

DOI:10.13350/j.cjpb.240301

• 论著 •

柯萨奇病毒 A 组 19 型 VP1 蛋白生物信息学分析^{*}

杨亚文^{1,2}, 冯琳琳¹, 陶玲^{1**}, 徐银兰¹, 徐鹏卫¹, 晋乐飞³, 吴卫东¹

(1. 新乡医学院公共卫生学院, 河南新乡 453003; 2. 新乡医学院三全学院医学检验学院; 3. 郑州大学公共卫生学院)

【摘要】 目的 分析柯萨奇病毒 A 组 19 型(coxsackievirus A19, CVA-19) VP1 蛋白的理化性质、结构功能并预测其线性 B 细胞表位和 T 细胞表位。**方法** 应用 ProtParam 分析 CVA-19 VP1 蛋白的理化性质; ProtScale 预测其亲疏水性; 使用 SignalP 6.0、DeepTMHMM、NetPhos-3.1 和 Motif Scan 分别预测 CVA-19 VP1 蛋白的信号肽、跨膜结构域、磷酸化位点和脂酰化位点; 利用 NetCGlyc-1.0、NetNGlyc-1.0 和 NetOGlyc-4.0 分别预测 CVA-19 VP1 蛋白的 C-甘露糖基化位点、N-糖基化位点和 O-N-乙酰半乳糖胺(N-acetylgalactosamine, GalNAc)(粘蛋白型)糖基化位点; 通过 SOPMA 和 SWISS-MODEL 在线工具分别预测 CVA-19 VP1 蛋白的二级结构和三级结构; 使用网络服务器 IEDB、Bepipred 3.0、ABCpred 和 SVTMrip 联合预测其线性 B 细胞表位; 应用 IEDB 和 SYFPEITHI 综合预测其 T 细胞表位。**结果** CVA-19 VP1 蛋白的分子质量为 33.099 ku, 等电点为 5.84, 不稳定系数为 37.50, 总平均亲水性为 -0.185, 是一种稳定的亲水性蛋白, 无信号肽、跨膜区和脂酰化位点。预测该蛋白含有 30 个可能的磷酸化位点、1 个 N-糖基化位点和 7 个 O-GalNAc(粘蛋白型)糖基化位点, 但无 C-甘露糖基化位点。CVA-19 VP1 蛋白的二级结构中, α -螺旋、延伸链、 β -转角和无规则卷曲分别占 24.66%、24.32%、2.70% 和 48.31%, 以无规则卷曲为主。预测出该蛋白有 6 个潜在优势线性 B 细胞表位、3 个潜在优势细胞毒性 T 淋巴细胞表位和 9 个潜在优势辅助性 T 细胞表位。**结论** 用生物信息学方法预测 CVA-19 VP1 蛋白为稳定的亲水性蛋白, 含有多个潜在的优势线性 B 细胞表位和 T 细胞表位, 为进一步鉴定其线性表位奠定了基础, 有助于 CVA-19 的抗体制备和疫苗研发。

【关键词】 柯萨奇病毒 A 组 19 型; VP1 蛋白; 抗原表位; 生物信息学

【文献标识码】 A **【文章编号】** 1673-5234(2024)03-0249-08

[Journal of Pathogen Biology. 2024 Mar.; 19(3): 249-256, 262.]

Bioinformatics analysis of coxsackievirus A19 VP1 protein

YANG Yawen^{1,2}, FENG Linlin¹, TAO Ling¹, XU Yinlan¹, XU Pengwei¹, JIN Yuefei³, WU Weidong¹

(1. School of Public Health, Xinxiang Medical University, Xinxiang 453003, Henan, China; 2. School of Medical Laboratory, Sanquan College of Xinxiang Medical University; 3. School of Public Health, Zhengzhou University) ^{**}

【Abstract】 Objective To analyze the physicochemical properties, structure, and function of coxsackievirus A19 (CVA-19) VP1 protein and predict the linear B cell epitopes and T cell epitopes. **Methods** ProtParam was used to analyze the physicochemical properties of CVA-19 VP1 protein. ProtScale was used to predict the hydrophilicity and hydrophobicity. The signal peptide, transmembrane domain, phosphorylation sites, and fatty acylation sites of CVA-19 VP1 protein were predicted by SignalP 6.0, DeepTMHMM, NetPhos-3.1, and Motif Scan, respectively. Using NetCGlyc-1.0, NetNGlyc-1.0, and NetOGlyc-4.0, the C-mannosylation sites, N-glycosylation sites, and O-N-acetylgalactosamine (GalNAc, mucin type) glycosylation sites of CVA-19 VP1 protein were respectively predicted. The secondary and tertiary structures of CVA-19 VP1 protein were separately predicted using the SOPMA and SWISS-MODEL online tools. The web servers IEDB, Bepipred 3.0, ABCpred, and SVTMrip were used to jointly predict the linear B cell epitopes. IEDB and SYFPEITHI were employed to comprehensively predict the T cell epitopes. **Results** The molecular weight of CVA-19 VP1 protein was 33.099 ku, the isoelectric point was 5.84, the instability coefficient was 37.50, and the grand average of hydropathicity was -0.185, so CVA-19 VP1 protein was a stable hydrophilic protein. In addition, the protein had no signal peptide, transmembrane domain, or fatty acylation site. It was predicted to contain 30 possible phosphorylation sites, 1 N-glycosylation site, and 7 O-GalNAc (mucin type) glycosylation sites, but there was no C-mannosylation site. In the secondary structure of CVA-19 VP1 protein, there were 24.66% of α -helix, 24.32% of extended strand, 2.70% of β -turn, and 48.31% of random curl, among which random curls accounted for the majority. As predicted, there were 6 potential dominant linear B cell epitopes, 3 potential dominant cytotoxic T lymphocyte epitopes, and 9 potential dominant helper T

* **【基金项目】** 河南省科技攻关项目(No. 222102310641)。

** **【通讯作者】** 陶玲, E-mail: 141050@xxmu.edu.cn

【作者简介】 杨亚文(1992-), 女, 河南周口人, 在读硕士研究生, 主要研究方向: 微生物检验。E-mail: 1762539446@qq.com

cell epitopes of this protein. **Conclusion** Predicted by bioinformatics methods, CVA-19 VP1 protein is a stable hydrophilic protein and contains multiple potential dominant linear B cell epitopes and T cell epitopes, which lays the foundation for further identification of the linear epitopes and contributes to antibody preparation and vaccine development against CVA-19.

【Key words】 Cocksackievirus A19; VP1 protein; epitope; bioinformatics

柯萨奇病毒 A 组 19 型 (coxsackievirus A19, CVA-19) 属于小核糖核酸病毒科 (*Picornaviridae*) 肠道病毒属 (*Enterovirus*) C 组肠道病毒 (*Enterovirus C*, EV-C)。该病毒与脊髓灰质炎病毒 (poliovirus, PV) 同属于 EV-C, 但位于不同的进化分支, 其与柯萨奇病毒 A 组 1 型 (coxsackievirus A1, CVA-1)、柯萨奇病毒 A 组 22 型 (coxsackievirus A22, CVA-22)、肠道病毒 C 组 113 型 (enterovirus C113, EV-C113) 和肠道病毒 C 组 116 型 (enterovirus C116, EV-C116) 在 EV-C 中形成独特的系统进化分支^[1]。CVA-19 的原型株 NIH-8663 (也称 Dohi, 于 1952 年在日本发现) 可引起吉兰-巴雷综合征 (Guillain-Barre syndrome, GBS), 这是一种潜在的致命性感染疾病, 是急性弛缓性麻痹 (acute flaccid paralysis, AFP) 的常见病因^[2]。从呼吸道和胃肠道疾病^[3-4]、无菌性脑膜炎^[5] 和 AFP^[6] 患者的临床样本以及健康儿童粪便样本^[7] 和废水样本^[8-10] 中可检测到 CVA-19。继 Tao 等^[10] 首次从山东省济南市污水中检出 CVA-19 后, 2019 年本课题组从河南省新乡市手足口病 (hand, foot and mouth disease, HFMD) 患儿的粪便中检出 CVA-19, 完成了一株 CVA-19 (2019103106/XX/CHN/2019) 的全基因组测序 (GenBank 登录号为 MT175706)^[11], 并建立了 CVA-19 经口途径感染乳鼠模型以研究其发病机制^[12]。进入 21 世纪以来, 有关 CVA-19 的报道增多, 且与多种疾病相关, 因此有必要加强对该病毒相关疾病的监测, 并及早布局研究相关防控措施。

疫苗是预防病毒性疾病最适用和最具成本效益的手段之一, 可以显著降低病毒性疾病的死亡率和发病率, 并延长人类预期寿命^[13]。人肠道病毒 (human enterovirus, HEV) RNA 的高突变率和不同 HEV 毒株之间的重组导致其血清型众多。尽管 PV 和肠道病毒 71 型 (enterovirus 71, EV-A71) 的疫苗分别有效地预防了脊髓灰质炎和 EV-A71 相关 HFMD, 但尚不能为其他 HEV 引起的疾病提供交叉保护^[14-15]。CVA-19 作为一种不常见的、在我国新发现的 HEV, 目前尚未见其疫苗研究的报道。由于 CVA-19 难以采用常规细胞培养, 只能接种乳鼠增殖^[1], 因此难以制备常规的灭活或者减毒疫苗。表位疫苗基于抗原表位制备疫苗, 不受体外培养限制, 为 CVA-19 疫苗研发指明了方向。

设计表位疫苗首先要确定可刺激机体产生有效免

疫应答反应的抗原表位, 即 B 细胞表位和 T 细胞表位, 前者可分为线性 (连续) 和构象 (不连续) 表位, 后者均为线性表位。目前尚未见 CVA-19 抗原表位的研究报道。HEV 是一种小型、无包膜的单股正链 RNA 病毒, 其基因组 RNA 由 4 种衣壳蛋白 VP1、VP2、VP3 和 VP4 组成的二十面体外壳所包裹^[16], 其 VP1 蛋白是决定病毒抗原性的主要成分, 且能诱导机体产生中和抗体, 因此, HEV 抗原表位的研究主要集中于 VP1 蛋白^[16-17]。本研究以 CVA-19 VP1 蛋白为研究对象, 通过生物信息学方法, 预测其理化性质、结构功能、线性 B 细胞表位和 T 细胞表位, 以期为 CVA-19 VP1 蛋白线性表位的鉴定奠定基础, 将有助于 CVA-19 表位疫苗和抗体药物的研发。

材料与方法

1 材料

VP1 基因序列 (888 个核苷酸) 和 VP1 蛋白序列 (296 个氨基酸) 源于本课题组前期测序并上传 GenBank 的 CVA-19 全基因组序列 (GenBank 登录号 MT175706)^[11]。VP1 蛋白的氨基酸序列如下: GIDDI IDNVVTNALKVSMPQVQDTQSSGPVNSKEVPAL TAVETGATSQVDPSDLIETRHVINNRLRSECTIE SFFGRSACVAIIGLSNQKPTDDNAAKLFATWKIS YLDTYQLRRKLEFFTYSRFDLELTFVISERFFTST SAAARDYVYQIMYIPPGAPIQAWDDYTWQSST NPSIFYTTGNACPRVSIPFVGIGAAAYSHFYDGFSL VPENTIDAGASNRYGYTTINDFGTMAIRIVNEYD PVTIDAKVRVYMKPKHIKVWCPRPPRAVAYNG PTVNFNENPHVMTAVADIRTY。

2 方法

2.1 CVA-19 VP1 蛋白的理化性质分析 利用 ProtParam^[18] (<https://web.expasy.org/protparam>) 分析 CVA-19 VP1 蛋白的氨基酸组成、分子式、分子质量、等电点、不稳定系数和总平均亲水性, 以及在哺乳动物网织红细胞、酵母和大肠埃希菌中的半衰期。利用 ProtScale^[18] (<https://web.expasy.org/protscale/>) 中 Kyte 和 Doolittle 方法预测其疏水性。

2.2 CVA-19 VP1 蛋白的结构功能分析 利用 SignalP 6.0^[19] (<https://services.healthtech.dtu.dk/services/SignalP-6.0/>) 分析 CVA-19 VP1 蛋白的信

号肽,设置参数:生物类型为“其他”,输出格式为“长输出”,模型模式为“慢速”;利用 DeepTMHMM^[20] (<https://dtu.biolib.com/DeepTMHMM>) 预测 CVA-19 VP1 蛋白的跨膜结构域;利用 NetPhos-3.1^[21] (<https://services.healthtech.dtu.dk/services/NetPhos-3.1/>) 预测 CVA-19 VP1 蛋白的磷酸化位点,设置参数:预测的残基为“3 种残基”,显示分数高于“0”,阈值为 0.5,输出格式为“经典的”;Motif Scan (https://myhits.sib.swiss/cgi-bin/motif_scan) 预测 CVA-19 VP1 蛋白的脂酰化位点;分别利用 NetCGlyc-1.0^[22] (<https://services.healthtech.dtu.dk/services/NetCGlyc-1.0/>)、NetNGlyc-1.0^[23] (<https://services.healthtech.dtu.dk/services/NetNGlyc-1.0/>) 和 NetOGlyc-4.0^[24] (<https://services.healthtech.dtu.dk/services/NetOGlyc-4.0/>) 预测 CVA-19 VP1 蛋白的 C-甘露糖基化位点、N-糖基化位点和 O-GalNAc(粘蛋白型)糖基化位点,阈值为 0.5;利用 SOPMA^[25] (https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=npsa_sopma.html) 预测 CVA-19 VP1 蛋白的二级结构,输出宽度为 70,设置参数:“4 种构象状态(螺旋、折叠、转角和无规则卷曲)”,相似度阈值为“8”,窗口宽度为“17”;用 SWISS-MODEL^[26] (<https://swissmodel.expasy.org/>) 预测 CVA-19 VP1 蛋白的三级结构,选择与 CVA-19 VP1 蛋白序列相似性最高的模型作为同源建模的模板。

2.3 CVA-19 VP1 蛋白的抗原表位参数预测 利用免疫表位数据库网站 IEDB^[27] (<https://www.iedb.org/>) 分析 CVA-19 VP1 蛋白的亲水性(Parker 法)、表面可及性(Enimi 法)、可塑性(Karplus & Schulz 法)、抗原性(Kolaskar & Tongaonkar 法)和 β -转角(Chou & Fasman 法)。

2.4 CVA-19 VP1 蛋白的线性 B 细胞表位预测 利用在线工具 BepiPred 3.0^[28] (<https://services.healthtech.dtu.dk/services/BepiPred-3.0/>)、ABCpred^[29] (https://webs.iitd.edu.in/raghava/abcpred/ABC_submission.html) 及 SVMTrip^[30] (<http://sysbio.unl.edu/SVMTrip/prediction.php>) 预测 CVA-19 VP1 蛋白的线性 B 细胞表位,设置: BepiPred 3.0 阈值为 0.1512 且去除小于 5 个氨基酸组成的肽段,ABCpred 阈值为 0.85, SVMTrip 阈值为 0.8;利用 VaxiJen^[31] (<http://www.ddg-pharmfac.net/vaxijen/VaxiJen/VaxiJen.html>) 分析预测出的线性 B 细胞表位的抗原性,目标生物为“病毒”,阈值为 0.4。

2.5 CVA-19 VP1 蛋白的 T 细胞表位预测 应用 IEDB 和 SYFPEITHI^[32] (<http://www.syfpeithi.de/>

[bin/MHCServer.dll/EpitopePrediction.htm](http://www.syfpeithi.de/bin/MHCServer.dll/EpitopePrediction.htm)) 综合预测 CVA-19 VP1 蛋白的 T 细胞表位:预测细胞毒性 T 淋巴细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL)表位时,选取 HLA-A * 02 : 01 等位基因,长度为“9 aa”;预测辅助性 T 细胞(helper T cell, Th)表位时,选取 HLA-DRB1 * 0101、HLA-DRB1 * 0301、HLA-DRB1 * 0401、HLA-DRB1 * 0701、HLA-DRB1 * 1101 和 HLA-DRB1 * 1501 人类 HLA II 等位基因进行预测,长度为“15 aa”。

结 果

1 CVA-19 VP1 蛋白的理化性质

ProtParam 工具分析 CVA-19 VP1 蛋白的理化性质,结果显示,CVA-19 VP1 蛋白共由 20 种氨基酸组成,其中苏氨酸(8.8%)、丙氨酸(8.4%)和缬氨酸(8.1%)所占的比例居前三位;带负电荷残基总数(天冬氨酸和谷氨酸)为 29,带正电荷残基总数(精氨酸和赖氨酸)为 26;分子式为 $C_{1491}H_{2274}N_{392}O_{445}S_9$, 分子质量为 33.099 ku,等电点为 5.84;当 CVA-19 VP1 蛋白的 N 端为甘氨酸时,在哺乳动物网织红细胞中的半衰期为 30 h,在酵母体内 >20 h,在大肠埃希菌内 >10 h;不稳定系数为 37.50(小于阈值 40),属于稳定蛋白;脂肪族氨基酸系数为 78.07,热稳定性较好。因此,CVA-19 VP1 蛋白是一种热稳定性较好的蛋白质。

2 CVA-19 VP1 蛋白的亲疏水性

ProtParam 工具分析 CVA-19 VP1 蛋白总平均亲水性为-0.185,为亲水性蛋白。利用 ProtScale 工具分析 CVA-19 VP1 蛋白的亲疏水性(图 1),结果显示 CVA-19 VP1 蛋白氨基酸多肽链的第 82 位的丙氨酸 Ala 和第 83 位的异亮氨酸 Ile 分值最高,得分为 2.433,说明这两个位点是 CVA-19 VP1 蛋白中疏水性最强的位点;第 91 位脯氨酸 Pro 分值最低,得分为-2.722,说明该位点为 CVA-19 VP1 蛋白中亲水性最强的位点;CVA-19 VP1 蛋白氨基酸序列中亲水性区域分布均匀,且多于疏水性的区域,提示 CVA-19 VP1 蛋白为亲水性蛋白。因此,CVA-19 VP1 蛋白是一种亲水性蛋白。

3 CVA-19 VP1 蛋白的信号肽和跨膜结构域

应用在线软件 SignalP 6.0 对 CVA-19 VP1 蛋白进行信号肽预测,发现该蛋白无信号肽(图 2),属于非分泌性蛋白。DeepTMHMM 预测 CVA-19 VP1 蛋白的跨膜结构域,结果显示其整条肽链全部处于膜外,无跨膜区域存在(图 3)。因此,CVA-19 VP1 蛋白为无跨膜区域的非分泌性蛋白。

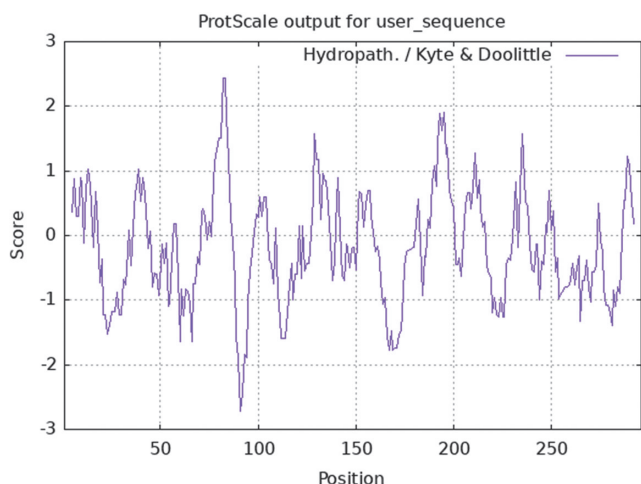


图 1 CVA-19 VP1 蛋白的亲疏水性分析
Fig. 1 Hydrophilicity and hydrophobicity analysis of CVA-19 VP1 protein

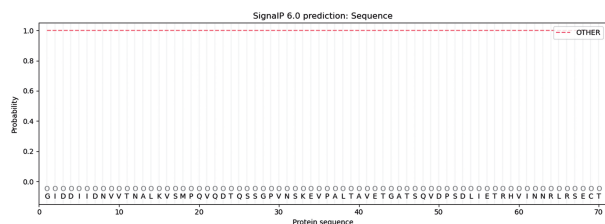


图 2 CVA-19 VP1 蛋白的信号肽预测
Fig. 2 Prediction of signal peptide of CVA-19 VP1 protein

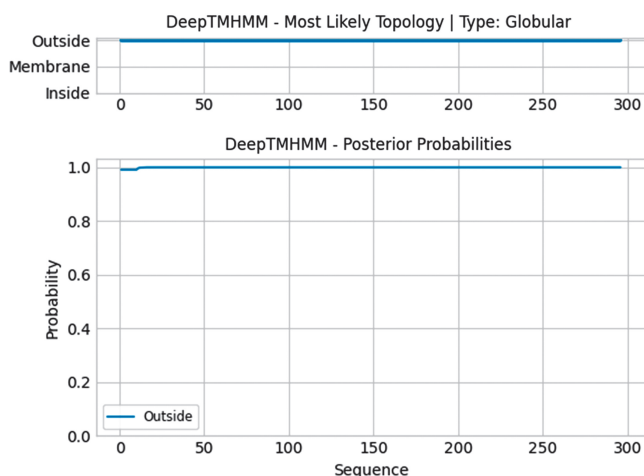


图 3 CVA-19 VP1 蛋白的跨膜结构域预测
Fig. 3 Prediction of the transmembrane domain of CVA-19 VP1 protein

4 CVA-19 VP1 蛋白的磷酸化位点和脂酰化位点

用 NetPhos-3.1 预测 CVA-19 VP1 蛋白的磷酸化位点,结果显示 CVA-19 VP1 蛋白有 30 个可能的磷酸化位点(图 4);10 个位于丝氨酸残基,15 个位于苏氨酸残基,5 个位于酪氨酸残基。用 Motif Scan 预测发现 CVA-19 VP1 蛋白没有可能的脂酰化位点。这表明该蛋白可能有较多的磷酸化位点,但可能无脂

酰化位点。

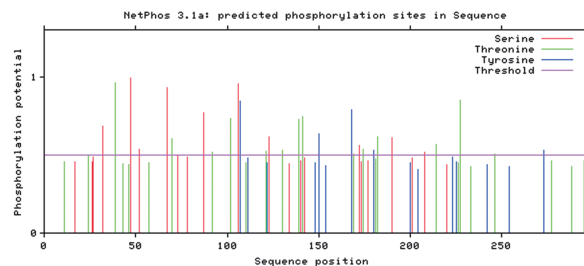


图 4 CVA-19 VP1 蛋白的磷酸化位点预测
Fig. 4 Prediction of phosphorylation sites in CVA-19 VP1 protein

5 CVA-19 VP1 蛋白的糖基化位点

利用 NetCGlyc-1.0 分析发现 CVA-19 VP1 蛋白没有 C-甘露糖基化位点;利用 NetNGlyc-1.0 分析发现 CVA-19 VP1 蛋白有 1 个潜在的 N-糖基化位点,位于第 175 位的天冬酰胺 Asn;利用 NetOGlyc-4.0 预测发现 CVA-19 VP1 蛋白有 7 个潜在的 O-GalNAc(粘蛋白型)糖基化位点,分别位于第 17、24、27、32、39、47 和 277 位氨基酸残基。因此,CVA-19 VP1 蛋白可能具有较多的 O-GalNAc(粘蛋白型)糖基化位点。

6 CVA-19 VP1 蛋白的二级结构

应用 SOPMA 在线工具对 CVA-19 VP1 蛋白二级结构进行分析,结果显示该蛋白二级结构中 α -螺旋、延伸链、 β -转角和无规则卷曲分别占 24.66%、24.32%、2.70% 和 48.31% (图 5)。因此,CVA-19 VP1 蛋白的二级结构以无规则卷曲为主。

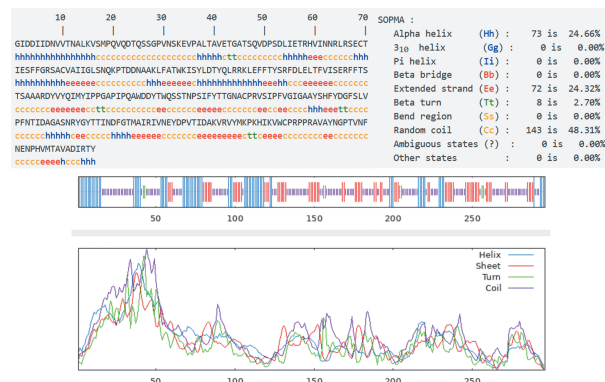


图 5 CVA-19 VP1 蛋白二级结构预测
Fig. 5 Secondary structure prediction of CVA-19 VP1 protein

7 CVA-19 VP1 蛋白的三级结构

采用在线工具 SWISS-MODEL 预测 CVA-19 VP1 蛋白的三级结构并进行同源建模,结果显示序列相似性最高(64.41%)的模板为 4q4v.1.A 柯萨奇病毒衣壳蛋白/VP1 柯萨奇病毒 A 组 24 型 v 晶体结构,以此模板进行同源建模,获得 CVA-19 VP1 蛋白的三维结构模型(图 6)。该模型 GMQE 为 0.72, QME-ANDisCo Global 为 0.68 ± 0.05 ,表明质量良好。

8 CVA-19 VP1 蛋白的线性 B 细胞表位

在线预测网站 IEDB 分析,得到 CVA-19 VP1 蛋白的亲水性、表面可及性、可塑性、抗原性和 β -转角等抗原表位参数(图 7)。应用 Bepipred 3.0 预测其线性 B 细胞表位,共预测到 6 条得分大于阈值 0.1512,且长度大于 5 个氨基酸的可能的线性 B 细胞表位(表 1)。运用 ABCpred 预测 VP1 蛋白的线性 B 细胞表位,阈值为 0.85 时,共预测到 11 条可能的线性 B 细胞表位(表 2)。利用 SVMTriP 预测线性 B 细胞表位,获得得分大于阈值 0.8 的 6 种长度(10、12、14、16、18 和 20 个氨基酸)的线性 B 细胞表位 13 条(表 3)。利用 VaxiJen 分析了上述方法获得的线性 B 细胞表位肽的抗原性(表 1~3)。

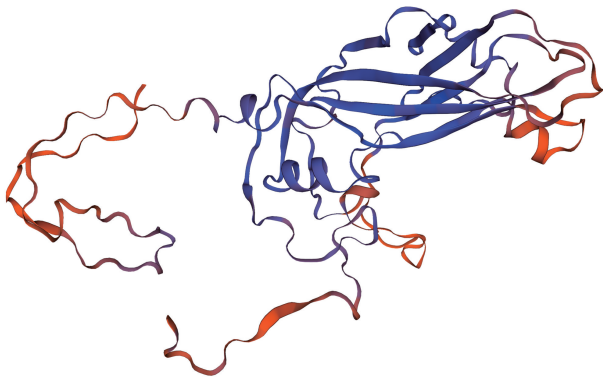


图 6 CVA-19 VP1 蛋白的三级结构预测
Fig. 6 Tertiary structure prediction of CVA-19 VP1 protein

表 1 BepiPred 3.0 预测 CVA-19 VP1 蛋白的线性 B 细胞表位
Table 1 Linear B-cell epitopes prediction of CVA-19 VP1 protein by BepiPred 3.0

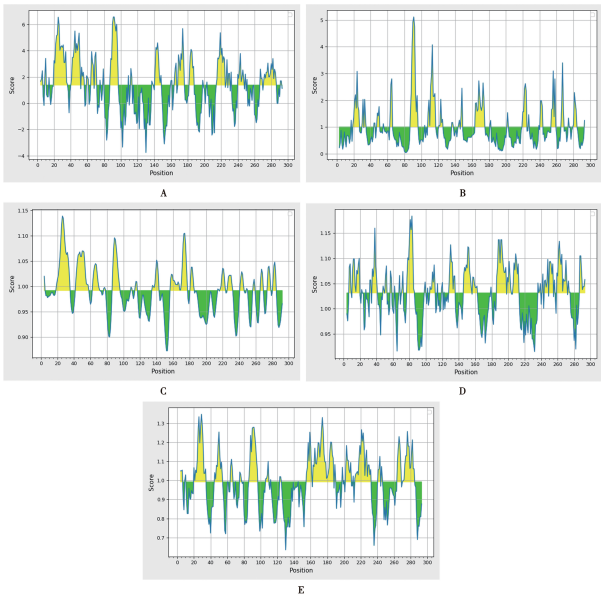
序号 Order	位置 Position	序列 Sequence	VaxiJen 得分 VaxiJen Score
1	19-33	PQVQDTQSSGPVNSK	0.9003
2	87-97	SNQKPTDDNAA	0.4352
3	136-144	RFFTSTSA	-0.4914
4	162-168	PQAWDDY	0.2612
5	214-220	TIDAGAS	0.6284
6	275-292	GPTVNFNENPHVMTAVAD	0.3652

表 2 ABCpred 预测 CVA-19 VP1 蛋白的线性 B 细胞表位
Table 2 Linear B-cell epitopes prediction of CVA-19 VP1 protein by ABCpred

序号 Order	位置 Position	序列 Sequence	ABCpred 得分 ABCpred Score	VaxiJen 得分 VaxiJen Score
1	250-265	KVRVYMKPKHIKVVWCP	0.93	0.7635
2	269-284	RAVAYNGPTVNFNENP	0.91	0.2112
3	259-274	HIKVVCPRPRAVAYN	0.91	0.4252
4	148-163	YVYQIMYIPPGAPIQ	0.90	0.3035
5	102-117	TWKISYLDITYQLRRKL	0.90	0.4732
6	212-227	FNTIDAGASNRYGYTT	0.88	0.8096
7	206-221	GFSLVPFNTIDAGASN	0.87	0.9912
8	196-211	IGAAYSHFYDGFSLVP	0.87	0.6809
9	167-182	DYTWQSSTNPSIFYTT	0.86	0.6861
10	157-172	PGAPIQAWDDYTWQS	0.85	0.3334
11	116-131	KLEFFTYSRFDLELTF	0.85	1.4137

表 3 SVMTriP 预测 CVA-19 VP1 蛋白的线性 B 细胞表位
Table 3 Linear B-cell epitopes prediction of CVA-19 VP1 protein by SVMTriP

序号 Order	长度 Length	位置 Position	序列 Sequence	SVMTriP 得分 SVMTriP Score	VaxiJen 得分 VaxiJen Score
1	20	35-54	VPALTAVETGATSQVDPSDL	1.000	1.0817
2	20	61-80	INNRLRSECTIESFFGRSAC	0.847	0.6597
3	18	123-140	SRFDLELTFVISERFFTS	1.000	0.8345
4	18	45-62	ATSQVDPSDLIETRHVIN	0.866	0.8902
5	16	126-141	DLELTFVISERFFTST	1.000	0.9563
6	14	227-240	TINDFGTMAIRIVN	1.000	1.0021
7	14	126-139	DLELTFVISERFFT	0.909	1.1171
8	12	228-239	INDFGTMAIRIV	1.000	0.8183
9	12	78-89	SACVAIHGLSNQ	0.837	0.7877
10	10	230-239	DFGTMAIRIV	1.000	1.5691
11	10	287-296	MTAVADIRTY	0.887	0.5012
12	10	127-136	LELTFVISER	0.845	2.0390
13	10	80-89	CVAIHGLSNQ	0.811	1.0530



A 亲水性 B 表面可及性 C 可塑性 D 抗原性 E β -转角
图 7 CVA-19 VP1 蛋白的表位参数预测

A Hydrophilicity B Surface accessibility C Flexibility D Antigenicity E β -turn

Fig. 7 Prediction of epitope parameters of CVA-19 VP1 protein

综合 Bepipred 3.0、ABCpred、SVMTriP 预测和 IEDB 分析,选取 CVA-19 VP1 蛋白亲水性高、柔韧性好、表面可及性大和抗原性强的区域,同时参考其二级结构的预测结果,选取包含无规则卷曲和/或 β -转角的区域,最终筛选出 6 个潜在的优势线性 B 细胞表位,分别位于 CVA-19 VP1 蛋白氨基酸区段:19-33、35-54、126-139、206-221、212-227 和 250-265(表 4)。

9 CVA-19 VP1 蛋白的 T 细胞表位

应用 IEDB 和 SYFPEITHI 综合预测 CVA-19 VP1 蛋白 T 细胞表位,综合选择 IEDB 得分 ≥ 0.5 且 SYFPEITHI 得分 ≥ 20 的预测结果,共预测到 3 个潜在的优势 CTL 表位(表 5)和 9 个潜在的优势 Th 表位

(表6)。

表4 CVA-19 VP1 蛋白潜在的优势线性 B 细胞表位
Table 4 Potential dominant linear B cell epitopes
of CVA-19 VP1 protein

序号 Order	位置 Position	序列 Sequence	长度(bp) Length
1	19-33	PQVQDTQSSGPVNSK	15
2	35-54	VPALTAVETGATSQVDPSDL	20
3	126-139	DLELTFVISERFFT	14
4	206-221	GFSLVPFNTIDAGASN	16
5	212-227	FNTIDAGASNRYGYTT	16
6	250-265	KVRVYMKPKHIKVVWCP	16

表5 CVA-19 VP1 蛋白潜在的优势 CTL 表位
Table 5 Potential dominant CTL epitopes of CVA-19 VP1 protein

序号 Order	位置 Position	序列 Sequence	IEDB 得分 IEDB score	SYFPEITHI 得分 SYFPEITHI score
1	1-9	GIDDIIDNV	0.699	24
2	254-262	YMKPKHIKV	0.653	24
3	13-21	ALKVSMPQV	0.638	22

表6 CVA-19 VP1 蛋白潜在的优势 Th 表位
Table 6 Potential dominant Th epitopes of CVA-19 VP1 protein

序号 Order	等位基因 Allele	位置 Position	序列 Sequence	IEDB 得分 IEDB score	SYFPEITHI 得分 SYFPEITHI score
1	HLA-DRB1 * 0101	190-204	SIPFVGGAAYSHFY	0.690	34
2		102-116	TWKISYLDTYQLRRK	0.791	30
3		134-148	SERFFTSTSAARDY	0.785	24
4		146-160	RDVYQIMYIPPGAP	0.554	22
5	HLA-DRB1 * 0301	242-256	YDPVTIDAKVRVYMK	0.980	28
6	HLA-DRB1 * 0401	206-220	GFSLVPFNTIDAGAS	0.601	26
7		134-148	SERFFTSTSAARDY	0.943	22
8		190-204	SIPFVGGAAYSHFY	0.565	22
9	HLA-DRB1 * 0701	167-181	DYTWQSTNPSIFYT	0.519	30
10		134-148	SERFFTSTSAARDY	0.849	28
11	HLA-DRB1 * 1101	147-161	DYVYQIMYIPPGAPI	0.570	22
12	HLA-DRB1 * 1501	206-220	GFSLVPFNTIDAGAS	0.890	34
13		236-250	IRIVNEYDPVTIDAK	0.631	34

讨 论

目前,全球根除脊髓灰质炎行动取得了空前的成就,2型和3型野生PV已被成功根除,仅有1型野生PV在阿富汗和巴基斯坦传播^[33]。然而,包括EV-A71、肠道病毒D组68型(enterovirus D68, EV-D68)等在内的一些非PV的HEV感染已成为全球重要的公共卫生问题^[34-36]。这些病毒感染可引起诸如腹泻、HFMD、疱疹性咽峡炎等轻症,亦可造成心肌炎、急性迟缓性麻痹、神经性肺水肿、脑炎、脑膜炎等严重疾病,甚至死亡。近年来,CVA-19已被报道与胃肠炎^[4]、无菌性脑膜炎^[5]、AFP^[6]等相关,并在其他临床样本^[3]、健康儿童粪便^[7]和污水样本^[8-10]中检出。本课题组前期从HFMD患儿中检出CVA-19^[11],并发现CVA-19可致小鼠腹泻和脑脊髓炎^[12]。鉴于CVA-19与PV同属于EV-C但位于不同进化分支^[1],也能引起无菌性脑膜炎和AFP等神经系统并发症,有必要研发针对

CVA-19的防治措施。由于CVA-19难以用常规细胞进行培养,其灭活疫苗和减毒疫苗的研发受阻,而不受细胞培养限制的表位疫苗则颇有前景,但这有赖于明确CVA-19的抗原表位。基于计算机辅助的生物信息学方法已成为很多表位预测的首选方法。与传统实验方法相比,生物信息学方法分析蛋白的结构功能和预测表位更加高效、准确^[37]。VP1蛋白是HEV表面主要的可及性蛋白,含有重要的血清型特异性中和表位,是决定病毒抗原性的主要区域,可以诱导中和抗体的产生^[17]。因此,本研究利用生物信息学方法分析了CVA-19 VP1蛋白的理化性质、结构功能并预测出其潜在的优势线性B细胞表位和T细胞表位,以期为其线性表位的鉴定奠定基础,有助于其表位疫苗和抗体药物的研发。

本研究发现CVA-19 VP1蛋白亲水性区域多于疏水性的区域,属于亲水性蛋白;不稳定系数较低,属于稳定蛋白。脂肪族氨基酸不但具有较好的溶解性和稳定性,还可以提高蛋白质的抗氧化能力。CVA-19 VP1蛋白的脂肪族氨基酸系数较高,表明其热稳定性和抗氧化性较好,有利于其运输和储存^[38]。

磷酸化和糖基化是保证蛋白质正常生物学活性和功能的重要的翻译后修饰^[39]。磷酸化在蛋白质的相互作用、蛋白质稳定性、信号转导、转录调节、细胞内定位、分化发育和凋亡等方面起着至关重要的作用^[40]。本研究发现CVA-19 VP1蛋白存在30个可能的磷酸化位点,说明在病毒感染过程中VP1蛋白很可能起重要的调控作用。糖基化在病毒感染进程、致病性和免疫逃逸中起着至关重要的作用^[41]。尽管本研究预测出CVA-19 VP1蛋白有7个可能的O-GalNAc(粘蛋白型)糖基化位点和1个可能的N-糖基化位点,但由于预测该蛋白无信号肽,故其在体内可能不会被糖基化^[42]。

蛋白质的二级结构影响着其抗原表位的形成:无规则卷曲多处于蛋白质的表面,结构松散,有利于与抗体嵌合,成为抗原表位的可能性大; α -螺旋的化学键键能比较高,形态稳定,是蛋白的刚性支撑,能更好地稳固蛋白质的高级结构^[43]。对CVA-19 VP1蛋白的二级结构进行预测,发现无规则卷曲在该蛋白中占比最高,其次是 α -螺旋,说明该蛋白易于形成抗原表位且结构较稳定,这与VP1蛋白为HEV最具抗原性的蛋白之一及该蛋白为稳定蛋白相符。

B细胞通过产生抗体发挥独特的作用,这些抗体可以在病毒进入细胞之前中和及清除病毒颗粒,在高度保护性的抗病毒免疫中做出关键贡献^[44]。因此,本研究通过Bepipred 3.0、ABCpred和SVMTrIP三种方法预测出CVA-19 VP1蛋白的线性B细胞表位,结

合亲水性、表面可及性、可塑性和抗原性等抗原表位参数及二级结构等信息,采用投票法全面整合预测结果^[45],筛选出其6个潜在优势线性B细胞表位。利用保护性抗原和亚单位疫苗抗原性预测工具——Vexi-Jen分析潜在线性B细胞表位肽的抗原性,能够排除抗原可能性低的表位肽。多种抗原表位预测方法的联合应用不仅避免了单方法分析预测结果准确性低的问题,还增加了获得正确抗原表位的概率。预测出的CVA-19 VP1蛋白潜在优势线性B细胞表位212-227(FNTIDAGASNRYGYTT)与已经实验验证的柯萨奇病毒A组16型(coxsackievirus A16, CV-A16)VP1蛋白的线性B细胞表位PEP71(211-225; FGE-HLQANDLDYGQC)^[46]部分重叠;潜在优势线性B细胞表位35-54(VPALTAVETGATSQVDPSDL)与实验验证的EV-71 VP1蛋白的线性B细胞表位43-54(KVPALQAAEIGA)^[47]部分重叠;潜在优势线性B细胞表位35-54(VPALTAVETGATSQVDPSDL)与多克隆抗体5D8/1在1型脊髓灰质炎病毒(poliovirus 1, PV1)识别的保守表位40-48(EIPALTAVE)^[48]部分重叠,该抗体能与A、B和C组多种肠道病毒VP1蛋白交叉反应。因此,本研究预测的线性B细胞表位结果可信度较高。

在病毒感染过程中,CTL细胞可直接杀死感染病毒的细胞,Th细胞能够调节抗病毒免疫,从而发挥抗病毒作用^[49]。本研究通过应用IEDB和SYFPEITHI综合预测筛选出CVA-19 VP1蛋白的3个潜在优势CTL表位和9个潜在优势Th表位。本研究预测出的CVA-19 VP1蛋白T细胞表位与PV1的T细胞表位有多处重叠^[50];CTL表位254-262(YMKPKHIKV)与PV1的T细胞表位260-268(YLKPKHIRV)有77.8%的序列相似性;CTL表位1-9(GIDDIIDNV)与PV1的T细胞表位1-9(GLGQMLES M)均处于VP1蛋白N-最末端;Th表位206-220(GFSLVPFNTIDAGAS)与PV1的T细胞表位214-224(KVPLKDQSAAL)部分重叠,并且位于CVA-19 VP1蛋白潜在优势线性B细胞表位206-221(GFSLVPFNTIDAGASN)区段内。这表明区段206-220(GFSLVPFNTIDAGAS)可能既是线性B细胞表位又是Th细胞表位,可以同时诱导体液免疫和细胞免疫,这对于CVA-19表位疫苗设计非常重要。本研究预测出CVA-19 VP1蛋白具有较多的潜在优势线性B细胞表位和优势T细胞表位,表明其作为疫苗免疫原具有潜在的优势。

HEV VP1蛋白的N-端是一个优势抗原区^[51]。Zhang等^[52]发现EV-A71 VP1蛋白的主要免疫反应区位于N-端残基6-43,而且N-端残基1-5为CV-A16和埃可病毒6(echovirus 6, E-6)的共同表位;Gao

等^[47]鉴定出EV-A71 VP1蛋白的一个线性B细胞表位位于N-端残基43-54;Zhang等^[53]发现VP1蛋白N-端残基36-55是EV-A71、CV-A16、柯萨奇病毒A组10型(coxsackievirus A10, CV-A10)和柯萨奇病毒A组6型(coxsackievirus A6, CV-A6)的共同表位。本研究预测出CVA-19 VP1蛋白的N-端残基19-33和35-54为其潜在优势线性B细胞表位,且N-端残基1-9和13-21为其潜在优势CTL表位,这不但表明CVA-19 VP1蛋白N-端含有数个潜在的优势表位,且与上述研究结果相符。因此,本研究对于CVA-19 VP1蛋白N-端线性表位的预测结果较为可靠。

综上所述,本研究结合多种生物信息学软件和在 线工具,分析了CVA-19 VP1蛋白的理化性质和结构功能,并预测出其6个潜在优势线性B细胞表位、3个潜在优势CTL表位和9个潜在优势Th细胞表位。结果将为进一步研究CVA-19 VP1蛋白的结构功能奠定基础,后续将通过实验验证体外合成预测的抗原表位,以鉴定出CVA-19 VP1蛋白的线性表位,为CVA-19表位疫苗的研发和抗体药物的制备提供科学依据。

【参考文献】

- [1] Tokarz R, Haq S, Sameroff S, et al. Genomic analysis of coxsackieviruses A1, A19, A22, enteroviruses 113 and 104: viruses representing two clades with distinct tropism within enterovirus C[J]. J Gen Virol, 2013, 94(Pt 9): 1995-2004.
- [2] Van Den Berg B, Walgaard C, Drenthen J, et al. Guillain-Barré syndrome: pathogenesis, diagnosis, treatment and prognosis[J]. Nat Rev Neurol, 2014, 10(8): 469-482.
- [3] Lipson SM, Walderman R, Costello P, et al. Sensitivity of rhabdomyosarcoma and guinea pig embryo cell cultures to field isolates of difficult-to-cultivate group A coxsackieviruses[J]. J Clin Microbiol, 1988, 26(7): 1298-1303.
- [4] Kumthip K, Khamrin P, Ushijima H, et al. Multiple enterovirus genotypes circulating in children hospitalized with acute gastroenteritis in Thailand[J]. Infect Genet Evol, 2017, 55: 324-331.
- [5] Kapusinszky B, Szomor KN, Farkas A, et al. Detection of non-polio enteroviruses in Hungary 2000-2008 and molecular epidemiology of enterovirus 71, coxsackievirus A16, and echovirus 30[J]. Virus Genes, 2010, 40(2): 163-173.
- [6] Ndiaye N, Fall A, Kebe O, et al. National surveillance of acute flaccid paralysis cases in senegal during 2017 uncovers the circulation of enterovirus species A, B and C[J]. Microorganisms, 2022, 10(7): 1296.
- [7] Siqueira JD, Dominguez-Bello MG, Contreras M, et al. Complex virome in feces from Amerindian children in isolated Amazonian villages[J]. Nat Commun, 2018, 9(1): 4270.
- [8] Faleye TOC, Bowes DA, Driver EM, et al. Wastewater-based epidemiology and long-read sequencing to identify enterovirus circulation in three municipalities in Maricopa County, Arizona, South-west United States between June and October 2020[J]. Viruses,

- 2021,13(9):1803.
- [9] Hoque SA, Kotaki T, Pham NTK, et al. Genotype diversity of enteric viruses in wastewater amid the COVID-19 pandemic[J]. Food Environ Virol, 2023, 15(2):176-191.
 - [10] Tao Z, Chen P, Cui N, et al. Detection of enteroviruses in urban sewage by next generation sequencing and its application in environmental surveillance [J]. Sci Total Environ, 2020, 728: 138818.
 - [11] Yi L, Zhang L, Feng L, et al. Genomic analysis of a recombinant coxsackievirus A19 identified in Xinxiang, China, in 2019 [J]. Arch Virol, 2022, 167(6):1405-1420.
 - [12] Ji W, Tao L, Li D, et al. A mouse model and pathogenesis study for CVA19 first isolated from hand, foot, and mouth disease[J]. Emerg Microbes Infect, 2023, 12(1):2177084.
 - [13] Pasco ST, Anguita J. Lessons from Bacillus Calmette-Guerin: harnessing trained immunity for vaccine development[J]. Cells, 2020, 9(9):2109.
 - [14] Aswathyraj S, Arunkumar G, Alidjinou EK, et al. Hand, foot and mouth disease (HFMD): emerging epidemiology and the need for a vaccine strategy[J]. Med Microbiol Immunol, 2016, 205(5):397-407.
 - [15] Mao Q, Wang Y, Bian L, et al. EV-A71 vaccine licensure: a first step for multivalent enterovirus vaccine to control HFMD and other severe diseases[J]. Emerg Microbes Infect, 2016, 5(7): e75.
 - [16] Huang KA. Structural basis for neutralization of enterovirus [J]. Curr Opin Virol, 2021, 51:199-206.
 - [17] Chen FH, Liu X, Fang HL, et al. VP1 of enterovirus 71 protects mice against enterovirus 71 and coxsackievirus B3 in lethal challenge experiment[J]. Front Immunol, 2019, 10:2564.
 - [18] Duvaud S, Gabella C, Lisacek F, et al. ExPASy, the Swiss Bioinformatics Resource Portal, as designed by its users[J]. Nucleic Acids Res, 2021, 49(W1):W216-W227.
 - [19] Teufel F, Almagro Armenteros JJ, Johansen AR, et al. SignalP 6.0 predicts all five types of signal peptides using protein language models[J]. Nat Biotechnol, 2022, 40(7):1023-1025.
 - [20] Hallgren J, Tsirigos KD, Pedersen MD, et al. DeepTMHMM predicts alpha and beta transmembrane proteins using deep neural networks[J]. bioRxiv, 2022;2022. 2004. 2008. 487609.
 - [21] Blom N, Sicheritz-Ponten T, Gupta R, et al. Prediction of post-translational glycosylation and phosphorylation of proteins from the amino acid sequence[J]. Proteomics, 2004, 4(6):1633-1649.
 - [22] Julenius K. NetCGlyc 1.0: prediction of mammalian C-mannosylation sites[J]. Glycobiology, 2007, 17(8):868-876.
 - [23] Gupta R, Brunak S. Prediction of glycosylation across the human proteome and the correlation to protein function[J]. Pac Symp Biocomput, 2002, 9:310-322.
 - [24] Steentoft C, Vakhrushev SY, Joshi HJ, et al. Precision mapping of the human O-GalNAc glycoproteome through SimpleCell technology[J]. Embo J, 2013, 32(10):1478-1488.
 - [25] Geourjon C, Deleage G. SOPMA: significant improvements in protein secondary structure prediction by consensus prediction from multiple alignments[J]. Comput Appl Biosci, 1995, 11(6): 681-684.
 - [26] Waterhouse A, Bertoni M, Bienert S, et al. SWISS-MODEL: homology modelling of protein structures and complexes[J]. Nucleic Acids Res, 2018, 46(W1):W296-W303.
 - [27] Martini S, Nielsen M, Peters B, et al. The immune epitope database and analysis resource program 2003-2018: reflections and outlook[J]. Immunogenetics, 2020, 72(1-2):57-76.
 - [28] Clifford JN, Hoie MH, Deleuran S, et al. BepiPred-3.0: improved B-cell epitope prediction using protein language models[J]. Protein Sci, 2022, 31(12):e4497.
 - [29] Saha S, Raghava GP. Prediction of continuous B-cell epitopes in an antigen using recurrent neural network[J]. Proteins, 2006, 65(1):40-48.
 - [30] Yao B, Zhang L, Liang S, et al. SVMTriP: a method to predict antigenic epitopes using support vector machine to integrate tripeptide similarity and propensity[J]. PLoS One, 2012, 7(9): e45152.
 - [31] Doytchinova IA, Flower DR. VaxiJen: a server for prediction of protective antigens, tumour antigens and subunit vaccines[J]. BMC Bioinformatics, 2007, 8:4.
 - [32] Rammensee H, Bachmann J, Emmerich NP, et al. SYFPEITHI: database for MHC ligands and peptide motifs[J]. Immunogenetics, 1999, 50(3-4):213-219.
 - [33] Watson C. Can the world really stop wild polio by the end of 2023? [J]. Nature, 2023, 620(7975):706-707.
 - [34] Baggen J, Thibaut HJ, Strating J, et al. The life cycle of non-polio enteroviruses and how to target it[J]. Nat Rev Microbiol, 2018, 16(6):368-381.
 - [35] Fischer TK, Simmonds P, Harvala H. The importance of enterovirus surveillance in a post-polio world[J]. Lancet Infect Dis, 2022, 22(1):e35-e40.
 - [36] Yoon Y, Lee YP, Lee DY, et al. Non-polio enteroviruses from acute flaccid paralysis surveillance in Korea, 2012-2019[J]. Viruses, 2021, 13(3):411.
 - [37] Oli AN, Obialor WO, Ifeanyichukwu MO, et al. Immunoinformatics and vaccine development: an overview[J]. Immunotargets Ther, 2020, 9:13-30.
 - [38] 孔令启, 丁一, 屈艳琳. 新冠病毒 N 基因编码蛋白的生物信息学分析[J]. 中国病原生物学杂志, 2022, 17(7):745-750, 756.
 - [39] Kumar R, Mehta D, Mishra N, et al. Role of host-mediated post-translational modifications (PTMs) in RNA virus pathogenesis[J]. Int J Mol Sci, 2020, 22(1):323.
 - [40] Keck F, Ataey P, Amaya M, et al. Phosphorylation of single stranded RNA virus proteins and potential for novel therapeutic strategies[J]. Viruses, 2015, 7(10):5257-5273.
 - [41] Feng T, Zhang J, Chen Z, et al. Glycosylation of viral proteins: implication in virus host interaction and virulence[J]. Virulence, 2022, 13(1):670-683.
 - [42] 姚学君, 李峰, 陈国清, 等. 盐城地区柯萨奇病毒 A 组 16 型分离株 VP1 区基因分子生物学信息学分析[J]. 现代预防医学, 2019, 46(21):3997-4000, 4020.
 - [43] 蒙泽菁, 房永祥, 贾怀杰, 等. 羊口疮病毒 E3L 蛋白亚细胞定位及生物信息学分析[J]. 中国病原生物学杂志, 2023, 18(2):141-146.
 - [44] Lam JH, Smith FL, Baumgarth N. B cell activation and response regulation during viral infections[J]. Viral Immunol, 2020, 33(4):294-306.

- fect Dis, 2017, 70(4):408-415.
- [20] Sanderson CM, Hollinshead M, Smith GL. The vaccinia virus A27L protein is needed for the microtubule-dependent transport of intracellular mature virus particles[J]. J Gen Virol, 2000, 81(Pt 1):47-58.
- [21] Tang J, Murtadha M, Schnell M, et al. Human T-cell responses to vaccinia virus envelope proteins[J]. J Virol, 2006, 80(20):10010-10020.
- [22] Hughes LJ, Goldstein J, Pohl J, et al. A highly specific monoclonal antibody against monkeypox virus detects the heparin binding domain of A27[J]. Virology, 2014, 464-465:264-273.
- [23] Manes NP, Estep RD, Mottaz HM, et al. Comparative proteomics of human monkeypox and vaccinia intracellular mature and extracellular enveloped virions [J]. J Proteome Res, 2008, 7(3):960-968.
- [24] Franke CA, Wilson EM, Hruby DE. Use of a cell-free system to identify the vaccinia virus L1R gene product as the major late myristylated virion protein M25[J]. J Virol, 1990, 64(12):5988-5996.
- [25] Foo CH, Lou H, Whitbeck JC, et al. Vaccinia virus L1 binds to cell surfaces and blocks virus entry independently of glycosaminoglycans[J]. Virology, 2009, 385(2):368-382.
- [26] da Fonseca FG, Wolffe EJ, Weisberg A, et al. Characterization of the vaccinia virus H3L envelope protein: topology and posttranslational membrane insertion via the C-terminal hydrophobic tail [J]. J Virol, 2000, 74(16):7508-7517.
- [27] Lin CL, Chung CS, Heine HG, et al. Vaccinia virus envelope H3L protein binds to cell surface heparan sulfate and is important for intracellular mature virion morphogenesis and virus infection in vitro and in vivo[J]. J Virol, 2000, 74(7):3353-3365.
- [28] Su HP, Singh K, Gittis AG, et al. The structure of the poxvirus A33 protein rEEVeals a dimer of unique C-type lectin-like domains[J]. J Virol, 2010, 84(5):2502-2510.
- [29] Molteni C, Forni D, Cagliani R, et al. EEVolution of the orthopoxvirus core genome[J/OL]. Virus Res, 2022, 323:198975.
- [30] Matho MH, Schlossman A, Meng X, et al. Structural and functional characterization of Anti-A33 antibodies REEVeal a potent cross-species orthopoxviruses neutralizer [J]. PLoS Pathog, 2015, 11(9):e1005148.
- [31] Mucker EM, Golden JW, Hammerbeck CD, et al. A nucleic acid-based orthopoxvirus vaccine targeting the vaccinia virus L1, A27, B5, and A33 proteins protects rabbits against lethal rabbitpox virus aerosol challenge [J/OL]. J Virol, 2022, 96(3):e0150421.
- [32] Wang Y, Yang K, Zhou H. Immunogenic proteins and potential delivery platforms formpox virus vaccine dEEVdevelopment: A rapid rEEView[J/OL]. Int J Biol Macromol, 2023:125515.
- [33] Sang Y, Zhang Z, Liu F, et al. Monkeypox virus quadrivalent mRNA vaccine induces immune response and protects against vaccinia virus[J/OL]. Signal Transduct Target Ther, 2023, 8(1):172.
- [34] Reed KD, Melski JW, Graham MB, et al. The detection of monkeypox in humans in the western hemisphere[J/OL]. New Engl J Med, 2004, 350(4):342-50.
- [35] Adamo S, Gao Y, Sekine T, et al. Memory profiles distinguish cross-reactive and virus-specific T cell immunity to mpox [J/OL]. Cell Host Microbe, 2023, 31(6):928-936. e4.
- [36] Pittman PR, Hahn M, Lee HS, et al. Phase 3 efficacy trial of modified vaccinia ankara as a vaccine against smallpox[J]. N Engl J Med, 2019, 381(20):1897-1908.
- [37] Overton ET, Lawrence SJ, Wagner E, et al. Immunogenicity and safety of three consecutive production lots of the non replicating smallpox vaccine IMVA: a randomised, double blind, placebo controlled phase III trial[J]. PLoS One, 2018, 13(4):e0195897.
- [38] Volz A, Sutter G. Modified vaccinia virus ankara: history, value in basic research, and current perspectives for vaccine dEEVdevelopment[J]. Adv Virus Res, 2017, 97:187-243.
- [39] Volkmann A, Williamson AL, Weidenthaler H, et al. The brighton collaboration standardized template for collection of key information for risk/benefit assessment of a modified vaccinia ankara (IMVA) vaccine platform[J/OL]. Vaccine, 2021, 39(22):3067-3080.
- [40] Rao AK, Petersen BW, Whitehill F, et al. Use of JYNNEOS (smallpox and monkeypox vaccine, live, nonreplicating) for pre-exposure vaccination of persons at risk for occupational exposure to orthopoxviruses; recommendations of the advisory committee on immunization practices-United States, 2022[J/OL]. MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 2022, 71(22):734-742.
- [41] He Q, Gao H, Tan D, et al. mRNA cancer vaccines: Advances, trends and challenges[J]. Acta Pharm Sin B, 2022, 12(7):2969-2989.
- 【收稿日期】 2023-10-13 【修回日期】 2024-01-06
- ~~~~~
- (上接 256 页)
- [45] 陈俊伊, 唐弘, 庄稀尧, 等. EV-D68 VP1 蛋白的生物信息学分析和候选疫苗表位肽段预测及筛选[J]. 中国免疫学杂志, 2020, 36(15):1809-1813, 1818.
- [46] Shi J, Huang X, Liu Q, et al. Identification of conserved neutralizing linear epitopes within the VP1 protein of coxsackievirus A16 [J]. Vaccine, 2013, 31(17):2130-2136.
- [47] Gao F, Wang YP, Mao QY, et al. Enterovirus 71 viral capsid protein linear epitopes: identification and characterization[J]. Virol J, 2012, 9:26.
- [48] Samuelson A, Forsgren M, Sallberg M. Characterization of the recognition site and diagnostic potential of an enterovirus group-reactive monoclonal antibody [J]. Clin Diagn Lab Immunol, 1995, 2(3):385-386.
- [49] Primorac D, Vrdoljak K, Brlek P, et al. Adaptive immune responses and immunity to SARS-CoV-2[J]. Front Immunol, 2022, 13:848582.
- [50] Bahrami AA, Bandehpour M, Kazemi B, et al. Assessment of a poly-epitope candidate vaccine against Hepatitis B, C, and poliovirus in interaction with monocyte-derived dendritic cells: an ex vivo study[J]. Hum Immunol, 2020, 81(5):218-227.
- [51] Tian YX, Jin WP, Wei ZN, et al. Identification of specific and shared epitopes at the extreme N-terminal VP1 of coxsackievirus A4, A2 and A5 by monoclonal antibodies[J]. Virus Res, 2023, 328:199074.
- [52] Zhang J, Jiang B, Xu M, et al. Identification of specific antigenic epitope at N-terminal segment of enterovirus 71 (EV-71) VP1 protein and characterization of its use in recombinant form for early diagnosis of EV-71 infection[J]. Virus Res, 2014, 189:248-253.
- [53] Zhang H, Song Z, Yu H, et al. Genome-wide linear B-cell epitopes of enterovirus 71 in a hand, foot and mouth disease (HFMD) population[J]. J Clin Virol, 2018, 105:41-48.
- 【收稿日期】 2023-10-15 【修回日期】 2024-01-03