

顶复门原虫 AP2 蛋白家族研究进展

吴群峰¹ 陶靓^{1,2} 陈军虎^{1*}

【摘要】 顶复门原虫是一类专一性的细胞内寄生原虫，包括许多重要的人畜寄生虫，如弓形虫、隐孢子虫、疟原虫、巴贝虫及艾美球虫等。顶复门原虫感染与致病的研究一直是重点和热点，但关于顶复门原虫转录调控的分子机制仍然知之甚少。以往研究表明 DNA 结合蛋白中，顶复门 AP2 (apicomplexan ap2, ApiAP2) 家族可能是一类重要的转录调控因子。该文结合近几年的研究结果，对该蛋白家族的最新研究进展进行综述。

【关键词】 顶复门原虫；转录调控因子；顶复门 AP2

Research advance in apicomplexan AP2 family Wu Qunfeng¹, Tao Liang^{1,2}, Chen Junhu^{1*}. ¹National Institute of Parasitic Diseases, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Key Laboratory of Parasite and Vector Biology, Ministry of Health, WHO Collaborating Center for Tropical Diseases, Shanghai 200025, China ²East China University of Science and Technology, Bioengineering College, Biotechnology Specialty, Shanghai 200237, China

*Corresponding author: Chen Junhu, Email: junhuchen@hotmail.com

Supported by International Science and Technology Cooperation Program of China (2014DFA31130)

【Abstract】 Apicomplexa is a protozoan class of obligate intracellular parasites, including many important human and veterinary pathogens such as *Toxoplasma gondii*, *Cryptosporidium* spp., *Plasmodium* spp., *Babesia* spp., *Eimeria* spp. and so on. The infection and disease of Apicomplexa is an important research area, however, the molecular mechanisms underlying transcriptional regulation in apicomplexan parasites remain obscure. Previous studies suggested that the apicomplexan AP2 (ApiAP2) family of DNA binding proteins may be a major class of transcriptional regulators in Apicomplexa. In this article, the latest progress for the function of AP2 proteins was reviewed.

【Key words】 Apicomplexa; Transcriptional regulator; Apicomplexan AP2

AP2 (ap2) 结构域最初发现于植物中的 AP2/ERF (ap2/ethylene response factor) 蛋白家族中，该蛋白家族是拟南芥中第二大的转录因子家族^[1]。该家族所有的成员都存在一到两个保守的 DNA 结合域——AP2 域，此域由 58 或 59 个氨基酸组成，可以形成一个 α -螺旋和 3 个反向平行的 β -折叠，后者可以与 DNA 螺旋中的碱基对相互作用^[2]。在植物中，该蛋白作为转录的激活因子或抑制因子，在植物的发育调控和应激反应中都起着重要的作用^[1]，因此曾被认为是植物所特有的转录因子家族。

2005 年，Balaji 等^[3] 在顶复门原虫中也发现了该类蛋白家族的存在，由于拥有与植物同源的 AP2 DNA 结合域，因此将其命名为顶复门原虫 AP2 (apicomplexan AP2, ApiAP2) 蛋白。完整的 AP2 蛋白在大小上有很大的差异，从几百到几千个氨基酸不等。但是与植物中的 AP2 域相类似的是，ApiAP2 蛋白中的 AP2 域长度也约 60 个氨基酸，有单独存在也有串联出现。与植物中每个蛋白只含有一到两个 AP2 域不同，ApiAP2 家族中的一些成员含有两个以上的 AP2 域^[4]。这也引起了研究者们极大的兴趣，这些独特的 AP2 结构与 ApiAP2 蛋白的功能是否有什么联系？

已有多项研究显示，ApiAP2 家族在顶复门原虫体内也扮演着转录因子的作用，而且同样能和含特定基序的 DNA 序列结合^[5]。ApiAP2 蛋白在疟原虫属中高度保守，在其它顶复门原虫，如泰累尔梨浆

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4122.2015.06.014

基金项目：国家国际科技合作专项项目 (2014DFA31130)

作者单位：¹200025 上海，中国疾病预防控制中心寄生虫病预防控制所，卫生部寄生虫病原与媒介生物学重点实验室，世界卫生组织热带病合作中心；²200237 上海，华东理工大学，生物工程学院

*通信作者：陈军虎，Email: junhuchen@hotmail.com

虫属、隐孢子虫属和弓形虫属，也高度保守。它们调控着寄生虫发育各个阶段的重要节点。

1 弓形虫ApiAP2蛋白

弓形虫的生命周期十分复杂，具有多个增殖和分化步骤。细胞分化形成的缓殖子组织包囊阶段是导致慢性弓形虫病的根本原因。Radke等^[6]发现了15种在缓殖子早期发育阶段编码APiAP2蛋白的mRNA。在碱性诱导细胞分化的过程中，这15种mRNA中的AP2IX-9 mRNA表达量增加最多。在蛋白水平上，AP2IX-9蛋白仅存在于早期缓殖子的细胞核中，而在速殖子和成熟的缓殖子中则会被抑制表达。AP2IX-9蛋白的超量表达可以明显减少组织包囊的形成，而敲除*ap2ix-9*基因则会增加组织包囊的形成，说明AP2IX-9可以限制缓殖子的发育。与之相对应的，AP2IX-9蛋白可以特异性地抑制缓殖子mRNA的形成，包括缓殖子的标志性蛋白——缓殖子抗原1 (bradyzoite antigen 1, BAG1) 的mRNA。通过蛋白结合微阵列，他们构建了AP2IX-9蛋白AP2域与DNA基序CAGTGT相结合的复合物，并且发现它能与调控BAG1的顺式调控元件和缓殖子特有的核苷三磷酸酶 (bradyzoite-specific nucleoside triphosphatase, B-NTPase) 的启动子相结合。AP2IX-9对BAG1表达的影响是直接的，该因子在体内抑制了由BAG1启动子控制的萤火虫荧光素酶基因的表达，而且表位标记的AP2IX-9可以与寄生虫染色质内的BAG1启动子免疫共沉淀。总之，这些结果都表明了AP2IX-9蛋白可以限制弓形虫发育成为成熟的缓殖子组织包囊。

Walker等^[7]的研究发现另一种ApiAP2蛋白TgAP2XI-4也可以调控缓殖子基因的表达以及包囊的形成。他们通过电泳迁移分析实验证明了含有TgAP2XI-4蛋白AP2结构域的重组蛋白可以特异性地与DNA基序结合。TgAP2XI-4蛋白存在于弓形虫速殖子的细胞核中，在胞质分裂后出现表达量高峰。Walker等^[7]发现TgAP2XI-4在缓殖子包囊中的转录水平比快速复制的速殖子中更高。在致病的弓形虫 I 型和非致病的弓形虫 II 型中敲除*tgap2xi-4*基因的实验揭示，该蛋白可以调控和从迅速复制的速殖子转换到休眠孢囊形成缓殖子相关基因的表达和启动子的活性。此外，感染了II型基因突变弓形虫的小鼠明显减少了脑包囊的负担。因此他们确认了TgAP2XI-4是一种可以在弓形虫分化和形成包囊阶段调控缓殖子基因表达的新的核因子。

Walker等^[8]报道了弓形虫中的另一种ApiAP2蛋白——TgAP2XI-5。该蛋白是一种与启动子活性有关的能与DNA序列特异性结合的转录因子，它可能调控弓形虫中关键致病因子的转录。该因子在300个基因的启动子上有结合靶点，并且可以积极地调控这些基因的转录，靶基因中包含一些对寄生虫毒力至关重要的基因。他们还鉴定了可被TgAP2XI-5识别的顺势调控元件，并通过实验展示了其激活基因转录的能力。

Lai等^[9]人用结合有磷酸二胺吗啉代寡核苷酸 (phosphorodiamidate morpholino oligomers, PMO) 的转导肽特异性地抑制了弓形虫中的AP2XI-3蛋白，结果弓形虫的增殖显著减少。这也从反面说明了该ApiAP2蛋白在弓形虫的增殖中起着重要的作用。

弓形虫中的ApiAP2蛋白可能还有着其它的功能。如弓形虫中有两个组蛋白乙酰基转移酶5 (general control of nucleotidesynthesis 5, GCN5) 家族的赖氨酸乙酰转移酶 (lysine acetyltransferases, KAT)，其中GCN5b KAT对于弓形虫的增殖有着不可或缺的作用，该类蛋白能和许多蛋白相互作用形成复合物，并富集于和转录、翻译、代谢有关的基因周围。但是这种蛋白本身没有DNA结合域，因此无法直接作用于目标基因。Wang等^[10]用染色质免疫共沉淀-芯片 (ChIP-chip) 和Western blot等技术证明了弓形虫GCN5b能和某些ApiAP2蛋白特异性结合，如AP2IX-7和AP2X-8。为GCN5b复合物与目标基因的结合提供了一个可能的机制，即GCN5b复合物先与AP2蛋白结合，再借由AP2蛋白的DNA结合域最终结合至目标基因。

2 疟原虫ApiAP2蛋白

2.1 恶性疟原虫ApiAP2蛋白家族

恶性疟原虫中基本的转录调控与其它真核生物十分相像，也是由一般的转录因子负责将RNA聚合酶 II 聚集到核心启动子元件去。已经成功鉴定出了基因表达所需的一些顺式元件，包括核心启动子上游的特殊增强子和阻遏蛋白结合区，但是在寻找反式作用因子方面却一直没有进展。最近，顶复门原虫中ApiAP2蛋白家族的发现让研究者们看见了希望^[3]。

2.1.1 恶性疟原虫ApiAP2蛋白的DNA结合特异性

最初，恶性疟原虫被预测一共有26种ApiAP2

因子, 每个含有1到3处AP2结构域^[11]。2008年, De Silva等^[12]利用蛋白结合微阵列芯片 (protein binding microarrays, PBM) 的方法, 验证了其中两个在恶性疟原虫无性阶段表达的ApiAP2蛋白AP2域的DNA结合特异性。这两个AP2域 (来自PF14_0633的单个AP2域和来自PFF0200c的串联AP2域) 分别代表了两种不同的AP2域结构, 一种是单独AP2域, 一种是串联的AP2域。实验证明这两个蛋白对独特的DNA序列基序有高度的结合特异性, 这些序列反复出现在无性发育期间被共同调控的基因的上游区。

此外, 尽管来自不同的顶复门物种间的ApiAP2蛋白有着广泛的序列差异, 但是直系同源的AP2域的DNA结合特异性却是基本保守的, 虽然它们所调控下游的目标蛋白不尽相同^[12]。

Campbell等^[5]在2010年发现了第27个高度保守的ApiAP2蛋白——PF13_0267。为了深入了解这些蛋白在恶性疟原虫中的调控作用, 他们同样利用了蛋白结合微阵列芯片的方法, 在体外检测了恶性疟原虫ApiAP2蛋白家族中所有27个成员的DNA结合特异性, 揭示了大部分恶性疟原虫ApiAP2蛋白特异性结合的DNA基序序列^[5]。

2.1.2 恶性疟原虫ApiAP2蛋白AP2域的晶体结构

最近, Lindner等^[13]测定了恶性疟原虫ApiAP2蛋白PF14_0633的AP2域与DNA结合时的晶体结构。其结构图显示, ApiAP2蛋白的AP2域也是由一个 α -螺旋和3个反向平行的 β -折叠组成, 后者能和DNA碱基相结合, 与在植物中完全一致, 说明AP2域的蛋白折叠方式在植物和顶复门原虫间是保守的。他们还确认了 β -折叠中直接与DNA碱基相连的4个重要氨基酸残基, 在所有来自顶复门原虫且与PF14_0633同源的蛋白中, 这4个残基都是高度保守的; 提示与之结合的DNA序列的特异性也是高度保守的, 即来自其它种的直系同源也能和类似的DNA序列基序结合^[13]。

另外, 进一步研究还揭示了当和DNA结合时AP2结构域会形成二聚体。Campbell等^[5]在对恶性疟原虫ApiAP2蛋白PF10_0075_D3进行凝胶电泳迁移率分析 (electrophoretic mobility shift assays, EMSA) 时发现了AP2结构域二聚化的现象。酵母双杂交分析也检测到了ApiAP2蛋白之间的联合, 为这种二聚化结构提供了证据。这意味着其它ApiAP2蛋白可能也会形成同源或异源二聚体, 从

而能够同时识别多个DNA序列基序, 这种异源二聚体还可能有助于组合调控基因的表达^[5]。综合考虑恶性疟原虫全基因组内的基序预测和疟原虫AP2结构域形成二聚体的能力, 暗示着这些因子可能通过协同工作一起来调控靶基因的表达。

2.1.3 恶性疟原虫ApiAP2蛋白的作用

ApiAP2蛋白家族是目前恶性疟原虫中已发现的最大的转录调节因子家族。Cai等^[14]通过比对两个物种间蛋白相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 网络中的相邻子网络的方法, 揭示了ApiAP2蛋白可能在染色质重组、蛋白分选和分泌、信号传导以及入侵等不同的细胞过程中都起到了作用。他们预测了11个恶性疟原虫ApiAP2家族的假定转录调控因子, 其中5个含有单个的AP2域、4个含有2个AP2域以及2个含有3个AP2域。综合来自STRING的蛋白结合数据以及酵母双杂交分析、时间芯片实验、蛋白质组学的数据和文献后, 他们发现这11个ApiAP2蛋白分别与细胞网络中的1~17个蛋白有关联。至少4个ApiAP2蛋白有相互作用, 提示它们在转录调控中起着重要的作用。ApiAP2蛋白中关联度最高的是PFD0985w, 它与17个蛋白有相互作用, 与其它2个ApiAP2蛋白 (PF07_0126和MAL8P1.153) 也有着直接的物理作用。它与染色质重组相关的核小体组装蛋白PFI0930c、有丝分裂纺锤体可能的组成蛋白PFF0785w都有关联。它还与3个表面抗原有关联, 其中2个抗原与疟原虫入侵宿主细胞有关^[14]。

2012年, Pino等^[15]通过实验明确了ApiAP2蛋白中具有激活转录功能的片段。他们将来自恶性疟原虫的3种ApiAP2蛋白 (PFF0200c/PfSIP2、PF11_0442和PF14_0633) 随机切成有重叠部分的200个氨基酸左右大小的片段。然后将这些片段的基因融合到酵母转录激活蛋白GAL4的DNA结合域的C端。再将该融合蛋白用于 β -半乳糖苷酶基因的表达, 通过定量检测 β -半乳糖苷酶的表达量来确定该片段是否具有反式激活作用, 若有作用, 则将该片段再切成更小的片段重复上述实验。最终实验结果显示, 来自PfSIP2蛋白第7片段中的一段包含有89个氨基酸的肽段 (被称作PfSIP2_7.3) 是最强的激活剂。其他片段如PfSIP2_6.1和PfSIP2_4.1.5也表现出了激活作用。他们还用另外一些随机片段替代PfSIP2_7.3进行了试验, 结果没有显示出激活作用, 这确保了这种激活作用完全是由该片段所导致的。

在弓形虫中也有类似的实验,在该实验中弓形虫 TetRep 蛋白发挥了类似酵母双杂交体系中酵母 GAL4 蛋白的作用。结果显示除了 TetRep 与预测的 AP2 激活域所融合形成的蛋白 TRAD2 中一段富含 AT 的片段没有表现出活性外,其余的 AP2 的片段都表现出了激活作用。TRAD4 中为了适宜弓形虫表达所优化的 PfSIP2_7.3 的互补 DNA 编码区也表现出了高度的活性^[15]。

除了具有激活转录的作用外, PfSIP2 蛋白很有可能通过与端粒和亚端粒位置的顺式作用元件 SEP2 相结合,在异染色质环境的形成和保持基因组完整性中起到重要作用,这对染色体末端结构有着重要的生物学意义。且其只与端粒近端区域的 SPE2 序列在体内特异性结合,而与染色体内单独的位点并不结合,说明其过量表达并不影响疟原虫整体的转录谱^[16]。

蛋白微阵列的数据显示恶性疟原虫 27 个 ApiAP2 蛋白中有 21 个在红细胞内生长周期 (intraerythrocytic developmental cycle, IDC) 间有表达^[17-18],但近来研究表明,一种灵敏度更高的 RNA 测序的方法显示,其余几个 ApiAP2 蛋白也有表达^[19]。这些蛋白表达的时间主要分为 4 个时段,分别对应着环状体、早期滋养体、早期裂殖体和红细胞内的裂殖体阶段。

红内期的疟原虫基因表达研究表明 ApiAP2 蛋白很可能是该阶段生长发育的主要转录调控因子。Yuda 等^[20-23] 分别对 27 个 ApiAP2 基因中的 4 个进行了基因干扰,结果都对恶性疟原虫血液阶段的生长发育造成了不同程度的影响。此外,仅有几个 ApiAP2 基因能被成功敲除,这意味着它们对于疟原虫红内期的发育可能有着至关重要的作用。

虽然很多 ApiAP2 蛋白都是在红内期有表达,但是转录组和蛋白质组学的研究表明在其他发育阶段也有该类蛋白表达。从红内期到有性发育过程的分析显示 ApiAP2 基因 *pff1100c*、*pf11_0091*、*pfd0985w*、*pf11_0442* 和 *pff0200c* 在早期的配子体生殖阶段有转录的证据^[4]。此外,5 个与 PfDOZI 相关的 ApiAP2 基因的转录物也在配子体中被发现,它们是 *pf13_0026*、*pf11_0091*、*pff0200c*、*pfd0200c* 和 *pf11_0442*^[4]。

综上所述,已有众多证据表明有多个 ApiAP2 蛋白在恶性疟原虫整个生命周期中都有表达,再次提示了该家族在疟原虫发育的各个阶段都是基因表达的主要调控因子。

2.1.4 恶性疟原虫 ApiAP2 蛋白与 var 基因

恶性疟原虫感染红细胞在红细胞分裂期的时候会产生一些分子,在红细胞的表面上形成不同的表面蛋白,避免免疫宿主应答,其中与细胞黏附和抗原变异有关的一个家族基因变异抗原基因是 var 基因家族。该家族共有约 60 种成员,在同一个区域和不同地理区域的疟原虫种群中, var 基因各不相同,可经历高水平的重组,产生更多的多样性。通过启动转录不同的 var 基因变异体为抗原变异提供了分子基础,其中 60 个基因只有一个表达, var 基因启动子的活化是触发其中一种蛋白基因的生成和另外 59 种基因沉默的关键,张青锋等^[24] 报道沉默的原因主要是通过非编码 DNA、染色质的结构和核外周基因定位 3 条途径在转录水平上调节互相排斥表达。

var 基因家族编码的产物恶性疟原虫红细胞膜蛋白 1 (*Plasmodium falciparum* erythrocyte membrane protein 1, PfEMP1), 在恶性疟原虫致病和免疫逃避过程中有重要作用,是恶性疟原虫抗原变异的主要效应分子、致病分子和免疫调节分子。前期研究发现,大部分 var 基因,主要是 C 类,内含子中含有一段长度为 18 bp 的保守序列 (intron nuclear protein-binding element, iNPE), 该序列能通过与核周肌动蛋白相互作用,参与调控 var 基因的核周定位和沉默,以及核周迁移和激活;由于肌动蛋白本身无法直接结合 iNPE 序列,因此肌动蛋白必须通过特定的内含子结合蛋白才能形成肌动蛋白/内含子 (actin/intron) 复合物^[25]。

Campbell 等^[5] 发现预测的 ApiAP2 蛋白的结合位点反复出现在 3 类 var 启动子的上游。之后, Zhang 等^[25] 通过凝胶迁移实验证实了恶性疟原虫 ApiAP2 蛋白家族中的 PF3D7_1107800 蛋白能够在体外特异结合 iNPE 序列。韩世通等^[26] 通过重组蛋白免疫小鼠的实验进一步证明了 PF3D7_1107800 蛋白在体内也可以与 C 类 var 基因内含子区域结合,进而确认了 PF3D7_1107800 可能通过介导核周围肌动蛋白与 iNPE 的相互作用,从而参与了调控 var 基因的核周迁移定位和沉默激活机制。

2.2 伯氏疟原虫 ApiAP2 蛋白

有研究报道了消除某一单个 ApiAP2 的基因后可以阻止伯氏疟原虫 (*Plasmodium berghei*) 动合子和子孢子的发育^[21-22],伯氏疟原虫中的 PBANKA_132980 蛋白能通过与 GCATGCA 基序相结合来

专一调控孢子上的目标基因,这对于孢子的形成是必不可缺的;伯氏疟原虫中另的一个蛋白—AP2-O (PBANKA_090590) 也被发现在其生命周期中有寄宿蚊虫的阶段,在感染蚊子的中肠时作为一种基因表达的激活因子^[5]。这些研究结果都说明了在伯氏疟原虫中ApiAP2蛋白也起到了重要的作用。

最近, Helm等^[27]在伯氏疟原虫中发现了一个肝阶段特异性的启动子区域,它只在疟原虫寄生于肝脏期间有活性。对该启动子区域进行生物信息学分析后发现,这段区域内存在4个ApiAP2蛋白PB000252.02.0的假定结合位点,而该蛋白在恶性疟原虫中的同源蛋白PF11_0404在红内期则未被检测到有表达。这意味着ApiAP2转录因子可能参与了阶段特异性的基因调控,因此推测该蛋白在伯氏疟原虫肝阶段起着重要的作用。

此外,在用荧光素酶进行基因分析的时候,使该启动子内某个ApiAP2蛋白的结合位点发生突变,导致了荧光素酶水平的增加。说明ApiAP2蛋白原先起到的是抑制作用。在疟原虫其他阶段使该位点发生突变,不会引起荧光素酶水平的增加,这进一步证实了该ApiAP2蛋白是伯氏疟原虫肝阶段特异性的转录调控因子^[27]。

2.3 疟原虫ApiAP2蛋白研究的最新进展

疟原虫在感染人类后再次回到蚊体内是它传播的必经过程,但红内期的疟原虫无法感染蚊虫,只有配子体是疟原虫感染蚊虫的唯一方式,而启动配子体发育的基因活化则需要AP2-G蛋白。可以说,AP2-G蛋白控制着疟原虫传播疾病的能力。

在一个品系的疟原虫群体中,AP2-G的水平差异很大,而且这样的差异反映了配子体的产量。由于这些疟原虫拥有同样的DNA组成,因此Llinás领导的研究团队认为,上述差异可能源自于表观遗传学修饰。他们发现AP2-G的组蛋白修饰决定了疟原虫的配子体生产^[28]。格拉斯哥大学的Andrew Waters和桑格研究所的Oliver Billker则领导了另一项相关研究。他们用一年时间筛选了无法进入有性阶段的鼠类疟原虫。为了明确造成这一效果的突变他们采用了二代测序技术,并发现这些疟原虫共同具有的突变基因是编码AP2-G蛋白的*ap2-g*基因^[29]。为了验证此假设,这两个研究团队在疟原虫中使*ap2-g*基因失活,结果证实这些寄生虫丧失了进入有性阶段的能力。而且研究显示,修复这些基因突变,可以使疟原虫重新恢复配子体产生。综上所述,只有

在AP2-G蛋白功能正常的情况下,疟原虫才能够进入有性阶段形成配子体^[28-29]。这些发现可以帮助人们开发针对疟原虫有性阶段的药物,阻断疟原虫的生活史循环能有效地防止疾病传播。

3 展 望

虽然ApiAP2蛋白可以与DNA结合这一点已经明确,大部分恶性疟原虫ApiAP2蛋白的结合基序也已经确定,但是这些结合实验大部分都是在体外进行的,在体内的结合力大小可能与体外不同,所以每个ApiAP2蛋白真正的结合基序还需大量的体内实验来确认^[4,5]。目前,疟原虫蚊体和红内期的一些体内实验已经展开。而且,就算ApiAP2蛋白能和一个基因上游的调控元件结合,也不意味着就一定有调控反应发生,许多基序的存在可能是无效的^[5]。所以ApiAP2蛋白的调控功能也还有待实验验证。之前酵母双杂交分析已证实了ApiAP2蛋白和染色质修饰蛋白间的相互作用,这种作用有助于将ApiAP2蛋白聚集到基因组上的目标位点。但ApiAP2蛋白是如何、何时定向至细胞核的,这又是否有激活调节作用,这些问题仍有待深入研究^[5]。另外,目前对于ApiAP2蛋白除AP2结构域外的其它功能域还一无所知。要想完全明了ApiAP2的功能,下一步就是要弄清这些蛋白中其他结构域的作用。

参 考 文 献

- [1] Riechmann JL, Meyerowitz EM. The AP2/EREBP family of plant transcription factors[J]. Biol Chem, 1998, 379(6): 633-646.
- [2] Allen MD, Yamasaki K, Ohme-Takagi M, et al. A novel mode of DNA recognition by a beta-sheet revealed by the solution structure of the GCC-box binding domain in complex with DNA [J]. EMBO J, 1998, 17(18): 5484-5496.
- [3] Balaji S, Babu MM, Iyer LM, et al. Discovery of the principal specific transcription factors of Apicomplexa and their implication for the evolution of the AP2-integrase DNA binding domains[J]. Nucleic Acids Res, 2005, 33(13): 3994-4006.
- [4] Painter HJ, Campbell TL, Llinas M. The Apicomplexan AP2 family: integral factors regulating *Plasmodium* development[J]. Mol Biochem Parasitol, 2011, 176(1): 1-7.
- [5] Campbell TL, De Silva EK, Olszewski KL, et al. Identification and genome-wide prediction of DNA binding specificities for the ApiAP2 family of regulators from the malaria parasite[J]. PLoS Path, 2010, 6(10): e1001165.
- [6] Radke JB, Lucas O, De Silva EK, et al. ApiAP2 transcription factor restricts development of the *Toxoplasma* tissue cyst[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2013, 110(17): 6871-6876.

- [7] Walker R, Gissot M, Croken MM, et al. The *Toxoplasma* nuclear factor TgAP2XI-4 controls bradyzoite gene expression and cyst formation[J]. Mol Microbiol, 2013, 87(3): 641-655.
- [8] Walker R, Gissot M, Huot L, et al. *Toxoplasma* transcription factor TgAP2XI-5 regulates the expression of genes involved in parasite virulence and host invasion[J]. J Biol Chem, 2013, 288(43): 31127-31138.
- [9] Lai BS, Witola WH, El Bissati K, et al. Molecular target validation, antimicrobial delivery, and potential treatment of *Toxoplasma gondii* infections[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2012, 109(35): 14182-14187.
- [10] Wang J, Dixon SE, Ting LM, et al. Lysine acetyltransferase GCN5b interacts with AP2 factors and is required for *Toxoplasma gondii* proliferation[J]. PLoS Path, 2014, 10(1): e1003830.
- [11] Gardner MJ, Hall N, Fung E, et al. Genome sequence of the human malaria parasite *Plasmodium falciparum*[J]. Nature, 2002, 419(6906): 498-511.
- [12] De Silva EK, Gehrke AR, Olszewski K, et al. Specific DNA-binding by apicomplexan AP2 transcription factors[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008, 105(24): 8393-8398.
- [13] Lindner SE, De Silva EK, Keck JL, et al. Structural determinants of DNA binding by a *P. falciparum* ApiAP2 transcriptional regulator [J]. J Mol Biol, 2010, 395(3): 558-567.
- [14] Cai H, Hong C, Gu J, et al. Module-based subnetwork alignments reveal novel transcriptional regulators in malaria parasite *Plasmodium falciparum*[J]. BMC Syst Biol, 2012, 6 Suppl 3: S5.
- [15] Pino P, Sebastian S, Kim EA, et al. A tetracycline-repressible transactivator system to study essential genes in malaria parasites[J]. Cell Host Microbe, 2012, 12(6): 824-834.
- [16] Flueck C, Bartfai R, Niederwieser I, et al. A major role for the *Plasmodium falciparum* ApiAP2 protein PfSIP2 in chromosome end biology[J]. PLoS Path, 2010, 6(2): e1000784.
- [17] Bozdech Z, Llinas M, Pulliam BL, et al. The transcriptome of the intraerythrocytic developmental cycle of *Plasmodium falciparum*[J]. PLoS Biol, 2003, 1(1): E5.
- [18] Le Roch KG, Zhou Y, Blair PL, et al. Discovery of gene function by expression profiling of the malaria parasite life cycle[J]. Science, 2003, 301(5639): 1503-1508.
- [19] Otto TD, Wilinski D, Assefa S, et al. New insights into the blood-stage transcriptome of *Plasmodium falciparum* using RNA-Seq[J]. Mol Microbiol, 2010, 76(1): 12-24.
- [20] Balu B, Chauhan C, Maher SP, et al. piggyBac is an effective tool for functional analysis of the *Plasmodium falciparum* genome[J]. BMC Microbiol, 2009, 9(1): 83.
- [21] Maier AG, Rug M, O'Neill MT, et al. Exported proteins required for virulence and rigidity of *Plasmodium falciparum*-infected human erythrocytes[J]. Cell, 2008, 134(1): 48-61.
- [22] Yuda M, Iwanaga S, Shigenobu S, et al. Transcription factor AP2-Sp and its target genes in malarial sporozoites[J]. Mol Microbiol, 2010, 75(4): 854-863.
- [23] Yuda M, Iwanaga S, Shigenobu S, et al. Identification of a transcription factor in the mosquito-invasive stage of malaria parasites[J]. Mol Microbiol, 2009, 71(6): 1402-1414.
- [24] 张青峰, 潘卫庆. 恶性疟原虫 *Var* 基因家族的变异调控机制[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2007, 25(4): 337-341.
- [25] Zhang Q, Huang Y, Zhang Y. A critical role of perinuclear filamentous action in spatial repositioning and mutually exclusive expression of virulence genes in malaria parasites[J]. Cell Host Microbe, 2011, 10(5): 451-463.
- [26] 韩世通, 张青峰, 潘卫庆. 恶性疟原虫 ApiAP2 蛋白与 *var* 基因内含子序列相互作用的体内鉴定[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2014, 32(1): 1-5.
- [27] Helm S, Lehmann C, Nagel A, et al. Identification and characterization of a liver stage-specific promoter region of the malaria parasite *Plasmodium*[J]. PLoS One, 2010, 5(10): e13653.
- [28] Kafsack BF, Rovira-Graells N, Clark TG, et al. A transcriptional switch underlies commitment to sexual development in malaria parasites[J]. Nature, 2014, 507(7491): 248-252.
- [29] Sinha A, Hughes KR, Modrzynska KK, et al. A cascade of DNA-binding proteins for sexual commitment and development in *Plasmodium*[J]. Nature, 2014, 507(7491): 253-257.

(收稿日期: 2015-06-02)

(本文编辑: 孙雅雯, 陈勤)