

小瓜虫抑动抗原研究综述

柯翎¹, 刘晓东¹, 陈如敬^{1,2}, 杨金先¹

(1. 福建省农科院 福建生物技术研究所 福建 福州 350003; 2. 福建农林大学 动物科学学院 福建 福州 350002)

摘要:小瓜虫是重要的淡水鱼类寄生虫。小瓜虫抑动抗原是重要的保护性抗原,它在防治小瓜虫这类体表寄生虫方面有着巨大应用潜力。本文阐述了小瓜虫抑动抗原的发现过程及其生物学意义,并介绍了抑动抗原免疫学研究进展。本综述旨在为抑动抗原在小瓜虫疫苗研制中的应用提供理论依据,也为其他体表寄生虫保护性抗原的研究提供参考。[中国水产科学, 2007, 14 (7): 123-128]

关键词:小瓜虫; 抑动抗原; 疫苗

中图分类号: S942.2

文献标识码: A

文章编号: 1005-8737-(2007)07-123-06

小瓜虫 (*Ichthyophthirius multifiliis* Fouquet, 1876) 能感染几乎所有淡水鱼类, 它是淡水养殖鱼类的重要病害。目前, 治疗小瓜虫病的有效药物对环境和人体产生不良影响^[1]。免疫防治是替代化学药物预防小瓜虫病的更为经济和环保的方法, 也是寄生虫免疫学研究的热点。然而, 对小瓜虫而言, 由于其发育生物学上的复杂性以及基因密码子使用的特异性, 缺乏人工培养小瓜虫的技术支撑, 很难用常规的方法从成分复杂的虫体直接制备出高纯度的抗原进行免疫实验^[2-3]。20 世纪 70~80 年代, 研究者发现四膜虫 (*Tetrahymena*) 或草履虫 (*Paramecium*) 免疫实验动物后, 免疫血清能在体外特异性凝集四膜虫或草履虫虫体^[4-5]。研究表明在这些纤毛虫膜表面存在某些抗原性蛋白, 这些蛋白能够使免疫动物产生具有凝集作用的特异性抗体, 这些与虫体凝集相关的虫体膜表面蛋白被称为抑动抗原 (Immobilization antigen, I-Ag)。Hines 等^[6]用亚致死剂量的小瓜虫感染鲤鱼, 其免疫血清能在体外凝集小瓜虫, 且在 8 个月内鱼体不受小瓜虫的再次感染。这证明了小瓜虫和四膜虫、草履虫等纤毛虫类似, 在虫体膜表面也存在抑动抗原^[4-5]。在随后的 20 多年期间, Dickerson 和 Clark 等领导的研究小组对抑动抗原免疫应答进行了详细深入的研究, 其研究表明, 抑动抗原是具有实际应用价值的候选保护性抗原^[4,5,7-17]。本文着重介绍小瓜虫抑动抗原

的免疫学和分子生物学方面的研究进展。

1 抑动抗原的免疫学研究进展

1.1 抑动抗原能激发体液免疫应答

发现小瓜虫的抑动现象后, 研究人员分离并纯化了与抑动现象相关的抑动抗原蛋白, 并证明小瓜虫的抑动抗原存在于虫体膜表面, 分子量为 40~70 kD。小瓜虫抑动抗原具有免疫原性和抗原性, 它能引发实验动物的体液免疫应答, 也能够保护实验鱼不受小瓜虫的感染, 而且免疫鱼血清能够在体外凝集虫体。Dickerson 等^[4]采用非离子型去污剂 Triton X-114 提取了完整的虫体膜蛋白, 通过双向电泳表明, 在 pH 4.0~8.0 之间存在 20 个蛋白, 其中 1 个分子量为 43 kD、等电点为 7.0 的糖蛋白, 它在全虫蛋白和膜蛋白中含量分别达到 12% 和 60%。

在此基础上, Lin 等^[7]采用小瓜虫掠食体 (theronts) 免疫小鼠制备了 6 株单克隆抗体, 并通过亲和层析分离到 48 kD 和 60 kD 的两个蛋白。Dickerson 等^[4] (1989 年) 将纯化的小瓜虫虫体膜蛋白注射免疫兔、小鼠和鱼, 得到的免疫血清都能够在体外凝集小瓜虫。从而证实, 小瓜虫虫体膜表面存在抑动抗原, 通过亲和层析的方法能够分离纯化该蛋白; 将纯化蛋白注射免疫兔、鼠和鱼后, 试验动物都能够产生抑动血清, 而且免疫鱼能对小瓜虫产生很好的免疫力。

收稿日期: 2007-03-05; 修订日期: 2007-04-29.

基金项目: 福建省自然科学基金项目 (B0610021; 2006J0067).

作者简介: 柯翎 (1979-), 男, 硕士, 助理研究员, 从事水产病害研究. E-mail: keling_online@163.com

Wang等^[8]用亲和层析纯化的抑动抗原蛋白常规腹腔注射免疫■鱼,免疫鱼在攻毒后保护率为72%,对照组在16 d内全部死亡,而且免疫鱼的血清也能够凝集虫体,也证实了亲和层析得到的抑动抗原蛋白具有免疫原性。Lin等制备的6株抑动抗原单抗中,有些单抗与亲和层析纯化的抑动抗原在Western Blot中反应,但它不能凝集小瓜虫;相反,有些单抗不能和抑动抗原在Western Blot中反应,却能够在体外凝集小瓜虫^[7]。这个结果表明,在Western Blot反应中,蛋白的天然构型可能被破坏,而虫体抑动抗原保持天然构型是产生凝集的前提条件。

1.2 抑动抗原抗体的被动免疫

Lin等^[5]利用小瓜虫膜表面抗原的单克隆抗体进行一系列的被动免疫实验发现,在感染鱼的体内,单抗能使小瓜虫快速离开■鱼鱼体,对鱼体产生完全的保护,并观察到离开宿主的小瓜虫可以存活,而且检测到抗体能结合在其膜表面。通过Elisa和体外的凝集实验分析表明,被动免疫鱼的体表还存在其他细胞因子或抗体分子^[9-10]。该实验中7个有免疫保护作用的单抗都属于IgG,而IgM对虫体有凝集效果但没有保护作用^[5]。这可能是由于IgM为多聚体抗体,分子量较大,无法从循环系统到达黏膜,而存在于真皮层的IgG类抗体可以从外周循环系统迁移到表皮黏膜并作用于虫体,因而只有IgG能起到保护作用。由此说明了免疫鱼体表黏膜系统的免疫球蛋白能与虫体膜表面的抑动抗原发生反应,并使虫体凝集。在被动免疫中一些小分子的细胞因子也可以直接从血液迁移到表皮。Sigh等^[11]通过PCR技术在感染鱼的皮肤表面检测到细胞因子(如IL-1 β 和TNF- α)的表达量比对照组或感染初期的鱼高数倍。Gonzalez等通过RT-PCR的方法证实被小瓜虫感染后,鲤鱼皮肤中SAA的表达量上调了1 600倍^[12],BF/C2-A的表达量上调了250倍,MASP的表达量下调了5~13倍^[13],IL-1 β 、CXCR1、iNOS、CXC α 、TNF- α 等细胞因子的表达量也有明显上调^[14]。被动免疫实验与PCR实验表明,这些因子和特异性抗体也参与对小瓜虫的免疫应答,但这些因子的表达与抑动抗原的免疫学相关性有待进一步研究。

总之,凝集现象需要抗体分子与抑动抗原特异性结合,从而使虫体在空间上形成交联。免疫学实验表明,小瓜虫膜表面的抑动抗原能够引发复杂的

体液免疫应答,并对鱼体产生保护作用^[15]。抑动抗原的特异性抗体和单抗能够在体外凝集虫体,因此,抑动抗原是具有保护性的抗原,也是小瓜虫重组亚单位疫苗的重要候选抗原。

1.3 跨血清型的免疫保护研究

研究抑动抗原相关的交叉免疫,能为广谱性的亚单位小瓜虫疫苗研制提供实验依据。不同血清型小瓜虫的抑动抗原从分子量到免疫原性等方面都具有差异性。因此,可以利用抑动抗原对小瓜虫血清型进行分型。应用I-Ag-Mab与小瓜虫的抑动抗原的结合和I-Ag-Mab对小瓜虫幼虫的抑动试验,也可以对小瓜虫血清型进行分型。

将小瓜虫虫体或抑动抗原免疫鱼类,对相同或不同血清型的小瓜虫产生保护率也是有差异的。Dickerson等分离到G1株小瓜虫,其免疫血清能在体外凝集同种血清型的小瓜虫。随后分离到的G1.1和G2株小瓜虫在血清型上是不同的,即G1的兔抗血清不能凝集这两株小瓜虫,但G1.1和G2具有与G1相似的蛋白。在Southern blot和Western blot反应中,G1.1和G2的基因组DNA或蛋白也能分别和作为探针的G1抑动抗原cDNA或G1免疫血清产生交叉反应,说明不同血清型的抑动抗原不仅在基因上存在一定同源性,蛋白的空间结构上也存在某种相同的构型^[16]。

Wang等^[17]采用纯化的NY1和G5小瓜虫抑动抗原,进行交叉免疫实验。实验证明,抗血清对同血清型的小瓜虫有凝集,但对异种血清型的小瓜虫没有凝集;而且在Western blot中免疫鱼血清能识别同血清型的抑动抗原蛋白,而免疫兔血清能够识别同血清型和异血清型的抑动抗原蛋白。在同种血清型小瓜虫的攻毒下,接种G5和NY1抑动抗原的实验组免疫鱼存活率分别为70%和33.3%,而接种BSA的对照组和异源血清型攻毒组的免疫鱼全部死亡,但对照组和实验组平均死亡天数也存在明显的差异。Xu等^[18]用浸泡鱼体和腹腔注射两种方法将两种血清型小瓜虫免疫鱼体,并检测了鱼体皮肤黏液凝集效价、抗体滴度以及攻毒后的保护率等数据。该实验表明,将小瓜虫免疫鱼体后,免疫鱼对同种或异种血清的小瓜虫都有一定免疫能力,虫体能被同源免疫鱼的血清凝集,而不能被异源的免疫鱼血清凝集。后者与前者相比,全虫免疫的效果比抑动抗原免疫的效果更好,并且对异源血清型的小瓜虫也

具有免疫保护能力(表 1)。Swennes 等^[19]的后续研究表明,小瓜虫 NY1 和 G5 表达不同的抑动抗原,其毒力也存在差异。Leff 等^[20]用小瓜虫感染实验

鱼后,免疫血清能够凝集同血清型小瓜虫,不能凝集异血清型的小瓜虫。

表 1 不同血清型小瓜虫的交叉免疫关系
Tab.1 Cross immunological relationship between different serotypes of *I. multifiliis*

免疫源	Western blot 免疫鱼血清 Fish antiserum	Western blot 免疫兔血清 Rabbit antiserum	ELISA 免疫鱼血清和黏液 Fish antiserum and anti-mucus	凝集 Immobilisation 免疫鱼血清 Fish antiserum	免疫保护 Immune protection
纯化抑动抗原免疫 ^[17] Purified I-Ag	无交叉 No cross	有交叉 Cross	—	无交叉 No cross	无 No cross
交叉全虫免疫 ^[18]	—	—	弱交叉 Weak cross	无交叉 No cross	有交叉 Cross

总之,用小瓜虫全虫或抑动抗原注射免疫鱼体产生的免疫血清能够凝集同血清型的虫体,并使鱼体对同血清型小瓜虫感染产生良好的免疫保护;但免疫血清不能凝集异血清型的虫体。抑动抗原蛋白免疫相对于全虫免疫还具有一些不足之处。全虫免疫后,具有较强的交叉保护作用。针对这种跨血清型的保护结果,研究人员进行了多方的推测,首先是哪个或哪些抗原介导了这种全能性的免疫应答,用什么方法能够获得这种抗原及其基因,然而小瓜虫是一种遗传背景和发育生物学过程极其复杂的寄生原虫,要从复杂的虫体蛋白中分离到这种抗原工作相当繁杂,技术难度大。从小瓜虫侵入宿主的途径和感染过程来看,除了抑动抗原之外,可能还有其他抗原与小瓜虫侵入宿主的机制存在某种关联。小瓜虫侵入宿主过程首先是头部收缩泡打开带有黏性物质的密闭纤毛,吸附在鱼类的上皮细胞上,接着,依靠前端的钻孔器迅速切开宿主黏膜表皮,然后借助消化酶的帮助侵入到宿主的黏膜皮下并在组织中移行生长。如果能够阻断这一过程就有可能阻断小瓜虫的感染。

1.4 抑动抗原的结构特征

抑动抗原不仅能引发实验动物产生特异的抗体,也与虫体膜表面信号传导活动有关。Clark 等^[21]发现小瓜虫的抑动抗原蛋白实质上是一种两性分子,能溶于非离子去污剂 Triton X-114。溶解在去污剂中的产物经过磷脂酶 C 处理后形成亲水性蛋白。这证实小瓜虫膜表面很有可能是 GPI-anchored 蛋白(Glycosylphosphatidylinositol-anchor protein,糖基化磷脂酰肌醇锚定蛋白)。为了验证这个猜想,研究者用四膜虫表达小瓜虫抑动抗原基因。结果,全长的

抑动抗原基因所表达的蛋白都分布在重组四膜虫的细胞膜上,而那些缺少疏水 C 末端蛋白分泌到细胞外。这些观察结果都有力证实了小瓜虫的抑动抗原实际上是一种 GPI-anchored 蛋白^[21-22]。抑动抗原在 N 端和 C 端包含疏水氨基酸结构域,这分别是信号肽和 GPI 锚定位点的特征。另外,抑动抗原基因中的大部分序列含有一系列周期出现的半胱氨酸重复序列(即 C-X_{2,3}-C 序列),这些半胱氨酸串联重复序列结构与“锌指结合”蛋白结构相似,是典型的重金属结合位点^[2]。许多报道表明,在多数生物体中,转膜信号穿过 GPI-anchored 蛋白转移到细胞外并参与细胞的信号转导活动。而在鱼类宿主的体表,小瓜虫在成熟前离开免疫宿主的这个过程也可能与抗体介导的穿膜信号活动有关^[15]。

虫体膜表面的抑动抗原对于调节寄生虫与宿主之间的平衡是很重要的,但对于纤毛虫抑动抗原功能的认识还是不足的。在自然界中,其他捕食性纤毛虫能识别四膜虫和草履虫的抑动抗原,当它们被捕食时会释放出抑动抗原以此来防御或逃避捕食者^[23-24]。

2 小瓜虫抑动抗原的基因克隆表达研究

Clark 等^[2,25]克隆了抑动抗原基因,这个基因是编码 442 个氨基酸的阅读框,并分离到了抑动抗原 1.2 kb 的 cDNA。但小瓜虫使用非标准的基因组编码(即仅以 TGA 为终止密码子,以 TAA 和 TAG 编码谷氨酰胺,而这是其他真核和原核生物的终止子密码),原核系统无法直接表达小瓜虫抑动抗原基因。因此,需要人工合成抑动抗原基因片段后,将多余的终止密码 TAA 和 TAG 替换后,才能在原核系

统中表达。

He等^[26]通过6个人工合成的寡核苷酸拼接了48 kD 抑动抗原蛋白基因中的部分片段,将该片段克隆到载体 pGEX2T,并将质粒转化到大肠杆菌中表达了 GST-iAgI 融合蛋白;GST-iAgI 的抗血清能和抑动抗原蛋白反应,这表明重组蛋白包含 i-AgI 的抗原肽段,但攻毒实验结束后多数金鱼仍然会感染小瓜虫。Lin等^[3]也将 IAG52A 基因在大肠杆菌和哺乳动物细胞 COS-7 中克隆表达。但这两种系统的表达产物的免疫效果均不理想。在大肠杆菌中表达的抗原缺乏糖基化,产物不能形成正确的空间结构。而在 COS-7 细胞的表达产物蛋白虽然能形成正确的折叠,但由于其锚定序列和 COS-7 细胞本身的锚定序列存在差异,因此,抑动抗原不能锚定在细胞膜表面。

经过以上几种尝试后,最终选择四膜虫系统用于表达小瓜虫抑动抗原基因。四膜虫具有良好的研究背景,它是一个与小瓜虫同源性较高虫株,其 DNA 密码子使用偏好与小瓜虫类似,因此四膜虫更适合作为表达小瓜虫抑动抗原蛋白的载体。

Gaerting等^[27]采用四膜虫作为异源蛋白表达载体,并在其膜表面表达小瓜虫抑动抗原蛋白。他们将抑动抗原基因转化到对微管稳定素敏感的四膜虫突变株(Cu522)中,外源的抑动抗原基因通过同源重组将该突变基因替换,再利用微管稳定素筛选后,得到能在膜表面表达小瓜虫的抑动抗原蛋白的重组四膜虫^[27]。Shang等^[28]从四膜虫中克隆了 Cd 离子可诱导的 MTT1 基因,在插入了 MTT1 启动子后,小瓜虫抑动抗原在重组四膜虫中的表达量增加 30 倍。研究结果表明重组四膜虫能大量表达抑动抗原,其表达产物具有与天然抗原类似的抗原性。用重组四膜虫注射免疫实验鱼,也能使鱼体产生对小瓜虫的免疫保护。

3 抑动抗原在小瓜虫疫苗研制中的应用前景

3.1 有利于其他鱼类寄生原虫的免疫学研究

小瓜虫的免疫学研究也为类似的水生寄生虫病原的研究提供一个有利的实验模型。例如,刺激隐核虫(*Cryptocaryon irritans*)是海水鱼类的重要病害。它与小瓜虫之间具有很多相似性,如相似的形态、宿主感染模式、生活周期等。对于该病的研究多集中在对该病原生活史、病理及系统分类地位研究。研究发现它也存在与小瓜虫类似的凝集现象。而

Hatanata等^[29]也发现贝尼登虫(*Neobenedenia girellae*)的幼虫的体表蛋白也能引发宿主产生免疫血清,并在体外使幼虫产生凝集或聚集现象。因此,其他致病性水生微生物的免疫学研究,为小瓜虫的免疫学研究提供了一个较为合适的比较对象。

3.2 有利于广谱性小瓜虫疫苗的研发

小瓜虫能感染几乎所有淡水鱼类,抑动抗原重组疫苗在养殖鱼类和观赏鱼类的免疫中都潜在着巨大的应用价值。目前,有效的免疫手段是在鱼体上培养小瓜虫,用活体幼虫注射免疫鱼体。这种免疫方式对同源或异源血清型小瓜虫感染都能产生有效的保护,这种方法较为有效,但也缺乏可行性。

通过基因工程获得小瓜虫抑动抗原是较为可行的疫苗制备方法,在众多表达体系中,重组四膜虫是小瓜虫抑动抗原较为合适的表达系统。在理论和实验上表明,虽然转基因四膜虫对环境的影响很小^[30],但由于不同国家对于转基因生物安全性方面的限制,将活体转基因四膜虫直接应用于抑动抗原的免疫还较为困难。因此,将灭活的虫体或提取虫体表面抑动抗原蛋白通过浸泡或口服途径免疫鱼类将是较为可行的免疫方法。

4 结语

研究表明,抑动抗原是针对小瓜虫病较好的免疫保护性抗原,通过重组四膜虫技术,能获得大量具有抗原性的抑动抗原蛋白。但在跨血清型保护方面还存在一些不足。如何更好地利用已知小瓜虫的抑动抗原研究未知的小瓜虫保护性抗原,特别是跨血清型保护性抗原,寻找跨血清型的保护机制,将是今后探索的目标。

参考文献:

- [1] 黄琪琰.水产动物疾病学[M].上海:上海科学技术出版社,1996.
- [2] Clark T G, Lin T L, Jackwood D A, et al. The gene for an abundant parasite coat protein predicts tandemly repetitive metal binding domains[J]. Gene, 1999, 229 (1-2): 91-100.
- [3] Lin Y, Cheng G, Wang X, et al. The use of synthetic genes for the expression of ciliate proteins in heterologous systems[J]. Gene, 2002, 288 (1-2): 85-94.
- [4] Dickerson H W, Clark T G, Findly R C, et al. Ichthyophthirius multifiliis has membrane-associated immobilization antigens[J]. J Protozool, 1989, 36 (2): 159-164.
- [5] Lin T L, Clark T G, Dickerson H, et al. Passive immunization of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) against the ciliated proto-

- zoan parasite *Ichthyophthirius multifiliis* by use of murine monoclonal antibodies [J]. *Infect Immun*, 1996, 64 (10): 4 085 – 4 090.
- [6] Hines R S, Spira D T. Ichthyophthiriasis in the mirror carp *Cyprinus carpio* (L.) V. Acquired immunity [J]. *J Fish Biol*, 1974, 6: 373 – 378.
- [7] Lin T L, Dickerson H W. Purification and partial characterization of immobilization antigens from *Ichthyophthirius multifiliis* [J]. *J Protozool*, 1992, 39 (4): 457 – 463.
- [8] Wang X, Dickerson H W. Surface immobilization antigen of the parasitic ciliate *Ichthyophthirius multifiliis* elicits protective immunity in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) [J]. *Clin Diagn Lab Immunol*, 2002, 9 (1): 176 – 181.
- [9] Clark T G, Lin T L, Dickerson H W, et al. Surface antigen cross-linking triggers forced exit of a protozoan parasite from its host [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93 (13): 6 825 – 6 829.
- [10] Clark T G, Lin T L, Dickerson H W, et al. Surface immobilization antigens of *ichthyophthirius multifiliis*: Their role in protective immunity [J]. *Ann Rev Fish Dis*, 1995, 5: 113 – 131.
- [11] Sigh J, Lindstrom T, Buchmann K, et al. Expression of pro-inflammatory cytokines in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during an infection with *Ichthyophthirius multifiliis* [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2004, 17 (1): 75 – 86.
- [12] Gonzalez S F, Buchmann K, Nielsen M E, et al. *Ichthyophthirius multifiliis* infection induces massive up-regulation of serum amyloid A in carp (*Cyprinus carpio*) [J]. *Vet Immunol Immunopathol*, 2007, 115 (1–2): 172 – 178.
- [13] Gonzalez S F, Buchmann K, Nielsen M E, et al. Complement expression in common carp (*Cyprinus carpio* L.) during infection with *Ichthyophthirius multifiliis* [J]. *Dev Comp Immunol*, 2007, 31 (6): 576 – 586.
- [14] Gonzalez S F, Buchmann K, Nielsen M E, et al. Real-time gene expression analysis in carp (*Cyprinus carpio* L.) skin: Inflammatory responses caused by the ectoparasite *Ichthyophthirius multifiliis* [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2007, 22 (6): 641 – 650.
- [15] Clark T G, Dickerson H W. Antibody-mediated effects on parasite behavior: Evidence of a novel mechanism of immunity against a parasitic protist [J]. *Parasitol Today*, 1997, 13 (12): 477 – 480.
- [16] Dickerson H W, Clark T G, Leff A A, et al. Serotypic variation among isolates of *Ichthyophthirius multifiliis* based on immobilization [J]. *J Eukaryot Microbiol*, 1993, 40 (6): 816 – 820.
- [17] Wang X, Clark T G, Noe J, et al. Immunisation of channel catfish, *Ictalurus punctatus*, with *Ichthyophthirius multifiliis* immobilisation antigens elicits serotype-specific protection [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2002, 13 (5): 337 – 350.
- [18] Xu D H, Klesius P H, Panangala V S, et al. Induced cross-protection in channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque), against different immobilization serotypes of *Ichthyophthirius multifiliis* [J]. *J Fish Dis*, 2006, 29 (3): 131 – 138.
- [19] Swennes A G, Noe J G, Findly R C, et al. Differences in virulence between two serotypes of *Ichthyophthirius multifiliis* [J]. *Dis Aquat Organ*, 2006, 69 (2–3): 227 – 232.
- [20] Leff A A, Yashinaga T, Dickerson H W, et al. Cross immunity in channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque), against two immobilization serotypes of *Ichthyophthirius multifiliis* (Fouquet) [J]. *J Fish Dis*, 1994, 17: 429 – 432.
- [21] Clark T G, Gao Y, Gaertig J, et al. The i-antigens of *ichthyophthirius multifiliis* are GPI-Anchored Proteins [J]. *J Eukaryot Microbiol*, 2001, 48 (3): 332 – 337.
- [22] 杨金先, 陈强, 刘晓东, 等. 简并 PCR 扩增小瓜虫抑动抗原基因的 ORF [J]. *中国水产科学*, 2004, 11 (2): 135 – 138.
- [23] Preer J R. Surface antigens of *Paramecium* [M] // Gall J G. *The Molecular Biology of Protozoa*. London: Academic Press, 1986.
- [24] Someborn T M. *Paramecium aurelia*. In: King, R. C. (ed), *Handbook of Genetics* [M]. New York: Plenum Press, 1974.
- [25] Clark T G, McGraw R A, Dickerson H W, et al. Developmental expression of surface antigen genes in the parasitic ciliate *Ichthyophthirius multifiliis* [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, 89 (14): 6 363 – 6 367.
- [26] He J, Yin Z, Xu G, et al. Protection of goldfish against *ichthyophthirius multifiliis* by immunization with a recombinant vaccine [J]. *Aquaculture*, 1997, 158: 1 – 10.
- [27] Gaertig J, Gao Y, Tishgarten T, et al. Surface display of a parasite antigen in the ciliate *Tetrahymena thermophila* [J]. *Nature Biotechnology*, 1999, 17: 463 – 465.
- [28] Shang Y, Song X, Bowen J, et al. A robust inducible-repressible promoter greatly facilitates gene knockouts, conditional expression, and overexpression of homologous and heterologous genes in *Tetrahymena thermophila* [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99 (6): 3 734 – 3 739.
- [29] Hatanaka A, Umeda N, Yamashita S, et al. A small ciliary surface glycoprotein of the monogenean parasite *Neobenedenia girellae* acts as an agglutination/immobilization antigen and induces an immune response in the Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* [J]. *Parasitology*, 2005, 131 (Pt 5): 591 – 600.
- [30] Bisharyan Y, Chen Q, Hossain M M, et al. Cadmium effects on *Ichthyophthirius*: evidence for metal-sequestration in fish tissues following administration of recombinant vaccines [J]. *Parasitology*, 2003, 126 (Supp): 87 – 93.

Review of the immobilization antigen of *Ichthyophthirius multifiliis*

KE Ling¹, LIU Xiao-dong¹, CHEN Ru-jing^{1,2}, YANG Jin-xian¹

(1. Biotechnology Institute, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou 350003, China; 2. College of Animal Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China)

Abstract: *Ichthyophthirius multifiliis* is one of most important obligate parasites of freshwater teleosts. The immobilization antigen (I-Ag) is a kind of protective antigen. This article demonstrated the discovery and immunological research of immobilization antigen, and discussed I-Ag related humoral immune response, cross-immunization of I-Ag and biology meaning of I-Ag. The cloning and express of I-Ag gene in different systems were introduced. The I-Ag application in development of vaccine and research on protective antigen of other epizootic parasites were also discussed. [Journal of Fishery Sciences of China, 2007, 14 (7): 123 – 128]

Key words: *Ichthyophthirius multifiliis*; immobilization antigen; vaccine