

马文宇, 陈晓晓, 易婷婷, 等. 刚地弓形虫表面抗原相关序列蛋白 SRS40E 的生物信息学分析 [J]. 畜牧与兽医, 2025, 57 (3): 79-86.

MA W Y, CHEN X X, YI T T, et al. Bioinformatics analysis of surface antigen SAG1-related sequence protein SRS40E in *Toxoplasma gondii* [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2025, 57 (3): 79-86.

刚地弓形虫表面抗原相关序列蛋白 SRS40E 的生物信息学分析

马文宇¹, 陈晓晓¹, 易婷婷¹, 李宏伟², 杜孟泽¹, 李秋明^{1*}, 尹德琦^{1*}

(1. 北京农学院动物科学技术学院, 北京 102206;

2. 北京警察学院刑事科学技术系警犬技术教研室, 北京 102202)

摘要: 旨在探究刚地弓形虫表面抗原相关序列蛋白 SRS40E 的结构功能以及其作为抗弓形虫疫苗的候选分子的潜力。通过 NCBI 数据库下载表面抗原相关序列蛋白 SRS40E 的基因序列和氨基酸序列, 通过 ORFfinder 网站联合 GENSCAN 网站对其基因序列进行 ORF 分析, 氨基酸序列依次通过 Prot Param、ExPASy-ProtScale、TMHMM、SignalP-4.1、SOPMA、SWISS-MODEL、IEDB、SYFPEITHI、VaxiJen 2.0 程序对 SRS40E 蛋白的理化性质、亲疏水性、跨膜结构、信号肽、空间结构、磷酸化位点、抗原表位进行分析预测。结果: 表面抗原相关序列蛋白 SRS40E 的基因序列全长 1 627 bp, 由 396 个氨基酸组成, 理论分子量是 42 204.65, 等电点为 7.87, 分子式为 $C_{1818}H_{2951}N_{513}O_{600}S_{19}$, 不稳定指数为 47.19, 脂溶性指数为 72.73, 亲水性总平均值为 -0.314, 预测显示为亲水性蛋白; 该蛋白没有信号肽, 具有跨膜结构; 在二级结构中, α -螺旋占比 18.94%、 β -转角占比 2.53%、 β -折叠占比 20.71%、无规则卷曲占比为 57.83%; 有 53 个磷酸化位点, 其中 30 个丝氨酸磷酸化位点, 22 个苏氨酸磷酸化位点, 1 个酪氨酸磷酸化位点; 有 18 个抗原决定簇, 8 个优势 B 细胞表位, 8 个优势辅助性 T 细胞 (Th) 细胞表位和 2 个优势细胞毒性 T 淋巴细胞 (CTL) 细胞表位。综上, 表面抗原相关序列蛋白 SRS40E 包含多个 B、T 细胞表位, 可作为弓形虫疫苗的候选蛋白。

关键词: 刚地弓形虫; 表面抗原相关序列蛋白; SRS40E; 生物信息学

中图分类号: S852.7 文献标志码: A 文章编号: 0529-5130(2025)03-0079-08

Bioinformatics analysis of surface antigen SAG1-related sequence protein SRS40E in *Toxoplasma gondii*

MA Wenyu¹, CHEN Xiaoxiao¹, YI Tingting¹, LI Hongwei², DU Mengze¹, LI Qiuming^{1*}, YIN Deqi^{1*}

(1. College of Animal Science and Technology, Beijing University of Agriculture, Beijing 102206, China;

2. Teaching and Research Section of Police Dog Technology, Department of Criminal Science and Technology, Beijing Police College, Beijing 102202, China)

Abstract: This study was to investigate the structural and functional characteristics of the surface antigen SAG1-related sequence protein SRS40E of *Toxoplasma gondii* and its potential as a candidate molecule for anti-*Toxoplasma* vaccines. The gene and amino acid sequences of the surface antigen SAG1-related sequence protein SRS40E were downloaded from the NCBI database. The gene sequence was analyzed by ORFfinder website in conjunction with GENSCAN. The amino acid sequence was then subjected to analyze using Prot Param, ExPASy-ProtScale, TMHMM, SignalP-4.1, SOPMA, SWISS-MODEL, IEDB, SYFPEITHI, and VaxiJen 2.0 programs to predict and analyze the physicochemical properties, hydrophilicity, transmembrane structure, signal peptide, spatial structure, phosphorylation sites and antigenic epitopes of surface antigen SAG1-related sequence protein SRS40E. The results showed that the surface antigen SAG1-related sequence protein SRS40E possessed a total length of 1 627 bp and consisted of 396 amino acids with a theoretical molecular weight of 42 204.65, an isoelectric point of 7.87 and a molecular formula of $C_{1818}H_{2951}N_{513}O_{600}S_{19}$. It exhibited an instability index of 47.19, a lipid solubility index of 72.73, and an overall hydrophilicity average of -0.314, indicating it was a hydrophilic protein. The protein lacked a signal peptide but possessed a transmembrane structure. In its secondary structures, α -helices accounted for 18.94%, β -turns for 2.53%, β -strands for

收稿日期: 2024-03-26; 修回日期: 2025-02-01

基金项目: 北京农学院科技创新能力提升计划项目 (QJKC-2023003)

第一作者: 马文宇, 女, 硕士研究生

* 通信作者: 李秋明, 讲师, 博士, 主要从事寄生虫病学研究, E-mail: liqiuming007@126.com; 尹德琦, 讲师, 博士, 主要从事寄生虫病学研究, E-mail: yindeqi1992@163.com。

20.71%, and irregular coils for 57.83%. There were 53 phosphorylation sites, including 30 serine phosphorylation sites, 22 threonine phosphorylation sites, and 1 tyrosine phosphorylation site. Additionally, there were 18 antigenic determinant clusters, 8 dominant B-cell epitopes, 8 dominant Th-cell epitopes and 2 dominant CTL-cell epitopes. In conclusion, the surface antigen SAG1-related sequence protein SRS40E contained multiple B and T cell epitopes, being qualified as a candidate protein for a *Toxoplasma* vaccine.

Keywords: *Toxoplasma gondii*; surface antigen SAG1-related sequence protein; SRS40E; bioinformatics

刚地弓形虫 (*Toxoplasma gondii*) 是一种专性细胞内原生动植物寄生虫^[1]。弓形虫在自然界广泛存在^[2], 引起的弓形虫病是一种人兽共患病^[3], 目前已发现全球三分之一的人感染此病^[4]。弓形虫急性感染是由速殖子引起的, 通过对猪、羊的病理检查发现其临床表征主要集中在淋巴结、肝脏、肺脏等内脏器官, 这些部位会出现红肿膨胀、硬结、质脆、渗出增加、坏死以及全身多发性出血等症状, 而隐性感染则是由缓殖子导致, 怀孕母畜会出现流产、死胎等繁殖障碍现象^[5]。有研究表明, 弓形虫病症状的严重程度取决于宿主免疫系统的强弱^[6]。免疫功能正常的人类感染弓形虫后并无明显症状, 而孕妇则会出现流产等症状, 更甚者危及生命^[7]。乙胺嘧啶和磺胺类药物是目前最常见的治疗弓形虫病的药物, 然而仍有一定的细胞毒性^[8]。此外这些药物对弓形虫慢性感染阶段的缓殖子阶段治疗效果甚微, 只对快速分裂的速殖子有效^[1], 且导致宿主出现明显的副作用。因此, 开发安全有效的抗弓形虫药物和疫苗是防治弓形虫病的关键。

在弓形虫入侵宿主细胞的过程中, 虫体分泌的表面蛋白可以作为一种抗原来激活宿主的免疫反应^[9]。弓形虫表面抗原相关序列蛋白 (SRS) 是一种覆盖在虫体表面的蛋白, 它与表面抗原 SAG1 结构相似^[10], 都有一个 N 端信号肽, 可通过糖基磷脂酰肌醇 (GPI) 锚定到细胞膜上与宿主细胞相互作用^[11]。弓形虫表面蛋白家族 (SRSs) 成员以阶段特异性方式表达, 其中 SAG1、SRS2、SRS25 等在速殖子阶段表达, 而 SRS9、SAG2C、SRS44 等在缓殖子中大量存在^[12]。研究表明, SAG3 黏附宿主细胞; SRS9 和 SAG2A 参与宿主免疫调节^[13-14]; SRS47D^[15]、SRS20A^[16]、SRS29B 等在感染期间具有高度免疫原性, 其中 SRS29B 可形成具有带正电荷的凹槽的同源二聚体, 能够结合硫酸化蛋白聚糖的结构, 调控与细胞配体的相互作用^[17]。这些蛋白在弓形虫识别、黏附、入侵、毒力等生命过程中发挥着重要的作用, 因此 SRS 蛋白是理想的设计药物靶标或研制疫苗的候选对象之一。截至目前, SRS 蛋白家族的已有生物学功能有限, 其中 SRS40E 蛋白研究较少。本文通过运用生物信息学方法对弓形虫 ME49 株 SRS40E 蛋白进行分析, 预测其结构特点和免疫原性, 为筛选抗弓形

虫疫苗的候选分子研究提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 SRS40E 基因和蛋白质序列

通过 NCBI 数据库查得弓形虫 ME49 株 SRS40E 的基因和蛋白序列, 登录号分别是 NC_031478.1 和 XP_002366150.1, 全长为 396 个氨基酸, 下载其基因和氨基酸序列进行生物信息学预测。

1.2 SRS40E 蛋白的序列分析

利用 ORFfinder 网站找出 SRS40E 基因的开放阅读框 (ORF), 并结合 GENSCAN 网站对 SRS40E 的 ORF 进行分析。通过在线软件 Prot Param, 登录网址 (<https://web.expasy.org/Protparam>) 对 SRS40E 蛋白的分子质量、等电点、氨基酸组成以及脂溶性指数等理化性质进行分析; 使用 Expasy - ProtScale (<https://web.expasy.org/protscale>) 对 SRS40E 蛋白的亲/疏水性进行预测和分析; 应用在线软件 TMHMM (<https://services.healthtech.dtu.dk/service.php?TMHMM-2.0>) 对 SRS40E 蛋白的跨膜区域进行预测分析。

1.3 SRS40E 蛋白相关预测

通过 SOPMA (http://npsa-pbil.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=npsa_sopma.html) 网站对 SRS40E 蛋白的二级结构进行预测; 通过在线软件 SWISS - MODEL (<http://swissmodel.expasy.org>) 对 SRS40E 蛋白的三级结构进行预测; 应用在线软件 IEDB (<http://tools.iedb.org/bcell/>) 和 Bcepred (<https://webs.iitd.edu.in/raghava/bcepred/>) 对蛋白的亲水性、柔韧性、表面可及性和 β -折叠进行预测分析。

应用 SignalP-4.1 (<https://services.healthtech.dtu.dk/service.php?SignalP-4.1>) 网站对 SRS40E 蛋白的信号肽进行预测。

采用 NetPhos-3.1 (<https://services.healthtech.dtu.dk/services/NetPhos-3.1>) 程序对 SRS40E 蛋白的磷酸化位点进行预测。

应用 Immunomedicine Group (<https://imed.med.ucm.es/TOOLS/antigenic.pl>) 中的 Predicting Antigenic Peptides 工具对 SRS40 蛋白的抗原决定簇进行预测。

应用在线软件 IEDB (<http://tools.iedb.org/bcell/>) 预测了 SRS40E 蛋白的 B 细胞抗原表位; 应用 SYF-

PEITHI (<http://www.syfpeithi.de/>) 网站, 进入 EPITOPE PREDICTION 表位预测界面, 把 SRS40E 蛋白的氨基酸序列输入, 选择等位基因 HLA-DRB1 * 0401 和 HLA-A * 0201 对 SRS40E 蛋白的辅助性 T 细胞 (Th) 抗原表位和细胞毒性 T 淋巴细胞 (CTL) 抗原表位进行预测, 在预测 Th 细胞抗原表位时氨基酸长度选定为 15 aa, 在预测 CTL 细胞抗原表位时氨基酸长度选定为 9 aa, 取分值 ≥ 22 的序列。应用 VaxiJen 2.0 对候选表位进行抗原性评分, 综合二者筛选出 Th 细胞抗原表位和 CTL 细胞抗原表位的优势表位。

2 结果与分析

2.1 SRS40E 基因的 ORF 分析

通过 ORF finder 软件和 GENSCAN 程序分析表明, SRS40E mRNA 序列的 ORF 区域始于第 106 位碱基, 止于第 1 296 位碱基, 该基因全长 1 627 bp, ORF 长度为 1 191 bp。预测结果显示其外显子存在的可能性为 0.979, 综合得分为 92.81 (<100), 表示该蛋白存在外显子的可能性较低。

2.2 SRS40E 蛋白的理化性质分析

通过 Prot Param 网站分析发现 SRS40E 含有 396 个氨基酸残基, 5 901 个原子, 它的分子式为 $C_{1818}H_{2951}N_{513}O_{600}S_{19}$, 理论分子量是 42 204.65, 等电点为 7.87, 有 44 个碱性氨基酸, 42 个酸性氨基酸。在哺乳动物网织红细胞中, 当成熟多肽 N 末端的 1 个氨基酸为甲硫氨酸时, 其半衰期为 30 h; 在酵母中的半衰期大于 20 h; 但对大肠杆菌来说, 半衰期则大于 10 h。SRS40E 在溶液中的不稳定指数为 47.19 (>40), 表明这个蛋白在液体中不稳定。脂肪系数 (疏水值) 为 72.73。亲水性总平均值为 -0.314 (<0), 属于亲水性蛋白质。

2.3 ProtScale 分析 SRS40E 蛋白的亲疏水性

以 0 为分界线, 大于 0 表示疏水性, 小于 0 表示亲水性。疏水性最强的氨基酸的位置在第 28 位, 得分为 2.600, 亲水性最强的氨基酸的位置在第 13 位, 得分为 -2.578。最终预测结构为亲水性蛋白, 如图 1 所示。

2.4 TMHMM 2.0 分析 SRS40E 蛋白的跨膜区

预测跨膜区域对正确认识和理解蛋白功能、结构和细胞中的作用部位有着重要的指示意义。TMHMM 2.0 预测到的跨膜结构域的数量为 1 个。在跨膜结构

域当中, 预测到 19.8 个氨基酸位于跨膜区, 在前 60 个氨基酸当中, 有 19 个氨基酸位于跨膜区。N 端在膜细胞质的一侧的概率为 0.98, 如图 2 所示。

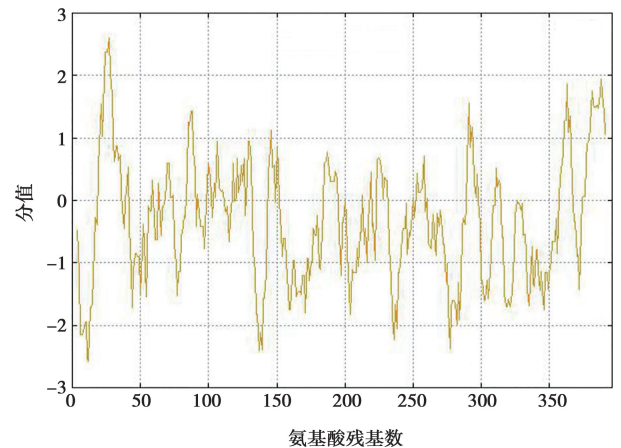


图 1 SRS40E 氨基酸序列亲/疏水性

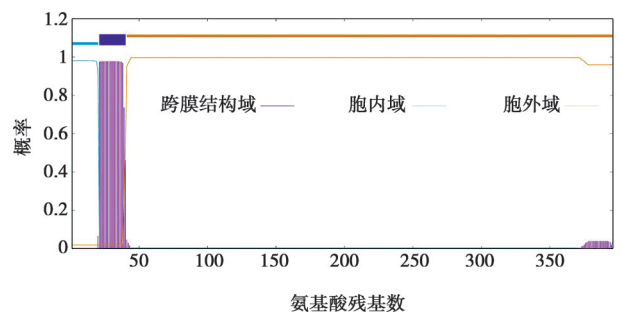


图 2 SRS40E 蛋白的跨膜区域预测

2.5 SRS40E 蛋白的空间结构预测

通过在线网站 SOPMA 对表面抗原相关序列蛋白 SRS40E 的二级结构进行预测, 其中, 75 个氨基酸残基构成了 α -螺旋, 占比 18.94%; 82 个氨基酸残基构成了 β -折叠, 占比 20.71%; 10 个氨基酸残基构成了 β -转角, 占比 2.53%; 229 个氨基酸残基构成了无规卷曲, 占比 57.83%, 结果如图 3 所示。

蛋白质的空间构象是影响其生物学功能的重要因素。同源建模方法已经成为计算^[18]生物学领域预测蛋白质结构的关键方法。基于同源建模方法进行预测, 通过 SWISS-MODEL 网站预测 SRS40E 蛋白的三级结构, 如图 4 所示。

应用 IEDB 网站对 SRS40E 蛋白的亲水性、柔韧性、表面可及性和 β -折叠进行了分析预测, 结果如图 5 所示。

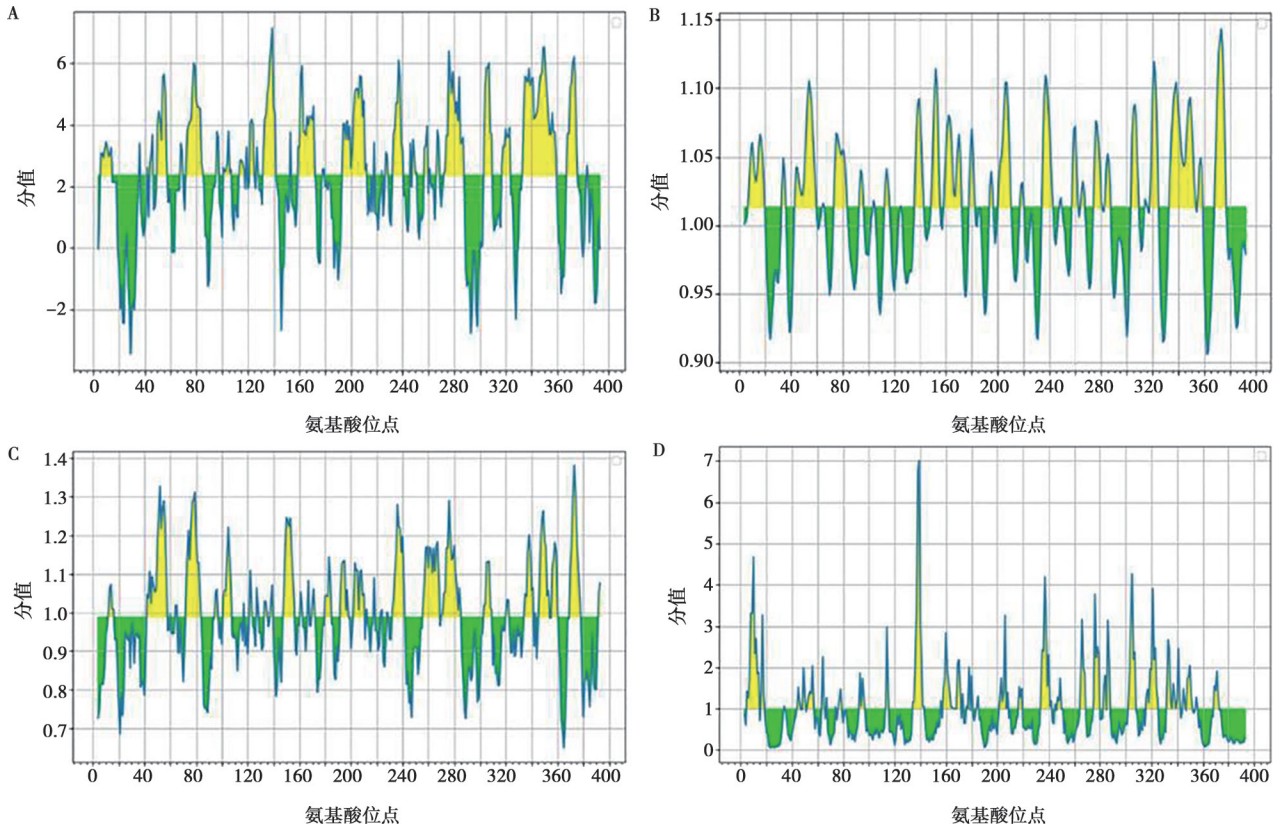


图5 SRS40E 蛋白的亲水性 (A)、柔韧性 (B)、 β -折叠 (C) 和表面可及性 (D) 预测

2.6 SRS40E 蛋白的信号肽预测

D 值为信号肽计分的平均值和最大的综合计分值 (信号肽计分和剪切位点计分) 的加权平均值, 该分数可用于区分信号肽和非信号肽。利用程序 SignalP-4.1 对 SRS40E 信号肽预测结果显示 D 值为 0.278 (< 0.500), 因此表明此蛋白无信号肽, 如图 6 所示。

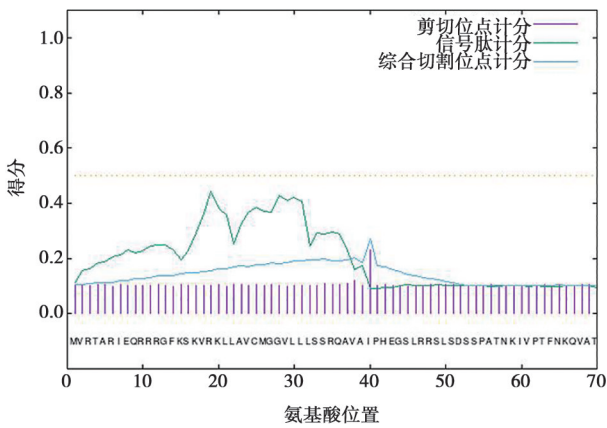


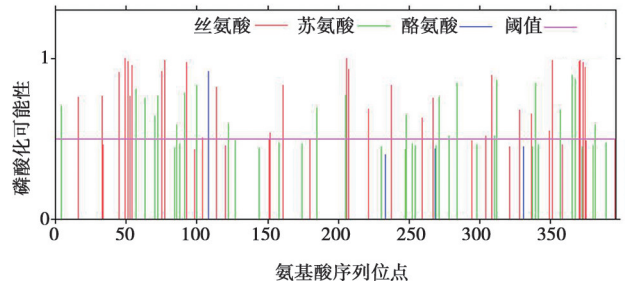
图6 SRS40E 蛋白的信号肽预测

2.7 SRS40E 蛋白的磷酸化位点预测

图 7 所示, 利用在线软件 NetPhos-3.1 预测 SRS40E 蛋白结果表明共有 53 个磷酸化位点, 丝氨酸磷酸化位点、苏氨酸磷酸化位点、酪氨酸磷酸化位点分别为 30、22 和 1 个。

```

...T.....S.....S.....S...S    #   50
S..SS..T.....T.....T..T..S..S.....T.....T.S.....T    #  100
...S...Y.....S.....T.....          #  150
...S.....S.....T.....T.....          #  200
...TSS.....S.....S.....T.....          #  250
...S.....S.....S.....T.....T.....          #  300
...S...S..T.T.....S.....S.....S.....          #  350
S.....T.....T.T..SS..SS.....T.....
    
```



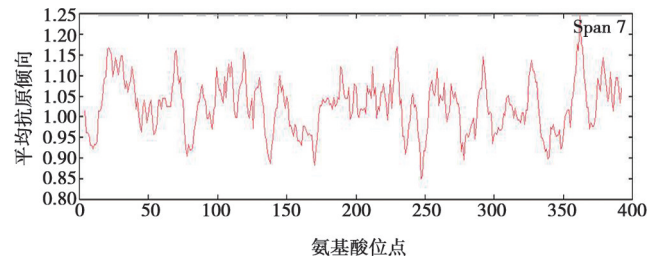
S. 丝氨酸位点; T. 苏氨酸位点; Y. 酪氨酸位点; #. 磷酸化位点在序列中的位置。

图7 SRS40E 蛋白的磷酸化位点预测

2.8 SRS40E 蛋白的抗原决定簇分析

利用 Immunomedicine Group 中的 Predicting Antigenic Peptides 工具预测 SRS40E 蛋白的抗原决定簇, 如图 8, SRS40E 蛋白的平均抗原倾向指数为 1.026 1, 抗原决定簇个数为 18 个, 分别位于 14~43 aa、57~75 aa、85~91 aa、97~112 aa、115~122 aa、127~133 aa、142~151 aa、173~195 aa、203~214 aa、

216~222 aa、224~233 aa、253~265 aa、267~274 aa、288~298 aa、307~313 aa、323~332 aa、356~368 aa、374~392 aa。



Span 7 为 7 个氨基酸肽段的平均抗原倾向。

图 8 SRS40E 蛋白抗原决定簇预测

2.9 SRS40E 抗原表位分析

通常 B 细胞表位由 5~20 个氨基酸组成。如图 9 和表 1 所示，SRS40E 蛋白具有 8 个优势 B 细胞表位，分别位于 5~17 aa、74~85 aa、180~185 aa、195~208 aa、219~226 aa、234~241 aa、318~322 aa、369~377 aa。

利用在线软件 SYFPEITHI，筛选出分值 ≥ 22 的候选表位序列。结合 VaxiJen 2.0 程序对候选表位进行抗原性评分，取分值 ≥ 0.5 的序列作为最终的优秀 Th 和 CTL 细胞表位。表 2 所示，共筛选出 8 个优秀 Th 细胞表位，2 个优秀 CTL 细胞表位。

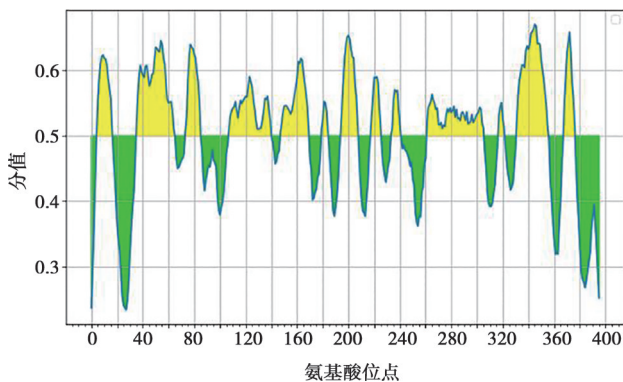


图 9 SRS40E 蛋白的优势 B 细胞抗原表位预测

2.10 抗原性比对

通过在线软件 IEDB、SYFPEITHI 和 Bcepred 将 SRS40E 与已报道的 SRS47D、SRS20A、SRS29B、GRA7、ROP18 等的抗原特性进行比较，如表 3，SRS40E 与这些具有免疫原性蛋白质一致，均有较多的抗原决定簇、B 细胞表位、Th 细胞表位、亲水性位点、柔韧性位点和表面可及性位点。

使用 NCBI 选取与弓形虫 ME49 株 SRS40E 具有较高相似度的其他原虫蛋白进行预测，如表 4，预测对比发现这些蛋白均具有良好的抗原性。

表 1 IEDB 软件预测 SRS40E 蛋白的 B 细胞抗原表位

顺序	氨基酸位置	表位序列	氨基酸长度/aa
1	5~17	ARIEQRRRGFKSK	13
2	74~85	PSDSAGRNGATA	12
3	180~185	SDLPLT	6
4	195~208	NKAVAGKDVQTSSK	14
5	219~226	RPSFVAEN	8
6	234~241	GKESNPEP	8
7	318~322	FPQSE	5
8	369~377	RSSTSSSGH	9

表 2 SYFPEITHI 软件预测 SRS40E 蛋白的 Th、CTL 细胞表位

细胞类型	顺序	起始氨基酸位置	表位序列	分数
Th	1	219	RPSFVAENNVVTCAY	0.840 6
	2	296	VETWWAARSKDQSAT	0.737 2
	3	328	SCIYKEAQTGTNTA	0.854 0
	4	239	PEPLKVENTMEMNTL	0.605 6
	5	243	KVEMTTEMNTLTIQC	0.923 4
	6	187	KAFFVGC DNKAVAGK	1.223 4
	7	230	TCAYGKESNPEPLKV	0.657 0
	8	285	EKKFEAILPSFVETW	0.515 7
CTL	1	147	GLLGSSGPI	1.876 5
	2	262	VLNPKSYTA	1.338 4

表 3 刚地弓形虫不同抗原的抗原性比对

蛋白	氨基酸长度/aa	抗原决定簇/个	B 细胞表位/个	Th 细胞表位/个	CTL 细胞表位/个	亲水性位点/个	柔韧性位点/个	表面可及性位点/个
SRS40E	396	18	8	8	2	13	12	21
SRS47D	376	14	4	7	6	18	8	17
SRS20A	328	15	8	9	3	15	10	16
SRS29B	336	16	7	8	4	11	6	9
GRA7	236	6	1	2	3	15	6	9
ROP18	554	22	11	9	7	21	12	28

表4 不同原虫相似蛋白抗原性比对

蛋白	种属	氨基酸 长度/aa	抗原决 定簇/个	B 细胞 表位/个	Th 细胞 表位/个	CTL 细胞 表位/个	亲水性 位点/个	柔韧性 位点/个	表面可及 性位点/个
SRS40E	刚地弓形虫 ME49	396	18	8	8	2	13	12	21
SRS40E	刚地弓形虫 GT1	396	17	13	7	1	12	12	25
含 SRS 结构 域蛋白	犬新孢子虫 (<i>Neospora caninum</i>)	394	13	14	7	1	13	9	16
	Liverpool								
BMR1_03g 01455	田鼠巴贝斯虫 (<i>Babesia microti</i>)	576	24	18	11	7	13	15	20
HHA_22 4760	哈蒙球虫 (<i>Hammondia hammondi</i>)	406	17	15	8	2	13	8	16

3 讨论

研究表明,表面抗原(SAGs)、致密颗粒蛋白(GRAs)、棒状体蛋白(ROPs)和微线体蛋白(MICs)^[18-19]是潜在的疫苗候选抗原,并且GRA7、ROP18、SAG1等多种候选抗原已通过制备重组抗原、纳米颗粒和疫苗等方式被证明具有良好的免疫原性^[6]。基因组测序工作发现,弓形虫ME49株中存在一个包含109个SRS基因家族^[20]。所有的SRS基因编码至少一个约20 kDa的SRS折叠区域(该结构包括4或6个半胱氨酸残基,会形成分子内二硫键^[12]),为弓形虫附着宿主细胞提供帮助^[20]。此外,大多数SRS基因在C端有一个糖基磷脂酰肌醇锚定结构域,该结构域在致病性顶复门寄生虫中含量很高,如在恶性疟原虫感染期间发挥重要的免疫调节作用^[21]。研究发现,SRS编码的“变异T细胞表位”可能会在弓形虫感染期间调控宿主B细胞和T细胞的免疫反应,从而有助于虫体的免疫逃避^[22]。因此,SRS蛋白具有介导与宿主细胞附着,并调控宿主免疫系统的功能^[1]。然而SRS40E蛋白的生物学特性和功能尚不明确^[25]。

生物信息学是一门采用计算方法来分析和解释生物数据的学科,这是一个融合生物学、计算机科学和数学的跨学科领域,能够促进研究者对生物学过程的理解^[26]。理化参数分析表明,该表面抗原相关序列蛋白是由396个氨基酸组成,属于亲水性蛋白,在溶液中不稳定;经TMHMM 2.0网站预测,该蛋白有1个跨膜结构;通过SignalP-4.1程序预测在蛋白质的N端没有信号肽,说明该蛋白属于非分泌型蛋白。磷酸化修饰是最为常见的一种蛋白翻译后修饰方式,受蛋白激酶的调节,在调节虫体入侵、运动、复制、毒力、代谢等多种生物学过程中起着关键作用^[27-28]。经过分析SRS40E具有53个磷酸化位点,预示该蛋

白在虫体入侵等重要的生命过程中发挥着重要的作用。在激活蛋白质功能的过程中,丝氨酸和苏氨酸扮演着至关重要的角色^[29]。在53个磷酸化位点中,有30个丝氨酸位点和22个苏氨酸位点,暗示着其在调控信号通路中扮演着重要的角色。二级结构被认为与抗原表位的形成具有重要关系,在二级结构的组成成分中,由于 α -螺旋和 β -折叠的形态固定,提高了其与抗体结合的难度,而 β -转角和无规则卷曲结构较为松散,且位于蛋白质的表面,便于和抗体结合,具有很强的结构优势,有助于形成抗原表位,从而更好地发挥免疫作用^[30]。 β -转角和无规则卷曲是决定组成抗原表位的关键结构^[31]。在SRS40E蛋白的二级结构中, β -转角和无规则卷曲占比60.36%,暗示该蛋白具有多样性的结构,增加了表面抗体位点形成的可能性,有利于在生物体内发挥作用。通过对SRS40E蛋白的抗原决定簇进行预测,结果发现有18个抗原表位,抗原指数较高。进一步预测确定了8个B细胞抗原表位、8个Th细胞抗原表位和2个CTL细胞抗原表位,表明其有较强的免疫原性。通过在线软件IEDB、SYFPEITHI和Bcepred将SRS40E与已报道的SRS47D、SRS20A、SRS29B、GRA7、ROP18等的抗原特性进行比较,SRS40E与这些具有免疫原性蛋白质一致,均有较多的抗原决定簇、B细胞表位、Th细胞表位、亲水性位点、柔韧性位点和表面可及性位点。由于SRS47D^[15]、SRS20A^[16]、SRS29B^[17]等蛋白已被证明具有良好的免疫原性,因此,SRS40E具有高度免疫原性的潜力,能够激发免疫系统产生更多的抗体,增强免疫反应。此外,使用序列比对的方法选取了与弓形虫ME49株SRS40E具有较高相似度的其他原虫蛋白,通过在线软件IEDB、SYFPEITHI和Bcepred对抗原表位等预测,对比发现这些蛋白均具有良好的抗原性。

综上,弓形虫表面抗原相关序列蛋白SRS40E为

亲水性非分泌型蛋白,具有多个磷酸化位点、多个抗原表位,表明其具有成为弓形虫疫苗候选抗原的潜力,对弓形虫疫苗研究具有重要参考价值。

参考文献:

- [1] HAN R X, JIANG P C, HAN B, et al. Anti-*Toxoplasma gondii* effect of tylosin *in vitro* and *in vivo* [J]. Parasit Vectors, 2024, 17 (1): 59-68.
- [2] 赵于华. 猪弓形虫感染的诊治 [J]. 畜禽业, 2021, 32 (9): 97-98.
- [3] SINI M F, MANCONI M, VARCASIA A, et al. Seroepidemiological and biomolecular survey on *Toxoplasma gondii* in Sardinian wild boar (*Sus scrofa*) [J]. Food Waterborne Parasitol, 2024, 34: e00222.
- [4] 李丹, 韩萌, 都建, 等. 弓形虫钙依赖蛋白激酶 CDPK3 多克隆抗体的制备与初步应用 [J]. 中国病原生物学杂志, 2023, 18 (8): 922-926.
- [5] 毛晶丹, 王鹏芳. 猪弓形虫病的防治 [J]. 吉林畜牧兽医, 2023, 44 (6): 17-18.
- [6] MAMAGHANI A J, FATHOLLAHI A, ARAB-MAZAR Z, et al. *Toxoplasma gondii* vaccine candidates: a concise review [J]. Ir J Med Sci, 2023, 192 (1): 231-261.
- [7] Lüder C G K. IFNs in host defence and parasite immune evasion during *Toxoplasma gondii* infections [J]. Front Immunol, 2024, 15: 1356216.
- [8] DUNAY I R, GAJUREL K, DHAKAL R, et al. Treatment of Toxoplasmosis: historical perspective, animal models, and current clinical practice [J]. Clin Microbiol Rev, 2018, 31 (4): e00057-17.
- [9] 刘荣荣, 张进顺, 张晓磊, 等. 刚地弓形虫棒状体蛋白 10 的生物信息学分析 [J]. 中国病原生物学杂志, 2017, 12 (9): 855-859.
- [10] 李威. 弓形虫 SRS52 蛋白的鉴定及其功能的初步研究 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2021.
- [11] 叶建军, 田静, 高传亮, 等. 刚地弓形虫 SRS29C 核酸疫苗的构建及 SRS29C 与 SAG1 联合免疫保护性的比较研究 [J]. 黑龙江畜牧兽医, 2023, 66 (21): 18-25.
- [12] THEISEN T C, BOOTHROYD J C. Transcriptional signatures of clonally derived *Toxoplasma* tachyzoites reveal novel insights into the expression of a family of surface proteins [J]. PLoS One, 2022, 17 (2): e0262374.
- [13] TOMITA T, MA Y, WEISS L. Characterization of a SRS13: a new cyst wall mucin-like domain containing protein [J]. Parasitol Res, 2018, 117 (8): 2457-2466.
- [14] LEAL-SENA J A, DOS SANTOS J L, DOS SANTOS T A R, et al. *Toxoplasma gondii* antigen SAG2A differentially modulates IL-1 β expression in resistant and susceptible murine peritoneal cells [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2018, 102 (5): 2235-2249.
- [15] 刘辉, 米荣升, 贾海燕, 等. 弓形虫表面抗原糖蛋白相关序列 SRS47D 基因的原核表达及蛋白定位研究 [J]. 中国动物传染病学报, 2020, 28 (4): 17-23.
- [16] 林晓幸, 李威, 曹杰, 等. 弓形虫新的表面抗原 SRS20A 的鉴定及特征化 [J]. 中国动物传染病学报, 2023, 31 (5): 93-100.
- [17] WASMUTH J D, PSZENNY V, HAILE S, et al. Integrated bioinformatic and targeted deletion analyses of the SRS gene superfamily identify SRS29C as a negative regulator of *Toxoplasma virulence* [J]. mBio. 2012, 3 (6): e00321-12.
- [18] WUYUN Q, CHEN Y, SHEN Y, et al. Recent progress of protein tertiary structure prediction [J]. Molecules, 2024, 29 (4): 832-859.
- [19] YANG C S, YUK J M, LEE Y H, et al. *Toxoplasma gondii* GRA7-induced TRAF6 activation contributes to host protective immunity [J]. Infect Immun, 2015, 84 (1): 339-350.
- [20] HÄNGGELI K P A, HEMPHILL A, MÜLLER N, et al. Comparative proteomic analysis of *Toxoplasma gondii* RH wild-type and four SRS29B (SAG1) knock-out clones reveals significant differences between individual strains [J]. Int J Mol Sci, 2023, 24 (13): 10454.
- [21] DECKER FRANCO C, WIESER S N, SORIA M, et al. In silico identification of immunotherapeutic and diagnostic targets in the glycosylphosphatidylinositol metabolism of the coccidian *Sarcocystis aucheniae* [J]. Transbound Emerg Dis, 2020, 67 (Suppl2): 165-174.
- [22] JUND C, LEE C Y, GRIGG M E. The SRS superfamily of *Toxoplasma* surface proteins [J]. Int J Parasitol, 2004, 34 (3): 285-296.
- [23] BOOTHROYD J C, HEHL A, KNOLL L J, et al. The surface of *toxoplasma*: more and less [J]. Int J Parasitol, 1998, 28 (1): 3-9.
- [24] HE X L, GRIGG M E, BOOTHROYD J C, et al. Structure of the immunodominant surface antigen from the *Toxoplasma gondii* SRS superfamily [J]. Nat Struct Biol, 2002, 9 (8): 606-611.
- [25] TREVINO S R, SCHOLTZ J M, PACE C N. Amino acid contribution to protein solubility: Asp, Glu, and Ser contribute more favorably than the other hydrophilic amino acids in Rnase sa [J]. J Mol Biol, 2007, 366 (2): 449-460.
- [26] MOKHTARI M, KHOSHBAKHT S, ZIYAEI K, et al. New classifications for quantum bioinformatics: Q-bioinformatics, QCt-bioinformatics, QCg-bioinformatics, and QCr-bioinformatics [J]. Brief Bioinform, 2024, 25 (2): bbae074.
- [27] WANG J L, LI T T, ELSHEIKHA H M, et al. The protein phosphatase 2A holoenzyme is a key regulator of starch metabolism and bradyzoite differentiation in *Toxoplasma gondii* [J]. Nat Commun, 2022, 13 (1): 7560-7575.
- [28] 尹德琦. 刚地弓形虫蛋白质翻译后修饰及其生物学意义的研究 [D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2022.
- [29] 金四华, 税斐, 徐媛, 等. 鸡 IHH 基因生物信息学及组织特异性表达分析 [J]. 中国农业大学学报, 2023, 28 (10): 122-131.
- [30] 白杨. 弓形虫新基因 TgIMP1 的生物信息学分析、克隆及表达 [D]. 济南: 山东大学, 2013.
- [31] 郭玲玲, 王春苗, 张进顺, 等. 刚地弓形虫 ROP12 蛋白的生物信息学分析 [J]. 中国病原生物学杂志, 2015, 10 (6): 531-535.