เปปไทด์ต้านจุลชีพเป็นเปปไทด์สายสั้นที่มีความสำคัญต่อระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายของมีชีวิตหลายชนิดโดยมีคุณสมบัติที่สามารถต่อต้านการติดเชื้อที่เกิดจากเชื้อจุลชีพได้ ในงานวิจัยนี้ได้ทำการค้นหาลำดับนิวคลีโอไทด์ที่สมบูรณ์ (full length cDNA) ของยีนเปปไทด์ต้านจุลชีพครัสติน (CrusSp) ศึกษาลักษณะสมบัติของยีน รวมทั้งแยกและวิเคราะห์การจัดเรียงตัวของยีน (genomicorganization) จากการค้นหาลำดับนิวคลีโอไทด์ที่สมบูรณ์ของยีนเปปไทด์ต้านจุลชีพครัสตินจากเซลล์เม็ดเลือดของปูทะเล (Scylla paramamosain) โดยเทคนิค expressed sequence tag (EST) และrapid amplification cDNA end (RACE) พบว่าประกอบด้วย ORF ขนาด 336 bp ที่สามารถถอดรหัสให้กรดอะมิโน 111 ตัว โดยมี signal peptide 21 ตัว เมื่อนำมาคำนวณมวลโมเลกุลของโปรตีนพบว่ามีขนาดประมาณ 10.27 kDa และมีค่า pI 8.54 จากการวิเคราะห์โดเมนของโปรตีน CrusSp พบว่าที่บริเวณปลาย C ประกอบด้วย whey acidic protein (WAP) domain จากการเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนและการวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการพบว่ายีน CrusSp ที่แยกได้มีความคล้ายกับกลุ่มของยีนครัสตินโดยมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับเปปไทด์ต้านจุลชีพครัสตินที่พบในปูCarcinus maenas จากการแยกและวิเคราะห์การจัดเรียงตัวของยีนพบว่ายีน CrusSp มีขนาด 999 bpซึ่งประกอบด้วย 4 exon และ 3 intron โดยในบริเวณรอยต่อระหว่าง exon และ intron เป็นไปตาม GT/AG rule เมื่อตรวจสอบการแสดงออกของยีน CrusSp ในเนื้อเยื่อต่าง ๆ ของปูทะเล พบว่ายีน CrusSp มีการแสดงออกอย่างมากในเซลล์เม็ดเลือด เหงือก ลำไส้ และกล้ามเนื้อ แต่ไม่พบการแสดงออกในตับและก้านตา เมื่อนำยีน CrusSp มาศึกษาการแสดงออกใน Escherichia coli พบว่าสามารถเหนี่ยวนำให้มีการแสดงออกของโปรตีนรีคอมบิแนนท์ได้ เมื่อนำมาแยกบริสุทธิ์และตรวจสอบคุณสมบัติการต้านเชื้อจุลชีพพบว่าโปรตีน CrusSp มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกได้

Antimicrobial peptides (AMPs) are important components of the host innate immune response against microbial invasion. In the present study, we report the identification and characterization of a crustin (Crus*Sp*) from the hemocyte of mud crab, *Scylla paramamosain* using rapid amplification cDNA end (RACE) approach. Analysis of the nucleotide sequence revealed seven different variances of the Crus*Sp* cDNA in mud crab. The open reading frameencodes a protein of 111 amino acids with 21 residues signal sequence. The predicted molecular mass of the mature protein (90 amino acids) is 10.27 kDa with an estimated p*I* of 8.54. Analysis of the protein domain features indicated typical conserved cysteine residues containing a single WAP domain at the *C*-terminus. A neighbour-joining tree showed that *S. paramamosain* crustin is closely related to other crustin homologues, and displays the highest similarity to crustin antimicrobial peptide in shore crab *Carcinus maenas*. Four exons and three introns were identified within the 999 bp genomic DNA sequence of Crus*Sp*. Tissue distribution analysis showed that Crus*Sp* was highly expressed in hemocytes, gills, intestines and muscle but it was not expressed in hepatopancreas and eyestalks. To gain insight into the *in vitro* antimicrobial activities of Crus*Sp*, the mature peptide coding region was cloned into *Escherichia coli* for heterologous expression. The recombinant Crus*Sp* could inhibit the growth of gram-positive bacteria but had no inhibition activity against gram-negative bacteria. These results indicated the involvement of Crus*Sp* in the innate immunity of *S. paramamosain*