

DOI:10.13350/j.cjpb.230707

• 论著 •

结核分枝杆菌 Rv0824c 基因编码蛋白的生物信息学分析*

刘畅¹, 冯敏¹, 王晓强², 席志阳², 苏继营², 伊正君², 付玉荣^{1**}

(1. 潍坊医学院基础医学院, 山东潍坊 261053; 2. 潍坊医学院医学检验学院)

【摘要】 **目的** 采用生物信息学方法分析结核分枝杆菌的 Rv0824c 基因及其编码的 DesA1 蛋白结构和功能。 **方法** 自 NCBI 网站获取 Rv0824c 基因及 DesA1 蛋白的基本信息; 使用 ProtParam、ProtScale 和 ProtCompB 预测 DesA1 蛋白的理化性质、亲疏水性和亚细胞定位; 使用 SignalP Server v. 4. 0、TMHMM Server v. 2. 0、NetNGlyc 1. 0 server 和 NetPhos Server v. 3. 1 预测 DesA1 蛋白的信号肽、跨膜结构、糖基化及磷酸化位点; 使用 SOPMA 和 SWISS MODEL 预测 DesA1 蛋白的二级结构并构建该蛋白的三级结构模型; 使用 ABCpred 和 SYFPEITHI 预测 DesA1 蛋白的抗原表位; 使用 MEGA 软件构建系统发育树; 使用 STRING 数据库预测 DesA1 的相互作用蛋白及相关功能。 **结果** Rv0824c 基因全长 1 017 bp, 编码的 DesA1 蛋白氨基酸数为 338, 分子式为 C₁₇₂₃H₂₆₉₄N₄₉₀O₅₀₃S₁₄, 等电点 (pI) 为 6. 21, 平均亲水性系数为 -0. 461, 预测其为亲水性蛋白, 亚细胞可能定位于细胞壁或细胞质。 DesA1 蛋白无跨膜结构、信号肽和糖基化位点, 有 20 个磷酸化位点; 二级结构包含 66. 86% 的 α -螺旋 (Hh), 2. 96% 的 β -折叠 (Ee), 5. 03% 的 β -转角 (Tt), 25. 15% 无规则卷曲 (Cc)。 DesA1 蛋白含有 34 个 B 细胞抗原, 15 个 T 细胞优势抗原。 系统进化树显示其与卡内特分枝杆菌 (*Mycobacterium canettii*) DesA1 蛋白具有最大同源性; 其互作蛋白为 Fas、DesA2、DesA3、Ppdk、NrdZ、NrdE、NrdL、Pks13、Dus 及 Rv3230c 蛋白, 主要参与脂质代谢过程。 **结论** 生物信息学方法预测 DesA1 为亲水性蛋白, 具有多个潜在的 B、T 细胞抗原表位, 能够磷酸化并与多种蛋白相互作用, 有可能成为研发结核病疫苗的候选蛋白。

【关键词】 结核分枝杆菌; Rv0824c; DesA1 蛋白; 生物信息学分析

【中图分类号】 R378. 91

【文献标识码】 A

【文章编号】 1673-5234(2023)07-0782-05

[Journal of Pathogen Biology. 2023 Jul;18(7):782-786,792.]

Bioinformatics analysis of DesA1 protein of *Mycobacterium tuberculosis*

LIU Chang¹, FENG Min¹, WANG Xiaoqiang², XI Zhiyang², SU Jiying², YI Zhengjun², FU Yurong¹

(1. School of Basic Medical Sciences, Weifang Medical University, Weifang 261053, Shandong, China; 2. School of Medical Laboratory, Weifang Medical University) ***

【Abstract】 **Objective** To analyze the structure and function of *Mycobacterium tuberculosis* Rv0824c gene and its encoding DesA1 protein by bioinformatics method. **Methods** The basic information of Rv0824c gene and DesA1 protein was obtained from NCBI website. ProtParam, ProtScale and ProtCompB were used to predict the physicochemical properties, hydrophobicity and subcellular localization of DesA1 protein; SignalP Server v. 4. 0, TMHMM Server v. 2. 0, NetNGlyc 1. 0 server and NetPhos Server v. 3. 1 were applied to predict signal peptides, transmembrane structures, glycosylation and phosphorylation sites of DesA1 protein; SOPMA and SWISS MODEL were employed to predict the secondary structure and tertiary structure model; ABCpred and SYFPEITHI were utilized to predict antigenic epitopes; MEGA software was availed to construct the phylogenetic tree of DesA1 protein; STRING database was exploited to predict interacting proteins and related functions of DesA1 protein. **Results** The total length of Rv0824c gene was 1017bp, and the number of amino acids encoding DesA1 protein was 338, and the molecular formula was C₁₇₂₃H₂₆₉₄N₄₉₀O₅₀₃S₁₄. The isoelectric point (PI) was 6. 21, and the mean hydrophilicity coefficient was -0. 461, predicting it to be a hydrophilic protein, and the subcellularity may be localised to the cell wall or cytoplasm. DesA1 protein has no transmembrane structure, signal peptide or glycosylation sites and has 20 phosphorylation sites; the secondary structure contains 66. 86% alpha-helix (Hh), 2. 96% beta-fold (Ee), 5. 03% beta-turn (Tt) and 25. 15% irregular curl (Cc). The DesA1 protein contains 34 B-cell antigens and 15 T-cell dominant antigens. Phylogenetic tree showing maximum homology with the DesA1 protein of *Mycobacterium canettii*. The DesA1-interacting proteins are Fas, DesA2, DesA3, Ppdk, NrdZ, NrdE, NrdL, Pks13, Dus, Rv3230c ten pro-

* **【基金项目】** 山东省自然科学基金面上项目 (No. ZR2021MH401); 山东省重大基础研究资助项目 (NO. ZR2018ZC1054)。

** **【通讯作者】** 付玉荣, E-mail: yifuyurong@163. com

【作者简介】 刘畅 (1998-), 女, 山东济宁人, 硕士研究生, 主要研究方向为病原生物学。 E-mail: 2549705075@qq. com

teins, and they are mainly involved in lipid metabolism process. **Conclusion** Bioinformatic methods predict that DesA1 is a hydrophilic protein and containing multiple T- and B-cell epitopes. It can be phosphorylated and it interacts with a variety of proteins. DesA1 can be used as a candidate protein for developing tuberculosis vaccines.

【Key words】 *Mycobacterium tuberculosis*; Rv0824c; DesA1 protein; bioinformatics

结核病是由结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*, MTB)引起的慢性传染病, 是全世界死亡的主要原因, 在过去 200 年中超过 10 亿人死于结核病^[1]。近年来新冠肺炎流行, 使得结核病的诊断和治疗都受到一定影响, 预防新的 MTB 感染及其进展为结核病对于减轻结核病引起的疾病负担和死亡至关重要^[2-3]。据估计, 全世界约有四分之一的人口感染了 MTB, 并有潜伏性结核感染(LTBI)^[4], 从而导致每年出现 1 000 多万新发结核病病例^[5]。正确诊断治疗潜伏性结核感染是控制和消除结核病的重要组成部分。结核分枝杆菌与其他细菌的最大区别在于其菌体内有很多编码有关脂肪生成和分解的酶基因, 其中包括 DesA1 基因。脂质在许多传染病中起核心作用, 结核分枝杆菌依靠脂质和脂质膜特性进入其宿主细胞, 持续存在并最终从宿主排出^[4]。处于休眠状态结核分枝杆菌的细胞壁增厚, 尽管主要细胞壁成分的主要结构已经相当确定, 但诸如外膜中共价附着的霉菌酸中的 DesA1 蛋白的作用仍不清楚。

本研究通过生物信息学方法对 MTB Rv0824c 基因编码 DesA1 蛋白的结构和功能进行预测分析, 为进一步了解该蛋白在长期潜伏感染机制中的作用提供理论依据, 为新型抗结核药物的研发提供参考。

材料与方法

1 目的基因及相关编码信息获取

结核分枝杆菌(H37Rv)的全基因组信息从美国国立生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information, NCBI)中获取, 从 NCBI GenBank 中获得 DesA1(Rv0824c)基因 ID 为 885444, 基因组序列为 NC_000962.3, DesA1 的蛋白序列为 YP_177758.1。

2 方法

2.1 目的基因基本信息及序列分析 从 NCBI 中获取 Rv0824c 基因序列信息, 通过 ORF Finder (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf/gorf.html>) 分析其开放阅读框。

2.2 DesA1 蛋白基本理化性质分析 利用 Expasy 提供的在线软件 ProtParam (<http://www.predict-protein.org/>) 分析 DesA1 蛋白的理化特性, 如分子式、分子质量、等电点、氨基酸组成、不稳定指数等。

2.3 DesA1 蛋白的亲疏水性分析及亚细胞定位 应

用 ProtScale (<http://web. expasy. org/protscale/>) 和 SOSUI (<http://bp. nuap. nagoya-u. ac. jp/sosui/>) 预测和分析 DesA1 蛋白的亲疏水性和可溶性; 使用 ProTCompB (<http://www. softberry. com/cgi-bin/programs/proloc/protcompan. pl>) 预测 DesA1 蛋白在菌体细胞中的分部。

2.4 DesA1 蛋白信号肽、跨膜区、糖基化及磷酸化位点预测 使用 SignalP Server v. 4.0 (<http://www.cbs.dtu.dk/server/SignalP-4.0/>)、TMHMM Server v. 2.0 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/>)、NetNGlyc 1.0 server (<http://www.cbs.dtu.dk/services/NetNGlyc/>)、NetPhos Server v. 3.1 (<https://services.healthtech.dtu.dk/service.php?NetPhos-3.1>) 预测 DesA1 的信号肽的数量、跨膜区域、糖基化和磷酸化位点。

2.5 DesA1 蛋白结构分析 利用 SOPMA (https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/secpred_sopma.pl) 和 SWISS-MODEL (<https://swissmodel.expasy.org/>) 分析 DesA1 蛋白的二级结构并进行三级结构建模。

2.6 DesA1 蛋白抗原表位分析 应用 ABCpred (https://webs.iitd.edu.in/raghava/abcpred/ABC_submission.html)、SYFPEITHI (<http://syfpeithi.de/0-Home.htm>) 预测 DesA1 蛋白的 B、T 细胞抗原表位。

2.7 DesA1 蛋白系统发育树构建 使用 MEGA-11 软件, 输入 DesA1 蛋白氨基酸 fasta 格式进行序列比对, 构建 DesA1 蛋白系统发育树。

2.8 DesA1 蛋白相互作用蛋白预测 利用 STRING 数据库对 DesA1 蛋白相互作用蛋白进行预测和分析。

结果

1 目的基因基本信息及序列分析

从 NCBI GenBank 数据库中获取 MTB 的 Rv0824c 基因序列在 NCBI GenBank 中的登录号为 NC_000962.3, 该基因在结核分枝杆菌(H37Rv 株)全基因组中的位置是 917 734-918 750, 全长 1 017 bp, 其中 GC 含量约占其碱基组成的 78.16%; Rv0824c 基因的起始密码子和终止密码子分别为 ATG 和 TAG。其编码的 DesA1 蛋白在 NCBI GenBank 数据库中氨基酸序列的登录号为 YP_177758.1, 由 338 个氨基酸构成。经 ORF Finger 工具分析, Rv0824c 基因含有 8

个开放阅读框,其中最长的一个开放阅读框显示 Rv0824c 基因被通读,全长 1 017 bp(图 1),与预测的 DesA1 蛋白长度一致。

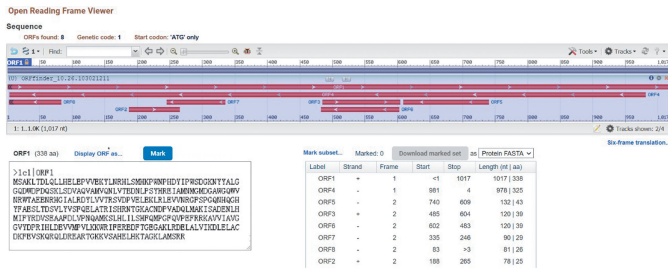


图 1 Rv0824c 基因的开放阅读框分析

Fig. 1 Analysis of the open reading frame of the Rv0824c gene

2 DesA1 蛋白的理化性质

将从 NCBI GenBank 中获取的 DesA1 蛋白氨基酸序列上传至 Exspasy 子软件 ProtParam 进行预测分析,该蛋白分子式为 C₁₇₂₃H₂₆₉₄N₄₉₀O₅₀₃S₁₄,由 5 424 个原子构成,包含 C、H、N、O、S 5 种元素,相对分子质量为 38.770 17×10³,理论等电点(pI)为 6.21。该蛋白由 20 种 338 个氨基酸构成,其中亮氨酸(Leu)占 10.4%,丙氨酸(Ala)占 7.7%,天冬氨酸(Asp)占 7.1%,谷氨酸(Glu)占 7.1%,其余氨基酸所占比例均不足 7%。DesA1 蛋白中带正电荷的氨基酸残基(Arg + Lys)总数为 42,带负电荷的氨基酸残基(Asp + Glu)总数为 48。该蛋白的不稳定指数为 43.16,可能为不稳定蛋白。脂肪族指数为 85.65。

3 DesA1 蛋白的亲疏水性及亚细胞定位

使用 ProtScale 分析 DesA1 蛋白的亲疏水性氨基酸残基分布,结果见图 2。其中单个氨基酸的亲水性系数最大值(MAX)为 2.678,最小值(MIN)为-2.744,其亲水性(Average of hydrophobicity)的平均值(GRAVY)为-0.461,预测该蛋白为亲水性蛋白。

应用 ProtCompB 对 DesA1 进行亚细胞定位分析,预测该蛋白定位在细胞膜上的可能性最高(5.4),定位在细胞质(Cytoplasmic),或分泌蛋白(Secreted)的几率较低(2.96、0.36)。

4 DesA1 蛋白的信号肽、跨膜区、糖基化及磷酸化位点预测分析

使用 SignalP 4.0 Server 软件对 DesA1 蛋白信号肽进行预测分析,C、S、Y 评分均远在阈值(0.450)之下,推测 DesA1 蛋白无信号肽。应用 TMHMM 分析该蛋白跨膜区域,提交 DesA1 蛋白序列的氨基酸残基共 338 个,该蛋白全部 1-38 位氨基酸序列均属于膜外侧(outside),不存在跨膜螺旋(TMhelix),预测该蛋白位于 MTB 胞膜外细胞壁内。NetNGlyc1.0 在线软件预测 DesA1 蛋白无 N-型糖基化位点。NetPhos 3.1

软件预测 DesA1 蛋白共含有 13 个丝氨酸磷酸化位点,3 个苏氨酸磷酸化位点,4 个酪氨酸磷酸化位点(图 3)。

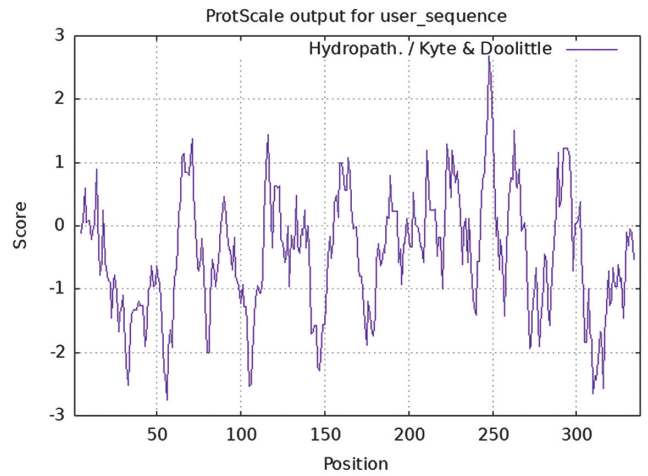


图 2 DesA1 蛋白的亲疏水性分析

Fig. 2 Hydrophobicity analysis of DesA1 protein

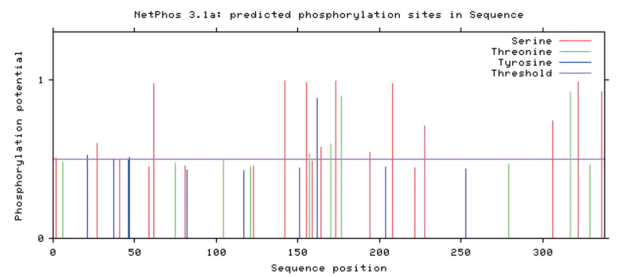


图 3 DesA1 蛋白磷酸化位点预测

Fig. 3 Phosphorylation site prediction of DesA1 protein

5 DesA1 蛋白的二、三级结构

蛋白质结构分析是其功能预测的重要手段,确定蛋白质的结构对于生物学研究非常重要^[6]。通过 SOPMA 软件对 DesA1 蛋白的二级结构预测分析,结果如图 4A。其中 α-螺旋(Hh)226 个,β-折叠(Ee)10 个,β-转角(Tt)17 个,无规则卷曲(Cc)85 个,分别占 66.86%、2.96%、5.03%和 25.15%。通过 SWISS MODEL 蛋白质分析软件绘制 DesA1 蛋白的三级结构模型,结果见图 4B。该模型 GMOE 评分为 0.6,建模质量良好。

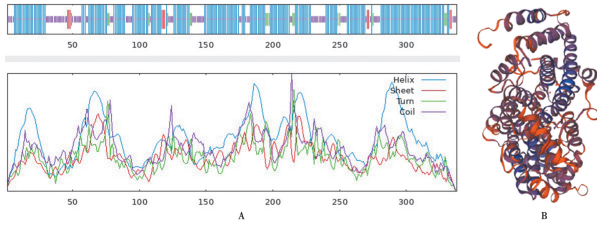
6 DesA1 蛋白抗原表位

使用 ABCpred 软件预测 DesA1 蛋白的 B 细胞表位,当临界阈值为 0.51 时该蛋白有 34 个 B 细胞相关抗原表位(表 1);应用 SYFPEITHI 软件预测 DesA1 蛋白 T 细胞表位,当临界阈值为 21 时该蛋白有 15 个 CTL 细胞的相关抗原表位(表 2)。

7 DesA1 蛋白系统发育树

将结核分枝杆菌 DesA1 蛋白与 acyl-ACP desaturase DesA1 [*M. canettii*],acyl-ACP desaturase [*M.*

lacus], acyl-ACP desaturase [*M. saskatchewanense*], acyl-ACP desaturase [*M. marinum*], acyl-ACP desaturase [*M. shottsii*] 编码蛋白的氨基酸 fasta 进行序列比对, 构建系统发育树, 结果如图 5。



A DesA1 蛋白二级结构预测 B DesA1 蛋白三级结构同源建模。

图 4 DesA1 蛋白的二、三级结构预测

A Prediction of DesA1 protein secondary structure B Homology modeling of DesA1 protein tertiary structure.

Fig. 4 Prediction of secondary and tertiary structure of DesA1 protein

表 1 DesA1 蛋白的 B 细胞抗原表位预测
Table 1 Predicted B cells epitopes of DesA1 protein

等级 Rank	开始氨基酸位置 The position of amino acid	表位序列 Epitopes sequence	得分 Score
1	169	ATRISHRNTGKACNDP	0.94
2	19	EKYLNRHLSMHKPNWP	0.92
3	83	HREIAMNMGM-DGAWGQ	0.90
4	269	KWRIFEREDFTGEGAK	0.88
4	250	GGVYDPRIHLDEVVMP	0.88
4	175	RNTGKACNDPVADQLM	0.88
5	90	MGMDGAWGQWVNRWTA	0.87
5	277	DFTGEGAKLRDELALV	0.87
5	199	LHMIFYRDVSEAAFDL	0.87
6	102	RWTAENRHGIALRDY	0.83
7	192	KISADENLHMIFYRDV	0.82
8	49	LGGQDWDPDQSKLSDV	0.81
9	37	YIPWSDGKNYYALGGQ	0.80
9	244	AVVIAVGGVYDPRIHL	0.80
9	223	LHLILSHFQMPGFQVP	0.80
10	304	EVSKQRQLDREARTGK	0.78
10	111	GIALRDYLVVTRSDVP	0.78
11	186	ADQLMAKISADENLHM	0.77
12	28	MHKPWNPFDYIPWSDG	0.75
13	148	QGHYFAESLTDSVLYV	0.74
14	294	KDLELACDKFEVSKQR	0.72
15	71	QNLVTEENLPSYHREI	0.71
15	231	QMPGFQVPEFRRKAVV	0.71
16	315	ARTGKKVSAHELHKT A	0.70
16	207	VSEAAFDLVPNQAMKS	0.70
17	57	DQSKLSDVAQVAMVQN	0.68
18	132	LRLEVNRGFSPGQNH	0.67
19	259	LDEVVMPVLKKWRIFE	0.64
19	126	PVELEKLRLEVNRGF	0.64
20	117	YLVVTRSDVPVELEKL	0.55
21	321	VSAHELHKTAGKLAMS	0.54
22	9	QLLHELEPVVEKYLNR	0.52
22	156	LTDSVLYVSFQELATR	0.52
23	1	MSAKLTLQLLHELEP	0.51

表 2 DesA1 蛋白的 HLA-A * 02:01 限制性 CTL 细胞的抗原表位预测
Table 2 The epitope prediction of DesA1 protein in HLA-A * 02:01 restricted CTL cells

等级 Rank	开始氨基酸位置 The position of amino acid	表位序列 Epitopes sequence	得分 Score
1	284	KLRDELALV	28
2	155	SLTDSVLYV	27
3	9	QLLHELEPV	26
4	10	LLHELEPVV	26
5	258	HLDEVVMPV	26
6	290	ALVIKDLLEL	26
7	113	ALRDYLVVT	24
8	160	VLYVSFQEL	24
9	111	GIALRDYLV	22
10	288	ELALVIKDL	22
11	78	NLPSYHREI	21
12	194	SADENLHMI	21
13	219	AMKSLHLIL	21
14	244	AVVIAVGGV	21
15	297	ELACDKFEV	21

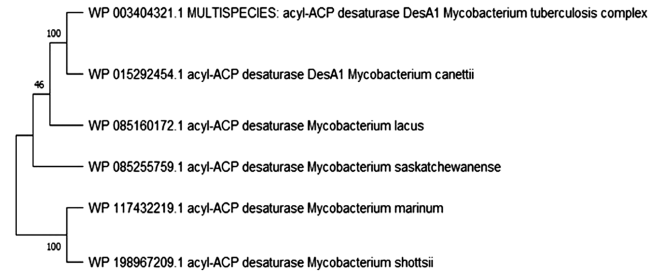


图 5 DesA1 蛋白系统进化树

Fig. 5 Phylogenetic tree construction of DesA1 protein

8 DesA1 蛋白相互作用蛋白

通过 STRING 在线分析工具预测 DesA1 蛋白相互作用蛋白, 结果见图 6。Fas、DesA2、DesA3、Ppdk、NrdZ、NrdE、NrdL、Pks13、Dus 和 Rv3230c 为 DesA1 相互作用蛋白。

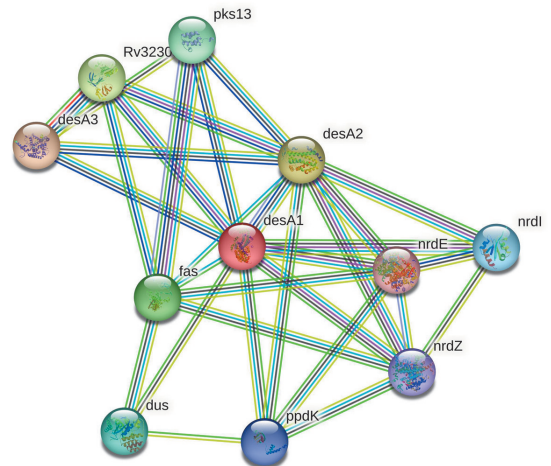


图 6 DesA1 相互作用蛋白预测

Fig. 6 Protein interaction prediction of DesA1 protein

讨 论

结核病尤其是耐药结核病仍然是严重危害人类健康的主要传染病之一,是全球关注的重大公共卫生和社会问题^[2]。我国结核病十分严重,承受着相对较高的耐药结核病负担,占全球耐药结核病患者的14%^[3]。MTB难以被宿主免疫系统杀死与细菌特殊的细胞壁结构有着密切联系。MTB具有由一系列复杂的(糖)脂质、多糖和肽聚糖组成的异常厚的细胞壁^[7],细胞壁中复杂的脂质成分通常直接参与宿主-病原体相互作用和识别,维持MTB在宿主体内的存活,调节宿主的免疫应答。而且细胞壁中的脂质成分在MTB表面形成疏水屏障,抵抗亲水性抗结核药物的杀伤。因此,MTB细胞壁常作为研发新型抗结核药物的靶点。

霉菌酸是在MTB富含脂质的细胞壁中发现的特长链脂肪酸,这些长链脂肪酸主要共价附着在分枝杆菌细胞壁独特的肽聚糖-阿拉伯半乳糖复合物上^[8]。目前已发现霉菌酸具有多种生物学功能。霉菌酸可形成一个紧密的疏水屏障,因其低渗透性,能降低疏水性抗生素的渗透性和MTB对抗生素的敏感性^[7,9]。此外,霉菌酸与MTB的毒力有关,并在宿主-病原体的相互作用中起作用。参与霉菌酸生物合成的酶对MTB活性和毒力至关重要,是药物开发的新靶点。而MTB耐多药和广泛耐药菌株的增加,已成为全球重要的公共卫生问题^[8]。MTB中的Rv0824c基因编码DesA1蛋白,该蛋白是一种必需的酰基-酰基载体蛋白去饱和酶,在霉菌酸生物合成中催化特异性双键的引入。Singh等^[10]报道DesA1缺失会导致霉菌酸生物合成减少和分支杆菌活力丧失,即DesA1具有作为致病性分枝杆菌的新药物靶点的潜力。

本研究利用生物信息学方法预测DesA1由388个氨基酸组成,其分子式为 $C_{1723}H_{2694}N_{490}O_{503}S_{14}$,相对分子质量 38.77017×10^3 ,理论等电点为6.21,不稳定性指数43.16。Rv0824c基因含有8个开放阅读框,其中最长的一个开放阅读框显示Rv0824c基因被通读,全长1017bp,与预测的编码DesA1蛋白长度一致。拥有良好的疏水性和亲水性是膜结构蛋白和跨膜蛋白的典型性质,是保证蛋白质在膜结构不同区域发挥生物学功能的重要前提^[11]。本研究分析DesA1蛋白可能为非跨膜区蛋白,是一个膜外蛋白,是由Rv0824c编码的细胞壁蛋白。 α -螺旋是最常见的二级结构且在DNA模体中起重要作用^[12],无规则卷曲经常构成酶活性部位和其他蛋白质特异的功能部位,在分子识别中起重要作用^[6,12]。网络预测该蛋白的二级结构主要为 α -螺旋和无规则卷曲,分别占66.86%和

25.15%,提示该蛋白易与抗体嵌合,从而发挥抗原性等重要作用。预测DesA1蛋白有34个B细胞抗原表位和15个CTL细胞抗原表位,与Jackson等^[13-14]的研究一致。MTB DesA1蛋白中有着较丰富的B细胞、CTL细胞抗原表位,可为进一步研究该蛋白的功能提供理论依据,为筛选MTB感染的诊断标志物及开发抗结核DNA疫苗奠定了基础^[13-14]。系统进化分析表明,6种蛋白被分为2簇,卡内特分枝杆菌(*M. canettii*)DesA1蛋白与MTB DesA1蛋白具有最大同源性。STRING数据库分析显示DesA1蛋白与Fas、DesA2、DesA3、Ppdk、NrdZ、NrdE、NrdL、Pks13、Dus、Rv3230c蛋白互相作用,提示该蛋白可能与分枝杆菌脂肪酸生物合成有关^[15-16]。

目前,使用多种网络预测分析软件对蛋白质进行生物信息学分析,是临床实验室生成、分析、维护和解释分子学数据的重要组成部分,可为致病机制的阐述和新型药物开发提供理论依据^[17]。本研究对DesA1蛋白进行多维生物信息学分析,避免了单一软件预测的缺陷,预测了该蛋白的性质和结构,为治疗耐药性结核提供了一种新的药物靶点,可为进一步探讨其功能和应用提供参考。

【参考文献】

- [1] Bussi C, Gutierrez MG. *Mycobacterium tuberculosis* infection of host cells in space and time[J]. FEMS Microbiol Rev, 2019, 43(4):341-361.
- [2] World Health Organization. Global Tuberculosis Report 2022 [R]. Geneva: World Health Organization, 2022.
- [3] Singh R, Dwivedi SP, Gaharwar US, et al. Recent updates on drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis* [J]. J Appl Microbiol, 2020, 128(6):1547-1567.
- [4] Khabibullina NF, Kutuzova DM, Burmistrova IA, et al. The biological and clinical aspects of a latent tuberculosis infection [J]. Trop Med Infect Dis, 2022, 7(3):48.
- [5] Li Z, Lai K, Li T, et al. Factors associated with treatment outcomes of patients with drug-resistant tuberculosis in China: A retrospective study using competing risk model [J]. Front Public Health, 2022, 10:906798.
- [6] 陈浩天, 付玉荣, 伊正君. 结核分枝杆菌 PE_PGRS33 蛋白的生物信息学分析 [J]. 中国病原生物学杂志, 2019, 14(7):780-785.
- [7] Holzheimer M, Buter J, Minnaard AJ. Chemical synthesis of cell wall constituents of *Mycobacterium tuberculosis* [J]. Chem Rev, 2021, 121(15):9554-9643.
- [8] Nataraj V, Varela C, Javid A, et al. Mycolic acids: deciphering and targeting the Achilles' heel of the tubercle bacillus [J]. Mol Microbiol, 2015, 98(1):7-16.
- [9] Shaku M, Ealand C, Kana BD. Cell surface biosynthesis and remodeling pathways in mycobacteria reveal new drug targets [J]. Front Cell Infect Microbiol, 2020, 10:603382.

(下转 792 页)

- [J]. Embo J, 2000, 19(21):5720-5728.
- [10] Yu ZQ, Ni T, Hong B, et al. Dual roles of Atg8-PE deconjugation by Atg4 in autophagy[J]. Autophagy, 2012, 8(6):883-892.
- [11] Birgisdottir AB, Lamark T, Johansen T. The LIR motif - crucial for selective autophagy[J]. J Cell Sci, 2013, 126(Pt 15):3237-3247.
- [12] Kriegenburg F, Ungermann C, Reggiori F. Coordination of autophagosome-lysosome fusion by Atg8 family members[J]. Curr Biol, 2018, 28(8):R512-R8.
- [13] Alemu EA, Lamark T, Torgersen KM, et al. ATG8 family proteins act as scaffolds for assembly of the ULK complex; sequence requirements for LC3-interacting region (LIR) motifs[J]. J Biol Chem, 2012, 287(47):39275-39290.
- [14] Birgisdottir AB, Moulleron S, Bhujabal Z, et al. Members of the autophagy class III phosphatidylinositol 3-kinase complex I interact with GABARAP and GABARAPL1 via LIR motifs[J]. Autophagy, 2019, 15(8):1333-1355.
- [15] Qiao J, Zhang D, Wang Y, et al. Identification of AaAtg8 as a marker of autophagy and a functional autophagy-related protein in *Aedes albopictus*[J]. PeerJ, 2018(6):e5988.
- [16] Bhatt S, Gething PW, Brady OJ, et al. The global distribution and burden of dengue[J]. Nature, 2013, 496(7446):504-507.
- [17] Bryant B, Raikhel AS. Programmed autophagy in the fat body of *Aedes aegypti* is required to maintain egg maturation cycles[J]. PLoS One, 2011, 6(11):e25502.
- [18] Chen TY, Smartt CT. Activation of the autophagy pathway decreases dengue virus infection in *Aedes aegypti* cells[J]. Parasit Vectors, 2021, 14(1):551.
- [19] Wang Y, Qiao J, Zhang D, et al. Systematic identification of autophagy-related proteins in *Aedes albopictus*[J]. PLoS One, 2021, 16(1):e0245694.
- [20] Kim CE, Park KB, Ko HJ, et al. *Aedes albopictus* autophagy-related gene 8 (AaAtg8) is required to confer anti-bacterial gut immunity[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(8):2944.
- [21] Mizushima N. Autophagy: process and function[J]. Genes Dev, 2007, 21(22):2861-2873.
- [22] Kudchodkar S B, Levine B. Viruses and autophagy[J]. Rev Med Virol, 2009, 19(6):359-378.
- [23] Levine B, Mizushima N, Virgin H W. Autophagy in immunity and inflammation[J]. Nature, 2011, 469(7330):323-335.
- [24] Johansen T, Lamark T. Selective autophagy: ATG8 family proteins, LIR motifs and cargo receptors[J]. J Mol Biol, 2020, 432(1):80-103.
- [25] Mizushima N. The ATG conjugation systems in autophagy[J]. Curr Opin Cell Biol, 2020, 63:1-10.
- [26] Tanida I, Ueno T, Kominami E. Human light chain 3/ MAP1LC3B is cleaved at its carboxyl-terminal Met121 to expose Gly120 for lipidation and targeting to autophagosomal membranes[J]. J Biol Chem, 2004, 279(46):47704-47710.
- [27] Ichimura YKT, Takao T, Satomi Y, et al. A ubiquitin-like system mediates protein lipidation[J]. Nature, 2000, 408(6811):488-492.
- [28] Kirisako T, Ichimura Y, Okada H, et al. The reversible modification regulates the membrane-binding state of Apg8/Aut7 essential for autophagy and the cytoplasm to vacuole targeting pathway[J]. J Cell Biol, 2000, 151(2):263-276.
- [29] Durgan J, Lystad AH, Sloan K, et al. Non-canonical autophagy drives alternative ATG8 conjugation to phosphatidylserine[J]. Molecular Cell, 2021, 81(9):2031-2040. e8.
- [30] Nguyen TN, Padman BS, Usher J, et al. Atg8 family LC3/GABARAP proteins are crucial for autophagosome-lysosome fusion but not autophagosome formation during PINK1/Parkin mitophagy and starvation[J]. J Cell Biol, 2016, 215(6):857-874.
- [31] Klionsky DJ, et al. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy (3rd edition)[J]. Autophagy, 2016, 12(1):1-222.
- [32] Mizushima N, Yoshimori T. How to interpret LC3 immunoblotting[J]. Autophagy, 2007, 3(6):542-545.
- [33] Qiao J, Liu, QZ. Interplay between autophagy and Sindbis virus in cells derived from key arbovirus vectors: *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti* mosquitoes. [J]. Cellular Signalling, 2021(90):110204.
- [34] Brackney DE, Correa MA, Cozens DW. The impact of autophagy on arbovirus infection of mosquito cells[J]. PLoS Negl Trop Dis, 2020, 14(5):e0007754.
- [35] Franzetti E, Huang ZJ, Shi YX, et al. Autophagy precedes apoptosis during the remodeling of silkworm larval midgut[J]. Apoptosis, 2012, 17(3):305-324.

【收稿日期】 2023-01-11 【修回日期】 2023-04-01

~~~~~  
(上接 786 页)

- [10] Singh A, Varela C, Bhatt K, et al. Identification of a desaturase involved in mycolic acid biosynthesis in *Mycobacterium smegmatis*[J]. PLoS One, 2016, 11(10):e0164253.
- [11] 梁浩伟, 秦余, 廖海, 等. 新型冠状病毒 ORF7a 结构分析及虚拟药物筛选[J]. 中国药物化学杂志, 2022, 32(4):278-283.
- [12] 杨雨昕, 付玉荣, 伊正君. 结核分枝杆菌 PPE32 蛋白的生物信息学分析[J]. 中国病原生物学杂志, 2019, 14(2):131-136.
- [13] Jackson M, Portno D, Catheline D, et al. Mycobacterium tuberculosis Des protein: an immunodominant target for the humoral response of tuberculous patients[J]. Infect Immun. 1997, 65(7):2883-2889.
- [14] Potocnakova L, Bhide M, Pulzova LB. An introduction to B-cell epitope mapping and in silico epitope prediction[J]. J Immunol Res, 2016, 2016:6760830.
- [15] Sanchez-Trincado JL, Gomez-Perosanz M, Reche PA. Fundamentals and methods for T- and B-cell epitope prediction[J]. J Immunol Res, 2017, 2017:2680160.
- [16] Salina EG, Grigorov AS, Bychenko OS, et al. Resuscitation of dormant "Non-culturable" *Mycobacterium tuberculosis* is characterized by immediate transcriptional burst[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2019, 9:272.
- [17] Cooper C, Peterson EJR, Bailo R, et al. MadR mediates acyl CoA-dependent regulation of mycolic acid desaturation in mycobacteria[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2022, 119(8):e2111059119.
- [18] 陈瑞枫, 马枫茜, 李祥芳, 等. 鸟分枝杆菌 MAV\_2043 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(08):907-911.

【收稿日期】 2023-02-26 【修回日期】 2023-05-15