

DOI: 10.13718/j.cnki.xdzk.2024.02.007

吴天乐, 王磊, 王冰楠, 等. 犬弓首蛔虫超氧化物歧化酶的分子特性及原核表达 [J]. 西南大学学报(自然科学版), 2024, 46(2): 62-70.

## 犬弓首蛔虫超氧化物歧化酶的 分子特性及原核表达

吴天乐, 王磊, 王冰楠, 孙雪, 杨晓伟, 周荣琼

西南大学 动物医学院, 重庆 荣昌 402460

**摘要:** 为探究犬弓首蛔虫(*Toxocara canis*, *T. canis*)超氧化物歧化酶(Superoxide Dismutase, SOD)的分子特性, 根据 GenBank 中登录的 *Tc-sod* 基因序列(GenBank: AAB00227.1), 以 *T. canis* DNA 为模板对 *Tc-sod* 全长基因进行扩增, 并进行序列分析和多重序列比对; 同时构建 *Tc-sod*/pET-32a 原核表达载体, 经 IPTG 诱导表达, 对重组蛋白进行纯化并制备多克隆抗体. 结果显示 *Tc-sod* 全长基因为 573 bp, 共编码 190 个氨基酸; 多重序列分析表明 *Tc-SOD* 的氨基酸序列与曼氏血吸虫、异尖线虫、美洲板口线虫、马来丝虫、犬钩口线虫均具有 SOD-Cu 保守结构域. 种系发育分析发现 *Tc-SOD* 与马来丝虫进化关系较近. SDS-PAGE 结果显示重组蛋白 *Tc-SOD* 的大小约为 37 ku, 以可溶性形式表达; 利用 Ni-NTA 亲和层析柱纯化蛋白, 以 70 mmol/L 咪唑进行洗脱时可获得高纯度的目的蛋白; 将纯化后的重组蛋白免疫新西兰大白兔制备多克隆抗体, 间接 ELISA 检测显示抗体滴度  $>1:320\,000$ , 表明重组蛋白的免疫原性较好; Western Blot 结果显示抗体能与 *Tc-SOD* 蛋白特异性结合, 表明抗体特异性高.

**关键词:** 犬弓首蛔虫; 超氧化物歧化酶; 分子特性;

原核表达; 多克隆抗体

中图分类号: S852.7

文献标志码: A

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



文章编号: 1673-9868(2024)02-0062-09

## Molecular Characterization and Prokaryotic Expression of *Toxocara canis* Superoxide Dismutase

WU Tianle, WANG Lei, WANG Bingnan,  
SUN Xue, YANG Xiaowei, ZHOU Rongqiong

College of Veterinary Medicine, Southwest University, Rongchang Chongqing 402460, China

**Abstract:** To study the molecular characteristics of *Toxocara canis* superoxide dismutase (*Tc-sod*), the

收稿日期: 2023-07-31

基金项目: 重庆市自然科学基金项目(cstc2019jcyj-msxm2338); 中央高校基本科研业务费资助项目(XDJK2020RC001).

作者简介: 吴天乐, 硕士, 主要从事寄生虫分子生物学研究.

通信作者: 周荣琼, 教授.

full-length cDNA of *Tc-sod* gene was amplified as template according to the genomic data of *Tc-sod* (GenBank: AAB00227.1) and sequence analysis and multiple sequence alignment were performed. The prokaryotic expression vector *Tc-sod/pET-32a* was constructed and induced by IPTG. The recombinant protein was purified and polyclonal antibody was prepared. The results showed that the full-length sequence of the *Tc-sod* gene was 573 bp, which encode 190-amino acids. Multiple alignment found that the amino acid sequence of *Tc-SOD* shared a conserved domain of SOD-Cu with that of *Schistosoma mansoni*, *Anisakis simplex*, *Necator americanus*, *Brugia malayi* and *Ancylostoma caninum*. The phylogenetic tree analysis suggested that *Tc-SOD* was closely related to the sequence of *B. malayi*. SDS-PAGE showed that the recombinant protein *Tc-SOD* was about 37 ku in size and expressed in soluble form. The protein was purified by Ni-NTA affinity chromatography. The high purity protein was obtained by elution with 70 mmol/L imidazole, and used to immunize the New Zealand white rabbits to prepare polyclonal antibody. Indirect ELISA showed that the antibody titer was  $>1:320\,000$ , indicating that the recombinant protein had good immunogenicity. The Western Blot result showed that the antibody could specifically bind to *Tc-SOD*, indicating that the antibody had good specificity.

**Key words:** *Toxocara canis*; superoxide dismutase; molecular characteristics; prokaryotic expression; polyclonal antibody

犬弓首蛔虫(*Toxocara canis*, *T. canis*)是一种广泛分布于世界各地的人兽共患寄生线虫。*T. canis*生活史复杂,其虫卵随粪便排出后,在适宜的自然环境下发育为感染性虫卵<sup>[1-3]</sup>。终末宿主摄入感染性虫卵后,幼虫经循环系统移行至肠道发育为成虫。非特异宿主摄入感染性虫卵后,幼虫不能发育为成虫,而是移行到神经、肌肉、内脏等组织器官,成为滞育的感染性L3幼虫<sup>[4-5]</sup>。人(特别是儿童)因污染的水、土壤、水果和蔬菜中的感染性虫卵或食入来自非特异性宿主如牛、羊、兔、鸡等未煮熟的肉/内脏中滞育的感染性幼虫而感染。根据侵入器官、感染强度、迁移持续时间及年龄和宿主的免疫反应,可以导致多种临床综合征<sup>[6-7]</sup>。此外,感染性虫卵还可引起心肌内膜炎、脑膜炎、眼内炎、哮喘及癫痫等疾病,因此研究犬弓首蛔虫在兽医学及公共卫生学上都具有重要意义。

超氧化物歧化酶(Superoxide Dismutase, SOD)是一种广泛存在于动物、植物和微生物体内的金属酶类<sup>[8-10]</sup>。根据辅基所结合的金属离子不同,SOD可分为4种类型,分别为Cu/Zn-SOD, Mn-SOD, Fe-SOD及Ni-SOD<sup>[11]</sup>,只在某些极少数原核细菌中报道有NiSOD存在<sup>[12]</sup>。SOD是维持抗氧化系统的第一道防线,它能够催化超氧阴离子自由基歧化生成过氧化氢( $H_2O_2$ )和氧( $O_2$ ),在保护机体细胞免受氧自由基毒害中起到至关重要的作用,且与很多疾病的发生和发展紧密相关<sup>[13]</sup>。寄生虫SOD在抗氧化、免疫逃避和虫体存活等过程中起着重要的作用。据报道,大片吸虫(*Fasciola gigantica*)分泌排泄蛋白SOD诱导的抗氧化作用与虫体逃避中性粒细胞、巨噬细胞或树突状细胞产生活性氧(Reactive Oxygen Species, ROS)的免疫反应有关<sup>[14]</sup>;疟原虫(*Plasmodium vinckei*)SOD通过降解宿主红细胞的血红蛋白产生ROS,以利于红细胞内疟原虫的存活<sup>[15]</sup>;克氏锥虫(*Trypanosoma cruzi*)MnSOD缺乏会加剧线粒体电子传递链的功能障碍,并造成患病动物心脏的过度氧化损伤<sup>[16]</sup>。

目前,对于犬弓首蛔虫超氧化物歧化酶的研究较少。本研究运用分子生物学技术,首先克隆*Tc-sod*基因并进行序列分析;随后构建*Tc-sod/pET-32a*原核表达载体并制备多克隆抗体,以期为进一步研究*Tc-SOD*的生物学功能奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

*T. canis*虫体采自于西南大学荣昌校区动物医院的患病犬。虫体经过洗涤及形态学鉴定后冷冻于液氮

中,从 *T. canis* 雌虫卵巢收集虫卵,放置于恒温培养箱中培养 1~2 周获得 L2 幼虫;新西兰大白兔购自西南医科大学实验动物中心。

PremixTaq DNA 聚合酶、pMD19-T (simple) Vector、限制性内切酶 *Xho* I、*Bam* HI、PrimeScript™ RT reagent Kit 购自 TaKaRa 公司; Trizol 试剂购自 Invitrogen(赛默飞)公司; HRP 标记的山羊抗兔 IgG 购自 Sangon Biotech 公司、Ni-NTA 纯化树脂预装柱、Protein A+G Agarose 抗体纯化试剂盒购自碧云天生物技术公司、EasyPure © 胶回收试剂盒、质粒提取试剂盒购自北京 TransGen Biotech(全式金)公司。

## 1.2 方法

### 1.2.1 引物的设计与合成

根据 *T. canis* 基因组数据(GenBank: AAB00227.1),利用 Primer-Premier 6.0 对 *Tc-sod* 进行引物设计。基因克隆引物(F1: 5'-ATGACAGGATTGTTATTGGC-3'; R1: 5'-TTACGGTGCGCCTGAGCTC-3')和原核表达引物(F2: 5'-CGCGGATCC ATGCAAAGACCAAATTCA-3', 引入酶切位点 *Bam* HI; R2: 5'-CCGCTCGAGTTACGGTGCGCCTGAGCT-3', 引入酶切位点 *Xho* I),送至重庆擎科兴业生物科技有限公司进行合成。

### 1.2.2 总 RNA 的提取与反转录

采用 TRIzol 法提取 *T. canis* 雄虫、雌虫和 L2 幼虫的总 RNA,并用核酸蛋白测定仪检测其浓度和纯度;以提取的总 RNA 为模板,按 PrimeScript™ RT reagent Kit 说明书反转录合成 cDNA。

### 1.2.3 *Tc-sod* 全长基因克隆和序列分析

以反转录的 *T. canis* 雄虫、雌虫和 L2 幼虫 cDNA 为模板进行 PCR 扩增。PCR 反应条件为: 94 °C 预变性 5 min、94 °C 变性 30 s、56 °C 退火 30 s、72 °C 延伸 30 s,共 35 个循环,最后 72 °C 延伸 10 min,扩增产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳,用凝胶成像系统扫描并记录结果。

按照 EasyPure © 胶回收试剂盒说明书切胶回收 PCR 产物,将回收产物与 pMD19-T (simple) Vector 载体进行连接,全部连接产物转化至 100  $\mu$ L 大肠杆菌(*Escherichia coli*) DH5 $\alpha$  感受态细胞中,涂布于含 IPTG 和 X-gal 的 LB/Amp<sup>+</sup> 琼脂平板中,于 37 °C 恒温培养箱正置培养 30 min,再倒置培养 12~16 h。挑取单菌落接种于含 LB/Amp<sup>+</sup> 液体培养基中,37 °C、180 r/min 培养 12~24 h,将菌液 PCR 鉴定为阳性的重组菌液送至重庆擎科兴业生物科技有限公司测序。测序结果利用 Clustal Omega 软件进行多重序列比对;采用 MEGA 7.0 的邻接法(Neighbour-joining, NJ 法)构建系统进化树,并用 Bootstrap 进行进化树可靠性分析,共 1 000 个重复。

### 1.2.4 原核表达载体的构建

按质粒提取试剂盒说明书提取阳性重组质粒 *Tc-sod*/pMD19-T 和 pET-32a 质粒,经限制性内切酶 *Xho* I 和 *Bam* HI 双酶切,切胶回收目的基因 *Tc-sod* 与 pET-32a 质粒、DNA Ligation Kit 进行连接反应。在冰上配制连接反应液: Digested pET-32a DNA 1  $\mu$ L、*Tc-sod* 4  $\mu$ L、Ligation Mix 5  $\mu$ L; 16 °C 反应 1 h。重组表达质粒转化至 DH5 $\alpha$  感受态细胞,经蓝白斑筛选后挑取白色单个菌落接种于 LB/Amp<sup>+</sup> 液体培养基中,37 °C 185 r/min 培养 12~14 h。利用北京 TransGen Biotech(全式金)质粒小提试剂盒提取质粒,进行 PCR、双酶切及测序鉴定。

### 1.2.5 目的蛋白的表达与纯化

挑选阳性菌,经 PCR 鉴定后提取质粒,并将其转化至 BL21(DE3)感受态细胞,挑单菌落接种于 LB/Amp<sup>+</sup> 液体培养基中,37 °C 185 r/min 振荡培养 3 h,OD<sub>600</sub> 值约为 0.8,加入 0.4 mmol/L 的 IPTG 37 °C 诱导 8 h;将菌液置于 15 °C 离心机,4 500 r/min 离心 10 min,收集菌体沉淀,用 PBS 洗涤离心 2~3 次后,再用 Washing Buffer 重悬菌体,并进行超声破碎、离心,分别取破碎上清液和破碎沉淀进行 SDS-PAGE 电泳检测;采用 Ni-NTA 纯化目的蛋白,并选择不同浓度梯度的咪唑洗脱液对目的蛋白进

行洗脱, 利用 SDS-PAGE 电泳检测纯化结果.

### 1.2.6 多克隆抗体的制备及特异性鉴定

利用透析法去除重组蛋白中的咪唑, 对蛋白进行浓缩以达到免疫浓度. 以新西兰大白兔(体质量 2~2.5 kg)为免疫动物, 首免将 250  $\mu\text{g}$  重组蛋白与弗氏完全佐剂 1:1 混合, 乳化后在颈背部皮下以多点注射的方式对两只健康新西兰大白兔进行首免; 初次免疫后每隔 2 周加强免疫 1 次, 共加强免疫 3 次. 采用 250  $\mu\text{g}$  重组蛋白与弗氏不完全佐剂 1:1 混合, 乳化后免疫. 末次免疫 7 d 后采血, 离心取血清. 将纯化后的重组蛋白用包被液稀释为 5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 4 包被过夜, 利用 ELISA 法检测抗体效价, 酶标仪检测  $OD_{450}$  值, 当检测孔与阴性孔的比值大于(等于)2.1 时的最大稀释倍数为该血清最高的抗体效价. 达到所需效价后采血制备、纯化多克隆抗体, 以免抗 *Tc-SOD* 多克隆抗体 1:10 000 稀释作为一抗, 并用辣根过氧化物酶(HRP)、标记的羊抗兔 IgG(1:5 000)稀释作为二抗, 进行 Western Blot 检测.

## 2 结果及分析

### 2.1 *Tc-sod* 全长基因的 PCR 扩增

经 PCR 扩增后 1% 琼脂糖凝胶电泳结果显示 *Tc-sod* 在雄虫、雌虫和 L2 幼虫的全长 CDS(Coding Sequence)序列大小约为 573 bp(图 1A). 将凝胶回收产物与 pMD19-T(simple)连接, 经菌液 PCR 鉴定后, 电泳结果显示在 573 bp 处有特异性条带, 阴性对照没有出现条带(图 1B).

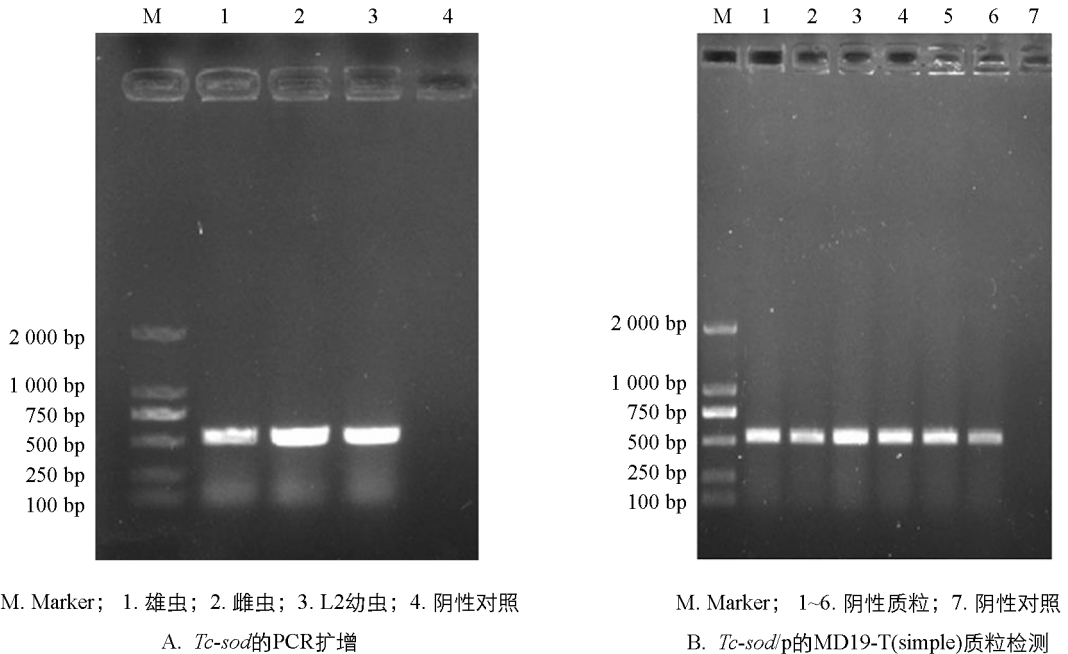


图 1 *Tc-sod* 全长基因的 PCR 扩增

### 2.2 *Tc-SOD* 蛋白氨基酸多重序列比对及种系发育进化分析

将阳性克隆的菌液进行测序, 并对从雄虫、雌虫、L2 幼虫获得的碱基序列进行分析, 结果显示 *Tc-sod* 全长基因的序列长度为 573 bp, 含有 1 个完整的 CDS, 共编码 190 个氨基酸残基; 功能结构域分析结果显示 *Tc-SOD* 蛋白的 1~19 位氨基酸为信号肽区域, 含有一个跨膜区, 46~184 位为 SOD-Cu 保守结构域. 将测序获得的 *Tc-SOD* 氨基酸序列与曼氏血吸虫(*Schistosoma mansoni*; GenBank NO. AAA29934.1)、异尖线虫(*Anisakis simplex*; GenBank NO. AXS78294.1)、美洲板口线虫(*Necator americanus*; GenBank NO. ETN83232.1)、马来丝虫(*Brugia malayi*; GenBank NO. AAR06638.1)、犬钩口线虫(*Ancylostoma caninum*; GenBank NO. RCN48093.1)的 SOD 蛋白氨基酸序列进行多重序列比对, 结果显示均含有 SOD-

Cu 保守结构域(图 2 红色方框标记).

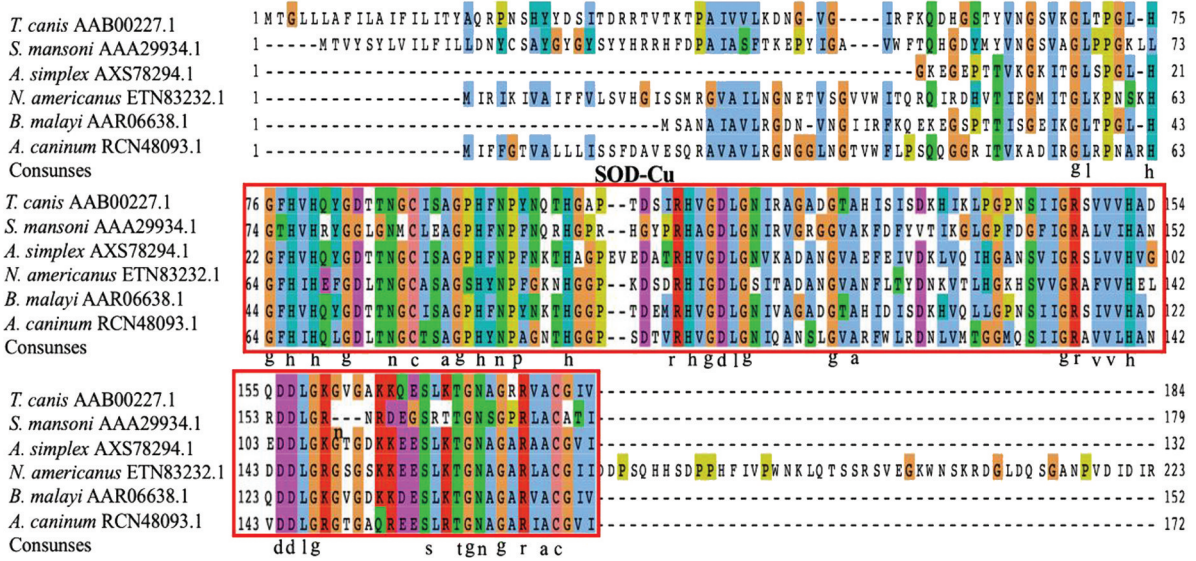


图 2 Tc-SOD 蛋白氨基酸序列多重序列比对

将 *Tc-sod* 编码的氨基酸序列与 GenBank 收录的马来丝虫(*B. malayi*, GenBank NO. AAR06638.1)、曼氏血吸虫(*S. mansoni*, GenBank NO. AAA29934.1)、家鼠(*Mus musculus*, GenBank NO. CAA59335.1)、膜壳绦虫(*Hymenolepis microstoma*, GenBank NO. CUU99344.1)、盘尾丝虫(*Onchocerca volvulus*, GenBank NO. CAA57657.1)、犬钩口线虫(*A. caninum*, GenBank NO. RCN48093.1)、李斯特菌(*Listeria ivanovii*, GenBank NO. PZG50121.1)、猪带绦虫(*Taenia solium*, GenBank NO. AEL75047.1)、猪蛔虫(*Ascaris suum*, GenBank NO. ADY46004.1)、异尖线虫(*A. simplex*, GenBank NO. AXS78294.1)、有齿食道口线虫(*Oesophagostomum dentatum*, GenBank NO. KHJ97909.1)氨基酸序列进行比对并构建进化树(图 3),结果显示 *Tc-SOD* 与马来丝虫(*B. malayi*, GenBank NO. AAR06638.1)处于同一分支,表明其进化关系较近.

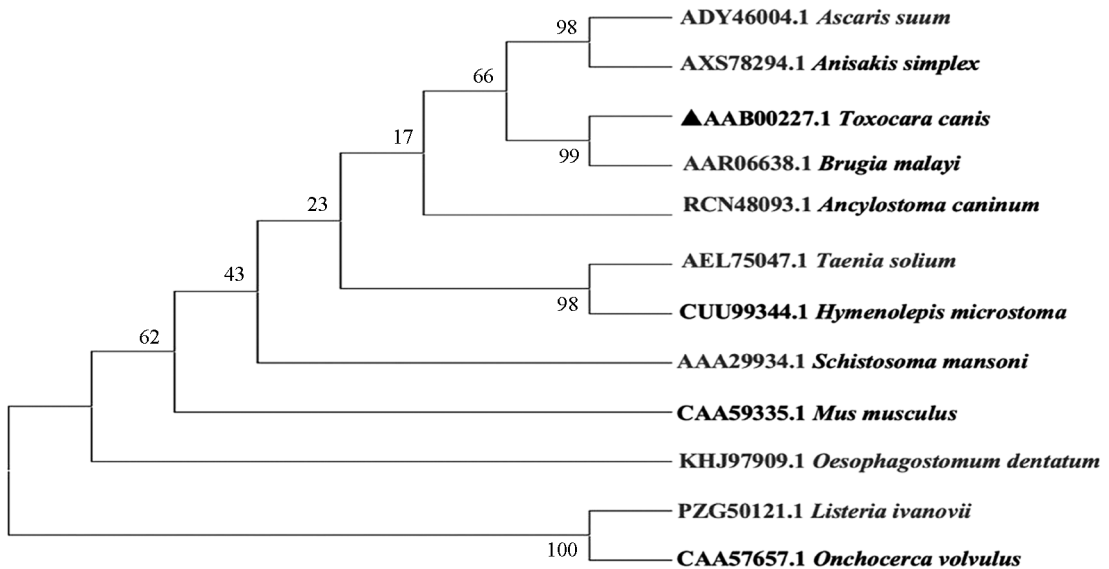


图 3 蛋白 Tc-SOD 氨基酸种系发育进化分析

### 2.3 Tc-sod/pET-32a 表达质粒构建

将测序成功的 *Tc-sod* 序列亚克隆至 pET-32a, 经菌液 PCR 检测, 可见 1% 琼脂凝胶电泳结果具有清

晰明亮的条带, 且大小与预期相符(图 4B); 经双酶切鉴定, 结果表明已成功连接至 pET-32a(图 4C).

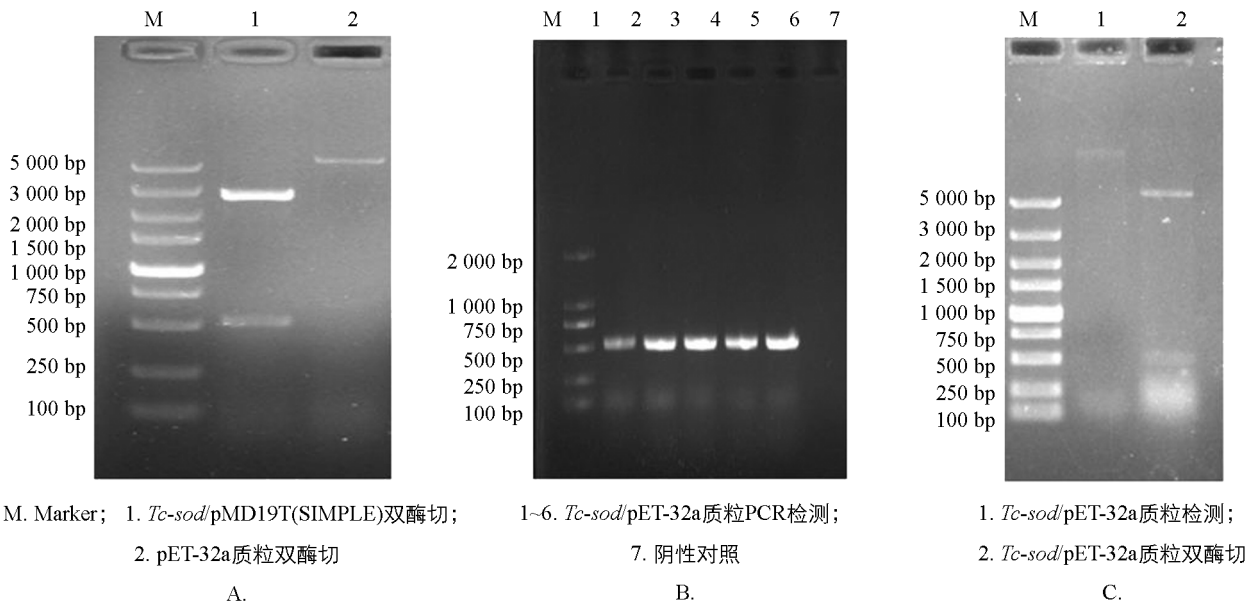


图 4 *Tc-sod*/pET-32a 表达质粒构建

## 2.4 *Tc-SOD* 重组蛋白的诱导表达及纯化

将阳性重组质粒转化至 BL21(DE3)感受态细胞后挑取单个菌落培养, 于 37 °C 经 IPTG 诱导后进行 SDS-PAGE 分析, 结果显示表达产物大多数都是以可溶性蛋白的形式存在于上清液中, 只有少量存在于包涵体内(图 5A); 重组蛋白 *Tc-SOD* 大小约为 37 ku; 利用 Ni-NTA 对重组蛋白进行纯化, 结果表明纯化后的蛋白经 SDS-PAGE 检测无明显杂带(图 5B), 蛋白具有较高的浓度和纯度; 且在筛选纯化条件时, 选择 70 mmol/L 咪唑洗脱液进行洗脱的蛋白浓度更高, 效果更好(图 6A).

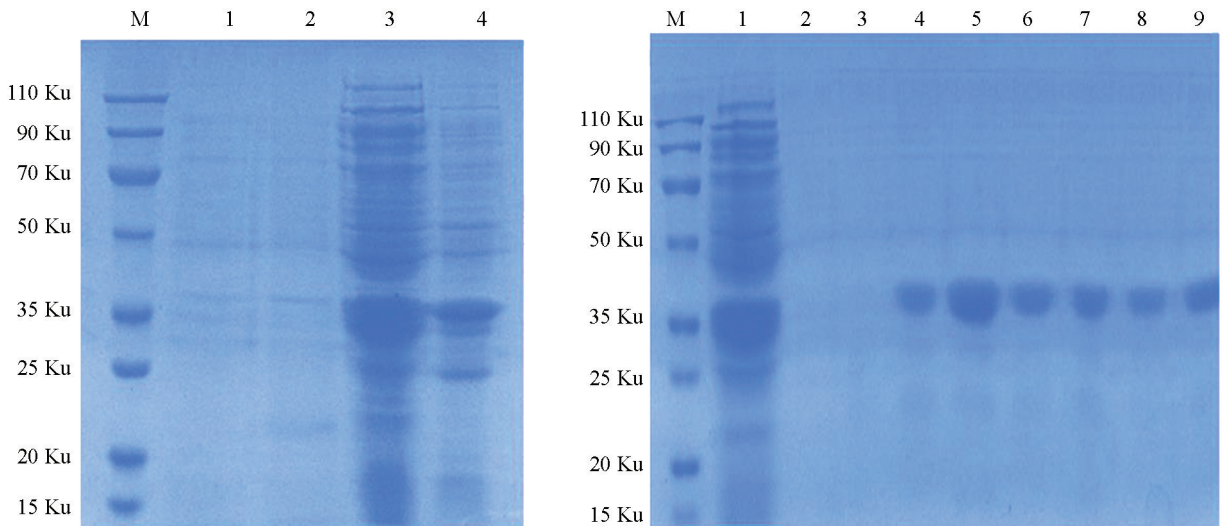
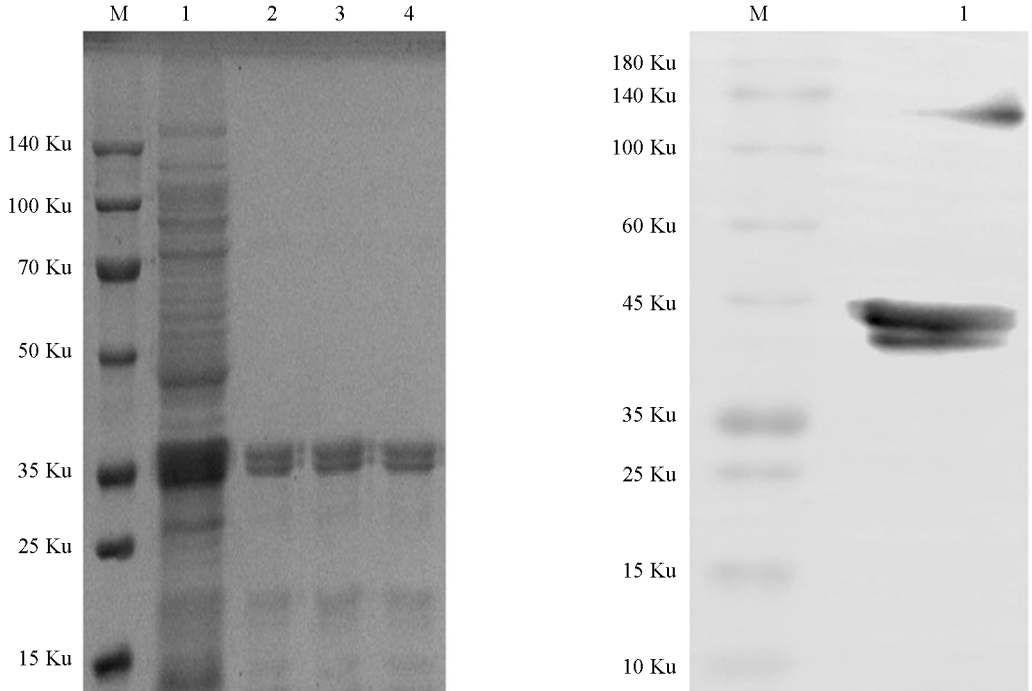


图 5 *Tc-SOD* 重组蛋白的诱导表达及纯化

## 2.5 多克隆抗体的特异性鉴定

将纯化后的重组蛋白 *Tc-SOD* 包被 96 孔板, 免疫前的血清为阴性对照, 利用间接 ELISA 法测定兔抗 *Tc-SOD* 多克隆抗体的效价, 结果显示抗体滴度  $>1:320\ 000$ , 具有较高的效价, 可用于后续试验. West-

ern Blot 检测结果显示兔抗 *Tc*-SOD 多克隆抗体较高,能和重组 *Tc*-SOD 蛋白特异性结合,表明其具有较好的特异性.



M. Marker; 1. *Tc-sod*/pET-32a蛋白过柱前; 2~4. 70 mmol/L咪唑洗脱

A. *Tc*-SOD蛋白的纯化

B. 多克隆抗体的特异性鉴定

图 6 *Tc*-SOD 蛋白纯化及多克隆抗体的特异性鉴定

### 3 讨论

超氧化物歧化酶(SOD)是生物体内普遍存在的一类重要金属抗氧化酶,在机体氧化与抗氧化平衡中起到至关重要的作用,其经典功能是清除体内超氧阴离子并参与活性氧自由基代谢.研究表明,SOD与抗氧化、心血管疾病、肿瘤及免疫逃避等密切相关<sup>[17-19]</sup>.此外,SOD还参与生物机体的多种生理/病理反应.在小鼠体内SOD参与调节乳腺发育所需的蛋白质和转录因子对氧化应激的不同敏感反应,被证明与小鼠的乳腺发育及哺乳有关<sup>[20]</sup>.在微生物中ROS细胞水平由抗氧化酶和小分子抗氧化剂控制,当细菌被免疫效应细胞吞噬后暴露在氧化应激环境下,细菌将能量从细胞质NADPH转移到抗氧化酶中,从而增强其毒力作用<sup>[21]</sup>.

寄生虫SOD具有抗氧化、免疫逃避和虫体存活等多种生物学功能.寄生虫在寄生过程中既有宿主作为防御系统产生的ROS,也有虫体代谢产生的ROS,因此清除这双重来源的ROS成为寄生虫能够建立长期寄生的重要前提,而ROS的产生被认为是虫体针对宿主产生免疫逃避的一个重要防御机制.盘尾丝虫(*Onchocerca volvulus*)微丝蚴和成虫在人体迁移和寄居过程中通过SOD清除有毒自由基,以利于虫体存活<sup>[22]</sup>.Lalrinkima等<sup>[14]</sup>报道大片吸虫SOD诱导的抗氧化作用与虫体逃避巨噬细胞产生活性氧(ROS)的免疫反应有关.

本研究发现犬弓首蛔虫SOD含有保守的SOD-Cu结构域.SOD-Cu作为铜伴侣能介导特定细胞内信号分子的传递途径,其主要功能是将 $\text{Cu}^{2+}$ 输送到Cu/ZnSOD不同细胞内的特定靶点,对其功能的发挥至关重要. $\text{Cu}^{2+}$ 与酶活性水平也有密切关系.在哺乳动物中缺乏铜伴侣的小鼠组织SOD基因活性明显减少,对氧化应激敏感程度更高<sup>[23]</sup>.铜伴侣在介导氧化应激反应过程中参与激活SOD活性调节机制,通过调节

其表达水平以应对氧化环境的变化<sup>[24]</sup>. Feng 等<sup>[25]</sup>证明甲壳动物的 SOD 被  $\text{Cu}^{2+}$  激活后, 在免疫调节反应中发挥重要作用.

在重组蛋白表达系统中, 大肠杆菌表达系统是目前最为成熟的原核表达系统. 本研究所选择的 pET-32a 载体表达的目的蛋白带有组氨酸标签, 能通过镍柱有效纯化重组蛋白. 对表达条件进行优化, 在  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  诱导 8 h, 能得到大量的可溶性重组蛋白; 通过镍柱亲和层析纯化, 最终在  $70\text{ mmol/L}$  咪唑浓度洗脱时得到的目的蛋白条带单一, 表明重组蛋白具有较高的浓度和纯度. 将纯化后的重组蛋白免疫新西兰大白兔制备多克隆抗体, 通过间接 ELISA 法对制备的抗 *Tc*-SOD 多克隆抗体效价及抗原特异性进行鉴定. 结果显示本研究成功制备出了抗 *Tc*-SOD 多克隆抗体, 效价高达  $1 > 320\ 000$ . Western Blot 检测显示制备的多克隆抗体能够识别 *Tc*-SOD, 具有较好的特异性.

## 4 结论

犬弓首蛔虫 *Tc-sod* 基因全长序列为 573 bp, 共编码 190 个氨基酸; 成功构建了 *Tc-sod*/pET-32a 原核表达载体, 得到了可溶性重组蛋白, 免疫新西兰大白兔并得到了高效价的多克隆抗体; Western Blot 检测显示抗体特异性较高. 本试验为后续 *Tc*-SOD 的生物学功能研究奠定了基础.

## 参考文献:

- [1] ZHENG W B, ZOU Y, HE J J, et al. Global Profiling of LncRNAs-miRNAs-mRNAs Reveals Differential Expression of Coding Genes and Non-Coding RNAs in the Lung of Beagle Dogs at Different Stages of *Toxocara Canis* Infection [J]. International Journal for Parasitology, 2021, 51(1): 49-61.
- [2] WU T, BOWMAN D D. Visceral Larval Migrans of *Toxocara Canis* and *Toxocara Cati* in Non-Canid and Non-Felid Hosts [J]. Advances in Parasitology, 2020, 109(1): 63-88.
- [3] MA G X, HOLLAND C V, WANG T, et al. Human Toxocariasis [J]. The Lancet Infectious Diseases, 2018, 18(1): e14-e24.
- [4] FAKHRI Y, GASSER R B, ROSTAMI A, et al. *Toxocara* Eggs in Public Places Worldwide—a Systematic Review and Meta-Analysis [J]. Environmental Pollution, 2018, 242(10): 1467-1475.
- [5] CHEN J, LIU Q, LIU G H, et al. Toxocariasis: A Silent Threat with a Progressive Public Health Impact [J]. Infectious Diseases of Poverty, 2018, 7(1): 59.
- [6] 李芳, 陈绍基, 谭纯, 等. 犬弓首蛔虫 *Tc*-PEBP 的分子特性及组织表达分析 [J]. 西南大学学报(自然科学版), 2022, 44(3): 75-82.
- [7] DESPOMMIER D. Toxocariasis: Clinical Aspects, Epidemiology, Medical Ecology, and Molecular Aspects [J]. Clinical Microbiology Reviews, 2003, 16(2): 265-272.
- [8] 贾海红, 李冰清. 超氧化物歧化酶翻译后修饰的研究进展 [J]. 生物技术通报, 2022, 38(2): 237-244.
- [9] 黄泳, 杨艺, 赵颖, 等. NEFA 对牛骨骼肌细胞线粒体功能及脂肪酸代谢相关基因的影响 [J]. 南方农业学报, 2023, 54(7): 2115-2125.
- [10] 孙旋辉, 邴旭文, 丁炜东, 等. 高温应激对鳊幼鱼血清生化指标及肝脏 SOD 基因和热休克蛋白基因表达的影响 [J]. 南方农业学报, 2022, 53(12): 3539-3547.
- [11] 李爱华, TONGSOO KIM. 猪囊尾蚴铜/锌超氧化物歧化酶(Cu/ZnSOD)基因的克隆和表达 [J]. 中国人兽共患病学报, 2006, 22(12): 1124-1128.
- [12] ZHAO H Q, ZHANG R F, YAN X Y, et al. Superoxide Dismutase Nanozymes: An Emerging Star for Anti-Oxidation [J]. Journal of Materials Chemistry B, 2021, 9(35): 6939-6957.
- [13] SHENG Y W, ABREU I A, CABELLI D E, et al. Superoxide Dismutases and Superoxide Reductases [J]. Chemical Reviews, 2014, 114(7): 3854-3918.



- [14] LALRINKIMA H, RAINA O K, CHANDRA D, et al. Isolation and Characterization of Cu/Zn-Superoxide Dismutase in *Fasciola Gigantica* [J]. *Experimental Parasitology*, 2015, 152(7): 1-7.
- [15] PRAKASH K, GOYAL M, SONI A, et al. Molecular Cloning and Biochemical Characterization of Iron Superoxide Dismutase from the Rodent Malaria Parasite *Plasmodium Vinckei* [J]. *Parasitology International*, 2014, 63(6): 817-825.
- [16] IVANB H, SILVIA P S, SILVIA G. TrypanothioneReductase and Superoxide Dismutase as Current Drug Targets for *TrypanosomaCruzi*: an Overview of Compounds with Activity AgainstChagas Disease [J]. *Current Medicinal Chemistry*, 2017, 24(11): 1066-1138.
- [17] TAK Y J, PARK J H, RHIM H, et al. ALS-Related Mutant SOD1 Aggregates Interfere with Mitophagy by Sequestering the Autophagy Receptor Optineurin [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(20): 7525.
- [18] YAN Z, SPAULDING H R. Extracellular Superoxide Dismutase, a Molecular Transducer of Health Benefits of Exercise [J]. *Redox Biology*, 2020, 32(10): 101508.
- [19] BASAK D, UDDIN M N, HANCOCK J. The Role of Oxidative Stress and Its Counteractive Utility in Colorectal Cancer (CRC) [J]. *Cancers*, 2020, 12(11): 3336.
- [20] CASE A J, DOMANN F E. Manganese Superoxide Dismutase is Dispensable for Post-Natal Development and Lactation in the Murine Mammary Gland [J]. *Free Radical Research*, 2012, 46(11): 1361-1368.
- [21] COX G M, HARRISON T S, MCDADE H C, et al. Superoxide Dismutase Influences the Virulence of *Cryptococcus Neoformans* by Affecting Growth within Macrophages [J]. *Infection and Immunity*, 2003, 71(1): 173-180.
- [22] MOUSTAFA A, PERBANDT M, LIEBAU E, et al. Crystal Structure of an Extracellular Superoxide Dismutase from *Onchocerca Volvulus* and Implications for Parasite-Specific Drug Development [J]. *ActaCrystallographica Section F Structural Biology Communications*, 2022, 78(6): 232-240.
- [23] WONG P C, WAGGONER D, SUBRAMANIAM J R, et al. Copper Chaperone for Superoxide Dismutase is Essential to Activate Mammalian Cu/Zn Superoxide Dismutase [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2000, 97(6): 2886-2891.
- [24] BROWN N M, TORRES A S, DOAN P E, et al. Oxygen and the Copper Chaperone CCS Regulate Posttranslational Activation of Cu, Zn Superoxide Dismutase [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2004, 101(15): 5518-5523.
- [25] FENG D D, GAO X, KONG W H, et al. An Extracellular Cu/Zn Superoxide Dismutase from *Neocaridina Denticulata Sinensis*: CDNA Cloning, mRNA Expression and Characterizations of Recombinant Protein [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2022, 128(10): 547-556.

责任编辑 夏娟