

DOI:10.13350/j.cjpb.240711

• 论著 •

## 布鲁氏菌 T4SS 15 个效应蛋白的生物信息学分析\*

谢珊珊<sup>1,2</sup>, 邓肖玉<sup>1</sup>, 彭泽宇<sup>2</sup>, 孙天浩<sup>1</sup>, 王震<sup>1,2\*\*</sup>, 陈创夫<sup>1,2\*\*</sup>

(1. 石河子大学动物科技学院, 新疆石河子 832000; 2. 动物疾病防控兵团重点实验室)

**【摘要】** 目的 对布鲁氏菌 T4SS 15 个效应蛋白进行生物信息学分析。方法 从 NCBI 数据库中获取布鲁氏菌 T4SS 的 15 个效应蛋白的氨基酸序列, 利用生物信息学软件分析 15 个效应蛋白的理化性质及同源建模分析跨膜区、信号肽、亲水性、保守结构域、B 细胞抗原表位、T 细胞抗原表位、抗原性、翻译后修饰位点及效应蛋白间的相互作用等。结果 15 个布鲁氏菌 T4SS 效应蛋白主要为无信号肽和跨膜螺旋结构的亲水性蛋白, 其中 BspB 有跨膜螺旋结构和信号肽, RicA、BspA、BPE005 和 BPE275 疏水性蛋白; 除 VceC、BspB、BspC、BspE 和 BPE123 外其余 11 个效应蛋白均具有 1 个或多个稳定结构域; BPE043 有优势 B 细胞抗原表位且 CD4 T 细胞抗原表位数量较高; 修饰化位点预测显示: 15 个效应蛋白中有 12 个同时具有糖基化、甲基化、磷酸化、乙酰化修饰位点; 对效应蛋白互作预测分析显示 BPE043 可同时与 VceC、BspE、BspF 蛋白发生互作, 其余 11 种效应蛋白间发生互作的概率较低。结论 BPE043 蛋白抗原性较强, 可作為布鲁氏菌潜在的疫苗候选基因, 为布鲁氏菌 T4SS 效应蛋白生物学功能研究提供科学依据。

**【关键词】** 布鲁氏菌; T4SS; 生物信息学分析**【文献标识码】** A**【文章编号】** 1673-5234(2024)07-0800-06

[Journal of Pathogen Biology. 2024 Jul.; 19(7):800-805.]

Bioinformatics analysis of related effectors of *Brucella* T4SSXIE Shanshan<sup>1,2</sup>, DENG Xiaoyu<sup>1</sup>, PENG Zeyu<sup>2</sup>, SUN Tianhao<sup>1</sup>, WANG Zhen<sup>1,2</sup>, CHEN Chuangfu<sup>1,2</sup>

(1. College of Animal Science and Technology, Shihezi University, Shihezi 832000, Xinjiang, China; 2. Key Laboratory of Animal Disease Prevention and Control Corps)

**【Abstract】** **Objective** Using bioinformatics software to analyze 15 effector proteins of *Brucella* T4SS. **Methods** The amino acid sequences of *Brucella* T4SS effector proteins were obtained from the NCBI database, and analyze the physicochemical properties, homologous modeling, transmembrane domain, signal peptide, hydrophilicity, conserved domain, B cell antigen epitopes, T cell antigen epitopes, antigenicity, post-translational modification sites and protein-protein interactions, using bioinformatics software to analyze. **Results** Most of the 15 T4SS effector proteins are hydrophilic proteins without signal peptides and transmembrane domains, BspB has transmembrane helix structure and signal peptide, except for RicA, BspA, BPE005 and BPE275 are hydrophilic proteins. Except for VceC, BspB, BspC, BspE and BPE123, the other 11 effector proteins have one or more stabilizing structural domains. BPE043 has a superior B cell antigen epitope and a higher number of CD4 T cell antigen epitopes. Modification site prediction showed that 12 of the 15 effector proteins have glycosylation, methylation, phosphorylation, and acetylation modification sites. Predictive analysis of the interaction between effector proteins showed that BPE043 can interact with VceC, BspE, and BspF, but has less interaction with the other 11 effector proteins. **Conclusion** The BPE043 protein has strong antigenicity and can be used as a potential candidate gene for Brucellosis vaccine, providing scientific basis for the study of the biological function of *Brucella* T4SS effector proteins.

**【Keywords】** *Brucella*; T4SS; bioinformatics analysis

\*\*\*布鲁氏菌病(Brucellosis)是由布鲁氏菌(*Brucella*)感染所致的世界范围内广泛流行的一种人畜共患病, 严重危害人体健康和畜牧业的发展<sup>[1]</sup>。布鲁氏菌主要侵袭的对象有羊、牛、猪, 引起怀孕母畜的流产, 还能破坏雄性动物生殖系统从而导致不育<sup>[2]</sup>。而人感染布鲁氏菌主要症状表现为慢性持续性感染, 临床表现为波状热、全身乏力、多汗及关节部位的肿痛等症状<sup>[3]</sup>。

布鲁氏菌 IV 型分泌系统 (Type IV secretion system, T4SS) 是布鲁氏菌重要的毒力因子, 布鲁氏菌 T4SS 能够通过调节宿主细胞的信号通路在内质网中

建立复制位点, 从而抑制宿主的免疫应答, 形成慢性感染<sup>[4-5]</sup>。T4SS 主要通过分泌效应蛋白作用于宿主细胞发挥其生物学功能<sup>[6]</sup>, 而效应蛋白依赖于 T4SS 分

\* **【基金项目】** 国家自然科学基金项目 (No. 32002245, U1803236); 兵团重大科技项目 (No. 2017AA003)。

\*\* **【通讯作者】** 陈创夫, E-mail: ccf-xb@163.com

王震, E-mail: wzhen2018@shzu.edu.cn

**【作者简介】** 谢珊珊 (1997-), 女, 河南商丘人, 硕士研究生, 研究方向: 预防兽医学。E-mail: 1752688152@qq.com

泌<sup>[7]</sup>。通过瞬变电磁法瞬变电磁 (Time domain electromagnetic method, TEM) 法, 目前共鉴定出布鲁氏菌 T4SS 效应蛋白 15 个<sup>[8]</sup>, 其中大多数效应蛋白的功能、作用机制、及其作用靶标等尚不清楚。因此, 开展效应蛋白的生物信息学预测分析, 对于研究布鲁氏菌 T4SS 效应蛋白的生物学功能挖掘具有重要意义。

## 材料与方 法

### 1 研究对象

根据 GenBank 上公布的布鲁氏菌 2308 T4SS 分泌的效应蛋白的信息下载基因序列及氨基酸序列, 目前被证实的 15 个效应蛋白 NCBI 登录号见表 1。

表 1 布鲁氏菌 T4SS 效应蛋白序列相关信息

Table 1 Information about *B. abortus* T4SS effector protein sequences

蛋白名称 Protein	序列号 Sequence number	基因长度 (bp) Gene length	氨基酸 (aa) Amino acids
RicA(BAB1_1279)	3787865	528	175
VceA(BAB1_1652)	3788180	318	105
VceC(BAB1_1058)	3787712	1257	418
BspA(BAB1_0678)	3787397	576	191
BspB(BAB1_0712)	3787425	564	187
BspC(BAB1_0847)	3787531	414	137
BspE(BAB1_1675)	3788202	354	117
BspF(BAB1_1948)	3788412	1287	428
BtpA(BAB1_0279)	3787064	828	275
BtpB(BAB1_0756)	3787462	879	292
SepA(BAB1_1492)	3788040	573	190
BPE005(BAB1_2005)	3788461	462	153
BPE043(BAB1_1043)	3787699	4737	1578
BPE275(BAB1_1275)	3787861	729	242
BPE123(BAB2_0123)	3828185	462	153

### 2 方法

**2.1 布鲁氏菌 T4SS 效应蛋白的理化性质及同源建模分析** 利用 SMS 和 ExPasy 软件预测布鲁氏菌 T4SS 分泌的 15 种效应蛋白的蛋白分子质量、等电点和稳定性进行分析; 通过 SWISS-MODEL 软件对 15 种效应蛋白的结构模型进行预测。

**2.2 布鲁氏菌 T4SS 效应蛋白跨膜区、信号肽和亲水性预测** 通过 TMHMM Server v. 2. 0、SignalP4. 1 Server 和 Prot scale 软件预测布鲁氏菌 T4SS 分泌的 15 种效应蛋白的跨膜区、信号肽及亲、疏水性。

**2.3 布鲁氏菌 T4SS 效应蛋白的核信号预测** 利用 cNLS Mapper 软件对布鲁氏菌 T4SS 分泌的效应蛋白进行核信号预测。

**2.4 布鲁氏菌 T4SS 效应蛋白的保守结构域预测** 通过 NCBI CD-Search 在线软件对布鲁氏菌 T4SS 分泌的效应蛋白的保守结构域进行预测。

**2.5 布鲁氏菌 T4SS 效应蛋白的 B、T 细胞抗原表位**

及抗原性和抗原肽进行预测 使用 IEDB 来预测布鲁氏菌 T4SS 分泌的效应蛋白的 T 细胞表位; 使用 SVM trip 软件来预测布鲁氏菌 T4SS 分泌的效应蛋白的 B 细胞表位; 运用 Vaxijen v2. 0、Predicting Antigenic Peptides 软件预测 15 个效应蛋白的抗原性和抗原肽。

**2.6 布鲁氏菌 T4SS 效应蛋白的翻译后修饰位点预测分析** 应用 iRice-MS 软件对布鲁氏菌 T4SS 分泌的效应蛋白进行乙酰化位点预测; 利用 NetPhos 3. 1 Server 软件对布鲁氏菌 T4SS 分泌的效应蛋白进行磷酸化位点预测; 通过 GlycoMine 软件对布鲁氏菌 T4SS 分泌的效应蛋白进行糖基化修饰位点预测; 应用 SRAMP 软件对布鲁氏菌 T4SS 分泌的效应蛋白甲基化修饰位点进行预测。

**2.7 布鲁氏菌 T4SS 效应蛋白的相互作用预测** 通过 STRING 软件预测布鲁氏菌 T4SS 分泌的效应蛋白之间的相互作用。

## 结 果

### 1 布鲁氏菌 T4SS 相关效应蛋白的理化性质及同源建模分析

利用 SMS 和 ExPasy 软件预测布鲁氏菌 T4SS 分泌的 15 种效应蛋白的蛋白分子质量、理论等电点和不稳定系数, 结果显示, RicA、VceA、BspC、BtpB、SepA 和 BPE043 为稳定蛋白, 其余 9 种效应蛋白不稳定系数 > 40, 为不稳定蛋白; 通过 SWISS-MODEL 软件对 15 种效应蛋白的结构模型进行预测, 结果显示, 有 14 种效应蛋白同源模型成功建立, 效应蛋白 BPE043 未成功构建模型(表 2, 图 1)。

表 2 15 种效应蛋白的蛋白分子质量、等电点和不稳定系数预测  
Table 2 Predicted protein molecular weight, isoelectric point and instability coefficient of 15 effector proteins

蛋白名称 Protein	蛋白分子质量(ku) Protein molecular weight	理论等电点(pH) Theoretical isoelectric point	不稳定系数 Instability coefficient
RicA	18.59	6.05	26.23
VceA	11.32	5.64	5.48
VceC	44.93	4.97	69.27
BspA	21.8	11.60	51.37
BspB	20.53	9.88	51.32
BspC	14.83	9.87	23.89
BspE	12.74	5.11	45.85
BspF	48.75	8.72	48.74
BtpA	30.90	9.37	51.61
BtpB	33.62	5.21	25.32
SepA	20.97	6.75	29.53
BPE005	16.82	5.10	40.62
BPE043	169.07	4.88	36.09
BPE275	26.31	9.46	44.32
BPE123	16.68	10.62	40.33

注: 不稳定系数 > 40 则不稳定, 反之则稳定。

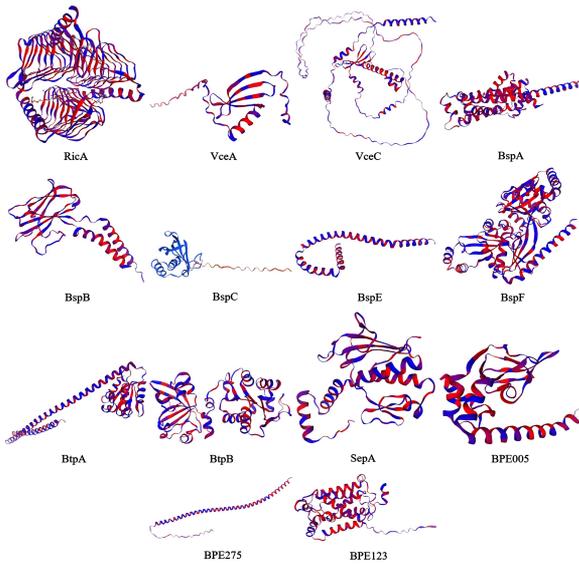


图 1 效应蛋白的模式图预测  
Fig. 1 Pattern diagram prediction of effector proteins

## 2 布鲁氏菌 T4SS 相关效应因子的跨膜结构、信号肽及亲疏水性分析

通过 TMHMM Server v. 2. 0、SignalP4. 1 Server 和 ProtScale 软件在线软件分析预测其跨膜区、信号肽及亲水性分析。结果表明 1 个蛋白(BspB)有跨膜螺旋结构和信号肽;有 4 个蛋白(VceC, BspA, BPE043, BPE275)有跨膜螺旋结构但无信号肽,有 2 个蛋白(VceA, BspC)无跨膜螺旋结构但有信号肽;其余 8 个蛋白(RicA, BspE, BspF, BtpA, BtpB, SepA, BPE005, BPE123)无跨膜螺旋结构也不存在信号肽。ProtScale 预测出 15 个 T4SS 相关效应蛋白中除 RicA、BspA、BPE005 和 BPE275 外均为亲水性蛋白(表 3)。

表 3 15 种效应蛋白的跨膜螺旋结构、信号肽及亲水性平均系数预测  
Table 3 Predicted transmembrane helix structures, signal peptides and hydrophilicity mean coefficients of 15 effector proteins

蛋白名称 Protein	信号肽 Signal peptide	跨膜螺旋结构 Transmembrane spiral structure	亲水性平均系数 Hydrophilic mean coefficient
RicA	0	0	0.019
VceA	1	0	-0.305
VceC	0	1	-0.496
BspA	0	4	0.258
BspB	1	2	-0.053
BspC	1	0	-0.209
BspE	0	0	-0.382
BspF	0	0	-0.310
BtpA	0	0	-0.644
BtpB	0	0	-0.253
SepA	0	0	-0.281
BPE005	0	0	0.169
BPE043	0	7	-0.314
BPE275	0	2	0.661
BPE123	0	0	-0.186

注:亲水性平均系数为负值则说明该蛋白为亲水性蛋白,反之则为疏水性蛋白。

## 3 布鲁氏菌 T4SS 效应蛋白的核信号预测

通过 cNLS Mapper 软件对布鲁氏菌 T4SS 15 种效应蛋白进行核信号预测发现有 9 个蛋白预测出核信号,得分为 3~5.9(表 4)。

表 4 9 种效应蛋白的核信号预测  
Table 4 Nuclear signal prediction for 9 effector proteins

蛋白名称 Protein	核信号数 No. of	序列 Sequence	得分 Score
VceC	1	RESAAPAKPAAPAPNQPERSERPERPERPQRIEP	3.5
BspA	1	RSFRYGGKRILRITASPHAVAAGLAVGVFSAFTP	3.5
BspC	5	STKIILSAIFAFGFTAAAQADAVPKRTKDF;	3
		TLVKDQASPQVADCIASGYDYVKKSKKYD;	4
		DYVKKSKKYDRLGFTKADIAAAAATSDKSAKFS;	4.8
		RLGFTKADIAAAAATSDKSAKFSAKDAKKVSAII;	3.5
		DKSAKFSAKDAKKVSAIISVPGEARIKSVGYK	3.2
BspF	4	RDIPRKLAIYGAAAGFELRDELHLSNRTIEP;	3.7
		DILARRHIKLEPEVLPEMRANGAAARLIR;	3.7
		EAWTWKTAAYDETFHAWSPGVLLMIEVVKNHLLD;	3.5
		IEVVKNHLLDDPNRIARTDSCAVDPDHPVMTRLF	3.1
BtpA	3	DRLQREIARLKAADDSREMSKEKQAQSKAHKA;	4.8
		QKSKMSELERATRDGAAGKRRADI;	4.1
		RDGAAGKRRADIAKKIADKAKQLSSYQAKQFKAD	5.9
BtpB	1	RNRCKLIVFVGGDYQRKDWCGVEFRAIREII	3.2
SepA	1	ERLSKKWAIPVSVKFWWQKNPKAQYPGKGTGIL	3.3
BPE043	4	GTLRTLSDNTLSQIADIADRFDEHGKVLV;	3
		EKPRGWVSDLLARASREEEAAQPKVQP;	3.4
		RYRRGERNVFTRRLYLTKGQTFDDIKRKYQTD;	3.2
		FDDIKRKYQTDGEFRRAVDRYMDFQRLLED	3
BPE123	3	RLAETQVRREMDAIEELNRLKALSRDMRQARI;	3.2
		RLRKALSRDMRQARILAEPTPPRQEKTTPSA;	3.8
		RQEKTTPSAAEQPLPADKNALPVFVRRRAVK	3.7

注:评分为 8、9 或 10 的 NLS 的 GUS-GFP 报告蛋白仅定位于细胞核,得分为 7 或 8 分的部分定位于细胞核,得分为 3、4 或 5 分定位于细胞核和细胞质,评分为 1 或 2 仅定位于细胞质。

## 4 布鲁氏菌 T4SS 相关效应因子的保守结构域预测

通过 NCBI CD-Search 在线软件预测布鲁氏菌 T4SS 相关效应蛋白的保守结构域,布鲁氏菌 T4SS 相关效应蛋白中除 VceC、BspB、BspC、BspE 和 BPE123 外其余 11 个效应蛋白(RicA、VceA、BspA、BspE、BspF、BtpA、BtpB、BPE005、BPE043、BPE275)均具有 1 个或多个稳定结构域(表 5)。

## 5 布鲁氏菌 T4SS 相关效应蛋白的 B、T 细胞抗原表位和抗原性及抗原肽预测

布鲁氏菌 T4SS 15 个相关效应蛋白中有 1 个蛋白(BPE043)有优势 B 细胞抗原表位且 CD4 T 细胞抗原表位 48 个,结合抗原性和抗原肽数量,预测其可能具有较强的抗原性。RicA、VceA、BspB、BspE、SepA CD4 T 细胞抗原表位数量较少(数量<5);其中 BspE 未预测出 B 细胞抗原表位(表 6 和 7,图 2)。

## 6 布鲁氏菌 T4SS 相关效应蛋白翻译后修饰位点的预测

通过 GlycoMine 在线软件对布鲁氏菌 T4SS 相关效应蛋白进行糖基化修饰位点预测,15 个效应蛋白可

能在信号通路中起调控作用,布鲁氏菌 T4SS 效应蛋白均有磷酸化位点和糖基化位点;除 BspA、BPE005 和 BPE123 这 3 个效应蛋白外,其余 12 个效应蛋白均具有甲基化位点(表 8)。

表 5 11 种效应蛋白的结构域预测  
Table 5 Structural domain prediction of 11 effector proteins

效应蛋白 Protein	结构域 Structural domain	位点 Sites	结构域数量 No. of structural domains	功能 Function
RicA	$\gamma$ -碳酸酐酶蛋白家族	1-174	1	催化二氧化碳转化为碳酸和氢离子。
VceA	COG5591 超级家族	20-105	1	功能未知。
BspA	COG3216 超级家族	1-184	1	功能未知。
BspF	N-乙酰转移酶超家族	224-350	1	各种表征催化转移的烯基蛋白。
BtpA	PTZ00121 结构域 TIR 蛋白结构域	9-142 146-266	2	细菌 Toll 样受体家族,负责所有 toll 样受体(TLR)中的信号转导。
BtpB	COG4916 超级家族	91-292	1	功能未知。
SepA	Mistic 超级家族	3-45	1	是一种完整的膜蛋白,可自主折叠到膜中。该蛋白质形成具有极性脂质表面的螺旋束。
BPE005	环核苷酸结合结构域	15-128	1	该结构域广泛存在于细菌中,能够调控许多基因的表达。
BPE043	载脂蛋白超级家族	993-1144	5	运载脂类物质以及稳定脂蛋白结构;功能未知;与核结合的作用的多肽以使核二聚体化;保持外膜脂质不对称;与核结合的作用的多肽以使核二聚体化。
	CCDC158 超级家族	298-831		
	PRK07003 超级家族	1374-1486		
	MlaD 超级家族	1087-1282		
BPE275	PRK14965 超级家族	1299-1429	1	能识别和清除细菌内膜内蛋白复合体中的孤蛋白(orphanproteins),对维持细菌内膜的稳态起到关键作用。
	GlpG 超级家族	14-242		

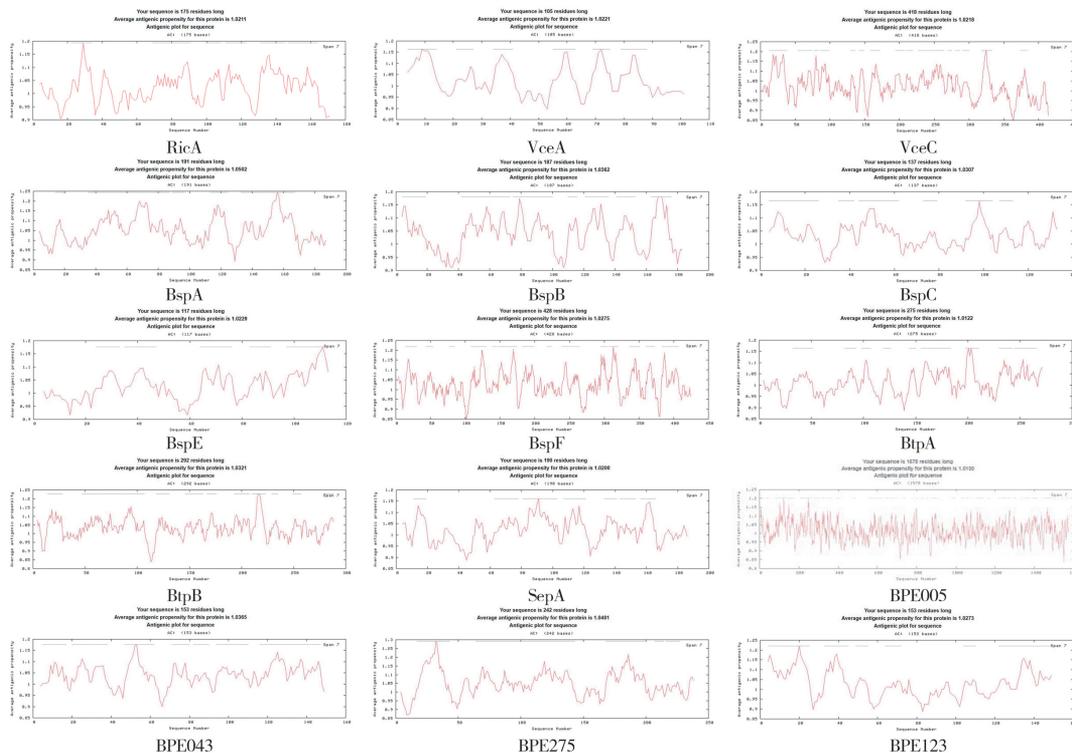


图 2 T4SS 效应蛋白抗原肽预测  
Fig. 2 T4SS effector protein antigen peptide prediction

### 7 布鲁氏菌 T4SS 相关效应因子的相互作用预测

通过 STRING 在线软件预测布鲁氏菌 T4SS 相关效应蛋白之间的相互作用,除 BPE043 可与 VceC、BspF、BspE 产生互作外,其余蛋白内部之间不存在互作关系。相关效应蛋白中 10 个蛋白(RicA、VceA、

VceC、BspA、BspE、BspF、BtpB、BPE005、BPE043、BPE275)可与其他蛋白发生互作;但其余 5 种蛋白(BspB、BspC、BtpA、SepA、BPE123)在预测中未发现与之互作蛋白(表 9,图 3)。

表 6 15 种效应蛋白 T 细胞表位的预测  
Table 6 The predictions of 15 effector protein T cell epitopes

表位 Epitope	IEDB				
	效应蛋白 Protein	表位个数 No. of positions	最优序列 Optimal sequence	最优位点 Optimal site	百分位等级 Percentile grade
T 细胞 表位 T-cell Epitopes	RicA	4	ASAKHYVER	156-164	0.18
	VceA	4	SATGAMAQK	14-22	0.18
	VceC	8	AIAAPVYRK	164-172	0.01
	BspA	5	RSFSRSFRY	23-31	0.11
	BspB	1	NTDGLQLSK	138-146	0.19
	BspC	8	RTKDFTANY	28-36	0.19
	BspE	2	KLEEKIEEK	10-18	0.56
	BspF	11	SSAVIEAAK	25-33	0.17
	BtpA	17	SSYQAKQFK	88-96	0.02
	BtpB	7	AVKDVNLPK	121-129	0.01
	SepA	4	AAPGLAFTK	66-74	0.19
	BPE005	6	RISRSIFRR	107-115	0.25
	BPE043	38	AVNEYEVGK	16-24	0.02
	BPE275	5	RSYDAVLR	232-242	0.02
	BPE123	5	AALIVVGRK	19-27	0.48

表 7 SVM trip 软件预测 15 种效应蛋白 B 细胞表位  
Table 7 SVM trip software predicts 15 effector protein B-cell epitopes

表位 Epitope	SVM trip			
	效应蛋白 Protein	位点 Site	序列 Sequence	推荐指数 Recommendation Index
B 细胞 表位 B-cell Epitopes	RicA	152-171	EKLRSASAKHYVERGHSFMRG	★
	VceA	73-92	VKVDPEPMKVAVAGKVKRYGD	
	VceC	368-387	ELDTASLEDELLSSLDISPT	★
	BspA	141-160	PMLFGSTILGAAFAVLVYFV	★
	BspB	36-55	MLENRQSGFKVQEVRLAASD	★
	BspC	94-113	KKVSAIISVPGEARIKSVGY	★
	BspE	无	无	
	BspF	241-260	GELVHKVARTPDEVRRHAFEH	★
	BtpA	1-20	MSSYSSNIDRLQREIARLKA	★
	BtpB	108-127	LDIGNWEMNRTHWAVKDVNL	★
	SepA	9-28	DATFADLSVLKTWYGTKTPS	★
	BPE005	132-151	SRNLVELIGQIEQVAPRLAN	
	BPE043	1355-1374	EQINALKELAEIVNKGRLV	★
	BPE275	78-97	SYSFMHGSAFHIAVNMIWLA	★
	BPE123	124-143	EQPLPADKNALPVFVRRRAVK	★

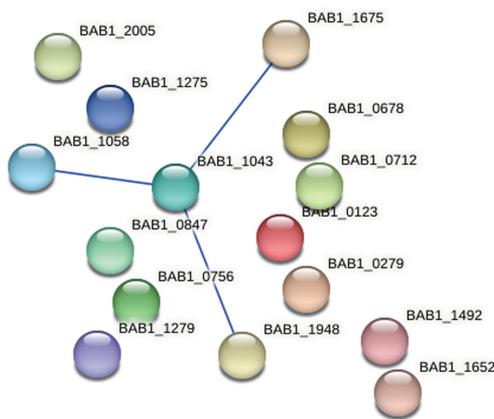


图 3 T4SS 效应蛋白间的相互作用预测  
Fig. 3 Interaction prediction among T4SS effector proteins

表 8 15 种效应蛋白抗原性和抗原肽数量预测  
Table 8 Predicted antigenicity and number of antigenic peptides for 15 effector proteins

效应蛋白 Protein	抗原性 Antigenicity	抗原肽数量 Antigenic peptides
RicA	0.4257	6
VceA	0.7590	6
VceC	0.5338	15
BspA	0.4267	5
BspB	0.5333	7
BspC	0.5927	6
BspE	0.6556	5
BspF	0.4092	15
BtpA	0.5743	9
BtpB	0.4664	10
SepA	0.6666	7
BPE005	0.1503	7
BPE043	0.5167	56
BPE275	0.5645	5
BPE123	0.3607	6

注: 抗原性 > 0.4 为可能性抗原。

表 9 15 种效应蛋白的修饰化位点预测  
Table 9 Predicted Modification Sites for 15 Effector Proteins

效应蛋白 Protein	糖基化位点 Glycosylation sites	磷酸化位点 Phosphorylation sites	甲基化位点 Methylation sites	乙酰化位点 Acetylation sites
RicA	9	2	2	
VceA	4	1	3	7
VceC	11	8	6	10
BspA	2	10	0	4
BspB	4	1	1	2
BspC	1	5	3	19
BspE	2	2	3	8
BspF	13	11	9	14
BtpA	3	10	5	31
BtpB	10	5	7	11
SepA	2	6	4	16
BPE005	2	4	0	0
BPE043	17	49	26	49
BPE275	5	4	1	1
BPE123	1	1	0	4

## 讨论

布鲁氏菌 T4SS 分泌的效应蛋白是布鲁氏菌发挥致病性的关键,在布鲁氏菌的胞内生存和增殖中发挥着重要作用。目前被证实的布鲁氏菌效应蛋白有 15 种, VceA 和 VceC 是最早鉴定出的布鲁氏菌 T4SS 的效应蛋白<sup>[9]</sup>。研究发现,布鲁氏菌可通过 T4SS 分泌的效应蛋白参与调控宿主细胞内抗感染过程, RicA 可与人蛋白 Rab2GTPase 相互作用,在 HeLa 细胞感染试验中被证实影响 BCV 的成熟,且 RicA 缺失株使布鲁氏菌的胞内增殖更快<sup>[10-11]</sup>。从 20 个候选蛋白中确认 BspA、BspB、BspC、BspF、BspE 的分泌均也依赖于 IV 型分泌系统<sup>[12]</sup>,且布鲁氏菌效应蛋白 BspA、BspB、BspF 能够抑制宿主细胞中某些蛋白的分泌通路但其

具体作用的机制尚不明确,发现 BspB 与巨噬细胞的分泌蛋白有共同特性<sup>[13]</sup>,本研究中预测出 BspB 效应蛋白是一种同时具有 B 细胞表位、T 细胞表位、抗原性较高、具有多条抗原肽、有多个蛋白修饰位点的亲水性蛋白,推测其可以逃避巨噬细胞的杀伤,多个修饰位点表明该蛋白可通过翻译后修饰,被赋予多样化的功能,能够影响布鲁氏菌在机体内的复制和生存。

BtpA 在感染早期可转位于宿主胞内,干扰宿主 Toll 样受体(Toll-like receptors, TLRs)信号<sup>[6]</sup>,导致树突状细胞(dendritic cells, DC)成熟减少,进而抑制促炎细胞因子的分泌和影响 NF- $\kappa$ B 信号通路的激活<sup>[14-15]</sup>,该过程对促进布鲁氏菌胞内感染,建立慢性感染阶段尤为重要,本研究预测显示出 T4SS 效应蛋白具有 Toll 样受体结构域。而 BPE123、BPE005、BPE275 和 BPE043 作为 T4SS 分泌底物<sup>[16-17]</sup>,在进化上具有高度保守性,王书利等<sup>[18]</sup>研究发现 BPE123 基因的缺失不影响布鲁氏菌的体外生长,但影响布鲁氏菌的胞内寄生能力;BPE043 和 BPE123 可通过影响细胞自噬进而影响布鲁氏菌的胞内生存<sup>[19]</sup>;通过在线软件预测出 BPE043 为布鲁氏菌的优势抗原,定位于细胞核和细胞质中,同时具有多个修饰位点,且预测出其能够与 VceC、BspF、BspE 发生互作。此外,罗文博等<sup>[20]</sup>研究进一步证实 BPE043 基因的缺失能够显著降低布鲁氏菌的毒力,能够推测出 BPE043 可作为布鲁氏菌潜在的疫苗候选基因。

综上所述,通过对 15 个布鲁氏菌 T4SS 分泌的效应蛋白稳定性、跨膜区、信号肽、亲、疏水性及免疫原性等生物信息学分析预测,发现 BPE043 可作为布鲁氏菌的候选亚单位疫苗,为布鲁氏菌 T4SS 效应蛋白的后续研究及新型疫苗和诊断技术的研发提供科学依据。

#### 【参考文献】

[1] Ronneau S, Moussa S, Barbier T, et al. *Brucella*, nitrogen and virulence [J]. Crit Rev Microbiol, 2016, 42(4): 507-525.  
[2] 邵善红. 布鲁氏菌病流行与诊断 [J]. 畜牧兽医科学(电子版), 2020, 13(7): 132-133.  
[3] 陈奕瑾, 石圆, 于胜男, 等. 布鲁氏菌病传播危险因素的 meta 分析 [J]. 中国病原生物学杂志, 2023, 18(8): 892-898.  
[4] 江雅丽. 布鲁氏菌逃避溶酶体作用机制的初步研究 [D]. 石河子: 石河子大学, 2016.  
[5] 杨琴, 邓肖玉, 赵晓丽, 等. 布鲁氏菌 IV 型分泌系统对树突状细胞

自噬、胞内生存和炎症反应的影响 [J]. 中国畜牧兽医, 2021, 48: 257-264.  
[6] 焉鑫, 李干武, 胡森, 等. 布鲁氏菌分泌系统及其底物蛋白的研究进展 [J]. 中国预防兽医学报, 2021, 43: 1019-1024.  
[7] Lacerda TL, Salcedo SP, Gorvel JP. *Brucella* T4SS: the VIP pass inside host cells [J]. Current Opinion Microbiol, 2013, 16(1): 45-51.  
[8] 马忠臣, 胡瑞瑞, 李芮芮, 等. 布鲁氏菌的胞内生存机制研究进展 [J]. 动物医学进展, 2021, 42: 71-78.  
[9] de Jong MF, Sun YH, den Hartigh AB, et al. Identification of VceA and VceC, two members of the VjbR regulon that are translocated into macrophages by the *Brucella* type IV secretion system [J]. Mol Microb, 2008, 70(6): 1378-1396.  
[10] Delrue RM, Martinez-Lorenzo M, Lestrade P, et al. Identification of *Brucella* spp. genes involved in intracellular trafficking [J]. Cell Microb, 2001, 3(7): 487-497.  
[11] de Barys M, Jamet A, Filopon D, et al. Identification of a *Brucella* spp. secreted effector specifically interacting with human small GTPase Rab2 [J]. Cell Microb, 2011, 13(7): 1044-1058.  
[12] Myeni S, Child R, Ng TW, et al. *Brucella* modulates secretory trafficking via multiple type IV secretion effector proteins [J]. PLoS Pathog, 2013, 9(8): e1003556.  
[13] 李默, 易德武, 王远志, 等. 布鲁氏菌 IV 型分泌系统效应蛋白 BspB 的原核表达及布鲁氏菌免疫逃逸分析 [J]. 中国病原生物学杂志, 2015, 10: 778-781, 815.  
[14] Halabi S, Sekine E, Verstak B, et al. Structure of the Toll/ Interleukin-1 Receptor (TIR) domain of the b-cell adaptor that links phosphoinositide metabolism with the negative regulation of the toll-like receptor (TLR) signalosome [J]. J Biol Chem, 2017, 292(2): 652-660.  
[15] 吴同全, 单晓枫, 康元环, 等. 布鲁氏菌 IV 型分泌系统效应蛋白的研究进展 [J]. 中国兽医学报, 2018, 38: 602-608.  
[16] Marchesini MI, Herrmann CK, Salcedo SP, et al. In search of *Brucella abortus* type IV secretion substrates: screening and identification of four proteins translocated into host cells through VirB system [J]. Cell Microbiol, 2011, 13(8): 1261-1274.  
[17] von Bargen K, Gorvel JP, Salcedo SP. Internal affairs: investigating the *Brucella* intracellular lifestyle [J]. FEMS Microbiol Rev, 2012, 36(3): 533-562.  
[18] 王书利, 李梦含, 高萌萌, 等. 布鲁氏菌分泌蛋白 BPE043 的功能及其对细胞凋亡基因表达的影响 [J]. 中国动物传染病学报, 2022, 12(7): 1-10.  
[19] 罗文博. 布鲁氏菌 IV 型分泌系统效应蛋白 BPE123 和 BPE043 的生物学功能初步研究 [D]. 合肥: 安徽医科大学, 2020.  
[20] 罗文博, 付梦姣, 焦俊, 等. 布鲁氏菌 IV 型分泌系统效应蛋白 BPE043 的功能和致病机制研究 [J]. 中国人兽共患病学报, 2020, 36(3): 618-623.

【收稿日期】 2024-01-09 【修回日期】 2024-04-01