

DOI:10.13350/j.cjpb.220115

• 论著 •

细粒棘球绦虫原头节抗原 Eg-00512 的生物信息学分析*

李莎莎^{1,2}, 陶佳^{1,2}, 吕咏雪¹, 朱亚洲¹, 赵殷奇^{3,4}, 赵嘉庆^{3,4}, 赵巍^{1,3,4**}

(1. 宁夏医科大学基础医学院, 宁夏银川 750004; 2. 宁夏医科大学总医院; 3. 宁夏常见传染病防治重点实验室;
4. 宁夏医学科学研究所)

【摘要】 目的 分析细粒棘球绦虫原头节特异性抗原 Eg-00512 的生物信息学特征。 **方法** 通过 NCBI 数据库获取 Eg-00512 蛋白的氨基酸序列;使用 ProtParam 在线软件分析 Eg-00512 蛋白的理化性质;采用 SOMPA 在线软件分析蛋白的二级结构;使用 IEDB 在线软件预测 Eg-00512 蛋白的亲水性、柔韧性、表面可及性、 β -转角;应用 SWISS-MODEL 在线服务器分析蛋白氨基酸序列并组合模板和 Eg-00512 蛋白的三级结构;B 细胞表位采用在线软件 IEDB 及 BcePred 综合预测,T 细胞表位采用在线预测软件 SYFPEITHI 分析确定。 **结果** Eg-00512 蛋白由 1 254 个氨基酸组成,理论 pI 值 6.15;归类于稳定蛋白质,属于亲水性蛋白。Eg-00512 蛋白的二级结构中 α 螺旋占 51.28%,延伸链占 17.22%, β -转角占 4.78%,无规卷曲占 26.71%。Eg-00512 蛋白 B 细胞表位数量各为 8 个;有 13 个 CTL 和 14 个 Th 细胞优势表位。 **结论** 生物信息学方法预测细粒棘球绦虫原头节含有多个优势 B、T 细胞抗原表位,为包虫病的诊断和疫苗的研究奠定了理论基础。

【关键词】 细粒棘球绦虫;Eg-00512 蛋白;生物信息学分析;抗原表位

【中图分类号】 R383.3

【文献标识码】 A

【文章编号】 1673-5234(2022)01-0071-04

[Journal of Pathogen Biology. 2022 Jan;17(1):71-74, 113.]

Bioinformatics analysis of *Echinococcus granulosus* EG-00512 protein

LI Sha-sha^{1,2}, TAO Jia^{1,2}, LV Yong-xue¹, ZHU Ya-zhou¹, ZHAO Yin-qi^{3,4}, ZHAO Jia-qing^{3,4}, ZHAO Wei^{1,3,4} (1. Department of Basic Medicine, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, Ningxia Hui Autonomous Region, China; 2. General Hospital of Ningxia Medical University; 3. Ningxia Key Laboratory for Prevention and Treatment of Common Infectious Diseases; 4. Ningxia Institute of Medical Science)

【Abstract】 Objective The bioinformatics characteristics of echinococcus granulosus protoscolex specific antigen EG-00512 were analyzed. **Methods** The amino acid sequence of Eg-00512 protein from *E. granulosus* was obtained from the NCBI database. The physical and chemical properties of EG-00512 protein were analyzed by using ProtParam online software. The secondary structure of the protein was analyzed by online software SOMPA. IEDB online software was used to predict the surface accessibility, β -turn, hydrophilic, flexibility. The tertiary structure of Eg-00512 protein was constructed using SWISS-Model online software. The online software IEDB and BcePred were used to predict B cell epitopes. T cell epitopes were analyzed by online prediction software SYFPEITHI. **Results** Eg-00512 protein was composed of 1 254 amino acids with a theoretical pI value of 6.15. Classified as stable proteins, hydrophilic proteins. In the secondary structure of EG-00512 protein, α -helix for 51.28%, extended chain accounted for 17.22%, β -turns for 4.78%, random coils for 26.71%. IEDB and BcePred software were used to predict the B-cell epitopes of EG-00512 protein, and the number of potential epitopes was 8, respectively. SYFPEITHI online software predicted CTL and Th cell epitopes, and there were 13 CTL and 14 Th cell epitopes. **Conclusion** The B cell and T cell epitopes of *E. granulosus* EG-00512 protein can be predicted by biological information method, which provides a theoretical basis for the diagnosis and vaccine research of echinococcus disease.

【Key words】 *Echinococcus granulosus*; Eg-00512 protein; bioinformatics analysis; epitope

*** 细粒棘球绦虫病又称囊型包虫病,是由细粒棘球绦虫幼虫感染人和动物体内所致的一种全球性的人畜共患寄生虫病^[1-2]。一项涉及中国西部 9 个省份的棘球绦虫病调查显示,每 5 000 万居民中约有 1 700 名感染者^[3]。目前,针对棘球绦虫病的临床治疗效果欠佳且危害严重,亟待研发具有保护性表位的抗原^[4-8]。佟雪琪等^[9]报道的细粒棘球绦虫重组抗原 rEg-00512 具有

* **【基金项目】** 宁夏回族自治区重点研发计划项目 (No. 2019BCG01001); 宁夏自然科学基金项目 (No. 2020AAC02039)。

** **【通讯作者】** 赵巍, E-mail: zw-6915@163.com

【作者简介】 李莎莎 (1984-), 女, 宁夏人, 硕士研究生, 主要从事基础分子生物学与寄生虫免疫研究。
E-mail: 18309679166@163.com

较好的抗原性和免疫原性。本研究利用生物信息学方法分析 Eg-00512 的生物信息学特征,为抗包虫病疫苗及包虫病早期检测试剂的研发奠定基础。

材料与方法

1 Eg-00512 氨基酸序列

从 NCBI 核苷酸数据中下载细粒棘球绦虫原头节分子 Eg-00512 的氨基酸序列。

2 Eg-00512 蛋白的生物信息学分析

利用 ExPASy 提供的在线工具 ProtParam (<http://web.expasy.org/protparam/>)分析 Eg-00512 蛋白的相对分子质量、理论等电点、氨基酸组成、不稳定系数、原子的组成和疏水性等理化性质。通过在线软件 SOMPA(https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl/page=npsa_sopma.html)分析 Eg-00512 蛋白的 α 螺旋、 β -转角、无规卷曲等二级结构。使用 IEDB(<http://www.iedb.org/>)在线软件对 Eg-00512 蛋白的亲水性、柔韧性、表面可及性、 β -转角进行预测。使用 SWISS-MODEL(<https://www.swissmodel.expasy.org/interactive>)在线服务器分析蛋白氨基酸序列并组合模板及 Eg-00512 蛋白的三级结构,采用 Rasmol 软件进行分析,明确蛋白的稳定性。使用在线预测软件 IEDB(<http://www.iedb.org/>)及 BcePred()综合预测 Eg-00512 蛋白的 B 细胞表位。应用在线预测软件 SYFPEITHI()分析 Eg-00512 蛋白的 T 细胞表位。主要组织相容性复合体 MHC I 类分子选择 HLA-A * 0201, MHC II 类分子选择 HLA-DRB1 * 0401,通过比较分析确定 T 细胞表位。

结果

1 细粒棘球绦虫抗原 Eg-00512 氨基酸序列

Eg-00512 蛋白 GenBank 登录号为 EUB64562.1。将 Eg-00512 蛋白登录号(EUB64562.1)输入 NCBI 即可获得蛋白的具体氨基酸组成。

2 Eg-00512 蛋白的理化性质

通过 ProtParam 软件分析, Eg-00512 蛋白由 1 254 个氨基酸组成,相对分子质量为 137.70526×10^3 ;理论 pI 值 6.15;其中含有 137 个强酸性(-)氨基酸(Asp + Glu), 127 个强碱性(+)氨基酸(Arg + Lys)。其化学式为 $C_{6186}H_{9797}N_{1661}O_{1819}S_{43}$;不稳定系数为 35.81,归类于稳定蛋白质。平均亲水系数(GRAVY):0.053,属于亲水性蛋白。

3 Eg-00512 蛋白的二级结构

SOMPA 在线软件分析显示,在 Eg-00512 蛋白的二级结构中 α 螺旋占 51.28%,延伸链占 17.22%, β -转角占 4.78%,无规卷曲占 26.71%(图 1)。

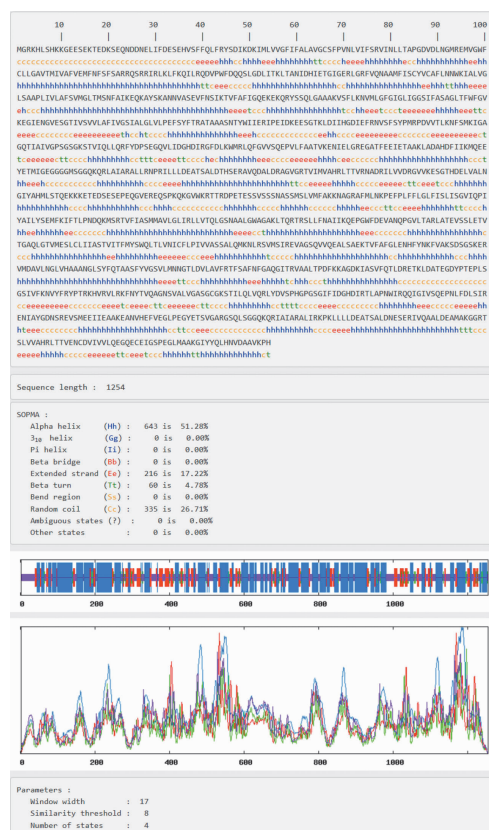


图 1 Eg-00512 的二级结构预测
Fig. 1 Secondary structure prediction of Eg-00512

4 Eg-00512 蛋白的亲水性、柔韧性、表面可及性、 β -折叠

使用 IEDB 生物信息学分析工具对 Eg-00512 蛋白的亲水性、柔韧性、表面可及性和 β -折叠进行预测。图 2 中高于设定阈值的区域显示为黄色,该区域则可能是有亲水性的(图 2A),柔韧性的(图 2B),表面可及性的(图 2C), β -折叠(图 2D)的区域。

5 Eg-00512 蛋白的三级结构

通过与数据库中已有的蛋白进行序列比对,选择相似度、覆盖度最高的模板 6ujw.1.A 预测得到 Eg-00512 的三级结构结构(图 3A)。Eg-00512 蛋白的预测结构与模板覆盖率为 99%。该模型 GMQE 评分为 0.62, QMEAN 评分为 -3.59,结果显示波形图稳定,模型可靠(图 3B-C)。

6 B 细胞表位预测

通过在线软件 IEDB 的 Bepipred Linear Epitope Prediction 2.0 进行分析预测, Eg-00512 蛋白的 B 细胞表位有 36 条,去除长度过长及过短的表位后,选用 13 条。采用 BcePred 软件对 Eg-00512 蛋白进行 B 细胞表位预测,选择在各参数预测结果中重叠较多的部分作为潜在表位,共 10 条。进一步通过在线软件 VaxiJen2.0 评估其抗原性,综合以上参数分析表位数量为 8 个(表 1)。

7 T 细胞表位预测

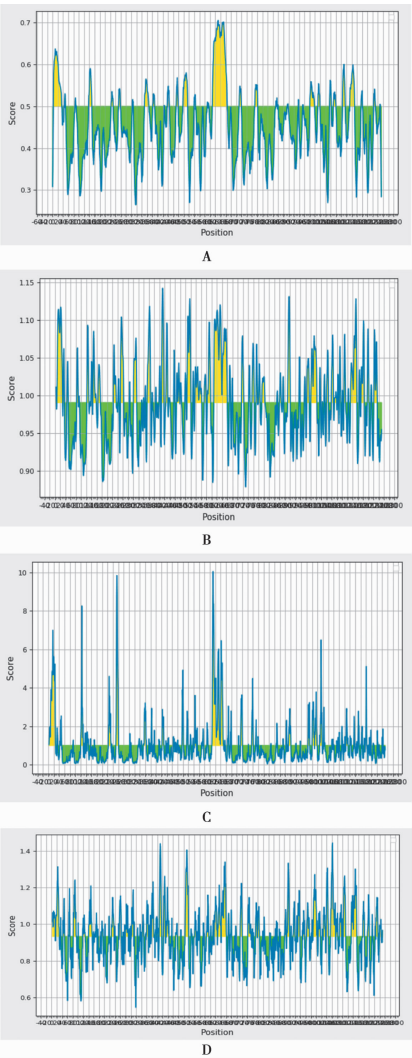
利用 SYFPEITHI 在线程序,选择等位基因 HLA-A * 0201 预测 CTL 细胞抗原表位,选用长度 9 个氨基酸进行分析(阈值设定为 23)。以 HLA-DRB1 * 0401 预测 Th 细胞抗原表位,选用长度 15 个氨基酸(设定阈值为 26)。使用 VaxiJen2.0 评估其抗原性,根据分数确定了 13 个 CTL 和 14 个 Th 细胞优势表位(表 2)。

表 1 Eg-00512 B 细胞表位预测结果
Table 1 Prediction results of Eg-00512 B cell epitopes

方法 Methods	位置 Location	序列 Sequence
IEDB	224-231	KEQKAYSK
	472-479	GREGATFE
	498-515	QEEYETMIGEGGGMSGG
	712-720	FTLPNDQKM
	982-999	DRETKLDATEGDYPTPL
	1012-1019	YPTRKHVR
	1106-1116	GDNSREVSME
	1134-1152	PEGYETSVGARGSQLSGGQ
	6-26	LSHKKGESEKTEDKSEQNDD
	122-133	ARRQSRRLKL
BcePred	224-232	KEQKAYSKA
	251-260	GQEKEKQRY
	610-634	QEKKETEDSESEPEQGVREQSPK
	637-656	GVWKRTRDPETESSVSSN
	983-994	RETKLDATEGDY
	1013-1022	PTRKHVRVLR

表 2 Eg-00512 T 细胞表位预测结果
Table 2 Prediction results of Eg-00512 T cell epitopes

表位类型 The type of epitope	起始点 Initial point	序列 Sequence	分数 Score
CTL 表位	789	RLATEVSSL	28
	748	ALGWAGAKL	26
	383	PMRPDVTL	25
	735	LIRLLVTQL	25
	901	VMDAVLNGL	25
	905	VLNGLVHAA	25
	54	LVVGFI	24
	82	LTAPGDVDL	24
	102	LLGAVTMIV	24
	525	ALLRNPRIL	24
	685	FLGLFISLI	24
	692	LISGVIQPI	24
	755	KLTQRTRSL	24
Th 表位	226	QKAYSKANNVASEVF	28
	331	LPEFSYFTRATAAAS	28
	686	LGLFISLISGVIQPI	28
	69	PVNLVIFSRVINLLT	26
	169	GERLGFRVQNAAMFI	26
	184	SCYVCAFLNNWKIAL	26
	266	AAKVSFLKNVMLGFG	26
	327	LGLVLPESYFTRAT	26
	683	LFFLGLFISLISGVI	26
	708	MFKIFTLPNDQKMSR	26
	836	FLPIVVASSALQMKN	26
	899	ERVMDAVLNGLVHAA	26
	903	DAVLNGLVHAAANGL	26
	1213	NCDVIVVILQEGQECE	26



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 2 Eg-00512 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. 2 Prediction of hydrophilic flexible surface accessibility β-folding for Eg-00512

讨论

细粒棘球蚴病呈世界范围性分布,广泛流行于欧洲东部、东非、中东、亚洲中部等地区^[10]。在我国,细粒棘球蚴病的流行现状较为严重,有 23 个省(自治区)均存在感染,患病人有 100 多万,受威胁人数高达数千万。其主要分布于内蒙古、四川、西藏、甘肃、青海、宁夏、云南、陕西、新疆等省(自治区),共有 368 个流行县,人群细粒棘球蚴检出率约为 0.4%,患者的伤残损失寿命平均为 1.64 年^[11]。近年来棘球蚴病在免疫学和疫苗研制等备受关注^[12]。利用生物信息学技术筛选出抗原表位是一种方便、经济、快捷的手段^[13]。Zheng 等^[14]根据细粒棘缘虫全基因组测序数据,筛选出在六钩蚴中不表达而在棘球蚴原头节中高表达的抗原分子 Eg-00512。

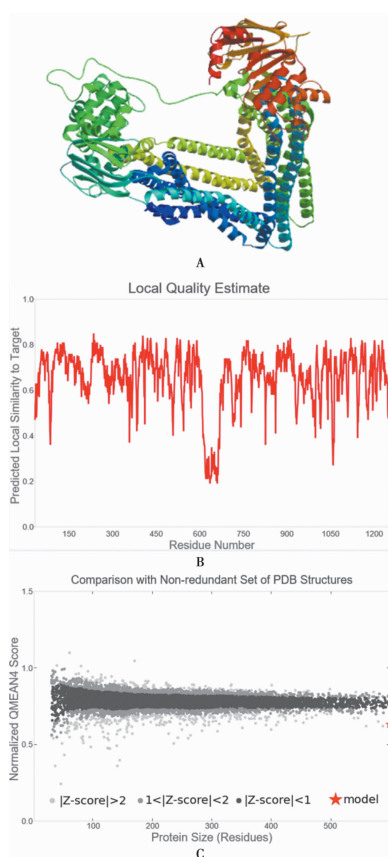


图3 Eg-00512的三级结构预测

Fig. 3 Tertiary structure prediction of Eg-00512

本研究利用在线预测软件对 Eg-00512 蛋白进行分析,获得 Eg-00512 蛋白的氨基酸序列,并对其理化参数进行了分析。B 细胞表位一般存在于天然抗原分子表面,由呈线性排列的氨基酸残基组成的短肽所构成的抗原表位称为线性表位,有些氨基酸虽然在序列上不是连续排列,但在空间上形成特定的构象,称为构象表位^[15]。蛋白质的二级结构与表位分布关系密切。 α 螺旋区域的化学键能比较高,形态固定,常处在蛋白内部,难以与抗体嵌合;而无规则卷曲结构松散,易发生扭曲、盘旋并展示在蛋白质表面,有利于与抗体嵌合,成为抗原表位的可能性大^[16]。本研究预测 Eg-00512 抗原的二级结构中 α 螺旋占 51.28%,延伸链占 17.22%, β 转角占 4.78%,无规则卷曲占 26.71%,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,具有抗原潜力。利用 IEDB 和 BcePred 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,两种方法均预测得到可能的 B 细胞表位,位于 224-231, 472-479, 498-515, 6-26, 122-133, 224-232 等区段。T 细胞抗原表位分别由 CTL 和 Th 细胞识别的 MHC I、II 类分子呈递。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。本研究利用 SYFPEITHI 软件进行了 T 细胞表位的分析,HLA 等位基因选择 HLA-A * 0201 和 HLA-DRB1 * 0401 进行预测,最终筛选出 CTL 和 Th 细胞优势抗原表位,起始点分别为:789,748,383,226,331,686 等。

以抗原表位作为触发机体免疫机制的多肽疫苗是一种新型疫苗,较传统疫苗具有高效、高特异性等优势。多肽疫苗为人工合成,不含核酸,能够克服常规疫苗的一些缺陷,被认为是一种更加高效、简便、稳定、经济的疫苗。多肽疫苗是预防和控制感染性疾病和恶性肿瘤的主要新型疫苗研制方向之一,在包虫病研究中鲜有报道,关于有效、实用的包虫病多肽疫苗研究需要进一步的探究^[17]。

利用计算机辅助技术,预测 Eg-00512 蛋白作为候选分子可能包含的 B 细胞和 T 细胞表位,然后通过体内及体外试验最终获得保护性抗原表位,可在较大程度上缩短筛选抗原表位的周期,为病原体疫苗的合理设计与开发提供了一种新的策略,并为进一步研制疫苗和诊断试剂奠定基础。

【参考文献】

- [1] 周璇,侯秋莲,李斌,等. 细粒棘球绦虫微囊对小鼠腹腔巨噬细胞活化及炎症因子水平的影响[J]. 中国病原生物学杂志,2021,16(4):411-418.
- [2] 丁剑冰,李玉娇,张峰波,等. 包虫病免疫及疫苗的研究进展[J]. 新疆医科大学学报,2019,42(1):411-418.
- [3] Qian MB, Abela-Ridder B, Wu WP, et al. Combating echinococcosis in China: strengthening the research and development[J]. Infect Dis Poverty, 2017, 6(1):161.
- [4] 张耀刚,李超群,曹得萍. 细粒棘球绦虫 Eg18 抗原表位预测[J]. 中国公共卫生,2017,33(5):737-739.
- [5] Etebar F, Jalousian F, Hosseini SH, et al. Immunoproteomics approach for EPC1 antigenic epitope prediction of G1 and G6 strains of *Echinococcus granulosus* [J]. Parasitol Res, 2013, 112 (9): 3129-3135.
- [6] 张婷瑞,佟雪琪,杜先才,等. 重组抗原 P29 免疫小鼠感染细粒棘球绦虫 mRNA 表达差异分析[J]. 中国病原生物学杂志,2021,16(4):433-437.
- [7] Zheng Y. Phylogenetic analysis of the argonaute protein family in platyhelminths [J]. Mol Phylogenet Evol, 2013, 66 (3) : 1050-1054.
- [8] Zhang W, Wang S, McManus DP. *Echinococcus granulosus* genomics: a new dawn for improved diagnosis, treatment, and control of echinococcosis[J]. Parasite, 2014, 21:66.
- [9] 佟雪琪,赵殿奇,李子华,等. 包虫病诊断抗原分子 Eg-00512 的筛选、重组表达及抗原性鉴定[J]. 中国病原生物学杂志,2017,12(1):46-50.
- [10] Ahmed ME, Salim B, Grobusch MP, et al. First molecular characterization of *Echinococcus granulosus* (sensu stricto) genotype 1 among cattle in Sudan[J]. BMC Vet Res, 2018, 14(1):36.

(下转 113 页)

- multi-centre retrospective study[J]. *Cardiol Young*, 2019, 29(6): 761-767.
- [7] Shin KH, Han SB. Early postoperative hypoalbuminemia is a risk factor for postoperative acute kidney injury following hip fracture surgery[J]. *Injury*, 2018, 49(8): 1572-1576.
- [8] Shin KH, Kim JJ, Son SW, et al. Early postoperative hypoalbuminemia as a risk factor for postoperative pneumonia following hip fracture surgery[J]. *Clin Interv Aging*, 2020, 15: 1907-1915.
- [9] Kim K, Bang JY, Kim SO, et al. Association of preoperative hypoalbuminemia with postoperative acute kidney injury in patients undergoing brain tumor surgery: a retrospective study[J]. *J Neurosurg*, 2018, 128(4): 1115-1122.
- [10] Bohl DD, Shen MR, Hannon CP, et al. Serum albumin predicts survival and postoperative course following surgery for geriatric hip fracture[J]. *J Bone Joint Surg Am*, 2017, 99(24): 2110-2118.
- [11] Ryan SP, Politzer C, Green C, et al. Albumin versus American Society of Anesthesiologists score: Which is more predictive of complications following total joint arthroplasty? [J]. *Orthopedics*, 2018, 41(6): 354-362.
- [12] Guizado TR. Analysis of the structure and dynamics of human serum albumin[J]. *J Mol Model*, 2014, 20(10): 2450.
- [13] Fanali G, di Masi A, Trezza V, et al. Human serum albumin: from bench to bedside[J]. *Mol Aspects Med*, 2012, 33(3): 209-290.
- [14] Arques S. Human serum albumin in cardiovascular diseases[J]. *Eur J Intern Med*, 2018, 52: 8-12.
- [15] Rabbani G, Ahn SN. Structure, enzymatic activities, glycation and therapeutic potential of human serum albumin: A natural cargo[J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 123: 979-990.
- [16] 涂健铭, 丘熙廉, 许向东, 等. 低白蛋白血症对住院老年患者并发症的影响[J]. *医学综述*, 2012, 18(8): 1280-1281.
- [17] 梁钢. 低白蛋白血症对慢性阻塞性肺疾病急性加重期患者预后的影响[J]. *吉林医学*, 2010, 31(18): 2780-2781.
- [18] 王康琪, 吴小燕, 高原. 低白蛋白血症对老年急性重症脑梗死患者神经功能及短期预后的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2016, 36(23): 5854-5856.
- [19] 孙梦寒, 茆梦, 孙杰. 术前低白蛋白血症与肺切除术后肺部并发症的关系[J]. *中华麻醉学杂志*, 2020, 40(7): 795-799.
- [20] 孙凤坡, 刘湘雪, 刘军川, 等. 老年髋部骨折患者术后呼吸和循环系统并发症危险因素分析[J]. *中华老年医学杂志*, 2018, 37(12): 1328-1331.
- [21] 刘翰昆, 谭杨, 秦俊, 等. 术前低白蛋白血症对初次髋关节置换术后并发症的影响[J]. *临床外科杂志*, 2020, 28(11): 1047-1050.
- [22] Wilson JM, Lunati MP, Grabel ZJ, et al. Hypoalbuminemia is an independent risk factor for 30-day mortality, postoperative complications, readmission, and reoperation in the operative lower extremity orthopaedic trauma patient [J]. *J Orthop Trauma*, 2019, 33(6): 284-291.
- [23] Morisaki K, Yamaoka T, Iwasa K. Risk factors for wound complications and 30-day mortality after major lower limb amputations in patients with peripheral arterial disease[J]. *Vascular*, 2018, 26(1): 12-17.
- [24] Sullivan SA, Van Le L, Liberty AL, et al. Association between hypoalbuminemia and surgical site infection in vulvar cancers [J]. *Gynecol Oncol*, 2016, 142(3): 435-439.
- [25] Lee JI, Kwon M, Roh JL, et al. Postoperative hypoalbuminemia as a risk factor for surgical site infection after oral cancer surgery [J]. *Oral Dis*, 2015, 21(2): 178-184.
- [26] He Z, Zhou K, Tang K, et al. Perioperative hypoalbuminemia is a risk factor for wound complications following posterior lumbar interbody fusion[J]. *J Orthop Surg Res*, 2020, 15(1): 538.
- [27] Bohl DD, Shen MR, Kayupov E, et al. Hypoalbuminemia independently predicts surgical site infection, pneumonia, length of stay, and readmission after total joint arthroplasty[J]. *J Arthroplasty*, 2016, 31(1): 15-21.
- [28] Zhang F, Liu X, Tan Z, et al. Effect of postoperative hypoalbuminemia and supplement of human serum albumin on the development of surgical site infection following spinal fusion surgery: a retrospective study[J]. *Eur Spine J*, 2020, 29(7): 1483-1489.
- 【收稿日期】 2021-11-02 【修回日期】 2021-12-14

(上接 74 页)

- [11] 魏玉环, 胡媛, 曹建平, 等. 抗细粒棘球绦虫疫苗的研究进展[J]. *中国寄生虫学与寄生虫病杂志*, 2019, 37(1): 97-101.
- [12] Jazouli M, Lightowler M, Gauci CG, et al. Vaccination against hydatidosis: molecular cloning and optimal expression of the Eg95NC(-) recombinant antigen in *Escherichia coli*[J]. *Protein*, 2017, 36(6): 472-477.
- [13] Zhao X, Zhang FB, Wang HY, et al. Dominant T cell and B cell epitopes in EgA31 protein of *Echinococcus granulosus* by bioinformatics[J]. *中国组织工程研究*, 2019, 23(7): 1078-1083.
- [14] Zheng H, Zhang W, Zhang L, et al. The genome of the hydatid tapeworm *Echinococcus granulosus* [J]. *Nat Gen*, 2013, 45(10): 1168-1175.
- [15] 程华, 成彬, 羊红光. 线性 B 细胞表位预测方法研究进展[J]. *中国免疫学杂志*, 2017, 33(9): 1422-1425.
- [16] 周晓涛, 周文涛, 杨晨晨, 等. EM18-GST 原核表达载体的构建及空间结构的生物信息学分析[J]. *中国病原生物学杂志*, 2013, 8(10): 899-902.
- [17] 朱国强, 闫鸿斌, 李立, 等. 棘球蚴(包虫)病疫苗研究进展[J]. *中国人兽共患病学报*, 2019, 35(1): 59-65.
- 【收稿日期】 2021-08-09 【修回日期】 2021-12-16