

杨舒婷, 李媛, 王茗雨, 等. 牛支原体黏附相关因子的研究进展 [J]. 畜牧与兽医, 2024, 56 (1): 140-144.

YANG S T, LI Y, WANG M Y, et al. Progress in research on adhesion related factors of *Mycoplasma bovis* [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2024, 56 (1): 140-144.

牛支原体黏附相关因子的研究进展

杨舒婷^{1#}, 李媛^{1#}, 王茗雨¹, 檀雅洁¹, 梁家豪¹, 荆婷婷^{1,2}, 付磊^{1,2}, 储岳峰^{1,2*}

(1. 兰州大学, 甘肃 兰州 730000;

2. 中国农业科学院兰州兽医研究所/动物疫病防控全国重点实验室, 甘肃 兰州 730000)

摘要: 牛支原体是严重危害世界养牛业的重要病原之一, 可导致牛患肺炎、乳腺炎、关节炎等疾病, 在全球范围内流行, 给全球养牛业造成了较大经济损失。牛支原体的致病机理尚不清楚, 黏附是牛支原体感染宿主并影响宿主细胞膜功能的关键步骤, 而黏附相关因子是牛支原体黏附不同宿主细胞的主要参与者, 与牛支原体的致病性相关。本文主要论述了牛支原体黏附相关因子及其作用研究进展, 以期对牛支原体致病机制的阐释提供参考。

关键词: 牛支原体; 黏附相关因子; 致病机制

中图分类号: S852.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 0529-5130(2024)01-0140-05

Progress in research on adhesion related factors of *Mycoplasma bovis*

YANG Shuting^{1#}, LI Yuan^{1#}, WANG Mingyu¹, TAN Yajie¹, LIANG Jiahao¹,

JING Tingting^{1,2}, FU Lei^{1,2}, CHU Yuefeng^{1,2*}

(1. Lanzhou University, Lanzhou 730000, China;

2. Lanzhou Veterinary Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences/State Key Laboratory for Animal Disease Control and Prevention, Lanzhou 730000, China)

Abstract: *Mycoplasma bovis* is one of the important pathogens that seriously endanger the world's cattle industry. This pathogen could infect cattle and cause diseases such as pneumonia, mastitis and arthritis, which is epidemic worldwide, causing serious economic losses to the world's cattle industry. However, the pathogenic mechanism of *M. bovis* is still unclear. Adhesion is a key step for *M. bovis* to infect the host and affect the function of the host cell membrane. Adhesion related factors are the main participants of adhesion of *M. bovis* to different host cells, and are related to the pathogenicity of *M. bovis*. Therefore, this paper mainly reviews the progress in research on *M. bovis* adhesion factors and their effects, in order to provide reference for interpretation of the pathogenic mechanism of *M. bovis*.

Keywords: *Mycoplasma bovis*; adhesion related factors; pathogenic mechanism

养牛业是畜牧业的重要组成部分, 牛肉、牛奶及乳制品是人们饮食生活中的重要品种。确保牛养殖业健康发展, 不仅是保障食品安全和畜牧业安全的重要条件, 也是对巩固脱贫攻坚成果、促进乡村振兴的有力支撑, 更是促进我国西部地区社会发展的重要因素。牛支原体病目前在世界范围内流行, 是严重危害世界养牛业的重要疫病之一, 给养牛业造成不可估

量的损失^[1]。1961年美国首次分离到牛支原体 (*Mycoplasma bovis*), 之后却未引起重视, 同时, 因实验工具与技术的局限性, 对牛支原体研究较为滞后。我国华中地区自2008年暴发牛“烂肺病”以来, 现已在全国广泛流行, 牛支原体是重要病原之一, 可引起患牛肺炎、乳房炎、关节炎等一系列重要疾病, 但由于对牛支原体致病因子缺乏了解, 致病机制仍不清楚, 迄今无安全有效的商业化疫苗可用, 也是牛支原体病难以有效防控的重要原因。

牛支原体与其他支原体类似, 基因组很小、细胞结构简单, 缺乏依靠自身合成氨基酸、核苷酸等一系列必需物质的能力, 且体外培养支原体的要求相较于一般细菌会更高, 因此, 牛支原体必需与宿主细胞取得直接联系以维持生存^[2]。由于牛支原体没有细胞

收稿日期: 2023-03-10; 修回日期: 2023-10-31

基金项目: 2022年兰州大学学生创新创业项目(20220180046); 甘肃省重点人才项目(2021RCXM047); 中国农业科学院兰州兽医研究所重点项目(CAAS-ASTIP-JBCS-20210701)

第一作者: 杨舒婷, 女, 瑶族, 本科生; 李媛, 女, 本科生。#共同第一作者

*通信作者: 储岳峰, 研究员, 研究方向为牛羊支原体病病原生物学, E-mail: chuyuefeng@caas.cn。

壁,黏附宿主细胞的功能就由其细胞膜及相关膜蛋白承担,因此,表达在细胞膜上的黏附因子对于支原体的黏附宿主细胞作用十分重要^[3]。已有研究表明,肺炎支原体与鸡毒支原体的非黏附分离株和突变株的毒力减弱,也证明黏附是支原体致病的重要毒力因素^[4]。

阐明牛支原体的黏附机制有助于更清晰地了解牛支原体的感染途径以及致病机理,有利于新型防控产品的研发,有效防制因牛支原体感染引起的呼吸道等疾病的暴发,减少养殖户在养牛业上的经济损失,有助于保障我国尤其是西部地区畜牧业的安全、健康发展。本文将基于牛支原体黏附和牛支原体致病机理研究现状,论述牛支原体黏附相关因子的研究进展。

1 黏附机制在牛支原体致病中发挥的作用

黏附是牛支原体进入宿主细胞的第一步,并会对细胞产生损伤。支原体在代谢过程中产生过氧化氢等物质,能给宿主细胞膜造成氧化性损伤,甚至使细胞死亡^[5]。细菌黏附因子的靶蛋白主要是宿主细胞外基质(ECM)的组分,包括胶原蛋白、弹性蛋白、纤连蛋白、血小板衍生生长因子、层粘连蛋白等^[6]。对于支原体,位于细胞膜上的蛋白质可以与宿主细胞的ECM成分结合,例如胶原蛋白、层粘连蛋白、纤连蛋白、纤溶酶原和糖胺聚糖肝素,从而介导支原体定殖或侵袭^[7]。因牛支原体没有细胞壁,细胞膜及膜相关蛋白往往直接参与黏附宿主细胞^[8]。而膜蛋白和糖脂是细胞膜上的主要抗原,可刺激宿主产生体液和细胞免疫应答^[9]。总之,牛支原体通过细胞膜表面蛋白或者黏附蛋白与宿主细胞上的靶蛋白(如纤连蛋白、纤溶酶原、肝素和淀粉样蛋白前体样蛋白-2^[10])黏附,从而介导牛支原体对宿主细胞的黏附。

已有研究表明,感染牛支原体将影响宿主免疫系统,其中包含炎症因子的产生或免疫细胞的凋亡,而膜蛋白在调节宿主防御系统中起关键作用^[11]。支原体黏附到宿主细胞之后,能与宿主细胞膜形成紧密的直接接触,这会造成局部膜融合。膜融合会使宿主细胞膜组分改变,如各种受体,直接影响机体正常的信息传递过程。另外,膜融合会使支原体内部物质进入宿主细胞,包括有活性的酶,有极大可能直接影响宿主细胞正常的代谢活动,如支原体磷蛋白磷酸酶进入真核细胞后干扰其正常的信号转导级联反应。牛支原体侵入不同细胞可能导致病原体传播到各种定殖位点,这与削弱抗生素的治疗效果和逃避免疫系统杀伤有关。部分支原体还可能破坏宿主的细胞膜,支原体与宿主细胞膜的紧密接触可能引起宿主细胞磷脂的水

解,还可能会引起特定的信号级联反应,甚至会释放能致细胞死亡的溶血磷脂。牛支原体黏附在宿主细胞上会掠夺宿主的营养物质,从而导致宿主细胞的凋亡。

2 牛支原体的黏附因子

支原体在入侵细胞时,必不可少的过程是进行黏附。牛支原体的黏附能力很强,可以黏附于宿主的不同细胞。在研究牛支原体的黏附中,以胎牛肺细胞(EBL)最为常见,除此之外,牛气管上皮细胞(BBE)、胚胎牛气管细胞(EBTr)、牛肾细胞(MDBK)和兔肾细胞(RK)等在研究中也常被用为宿主细胞。牛支原体的黏附作用是通过其表面结构与宿主细胞的表面受体相结合而实现的。牛支原体没有具有黏附作用的尖端细胞器^[12],它的黏附因子被认为以膜蛋白的形式散布在菌体表面^[13],下面就其黏附因子进行简要介绍。

2.1 P26 蛋白

1992年,Berthold等^[14]使用牛支原体J282来筛选单克隆抗体,发现识别26 kDa蛋白的单克隆抗体4F6有很强的特异性,可以与该试验中所有的牛支原体反应。1993年,Sachse等^[15]发现4F6可以特异性阻断牛支原体对EBL细胞的黏附,这种针对26 kDa蛋白的单克隆抗体可以使牛支原体对EBL细胞的黏附力降低。这些结果提示P26蛋白可能在牛支原体黏附中发挥作用,但目前还没有鉴定到P26蛋白的靶蛋白。

2.2 P27 蛋白

据报道,牛支原体中一种假设的脂蛋白P27具有黏附素活性^[16]。P27分布在整个支原体细胞中,但大部分P27分子都暴露在膜表面。免疫荧光试验(IFA)和特异性血清阻断试验表明,P27可以直接黏附到EBL细胞上,并且这种结合可以被抗P27血清特异性阻断。进一步的试验证实P27的靶蛋白是纤连蛋白,它们之间的相互作用是直接和特异的,呈剂量依赖性。经过基因组比对分析,发现几乎所有牛支原体的临床分离株都具有p27基因^[17]。

2.3 P33 蛋白

2014年,吴金迪等^[18]对牛支原体全基因序列进行分析,发现一个约33 ku的具有黏附特征的假定蛋白,命名为P33蛋白。P33蛋白定位于牛支原体细胞膜表面,可以黏附EBL细胞,其吸附作用被P33抗体特异性抑制,表明P33是牛支原体中一个新发现的具有黏附作用的膜表面相关蛋白。2019年,根据p33基因序列设计并合成特异性引物,转化至大肠杆菌感受态细胞中,构建重组质粒pET28a(+)/P33,

并获得纯度较高的 P33 重组蛋白, 特异性好。该重组蛋白为后续开展牛支原体检测方法及疫苗的研究奠定基础^[19]。遗憾的是, 研究没有确定 P33 蛋白的靶蛋白。

2.4 膜表面可变脂蛋白家族蛋白 (Vsp)

表面可变脂蛋白 Vsp 家族是牛支原体在黏附宿主细胞的过程中产生了表面可塑性后, 演化出的针对特定抗体的蛋白, 在黏附过程中, 此类蛋白可在一定程度上帮助牛支原体抗原躲避宿主细胞免疫防御系统, 从而便利牛支原体进一步入侵细胞, 在病原体与真核细胞的相互作用、抗原变异和免疫逃避中起着至关重要的作用。该家族成员主要具有以下特点: (1) N 端部分含有原核脂蛋白信号序列; (2) 表面暴露的 C 端区域带有广泛的重复结构; (3) 自发非坐标相位变化率高; (4) 高频蛋白大小变化; (5) 通过 N 末端半胱氨酸残基处的脂质部分将这些大量表达的可变性蛋白锚定在支原体膜中^[20]。Vsp 蛋白的所有氨基端都有一个保守的原核信号肽, 同源性超过 99%, Vsp 蛋白也可以通过氨基末端锚定在细胞膜上^[21]。Thomas 等^[22]发现, 识别 VspC 和 VspF 的单克隆抗体可以抑制牛支原体对 BBE 细胞的黏附, 表明 VspC 和 VspF 可能是黏附因子。Sachse 等^[23]对牛支原体的 VspA、VspB、VspE 和 VspF 进行研究, 其竞争性黏附试验表明, VspA、VspB、VspE 和 VspF 的不同重复单位产生的一些寡肽部分抑制了牛支原体 PG45 菌株对胎牛肺细胞的黏附。由此表明牛支原体 Vsp 也是其重要的黏附因子。遗憾的是, 这些研究都没有确定这些 Vsp 黏附素的靶蛋白。

2.5 α -烯醇化酶和果糖-1, 6-二磷酸醛缩酶 (FBA)

已有研究表明, 一些胞质代谢酶或管家酶可以定位在病原体的表面并发挥多种功能, 如一些细菌代谢酶出现在细胞膜上时可以介导宿主-病原体的相互作用, 让病原菌定殖在细胞上^[24]。 α -烯醇化酶又称 2-磷酸-D-甘油酸水解酶, 它催化磷酸甘油转化为磷酸烯醇式丙酮酸, 是糖酵解的限速酶之一。它是一种高度保守的蛋白^[25-26], 广泛存在于多种细菌表面。牛支原体膜蛋白结合纤溶酶原的能力与其存在的 α -烯醇化酶密切相关^[27]。Song 等^[28]对牛支原体的 α -烯醇化酶蛋白进行研究, 发现它具有纤溶酶原结合活性, 而纤溶酶原可以显著增强牛支原体黏附 EBL 的能力; 且抗牛支原体 α -烯醇化酶的抗体会特异性地抑制此种黏附能力, 证实了 α -烯醇化酶在牛支原体黏附过程中发挥重要作用。

同样, FBA 也在糖酵解过程中起重要作用, 但其生物学功能远不止于此。FBA 是糖酵解、糖异生

和三羧酸循环过程中的关键酶^[29], 是多种致病菌中的一种多功能蛋白, 是在牛支原体细胞膜上表达的一种免疫原性蛋白^[30]。通过 Western blot 和 ELISA 证实 FBA 的目的蛋白为纤溶酶原。Huang 等^[31]通过 Western blot 和 IFA 进一步的亚细胞定位研究证明, FBA 主要聚集在牛支原体的细胞质中, 也有一些在细胞膜上, 并且纯化的 rFBA 与天然的 FBA 一样具有醛缩酶活性, 这表明 FBA 在牛支原体中具有多种作用。通过 EBL 细胞的黏附和抑制试验, 证实 rFBA 可以直接黏附于 EBL 细胞, 并且用 rFBA 的多克隆抗体预孵育牛支原体后, 可以显著降低牛支原体对 EBL 细胞的黏附效率, 这再次表明牛支原体中的 FBA 是一种黏附素, 跟牛支原体的毒力相关。

2.6 VpmaX 蛋白

对牛支原体 Hubei-1 株的基因组分析发现, 在该菌株的基因组中有一个注释为 VspA 的基因, 但该基因的编码蛋白与 PG45 标准菌株的 VspA 蛋白完全不同, 该基因被命名为 VpmaX^[32]。VpmaX 蛋白含 229 个氨基酸, 分子量约为 35 kDa。该蛋白具有 1 个典型的原核信号肽和 2 个重复单元, 其中大单元重复 3 次, 小单元重复 7 次, 且该结构与 Vsp 家族蛋白类似。该蛋白是一种具有纤连蛋白结合特性的黏附相关蛋白, 能通过 EBL 细胞外基质成分纤连蛋白介导其黏附 EBL 细胞^[33]。同样, 这种对 EBL 细胞的黏附作用可被抗 VpmaX 血清阻断^[34], 表明牛支原体 Hubei-1 株中的 VpmaX 蛋白也是一种黏附素分子。

2.7 P41 蛋白

牛支原体 Hubei-1 株 p41 基因和 p41b 基因分别编码一个 32 ku 的蛋白 P41 及一个 17 ku 的蛋白 P41b。其中 P41b 蛋白是 P41 蛋白的 C 端截短体。P41 是牛支原体的一种膜蛋白, 对 EBL 细胞具有明显的黏附现象, 该蛋白黏附效率与蛋白浓度呈正相关。而 P41 蛋白发挥其黏附性的为其蛋白结构的 C 端。且这种黏附作用可被不同稀释度的抗体不同程度的抑制, 抑制程度也与抗体浓度成正比。同时, 相对应的兔源抗体对牛支原体的黏附过程也起着阻断作用, 证实了 P41 蛋白是牛支原体的黏附相关蛋白, 对 EBL 细胞具有明显的黏附作用^[35]。但该蛋白是否具有纤溶酶原或纤连蛋白结合特性尚不清楚, 有待通过相关研究进行验证。

2.8 NADH 氧化酶

NADH 氧化酶 (NOX) 是一类催化 NADH 氧化为 NAD⁺的氧化还原酶, 由 NOX 基因编码, 该蛋白质含有 454 个氨基酸, 分子量为 49 kDa^[36]。根据产物的不同, 可将 NOX 分为两类: 一类为产 H₂O₂ 型 NADH 氧化酶 (NOX-1), 另一类为产 H₂O 型 NADH

氧化酶 (NOX-2)^[37]。除催化作用以外,某些生物 NADH 氧化酶还具有其他的功能。牛支原体 NOX-1 与 NOX-2 均参与其对宿主细胞的黏附。NOX 可以特异性黏附淀粉样蛋白前体样蛋白-2 和纤连蛋白。NOX-1 在牛支原体细胞膜上和细胞浆中均有分布且胞浆中含量较高^[38]。牛支原体中的 NOX-2 蛋白是一种膜蛋白抗原,其抗体可介导补体依赖性的细胞毒性杀支原体作用,并可抑制支原体对宿主细胞的黏附,可能与支原体的免疫应答和感染相关^[39]。

2.9 核糖焦磷酸激酶 (prsA)

prsA 蛋白是一种新鉴定的牛支原体膜蛋白,可能参与牛支原体与宿主细胞间的相互作用。prsA 蛋白存在于牛支原体细胞膜和细胞浆中,具有黏附的特性。该蛋白的血清抗体具有杀牛支原体活性。prsA 蛋白可能参与牛支原体对宿主细胞的感染,但该蛋白是否具有纤溶酶原或纤连蛋白结合特性尚不清楚,有待通过相关研究进行验证^[40]。

2.10 丙酮酸脱氢酶 (PDE)

PDE 是由 3 个酶组合的复合体,负责催化丙酮酸脱羧,生成乙酰辅酶 A 的不可逆反应,分布在线粒体基质中,是连接糖酵解与脂代谢、糖异生及三羧酸循环的重要媒介。滑液支原体中丙酮酸脱氢酶 α 亚基在细胞膜和细胞质中均有分布,其原核表达产物具有纤溶酶原和纤连蛋白结合活性,且丙酮酸脱氢酶 α 亚基兔多抗能有效激活补体并能抑制滑液支原体对宿主细胞 DF-1 的黏附作用^[41]。对丙酮酸脱氢酶 α 亚基与丙酮酸脱氢酶 β 亚基基因序列进行扩增、分析发现与其他已报道的相关序列具有较高的相似性,E1 亚基和 E1 β 亚基的表面可及性与抗原指数均较高,证实丙酮酸脱氢酶 E1 亚基可被呈递至牛支原体细胞膜,并具有一定的黏附特性^[42]。

2.11 其他黏附因子

迄今为止,已鉴定出数十种参与牛支原体黏附的蛋白,除上述蛋白外,富含亮氨酸链重复序列的脂蛋白^[43]、TrmFO^[44]、支原体免疫原性脂肪酶 A^[45]、24 kDa 蛋白^[46]、Mbov_0503 编码蛋白^[47]等也是与牛支原体黏附作用相关的分子。

3 小结与展望

牛支原体对于不同年龄的牛都具有感染性,并能与其他病原菌混合与继发感染,共同作用造成牛患病更加严重^[48],其中,黏附在牛支原体入侵感染宿主细胞的过程中起了重要作用,也将对宿主细胞造成损伤。近年来发现的较为重要的黏附相关因子有 P26 蛋白、P33 蛋白、Vsp_s、 α -烯醇化酶和 FBA、VpmaX 蛋白、P41、NOX、prsA 等,这些黏附因子通过与宿

主细胞相结合来实现牛支原体的黏附入侵,不同黏附因子与宿主细胞上的作用与分子机制有所不同。牛支原体的发现时间虽然已经超过了 60 年,但研究的程度并不深入。目前,针对感染牛支原体而造成的疾病临床治疗效果不佳,市面上并未有针对牛支原体的疫苗,且对于不同抗生素低敏感甚至产生耐药性的菌株不断出现^[49]。基于这些情况,完全阐释牛支原体黏附因子及黏附作用机制,有利于全面解析其致病机制,从而加快研发能靶向牛支原体黏附因子的抗生素药物或小分子制剂,以及基于支原体免疫抗原的发掘而快速研发有效疫苗,能极大地减少因感染牛支原体而造成的经济损失,有利于我国特别是西部地区养牛业的健康发展,为全国畜牧业的发展以及促进乡村振兴提供助力。

参考文献:

- [1] DUDEK K, NICHOLAS R A J, SZACAWA E, et al. *Mycoplasma bovis* infections—occurrence [J]. *Pathogens*, 2020, 9 (8): 640.
- [2] 陈忠琼, 范媛, 黎晓敏. 牛支原体生物学特性及其膜蛋白的研究进展 [J]. *中国畜牧兽医*, 2012, 39 (2): 183–186.
- [3] SACHSE K, GRAJETZKI C, ROSENGARTEN R, et al. Mechanisms and factors involved in *Mycoplasma bovis* adhesion to host cells [J]. *Zentralbl Bakteriell*, 1996, 284 (1): 80–92.
- [4] 李明霞, 郝华芳, 赵萍, 等. 牛支原体黏附和侵入宿主细胞的研究进展 [J]. *中国兽医学报*, 2018, 38 (7): 1440–1444.
- [5] 季文恒, 陈胜利, 赵萍, 等. 牛支原体致病机理的研究进展 [J]. *中国预防兽医学报*, 2018, 40 (4): 361–367.
- [6] PATEL S, MATHIVANAN N, GOYAL A. Bacterial adhesins, the pathogenic weapons to trick host defense arsenal [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 93: 763–771.
- [7] LI J, WANG J, SHAO J, et al. The variable lipoprotein family participates in the interaction of *Mycoplasma hyorhinis* with host extracellular matrix and plasminogen [J]. *Vet Microbiol*, 2022, 265: 109310.
- [8] ADAMU J Y, WAWEGAMA N K, BROWNING G F, et al. Membrane proteins of *Mycoplasma bovis* and their role in pathogenesis [J]. *Res Vet Sci*, 2013, 95 (2): 321–325.
- [9] MULONGO M, PRYSLIAK T, SCRUTEN E, et al. *In vitro* infection of bovine monocytes with *Mycoplasma bovis* delays apoptosis and suppresses production of gamma interferon and tumor necrosis factor alpha but not interleukin-10 [J]. *Infect Immun*, 2014, 82: 62–71.
- [10] XU Q Y, PAN Q, WU Q, et al. *Mycoplasma bovis* adhesins and their target proteins [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 1016641.
- [11] BÜRKI S, FREY J, PILO P. Virulence, persistence and dissemination of *Mycoplasma bovis* [J]. *Vet Microbiol*, 2015, 179 (1/2): 15–22.
- [12] BEHRENS A, HELLER M, ROSENBUSCH R, et al. Immunoelectron microscopic localization of variable proteins on the surface of *Mycoplasma bovis* [J]. *Microbiology (Reading)*, 1996, 142 (Pt

- 7): 1863-1871.
- [13] Rottem S. Interaction of mycoplasmas with host cells [J]. *Physiol Rev*, 2003, 83 (2): 417-432.
- [14] BERTHOLD E, HELLER M, PFÜTZNER H, et al. Preparation and characterization of monoclonal antibodies against *Mycoplasma bovis* [J]. *Zentralbl Veterinarmed B*, 1992, 39 (5): 353-361.
- [15] SACHSE K, PFÜTZNER H, HELLER M, et al. Inhibition of *Mycoplasma bovis* cytoadherence by a monoclonal antibody and various carbohydrate substances [J]. *Vet Microbiol*, 1993, 36 (3/4): 307-316.
- [16] CHEN X, HUANG J, ZHU H, et al. P27 (MBOV_RS03440) is a novel fibronectin binding adhesin of *Mycoplasma bovis* [J]. *Int J Med Microbiol*, 2018, 308 (7): 848-857.
- [17] SHITAMORI F, UEMURA R, KANDA T, et al. The presence of adhesion factors NOX, α -enolase, TrmFO, P27, and VpmaX in *Mycoplasma bovis* wild isolates in Japan [J]. *Open Vet J*, 2022, 12 (6): 782-786.
- [18] 吴金迪, 李媛, 白帆, 等. 牛支原体表面一种新的膜蛋白 (P33) 的鉴定及特性研究 [J]. *中国预防兽医学报*, 2014, 36 (9): 679-683.
- [19] 李令臣, 吴胜昔, 梁望旺, 等. 牛支原体 P33 蛋白的原核表达及鉴定 [J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2019 (7): 81-84.
- [20] XU Q Y, PAN Q, WU Q, et al. *Mycoplasma bovis* adhesins and their target proteins [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 1016641.
- [21] LYSNYANSKY I, SACHSE K, ROSENBUSCH R, et al. The vsp locus of *Mycoplasma bovis*: gene organization and structural features [J]. *J Bacteriol*, 1999, 181 (18): 5734-5741.
- [22] THOMAS A, SACHSE K, FARNIR F, et al. Adherence of *Mycoplasma bovis* to bovine bronchial epithelial cells [J]. *Microb Pathog*, 2003, 34 (3): 141-148.
- [23] SACHSE K, HELBIG J H, LYSNYANSKY I, et al. Epitope mapping of immunogenic and adhesive structures in repetitive domains of *Mycoplasma bovis* variable surface lipoproteins [J]. *Infect Immun*, 2000, 68 (2): 680-687.
- [24] PANCHOLI V, CHHATWAL G S. Housekeeping enzymes as virulence factors for pathogens [J]. *Int J Med Microbiol*, 2003, 293 (6): 391-401.
- [25] PANCHOLI V. Multifunctional alpha-enolase: its role in diseases [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2001, 58 (7): 902-920.
- [26] 朱理安, 方宁远. α 烯醇化酶——古老的蛋白, 崭新的功能 [J]. *国际病理科学与临床杂志*, 2007 (4): 347-350.
- [27] 宋志强. 牛支原体黏附相关因子—— α -烯醇化酶的研究 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2012.
- [28] SONG Z, LI Y, LIU Y, et al. α -Enolase, an adhesion-related factor of *Mycoplasma bovis* [J]. *PLoS One*, 2012, 7 (6): e38836.
- [29] RAYMOND B B, DJORDJEVIC S. Exploitation of plasmin (ogen) by bacterial pathogens of veterinary significance [J]. *Vet Microbiol*, 2015, 178 (1/2): 1-13.
- [30] GAO X, BAO S, XING X, et al. Fructose-1, 6-bisphosphate aldolase of *Mycoplasma bovis* is a plasminogen-binding adhesin [J]. *Microb Pathog*, 2018, 124: 230-237.
- [31] HUANG J, ZHU H, WANG J, et al. Fructose-1, 6-bisphosphate aldolase is involved in *Mycoplasma bovis* colonization as a fibronectin-binding adhesin [J]. *Res Vet Sci*, 2019, 124: 70-78.
- [32] ZOU X, LI Y, WANG Y, et al. Molecular cloning and characterization of a surface-localized adhesion protein in *Mycoplasma bovis* Hubei-1 strain [J]. *PLoS One*, 2013, 8 (7): e69644.
- [33] 陈曦, 刘东明, 张慧, 等. 牛支原体 VspX 蛋白黏附特性解析 [J]. *华中农业大学学报*, 2020, 39 (4): 77-84.
- [34] 邹晓辉. 牛支原体表面膜蛋白 VpmaX 黏附特性的研究 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2013.
- [35] 吴金迪. 牛支原体表面一种新的膜蛋白 (P41) 的鉴定及特性研究 [D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2014.
- [36] ZHAO G, ZHANG H, CHEN X, et al. *Mycoplasma bovis* NADH oxidase functions as both a NADH oxidizing and O₂ reducing enzyme and an adhesin [J]. *Sci Rep*, 2017, 7 (1): 44.
- [37] 李丹, 张志雄, 邢小勇, 等. 牛支原体临洮分离株 NOX-1 的克隆表达、酶学活性及其亚细胞定位研究 [J]. *中国动物传染病学报*, 2019, 27 (3): 57-64.
- [38] 李丹. 牛支原体免疫相关膜蛋白及宿主细胞内与牛支原体感染相关蛋白的筛选和鉴定 [D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2018.
- [39] 包世俊, 朱彩宏, 邢小勇, 等. 牛支原体 NOX2 的原核表达及黏附特性 [J]. *畜牧兽医学报*, 2020, 51 (11): 2895-2902.
- [40] 张阳阳, 邢小勇, 武小椿, 等. 牛支原体核糖磷酸焦磷酸激酶的黏附功能分析 [J]. *中国病原生物学杂志*, 2021, 16 (7): 747-752.
- [41] 包世俊. 滑液支原体膜表面丙酮酸脱羧酶的生物学特性研究 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2014.
- [42] 刘畅, 曹钰晗, 赵春阳, 等. 牛支原体膜蛋白的研究进展 [J]. *中国兽医学报*, 2018, 38 (10): 2011-2014.
- [43] ADAMU J Y, MITIKU F, HARTLEY C A, et al. *Mycoplasma bovis* mbfN encodes a novel LRR lipoprotein that undergoes proteolytic processing and binds host extracellular matrix components [J]. *J Bacteriol*, 2020, 203 (2): e00154-20.
- [44] GUO Y, ZHU H, WANG J, et al. TrmFO, a fibronectin-binding adhesin of *Mycoplasma bovis* [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18 (8): 1732.
- [45] WAWEGAMA N K, BROWNING G F, KANCI A, et al. Development of a recombinant protein-based enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of *Mycoplasma bovis* infection in cattle [J]. *Clin Vaccine Immunol*, 2014, 21 (2): 196-202.
- [46] THOMAS A, LEPRINCE P, DIZIER I, et al. Identification by two-dimensional electrophoresis of a new adhesin expressed by a low-passaged strain of *Mycoplasma bovis* [J]. *Res Microbiol*, 2005, 156 (5/6): 713-718.
- [47] ZHU X, DONG Y, BARANOWSKI E, et al. Mbov_0503 encodes a novel cytoadhesin that facilitates *Mycoplasma bovis* interaction with tight junctions [J]. *Microorganisms*, 2020, 8 (2): 164.
- [48] 郭雨丝, 陈颖钰, 赵刚, 等. 牛支原体病研究进展 [J]. *中国奶牛*, 2015, 298 (14): 36-41.
- [49] GAUTIER-BOUCHARDON A V. Antimicrobial resistance in *Mycoplasma* spp [J]. *Microbiol Spectr*, 2018, 6 (4). DOI: 10.1128/microbiolspec. ARBA-0030-2018.