

文章编号: 1000-7423(2002)-03-0190-01

【简报】

恶性疟原虫海南株 MESA 基因的序列分析

单志新\* 余新炳 徐劲 陈守义 李学荣

中图分类号: R382.312

文献标识码: A

成熟疟原虫感染红细胞表面抗原(mature parasite-infected erythrocyte surface antigen, MESA)又称恶性疟原虫红细胞膜蛋白 2(Plasmodium falciparum erythrocyte membrane protein 2, PfEMP2)或 PP300,是成熟期疟原虫合成的磷蛋白。它通过小泡运送至感染的红细胞膜骨架上[1,2],与红细胞蛋白 4.1 以非共价方式紧密结合。MESA 包含 7 个明显的重复区,重复区占全部氨基酸残基的 60%[3]。至今,MESA 在感染的红细胞中的功能仍不清楚。为了解恶性疟原虫海南株(FCC1/HN)MESA 基因结构及其功能,我们测定了 MESA 基因序列,并比较了 FCC1/HN 株与 Palo-alto[1],D10[4]株 MESA 的序列差异。

1 材料与方法

用 SAPS 程序(http://www.hgsc.bcm.tmc.edu/search-launcher/sequence utilities)分析恶性疟原虫 Palo-alto 株 MESA 的氨基酸重复序列,并根据重复区间氨基酸的编码序列[1]设计并合成引物,分为部分序列重叠的 4 段(MESA1-1849、MESA3 808-2 841、MESA2 807-4 345 和 MESA4 286-5 116)来扩增 FCC1/HN 株 MESA 基因。所用的 4 对引物如下, P1F:5'-ATG GAG GTA ATT TGT AGA A-3', P1R:5'-AAT TTC CTT TTG TTT TTC-3'; P2F:5'-AAA GAT AAA GTG ATA GGA TC-3', P2R:5'-ATC TCT TTA TCT TTG TTT GC-3'; P3F:5'-AAT GAA AAA GAT ACC GCA AAC-3', P3R:5'-TTC GCT TAC TAT TTC TTG TTC-3'; P4F:5'-AAC AGA AGA AAT AGA AAA AAT G-3', P4R:5'-TCA TTC ATC AAT AAA CTT AAA CA-3'。以恶性疟原虫 FCC1/HN 株基因组 DNA 为模板,进行常规 PCR 扩增。用 T-A 克隆法将 MESA 基因片段插入 pMD18-T 载体,用双脱氧链末端终止法测定 MESA 基因序列。用 DNASTar 软件将获得的 4 个 MESA 基因片段序列拼接成完整序列,推导出编码的氨基酸序列,并将恶性疟原虫 FCC1/HN 与 Palo-alto[1],D10[4]株 MESA 进行序列比较。用 Antheprot 软件预测 MESA 的理化特性和抗原表位区。

2 结果

用所设计合成的 4 对引物均从恶性疟原虫 FCC1/HN 株基因组 DNA 中扩增出特异的 MESA 基因片段(图 1)。经酶切和 PCR 鉴定,获得 4 个包含 MESA 基因片段的重组质粒。序列测定和拼接结果表明,恶性疟原虫 FCC1/HN 株 MESA 全基因编

码区长 4 102 bp,A+T 含量为 72.11%,G+C 含量为 27.89%,有 1 个内含子。MESA 由 1 323 个氨基酸组成,其中谷氨酸(E)占 23.08%,相对分子量为 154.47 kDa;MESA 中包含 6 个氨基酸重复区。FCC1/HN 株 MESA 基因序列已在 GenBank 登录,登录号:AF270648。

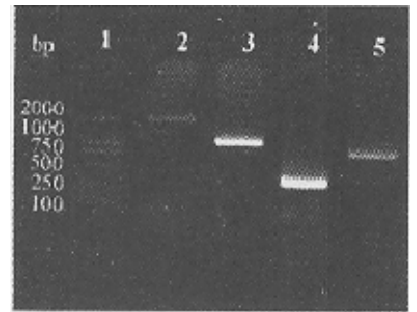


图 1 恶性疟原虫 FCC1/HN 株 MESA 基因 PCR 扩增产物 (1.2% 琼脂糖凝胶电泳) 1 分子量标志物 2 MESA1-1849 的扩增产物 3 MESA3 808-2 841 的扩增产物 4 MESA2 807-4 345 的扩增产物 5 MESA4 286-5 116 的扩增产物

源性分析表明,FCC1/HN 株 MESA 缺失重复区 5,只包含 6 个明显的重复区;各株间 MESA 氨基酸残基存在替代、增加或缺失,其中序列差异较大区域集中在重复区 1、3、4、5 和 7。经多参数综合分析,可能有 7 个潜在的抗原表位区,它们的位置、在各株间序列分化情况分别是:第 140~197 位,氨基酸残基序列保守;第 203~326 位,有 6 个氨基酸残基替代位点;第 353~451 位,有 2 个氨基酸残基替代位点;第 468~607 位,有 3 个氨基酸残基替代位点;第 620~755 位,有 16 个氨基酸残基替代位点,1 处氨基酸残基序列增加,各株间重复氨基酸残基序列相似;第 820~1 042 位,有氨基酸残基序列的增加和缺失,各株间重复氨基酸残基序列数不同;第 1 055~1 196 位,各株间重复氨基酸残基序列数不同。

3 讨论

恶性疟原虫 FCC1/HN、Palo-alto、D10 株 MESA 的 N-端都有一个细胞骨架结合区序列(DHLYSRNYIECDRNAPYI),其侧翼序列也一致;Kun 等[3]发现该细胞骨架结合区及其侧翼序列在 9 个疟原虫实验室保存株和 3 个越南野外分离株的 MESA 中高度保守,提示该结合区序列在疟原虫各分离株中可能具有相同的作用。

Coppel[4]用 PCR 法扩增了恶性疟原虫 FCR3、V1、IMR147、IMR144、IMR143 和 D10 株的 MESA 基因,发现以上各株间 MESA 基因存在长度多态性。对 FCC1/HN、Palo-alto

基金项目:中山医科大学“211”重点学科建设课题资金(No. 98169),广东省自然科学基金(No. 980089),教育部博士点基金(博教 No. 93-186)

作者单位:中山大学中山医学院寄生虫学研究室,广州 510089

\* 现工作单位:广东省人民医院心血管病研究所,广州 510080

(下转封 3)

(Continued from outside back cover)

**Therapeutic efficacy of traditional Chinese medicine "Nang Chong San" on derma-muscular cysticercosis by local injection** ..... LIAN Chen, LIU Chen (157)

**Application of ultrasound scan during surgery in patients of cystic hydatidosis with polyamination and multiple daughter cysts** ..... LIANG Dong, LI Gui-ping, ZHOU Su-e, et al (167)

**Relationship of *Demodex* infection to facial skin disease** ..... TAO Ya-jun, MA Su-qin, WEN Dong-qing, et al (182)

**Clinical analysis of 142 cases of cerebral cysticercosis** ..... WANG Ke-xia, LI Chao-pin, WANG Jian, et al (186)

**Modification and optimization of agricultural structure and schistosomiasis control** ..... WANG Wen-liang, ZHANG Han-zhong, TIAN Zu-hong, et al (189)

**Sequence analysis of MESA gene of *Plasmodium falciparum* FCC1/HN strain** ..... SHAN Zhi-xin, YU Xin-bing, XU Jing, et al (190)

**Investigation of intestinal nematode infection in Jiande City, Zhejiang Province** ..... ZHU Tai-ping, JIN Tao, XU Zhi-ming, et al (191)

**Report on a case of *Diocotophyma renale* infection** ..... LEI Bo, PANG Ya-qin, KONG Bao-qing, et al (151)

**Clinical observation of 13 cases of paragonimiasis complicated with bronchial asthma** ..... LIN Ting-ta, LI Zhi-ren (173)

**Endoscopic diagnosis on hookworm infection in 30 cases** ..... LIANG Zhong-hui, YI Hong-yu, HUANG Meng-sha (176)

**A case of unfrequently seen toxoplasmosis** ..... WANG Chun-li, LIU Jian-hu, ZHU Yan-fang, et al (192)

(上接第 189 页)

产值的比重由 53.4:46.6 调整为 28.3:71.7, 粮棉油产值与多种经营产值的比重由 50.5:49.5 调整为 30.1:69.9, 一产业产值与二、三产业产值的比重由 91.57:8.43 调整为 14.68:85.32。从事工副业的劳动力由 1990 年的 42 542 人增加至 2000 年的 13 万人, 占总劳力的 66.04%。

#### 4 讨论

潜江市 10 年来, 在开展化疗、灭螺、健康教育的同时, 通过调整优化农业结构, 改变了钉螺孳生的条件<sup>[1]</sup>, 改善了劳

作者生产的环境, 由于农业结构调整后大力发展多种经营、疫区改变了过去以种植水稻为主的生产模式, 使劳动者在旱田作业的时间增加, 大大减少了接触疫水机会。农业结构的调整优化, 对改善劳动环境及加速控制血吸虫病的传播, 起到了明显的效果, 经济效益高, 在湖沼渠网型疫区有推广价值。

#### 参 考 文 献

[1] 朱中亮. 我国钉螺地理分布与第四系地层分布的关系[J]. 中国血吸虫病防治杂志, 1991, 3: 240.

(收稿日期: 2001-10-22 编辑: 庄兆农)

(上接第 190 页)

和 D10 株 MESA 的同源性比较表明, 二株恶性疟原虫的 MESA 的结构特征相似, 但氨基酸残基的序列和长度呈多态性。与其它恶性疟原虫分离株相比, FCC1/HN 株 MESA 的第 140~197 和 353~451 位氨基酸残基预测的抗原表位区的序列较保守; 在第 1 055~1 196 位氨基酸残基预测的抗原表位区包含的重复序列组成一致, 但数目不同。

Magowan 等<sup>[5]</sup>报道, 如果 MESA 不与红细胞膜结合, 积聚在红细胞内, 会对疟原虫有毒害作用, 降低疟原虫的活力<sup>[5]</sup>, 提示 MESA 与红细胞蛋白 4.1 结合对于疟原虫的正常发育起重要作用。因此, 可以通过阻断 MESA 与红细胞膜的结合来抑制疟原虫的发育和再感染其它红细胞。本文测定, 分析了恶性疟原虫 FCC1/HN 株 MESA 基因序列及恶性疟原虫不同分离株间 MESA 的分化, 为研究 MESA 功能及其抗原表位提供了依据。

#### 参 考 文 献

[1] Coppel RL, Lustigman S, Murray L, et al. MESA is a *Plasmodium falciparum* phosphoprotein associated with the erythrocyte membrane skeleton [J]. Mol Biochem Parasitol, 1988, 31: 223-231.

[2] Howard RJ, Lyon JA, Uni S, et al. Transport of an Mr approximately 300,000 *Plasmodium falciparum* protein (PfEMP2) from the intraerythrocytic asexual parasite to the cytoplasmic face of the host cell membrane [J]. J Cell Biol, 1987, 104: 1269-1280.

[3] Kun JFJ, Waller KL, Coppel RL. *Plasmodium falciparum*: structure and functional domains of the mature-parasite infected erythrocyte surface antigen [J]. Exp Parasitol, 1999, 91: 258-267.

[4] Coppel RL. Repeat structure in a *Plasmodium falciparum* protein (MESA) that binds human erythrocyte protein 4.1 [J]. Mol Biochem Parasitol, 1992, 50: 335-348.

[5] Magowan C, Coppel RL, Lau A, et al. Role of the *Plasmodium falciparum* mature-parasite infected erythrocyte surface antigen (MESA/PfEMP-2) in malaria infection of erythrocytes [J]. Blood, 1995, 86: 3196-3204.

(收稿日期: 2001-10-22 编辑: 庄兆农)