

DOI:10.13350/j.cjpb.260104

• 论著 •

# EB病毒 EBNA1 蛋白解析及其重组腺病毒的表达<sup>\*</sup>

陈彦好<sup>1</sup>, 孟富仁<sup>1</sup>, 董可心<sup>1</sup>, 刘瑞坪<sup>1</sup>, 辛宪云<sup>2</sup>, 薛庆节<sup>3\*\*</sup>, 张丽<sup>4\*\*</sup>

(1. 济宁医学院临床医学院, 山东济宁 272067; 2. 济宁学院附属高级中学; 3. 济宁医学院基础医学院; 4. 济宁医学院中西医结合学院)

**【摘要】** 目的 采用生物信息技术深入分析 Epstein-Barr 病毒的核心抗原 1(EB nuclear antigen 1, EBNA1)并研究重组腺病毒,旨在为开发 EB 病毒相关疫苗奠定基础。方法 利用 NCBI 数据库提取 EBNA1 蛋白的基因组与氨基酸序列,并运用生物信息学工具 ProtParam、IEDB、UniProt 对 EBNA1 蛋白进行理化特性、B 细胞与 T 细胞表位以及蛋白互作分析,提供关键的免疫学信息,以揭示 EBNA1 蛋白在疫苗领域的潜在应用;将 EBNA1-pDC316 重组质粒和骨架质粒 pBHGlox(delta)E1,3Cre 共同转染 HEK 293 细胞并对其重组腺病毒的结果进行鉴定。结果 EBNA1 蛋白属于疏水性质的稳定蛋白,筛选出 B 细胞优势表位,分别在 16-27 位氨基酸,33-61 位氨基酸,63-75 位氨基酸;选出其中限制性 CTL 细胞优势表位有 2 个,限制性 Th 细胞优势表位有 2 个,共同氨基酸区段为 11-14、175-183 位氨基酸;在此基础上,成功构建了重组腺病毒并在 HEK 293 细胞中表达。结论 EBNA1 蛋白在物理化学特性、免疫原性以及序列同源性等多个关键方面均满足疫苗候选标准,其重组腺病毒可被用于预防 Epstein-Barr 病毒(EBV)感染的疫苗。

**【关键词】** EBNA1 基因;EB 病毒;生物信息学分析;重组腺病毒

**【文献标识码】** A

**【文章编号】** 1673-5234(2026)01-0017-04

[*Journal of Pathogen Biology*. 2026 Jan.;21(01):17-20,27.]

## EBNA1 protein analysis of Epstein-Barr virus and expression of it in recombinant adenovirus

CHEN Yanyu<sup>1</sup>, MENG Furen<sup>1</sup>, DONG Kexin<sup>1</sup>, LIU Ruiping<sup>1</sup>, XIN Xianyun<sup>2</sup>, XUE Qingjie<sup>3</sup>, ZHANG Li<sup>4</sup> (1. College of Clinical Medical, Jining Medical University, Jining 272067, Shandong, China; 2. The Affiliated Senior High School of Jining University; 3. College of Basic Medical, Jining Medical University; 4. College of integrated traditional Chinese and western medicine, Jining Medical University)

**【Abstract】** **Objective** Epstein-Barr virus core antigen 1(EBNA1) was analyzed by bioinformatics technique and recombinant adenovirus was researched in order to lay a foundation for the development of Epstein-Barr virus-related vaccine. **Methods** The genomic and amino acid sequences of EBNA1 protein were extracted from NCBI database, the Bioinformatics Tools ProtParam, IEDB and UniProt were used to analyze the physical and chemical properties, B-cell and T-cell epitopes, and protein interaction of EBNA1, to reveal the potential application of EBNA1 protein in vaccine field, the EBNA1-pDC316 recombinant plasmid and the backbone plasmid pBHGlox (DELTA)E1, 3Cre were cotransfected into HEK 293 cells and the results of their recombinant adenovirus were identified. **Results** EBNA1 is a hydrophobic stable protein. The dominant B-cell epitopes were screened, which were at 16-27 amino acids, 33-61 amino acids and 63-75 amino acids respectively; There were two restricted dominant epitopes in CTL and two restricted dominant epitopes in Th cells, and the common amino acid regions were 11-14 and 175-183, the recombinant adenovirus was successfully constructed and expressed in HEK 293 cells. **Conclusion** The recombinant adenovirus of the EBNA1 protein, which meets vaccine candidate criteria in a number of key aspects, including physicochemical properties, immunogenicity, and sequence homology, could be used as a vaccine against Epstein-Barr virus (EBV) infection.

**【Keywords】** EBNA1 gene; Epstein-Barr virus(EBV); bioinformatics analysis; recombinant adenovirus

<sup>\*\*\*</sup>EB 病毒(Epstein-Barr virus, EBV)是一种 DNA 病毒,属于嗜 B 淋巴细胞病毒,主要通过唾液传播<sup>[1]</sup>,直径约 150~170 nm,基因组为含有约 170 kb 的双链 DNA<sup>[2]</sup>,编码的开放阅读框超过 80 个<sup>[3]</sup>。全球约 95% 的人类感染,大部分感染者无症状,以潜伏感染为主<sup>[4]</sup>。在潜伏感染的细胞中,EB 病毒基因以环状形式存在,并可整合到人类细胞染色体中<sup>[2]</sup>;EBV 与多种恶性肿瘤具有显著相关性,其中包括鼻咽癌、霍奇金淋巴瘤、伯基特淋巴瘤以及胃癌<sup>[5-6]</sup>。

**【基金项目】** 济宁医学院 2023 年度高层次科研项目培育计划(No. JYGC2023KJ017);济宁医学院大学生创新创业项目(No. cx2024228z;cx2022005z);第五批全国中医临床优秀人才研修项目(国中医药人教函[2022]1 号)。

**【通信作者】** 薛庆节, E-mail: qjxue9797@126.com  
张丽, E-mail: 153404166@qq.com

**【作者简介】** 陈彦好(2004-),女,山东烟台人,临床医学本科在读,主要研究方向:微生物分子生物学。  
E-mail: 19553760728@163.com

EBNA1 作为 EBV 感染中的关键蛋白,在所有 EBV 相关的肿瘤中持续表达。在 EB 病毒的潜伏期,EBNA1 可维持病毒基因组的稳定性、促进其复制,并调控病毒基因的转录过程<sup>[7]</sup>。EBNA1 蛋白能够刺激 CD4<sup>+</sup> T 细胞的免疫应答,CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞在维持记忆性 CD8<sup>+</sup> T 细胞的活性和反应中扮演着关键角色,对宿主免疫系统长期监控和控制 EBV 的复制至关重要<sup>[8]</sup>,这也为 EB 病毒阳性相关肿瘤的治疗奠定了基础。另外,以 EBNA1 为靶点,利用转录激活诱导剂 E1TN 破坏 EBNA1 基因能诱导 EBV 阳性的 B 淋巴细胞逐渐凋亡,而 EBV 阴性细胞则未受到任何影响<sup>[9]</sup>,其有助于基于 EBNA1 为靶点开发 EBV 相关疫苗。本研究利用生物信息学方法对 EBNA1 蛋白进行了预测分析,探讨 B 细胞和 T 细胞的抗原表位、抗原决定簇以及潜在的蛋白互作。基于这些分析结果,可为构建 EBNA1 基因重组腺病毒载体,并为 EBV 相关的疫苗开发和免疫治疗策略提供理论基础。

## 材料与方法

### 1 EBNA1 氨基酸序列及其编码基因序列的获取

获取 EBNA1 蛋白的基因组序列(ID:940620263)和氨基酸序列,查询出 EBNA1 蛋白的氨基酸组成。

### 2 EBNA1 蛋白的生物信息学分析

**2.1 蛋白质理化性质的分析** 使用在线软件 Protparam(<https://web.expasy.org/protparam>)分析 EBNA1 蛋白的理化性质,包括分子质量、氨基酸数目、等电点、氨基酸组成、分子式等。同时,利用在线软件 ProtScale(<http://web.expasy.org/scale>)分析 EBNA1 蛋白的亲水性。

**2.2 B 细胞表位预测** 采用 IEDB(Immune Epitope Database and Analysis Resource)平台进行 B 细胞表位的综合预测。通过提交目标蛋白的氨基酸序列,使用 Karplus & Schulz 方法评估序列的柔韧性,进行抗原性预测时,利用 Kolaskar & Tongaonkar 算法分析 EBNA1 蛋白,并结合 Emini 工具预测抗原表位的表面可及性。

**2.3 T 细胞表位预测** 应用 IEDB(Immune Epitope Database and Analysis Resource)([https://www.iedb.org/home\\_v3.php](https://www.iedb.org/home_v3.php))平台进行辅助性 T 淋巴细胞(Th)及细胞毒性 T 淋巴细胞(CTL)表位的预测分析。

**2.4 相互作用蛋白** 采用 UniProt 数据库(<https://www.uniprot.org/>)预测 EBNA1 的相互作用蛋白。

### 3 EBNA1-pDC316 重组质粒的构建及筛选鉴定

使用限制性内切酶 Nhe I 和 Hind III 分别对基因 EBNA1 与穿梭表达质粒 pDC316 进行双酶切,37 °C 过夜。酶切产物经琼脂糖凝胶电泳分离后,使用回收

试剂盒提纯。将经酶切的 EBNA1 基因和回收后的 pDC316 质粒利用 T4 DNA 连接酶连接,随后在 16 °C 金属浴中孵育过夜。连接产物转化至感受态细胞 *E. coli. DH5 $\alpha$* ,置于 37 °C、160 r/min 的摇床中复苏 1 h 后,筛选于含有氨苄的 LB 固体培养基。挑取形态较好的单菌落进行大量扩增培养,随后使用质粒小提试剂盒提取质粒,并将其保存在 -20 °C 备用。进行双酶切鉴定和 PCR 鉴定验证重组质粒,然后委托生物公司进行基因测序。与已知基因序列比对后,将重组质粒命名为 EBNA1-pDC316。

## 4 重组腺病毒 EBNA1-pDC316 的包装

**4.1 脂质体 DNA 转染** 在 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 的环境中,使用含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养 HEK 293 细胞至 70%~80% 的收敛度,测定质粒提取后的浓度并进行质粒转染。使用 Lipofectamine 2000 共转染 EBNA1-pDC316 重组质粒和骨架质粒 pBHGlox(delta)E1,3Cre 至 HEK 293 细胞。细胞出现肿胀、圆形、呈葡萄串状排列并脱落时,收集细胞并在 -80 °C/37 °C 反复冻融 3 次,3 000 r/min 离心 5 min 后收集上清,得到原代重组腺病毒(P0)。

**4.2 重组腺病毒的扩增** 使用 P0 代重组腺病毒接种汇合度约 80% 的正常细胞,置于 5% CO<sub>2</sub>、37 °C 恒温培养箱中进行培养,每 12 h 观察细胞生长及绿色荧光状况。待细胞变大、变圆、呈葡萄串状排列且脱落,荧光显微镜下可见绿色荧光时,收集细胞和培养液,进行三次反复冻融处理,以 3 000 r/min 的速度离心 5 min,收集上清,即可得 P1 代重组腺病毒。采用相同的方式进行传代,得到稳定的 P2 代、P3 代重组腺病毒。

## 5 蛋白的提取和鉴定

**5.1 总蛋白的提取** 收集感染重组腺病毒 EBNA1-pDC316 且生长状态符合实验要求的 HEK 293 细胞至 1.5 mL EP 管,用 PBS 缓冲液清洗后加入含 PMSF 的 RIPA 细胞裂解液,冰上裂解 30 min,4 °C、12 000 r/min 离心 15 min 后取上清作为蛋白质样品,与 5× 蛋白上样缓冲液充分混合,在煮沸的状态下加热 10 min 后存于 -80 °C 的冰箱中备用。

**5.2 SDS-PAGE 电泳** 制备 10% 分离胶和 4% 浓缩胶;浓缩胶凝固后,取蛋白质样品上样,并以转染空载体 pDC316 为对照设置对照组。将电压设定为 80 V 开始电泳,待蛋白质样品条带电泳至分离胶平面时,再将电压调至 120 V,直至样品条带接近底部。

**5.3 Western blot 检测目的蛋白** 湿法转印蛋白质至聚偏二氟乙烯(PVDF)膜上,120 V 转膜 2 h;转膜完成后进行 2 h 的封闭处理,随后依次使用抗 EBNA1 一抗和 HRP 标记的二抗孵育,曝光并观察结果。

## 结果

### 1 EBNA1 蛋白的生物信息学分析

**1.1 EBNA1 蛋白理化性质的分析** 查询出 EBNA1 蛋白的氨基酸序列为: PFFHPVGDADYFEYLQE GGPDPGEPDVPPGAIEQGPTDDPGEGPSTGPRGQG DGRRRKKGGWFGKHRGQGGSNPKFENIAEGLRV LLARSHVERTTEEGNWWVAGVFVYGGSKTSLYNL RRGIALAVPQCRTPLSRLPFGMAPGPGPQPGLR ESIVCYFMVFLQTHIFAEVLKDAIKDLVMTRPAP TCNIKVTVCSDGVDLPPWFPPMVEGAAAEGD DGDDGDEGGDGEDEEGQE。预测 EBNA1 蛋白分子式为 C<sub>1120</sub>H<sub>1701</sub>N<sub>309</sub>O<sub>351</sub>S<sub>8</sub>, 氨基酸数为 238, 由 20 种氨基酸组成, 其中天冬氨酸占 2.1%, 亮氨酸占 5.9%, 甘氨酸占 16.4%, 不含吡咯赖氨酸与硒代半胱氨酸。该蛋白分子量为 25 367.17, 原子总数为 3 489, 理论等电点 pI 为 4.55。不稳定性指数计算结果为 46.08, 表明该蛋白属于不稳定蛋白。脂肪族系数为 61.43。当蛋白 N 端的残基为 Pro 时, 该蛋白在哺乳动物网状细胞中的半衰期超过 20 h, 在酵母菌体内的半衰期也超过 20 h。EBNA1 蛋白平均疏水性为 -0.074; ProtScale 预测 S 基因编码蛋白为疏水性蛋白, 其中第 676 位氨基酸亲水性最高为 -2.767, 第 7 位氨基酸的疏水性得分最高为 3.222。

**1.2 B 细胞表位预测** 蛋白质表面的高概率抗原表位区占比高, 容易与抗体结合; 柔韧性强, 蛋白构象在与抗体结合时易发生变化。使用 IEDB 软件对 EBNA1 蛋白进行分析, 包括柔韧性、表面可及性、线性表位、β 转角、亲水性和抗原性等方面。综合分析各方面的优势筛选出 B 细胞优势表位(表 1)。分别在 16-27 位氨基酸, 33-61 位氨基酸, 63-75 位氨基酸。

序号	起始氨基酸位置	终止氨基酸位置	氨基酸序列	长度
1	16	27	QEGGPDGEPDVP	12
2	33	61	QGPTDDPGEGPSTGPRG QGDGRRRKKGGW	29
3	63	75	GKHRGQGGSNPKF	13

**1.3 T 细胞表位预测** IEDB 预测分析筛选出 27 个优势表位, 综合分析, 选出其中限制性 CTL 细胞优势表位有 2 个(表 2), 限制性 Th 细胞优势表位有 2 个(表 3), 共同氨基酸区段为 11-14、175-183 位氨基酸。

**1.4 相互作用蛋白** UniProt 数据库预测到一系列可能与 EBNA1 蛋白发生相互作用的蛋白质, 包括 BRIX1、RPF2、NIP7、FTSJ3、RSL1D1、NOC2L、RPF1、PES1、NIFK 和 BOP1。这些相互作用的蛋白

可能在 EBV 的生命周期、病毒复制、病毒粒子的形成以及宿主细胞的免疫逃逸机制中发挥了重要作用(图 1)。

表 2 EBNA1 蛋白 CTL 细胞表位分析  
Table 2 EBNA1 protein CTL cell epitope analysis

序号	MHC I 类分子亚型	氨基酸序列	起始氨基酸位置	终止氨基酸位置
1	HLA-B * 35:01	HPVGDADYF	4	12
2	HLA-A * 24:02	VYGGSKTSL	106	114

表 3 EBNA1 蛋白 Th 细胞表位分析  
Table 3 EBNA1 protein Th cell epitope analysis

序号	MHC II 类分子亚型	氨基酸序列	起始氨基酸位置	终止氨基酸位置
1	HLA-DRB1 * 01:01	YFEYLQEGGPDGEPD	11	25
2	HLA-DRB1 * 11:01	VPQCRTPLSRLPFG	125	139

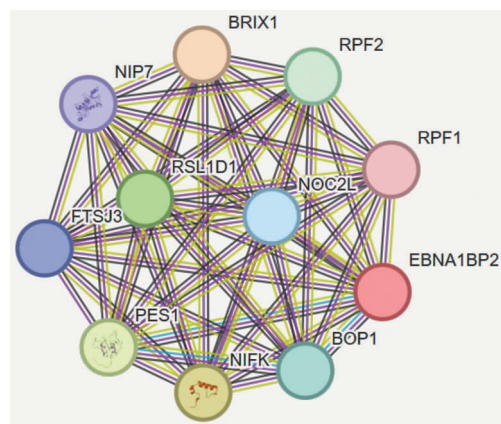
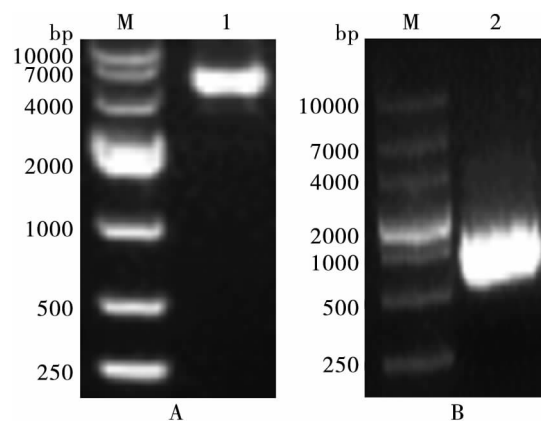


图 1 EBNA1 相互作用蛋白  
Fig. 1 Protein interactions of EBNA1

### 2 扩增与目的基因的鉴定

PCR 扩增 EBNA1(717 bp), 经过 1% 琼脂糖凝胶电泳鉴定后可发现, 目的条带的大小与理论基本一致(图 2)。

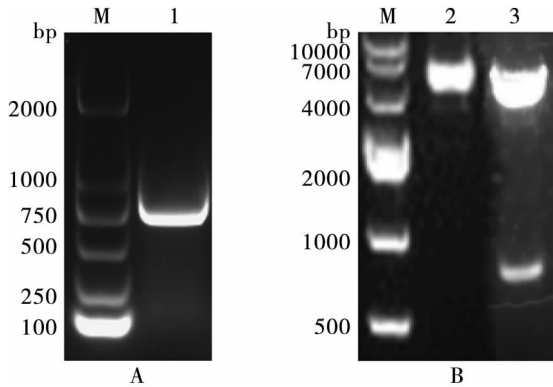


A 空载体 1% 琼脂糖凝胶电泳分析 M DNA marker (DL10000) 1 空载体 B EBNA1 基因 PCR 产物 1% 琼脂糖凝胶电泳分析

图 2 PCR 扩增 EBNA1 基因  
Fig. 2 The single gene after PCR was determined by 1% agarose gel electrophoresis

### 3 重组质粒的构建与鉴定

通过1%琼脂糖凝胶电泳对酶切片段进行分离鉴定,成功获得了碱基长度约2 000 bp和5 800 bp的目标DNA片段;以F1和R2为引物,所获得的融合质粒为模板,经1%琼脂糖凝胶电泳分析PCR扩增产物,得到的DNA片段长度约为2000bp,基本与理论值一致(图3)。

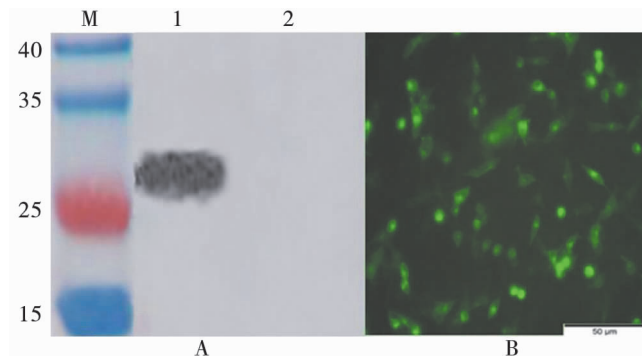


A M DNA marker(DL2000) 1 扩增融合基因产物 B M DNA marker(DL10000) 2 重组质粒 3 双酶切检测重组质粒  
图3 1%琼脂糖凝胶电泳的方法测定重叠PCR之后的基因与酶切基因  
Fig.3 Determination of genes and digested genes after overlapping PCR by 1% agarose gel electrophoresis

### 4 重组腺病毒 EBNA1-pDC316 载体的表达与鉴定

利用 Lipofectamine 2000 作为转染试剂,本研究成功实现了含有 EBNA1-pDC316 质粒与载体骨架质粒 pBHGlox(delta)E1,3Cre 的共转染至 HEK 293 细胞。在细胞发生细胞病变效率达到 70%~80%时,进行腺病毒的收集,记录细胞转染状态(图4B)。

Western blot 检测结果显示,蛋白分子质量约为 26.5 ku,与理论值相符(图4A)。经过一抗和二抗的孵育后发现,经过转染了重组质粒 EBNA1-pDC316 的细胞为抗 EBNA1 阳性,转染空载体 pDC316 的细胞无表达。



A 重组腺病毒蛋白产物的 Western blot 分析 M 蛋白质分子质量标注 1 EBNA1 基因重组腺病毒组 Western blot 结果 2 空载体重组腺病毒组 Western blot 结果 B EBNA1 基因重组腺病毒在 HEK293 细胞中的表达(36 h,200×)

图4 重组腺病毒的表达与鉴定

Fig.4 Expression and identification of recombinant adenovirus

### 讨论

EB病毒(Epstein-Barr virus,EBV)是传染性单核细胞增多症的病原体,与多种癌症和自身免疫性疾病有关<sup>[10]</sup>。每年,EB病毒相关癌症在全球造成超过20万例新癌症病例,并导致15万人死亡<sup>[11]</sup>。因此,开发有效的EBV疫苗对于预防这些疾病具有重要意义。

生物信息学方法能够客观综合地分析研究相关生物科学问题,覆盖广泛的内容,可充分利用大数据的优势,并具有一定的前瞻性和高精度性。本研究通过生物信息学技术深入分析了EB病毒的核心抗原1(EBNA1)蛋白,并成功构建了重组腺病毒表达载体。研究结果为EB病毒相关疫苗的研发提供了理论基础,而且为后期动物免疫学研究和临床治疗奠定了基础<sup>[12-14]</sup>。预测EBNA1蛋白的生物信息有利于该病毒疫苗的研究,本研究结果发现EBNA1蛋白易形成潜在的抗体表位,是一种大分子的疏水蛋白,制成疫苗有助于对抗各种因素的影响并保持其生物活性。通过对EB病毒的EBNA1蛋白的理化特性、免疫原性以及序列同源性进行了全面分析,揭示了其作为疫苗候选蛋白的潜力。预测EBNA1蛋白的B细胞和T细胞表位,为疫苗设计提供了关键的免疫学信息。

本研究成功构建的重组腺病毒载体为EBV疫苗的开发和免疫治疗策略提供了实验基础。重组腺病毒疫苗能够诱导强烈的免疫反应,包括体液免疫和细胞免疫,这对于控制EBV感染至关重要<sup>[15]</sup>。EBNA1蛋白具有良好的免疫原性,由于与人类同源性较低,不易引起交叉免疫反应;该蛋白含有6个抗原决定簇,抗原倾向指数较高,能够引发多种抗体的产生,易诱发免疫应答反应,因此可作为潜在的候选疫苗蛋白。

#### 【参考文献】

- [1] Houen G, Trier NH. Epstein-Barr virus and systemic autoimmune diseases[J]. Front Immunol,2021,11:587380.
- [2] Yin H, Qu J, Peng Q, Gan R. Molecular mechanisms of EBV-driven cell cycle progression and oncogenesis[J]. Med Microbiol Immunol,2019,208(5):573-583.
- [3] Kanda T, Yajima M, Ikuta K. Epstein-Barr virus strain variation and cancer[J]. Cancer Sci,2019,110(4):1132-1139.
- [4] 王中浩,张可依,丰姝,等. EB病毒潜伏性感染相关基因在其所致肿瘤中的作用机制[J]. 华西医学,2021,36(8):1108-1114.
- [5] Luo X, Hong L, Cheng C, et al. DNMT1 mediates metabolic reprogramming induced by Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 and reversed by grifolin in nasopharyngeal carcinoma [J]. Cell Death Dis,2018,9(6):619.
- [6] Kerr JR. Epstein-Barr virus (EBV) reactivation and therapeutic inhibitors[J]. J Clin Pathol,2019,72(10):651-658.
- [7] 唐小军. LMP1 靶向嵌合抗原受体 T 细胞对 EBV 相关恶性肿瘤杀伤作用的实验研究[D]. 南京:南京医科大学,2014.

(下转 27 页)

- [9] Pantazi AC, Mihai CM, Balasa AL, et al. Relationship between gut microbiota and allergies in children: A literature review [J]. *Nutrients*, 2023, 15(11):2529.
- [10] Wu S, Zeng L, Li W, et al. The value of multi-modes of ultrasound in evaluating segmental mucosal healing in patients with Crohn's disease [J]. *Dig Liver Dis*, 2022, 54(6):763-770.
- [11] Palmela C, Maaser C. The use of intestinal ultrasound in ulcerative colitis-more than a mucosal disease? [J]. *Gastroenterology*, 2022, 163(6):1485-1487.
- [12] Dowling LR, Strazzari MR, Keely S, et al. Enteric nervous system and intestinal epithelial regulation of the gut-brain axis [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2022, 150(3):513-522.
- [13] 范贝贝. 信号转化探针结合 EXPAR-CRISPR/Cas12a 技术现场检测肠炎沙门氏菌[D]. 吉林:吉林大学, 2024.
- [14] Giampazolias E, Pereira da Costa M, Lam KC, et al. Vitamin D regulates microbiome-dependent cancer immunity [J]. *Science*, 2024, 384(6694):428-437.
- [15] Wan F, Wang M, Zhong R, et al. Supplementation with chinese medicinal plant extracts from *Lonicera hypoglauca* and *scutellaria baicalensis* mitigates colonic inflammation by regulating oxidative stress and gut microbiota in a colitis mouse model [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2021, 11(1):798052.
- [16] Jin C, Liu J, Jin R, et al. Linarin ameliorates dextran sulfate sodium-induced colitis in C57BL/6J mice via the improvement of intestinal barrier, suppression of inflammatory responses and modulation of gut microbiota [J]. *Food Funct*, 2022, 13(20):10574-10586.
- [17] Xia Y, Hong L, Zheng J, et al. Ulcerative colitis alleviation of colon-specific delivered rhamnolipid/fullerene nanocomposites via dual modulation in oxidative stress and intestinal microbiome [J]. *J Mater Chem B*, 2023, 11(25):5882-5897.
- [18] 赵小芳, 雷丽, 彭彤彤, 等. 98 例儿童细菌性腹泻流行病学特征及 STING、TBK1 及 NF- $\kappa$ B 基因表达[J]. *中华医院感染学杂志*, 2022, 32(21):3341-3346.
- [19] Donald K, Finlay BB. Early-life interactions between the microbiota and immune system: impact on immune system development and atopic disease [J]. *Nat Rev Immunol*, 2023, 23(11):735-748.
- [20] Morales F, Montserrat-de la Paz S, Leon MJ, et al. Effects of malnutrition on the immune system and infection and the role of nutritional strategies regarding improvements in children's health status: A literature review [J]. *Nutrients*, 2023, 16(1):38201831.
- [21] Kim CS, Shin GE, Cheong Y, et al. Experiencing social exclusion changes gut microbiota composition [J]. *Transl Psychiatry*, 2022, 12(1):254.
- [22] Meng C, Feng S, Hao Z, et al. Changes in gut microbiota composition with age and correlations with gut inflammation in rats [J]. *PLoS One*, 2022, 17(3):e0265430.
- [23] 陈静. 基于调控肠道微环境的口服水凝胶系统治疗沙门氏菌性肠炎的研究[D]. 河南:郑州大学, 2023.
- [24] Hodzhev V, Dzhabazov K, Sapundziev N, et al. High-dose probiotic mix of *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., *Bacillus coagulans*, and *Saccharomyces boulardii* to prevent antibiotic-associated diarrhea in adults: A multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled Trial (SPAADA) [J]. *Open Forum Infect Dis*, 2024, 11(11):ofae615.
- [25] Mego M, Danis R, Chovanec J, et al. Randomized double-blind, placebo-controlled multicenter phase III study of prevention of irinotecan-induced diarrhea by a probiotic mixture containing *Bifidobacterium* BB-12(R) *Lactobacillus rhamnosus* LGG(R) in colorectal cancer patients [J]. *Front Oncol*, 2023, 13(1):1168654.
- [26] Choi YJ, Shin SH, Shin HS. Immunomodulatory effects of *Bifidobacterium* spp. and use of *Bifidobacterium breve* and *Bifidobacterium longum* on acute diarrhea in children [J]. *J Microbiol Biotechnol*, 2022, 32(9):1186-1194.

【收稿日期】 2025-06-24 【修回日期】 2025-09-12

(上接 20 页)

- [8] Nivedita G, Jaya G. Epstein-Barr virus latent antigens EBNA3C and EBNA1 modulate epithelial to mesenchymal transition of cancer cells associated with tumor metastasis [J]. *Tumor Biol*, 2015, 36(4):3051-3060.
- [9] Noh KW, Park J, Kang MS. Targeted disruption of EBNA1 in EBV-infected cells attenuated cell growth [J]. *BMB Rep*, 2016, 49(4):226-231.
- [10] Escalante GM, Mutsunguma LZ, Muniraju M, et al. Four decades of prophylactic EBV vaccine research: A systematic review and historical perspective [J]. *Front Immunol*, 2022, 13:867-918.
- [11] Cui X, Snapper CM. Epstein Barr virus: Development of vaccines and immune cell therapy for ebv-associated diseases [J]. *Front Immunol*, 2021, 12:734-471.
- [12] Taracha A, Kotarba G, Wilanowski T. Metody analizy fosforylacji białek [J]. *Postepy Biochem*, 2017, 63(2):137-142.
- [13] 唐艳红, 刘鹏琴, 代国知. EB 病毒致病机制研究进展 [J]. *病毒学报*, 2019, 35(2):331-336.
- [14] 闫静静, 迟晓妍, 卢佳琪, 等. SARS-CoV-2 结构蛋白 S 和 N 的生物信息学比较分析及应用研究 [J]. *中国病原生物学杂志*, 2023, 18(4):377-384.
- [15] Sun C, Kang YF, Fang XY, et al. A gB nanoparticle vaccine elicits a protective neutralizing antibody response against EBV [J]. *Cell Host Microbe*, 2023, 31(11):1882-1897.

【收稿日期】 2025-07-25 【修回日期】 2025-10-15