

DOI:10.13350/j.cjpb.230710

• 论著 •

鲍曼不动杆菌噬菌体 ZZ1 受体结合蛋白 gp37 的克隆表达^{*}

王小亭^{1,2}, 张向前², 张改¹, 王书伟¹, 李振江¹, 陈松建¹, 刘肖¹, 李亚辉¹, 王山梅³, 王中全⁴, 靳静^{1,4**}

(1. 河南省医学高等专科学校病原生物学与免疫学教研室, 河南郑州 451193; 2. 惠州市第二妇幼保健院新生儿疾病筛查中心; 3. 河南省人民医院检验科; 4. 郑州大学基础医学院病原生物学教研室)

【摘要】 目的 为进一步了解噬菌体与宿主菌之间的相互作用机制,对鲍曼不动杆菌噬菌体 ZZ1 受体结合蛋白 gp37 进行克隆表达。方法 原核表达噬菌体 ZZ1 重组受体结合蛋白 gp37,从分子质量、抗原性以及 ZZ1 吸附竞争干扰的功能等对表达的重组受体结合蛋白 gp37 进行鉴定。结果 PCR 扩增 ZZ1gp37 基因后,成功诱导表达了含 6×His 标签的 ZZ1 重组受体结合蛋白 gp37,SDS-PAGE 显示所表达蛋白的相对分子质量约为 140×10^3 ;使用 0.5 mmol/L IPTG 16 °C 诱导过夜较 37 °C 诱导 4 h,蛋白可溶性表达增多;Western blot 显示纯化蛋白可分别被 his 标签抗体和小鼠抗 ZZ1 多克隆抗体识别;竞争吸附试验显示,在重组 ZZ1gp37 蛋白存在的情况下,ZZ1 对鲍曼不动杆菌 AB09V 的吸附效率与对照组的 63.5% 相比下降 39.5%。结论 成功表达了噬菌体 ZZ1 的重组受体结合蛋白 gp37,蛋白的分子质量、反应原性以及 ZZ1 吸附的竞争干扰作用均符合预期,为噬菌体 ZZ1 与宿主菌相互作用机制研究奠定了基础。

【关键词】 鲍曼不动杆菌;噬菌体;噬菌体受体结合蛋白;尾丝蛋白

【中图分类号】 R378

【文献标识码】 A

【文章编号】 1673-5234(2023)07-0799-04

[Journal of Pathogen Biology. 2023 Jul;18(7):799-802,807.]

Cloning and expression of *Acinetobacter baumannii* Phage ZZ1 receptor binding protein gp37

WANG Xiaoting^{1,2}, ZHANG Xiangqian², ZHANG Gai¹, WANG Shuwei¹, LI Zhenjiang¹, CHEN Songjian¹, LIU Xiao¹, LI Yahui¹, WANG Shanmei³, WANG Zhongquan⁴, JIN Jing^{1,4} (1. Department of Pathogen Biology and Immunology, Henan Medical College, Zhengzhou 451193, China; 2. Huizhou Second Maternal and Child Health Hospital Neonatal Screening Center; 3. Laboratory Department of Henan Provincial People's Hospital; 4. Basic Medical College of Zhengzhou University)

【Abstract】 **Objective** The purpose of this paper is in order to further understand the interaction mechanism between bacteriophages and host bacteria. The ZZ1 receptor binding protein gp37 of *Acinetobacter baumannii* bacteriophage was cloned and expressed. **Methods** Prokaryotic expression of bacteriophage ZZ1 recombinant receptor binding protein gp37, and it was identified from molecular mass, antigenicity and function of ZZ1 adsorption competition interference. **Results** After PCR amplified the ZZ1gp37 gene, the ZZ1 recombinant receptor binding protein gp37 containing the 6 His tag was successfully induced. SDS-PAGE showed that the relative molecular mass of the expressed protein was about 140×10^3 . 0.5 mmol/L IPTG induces an increase in soluble protein expression overnight at 16 °C compared to 4 hours at 37 °C. Western blot showed that the purified protein can be recognized by anti-His tag antibody and mouse anti ZZ1 polyclonal antibody, respectively; The competitive adsorption test showed that the adsorption efficiency of ZZ1 against *Acinetobacter baumannii* AB09V decreased by 39.5% compared with 63.5% in the control group in the presence of recombinant ZZ1gp37 protein. **Conclusion** The recombinant receptor binding protein gp37 of bacteriophage ZZ1 was successfully expressed, and the molecular weight, reactogenicity, and competitive interference on ZZ1 adsorption of the protein met expectations, laying a foundation for the study of the interaction mechanism between bacteriophage ZZ1 and host bacteria.

【Key words】 *Acinetobacter baumannii*; phage; phage receptor binding protein; tail fiber protein^{**}

* **【基金项目】** 河南省医学科技攻关计划联合共建项目(No. LHGJ20210169);河南省科技厅科技发展计划项目(No. 222102310449, No. 202102310098);河南省高等学校重点科研项目(No. 23B310012)。

** **【通讯作者】** 靳静, E-mail: jing7772006@126.com;

【作者简介】 王小亭(1988-),女,河南濮阳人,硕士研究生,主要从事病原生物学方面的研究。E-mail: 1265795663@qq.com
王小亭和张向前同为第一作者。

鲍曼不动杆菌(*Acinetobacter baumannii*)广泛存在于自然界,具有强大获得耐药和克隆传播的能力。因此,随着广谱抗生素的长期广泛应用和滥用,鲍曼不动杆菌耐药趋势逐渐增强,已成为目前医院感染非常重要的条件致病菌^[1-3]。多重耐药、泛耐药、甚至全耐药鲍曼不动杆菌呈世界流行,尤其是在重症患者及免疫力低下人群^[4]。尽管世界各国都特别重视抗生素的研发,但近年来新型抗生素的研制速度显著减缓,难度日益加大,其研发速度远滞后于细菌抗药性的变异^[5-6]。噬菌体是一种可裂解杀菌的病毒,用噬菌体治疗细菌感染被称为噬菌体治疗或噬菌体疗法(bacteriophage therapy)。与广谱抗生素相比,噬菌体杀菌具有严格的宿主特异性,只杀灭对其敏感的宿主菌^[7-10]。其中,噬菌体对细菌的特异性识别和吸附是决定噬菌体噬菌特异性的关键环节,也是决定噬菌体治疗成败的关键因素^[11-13]。

革兰阴性菌的细胞壁由外膜和肽聚糖组成。外膜位于细菌的最外层,由蛋白质和脂多糖(LPS)组成,是噬菌体常见的吸附识别部位^[14-15]。噬菌体 ZZ1 的宿主菌是鲍曼不动杆菌 AB09V,该菌属于革兰阴性菌。本研究对噬菌体 ZZ1 重组受体结合蛋白 gp37 进行克隆表达,为探索噬菌体 ZZ1 与宿主菌 AB09V 之间的相互作用奠定基础。

材料与方 法

1 材 料

1.1 菌株、噬菌体和质粒 鲍曼不动杆菌 AB09V 为本实验室保存;噬菌体 ZZ1 为本实验室分离所得;质粒 PQE80L 和表达宿主菌 DH5 α 、BL21 购自生工生物工程(上海)股份有限公司。

1.2 试剂 限制性内切酶 Hind III、Bam I、Kpn I, Taq DNA 聚合酶, dNTP 及 DL5000 Marker 均购自 Takara(日本)公司;质粒提取试剂盒,胶回收试剂盒和 DNA 清洗试剂盒购自美国 AXYGEN 公司;SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒和 SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液为中国 Beyotime 产品;琼脂糖购自法国 BLOWEST 公司;Glycine 和 IPTG 为中国 Solarbio 公司产品;His 标签抗体, DAB 辣根过氧化物酶显色试剂盒, Ni-NTA, PMSF 蛋白酶抑制剂和丽春红染色液购自中国 BestBio 公司;山羊抗小鼠 IgG 购自康为世纪公司;预染蛋白 Marker (prestained protein Markers) 为美国 Thermo 公司产品;BCA 蛋白分析试剂盒(BCA protein kit)购自西安赫特生物科技有限公司;Amp 购自河北远征药业有限公司;小牛血清购自中国 BIO-SHARP 公司;鼠抗 ZZ1 多克隆抗体为本室制备并保存。

2 方 法

2.1 噬菌体 ZZ1 受体结合蛋白基因 ZZ1gp37 的克隆与表达 针对预测的噬菌体 ZZ1gp37 基因设计引物 ZZ1gp37-L(5'-CGGGGTACCCCGATGGCAGAAA TAAAGACAAG-3')和 ZZ1gp37-R(5'-CCCAAGCT TGGGTTATTCAATCCAATCAAAG-3'),由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。以 ZZ1 基因组 DNA 为模板,采用上述引物对 ZZ1gp37 进行 PCR 扩增,对扩增产物进行 1% 琼脂糖凝胶电泳分析。PCR 体系: template 4 μ L, dNTP 8 μ L, Taq enzyme 0.8 μ L, 上游引物 1.5 μ L, 下游引物 1.5 μ L, 10 \times buffer 10 μ L, 补足 ddH₂O 至 100 μ L。PCR 反应程序: 94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min, 94 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 52 $^{\circ}$ C 退火 40 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 3 min, 35 个循环, 72 $^{\circ}$ C 延伸 5 min, 4 $^{\circ}$ C 保存。对扩增产物以及质粒 PQE80L 进行双酶切,用 T4 连接酶将酶切后的扩增产物与质粒 PQE80L 连接,构建受体结合蛋白的重组质粒 PQE80L-ZZ1gp37。将重组质粒转化入大肠埃希菌 DH5 α 内培养,并进行菌落 PCR 鉴定。提取阳性克隆菌株质粒进行双酶切鉴定和测序验证。再将重组质粒导入表达菌株 BL21 中,经 IPTG 诱导表达目的蛋白,对表达产物进行 SDS-PAGE 和 Western blot 检测分析。

2.2 噬菌体 ZZ1 重组受体结合蛋白的纯化及鉴定 用镍柱纯化 ZZ1 重组受体结合蛋白。通过 Western blot 检测重组蛋白与噬菌体 ZZ1 中和抗体的作用,鉴定重组受体结合蛋白的反应原性。将鲍曼不动杆菌 AB09V 分别与纯化的噬菌体重组 ZZ1gp37 蛋白和 ZZ1 共孵育,再通过吸附干扰试验观察重组 ZZ1gp37 蛋白对 ZZ1 吸附 AB09V 的竞争干扰作用。

结 果

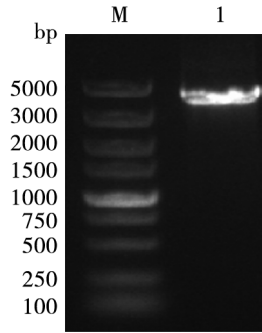
1 目的基因 PCR 扩增及鉴定

PCR 扩增噬菌体 ZZ1 受体结合蛋白基因 ZZ1gp37, 1% 琼脂糖凝胶电泳分析扩增产物大小约为 3 900 bp(图 1),与预期相符。

2 重组质粒的构建与鉴定

PCR 扩增噬菌体 ZZ1gp37 基因,扩增产物以及质粒 PQE80L 双酶切后在 T4 连接酶作用下连接,构建噬菌体 ZZ1 受体结合蛋白基因重组质粒 PQE80L-ZZ1gp37。将重组质粒转染感受态 DH5 α ,提取质粒进行 PCR 分析。分别以感受态 DH5 α 阳性克隆菌株 PCR 产物、ZZ1 DNA 以及转化 PQE80L-ZZ1gp37 阳性克隆菌株质粒为模板进行 PCR,扩增片段大小均约为 3 900 bp(图 2A,图 2B)。对重组质粒进行双酶切鉴定,得到的目的基因片段和线性化质粒片段大小与预期相符(图 2C)。对重组质粒测序,结果与目的基因

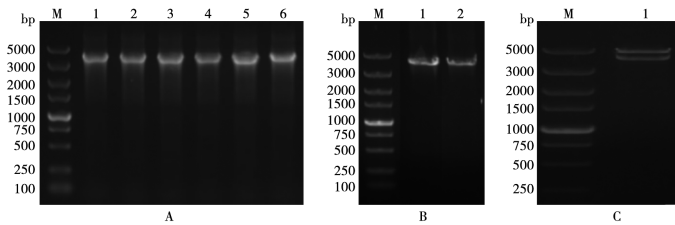
序列完全一致。



M DNA 标志物 1 ZZ1gp37 PCR 产物
图 1 ZZ1gp37 PCR 扩增产物 1%琼脂糖凝胶电泳分析

M DNA marker 1 ZZ1gp37 PCR product

Fig. 1 PCR product



A 以感受态 DH5 α 阳性克隆菌株和 ZZ1 DNA 为模板的 PCR 扩增 M DNA 标志物 1 ZZ1 DNA PCR 产物 2-6 感受态 DH5 α 阳性克隆菌 PCR 产物 B 以重组质粒为模板的 PCR 扩增 M DNA 标志物 1,2 重组质粒 PCR 产物 C 重组质粒酶切鉴定 M DNA 标志物 1 重组质粒双酶切

图 2 重组质粒 PQE80L-ZZ1gp37 的 PCR 鉴定及酶切鉴定

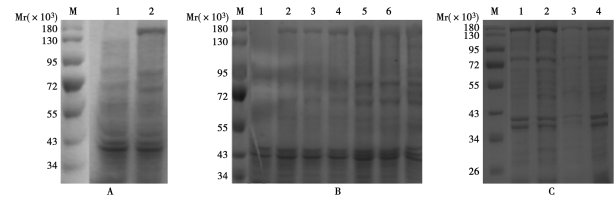
A PCR amplification using *E. coli* DH5 α Competent Cells and ZZ1 DNA as templates M DNA Marker 1 ZZ1 DNA PCR product 2-6 *E. coli* DH5 α Competent Cells PCR product B PCR amplification using recombinant plasmids as templates M DNA Marker 1,2 Recombinant plasmids PCR product C Enzyme digestion identification of recombinant plasmid M DNA Marker 1 Double enzyme digestion of recombinant plasmid

Fig. 2 Identification results of recombinant plasmids

3 重组 ZZ1gp37 蛋白的诱导表达与可溶性分析

将鉴定正确的阳性表达菌于 37 °C 用终浓度为 0.5 mmol/L IPTG 诱导 4 h, 表达相对分子质量约 140×10^3 的目的蛋白(图 3A)。为了确定蛋白表达的最优 IPTG 诱导时间, 分别在 IPTG 诱导 0、1、2、4、6、8、10 h 检测 ZZ1gp37 重组受体结合蛋白表达情况, 结果如图 3B。两种 ZZ1 重组受体结合蛋白的表达以 IPTG 诱导 4 h 基本趋于平衡。

重组菌于 37 °C 用终浓度 0.5 mmol/L IPTG 诱导 4 h 后超声破碎, 分别取上清和沉淀进行 SDS-PAGE 分析, 均检测到 ZZ1gp37 重组蛋白, 但主要是以包涵体的形式存在, 可溶性蛋白表达较低; 分别取 16 °C 诱导过夜的表达菌超声破碎上清和沉淀进行 SDS-PAGE, 可见重组 ZZ1gp37 蛋白可溶性表达增多(图 3C)。



A 重组菌目的蛋白的诱导表达 M 蛋白质分子质量标准 1 重组菌未诱导对照 2 重组菌 IPTG 诱导 4 h B 重组菌 IPTG 诱导时间的优化 M 蛋白质分子质量标准 1-7 依次为 IPTG 诱导 1、2、3、4、5、6、7 h C 重组菌表达产物的可溶性分析 M 蛋白质分子质量标准 1、2 重组菌 IPTG 16 °C 诱导过夜超声破碎上清和沉淀 3、4 分别为重组菌 IPTG 37 °C 诱导 4 h 超声破碎上清和沉淀

图 3 重组 ZZ1gp37 蛋白的诱导表达与可溶性分析

A Recombinant *E. coli* BL21(DE3) induced cell expression of target protein M Protein Marker 1 Recombinant *E. coli* BL21(DE3) un-induced cell 2 IPTG induction for 4 hours B Optimization of IPTG induction time M Protein Marker 1-7 Induction of IPTG for 1,2,3,4,5,6, and 7 hours in sequence C Solubility analysis of expressed protein M Protein Marker 1,2 IPTG 16 °C induced overnight lytic supernatant and cleavage precipitation 3,4 IPTG induced 4-hour lytic supernatant and cleavage precipitation at 37 °C

Fig. 3 Induced expression and solubility analysis of ZZ1 recombinant gp37 protein

4 重组 ZZ1 gp37 蛋白的纯化及鉴定

大量诱导 ZZ1 重组受体结合蛋白表达, 收集菌体, 超声破碎后取上清, 使用镍柱纯化表达蛋白, 在 120 mmol/L 咪唑洗脱缓冲液洗脱时有一洗脱峰, 即为纯化的重组 ZZ1gp37 蛋白。经 Western blot 检测, 纯化蛋白可分别被 his 标签抗体和小鼠抗 ZZ1 多克隆抗体识别, 反应条带位于约 140×10^3 处(图 4)。

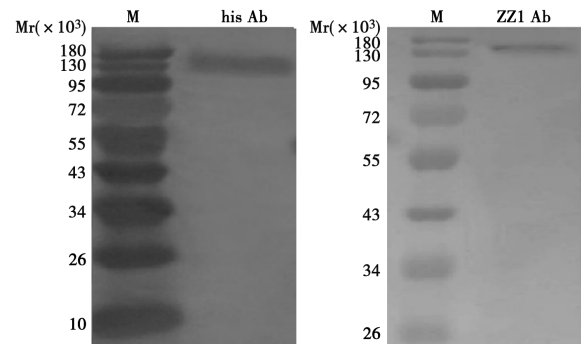


图 4 纯化重组 ZZ1gp37 蛋白的 Western blot 鉴定

Fig. 4 Western blot identification of purified recombinant ZZ1gp37 protein

5 重组 ZZ1 gp37 蛋白与 ZZ1 对 AB09V 菌的竞争性吸附试验结果

竞争吸附试验显示, 在重组 ZZ1gp37 蛋白存在的情况下, ZZ1 对鲍曼不动杆菌 AB09V 的吸附效率与对照组的 63.5% 相比下降 39.5%。120 mmol/L 咪唑洗脱液对照组 ZZ1 对鲍曼不动杆菌 AB09V 的吸附效率无明显变化。在 LB 液体培养基中, ZZ1 对鲍曼不动杆菌 AB09V 的吸附效率为 63.5%。竞争吸附试验显示, 在重组 ZZ1gp37 蛋白存在的情况下, ZZ1 对

鲍曼不动杆菌 AB09V 的吸附效率为 24%，与吸附对照组的 63.5% 相比下降 39.5%。120 mmol/L 咪唑洗脱液空白对照组中 ZZ1 对鲍曼不动杆菌 AB09V 的吸附效率为 60.7%，与吸附对照组的 63.5% 相比无明显差异。

讨 论

吸附是噬菌体感染细菌的关键步骤，是噬菌体尾部受体结合蛋白与细菌表面噬菌体受体特异性相互作用的过程，这种作用的特异性决定了噬菌体感染宿主菌的特异性^[16-20]，是噬菌体治疗成败的关键因素之一，所以明确噬菌体尾部结构与宿主菌表面结构的相互作用关系有助于理解噬菌体吸附宿主菌的分子机制。

T4 噬菌体有着二十面体对称的头部和一个能够收缩的尾部，因此属于有尾噬菌体目肌尾噬菌体科噬菌体^[21-22]。在电镜下噬菌体 ZZ1 与噬菌体 T4 有着非常相似的形态^[23]，而且在所有 ZZ1 被预测到的基因中有 34% 的基因与 T4 噬菌体的蛋白有着可达 73% 的氨基酸相似性，和其他 4 个 T4-like 不动杆菌属噬菌体 Acj9, Acj61, 133 和 Ac42 分别有 70%、64%、61% 和 56% 的氨基酸同源性^[24]。因此 ZZ1 也是一株 T4-like 噬菌体。所有 T4-like 噬菌体的尾部都有六根长尾丝和六根短尾丝。T4 噬菌体的长尾丝蛋白由 gp34 三聚体、gp35 单体、gp36 三聚体和 gp37 三聚体构成。gp34 三聚体构成长尾丝蛋白近端，远端由 gp36 三聚体、gp35 单体和 gp37 三聚体组成，gp37 三聚体末端为受体识别末梢^[25-29]。本研究根据噬菌体 ZZ1 长尾丝蛋白、基因设计引物并在上下游引入 PQE80L 质粒酶切位点，构建 PQE80L-ZZ1gp37 重组载体。质粒 PQE80L 带有 6 个 his 标签，可采用镍柱亲和层析纯化目的蛋白，也可用于检测。采用双酶切的方法将 ZZ1 长尾丝蛋白 gp37 基因 PCR 产物与同样经双酶切处理的质粒 PQE80L 于 16 °C 连接过夜，连接产物转化入感受态细胞 DH5 α 内，经分别以阳性克隆菌株、重组质粒为模板扩增目的基因，重组质粒双酶切和测序鉴定证明重组质粒连接成功后，再将重组质粒转化入表达菌株。经鉴定噬菌体 ZZ1 原核表达系统构建正确后，诱导重组受体结合蛋白表达。外源重组蛋白在 *E. coli* 表达的过程中通常会受到多方面因素的影响，如载体，表达菌株，诱导时的温度与时间等。噬菌体重组 ZZ1gp37 蛋白在 37 °C 诱导时主要以包涵体的形式存在，上清中可溶性蛋白较少，此时镍柱层析纯化效果较差；而当诱导温度降至 16 °C 时，可溶性表达与包涵体表达基本相同。可能是 37 °C 时诱导表达的蛋白量多，合成速度过快，没有足够的时间折叠，也可能是重组 ZZ1gp37 蛋白在 37 °C 时容易变性而形成包涵体。

取诱导温度为 16 °C 时的表达菌超声破碎上清过镍柱，在结合缓冲液和洗脱缓冲液中加入 30%~50% 的丙三醇，可得到较纯的重组长尾丝蛋白，几乎没有杂蛋白。丙三醇带有 3 个羟基，与水分子形成三个氢键，藉此形成稳定的束缚水分子膜。此外，丙三醇可能对重组长尾丝蛋白还能起到促溶作用。通过预测 ZZ1 长尾丝末端 gp37 蛋白和 ZZ1 短尾丝 gp12 蛋白氨基酸序列，并对两者进行比对分析。结果显示，ZZ1 长尾丝末端 gp37 蛋白和 ZZ1 短尾丝 gp12 蛋白拥有相同序列，可能与 T4 噬菌体的 gp37 和 gp12 相同，因为两者均与能结合脂多糖有关。纯化的重组受体结合蛋白仍具有反应原性，为噬菌体 ZZ1 RBP(receptor binding protein)与宿主菌相互作用机制研究奠定了基础。

【参考文献】

- [1] Ibrahim S, Al-Saryi N, Al-Kadmy et al. Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* as an emerging concern in hospitals[M]. Mol Biol Rep, 2021, 48(10): 6987-6998.
- [2] Ramirez MS, Bonomo RA, Tolmasky ME. Carbapenemases: Transforming *Acinetobacter baumannii* into a yet more dangerous menace[J]. Biomolecules, 2020, 10(5): 720.
- [3] Mea HJ, Yong P, Wong EH. An overview of *Acinetobacter baumannii* pathogenesis: Motility, adherence and biofilm formation [J]. Microbiol Res, 2021, 274: 126722.
- [4] Trebosc V, Gartenmann S, Tztl M, et al. Dissecting colistin resistance mechanisms in extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* clinical isolates[J]. mBio, 2019, 10(4): e01083-19.
- [5] 岳昌武. 抗生素开发现状及策略[J]. 延安大学学报: 医学科学版, 2021, 19(1): 7.
- [6] Huemer M, Shambat SM, Brugger SD, et al. Antibiotic resistance and persistence-Implications for human health and treatment perspectives[J]. EMBO reports, 2020, 21(12): e51034.
- [7] Lauman P, Dennis JJ. Advances in Phage Therapy: Targeting the *Burkholderia cepacia* Complex. Viruses. 2021 Jul 9; 13(7): 1331.
- [8] 刘成程, 胡小芳, 冯友军. 细菌耐药: 生化机制与应对策略[J]. 生物技术通报, 2022, 38(9): 13.
- [9] 金凤. 噬菌体疗法: 精准打击土传病原菌[N]. 科技日报, 2023-02-09(006).
- [10] 梁冰纯, 赵文鹏, 韩博, 等. 噬菌体治疗动物细菌感染性疾病的研究进展[J]. 中国兽医杂志, 2023, 59(1): 107-110.
- [11] Leprince A, Mahillon J. Phage adsorption to gram-positive bacteria[J]. Viruses, 2023, 15(1): 196.
- [12] 王紫鉴, 王鹏. 噬菌体受体种类及噬菌体与宿主结合方式研究进展[J]. 中国病原生物学杂志, 2022, 17(6): 739-743.
- [13] Ge H, Hu M, Zhao G, et al. The "fighting wisdom and bravery" of tailed phage and host in the process of adsorption[J]. Microbiological Res, 2020, 230: 126344.
- [14] Gordillo Altamirano FL, Barr JJ. Unlocking the next generation of phage therapy: the key is in the receptors[J]. Current Opinion Biotechnol, 2021, 68: 115-123.

(下转 807 页)

别体外诱导和体内形成的我国流行优势基因型虫株缓殖子,具有良好的鉴定和诊断价值。建立的 Western blot 和 IFA 方法简单易行,经济实用,结果准确可靠,可作为研究 BAG1 蛋白生物学功能的工具。关于 rBAG1 的免疫原性有待进一步探讨。

【参考文献】

[1] Choi EK, Nguyen TT, Gupta N, et al. Functional analysis of SLC39A8 mutations and their implications for manganese deficiency and mitochondrial disorders[J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 3163.
[2] Montoya JG, Liesenfeld O. Toxoplasmosis[J]. Lancet, 2004, 363(9425):1965-1976.
[3] Marin-Garcia PJ, Planas N, Llobat L. *Toxoplasma gondii* in foods: prevalence, control, and safety[J]. Foods, 2022, 11(16): 2542.
[4] Megli CJ, Coyne CB. Infections at the maternal-fetal interface: an overview of pathogenesis and defence[J]. Nat Rev Microbiol, 2022, 20(2): 67-82.
[5] Parmley S, Slifer T, Araujo F. Protective effects of immunization with a recombinant cyst antigen in mouse models of infection with *Toxoplasma gondii* tissue cysts[J]. J Infect Dis, 2002, 185(Suppl 1): S90-5.
[6] 邱燕华,董朕,张吉丽,等. 弓形虫病的治疗研究进展[J]. 中国动物传染病学报, 2020; 1-15.
[7] 李博,魏峰,刘全,等. 弓形虫 ROP18 基因重组蜥蜴利什曼原虫的构建及鉴定[J]. 动物医学进展, 2012, 33(2): 1-4.

[8] Mun HS, Aosai F, Yano A. Role of *Toxoplasma gondii* HSP70 and *Toxoplasma gondii* HSP30/bag1 in antibody formation and prophylactic immunity in mice experimentally infected with *Toxoplasma gondii*[J]. Microbiol Immunol, 1999, 43(5): 471-479.
[9] Di Cristina M, Del Porto P, Buffolano W, et al. The *Toxoplasma gondii* bradyzoite antigens BAG1 and MAG1 induce early humoral and cell-mediated immune responses upon human infection[J]. Microbes Infect, 2004, 6(2): 164-171.
[10] Ben-Harari RR, Goodwin E, Casoy J. Adverse event profile of pyrimethamine-based therapy in toxoplasmosis: A systematic review[J]. Drugs R D, 2017, 17(4): 523-544.
[11] 白冰,桑晓宇,周雅盼,等. 弓形虫疫苗研究进展[J]. 中国人兽共患病学报, 2017, 33(12): 1120-1124.
[12] 邢燕,谷俊朝. 弓形虫病研究新进展[J]. 中国病原生物学杂志, 2016, 11(1): 94-98, 101.
[13] 梁瑾,王靖飞. B 细胞表位预测方法研究进展[J]. 生命科学, 2009, 21(2): 320-323.
[14] 黄江,胡旭初,黄艳,等. 牛带绦虫亚洲亚种苹果酸脱氢酶基因的生物信息学分析[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2008(3): 225-227.
[15] Wang HW, Lin YC, Pai TW, et al. Prediction of B-cell linear epitopes with a combination of support vector machine classification and amino acid propensity identification[J]. J Biomed Biotechnol, 2011, 2011: 432830.
[16] 沈继龙,余莉,我国弓形虫病我国弓形虫病流行概况及防治基础研究进展[J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2019, 31(1): 71-76.

【收稿日期】 2023-02-20 【修回日期】 2023-05-10

(上接 802 页)

[15] Rakhuba DV, Kolomiets EI, Dey ES, et al. Bacteriophage receptors, mechanisms of phage adsorption and penetration into host cell[J]. Polish J Microbiol, 2010, 59(3): 145-155.
[16] Nobrega FL, Vlot M, de Jonge PA, et al. Targeting mechanisms of tailed bacteriophages[J]. Nat Rev Microbiol, 2018, 16(12): 760-773.
[17] Van den Berg B, Silale A, Basle A, et al. Structural basis for host recognition and superinfection exclusion by bacteriophage T5[J]. Proc Natl Aca Sci U S A, 2022, 119(42): e2211672119.
[18] Nobrega FL, Vlot M, de Jonge PA, et al. Targeting mechanisms of tailed bacteriophages[J]. Nat Rev Microbiol, 2018, 16(12): 760-773.
[19] Latka A, Leiman PG, Drulis-Kawa Z, et al. Modeling the architecture of depolymerase-containing receptor binding proteins in *Klebsiella* Phages[J]. Front Microbiol, 2019, 10: 2649.
[20] Biemann R, Habann M, Eugster MR, et al. Receptor binding proteins of *Listeria monocytogenes* bacteriophages A118 and P35 recognize serovar-specific teichoic acids[J]. Virology, 2015, 477: 110-118.
[21] Lan M, Yap, Michael G, et al. Structure and function of bacteriophage T4[J]. Future Microbiol, 2014, 9(12): 1319-1327.
[22] Maghsoodi A, Chatterjee A, Andricioaei I, et al. How the phage T4 injection machinery works including energetics, forces, and dy-

namic pathway[J]. Proc Nat Aca Sci, 2019, 116(50): 201909298.
[23] Jin J, Li ZJ, Wang SW, et al. Isolation and characterization of ZZ1, a novel lytic phage that infects *Acinetobacter baumannii* clinical isolates[J]. BMC Microbiol, 2012, 12(1): 1-8.
[24] Jing J, Li ZJ, Wang SW, et al. Genome organisation of the *Acinetobacter* lytic phage ZZ1 and comparison with other T4-like *Acinetobacter* phages[J]. BMC Genomics, 2014, 15(1): 1-14.
[25] Miller ES, Elizabeth K, Gisela M, et al. Bacteriophage T4 genome[J]. Microbiol Mol Biol Rev, 2003, 67(1): 199-201.
[26] Pawlik, Krzysztof, Bock, et al. Recognition of bacterial lipopolysaccharide using bacteriophage-adhesin-coated long-period gratings[J]. Biosensors Bioelectronics, 2015, 67: 93-99.
[27] Taslem Mourosi J, Awe A, Guo W, et al. Understanding bacteriophage tail fiber interaction with host surface receptor: The key "blueprint" for reprogramming phage host range[J]. Internat J Mol Sci, 2022, 23(20): 12146.
[28] Suga A, Kawaguchi M, Yonesaki T, et al. Manipulating Interactions between T4 phage long tail fibers and *Escherichia coli* receptors[J]. Applied Environ Microbiol, 2021, 87(13): e0042321.
[29] Hyman P, van Raaij M. Bacteriophage T4 long tail fiber domains[J]. Biophysical Rev, 2018, 10(2): 463-471.

【收稿日期】 2023-02-15 【修回日期】 2023-05-10