

安尉, 李春晓, 王艺霏, 等. 新型猫过敏原蛋白 NPC2 的同源建模及抗原表位预测 [J]. 畜牧与兽医, 2025, 57 (7): 39-47.

AN W, LI C X, WANG Y F, et al. Homology modeling and prediction of the antigenic epitopes of a new allergen protein NPC2 from cats [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2025, 57 (7): 39-47.

新型猫过敏原蛋白 NPC2 的同源建模及抗原表位预测

安尉^{1#}, 李春晓^{1#}, 王艺霏², 王振龙¹, 田欣雅¹, 韩冰¹,
陶慧¹, 王金全^{1*}, 王秀敏^{1*}

(1. 农业农村部饲料生物技术重点实验室/中国农业科学院饲料研究所, 北京 100081;

2. 南京农业大学动物科技学院, 江苏 南京 210095)

摘要: 近期研究发现, 14.5% 的猫过敏患者血清中存在针对新型猫过敏原蛋白——尼曼匹克 C2 型蛋白 (Niemann-Pick type C2, NPC2) 的高特异性免疫球蛋白 E (IgE)。为了深入解析该蛋白的致敏机制, 并开发高效、精准的多表位疫苗, 本研究针对猫的新型过敏原 NPC2 进行了疏水性分析、磷酸化位点预测、糖基化位点预测以及信号肽预测分析; 通过 NCBI 数据库的蛋白质序列比对后建立猫过敏原蛋白 NPC2 的系统进化发育树; 使用 SOPMA 软件对 NPC2 蛋白进行二级结构的预测分析, 利用 Swiss-Model 进行了 3D 结构的同源建模, 并与犬过敏原蛋白 Can f7 的抗原表位进行了比较。结果: 猫过敏原蛋白 NPC2 与美洲狮 NPC2 蛋白的序列同源率最高, 达到 99.33%; 猫过敏原蛋白 NPC2 的 B 细胞线性抗原表位序列为 ⁸⁵FPIPEADGCKSG⁹⁶、²²VIFKDCG²⁸、¹⁰⁰PIQQGKTYSY¹⁰⁹、⁶⁵VSSQG⁶⁹、¹³²GDKEQ¹³⁶ 和 ¹¹⁵VKNEYPS¹²¹, T 细胞表位为 ²⁶DCSGSGFVI³⁴、¹²⁹QLLDKEQN¹³⁷、⁶VAFVLLALSASGLAE²⁰、⁷¹KALVYGILMGVAVPF⁸⁵ 和 ¹¹⁶KNEYPSIKVMVKWQL¹³⁰; 猫过敏原蛋白 NPC2 的构象性表位主要位于无规卷曲区域; 此外, 猫过敏原蛋白 NPC2 与犬过敏原蛋白 Can f7 的抗原表位序列具有一定的相似性, 可能具有免疫交叉反应性和交叉保护性。综上, 本研究通过生物信息分析获得了猫过敏原蛋白 NPC2 的 B 细胞、T 细胞优势抗原表位, 其结果可为宠物过敏原蛋白的多表位疫苗研究提供理论基础, 并为对猫过敏的免疫治疗提供新的干预靶点和策略。

关键词: 猫过敏原; 生物信息学; 抗原表位预测

中图分类号: S852.2 文献标志码: A 文章编号: 0529-5130(2025)07-0039-09

Homology modeling and prediction of the antigenic epitopes of a new allergen protein NPC2 from cats

AN Wei^{1#}, LI Chunxiao^{1#}, WANG Yifei², WANG Zhenlong¹, TIAN Xinya¹, HAN Bing¹,
TAO Hui¹, WANG Jinquan^{1*}, WANG Xiumin^{1*}

(1. Key Laboratory of Feed Biotechnology, Ministry of Agriculture and Rural Affairs/Institute of Feed Research of Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China;

2. College of Animal Science & Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: Feline allergens play a pivotal role in triggering allergic reactions in humans. Recently, a new cat allergen has been validated to detect highly specific IgE in the serum of 14.5% of cat allergic patients. In this study, the hydrophobicity, phosphorylation and glycosylation sites of cat allergen Niemann-Pick type C2 protein (NPC2) were analyzed, and the signal peptides of the protein were also analyzed. SOPMA software was used to predict and analyze the secondary structure of the NPC2 protein, and Swiss Model was used to perform homology modeling. The results were as follows: The predicted linear B-cell epitopes of the cat allergen NPC2 protein were ⁸⁵FPIPEADGCKSG⁹⁶, ²²VIFKDCG²⁸, ¹⁰⁰PIQQGKTYSY¹⁰⁹, ⁶⁵VSSQG⁶⁹, ¹³²GDKEQ¹³⁶, and ¹¹⁵VKNEYPS¹²¹. The T-cell epitopes of the NPC2 protein were ²⁶DCSGSGFVI³⁴, ¹²⁹QLLDKEQN¹³⁷, ⁶VAFVLLALSASGLAE²⁰, ⁷¹KALVYGILMGVAVPF⁸⁵, and ¹¹⁶KNEYPSIKVMVKWQL¹³⁰. The conformational epitopes of the cat allergen NPC2 were mainly located in the region of the irregular coils. There was a high similarity between the antigenic epitopes of the cat allergen NPC2 and the dog allergen Can f7, indicating a high immune cross-reactivity. The B-cell and T-cell

收稿日期: 2024-06-17; 修回日期: 2025-04-21

基金项目: 中国农业科学院饲料研究所科技创新工程项目 (CAAS-ASTIP-2023-IFR-14)

第一作者: 安尉, 男, 硕士研究生; 李春晓, 女, 硕士研究生。[#]共同第一作者

* 通信作者: 王金全, 研究员, 研究方向为宠物营养与食品, E-mail: wangjinquan@caas.cn; 王秀敏, 研究员, 研究方向为多肽类药物, E-mail: wangxiumin@caas.cn。

dominant epitopes of the cat allergen NPC2 were obtained by bioinformatics analysis, which provided theoretical basis for research on and development of the multi-epitope vaccines of allergens from pets, and offered an interfering target and a strategy for immune treatment of cat allergens.

Keywords: cat allergens; bioinformatics; prediction of antigen epitope

人过敏症是指通过人体特异性的免疫球蛋白 E (IgE) 介导, 由粉尘、螨虫、食物和动物皮屑等多种因素引起的机体鼻炎、哮喘、特应性湿疹, 甚至休克性死亡的一系列免疫反应^[1]。在众多过敏原中, 猫过敏原是一种发病率高且可以持续存在、广泛传播的危险因素^[2]。目前, 人们喂养猫或犬类宠物越来越流行, 根据一项对来自 22 个不同地区的 27 000 人的调查结果显示, 大约 33% 的家庭拥有 1 只犬, 23% 的家庭拥有 1 只猫^[3]。人类对宠物过敏反应的比率也随着犬猫数量的增多而升高。2015—2020 年, 我国 39 926 名过敏患者中大约有 8.6% 的人对猫过敏, 约有 6.1% 的人对犬过敏^[4]。由此可见, 宠物过敏原已经严重威胁了公众的健康安全。

在猫过敏原蛋白中, 有 8 个猫过敏原蛋白 (Fel d1~Fel d8) 被世界卫生组织命名小组委员会收录 (www.allergy.org), 其中 Fel d1 是最主要的过敏原, 在 80%~95% 的猫过敏患者血清中发现了抗 Fel d1 的特异性 IgE^[5]。针对 Fel d1 蛋白引起的过敏, 基于过敏原抗原表位的免疫疗法因具有较高的治疗效率和低风险性而逐渐成为研究趋势^[6]。一种基于 T 细胞表位的 Fel d1 脱敏抗原衍生肽 (Fel d1-derived peptide antigen desensitization, Cat-PAD) 在随机、双盲、安慰剂对照的试验中被证实安全、耐受性良好, 在短期治疗开始后长达 1 年的时间内可显著改善猫过敏受试者的鼻结膜炎症状^[7]。最近, 一种新的来自猫的过敏原蛋白, 即尼曼匹克 C2 型蛋白 (Niemann-Pick type C2 protein, NPC2) 被发现, 与犬的过敏原蛋白 Can f7 同属于细胞内胆固醇转运蛋白, 广泛存在于不同的物种, 已被证明在人体不同组织中, 通过介导胆固醇等脂质的转运参与溶酶体等多种生理活动的发生^[8], 而在昆虫等节肢动物中, 作为气味结合蛋白在化学信息的传递过程中发挥着重要作用^[9]。在 14.5% 的猫过敏患者血清中, 检测到猫过敏原蛋白 NPC2 的高特异性 IgE^[10]。然而, 目前关于猫 NPC2 蛋白的免疫相关研究仍十分有限, 缺乏系统的抗原表位鉴定及免疫学特性分析。

本文利用多种生物信息学软件对猫过敏原蛋白 NPC2 的结构进行分析, 预测其 T 细胞、B 细胞抗原表位等, 旨在为后续 NPC2 蛋白的结构研究、抗原检测和表位疫苗的开发提供帮助。

1 材料与方法

1.1 猫过敏原蛋白 NPC2 的基因序列号及其氨基酸编码序列号

通过 NCBI 数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 检索新型猫过敏原蛋白 NPC2 的基因序列及氨基酸序列, 其基因登录号为 MN737596.1, 编码氨基酸序列登录号为 QNL15371.1。

1.2 NPC2 的氨基酸序列及理化性质分析

使用 NCBI 进行同源序列比对, 挑选序列相似性最高的前 50 个蛋白构建进化树, 使用 ProtParam (<https://www.expasy.org/prot-param>) 对蛋白质的一级序列进行分析^[11], 并结合软件 ProtScale 进行亲水性/疏水性分析^[12]。

1.3 NPC2 的结构预测

利用 Net Phos 3.1 Server 软件对 NPC2 蛋白进行磷酸化位点预测分析^[13], 利用 NetNGlyc 1.0 进行糖基化位点预测^[14], 利用 SignalP 6.0 预测蛋白上是否带有信号肽序列^[15]; 使用 SOPMA 软件对 NPC2 蛋白进行二级结构的预测分析^[16], 利用 Swiss-Model 软件进行同源 3D 建模^[17]。

1.4 NPC2 的抗原表位预测

利用基于神经网络的在线工具 ABCpred^[18]、基于物理化学特性的 B 细胞表位预测方法 Bcepred^[19]、基于蛋白质空间结构的几何特性的方法 ElliPro^[20] 预测 B 细胞表位以及引入蛋白质语言模型 (protein language models, PLMs) 辅助预测抗原表位的方法 Bepipred^[21]; 利用基于定量矩阵和机器学习的 CTLpred 及基于试验论文表位集合训练的神经网络模型 CD4 Immunogenicity prediction^[22] 预测 T 细胞表位。

2 结果

2.1 不同物种 NPC2 序列的同源性比较

通过 NCBI 数据库的氨基酸序列比对后建立系统进化发育树^[23], 结果显示 (图 1), 与猫过敏原蛋白 NPC2 序列同源性最高的蛋白是美洲狮的 NPC2 蛋白 (Puma concolor), 序列同源率达到了 99.33%; 猫过敏原蛋白 NPC2 与犬 Can f7 蛋白的序列同源率为 81.88%, 与人 NPC2 蛋白的序列同源率为 78.23%^[24]。

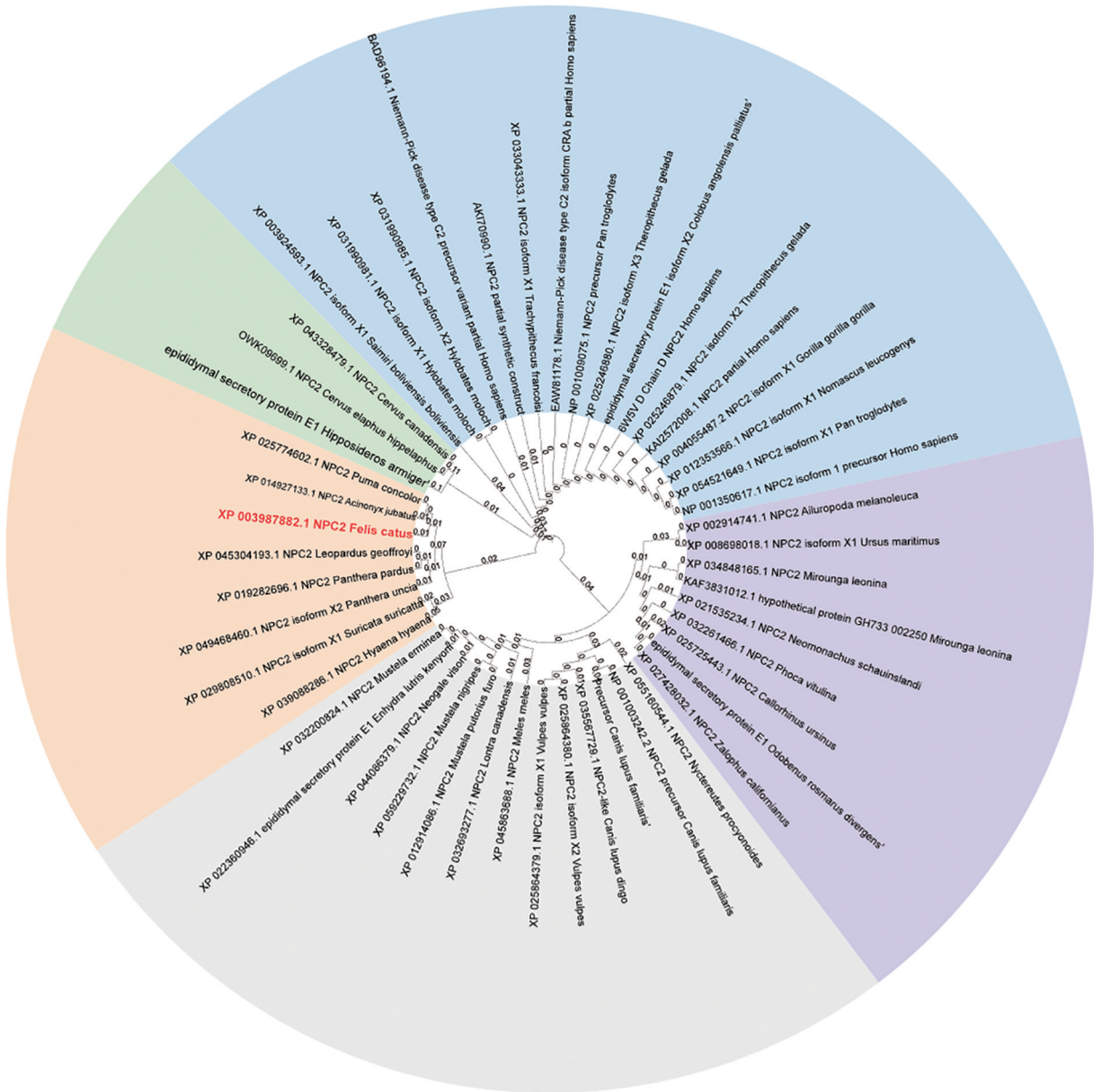


图1 NPC2蛋白的系统进化树

2.2 猫过敏原蛋白 NPC2 的理化性质分析

ProtParam 数据库分析显示, NPC2 蛋白由 149 个氨基酸序列组成, 分子式为 $C_{729}H_{1153}N_{183}O_{208}S_9$, 相对分子质量是 16 097. 82 Da。氨基酸分布如图 2A 所示, 该蛋白带负电荷的残基数是 10 个, 带正电荷的残基数是 13 个, 其理论等电点为 8. 52。NPC2 蛋白的理论不稳定指数系数为 40. 67, 大于参考值 40, 说明 NPC2 稳定性可能不高^[25]; NPC2 蛋白的脂肪蛋白系数 (AI) 为 94. 77, 平均亲水系数为 0. 144。氨基酸疏水性分布显示, NPC2 蛋白的亲水性较差 (图 2B)^[26]。

2.3 猫过敏原蛋白 NPC2 的结构预测

2.3.1 NPC2 蛋白修饰位点的预测

Net Phos 3. 1 Server 和 NetNGlyc 软件预测结果显示, 过敏原蛋白 NPC2 含有 12 个磷酸化位点, 其中丝氨酸磷酸化位点 8 个 (氨基酸位置为第 3、40、54、56、66、67、70、121 位), 苏氨酸磷酸化位点 3 个 (氨基酸位置为第 44、60、62 位), 酪氨酸磷酸化位点 1 个 (氨基酸位置为第 119 位); NPC2 蛋白含 2 个 N-糖基化修饰位点, 分别是第 58、64 位的天冬氨酸 (图 3)。

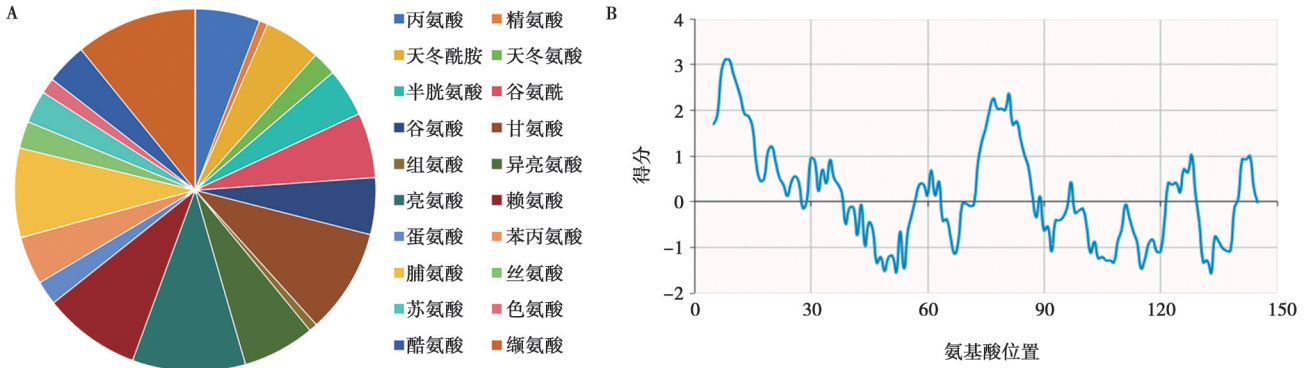


图 2 猫 NPC2 蛋白的氨基酸组成 (A) 和疏水性分析 (B)

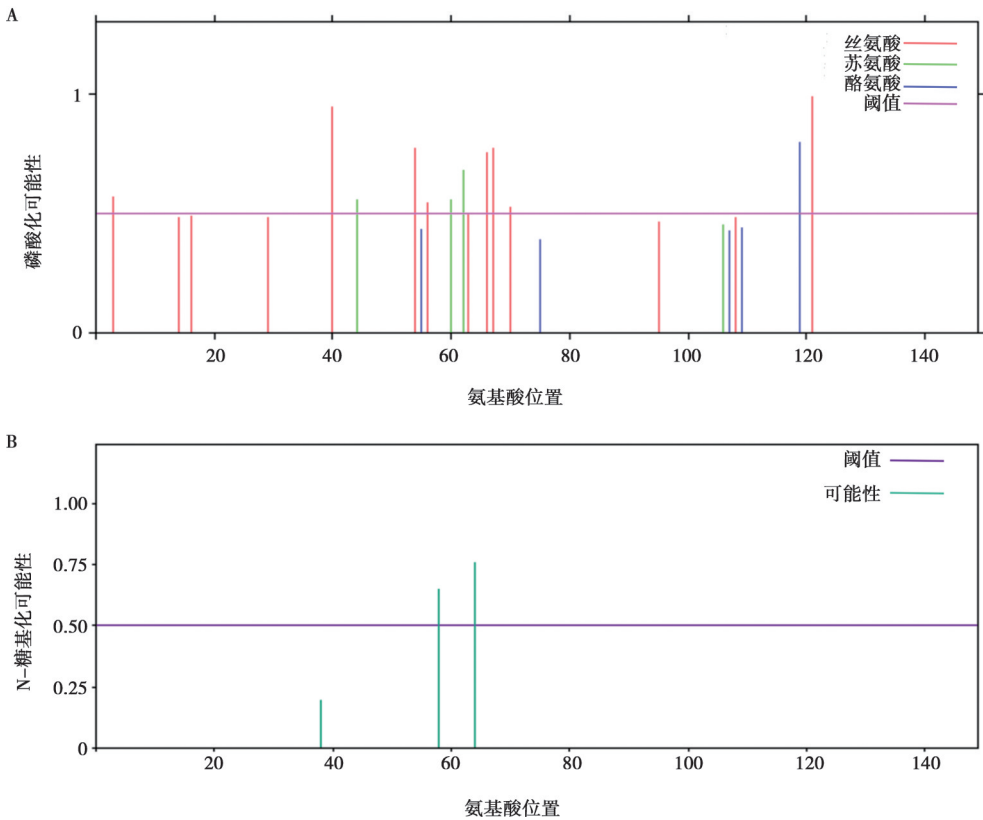


图 3 猫 NPC2 蛋白的磷酸化 (A) 和糖基化 (B) 位点预测

2.3.2 NPC2 蛋白信号肽的预测

预测结果如图 4 所示, NPC2 蛋白信号肽的类型为 Sec/SPI, 剪切位点在 19 和 20 个氨基酸的可能性为 99.01%, 其信号肽序列为 MRSLAVAFVLLALSASGLA。

2.3.3 NPC2 蛋白的二级结构预测

根据 SOPMA 软件结果可知 (图 5), NPC2 蛋白属于一种以无规卷曲二级结构为主的蛋白质, 其中 α 螺旋占 16.78%、 β 折叠占 27.52%, β 转角占 6.04%。 α 螺旋分别是由第 1~15 位、第 68~75 位氨

基酸形成; β 折叠分别是由第 22~25 位、第 34~39 位、第 47~49 位、第 55~61 位、第 78~79 位、第 107~112 位、第 123~130 位、第 138~142 位氨基酸形成; 无规卷曲分别是由第 18~21 位、第 26~33 位、第 40~46 位、第 62~67 位、第 81~102 位、第 105~106 位、第 113~122 位、第 131~132 位、第 135~137 位、第 142~149 位氨基酸组成; β 转角分别是由第 51~52 位、第 104~105 位、第 133~134 位氨基酸形成。

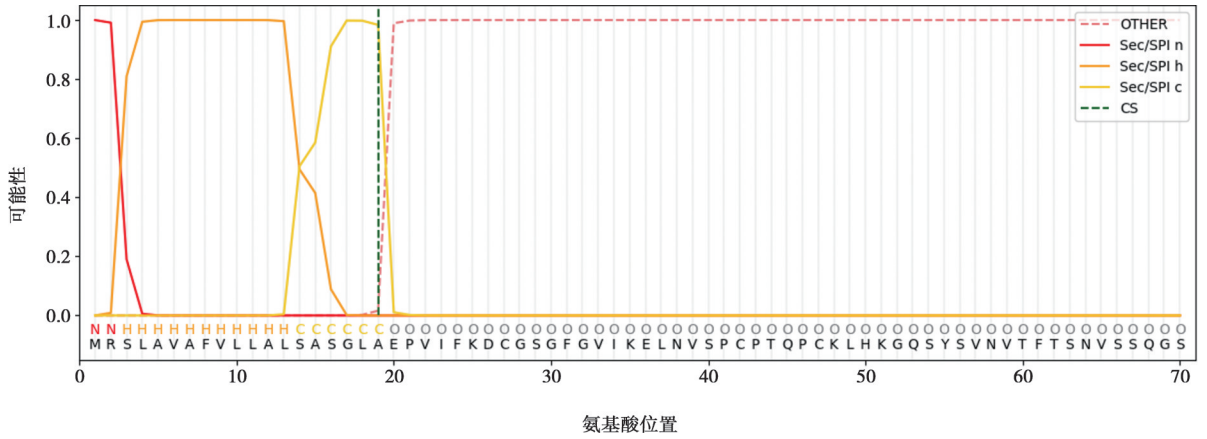


图4 猫 NPC2 蛋白的信号肽位点预测

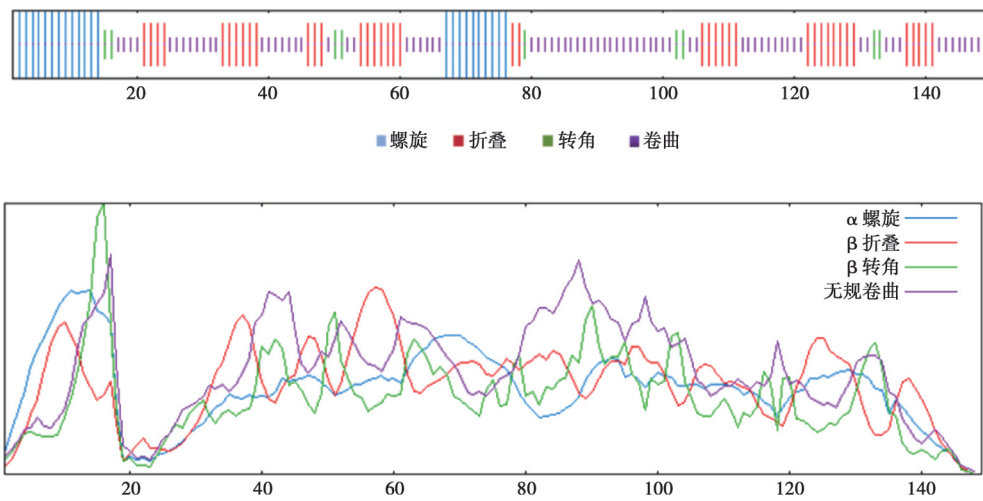


图5 猫 NPC2 蛋白的二级结构预测

2.3.4 NPC2 蛋白的三级结构预测

利用 Swiss-Model 工具对 NPC2 蛋白的三级结构进行预测，其 GMQE（全球模型质量估计）评分为 0.93，可信度高。由图 6A 可知，NPC2 蛋白的三级结构含有 α 螺旋、 β 折叠及无规卷曲等二级结构，其中 β 折叠的数目最多，占比最高。NPC2 蛋白三级结构的 N 端为 α 螺旋结构，C 端为 β 折叠。

图 6B 是基于三维构象的静电势能图，NPC2 蛋白 N 端表面氨基酸残基富集正电荷，而 C 端表面氨基酸富集负电荷。根据图 6C 蛋白结构的拉式构象可知，蛋白质的所有氨基酸均落在坐标轴的绿色区域（完全允许区域）和浅绿色区域（允许区域）。

2.4 猫过敏原蛋白 NPC2 的抗原表位分析

2.4.1 NPC2 蛋白的 B 细胞抗原表位

使用软件 ABCpred、ElliPro、Bepipred 和 Bcepred 对 NPC2 蛋白 B 淋巴细胞抗原表位进行预测，根据氨基酸序列性质的预测结果进行综合分析，选择亲水性强、可及性高、可塑性好、抗原指数高的区域作为候

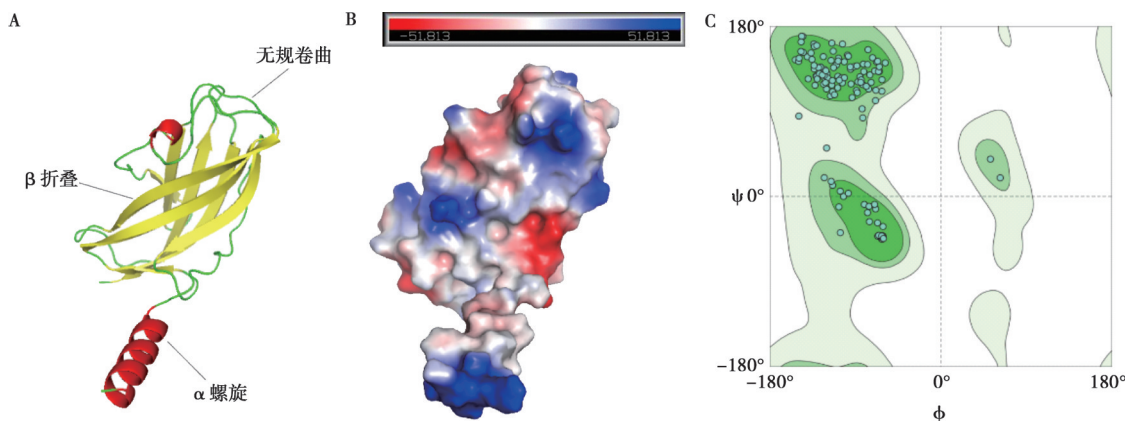
选表位区域。在 ABCpred 中有多个 B 细胞抗原表位，其中得分 >0.8 的 B 细胞表位有 5 个，>0.9 的表位有 1 个（表 1）。另外，不同软件预测的共有 B 细胞抗原表位序列为 ⁸⁵FPIPEADGCKSG⁹⁶、²²VIFKDCG²⁸、¹⁰⁰PIQQGKTYSY¹⁰⁹、⁶⁵VSSQC⁶⁹、¹³²GDKEQ¹³⁶和¹¹⁵VKNEYPS¹²¹（图 7）。

2.4.2 NPC2 蛋白的 T 细胞抗原表位

CTLpred 和 CD4 Immunogenicity prediction 预测 NPC2 蛋白的 T 细胞线性表位为²⁶DCGSGFGVI³⁴、¹¹⁴PVKNEYPSI¹²²、¹²⁹QLLDKEQN¹³⁷、⁶VAFVLLALSASGLAE²⁰、⁷¹KALVYGILMGVAVPF⁸⁵和¹¹⁶KNEYPSIKVMVKWQL¹³⁰（表 2）。

2.4.3 NPC2 蛋白的构象表位分布

猫过敏原蛋白的空间构象表位分布显示（图 8），NPC2 蛋白的构象性表位主要位于无规卷曲区域，少量位于 β 折叠区域，没有在 α 螺旋区域发现构象性表位，这表明无规卷曲与 β 折叠结构在 NPC2 构象表位中非常重要^[30]。



A. 三维结构 (红色、黄色和绿色区域分别代表 α 螺旋、 β 折叠和无规卷曲); B. 静电势能 (红色表示该区域静电势为负电位, 蓝色表示为正电位, 白色则表示为零^[27-28]); C. 拉式构象 (绿色区域为立体化学构象规则完全允许区域, 浅绿色区域为允许区域, 空白为不允许区域^[29])。

图 6 猫 NPC2 蛋白的三维结构

表 1 猫 NPC2 蛋白的 B 细胞抗原表位预测结果

方法	序列	得分	方法	序列	得分
ABCpred	¹²³ KVMVKWQLLDKEQNL ¹³⁸	0.920	Bcepred	⁵³ QSYSVNVT ⁶²	1.188
ABCpred	⁸⁴ PFIPEADGCKSGINC ⁹⁹	0.840	Bcepred	²¹ PVIFKDCG ²⁸	1.220
ABCpred	³¹ FGVIKELNVSPCPTQP ⁴⁶	0.830	Bcepred	⁷³ LVYGILM ⁷⁹	-
ABCpred	²⁰ EPVIFKDCGSGFGVIK ³⁵	0.830	Bcepred	⁸³ VPFPIPE ⁸⁹	-
ABCpred	¹⁰⁰ PIQQGKTYSYLNKLPV ¹¹⁵	0.810	ElliPro	¹ MRLAVAFVLLALSASG1 ⁷	0.867
ABCpred	⁵² GQSYSVNVTFTSNVSS ⁶⁷	0.780	ElliPro	¹¹⁵ VKNEYPSIK ¹²³	0.761
ABCpred	⁹⁴ KSGINCPIQQGKTYSY ¹⁰⁹	0.730	ElliPro	⁹⁷ INCPQQGKT ¹⁰⁶	0.731
ABCpred	⁷⁰ SKALVYGILMGVAVPF ⁸⁵	0.700	ElliPro	¹³² GDKEQ ¹³⁶	0.647
ABCpred	¹¹³ LPVKNEYPSIKVMVKW ¹²⁸	0.690	ElliPro	²⁹ SGFGV ³³	0.545
ABCpred	⁴⁰ SPCPTQPCKLHKQSY ⁵⁵	0.680	ElliPro	⁶² TSNVSSQGS ⁷⁰	0.675
ABCpred	¹³³ DKEQNLFCWEIPVQIE ¹⁴⁸	0.630	ElliPro	⁷⁷ ILMGVAVPFPIPEADGCKS ⁹⁵	0.544
ABCpred	¹⁴ SASGLAEPVIFKDCGS ²⁹	0.620	Bepipred	²² VIFKDCGSGFGV ¹³⁴	0.523
Bcepred	¹³⁸ LFCWEIPVQ ¹⁴⁶	1.820	Bepipred	⁸⁵ FPIPEADGCKSGINCPIQQGKTY ¹⁰⁷	0.528
Bcepred	¹²⁰ PSIKVMVKWQL ¹³⁰	1.745	Bepipred	¹¹⁵ VKNEYPS ¹²¹	0.531
Bcepred	¹⁰⁹ YLNKLPV ¹¹⁵	1.678	Bepipred	⁶⁵ VSSQG ⁶⁹	0.514

注: 序列左侧上标为肽段氨基酸起始位置, 右侧上标为终止位置; 氨基酸序列得分是在相同的方法软件背景下进行比较; -表示未评分。

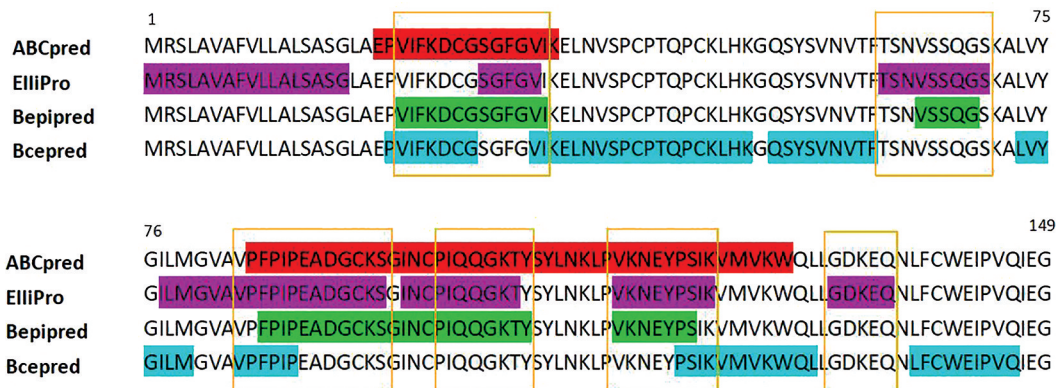


图 7 猫 NPC2 蛋白的 B 细胞抗原表位预测结果对比

表2 猫 NPC2 蛋白的 T 细胞抗原表位预测结果

方法	序列	得分	方法	序列	得分
CTLpred	²⁶ DCGSGFGVI ³⁴	1	CD4 Immunogenicity prediction	⁶ VAFVLLALSASGLAE ²⁰	97.50
CTLpred	¹¹⁴ PVKNEYPSI ¹²²	0.9	CD4 Immunogenicity prediction	⁷¹ KALVYGILMGVAVPF ⁸⁵	85.65
CTLpred	¹²⁹ QLLGDKEQN ¹³⁷	0.9	CD4 Immunogenicity prediction	¹¹⁶ KNEYPSIKVMVKWQL ¹³⁰	76.40

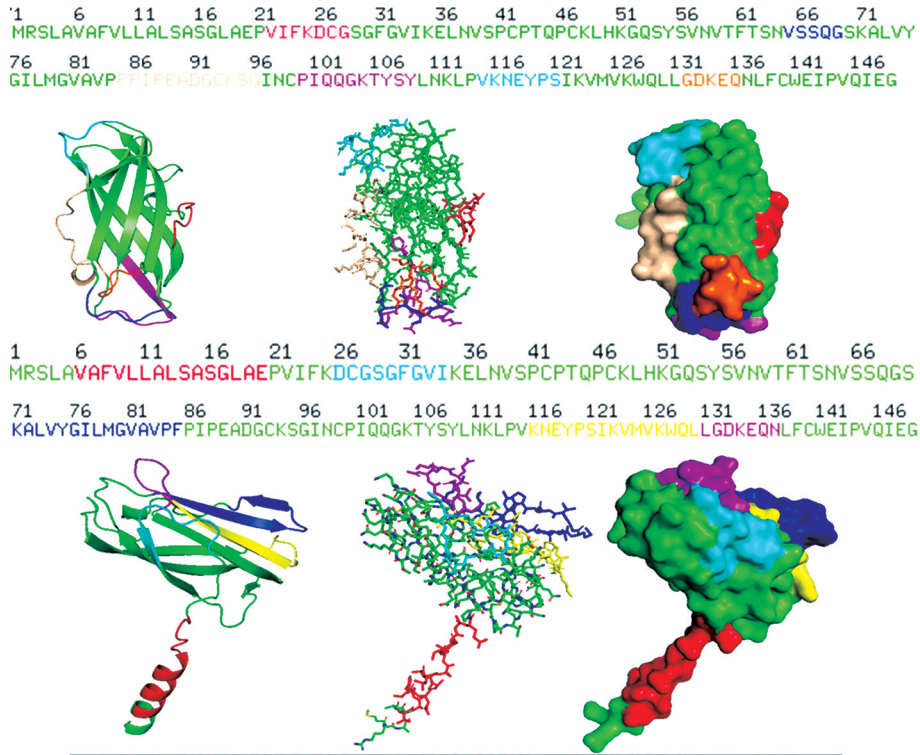


图8 猫 NPC2 蛋白构象表位分布

2.4.4 猫过敏原蛋白 NPC2 与犬过敏原蛋白 Can f7 抗原表位的比较

如表3、图9所示，犬过敏原蛋白 Can f7 的部分 B 细胞抗原表位与猫 NPC2 蛋白的⁸⁷IPEADGCKSG⁹⁶、

²²VIFKDCG²⁸和¹¹⁵VKNEYPS¹²¹一致；犬 Can f7 蛋白的部分 T 细胞抗原表位与猫 NPC2 蛋白的¹¹⁴PVKNEYPSI¹²²、⁶VAFVLLALSASGLAE²⁰和⁸⁰GVAVPF⁸⁵一致。

表3 犬过敏原蛋白 Can f7 的 B 细胞抗原表位预测结果

方法	序列	得分	方法	序列	得分
ElliPro	¹ MRLVAAFLLALGDL ¹⁶	0.85	ABCpred	⁸⁴ PFPIPEADGCKSGINC ⁹⁹	0.84
ElliPro	¹¹⁵ VKNEYPSIK ¹²³	0.78	ABCpred	⁹⁸ NCPIQKDKTYSYLNKL ¹¹³	0.81
ElliPro	⁹⁷ INCPIQKDKTY ¹⁰⁷	0.74	ABCpred	¹²³ KLVVQWMLLDGNNQHL ¹³⁸	0.80
ElliPro	⁶² TSNIPSQSS ⁷⁰	0.69	ABCpred	³¹ VGVIKELNVNCPAQ ⁴⁶	0.77
ElliPro	⁵⁰ HKGQ ⁵³	0.59	ABCpred	²⁴ FKDCGSVAVGIKELNV ³⁹	0.77
ElliPro	⁷⁷ IVLGVAVPFPPIPEADGCKSG ⁹⁵	0.57	ABCpred	⁵² GQSYSVNVTFTSNIPS ⁶⁷	0.76
Bcepred	⁶³ SNIPSQSS ⁷⁰	1.29	ABCpred	¹⁰⁵ KTYSYLNKLPVKNEY ¹²⁰	0.76
Bcepred	¹⁰⁰ PIQKDKTYS ¹⁰⁸	1.28	ABCpred	⁶⁶ PSQSSKAVVHGIVLGV ⁸¹	0.73
Bcepred	⁴⁸ KLHKGQSYS ⁵⁶	1.26	ABCpred	⁴⁴ AQPKLHKGQSYSVN ⁵⁹	0.71
Bcepred	¹¹⁴ PVKNEY ¹²⁰	1.22	ABCpred	¹¹³ LPVKNEYPSIKLVVQW ¹²⁸	0.63
Bcepred	¹³³ DNNQH ¹³⁷	1.12	ABCpred	⁶⁰ TFTSNIPSQSSKAVVH ⁷⁵	0.60
Bepipred	²⁸ SAVGV ³²	0.51	Bepipred	⁸⁶ IPEADGCKSGINCPIQKDKT ¹⁰⁵	0.53
Bepipred	¹¹³ PVKNEYPS ¹²⁰	0.53			

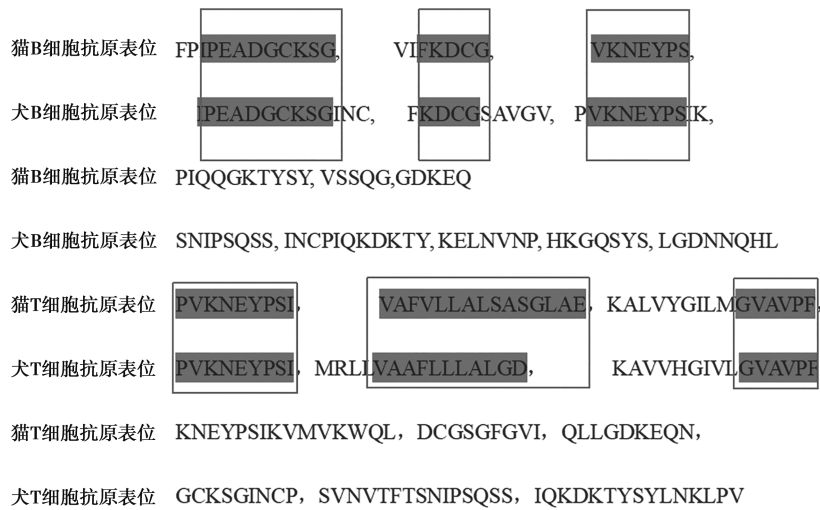


图9 猫、犬过敏原的预测抗原表位对比

3 讨论

宠物过敏原已经对公众健康安全构成了严重威胁。新型猫过敏原蛋白 NPC2 属于一种胆固醇脂载蛋白，在多个组织中均可检测到该蛋白，这可能会增加人类与猫接触时发生过敏反应的概率^[30]。通过免疫信息学的方法对抗原进行抗原表位分析，再利用基因工程进行异源表达，可高效低本地获得低致敏性、高免疫原性的多表位嵌合肽，为后续多克隆抗体制备和新型猫过敏免疫疫苗研发提供理想候选分子。然而，目前尚缺乏关于猫 NPC2 蛋白过敏性和抗原表位预测方面的研究。本文利用多种生物信息学软件对一种新型猫过敏原蛋白 NPC2 的结构、理化性质等进行了分析，并预测其抗原表位。这些结果为宠物过敏原检测及免疫治疗提供了理论依据，但仍需要进一步试验验证。

抗原表位预测方法虽然呈现多样性，但均基于蛋白质的结构组成和物理化学性质。利用 ProtScale 分析猫 NPC2 蛋白的平均亲水系数为 0.144，可溶于水，但亲水性较差，属于定位于膜外的分泌蛋白。猫 NPC2 蛋白存在 12 个磷酸化位点和 2 个 N-糖基化位点，推测该蛋白受磷酸化调控和糖基化修饰有助于形成抗原。猫过敏原蛋白 NPC2 的 N 端表面氨基酸残基富集正电荷，易发生亲电反应，也有可能成为抗体的结合位点；而其 C 端表面氨基酸富集负电荷，易发生亲核反应^[31]。

蛋白质的结构和抗原表位存在一定的关联性，猫 NPC2 蛋白的二、三级结构以无规卷曲二级结构为主，其次为 β 折叠、 α 螺旋和 β 转角，因此存在多个抗原表位（B 细胞表位为⁸⁵ FPIPEADGCKSG⁹⁶、²² VIFKDCG²⁸、¹⁰⁰ PIQQGKTYSY¹⁰⁹、⁶⁵ VSSQG⁶⁹、¹³² GDKEQ¹³⁶

和¹¹⁵ VKNEYPS¹²¹，T 细胞表位为²⁶ DCGSGFGVI³⁴、¹²⁹ QLLGDKEQN¹³⁷、⁶ VAFVLLALSASGLAE²⁰、⁷¹ KALVYGILMGVAVPF⁸⁵、¹¹⁶ KNEYPSIKVMVKWQL¹³⁰），说明猫过敏原蛋白 NPC2 可能具有强的免疫原性。另外发现，在猫 NPC2 蛋白的构象表位氨基酸组成中，缬氨酸是不同软件预测结果中 14 个构象性表位的共有氨基酸，可能是关键表位，其空间结构的位置较为分散，从肽链 N 端到 C 端均有预测的抗原表位分布，但在第 76~128 位氨基酸之间分布集中，说明该区域可能是免疫 B 细胞识别的关键表位。

猫过敏原蛋白 NPC2 与犬过敏原蛋白 Can f7 具有高度的序列相似性，其同源率为 81.88%。不同软件预测显示，猫 NPC2 蛋白与 Can f7 蛋白的抗原表位序列具有一定的相似性，它们可能具有相同 B 细胞抗原表位，分别是⁶³ SNIPSQSS⁷⁰、¹⁰⁰ PIQKDKTYS¹⁰⁸、¹¹³ PVKNEYPS¹²⁰和⁷⁷ IVLGVAVPFPIPEADGCKS⁹⁵，T 细胞表位分别为⁹² GCKSGINCP¹⁰⁰、¹¹⁴ PVKNEYPSI¹²²、¹ MRLLVAAFLLLALGD¹⁵、⁵⁶ SVNVTFTSNIPSQSS⁷⁰、⁷¹ KAVVHGIVLGVAVPF⁸⁵和¹⁰¹ IQKDKTYSYLNKLPV¹¹⁵。这预示着人类对猫、犬可能存在免疫交叉反应，但仍需要进一步的试验来进行验证。

本研究利用生物信息学的方法对新型猫过敏原蛋白 NPC2 进行了分析，并预测了其原表位，获得了更易与抗体结合并形成抗原表位的氨基酸序列区域。这为快速开发用于治疗或预防猫过敏的广谱性多克隆抗体或制备表位疫苗提供了一定的理论基础。

参考文献：

- [1] KAY A B. Allergy and allergic diseases [J]. New England Journal of Medicine, 2001, 344 (1): 30-37.

- [2] POPESCU F D, GANEA C S, PANAITESCU C, et al. Molecular diagnosis in cat allergy [J]. World Journal of Methodology, 2021, 11 (3): 46–60.
- [3] GfK. Pet ownership–GfK global study[EB/OL].[2024–06–15]. https://cdn2.hubspot.net/hubfs/2405078/cms-pdfs/fileadmin/user_upload/country_one_pager/nl/documents/global-gfk-survey-pet-ownership_2016.pdf.
- [4] YING X, QI X, YIN Y, et al. Allergens sensitization among children with allergic diseases in Shanghai, China: age and sex difference [J]. Respiratory Research, 2022, 23 (1): 95.
- [5] BONNET B, MESSAOUDI K, JACOMET F, et al. An update on molecular cat allergens: Fel d1 and what else? Chapter 1: Fel d1, the major cat allergen [J]. Allergy, Asthma & Clinical Immunology, 2018, 14 (1): 14.
- [6] 刘益, 沙爱龙. I型超敏反应新型诊断技术及免疫疗法研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2022, 32 (8): 116–122.
- [7] COUROUX P, PATEL D, ARMSTRONG K, et al. Fel d1–derived synthetic peptide immuno–regulatory epitopes show a long–term treatment effect in cat allergic subjects [J]. Clinical and Experimental Allergy, 2015, 45 (5): 974–981.
- [8] GALLALA H D, BREIDEN B, SANDHOFF K. Regulation of the NPC2 protein–mediated cholesterol trafficking by membrane lipids [J]. Journal of Neurochemistry, 2011, 116 (5): 702–707.
- [9] THAMBI P J, MODAHL C M, KINI R M. Niemann–pick type C2 proteins in *Aedes aegypti*: molecular modelling and prediction of their structure–function relationships [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2024, 25 (3): 1684.
- [10] ZHU D X, LI L, XU Z Q, et al. Cat–NPC2, a newly identified allergen, with high cross–reactivity to Can f7 [J]. Allergy, Asthma & Immunology Research, 2021, 13 (1): 122–140.
- [11] WILKINS M R, GASTEIGER E, BAIROCH A, et al. Protein identification and analysis tools in the ExpASY server [J]. Methods in Molecular Biology, 1999, 112: 531–552.
- [12] KYTE J, DOOLITTLE R F. A simple method for displaying the hydropathic character of a protein [J]. Journal of Molecular Biology, 1982, 157 (1): 105–132.
- [13] BLOM N, GAMMELTOFT S, BRUNAK S. Sequence and structure–based prediction of eukaryotic protein phosphorylation sites [J]. Journal of Molecular Biology, 1999, 294 (5): 1351–1362.
- [14] GUPTA R, BRUNAK S. Prediction of glycosylation across the human proteome and the correlation to protein function [J]. Pacific Symposium on Biocomputing, 2002, 7: 310–322.
- [15] TEUFEL F, ARMENTEROS J J A, JOHANSEN A R, et al. SignalP 6.0 predicts all five types of signal peptides using protein language models [J]. Nature Biotechnology, 2022, 40 (7): 1023–1025.
- [16] GEURJON C, DELÉAGE G. SOPMA: significant improvements in protein secondary structure prediction by consensus prediction from multiple alignments [J]. Computer Applications in the Biosciences, 1995, 11 (6): 681–684.
- [17] WATERHOUSE A, BERTONI M, BIENERT S, et al. SWISS–MODEL: homology modelling of protein structures and complexes [J]. Nucleic Acids Research, 2018, 46 (W1): 296–303.
- [18] SAHA S, RAGHAVA G P. Prediction of continuous B–cell epitopes in an antigen using recurrent neural network [J]. Proteins, 2006, 65 (1): 40–48.
- [19] SAHA S, RAGHAVA G P S. BcePred: prediction of continuous B–cell epitopes in antigenic sequences using physico–chemical properties [C]. International Conference on Artificial Immune Systems. Sicily, Italy, 2004: 197–204.
- [20] PONOMARENKO J, BUI H H, LI W, et al. ElliPro: a new structure–based tool for the prediction of antibody epitopes [J]. BMC Bioinformatics, 2008, 9: 514.
- [21] CLIFFORD J N, HØIE M H, DELEURAN S, et al. BepiPred–3.0: improved B–cell epitope prediction using protein language models [J]. Protein Science, 2022, 31 (12): e4497.
- [22] DHANDA S K, KAROSIENE E, EDWARDS L, et al. Predicting HLA CD4 immunogenicity in human populations [J]. Frontiers in Immunology, 2018, 9: 1369.
- [23] KUMAR S, STECHER G, LI M, et al. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms [J]. Molecular Biology and Evolution, 2018, 35 (6): 1547–1549.
- [24] ALTSCHUL S F, GISH W, MILLER W, et al. Basic local alignment search tool [J]. Journal of Molecular Biology, 1990, 215 (3): 403–410.
- [25] GURUPRASAD K, REDDY B V, PANDIT M W. Correlation between stability of a protein and its dipeptide composition: a novel approach for predicting *in vivo* stability of a protein from its primary sequence [J]. Protein Engineering, 1990, 4 (2): 155–161.
- [26] 王晨光, 隋志远, 张永杰, 等. 多浪羊 BMP7 基因克隆、生物信息学分析及其在不同初情期阶段组织表达分析 [J]. 中国畜牧兽医, 2023, 50 (7): 2629–2638.
- [27] 荆艳, 宋晓峰. 蛋白质表面氨基酸特性研究进展 [J]. 现代生物医学进展, 2011, 11 (10): 1991–1994.
- [28] 陈红瑞, 周军伟, 陈建发, 等. PBT 与固化剂的反应机理研究 [J]. 原子与分子物理学报, 2022, 39 (6): 7–13.
- [29] 刘梦瑾, 浦仕奇, 吕丁丁, 等. 抗家蚕血液型脓病小分子药物的筛选和鉴定 [J]. 生物技术, 2022, 32 (3): 303–308.
- [30] VANIER M T, MILLAT G. Structure and function of the NPC2 protein [J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular and Cell Biology of Lipids, 2004, 1685 (1/2/3): 14–21.
- [31] BHASIN M, RAGHAVA G P. Prediction of CTL epitopes using QM, SVM and ANN techniques [J]. Vaccine, 2004, 22 (23/24): 3195–3204.