

不同酶解方式对肽聚糖制剂生物学活性的影响

张悦^{1,2}, 宋晓玲², 黄捷², 韦高^{2,3}

(1. 上海水产大学 生命科学与技术学院, 上海 200090; 2. 农业部海洋渔业资源可持续利用重点开放实验室; 中国水产科学研究院 黄海水产研究所, 山东 青岛 266071; 3. 中国海洋大学 生命科学与技术学部, 山东 青岛 266003)

摘要:将经过不同酶解方式处理的肽聚糖制剂配制成饲料投喂凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*), 测定不同肽聚糖对对虾血清酚氧化酶和酸性磷酸酶的影响并分析不同酶解处理组肽聚糖制剂中的成分及其含量。肽聚糖制剂成分分析结果显示, 经 72 h 溶菌酶水解的肽聚糖制剂的低分子量肽聚糖含量较经过 24 h 水解的肽聚糖制剂高, 且蛋白酶的水解作用可促进溶菌酶的水解作用。对虾血清酶活力结果显示, 对于提高对虾的酚氧化酶及酸性磷酸酶活力, 酶解后的肽聚糖制剂比未经酶解的肽聚糖制剂效果明显, 且含有较多低分子量肽聚糖的制剂组的效果优于含有较少低分子量肽聚糖的制剂组。实验结果表明, 肽聚糖的免疫增强活性与肽聚糖分子量的大小相关, 肽聚糖制剂中低聚糖含量的增加会提高其免疫增强效果。[中国水产科学, 2006, 13(4): 631–636]

关键词:肽聚糖; 酶解; 凡纳滨对虾; 酚氧化酶; 酸性磷酸酶

中图分类号: S942 **文献标识码:** A **文章编号:** 1005–8737–(2006)04–0631–06

由于大多数水产动物都不具有发达的特异性免疫系统, 微生物多糖作为非特异性免疫增强剂来抵抗微生物感染, 已为人们所认同。目前应用于水产领域的多糖主要有葡聚糖、酵母聚糖、肽聚糖、脂多糖、海藻多糖以及虫草多糖等。其中, 肽聚糖(Peptidoglycan, PG)是革兰氏阳性菌细胞壁的主要成分, 它由聚糖链、肽亚单位和间肽桥组成, 对多种生物具有免疫调节作用。近 10 多年来, 肽聚糖作为非特异免疫增强剂在水产动物养殖中的应用不断得以证明, 如 Itami 等^[1]研究表明, 对虾口服肽聚糖后吞噬细胞的吞噬活性和抗病力均有所提高; 宋晓玲等^[2]证实在对虾饲料中添加肽聚糖可提高对虾抗病毒的感染能力。目前关于肽聚糖结构与活性关系的报道较少, 仅见到对肽聚糖活性单位结构的一些研究, 如 Lawrence 等^[3]的研究认为肽聚糖诱导小鼠巨噬细胞产生白细胞介素-12(IL-12)的活性有赖于其肽段部分的结构, 特别是肽段中前两个氨基酸基团; Chedid 等^[4]在对免疫佐剂非特异性免疫增强活性的研究发现, 胞壁酰二肽中所含的结构 L-Ala-D-Glu 是免疫佐剂具有抗菌活性所必需的。而对于分子量大小与免疫增强活性间关系的研究还鲜有报

道。本研究通过观察对虾口服经过不同酶解处理的肽聚糖制剂后, 血清中与机体非特异性免疫相关的两种重要酶类——酚氧化酶(phenoloxidase, PO)和酸性磷酸酶(acid phosphatase, ACP)活性的变化, 探讨肽聚糖制剂成分及含量的变化对对虾非特异性免疫力的影响, 以期研究肽聚糖聚合度与免疫增强效果之间的关系提供基础资料, 并为肽聚糖在生产中的实际应用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验用虾 凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*), 体质量(3.10 ± 0.28) g, 于 2005 年 7 月 1 日购自青岛市崂山沙子口南窖水产养殖试验场, 经 PCR 检测确认未携带白斑综合症病毒(White Spot Syndrome Virus, WSSV)。实验前暂养 7 d, 日投喂饲料 4 次, 换水 1 次, 换水量约 1/2, 连续充气。

1.1.2 实验分组 实验用虾稳定后, 随机分为 7 组, 养殖于 550 L 玻璃钢水槽内, 每组约 200 尾。实验期间实验组每周一至周四投喂实验饲料, 周五至周日投喂空白饲料。空白饲料中: 花生粉 250 g/kg,

收稿日期: 2005–11–02; 修订日期: 2006–01–04。

基金项目: 国家(863)高新技术研究与发展计划项目(2003AA622060)。

作者简介: 张悦(1979–), 女, 硕士研究生, 主要从事水产动物免疫增强剂研究工作。E-mail: toni0228@163.com

通讯作者: 宋晓玲。Tel: 0532–85823062。E-mail: squluo@public.qd.sd.cn

豆粉 250 g/kg, 虾粉 100 g/kg, 鱼粉 300 g/kg, 面粉 30 g/kg, 玉米粉 30 g/kg, 复合维生素 10 g/kg, 维生素 C 2 g/kg, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 2 g/kg, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 3 g/kg, 褐藻酸钠 10 g/kg, 花生油 20 g/kg。实验饲料即在空白饲料中添加了 0.05% 经不同酶解方式处理的肽聚糖制剂(由黄海水产研究所海水养殖疾病控制与分子病理学实验室从双歧杆菌细胞壁中制得, 非纯品), 各组肽聚糖制剂酶解过程中, 所用溶菌酶浓度为 22 500 U/mL, 蛋白酶浓度为 5 500 U/mL, 反应所用缓冲系统为 0.1 mol/L pH 6.5 磷酸缓冲液。其中 A 组实验饲料中添加的肽聚糖制剂未经任何酶处理, B 组实验饲料中添加的肽聚糖制剂经溶菌酶 72 h (37 ℃) 消化, C 组实验饲料中添加的肽聚糖制剂经溶菌酶 24 h (37 ℃) 和蛋白酶 24 h (65 ℃) 分别消化, D 组实验饲料中添加的肽聚糖制剂经溶菌酶 24 h (37 ℃) 和蛋白酶 72 h (65 ℃) 分别消化, E 组实验饲料中添加的肽聚糖制剂经溶菌酶 72 h (37 ℃) 和蛋白酶 24 h (65 ℃) 分别消化, F 组实验饲料中添加的肽聚糖制剂经溶菌酶 72 h (37 ℃) 和蛋白酶 72 h (65 ℃) 分别消化; G 组为空白对照组, 全程投喂空白饲料。其他日常管理同营养期。

1.2 对虾免疫指标测定

1.2.1 采集对虾血淋巴 实验开始后的第 6、10、20、27、31 天, 分别从每组实验对虾中随机取对虾 5~10 尾, 用一次性注射器 (1 mL) 从对虾的围心腔内抽取血淋巴, 注入无菌的 1.5 mL 离心管中, 4 ℃ 冰箱中过夜, 次日用无菌针头划破血凝块, 析出血清用于免疫指标的测定。

1.2.2 PO 活力 采用雷质文^[5]改进 Ashida 的方法, 在酶标板中加入 200 μL 的 0.1 mol/L pH 为 6.0 的磷酸钾盐缓冲液, 10 μL 的 0.01 mol/L 的 L-多巴 (L-dopa) 及 10 μL 血清, 于室温下混匀, 每间隔 2 min 读取在 490 nm 波长下的吸光值 (OD_{490})。并用 Bradford 法^[6]测定血清的蛋白浓度。在本实验条件下, 每分钟每毫克蛋白吸光值增加 0.001 定义为 1 个活力单位 (Unit/mg Protein)。

1.2.3 ACP 活力 按酸性磷酸酶测定试剂盒(南京建成生物研究所生产)要求, 分别在测定管、标准管和空白管中加入血清和各反应液, 充分混匀于室温静置 30 min 后于各管中加入碱液和显色液, 混匀后于 520 nm 处测定吸光值 (OD_{520}), 依标准管酚含量计算样品管中酚的产生量。ACP 活性定义为: 在

本实验条件下, 每 100 μL 血清 30 min 产生 1 mg 酚为 1 个金氏单位 (King's unit)。

1.3 肽聚糖制剂成分及其含量测定

酶解处理后各组肽聚糖制剂 6 000 r/min 离心 30 min, 分离上清和沉淀, 分别用于肽聚糖成分的测定。

1.3.1 蛋白含量 以牛血清白蛋白为标准, 用 Bradford 法测定上清液中的蛋白质含量。

1.3.2 氨基己糖含量 利用 Morgan-Elson 反应^[7]测定上清液中可溶肽聚糖糖链还原端的 N-乙酰氨基己糖含量。肽聚糖样品 0.25 mL 放在玻璃管中, 加入 0.05 mL 60 mg/mL 四硼酸钾, 沸水浴 3 min 后用冰水冷却, 再加入 1.5 mL PDABA 试剂 (100 mg/mL 对二甲氨基苯甲醛, 12.5% 盐酸, 87.5% 冰乙酸, 临用前以 9 倍体积的冰乙酸稀释), 摇匀后于 37 ℃ 水浴 20 min, 在 585 nm 下测定吸光值 (OD_{585})。同样方法以 80 $\mu\text{g/mL}$ N-乙酰氨基葡萄糖为标准溶液绘制标准曲线, 根据标准曲线和样品浓度计算含量。将肽聚糖制剂和离心后的上清分别用 6 mol/L HCl 105 ℃ 水解 10 h, 利用 Ehrlich 试剂^[7]分别测定全部肽聚糖制剂和上清液中氨基己糖的含量。肽聚糖样品 5 mL, 再加入 1 mL 乙酰丙酮试剂 (3 mL 乙酰丙酮, 50 mL 1 mol/L Na_2CO_3), 摇匀, 沸水浴 30 min, 冰水冷却, 再加入无醛乙醇 4 mL (勿摇动), 再加入 1 mL Ehrlich 试剂 (26.7 mg/mL 对-二甲氨基苯甲醛, 50% 盐酸, 50% 无醛乙醇), 摇匀于 60 ℃ 水浴 60 min, 在 530 nm 下测定吸光值 (OD_{530})。同样方法以 100 $\mu\text{g/mL}$ 氨基葡萄糖为标准溶液绘制标准曲线, 根据标准曲线和样品浓度计算含量。计算上清液与全部肽聚糖制剂中氨基己糖含量的比值和上清中 N-乙酰氨基己糖与氨基己糖含量的比值。

1.4 统计分析

本实验采用 SPSS12.0 软件, 各处理组数据与对照组分析时进行单因素方差分析 (One-way ANOVA), 实验结果以 $\bar{X} \pm \text{SD}$ 计。

2 结果

2.1 PO 活力

各实验组对虾血淋巴 PO 活力见图 1。从图 1 可见, 所有添加肽聚糖制剂的实验组中, 对虾血清中的 PO 活力的平均值均高于未添加肽聚糖的对照组 (G 组) 的平均值; 而经过酶解的肽聚糖组的对虾 PO 活力均较未经处理的肽聚糖组高。从总体趋势来

看,对于经过相同时间蛋白酶消化的肽聚糖制剂组(E组与C组,F组与D组),经过较长时间(72 h)溶菌酶水解的肽聚糖组比经过较短时间(24 h)水解的肽聚糖组对提高对虾 PO 活力的效果明显。对于经

过相同时间溶菌酶消化的肽聚糖制剂组(D组与C组,F组与E组),经过较长时间(72 h)蛋白酶水解的肽聚糖组比经过较短时间(24 h)水解的肽聚糖组对提高对虾 PO 活力的效果更明显。

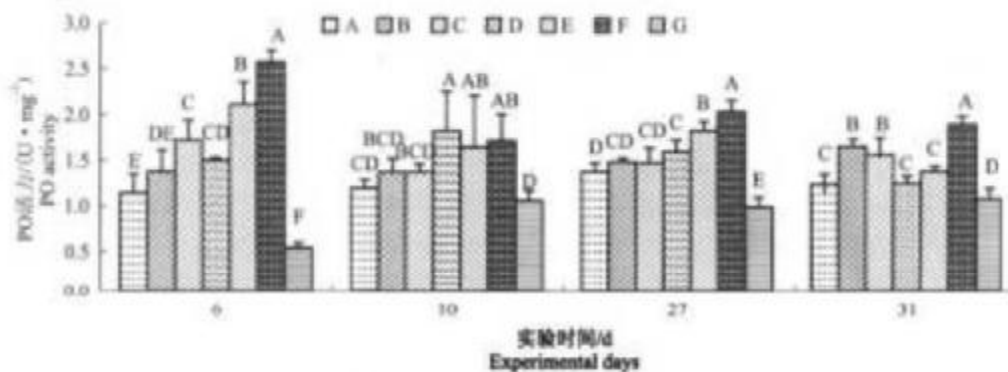


图1 各实验组凡纳滨对虾血清酚氧化酶(PO)活力

注:图中误差线用标准误差表示,不含有相同字母的组之间差异显著($P < 0.05$),含有相同字母的组之间无显著差异。

Fig.1 Serum phenoloxidase (PO) activity of *Litopenaeus vannamei* in test groups

Note: Error bars represent SD; significant difference lies between the groups which have no same letter and does not between the groups which have the same letter.

2.2 ACP 活力

各实验组对虾血淋巴 ACP 活力见图 2。从图 2 可见,所有添加肽聚糖制剂的实验组中,对虾血清中的 ACP 活力的平均值均高于未添加肽聚糖的对照

组的平均值;而经过酶解的肽聚糖组的对虾 ACP 活力较未经处理的肽聚糖组高。从总体来看,不同酶解方式对对虾血清 ACP 活性的影响与其对对虾血清 PO 活性的影响有着相似的趋势。

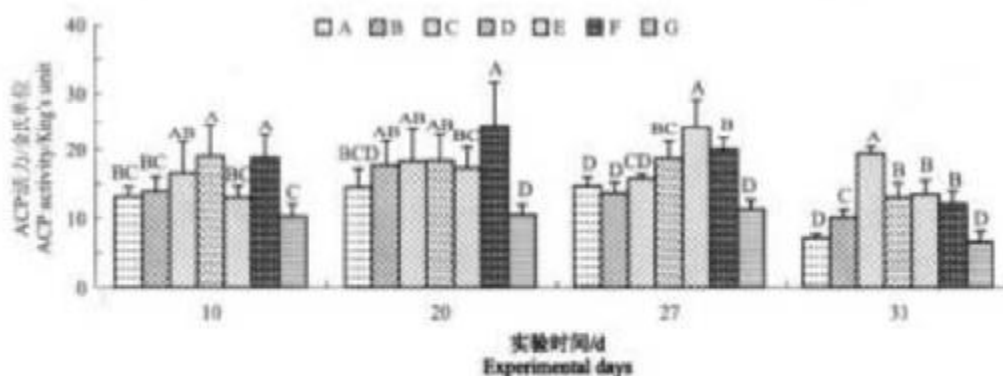


图2 各实验组凡纳滨对虾血清酸性磷酸酶(ACP)活力

注:图中误差线用标准误差表示,不含有相同字母的组之间差异显著($P < 0.05$),含有相同字母的组之间无显著差异。

Fig.2 Serum acid phosphatase (ACP) activity of *Litopenaeus vannamei* in test groups

Note: Error bars represent SD; significant difference lies between the groups which have no same letter and does not between the groups which have same letter.

2.3 肽聚糖制剂的成分及含量

经蛋白酶消化的肽聚糖制剂含蛋白量明显较未

经消化组低,但 72 h 和 24 h 消化组之间的差异不大。肽聚糖经过高温酸水解后,聚糖糖苷键断裂,生

成氨基己糖单糖。由于不溶性的肽聚糖无法测定含量,所以用水解后的氨基己糖的含量来估计肽聚糖的含量,而用上清液和全部肽聚糖制剂中的氨基己糖之比来表征低分子量可溶性肽聚糖与高分子量不溶性肽聚糖之比。各组肽聚糖制剂中所含的氨基己糖几乎相当,而经溶菌酶消化过的肽聚糖制剂的上清液中氨基己糖的含量明显高于未消化过的肽聚糖制剂。说明各组肽聚糖制剂中肽聚糖的含量相当,而经过溶菌酶消化过的肽聚糖中小分子量的低聚肽聚糖的含量有所增加。经 72 h 消化的肽聚糖组(D 组和 F 组)上清中与全部(沉淀和上清)的氨基己糖含量比值比经 24 h 消化的肽聚糖组(C 组和 E 组)要高;经 72 h 蛋白酶消化的肽聚糖制剂组(E 组和 F

组)氨基己糖含量比经过 24 h 消化的肽聚糖组(C 组和 D 组)要高,可能是蛋白酶能对附着或黏附在肽聚糖网状结构上的蛋白进行水解,有利于溶菌酶在空间结构上更接近肽聚糖的网状结构,从而促进对肽聚糖的酶解。N-乙酰葡萄糖胺表示位于糖链还原端的 N-乙酰氨基己糖,它与氨基己糖之比可粗略表征肽聚糖链长的大小,值越高链长越小。但表中显示经过酶处理的肽聚糖制剂中 N-乙酰葡萄糖胺与上清中的氨基己糖之比明显低于未经消化过的肽聚糖制剂(A 组),而且消化时间越长,比值越低。可能是长时间的水解会破坏 N-乙酰葡萄糖胺原有的酰胺基结构而使颜色反应不能发生。

表 1 各组肽聚糖制剂的成分及含量
Tab.1 Components and contents in different peptidoglycan groups

项目	Item	A	B	C	D	E	F
上清 Supernatant	蛋白质/(mg·L ⁻¹) Protein	951.79	1 018.88	83.96	81.32	73.08	86.96
	氨基己糖/(mg·L ⁻¹) Hexosamine	236.71	1 167.95	1 086.22	1 190.50	1 115.53	1 215.90
	N-乙酰葡萄糖胺/(mg·L ⁻¹) N-acetylglucosamine	34.97	69.28	63.67	57.50	42.94	36.61
全部制剂 Whole preparation	氨基己糖/(mg·L ⁻¹) Hexosamine in whole preparation	2 898.31	2 940.00	3 262.37	3 312.47	2 649.46	2 709.15
氨基己糖含量比(上清/全部制剂) Hexosamine ratio of supernatant to whole preparation		0.081 7	0.397 3	0.333 0	0.359 4	0.421 0	0.448 8
N-乙酰葡萄糖胺/氨基己糖(上清) Ratio of N-acetylglucosamine to hexosamine in supernatant		0.147 7	0.059 3	0.058 6	0.048 3	0.038 5	0.030 1

3 讨论

肽聚糖是由氨基糖骨架和肽链组成的聚合物,其结构单元由 β -(1,4)-连接的 N-乙酰葡萄糖胺和 N-乙酰胞壁酸二糖单位以及四肽亚单位和肽桥组成。肽聚糖最小的活性单位是肽聚糖单体(二糖四肽)和胞壁酸二肽。在 Lawrence 等^[3]和 Chedid 等^[4]的研究均表明,肽聚糖的免疫调节活性有赖于其肽段部分的结构 L-Ala-D-Glu-m-A2pm-D-Ala 或 L-Ala-D-Glu-(NH₂)-L-Lys-D-Ala,而此四肽结构前 2 个氨基酸基团 L-Ala-D-Glu 的立体化学结构对肽聚糖的活性尤为重要。肽聚糖被水解后,它的活性常会增加,降解的肽聚糖分子量较小溶解度增大,其免疫原性降低,且不具有类似脂多糖的热原性和毒性。已有文章报道了肽聚糖对提高水产动物体液中非特异免疫因子具有明显效果^[8-9],但对于肽聚糖

分子量的变化对肽聚糖的免疫活性的影响还未见报道。本实验通过酶解获得低分子量肽聚糖,且不同酶解方式获取的低聚糖的量不同,因而对对虾的免疫因子活力的影响不同,表明分子量的变化会影响肽聚糖免疫增强的活性。此外,虽然经蛋白酶消化过的肽聚糖组的蛋白含量基本相近,但从各组肽聚糖的氨基己糖含量和对对虾免疫因子的影响来看,蛋白酶的作用会对溶菌酶的作用产生影响,可能是蛋白酶的水解促进溶菌酶与底物的结合,从而促进水解作用产生更多的低聚糖。

由于 PO 和 ACP 具有重要的免疫功能,且其活力对肽聚糖使用剂量敏感,因此本实验选取 PO 和 ACP 的活力作为考查对虾非特异性免疫活力的指标。酚氧化酶原系统存在于对虾的颗粒血细胞中,可被微量微生物多糖激活,当血细胞接到相应的信号后,可释放出酚氧化酶原(proPO),使之成为有活

性的PO发挥抗体病原体的作用^[10-12]。此外,还有研究发现PO对病毒具有破坏作用^[13]。ACP是催化磷酸单酯水解的酶类,在体内参与磷酸基团的转移和代谢。ACP主要以酶原形式存在于小颗粒细胞的颗粒中,在小颗粒细胞进行吞噬和包围化的免疫反应中,会伴随有细胞的解体及颗粒的排放,使血清中ACP活力升高^[13]。在免疫多糖的刺激下可以促进ACP参与对虾细胞中的物质代谢,提高非特异性免疫机能。实验结果显示,经过不同方式酶解的肽聚糖使对虾血清PO活力和ACP活力产生明显的变化,且低分子量肽聚糖含量较高的肽聚糖制剂组对提高对虾PO和ACP活力的效果优于低聚糖含量较少的肽聚糖制剂组。

实验结果表明,低聚肽聚糖含量的增加会增强肽聚糖的免疫增强活性,为研究肽聚糖分子结构和免疫活性的关系提供了基础资料,同时为高效水产动物免疫增强剂的开发研究提供了理论依据。由于肽聚糖的不可溶性,本实验无法获得全部肽聚糖分子量的分布及其相对含量,只能测定制剂中可溶性肽聚糖与全部肽聚糖的含量之比,对肽聚糖制剂的特性加以表征,研究肽聚糖的免疫活性和分子量间的关系。因而对于肽聚糖的分子量与活性间的关系尚有许多工作需要深入的研究。

参考文献:

- [1] Itami T, Asano M, Tokushige K, et al. Enhancement of disease resistance of kuruma shrimp, *Penaeus japonicus*, after oral administration of peptidoglycan derived from *Bifidobacterium thermophilum* [J]. *Aquaculture*, 1998, 164: 277-288.
- [2] 宋晓玲,王秀华,陈国福,等. 肽聚糖制剂提高凡纳对虾抗白斑综合征病毒感染力的研究[J]. 高技术通讯, 2005, 15(1): 74-78.
- [3] Lawrence C, Nauciel C. Production of Interleukin-12 by murine macrophages in response to bacterial peptidoglycan[J]. *Infection and Immunity*, 1998, 66(10): 4 947-4 949.
- [4] Chedid L, Parant M, Parant F, et al. Enhancement of non-specific immunity to *Klebsiella pneumoniae* infection by a synthetic immunoadjuvant (N-acetylmuramyl-L-alanyl-D-isoglutamine) and several analogs[J]. *Immunology*, 1977, 74(5): 2 089-2 093.
- [5] 雷质文,黄健,杨冰,等. 感染白斑综合症病毒(WSSV)对虾相关免疫因子的研究[J]. 中国水产科学, 2001, 8(4): 46-51.
- [6] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. *Anal Biochem*, 1976, 72: 248-254.
- [7] 张惟杰. 糖复合物的生化研究技术[M]. 杭州: 浙江大学出版社, 1994. 25-29.
- [8] 周进,宋晓玲,黄健,等. A3a肽聚糖对牙鲆不同组织中超氧化物歧化酶及磷酸酶活性的影响[J]. 中国水产科学, 2004, 11(4): 296-301.
- [9] 王秀华,宋晓玲,黄健. 肽聚糖制剂对南美白对虾体液免疫因子的影响[J]. 中国水产科学, 2004, 11(1): 26-30.
- [10] 王雷,李光友. 中国对虾血淋巴中的抗菌、溶菌活力与酚氧化酶活力的测定及其特性研究[J]. 海洋与湖沼, 1995, 26(2): 179-185.
- [11] 孟凡伦,张玉麟. 甲壳动物中的酚氧化酶原激活系统研究评价[J]. 海洋与湖沼, 1999, 30(1): 110-115.
- [12] Sang H H, Chang H J, Her C H, et al. Phenoloxidase activity of hemocytes derived from *Penaeus monodon* and *Macrobrachium rosenbergii* [J]. *J Invertebr Pathol*, 1998, 71(1): 26-33.
- [13] 刘晓云,张志峰,马洪明. 中国对虾血细胞酶细胞化学的初步研究[J]. 青岛海洋大学学报, 2002, 32(2): 259-265.

Effects of the different enzymatic hydrolysis on immunity enhancement activity of peptidoglycan

ZHANG Yue^{1,2}, SONG Xiao-ling², HUANG Jie², WEI Song^{2,3}

(1. Biology Science & Technology College, Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090, China; 2. Key Laboratory for Sustainable Utilization of Marine Fisheries Resources, Ministry of Agriculture; Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China; 3. Fisheries College, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Abstract: Peptidoglycan (PG) was tried as immunostimulant on some fish and crustacean and its effectiveness of immunity enhancement in preventing disease was reported. However, few researches have been reported on the relation between the structure or molecular weight of peptidoglycan and its activity. To help explicate the relation, in this study, the potency of the oral administration of several PG preparations which were treated with different enzymatic hydrolysis was examined on the activity of two serum enzymes related to shrimp immunity. PG derived from *Bifidobacterium thermophilum* was prepared in the laboratory and hydrolyzed in different ways with lysozyme or protease or both of them for different time. Experimental diets were produced by combining normal diet with 0.05 % PG preparation processed with different ways to produce seven diets: (A) no enzymatic hydrolysis processed on PG preparation; (B) PG preparation hydrolyzed 72 h with lysozyme; (C) PG preparation hydrolyzed with lysozyme for 24 h and protease for 24 h; (D) PG preparation hydrolyzed with lysozyme for 24 h and protease for 72 h; (E) PG preparation hydrolyzed with lysozyme for 72 h and protease for 24 h; (F) PG preparation hydrolyzed with lysozyme for 72 h and protease for 72 h; (G) normal diet with no PG preparation. Then the content of some components of the preparations were examined, and the serum phenoloxidase (PO) and acid phosphatase (ACP) activities of *Litopenaeus vannamei* were determined on the 6th, 10th, 20th, 27th and 31st day after the feeding trial. The data of the components and contents indicated that the PG preparation hydrolyzed with lysozyme for 72 h contained more low molecular peptidoglycan than those treated for 24 h, and the hydrolysis of protease could promote the hydrolysis of the lysozyme. The data of the activity of serum PO and ACP indicated that the PG preparations processed with enzymes were superior to the preparation without any hydrolysis on enhancing the two serum enzyme activities. Furthermore, combined with the information of components' content, the preparation contained more low molecular peptidoglycan was better than that contained less low molecular peptidoglycan. It suggested that the immunity enhancement activity of the peptidoglycan was related to its molecular weight, and the increasing of the low molecular peptidoglycan in the preparation could fortify the effect of immunity enhancement. [Journal of Fishery Sciences of China, 2006, 13(4): 631 - 636]

Key words: peptidoglycan; enzymatic hydrolysis; *Litopenaeus vannamei*; phenoloxidase; acid phosphatase

Corresponding author: SONG Xiao-ling. E-mail: aqadis@public.qd.sd.cn