DOI:10.13350/j.cjpb.220710

· 论著 ·

结膜吸吮线虫巨噬细胞迁移抑制因子的生物信息学分析*

黄琳[1,2],莫兴泽[1],尚战阳[1],廖德君[1],谢洪书[1],杨绚[1],刘晖[2]**
(1.黔南民族医学高等专科学校,贵州都匀 558000;2.遵义医科大学寄生虫学教研室)

【摘要】 **目的** 运用生物信息学方法预测分析结膜吸吮线虫MIF蛋白的结构与功能。 **方法** 基于结膜吸吮线虫转录组数据库筛选出MIF基因并进行PCR验证;利用在线软件Expasy分析该基因编码*Tcp*-MIF蛋白的理化性质和亲疏水性;利用HMMTOP version 2.0和SignalP 4.1 server分别预测*Tcp*-MIF蛋白的跨膜结构域以及信号肽;运用NetPhos、NCBI-Conserved domains、SOPMA、SWISS-MODEL、IEDB在线程序分别预测*Tcp*-MIF蛋白潜在的磷酸化位点、保守域结构、蛋白二级、三级结构及其抗原表位;对其编码的氨基酸序列进行同源比对,利用MEGA X软件构建系统进化树,通过STRING数据库对其蛋白互作网络进行预测。 **结果** *Tcp*-MIF基因全长620 bp,开放阅读框为345 bp,编码115个氨基酸;无信号肽和跨膜结构域,蛋白局部亲水性好,有潜在的磷酸化位点和保守域结构,具有α螺旋、β折叠结构和互变异构酶活性。推测其有4个抗原表位,在STRING数据库共鉴定出包括10个基因在内的21个互作关系。 **结论** 生物信息学预测结膜吸吮线虫MIF蛋白基因并对其编码蛋白存在潜在的抗原表位区域,具有多个磷酸化位点,可为结膜吸吮线虫感染疫苗的研发提供理论基础。

【关键词】 结膜吸吮线虫;MIF;序列分析;功能蛋白
【中图分类号】 R383 【文献标识码】 A 【文章编号】 1673-5234(2022)07-0790-06

[*Journal of Pathogen Biology*. 2022 Jul.;17(7):790-795.]

Bioinformatics analysis of the macrophage migration inhibitory factor in *Thelazia callipaeda*

HUANG Lin[1,2], MO Xing-ze[1], SHANG Zhan-yang[1], LIAO Deng-jun[1], XIE Hong-shu[1], YANG Xuan[1], LIU Hui[2] (1. *Qiannan Medical College for Nationalities, Duyun* 558000, *Guizhou, China*; 2. *Department of Parasitology, Zunyi Medical University*)

【Abstract】 **Objective** To predicted the structure and function of *Thelazia callipaeda* macrophage migration inhibitory factor (*Tcp*-MIF) by bioinformatics. **Methods** The MIF gene was screened from the *T. callipaeda* transcriptome database and subjected to validation by using a PCR assay. Expasy was used to analyze the physicochemical properties and hydrophobicity of the gene encoding the *Tcp*-MIF protein; HMMTOP version 2.0 and SignalP 4.1 server were used to predict transmembrane domain and Signal peptide of the *Tcp*-MIF protein; NetPhos, NCBI-Conserved Domains, SOPMA, Swiss-Model and IEDB Online program were used to predict the potential phosphorylation site, Conserved domain structure, protein structure and antigenic epitopes of the *Tcp*-MIF protein; Homology analysis of the amino acid sequences was performed, and the phylogenetic tree was built by the MEGA X software. In addition, the protein-protein interaction network was deduced from the STRING database. **Results** *Tcp*-MIF gene is 620 bp long, open reading frame is 345 bp, encoding 115 amino acids. *Tcp*-MIF has no signal peptide and transmembrane domain, the protein is hydrophilic and has potential phosphorylation sites and conserved domain structure, α helix, β folding structure and tautomerase activity. It was predicted to contain 4 antigen epitopes, and Based on the protein-protein interaction network of nematodes in the STRING database, the 21 interactions covering 10 genes were identified. **Conclusion** *Tcp*-MIF gene is successfully identified in *Thelazia callipaeda* transcriptome database and its coding protein receives a bioinformatics analysis, which lays a foundation for further study on how *Tcp*-MIF protein exerts immunological effect when *Thelazia callipaeda* infect host.

【Key words】 *Thelazia callipaeda*; macrophage migration inhibitory factor (MIF); sequence analysis; functional protein

***结膜吸吮线虫(*Thelazia callipaeda*, *Tcp*)寄生于人及犬、猫等动物眼结膜囊内引起的结膜吸吮线虫病(Thelaziasis)是一种人畜共患寄生虫病,可引起结膜炎、急性视神经视网膜炎、眼内炎等症状。中国是吸吮线虫病例最多的国家,截止到2017年我国29个省、市、自治区的不完全统计,人体结膜吸吮线虫病例总数

* 【基金项目】 国家自然科学基金项目(No. 81560336, 81760373);贵州省科技厅科技基金,黔科合基础[2020]1Y348;黔南民族医学高等专科学校科研基金资助项目(No. QNYZ201928)。

** 【通讯作者】 刘晖,E-mail:liuhui6032@sina.com
【作者简介】 黄琳(1990-),女,贵州都匀人,在读硕士,主要研究方向:寄生虫感染与免疫。E-mail:1119102581@qq.com

达600多例[1]。人体结膜吸吮线虫病近年来依然存在局部流行,其防控将面临更多新的挑战[2]。本研究前期通过对NCBI提供的结膜吸吮线虫基因组测序数据(WTSI,英国)进行组装研究[3],构建的不同发育阶段结膜吸吮线虫转录组数据库[4-5],在差异表达谱中鉴定出了一种高表达量的结膜吸吮线虫巨噬细胞迁移抑制因子(Thelazia callipaeda macrophage migration inhibitory factor,*Tcp*-MIF)。其与人源MIF具有一定同源性,推测*Tcp*-MIF很可能模拟细胞因子作用来调节宿主免疫反应。

目前已有多种寄生虫MIF直系同源基因被鉴定出来,其与宿主自身的MIF蛋白在结构和功能上具有一定的相似性[6]。这种相似性有助于寄生虫长期在具有免疫力的宿主体内增殖、存活,可与宿主相互作用形成复杂的免疫逃避机制[7]。研究发现寄生虫源MIF对多种寄生虫感染与免疫也有调节作用[8]。其中大部分寄生虫源MIF都显示了与人源MIF蛋白有相似的互变异构体酶活性,同样具有诱导巨噬细胞活化,调节巨噬细胞迁移的能力,刺激信号转导途径,促进炎性细胞因子产生等作用[9-12]。MIF的生物学功能及其具有保守及独特的结构域特点使其有希望成为新疫苗和药物开发的靶目标。基于寄生虫中MIF的研究现状,本研究通过在线分析软件对*Tcp*-MIF蛋白进行生物信息学分析,预测其结构和功能,为进一步了解*Tcp*-MIF蛋白在寄生虫与宿主免疫互作中发挥的作用提供理论基础。

材料与方法

1 材料

利用NCBI结膜吸吮线虫基因组数据,结合本研究前期构建的的结膜吸吮线虫转录组数据库整合分析,筛选出结膜吸吮线虫巨噬细胞迁移抑制因子基因(*Tcp*-MIF)。根据结膜吸吮线虫*MIF*基因序列(登录号:A0A0N5DBF6)。

2 方法

2.1 NCBI结膜吸吮线虫基因鉴定 利用Primer 5.0软件设计特异性引物,F1:5'-GGCATCGAGTACAGTGGCTAAAGC-3'; R1:5'-CCAAAGGTGCGTCCATTGAAAGC-3',引物委托重庆擎科兴业生物技术有限公司合成。以结膜吸吮线虫cDNA为模板,F1、R1为引物,PCR扩增*Tcp*-MIF基因。反应体系为25 μL:其中含Mix(Grenn) 12.5 μL,cDNA 1 μL,上、下游引物各1 μL,加ddH_2O至25 μL,反应程序:94 ℃ 3 min;94 ℃ 30 s;53 ℃~60 ℃ 30 s;72 ℃ 30 s;共40个循环;72 ℃ 4 min;4 ℃保存。取5 μL PCR产物在2%的琼脂糖凝胶进行电泳鉴定。

2.2 *Tcp*-MIF蛋白的理化性质与亲疏水性分析 利用在线工具Expasy-protscale(https://web.expasy.org)预测*Tcp*-MIF蛋白的理化性质,包括氨基酸数目、分子质量、氨基酸序列组成、等电点及不稳定指数等和亲疏水性进行预测分析。

2.3 *Tcp*-MIF蛋白跨膜区、信号肽预测 利用在线工具HMMTOP version 2.0(http://www.cbs.dtu.dk/Services/TMHMM/)预测结膜吸吮线虫MIF蛋白的跨膜结构域;利用SignalP 4.1 server在线程序预测分析*Tcp*-MIF蛋白的信号肽。

2.4 *Tcp*-MIF蛋白磷酸化位点以及保守域结构分析 应用NetPhos3.1 server在线软件(http://www.cbs.dtu.dk/services/NetPhos/)和NCBI-Conserved domains分别预测*Tcp*-MIF蛋白的磷酸化位点以及保守域结构。

2.5 *Tcp*-MIF蛋白结构分析 通过SOPMA在线程序(https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=/NPSA/npsa_sopma.html)对*Tcp*-MIF蛋白二级及三级结构进行分析预测,利用COILS预测*Tcp*-MIF蛋白卷曲螺旋域;运用SWISS-MODEL在线程序(https://swissmodel.expasy.org/interactive/YePkXS/models/)对*Tcp*-MIF进行同源建模,利用Ramachandran plots评价其建模效果。

2.6 *Tcp*-MIF蛋白抗原表位分析 利用在线程序IEDB(http://www.iedb.org)分析*Tcp*-MIF蛋白的B细胞抗原表位。

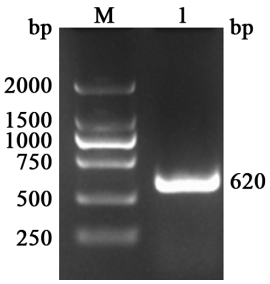
2.7 *Tcp*-MIF蛋白进化树的构建 利用NCBI网站在线工具BLAST(https://blast.ncbi.nlm.nih gov)搜索结膜吸吮线虫MIF蛋白氨基酸序列进行分析,根据多重序列比对结果,使用MEGA5.0软件中的NeighborJoining程序绘制*Tcp*-MIF的分子进化树。

2.8 *Tcp*-MIF蛋白互作关系预测 在PPI数据库STRING中(http://string-db.org),以数据库中结膜吸吮线虫MIF的PPI互作网络关系作为参考,选取交互作用评分>0.7的互作关系构建蛋白互作网络,进行PPI网络预测。基于蛋白同源比对的相似性选择数据库中的基因,最后根据注释基因组数据库中的同源基因来构建PPI网络,使用Cytoscape软件实现网络图的可视化。

结 果

1 Tcp-MIF基因的鉴定

通过对前期的注释结果进行分析,筛选出*MIF*基因序列。以结膜吸吮线虫cDNA为模板,F1和R1为引物,进行PCR扩增,*Tcp*-MIF目的基因片段620 bp的(图1),与预期结果一致。



M DNA标志物 1 Tcp-MIF基因

图1 *Tcp-MIF*基因的PCR扩增

M DNA Marker 1 PCR production of *Tcp*-MIF gene

Fig. 1 PCR amplification of *Tcp-MIF* gene

2 Tcp-MIF蛋白的理化性质及亲疏水性分析

分析结果显示*Tcp*-MIF基因编码115个氨基酸，相对分子质量约为14.37×10^3，分子式为$C_{545}H_{873}N_{145}O_{167}S_7$，等电点为8.38；氨基酸组成成分分析，丝氨酸(Ala)占11.3%、丙氨酸(Val)占10.4%，其余氨基酸占比均<10%。*Tcp*-MIF蛋白的不稳定系数为16.01，可认为是稳定性蛋白。其总平均亲水性为0.059，为亲水性蛋白(图2)。

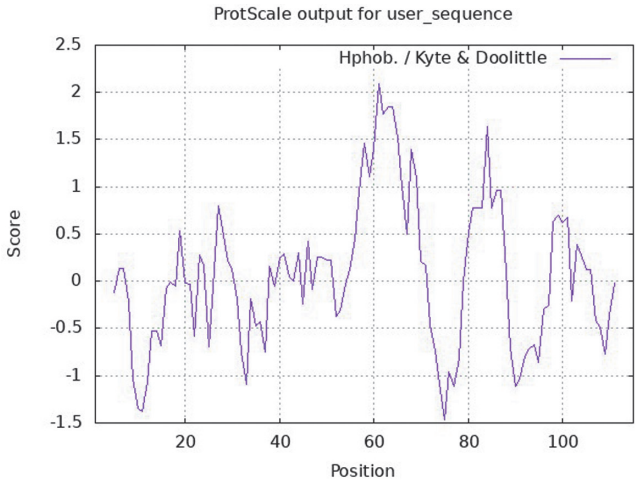


图2 *Tcp*-MIF蛋白亲水性分析

Fig. 2 Hydrophilicity analysis of *Tcp*-MIF protein

3 *Tcp*-MIF蛋白跨膜结构域、信号肽分析

利用在线工具HMMTOP version 2.0预测结膜吸吮线虫MIF不存在跨膜结构域(图3)，115个氨基酸残基跨膜概率值均未突破阈值线，预测其氨基酸序列均在膜外侧。利用SignalP 4.1 server在线程序预测分析*Tcp*-MIF蛋白的信号肽，其中Cmax在26位，为0.117；Smax在1位，为0.132；Ymax在12位，为0.108。均<阈值0.45，显示该蛋白无信号肽(图4)。

4 *Tcp*-MIF蛋白磷酸化位点及保守结构域分析

利用NetPhos3.1 server在线软件分析显示，当阈值为0.5时，*Tcp*-MIF蛋白有10个潜在的磷酸化位点，其中包括7个丝氨酸位点(S)位点，分别位于第24、25、39、53、64、71、75位氨基酸；1个酪氨酸(Y)位点，位于37位氨基酸；2个苏氨酸(T)位点，位于26、49位氨基酸(图5)。经NCBI-Conserved domains工具分析*Tcp*-MIF蛋白有一个保守域结构，属于4-草酰巴豆酸互变异构酶超家族蛋白(图6)。

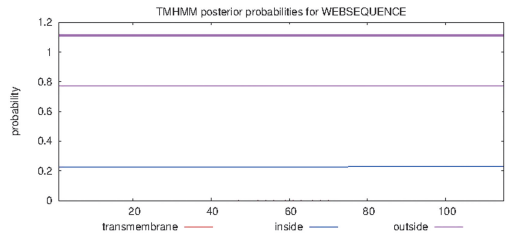


图3 *Tcp*-MIF蛋白跨膜结构域预测

Fig. 3 Transmembrane domain prediction of *Tcp*-MIF protein

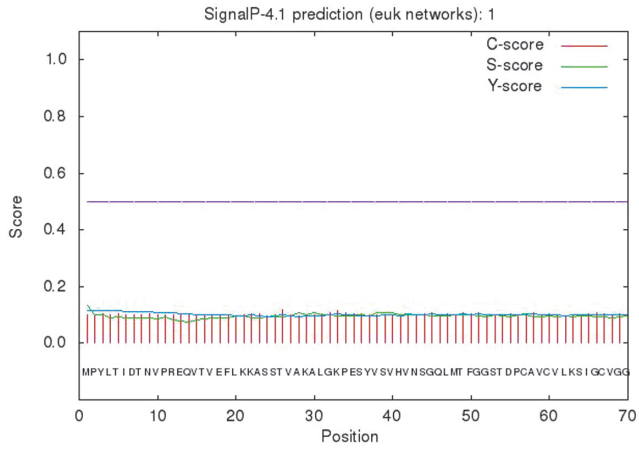


图4 *Tcp*-MIF蛋白信号肽分析

Fig. 4 Signal peptide analysis of *Tcp*-MIF protein

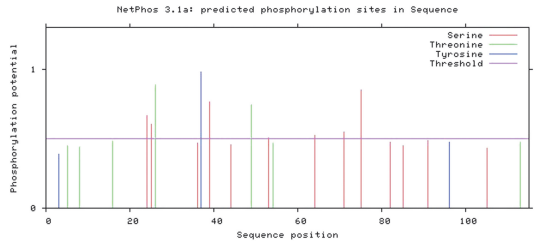


图5 *Tcp*-MIF蛋白磷酸化位点预测

Fig. 5 Prediction of phosphorylation site of *Tcp*-MIF protein

图6 *Tcp*-MIF蛋白保守域分析

Fig. 6 Analysis of Conserved Domains of *Tcp*-MIF Protein

5 *Tcp*-MIF蛋白二级结构预测

运用SOPMA对*Tcp*-MIF蛋白进行二级结构预测，其中α-螺旋(Hh)含量占26.09%，β折叠(Ee)占29.57%，β-转角(Tt)占7.83%，无规则卷曲(Cc)占36.52%(图7)。

6 *Tcp*-MIF 蛋白三级结构预测

利用 SWISS-MODEL 以 SMTL ID:1hfo.1 为模板对 *Tcp*-MIF 进行同源建模，序列一致性为 44.25%，相似度 0.41，覆盖度 0.98，模型 GMOE 评分为 0.78，Qean 为-0.58(图 8)。Ramachandran 评价显示，在所建模型中 96.4% 的氨基酸位于较佳区域，97.63%的氨基酸位于允许区域，表明所建模型准确可靠(图 9)。

```
         10        20        30        40        50        60        70
          |         |         |         |         |         |         |
MPYLTIDTNVPREQVTVEFLKKASSTVAKALGKPESYVSVHVNSGQLMTFGGSTDPCAVCVLKSIGCVGG
ccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccc
SVNNSHAEKLFSLLSADLKISKNRCYIEFVDIKASEMAFNGRTFG
ccchhhhhhhhhhhhhhhccccccccccccccccccccccccccc

Sequence length :   115

SOPMA :
   Alpha helix      (Hh) :    30 is  26.09%
   3₁₀ helix        (Gg) :     0 is   0.00%
   Pi helix         (Ii) :     0 is   0.00%
   Beta bridge      (Bb) :     0 is   0.00%
   Extended strand  (Ee) :    34 is  29.57%
   Beta turn        (Tt) :     9 is   7.83%
   Bend region      (Ss) :     0 is   0.00%
   Random coil      (Cc) :    42 is  36.52%
   Ambiguous states (?)  :     0 is   0.00%
   Other states          :     0 is   0.00%
```

图 7 *Tcp*-MIF 蛋白二级结构预测

Fig. 7 Prediction of the second structure of *Tcp*-MIF protein

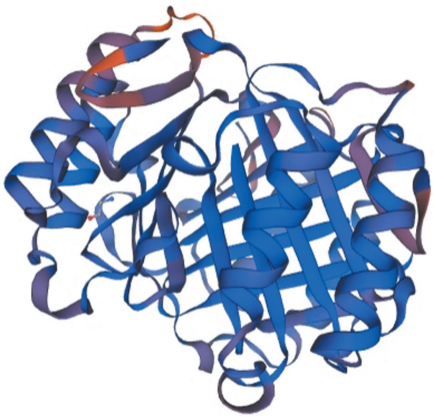


图 8 *Tcp*-MIF 蛋白三级结构预测

Fig. 8 Prediction of the tertiary structure of *Tcp*-MIF protein

7 *Tcp*-MIF 蛋白抗原表位

利用在线程序 IEDB 分析结膜吸吮线虫 MIF 蛋白的 B 细胞抗原表位。Emini 法预测 *Tcp*-MIF 蛋白氨基酸序列中表面可及性较高的区域为：7～16、18～26、29～34、32～39、73～80、87～92、89～94、91～96 位氨基酸(图 10A)；采用 Karplus & Schulz 法分析结膜吸吮线虫 MIF 蛋白序列的可塑性，并未发现较强可塑性区域(图 10B)；运用 Kolaskar & Tongaonkar 法分析抗原性，结果表明 *Tcp*-MIF 蛋白序列的平均抗原指数为 1.050，抗原指数较高的区域为：10～17、14～21、22～33、34～44、53～66、66～72、79～85、94～101 位氨基酸(图 10C)。采用 Parker 法预测 *Tcp*-MIF 蛋白的亲水性，结果发现 56～62、78～86、83～89 位氨基酸为较强亲水性区域(图 10D)。结合二级结构的分析结果，结膜吸吮线虫 MIF 蛋白共有 4 个优势 B 细胞抗原表位，其相应抗原表位的氨基酸序列见表 1。

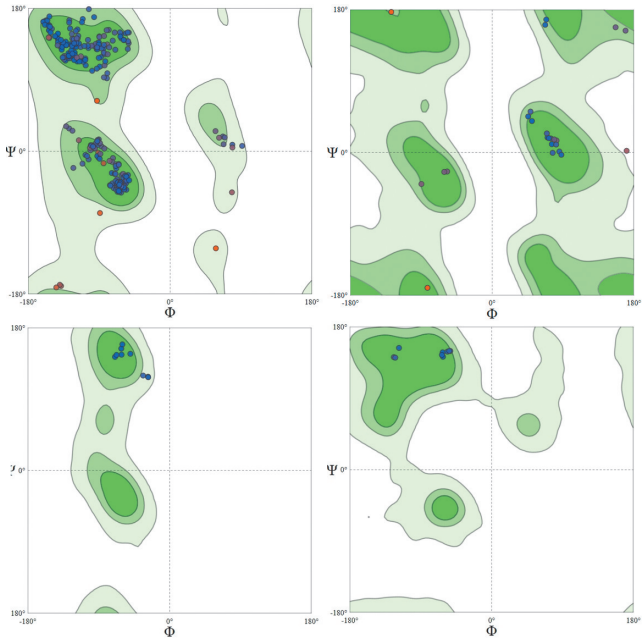


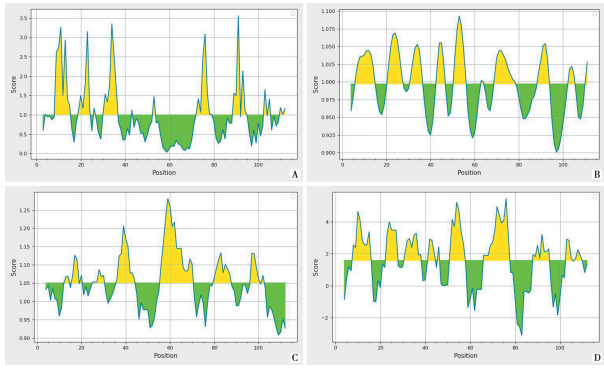
图 9 Molprobity Ramachandran 评价 *Tcp*-MIF 三级结构模型

Fig. 9 Evaluation of Three-dimensional structure of *Tcp*-MIF protein model

表 1 结膜吸吮线虫 MIF 蛋白 B 细胞抗原表位的氨基酸序列

Table 1 Amino acid sequence of B cell antigen epitope of *Tcp*-MIF protein

起始位点 Start site	终止位点 Termination site	多肽序列 peptide sequence	多肽长度 Length of peptide(AA)
25	30	STVKA	6
36	44	SYVSVHVNS	9
56	70	PCAVCVLKSIGCVGG	15
80	87	LFSLLSAD	8



A 表面可及性预测 B 可塑性预测 C 抗原性预测 D 亲水性预测

图 10 *Tcp*-MIF 蛋白抗原表位预测

A Surface accessibility prediction B Plasticity prediction C Antigenicity prediction D Hydrophilicity prediction

Fig. 10 The epitope prediction of *Tcp*-MIF protein

8 结膜吸吮线虫 *Tcp*-MIF 蛋白系统进化分析

利用 NCBI 的 BLAST 功能在线对 *Tcp*-MIF 蛋白序列进行比对，结果显示 *Tcp*-MIF 蛋白与寄生在宿主皮下的棘唇线虫属魏氏丝虫(*Acanthocheilonema viteae*，A0A498SXK3)同源性最高为 80.9%，与寄生在棉鼠腹腔中的棉鼠丝虫(*Litomosoides sigmodontis*，A0A3P6U2L4)同源性为 78.3%，与同为寄生在宿主眼部的盘尾丝虫(*Onchocerca volvulus*，A0A182EN76)同源性为 76.3%，与人源 MIF 同源性为 45.6%。系统进化树结果显示，结膜吸吮线虫 *Tcp*-MIF 与同为旋尾目丝虫科下属几种丝虫 MIF 亲缘关系较近(图 11)。

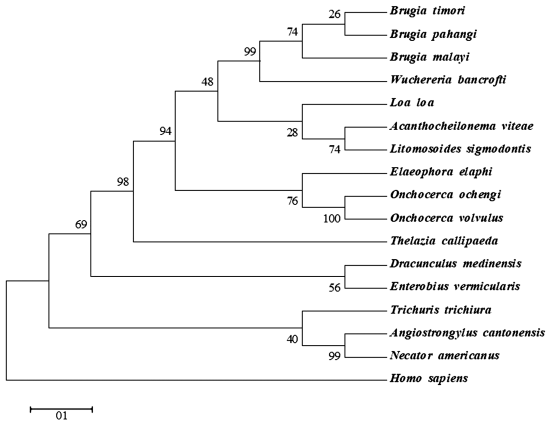


图 11 *Tcp*-MIF 蛋白系统进化树

Fig. 11 Phylogenetic tree of *Tcp*-MIF protein

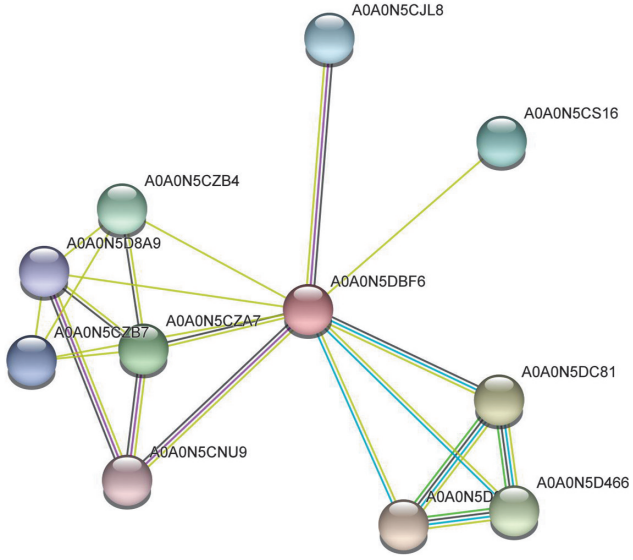
9 蛋白质相互作用关系预测

本研究共鉴定了 21 个互作关系，包含 11 个基因(图 12)；其中 4 个基因处在互作关系的中心位置，为关键基因。互作蛋白包括：天冬氨酸氨基转移酶、酪氨酸氨基转移酶、胱抑素结构域蛋白质等。互作蛋白 GO(http://geneontology.org/)功能分析发现 *Tcp*-MIF 蛋白主要参与了募集多蛋白复合物，激活磷脂酰肌醇 3-激酶磷酸化、多聚腺苷酸化等过程。

讨 论

寄生虫 MIF 可参与调节宿主免疫应答，是一种固有免疫调节细胞因子，是宿主抗感染和促进免疫细胞应激反应的重要介质[13]。利用生物信息学手段分析、预测 *Tcp*-MIF 蛋白质的理化性质、结构、磷酸化位点分析及其同源性等，以了解 *Tcp*-MIF 蛋白在寄生虫感染宿主时发挥的功能。

寄生虫 MIF 单体编码 114～146 个氨基酸，相对分子质量为 11～16.4 ku，均存在同源三聚体，其每个亚单位均包含 2 个反向平行的 α 螺旋，6 个 β 链，其中 4 个 β 链组成 β 折叠，这些特殊结构使得 MIF 在结合特定小分子物质和催化化学反应中发挥重要作用[14]。本实验对结膜吸吮线虫 MIF 基因进行生物信息学分析，*Tcp*-MIF 基因全长 620 bp，开放阅读框为 345 bp，编码 115 个氨基酸。*Tcp*-MIF 蛋白局部亲水性好，表达蛋白可溶，无信号肽也无跨膜区，属于胞内蛋白；其蛋白含有磷酸化位点，推测 *Tcp*-MIF 可能通过磷酸化修饰影响细胞间与细胞内的信号传导，参与细胞的蛋白互作、免疫调节和细胞凋亡的抑制等。二级结构分析结果显示，*Tcp*-MIF 蛋白无规则卷曲和 β 折叠占比例较高，无规则卷曲是发挥蛋白质功能和构象的良好区域[15]。同时 β 折叠结构具有稳定、不易变形的特点[16]。本研究在分析 *Tcp*-MIF 的 B 细胞抗原表位时，结合可塑性、亲水性及抗原性等多种方法综合分析，推测该蛋白具有 4 个较优的 B 细胞抗原表位。系统进化分析显示其与同为旋尾目的丝虫亲缘关系较近。PPI 预测的互作关系显示，*Tcp*-MIF 主要参与细胞生长、代谢等有关途径，可为后续大规模开展 MIF 互作网络研究提供数据基础。



注：PPI 互作网络节点数为 11，互作关系数为 21，节点平均值为 3.82，预期互作关系数为 12，局部聚类系数为 0.895，PPI 互作网络 P 值为 1.12×10^{-2}

图 12 结膜吸吮线虫 MIF 蛋白预测互作网络

Note: In the protein- protein interaction network, the number of-nodes is 11, the number of edges is 21, the mean node degree is 3.82, the expected number of edges is 12, the local clustering coef-ficient is 0.895, and the PPI enrichment P-value is 1.12×10^{-2}

Fig. 12 Predicted protein-protein interaction network of the *Tcp*-MIF

蛋白质结构决定其功能，因此研究蛋白质的结构对解析其功能具有很大的指导意义。研究发现，弓形虫 MIF 蛋白(TgMIF)的大部分区域位于亲水性区域，具有抗原性，TgMIF 可作为多种弓形虫株的候选疫苗。同样疟原虫编码的 MIF-ortholog 也是一种很好的疫苗，能防止疟疾再感染[17,18]。Cote 等[19]在无血清的条件下，发现加入重组阴道毛滴虫 MIF 蛋白能提高毛滴虫的存活率，表明阴道毛滴虫可通过分泌 MIF

来减缓自身的死亡。Liu 等[20]研究发现重组弓形虫 MIF 能刺激小鼠淋巴细胞增殖,脾细胞分泌 IFN-γ 显著增高,弓形虫 MIF 作用的细胞免疫学效应在宿主中体现为 Th1 为主。本研究表明寄生虫 MIF 在寄生虫感染宿主时调节免疫反应中起关键作用。

结膜吸吮线虫作为眼部寄生虫,其与宿主相互作用中的免疫及免疫逃避机制的认识有限。在前期组学研究基础上,通过功能基因组及专有数据库的功能注释分析,重点分析其中和宿主互作密切相关结膜吸吮线虫分泌蛋白基因,并发现部分结膜吸吮线虫分泌蛋白具有抗原性,通过生物信息学技术初步了解前期筛选出的高差异表达 *Tcp*-MIF 基因及其编码蛋白的基本序列和进化关系,为进一步研究结膜吸吮线虫感染宿主后,*Tcp*-MIF 在免疫反应中发挥的功能奠定基础。

【参考文献】

[1] Ajonina EI,Kurosinski MA,Younis AE,et al. Comparative analysis of macrophage migration inhibitory factors (MIFs) from the parasitic nematode Onchocerca volv Lus and the free living nema tode Caenorhabditis elegans[J]. Parasitol Res,2013,112(9):3335g-3346.

[2] 廖一露,任小红,郑明辉,等. 结膜吸吮线虫病的流行特征及虫种18S rRNA 基因鉴定[J]. 中华地方病学杂志,2017,36(8):557-561.

[3] 张露菲,王灵军,郑明辉,等. 结膜吸吮线虫基因组序列特征研究[J]. 中国血吸虫病防治杂志,2018,30(3):312-316.

[4] 郑明辉,叶昌林,张露菲,等. 结膜吸吮线虫基因组中分泌蛋白的规模预测及分析[J]. 中国人兽共患病学报,2018,34(1):12-17,22.

[5] 江楠,叶昌林,黄琳,等. 结膜吸吮线虫中富亮氨酸结构域蛋白的筛选及生物信息学分析[J]. 中国病原生物学杂志,2018,13(9):984-988,993.

[6] Zang X,Taylor P,Wang JM,et al. Homologues of human macrophage migration inhibitor factor from a parasitic nematode. Gene cloning,protein activity,andcrystalstructure[J]. J Biolog Chem,2002,277(46):44261-44267.

[7] Sitja-Bobadilla A. Living off a fish:A trade-off between parasites and the immune system[J]. Fish Shellfish Immunol,2008,25(4):358-372.

[8] Smith P,Mangan NE,Walsh CM,et al. Infection with a helminth parasite prevent Experimenttal colitis via a macrophage-mediated mechanism[J]. J Immun,2007,178(7):4557-4566.

[9] Flores M,Saavedra R,Bautista R,et al. Macrophage migration inhibitory factor (MIF) is critical for the host resistance against *Toxoplasma gondii*[J]. Experimental Biology,2008,22(10):3661-3671.

[10] Shao D,Han Z,Lin Y,et al. Detection of *Plasmodium falciparum* derived macrophage Emigration inhibitory factor homologue in the sera of malaria patients[J]. Acta Tropica,2008,106(1):9-15.

[11] Parasitol Res. Macrophage migration inhibitory factor (MIF) of the protozoan parasite *eEimeria* influences the components of the immune system of its host,the chicken[J]. Parasitol res,2013,112(5):1935-1944.

[12] Wang Y,Lu M,Wang S,et al. Characterization of a secreted macrophage migration inhibitory factor homologue of the parasitic nematodeHaemonchus Contortusacting at the parasite-host cell interface[J]. Oncotarget,2017,8(25):40052.

[13] 黄琳,马元芬,王灵军,等. 巨噬细胞迁移抑制因子调节寄生虫与宿主免疫系统相互作用机制的研究进展[J]. 中国血吸虫病防治杂志,2019,31(4):446-449.

[14] Qu G,Fetterer R,Jenkins M,et al. Characterization of *Neospora caninum* macrophage migration inhibitory factor [J]. Exp Parasitol,2013,135(2):246-256.

[15] 何梦雅,王海燕,张荣光,等. 幽门螺杆菌 ddlA 基因的克隆及生物信息学分析[J]. 中国病原生物学杂志,2019,14(10):1119-1124,1134.

[16] 刘辉,米荣升,贾海燕,等. 刚地弓形虫表面抗原糖蛋白相关序列SRS47D 的生物信息学分析[J]. 中国病原生物学杂志,2019,14(10):1147-1154.

[17] Sommerville C,Richardson JM,Williams RA,et al. Biochemical and immunological characterization of *Toxoplasma gondii* macrophage migration inhibitory factor[J]. Biol. Chem,2013,288(18):12733-12741.

[18] Baeza G,Siu A,Sun E,et al. Neutralization of the plasmodium-encoded MIF orotholog confers protective immunity against malaria infection[J]. Nat Commun,2018,9(1):14-27.

[19] Cote NM,Jaworski DC,Wasala NB,et al. Identification and expression of macrophage migration inhibitory factor in Sar coptes scabiei [J]. Exp Parasitol,2013,135(1):175-181.

[20] Liu K,Wen H,Cai H,et al. Protective effect against toxoplasmosis in BALB/c mice vaccinated with *Toxoplasma gondii* macrophage migration inhibitory factor[J]. Front Microbiol,2019,10(10):813-822.

【收稿日期】 2022-02-23 **【修回日期】** 2022-05-13