

寄生虫蛋白酶体的研究进展

陈佳^{1,2}, 吴松明^{1,2}, 朱兴全¹, 黄思扬^{1*}

(1. 中国农业科学院兰州兽医研究所 家畜疫病病原生物学国家重点实验室 甘肃省动物寄生虫病重点实验室, 兰州 730046; 2. 华南农业大学 兽医学院, 广州 510642)

摘要: 近年来,蛋白酶体的分子组成、亚基、生化机理、胞内功能等方面的研究受到广泛关注,发展迅速。蛋白酶体的主要生物学功能包括:降解细胞内蛋白质、调节细胞周期、促进细胞凋亡、调节转录因子、增加抗原提呈等。在寄生虫中,蛋白酶体不仅参与胞内寄生虫的生长发育调节,同时对宿主造成损伤,并可诱导宿主产生对其的免疫应答。对寄生虫蛋白酶体的研究有助于深入了解寄生虫的入侵机制,为寄生虫病的防治提供新思路。作者对蛋白酶体的结构、功能及寄生虫蛋白酶体的研究进展作一综述。

关键词: 蛋白酶体;寄生虫;生物功能

中图分类号:S852.7

文献标识码:A

文章编号:0366-6964(2012)01-0007-07

Advances on the Studies of Parasite Proteasomes

CHEN Jia^{1,2}, WU Song-ming^{1,2}, ZHU Xing-quan¹, HUANG Si-yang^{1*}

(1. *State Key Laboratory of Veterinary Etiological Biology, Key Laboratory of Veterinary Parasitology of Gansu Province, Lanzhou Veterinary Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou 730046, China*; 2. *College of Veterinary Medicine, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China*)

Abstract: Major advances have been achieved recently in the molecular composition of the proteasomes, their subunits, biochemical mechanisms and intracellular functions. Many cellular functions and processes are conserved in proteasomes including proteolytic functions, the regulation of cell cycle, apoptosis and transcription factor, enhancement of antigen presentation. In parasites, the proteasome is involved in the regulation of cell differentiation and replication, participation in impairment on hosts, and could therefore be an antigen inducing immune response in the host. Studies on parasite proteasomes will be beneficial for better understanding of mechanisms in host cell invasion by parasites, also providing a new thread for prevention and control of parasites. Therefore, this article reviews recent progress concerning the structure and functions of proteasomes, in particular, the parasite proteasomes.

Key words: proteasomes; parasites; biological function

蛋白酶体是一种高度保守的多价催化蛋白酶复合物,广泛存在于真核细胞内^[1]。蛋白酶体不仅可以催化异常蛋白质的降解,而且参与许多由蛋白质水解调控的生理过程,包括催化限速酶(如鸟氨酸脱羧酶)、转录因子(如 I κ B)、重要的调节蛋白(如细胞

周期蛋白)的快速降解。此外,它还在转录因子 NF κ B 的激活以及抗原提呈过程中起着重要作用。蛋白酶体在寄生虫中普遍存在,并发挥着十分重要的作用。蛋白酶体具有改变寄生虫宿主细胞形态、降解细胞内的细胞质和细胞核蛋白、调控细胞有丝

收稿日期:2011-04-29

基金项目:家畜疫病病原生物学国家重点实验室开放基金(SKLV2009KFKT014;SKLV2010KFKT010;SKLV2011KFKT004)

作者简介:陈佳(1983-),男,湖北孝感人,博士研究生,主要从事寄生虫分子生物学研究

* 通讯作者:黄思扬, Tel:0931-8342813, E-mail:hsy37@yahoo.cn

分裂静止期因子、识别虫体表面抗原、清除变性和衰亡的蛋白等重要功能^[2]。寄生虫蛋白酶体参与调控病原入侵宿主,并在与宿主长期共存过程中发挥多种生物学作用,对寄生虫蛋白酶体的深入研究将有利于了解寄生虫入侵宿主的分子机制。作者对寄生虫蛋白酶体的研究进展进行综述。

1 蛋白酶体的结构

1.1 蛋白酶体的分子组成

在真核细胞中,细胞内蛋白的降解主要由泛素-蛋白酶体系统进行调控^[3]。细胞内被泛素化的蛋白随即迅速地被蛋白酶体所降解。因蛋白酶体密度梯度离心的沉降系数为 26S,故又称其为 26S 蛋白酶体^[4]。26S 蛋白酶体是 1 个相对分子质量约 2 000 ku,依赖于 ATP 的蛋白水解酶复合体,广泛存在于真核细胞中^[3,5]。26S 蛋白酶体主要由 2 个 19S 复合体和 1 个 20S 蛋白水解活性中心所组成,而且 26S 蛋白酶体是一种由模块方式构成的有活力(Dynamic)的结构,一个圆柱状的 20S 催化中心复合体形成主体模块,在其一端或者两端有 19S 复合体构成的帽状模块,19S 也称为蛋白酶体激活剂(PA)700,呈现出底物特异性和调节活性。同时另一个被称为 11S(PA28)的复合体可以取代 19S 并激活短肽的蛋白水解^[6]。

1.2 20S 蛋白酶体的结构

Ferrell^[7]等在 2000 年描述了 20S 蛋白酶体的结构组成。20S 蛋白酶体相对分子质量约 700 ku,由 28 个亚单位所组成,它们有相近的相对分子质量大小,即在 20~35 ku,但是等电点范围较广,在 4.5~8.7。在电子显微镜下,这些亚单位呈现出空心的圆柱体排列方式,圆柱体由 4 个折叠环所组成,每个环包含 7 个亚单位。2 个外层的空心(顶部和底部)结构由 α 亚单位所组成($\alpha 1-\alpha 7$),内层的空心结构是由 β ($\beta 1-\beta 7$)亚单位形成的 2 个环组成,且位于复合体的中心部位。

20S 复合体又称为 20S 催化中心粒子(CP),是 26S 的蛋白水解中心位点。构成 20S 复合体外层环的 α 亚单位被认为是底物进入复合体内部蛋白水解区室的一道门槛, β 亚单位则负责催化底物的降解^[8]。 α 亚单位具备形成环的能力,而且对 β 环的形成也是十分必要的, α 亚单位也是 19S 和 11S 调节复合体的结合位点^[9]。

1.3 19S 的结构

19S 又称为 19S 调节粒子(RP)。在蛋白被降解之前,RP 就依附于 α 环的表面,在指导底物进入中心蛋白水解区之前,对底物进行加工。RP 可分为 2 个主要的区域,即盖部和基底部。盖部包含 8 到 9 个亚单位:RPN3~9、RPN11~12。它们介导底物早期的结合和加工。基底部包含 6 个 ATP 酶依赖性亚单位和 2 个非 ATPase 依赖性亚单位:RPT1~6、RPN1 和 RPN2。它们可以展开底物并指导底物进入 CP 之中^[10]。另一个亚单位就是 RPN10,以前被认为是在盖部和基底部之间形成铰链,最近有研究发现 RPN10 的主要功能可能是向蛋白酶体往返运输蛋白,尤其是朝向 19S 基底部^[11]。

2 蛋白酶体的生物学功能

2.1 蛋白酶体的水解活性

蛋白酶体是具有催化活性的多功能酶,具有胰凝乳蛋白酶、胰蛋白酶、半胱天冬酶样活性。蛋白酶体的蛋白质水解作用需要泛素(Ubiquitin)参加。泛素在酶的催化下,相互结合成多聚泛素链,并与底物靶蛋白形成多聚泛素化蛋白而被 26S 蛋白酶体所捕获。蛋白酶体的 RP 基底部 ATP 酶亚基水解 ATP 提供能量,有助于底物蛋白质的去折叠及变性,同时, α 环口打开,底物蛋白进入蛋白酶体活性部位,被蛋白酶体所降解^[12-13]。

2.2 调节细胞周期

蛋白酶体可通过降解细胞周期相关蛋白而达到调节细胞周期的目的。研究表明蛋白酶体可降解 G1 细胞周期蛋白、有丝分裂细胞周期蛋白,而且 SKp2 可识别并促进 p27 蛋白泛素化,从而被蛋白酶体降解,而 p27 是细胞周期调节蛋白依赖性激酶(CDK)抑制因子,主要阻止细胞从 G1 期到 S 期,因此 p27 的降解必然能调节细胞周期^[14]。

2.3 调节转录因子

蛋白酶体可催化转录因子 NF- κ B 的前体 P105 和内质网膜结合型转录因子 51y123 的加工,参与活性分子的生成^[13]。当细胞未受刺激时,核转录因子 NF- κ B 的核定位序列被抑制蛋白 I κ B 结合,NF- κ B 停留在胞质中不发挥作用;当细胞受到刺激后,磷酸化激酶使 I κ B 发生磷酸化,泛素连接酶识别磷酸化的 I κ B,继而使其泛素化,最后被蛋白酶体识别并降解。I κ B 被降解后,NF- κ B 的核定位序列暴露出来,

NF- κ B 进入核内与靶基因的特定序列结合,从而调控相关基因的转录和表达^[15]。

2.4 增强抗原提呈

蛋白酶体中的免疫蛋白酶体,即 β 催化亚基中编码 LMP2、LMP7、MECL-1 等蛋白酶体的基因,由于与主要组织相容性复合体(MHC)基因区域内的抗原加工相关转运物(Transporter associated with antigen processing, TAP)基因相邻近,因而可显著地被 IFN- γ 诱导^[16]。由于内源性蛋白质可经蛋白酶体降解后,形成抗原肽,供 T 细胞的 TCR 识别,因此蛋白酶体被 IFN- γ 诱导刺激后,LMP2、LMP7、MECL-1 等蛋白酶体亚基的表达增加,蛋白酶体的活性也随之增强,进而增强抗原肽的产生^[17],从而诱导性地增强了抗原提呈。

2.5 调节细胞凋亡

蛋白酶体对凋亡的调节通过调节 NF- κ B、半胱天冬酶和 p53(促进细胞凋亡调控因子)的作用而实现。蛋白酶体激活转录因子 NF- κ B,被活化的 NF- κ B 继而激活抗凋亡因子的转录^[18]。而且 NF- κ B 的激活可使半胱天冬酶失活而刺激肿瘤坏死因子。当另一种重要的促进细胞凋亡的调控因子 p53 与细胞内调节物癌基因蛋白 MDM2 结合后,可促进 p53 的泛素化,从而被蛋白酶体识别并降解,以调节细胞凋亡^[19]。

3 寄生虫蛋白酶体的研究进展

3.1 贾第虫

1999 年 Emmerlich 等利用蛋白质 2D 电泳技术对蓝氏贾第虫 20S 蛋白酶体进行了研究,发现蓝氏贾第虫与其它真核生物一样也存在 20S 蛋白酶体,而且 20S 蛋白酶体存在 7 种 α 和 β 亚单位^[20]。Bouzat 等于 2000 年对蓝氏贾第虫蛋白酶体亚单位进行了鉴定,经系统分类研究表明, α 亚单位基因家族进化较快,在古细菌(Archae)中仅有一个亚单位,到真核生物发展到 7 个亚单位甚至更多^[21]。

3.2 阿米巴原虫

缺乏可识别的线粒体的阿米巴属(虽然编码线粒体源蛋白基因的存在表明了线粒体部件的存在^[22]),被认为是原始的真核细胞模型。对其相关蛋白酶体的研究发现,溶组织阿米巴原虫蛋白酶体亚单位基因与哺乳动物蛋白酶体呈现出很高的同源性(和鼠的同源性达到 60.1%,和人的同源性达到 60.5%)。但与嗜酸热原体和酿酒酵母的同源性相

对较低,分别为 39.5% 和 53.8%。同样,推测的非 ATP 酶活性蛋白酶体亚单位(Non-ATPase)的氨基酸序列和人及酵母的同源性很高^[23]。经蛋白酶体乳胞素(Lactacystin)抑制试验研究证实,溶组织阿米巴和侵袭性内阿米巴的蛋白酶体涉及到滋养体向包裹的转换,但是并不涉及侵袭性内阿米巴的脱囊^[24]。2002 年经研究揭示了溶组织内阿米巴原虫的蛋白酶体在胞内的分布,发现其并不存在于细胞核中,同时提示这种与其他真核细胞不同的分布情况与虫体自身的特殊性有关^[25]。

3.3 利什曼原虫

聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分析纯化的墨西哥利什曼原虫蛋白酶体,呈现出 10 个不同的蛋白点,相对分子质量在 22~32 ku,表明其蛋白酶体亚单位呈现出与真核生物蛋白酶体亚单位一样的复杂性^[26]。对蛋白酶体的抑制试验研究表明,高浓度的乳胞素对墨西哥利什曼原虫的复制有抑制作用,然而 MG132 只需要正常浓度就产生抑制效果,这种差别的出现可能与墨西哥利什曼原虫对乳胞素和 MG132 的吸收存在差别有关系^[26]。同样,经乳胞素抑制试验证实,完整的蛋白酶体对恰氏利什曼原虫的复制和其无鞭毛体的存活是必需的^[27]。

Christensen 等鉴定了 1 个新的 20S 蛋白酶体 α 亚单位,即 LePa,其在人体内具有免疫原性。其次,LePa DNA 疫苗可以减少硕大利什曼原虫感染的鼠的损伤部位^[28]。并且 Couvreur 等证实了利什曼原虫蛋白酶体具有强烈的免疫原性^[29]。还有研究表明,蛋白酶体依赖的细胞凋亡样机制存在于利什曼原虫亚马逊亚种,并且活跃于无鞭毛体阶段,可通过宿主细胞的 L-精氨酸-NO 途径而被诱导^[30]。在 2005 年,Forget 等研究发现一个与蛋白酶体降解有关的新机制,即在感染的早期阶段,STAT1 α 可被蛋白酶体降解,加上 JAK2 被 SHP-1 所阻断,从而虫体阻断宿主细胞产生 IFN- γ ^[31]。最近也有关于细胞信号转导的研究,发现泛素-蛋白酶体途径参与了翻译后蛋白的调节,而且这种调节靶向细胞核信号^[32]。同时还发现了 STAT2 蛋白水平的降解是由虫体的无鞭毛体通过蛋白酶体依赖性的方式所诱导^[33]。

3.4 疟原虫

Gantt 等于 1998 年通过蛋白酶体抑制试验,间接地证明了疟原虫存在蛋白酶体。经研究发现,乳胞素体外抑制伯氏疟原虫红细胞内和红细胞外的发

育,但是不能抑制孢子穿透进入宿主细胞^[34]。Certad 等在 1999 年研究发现乳胞素在相同的浓度,可以抑制 3 系不同的恶性疟原虫的生长,而且抑制效果显示氯喹抑制型虫株表现出比氯喹敏感型虫株效果更好^[35]。2000 年 Li 等克隆了恶性疟原虫 20S 蛋白酶体 β 亚单位^[36]。最近对蛋白酶体的抑制剂进行了研究,发现了一些新的抑制剂,从而为研制新的抗疟原虫药物提供了新的思路^[37-40]。

3.5 弓形虫

Paugam 等于 2001 年通过细胞内定位和检测特异性肽活性对弓形虫蛋白酶体进行了鉴定,利用免疫荧光技术(弓形虫特异性蛋白酶体抗体)和共聚焦显微技术对蛋白酶体的研究证明,与存在于真核细胞细胞质和细胞核中的蛋白酶体相比,弓形虫蛋白酶体仅存在于细胞质中,而且具有虫体外胰凝乳蛋白酶样活性,其 K_m 值和真核细胞相近^[41]。Shaw 等^[42]应用 3 种蛋白酶体抑制剂(乳胞素、蛋白酶体抑制剂 1、MG-132)作用于弓形虫,Paugam 等用($10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 乳胞素^[42]或 $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 胶霉毒素^[43])预处理速殖子发现,这些抑制剂虽然没有阻断弓形虫侵入宿主细胞及 PV 膜的形成,但是弓形虫的生长很快受到抑制,而且它的子代芽孢的形成、释放以及 DNA 的合成也受到阻碍。从而也提示了蛋白酶体并非原虫形成侵袭活性和侵入宿主细胞所必需的。

Shaw 等^[34]用乳胞素预处理宿主细胞,结果显示被预处理的宿主细胞对弓形虫的进入,寄生空泡的形成以及弓形虫的生长和复制毫无影响。因此也证明宿主细胞的蛋白酶体活性不是弓形虫在胞内的发育所必需,且无重要作用。Shaw 等在研究中还发现,只有乳胞素才能引起寄生虫形态的改变,且对弓形虫的生活周期产生明显的影响。而乳胞素又是 20S 蛋白酶体的特异性抑制剂^[42],由此说明,20S 蛋白酶体存在或作用于弓形虫的胞膜、胞质及内质网上,并参与和维持着弓形虫的生长、复制。

2006 年 Ishii 等对免疫蛋白酶体靶向弓形虫 SAG1 的 MHC-1 类免疫应答进行了研究,经过融合表达 LAMP7 和弓形虫 SAG1 基因,经小鼠免疫保护性分析,结果显示免疫蛋白酶体 LAMP7 能明显提高小鼠的针对 SAG1 基因的免疫保护性^[44]。

3.6 血吸虫

1999 年至 2002 年间对血吸虫的蛋白酶体进行了研究,仅仅鉴定了蛋白酶体的 2 个亚单位^[45-46],其

中 Nabhan 等利用 RNA 干扰技术鉴定了曼氏血吸虫 RP 亚单位 SmRPN11/POH1,证明了 SmRPN11/POH1 的缺失将出现虫体的致死性表型^[46]。Ram 等对曼氏血吸虫的蛋白酶体研究发现,蛋白酶体的活性可能由钙离子所调节,而这种调节又是通过一个 8 ku 的钙离子结合蛋白(CaBP)所介导的^[47]。

Guerra-Sá 等证明了曼氏血吸虫功能性蛋白酶体的存在,并且其功能可被蛋白酶体抑制剂所抑制^[48]。最近有研究发现,曼氏血吸虫蛋白酶体复合体在血吸虫的尾蚴、童虫和成虫阶段的表达量存在差异,其亚单位 SmRPN11/POH1 是血吸虫蛋白酶体复合体的必要亚基^[49]。对从曼氏血吸虫不同发育阶段纯化的 20S 蛋白酶体进行了蛋白质组学的研究,发现其不同阶段的蛋白酶体亚基存在着多样性变化,经 Western blotting 分析发现不同的亚单位呈现不同的反应模式,提示血吸虫不同发育阶段蛋白酶体结构的变化^[50]。

我国的洪焯等对日本血吸虫的 $\alpha 2$ (SjPSMA2)亚单位进行了克隆表达和功能分析,结果表明 SjPSMA2 在血吸虫的不同时期表达量存在差异,提示 SjPSMA2 基因在血吸虫生长发育过程中发挥重要作用,同时经 Western blotting 鉴定,提示该重组蛋白具有发展为抗血吸虫病候选疫苗及新药靶的潜力^[51]。

2010 年 Bothlho-Machado 等研究了存在于曼氏血吸虫体内的蛋白酶体抑制物 PI31,发现 PI31 在曼氏血吸虫的整个生活史阶段均表达,而且具有一种保守的结构域,并对成虫的蛋白酶体起到抑制作用^[52]。最近有研究发现,泛素-蛋白酶体途径在曼氏血吸虫虫卵生物学中能发挥多重作用,有利于其“逃离”宿主^[53]。

3.7 锥虫

锥虫蛋白酶体是研究较为深入的寄生虫蛋白酶体,于 1998 年首次纯化并鉴定了布氏锥虫的蛋白酶体,并通过乳胞素抑制试验,发现其蛋白酶体参与对细胞周期的调节^[54]。后来,经 Van 等进一步研究证实了蛋白酶体参与细胞周期蛋白的调节^[55]。研究发现,锥虫 20S 蛋白酶体相对分子质量小于其对应的哺乳动物细胞 20S 蛋白酶体,而且经 2D 电泳仅呈现 26 个蛋白位点,远小于鼠肝细胞 20S 蛋白酶体^[56]。锥虫 20S 蛋白酶体可被一种相对分子质量为 26 ku 的蛋白所激活(PA26),而且 PA26 可以同

时激活锥虫和鼠的 20S 蛋白酶体,人的 20S 蛋白酶体激活因子 PA28 α 可激活鼠的 20S 蛋白酶体,但不能激活锥虫 20S 蛋白酶体^[57]。

对锥虫 19S 蛋白酶体的研究发现,RPN10 对于 RPN 的形成不是必需的,但是对于其功能的形成是必需的^[58]。经乳胞素抑制试验研究发现,蛋白酶体涉及到锥虫无鞭毛体到鞭毛体阶段的转换^[59]。最近有关于锥虫诱导的免疫蛋白酶体的研究,经 2D 电泳和 RT-PCR 试验比较了感染的和未被感染细胞的蛋白酶体,未出现所预期的 20S 蛋白酶体表达的变化,而是出现了被感染细胞蛋白酶体胰蛋白酶活性和胰凝乳蛋白酶活性的增高^[60]。

4 小结和展望

蛋白酶体在真核生物中普遍存在,而且具有众多生物学功能。对寄生虫蛋白酶体的研究发现蛋白酶体在寄生虫中具有特殊的生物学功能。弓形虫、利什曼原虫中蛋白酶体的研究揭示了蛋白酶体在介导其生长发育、对外界环境的应激等方面有重要作用。对血吸虫和弓形虫蛋白酶体免疫原性的研究表明,蛋白酶体在寄生虫疫苗研制方面具有潜在的价值。对寄生虫蛋白酶体抑制剂的研究,表明蛋白酶体能够成为药物靶标,对于新型抗寄生虫药物的研发具有重要指导作用。

但是,至今有关寄生虫蛋白酶体的生物学功能研究还不够深入,在许多方面亟待深入研究。例如:有关蛋白酶体在寄生虫生活史发育阶段的转换中是否发挥着重要作用?溶酶体自体吞噬途径与寄生虫蛋白酶体的功能关系有待解决。虽然有包括华支睾吸虫、血吸虫和类圆线虫在内的有关蠕虫蛋白酶体的研究^[51,61-62],但是仍然缺乏对其他重要的人兽共患的蠕虫蛋白酶体的相关研究。因此,对寄生虫蛋白酶体的深入研究将使我们能更深入地了解寄生虫的生物学特性,进而有助于对寄生虫病的防控。

参考文献:

- [1] TANAKA K, YOSHIMURA T, KUMATORI A, et al. Proteasome (multi-protease complexes) as 20S ring-shaped particles in a variety of eukaryotic cells [J]. *J Biol Chem*, 1988, 263(31): 16209-16217.
- [2] COUX O, TANAKA K, GOLDBERG A L. Structure and functions of the 20S and 26S proteasomes [J]. *Annu Rev Biochem*, 1996, 65(5): 801-847.
- [3] HANNA J, FINLEY D. A proteasome for all occasions [J]. *FEBS Lett*, 2007, 581(15): 2854-2861.
- [4] VOGES D, ZWICKL P, BAUMEISTER W, et al. The 26S proteasome: a molecular machine designed for controlled proteolysis [J]. *Ann Rev Biochem*, 1999, 68: 1015-1068.
- [5] FINLEY D. Recognition and processing of ubiquitin-protein conjugates by the proteasome [J]. *Annu Rev Biochem*, 2009, 78: 477-513.
- [6] STADTMUELLER B M, HILL C P. Proteasome activators [J]. *Mol Cell*, 2011, 41(1): 8-19.
- [7] FERRELL K, WILKINSON C R, DUBIEL W, et al. Regulatory subunit interactions of the 26S proteasome, a complex problem [J]. *Trends Biochem Sci*, 2000, 25(2): 83-88.
- [8] BOCHTLER M, DITZEL L, GROLL M, et al. The proteasome [J]. *Annu Rev Biophys Biomol Struct*, 1999, 28: 295-317.
- [9] HONG Y, HAN H, PENG J, et al. *Schistosoma japonicum*: Cloning, expression and characterization of a gene encoding the $\alpha 5$ -subunit of the proteasome [J]. *Exp Parasitol*, 2010, 126(4): 517-526.
- [10] KIM H M, YU Y, CHENG Y. Structure characterization of the 26S proteasome [J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2011, 1809(2): 67-79.
- [11] HOPPE T, MATUSCHEWSKI K, RAPE M, et al. Activation of a membrane-bound transcription factor by regulated ubiquitin/proteasome-dependent processing [J]. *Cell*, 2000, 102(5): 577-586.
- [12] KANG M S, LIM B K, SEONG I S, et al. The ATP-dependent CodWX (HsIVU) protease in *Bacillus subtilis* is an N-terminal serine protease [J]. *EMBO J*, 2001, 20(4): 734-742.
- [13] HOPPE T, MATUSCHEWSKI K, RAPE M, et al. Activation of a membrane-bound transcription factor by regulated ubiquitin/proteasome-dependent processing [J]. *Cell*, 2000, 102(5): 577-586.
- [14] GSTAIGER M, JORDAN R, LIM M, et al. SKp2 is oncogenic and overexpressed in human cancers [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(9): 5043-5048.
- [15] 李中海, 端木德强, 王敬泽. NF- κ B 活化的信号通路及其生理意义 [J]. *生物学杂志*, 2002, 19(4): 4-6.
- [16] TANAKA K, KASAHARA M. The MHC class I ligand-generating system: roles of immunoproteasomes and the gamma-inducible proteasome activator PA28 [J]. *Immunol Rev*, 1998, 163: 161-176.
- [17] GOLDBERG A L, CASCIO P, SARIC T, et al. The importance of the proteasome and subsequent proteolytic steps in the generation of antigenic peptides [J]. *Mol Immunol*, 2002, 39(3-4): 147-164.

- [18] TESTA U. Proteasome inhibitors in cancer therapy [J]. *Curr Drug Targets*, 2009,10(10): 968-981.
- [19] LI L, LIAO J, RULAND J, et al. A TSG101/MDM2 regulatory loop modulates MDM2 degradation and MDM2/p53 feedback control [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001,98(4):1619-1624.
- [20] EMMERLICH V, SANTARIUS U, BAKKER-GRUNWALD T, et al. Isolation and subunit composition of the 20S proteasome of *Giardia lamblia* [J]. *Mol Biochem Parasitol*, 1999,100(1): 131-134.
- [21] BOUZAT J L, MCNEIL L K, ROBERTSON H M, et al. Phylogenomic analysis of the alpha proteasome gene family from early-diverging eukaryotes [J]. *J Mol Evol*, 2000,51(6): 532-543.
- [22] TOVAR J, FISCHER A, CLARK C G, et al. The mitosome, a novel organelle related to mitochondria in the amitochondrial parasite *Entamoeba histolytica* [J]. *Mol Microbiol*, 1999,32(5): 1013-1021.
- [23] HELBERG A, SOMMER A, BRUCHHAUS I, et al. Primary sequence of a putative non-ATPase subunit of the 26 proteasome from *Entamoeba histolytica* is similar to the human and yeast S2 subunit [J]. *Parasitol Res*, 1999,85(5): 417-420.
- [24] MAKIOKA A, KUMAGAI M, OHTOMO H, et al. Effect of proteasome inhibitors on the growth, encystation, and excystation of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba invadens* [J]. *Parasitol Res*, 2002, 88(5): 454-459.
- [25] SÁNCHEZ R, ALAGÓN A, STOCK R P. *Entamoeba histolytica*: intracellular distribution of the proteasome [J]. *Exp Parasitol*, 2002,102(3-4): 187-190.
- [26] ROBERTSON C D. The *Leishmania mexicana* proteasome [J]. *Mol Biochem Parasitol*, 1999 103(1): 49-60.
- [27] SILVA-JARDIM I, HORTA M F, RAMALHO-PINTO F J. The *Leishmania chagasi* proteasome: role in promastigotes growth and amastigotes survival within murine macrophages [J]. *Acta Tropica*, 2004, 91(2): 121-130.
- [28] CHRISTENSEN C B, JORGENSEN L, JENSEN A T, et al. Molecular characterisation of a *Leishmania donovani* cDNA clone with similarity to human 20S proteasome α -type subunit [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2000,1500(1): 77-87.
- [29] COUVREUR B, BOLLEN A, DUJARDIN J C, et al. More panantigens in *Leishmania* [J]. *Trends Parasitol*, 2001,17(2): 63-64.
- [30] HOLZMULLER P, SERENO D, CAVALEYRA M, et al. Nitric oxide-mediated proteasome dependent oligonucleosomal DNA fragmentation in *Leishmania amazonensis* amastigotes [J]. *Infect Immun*, 2002, 70(7): 3727-3735.
- [31] FORGET G, GREGORY D J, OLIVIER M. Proteasome-mediated Degradation of STAT1 alpha following infection of macrophages with *Leishmania donovani* [J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(34): 30542-30549.
- [32] DUBESSAY P, BLAINEAU C, BASTIEN P, et al. Cell cycle-dependent expression regulation by the proteasome pathway and characterization of the nuclear targeting signal of a *Leishmania major* Kin-13 kinesin [J]. *Mol Microbiol*, 2006,59(4): 1162-1174.
- [33] XIN L, LI K, SOONG L. Down-regulation of dendritic cell signaling pathways by *Leishmania amazonensis* amastigotes [J]. *Mol Immunol*, 2008, 45(12): 3371-3382.
- [34] GANTT S M, MYUNG J M, BRIONES M R, et al. Proteasome inhibitors block development of *Plasmodium spp* [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 1998, 42(10): 2731-2738.
- [35] CERTAD G, ABRAHEM A, GEORGES E, et al. Cloning and partial characterisation of the proteasome S4 ATPase from *Plasmodium falciparum* [J]. *Exp Parasitol*, 1999,93(3): 123-131.
- [36] LI G D, LI J L, MUGTHIN M, et al. Molecular cloning of a gene encoding a 20S proteasome beta-subunit from *Plasmodium falciparum* [J]. *Int J Parasitol*, 2000,30(6): 729-733.
- [37] KREIDENWEISS A, KREMSNER P G, MORDMULLER B. Comprehensive study of proteasome inhibitors against *Plasmodium falciparum* laboratory strains and field isolates from Gabon [J]. *Malar J*, 2008,24(7): 187.
- [38] HATABU T, HAGIWARA M, TAQUCHI N, et al. *Plasmodium falciparum*: The fungal metabolite gliotoxin inhibits proteasome proteolytic activity and exerts a plasmodicidal effect on *P. falciparum* [J]. *Exp Parasitol*, 2006, 112(3): 179-183.
- [39] REYNOLDS J M, EI BISSATI K, BRANDENBURG J, et al. Antimalarial activity of the anticancer and proteasome inhibitor bortezomib and its analog ZL3B [J]. *BMC Clin Pharmacol*, 2007,7: 13.
- [40] CAZESNY B, GOSHU S, COOK J L, et al. The proteasome inhibitor epoxomicin has potent *Plasmodium falciparum* gametocytocidal activity [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2009,53(10): 4080-4085.
- [41] PAUGAM A, CREUZET C, DUPOUY-CAMET J, et al. Evidence for the existence of a proteasome in

- Toxoplasma gondii*: intracellular localization and specific peptidase activities[J]. *Parasite*, 2001, 8(4): 267-273.
- [42] SHAW M K, HE C Y, ROOS D S, et al. Proteasome inhibitors block intracellular growth and replication of *Toxoplasma gondii* [J]. *Parasitology*, 2000, 121(1): 35-47.
- [43] PAUGAM A, CREUZET C, DUPOUY-CAMET J, et al. *In vitro* effects of gliotoxin, a natural proteasome inhibitor, on the infectivity and proteolytic activity of *Toxoplasma gondii* [J]. *Parasitol Res*, 2002, 88(8): 785-787.
- [44] ISHII K, HISAEDA H, DUAN X, et al. The involvement of immunoproteasomes in induction of MHC class I-restricted immunity targeting *Toxoplasma* SAG1 [J]. *Microbes Infect*, 2006, 8(4): 1045-1053.
- [45] HARROP R, COULSON P S, WILSON R A. Characterization, cloning and immunogenicity of antigens released by lung-stage larvae of *Schistosoma mansoni* [J]. *Parasitology*, 1999, 118(6): 583-594.
- [46] NABHAN J F, HAMDAN F F, RIBERIO P. A *Schistosoma mansoni* Pad1 homologue stabilizes c-Jun [J]. *Mol Biochem Parasitol*, 2002, 121(1): 163-172.
- [47] RAM D, ZIV E, LANTMER F, et al. Interaction of the proteasome S5a/Rpn10 multiubiquitin-binding protein and the 8 kDa calcium-binding protein of *Schistosoma mansoni* [J]. *Parasitology*, 2003, 127(4): 337-347.
- [48] GUEERA-SÁ R, CASTRO-BORGES W, EVANGELISTA E A, et al. *Schistosoma mansoni*: functional proteasomes are required for development in the vertebrate host [J]. *Exp Parasitol*, 2005, 109(4): 228-236.
- [49] NABHAN J F, EI-SHEHABI F, PATOCKA N, et al. The 26S proteasome in *Schistosoma mansoni*: bioinformatics analysis, developmental expression, and RNA interference (RNAi) studies [J]. *Exp Parasitol*, 2007, 117(3): 337-347.
- [50] CASTRO-BORGES W, CARTWRIGHT J, ASHTON PD, et al. The 20S proteasome of *Schistosoma mansoni*: A proteomic analysis [J]. *Proteomics*, 2007, 7(7): 1065-1075.
- [51] 洪 炆, 韩宏晓, 彭金彪, 等. 日本血吸虫蛋白酶体 $\alpha 2$ 亚基基因的克隆、表达及功能分析 [J]. *生物工程学报*, 2010, 26(4): 509-516.
- [52] BOTHLHO-MACHADO C, CABRAL F J, SOARES C S, et al. Characterization and mRNA expression analysis of PI31, an endogenous proteasome inhibitor from *Schistosoma mansoni* [J]. *Parasitol Res*, 2010, 107(5): 1163-1171.
- [53] MATHIESON W, CASTRO-BORGES W, WILSON R A. The proteasome-ubiquitin pathway in the *Schistosoma mansoni* egg has development- and morphology-specific characteristics [J]. *Mol Biochem Parasitol*, 2011, 175(2): 118-125.
- [54] MUTOMBA M C, WANG C C. The role of proteolysis during differentiation of *Trypanosoma brucei* from the bloodstream to the procyclic form [J]. *Mol Biochem Parasitol*, 1998, 93(1): 11-22.
- [55] VAN HELLEMOND J J, MOTTRAM J C. The CYC3 gene of *Trypanosoma brucei* encodes with a cyclin with a short half-life [J]. *Mol Biochem Parasitol*, 2000, 111(2): 275-282.
- [56] HUANG L, SHEN M, CHERNUSHEVICH I, et al. Identification and isolation of three proteasome subunits and their encoding genes from *Trypanosoma brucei* [J]. *Mol Biochem Parasitol*, 1999, 102(2): 211-223.
- [57] YAO Y, HUANG L, KRUTCHINSKY A, et al. Structural and functional characterisations of the proteasome-activating protein PA26 from *Trypanosoma brucei* [J]. *J Biol Chem*, 1999, 274(48): 33921-33930.
- [58] LI Z, WANG C C. Functional characterization of the eleven non-ATPase subunit proteins in the trypanosomes 19S proteasomal regulatory complex [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(45): 42686-42693.
- [59] DE DIEGO J L, KATZ J M, MARSHALL P, et al. The ubiquitin-proteasome pathway plays an essential role in proteolysis during *Trypanosoma cruzi* remodeling [J]. *Biochemistry*, 2001, 40(4): 1053-1062.
- [60] FARIA L O, LIMA B D, DE SÁ C M. *Trypanosoma cruzi*: Effect of the infection on the 20S proteasome in non-immune cells [J]. *Exp Parasitol*, 2008, 20(3): 261-268.
- [61] 杨 光, 周天鸿, 李月琴, 等. 华支睾吸虫蛋白酶体 $\alpha 2$ 新基因的生物信息学分析与克隆表达 [J]. *中国人兽共患病学报*, 2009, 25(9): 865-869.
- [62] DE PAULA F M, CASTRO-BORGES W, JUNIOR O S, et al. The ubiquitin-proteasome system in Strongyloidea. Biochemical evidence for developmentally regulated proteolysis in *Strongyloides venezuelensis* [J]. *Parasitol Res*, 2009, 105(2): 567-576.