

DOI:10.13350/j.cjpb.240904

• 论著 •

刚地弓形虫 CDPK1 蛋白结构与抗原表位的生物信息学分析^{*}

殷荷^{1,2,3},党甜甜^{1,2,3},李佳铭^{1,2,3},李光琪^{1,2,3},田婷婷⁴,吴赓⁴,赵志军^{1,2,3**}

(1. 宁夏医科大学总医院医学实验中心,宁夏银川 750004;2. 宁夏临床病原微生物重点实验室;

3. 宁夏医学检验临床医学研究中心;4. 宁夏医科大学临床医学院)

【摘要】 目的 对刚地弓形虫钙依赖性蛋白激酶 1 (*Toxoplasma gondii* Calcium-dependent protein kinases1, TgCDPK1) 的蛋白结构及抗原表位进行分析,为弓形虫病疫苗的研制提供参考依据。方法 在 NCBI 数据库中检索 TgCDPK1 蛋白的氨基酸序列,分别采用 ProtParam、ProtScale、MotifScan、TMHMM 2.0、SMART、SOPMA、Phyre2、IEDB、PSORT、STRING、PREDICTED ANTIGENIC PEPTIDES 及 SYFPEITHI 在线分析网站预测 TgCDPK1 蛋白的氨基酸组成、理化性质、蛋白翻译后修饰位点、结构域、功能域、二级结构、三级结构、互作蛋白、抗原决定簇、B 细胞抗原表位及 T 细胞抗原表位等。结果 TgCDPK1 蛋白由 582 个氨基酸组成,其分子式是 $C_{2898} H_{4573} N_{785} O_{888} S_{25}$,分子质量单位(M_r)为 65.42142×10^3 ,理论等电点为 6.04,不稳定指数为 36.980,脂溶性指数为 79.91;该蛋白存在 36 个蛋白翻译后修饰位点;不含跨膜结构域,但含 4 个 EF-手钙结合域及 1 个蛋白激酶结构域;蛋白二级结构中 52.96% 为 α -螺旋,14.00% 为延长链,7.90% 为 β -转角,35.05% 为无规则卷曲;共含 24 个抗原决定簇,平均抗原倾向指数为 1.0237;TgCDPK1 蛋白抗原表位分布广泛,含有 8 个 B 细胞抗原表位、14 个 CTL 细胞表位和 12 个 Th 细胞表位。结论 TgCDPK1 蛋白含有多种抗原表位,免疫原性高,可作为弓形虫病疫苗研制的候选蛋白。

【关键词】 刚地弓形虫;钙依赖性蛋白激酶 1;生物信息学分析;免疫原性

【文献标识码】 A **【文章编号】** 1673-5234(2024)09-1009-05

[*Journal of Pathogen Biology*. 2024 Sep.;19(9):1009-1013,1019.]

Bioinformatics analysis of the structure and antigenic epitopes of *Toxoplasma gondii* CDPK1 protein
YIN He^{1,2,3},DANG Tiantian^{1,2,3},LI Jiaming^{1,2,3},LI Guangqi^{1,2,3},TIAN Tingting⁴,WU Geng⁴,ZHAO Zhijun^{1,2,3} (1. General Hospital of Ningxia Medical University, Yinchuan, Ningxia 750004, China; 2. Ningxia Key Laboratory of Clinical Pathogenic Microorganisms; 3. Clinical Medical Research Center of Ningxia Medical Laboratory; 4. Clinical Medicine School of Ningxia Medical University) ***

【Abstract】 **Objective** The protein structure and antigenic epitopes of *Toxoplasma gondii* Calcium-dependent protein kinases1 (TgCDPK1) were analyzed to provide a reference for the development of a vaccine against toxoplasmosis.

Methods Searched the amino acid sequence of TgCDPK1 protein in NCBI database and respectively used ProtParam, ProtScale, MotifScan, TMHMM 2.0, SMART, SOPMA, Phyre2, IEDB, PSORT, STRING, PREDICTED ANTIGENIC PEPTIDES and SYFPEITHI online analysis website to predict the amino acid composition, physicochemical properties, post-translational modification sites, structural domains, functional domains, secondary structure, tertiary structure, interacting proteins, antigenic determinants, B-cell antigenic epitopes, and T-cell antigenic epitopes of TgCDPK1 protein.

Results The TgCDPK1 protein consists of 582 amino acids, with a molecular formula of $C_{2898} H_{4573} N_{785} O_{888} S_{25}$, a molecular mass unit (M_r) of 65.42142×10^3 , a theoretical isoelectric point of 6.04, an instability index of 36.980, a lipid solubility index of 79.91, and a bulk average hydrophilicity of -0.414. The protein exists 36 protein post-translational modification sites; does not contain transmembrane structural domains, but contains four EF-hand calcium-binding domains and one protein kinase structural domain. The protein secondary structure contains 52.96% alpha-helices, 14.00% extended strands, 7.90% beta-turns, and 35.05% irregular coilshas; it has a 60.90% probability of localizing in the cytoplasm. In addition, the protein has a total of 24 antigenic determinants, the average antigenic propensity index is 1.0237. The antigenic epitopes of TgCDPK1 protein are widely distributed, containing 8 B-cell antigenic epitopes, 14 CTL cellular epitopes and 12 Th-cellular epitopes. **Conclusion** The TgCDPK1 protein contains a variety of antigenic

* 【基金项目】 宁夏回族自治区重点研发计划项目(No. 2023BEG02002);宁夏自然科学基金项目(No. 2023AAC03576)。

** 【通讯作者】 赵志军, E-mail: z15815z@163.com

【作者简介】 殷 荷(1997-),女,宁夏银川人,硕士研究生,技师,主要研究领域为临床病原微生物学。E-mail: 1573928868@qq.com

epitopes, which are highly immunogenic and can be used as a candidate protein for toxoplasmosis vaccine development.

【Keywords】 *Toxoplasma gondii*; calcium dependent protein kinase 1; bioinformatics analysis; immunogenicity

刚地弓形虫(*Toxoplasma gondii*)简称弓形虫,是一种专性细胞内寄生虫,在全球范围内分布广泛,可感染几乎所有的温血动物^[1-2],引起人畜共患弓形虫病。全球近1/3的人口有弓形虫感染史,通常是因摄入了被孢子化卵囊污染的未煮熟的食物或水而感染。正常人一般呈无症状隐形感染,但当免疫系统损伤缺陷如艾滋病、恶性肿瘤、器官移植等患者感染后可呈急性发作,病情严重者甚至死亡^[3-4],妊娠早期的女性感染后会经过胎盘垂直传播引发胎儿流产、畸形等不良妊娠结局^[5-6]。动物感染弓形虫后的临床表现与人基本相同,表现为生长缓慢、饲料利用率下降、生产性能低下,严重感染可导致死亡;繁殖期动物感染易造成流产、死胎、非正常生产等^[7]。因此,弓形虫病的预防及控制对人类健康及畜牧业生产都具有重要意义,但尚未开发出针对治疗该疾病的特效药物^[8]。

疫苗接种是预防弓形虫病最理想的方法,目前为止仅有一种基于减毒速殖子的 ToxoV AX®, InterveB. V. 疫苗上市,考虑到减毒疫苗有可能恢复毒力进而引起医源性感染,所以其只在少数国家被批准应用^[9]。弓形虫表面膜蛋白、致密颗粒蛋白、棒状体蛋白和一些胞内蛋白均具有作为弓形虫病疫苗候选抗原的潜力,在一定程度上有效激活了体液和细胞免疫反应,但缺乏一种特异性抗原能够针对弓形虫感染诱导机体发生强烈、持久的保护性免疫反应^[10]。弓形虫钙依赖蛋白激酶家族(Calcium-dependent protein kinases, CDPKs)在弓形虫分化、运动、侵袭等生命活动中起着至关重要的作用。TgCDPK1蛋白是弓形虫Ca⁺信号通路的重要调节基因,调节微线体蛋白的分泌,微线体释放黏附素复合物、穿孔素和蛋白酶在弓形虫生命周期和宿主感染等过程中发挥重要作用^[11-12],是理想的抗原候选分子。

为进一步了解 TgCDPK1 蛋白的结构、功能及抗原性,本研究通过 NCBI 数据库检索了的 TgCDPK1 蛋白的氨基酸序列,并利用生物信息学技术对其序列进行分析,预测其理化特性、蛋白结构、互作蛋白及抗原表位等,将为弓形虫病疫苗的研制提供理论基础,对预防及治疗弓形虫病具有重要意义。

材料与方法

1 刚地弓形虫 TgCDPK1 蛋白的氨基酸序列

利用美国国家生物技术信息中心(National Center of Biotechnology Information, NCBI)网站查询并下载 TgCDPK1 蛋白的氨基酸序列。

2 TgCDPK1 蛋白的生物信息学分析

使用 ProtParam (<https://www.expasy.org/resources/protparam>) 和 ProtScale (<https://web.expasy.org/protscale/>) 工具分析 TgCDPK1 蛋白各类氨基酸占比情况、分子式、脂溶性指数、吸光度值、半衰期及亲疏水性等理化性质。利用 MotifScan (https://myhits.isb-sib.ch/cgi-bin/motif_scan) 在线预测网站预测该蛋白的翻译后修饰位点。通过 TMHMM 2.0 (<https://services.healthtech.dtu.dk/services/TMHMM-2.0/>) 和 SMART (<http://smart.embl-heidelberg.de/>) 网站预测 TgCDPK1 蛋白的结构域及功能域。结合 SOPMA (https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=npsa_sopma.html)、Phyre2 网站 (<http://www.sbg.bio.ic.ac.uk/phyre2/html/page.cgi?id=index>) 及 IEDB 数据库 (<http://tools.iedb.org/bcell/>) 在线分析 TgCDPK1 蛋白的二级、三级结构特征。利用 PSORT 工具 (<https://www.genscript.com/psort.html>) 预测该蛋白的亚细胞定位。运用 STRING (<https://cn.string-db.org/cgi/>) 网站在线预测与 TgCDPK1 蛋白相互作用的弓形虫蛋白。通过 PREDICTED ANTIGENIC PEPTIDES (<http://imed.med.ucm.es/Tools/antigenic.pl>) 网站预测 TgCDPK1 蛋白的抗原决定簇和平均抗原倾向性指数,使用 IEDB 数据库 (<http://tools.iedb.org/bcell/>) 及 SYFPEITHI (<http://www.syfpeithi.de/bin/MHCServer.dll/EpitopePrediction.htm>) 筛选该蛋白的 B 细胞、CTL 及 Th 细胞抗原表位。

结 果

1 TgCDPK1 蛋白的氨基酸序列

TgCDPK1 蛋白的登录号为 XP_018637931.1,由 582 个氨基酸组成,各类氨基酸占比情况见表 1,其中酸性氨基酸(天冬氨酸、谷氨酸)占比 14.4%,碱性氨基酸(精氨酸、赖氨酸及组氨酸)占比 15.3%。

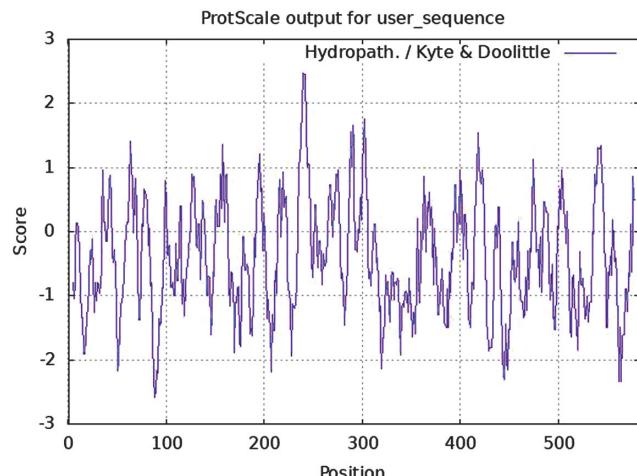
2 TgCDPK1 蛋白理化性质

TgCDPK1 蛋白的分子式为 C₂₈₉₈H₄₅₇₃N₇₈₅O₈₈₈S₂₅,分子质量单位(Mr)为 65.421 42×10³。其理论等电点为 6.04,不稳定指数为 36.980,脂溶性指数为 79.91,大体平均亲水性为 -0.414,提示 TgCDPK1 为亲水性蛋白。所有的半胱氨酸残基对形成胱氨酸时,消光系数为 53 790,吸光度值为 0.822(波长 280 nm);所有半胱氨酸残基均减少

时,消光系数为 53 290,吸光度值为 0.815(波长 280 nm)。其在哺乳动物网织细胞(体外)、酵母细胞(体内)和大肠埃希菌(体内)中的半衰期分别为 30 h、>20 h 和 >10 h。ProtScale 网站预测结果显示:TgCDPK1 蛋白疏水性最大值位于第 240 位的亮氨酸残基处,得分为 2.467,最小值位于第 88/89 位的赖氨酸/谷氨酰胺残基处,得分为 -2.578(图 1)。

表 1 TgCDPK1 蛋白氨基酸占比情况
Table 1 Proportion of amino acids in TgCDPK1 protein

氨基酸	氨基酸占比(%) Percentage of amino acids	氨基酸	氨基酸占比(%) Percentage of amino acids
丙氨酸	6.4	亮氨酸	8.8
精氨酸	5.0	异亮氨酸	5.5
天冬酰胺	2.4	赖氨酸	8.2
天冬氨酸	7.2	蛋氨酸	2.7
半胱氨酸	1.5	苯丙氨酸	4.6
谷氨酰胺	4.5	脯氨酸	3.1
谷氨酸	7.2	苏氨酸	4.5
甘氨酸	7.2	酪氨酸	3.6
组氨酸	2.1	丝氨酸	8.6
色氨酸	0.7	缬氨酸	6.2



注:横轴为氨基酸残基数,纵轴为相关参数得分。

图 1 TgCDPK1 蛋白疏水性得分

Note: The horizontal axis represents the amino acid residue number, and the vertical axis represents the score of relevant parameters.

Fig. 1 Hydrophobicity score of TgCDPK1 protein

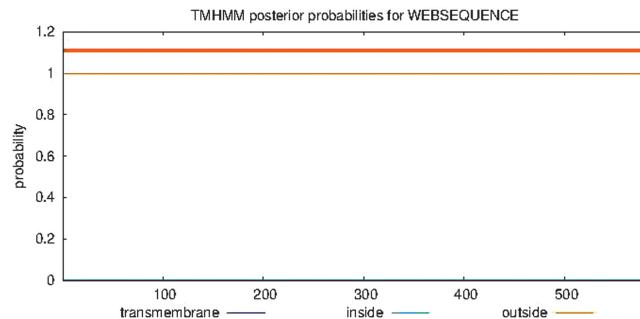
3 TgCDPK1 蛋白翻译后修饰位点预测

通过在线预测网站推测 TgCDPK1 蛋白翻译后的修饰位点共有 36 个,包括 2 个 cAMP- 和 cGMP- 依赖性蛋白激酶磷酸化位点(144-147AA、350-353AA);15 个酪蛋白激酶 II 磷酸化位点(61-64AA、73-76AA、91-94AA、132-135AA、147-150AA、200-203AA、226-229AA、355-358AA、373-376AA、427-430AA、471-474AA、476-479AA、534-537AA、545-548AA、557-560AA);6 个 N-豆蔻酰化位点(2-7AA、9-14AA、74-

79AA、305-310AA、423-428AA、467-472AA);12 个蛋白激酶 C 磷酸化位点(48-50AA、83-85AA、91-93AA、12-14AA、205-207AA、257-259AA、355-357AA、369-371AA、373-375AA、411-413AA、530-532AA、551-553AA);1 个酪氨酸激酶磷酸化位点(335-342AA)。

4 TgCDPK1 蛋白的结构域及功能域

预测结果提示 TgCDPK1 蛋白不含跨膜结构域(图 2);SMART 在线分析结果显示:TgCDPK1 蛋白的保守区域含 4 个 EF- 手钙结合域(434-462AA、481-509AA、517-55AA、551-579AA)及 1 个蛋白激酶结构域(51-383AA)(图 3)。



注:紫色、蓝色、黄色分别代表预测的跨膜结构、内部结构、外部结构。

图 2 TgCDPK1 蛋白跨膜结构域预测

Note: Purple, blue and yellow indicate the predicted transmembrane structure, internal structure and external structure of the predicted protein.

Fig. 2 Prediction of TgCDPK1 protein transmembrane domain



图 3 TgCDPK1 蛋白功能域预测

Fig. 3 Prediction of TgCDPK1 protein functional domain

5 TgCDPK1 蛋白的空间结构

5.1 二级结构 对 TgCDPK1 的二级结构进行预测后发现,在该蛋白的氨基酸组成中,有 52.96% 为 α -螺旋(Hh),14.00% 为延长链(Ee),7.90% 为 β -转角(Tt),35.05% 为无规则卷曲(Cc)(图 4)。

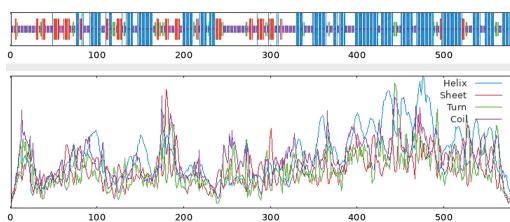


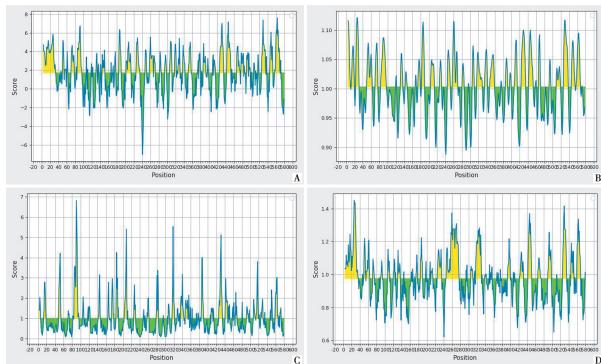
图 4 TgCDPK1 蛋白的二级结构预测

Fig. 4 Prediction of secondary structure of TgCDPK1 protein

5.2 亲水性、柔韧性、表面可及性及 β -转角

TgCDPK1 蛋白亲水性指数最低 -7.029,最高 7.600,平均 1.700(图 5A);柔韧性指数最低 0.888,最高 1.121,平均 1.003(图 5B);表面可及性指数最低

0.079,最高6.827,平均1.000(图5C); β -转角指数最低0.621,最高1.450,平均0.975(图5D)。亲水区域暴露在蛋白表面,柔韧性区域会产生扭曲和折叠,能够促进抗体结合,而高可及性的部位则在蛋白质分子表层,更易与抗体发生作用。



注:横轴为氨基酸残基数,纵轴为相关参数得分。 A 亲水性
B 柔韧性 C 表面可及性 D β -转角

图5 TgCDPK1蛋白的亲水性、柔韧性、表面可及性及 β -转角

Note: The horizontal axis represents the amino acid residue number, and the vertical axis represents the score of relevant parameters. A Hydrophilicity B Flexibility C Surface accessibility D β -Turn

Fig. 5 The hydrophilicity, flexibility, surface accessibility and β -Turn prediction of TgCDPK1 protein

5.3 三级结构 在线评估软件预测结果显示TgCDPK1蛋白全部氨基酸序列的79%,即457个残基通过单个最高评分模板建模,模型置信度为100%(图6)。

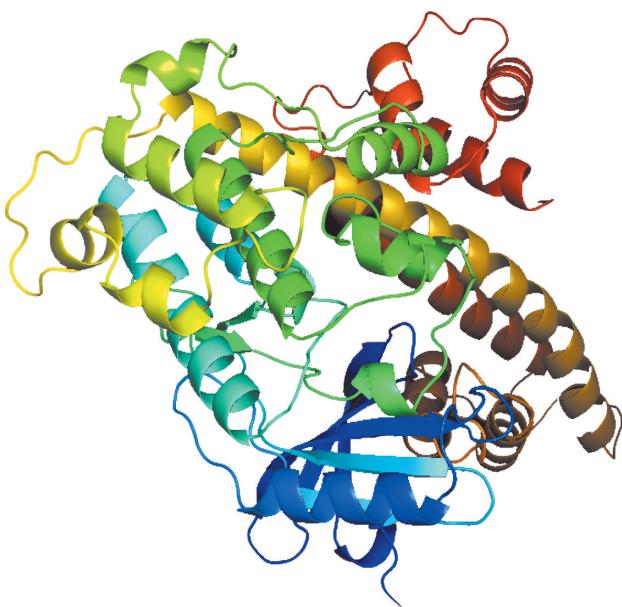


图6 TgCDPK1蛋白三级结构预测

Fig. 6 Prediction of tertiary structure of TgCDPK1 protein

6 TgCDPK1蛋白亚细胞定位

TgCDPK1蛋白定位于细胞质的几率为60.9%,

定位于细胞核的几率为21.7%,定位于线粒体的几率为13.0%,定位于过氧化物酶体的几率为4.3%,因此该蛋白最有可能定位于线粒体。

7 TgCDPK1蛋白的互作蛋白

TgCDPK1蛋白共有10种互作蛋白,提示其可能参与弓形虫侵入宿主等多种生物学过程(图7)。

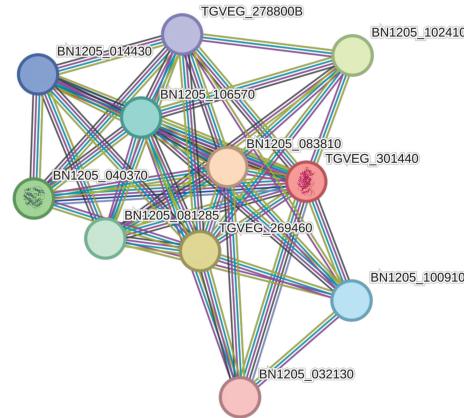


图7 TgCDPK1蛋白的互作蛋白预测

Fig. 7 Prediction of TgCDPK1 protein interaction proteins

8 TgCDPK1蛋白的抗原性

TgCDPK1蛋白共含24个抗原决定簇,平均抗原倾向指数为1.0237(图8);TgCDPK1蛋白共含17条B细胞抗原表位,对长度过长和过短的表位进行筛选后,共得出8条B细胞优势抗原表位见表2。在线预测TgCDPK1蛋白的两种T细胞抗原表位,当cutoff分值为21时,该蛋白共有14个CTL细胞优势抗原表位,见表3;当cutoff分值为25时,共有12个Th细胞优势抗原表位,见表4,TgCDPK1蛋白具有较多的细胞抗原表位、结合能力强,具有较好的潜在免疫原性和反应原性。

表2 TgCDPK1蛋白B细胞抗原表位预测
Table 2 Prediction of B cell antigen epitopes of TgCDPK1 protein

序号 Order	位置 Location	序列 Sequence	长度 Length
1	86-97	QVKQKTDKESLL	12
2	249-262	VPRSAFPVSPRSSS	14
3	272-301	SPGLPVYVLQKREIKSCVAFYVGMQRDACAL	30
4	427-437	TSQDETKEITA	11
5	444-454	KNGDGQLDRAE	11
6	511-520	TLLSRERLER	10
7	527-536	SDNSGKISST	10
8	561-571	KNNNDGEVDVFDE	11

讨 论

CDPKs是弓形虫体内存在的关键蛋白激酶,在钙信号级联反应中发挥核心调控作用,其通过第二信使 Ca^{2+} 将外部刺激转化为细胞内的生化反应,进而影响弓形虫的生命活动。TgCDPK1与弓形虫的生命周期

和繁殖高度相关，并参与了钙调节的虫体运动、宿主细胞入侵和逃逸等动力学阶段^[13]，由于与人源蛋白激酶同源性差异较大，故其具有成为弓形虫药物治疗靶位点的独特优势。因此，深入探究 TgCDPK1 蛋白的结构特征、功能机制对弓形虫病疫苗研发具有重要意义。

表 3 TgCDPK1 蛋白的 CTL 细胞抗原表位预测

Table 3 Prediction of CTL cell antigen epitopes of TgCDPK1 protein

序号 Order	序列 Sequence	开始位置 Start position	分值 Score
1	SLLREVQQLL	95	28
2	QISVDVPSL	390	25
3	SLDNAILNI	397	25
4	ALLYMGSKL	418	25
5	YILLSGESV	241	24
6	LIRKMLTYV	359	24
7	ELIEGYKEL	454	24
8	IIRQVLSGI	154	23
9	KMLTYVPSM	362	23
10	ATIFGVSDV	539	23
11	KITGQECAV	71	21
12	YLVGEVYTG	125	21
13	DLKPENLLL	174	21
14	STGVILYIL	235	21

表 4 TgCDPK1 蛋白的 Th 细胞抗原表位预测

Table 4 Prediction of Th cell antigen epitopes of TgCDPK1 protein

序号 Order	序列 Sequence	开始位置 Start position	分值 Score
1	YIEYSEFVTVAMDRAK	496	28
2	ERAFRMFDSNDNSGKI	519	28
3	FRMFDSNDNSGKISST	522	28
4	EVDFDEFQQMQLKLC	566	28
5	KESLLREVQQLKQLD	93	26
6	VQLLKQLDHNPNIMKL	100	26
7	ARIIRQVLSGITYMH	152	26
8	GVILYILLSGESVPR	237	26
9	ACALIYLGTQDARAG	298	26
10	RKMLTYVPSMRISAR	361	26
11	SVDVPSLDNAILNIR	392	26
12	LDAVDFDKNGYIEYS	486	26

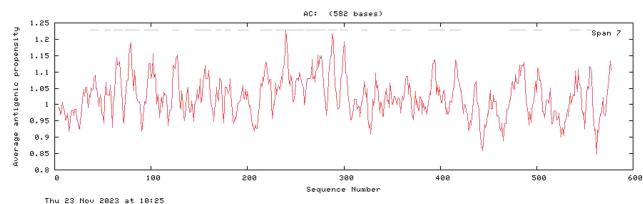


图 8 TgCDPK1 蛋白抗原决定簇预测

Fig. 8 Prediction of TgCDPK1 protein antigen determinant cluster

生物信息学是一门包含了生物学、信息技术和计算机科学等多领域研究方法的交叉学科，广泛应用于生命科学和自然科学等重大前沿科技领域^[14-15]，在研究蛋白质的理化性质、生物活性和免疫功能等方面作用显著，是进行蛋白质功能预测和候选抗原筛选的必

要手段之一^[16]，已广泛应用于疫苗的开发，张越等^[17]通过该方法提出 TgCDPK2B 蛋白有较强的免疫原性，可作为弓形虫病疫苗抗原候选分子。本研究利用生物信息学方法分析发现，TgCDPK1 蛋白由 582 个氨基酸组成，不含跨膜结构域，易于构建重组蛋白，有 4 个 EF-手钙结合域及 1 个蛋白激酶结构域，存在多个蛋白翻译后修饰位点及多种互作蛋白。在 TgCDPK1 蛋白的二级结构模型中，β-转角和无规则卷曲约占总氨基酸数量的 45%，这些结构更易发生扭曲和螺旋，增加了表面抗体位点形成的可能性，可作为抗原表位存在。另外，TgCDPK1 蛋白包含多个分值较高的抗原表位序列，具有较强的免疫原性。Huang 等^[18]研究发现重组蛋白 TgCDPK1 在体外能显著刺激淋巴细胞增殖，激发体液免疫和细胞免疫应答，延长弓形虫 RH 株感染小鼠模型的存活时间，结合本文的研究结果进一步证实了 TgCDPK1 蛋白具有成为弓形虫病疫苗候选抗原的潜力。本研究通过生物信息学方法显示 TgCDPK1 蛋白含有多种抗原表位，免疫原性高，可作为弓形虫病疫苗研制的候选蛋白。

【参考文献】

- Zhao XY, Ewald SE. The molecular biology and immune control of chronic *Toxoplasma gondii* infection [J]. J Clin Invest, 2020, 130(7):3370-3380.
- Wagner T, Bangoura B, Wiedmer S, et al. Phytohormones regulate asexual *Toxoplasma gondii* replication [J]. Parasitol Res, 2023, 122(12):2835-2846.
- Radoi CL, Zlatian OM, Balasoiu M, et al. *Toxoplasma gondii* seroprevalence and trends in women presenting for toxoplasma screening in south-west romania [J]. Microorganisms, 2023, 11(8):2057.
- Rabaan AA, Uzairue LI, Alfaraj AH, et al. Seroprevalence, risk factors and maternal-Fetal outcomes of *Toxoplasma gondii* in Pregnant women from WHO eastern mediterranean region: systematic review and meta-analysis [J]. Pathogens, 2023, 12(9):1157.
- Lima TS, Lodoen MB. Mechanisms of human innate immune evasion by *Toxoplasma gondii* [J]. Front Cell Infect Microbiol, 2019, 9:103.
- 闫旭霞,李书梅,李爱民,等.产妇弓形虫感染对新生儿影响的研究[J].中国寄生虫病防治杂志,2001,5(3):30-32.
- 周凤玲.猪繁殖障碍性疾病的流行病学、临床表现及免疫预防[J].吉林畜牧兽医,2024,45(2):13-15.
- Ahmadvour E, Babaie F, Kazemi T, et al. Overview of apoptosis, autophagy, and inflammatory processes in *Toxoplasma gondii* infected cells [J]. Pathogens, 2023, 12(2):253.
- Bhopale GM. Development of a vaccine for toxoplasmosis: current status [J]. Microbes Infect, 2003, 5(5):457-462.
- 范久波,舒衡平.弓形虫病核酸疫苗研究进展[J].中国病原生物学杂志,2008,1(11):868-871,882.

(下转 1019 页)

- echinococcosis, in the Tibetan Plateau under future climate scenarios[J]. Environ Sci Pollut Res Int, 2023, 30(8): 21404-21415.
- [6] Vuitton DA, McManus DP, Rogan MT, et al. International consensus on terminology to be used in the field of echinococcoses [J]. Parasite, 2020, 27: 41.
- [7] Laurim e T, Kinkar L, Moks E, et al. Molecular phylogeny based on six nuclear genes suggests that *Echinococcus granulosus* sensu lato genotypes G6/G7 and G8/G10 can be regarded as two distinct species[J]. Parasitology, 2018, 145(14): 1929-1937.
- [8] Sharma M, Fomda BA, Mazta S, et al. Genetic diversity and population genetic structure analysis of *Echinococcus granulosus* sensu stricto complex based on mitochondrial DNA signature[J]. PLoS One, 2013, 8(12): e82904.
- [9] Kinkar L, Laurim T, Sharbatkhori M, et al. New mitogenome and nuclear evidence on the phylogeny and taxonomy of the highly zoonotic tapeworm *Echinococcus granulosus* sensu stricto [J]. Infect Genet Evol, 2017, 52: 52-58.
- [10] 勿德芳,付永,任宾,等. 青海人源两型棘球绦虫(棘球蚴)遗传多样性及分化时间研究[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志,2022, 40(5):610-615,621.
- [11] Alvarez Rojas CA, Kronenberg PA, Aitbaev S, et al. Genetic diversity of *Echinococcus multilocularis* and *Echinococcus granulosus* sensu lato in Kyrgyzstan: The A2 haplotype of *E. multilocularis* is the predominant variant infecting humans[J]. PLoS Negl Trop Dis, 2020, 14(5): e0008242.
- [12] Nakao M, Yokoyama N, Sako Y, et al. The complete mitochondrial DNA sequence of the cestode *Echinococcus multilocularis* (Cyclophyllidae: Taeniidae)[J]. Mitochondrion, 2002, 1(6): 497-509.
- [13] Wu C, Zhang W, Ran B, et al. Genetic variation of mitochondrial genes among *Echinococcus multilocularis* isolates collected in western China[J]. Parasit Vectors, 2017, 10(1): 265.
- [14] Le TH, Pearson MS, Blair D, et al. Complete mitochondrial genomes confirm the distinctiveness of the horse-dog and sheep-
- dog strains of *Echinococcus granulosus* [J] Parasitology, 2002, 124(Pt 1): 97-112.
- [15] 魏玉环,胡媛,曹建平. 细粒棘球绦虫基因多态性的研究进展 [J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志,2019, 37(4): 481-485.
- [16] Zhao Y, Gesang D, Wan L, et al. *Echinococcus* spp. and genotypes infecting humans in Tibet Autonomous Region of China: a molecular investigation with near-complete/complete mitochondrial sequences[J]. Parasit Vectors, 2022, 15(1): 75.
- [17] Guo B, Zhao L, Zhao L, et al. Survey and Molecular Characterization of *Echinococcus granulosus* sensu stricto from Livestock and Humans in the Altai Region of Xinjiang, China [J]. Pathogens, 2023, 12(1): 134.
- [18] Meng Q, Wang G, Qiao J, et al. Prevalence of hydatid cysts in livestock animals in Xinjiang, China [J]. Korean J Parasitol, 2014, 52(3): 331-334.
- [19] Kinkar L, Laurim e T, Acosta-Jamett G, et al. Global phylogeography and genetic diversity of the zoonotic tapeworm *Echinococcus granulosus* sensu stricto genotype G1[J]. Int J Parasitol, 2018, 48(9): 729-742.
- [20] Wang N, Xie Y, Liu T, et al. The complete mitochondrial genome of G3 genotype of *Echinococcus granulosus* (Cestoda: Taeniidae)[J]. Mitochondrial DNA A DNA Mapp Seq Anal, 2016, 27(3): 1701-1702.
- [21] Alvi MA, Ohiole JA, Saqib M, et al. *Echinococcus granulosus* (sensu stricto) (G1, G3) and *E. ortleppi* (G5) in Pakistan: phylogeny, genetic diversity and population structural analysis based on mitochondrial DNA[J]. Parasit Vectors, 2020, 13(1): 347.
- [22] Hua RQ, Du XD, He X, et al. Genetic diversity of *Echinococcus granulosus* sensu lato in China: Epidemiological studies and systematic review[J]. Transbound Emerg Dis, 2022, 69 (5): e1382-e1392.
- [23] 安婧,张晓曙,梁雪枫,等. 甘肃省2004-2018年甲型肝炎时空聚集性分析[J]. 中华流行病学杂志,2020, 41(8): 1319-1323.

【收稿日期】 2024-03-23 【修回日期】 2024-06-20

(上接 1013 页)

- [11] Lv L, Huang B, Zhao Q, et al. Identification of an interaction between calcium-dependent protein kinase 4 (EtCDPK4) and serine protease inhibitor (EtSerpin) in *Eimeria tenella* [J]. Parasit Vectors, 2018, 11(1): 259.
- [12] 张念章. 弓形虫CDPKs核酸疫苗及重组亚单位疫苗的免疫保护性研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2014.
- [13] Shortt E, Hackett CG, Stadler RV, et al. CDPK2A and CDPK1 form a signaling module upstream of *Toxoplasma* motility [J]. mBio, 2023, 14(5): e0135823.
- [14] 张冀东,王志晗,刘博. 深度学习在生物序列分析领域的应用进展[J]. 北京工业大学学报, 2022, 48(8): 878-887.
- [15] 张晓磊,赵利娜,郭坦达,等. 刚地弓形虫P30基因的克隆及编码蛋白结构与抗原表位的生物信息学分析[J]. 中国病原生物学杂志,

- 志, 2023, 18(4): 411-415, 420.
- [16] 马航斌,张晶,王婧惠,等. 刚地弓形虫棒状体顶端表面蛋白2结构和功能的生物信息学分析[J]. 中国病原生物学杂志, 2023, 18 (10): 1152-1157.
- [17] 张越,尹维文,赵旭,等. 刚地弓形虫钙依赖性蛋白激酶2B的生物信息学分析[J]. 中国病原生物学杂志, 2018, 13(10): 1096-1102, 1108.
- [18] Huang SY, Chen K, Wang JL, et al. Evaluation of protective immunity induced by recombinant calcium-dependent protein kinase 1 (TgCDPK1) protein against acute toxoplasmosis in mice [J]. Microb Pathog, 2019, 133, 103560.

【收稿日期】 2024-04-05 【修回日期】 2024-06-12