可通过降解四磷酸鸟苷等信号分子干扰生物被膜形成所需的严谨反应;同时,AMP 还可抑制胞外多糖的分泌,削弱生物被膜基质的完整性和稳定性^[44];在生物被膜

分散阶段,部分 AMP 可通过促进细菌蹭行运动,诱导成熟被膜发生分散,进而提高细菌对抗菌药物和宿主免疫清除的敏感性。群体感应(quorum sensing, QS)是调控生物被膜形成、毒力因子表达和细菌群体行为的核心信号通路。部分 AMP 可通过下调 QS 相关基因表达,阻断细菌间信号传导,从而进一步增强抗生物被膜效率^[45]。例如,纳米抗菌肽 UB129-41 可靶向细菌外膜蛋白,并通过静电相互作用选择性结合细菌表面的脂多糖;同时,其能够抑制核因子 κ B (NF- κ B) 信号通路,并减少促炎性细胞因子的产生。此外,该纳米复合材料还可显著抑制 QS 系统,降低致病相关基因的表达,最终抑制生物被膜形成^[45]。

2.3 免疫调节机制

AMP 不仅是直接清除病原体的重要效应分子,也是连接先天免疫和适应性免疫的重要调节因子。AMP 可通过调控多种生理过程实现抗感染与免疫调节作用的协同增强(图 2-C)。首先,AMP 可通过直接发挥趋化作用,或间接诱导趋化因子的表达,将先天免疫细胞募集至感染部位,为病原体清除奠定基础。同时,通过激活吞噬相关信号、诱导细胞因子分泌、提高吞噬受体表达以及促进免疫细胞与病原体黏附等途径,强化免疫细胞的吞噬和杀菌效能^[46]。例如,人工设计的抗菌肽 KWH2 能有效杀灭细菌,并对革兰氏阴性菌表现出相对较窄的抗菌谱,还能激活巨噬细胞,诱导胞内钙离子内流、细胞迁移以及活性氧生成。小鼠皮下脓肿模型进一步证实,KWH2 具有一定的免疫调节作用,这为研发高性能免疫调节型抗菌剂提供了参考^[46]。其次,AMP 能够分阶段、多靶点调控炎症反应。在炎症反应启动阶段,AMP 可通过结合脂多糖并阻断其与宿主细胞受体的相互作用,从源头抑制炎症信号级联反应的激活。例如,糖脂肽 GLP6 具有出色的抗菌和免疫调节活性,并表现出较好的稳定性、生物相容性、生物被膜清除能力和膜穿透能力。GLP6 可自组装形成带正电荷的球形聚集体,包载四环素(tetracycline, TC)形成 GLP6@TC 复合体,具有一定的缓释作用,可增强细菌对抗生素的敏感性,实现联合抗菌。研究表明,GLP6@TC 可抑制白细胞介素 2(interleukin-2, IL-2)表达,并通过调控 MAPK(丝裂原活化蛋白激酶)、NF- κ B(核因子 κ B)等信号通路平衡促炎与抗炎细胞因子的表达,在治疗细菌感染时显著减轻炎症反应,表现出较好的应用潜力^[47]。

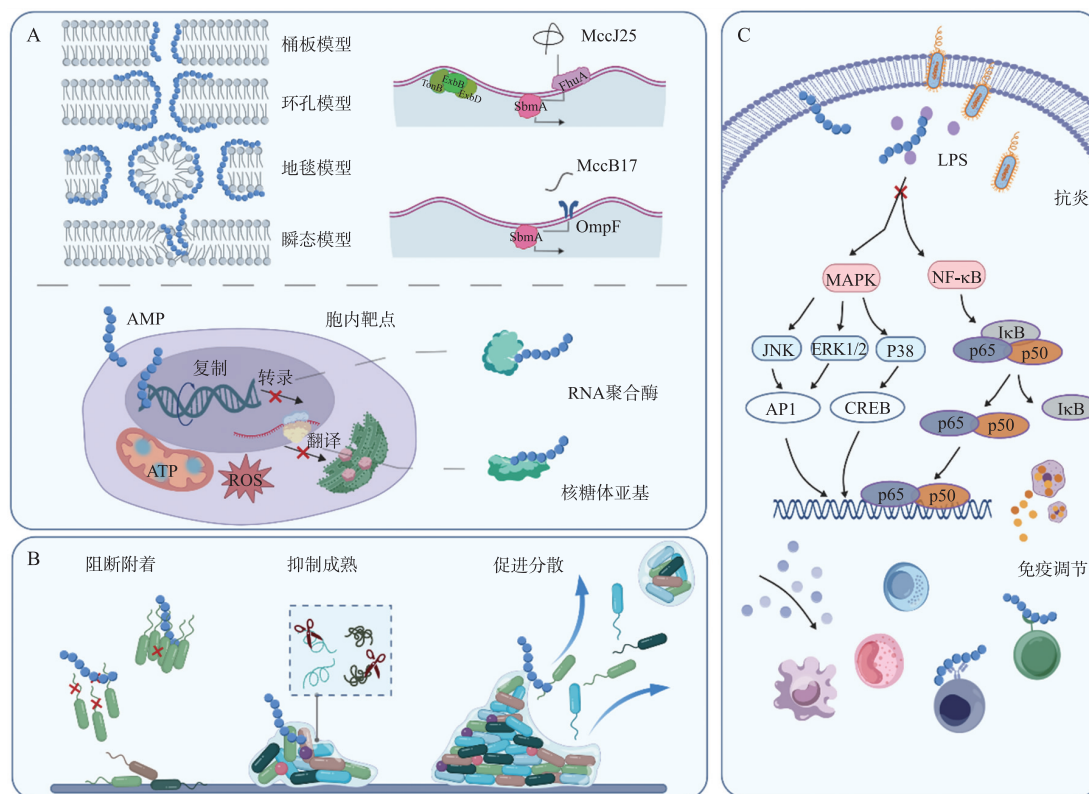


图 2 AMP 的作用机制图(图片于 BioGDP.com 平台创作^[48])

Fig. 2 Mechanism diagram of AMP (Figure created on the BioGDP.com platform^[48])

A. AMP 协同破膜与靶向胞内分子发挥抗菌作用;B. AMP 靶向生物被膜形成不同阶段发挥抗生物被膜作用;C. AMP 调控炎症信号通路与免疫反应机制。

A. AMP exerts antibacterial effects through synergistic membrane disruption and targeting intracellular molecules;B. AMP exerts anti-biofilm effects by targeting different stages of biofilm formation;C. AMP regulates inflammatory signaling pathways and immune response mechanisms.

3 AMP的优化与设计策略

尽管AMP在多个领域展现出良好的应用潜力,但其研发和规模化推广仍面临多方面的理论与技术挑战^[49]。首先,与传统抗生素相比,部分AMP的抗菌活性仍存在一定差距,且基于AMP的构效关系制约,其优化效率和活性提升空间受到一定局限。因此,有必要进一步建立高效AMP的创制方法,并探索其与其他抗菌剂的联合应用策略^[50]。更为重要的是,AMP抗菌活性的增强可能伴随着系统毒性的升高,降低其生物安全性。其次,现有广谱AMP在肠道内缺乏良好的靶向选择性,其进入肠道后,在抑制致病菌的同时,也可能对正常共生菌群产生非特异性影响,导致肠道微生态失衡,增加继发感染的风险^[51]。因此,开发低毒性、具有良好靶向性,且能够特异性作用于某一种或某一类病原体的AMP制剂,是提高其应用潜力的重要方向。此外,AMP作为小肽易被蛋白酶降解,导致其在复杂生理环境中难以保持结构完整性和抗菌活性,被认为是限制其体内发挥作用的关键因素之一^[52]。因此,如何提高AMP在复杂生理环境中的稳定性,延长其作用时间并维持有效的抗菌活性,仍是当前AMP研究亟待突破的核心问题。为了攻克上述限制AMP开发应用的技术难点,研究者们从天然抗菌肽的优化改造及全新人工设计等多个维度开展了AMP的研发与设计,为高效安全抗菌肽的推广应用奠定了重要基础。

3.1 基于构效关系的天然肽优化

天然AMP的优化主要基于其结构功能关系,通过调控净电荷、疏水性、两亲性等关键参数,在抗菌活性、生物安全性与生理稳定性之间寻求平衡。净电荷是AMP与细菌膜发生静电相互作用的基础。利用精氨酸、赖氨酸等天然阳离子氨基酸进行氨基酸替代,可以通过提高净电荷增强AMP与细菌膜之间的静电结合。然而,研究发现,净电荷对AMP活性的影响通常存在一定阈值。例如,当肽V13K净电荷从+7提高至+10时,其抗菌活性并未提升,但溶血毒性剧增,这可能是由于过高的阳离子性增强了AMP与真核细胞膜之间的非特异性结合^[53]。疏水性直接影响AMP对细菌膜的透化和插入作用,优化核心聚焦于天然疏水氨基酸的选型与比例调控。有研究以中国扬子鳄源As-CATH4、As-CATH5两个AMP为模板,将其序列中的赖氨酸和精氨酸替换为亮氨酸和丙氨酸,以提高肽分子的疏水性,结果显示,改造后肽的杀菌速率和体内抗菌效力均得到显著提升,且亮氨酸替换效果更优^[54]。然而,单纯提高疏水性可能导致AMP对真核细胞膜的选择性下降。因此,还需要通过合理调整阳离子氨基酸的种类、数量及空间分布,平衡AMP的膜结合能力与细胞选择性。两亲性是AMP形成亲水-疏水二元结构实现膜结合的重要基础。通过优化亲水性和疏水性残基的序列排布,可以在维持膜作用能力的同时,降低非特异性毒性。例如,以牛酪蛋白源肽WI-6为模板设计的镜像对称AMP中,非完美两亲性 α -螺旋结构的FW-3抗菌活性显著优于具有完美两亲结构的FK-4和FR-5,且兼具良好的稳定性与生物安全性^[55]。上述研究表明,AMP优化不应简单追求某一结构参数的最大化,而应综合调节多种参数,以实现抗菌活性与生物安全性的平衡。

3.2 基于天然肽的全新AMP设计

基于AMP二级结构特征,可通过模拟天然AMP的结构规律、整合不同功能片段或构建功能模块,可以实现AMP全新设计,在保留天然肽良好生物相容性优势的同时,规避其活性不足、稳定性差等固有缺陷。此种利用天然氨基酸的周期性排列构建标准化设计模板,可以在维持抗菌活性的同时简化序列设计和合成过程。例如,根据 α -螺旋蛋白折叠原理,研究者们构建了两亲性序列模板(XXYYXXYYXXYYX,其中X代表阳离子残基,Y代表疏水残基),设计出以H-R为代表的AMP。该AMP兼具广谱抗菌、抗生物被膜、低耐药性诱导风险等特点,在体内表现出良好的安全性,并可与传统抗生素产生协同作用,为耐药菌感染的治疗提供了新的策略^[56]。此外,以天然AMP功能片段整合为基础进行融合设计,能够实现活性、靶向性、胞内递送等功能拓展。细胞穿透肽在该类AMP功能整合设计中被广泛应用。细胞穿透设计通常将抗菌结构域与细胞穿透单元相结合。例如,通过嵌合自组装核心、疏水基序与TAT细胞穿透单元构建的自组装纳米肽F3FT,实现了高效细胞穿透、精准杀灭胞内耐药菌^[57]。靶向设计策略则通过引入靶向特异性识别元件,提高AMP对目标病原体的选择性。如将无乳链球菌信息素与细胞穿透肽融合,并辅以净电荷优化,实现了特异性杀灭病原菌,为AMP的精准抗感染治疗提供了新的设计思路^[58]。

3.3 AMP的侧链修饰

3.3.1 末端修饰 AMP的N端氨基($-\text{NH}_2$)和C端羧基($-\text{COOH}$)2个位点由于其远离肽分子的主要活性区域,适当的末端修饰通常不易破坏AMP的核心抗菌构象,且反应条件温和,是AMP末端修饰的主

要位点^[59]。封端是 AMP 改造中较为常见的策略,常用方法包括 N 端乙酰化和 C 端酰胺化,主要通过对肽链两端进行化学封闭,降低蛋白酶对肽链末端的识别和结合,增强其抗蛋白酶降解能力^[60]。然而,末端修饰的效果受到多种因素影响,包括肽序列、二级结构以及封端试剂种类等。Nguyen 等^[61]研究了人血清中牛乳铁蛋白“抗菌中心”六肽序列经末端修饰后的稳定性,结果表明,同时进行 N 端乙酰化和 C 端酰胺化的肽稳定性最高,其次为仅进行 N 端乙酰化的肽,而仅进行 C 端酰胺化的肽稳定性相对较低。该研究表明,N 端和 C 端的双重修饰能够更有效地保护肽分子免受蛋白水解降解。Svendsen 等^[62]对一系列阳离子短肽进行研究,发现不同类型的末端修饰对 AMP 稳定性的影响存在明显差异。N 端乙酰化对肽抵抗胰蛋白酶降解的影响较小,而 C 端酰胺化的类型会显著影响肽的稳定性。此外,该研究进一步强调了立体化学因素的重要性,表明 C 端酰胺化基团中的甲基可影响其与胰蛋白酶 S1 结合位点之间的相互作用。这种立体化学效应可能通过降低胰蛋白酶对 AMP 的识别和切割能力来增强 AMP 的稳定性。

综上所述,末端乙酰化、酰胺化操作相对简便、反应条件温和,对肽链核心抗菌构象的影响较小,是低成本提高 AMP 蛋白酶抗性的优选策略,常被用作多肽修饰的基础配套工艺。然而,末端修饰通常保护肽链两端,难以抵御蛋白酶对肽链中间区域的切割,因此对 AMP 整体稳定性的提升幅度有限。同时,该方法对 AMP 抗菌活性、溶血毒性和理化溶解性的改善作用也相对有限。对比侧链修饰、大分子偶联等技术,末端修饰通常不作为独立策略使用,而是与其他改造方法联合应用,以进一步改善 AMP 的综合性能。

3.3.2 聚乙二醇修饰 聚乙二醇化 (polyethylene glycolylation, PEGylation) 是一种广泛应用于蛋白质和多肽药物的修饰技术,主要通过将聚乙二醇 (polyethylene glycol, PEG) 链偶联至 AMP 分子,降低其细胞毒性并增强稳定性,以改善其治疗性能^[63]。PEG 修饰通过空间位阻效应保护 AMP 免受蛋白酶降解,提高肽分子的分子质量和水溶性,减少肾脏滤过和酶促代谢,并降低网状内皮系统 (reticuloendothelial system, RES) 的清除率,延长 AMP 在体内的半衰期。此外,PEG 链形成的亲水性空间屏障还可减少 AMP 与宿主细胞膜之间的非特异性相互作用,进而降低其细胞毒性和其他不良反应^[8]。Morris 等^[64]对由 LL-37 和家蚕 AMP A 片段组成的嵌合 AMP CaLL 进行了 N 端 PEG 修饰。结果表明,PEG 修饰 CaLL (PEG-CaLL) 对肺组织的毒性显著降低,同时保持了良好的抗菌活性,说明 PEG 修饰能够在一定程度上提高 AMP 的生物相容性,并维持其抗菌性能。此外,本课题组的研究结果也证实 PEG 修饰是一种简便且具有一定普适性的 AMP 改造策略,修饰后的 AMP 表现出更强的抗胰蛋白酶水解能力 (图 3-A、B)。

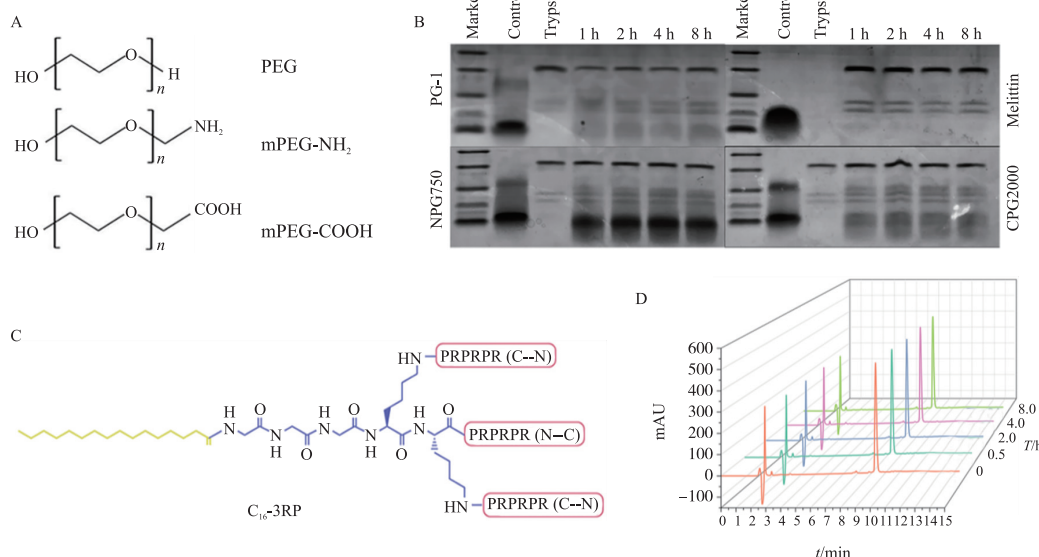


图3 AMP的侧链修饰

Fig. 3 Side chain modification of AMP

A. 聚乙二醇修饰抗菌肽序列; B. NPG750 对胰蛋白酶的抗酶解测定; C. 脂肪酸修饰抗酶解抗菌肽 C₁₆-3RP 的分子结构; D. 用 4 mg·mL⁻¹ 胰蛋白酶孵育后 C₁₆-3RP 纳米颗粒的 RP-HPLC 分析^[68]。

A. Polyethylene glycol modification of antimicrobial peptide sequences; B. Determination of the proteolytic resistance of NPG750 to trypsin; C. Molecular structure of the fatty acid-modified proteolysis-resistant antimicrobial peptide C₁₆-3RP; D. RP-HPLC analysis of C₁₆-3RP nanoparticles after incubation with 4 mg·mL⁻¹ trypsin^[68].

研究还发现,与 N 端 PEG 修饰相比,C 端 PEG 修饰的 AMP 表现出更强的抗菌活性和更高的治疗潜力,但其对胰蛋白酶降解的抵抗能力略有下降^[65]。需要指出的是,PEG 修饰肽的生物学性质受到多种因素的共同影响,包括 PEG 链的长度、构象、连接方式、修饰位点以及偶联反应的化学性质等。因此,目前临床应用的 PEG 修饰 AMP 仍相对有限,这表明通过 PEG 修饰来提高 AMP 的蛋白水解稳定性、抗菌活性和治疗指数仍存在较大挑战。

PEG 修饰在降低细胞毒性、延长体内半衰期和改善多肽水溶性等方面具有明显优势,其综合性能通常优于单纯的末端封端修饰。然而,PEG 修饰也存在一定局限性。PEG 长链可能对 AMP 与细菌细胞膜的结合产生空间阻碍,使其在稳定性提高的同时出现抗菌活性下降。此外,PEG 分子质量、修饰位点的细微差异,均可能引起药效学性质的显著变化,增加了保持修饰效果重复性的难度。高分子质量的 PEG 还可能增大多肽分子的空间体积,影响其组织穿透能力,存在长期体内蓄积和免疫排斥的潜在风险。因此,在应用 PEG 修饰策略时,需要综合评估 PEG 分子特征、修饰位点和偶联比例等因素对 AMP 抗菌活性、稳定性、组织分布及安全性的影响。

3.3.3 脂肪酸修饰 脂肪酸修饰能够显著提升 AMP 的抗菌活性与膜穿透能力。脂肪酸链具有较强的疏水性,可增强 AMP 与细菌细胞膜的疏水相互作用,促进肽链插入膜内形成孔道,从而提高其对革兰氏阴性菌、革兰氏阳性菌及耐药菌的抑制活性,相关研究显示其抗菌效力可提高 2~5 倍^[8]。此外,脂肪酸链还可通过空间位阻效应部分遮蔽 AMP 的酶切位点,降低其被蛋白酶降解的效率,减缓体内清除速率,使其血清半衰期延长 3~8 倍^[66]。根据脂肪酸链的连接位点,常见脂肪酸修饰方式主要包括以下 3 类:一是 N 端修饰,即利用肽链 N 端氨基与脂肪酸的羧基形成酰胺键。这是较为常用的修饰方式,具有较好的位点特异性,并有助于保留肽链活性中心。二是侧链修饰,即通过赖氨酸侧链 ϵ -氨基或精氨酸侧链胍基等碱性氨基酸残基与脂肪酸进行共价或非共价偶联,可实现多位点修饰。三是 C 端修饰,即利用肽链 C 端羧基进行偶联,连接形式可根据肽链结构和偶联化学性质选择酰胺键、酯键或其他连接方式,主要适用于 N 端为活性关键位点不适宜修饰的 AMP^[67]。Lai 等^[68]以棕榈酸为疏水链,基于精氨酸-脯氨酸重复单元的分支结构,设计并构建了肽树枝状纳米肽(图 3-C),获得了一系列对多种细菌具有较强抗菌活性的脂肽。其中,活性最强的 C₁₆-3RP 在体外和体内试验中均未显示明显毒性,表现出良好的生物安全性。此外,C₁₆-3RP 在生理浓度的盐离子以及血清和蛋白酶环境下均具有较好的稳定性(图 3-D),并在小鼠急性腹膜炎模型中表现出良好的治疗效果。在此基础上,利用短链脂肪酸设计合成了树枝状抗真菌肽。其中,C₄-3RP 具有优异的抗耐药真菌及生物被膜抑制活性。此外,C₄-3RP 还表现出高蛋白酶稳定性和盐离子耐受性,并在白念珠菌诱导的小鼠皮肤感染模型中治疗效果显著^[69]。

综上,脂肪酸修饰可有效优化 AMP 的抗菌活性和稳定性,尤其适用于局部抗感染等应用场景。然而,相关研究也表明,脂肪酸修饰仍存在显著弊端:一是脂肪酸链的引入可能降低 AMP 的水溶性,尤其是长链脂肪酸修饰易导致 AMP 聚集,降低其在水溶液中的分散性,影响体内转运与生物利用度;二是潜在毒性增加,过度脂肪酸化修饰可能增强 AMP 与真核细胞膜的非特异性结合,增加溶血毒性和组织刺激性^[70]。因此,在脂肪酸修饰 AMP 的设计过程中,应综合平衡疏水性与水溶性、抗菌活性与生物安全性之间的关系。结合多种改造策略,有望规避脂肪酸修饰的弊端,进一步推动其应用转化。

3.3.4 糖基化修饰 在自然界中,糖基化是一种普遍存在的共翻译或翻译后蛋白质修饰方式,能够扩展蛋白质的结构多样性和生物学功能^[71]。糖类可通过共价键连接至蛋白质或肽链的特定位点,根据连接原子和连接方式的不同主要分为 4 类:N-连接(糖基连接于天冬酰胺侧链)、O-连接(糖基连接于丝氨酸或苏氨酸侧链)、S-连接(糖基连接于半胱氨酸巯基)以及 C-连接(碳水化合物通过碳原子共价附着于肽链)^[72]。N-连接和 O-连接糖肽是自然界中最常见的糖基化类型,已有多种化学合成策略用于制备 N-连接或 O-连接糖肽^[60]。目前,糖基化是优化蛋白质和肽类药物治疗效果的有效策略,例如降低毒性、提高分子稳定性以及优化药代动力学和药效学性质等。对于 AMP 而言,糖基化可增加肽分子的空间位阻、刚性和表观分子质量,并部分遮蔽蛋白酶切割位点,从而降低其被蛋白酶识别和降解的可能性。同时,糖基化还可能减缓 AMP 的肾脏清除过程,延长其体内半衰期。研究证实,在 RLK10 肽的天冬酰胺残基处引入 N-乙酰氨基葡萄糖进行糖基化修饰后,其抗蛋白酶降解能力显著增强^[73]。Li 等^[74]通过在肽链 C 端引入精氨酸糖基化,设计合成了糖肽 SLP-51。研究发现,SLP-51 对临床分离耐药菌株表现出优异的体外抗菌活性。此外,与母肽 SLP-0 相比,SLP-51 具有更高的蛋白水解稳定性;更为重要的是,其溶血活性显著降

低,表明糖基化修饰有助于改善 AMP 的细胞选择性和生物安全性。尽管现有研究提示,糖基化修饰与 AMP 抗蛋白水解能力的增强密切相关,但糖基化位点、聚糖组成及糖链长度对 AMP 结构、活性和毒性的具体影响仍需要更系统的研究。

总体而言,糖基化修饰兼具提升 AMP 稳定性、降低溶血毒性、提高生物相容性等优势,而且糖基化 AMP 在结构上更接近天然糖肽,其潜在免疫原性风险可能低于 PEG 化和脂肪酸化等部分人工修饰方式。但该技术是目前多肽修饰策略中合成难度和成本相对较高的一类,其主要问题包括糖基化反应位点选择性有限、副产物较多以及纯化工艺复杂,规模化制备难度大。同时,不同糖链结构和修饰位点对 AMP 活性的影响规律尚未完全明确,相关构效关系研究仍相对滞后。因此,糖基化 AMP 的工艺开发和产业化成熟度目前仍低于末端修饰和脂肪酸修饰等技术。未来需要结合位点特异性合成、酶促糖基化和高效纯化技术,进一步阐明糖链结构与 AMP 生物学功能之间的关系,推动糖基化 AMP 的规模化制备和应用转化。

3.4 AMP 的非天然氨基酸修饰

非天然氨基酸修饰是通过引入非天然氨基酸对 AMP 进行结构改造的重要技术。该策略可通过调控肽链空间构象、理化性质及其与靶标的相互作用,从而在多个层面优化 AMP 的功能特性,为高性能 AMP 的设计与开发提供技术支撑。将 *L*-氨基酸替换为 *D*-氨基酸是 AMP 非天然氨基酸修饰中最常用的方法。除甘氨酸外,大多数 α -氨基酸的 α -碳原子具有手性,因此存在 *D* 型和 *L* 型 2 种构型氨基酸。由于天然蛋白酶通常对 *L*-氨基酸构成的肽链具有较强的识别和水解能力,引入 *D*-氨基酸可降低其被蛋白酶识别和切割的可能性,从而提高 AMP 的稳定性。例如, Jia 等^[75] 利用 *D*-氨基酸替代策略对 AMP 进行改造。研究发现,所有 *D*-氨基酸衍生物和部分 *D*-赖氨酸取代衍生物均表现出更好的胰蛋白酶和胰凝乳蛋白酶稳定性。相似地, Ong 等^[76] 对 IK8-all L 和 IK12-all L 进行了系统的 *D*-氨基酸替代。结果显示,相应的 *D* 型对映异构体仍具有较强的抗菌活性,且其溶血活性仅发生轻微变化或无明显变化。此外, IK8-all D 也被证实可有效抵抗胰蛋白酶及蛋白酶 K 的酶解作用。Di 等^[77] 的研究同样表明,以 *D*-缬氨酸替代 *L*-缬氨酸能够增强 AMP 对蛋白酶降解的抵抗能力(图 4-A)。

除了手性修饰外,卤代修饰也是非天然氨基酸修饰的重要分支。该策略通过在 AMP 中引入含氟、氯、溴等卤素原子的非天然氨基酸,调节肽分子的疏水性、空间构象和分子间相互作用,从而改善其抗菌活性和稳定性。卤素原子的引入还可能通过卤键等非共价相互作用影响肽链的构象稳定性及其与生物靶标之间的结合。越来越多的研究表明,将氟化氨基酸引入 AMP 序列可以通过调节肽分子的疏水性,增强其抗菌活性和蛋白酶稳定性^[78]。Ouyang 等^[79] 研究发现,与 WK₂ (GWKKWKKI-NH₂) 相比,其氟化类似物 FuK 表现出更优异的抗菌性能。特别是 FuK 的血清半衰期超过 1 440 min,是 WK₂ 的 6.4 倍以上。Meng 等^[80] 研究表明,相较于亲本肽,所制备的氟化肽均能够保持或显著增强抗菌活性,同时表现出一定程度提高的蛋白酶抵抗能力。除氟化修饰外, Jia 等^[81] 将卤代丙氨酸残基引入 AMP 凝胶 I 中,以评价卤代修饰对 AMP 性能的影响,结果表明,卤代修饰增强了 AMP 的体外抗菌和抗生物被膜活性。

引入 *D*-氨基酸、卤代氨基酸等非天然残基,可以从分子手性和空间构象等层面降低 AMP 被蛋白酶识别的可能性,其稳定性改善效果通常优于单纯依赖天然氨基酸替换的改造策略。同时,该方法还能够一定程度上实现抗菌活性与细胞毒性之间的定向调控。然而,非天然氨基酸修饰在生产成本、工艺复杂性和长期安全性等方面仍面临挑战。合成肽结构复杂性的增加,提高了制备工艺的开发难度,非天然氨基酸原料通常价格较高,相关化学合成路线较为复杂,导致规模化生产成本较高^[82]。卤代、手性改造后的多肽属于全新人工化合物,其体内代谢途径、组织分布和长期生物安全性尚未得到充分阐明,因此需要开展更加系统和严格的毒理学评价。总体来看,该技术的研发和生产成本相对较高,更适用于高端医用候选肽的深度改造,在畜牧业、食品保鲜等对成本较为敏感的应用场景中的推广仍面临一定限制。

3.5 AMP 的环化修饰

环化修饰是通过化学或酶学方法在肽链内部构建共价键,使线性 AMP 形成环状结构的一种改造策略^[83]。自 20 世纪 90 年代首个环化肽类抗生素进入临床以来,环化修饰逐渐成为 AMP 结构优化的重要技术之一。该策略主要通过限制肽链构象、提高分子刚性和增强抗蛋白酶降解能力,为高性能 AMP 的设计提供了新的思路。根据成环位置和连接方式的不同,肽环化策略主要包括 3 种类型:头尾环化(在肽链 C 端羧基和 N 端氨基之间形成酰胺键,使整个肽链首尾相连)、骨架-侧链环化(肽链 C 端羧基或 N 端氨基与侧链氨基酸残基上的官能团形成内部酰胺键、内酯键或硫内酯键)和侧链-侧链环化(2 个侧链官能团

之间形成二硫键、烃链桥或其他共价“桥”,连接肽链不同区域)^[84]。Mwangi 等^[85]基于银环蛇毒液的 AMP 衍生物 cathelicidin-BF15,利用色氨酸和赖氨酸替代原始肽中的苯丙氨酸、丝氨酸和亮氨酸,并引入半胱氨酸,设计合成了由二硫键稳定的环肽 ZY4。分子动力学模拟结果表明,二硫键的引入提高了 ZY4 的构象稳定性。此外,ZY4 对铜绿假单胞菌和鲍曼不动杆菌具有优异的体外抗菌活性。在体内试验中,ZY4 能够有效降低铜绿假单胞菌引起的肺部感染及其相关炎症反应。药代动力学分析进一步表明,ZY4 具有较好的体内稳定性,半衰期约为 1.8 h,能够在较长时间内维持有效血浆浓度。White 等^[86]报道了一种以人源宿主防御肽 LL-37 为基础改造获得的主链环化肽 CD4-PP。体外试验结果表明,与线性母肽相比,环化修饰后的 CD4-PP 对多种皮肤致病菌包括多重耐药菌表现出更强的抑菌活性。

除主链环化外,侧链-侧链环化也被认为是提高 AMP 抗蛋白水解稳定性的有效策略。受天然环肽结构的启发,Dolle 等^[87]通过引入半胱氨酸并形成二硫键,设计了侧链环化的 *temporin-SHf* 突变体。该突变体在保持广谱抗菌活性的同时,与天然线性 *temporin-SHf* 肽相比显示出更强的胰蛋白酶和血清稳定性。表明侧链间二硫键能够有效限制肽链构象变化,降低蛋白酶对敏感切割位点的识别和接近,从而增强 AMP 在生理环境中的稳定性。

环化修饰通过构建共价键约束肽链构象,能够显著提升 AMP 的结构刚性与抗酶解能力,并在一定程度上延长其体内半衰期。多数环化肽可保留甚至增强原有抗菌活性,其综合性能可能优于线性肽的单个修饰。同时,不同环化方式也存在明显差异:头尾环化操作简单,但对长链多肽构象约束能力有限;侧链-侧链二硫键环化通常具有较强的构象稳定作用,但其工艺控制难度较大。总体而言,环化肽的合成、纯化难度高于线性肽,规模化制备成本增加。此外,过度刚性的环状结构可能限制部分多肽对细菌细胞膜穿透能力,尤其是对于需要进入细胞内部发挥作用的 AMP,其胞内递送和杀菌效果可能弱于线性母肽。因此,在 AMP 环化设计过程中,应根据目标病原体、作用靶点和抗菌机制合理选择成环方式、环化位置及环尺寸,在提高稳定性的同时避免过度降低 AMP 的膜结合能力和细胞穿透能力。

3.6 AMP 的二聚化修饰

二聚化修饰是通过连接子将 2 个 AMP 分子(同源或异源)连接形成二聚体的一种结构改造策略^[88]。与单体 AMP 相比,二聚体 AMP 通常具有更强的抗菌活性、更高的稳定性以及更优的药代动力学特性。其核心优势基础在于通过多价结合效应增强与细菌细胞膜的相互作用,同时延长半衰期^[89]。根据连接肽链类型和连接方式的不同,二聚化修饰可分为多种类型,二聚化 AMP 在结构与功能上存在较大差异。按照肽链组成,二聚化修饰主要分为同源二聚化和异源二聚化;按照连接方式,则可通过柔性连接子或刚性连接子介导。同源二聚化是指将 2 个相同的 AMP 分子连接形成二聚体。该策略能够增强 AMP 的固有活性,因为 2 个相同的活性单元可同时与细菌细胞膜结合,通过多价相互作用产生协同效应。例如,研究人员以 KR-12 为模板,设计合成了骨架连接的 KR-12 二聚体(图 4-B)。与单体 KR-12 相比,骨架连接的 KR-12 二聚体表现出更高的抗菌活性和稳定性,但其溶血活性和细胞毒性也有所增加^[90]。异源二聚化则是将 2 个不同的 AMP 分子连接,可实现功能互补、拓展抗菌谱或降低单一肽段的潜在毒性。Liu 等^[91]基于

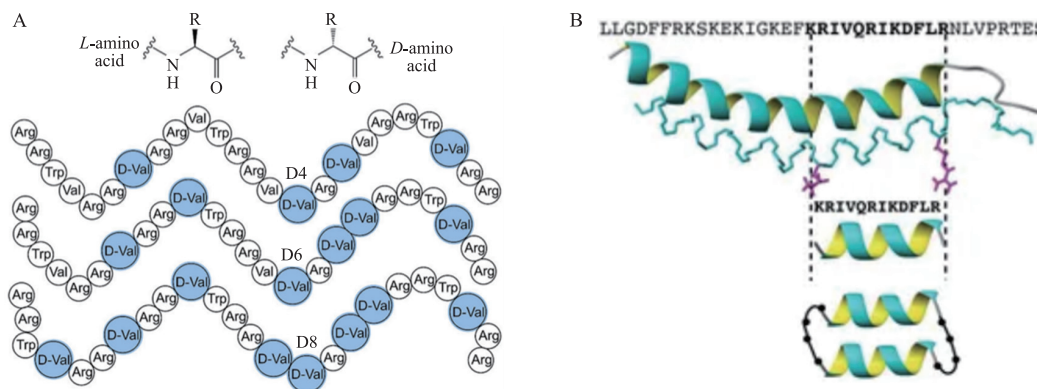


图 4 AMP 的非天然氨基酸修饰和二聚体修饰

Fig. 4 Non-natural amino acid modification and dimer modification of AMP

A. WLBU2 的 L-和 D-氨基酸和 D-对映体^[77]; B. KR-12 二聚体的三维结构示意图^[90]。

A. L- and D-amino acids and the D-enantiomer of WLBU2^[77]; B. Three-dimensional structural schematic of the KR-12 dimer^[90]。

黄蜂肽设计了一系列侧链杂二聚体肽,包括 J-AA(anoplin-anoplin)、J-RR(RW-RW)和 J-AR(anoplin-RW)。结果表明,与相应亲本肽相比,所有二聚体类似物对受试细菌菌株的抗菌活性提高了 4~16 倍。

二聚化修饰主要依靠多价结合效应放大抗菌活性,同源二聚体操作简单、活性提升显著;异源二聚体具有功能互补的优势,可用于拓展抗菌谱或赋予单体 AMP 不具备的特定性能。因此,二聚化是增强 AMP 药效的一种有效改造方式。然而,该技术也存在一定局限。首先,二聚化会使 AMP 的分子质量和空间尺寸明显增加,可能降低其水溶性和组织穿透能力,并影响其在体内的分布和清除过程。部分二聚体还可能因膜结合能力过强而出现溶血活性和细胞毒性升高。其次,连接子的性质对二聚体整体性能具有显著影响。柔性连接子和刚性连接子在结构自由度、空间构象和膜结合方式等方面存在差异,而不同连接位点及连接子长度也可能导致药效和毒性的明显变化。目前,连接子设计尚缺乏统一标准,导致不同研究之间的结果重复性和可比性受到一定影响。相较于环化、非天然氨基酸修饰,二聚化更侧重于活性强化,对蛋白酶稳定性提升和体内半衰期的延长并无明显优势。因此,二聚化通常作为 AMP 活性优化的辅助策略。

3.7 AMP 的杂合设计

杂合设计是将 AMP 与其他功能分子(如另一种 AMP、传统抗生素、细胞穿透肽等)通过化学偶联或基因工程等方法连接形成杂合分子的设计策略。该方法可利用不同功能分子之间的协同作用,实现抗菌活性增强、抗菌谱拓展、靶向性提升、毒性降低等多重优化目标,尤其适用于多重耐药菌感染的防治。杂合设计的关键在于合理选择杂合位点与功能片段,确保各功能分子的活性位点不被屏蔽,从而充分发挥不同组分之间的协同作用。AMP-AMP 杂合是较为常见的设计类型,通过将 2 种不同抗菌机制或抗菌谱的 AMP 连接,实现功能互补和协同杀菌。Yamauchi 等^[92]通过在 9P2-2(一种来源于蛙类 AMP 的类似物)的 C 端和癌霉素(一种富含脯氨酸的 AMP)的 N 端分别引入半胱氨酸残基,并进一步通过二硫键或硫醚键将其与氨苄西林(ampicillin, Amp)衍生物进行共价偶联,构建了可切割和不可切割的 AMP 抗生素偶联物。其中,通过二硫键将氨苄西林衍生物连接到 9P2-2 的 N 端形成的可切割偶联物 Amp-SS-9P2-2 对革兰氏阴性菌的抗菌活性显著增强。相似地,Wei 等^[93]将 Cecropin A 的 N 端疏水区与 LL-37 的核心抗菌片段进行融合,构建的杂合肽 C-L 对所有测试菌株均表现出优于母肽的抗菌活性。该结果说明,整合不同 AMP 的优势结构域,可以在一定程度上优化肽分子的膜结合能力和杀菌效应,为高效 AMP 的设计提供可行路径。

总体而言,杂合设计具有较高的功能整合度,可融合不同抗菌分子的优势,是当前抗多重耐药菌候选分子研发的重要方向。尤其是 AMP-抗生素偶联物,可通过不同作用机制的协同,增强对耐药菌的抑制效果,并降低单一抗菌药物的使用剂量,延缓耐药性的发展。然而,杂合设计也面临较为突出的技术挑战。首先,多种功能分子的连接容易产生空间位阻,导致活性位点被遮蔽,甚至引发不同功能组分之间的相互拮抗。其次,连接子类型、连接位点和可切割性质均可能影响杂合分子的构象、释放行为、抗菌活性和毒性,因而需要进行大量结构优化和条件筛选。此外,基因工程融合表达或化学偶联通常涉及较复杂的制备工艺,产物均一性较难保证。因此,与其他 AMP 优化技术相比,杂合设计虽然具有较高的综合性能提升潜力,但其研发难度、工艺成本和安全性评价要求也相对较高。目前多数研究仅停留在体外活性筛选阶段,距离临床转化仍面临巨大挑战,需要进一步开展系统研究。

3.8 AMP 的纳米化设计

纳米 AMP 是指通过对 AMP 氨基酸序列进行特异性设计,或将 AMP 与特定无机、有机材料结合,形成具有纳米尺度的组装体。根据组装方式和材料组成的不同,纳米 AMP 可形成纳米纤维、纳米颗粒、纳米胶束及其他纳米结构,其特征尺寸通常处于纳米尺度范围内,部分规则结构可通过电子显微镜进行观察和表征^[94]。AMP 的纳米化设计能够在保留或增强抗菌活性的同时,改善单体肽在体内稳定性不足、易被快速清除、靶向性有限及毒性较高等问题。通过纳米组装或纳米载体递送,AMP 可实现靶向运输、缓释释放和局部富集,减少其在非靶组织中的暴露。此外,纳米化 AMP 还能够与其他药物联合使用,发挥协同治疗作用^[95]。近年来,基于芳香族氨基酸和静电相互作用设计的 AMP 纳米纤维受到广泛关注。这类纳米纤维通常依靠芳香基团之间的疏水作用和 $\pi-\pi$ 堆积,以及带电氨基酸残基之间的静电作用形成稳定的超分子结构,在治疗细菌感染上展现出巨大潜力^[96]。在此基础上,本课题组提出了一种融合自组装核心、疏水基序和细胞穿透单元的嵌合设计策略,用于构建具有双重功能的自组装 AMP。其中,F3FT 和 N3FT 表现出较强的抗菌活性和良好的生物相容性。更为重要的是,F3FT 和 N3FT 能够高效穿透细胞,清除细胞内细菌,同时减轻感染相关炎症反应;在体内试验中,2 种纳米肽均表现出较好的安全性和治疗潜力^[57]。

AMP在形成纳米结构后,其生物学活性会发生不同程度的变化,具体影响取决于纳米结构类型、组装方式、材料组成、粒径、表面电荷及AMP在组装体中的空间排布等。现有研究主要集中于纳米化对AMP抗菌活性、生物稳定性和生物安全性的影响^[97]。合理设计的纳米结构能够提高AMP在特定感染部位的富集,控制其释放速率,并赋予其新的抗菌机制或功能,为AMP在复杂感染环境中的应用提供了新的设计思路。然而,纳米组装过程对溶液环境、材料相容性及制备工艺要求极高,粒径分布、形貌和结构均一性较难稳定控制。同时,有机或无机载体的长期生物安全性、体内代谢途径和潜在蓄积风险也尚未得到充分验证。此外,自组装纳米肽通常依赖精准的序列设计,试错成本远高于常规氨基酸替换或末端修饰。综合而言,纳米化设计是推动AMP向靶向化、控释化和多功能化发展的重要方向,尤其适用于胞内感染、局部感染及需要联合递送的复杂治疗场景。但受制于制备工艺、质量控制、载体安全性和体内行为评价等因素,纳米AMP短期内仍难以完全取代成熟的传统修饰技术,其临床转化还需要进一步完善标准化制备方法,并开展系统的药代动力学、毒理学和长期安全性研究。

3.9 AMP的人工智能辅助设计及高通量测序筛选

人工智能技术凭借强大的数据处理、模式识别和序列生成能力,在AMP序列鉴别、生成与挖掘等方面展现出显著优势,与传统依赖试验筛选和经验优化的方法相比,人工智能能够整合序列、结构、理化性质及生物活性等多维信息,从海量候选序列中快速识别潜在AMP,并预测其抗菌谱、抗菌强度、毒性和稳定性等关键属性,从而提高AMP研发效率和性能可控性。

3.9.1 人工智能鉴别AMP 鉴别模型是人工智能辅助设计策略的核心支撑工具,主要用于候选序列的分类及关键生物学属性预测。通过基于序列、结构及理化特征的判别式学习任务,其精度从基础筛选到精准定量呈逐层递进的发展过程。最基础的任务是AMP与非AMP的二元分类,如以注意力机制为基础的AMPlify模型能够对大规模肽序列进行快速识别,为AMP初步筛选和候选序列挖掘提供了高效工具^[98]。研究者们进一步发展了多标签分类模型,代表性模型如AMPfinder可基于序列衍生特征精准识别抗细菌、抗真菌等十类功能,突破了传统二元分类模型功能区分能力有限的局限^[99]。随着预测任务不断细化,人工智能模型开始关注AMP的靶菌特异性。如ABP-finder能够进一步区分AMP对革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌的靶向活性,为针对不同细菌类型开展候选肽设计和筛选提供了依据^[100]。此外,融合零样本和少样本学习策略的AMP0,构建了涵盖肽序列、微生物基因组和活性预测的端到端分析框架,能够在训练样本有限的情况下,精准识别致病菌种^[101]。在更高层次上,人工智能模型能够实现AMP最小抑菌浓度的预测,代表性AMP-READ模型通过最大似然法估计整合多个模型的预测结果,对AMP的活性进行预测,为候选肽的活性排序、剂量优化及后续临床开发提供参考^[9]。

3.9.2 人工智能生成AMP 人工智能驱动的AMP生成策略,旨在通过学习已知AMP序列的潜在分布规律,在序列空间中生成具有目标功能特征的新型肽序列。现有研究多以覆盖多种致病菌为目标,聚焦广谱AMP生成。例如,南京农业大学开发的BroadAMP-GPT整合了GPT生成模型与深度学习筛选模块,可实现全自动设计能高效杀灭包括ESKAPE在内的多重耐药病原菌的AMP序列,其设计速度较传统方法提高了数十倍^[102]。针对精准抗菌的需求,研究者们进一步开发了病原体靶向性AMP生成策略,旨在减少因广谱抗菌可能造成的宿主菌群紊乱。KPPepGen通过构建基因本体与病原体知识图谱,结合分类器无关引导策略和病原体特异性边缘分布引导的扩散模型,生成了针对金黄色葡萄球菌的靶向肽。该类肽对大肠杆菌不表现出明显活性,说明其能够实现病原体靶向肽的精准生成^[103]。针对AMP临床转化中面临的毒性问题,研究者们基于DBAASP数据库中的AMP抗菌活性与溶血性数据,构建循环神经网络生成模型,成功获得了一批非溶血性AMP^[104]。这些序列不仅对铜绿假单胞菌等耐药菌具有强效抗菌活性,同时未显示明显的溶血毒性,为平衡AMP抗菌活性与生物安全性提供了高效解决方案。

以BroadAMP-GPT和KPPepGen为代表的人工智能生成模型已成为高效设计抗菌肽的重要工具。BroadAMP-GPT依托GPT架构结合多层筛选模块,擅长高通量设计针对ESKAPE等多重耐药菌的广谱AMP,其生成序列的理化性质接近天然肽,综合活性表现优异^[102]。KPPepGen则融合基因本体与病原体知识图谱,借助提示学习与扩散模型,实现了针对56种致病菌的特异性肽段生成,在少样本、低数据病原体场景下优势突出,同时还可用于现有AMP的多位点定向优化^[103]。尽管上述模型各具特色,但也存在共性短板:一是现有训练数据多集中于体外抑菌活性和细胞毒性等实验室指标,缺少发酵产能、制剂稳定性、体内长效安全性等产业化数据,因而可能导致虚拟设计结果与实际应用需求之间存在偏差;二是模型

算力需求偏高,扩散类模型还存在采样效率偏低的问题,且部分生成序列虽然在理论预测中表现出良好性能,但其体外合成与活性验证成功率仍有待提升。同时,BroadAMP-GPT 的靶向能力相对有限,所生成的广谱 AMP 易扰乱宿主菌群^[102];KPPepGen 则较难兼顾多种病原体共同感染等复杂临床场景^[103]。未来可融合两类模型技术优势,搭建兼具广谱/靶向双模式的一体化生成框架,扩充产业化维度训练数据,结合模型蒸馏、流匹配算法优化推理效率,并与高通量合成和活性检测平台联动,构建“AI 设计—试验验证—数据回传”的闭环研发模式,进一步提升模型泛化能力和实际应用价值,推动人工智能辅助 AMP 设计由实验室研究逐步走向产业化应用。

3.9.3 人工智能挖掘 AMP 人工智能驱动的 AMP 挖掘策略主要通过对数据库及多组学数据进行扫描和筛选,挖掘天然存在但尚未被发现的 AMP,从而获得具有自然进化特征和较高生物相容性的候选序列。基于高通量测序获得的多组学数据为该过程提供了关键支撑。Torres 等^[105]整合宏基因组数据,借助机器学习模型 Macrel 对全球微生物组资源开展了系统性挖掘,成功发现近百万种 AMP 候选分子,且 92.9% 为全新序列,具有独特性与多样性,为高通量筛选 AMP 提供了丰富的候选资源。基于机器学习的宏基因组 AMP 挖掘已覆盖人类来源样本^[105]、动物来源样本^[106]、自然环境样本^[107-108]等,一系列人工智能技术的迭代创新释放了未培养微生物资源中 AMP 的开发潜力。除宏基因组挖掘外,蛋白质组学挖掘更加关注候选肽的实际功能表达。研究者借助多任务深度学习框架 APEX 挖掘灭绝物种古蛋白组,筛选出了具有广谱抗菌活性的新型肽序列,实现古源分子的“复活”^[109]。该工具还成功应用于毒液蛋白序列分析,并经试验验证获得了大量具有较高开发潜力的候选肽^[110],拓展了蛋白质组层面 AMP 挖掘的研究路径。

目前,人工智能辅助 AMP 设计与挖掘已取得一定进展(表 1),依据算法架构和核心功能的不同主要分为 3 类:第一类为 XGBoost、CatBoost、SMEP 等轻量化树模型,其运算成本低,可同步预判抗菌活性和溶血毒性,基于此类模型筛选获得的 CRR1、Crot-1 等候选肽,可适配小规模、精准化筛选场景。然而,这类模型主要用于已有序列的性能评估,尚不具备从头生成全新肽序列的能力^[111]。第二类为融合框架等蛋白预训练语言模型 ProteoGPT、MP-BERT、LSTM+BERT 的序列特征提取能力更强,可同步完成抗细菌、抗真菌、抗氧化等多种活性预测,并能够从宏基因组数据中一次性挖掘数千条天然候选肽。但其运行通常依赖较高的算力,且针对稀有耐药菌株的预测精度仍存在明显不足^[84,112-113]。第三类为序列生成与特殊资源挖掘模型,代表性工具包括基于变分自编码器的 HydrAMP 和基于多任务循环神经网络的 APEX。这类模型能够在较少约束条件下批量生成全新肽序列,生成的多肽通常兼具较高的抗菌活性和较低的溶血性;同时,还可用于挖掘灭绝古蛋白、动物毒液等非常规天然肽源。部分筛选所得多肽表现出与传统抗生素相当

表 1 基于人工智能的抗菌肽设计研究

Table 1 Artificial intelligence-based research on antimicrobial peptide design

研究方法 Method	结果 Results	参考文献 References
AMP _ model (XGBoost 算法)、Hemolysis _ model (CatBoost 算法),以 CPPsite 2.0 数据库 1 149 条细胞穿透肽为基础	目标肽 Crot-1 对革兰氏阳性、阴性菌均有抑制作用,清除胞内 MRSA 效果优于万古霉素,128 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度下细胞存活率>86%,溶血率仅 16.23%	[111]
预训练 ProteoGPT 模型,微调得到 AMPorter (AMP 分类)、BioToxiPept (毒性预测)、AMPGenix (AMP 生成)子模型	196 条候选肽,核心 7 条对 MRSA 等超级细菌 MIC 较低($4\sim 16\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$),兼具抗真菌活性,耐药性增幅远低于多黏菌素 B、万古霉素	[84]
预训练 MP-BERT 模型,微调构建 ABP-MPB (抗菌)、AFP-MPB (抗真菌)、AOP-MPB (抗氧化)预测模型	16 条候选肽中 75% 至少具备 2 种活性,D1、D2 2 条肽表现突出,兼具抗细菌、抗真菌、抗氧化功能。D1 对畜禽源耐药菌 <i>E. coli</i> z44 MIC 为 $4\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 、临床耐药菌 <i>S. aureus</i> 09057 MIC 为 $16\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,连续传代 100 代无耐药性	[112]
整合 LSTM、Attention、BERT 3 种 NLP 模型预测 AMP,优化后取 3 模型交集提升准确性	从人肠道微生物基因组中预测获得 2 349 条候选肽,其中 241 条在物种、属水平共享,181 条肽表现出抗菌活性,11 条高活性肽对多数耐药菌 MIC<20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,c_AMP1043 对所有临床耐药菌株 MIC<10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	[113]
构建基于条件变分自编码器的 HydrAMP 模型,支持类似物生成和无约束生成 2 种模式	24 条肽中 23 条表现出抗菌活性,9 个为高活性(MIC $\leq 32\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$),部分 2 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。24 条肽中 18 条未表现出毒性(HC50 $\geq 512\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$),6 条兼具高活性与低毒性	[114]
集成 RNN 与注意力机制构建多任务深度学习模型 APEX,预测抗菌活性	挖掘 208 种灭绝生物的非冗余蛋白,提取 10 311 899 个加密肽。合成 69 条候选肽,41 条表现抗菌活性,且其中 39 条无明显毒性。皮肤脓肿模型中,elephasin-2 和 mylodonin-2 疗效媲美多黏菌素 B	[115]
构建顺序模型集成管道 SMEP,按经验选择、分类、排序、回归粗到精筛选,经验选择以阳离子、两亲性为标准,结合 XGBoost-tab、XGBoost-tab、LSTM-seq	核心肽 CRR13、CRR14、CRR17 对 MRSA、鲍曼不动杆菌具有强效抗菌活性,毒性低、不易诱导细菌耐药,气溶胶制剂治疗小鼠金黄色葡萄肺炎时疗效类似青霉素,能显著降低肺部菌载量并缓解炎症	[116]

的体内抗菌效力,但此类模型生成的无效序列比例相对较高,且古源天然肽普遍存在发酵表达困难和潜在致敏风险等问题^[113-115]。

综合对比可知,现有 AMP 挖掘与设计模型仍存在诸多短板:训练数据集仅纳入体外最小抑菌浓度、细胞溶血率等实验室指标,缺失发酵表达产量、制剂储存稳定性、长期动物致敏性、宿主肠道菌群扰动等与产业化密切相关的数据;现有模型的筛选往往主要依赖阳离子、两性性等浅层理化特征,未兼顾多肽蛋白酶抗性、体内靶向递送等影响临床转化的关键属性。针对上述问题,未来研究可融合三类模型技术优势,搭建集序列挖掘、多性能预测、全新肽生成于一体的多任务整合大模型。同时,应扩充包含规模化生产、制剂开发和生物安全性评价等信息的多维训练数据集,并结合模型蒸馏、高通量自动化筛选闭环及人工智能辅助的定向分子修饰等技术,补齐现有技术短板,打通从多肽智能设计到大规模发酵纯化技术通道,进一步推动人工智能辅助 AMP 研发在临床医学、无抗养殖、食品保鲜等领域的产业化落地。

4 AMP 的外源制备及体内表达调控

4.1 原核表达系统

大肠杆菌是 AMP 外源表达中最常用的原核系统之一,具有遗传背景清晰、生长速度快、培养成本低以及载体和工程菌株资源丰富等优势。然而,AMP 在大肠杆菌胞内表达时,容易引起宿主细胞毒性,并受到胞内蛋白酶降解的影响。针对上述问题,研究者们通常采用融合表达策略。Xu 等^[117]采用 SUMO 融合技术实现了 AMP BSN-37 在大肠杆菌中的高效可溶性表达。SUMO 标签能够在一定程度上屏蔽 BSN-37 对宿主细胞的毒性,同时提高其溶解性和表达量,使融合蛋白 SUMO-BSN-37 以可溶性形式高效表达,避免目的蛋白形成包涵体。Ri 等^[118]将 HalC8 与 GST 标签进行融合,并引入肠激酶酶切位点,实现了该 AMP 在大肠杆菌中的高效可溶性表达。除融合表达外,分泌型表达也是降低 AMP 胞内毒性的重要策略。该系统借助大肠杆菌的信号肽将 AMP 定向分泌至周质空间或培养基中,避免了胞内积累导致的毒性,同时降低了胞内蛋白酶降解的影响^[119]。Lai 等^[120]将携带 pelB 信号肽编码序列的 pET26b 用于表达融合蛋白 INT-cecB2,引导其转运至宿主细胞周质空间,避免目标肽在细胞质中积累导致的宿主毒性。

枯草芽胞杆菌具有较强的蛋白分泌能力,能够减少包涵体形成并避免细胞破碎,已成为工业酶和 AMP 等异源蛋白规模化生产的理想宿主。Zhao 等^[121]构建了 SacB-6×His-SUMO-SW 融合基因,并将其插入 PHY-P43 组成型表达系统,以蛋白酶缺陷型枯草芽胞杆菌 WB800N 为宿主,实现了融合蛋白的胞外分泌表达。Li 等^[122]将黄粉虫防御素(ZD)基因与筛选出的最优信号肽 SPeapD 融合,构建重组表达质粒 PMA5-SPn-ZD,再通过同源重组将其导入枯草芽胞杆菌 WB600 中,成功表达了 ZD 蛋白。Mohamed 等^[123]提取伯克霍尔德氏菌 HR2 菌株的基因组 DNA,将其与 pBE-S 表达载体连接,转化到枯草芽胞杆菌 sck6 中,成功表达新型 AMP HR2-7,其具有广谱抗菌活性,可有效防控多种作物真菌和细菌病害。

乳酸杆菌表达系统具有食品级生物安全性、低成本高密度培养特性,尤其适用于开发口服递送型 AMP。Hodaei 等^[124]从 HPV16 阳性临床样本中提取基因组 DNA,经 *Ban* II 和 *Hind* III 双酶切后,与乳酸菌表达载体 pNZ7021 连接,构建重组载体并成功实现了 L1 蛋白的表达。该蛋白能够组装形成病毒样颗粒,是制备 HPV 预防性疫苗的重要抗原,为植物或益生菌口服疫苗研发提供新思路。王洁等^[125]将高分泌蛋白基因 *usp45* 与 AMP 基因 *bsn-25* 融合,构建杂合基因并转化至乳酸乳球菌 NZ9000 中。表达产物经肠激酶体外酶切后,对鼠伤寒沙门菌表现出抗菌活性。胡明阳等^[126]将氯离子诱导型启动子(*CIP*)和 AMP *Stomoxyn* 基因先后插入表达载体 pNZ8048,构建重组质粒,在乳酸乳球菌 NZ9000 内成功表达 *Stomoxyn*。

4.2 真核表达系统

目前,毕赤酵母是 AMP 表达中应用最广泛的真核表达系统。与原核表达系统相比,毕赤酵母具有启动子调控效率高、宿主来源杂蛋白相对较少以及能够将目标 AMP 高效分泌至胞外培养基等优势,方便后续分离纯化。Li 等^[127]通过柔性连接序列将猪白细胞介素 22(PIL-22)与猪 β -防御素 2(PBD-2)连接,设计融合蛋白 PIL22-PBD-2,成功在毕赤酵母 GS115 中表达出兼具抗菌与肠道屏障损伤修复功能的重组 AMP。Akbari 等^[128]对 AMP *ACD* 基因进行密码子优化后,将其克隆至 pPICZ α -A 载体,并整合至毕赤酵母 *GS115* 基因组中,经 Ni-NTA 纯化和肠激酶切割获得重组 AMP rACD。为了提高表达效率,Zhao 等^[129]基于 AMP CC34 设计了含甲酸切割位点的四聚体串联基因 *CC34-4js*,并将其构建至 pGAPZ α A 载体中,转入毕赤酵母 SMD1168 进行分泌表达。该四聚体经甲酸切割后可获得具有活性的单体。

酿酒酵母也是酵母异源表达重组蛋白的重要宿主。Jiang 等^[130]对 *CecropinP1* 基因进行密码子优化后构建了 pYES2/CT- α factor-*CPI* 重组表达载体并将其转化至酿酒酵母中,成功表达了重组 AMP *CecropinP1*。Rossouw 等^[131]以酿酒酵母为宿主,分别构建天然型和密码子优化型 PlaX、MunX AMP 编码基因表达载体,筛选出 MF α 1 分泌信号,并搭配 ENO1 组成型启动子,成功实现 2 种 AMP 的高效胞外分泌表达。

微藻表达系统具有低污染、可再生性及高生物量产出等特性,被认为是极具发展潜力的新型生物合成技术平台。Yang 等^[132]从三角褐指藻中筛选出高丰度分泌蛋白 Hasp 的启动子和信号肽序列,构建分泌型表达载体 Ppha-HASP-T1,并将其与 AMP 基因进行整合,成功表达并分泌具有抗菌活性的鱼源 AMP 401 和蟹源 AMP P960,为 AMP 的规模化生产及其在水产养殖中的应用提供了新的方案。Han 等^[133]通过粒子轰击法将 AMP *CATHPb1* 与 *As-CATH4* 基因借助核糖体结合位点串联插入叶绿体表达载体,实现了 *CATHPb1*、*As-CATH4* 在微藻中稳定表达,所得产物对多种水产常见致病菌具有抑制作用。

4.3 体内表达调控

营养素、植物提取物、微生物、环境应激及功能性添加剂等多种因素,均可通过不同途径调控猪内源 AMP 的表达。绿茶中的主要多酚成分表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)在猪肠道上皮细胞 IPEC-J2 中通过 p38 MAPK 通路上调 AMP pBD-2 的 mRNA 和蛋白表达,同时以 MAPK 非依赖性方式促进 pBD-1 的分泌,进而增强肠道免疫屏障功能并抑制细菌移位^[134]。青蒿提取物(AAE)可通过抑制 TLR4/NF- κ B 和 MAPK 炎症通路,激活 PPAR γ 通路,上调新生仔猪和断奶仔猪肠道中 PBD-1、PBD-2、PBD-3 等猪 β -防御素 mRNA 的表达,增强肠道先天免疫功能,抵御病原体入侵^[135]。高丽参多糖(KRG-P)能够激活小鼠派尔集合淋巴结中的免疫细胞,促进肠道 IgA 产生并增强肠道屏障功能,同时上调小肠组织中 α -防御素和溶菌酶的 mRNA 及蛋白表达,进而维持肠道稳态并增强宿主防御能力^[136]。

氨基酸同样能够参与 AMP 的表达调控。色氨酸可通过钙敏感受体(CaSR)依赖的代谢途径及 AMPK/JNK 通路,诱导肠道 β -防御素表达,同时抑制促炎细胞因子水平,增强肠道免疫防御功能^[137]。甘氨酸能够特异性上调断奶仔猪空肠中 pBD-2 和 pBD-3 mRNA 表达水平,但对 pBD-1 的表达无显著影响^[138]。Ren 等^[139]通过断奶仔猪和 IPEC-J2 细胞试验证实,支链氨基酸(BCAA)可通过激活 Sirt1/ERK/90RSK 信号通路调控猪肠道内源性 β -防御素的表达,其中异亮氨酸的调控作用最显著。此外,1,25-二羟维生素 D₃ 可通过与维生素 D 受体(VDR)结合,激活导管素(CAMP)基因转录,诱导细胞内源性 AMP hCAP18/LL-37 的持续表达,进而增强先天免疫功能^[140]。

微生物及其代谢产物也可调控宿主 AMP 表达。饲料中添加 5.0×10^{10} CFU $\cdot$ kg⁻¹ 罗伊氏乳杆菌可显著上调断奶仔猪盲肠中 AMP *PGI-5* 和 pBD-2 mRNA 表达水平^[141]。罗伊氏乳杆菌对仔猪肠道宿主防御肽的调节作用可能与结肠丁酸浓度的升高有关^[142]。Molina 等^[143]评估了多种丁酸羟基化衍生物对巨噬细胞 AMP 表达的调控作用,结果显示,4-羟基丁酸酯活性最强,对巨噬细胞内源性 AMP 表达具有差异化调控作用,可显著上调 CRAMP 和 β -防御素 4 的表达。丁酸盐与 1,25-二羟维生素 D₃ 联合给药,可通过芳香烃受体(AhR)、自噬蛋白 ATG16L1 及 IL-17A/IL-22 细胞因子网络协同作用,上调小鼠盲肠中 AMP 的表达。

5 AMP 的应用

AMP 的应用价值已突破传统抗感染领域,在临床医学、农业生产、食品科技等多个领域展现出良好应用前景。针对日益严峻的多重耐药菌感染,AMP 有望成为替代传统抗生素的重要策略。AMP P-a-02-B 以刚性 α -螺旋介导的膜破坏为核心机制,对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌、多重耐药鲍曼不动杆菌、耐黏菌素肠杆菌、耐替加环素肺炎克雷伯菌等表现出强抑制作用,为多重耐药菌感染治疗提供了新路径^[144]。龙安迎等^[145]经大肠杆菌表达获得重组抗菌肽 BMAP27-LL37,在小鼠牛无绿藻乳腺炎模型试验中,BMAP27-LL37 治疗组乳腺组织菌落计数极显著降低,IL-1 β 、IL-6 mRNA 表达水平也显著下降,为牛无绿藻奶牛乳腺炎的治疗提供物质基础。

AMP 对癌细胞膜的选择性细胞毒性,可破坏肿瘤细胞膜结构并诱导细胞凋亡,实现肿瘤靶向治疗。DP7 衍生树状肽 KK2DP7 能够激活脾脏非淋巴细胞群中的 CD11b⁺ 细胞 TLR2-IRF7 信号轴,并诱导其发生表观遗传重编程,从而激活训练性免疫并抑制肿瘤生长;与抗 PD-1 抗体联合使用时,可进一步增强抗肿瘤效果^[146]。Geng 等^[147]开发了一种 CAF 靶向光遗传学系统,实现癌相关成纤维细胞(CAF)原位表达 AMP,从而阻断上皮-间质转化(EMT)介导的乳腺癌转移,并协同温和热疗抑制原发肿瘤生长。

在畜牧兽医领域,AMP 的应用正在推动“无抗养殖”转型。源于黑水虻的纯化 AMP Hi5 作为饲料添加剂,能高效抑制致病菌,改善肠道代谢功能,降低肠道耐药基因(*ARG*)负荷^[148]。AMP LZ 可通过激活 Nrf2 信号通路显著上调断奶仔猪肝脏中 *NQO1*、*MnSOD*、*CAT* 等抗氧化基因的表达,同时调控脂代谢基因 *CPT1 α* 、*PPAR α* 及糖异生基因 *PEPCK*、*PC* 的表达,从而增强肝脏抗氧化能力并改善糖脂代谢^[149]。在饲料中添加 $2.5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的重组 pBD2,可显著提高断奶仔猪的生长性能、抗氧化能力与免疫功能,改善肠道屏障完整性并调节肠道菌群平衡^[150]。将蝎源 AMP IsCT 作为黄羽肉鸡饲料添加剂,可显著提高平均日增重(ADG)、降低料重比(F/G),同时提高血清免疫球蛋白水平^[151]。赖文韬等^[152]研究 5% 木糖醇和抗菌肽 1037 联用对牛乳源大肠杆菌生物被膜形成的影响,结果显示,抗菌肽 1037 对大肠杆菌生物被膜的最小抑菌浓度(MBIC)和最小杀菌浓度(MBEC)明显降低,表明能增强抗菌肽 1037 的杀菌作用,表现出良好的治疗奶牛乳房炎前景。

在食品工业领域,AMP 在保障食品安全和维持食品品质方面具有应用潜力。AMP SH 作为食品级生物防腐剂,对大肠杆菌、沙门氏菌等食源性致病菌均具有杀灭作用。添加 $25\sim 100\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ SH 可显著抑制橙汁中微生物的增殖,同时减缓维生素 C 的降解,其效果与 $100\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 尼生素和山梨酸钾相当^[153]。在鹰嘴豆泥食品基质模型中,BP100K1W 能够抑制扩展青霉的生长繁殖,表现出较好的防腐效果,并能有效延长食品的保质期^[154]。AMP Pardaxin 可通过自组装形成 SA-AMP 水凝胶,高效抑制食源性致病菌,在液体食品中能够稳定保持 14 d 并实现缓释,且具备抗菌活性“体外开启-体内关闭”的特性,并兼具良好的生物相容性与紫外屏障特性,为食品保鲜提供安全可持续方案^[155]。

总体而言,AMP 基础研究已取得大量成果,但多方面因素仍限制其产业化转化进程。首先,相关法规体系尚不完善。药用、饲料用、食品用 AMP 分属不同监管领域,目前针对多肽类新产品的安全性评价、质量标准、上市审批细则尚不统一,行业准入标准仍不够明确,增加了企业申报的不确定性及开发周期。其次,AMP 生产成本较高。固相化学合成通常仅适用于小规模制备,难以满足大规模生产需求;微生物重组表达体系则普遍存在目的蛋白表达量较低和诱导条件较为严格等问题。再次,AMP 制剂稳定性相对较差。多数 AMP 为线性多肽,对温度、pH 值、蛋白酶敏感,在食品加工、饲料制粒、体内环境中易失活,常规制剂难以满足长期储存和现场应用要求。此外,AMP 的规模化生产工艺瓶颈问题突出,实验室建立的发酵和纯化工艺在放大过程中可能出现纯度下降及产物转化效率降低等问题,高效、低成本的完整生产工艺仍有待突破。与此同时,不同应用场景的给药技术及适用剂型研发相对滞后,导致许多性能优良的候选 AMP 仍停留在实验室阶段,难以真正投入使用。这些问题共同构成了制约 AMP 由科研成果转化为市场化产品的核心因素。

6 总结与展望

本文系统梳理了 AMP 的理化性质、生物学功能、作用机制及其分子设计策略,并针对当前研究和应用中存在的主要问题,总结了相应的改造策略和优化方向,以期 AMP 领域的可持续发展提供参考。近年来,随着人工智能技术和深度学习模型的快速发展,其在 AMP 设计中的应用日益广泛,已成为该领域的重要研究方向。然而,现有模型在多功能化 AMP 的精准预测和定向设计方面仍存在不足,相关算法和模型建立有待进一步完善。

从未来发展趋势来看,AMP 研究应更加重视多功能协同策略的开发,例如赋予其细胞穿透、病原体诱捕及刺激响应等特性。同时,靶向递送策略同样具有重要意义。通过构建可响应致病菌信号或识别病原体特异性标志物的工程化递送系统,有望提高 AMP 在感染部位的富集效率,并降低非靶向作用所引发的免疫风险。此外,AMP 实现临床转化及跨领域应用,仍需依托大规模动物模型开展系统验证,重点评估其药代动力学特征、生物分布、免疫原性及长期安全性。只有在充分验证其有效性和安全性的基础上,AMP 才能实现从实验室向实际应用的稳步转化。

参考文献 References:

- [1] Felis E, Kalka J, Sochacki A, et al. Antimicrobial pharmaceuticals in the aquatic environment-occurrence and environmental implications[J]. European Journal of Pharmacology, 2020, 866: 172813.
- [2] Wilkinson J L, Boxall A B, Kolpin D W, et al. Pharmaceutical pollution of the world's rivers[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2022, 119(8):

- e2113947119.
- [3] Löffler P, Escher B I, Baduel C, et al. Antimicrobial transformation products in the aquatic environment: global occurrence, ecotoxicological risks, and potential of antibiotic resistance[J]. *Environmental Science & Technology*, 2023, 57(26): 9474–9494.
 - [4] Brown D. Antibiotic resistance breakers: can repurposed drugs fill the antibiotic discovery void[J]. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2015, 14(12): 821–832.
 - [5] Murray C J L, Ikuta K S, Sharara F, et al. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis[J]. *The Lancet*, 2022, 399(10325): 629–655.
 - [6] Naghavi M, Vollset S, Ikuta K S, et al. Global burden of bacterial antimicrobial resistance 1990–2021: a systematic analysis with forecasts to 2050[J]. *The Lancet*, 2024, 404(10459): 1199–1226.
 - [7] Silveira R F, Roque-Borda C A, Vicente E F. Antimicrobial peptides as a feed additive alternative to animal production, food safety and public health implications: an overview[J]. *Animal Nutrition*, 2021, 7(3): 896–904.
 - [8] Yang R, Ma X H, Peng F, et al. Advances in antimicrobial peptides: from mechanistic insights to chemical modifications[J]. *Biotechnology Advances*, 2025, 81: 108570.
 - [9] Wang B L, Lin P J, Zhong Y W, et al. Explainable deep learning and virtual evolution identifies antimicrobial peptides with activity against multidrug-resistant human pathogens[J]. *Nature Microbiology*, 2025, 10(2): 332–347.
 - [10] Wang J J, Dou X J, Song J, et al. Antimicrobial peptides: promising alternatives in the post feeding antibiotic era[J]. *Medicinal Research Reviews*, 2019, 39(3): 831–859.
 - [11] Mookherjee N, Anderson M A, Haagsman H P, et al. Antimicrobial host defence peptides: functions and clinical potential[J]. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2020, 19(5): 311–332.
 - [12] Goldberg K, Lobov A, Antonello P, et al. Cell-autonomous innate immunity by proteasome-derived defence peptides[J]. *Nature*, 2025, 639(8056): 1032–1041.
 - [13] Santos-Júnior C D, Torres M D T, Duan Y Q, et al. Discovery of antimicrobial peptides in the global microbiome with machine learning[J]. *Cell*, 2024, 187(14): 3761–3778.
 - [14] Al Tall Y, Abualhaijaa A, Alsaggar M, et al. Design and characterization of a new hybrid peptide from LL-37 and BMAP-27[J]. *Infection and Drug Resistance*, 2019, 12: 1035–1045.
 - [15] Engelberg Y, Landau M. The human LL-37 (17–29) antimicrobial peptide reveals a functional supramolecular structure[J]. *Nature Communications*, 2020, 11: 3894.
 - [16] Boodhoo N, St-Denis M, Zheng J Y, et al. *In vivo* overexpression of the avian interleukin-17 in a necrotic enteritis disease model modulates the expression of antimicrobial peptides in the small intestine of broilers[J]. *Cytokine*, 2024, 183: 156749.
 - [17] Lyu Y F, Chen T T, Shang L, et al. Design of trp-rich dodecapeptides with broad-spectrum antimicrobial potency and membrane-disruptive mechanism[J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2019, 62(15): 6941–6957.
 - [18] Gu R J, Gao B, Wang Z L, et al. Plant-derived antimicrobial peptides: mechanism of action, safety and integrated applications[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2025, 73(43): 27161–27176.
 - [19] Surabhi V, Prabhu V, Nayak U Y, et al. Harnessing AMP to tackle ESKAPE pathogens[J]. *ACS Infectious Diseases*, 2026, 12(1): 32–47.
 - [20] Dang X L, Zheng X X, Wang Y S, et al. Antimicrobial peptides from the edible insect *Musca domestica* and their preservation effect on chilled pork[J]. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2020, 44(3): e14369.
 - [21] Memariani H, Memariani M. Anti-fungal properties and mechanisms of melittin[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2020, 104(15): 6513–6526.
 - [22] Lin S H, Chen X, Chen H M, et al. The bioprospecting of microbial-derived antimicrobial peptides for sustainable agriculture[J]. *Engineering*, 2023, 27: 222–233.
 - [23] Tram N D T, Xu J, Mukherjee D, et al. Bacteria-responsive self-assembly of antimicrobial peptide nanonets for trap-and-kill of antibiotic-resistant strains[J]. *Advanced Functional Materials*, 2023, 33(5): 2210858.
 - [24] Oliveira Júnior N G, Souza C M, Buccini D F, et al. Antimicrobial peptides: structure, functions and translational applications[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2025, 23(11): 687–700.
 - [25] Zhu X, Dong N, Wang Z Y, et al. Design of imperfectly amphipathic α -helical antimicrobial peptides with enhanced cell selectivity[J]. *Acta Biomaterialia*, 2014, 10(1): 244–257.
 - [26] Schmidtchen A, Pasupuleti M, Malmsten M. Effect of hydrophobic modifications in antimicrobial peptides[J]. *Advances in Colloid and Interface Science*, 2014, 205: 265–274.
 - [27] Hädicke A, Blume A. Binding of cationic peptides (KX)₄K to DPPG bilayers. Increasing the hydrophobicity of the uncharged amino acid X drives formation of membrane bound β -sheets: a DSC and FT-IR study[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2016, 1858(6): 1196–1206.
 - [28] Liang Q P, Liu Z M, Liang Z Y, et al. Development strategies and application of antimicrobial peptides as future alternatives to in-feed antibiotics[J]. *Science of the Total Environment*, 2024, 927: 172150.
 - [29] Zhang Y N, Zheng M J, Wang Z, et al. Discovery of novel antibacterial agent for the infected wound treatment: all-hydrocarbon stapling optimization of LL-37[J]. *Theranostics*, 2024, 14(3): 1181–1194.
 - [30] Guo X, Yu W K, Li Q R, et al. Overcoming clinical barriers: utilizing self-assembly systems to break the protease limitations of antimicrobial peptides[J]. *Aggregate*, 2025, 6(12): e70193.
 - [31] Song J, Zhang S S, Xing J Y, et al. Optimizing therapeutic efficacy of antifungal peptides via strategic terminal amino acid modification[J].

- Journal of Advanced Research, 2025, 74: 555–570.
- [32] Murai M, Kaji T, Kuranaga T, et al. Total synthesis and biological evaluation of the antibiotic lysocin E and its enantiomeric, epimeric, and N-demethylated analogues[J]. Angewandte Chemie(International Edition), 2015, 54(5): 1556–1560.
- [33] Zhang L Q, Ghosh S K, Basavarajappa S C, et al. HBD-2 binds SARS-CoV-2 RBD and blocks viral entry; strategy to combat COVID-19[J]. iScience, 2022, 25(3): 103856.
- [34] Rincón-Cortés C A, Bayona-Rojas M A, Reyes-Montaña E A, et al. Antimicrobial activity developed by scorpion venoms and its peptide component[J]. Toxins, 2022, 14(11): 740.
- [35] Zhang Z F, Le K, La Placa D, et al. CXCR2 specific endocytosis of immunomodulatory peptide LL-37 in human monocytes and formation of LL-37 positive large vesicles in differentiated monoosteophils[J]. Bone Reports, 2020, 12: 100237.
- [36] Alalwani S M, Sierigk J, Herr C, et al. The antimicrobial peptide LL-37 modulates the inflammatory and host defense response of human neutrophils[J]. European Journal of Immunology, 2010, 40(4): 1118–1126.
- [37] Dai J H, Ou W H, Yu G J, et al. The antimicrobial peptide cecropin AD supplement alleviated soybean meal-induced intestinal inflammation, barrier damage, and microbial dysbiosis in juvenile turbot, *Scophthalmus maximus* [J]. Frontiers in Marine Science, 2020, 7: 584482.
- [38] Koynarev V R, Nader M L, Almåsvoold K K, et al. Structural pores not required; antimicrobial peptides induce ion permeabilization of lipid membranes through transient water channels[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2025, 122(44): e2517944122.
- [39] Xu J, Tram N D T, Yu P Y, et al. Peptide nanonet trapping suppresses bacterial motility and delays antibiotic resistance emergence[J]. Drug Resistance Updates, 2026, 84: 101320.
- [40] Lauer S M, Gasse J, Krizsan A, et al. The proline-rich antimicrobial peptide Api137 disrupts large ribosomal subunit assembly and induces misfolding[J]. Nature Communications, 2025, 16: 567.
- [41] Yadavalli S S, Carey J N, Leibman R S, et al. Antimicrobial peptides trigger a division block in *Escherichia coli* through stimulation of a signalling system[J]. Nature Communications, 2016, 7: 12340.
- [42] Luo X Y, Hu C M, Yin Q, et al. Dual-mechanism peptide SR25 has broad antimicrobial activity and potential application for healing bacteria-infected diabetic wounds[J]. Advanced Science, 2024, 11(30): e2401793.
- [43] Yang H Y, Ma R, Chen J R, et al. Discovery of melittin as triple-action agent; broad-spectrum antibacterial, anti-biofilm, and potential anti-quorum sensing activities[J]. Molecules, 2024; 29(3): 558.
- [44] Hancock R E W, Alford M A, Haney E F. Antibiofilm activity of host defence peptides: complexity provides opportunities[J]. Nature Reviews Microbiology, 2021, 19(12): 786–797.
- [45] Li W, You F Q, Yang J, et al. Antimicrobial peptide-targeted photodynamic therapy for preventing periodontal plaque biofilm formation through the disruption of quorum sensing system[J]. Materials Today Bio, 2025, 33: 101970.
- [46] Zhu Y H, Xu Y H, Yan J M, et al. “AMP plus”: immunostimulant-inspired design based on chemotactic motif-(PhHAHPH)_n [J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2023, 15(37): 43563–43579.
- [47] Niu M C, Gu X L, Yang J Y, et al. Dual-mechanism glycolipidpeptide with high antimicrobial activity, immunomodulatory activity, and potential application for combined antibacterial therapy[J]. ACS Nano, 2023, 17(7): 6292–6316.
- [48] Jiang S, Li H Q, Zhang L, et al. Generic Diagramming Platform(GDP): a comprehensive database of high-quality biomedical graphics [J]. Nucleic Acids Research, 2025, 53(D1): D1670–D1676.
- [49] Daniel O, Thiebault T, Guigon E. Medicinal applications and environmental fate of antimicrobial peptides; a review[J]. Environmental Chemistry Letters, 2025, 23(6): 1745–1776.
- [50] Ahmad N, Bukhari S N A, Hussain M A, et al. Nanoparticles incorporated hydrogels for delivery of antimicrobial agents; developments and trends [J]. RSC Advances, 2024, 14(19): 13535–13564.
- [51] Xu B C, Shaoyong W K, Wang L, et al. Gut-targeted nanoparticles deliver specifically targeted antimicrobial peptides against *Clostridium perfringens* infections[J]. Science Advances, 2023, 9(39): ead8782.
- [52] Zhong C, He Y T, Zou J, et al. An antimicrobial peptide as a potential therapy for bacterial pneumonia that alleviates antimicrobial resistance [J]. Nature Communications, 2025, 16: 10488.
- [53] Jiang Z Q, Vasil A I, Hale J D, et al. Effects of net charge and the number of positively charged residues on the biological activity of amphipathic α -helical cationic antimicrobial peptides[J]. Peptide Science, 2008, 90(3): 369–383.
- [54] Zhang M H, Ouyang J H, Fu L, et al. Hydrophobicity determines the bacterial killing rate of α -helical antimicrobial peptides and influences the bacterial resistance development[J]. Journal of Medicinal Chemistry, 2022, 65(21): 14701–14720.
- [55] Gu L Y, Sun C B, Chen L J, et al. Non-perfectly amphipathic α -helical structure containing the XXYXX sequence improves the biological activity of bovine α_{s2} -casein antimicrobial peptides[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2020, 68(28): 7520–7529.
- [56] Zhang J Y, Chu A Q, Ouyang X, et al. Rationally designed highly amphipathic antimicrobial peptides demonstrating superior bacterial selectivity relative to the corresponding α -helix peptide[J]. European Journal of Medicinal Chemistry, 2025, 286: 117310.
- [57] Zhu Y J, Xu W Y, Chen W W, et al. Self-assembling peptide with dual function of cell penetration and antibacterial as a nano weapon to combat intracellular bacteria[J]. Science Advances, 2025, 11(6): eads3844.
- [58] Li J W, Shang L, Lan J, et al. Targeted and intracellular antibacterial activity against *S. agalactiae* of the chimeric peptides based on pheromone and cell-penetrating peptides[J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2020, 12(40): 44459–44474.
- [59] Shao C X, Wang Y, Li G Y, et al. Novel design of simplified β -hairpin antimicrobial peptide as a potential food preservative based on Trp-pocket backbone[J]. Food Chemistry, 2024, 448: 139128.

- [60] Li W Y, Separovic F, O'Brien-Simpson N M, et al. Chemically modified and conjugated antimicrobial peptides against superbugs[J]. Chemical Society Reviews, 2021, 50(8): 4932–4973.
- [61] Nguyen L T, Chau J K, Perry N A, et al. Serum stabilities of short tryptophan- and arginine-rich antimicrobial peptide analogs[J]. PLoS One, 2010, 5(9): e12684.
- [62] Svenson J, Stensen W, Brandsdal B O, et al. Antimicrobial peptides with stability toward tryptic degradation[J]. Biochemistry, 2008, 47(12): 3777–3788.
- [63] Chen H N, Dong Y H, Shi F, et al. Modulation of membrane-disruptive activity of melittin via N- and C-terminal PEGylation strategies[J]. Bioconjugate Chemistry, 2025, 36(7): 1438–1447.
- [64] Morris C J, Beck K, Fox M A, et al. Pegylation of antimicrobial peptides maintains the active peptide conformation, model membrane interactions, and antimicrobial activity while improving lung tissue biocompatibility following airway delivery[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2012, 56(6): 3298–3308.
- [65] Yu W K, Wang J J, Wang Z H, et al. PEGylation of the antimicrobial peptide PG-1: a link between propensity for nanostructuring and capacity of the antitrypsin hydrolytic ability[J]. Journal of Medicinal Chemistry, 2021, 64(14): 10469–10481.
- [66] Gao N, Sun J Q, Li X, et al. Overcoming delivery challenges of antimicrobial peptides for clinical translation: from nanocarriers to molecular modifications[J]. Drug Resistance Updates, 2025, 83: 101289.
- [67] Kurtzhals P, Østergaard S, Nishimura E, et al. Derivatization with fatty acids in peptide and protein drug discovery[J]. Nature Reviews Drug Discovery, 2023, 22(1): 59–80.
- [68] Lai Z H, Jian Q, Li G Y, et al. Self-assembling peptide dendron nanoparticles with high stability and a multimodal antimicrobial mechanism of action[J]. ACS Nano, 2021, 15(10): 15824–15840.
- [69] Li G Y, Chen W W, Guan H R, et al. Dendritic antifungal peptides as potent agents against drug-resistant *Candida albicans* and biofilm[J]. Journal of Medicinal Chemistry, 2025, 68(3): 3373–3385.
- [70] Deng H R, Zhang S H, Fu Y X, et al. Advances in the delivery and application of antimicrobial peptide-based nanomaterials[J]. Chemical Engineering Journal, 2024, 496: 154232.
- [71] Koller T O, Morici M, Berger M, et al. Structural basis for translation inhibition by the glycosylated drosocin peptide[J]. Nature Chemical Biology, 2023, 19(9): 1072–1081.
- [72] Moradi S V, Hussein W M, Varamini P, et al. Glycosylation, an effective synthetic strategy to improve the bioavailability of therapeutic peptides[J]. Chemical Science, 2016, 7(4): 2492–2500.
- [73] Di Donato I, Tortorella A, Campanile M, et al. Preserving antimicrobial efficacy while extending peptide longevity: effects of residue glycosylation[J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 2025, 771: 110526.
- [74] Li X, Ding Y J, Xue J W, et al. Peptide double-stapling and arginine *N*-glycosylation triggered the development of therapeutic antimicrobial peptides capable of killing drug-resistant bacteria in mice[J]. Journal of Medicinal Chemistry, 2025, 68(4): 4511–4526.
- [75] Jia F J, Wang J Y, Peng J X, et al. *D*-amino acid substitution enhances the stability of antimicrobial peptide *Polybia*-CP[J]. Acta Biochimica et Biophysica Sinica, 2017, 49(10): 916–925.
- [76] Ong Z Y, Cheng J C, Huang Y, et al. Effect of stereochemistry, chain length and sequence pattern on antimicrobial properties of short synthetic β -sheet forming peptide amphiphiles[J]. Biomaterials, 2014, 35(4): 1315–1325.
- [77] Di Y P, Lin Q, Chen C, et al. Enhanced therapeutic index of an antimicrobial peptide in mice by increasing safety and activity against multidrug-resistant bacteria[J]. Science Advances, 2020, 6(18): eaay6817.
- [78] He S Q, Yang Z Y, Li X F, et al. Boosting stability and therapeutic potential of proteolysis-resistant antimicrobial peptides by end-tagging β -naphthylalanine[J]. Acta Biomaterialia, 2023, 164: 175–194.
- [79] Ouyang X, Yuan L R, Yang T T, et al. Fluorinated modification as a simple strategy that effectively enhances the stability and activity of antimicrobial peptides[J]. Journal of Medicinal Chemistry, 2025, 68(19): 20081–20102.
- [80] Meng H, Kumar K. Antimicrobial activity and protease stability of peptides containing fluorinated amino acids[J]. Journal of the American Chemical Society, 2007, 129(50): 15615–15622.
- [81] Jia F J, Zhang Y, Wang J Y, et al. The effect of halogenation on the antimicrobial activity, antibiofilm activity, cytotoxicity and proteolytic stability of the antimicrobial peptide Jelleine-I[J]. Peptides, 2019, 112: 56–66.
- [82] Shao C X, Zhu Y J, Jian Q, et al. Antimicrobial peptides: cross-strand interaction, central bending, and sequence pattern act as biomodulators of simplified β -hairpin antimicrobial amphiphiles (small 7/2021)[J]. Small, 2021, 17(7): 2170029.
- [83] Lai Z H, Yuan X J, Chen H Y, et al. Strategies employed in the design of antimicrobial peptides with enhanced proteolytic stability[J]. Biotechnology Advances, 2022, 59: 107962.
- [84] Wang Y H, Zhao L L, Li Z Y, et al. A generative artificial intelligence approach for the discovery of antimicrobial peptides against multidrug-resistant bacteria[J]. Nature Microbiology, 2025, 10(11): 2997–3012.
- [85] Mwangi J, Yin Y Z, Wang G, et al. The antimicrobial peptide ZY4 combats multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* infection[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2019, 116(52): 26516–26522.
- [86] White J K, Mohanty S, Muhammad T, et al. A synthetic cyclized antimicrobial peptide with potent effects against drug-resistant skin pathogens[J]. ACS Infectious Diseases, 2023, 9(5): 1056–1063.
- [87] Dolle A, Nagati V B, Hunashal Y, et al. Disulfide engineering on temporin-SHF: stabilizing the bioactive conformation of an ultra-short antimicrobial peptide[J]. Chemical Biology & Drug Design, 2019, 94(3): 1634–1646.

- [88] Datta A, Kundu P, Bhunia A. Designing potent antimicrobial peptides by disulphide linked dimerization and N-terminal lipidation to increase antimicrobial activity and membrane perturbation; structural insights into lipopolysaccharide binding [J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2016, 461: 335–345.
- [89] Li W Y, Lin F, Hung A, et al. Enhancing proline-rich antimicrobial peptide action by homodimerization; influence of bifunctional linker [J]. *Chemical Science*, 2022, 13(8): 2226–2237.
- [90] Gunasekera S, Muhammad T, Strömstedt A A, et al. Backbone cyclization and dimerization of LL-37-derived peptides enhance antimicrobial activity and proteolytic stability [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 11: 168.
- [91] Liu B J, Huang H F, Yang Z B, et al. Design of novel antimicrobial peptide dimer analogues with enhanced antimicrobial activity *in vitro* and *in vivo* by intermolecular triazole bridge strategy [J]. *Peptides*, 2017, 88: 115–125.
- [92] Yamauchi R, Kawano K, Yamaoka Y, et al. Development of antimicrobial peptide-antibiotic conjugates to improve the outer membrane permeability of antibiotics against gram-negative bacteria [J]. *ACS Infectious Diseases*, 2022, 8(11): 2339–2347.
- [93] Wei X B, Wu R J, Si D Y, et al. Novel hybrid peptide cecropin a(1-8)-LL37(17-30) with potential antibacterial activity [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2016, 17(7): 983.
- [94] Fung S Y, Yang H, Sadatmousavi P, et al. Amino acid pairing for *de novo* design of self-assembling peptides and their drug delivery potential [J]. *Advanced Functional Materials*, 2011, 21(13): 2456–2464.
- [95] Li G Y, Chen H Y, Chen W W, et al. Self-assembled nanopeptide dendrites with high antifungal activity and protease hydrolytic stability for fungal keratitis treatment [J]. *Journal of Nanobiotechnology*, 2025, 23(1): 577.
- [96] Li G Y, Deng H R, Xu W Y, et al. Combating antibiotic-resistant bacterial infection using coassembled dimeric antimicrobial peptide-based nanofibers [J]. *ACS Nano*, 2025, 19(3): 3155–3171.
- [97] König N, Szostak S M, Nielsen J E, et al. Stability of nanopeptides: structure and molecular exchange of self-assembled peptide fibers [J]. *ACS Nano*, 2023, 17(13): 12394–12408.
- [98] Li C K, Warren R L, Birol I. Models and data of AMPlify: a deep learning tool for antimicrobial peptide prediction [J]. *BMC Research Notes*, 2023, 16(1): 11.
- [99] Yang S, Yang Z X, Ni X Y. AMPFinder: a computational model to identify antimicrobial peptides and their functions based on sequence-derived information [J]. *Analytical Biochemistry*, 2023, 673: 115196.
- [100] Ruiz-Blanco Y B, Agüero-Chapin G, Romero-Molina S, et al. ABP-finder: a tool to identify antibacterial peptides and the gram-staining type of targeted bacteria [J]. *Antibiotics*, 2022, 11(12): 1708.
- [101] Gull S, Minhas F. AMP0: species-specific prediction of anti-microbial peptides using zero and few shot learning [J]. *IEEE/ACM Transactions on Computational Biology and Bioinformatics*, 2022, 19(1): 275–283.
- [102] Li Y R, Xu X H, Zhang X H, et al. BroadAMP-GPT: AI-Driven generation of broad-spectrum antimicrobial peptides for combating multidrug-resistant ESKAPE pathogens [J]. *Gut Microbes*, 2025, 17: 2523811.
- [103] Wang Y K, Li M L, Huang F, et al. Controllable generation of pathogen-specific antimicrobial peptides through knowledge-aware prompt diffusion model [J]. *Advanced Science*, 2025, 12(41): e07457.
- [104] Capecchi A, Cai X G, Personne H, et al. Machine learning designs non-hemolytic antimicrobial peptides [J]. *Chemical Science*, 2021, 12(26): 9221–9232.
- [105] Torres M D T, Brooks E F, Cesaro A, et al. Mining human microbiomes reveals an untapped source of peptide antibiotics [J]. *Cell*, 2024, 187(19): 5453–5467.e15.
- [106] Shen H, Li Y R, Pi Q J, et al. Unveiling novel antimicrobial peptides from the ruminant gastrointestinal microbiomes; a deep learning-driven approach yields an anti-MRSA candidate [J]. *Journal of Advanced Research*, 2025, 77: 821–835.
- [107] Fan S, Qin P, Lu J, et al. Bioprospecting of culturable marine biofilm bacteria for novel antimicrobial peptides [J]. *IMeta*, 2024, 3(6): e244.
- [108] Xu J Q, Xu X, Jiang Y H, et al. Waste to resource: mining antimicrobial peptides in sludge from metagenomes using machine learning [J]. *Environment International*, 2024, 186: 108574.
- [109] Torres M D T, Wan F P, de la Fuente-Nunez C. Deep learning reveals antibiotics in the archaeal proteome [J]. *Nature Microbiology*, 2025, 10(9): 2153–2167.
- [110] Guan C G, Torres M D T, Li S F, et al. Computational exploration of global venoms for antimicrobial discovery with Venomics artificial intelligence [J]. *Nature Communications*, 2025, 16: 6446.
- [111] Fang Y P, Fan D Y, Feng B, et al. Harnessing advanced computational approaches to design novel antimicrobial peptides against intracellular bacterial infections [J]. *Bioactive Materials*, 2025, 50: 510–524.
- [112] Gao H, Guan F F, Luo B Y, et al. DLFea4AMPGen *de novo* design of antimicrobial peptides by integrating features learned from deep learning models [J]. *Nature Communications*, 2025, 16: 9134.
- [113] Li T T, Ren X B, Luo X L, et al. A foundation model identifies broad-spectrum antimicrobial peptides against drug-resistant bacterial infection [J]. *Nature Communications*, 2024, 15: 7538.
- [114] Szymczak P, Możejko M, Grzegorzek T, et al. Discovering highly potent antimicrobial peptides with deep generative model HydrAMP [J]. *Nature Communications*, 2023, 14: 1453.
- [115] Wan F P, Torres M D T, Peng J, et al. Deep-learning-enabled antibiotic discovery through molecular de-extinction [J]. *Nature Biomedical Engineering*, 2024, 8(7): 854–871.
- [116] Huang J J, Xu Y C, Xue Y F, et al. Identification of potent antimicrobial peptides via a machine-learning pipeline that mines the entire space of

- peptide sequences[J]. *Nature Biomedical Engineering*, 2023, 7(6): 797–810.
- [117] Xu Y Z, Dong M M, Wang Q, et al. Soluble expression of antimicrobial peptide BSN-37 from *Escherichia coli* by SUMO fusion technology[J]. *The Protein Journal*, 2023, 42(5): 563–574.
- [118] Ri C H, Li S R, Paek C I, et al. Functional expression of an antimicrobial peptide, belonging to halocin C8 family, from *Natrinema* sp. RNS21 in *Escherichia coli*[J]. *Extremophiles*, 2023, 27(3): 21.
- [119] 何若昱, 林福玉, 高向东, 等. 信号肽在大肠杆菌分泌系统中的研究与应用进展[J]. *中国生物工程杂志*, 2021, 41(5): 87–93.
- He R Y, Lin F Y, Gao X D, et al. Research and application progress of signal peptides in *Escherichia coli* secretion systems[J]. *China Biotechnology*, 2021, 41(5): 87–93 (in Chinese with English abstract).
- [120] Lai W S, Kan S C, Lin C C, et al. Antibacterial peptide cecropin B2 production via various host and construct systems[J]. *Molecules*, 2016, 21(1): 103.
- [121] Zhao L, Li L, Xu Y H, et al. Heterologous expression and activity of α -helical antimicrobial peptide SW in *Bacillus subtilis*[J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2024, 203: 109224.
- [122] Li W, Wang X, Chen K Y, et al. Engineered *Bacillus subtilis* WB600/ZD prevents *Salmonella* infantis-induced intestinal inflammation and alters the colon microbiota in a mouse model[J]. *Veterinary Research*, 2025, 56(1): 35.
- [123] Mohamed G, Ji A, Cao X Y, et al. A small antimicrobial peptide derived from a *Burkholderia* bacterium exhibits a broad-spectrum and high inhibiting activities against crop diseases[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2025, 23(2): 430–441.
- [124] Hodaie M H, Anduhjerdi R B, Fallah Mehrabadi J, et al. Cloning and expression of the L1 immunogenic protein of human papillomavirus genotype 16 by using *Lactobacillus* expression system[J]. *Gene Reports*, 2019, 17: 100521.
- [125] 王洁, 于浩, 王耀宗, 等. 抗菌肽 BSN-25 性质及其乳酸菌表达体系的构建和活性鉴定[J]. *中国生物工程杂志*, 2025, 45(9): 14–25.
- Wang J, Yu H, Wang Y Z, et al. Characteristics of antibacterial peptide BSN-25, construction of its lactate expression system and identification of its activity[J]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2025, 45(9): 14–25 (in Chinese with English abstract).
- [126] 胡明阳, 李毓雯, 赵璐, 等. 抗菌肽 Stomoxyn 的重组乳酸菌表达及抑菌活性研究[J]. *中国畜牧杂志*, 2025, 61(7): 388–394.
- Hu M Y, Li Y W, Zhao L, et al. Expression and antibacterial activity of recombinant lactic acid bacteria containing antimicrobial peptide Stomoxyn[J]. *Chinese Journal of Animal Science*, 2025, 61(7): 388–394 (in Chinese).
- [127] Li X, Qiu P F, Yue M L, et al. Expression of recombination antimicrobial protein P1L22-PBD-2 in *Pichia pastoris* and verification of its biological function *in vitro*[J]. *Veterinary Research*, 2025, 56(1): 52.
- [128] Akbari A, Talaei M, miR-Derikvand M, et al. Heterologous expression and optimization of the antimicrobial peptide acidocin 4356 in *Komagataella phaffii* to target *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2025, 109(1): 231.
- [129] Zhao Z H, Zhang C X, Li J, et al. Effect of tandem repeats of antimicrobial peptide CC34 on production of target proteins and activity of *Pichia pastoris*[J]. *Protein Expression and Purification*, 2023, 212: 106342.
- [130] Jiang R J, Zhang P F, Wu X L, et al. Expression of antimicrobial peptide cecropin P1 in *Saccharomyces cerevisiae* and its antibacterial and antiviral activity *in vitro*[J]. *Electronic Journal of Biotechnology*, 2021, 50: 16–22.
- [131] Rossouw M, Cripwell R A, Vermeulen R R, et al. Heterologous expression of plantaricin 423 and mundticin ST4SA in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 2024, 16(3): 845–861.
- [132] Yang W T, Zhou L, Zhuo J T, et al. Expression of secreted antimicrobial peptide in a marine diatom: *P. tricornutum*[J]. *Algal Research*, 2023, 75: 103270.
- [133] Han S B, Shao Y P, Liu P, et al. Effects of oral delivery of two antimicrobial peptides CATHp1 and As-CATH4 by bait microalga [*Tetraselmis subcordiformis* (Wille) Butcher] on resistance to bacterial infection in turbot (*Scophthalmus maximus* L.) [J]. *Aquaculture Reports*, 2025, 42: 102803.
- [134] Wan M L Y, Ling K H, Wang M F, et al. Green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate improves epithelial barrier function by inducing the production of antimicrobial peptide pBD-1 and pBD-2 in monolayers of porcine intestinal epithelial IPEC-J2 cells[J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2016, 60(5): 1048–1058.
- [135] Zhang S H, Xiong L, Cui C, et al. Maternal supplementation with *Artemisia annua* L. ameliorates intestinal inflammation via inhibiting the TLR4/NF- κ B and MAPK pathways and improves the oxidative stability of offspring[J]. *Food & Function*, 2022, 13(18): 9311–9323.
- [136] Kim S J, Lee H K, Kang K S, et al. Korean red ginseng polysaccharides enhance intestinal IgA production and barrier function via peyer's patch activation in mice[J]. *Nutrients*, 2024, 16(22): 3816.
- [137] Gao N, Dou X J, Yin T, et al. Tryptophan promotes intestinal immune defense through calcium-sensing receptor (CaSR)-dependent metabolic pathways[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2021, 69(45): 13460–13473.
- [138] Ji Y, Fan X X, Zhang Y C, et al. *Glycine* regulates mucosal immunity and the intestinal microbial composition in weaned piglets[J]. *Amino Acids*, 2022, 54(3): 385–398.
- [139] Ren M, Cai S, Zhou T, et al. Isoleucine attenuates infection induced by *E. coli* challenge through the modulation of intestinal endogenous antimicrobial peptide expression and the inhibition of the increase in plasma endotoxin and IL-6 in weaned pigs[J]. *Food & Function*, 2019, 10(6): 3535–3542.
- [140] Jiang J, Zhang Y, Indra A K, et al. $1\alpha, 25$ -dihydroxyvitamin D3-eluting nanofibrous dressings induce endogenous antimicrobial peptide expression[J]. *Nanomedicine*, 2018, 13(12): 1417–1432.
- [141] Yang B J, Liu C Y, Huang Y N, et al. The responses of *Lactobacillus reuteri* LR1 or antibiotic on intestinal barrier function and microbiota in the cecum of pigs[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 13: 877297.

- [142] Liu H B, Hou C L, Wang G, et al. *Lactobacillus reuteri* I5007 modulates intestinal host defense peptide expression in the model of IPEC-J2 cells and neonatal piglets[J]. *Nutrients*, 2017, 9(6): 559.
- [143] Molina P C, Hussey G S, Eriksson J, et al. 4-hydroxybutyrate promotes endogenous antimicrobial peptide expression in macrophages[J]. *Tissue Engineering Part A*, 2019, 25(9/10): 693–706.
- [144] Zhang J, Luan L, Xu Y D, et al. Development of novel broad-spectrum amphipathic antimicrobial peptides against multidrug-resistant bacteria through a rational combination strategy[J]. *Journal of Advanced Research*, 2025, 77: 747–762.
- [145] 龙安迎, 姜传恒, 杨倩, 等. 重组抗菌肽 BMAP27-LL37 对牛无绿藻的抗藻活性研究[J]. *畜牧与兽医*, 2025, 57(12): 110–115.
Long A Y, Jiang C H, Yang Q, et al. Antialgal activity of recombinant antimicrobial peptide BMAP27-LL37 against *Prototheca bovis*[J]. *Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2025, 57(12): 110–115 (in Chinese with English abstract).
- [146] Zhang R, Tang L, Wang Y S, et al. KK2DP7 stimulates CD11b⁺ cell populations in the spleen to elicit trained immunity for anti-tumor therapy[J]. *Advanced Science*, 2025, 12(23): 2500032.
- [147] Geng S Z, Xiang T T, Shi Y R, et al. Locally producing antibacterial peptide to deplete intratumoral pathogen for preventing metastatic breast cancer[J]. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 2025, 15(2): 1084–1097.
- [148] Xia J, Lu Z, Ge C R, et al. Impact of antimicrobial peptide hiddefensin 5 as a feed additive on the aquatic environment and fish gut antibiotic resistant microbes[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2026, 167: 578–589.
- [149] Wu Y Y, Zhang H H, Zhang Y G, et al. Lysozyme supplement enhances antioxidant capacity and regulates liver glucolipid metabolism in weaned piglets[J]. *Frontiers in Veterinary Science*, 2025, 12: 1721300.
- [150] Teng Z W, Meng Q, Ren M T, et al. The effects of recombinant pBD2 on the growth performance, antioxidant capacity, immune function, intestinal barrier, and microbiota of weaned piglets[J]. *Microorganisms*, 2025, 13(7): 1443.
- [151] Gao M Y, Wang Z L, Zhao H F, et al. Safety and effects of scorpion-derived antimicrobial peptides as an alternative to antibiotic growth promoters in broilers: growth performance, immune function, and intestinal development[J]. *Frontiers in Veterinary Science*, 2025, 12: 1677663.
- [152] 赖文韬, 余茂林, 姜中其. 杭州地区牛乳源大肠杆菌的分离鉴定及木糖醇联用抗菌肽对生物被膜形成的干预[J]. *畜牧与兽医*, 2024, 56(4): 78–83.
Lai W T, Yu M L, Jiang Z Q. Isolation and identification of *Escherichia coli* from cow milk in Hangzhou and intervention of xylitol combined with antimicrobial peptides on biofilm formation[J]. *Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2024, 56(4): 78–83 (in Chinese with English abstract).
- [153] Hu M Y, Cha S N, Li Y W, et al. A food-grade antimicrobial peptide from *Lactococcus lactis*: a potent and stable bio-preservative against Gram-negative pathogens in orange juice[J]. *Food Control*, 2026, 183: 111922.
- [154] Simons E, Yakir I, Malach E, et al. Modifying antifungal peptides as safe food preservatives[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2025, 73(29): 18420–18427.
- [155] Selvaraj S P, Chang J C, Raja K, et al. Novel self-assembled antimicrobial peptide pardaxin hydrogel as a functional biomaterial for food packaging and preservation[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2025, 525: 170727.

责任编辑: 周广礼



吕银凤, 东北农业大学动物科学技术学院教授, 博导, “龙江学者”青年学者、首批黑龙江省优青、黑龙江省普通本科高等学校青年创新人才、黑龙江省博士后青年英才, 全国高校黄大年式教师团队骨干成员, 兼任黑龙江省畜牧兽医学学会动物营养与饲料分会理事, *Animal Nutriomics* 和《黑龙江畜牧兽医》《饲料博览》等期刊青年编委。主要从事饲用活性肽产品创制工作, 主持国家自然科学基金面上、青年项目、国家重点研发计划项目子课题、黑龙江省自然科学基金、中国博士后科学基金及黑龙江省博士后基金特别资助等科研项目 12 项; 发表学术论文 48 篇, 其中 SCI 论文 42 篇, ESI 高被引论文 4 篇; 授权国家发明专利 20 件; 参编著作 1 部; 获黑龙江省自然科学一等奖 1 项、神农中华农业科技奖 1 项; 2021 年获“颐和”青年新锐奖。



单安山, 东北农业大学首席教授、黑龙江省二级教授、博导。国家万人计划领军人才、国家级教学名师、全国优秀教师、国务院政府特殊津贴专家、教育部“跨/新世纪”优秀人才、全国高校黄大年式教师团队带头人。兼任国务院学位委员会学科评议组成员、中国畜牧兽医学学会理事及动物营养学分会副理事长、国家生猪产业技术体系岗位科学家、中国饲料工业协会生物饲料技术委员会副主任、全国无抗产业科技创新联盟副理事长、全国可饲用中草药产业科技创新联盟副理事长等职务。主要从事饲料资源开发与饲用抗生素替代技术研究, 承担国家 863 计划、973 计划、国家自然科学基金重点项目/课题等 60 余项; 获国家科技进步奖二等奖、全国创新争先奖、国家自然科学基金三等奖和省部级一等奖、二等奖等省部级以上科技奖励 18 项; 授权国家发明专利 134 余件; 发表学术论文 954 篇, 其中 SCI 论文 367 篇, ESI 高被引论文 20 篇。带领团队获得“全国工人先锋号”、神农中华农业科技优秀创新团队、感动中国畜牧兽医科技创新领军院所等集体荣誉。