

DOI:10.13350/j.cjpb.230704

• 论著 •

艰难梭菌 TPI 蛋白的生物信息学分析*

李刚^{1,2}, 赵梅¹, 马红¹, 杨丹¹, 李莎莎¹, 贾伟^{1,2**}

(1. 宁夏医科大学总医院医学实验中心, 宁夏银川 750004; 2. 宁夏医科大学总医院医学科学研究院)

【摘要】 目的 利用生物信息学方法对艰难梭菌 TPI 蛋白的结构和功能进行分析并预测其优势 B 细胞以及 T 细胞抗原表位。**方法** 在 NCBI 数据库获取 TPI 蛋白的氨基酸序列; 使用 ProtParam 软件分析蛋白的理化性质; 通过 Signal 6.0 Sercer 和 TMHMM 2.0 Sercer 软件预测蛋白的信号肽及跨膜区; 采用 SOMPA 和 SWISS-MODEL 软件分析蛋白的二级结构和三级结构; 利用软件 ABCpred、IEDB 和 SYFPEITHI 预测 TPI 蛋白的优势 T、B 细胞表位。**结果** TPI 蛋白由 247 个氨基酸组成, 理论 pI 值 5.05; 归类于稳定蛋白质, 属于亲水性蛋白; 不含信号肽序列及跨膜结构域; 蛋白的二级结构中 α 螺旋占 52.63%, 延伸链占 15.38%, β 转角占 7.69%, 无规卷曲占 24.29%; 预测该蛋白含有多个优势 B 细胞及 T 细胞表位。**结论** 通过生物学信息的方法预测艰难梭菌 TPI 蛋白含有多个潜在的 B 细胞及 T 细胞抗原表位, 为艰难梭菌感染的血清学诊断和亚单位疫苗的研制提供了理论基础。

【关键词】 艰难梭菌; TPI 蛋白; 生物信息学分析; 抗原表位

【中图分类号】 R378

【文献标识码】 A

【文章编号】 1673-5234(2023)07-0765-05

[Journal of Pathogen Biology. 2023 Jul;18(7):765-769,776.]

Bioinformatics analysis and epitope prediction of tpi protein of *Clostridioides difficile*

LI Gang^{1,2}, ZHAO Mei¹, MA Hong¹, YANG Dan¹, LI Shasha¹, JIA Wei^{1,2} (1. General Hospital of Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, Ningxia, China; 2. Institute of Medical Sciences, General Hospital of Ningxia Medical University)

【Abstract】 Objective To analyze the B cell and T cell epitope of TPI protein from *Clostridioides difficile* using bioinformatics methods, thereby predicting its physicochemical properties and the structure of proteins. **Methods** The amino acid sequence of TPI protein from *C. difficile* was obtained from the NCBI database. The physical and chemical properties of TPI protein were analyzed by using ProtParam online software. The signal peptide and transmembrane structural domains of TPI protein were predicted using Signal 6.0 and TMHMM sever 2.0 software. The secondary structure of the protein was analyzed by online software SOMPA. The tertiary structure of TPI protein was constructed using SWISS-Model online software. The online software ABCpred and IEDB were used to predict B cell epitopes. T cell epitopes were analyzed by online prediction software SYFPEITHI. **Results** TPI protein is composed of 247 amino acids. It's a hydrophilic protein. It does not contain signal peptide sequence and transmembrane domain. The secondary structure of TPI protein was analyzed by SOMPA online software, α -helix for 52.63%, extenede strands for 15.38, β -turns for 7.69%, random coils for 24.29%. Several dominant B cell and T cell epitopes were predicted. **Conclusion** The B cell and T cell epitopes of *C. difficile* TPI protein can be predicted by biological information method, which provides a theoretical basis for the serological diagnosis and subunit vaccine research of disease.

【Key words】 *Clostridioides difficile*; TPI protein; bioinformatics analysis; epitope

***艰难梭菌(*Clostridioides difficile*)是一种革兰阳性苛养厌氧菌,有芽孢,无荚膜,分离培养困难^[1-2],可定植于人或动物的肠道。艰难梭菌是一种能引起人类腹泻的重要病原体,由艰难梭菌产毒菌株所致的感染称为艰难梭菌感染(*C. difficile* infection, CDI)。受抗生素的广泛使用、有创操作、化疗及人口老龄化等因素影响,CDI 的发病率及致死率呈逐年上升趋势^[3-4]。艰难梭菌是唯一引起院内和社区获得性感染的厌氧菌,目前临床上约 10%~25% 的抗生素相关性腹泻(Antibiotic-associated diarrhea, AAD)以及 90%~100% 的伪膜性肠炎(Pseudomembranous colitis,

PMC)由 CDI 引起,CDI 是院内获得性细菌感染及胃肠炎症相关死亡的首要原因,其感染率已经超过了耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)^[5-7]。CDI 的高发

* **【基金项目】** 宁夏自然科学基金项目(No. 2021AAC05020);宁夏回族自治区重点研发计划项目(No. 2021BEG03090)。

** **【通讯作者】** 贾伟, E-mail: jiawei@nyfy.com.cn

【作者简介】 李刚(1982-),男,陕西省洛川县人,硕士研究生,副主任技师,主要从事病原微生物快速鉴定和致病机制方面的研究。E-mail: ligang@nyfy.com.cn

病率和高致死率已受到高度重视,预防和治疗 CDI 是全球面临的公共卫生的重大挑战性之一。目前我国对 CDI 的认识还不够充分,对艰难梭菌产毒株的检测能力和 CDI 的治疗方法仍然有限^[8]。

磷酸丙糖异构酶(triosephosphate-isomerase, TPI)是一种糖酵解酶,催化磷酸二羟丙酮与 3-磷酸甘油醛之间的可逆反应,在梭菌糖酵解、脂肪酸合成、糖原异生和戊糖代谢中均发挥重要作用。TPI 是艰难梭菌特异性蛋白,其编码基因是艰难梭菌区别于其他细菌的特异性基因,具有高度特异性,通过检测 TPI 基因可鉴定标本中的艰难梭菌^[9-14]。

目前对 CDI 的诊断率较低,亟需能够早期、快速、准确诊断该病的检测方法,从而实现早期治疗,以减少住院时间,降低病死率^[8]。近年来利用生物信息学技术筛选抗原,对抗原表位等进行预测,可提高特异性抗原筛选的效率^[15]。本研究利用生物信息学方法对艰难梭菌 TPI 蛋白进行分析,旨在了解其在 CDI 免疫诊断中的价值。

材料与方法

1 艰难梭菌 TPI 蛋白的氨基酸序列

通过美国国家生物技术信息中心网站(National Center for Biotechnology Information, NCBI)检索并获取艰难梭菌 TPI 蛋白的氨基酸序列。

2 TPI 蛋白的生物信息学分析

2.1 理化性质预测 利用在线预测软件 EXpasy 的工具 ProtParam (<http://web.expasy.org/prot-param/>)对艰难梭菌 TPI 蛋白的氨基酸组成、分子质量、理论等电点、原子的组成、不稳定系数及亲疏水性等理化性质分析。

2.2 信号肽及跨膜区预测 通过信号肽在线分析系统 Signal 6.0 Sercer (<http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/>)及跨膜区预测软件 TMHMM 2.0 Sercer (<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/>)分析 TPI 蛋白的信号肽及其位置和跨膜区。

2.3 空间结构预测 利用 Prabi 在线服务评价软件的(https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/SOMPAnpsa_automat.pl/page=npsa_sopma.html)分析 TPI 蛋白的 α 螺旋、 β -转角、无规卷曲等二级结构;使用 SWISS-MODEL(<https://www.swissmodel.expasy.org/interactive>)在线服务器对蛋白进行三级结构同源性建模分析。

2.4 B、T 细胞表位预测 使用在线预测软件 ABCpred (<http://crdd.osdd.net/raghava/abcpred/index.html>)及 IEDB(<http://www.iedb.org/>)综合预测 TPI 蛋白的优势 B 细胞表位;使用在线预测软件

SYFPEITHI(<http://www.syfpeithi.de/>)分析 TPI 蛋白的优势 T 细胞表位。

结果

1 艰难梭菌 TPI 蛋白的氨基酸序列

TPI 蛋白 GenBank 登录号为 VHV44345.1,全长为 247 个氨基酸。将 TPI 蛋白的登录号(VHV44345.1)输入 NCBI 获得蛋白的具体氨基酸组成(图 1)。

triosephosphate isomerase [Clostridioides difficile]

GenBank: VHV44345.1

[GenPept](#) [Identical Proteins](#) [Graphics](#)

```
>VHV44345.1 triosephosphate isomerase [Clostridioides difficile]
MRKPIIAGNWKMHKTIKEALEFVNEVKDKVNSDKVEAVICAPFTLLKDLKEATKGTNIKIGAGNMHFEK
GAFTGEVSPMLKEIDMDYVYVIGHSERRQYFNETDETNNKVLKALEVGIDPILCVGETLEQREAGKTKD
VCKVQVEKALENLKDDLKVVVAYEPIWAGTGKTATAEDANDVISYIREVIGLYGELANEVRIQYGG
SVKPSNVAEIMGQSDIDGALVGGASLASNDYLDLVNF
```

图 1 TPI 蛋白的氨基酸序列

Fig. 1 Amino acid sequence of TPI protein

2 TPI 蛋白的理化性质

预测 TPI 蛋白由 247 个氨基酸组成,相对分子质量单位为 27.19418×10^3 ,理论 pI 值 5.05;含有 40 个强酸性(-)氨基酸(Asp+Glu),31 个强碱性(+)氨基酸(Arg+Lys);半衰期为 30 h(mammalian reticulocytes, *in vitro*) > 20h(yeast, *in vivo*) > 10h(*Escherichia coli*, *in vivo*);分子式为 $C_{1206}H_{1949}N_{317}O_{376}S_9$,由 3 857 个原子组成;TPI 蛋白的不稳定指数为 17.17,归类为稳定蛋白;脂肪指数 97.04,平均亲水系数(GRAVY)为-0.206,属于亲水性蛋白。

3 TPI 蛋白的信号肽及跨膜结构域

运用信号肽预测软件 Signal 6.0 Sercer 对 TPI 蛋白进行分析,该蛋白无信号肽(图 2);利用 TMHMM 2.0 Sercer 软件预测 TPI 蛋白无跨膜区结构(图 3)。表明 TPI 蛋白为非跨膜蛋白。

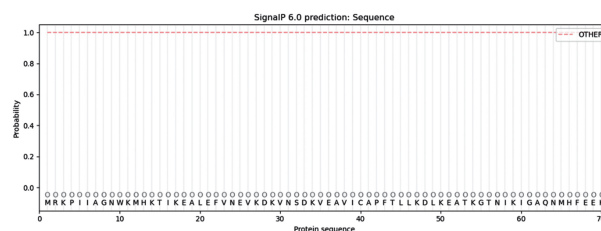


图 2 TPI 蛋白的信号肽预测

Fig. 2 Prediction of signal peptide of TPI protein

4 TPI 蛋白的空间结构

4.1 二级结构 利用 SOMPA 在线软件对 TPI 蛋白的二级结构进行预测,结果如图 4。其中 α 螺旋占 52.63%,延伸链占 15.38%, β -转角占 7.69%,无规卷曲占 24.29%。

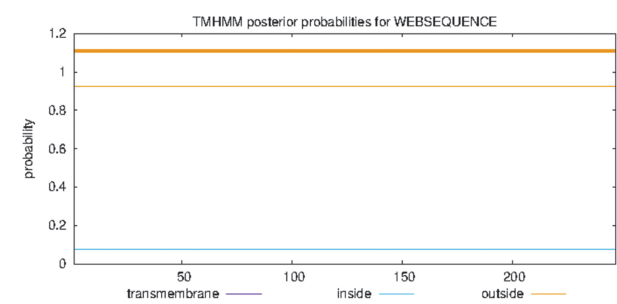
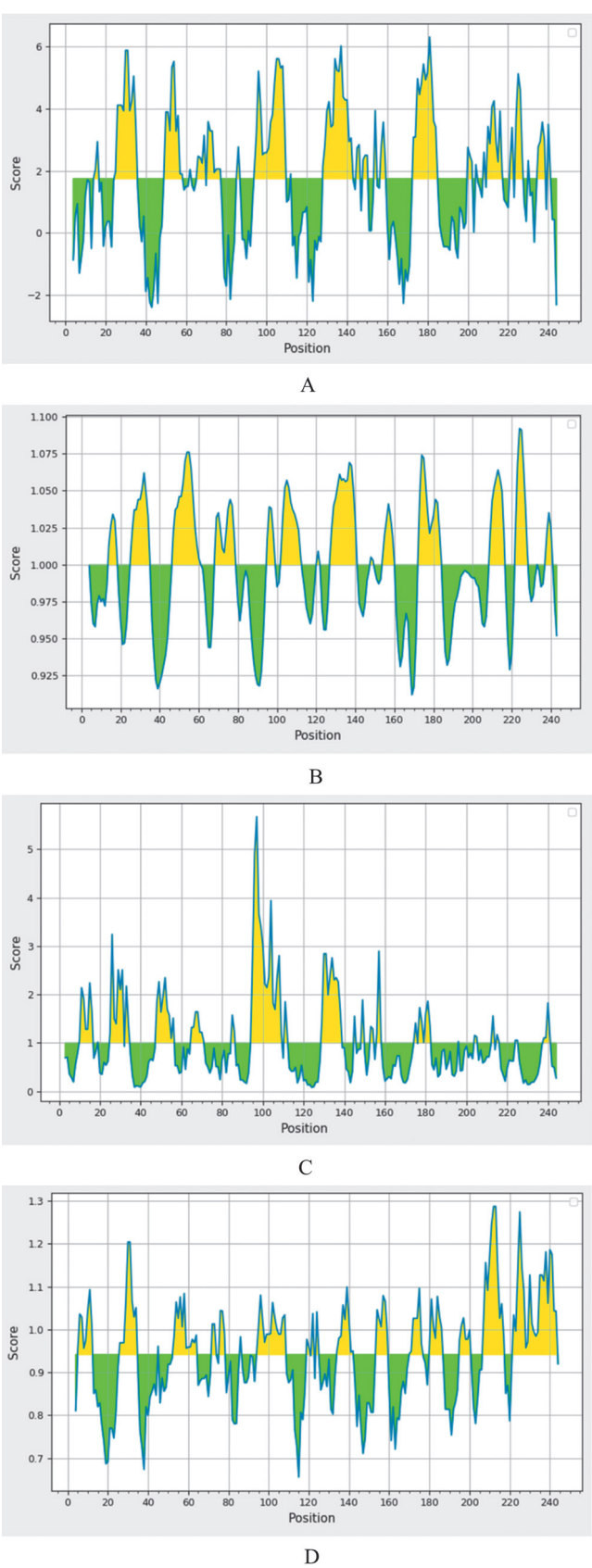


图 3 TPI 蛋白的跨膜区结构预测
Fig. 3 Prediction of transmembrane domains of TPI protein



图 4 TPI 蛋白的二级结构预测
Fig. 4 Secondary structure prediction of TPI protein

4.2 亲水性、柔韧性、表面可及性、 β -转角分别使用预测工具 IEDB 的 Parker Hydrophilicity Prediction、Karplus & Schulz Flexibility Prediction、Emini Surface Accessibility Prediction 以及 Chou & Fasman Beta-Turn Prediction 对 TPI 蛋白的亲水性、柔韧性、表面可及性和 β -转角进行预测,结果见图 5。横坐标代表蛋白氨基酸定位,纵坐标代表预测分数,其中高于设定阈值的区域显示为黄色。图中亲水性指数最小-2.400,最大 6.314,平均 1.748;柔韧性指数最小 0.912,最大 1.092,平均 1.748;表面可及性指数最小 0.083,最大 5.674,平均 1.000;柔韧性指数最小 0.656,最大 1.287,平均 0.942。



A 亲水性分析 B 柔韧性分析 C 表面可及性分析 D β -折叠分析
图 5 TPI 蛋白的亲水性、柔韧性、表面可及性、 β -折叠预测
A hydrophilic analysis B flexibility analysis C surface accessibility analysis D β -folding analysis
Fig. 5 Prediction of hydrophilic flexible surface accessibility β -folding for tp TPIprotein

4.3 三级结构 采用 SWISS-Model 在线软件,通过与数据库中已有蛋白进行序列比对,选择同源性最高的模板 4y8f.1.A 进行建模,预测结构如图 6。TPI 蛋白的预测结构与模板覆盖率为 61.13%。该模型 GMQE 评分为 0.88, QMEAN 评分为 -0.36。

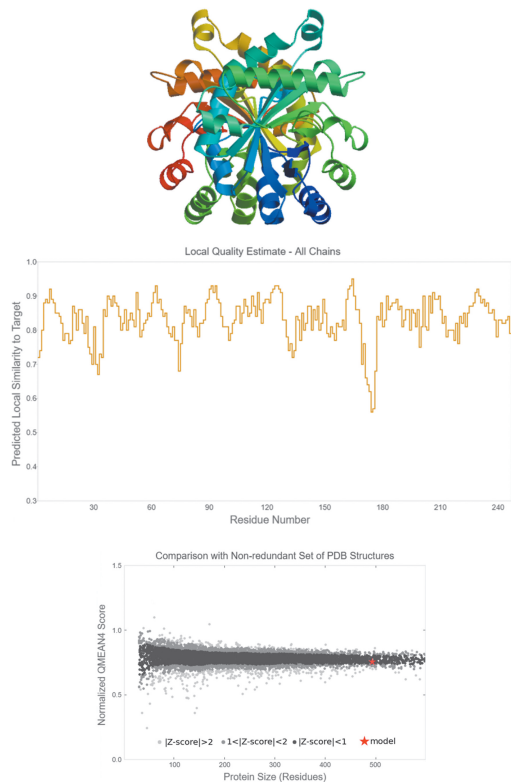


图 6 TPI 蛋白的三级结构预测
Fig. 6 Tertiary structure prediction of TPI protein

5 TPI 蛋白的抗原表位

5.1 B 细胞抗原表位 应用 ABCpred 软件对 TPI 蛋白的 B 细胞抗原表位进行预测,设置阈值为 0.51 后共得到 21 条 B 细胞表位,其中评分大于 0.85 的表位有 7 条,分别为 13aa-28aa, 95aa-110aa, 171aa-186aa, 223aa-238aa, 165aa-180aa, 89aa-104aa, 2aa-17aa。利用在线软件 IEDB 的 Bepipred Linear Epitope Prediction 2.0 对 TPI 蛋白的 B 细胞抗原表位进行分析,共预测出 11 条 B 细胞表位,其中长度 > 6aa 的有 5 条,分别为 14aa-20aa, 96aa-109aa, 130aa-139aa, 172aa-182aa, 194aa-202aa。将优势表位表位进一步用线软件 VaxiJen2.0 对其抗原性进行评估,最终结果显示预测表位数量均为 4 个(表 1)。

5.2 T 细胞抗原表位

5.2.1 CD8⁺T 细胞表位 通过 SYFPEITHI 在线程序对 TPI 蛋白的 T 细胞抗原表位进行预测分析,选择等位基因 HLA-A * 0201 预测 CTL 细胞抗原表位,选用长度为 9 个氨基酸进行分析,设定阈值为 23,筛选出表位肽共 7 条,分别为 153aa-161aa, 188aa-196aa,

115aa-123aa, 15aa-23aa, 18aa-26aa, 192aa-200aa, 228aa-236aa。将预测的 T 细胞表位应用 VaxiJen2.0 软件评估抗原性,最终确定 2 个 CTL 细胞优势表位(表 2)。

表 1 TPI 蛋白 B 细胞表位预测
Table 1 Prediction results of B cell epitopes of tpi protein

方法 Method	位置 Location	序列 Sequence
ABCpred	95-110	SERRQYFNETDETVNK
	171-186	IGTGKTATAEDANDVI
	223-238	QSDIDGALVGGASLAS
	165-180	YEPIWAIGTGKTATAE
IEDB	96-109	ERRQYFNETDETVN
	130-139	LEQREAGKTK
	172-182	GTGKTATAEDA
	194-202	KGLYGELAN

表 2 TPI 蛋白的 HLA-A * 0201 限制性 CD8⁺T 细胞表位
Table 2 HLA-A * 0201 restricted CD8⁺T cell epitope of tpi protein

序号 Order	位置 Location	序列 Sequence	分数 Score
1	115-123	ALEVGIDPI	25
2	228-236	GALVGGASL	23

5.2.2 CD4⁺T 细胞表位 分别选择等位基因 HLA-DRB1 * 0401 和 HLA-DRB1 * 0701 预测 Th 细胞抗原表位,选用长度为 15 个氨基酸进行分析,阈值分别设定为 22 和 24。其中,预测 HLA-DRB1 * 0401 的表位共有 9 条,分别为 70aa-84aa, 151aa-165aa, 165aa-179aa, 19aa-33aa, 86aa-101aa, 97aa-111aa, 162aa-176aa, 185aa-199aa, 194aa-208aa; 预测 HLA-DRB1 * 0701 的表位共有 7 条,为 109aa-123aa, 143aa-157aa, 70aa-84aa, 158aa-172aa, 9aa-23aa, 97aa-111aa, 151aa-165aa。将预测出的 T 细胞表位应用 VaxiJen2.0 软件评估抗原性,最终确定 4 个 HLA-DRB1 * 0401 的 Th 细胞优势表位和 2 个 HLA-DRB1 * 0701 的 Th 细胞优势表位(表 3, 表 4)。

表 3 TPI 蛋白的 HLA-DRB1 * 0401 限制性 CD4⁺T 细胞表位
Table 3 HLA-DRB1 * 0401 restricted CD4⁺T cell epitope of tpi protein

序号 Order	位置 Location	序列 Sequence	分数 Score
1	165-179	YEPIWAIGTGKTATA	26
2	86-101	DMDYVVIGHSERRQY	22
3	97-111	RRQYFNETDETVNKK	22
4	162-176	VVAYEPIWAIGTGKT	22

表 4 TPI 蛋白的 HLA-DRB1 * 0701 限制性 CD4⁺T 细胞表位
Table 4 HLA-DRB1 * 0701 restricted CD4⁺T cell epitope of tpi protein

序号 Order	位置 Location	序列 Sequence	分数 Score
1	109-123	NKKVLKALEVGIDPI	28
2	97-111	RRQYFNETDETVNKK	24

讨 论

21世纪以来,CDI的发病率和疾病严重程度在全球范围内呈上升趋势,尤其是艰难梭菌强毒株(BI/NAP1/027毒素Ⅲ型)的出现和暴发流行,使得艰难梭菌成为感染相关的重要病原菌之一^[16]。因此,快速、特异、敏感检测方法的建立以及安全高效疫苗的研制成为热点。在艰难梭菌产生的毒素中,已知毒素A和B是主要的致病因素,但可能的毒素远不止这些蛋白,还有些未知的毒素存在^[17],无论其毒力如何变化,迄今为止TPI是公认的艰难梭菌特异蛋白。TPI基因是艰难梭菌的看家基因,是艰难梭菌区别其他细菌的特异性基因,具有高度特异性,可应用于临床标本中艰难梭菌的快速筛选检测^[18-19]。

随着生命科学的发展,生物信息学已成为科学研究中重要的一环。生物信息学技术可应用于蛋白质组学、转录组学和基因组学等多项生命科学研究领域,生物信息学分析为进一步了解蛋白质的功能提供了数据支撑^[20]。截至目前,生物信息学已广泛用于药物的设计和开发,抗原表位的预测以及蛋白质结构的预测等方面。随着研究的深入,越来越多的数据库建立并提供使用,利用生物信息学的方法筛选抗原表位成为了可能^[21]。

本研究基于在线生物信息学软件对艰难梭菌TPI蛋白进行分析。结果显示,TPI蛋白由247个氨基酸组成,在溶液中是理论等电点为5.05的稳定蛋白,属于亲水性蛋白。无信号肽和跨膜区域。蛋白质的二级结构与表位分布关系密切,无规则卷曲和转角是构成抗原的重要因素,无规则卷曲是蛋白质肽链中受体和配体相结合的区域,其空间构象的改变易受侧链影响,也是蛋白发挥功能的重要部位^[22]。本研究分析显示TPI蛋白的 α 螺旋占52.63%,延伸链占15.38%, β -转角占7.69%,无规卷曲占24.29%。通过二级结构预测与三级结构建模,可见蛋白存在多个无规则卷曲结构,这有利于其与抗体的嵌合。利用ABCpred和IEDB等数据库对B细胞线性表位进行分析,排除位于 α 螺旋和 β 折叠区域的表位,预测的B细胞表位分别为95aa-110aa,171aa-186aa,223aa-238aa,165aa-180aa和96aa-109aa,130aa-139aa,172aa-182aa,194aa-202aa。这些B细胞表位与抗原指数较高、亲水性较强的区域相互对应。T细胞主要由CTL和Th细胞组成,其中与MHC I类分子结合的内源性抗原肽由CTL识别,与MHC II类分子结合的外源性抗原肽则由Th细胞识别。预测抗原表位在疾病机制和免疫学检测诊断的研究等方面有重要意义。本研究利用SYFPEITHI软件对T细胞表位进行预测分析,最终

筛选出2条HLA-A*0201限制性CTL表位115aa-123aa和228aa-236aa,确定4条HLA-DRB1*0401的Th细胞优势表位和2条HLA-DRB1*0701的Th细胞优势表位,分别为165aa-179aa,86aa-101aa,97aa-111aa,162aa-176aa和109aa-123aa,97aa-111aa。

蛋白质的结构决定功能,对蛋白质结构进行研究可为解析蛋白质的功能提供依据。本研究针对艰难梭菌TPI蛋白的功能和结构进行了预测分析,可为艰难梭菌感染的血清学诊断和亚单位疫苗的研制提供理论基础。

【参考文献】

- [1] Chandrasekaran R, Lacy DB. The role of toxins in *Clostridium difficile* infection[J]. FEMS Microbiol Rev, 2017, 41(6): 723-750.
- [2] 王建霞,陈晓玲,李可可,等. 艰难梭菌毒素A的可溶性表达及抗原性分析[J]. 微生物学免疫学进展, 2022, 50(5): 40-44.
- [3] 徐英春,张曼. 中国成人艰难梭菌感染诊断和治疗专家共识[J]. 协和医学杂志, 2017, 8(2): 8.
- [4] Loo VG, Poirier L, Miller MA, et al. A predominantly clonal multi-institutional outbreak of *Clostridium difficile*-associated diarrhea with high morbidity and mortality[J]. N Engl J Med, 2005, 353: 2442-2449.
- [5] Lessa FC, Mu Y, Bamberg WM, et al. Burden of *Clostridium difficile* infection in the United States[J]. N Engl J Med, 2015, 372(9): 825-834.
- [6] Eggertson L. Hospitals to report *C. difficile* and MRSA[J]. CMAJ, 2007, 176(10): 1402-1403.
- [7] Voelker R. Increased *Clostridium difficile* virulence demands new treatment approach[J]. JAMA, 2010, 303(20): 2017-2019.
- [8] 季欣欣,孟秀娟,任南,等. 艰难梭菌感染的诊断及治疗研究进展[J]. 中国感染控制杂志, 2019, 18(6): 600-606.
- [9] Wilcox MH. Cleaning up *Clostridium difficile* infection[J]. Lancet, 1996, 348: 767-768.
- [10] Karlström O, Fryklund B, Tullus K, et al. A prospective nationwide study of *Clostridium difficile*-associated diarrhea in Sweden. The Swedish *C. difficile* Study Group[J]. Clin Infect Dis, 1998, 26: 141-145.
- [11] Surawicz CM, McFarland LV. Pseudomembranous colitis: causes and cures[J]. Digestion, 1999, 60: 91-100.
- [12] Ruiz-Pelaez JG, Mattar S. Accuracy of fecal lactoferrin and other stool tests for diagnosis of invasive diarrhea at a Colombian pediatric hospital[J]. Pediatr Infect Dis J, 1999, 18: 342-346.
- [13] Vaishnavi C, Thapa BR, Thennarasu K, et al. Faecal lactoferrin assay as an adjunct to *Clostridium difficile* diarrhea[J]. Indian J Pathol Microbiol, 2002, 45: 69-73.
- [14] Samie A, Obi CL, Barrett LJ, et al. Prevalence of *Campylobacter* species, *Helicobacter pylori* and *Arcobacter* species in stool samples from the Venda region, Limpopo, South Africa: studies using molecular diagnostic methods[J]. J Infect, 2006, 54: 558-566.

(下转 776 页)

- tion in hydatid cyst fluids from fertile and infertile human and animal *Echinococcus granulosus* [J]. Parasite, 2001, 8(4): 343-348.
- [17] 姚民一, 肖树华, 冯建军, 等. 甲苯达唑对小鼠细粒棘球蚴囊壁与囊液的游离氨基酸成分的影响(英文)[J]. 中国药理学报, 1994, 15(6): 43-46.
- [18] Novak M, Modha A, Blackburn BJ. Metabolic alterations in organs of *Meriones unguiculatus* infected with *Echinococcus multilocularis* [J]. Comp Biochem Physiol B, 1993, 105(3-4): 517-521.
- [19] Zhu M, Du X, Xu H, et al. Metabolic profiling of liver and faeces in mice infected with echinococcosis [J]. Parasit Vectors, 2021, 14(1): 324.
- [20] Hemphill A, Stadelmann B, Rufener R, et al. Treatment of echinococcosis: albendazole and mebendazole—what else? [J]. Parasite, 2014, 21: 70.
- [21] Ahmadnia S, Moazeni M, Mohammadi-Samani S, et al. *In vivo* evaluation of the efficacy of albendazole sulfoxide and albendazole sulfoxide loaded solid lipid nanoparticles against hydatid cyst [J]. Exp Parasitol, 2013, 135(2): 314-319.
- [22] Gottstein B, Soboslay P, Ortona E, et al. Immunology of Alveolar and Cystic Echinococcosis (AE and CE) [J]. Adv Parasitol, 2017, 96: 1-54.
- [23] Stettler M, Rossignol JF, Fink R, et al. Secondary and primary murine alveolar echinococcosis: combined albendazole/nitazoxanide chemotherapy exhibits profound anti-parasitic activity [J]. Int J Parasitol, 2004, 34(5): 615-624.
- [24] Garg M, Chawla S, Prasad K N, et al. Differentiation of hydatid cyst from cysticercus cyst by proton MR spectroscopy [J]. NMR Biomed, 2002, 15(5): 320-326.
- [25] 刘川川, 樊海宁, 马兰, 等. 棘球绦虫和其它寄生性绦虫乙酰胆碱酯酶和烟碱型乙酰胆碱受体作为潜在药物靶点的研究进展 [J]. 中国人兽共患病学报, 2019, 35(12): 1122-1129.
- [26] 宋丹军, 潘家琪, 李鹏旭, 等. 溶血磷脂酰胆碱在肝脏疾病中的研究进展 [J]. 中国药理学通报, 2014, 30(12): 1642-1646.
- [27] 郑梦凝, 叶贤伟. 血嗜酸性粒细胞增多症与寄生虫感染 [J]. 中国实用内科杂志, 2021, 41(12): 1007-1011.
- [28] Garcia-Llamazares JL, Alvarez-De-Felipe AI, Redondo-Carda PA, et al. *Echinococcus granulosus*: membrane permeability of secondary hydatid cysts to albendazole sulfoxide [J]. Parasitol Res, 1998, 84(5): 417-420.
- [29] Lacey E. Mode of action of benzimidazoles [J]. Parasitol Today, 1990, 6(4): 112-115.
- [30] Perez-Serrano J, Denegri G, Casado N, et al. *In vivo* effect of oral albendazole and albendazole sulphoxide on development of secondary echinococcosis in mice [J]. Int J Parasitol, 1997, 27(11): 1341-1345.
- [31] Naguleswaran A, Spicher M, Vonlaufen N, et al. *In vitro* meta-cestodocidal activities of genistein and other isoflavones against *Echinococcus multilocularis* and *Echinococcus granulosus* [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2006, 50(11): 3770-3778.
- [32] 宋戈. 肝泡型包虫病患者血清代谢组学研究 [D]. 青海大学, 2017.
- [33] Griffin JL. Twenty years of metabonomics; so what has metabonomics done for toxicology? [J]. Xenobiotica, 2020, 50(1): 110-114.
- [34] Muzhabaier M, Zheng HY, Ya FL, et al. *In vitro* effects of the mammalian target of rapamycin inhibitor deforolimus on *Echinococcus granulosus* protoscoleces [J]. J Pathogen Biol, 2017.
- [35] Muhedier M, Li J, Liu H, et al. Tacrolimus, a rapamycin target protein inhibitor, exerts anti-cystic echinococcosis effects both *in vitro* and *in vivo* [J]. Acta Trop, 2020, 212: 105708.
- [36] 赵辉, 刘辉. 细粒棘球绦虫 PI3K P110 亚基酪氨酸激酶区蛋白原核表达及其多克隆抗体制备 [J]. 新疆医科大学学报, 2016, 39(05): 569-572.
- [37] 李锦田, 马瑞丽, 吕国栋, 等. 细粒棘球绦虫蛋白激酶 B AKT2 的生物信息学及系统发育树分析 [J]. 中国病原生物学杂志, 2020, 15(12): 1411-1416, 1421.

【收稿日期】 2023-01-11 【修回日期】 2023-03-25

(上接 769 页)

- [15] Saha S, Raghava GP. Prediction of continuous B-cell epitopes using recurrent neural network [J]. Proteins, 2006, 65(1): 40-48.
- [16] 杨晶雪, 倪孟颖, 吴长德. 艰难梭菌毒素功能区的免疫原性及其疫苗应用的研究进展 [J]. 现代畜牧兽医, 2014, 312(11): 46-50.
- [17] 刘俊枫, 李刚, 臧一铭, 等. 宁夏地区临床腹泻患者艰难梭菌感染及危险因素 [J/OL]. 中华医院感染学杂志, 2022(24): 3687-3691.
- [18] Rahmati A, Gal M, Northey G, et al. Subtyping of *Clostridium difficile* polymerase chain reaction (PCR) ribotype 001 by repetitive extragenic palindromic PCR genomic finger-printing [J]. J Hosp Infect, 2005, 60: 56-60.
- [19] 惠亮亮. 腹泻患者艰难梭菌 TPI 蛋白表达的临床研究及机制初探 [D]. 南京: 南京医科大学, 2017.
- [20] 王姝懿, 李建云, 胡艳红, 等. 鼠疫耶尔森菌 Chro392 基因的生物信息学分析及抗原表位预测 [J]. 中国病原生物学杂志, 2022, 17(3): 303-307.
- [21] 肖静, 曲晨, 赵嘉庆. 细粒棘球绦虫抗原 Fis1 的生物信息学分析 [J]. 中国病原生物学杂志, 2022, 17(2): 191-194.
- [22] Jahangiri F, Jalallou N. Analysis of Apical Membrane Antigen (AMA)-1 characteristics using bioinformatics tools in order to vaccine design against *Plasmodium vivax* [J]. Infect Gene Evol, 2019(71): 224-231.

【收稿日期】 2023-02-13 【修回日期】 2023-05-03