结核分枝杆菌 Rv0341G4 结合小分子活性化合物的筛选及初步验证

王昱斌[1]，都甜甜[2]，颉亚辉[3]，潘云燕[1*]

（1. 兰州大学第二医院（第二临床医学院）检验医学中心，甘肃兰州 730030；2. 兰州大学第二医院（第二临床医学院）肾病科，甘肃兰州 730030；3. 甘肃中医药大学公共卫生学院，甘肃兰州 730030）

摘要：该研究筛选了能特异性结合和稳定结核分枝杆菌 *Rv0341* 基因 G4 结构的小分子化合物。采用圆二色谱法探究 *Rv0341* 上富 G 寡核苷酸链能否形成 G4（Rv0341G4）结构，并采用实时荧光定量反转录聚合酶链反应（qRT-PCR）和蛋白质印迹法验证小分子化合物对 *Rv0341* 表达的抑制作用。通过表面等离子体共振（SPR）技术筛选得与 Rv0341G4 结合的小分子化合物 T-007；qRT-PCR 法和蛋白质印迹法分析显示 T-007 可稳定 Rv0341G4 结构，对 *Rv0341* 转录具有负调控作用。该研究可为靶向 GR 结构的结核病治疗药物开发提供一定参考。

关键词：结核分枝杆菌；圆二色谱；*Rv0341* 基因 G4 结构；表面等离子体共振；实时荧光定量反转录 PCR；蛋白质印迹；抗结核药

中图分类号：Q789；R978.3　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1001-8255（2025）07-0886-07

引用：王昱斌，都甜甜，颉亚辉，等．结核分枝杆菌 Rv0341G4 结合小分子活性化合物的筛选及初步验证［J］．中国医药工业杂志，2025, **56**(7)：886-892．DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2025.07.007

Screening and Preliminary Validation of Small Molecules Binding to *Mycobacterium tuberculosis* Rv0341G4

WANG Yubin[1], DU Tiantian [2], XIE Yahui [3], PAN Yunyan[1*]

(*1. Laboratory Medicine Center of the Second Hospital & Clinical Medical School, Lanzhou University, Lanzhou 730030; 2. Nephrology Department of the Second Hospital & Clinical Medical School, Lanzhou University, Lanzhou 730030; 3. School of Public Health, Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730030*)

ABSTRACT: This study screened small molecule compounds capable of specifically binding to and stabilizing the G-quadruplex (G4) structure within the *Rv0341* gene of *Mycobacterium tuberculosis*. Firstly, circular dichroism (CD) spectroscopy was used to confirm the formation of the G4 structure (designated Rv0341G4) by the G-rich oligonucleotide sequence in *Rv0341* gene. Subsequently, real time fluorescent quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (qRT-PCR) and Western blot were employed to validate the inhibitory effects of candidate small molecules on *Rv0341* expression. Through surface plasmon resonance (SPR) screening, a small molecule compound T-007 exhibiting high-affinity binding to Rv0341G4 was identified. Both qRT-PCR and Western blot analyses demonstrated that T-007 stabilizes the Rv0341G4 structure and downregulates *Rv0341* transcription. This study provides valuable insights for developing novel anti-tuberculosis therapeutics targeting G4 structures.

Key Words: *Mycobacterium tuberculosis*; circular dichroism spectroscopy; G-quadruplex structure within the *Rv0341* gene; surface plasmon resonance; real time fluorescent quantitative reverse transcription polymerase chain reaction; Western blot; antituberculotic drug

结核病（tuberculosis，TB）是结核分枝杆菌（*Mycobacterium tuberculosis*，以下简称 *M. tb*）感染机体后引起的慢性传染病[1]。世界卫生组织报告[2]显示，全球结核患者有 1 060 万人，2022 年有 130 万人死于结核；全球 1/5 的人口存在结核潜伏感染，其中 2%～10%可进展为活动性结核。此外，结核耐药与耐多药株的流行[3]、*M. tb* 与 HIV 或丙型肝炎病毒（hepatitis C virus，HCV）共感染等情况，进一步加剧了结核病对人类健康的严重威胁[4—5]。2023 年，中国的新发结核病患者有 74.8 万人，居全球第三[2]。卡介苗（bacillus Calmette-Guérin vaccine，BCG）仍然是目前公认最有效的结核病预防疫苗，但仅对儿童中有一定效果，对成人的免疫保护效果较差[6]。因此，深入开展结核分枝杆菌潜伏感染、免疫应答与致病机制的相关研究，对加速结核病治疗药物、疫苗和治疗性抗体的创制具有重大意义。

巨噬细胞是 *M. tb* 寄生的主要宿主细胞[7]。*M. tb* 可以感染巨噬细胞，激活固有免疫与适应性免疫，从而在机体内长期存在[8—9]。Rv0341 是 *M. tb* 所表达的、功能尚未完全明确的蛋白质。有研究[10]显示，Rv0341 在机体结核肉芽肿和抗菌药的压力下表达会上调，显著提升 *M. tb* 在机体内的存活率。这说明 Rv0341 在 *M. tb* 耐药、致病或毒力方面有重要作用。

富 G 寡核苷酸链在一定条件下能形成 G4 空间结构，即 4 个鸟嘌呤之间通过 Hoogsteen 氢键形成 G- 四分体结构单元，2 个及以上的 G- 四分体通过 π-π 堆积形成 G4 空间结构[11]。G4 结构可通过圆二色谱（circular dichroism，CD）仪检测[12]。通常，G4 结构大量存在于启动子和端粒中[13—14]，能维持染色体稳定、调控基因转录[15]。G4 结构在病毒的免疫逃逸中也发挥着重要作用[16]。有报道[17]显示，EB 病毒（Epstein-Barr virus，又称人类疱疹病毒 4 型）中的 G4 结构可以负调控 EB 病毒核抗原 1（Epstein-Barr virus-encoded nuclear antigen-1，EBNA1）的表达；采用反义寡核苷酸使 G4 结构稳定性下降，能增加 EBNA1 的表达，而采用小分子配体 pyridostatin 稳定 G4 结构，则能降低 EBNA1 的表达。由此可见，G4 结构对病原微生物的复制、翻译和免疫逃逸具有重要影响[18]。

生物信息学分析结果[19]显示，*M. tb* 的 *Rv0341* 基因单链上存在富 G 序列，$Rv0341G4_{(321\text{-}346)}$（5'-GGGTGCTGGGTTCCTGGGTCAGGGT-3'），在一定条件下有可能形成 G4 空间结构（Rv0341G4），提示 Rv0341G4 可能在 *M. tb* 潜伏感染和免疫逃逸中发挥重要作用。但目前尚未见关于 Rv0341G4 的研究，也未见能特异性结合并稳定 Rv0341G4 结构的小分子化合物的相关报道。

本研究旨在利用表面等离子体共振（surface plasmon resonance，SPR）技术筛选能够与 Rv0341G4 结合的小分子化合物，研究其对 G4 结构稳定性和 *Rv0341* 基因表达的影响，进而揭示 *M. tb* 潜伏感染和免疫逃逸的机制，为 *M. tb* 的疫苗研制和治疗药物开发提供一定帮助。

1 仪器与试药

Mastercycler pro 型 PCR 仪（德国 Eppendorf 公司）；Jasco-810 型圆二色谱仪（日本 Jasco 公司）；EC3 Imaging 型紫外凝胶成像系统、Chemstudio 型化学发光检测仪均购于美国 UVP 公司；Biacore T200 型分子相互作用分析系统（美国 GE 公司）；StepOne Plus 型实时荧光定量反转录聚合酶链反应（real time fluorescent quantitative reverse transcription polymerase chain reaction，qRT-PCR）仪（美国 ABI 公司）；Tc10TM 型自动细胞计数仪（美国 BioLegend 公司）；DU730 型紫外分光光度计（美国 Beckman Coulter 公司）；BB150 型 CO_2 培养箱（美国 Thermo 公司）；HG-50 型高压灭菌锅（日本 Hirayama 公司）；Mini-PROTEAN Tetra 型电泳槽（美国 Bio-Rad 公司）。

质粒小提试剂盒（美国 Axygen 公司）；去内毒素质粒大提试剂盒（美国 Omega Bio-Tek 公司）；*Bam*Ⅰ、*Not*Ⅰ限制性内切酶（美国 Promega 公司）；T4 DNA 连接酶、DMEM 细胞培养基（美国 HyClone 公司）；FBS、青霉素 -

收稿日期：2024-09-19

基金项目：甘肃省青年科技基金项目（21JR11RA115）、甘肃省教育厅 2023 高校教师创新基金项目（2023B-104）、临床萃英拔尖项目（CY2023-RJ-08）

作者简介：王昱斌，男，硕士研究生，主管检验师，从事临床分子诊断。

通信作者：潘云燕，女，硕士研究生，主任检验师，从事临床分子诊断工作。

E-mail：pyyhbw@126.com

链霉素双抗（美国 Gibco 公司）；DMSO（美国 Sigma-Aldrich 公司）；Lipofectamine 2000 转染试剂（美国 Invitrogen 公司）；Trizol 总 RNA 提取试剂（美国 Thermo Fisher 公司）；KOD 高保真 DNA 聚合酶、SYBR Green qRT-PCR 试剂盒、ReverTra Ace-α 逆转录试剂盒（日本 Toyobo 公司）；小鼠抗 *Rv0341* 单克隆抗体（英国 Abcam 公司）；辣根过氧化物酶（horseradish peroxidase，HRP）- 羊抗鼠 IgG 二抗（美国 Southern Biotech 公司）；增强型化学发光（enhanced chemiluminescence，ECL）试剂 A 液 /B 液（美国 Millipore 公司）；链霉亲和素（streptavidin，SA）传感芯片（美国 Cytiva 公司）；5% 脱脂奶粉（上海碧云天生物技术股份有限公司）；三羟甲基氨基甲烷盐酸盐（Tris-HCl）、细胞裂解液［含 20 mmol/L Tris-HCl（pH 7.5）、150 mmol/L 氯化钠、1% Triton X-100 和 1% 蛋白酶抑制剂］（自制）。

小分子化合物（90 种）由兰州大学化学与分子科学学院提供，基于可稳定结合 HCV 核心抗原上 G4 结构的化合物吡啶二羧酸二吡啶（pyridostatin-dicarboxamide pyridine）PDP 的分子结构，衍生并合成的可能靶向 *M. tb* 的 *Rv0341* 基因上 G4 结构的候选小分子化合物。质粒 pcDNA3.1-Rv0341（pRv0341）和 DH5α 大肠埃希菌感受态细胞由本实验室构建并保存。*Rv0341* 基因中富 G 的 DNA 序列（生物素标记）Rv0341G4（5'-biotin-GGGTGCTGGGTTCCTGGGTCAGGGT-3'，以下简称“Rv0341G4-biotin”）由日本 Takara 公司合成。PCR 引物送上海英骏生物技术有限公司合成。

人肝癌细胞系（Huh7.5.1 细胞）由实验室传代保存。

2　方法与结果

2.1　*Rv0341* 真核表达质粒的构建

以灭活的 H37Rv 菌株为材料，采用 AXYGEN 基因组提取试剂盒提取模板 DNA。针对 *Rv0341* 基因设计特异性引物：上游引物 F（5'-TTTTggatccATGACCTCGCTTATCGATTACA-3'，含 BamH Ⅰ酶切位点），下游引物 R（5'-TTTTgcggccgcTCAGAACCCGGGTAGTCCG-3'，含 Not Ⅰ酶切位点）。PCR 扩增条件为：95 ℃预变性 3 min；95 ℃变性 30 s，62 ℃退火 30 s，72 ℃延伸 30 s，共 37 个循环，成功获得 Rv0341 基因全长片段。将 Rv0341 PCR 产物与 pcDNA3.1 真核表达载体分别用 BamH Ⅰ和 Not Ⅰ双酶切（37 ℃，4 h）后，采用 T4 DNA 连接酶于 16 ℃连接构建重组质粒。将重组质粒转化至 DH5α 感受态细胞，筛选阳性克隆并提取质粒进行双酶切鉴定，并经北京擎科生物科技股份有限公司测序验证。结果显示：①双酶切产物片段大小与预期 1 440 bp 相符（图 1A）；②测序结果与美国国家



A—重组质粒 pRv0341 的双酶切鉴定结果；B—pRv0341 的基因测序结果。

图 1　BamH Ⅰ /Not Ⅰ双酶切鉴定 *Rv0341* 真核表达质粒及测序结果

Fig.1　Identification of *Rv0341* Eukaryotic Expression Plasmid Using BamH Ⅰ /Not Ⅰ and Sequencing Results

生物技术信息中心（National Center for Biotechnology Information，NCBI）数据库中 Rv0341 基因序列（Gene ID: 886515）完全一致（图 1B）。上述结果表明 pcDNA3.1-Rv0341（pRv0341）真核表达载体构建成功。

2.2 统计学方法

数据采用 SPSS 17.0 软件进行 Student t 检验分析，P<0.05 时认为有统计学差异。

2.3 Rv0341G4 的 G4 空间结构验证

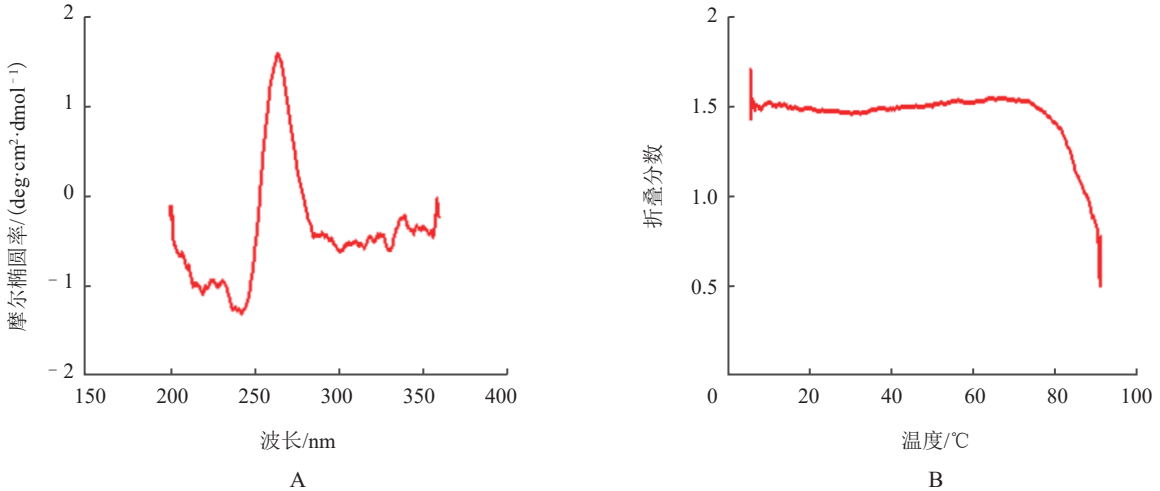
取 1.5 mL EP 管，加入 1 mol/L Tris-HCl（pH 7.0）3 μL、1 mol/L 氯化钾溶液 30 μL、100 μmol/L Rv0341G4 寡核苷酸 30 μL 及双蒸水 ddH_2O 237 μL，使氯化钾终浓度为 100 mmol/L、Tris-HCl 终浓度为 10 mmol/L、Rv0341G4 终浓度为 10 μmol/L。将混合液于 25 ℃静置 30 min 后，使用圆二色谱仪在 4 ℃条件下检测。检测参数：光程长度 1 cm；波长范围 220 ～ 320 nm；扫描速率 100 nm/min。结果（图 2）显示，Rv0341G4 在 264 nm 处出现 G4 空间结构的特征吸收峰，证实 *Rv0341* 基因的单链富 G 序列可形成 G4 结构，熔解曲线则显示 Rv0341G4 在特定温度范围内表现出良好的结构稳定性。

2.4 与 Rv0341G4 有亲和力的小分子化合物的初筛

取“**2.3**”项下 10 μmol/L 的 Rv0341G4 混合液 300 μL，于室温静置 30 min，使 Rv0341G4 形成稳定的 G4 结构（基于 CD 测得结果确定）。采用分子相互作用分析系统初筛小分子化合物。设置偶联模式为“aim for immobilized level”；偶联目标为 1 000 结合响应值（response unit，RU）；将 Rv0341G4-biotin 偶联至 SA 芯片上；将 90 种备选小分子化合物分别用 PBS 稀释液（含 5% DMSO 的 1.05×PBS，pH 7.4）溶解并稀释至终浓度为 100 μmol/L，上样体积为 100 μL。结果（图 3）显示，小分子化合物 T-007 与 Rv0341G4 的结合响应值较高（56 RU，图 3A 中箭头所示）。进一步将 T-007 用 PBS 稀释液稀释至 25、50、100、150、200 μmol/L，再次与 SA 芯片偶联的 Rv0341G4 结合，结果显示，随着 T-007 浓度从 25 μmol/L 递增至 200 μmol/L，与 Rv0341G4 的结合响应值也相应增大（图 3B），证明 T-007 与 Rv0341G4 的结合呈浓度梯度依赖性。

2.5 T-007 对 *Rv0341* 表达的影响

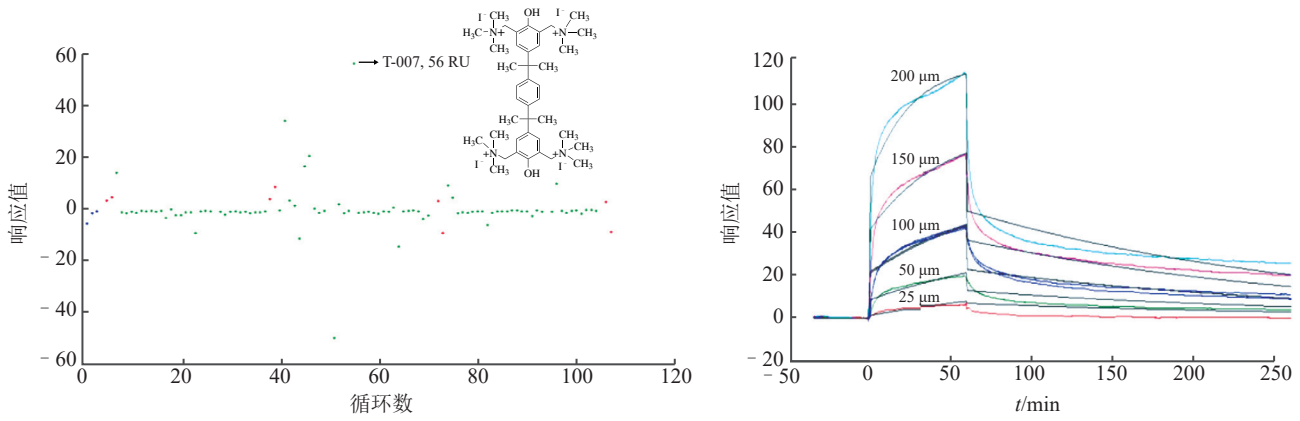
取对数生长期的 Huh7.5.1 细胞，以每孔 2×10^5 个细胞的密度接种至 6 孔板，采用 DMEM 培养基（含 10% FBS 及 1× 双抗），于 37 ℃、5% CO_2 培养过夜，根据 Lipofectamine 2000 转染试剂盒的说明书，将 pRv0341 染至 Huh7.5.1 细胞，4 h 后加入 T-007，使其终浓度为 5 μmol/L。继续培养 72 h 后，



A—Rv0341G4 的 CD 谱（264 nm 处有最大吸收峰）；B—Rv0341G4 的熔解曲线。

图 2 Rv0341G4 的 CD 谱图

Fig.2 CD Spectrum of Rv0341G4



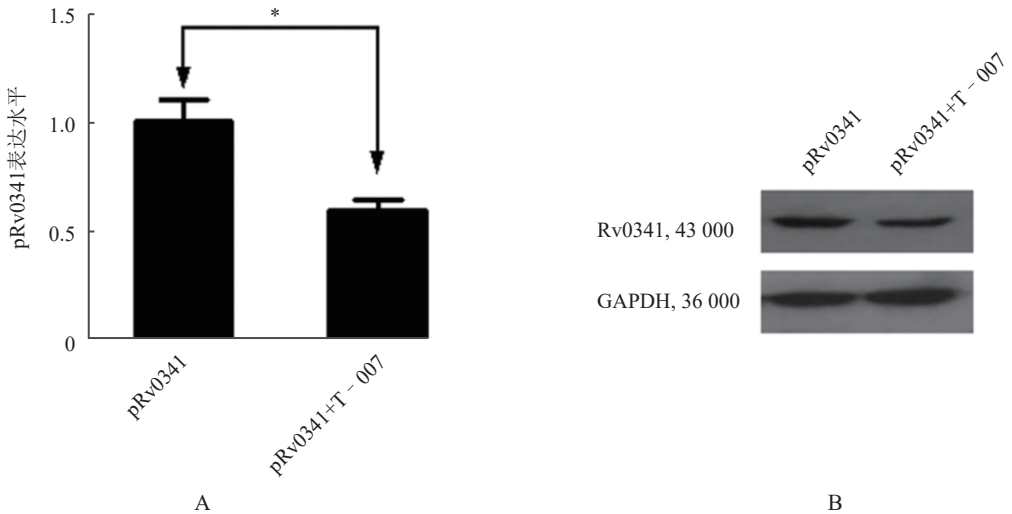
A—各候选小分子化合物与 Rv0341G4 的亲和力（●—对照试样；●—待测试样；●—启动点），以及 T-007 的化学结构；B—不同浓度 T-007 对 Rv0341G4 的结合响应值。

图 3　Biacore T200 系统初筛与 Rv0341G4 空间结构有亲和力的小分子化合物

Fig.3　Preliminary Screening of Small Molecule Compounds with Affinity for Rv0341G4 Spatial Structure by Biacore T200 System

依据 Trizol 试剂说明书提取细胞总 RNA，经紫外分光光度计定量后，取总 RNA 1 μg，按逆转录试剂盒说明书进行逆转录反应，反应体系设置为 20 μL，反应程序为：30 ℃，10 min（引物退火）；42 ℃，30 min（cDNA 合成）；99 ℃，5 min（酶失活）。取逆转录产物互补 DNA（complementary DNA，cDNA）1 μL 为模板，按 SYBR Green qRT-PCR 试剂盒说明书进行检测，反应体系设置为 20 μL，扩增程序为：95 ℃预变性 1 min，继以 40 个循环的 95 ℃变性 15 s、60 ℃退火 20 s、72 ℃延伸 20 s。qRT-PCR 结果表明，T-007 对 pRv0341 在 mRNA 水平上的表达具有抑制作用（图 4A）。

同法培养 Huh7.5.1 细胞，并采用 T-007 处理后，每孔加入细胞裂解液 100 μL，冰浴处理 10 min，然



A　　B

A—T-007 对 pRv0341 的转录具有抑制作用（* 表示 $P<0.05$，$n=3$）；B—T-007 对 Rv0341 蛋白和甘油醛 -3- 磷酸脱氢酶（glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase，GAPDH）表达的影响。

图 4　T-007 对 pRv0341 表达水平的影响

Fig.4　Effects of T-007 on the Expression Level of pRv0341

后采用蛋白质印迹法检测 T-007 对 Rv0341 表达的抑制作用。首先采用 SDS-PAGE 法分离总蛋白，转模后用 5%脱脂奶粉 37 ℃封闭 1 h；再加入按 1 ∶ 5 000 稀释的小鼠抗 *Rv0341* 单克隆抗体，于室温孵育 1 h；用 TBST（含 Tris 碱基 2.42 g、氯化钠 8.8 g 和 Tween-20 500 μL，加双蒸水定容至 1 000 mL，用盐酸调至 pH 7.4）洗 10 min，重复 3 次，再加入按 1 ∶ 3 000 比例稀释的 HRP- 羊抗鼠 IgG 二抗，室温孵育 1 h；然后用 TBST 洗 10 min，重复 5 次，再加入等体积的 ECL 试剂 A 液 /B 液，暗室曝光 1 min，采用紫外凝胶成像系统显影。结果显示，T-007 对 pRv0341 蛋白表达具有抑制作用（图 4B）。

3 讨论

M. tb 感染机体后，T 淋巴细胞被 *M. tb* 的抗原致敏，当机体再次被 *M. tb* 感染时，致敏 T 淋巴细胞活化为效应 T 淋巴细胞，识别 *M. tb* 特异性抗原并产生干扰素 γ（interferon，IFN-γ）[19]。同时 T 淋巴细胞释放一系列淋巴因子，使巨噬细胞聚集并吞噬感染灶，形成结核结节 [20]。部分 *M. tb* 可逃避宿主巨噬细胞的追杀，阻止溶酶体与吞噬体融合，抑制吞噬溶酶体成熟以防止自身被降解，进而将巨噬细胞作为容身之所进行潜伏，甚至在有条件时增殖 [21]。尽管国际上对结核病的基础研究、防治理论与方法已取得了长足的进展，但对 *M. tb* 分子病毒学和免疫机制的了解并不透彻，还需要从新的角度去发掘其免疫耐受和持续性感染的本质。特别是 *M. tb* 基因组 G4 结构与 *M. tb* 复制水平、持续隐性感染和免疫耐受的相关机制，国内、外均没有系统的研究报道。

有研究 [22] 报道，HCV 核心抗原基因上的 G4 结构能抑制核心抗原蛋白表达。且有研究 [23] 表明，G4 特异性结合抗体能够稳定 G4 结构并阻碍转录启动，进而降低 mRNA 的表达水平。因此，本研究针对结核分枝杆菌 *Rv0341* 单链基因序列上存在的可能形成 G4 结构的富 G 序列，采用圆二色谱（CD）仪验证 G4 结构是否存在，并检测其稳定性；然后通过 SPR 技术筛选出能够结合并稳定 Rv0341G4 的小分子化合物 T-007，采用 qRT-PCR 技术考察 T-007 对 *Rv0341* 表达的抑制作用。结果表明，小分子化合物 T-007 能够稳定 Rv0341G4 结构，进而对 *Rv0341* 转录具有负调控作用。推测作用机制为：*Rv0341* 基因上存在能形成 G4 结构的富 G 序列，双链在转录阶段解螺旋变为单链，富 G 序列的单链形成 Rv0341G4；当小分子化合物 T-007 特异性结合并稳定 Rv0341G4 结构时，基因转录受阻，导致 mRNA 水平降低。此外，根据碱基互补原则，*Rv0341* 在 mRNA 水平也存在富 G 序列，故也能形成 G4 结构，而 T-007 在 mRNA 水平上也可与之特异性结合并稳定 G4 结构，使核糖体翻译时不能顺利跨越 G4 结构，阻碍 mRNA 的翻译，导致 Rv0341 蛋白表达水平降低，从而降低 *M. tb* 对机体的致病性及毒力。若上述推测成立，将有利于机体清除 *M. tb*；然而，该推论仍需要进一步研究证明。综上所述，本研究筛选出能够与 Rv0341G4 特异性结合的小分子化合物 T-007，从新的视角为结核病的治疗及疫苗研制提供了一定的策略。

参考文献：

[1] FLETCHER H A, SCHRAGER L. TB vaccine development and the End TB Strategy: importance and current status [J]. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 2016, **110**(4): 212-218.

[2] WHO. Global tuberculosis report 2023 [EB/OL]. (2023-11-07) [2024-07-10]. https://www. who. int/teams/global-tuberculosis-programme/tb-reports/global-tuberculosis-report-2023.

[3] SINGH V, CHIBALE K. Strategies to combat multi-drug resistance in tuberculosis [J]. *Acc Chem Res*, 2021, **54**(10): 2361-2376.

[4] REWARI B B, KUMAR A, MANDAL P P, *et al*. HIV TB coinfection - perspectives from India [J]. *Expert Rev Respir Med*, 2021, **15**(7): 911-930.

[5] TUNESI S, DÛ D L, GUALANO G, *et al*. Co-administration of treatment for rifampicin-resistant TB and chronic HCV infection: a TBnet and ESGMYC study [J]. *J Infect*, 2022, **84**(6): 834-872.

[6] QU M J, ZHOU X M, LI H, *et al*. BCG vaccination strategies against tuberculosis: updates and perspectives [J]. *Hum Vaccin Immunother*, 2021, **17**(12): 5284-5295.

[7] BO H T, MOURE U A E, YANG Y M, *et al*. *Mycobacterium*

tuberculosis-macrophage interaction: molecular updates［J］. *Front Cell Infect Microbiol*, 2023, **13**: 1062963.

［8］ MATA E, TARANCON R, GUERRERO C, *et al*. Pulmonary BCG induces lung-resident macrophage activation and confers long-term protection against tuberculosis［J］. *Sci Immunol*, 2021, **6**(63): eabc2934.

［9］ 余海燕, 杨国平. 结核分枝杆菌 ESX-1 分泌系统与宿主巨噬细胞相互作用的研究进展［J］. 中国人兽共患病学报, 2023, **39**(12): 1218-1225.

［10］ ABDALLA A E, YAN S, ZENG J, *et al*. *Mycobacterium tuberculosis Rv0341* promotes *Mycobacterium* survival in *in vitro* hostile environments and within macrophages and induces cytokines expression［J］. *Pathogens*, 2020, **9**(6): 437.

［11］ ROXO C, KOTKOWIAK W, PASTERNAK A. G-quadruplex-forming aptamers-characteristics, applications, and perspectives［J］. *Molecules*, 2019, **24**(20): 3781.

［12］ HONISCH C, RAGAZZI E, HUSSAIN R, *et al*. Interaction of a short peptide with G-quadruplex-forming sequences: an SRCD and CD study［J］. *Pharmaceutics*, 2021, **13**(8): 1104.

［13］ 张雅婷, 李文娜, 彭伟盼. G- 四链体功能性核酸在微 RNA 生物传感器中的应用［J］. 中国生物化学与分子生物学报, 2023, **39**(5): 692-698.

［14］ 李继荣, 王志坚, 陶保菊. 潜伏期结核感染研究进展［J］. 医学理论与实践, 2023, **36**(3): 394-396.

［15］ LI C H, WANG H H, YIN Z N, *et al*. Ligand-induced native G-quadruplex stabilization impairs transcription initiation［J］. *Genome Res*, 2021, **31**(9): 1546-1560.

［16］ DINH V T, LOAËC N, QUILLÉVÉRÉ A, *et al*. The hide-and-seek game of the oncogenic Epstein-Barr virus-encoded EBNA1 protein with the immune system: an RNA G-quadruplex tale［J］. *Biochimie*, 2023, **214**(Pt A): 57-68.

［17］ HORSBURGH B C, KOLLMUS H, HAUSER H, *et al*. Translational recoding induced by G-rich mRNA sequences that form unusual structures［J］. *Cell*, 1996, **86**(6): 949-959.

［18］ HARRIS L M, MERRICK C J. G-quadruplexes in pathogens: a common route to virulence control?［J］. *PLoS Pathog*, 2015, **11**(2): e1004562.

［19］ SHANMUGANATHAN G, ORUJYAN D, NARINYAN W, *et al*. Role of interferons in *Mycobacterium tuberculosis* infection［J］. *Clin Pract*, 2022, **12**(5): 788-796.

［20］ WIK J A, SKÅLHEGG B S. T cell metabolism in infection［J］. *Front Immunol*, 2022, **13**: 840610.

［21］ BEDARD M, VAN DER NIET S, BERNARD E M, *et al*. A terpene nucleoside from *M. tuberculosis* induces lysosomal lipid storage in foamy macrophages［J］. *J Clin Invest*, 2023, **133**(6): e161944.

［22］ BIAN W X, XIE Y, WANG X N, *et al*. Binding of cellular nucleolin with the viral core RNA G-quadruplex structure suppresses HCV replication［J］. *Nucleic Acids Res*, 2019, **47**(1): 56-68.

［23］ DAVID A P, PIPIER A, PASCUTTI F, *et al*. CNBP controls transcription by unfolding DNA G-quadruplex structures［J］. *Nucleic Acids Res*, 2019, **47**(15): 7901-7913.

（上接第 885 页）

mucus［J］. *Environ Microbiol*, 2014, **16**(3): 888-903.

［12］ ROOS S, JONSSON H. A high-molecular-mass cell-surface protein from *Lactobacillus reuteri* 1063 adheres to mucus components［J］. *Microbiology* (Reading), 2002, **148**(Pt 2): 433-442.

［13］ 汪柯欣, 王亚鹏, 路建光, 等. 猪 - 狒狒嵌合体尿酸氧化酶的表达, 纯化及酶学性质研究［J］. 中国医药工业杂志, 2022, **53**(8): 1148-1154.

［14］ WANG Y, LU J, HUANG Z, *et al*. Process development of recombinant *Aspergillus flavus* urate oxidase production in *Pichia pastoris* intracellularly and its characterization as a potential biosimilar［J］. *Process Biochem*, 2021, **102**: 376-385.

［15］ MARCUS R, NIKKI D, MOULAY HICHAM A I. Mucin-binding fusion proteins: US, 20210246176A1［P］. 2021-08-12.