

文章编号:1000-7423(2007)-02-0101-05

【论著】

# 不同佐剂对旋毛虫 Ts87 重组蛋白 免疫小鼠保护性的影响

李强, 杨静, 杨雅平, 顾园, 刘智英, 黄松, 诸欣平\*

**【摘要】** 目的 比较福氏完全佐剂(CFA)等 6 种佐剂对于旋毛虫 Ts87 重组蛋白(rTs87)免疫保护性的影响。方法 经十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)和蛋白质印迹(Western blotting)分析鉴定的 rTs87 分别与上述各种佐剂免疫 ICR 小鼠, 每间隔 2 周免疫 1 次, 共免疫 3 次。ELISA 检测免疫小鼠血中抗原特异性 IgG 抗体水平。攻击感染 45 d 后剖杀小鼠取肌幼虫(ML)并计数, 计算肌幼虫减虫率。结果 rTs87 相对分子质量(*Mr*)约为 40 000, 可被旋毛虫感染鼠血清和 rTs87 免疫鼠血清识别, 分别与佐剂 CFA (或 IFA)、IMS 1312、ISA720、Quil-A 及氢氧化铝免疫后均引起较强的 IgG 抗体反应, 各佐剂免疫组减虫率分别为 49.4%、49.2%、63.5%、65.1%和 70.8%, 与空白对照组比较有统计学意义; 单纯抗原 rTs87 免疫组获得了 23.7%的减虫率, 与对照组及各佐剂免疫组差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。结论 佐剂 CFA (或 IFA)、IMS1312、ISA720、Quil-A 及氢氧化铝均能不同程度增强 rTs87 对小鼠的保护性免疫力, 其中佐剂 ISA720、Quil-A 和氢氧化铝的保护效果更好。

**【关键词】** 旋毛虫; 旋毛虫 Ts87 重组蛋白 (rTs87); 佐剂; 保护性

中图分类号:R383.15, R392.1

文献标识码:A

## Effect of Different Adjuvant Formulations on the Induced Protection of Mice Immunized With Recombinant Protein Ts87 of *Trichinella spiralis*

LI Qiang, YANG Jing, YANG Ya-ping, GU Yuan, LIU Zhi-ying, HUANG Song, ZHU Xin-ping\*

(Department of Parasitology, Capital Medical University, Beijing 100069, China)

**【Abstract】** **Objective** To study the effect of 6 formulations of adjuvants on immunoprotection in mice induced by the recombinant Ts87 protein (rTs87) of *Trichinella spiralis*. **Methods** ICR mice were vaccinated subcutaneously 3 times in 2-week intervals with rTs87 and different adjuvants CFA or IFA, Montanide IMS1312, Montanide ISA720, Quil-A and Al(OH)<sub>3</sub>, respectively. The antibody response was detected by ELISA and the purified rTs87 was analyzed by SDS-PAGE and Western blot. The protection induced in mice was then evaluated by muscle larvae reduction after *Trichinella spiralis* challenge. **Results** The results clearly showed that all the 6 adjuvants were able to enhance specific anti-rTs87 IgG response. SDS-PAGE and Western blot revealed that the molecular weight of expressed protein was around *Mr* 40 000 and could be recognized by sera from mice infected with *Trichinella spiralis* and mice immunized with rTs87. The reduction rate of muscle larvae was 49.4%, 49.2%, 63.5%, 65.1% and 70.8%, respectively. **Conclusion** Protective immunity of rTs87 can be enhanced by adjuvant CFA or IFA, IMS1312, ISA720, Quil-A and Al(OH)<sub>3</sub>, and better effect is observed with the latter 3 adjuvants.

**【Key words】** *Trichinella spiralis*; Recombinant protein; Adjuvant; Protection

Supported by the National Natural Science Foundation of China (30571626); Natural Science Foundation of Beijing (5062005) and Beijing Municipal Project for Developing Advanced Human Resources for Education (BAHED)

\* Corresponding author, E-mail: zhuxping@ccmu.edu.cn

旋毛虫病是一种危害严重的人兽共患寄生虫病, 呈全球性分布, 研制有效的疫苗是防治该病的重要途径。目前正在研制的旋毛虫病疫苗有天然抗原 (成

虫、新生幼虫和肌幼虫粗抗原及 ES 抗原) 疫苗、合成肽疫苗、重组抗原疫苗、核酸疫苗<sup>[1]</sup>, 其中重组抗原疫苗安全性较好, 具有广阔的发展前景, 但由于纯化的重组蛋白免疫原性较低, 因此需要筛选有效的佐剂来增强其免疫反应, 以获得更好的保护作用<sup>[2]</sup>。

本实验室曾用免疫筛选法从旋毛虫成虫 cDNA 表

基金项目:国家自然科学基金(30571626)、北京市自然科学基金(5062005)、北京市属市管高等学校人才强教计划资助项目

作者单位:首都医科大学基础医学院寄生虫学教研室, 北京 100069

\* 通讯作者, E-mail: zhuxping@ccmu.edu.cn

达文库中获得抗原新基因 Ts87 (GenBank: AF3999-57), 进行原核表达<sup>[3,4]</sup>, 纯化后的 rTs87 能被旋毛虫感染动物血清特异识别<sup>[5]</sup>, 免疫小鼠后诱发较高的抗体 IgG 反应, 且肌幼虫减虫率为 42.3%<sup>[6]</sup>。上述结果显示, rTs87 有望成为旋毛虫疫苗的候选抗原。本项目研究了 CFA 和 IFA、IMS1312、ISA720、Quil-A、氢氧化铝等佐剂增强 rTs87 对小鼠保护性免疫力的作用, 以期选择理想的免疫方案提供科学依据。

## 材料与方 法

### 1 实验动物

ICR 雌性小鼠, 体重 18~22 g, 56 只, 购自本校动物部。

### 2 虫种来源

实验所用旋毛虫种为本室 ICR 小鼠保种传代的黑龙江猪源旋毛虫。

### 3 主要试剂

His-Bind 试剂盒(批号:70239-3)和蛋白复性试剂盒(批号:70123-3REF)为 Novagen 产品, 购自德国 Merck 公司。BCA 试剂盒为 pierce 产品, 购自北京吉泰生物科技有限公司(批号:BI43833)。CFA (批号:085K-8912)和 IFA(批号:025K8910)购自 SIGMA 公司。His 抗体为德国 Qiagen 产品, 购自北京天为时代有限公司。辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的山羊抗小鼠 IgG, 购自北京中杉金桥生物科技有限公司(批号:71556)。

### 4 rTs87 的制备

将转化了 pET28a(+)/Ts87 重组质粒的 BL21 菌株<sup>[7]</sup>, 大量培养扩增后经异丙基-β-D-硫代半乳糖苷 (IPTG) 诱导, 得到大量以包涵体形式存在的表达蛋白。用 6 mol/L 的盐酸胍溶解包涵体后, 采用 His-Bind 试剂盒(Novagen, 德国)亲和层析纯化目的蛋白, 充分透析后, 用蛋白复性 (protein refolding) 试剂盒(Novagen, 德国)对表达产物复性, BCA 法测蛋白浓度, -40 °C 保存备用。

### 5 免疫原的制备

5.1 CFA (或 IFA): CFA (或 IFA) 与 200 μg/ml 的 rTs87 等体积充分混合。

5.2 IMS1312 IMS1312 由法国 SEPPIC 公司惠赠, 是一种新型佐剂, 为水相免疫刺激物纳米微粒, 流体性好, 已用于动物试验, 使用时与 200 μg/ml 的 rTs87 等体积充分混匀。

5.3 ISA720 ISA720 由 SEPPIC 公司(Pairs, France)惠赠, 是一种基于非矿物油含表面活性剂的油性佐剂, 与水相混合后呈油包水乳剂, 已用于一期或二期临床试验, 免疫时与 340 μg/ml rTs87 以 7:3 体积比充分混合, 达到均匀状态。

5.4 Quil-A Quil-A(Branntag Biosector, Denmark)由美国华盛顿大学詹斌教授惠赠, 是将南美的奎拉雅属皂树树皮的提取物经纯化后得到, 已广泛应用于动物试验, 免疫时 200 μg/ml 的 Quil-A 与 200 μg/ml 的 rTs87 等体积充分混匀。

5.5 1%氢氧化铝 氢氧化铝(北京化学试剂总厂), 免疫时与 200 μg/ml 的 rTs87 等体积充分混合<sup>[8]</sup>, 氢氧化铝终浓度为 1%<sup>[2]</sup>。

### 6 动物免疫及攻击感染

56 只小鼠随机分为 7 组, 每组 8 只, 分为福氏佐剂免疫组、IMS1312 免疫组、ISA720 免疫组、Quil-A 免疫组、氢氧化铝免疫组、单纯抗原免疫组和空白对照组。各佐剂免疫组每只小鼠背部皮下多点注射含 20 μg rTs87 的不同免疫原 200 μl, 单纯抗原免疫组注射 rTs87 20 μg/100 μl 加等体积的生理盐水, 空白对照组注射 200 μl 生理盐水, 2 周免疫 1 次, 共免疫 3 次, 福氏佐剂组首次以 CFA 免疫, 后 2 次以 IFA 加强。末次免疫 1 周后, 旋毛虫感染期肌幼虫攻击各组小鼠, 400 条/只。

### 7 血清收集

各组小鼠分别于每次免疫前、攻击感染前及攻击感染 1、3、5 周后尾静脉取血, 分离血清-70 °C 保存, 用于 ELISA 检测。

### 8 rTs87 的 SDS-PAGE 和 Western blot 分析

纯化的 rTs87 经过 SDS-PSGE 电泳后, 电转移至聚偏氟乙烯膜 (PVDF) 上进行识别检测。吸附蛋白的 PVDF 膜在含 1% 脱脂奶的 TBS 中 4 °C 过夜。一抗分别用抗 His 抗体 (Qiagen, 德国, 工作浓度 1:5 000)、旋毛虫感染小鼠血清 (工作浓度 1:1 000) 和 Ts87 抗原免疫小鼠 (工作浓度 1:1 000), 同时用正常小鼠血清 (工作浓度 1:1 000) 做阴性对照, 二抗用辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的羊抗小鼠 IgG (工作浓度 1:5 000), 化学发光法 (ECL 法) 检测印迹蛋白。

### 9 抗 rTs87IgG 水平的 ELISA 检测

9.1 抗体滴度的检测 rTs87 用碳酸盐缓冲液 (pH 9.6) 稀释, 1 μg/孔包被 4 °C 过夜, 用 1% 牛血清白蛋白-磷

酸盐缓冲液(BSA-PBS)37 °C封闭 1 h, 加不同稀释度的小鼠血清(S)100 μl, 37 °C孵育 1 h, 用 PBS 1: 2 500 稀释 HRP-IgG, 100 μl/孔, 37 °C孵育 30 min, 加底物溶液邻苯二胺(OPD)显色 15 min[上述每步骤后均用0.05%吐温 (Tween)-PBS 洗 3 次], 2 mol/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 50 μl 终止反应, 酶标仪读取吸光度(A<sub>492</sub>)值, 同时正常小鼠血清为阴性对照(N), S/N>2.1 判为阳性。

9.2 不同免疫时间点抗体滴度的动态变化 血清固定稀释度 1: 500, 取不同时间点每组 A<sub>492</sub> 值均数进行比较观察。

### 10 各组旋毛虫肌幼虫检测

攻击感染 45 d 后, 剖杀小鼠, 人工消化法收集全部肌幼虫, 计数并计算减虫率: 肌幼虫减虫率(%)=[(对照组肌幼虫数-免疫组肌幼虫数)/对照组肌幼虫数]×100%

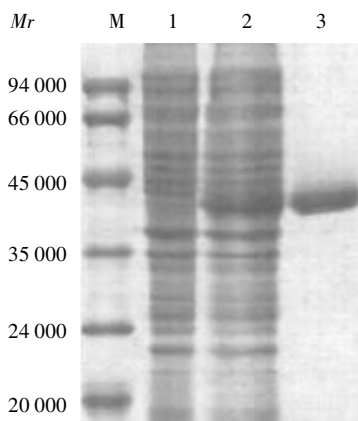
### 11 统计学分析

用 SPSS 12.0 统计软件, 进行单因素方差分析(ANOVA)。

## 结 果

### 1 rTs87 的鉴定

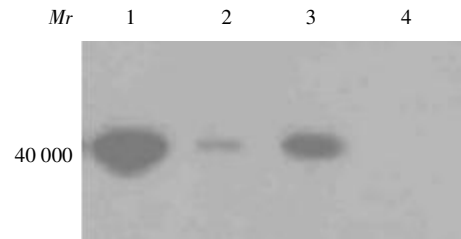
表达产物经 SDS-PAGE 分析表明, 重组蛋白相对分子质量(Mr)约 40 000, 经 His-bind 柱亲和层析纯化获得 1 条目的蛋白条带(图 1), Western blotting 结果显示, 该纯化的蛋白可被抗 His 抗体、旋毛虫感染鼠血清和 rTs87 免疫鼠血清识别(图 2)。



M: 蛋白质标志物, 1: 未经 IPTG 诱导的 pET-28a(+)/Ts87/BL21, 2: IPTG 诱导后的 pET-28a(+)/Ts87/BL21, 3: 纯化的 Ts87 基因表达产物。  
M: Protein marker, 1: pET-28a(+)/Ts87/BL21, without IPTG induction, 2: pET-28a (+)/Ts87/ BL21, induced with IPTG, 3: Purified Ts87 gene expression product.

图 1 pET-28a(+)/Ts87 重组子在大肠埃希菌 BL21 中表达产物的 SDS-PAGE 分析

Fig.1 SDS-PAGE analysis of expressed products of recombinant plasmids pET-28a(+)/Ts87 in BL21



1: 纯化的 rTs87 被抗 His 单克隆抗体识别, 2: 纯化的 rTs87 被旋毛虫感染小鼠血清识别, 3: 纯化的 rTs87 被 rTs87 免疫小鼠血清识别, 4: 正常小鼠血清对照。

1: Purified rTs87 recognized by anti-His monoclonal antibody, 2: Purified rTs87 recognized by infected mouse serum, 3: Purified rTs87 recognized by serum from mouse immunized with rTs87, 4: Normal mouse serum control.

图 2 Western blotting 分析

Fig.2 Western blotting analysis

### 2 抗 rTs87 IgG 检测

ELISA 结果显示, 各佐剂免疫组免疫小鼠后均引起较强的特异性 rTs87 抗体 IgG 反应, 首次免疫 2 周后各佐剂免疫组抗体滴度均达 1: 1 000, 2 次免疫后抗体滴度迅速增高, 3 次免疫 1 周后达到最高, 抗体滴度的倒数的几何平均数可达 100 000, 最高可达 120 000 (图 3)。

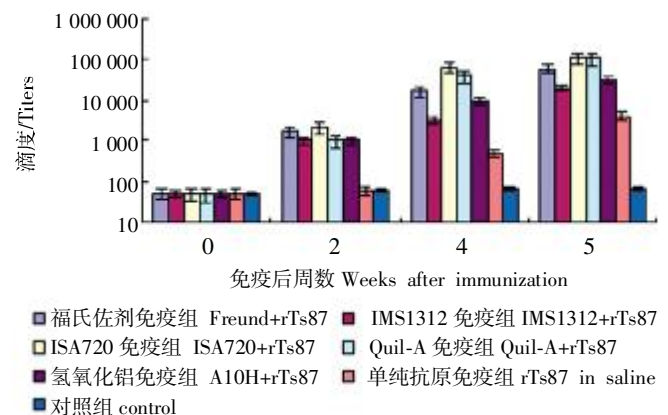


图 3 特异性 rTs87 抗体 IgG 反应

Fig.3 Specific anti-rTs87 IgG response

### 3 不同免疫组抗 rTs87 的 IgG 抗体的动态变化

各佐剂免疫组在首次免疫后 2 周即可检测到特异性抗体, 加强免疫后继续升高, 第 3 次免疫 1 周后达到最高, 攻击感染 1 周后抗体滴度有所降低, 之后抗体滴度再度升高, 攻击感染 5 周后基本达到平稳, 单纯抗原免疫组直到 3 次免疫后才检测到抗体, 对照组在攻击感染后才检测到非常弱的抗体反应 (图 4)。

### 4 肌幼虫检查结果

与空白对照组比较, 福氏佐剂免疫组、IMS1312 免疫组、ISA720 免疫组、Quil-A 免疫组和氢氧化铝免疫组检获肌幼虫数均明显减少, 减虫率分别为 49.4%,

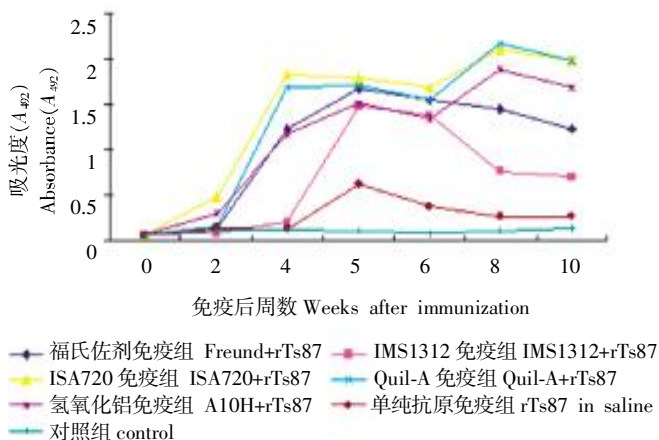


图 4 不同佐剂与 rTs87 诱导小鼠产生抗体的动态变化 (5 周时攻击感染)

Fig.4 Dynamic change of specific anti-rTs87 IgG level induced by different adjuvant formulations (Mice were challenged at week 5 post immunization)

49.2%, 63.5%, 65.1%和 70.8%, 与空白对照组比较差异均有统计学意义 ( $P_1 < 0.01$ )。单纯抗原免疫组减虫率为 23.7%, 与空白对照组差异有统计学意义 ( $P_2 < 0.05$ ), 与各佐剂免疫组间的差异也有统计学意义 ( $P_2 < 0.05$ ) (表 1)。实验过程中无小鼠死亡。

### 讨 论

佐剂能通过物理或化学方式与抗原物质非特异结合增强抗原物质的免疫效果, 因此在微生物以及寄生虫疫苗研究中广泛应用, 由于不同佐剂产生的免疫应答有所不同, 在疫苗研究中需要选择合适的佐剂制定免疫方案<sup>[9]</sup>。本项目将筛选的几种新型佐剂以及传统福氏佐剂用于旋毛虫疫苗研究。新型佐剂 IMS1312 易与抗原混合, 流体性好, 使用方便, 能刺激机体产生较强的免疫反应, 已成功用于旋毛虫疫苗研制中<sup>[2]</sup>。ISA720 可以诱发机体产生较强的免疫反应, 而且持续时间较长<sup>[8]</sup>, 对人体的毒副作用较小, 已经应用于人

类疫苗的临床试验<sup>[10]</sup>。Quil-A 能够刺激机体产生体液免疫和细胞免疫, 具有良好的佐剂活性, 已经广泛应用于疫苗研究<sup>[8,11]</sup>, 但在寄生虫疫苗研究中应用较少。田明礼等<sup>[12]</sup>以 Quil-A 为佐剂用于血吸虫疫苗的研究, 取得了 46%的减虫率, 提示可以应用于寄生虫疫苗研究。氢氧化铝是目前唯一可应用于人的安全疫苗佐剂, 但其在旋毛虫疫苗研究中的应用尚未见报道。福氏完全佐剂(CFA)和福氏不完全佐剂(IFA)已经广泛地应用于动物试验, 但由于其不良反应较强<sup>[12]</sup>, 在人类疫苗的应用中受到限制。

国内研究报道, 用 CFA(或 IFA)与重组蛋白<sup>[13]</sup>或可溶性抗原混合<sup>[14]</sup>作为旋毛虫候选疫苗, 免疫小鼠后取得一定的保护效果。实验结果表明, 选用的佐剂均有效地提高了旋毛虫 rTs87 免疫小鼠的减虫率, 与空白对照组比较, 差异有统计学意义 ( $P_1 < 0.01$ ), 特别是 ISA720 组、Quil-A 组和氢氧化铝组, 减虫率分别达到 63.5%、65.1%和 70.8%, 比福氏佐剂组 49.4%的减虫率高。本次实验中, Western blotting 结果表明纯化的 rTs87 能被自然感染旋毛虫小鼠和 rTs87 免疫小鼠血清识别, 具有很好的免疫原性; ELISA 结果显示, 与空白对照组及单抗原组相比较, 各佐剂免疫组均可引起较强的 rTs87 特异性 IgG 抗体反应, 其中 ISA720 组和 Quil-A 组引起的抗体反应最强, 提示抗体 IgG 反应与保护性呈相关性, 并在抗旋毛虫感染中起着重要作用, 同时也提示这些安全性好的佐剂如 ISA720、Quil-A 和氢氧化铝, 不仅可以用于动物实验, 而且具有良好的临床应用前景。

本次研究将 rTs87 单独免疫小鼠、抗旋毛虫感染的保护性实验结果表明, 减虫率达到 23.7%, 与对照组差异有统计学意义, 起到了一定的保护作用, 进一步证实 rTs87 可以作为旋毛虫疫苗的候选抗原。关于其保护性免疫产生的机制有待于深入研究。

表 1 各种佐剂与 rTs87 免疫小鼠的保护效果

Table 1 Reduction of muscle larvae in immunized mice

组别 Group	鼠数 No. mice	平均肌幼虫数 Average no. larvae ( $\bar{x} \pm s$ )	减虫率 Reduction rate (%)	$P_1$ 值 $P_1$ value	$P_2$ 值 $P_2$ value
对照组 Control(normal saline)	8	22 182.5±1 988.8	-	-	<0.05
单纯抗原免疫组 rTs87 in saline	8	16 935.0±2 136.6	23.7	<0.05	-
福氏佐剂免疫组 Freund adjuvant+rTs87	8	11 222.7±3 943.7	49.4	<0.01	<0.05
IMS1312 免疫组 IMS1312+rTs87	8	11 281.0±5 486.9	49.2	<0.01	<0.05
ISA720 免疫组 ISA720+rTs87	8	8 098.0±3 452.7	63.5	<0.01	<0.01
Quil-A 免疫组 Quil-A+rTs87	8	7 734.0±2 648.9	65.1	<0.01	<0.01
氢氧化铝免疫组 AlOH+rTs87	8	6 486.7±1 962.3	70.8	<0.01	<0.01

## 参 考 文 献

- [1] Cui J, Wang ZQ, Li YL, *et al.* Trichinosis vaccine[J]. Foreign Med Sci Parasit Dis, 2004, 31: 216-222. (in Chinese)  
(崔晶, 王中全, 李雍龙等. 旋毛虫病疫苗[J]. 国外医学寄生虫病分册, 2004, 31: 216-222.)
- [2] Deville S, Pooter AD, Aucouturier J, *et al.* Influence of adjuvant formulation on the induced protection of mice immunized with total soluble antigen of *Trichinella spiralis* [J]. Vet Parasitol, 2005, 132: 75-80.
- [3] Yang YP, Zhu XP, Yang J, *et al.* Immunoscreening and sequence analysis of a cDNA library of adult *Trichinella spiralis*[J]. Chin J Parasitol Parasit Dis, 2002, 20: 270-273. (in Chinese)  
(杨雅平, 诸欣平, 杨静, 等. 旋毛虫成虫 cDNA 文库免疫筛选及序列分析[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2002, 20: 270-273.)
- [4] Yang J, Zhu XP, Yang YP. *In vitro* expression conditions of Ts87 antigenic gene from *Trichinella spiralis* [J]. J Capital Univers Med Sci, 2002, 23: 308-309. (in Chinese)  
(杨静, 诸欣平, 杨雅平. 旋毛虫 Ts87 抗原基因克隆体外表达条件的研究[J]. 首都医科大学学报, 2002, 23: 308-309.)
- [5] Zhu XP, Yang J, Yang YP, *et al.* Prokaryotic expression and characterization of an antigenic gene of adult *Trichinella spiralis* [J]. Chin J Parasitol Parasit Dis, 2003, 21: 16-19. (in Chinese)  
(诸欣平, 杨静, 杨雅平, 等. 旋毛虫成虫抗原基因的原核表达及表达产物的特性分析[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2003, 21: 16-19.)
- [6] Ding L, Zhu XP, Yang J, *et al.* Protective immunity in mice after immunized with Ts87 recombinant protein of *Trichinella spiralis*[J]. Acta Parasitol. Med. Entomol. Sin, 2003, 10: 207-211. (in Chinese)  
(丁利, 诸欣平, 杨静, 等. 旋毛虫 Ts87 重组蛋白诱发小鼠保护性免疫的研究[J]. 寄生虫与医学昆虫学报, 2003, 10: 207-211.)
- [7] Yang J, Zhu XP, Yang YP, *et al.* Expression and purification of Ts87 gene of *Trichinella spiralis*[J]. Chin J Zoonoses, 2003, 19(3): 25-28. (in Chinese)  
(杨静, 诸欣平, 杨雅平, 等. 旋毛虫 Ts87 基因在大肠杆菌中的表达及表达产物的纯化[J]. 中国人兽共患病杂志, 2003, 19(3): 25-28.)
- [8] Herrera AM, Vazquez D, Navea L, *et al.* Effect of different adjuvants and immunomodulators on the humoral immune response of rabbits and mice against HIV-1-derived multi-epitope polypeptides [J]. Biotechnol Aplicada, 1999, 16: 103-108.
- [8] Marciani DJ. Vaccine adjuvant: role and mechanisms of action in vaccine immunogenicity[J]. Drug Discovery Today, 2003, 20: 934-943.
- [10] Lawrence GW, Saul A, Giddy AJ, *et al.* Phase I trial in humans of an oil-based adjuvant SEPPIC MONTANIDE ISA720[J]. Vaccine, 1997, 15: 176-178.
- [11] Lin FQ, Hu SH, Hu QL, *et al.* The immunological adjuvant effects of saponin QuilA and its monomer component[J]. Progress Veter Med, 2004, 25(4): 43-45. (in Chinese)  
(林锋强, 胡松华, 胡奇林, 等. 皂甙 QuilA 及其单体成分的免疫佐剂作用[J]. 动物医学进展, 2004, 25(4): 43-45.)
- [12] Tian ML, Yi XY, Zeng XF, *et al.* Comparison between FCA and Quil-A in immunization of recombinant protein GST-sj32 vaccination in mice[J]. Chin J Parasit Dis Control, 2001, 4: 210-212. (in Chinese)  
(田明礼, 易新元, 曾宪芳, 等. 佐剂 FCA 与 Quil-A 对 sGST-Sj32 的免疫增强作用的比较[J]. 中国寄生虫病防治杂志, 2001, 14: 210-212.)
- [13] Yuan LH, Fu BQ, Liu MY, *et al.* Protective immunity in mice after immunized with recombinant fusion protein encoding p46 kDa antigen of *Trichinella spiralis*[J]. Chin J Zoonoses, 2005, 21: 221-224. (in Chinese)  
(原丽红, 付宝权, 刘明远, 等. 旋毛虫编码新生幼虫 46KD 抗原基因重组融合蛋白对小鼠的免疫保护性研究[J]. 中国人兽共患病杂志, 2005, 21: 221-224.)
- [14] Wang Q, An GZ. Study on the immune protective effect of *Trichinella spiralis* adult worm antigen [J]. Chin J Parasit Dis Control, 2004, 17: 220-222. (in Chinese)  
(王琼, 安桂珍. 旋毛虫成虫抗原的免疫保护性研究[J]. 中国寄生虫病防治杂志, 2004, 17: 220-222.)

(收稿日期:2006-07-17 编辑:高石)

(上接第 100 页)

综上所述, 本实验制备并初步证实抗重组 AP33-McAb 具有较好的特异性及相应的抑制功能。

## 参 考 文 献

- [1] Arroyo R, Engbring JA, Alderete JF. Molecular basis of host epithelial cell recognition by *Trichomonas vaginalis*[J]. Mol Microbiol, 1992, 6: 853-862.
- [2] Arroyo R, Alderete JF. *Trichomonas vaginalis* surface proteinase activity is necessary for parasite adherence to epithelial cells [J]. Infect Immun, 1989, 57: 2991-2997.
- [3] Engbring JA, Alderete JF. Three genes encode distinct AP33 proteins involved in *Trichomonas vaginalis* cytoadherence[J]. Mol Microbiol, 1998, 28: 305-313.
- [4] Engbring JA, Alderete JF. Characterization of *Trichomonas vaginalis* AP33 adhesin and cell surface interactive domains[J]. Microbiology, 1998, 144(Pt11): 3011-3018.
- [5] Yuan LJ, Gao XZ. Study on surface adhesion protein 33 gene sequence of different *Trichomonas vaginalis* isolates[J]. Chin J Parasitol Parasit Dis, 2004, 22: 353-356. (in Chinese)  
(袁丽杰, 高兴政. 阴道毛滴虫 7 个分离株表面黏附蛋白 33 基因序列比较[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2004, 22: 353-356.)
- [6] Huang HC, Liang SH, Qin Q, *et al.* Cloning and expression of the AP33 gene of *Trichomonas vaginalis*[J]. Acta Parasitol Med Entomol Sinica, 2005, 12: 1-5. (in Chinese)  
(黄慧聪, 梁韶晖, 秦茜, 等. 阴道毛滴虫黏附蛋白 ap33 基因克隆及其表达[J]. 寄生虫与医学昆虫学报, 2005, 12: 1-5.)
- [7] Tan F, Pan CW, Liang SH, *et al.* Preparation and preliminary application of monoclonal antibodies against adult worm of *Angiostrongylus cantonensis* [J]. Chin J Parasitol Parasit Dis, 2005, 23: 209-212. (in Chinese)  
(谭峰, 潘长旺, 梁韶晖, 等. 抗广州管圆线虫成虫单克隆抗体的研制及初步应用[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2005, 23: 209-212.)
- [8] Liang SH, Huang HC, Pan CW, *et al.* Preparation, characterization and preliminary application of recombinant protein AP33 of *Trichomonas vaginalis* [J]. Chin J Parasitol Parasit Dis, 2006, 24: 31-34. (in Chinese)  
(梁韶晖, 黄慧聪, 潘长旺, 等. 阴道毛滴虫重组蛋白 AP33 的制备、鉴定和初步应用[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2006, 24: 31-34.)
- [9] Lehter MW, Sweeney D. Trichomonad invasion of the mucous layer requires adhesins, mucinases and motility[J]. Sex Transm Infect, 1999, 75: 231-238.
- [10] Lahti CJ, Bradley PJ, Johnson PJ. Molecular characterization of the alpha-subunit of *Trichomonas vaginalis* hydrogenosomal succinyl CoA synthetase[J]. Mol Biochem Parasitol, 1994, 66: 309-318. (收稿日期:2006-12-28 编辑:盛慧锋)