

文章编号:1000-5854(2026)03-0270-10

长角血蜱 Prx 蛋白在耐饥饿机制中的功能研究

韩佳轩¹, 张业飞², 王 辉¹, 胡玉红³

(1.河北师范大学 生命科学学院,河北 石家庄 050024; 2.小五台山国家级自然保护区管理中心,河北 张家口 075700;
3.河北师范大学 分析测试中心,河北 石家庄 050024)

摘要:长角血蜱(*Haemaphysalis longicornis*)是一种吸血性体外寄生节肢动物,能够传播多种病原体,对畜牧业和人类健康构成严重威胁.在其漫长的非寄生阶段,饥饿是其面临的主要生存挑战之一.为应对此类营养胁迫,蜱进化出了高度特化的耐饥饿机制.前期研究发现,在饥饿状态下,长角血蜱马氏管中过氧化物还原酶(peroxiredoxin, Prx)表达显著上调.本研究进一步通过 RNA 干扰、蛋白质组学及透射电镜等多种技术手段,系统探讨了 Prx 在维持长期饥饿条件下长角血蜱生存能力中的功能.实验结果显示,Prx 的沉默会显著加速饥饿蜱的死亡进程,并引起多种蛋白质表达水平的变化,表明 Prx 在饥饿胁迫响应中发挥着关键作用.这些发现提示,Prx 可能作为蜱类防控中的一个新型分子靶点,具有潜在的应用价值.

关键词:适应; 蜱; 饥饿应激; RNA 干扰; 蛋白质组学

中图分类号:Q 955 **文献标志码:**A **doi:**10.13763/j.cnki.jhebnu.nse.202604006

Role of Prx Protein in Starvation Tolerance of *Haemaphysalis longicornis*

HAN Jiaxuan¹, ZHANG Yefei², WANG Hui¹, HU Yuhong³

(1.College of Life Sciences, Hebei Normal University, Shijiazhuang Hebei 050024, China;
2.Hebei Xiaowutai Mountain National Nature Reserve Management Center, Zhangjiakou Hebei 075700, China;
3.Analysis and Testing Center, Hebei Normal University, Shijiazhuang Hebei 050024, China)

Abstract: *Haemaphysalis longicornis* is a blood-sucking ectoparasitic arthropod capable of transmitting various pathogens, posing a serious threat to livestock production and human health. during its prolonged non-parasitic phase, starvation represents one of the major survival challenges it faces. To cope with such nutrient stress, ticks have evolved highly specialized starvation-resistant mechanisms. Previous studies have shown that the expression of peroxiredoxin (Prx) is significantly upregulated in the malpighian tubules of *H. longicornis* under starvation. This study further employed techniques such as RNA interference, proteomics, and transmission electron microscopy to systematically investigate the role of Prx in sustaining the survival ability of *H. longicornis* during prolonged starvation. The experimental results demonstrated that silencing Prx significantly accelerated the mortality of ticks under starvation and induced changes in the expression levels of multiple proteins, indicating that Prx plays a critical role in the starvation stress response. These findings suggest that Prx may serve as a novel molecular target for tick control, with potential application value.

Key words: adaptation; tick; hunger stress; RNA interference; proteomics

收稿日期:2024-12-04; 修回日期:2025-08-25

基金项目:河北省自然科学基金(C2021205006); 河北师范大学博士科研启动基金(L2024B43)

作者简介:韩佳轩(2000-),女,河北邢台人,硕士研究生,研究方向为蜱类学.

通信作者:胡玉红(1980-),女,高级实验师,研究方向为蜱类学. E-mail:huyuhong2004@163.com

长角血蜱(*Haemaphysalis longicornis*)是一种广泛分布于东亚、大洋洲及南太平洋地区的硬蜱物种^[1-2],作为重要的病媒生物,长角血蜱能够传播多种人畜共患病,包括巴贝斯虫病、斑点热和发热伴血小板减少综合征等^[3-4],对公共卫生和畜牧业构成严重威胁^[5].

长角血蜱的生活史包括卵、幼蜱、若蜱和成蜱4个阶段,其中幼蜱、若蜱和成蜱均需吸血以完成发育或繁殖^[6].在非寄生期,蜱难以寻找到宿主,加之其唯一营养来源为血液,因此饥饿成为影响其生存的主要压力之一^[7].长期饥饿可导致节肢动物能量耗竭、脱水及离子稳态失调^[8-9].然而,蜱类表现出极强的耐饥饿能力,能够通过激活自噬等代谢机制来应对营养胁迫^[10],并依赖前次吸血所储备的营养物质在无宿主情况下存活数月之久^[10-11].目前,关于蜱类耐饥饿分子机制的研究仍较为有限.

通过电子显微镜观察发现,在饥饿状态下,长角血蜱的马氏管组织发生了显著变化.基于前期蛋白质组学分析结果,过氧化物还原酶(peroxiredoxin, Prx)在饥饿胁迫下表达显著上调^[12],本研究进一步采用定量PCR技术验证了该基因的表达模式及其组织分布特征.为探究Prx在蜱饥饿应答中的功能,利用RNA干扰技术特异性敲低其表达.实验结果显示,Prx沉默显著提高了饥饿蜱的死亡率,表明该基因在耐饥饿过程中具有关键作用.此外,Prx被敲降后还引起多种蛋白质表达水平的变化,其中包括参与基因表达与信号调控、能量代谢和细胞保护信号通路的相关蛋白.

本研究不仅初步揭示了Prx在长角血蜱响应饥饿胁迫中的分子功能,也提示该蛋白可作为潜在的蜱类防控靶点,研究结果有望为开发新型蜱控制策略提供理论依据,具有一定的科研与应用价值.

1 研究方法

1.1 蜱的采集与饲养

实验用长角血蜱采自河北省张家口市小五台山国家级自然保护区.蜱吸血时将其置于新西兰白兔(*Oryctolagus cuniculus*)耳的白布耳罩中完成吸血过程^[13].当蜱饱血脱落后放入人工气候培养箱中进行培养,维持恒定环境条件(温度 $25\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$,相对湿度75%,光周期为16L:8D).所有动物实验操作均严格按照河北师范大学动物伦理委员会批准的实验方案执行(批准号:IACUC-157026).

1.2 不同饥饿时期长角血蜱马氏管细胞超微结构观察

采用透射电子显微镜(transmission electron microscopy, TEM)对刚蜕皮和蜕皮后5个月的雌蜱马氏管进行了细胞超微结构观察.样品处理方法如下:迅速解剖获取上述组织,取约 1 mm^3 组织块,在2.5%戊二醛磷酸缓冲液(0.1 mol/L, pH 7.4)中 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 固定4 h,经缓冲液充分漂洗后,再以1%锇酸进行固定2 h.随后样品经梯度乙醇和丙酮脱水,环氧树脂EPON 812渗透并包埋聚合.使用超薄切片机切片,厚度约为70 nm,切片经醋酸铀酰和柠檬酸铅双染色后置于铜网,于TEM下观察,本段中涉及到的百分数均为体积分数.

1.3 RT-qPCR检测基因表达

本研究采用RT-qPCR技术检测雌蜱在不同饥饿时间点唾液腺、中肠与马氏管内Prx基因表达水平的变化.分别解剖刚蜕皮(对照组)以及蜕皮后1、3、5个月(实验组)的雌蜱唾液腺、中肠与马氏管组织,迅速置于含蛋白酶抑制剂混合物(ROCHE, 德国)的PBS缓冲液(pH 7.2)中,用于检测PRX在不同饥饿时期的相对表达水平.所有样本采用Trizol™试剂(Invitrogen, 美国)提取总RNA,经质量检测合格后,使用TransStart® One-Step gDNA Removal and cDNA Synthesis SuperMix(TransGen Biotech, 中国)进行基因组DNA去除,并合成cDNA.qPCR反应使用TransStart® Top Green qPCR SuperMix试剂盒(TransGen Biotech, 中国).基于Prx基因保守区(Prx基因序列见图1)设计特异性引物:正向 $5'\text{-GCTGGTTGGAAGAAAGGG}\text{-}3'$,反向 $5'\text{-CATGGTGGTGC GAAGGTA}\text{-}3'$;以 $\beta\text{-actin}$ 作为内参基因.RT-qPCR反应程序如下: $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ 预变性30 s,随后 $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ 5 s和 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 30 s(40个循环),最后进行熔解曲线分析.采用 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 法计算基因相对表达量^[14],每个样本设3个技术重复,并设置无模板对照及无逆转录对照以确保实验质量.

1.4 Prx基因的RNA干扰(RNAi)实验

本研究选取蜕皮后3个月的饥饿雌蜱作为实验对象.实验设置Prx-dsRNA实验组($n=60$)和GFP-dsRNA阴性对照组($n=60$).基于Prx基因保守区(Prx基因序列见补充文件1)设计特异性引物,正向引物

5'-GGATCCTAATACGACTCACTATAGGCATCCTGTTCTCTCACCC-3' 和反向引物 5'-GGATCCTAATACGACTCACTATAGGTCGGAATCTCCTCTCTG-3' (下划线为 T7 启动子), PCR 方法: 程序包括 95 °C 30 s, 随后 38 个循环的 95 °C 30 s, 57 °C 30 s 和 72 °C 30 s. 对照组采用绿色荧光蛋白 (green fluorescent protein, GFP), 基于 GFP 蛋白的基因保守区 (GenBank 登录号: KX247384.1) 设计特异性引物: 正向引物 5'-GGATCCTAATACGACTCACTATAGGACGTAAACGGCCACAAGT-3' 和反向引物 5'-GGATCCTAATACGACTCACTATAGGCTTCTCGTTGGGGTCTTT-3' (下划线为 T7 启动子序列). PCR 方法: 程序包括 95 °C 变性 30 s, 随后 95 °C 30 s, 58 °C 30 s 和 72 °C 30 s (共 38 个循环). 使用 T7 RiboMAX™ Express RNAi System 合成 dsRNA, 经 DNase I 处理和 LiCl 沉淀纯化后测定浓度和纯度. 采用 Hamilton 微量注射器 (33 号针头) 在雌蟀右下腹板精确注射 0.5 μL (4 μg/μL) dsRNA^[15], 并在注射部位涂抹凡士林, 在培养箱 (温度 25 °C ± 1 °C, 相对湿度 75%, 光周期 16L : 8D) 中恢复 24 h, 存活下来的雌蟀视为注射成功. 随后雌蟀继续在培养箱中进行饥饿耐受实验, 定时观察记录雌蟀的死亡率, 同时取样进行 RT-qPCR 分析, 以检测 *Prx* 基因被干扰后的表达情况. RNA 干扰效率使用前文中提到的相同 RT-qPCR 方法来实现.

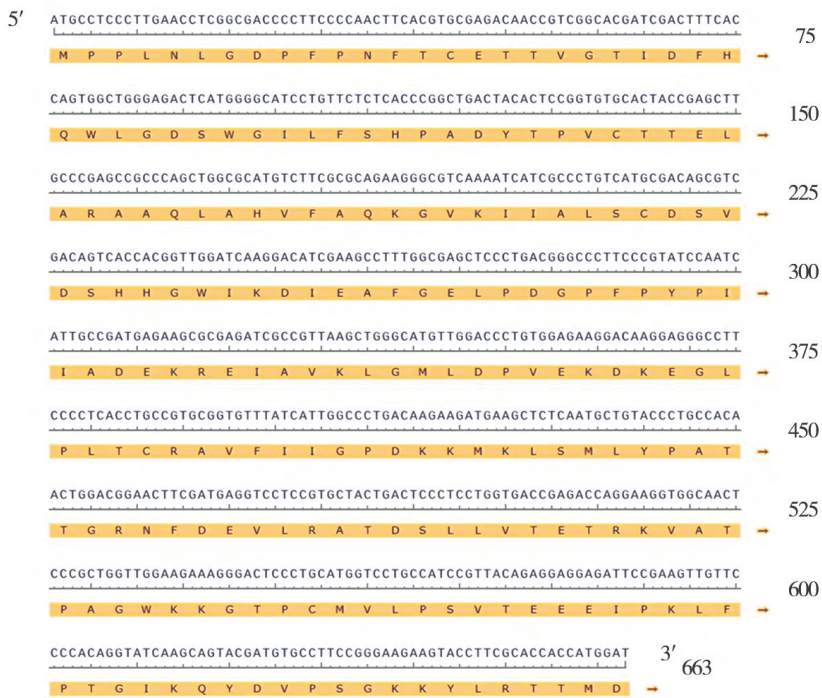


图 1 *Prx* 基因的 cDNA 序列及其对应的氨基酸序列

Fig.1 cDNA Sequence and Its Encoded Amino Acid Sequence of the *Prx* Gene

1.5 蛋白质提取与酶解

选取蜕皮 3 个月并注射 *Prx*-dsRNA 和对照组 GFP-dsRNA 24 h 后的雌蟀各 10 只, 置于含 PBS 缓冲液 (0.01 mol/L) 和蛋白酶抑制剂 (50×, roche, 德国) 的离心管中, 使用自动研磨仪 4 °C 低温匀浆. 匀浆液经 12 000 g 离心 10 min, 上清转移至新的 1.5 ml 离心管中, 加入等体积预冷 DNA 提取酚, 涡旋 1 min 后 12 000 g 离心 10 min, 收集上层水相. 随后加入等体积预冷 Tris-HCL (PH 8.0), 振荡离心后取上清, 重复该步骤 2 次. 之后加入 5 倍体积预冷的 0.1 mol/L 醋酸铵甲醇溶液, 混匀并于 -20 °C 过夜沉淀蛋白质. 离心所得沉淀用 1 mL 预冷甲醇重悬, 涡旋离心后弃上清, 蛋白质沉淀经真空冷冻干燥后于 -80 °C 保存. 提取的蛋白质依次经 DTT (0.01 mol/L, 37 °C, 1 H) 还原和 IAA (0.02 mol/L, 26 °C, 30 min, 避光) 烷基化处理, 再将酶与蛋白质按 1 : 50 分子质量比加入胰蛋白酶 (Promega, 美国), 37 °C 酶解过夜. 酶解后的肽段经 C18 固相萃取柱 (Anpel, 中国) 脱盐, 离心浓缩干燥后保存于 -20 °C.

1.6 定量蛋白质组学数据采集与分析

使用 Vanquish Neo UHPLC 液相色谱与 Orbitrap Exploris 480 质谱联用系统, 在 DIA 模式下进行质谱

数据采集,全面分析雌蜱蜕皮后3个月饥饿期的蛋白质表达量变化情况.酶解后的多肽使用含0.1%甲酸(FA)的质谱级水复溶,加入相应比例的iRT(Biognosys,瑞士).色谱分离采用流动相A(0.1% FA水溶液)和B(0.1% FA的80%乙腈溶液).液相色谱洗脱流速及线性乙腈洗脱梯度设置如下:初始4%流动相B,维持至1 min;1.8~2 min升至4.5%流动相B;2~47 min升至20%流动相B;47~57 min升至35%流动相B;57~57.5 min升至55%流动相B;57.5 min后进行柱清洗,58~60 min升至99%流动相B并保持;60 min终止梯度.流速在0~57.5 min内为0.3 $\mu\text{L}/\text{min}$,58~60 min提高至0.8 $\mu\text{L}/\text{min}$.Orbitrap Exploris 480的DIA模式参数设置如下,一级质谱Full MS和DIA二级碎裂质谱参数如下,1)喷雾电压:2 200 V;2)毛细管温度:320 $^{\circ}\text{C}$;3)采集时间:0~60 min;4)一级扫描范围:400~1 200 m/z;5)一级扫描分辨率:120 000;6)一级AGC目标:自定义;7)一级归一化AGC:300%;8)一级最大注入时间:50 ms;9)HCD碰撞能量:30%;10)DIA窗口设置:自动;11)二级扫描分辨率:30 000;12)二级AGC目标:自定义;13)二级归一化AGC:2 000%;14)二级最大注入时间:自定义.采集方法设置为先MS扫描,紧接着将二级DIA碎裂,扫描范围为400~800 m/z,窗口间隔4 m/z,100个窗口;紧接MS扫描,紧接着二级DIA碎裂,扫描范围:800~900 m/z,窗口间隔10 m/z,10个窗口;接着MS扫描,紧接着二级DIA碎裂,扫描范围:900~1 200 m/z,窗口间隔25 m/z,12个窗口.采用Spectronaut软件(v.18.0, Biognosys, 瑞士)对DIA数据进行检索与定量分析,设置蛋白质和肽段的FDR<1%、Q value<0.05,其余参数默认,数据库基于长角血蜱转录组(NCBI登录号:GHLT00000000)生成的蛋白质序列构建.本段中涉及到的百分数均为体积分数.

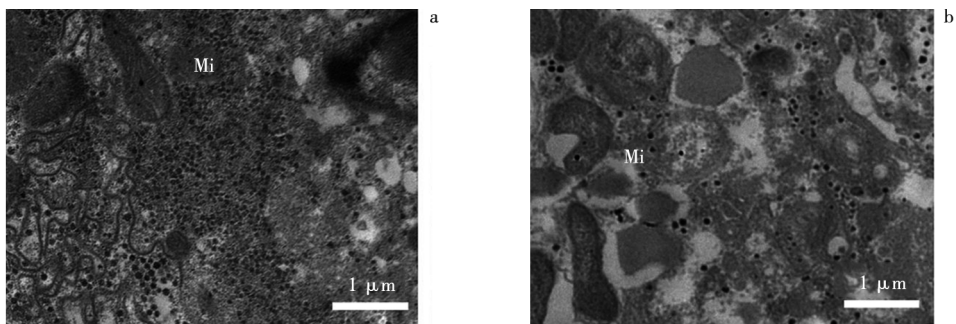
1.7 统计分析

对所有差异表达的蛋白质进行生物信息学分析.使用在线分析软件cnsknowall(<https://cnsknowall.com/#/Home/Contain/BottomContainAll>)分别绘制Venn图、火山图,并进行GO功能富集分析与KEGG通路富集分析.存活数量折线图采用GRAPHPAD PRISM 8.0绘制.组间差异比较使用 t 检验,显著性水平设定为 $P<0.05$.存活率计算公式:当前存活数量/总数量 $\times 100\%$.

2 结果

2.1 不同饥饿时期雌性长角血蜱马氏管细胞超微结构分析

前期研究结果表明,随着雌蜱饥饿时间延长,马氏管组织中Prx蛋白表达量显著上升,表示组织内氧化应激反应增强.该过程伴随活性氧(reactive oxygen species, ROS)的积累,ROS作为氧化应激的主要介质^[16].线粒体作为细胞内ROS的主要来源,在ROS持续增加的情况下易受到攻击;ROS可损伤线粒体膜中的不饱和脂肪酸,引起膜脂过氧化,导致膜电位下降与通透性转换孔(mPTP)开放,进而引发离子和水分内流,造成嵴结构断裂、消失及基质稀释^[17].透射电镜观察结果(图2a、b)直观呈现了上述变化:刚蜕皮的雌蜱马氏管细胞结构完整,线粒体形态正常、嵴结构丰富,蜕皮后5个月的细胞中线粒体嵴断裂并排列紊乱.这些细胞器层面的超微结构证据,从形态学层面证实了雌蜱在长期饥饿状态下确实发生了氧化应激.



a.刚蜕皮非饥饿时期的雌性长角血蜱马氏管细胞超微结构;

b.蜕皮后5个月的饥饿时期雌性长角血蜱马氏管细胞超微结构; Mi,线粒体.

图2 非饥饿时期(a)和饥饿时期(b)雌性长角血蜱马氏管细胞的超微结构

Fig.2 Ultrastructure of Malpighian Tubule Cells in Female *H. Longicornis* Ticks Under Non-starved(a) and Starved Conditions(b)

2.2 RT-qPCR 分析

采用 RT-QPCR 技术检测了雌蜱在刚蜕皮(实验组),以及蜕皮后 1、3、5 个月(对照组)唾液腺、中肠和马氏管组织中 *Prx* 表达水平的变化,结果如图 3 所示.与对照组相比,实验组 *Prx* 表达量在唾液腺中(图 3a),于饥饿前期有所下降,后期则显著回升且高于初始水平,在中肠和马氏管中(图 3b、c),随蜕皮后时间延长持续上调,并于蜕皮后 5 个月时达到峰值.上述结果表明,*Prx* 在不同组织中均对饥饿胁迫产生响应,但其表达变化具有组织特异性.

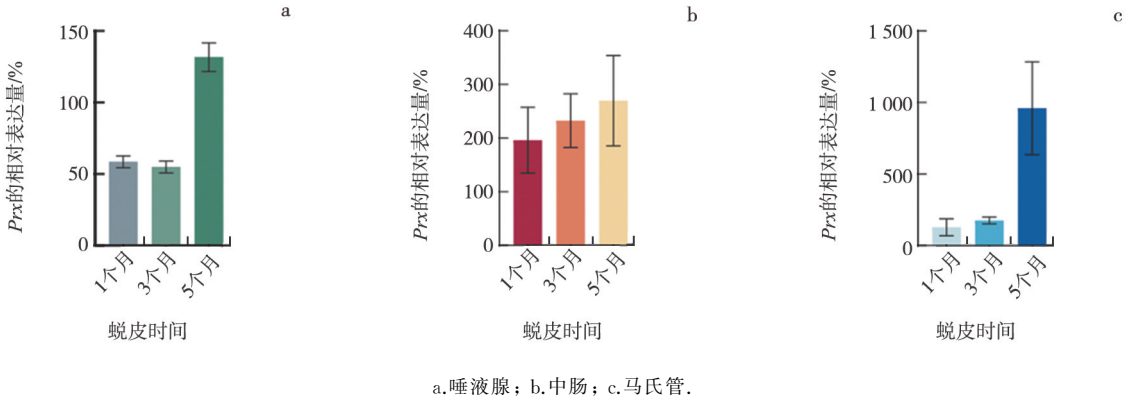


图 3 雌蜱饥饿与非饥饿状态下各组织 *Prx* 表达量的比较

Fig.3 Comparison of *Prx* Expression Levels in Various Tissues Between Starved and Non-starved Female Ticks

2.3 RNA 干扰效率分析

通过实时定量 PCR(RT-qPCR)技术对蜕皮后 3 个月的雌蜱体内 *Prx* 的 RNA 干扰效率进行定量评估(图 4).结果显示,与注射了 GFP-dsRNA 的对照组相比,注射 *Prx*-dsRNA 后 *Prx* 基因的干扰效率高达 $87.9\% \pm 2.6\%$.表明 RNA 干扰能有效抑制 *Prx* 基因的表达.

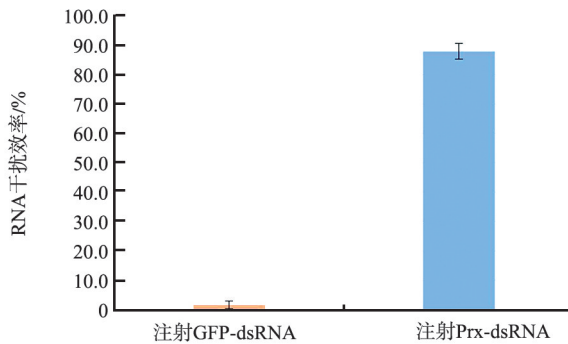


图 4 *Prx*-dsRNA 干扰 *Prx* 的效率(以 GFP-dsRNA 为对照)

Fig.4 Knockdown Efficiency of *Prx* by *Prx*-dsRNA Injection (with GFP-dsRNA as control)

2.4 存活率分析

Prx 基因沉默对长角血蜱存活率的影响如图 5 所示.在未进食的饥饿条件下,对照组注射 GFP-dsRNA 的蜱 24 h 内存活率为 100%,72 h 存活率为 $(95 \pm 1.3)\%$,至第 340 h 仍保持 $(45 \pm 1.3)\%$ 的存活率.相比之下,*Prx* 沉默组在干预初期(24 h 内)虽未出现死亡个体(存活率 100%),但从 72 h 开始存活率为 $(90 \pm 2.6)\%$, $P < 0.05$,这种存活率的差异随时间推移逐渐扩大,至实验终点(第 340 h),*Prx* 沉默组的雌蜱全部死亡,存活率显著低于对照组($P < 0.05$).生存分析(*t* 检验)显示 2 组生存曲线存在显著差异($P < 0.05$).

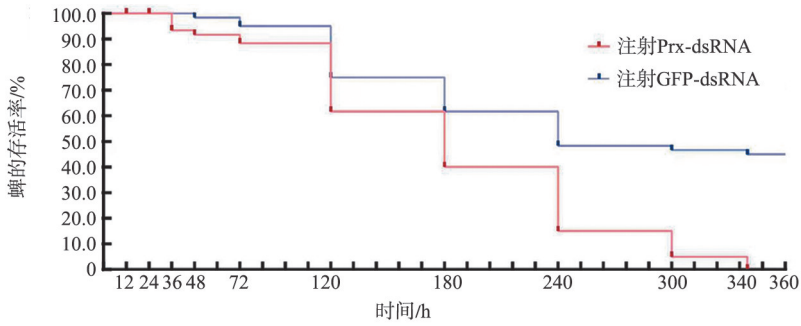


图 5 注射 Prx-dsRNA 或 GFP-dsRNA(对照)的蜕皮 3 个月的雌蜱在饥饿状态下的存活率
 Fig.5 Survival Rate of Female Ticks at 3 Months Post-molting Under Starvation After Injection with Prx-dsRNA or GFP-dsRNA (control)

2.5 RNA 干扰后相应蛋白的变化分析

对注射 Prx-dsRNA(实验组)与注射 GFP-dsRNA(对照组)的蜕皮后 3 个月雌蜱进行蛋白质组比较分析,结果如图 6 所示.实验组鉴定到 4 038 个蛋白质,对照组鉴定到 3 785 个蛋白质,2 组样本共同鉴定到 3 635 个蛋白质,其中 Prx-dsRNA 注射组中有 403 个特异性表达蛋白质,GFP-dsRNA 注射组中有 150 个特异性表达蛋白质.后续分析均基于这些共同表达的蛋白质展开.火山图(图 7)基于注射 Prx-dsRNA 与 GFP-dsRNA 的雌性长角血蜱的蛋白质表达水平比较而生成,筛选标准为 $P < 0.05$ 且表达量上调 ≥ 2 倍或下调 ≤ 0.5 倍.结果显示,与对照组相比,Prx-dsRNA 注射组中共有 197 个蛋白质表达上调,282 个蛋白质表达下调.

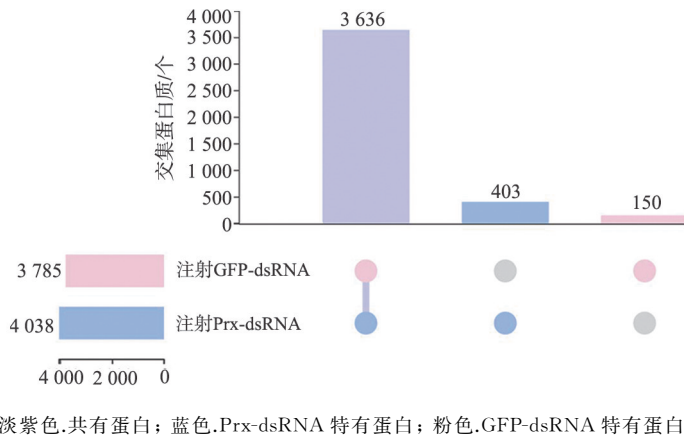


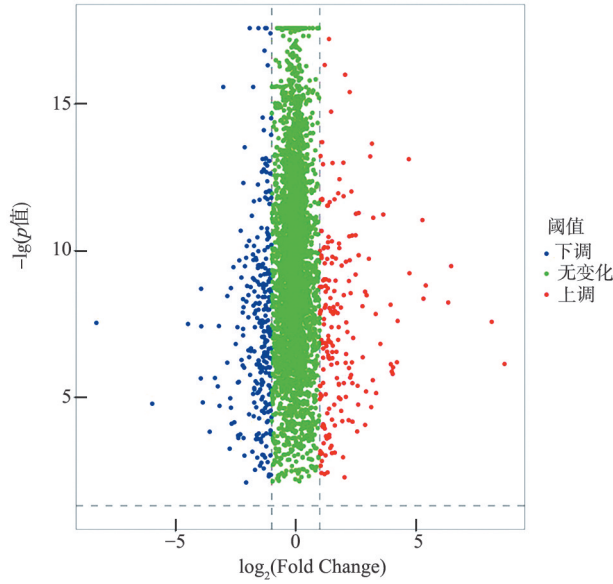
图 6 对雌蜱分别注射 GFP-dsRNA(对照组)或 Prx-dsRNA 后通过质谱鉴定的全虫表达蛋白质之间的重叠情况

Fig.6 Overlap of Proteins Identified by Mass Spectrometry in Whole Ticks After Injection of GFP-dsRNA (control) or Prx-dsRNA

2.6 GO 富集分析

基于蛋白质组学分析结果,对注射 PRX-dsRNA 与注射 GFP-dsRNA 对照组之间出现差异表达的蛋白进行了 GO 富集分析,以揭示 Prx 在饥饿胁迫响应中的潜在功能.本研究选取了富集蛋白数目最多的前 100 个通路进行可视化,结果如图 8 所示.根据 GO 富集分析的结果,蛋白质功能注释被划分为 3 个主要类别:生物过程(biological process)、分子功能(molecular function)和细胞组分(cellular component).在生物过程类别中,显著富集的条目包括核糖体 RNA 加工(rRNA processing)、翻译(translation)以及 RNA 聚合酶 II 介导的转录调控(regulation of transcription by RNA polymerase II).在分子功能类别中,显著富集的条目涵盖 ATP 结合(ATP binding)、RNA 结合(RNA binding)及核糖体结构组分(structural constituent of ribo-

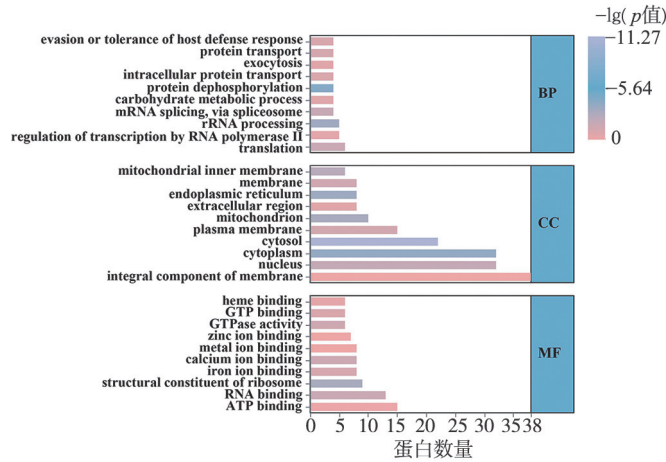
some).在细胞组分类别中,显著富集的条目包括膜整合成分(integral component of membrane)、细胞核(nucleus)和细胞质(cytoplasm).



红色.上调蛋白; 蓝色.下调蛋白; 绿色.无显著变化蛋白.

图 7 Prx-dsRNA 处理组与 GFP-dsRNA 对照组雌蜱蛋白质表达水平的火山图

Fig.7 Volcano Plot Comparing Protein Expression Levels in Female Ticks Injected with Prx-dsRNA Versus GFP-dsRNA (control)



BP.生物过程; CC.细胞组分; MF.分子功能.

图 8 Prx-dsRNA 处理组与 GFP-dsRNA 对照组雌蜱差异表达蛋白的 GO 富集分析

Fig.8 GO Enrichment Analysis of Differentially Expressed Proteins Between Prx-dsRNA Treated and GFP-dsRNA Control Female Ticks

2.7 KEGG 通路分析

对 Prx-dsRNA 处理组与 GFP-dsRNA 对照组之间的差异表达蛋白进行 KEGG 通路富集分析(图 9),结果共显著富集到 14 条通路,包括脂肪酸生物合成(fatty acid biosynthesis)、脂肪酸降解(fatty acid degradation)及甘油磷脂代谢(glycerophospholipid metabolism)等.其中,甘油磷脂代谢通路富集最为显著,表明在 Prx 基因沉默后,长角血蜱中多种代谢相关蛋白可能发挥了重要的生物学作用.

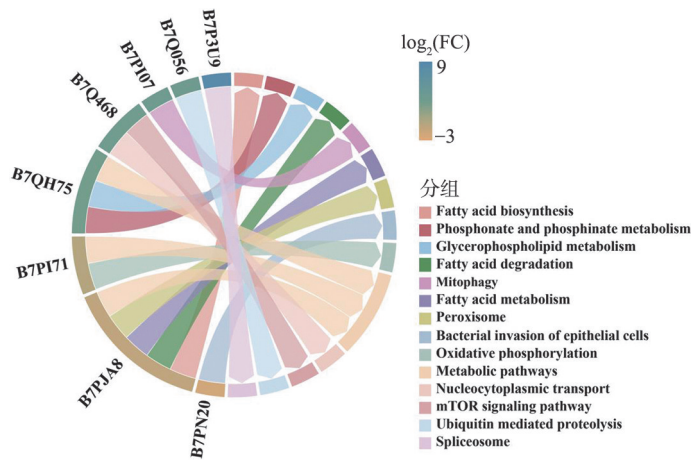


图9 Prx-dsRNA处理组与GFP-dsRNA对照组雌蜱差异表达蛋白的KEGG通路分析

Fig.9 KEGG Pathway Analysis of Differentially Expressed Proteins Between Prx-dsRNA Treated and GFP-dsRNA Control Female Ticks

3 讨论

研究表明,长期禁食诱导的氧化应激可触发一种进化上保守的分子响应机制,其主要特征为抗氧化酶系统的广泛上调^[18-19].这一现象在高等生物和无脊椎动物中均普遍存在.前期的定量蛋白质组学分析发现,长角血蜱在饥饿状态下,其马氏管中的Prx表达呈时间依赖性上升^[12].进一步通过定量PCR验证,Prx在马氏管中的表达也随饥饿时间延长而上调.电镜观察显示,长期饥饿导致马氏管超微结构发生明显改变(如线粒体内部嵴结构断裂),可能与活性氧自由基积累有关^[20].而Prx的高表达可能有助于清除过量自由基,缓解氧化损伤.功能实验证实,Prx基因沉默后可显著加速饥饿蜱的死亡进程,并引起多种蛋白质表达异常,表明该蛋白在饥饿应激中发挥关键作用.

Prx是一类进化上高度保守的过氧化物酶,作为抗氧化系统的核心组分,在维持细胞氧化还原稳态中具有重要功能^[21-22].除清除过氧化氢和过氧亚硝酸盐等经典抗氧化角色外,Prx还广泛参与细胞信号转导、免疫调节与代谢调控等过程^[23-26].例如,在INS-1E细胞中,Prdx4通过利用内源性H₂O₂激活特定代谢通路并促进胰岛素原转录,从而增强葡萄糖刺激的胰岛素分泌^[27].这些发现拓展了对Prx在能量代谢中多功能角色的理解,也为探究其在蜱类饥饿适应中的作用机制提供了新视角.

在长期饥饿胁迫下,长角血蜱需精确调控能量代谢以维持基本生理功能^[28].根据结果推测,Prx在其饥饿适应过程中可能主要通过维持氧化还原稳态发挥系统性调控功能,而非直接介入代谢通路调控^[18-19].为验证该假说,本研究利用RNA干扰技术沉默Prx基因,并通过定量蛋白质组学分析其下游效应.结果显示,Prx缺失引起多种蛋白表达改变,其中铁螯合酶(ferrochelatase, FECH)和二氢乳清酸脱氢酶(dihydroorotate dehydrogenase, DHODH)表达显著上调.

FECH是血红素生物合成途径中的关键酶,催化亚铁离子插入原卟啉IX生成血红素^[29].在Prx缺失导致氧化应激加剧的条件下,FECH的上调可能通过促进血红素合成,增强依赖血红素的抗氧化酶(如超氧化物歧化酶)活性,进而提高细胞对活性氧的清除能力^[30].此外,该机制还有助于减少游离铁参与FENTON反应所致的氧化损伤,降低铁死亡风险,对维持细胞内铁稳态具有重要生理意义^[30-31].

DHODH是嘧啶从头合成途径中的关键酶,催化二氢乳清酸氧化为乳清酸^[32].Prx缺失可导致细胞内活性氧分布异常并引起DNA氧化损伤^[33].在此情况下,DHODH的上调不仅有助于保障嘧啶供应以支持核酸修复,其与线粒体电子传递链的耦合还可能维持泛醌(ubiquinone, UQ)的氧化还原状态,从而增强细胞应对氧化压力的能力^[32,34].

以上结果表明,在Prx缺失引发的氧化应激状态下,长角血蜱通过上调FECH和DHODH等关键蛋白协同增强抗氧化防御与代谢维持能力^[35].因此,Prx在饥饿适应中的核心作用可能主要体现在作为抗氧化中枢调控氧化还原稳态,而非直接介入代谢调控,这一发现为阐释蜱类极端耐饥饿的分子机制提供了新方向.

4 结 论

本研究揭示,在长期饥饿诱导的氧化应激下,长角血蜱通过时间依赖性上调 Prx 基因的表达以维持细胞氧化还原稳态。Prx 缺失不仅加速饥饿蜱死亡,还引起 FECH 与 DHODH 等关键蛋白表达上调,协同增强抗氧化防御与代谢维持能力。结果表明,Prx 作为抗氧化中枢通过调控氧化还原稳态在蜱类极端耐饥饿适应中起核心作用,而非直接介入代谢调控,为理解无脊椎动物应对营养胁迫的分子机制提供了新视角。

数据可访问性声明

所有质谱蛋白质组学数据均已通过 iproX 存储库存入 Proteomexchange Consortium (<https://proteomecentral.proteomexchange.org/>),数据集标识符为 PXD068852。

参考文献:

- [1] HOOGSTRAAL H,ROBERTS F H,KOHL S G M,et al.Review of *Haemaphysalis (Kaiseriana) longicornis* Neumann (Resurrected) of Australia, New Zealand, New Caledonia, Fiji, Japan, Korea, and Northeastern China and Ussr, and Its Parthenogenetic and Bisexual Populations (Ixodoidea, Ixodidae)[J].The Journal of Parasitology,1968,54(6):1197-1213.
- [2] ZHAO L,LI J,CUI X M,et al.Distribution of *Haemaphysalis longicornis* and Associated Pathogens:Analysis of Pooled Data from a China Field Survey and Global Published Data[J].Lancet Planetary Health,2020,4(8):e320-e329.doi:10.1016/S2542-5196(20)30145-5
- [3] HEATH A.Biology, Ecology and Distribution of the Tick, *Haemaphysalis longicornis* Neumann (Acari: Ixodidae) in New Zealand[J].New Zealand Veterinary Journal,2016,64(1):10-20.doi:10.1080/00480169.2015.1035769
- [4] CHEN Z,LIU Q,LIU J Q,et al.Tick-borne Pathogens and Associated Co-infections in Ticks Collected from Domestic Animals in Central China[J].Parasites & Vectors,2014,7(1):237.doi:10.1186/1756-3305-7-237
- [5] FAUSETT E,KIRSTEIN O D,BELLMAN S,et al.Surveillance and Detection of *Haemaphysalis longicornis* (Acari: Ixodidae) in Protected Areas from Georgia, USA[J].Journal of Medical Entomology,2024,61(4):1071-1076.doi:10.1093/jme/tjae051
- [6] MAUNDER J W.Biology of Ticks (Vol.D)[J].Parasitology Today,1992,8(8):289.doi:10.1016/0169-4758(92)90150-z
- [7] ROSENDALE A J,DUNLEVY M E,MCCUE M D,et al.Progressive Behavioural, Physiological and Transcriptomic Shifts over the Course of Prolonged Starvation in Ticks[J].Molecular Ecology,2019,28(1):49-65.doi:10.1111/mec.14949
- [8] BENOIT J B,DENLINGER D L.Meeting the Challenges of On-host and Off-host Water Balance in Blood-feeding Arthropods[J].Journal of Insect Physiology,2010,56(10):1366-1376.doi:10.1016/j.jinsphys.2010.02.014
- [9] WANG H,LI K,ZHU J Y,et al.Cloning and Expression Pattern of Heat Shock Protein Genes from the Endoparasitoid Wasp, *Pteromalus puparum* in Response to Environmental Stresses[J].Archives of Insect Biochemistry and Physiology,2012,79(4/5):247-263.doi:10.1002/arch.21013
- [10] UMEMIYA R,MATSUO T,HATTA T,et al.Autophagy-related Genes from a Tick, *Haemaphysalis longicornis* [J].Autophagy,2008,4(1):79-81.doi:10.4161/auto.5143
- [11] NEEDHAM G R,TEEL P D.Off-host Physiological Ecology of Ixodid Ticks[J].Annual Review of Entomology,1991,36:659-681.doi:10.1146/annurev.en.36.010191.003303
- [12] WANG N M,WANG H,JI A M,et al.Proteomic Changes in Various Organs of *Haemaphysalis longicornis* Under Long-term Starvation[J].PLoS Neglected Tropical Diseases,2022,16(8):e0010692.doi:10.1371/journal.pntd.0010692
- [13] LIU J Z,LIU Z N,ZHANG Y,et al.Biology of *Dermacentor silvarum* (Acari: Ixodidae) Under Laboratory Conditions [J].Experimental & Applied Acarology,2005,36(1):131-138.doi:10.1007/s10493-005-1271-1
- [14] LIVAK K J,SCHMITTGEN T D.Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-time Quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C_T}$ Method[J].Methods,2001,25(4):402-408.doi:10.1006/meth.2001.1262
- [15] ROSENDALE A J,DUNLEVY M E,FIELER A M,et al.Dehydration and Starvation Yield Energetic Consequences that Affect Survival of the American Dog Tick[J].Journal of Insect Physiology,2017,101:39-46.doi:10.1016/j.jinsphys.2017.06.012
- [16] PIZZINO G,IRRERA N,CUCINOTTA M,et al.Oxidative Stress:Harms and Benefits for Human Health[J].Oxidative Medicine and Cellular Longevity,2017,2017(1):8416763.doi:10.1155/2017/8416763
- [17] KENT A C,EL BARADIE K B Y,HAMRICK M W.Targeting the Mitochondrial Permeability Transition Pore to Pre-

- vent Age-associated Cell Damage and Neurodegeneration[J]. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2021, 2021(1): 6626484. doi: 10.1155/2021/6626484
- [18] MORALES A E, PÉREZ-JIMÉNEZ A, CARMEN HIDALGO M, et al. Oxidative Stress and Antioxidant Defenses After Prolonged Starvation in *Dentex dentex* Liver[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 2004, 139(1/2/3): 153-161. doi: 10.1016/j.cca.2004.10.008
- [19] WU P, WANG A M, CHENG J, et al. Effects of Starvation on Antioxidant-related Signaling Molecules, Oxidative Stress, and Autophagy in Juvenile Chinese Perch Skeletal Muscle[J]. *Marine Biotechnology*, 2020, 22(1): 81-93. doi: 10.1007/s10126-019-09933-7
- [20] KOWALCZYK P, SULEJCZAK D, KLECZKOWSKA P, et al. Mitochondrial Oxidative Stress-A Causative Factor and Therapeutic Target in Many Diseases[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(24): 13384. doi: 10.3390/ijms222413384
- [21] AKI T, UNUMA K, UEMURA K. The Role of Peroxiredoxins in the Regulation of Sepsis[J]. *Antioxidants*, 2022, 11(1): 126. doi: 10.3390/antiox11010126
- [22] WU M Y, DENG C J, LO T H, et al. Peroxiredoxin, Senescence, and Cancer[J]. *Cells*, 2022, 11(11): 1772. doi: 10.3390/cells11111772
- [23] WINTERBOURN C C. Reconciling the Chemistry and Biology of Reactive Oxygen Species[J]. *Nature Chemical Biology*, 2008, 4(5): 278-286. doi: 10.1038/nchembio.85
- [24] KARPLUS P A. A Primer on Peroxiredoxin Biochemistry[J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2015, 80: 183-190. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2014.10.009
- [25] LEE E S, KANG C H, PARK J H, et al. Physiological Significance of Plant Peroxiredoxins and the Structure-related and Multifunctional Biochemistry of Peroxiredoxin 1[J]. *Antioxidants & Redox Signaling*, 2018, 28(7): 625-639. doi: 10.1089/ars.2017.7400
- [26] DE OLIVEIRA M A, TAIRUM C A, NETTO L E S, et al. Relevance of Peroxiredoxins in Pathogenic Microorganisms [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2021, 105(14): 5701-5717. doi: 10.1007/s00253-021-11360-5
- [27] MEHMETI I, LORTZ S, ELSNER M, et al. Peroxiredoxin 4 Improves Insulin Biosynthesis and Glucose-induced Insulin Secretion in Insulin-secreting INS-1E Cells [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2014, 289(39): 26904-26913. doi: 10.1074/jbc.M114.568329
- [28] NOGUEIRA C L, ARCANJO A F, LIMA M E, et al. Starvation Metabolism Adaptations in Tick Embryonic Cells BME26[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2025, 26(1): 87. doi: 10.3390/ijms26010087
- [29] LIU Y L, ANG S O, WEIGENT D A, et al. Regulation of Ferrochelatase Gene Expression by Hypoxia[J]. *Life Sciences*, 2004, 75(17): 2035-2043. doi: 10.1016/J.LFS.2004.03.027
- [30] WANG J H, LUO Y, JIAO T, et al. Functional Differentiation and Regulatory Mechanisms of Ferrochelatases Hemh1 and Hemh2 in *Bacillus thuringiensis* Under Iron and Oxidative Stress[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2025, 26(7): 2911. doi: 10.3390/IJMS26072911
- [31] OBI C D, BHUIYAN T, DAILEY H A, et al. Ferrochelatase: Mapping the Intersection of Iron and Porphyrin Metabolism in the Mitochondria[J]. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 2022, 10: 894591. doi: 10.3389/Fcell.2022.894591
- [32] REIS R A G, CALIL F A, FELICIANO P R, et al. The Dihydroorotate Dehydrogenases: Past and Present[J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2017, 632: 175-191. doi: 10.1016/J.Abb.2017.06.019
- [33] GRAVES J A, METUKURI M, SCOTT D, et al. Regulation of Reactive Oxygen Species Homeostasis by Peroxiredoxins and C-Myc[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2009, 284(10): 6520-6529. doi: 10.1074/Jbc.M807564200
- [34] BAJZIKOVA M, KOVAROVA J, COELHO A R, et al. Reactivation of Dihydroorotate Dehydrogenase-driven Pyrimidine Biosynthesis Restores Tumor Growth of Respiration-deficient Cancer Cells[J]. *Cell Metabolism*, 2019, 29(2): 399-416. E10. doi: 10.1016/J.Cmet.2018.10.014
- [35] SMITH C O, MORAN G R. Not Once, Not Twice, but Thrice: Structure and Catalytic Mechanisms of the Dihydroorotate Dehydrogenases[J]. *Biochemistry*, 2025, 64(11): 2353-2363.