

吡喹酮处理日本血吸虫成虫蛋白质组学分析

张玲¹, 刘峰², 崔书健², 徐斌¹, 周晓农¹, 胡薇^{1*}

【摘要】 目的 利用蛋白质组学的方法鉴定吡喹酮处理前后日本血吸虫成虫蛋白质组, 比较处理前后差异表达的蛋白质, 探讨吡喹酮抗血吸虫机制。方法 日本血吸虫成虫分别暴露于吡喹酮(处理组, 30 $\mu\text{g/ml}$)和二甲基亚砜(对照组)中, 18 h 后收集虫体, 提取总蛋白。采用二维-纳喷雾-液相色谱联合串联质谱(2D-nano-LC-MS/MS)鉴定吡喹酮处理组与对照组的蛋白质。数据库查询确定蛋白质的功能, 统计分析其中差异表达的蛋白质。结果 吡喹酮处理后明显上调的血吸虫成虫蛋白为 12 个, 明显下调 4 个。上调蛋白中有 10 个功能明确, 分别归属于细胞骨架蛋白家族的肌动蛋白、肌球蛋白、副肌球蛋白、微管蛋白、原肌球蛋白和膜联蛋白, 应激蛋白家族的热休克蛋白 70、热休克蛋白 60 和硫氧还蛋白过氧化物酶和信号转导蛋白 14-3-3。下调蛋白为参与转录调控的蛋白, 即多聚蛋白和髓磷脂基因表达因子。结论 吡喹酮处理后日本血吸虫成虫蛋白质组具有差异, 提示吡喹酮处理后促进或抑制了特定基因的表达。

【关键词】 日本血吸虫; 吡喹酮; 蛋白质组学

中图分类号: R978.641.5

文献标识码: A

Proteomic Analysis of Adult *Schistosoma japonicum* Treated with Praziquantel

ZHANG Ling¹, LIU Feng², CUI Shu-jian², XU Bin¹, ZHOU Xiao-nong¹, HU Wei^{1*}

(1 National Institute of Parasitic Diseases, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Key Laboratory of Parasite and Vector Biology, MOH; WHO Collaborating Centre for Malaria, Schistosomiasis and Filariasis, Shanghai 200025, China; 2 Chinese National Human Genome Center at Shanghai, 201203, China)

【Abstract】 Objective To analyze differentially expressed proteins of pairing adult *Schistosoma japonicum* treated with praziquantel so as to further explore the action mechanism of praziquantel (PZQ). Methods Pairing adult worms were collected and exposed to PZQ (30 $\mu\text{g/ml}$) for 18 h with dimethyl sulfoxide (DMSO) treatment as control. The total protein was extracted. Proteins from two groups were identified by two-dimensional-nano-liquid chromatography coupled by tandem mass spectrometry (2D-nano-LC-MS/MS). Query in database was made to confirm functions of the proteins. Differentially expressed proteins were analyzed statistically. Results There were 12 proteins up-regulated and 4 proteins down-regulated in the treated group compared with the untreated. Ten of the 12 up-regulated proteins were with known function, respectively ascribed to myosin, actin, paramyosin, tropomyosin, tubulin, annexin, stress response HSP70, HSP60 and thioredoxin peroxidase, signal transduction molecule 14-3-3. The down-regulated proteins were molecules with translational/transcriptional regulation, such as polyprotein and myelin gene expression factor. Conclusion There is a significant difference in proteomics between the PZQ-treated and untreated worms, suggesting that PZQ can increase or inhibit the expression of specific genes in adult *Schistosoma japonicum*.

【Key words】 *Schistosoma japonicum*; Praziquantel; Proteomics

Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 30400562), the High-Tech Research and Development Program of China (863) (No. 2006AA02Z318, No. 2007AA02Z153), and the Shanghai Commission of Science and Technology (No. 04QMX1455)

* Corresponding author, E-mail: hubeixf@yahoo.com

基金项目: 国家自然科学基金 (No. 30400562); 国家高技术研究发展计划(863 计划) (No. 2006AA02Z318, No. 2007AA02Z153); 上海市科委项目 (No. 04QMX1455)

作者单位: 1 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, 世界卫生组织疟疾、血吸虫病和丝虫病合作中心, 上海 200025; 2 人类南方基因组, 上海 201203

* 通讯作者, E-mail: hubeixf@yahoo.com

血吸虫病是一种严重危害人体健康的重要寄生虫病^[1,2], 化疗是控制其患病率的重要措施^[3]。目前在尚无可用的血吸虫疫苗情况下, 血吸虫病的药物治疗仍是其主要的防治手段。吡喹酮(praziquantel, PZQ)是治疗 5 种主要人体感染血吸虫病的最重要药物之一^[4], 在全球血吸虫病防治中得到广泛应用, 并在控

制血吸虫病患率方面起到了重大作用。尽管吡喹酮治疗血吸虫病疗效显著,但大规模地反复化疗会引起抗药性和重复感染等问题^[5]。因此,亟待发展新型抗血吸虫药物。

近年来,国内外已开展抗血吸虫新药的研究,但尚无理想候选药物^[3,6]。新药发展缓慢原因很多,其中之一就是对抗血吸虫作用的靶点不明确,药物杀虫的分子机制不清楚。

蛋白质组学技术可以整体、动态地研究蛋白质,利用高通量技术寻找药物靶蛋白。二维-纳喷雾-液相色谱联合串联质谱技术(two-dimensional-nano-liquid chromatography coupled by tandem mass spectrometry, 2D-nano-LC-MS/MS)是目前常用的分离和鉴定蛋白质组的方法之一,已用于血吸虫研究领域^[7]。

本研究通过 2D-nano-LC-MS/MS 分离、鉴定吡喹酮处理前后日本血吸虫成虫的蛋白质组,建立药物处理前后蛋白质组图谱,比较差异表达的蛋白质,寻找药物作用的靶分子,为进一步阐明潜在药物作用机制和新药物开发提供依据。

材料与方法

1 实验动物及钉螺

4~5 月龄健康新西兰雄性大白兔 5 只,体重 2~3 kg,清洁级,标准颗粒饲料及自来水饲养,购自上海实验动物中心。感染日本血吸虫尾蚴的阳性钉螺,购自江苏省血吸虫病防治研究所。

2 日本血吸虫成虫

每只兔腹部经皮感染日本血吸虫尾蚴 800~1 000 条,感染后 42 d 剖杀。采用肝门静脉灌注收集雌雄合抱成虫,生理盐水漂洗 3 次。将成虫移至 Hank's 培养液中,37℃ 5% CO₂ 培养箱中培养 1 h。将其分为 2 组,每组 1 000 条,吡喹酮处理组加入 30 µg/ml 吡喹酮二甲基亚砷(DMSO)溶液,对照组加入等量二甲基亚砷。18 h 后,倒置显微镜观察,收集虫体,-80℃ 保存备用。

3 主要试剂及仪器

高效液相色谱仪(Agilent 1100 capillary LC)购自美国 Agilent Technologies 公司、质谱仪(QSTAR Pulsar I)购自美国 Sciex-Applied Biosystems 公司、Nano 喷雾离子源购自加拿大 Protana 公司。胰蛋白酶购自瑞士 Roche 公司、乙酸乙腈购自加拿大 CALEDON Laboratories 公司、二甲基亚砷购自美国 Sigma 公司。

4 总蛋白的制备提取

约 200 mg 虫体冰浴匀浆,加入裂解缓冲液{含 7 mmol/L 尿素、2 mmol/L 硫脲、2% 磺基三甲胺乙内酯 SB3-10、2% 3-[3-(胆酰氨基丙基)]二甲胺基}丙磺酸内盐、30 mmol/L 二硫苏糖醇、0.2 mmol/L 苯甲基磺酰氟、0.1 mmol/L 乙二醇四乙酸和 40 mmol/L Tris pH 9.2},充分重悬。冰浴超声破碎(12 s/次,间歇 2 min,15 循环),于 4℃ 10 000 ×g 离心 10 min,收集上清。沉淀再次裂解和离心(同上),4℃ 40 000 ×g 离心 60 min,收集上清。两次所得上清液即为总蛋白,用 2,2'-联喹啉-4,4'-二甲酸二钠(BCA)试剂检测法^[8]测定蛋白质浓度,计算总蛋白质含量,-70℃ 保存备用。

5 肽段样品的制备及分离

100 mg 日本血吸虫总蛋白质加入 2 mg 胰蛋白酶进行消化,同时加入终浓度为 50 mmol/L NH₄HCO₃,37℃ 过夜。酶解后的肽段样品加入(流速 1 ml/min)强阳离子交换柱 SCX 色谱柱(4.0 mm×150 mm 色谱柱 POROS 50),用 5 倍柱床体积的 NH₄HCO₃ 洗脱液(100 mmol/L~800 mmol/L)按照浓度从低到高的顺序洗脱肽段(流速 1 ml/min),收集样品洗脱液。真空浓缩至 20~30 µl,4℃ 保存。

6 色谱质谱联用分析

将 20~30 µl 肽段样品进样到色谱仪,色谱分析条件为:流动相 A 为 0.5% 乙酸/水, B 为 0.5% 乙酸/乙腈。色谱参数为:泵速 160 µl/min,柱后流速 200 µl/min,15 min 内泵速由 160 µl/min 降至 0。肽段混合物经过色谱柱洗脱进入质谱仪。质谱分析参数为:喷雾电压 3 000 V,MS 扫描范围为质荷比 m/z 450~1 400,MS/MS 扫描范围为 m/z 450~1 800,帘气为 10, Nano ES 电喷雾离子源。质谱信号单次扫描累加 50 次,质谱使用胰蛋白酶自动降解离子峰作为内部标准校正,获得肽质量指纹图谱。

7 生物信息学分析

通过 Mascot 软件查询 SwissProt 和 NCBI 数据库,分析每个样品肽指纹图谱,得到蛋白质指纹匹配数据。合并同一样品的所有数据进行筛选,筛选条件为:串联质谱图分值第一位的鉴定结果;肽段内无 KR、KK、RK 和 RR(K 为赖氨酸,R 为精氨酸);肽段 5 个氨基酸;如一个蛋白鉴定到有冗余的肽段分不同,只计最高分肽段,相加为蛋白鉴定总分;总分>60,即为可信。整理肽段信息,建立基

础数据库。利用 Blastp 检索 NCBI Nr 数据库, 对肽段进行功能注释。

8 差异表达蛋白质的鉴定与分析

为了准确比较吡喹酮处理组与对照组的蛋白质组学差异, 在样品质量相同的基础上, 将明显上调蛋白质定义为肽段比 3, 肽段差 5 的蛋白质; 明显下调的蛋白质为肽段比 1/3, 肽段差 -5; 肽段比=吡喹酮处理组肽段数/对照组肽段数, 肽段差=吡喹酮处理组肽段数-对照组肽段数^[9]。将蛋白质依据匹配的肽段分为高丰度蛋白质 (肽段数 ≥10)、中等丰度蛋白质 (5 ≤肽段数<10) 和低丰度蛋白质 (肽段数<5)。使用 SPSS 11.0 软件, 运用 t-检验和单因素方差分析处理数据。

结 果

1 总体信息

应用 2D-nano-LC-MS/MS 技术分离、鉴定了对照组蛋白 437 种, 其中 278 种功能明确; 吡喹酮处理组 73 种蛋白质, 41 种功能明确。在功能明确的蛋白质中, 仅有 16 种为两组共有。

2 蛋白质种类

2.1 蛋白质种类的变化 与对照组相比, 吡喹酮处理组参与代谢、DNA/RNA 进程调节的蛋白质种类明显减少, 而骨架蛋白、应激蛋白、信号转导蛋白则明显增多 (表 1)。

表 1 吡喹酮处理组和对照组蛋白质种类的比较
Table 1 Category of proteins in PZQ treated group and control

组别 Group	蛋白种类 Category of protein							合计 Total
	应激 Stress	骨架 Cytoskeleton	信号 Signal	代谢 Metabolism	调节 Regulation	其他 Other	未知 Unknown	
吡喹酮处理组 PZQ treated group	11	9	7	9	3	2	32	73
对照组 Control group	6	15	28	34	73	122	159	437

2.2 蛋白质丰度的变化 细胞骨架蛋白家族、细胞应激蛋白家族和代谢等 3 类蛋白在吡喹酮处理前后表达有明显变化 (图 1)。

吡喹酮处理组的细胞骨架蛋白, 除肌联蛋白、Mr 22 600 膜抗原之外, 其余均发生不同程度上调; 细胞应激蛋白家族的热休克蛋白 HSP70 和 HSP60 明显上调, HSP90、HSP66 和 HSP10 也仅在药物处理后出现。硫氧还原蛋白过氧化物酶和超氧化物歧化酶

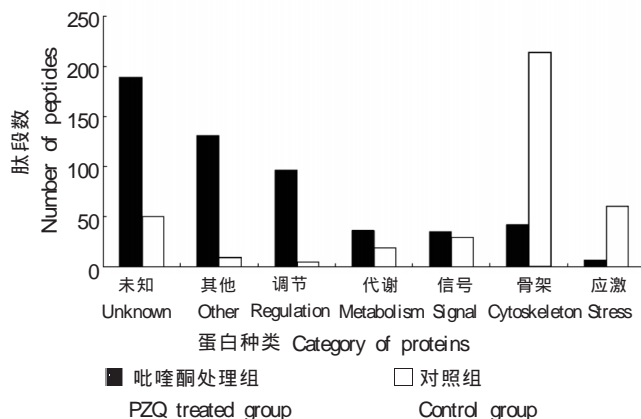


图 1 吡喹酮处理组与对照组样本的肽段数量
Fig.1 Number of peptides in PZQ treated group and control

(SOD) 也有一定程度增加。

吡喹酮处理组参与代谢的部分蛋白出现下调或消失。两组中共检测到基于 55 个肽段的参与代谢的 43 种蛋白质, 涉及糖代谢、脂肪代谢和核酸代谢等代谢通路。参与 DNA/RNA 进程调节的蛋白质, 对照组检测到 96 个肽段, 吡喹酮处理组检测到 5 个肽段, 明显降低。

2.3 蛋白质丰度分级 蛋白质丰度分析显示吡喹酮处理组高丰度蛋白明显多于对照组药物 (四格表确切概率检验 Fisher's exact, $P<0.05$) (表 2)。

表 2 吡喹酮处理组与对照组蛋白丰度的比较
Table 2 Abundance of proteins in PZQ treated group and control

组别 Group	功能已知蛋白 Protein with known function			功能未知蛋白 Protein with unknown function		
	<5	5~10	10	<5	5~10	>10
吡喹酮处理组 PZQ treated group	28	6	7	30	2	0
对照组 Control group	275	2	1	157	1	1

3 差异蛋白分析

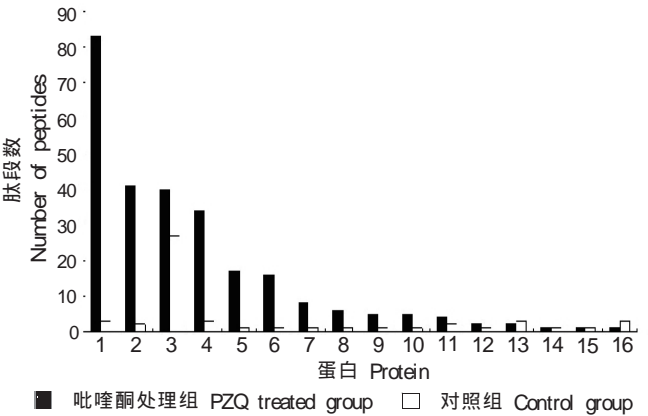
3.1 上调或下调蛋白 肽段分析结果显示吡喹酮处理组共有 12 种蛋白质明显上调, 即信号转导蛋白 14-3-3、热休克蛋白 (Hsp70、Hsp60)、肌动蛋白 (actin)、肌球蛋白 (myosin)、副肌球蛋白 (paramyosin)、原肌球蛋白 (tropomyosin)、微管蛋白 (tubulin) 膜联蛋白 (annexin)、硫氧还原蛋白过氧化物酶 (thioredoxin peroxidase) 以及 2 种功能未知的蛋白。明显下调蛋白 4 种, 2 种是参与 DNA/RNA 进程调节的蛋白, 即多聚合蛋白 (polyprotein) 和髓磷脂基因表达因子 (myelin gene expression factor), 另 2 种功能未知 (表 3)。

表 3 吡喹酮处理后明显上调或下调的蛋白的特征

Table 3 Characteristics of significantly up- or down-regulated proteins after PZQ treatment

蛋白名称 Protein name	肽段数量 Number of peptides				判定 Judgment	功能 Function
	吡喹酮处理组 PZQ treated	对照组 Control	差值 Difference	比值 Ratio		
肌球蛋白 Myosin	83	3	80	27.67	上调 Up	细胞骨架及运动 Cytoskeleton and motor
副肌球蛋白 Paramyosin	41	2	39	20.50	上调 Up	细胞骨架及运动 Cytoskeleton and motor
肌动蛋白 Actin	40	27	13	1.48	上调 Up	细胞骨架及运动 Cytoskeleton and motor
热休克蛋白 70 Hsp70	34	3	31	11.33	上调 Up	应激及分子伴侣 Stress and chaperone
微管蛋白 Tubulin	16	1	15	16.00	上调 Up	细胞骨架及运动 Cytoskeleton and motor
14-3-3 信号转导蛋白 Pro14-3-3	8	1	7	8.00	上调 Up	信号转导 Signal transduction
原肌球蛋白 Tropomyosin	17	1	16	17.00	上调 Up	细胞骨架及运动 Cytoskeleton and motor
硫氧还蛋白过氧化物酶 Thioredoxin peroxidase	6	1	5	6.00	上调 Up	应激 Stress
膜联蛋白 Annexin	10	0	10	/	上调 Up	细胞质膜结构 Cytoskeleton and motor
热休克蛋白 60 Hsp 60	8	0	8	/	上调 Up	应激及分子伴侣 Stress and chaperone
髓磷脂基因表达因子 Myelin gene expression factor	0	6	-6	0.00	下调 Down	转录/翻译调节 Translational/transcriptional regulation
多聚蛋白 Polyprotein	0	8	-8	0.00	下调 Down	转录/翻译调节 Translational/transcriptional regulation
C606144	5	0	5	/	上调 Up	功能未知 Unknown
SJCHGC09303	5	0	5	/	上调 Up	功能未知 Unknown
SJCHGC06729	0	5	-5	0.00	下调 Down	功能未知 Unknown
SJCHGC03712	0	13	-13	0.00	下调 Down	功能未知 Unknown

3.2 共有蛋白的差异 两组功能明确的共有蛋白计16种，吡喹酮处理后，具有上调趋势的蛋白12种，下调趋势的蛋白2种，另外有2种未发生变化（图2）。



1: 肌球蛋白, 2: 副肌球蛋白, 3: 肌动蛋白, 4: 热休克蛋白 70, 5: 原肌球蛋白, 6: 微管蛋白, 7: 14-3-3 信号转导蛋白, 8: 硫氧还蛋白过氧化物酶, 9: 钙结合蛋白, 10: 肌钙蛋白, 11: 钙 ATP 酶, 12: 磷酸甘油激酶, 13: 钙调节蛋白, 14: Mr 22 600 膜抗原, 15: 组织蛋白酶, 16: 丙酮酸激酶。
1: Myosin, 2: Paramyosin, 3: Actin, 4: Hsp70, 5: Tropomyosin, 6: Tubulin, 7: Pro14-3-3, 8: Thioredoxin peroxidase, 9: Calcium binding protein, 10: Troponin, 11: Calcium ATPase, 12: Phosphoglycerate kinase, 13: Calponin, 14: Mr 22 600 MA, 15: Cathepsin, 16: Pyruvate kinase.

图 2 吡喹酮处理组和对照组共有蛋白功能明确蛋白的差异
Fig.2 Difference of common known functional proteins between PZQ treated group and control

讨 论

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>
本研究通过 2D-nano-LC-MS/MS 技术对吡喹酮处

理前后日本血吸虫成虫的蛋白质组进行分离鉴定，发现药物作用 18 h 后，吡喹酮处理组和对照组蛋白质组具有差异，提示吡喹酮处理后促进或抑制特定基因的表达，这些差异表达蛋白与吡喹酮的作用机制有关。

明显差异表达蛋白主要是与细胞骨架、细胞应激、细胞间信号转导有关的蛋白，其中大部分位于体被，这些蛋白在血吸虫体被蛋白质组的研究中已得到证实^[10]。体被是成虫摄取营养的重要部位，同时也是逃避宿主免疫识别的屏障。鉴于体被对于血吸虫生存的重要性，体被蛋白是药物化疗的候选靶蛋白^[11]。

细胞骨架蛋白在吡喹酮作用后发生细胞骨架重塑。重塑表现为对照组表达正常的细胞骨架蛋白质，在吡喹酮处理组中明显上调；而与细胞骨架降解有关的基质金属蛋白酶，仅在吡喹酮处理组中检测到。以往报道显示，吡喹酮作用于成虫皮层，是首先受到严重损害的部位^[12]。体被蛋白质研究表明，骨架蛋白、运动蛋白及细胞外的基质是体被的主要成分^[10]，如肌动蛋白、肌球蛋白、副肌球蛋白、原肌球蛋白、微管蛋白、膜连蛋白和 Mr 22 600 膜抗原等。本研究这些蛋白在吡喹酮处理组异常高表达，提示吡喹酮作用后，皮层屏障被破坏，正常的形态结构改变严重，机体为修复皮层损伤可能合成大量细胞骨架蛋白。血吸虫皮层类似脂质双层膜，吡喹酮是疏水性化合物，需要载体才能进入皮层，吡喹酮可诱导皮层肌动蛋白脊突的类晶状结构改变，破坏皮层的完整性。相关实验显示吡喹酮可与膜表面 Mr 45 000 的肌动蛋白结合，

但这种结合并不抑制吡喹酮与血吸虫脂质双层膜的作用,因而,还需要进一步实验确认骨架蛋白是否为吡喹酮的受体^[13,14]。

与细胞应激状态有关的分子伴侣蛋白,如 HSP 家族在吡喹酮处理组中表达明显增加,提示 HSP 可能参与缓解吡喹酮对细胞的损害作用,导致生物体合成这类蛋白质的能力增强。HSP 作为分子伴侣,其主要作用是保持被陪伴蛋白的正确折叠,抑制 HSP 会导致蛋白构象异常和降解^[15]。从药物研发角度看,HSP 的陪伴蛋白包含免疫应答的细胞因子、激素受体、生长信号蛋白及参与凋亡规避、细胞死亡等多种蛋白^[16]。因此,通过抑制 HSP 来同步减少多种蛋白的合成可能作为一种抗血吸虫途径。

血吸虫 14-3-3 信号转导蛋白 (S14-3-3) 在吡喹酮处理组的上调表明当虫体受到药物损害时,该信号转导蛋白代偿性增加。免疫研究表明,14-3-3 信号转导蛋白存在于多种组织中,在皮层中相对丰富^[17]。S14-3-3 信号转导蛋白可能参与 MAP 激酶信号级联,从宿主环境或异性虫体获取信号。S14-3-3 可竞争性抑制蛋白激酶 C (PKC) 活性,PKC 激活后不仅使血吸虫表膜受到损害,出现空泡样变化,还可影响血吸虫细胞骨架蛋白质的合成。分布于成虫肌层的 14-3-3 信号转导蛋白可通过其酸性 C-末端的调节作用活化酪氨酸羟化酶,产生儿茶酚胺类,激活色氨酸羟化酶产生 5-羟色胺,兴奋肌肉神经系统,刺激虫体的糖酵解^[18]。另外,14-3-3 信号转导蛋白在肌肉中的作用也与表皮生长因子诱导的促有丝分裂和调节肌肉收缩相关^[19]。鉴于 14-3-3 信号转导蛋白参与多种信号传导与神经肌肉的收缩、血吸虫表膜损害存在关联,这些改变在吡喹酮作用于虫体初期的药理学效应中均观察到^[20],推测 14-3-3 信号转导蛋白可能参与药物的作用机制,14-3-3 信号转导蛋白本身或其介导信号级联中参与者可能参与了药物作用过程,但其具体作用机制尚不清楚。

明显上调蛋白 C606144、SJCHGC09303 和明显下调蛋白 SJCHGC06729、SJCHGC03712 均为功能未知的蛋白,在 NCBI 蛋白非冗余数据库中均检索到相应信息,表明它们是日本血吸虫或曼氏血吸虫成虫特有蛋白,与其它物种没有同源性或很低,无详细功能注释。随着血吸虫转录组和蛋白质组学研究的不断深入,这些特定蛋白在药物作用过程中扮演的角色将得以阐明。

本研究首次获得对吡喹酮处理组和对照组的血吸虫蛋白质组学信息,初步鉴定差异蛋白,为吡喹酮的

分子水平作用机制的进一步研究提供了依据。

参 考 文 献

- [1] Giboda M, Bergquist NR. Post-transmission schistosomiasis: a new agenda[J]. Acta Trop, 2000, 77(1): 3-7.
- [2] Zhou XN, Wang LY, Chen MG, et al. The public health significance and control of schistosomiasis in China—then and now [J]. Acta Trop, 2005, 96(2-3): 97-105.
- [3] Savioli L, Albonico M, Engels D, et al. Progress in the prevention and control of schistosomiasis and soil-transmitted helminthiasis [J]. Parasitol Int, 2004, 53(2): 103-113.
- [4] Ciofi D, Pica-Mattoccia L. Praziquantel [J]. Parasitol Res, 2003, 90(Suppl): 3-9.
- [5] Ismail M, Botros S, Metwally A, et al. Resistance to praziquantel: direct evidence from *Schistosoma mansoni* isolated from Egyptian villagers [J]. Am J Trop Med Hyg, 1999, 60(6): 932-935.
- [6] Ribeiro-dos-Santos G, Verjovski-Almeida S, Leite LC. Schistosomiasis—a century searching for chemotherapeutic drugs [J]. Parasitol Res, 2006, 99(5): 505-521.
- [7] Cooper RA, Carucci DJ. Proteomic approaches to studying drug targets and resistance in *Plasmodium* [J]. Curr Drug Targets Infect Disord, 2004, 4(1): 41-51.
- [8] Ju T, Brewer K, D Souza A, et al. Cloning and expression of human core 1 beta1, 3-galactosyltransferase [J]. J Biol Chem, 2002, 277(1): 178-186.
- [9] Schirle M, Heurtier MA, Kuster B. Profiling core proteomes of human cell lines by one-dimensional PAGE and liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Mol Cell Proteomics, 2003, 2(12): 1297-1305.
- [10] Braschi S, Curwen RS, Ashton PD, et al. The tegument surface membranes of the human blood parasite *Schistosoma mansoni*: a proteomic analysis after differential extraction [J]. Proteomics, 2006, 6(5): 1471-1482.
- [11] Skelly PJ, Wilson AR. Making sense of the schistosome surface [J]. Adv Parasitol, 2006, 63:185-284.
- [12] Mehlhorn H, Becker B, Andrews P, et al. In vivo and in vitro experiments on the effects of praziquantel on *Schistosoma mansoni*. A light and electron microscopic study [J]. Arzneimittelforschung, 1981, 31(3a): 544-554.
- [13] Tallima H, El Ridi R. Praziquantel binds *Schistosoma mansoni* adult worm actin [J]. Int J Antimicrob Agents, 2007, 29(5): 570-575.
- [14] Troiani AR, Pica-Mattoccia L, Valle C, et al. Is actin the praziquantel receptor [J]. Int J Antimicrob Agents, 2007, 30(3): 280-281.
- [15] Gething MJ, Sambrook J. Protein folding in the cell [J]. Nature, 1992, 355(6355): 33-45.
- [16] Broquet AH, Thomas G, Masliah J, et al. Expression of the molecular chaperone Hsp70 in detergent-resistant microdomains correlates with its membrane delivery and release [J]. J Biol Chem, 2003, 278(24): 21601-21606.
- [17] Schechtman D, Winnen R, Tarrab-Hazdai R, et al. Expression and immunolocalization of the 14-3-3 protein of *Schistosoma mansoni* [J]. Parasitology, 2001, 123(Pt 6): 573-582.
- [18] Ichimura T, Isobe T, Okuyama T, et al. Molecular cloning of cDNA coding for brain-specific 14-3-3 protein, a protein kinase-dependent activator of tyrosine and tryptophan hydroxylases [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1988, 85(19): 7084-7088.
- [19] Ramachandran H, Skelly YP, Shoemaker CB. Conserved role for 14-3-3 epsilon downstream of TGF beta receptors [J]. FEBS Letters, 2001, 490: 65-69.
- [20] Day TA, Bennett JL, Pax RA. Praziquantel: The enigmatic antiparasitic [J]. Parasitol Today, 1992, 8(10): 342-344.