

DOI:10.13350/j.cjpb.220303

• 论著 •

刚地弓形虫钙网蛋白的生物信息学分析*

张晶^{1,2}, 田晓薇^{1,2}, 梅雪芳^{1,2}, 张振超^{1,2}, 李祥瑞^{1,2,3}, 王帅^{1,2**}

(1. 新乡医学院基础医学院病原生物学系, 河南新乡 453003; 2. 新乡医学院新乡市病原生物学重点实验室; 3. 南京农业大学动物医学院)

【摘要】 **目的** 应用生物信息学方法预测刚地弓形虫钙网蛋白(*toxoplasma gondii* calreticulin, TgCRT)的结构特点、免疫原性及抗原性。**方法** 利用 ProtParam、ProtScale 和 SignalP 软件分别预测 TgCRT 的理化参数、亲/疏水性和信号肽;利用 Colis、TMHMM 和 KinasePhos3.1 预测其卷曲螺旋、跨膜结构域及磷酸化位点;利用 SOPMA 和 Phyre2 预测其二、三级结构,利用 DNASTar 分析表面可及性等参数;利用 ABCpred、Syfpeithi 和 DNASTar 预测其 B、T 细胞表位。**结果** TgCRT 蛋白含 578 个氨基酸,相对分子质量为 $64.186\ 07 \times 10^3$,分子式为 $C_{2841}H_{4519}N_{801}O_{857}S_{18}$,理论等电点(pI)为 5.69。不稳定系数 55.50,疏水值 85.45,总平均亲水性指数 -0.321,属于不稳定亲水性蛋白;该蛋白无信号肽有跨膜区,含 44 个磷酸化位点,其中 31 个丝氨酸磷酸化位点,11 个苏氨酸磷酸化位点,2 个酪氨酸磷酸化位点。1 个部位形成卷曲螺旋,二级结构中 α -螺旋、 β -折叠分别占 42.21%、11.42%, β -转角、无规则卷曲分别占 3.81%、42.56%;沿肽链走向均匀分布柔韧性、亲水性、表面可及性高分区段;有 23 个 B 细胞抗原表位,21 个限制性 CTL 细胞表位和 10 个限制性 Th 细胞表位。**结论** TgCRT 蛋白含有多个潜在的 B、T 细胞表位,具有免疫原性和抗原性,可作为抗弓形虫感染疫苗候选蛋白。

【关键词】 刚地弓形虫;钙网蛋白;生物信息学;免疫原性**【中图分类号】** R382.5**【文献标识码】** A**【文章编号】** 1673-5234(2022)03-0260-06

[Journal of Pathogen Biology. 2022 Mar;17(3):260-265.]

Bioinformatics analysis of *Toxoplasma gondii* calcinetinZHANG Jing^{1,2}, TIAN Xiao-wei^{1,2}, MEI Xue-fang^{1,2}, ZHANGZhen-chao^{1,2}, LI Xiang-rui^{1,2,3}, WANG Shuai^{1,2} (1. Department of Pathogenic Biology, School of Basic Medical Sciences, Xinxiang Medical University, Xinxiang, Henan 453003, China; 2. Xinxiang Key Laboratory of Pathogenic Biology, Xinxiang Medical University; 3. College of Veterinary Medicine, Nanjing Agricultural University)

【Abstract】 **Objective** Bioinformatics method was used to predict the structural characteristics, immunogenicity and antigenicity of *Toxoplasma gondii* calreticulin (TgCRT). **Methods** The physical and chemical parameters, hydrophilic/hydrophobic properties and signal peptides of TgCRT were predicted by ProtParam, ProtScale and SignalP; Colis, TMHMM and KinasePhos3.1 were used to predict the coiled coil, transmembrane domain and phosphorylation sites; SOPMA and Phyre2 were used to predict the secondary and tertiary structures, DNASTar was used to analyze parameters such as surface accessibility; ABCpred, Syfpeithi and DNASTar were used to predict B and T cell epitopes. **Results** TgCRT protein contained 578 amino acids with a relative molecular weight of $64.186\ 07 \times 10^3$, a molecular formula of $C_{2841}H_{4519}N_{801}O_{857}S_{18}$, a theoretical isoelectric point (pI) of 5.69. The instability index was 55.50, the hydrophobic value was 85.45, and the total average hydrophilicity index was -0.321, which certificated TgCRT was unstable and hydrophilic protein. Meanwhile, it was a transmembrane protein without signal peptide and contained 44 phosphorylation sites, including 31 serine phosphorylation sites, 11 threonine phosphorylation sites and 2 tyrosine phosphorylation sites. One site formed a coiled coil region; In the secondary structure, alpha helices and beta folds accounted for 42.21% and 11.42% respectively, beta turns and random coils accounted for 3.81% and 42.56%, respectively. High-grade sections of flexibility, hydrophilicity and surface accessibility were evenly distributed along the peptide chain. There were 23 B cell antigen epitopes, 21 restricted CTL cell epitopes and 10 restricted Th cell epitopes. **Conclusion** TgCRT protein contains multiple potential B and T cell epitopes with immunogenicity and antigenicity, and can be used as a candidate protein for vaccine against *Toxoplasma gondii* infection.

【Key words】 *Toxoplasma gondii*; calreticulin; information biology; immunogenicity

***刚地弓形虫(*Toxoplasma gondii*)是一种专性有核细胞内寄生原虫,可感染包括人类在内的几乎所有温血动物。免疫力正常患者通常呈无症状感染^[1],在免疫功能受损的个体(艾滋病患者、器官移植者及恶性肿瘤患者)感染常引起弓形虫脑炎等并发症或致死^[2]。

* **【基金项目】** 河南省科技攻关计划项目(No. 212102310749, 222102310557);河南省高等学校重点科研项目(No. 22A310004)。** **【通讯作者】** 王帅, E-mail: tongbaiws1003@163.com**【作者简介】** 张晶(1995-),女,山西长治人,硕士研究生,主要从事寄生虫感染与免疫研究。E-mail: XZQ17806066519@163.com

目前,弓形虫病的治疗以磺胺类药物治疗急性期感染为主,但毒副作用大,缺乏有效治疗药物^[3-4]。因此,亟待研发安全有效的疫苗控制弓形虫感染^[5]。

选择潜在的蛋白序列作为理想的抗原候选分子,是疫苗研究的首要任务^[3]。目前,关于 TgCRT 蛋白的相关研究鲜有报道,TgCRT 蛋白在宿主体内发挥的生物学功能,刺激机体产生保护性免疫机制尚不清楚。本研究拟对 TgCRT 蛋白进行生物信息学分析,评价其作为弓形虫疫苗候选抗原的可行性。

材料与方法

1 TgCRT 的基因与蛋白序列的获取

利用 NCBI 检索 TgCRT 的 mRNA 和蛋白序列,登录号分别为 XM_002364237.2 和 XP_002364278.1,下载序列进行生物信息学分析。

2 TgCRT 蛋白的生物信息学分析

利用蛋白质序列理化参数在线预测软件 ProtParam([https:// web. expasy. org/protparam/](https://web.expasy.org/protparam/))分析 TgCRT 蛋白的分子质量、原子组成、氨基酸组成、理论等电点、不稳定系数、脂肪系数和总平均亲水性;利用蛋白质亲/疏水性在线分析软件 ProtScale([https:// web. expasy. org/protscale/](https://web.expasy.org/protscale/))绘制 TgCRT 蛋白的亲水性和疏水性序列谱,分析其亲/疏水性;利用信号肽在线预测软件 SignalP-5.0 Server([http://www. cbs. dtu. dk/services/SignalP](http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP))预测 TgCRT 蛋白的信号肽;利用 NetPhos 3.1 Server([http://www. cbs. dtu. dk/services/NetPhos/](http://www.cbs.dtu.dk/services/NetPhos/))在线预测 TgCRT 蛋白的翻译后激酶磷酸化位点;利用 Colis 软件([http://www. ch. embnet. org/software/COILS-form. html](http://www.ch.embnet.org/software/COILS-form.html))预测 TgCRT 蛋白的卷曲螺旋;利用 TMHMM 软件([http://www. cbs. dtu. dk/services/TMHMM/](http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/))预测 TgCRT 蛋白的跨膜结构域;利用 SOPMA([https:// npsa-prabi. ibcp. fr/cgi-bin/npsa_automat. pl? page= npsa_sopma. htm](https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=npsa_sopma.htm))分析 TgCRT 蛋白的二级结构;利用 Phyre2([http://www. sbg. bio. ic. ac. uk/ phyre2/ html/page. cgi? id=index](http://www.sbg.bio.ic.ac.uk/phyre2/html/page.cgi?id=index))预测 TgCRT 蛋白的三级结构;运用 DNASTar 软件预测 TgCRT 蛋白的亲疏水性、柔韧性和表面可及性;利用 ABCpred 在线软件、DNASTar 进行 B 细胞抗原表位预测([https:// webs. iitd. edu. in/raghava/abcpred/ABC _ submission. htm](https://webs.iitd.edu.in/raghava/abcpred/ABC_submission.htm));利用 Syfpeithi 在线软件([http://www. syfpeithi. de/0-Home. htm](http://www.syfpeithi.de/0-Home.htm))、DNASTar 进行 T 细胞抗原表位预测。

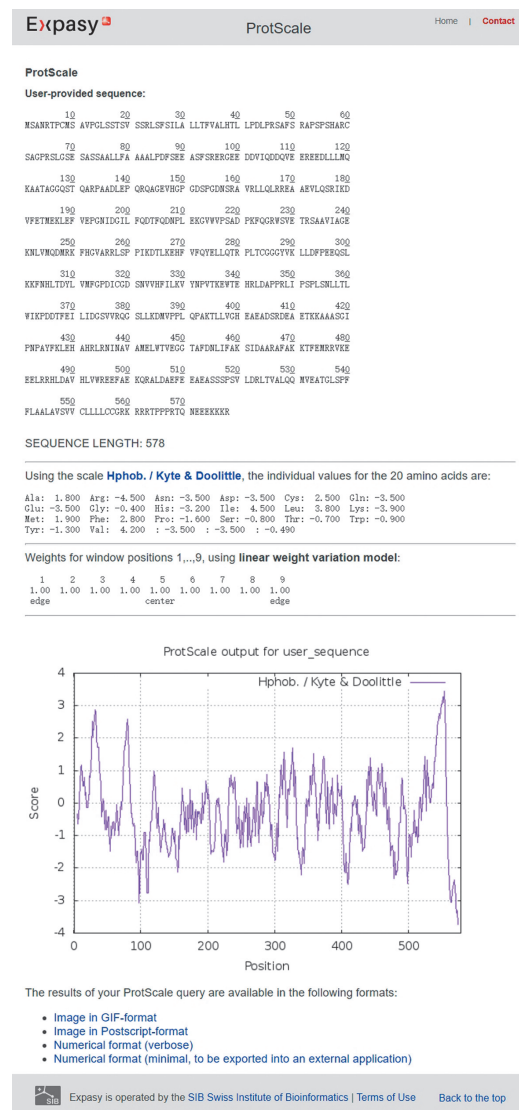
结果

1 TgCRT 蛋白理化性质

经 ProtParam 在线分析显示 TgCRT 由 578 个氨基酸构成,相对分子质量为 $64.186\ 07 \times 10^3$,分子式为 $C_{2841}H_{4519}N_{801}O_{857}S_{18}$ 。理论等电点(pI)为 5.69,负电荷氨基酸总数为 83,正电荷氨基酸总数为 71;不稳定系数为 55.50;疏水值(脂肪系数)85.45;总平均亲水性指数为 -0.321,由此推测蛋白质是不稳定、可溶性蛋白。

2 TgCRT 蛋白的亲、疏水性分析

将窗口大小调整为 19(默认为 9)时,ProtScale 输出图形显示 TgCRT 存在 2 个疏水性高分值(score>1.5)峰,最高峰值位于第 549 位缬氨酸残基处分值为 2.774;最低峰值位于第 568、569 位精氨酸、苏氨酸残基处,分值均为 -3.253(图 1)。



注:横轴为氨基酸残基数;纵轴为亲水性得分(正值表示疏水性,负值表示亲水性)。

图 1 TgCRT 蛋白的亲、疏水性分析

Notes: The horizontal axis stands for the position of amino acid, and the vertical axis stands for the score of hydrophilicity (The positive value indicates hydrophobicity, and the negative value indicates hydrophilicity).

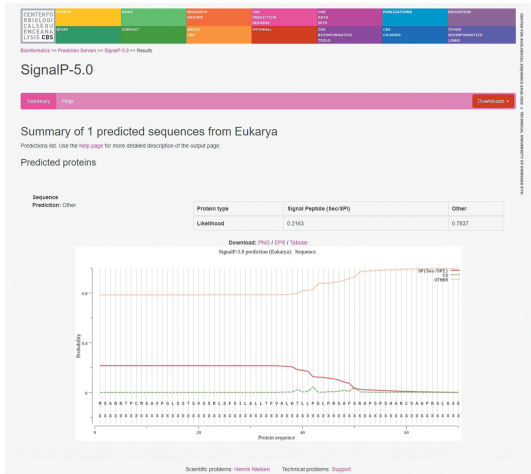
Fig. 1 Hydrophilicity and hydrophobicity of TgCRT

3 TgCRT 蛋白的信号肽预测

SignalP-5.0 Server 预测 TgCRT 的信号肽,结果表明,TgCRT 无信号肽,为非分泌型蛋白(图 2)。

4 翻译后蛋白修饰位点预测

NetPhos 3.1 分析 TgCRT 磷酸化位点,发现该蛋白含有 44 个磷酸化位点,其中丝氨酸磷酸化位点 31 个,苏氨酸磷酸化位点 11 个,酪氨酸磷酸化位点 2 个(图 3)。



注:横轴为氨基酸残基数;纵轴为可能性分值

图 2 TgCRT 信号肽位点预测

Notes: The horizontal axis stands for the position of amino acid, and the vertical axis stands for probability score.

Fig. 2 Prediction of the signal peptide site in TgCRT

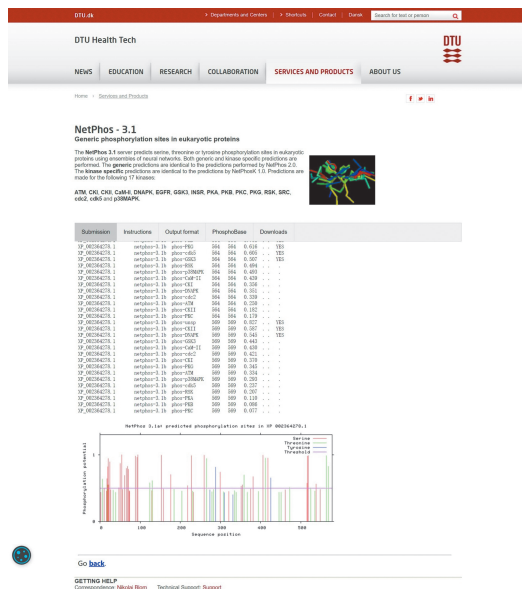
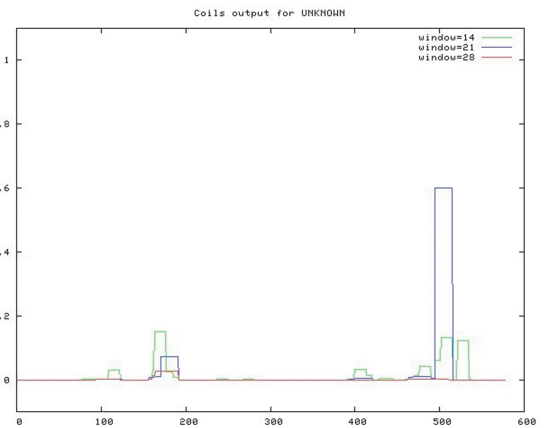


图 3 蛋白的磷酸化修饰位点分析

Fig. 3 Prediction of the phosphorylat sites in TgCRT

5 卷曲螺旋预测

经 Colis 分析,TgCRT 蛋白序列上有 1 个部位有形成卷曲螺旋结构(Coils)的倾向(图 4)。



注:横轴为氨基酸残基数;纵轴为倾向性指数。

图 4 TgCRT 蛋白的 Coils 预测结果

Notes: The horizontal axis stands for the position of amino acid, and the vertical axis stands for the propensity index.

Fig. 4 Prediction of the coils for TgCRT

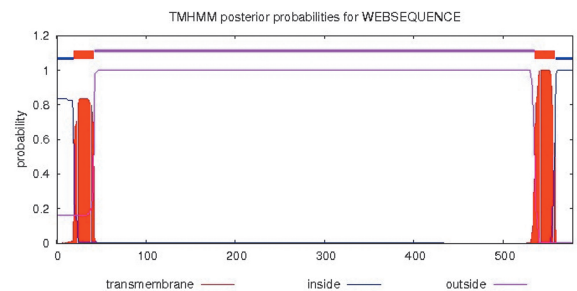
6 跨膜结构预测

利用 TMHMMServer v. 2.0 预测,发现第 2~42 位、第 536~558 位氨基酸可能为跨膜区,因此 TgCRT 可能为跨膜蛋白(图 5)。

TMHMM result

HELP with output formats

```
# WEBSSEQUENCE Length: 578
# WEBSSEQUENCE Number of predicted TMHs: 2
# WEBSSEQUENCE Exp number of AAs in TMHs: 39,97958
# WEBSSEQUENCE Exp number, first 60 AAs: 19,06821
# WEBSSEQUENCE Total prob of N-in: 0.83685
# WEBSSEQUENCE POSSIBLE N-term signal sequence
WEBSSEQUENCE TMHMM2.0 inside 1 19
WEBSSEQUENCE TMHMM2.0 TMhelix 20 42
WEBSSEQUENCE TMHMM2.0 outside 43 535
WEBSSEQUENCE TMHMM2.0 TMhelix 536 558
WEBSSEQUENCE TMHMM2.0 inside 559 578
```



plot in postscript, script for making the plot in gnuplot, data for plot

注:横轴为氨基酸的位置;纵轴为可能性得分。

图 5 TgCRT 蛋白的跨膜结构域分析

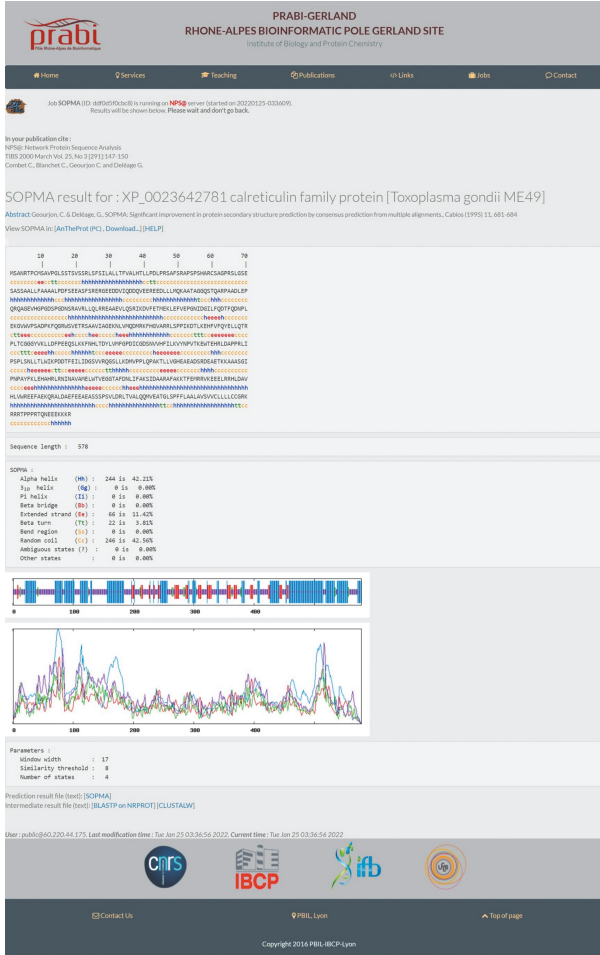
Notes: The horizontal axis stands for the position of amino acid, and the vertical axis stands for the score.

Fig. 5 Prediction of the transmembrane in TgCRT

7 二、三级结构预测

经 SOPMA 分析,TgCRT 蛋白中有 244 个氨基酸残基参与构成 α -螺旋(Hh),占比为 42.21%;66 个氨基酸残基参与构成 β -折叠(Ee),占比为 11.42%;22 个氨基酸残基参与构成 β -转角(Tt),占比为 3.81%;

246个氨基酸残基参与构成无规则卷曲(Cc),占比为42.56%(图6)。运用Phyre2预测TgCRT蛋白的三级结构,基于模板c1jhnA建模,274个氨基酸残基(序列的47%)已通过单个最高评分模板以100%置信度建模(图7)^[6-7]。



注:蓝色、红色、绿色、紫色分别代表 α -螺旋、 β -折叠、 β -转角、无规则卷曲。

图6 TgCRT蛋白的二级结构预测

Note: Blue, red, green and purple presented alpha helix, beta folds, beta turn and random coil, respectively.

Fig. 6 Prediction of the secondary-structure in TgCRT

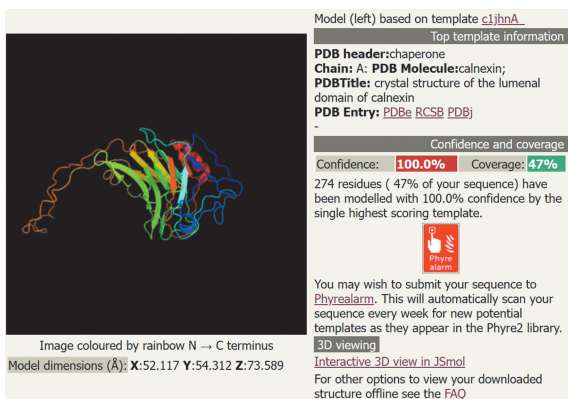
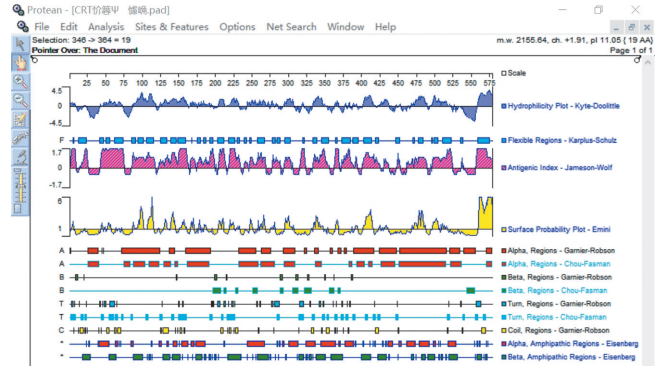


图7 TgCRT蛋白的三级结构

Fig. 7 The tertiary structure of TgCRT

8 TgCRT蛋白的亲水性、柔韧性及表面可及性

TgCRT蛋白存在多处亲水性指数较高的区域,此区域通常暴露于表面,与抗原表位有关;同时含有较多的柔韧性区域,此类区域发生扭曲折叠的几率较大,有利于抗原抗体结合后蛋白构象变化^[8];可及性较高区域,通常位于蛋白分子表面,可与抗体结合(图8)。以上参数得分越高,成为B细胞抗原表位的可能性越大。



注:横轴为氨基酸残基数,纵轴为相关参数得分

图8 TgCRT蛋白的柔韧性、亲水性、表面可及性和B细胞抗原表位
Notes: The horizontal axis stands for the position of amino acid, and the vertical axis stands for the score of relevant parameters

Fig. 8 Flexibility, hydrophilicity, surface accessibility and B cell epitopes of TgCRT

9 TgCRT蛋白抗原表位

9.1 TgCRT蛋白的B细胞抗原表位 利用AB-Cpred服务器预测B细胞表位并依得分进行排序(表1)。预测TgCRT序列上的23个表位得分超过阈值0.8,其中线性表位的最高得分为0.95^[9]。结果与DNASTAR中根据Jameson-Wolf方法预测的抗原指数得分较高区段,具有较高的一致性。同时应进一步结合亲水性、柔韧性和表面可及性等参数,综合考虑其作为抗原表位的可能性^[10]。

9.2 TgCRT蛋白的T细胞抗原表位 利用Syf-peithi在线程序,选择等位基因HLA-A*02:01(限制性CTL细胞表位)分析,临界值为21时,TgCRT共有21个限制性CTL表位(表2);选择等位基因HLA-DRB1*0401(限制性Th细胞表位)分析,临界值为25时,TgCRT共有10个限制性Th表位(表3)^[11,12]。结果与DNASTAR中Rothbard-Taylor方法和AMPHI方法综合预测的TgCRT蛋白T细胞抗原表位具有较好的一致性^[13-14](图9)。

T细胞抗原表位预测结果表明TgCRT蛋白与HLA-A*02:01限制性分子有较好的结合能力,并且能被HLA-DRB1*0401限制性分子递呈,即具有良好抗原性。

表 1 ABCpred 工具预测 B 细胞表位
Table 1 B-cell epitopes predicted from ABCpred tool

顺序 Order	表位序列 Epitopes sequences	开始位置 Start position	分值 Score
1	AKSIDAARAFAKKTFE	459	0.95
2	SFSILALLTFVALHTL	25	0.93
2	EPQRQAGEVHGPGDSP	139	0.93
3	AGGQSTQARPAADLEP	125	0.92
4	SAFSRAPSPSHARCSA	47	0.89
4	DVIQDDQVEEREEDLL	102	0.89
5	SFSRERGEEDDVIQDD	92	0.88
5	CCGRKRRRTPPPRTQN	556	0.88
5	KFHGVARRLSPPIKDT	250	0.88
6	LWTVEGGTAFDNLIFA	444	0.87
6	TKEWTEHRLDAPRLI	335	0.87
7	ESASSAALLFAAAALP	70	0.86
7	VFETMEKLEFVEPGNI	181	0.86
8	EILIDGSVVRQGSLLK	369	0.85
9	ELLQTRPLTCGGGYVK	275	0.84
10	PRLIPSPLSNLLTLWI	347	0.82
10	HGPGDSPGDNSRAVRL	148	0.82
11	EEREEDLLMQKAATA	110	0.81
12	FKLEHAHRLRNINAVA	426	0.80
12	NRTPCMSAVPGLSSTS	4	0.80
12	VWVPSADPKFQGRWSV	214	0.80
12	DTFQDNPLEKGVWVPS	203	0.80
12	PGNIDGILFQDTFQDN	193	0.80

表 2 TgCRT 蛋白的 HLA-A*02:01 限制性 CTL 细胞抗原表位分析
Table 2 Analysis results of the potential CTL cell epitopes restricted by HLA-A 02:01 of TgCRT

顺序 Order	表位序列 Epitopes sequences	开始位置 Start position	分值 Score
1	ALAVSVVCL	544	30
2	ALHTLLPDL	36	28
3	PLAALAVSV	541	28
4	SILALLTVAL	27	27
5	LLKDMVPPL	382	27
6	VLDRLTVAL	520	27
7	ALLFAAAAL	76	26
8	RLSFSILAL	23	25
9	LIPSPLSNL	349	25
10	LTFVALHTL	32	24
11	QLRREAAEV	165	24
12	VLQSRIKDV	173	24
13	VIAGEKNLV	236	24
14	AVAMELWTV	439	24
15	LLMQKAATA	117	22
16	YLVMFGPDI	309	22
17	NVVHFILKV	322	22
18	FILKVYNPV	326	22
19	LLVGHEAEA	396	22
20	ELRRHLDAV	482	22
21	LAALAVSVV	542	22

讨 论

钙网蛋白是一种多功能内质网驻留蛋白,可转移到外部微环境,在宿主-病原体相互作用过程中发挥重要作用^[15]。CRT 能够诱导树突状细胞成熟、介导细

胞免疫、抑制补体免疫及以佐剂形式增强免疫反应等^[16-17]。本研究拟探讨 TgCRT 作为特定抗原来诱导机体特异性抗弓形虫免疫反应的可能性。利用生物信息学软件分析 TgCRT 蛋白的理化特性、免疫原性及抗原性,可为抗弓形虫感染疫苗提供理论基础。

表 3 TgCRT 蛋白的 HLA-DRB1 * 04:01 限制性 Th 细胞抗原表位分析
Table 3 Analysis results of the potential Th cell epitopes restricted by HLA-DRB1 * 04:01 of TgCRT

顺序 Order	表位序列 Epitopes sequences	开始位置 Start position	分值 Score
1	QGRWSVETRSAAVIA	224	28
2	MRKFHGVARRLSPPI	248	28
3	VFQYELLQTRPLTCG	271	28
4	LLDFPEEQSLKKNH	291	26
5	MSAVPGLSSTSVSSR	9	26
6	SFSILALLTFVALHT	25	26
7	AVRLQLRREAAEVL	160	26
8	VHFILKVYNPVTKEW	324	26
9	PSPLSNLLTLWIKPD	351	26
10	TLWIKPDDTFEILID	359	26

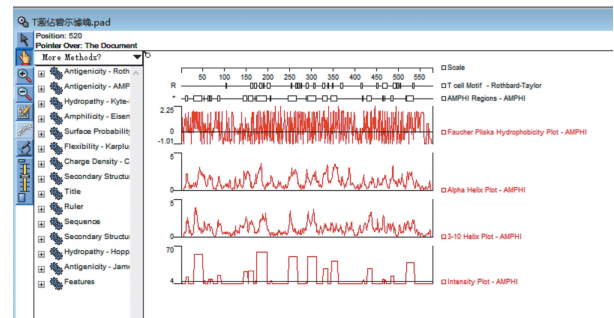


图 9 TgCRT 的 T 细胞抗原表位预测
Fig. 9 Prediction of the T cell epitopes of TgCRT

预测结果显示, TgCRT 蛋白为亲水性非分泌型蛋白;44 个潜在的磷酸化位点在蛋白质构象变化、活性调节中发挥重要作用;二级结构中,位于蛋白表面结构松散的无规卷曲和 β -转角占比达 46.37%,与抗体嵌合可能性较大;结合亲水性、柔韧性、可及性等参数初步认为 TgCRT 具有形成抗原表位的基础。表位是蛋白质序列中能被相应细胞受体或抗体特异性识别并有效诱导免疫应答的位点。本研究预测多个潜在的 B、T 细胞抗原表位,表明 TgCRT 具有成为疫苗候选抗原的潜力,为弓形虫疫苗研究提供理论基础。

【参考文献】

[1] Lourenco EV, Bernardes ES, Silva NM, et al. Immunization with MIC1 and MIC4 induces protective immunity against *Toxoplasma gondii* [J]. Micro Infect, 2006, 8(5): 1244-1251.
[2] Samira D, Ahmad D, Mehdi S, et al. A systematic review on efficiency of microneme proteins to induce protective immunity against *Toxoplasma gondii* [J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2019, 38(4): 617-629.
[3] Zhang N Z, Wang M, Xu Y, et al. Recent advances in developing

- vaccines against *Toxoplasma gondii*: an update [J]. *Exp Rev Vacc*, 2015, 14(12):1609-1621.
- [4] Cerutti A, Blanchard N, Besteiro S. The bradyzoite: a key developmental stage for the persistence and pathogenesis of toxoplasmosis [J]. *Pathogens*, 2020, 9(3):234.
- [5] Masoud F, Leila Z, Fatemeh G. Recent progress in microneme-based vaccines development against *Toxoplasma gondii* [J]. *Clin Experl Vacc Res*, 2018, 7(2):93.
- [6] 黄荣, 张学勇, 朵红, 等. 多房棘球绦虫钙网蛋白结构和功能的生物信息学研究[J]. *青海大学学报(自然科学版)*, 2019, 37(3):16-22.
- [7] Kelley L A, Mezulis S, Yates C M, et al. The Phyre2 web portal for protein modeling, prediction and analysis [J]. 2015, 37(3):16-22.
- [8] 刘辉. 弓形虫表面抗原糖蛋白相关序列 SRS47D 生物学特性的初步研究 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2019.
- [9] Ghaffari AD, Dalimi A, Ghaffarifar F, et al. Immunoinformatic analysis of immunogenic B- and T-cell epitopes of MIC4 protein to designing a vaccine candidate against *Toxoplasma gondii* through an in-silico approach [J]. *Clin Exper Vacc Res*, 2021, 10(1):59.
- [10] 吕燕波, 万瑛, 吴玉章. SARS 病毒基因组所编码的 E 蛋白的二级结构和 B 细胞表位预测 [J]. *免疫学杂志*, 2003, 19(6):407-410.
- [11] Foroutan M, Ghaffari A D, Soltani S, et al. Bioinformatics analysis of calcium-dependent protein kinase 4 (CDPK4) as *Toxoplasma gondii* vaccine target [J]. *BMC Res Note*, 2021, 14(50):438-443, 465.
- [12] 白杨, 郭旭霞, 纪爱芳, 等. 刚地弓形虫动力蛋白轻链 8a 的生物信息学分析[J]. *中国病原生物学杂志*, 2020, 15(4):438-443, 465.
- [13] 张学勇, 简莹娜, 马利青. 三种隐孢子虫钙依赖蛋白激酶的生物信息学分析[J]. *生物信息学*, 2016, 14(2):78-83.
- [14] 范彦雷, 李立, 娄忠子, 等. 多房棘球绦虫 EM95 蛋白的生物信息学分析[J]. *中国人兽共患病学报*, 2014, 30(4):423-428.
- [15] 赵利美, 诸欣平. 寄生虫钙网蛋白及其在虫体与宿主相互作用中的功能[J]. *中国病原生物学杂志*, 2021, 16(6):3.
- [16] Ma L, Li D, Yuan C, et al. SjCRT, a recombinant *Schistosoma japonicum* calreticulin, induces maturation of dendritic cells and a Th1-polarized immune response in mice [J]. *Parasit Vectors*, 2017, 10(1):570.
- [17] Ram rez-Toloza G, Sosoniuk-Roche E, Valck C, et al. *Trypanosoma cruzi* calreticulin: Immune evasion, infectivity, and tumorigenesis [J]. *Trends Parasitol*, 2020, 36(4):368-381.
- 【收稿日期】 2021-10-13 【修回日期】 2022-01-06

(上接 259 页)

- [20] Li R, Liu J, Zhang H. The challenge of emerging SARS-CoV-2 mutants to vaccine development [J]. *J Genet Genomics*, 2021, 48(2):102-106.
- [21] Tavilani A, Abbasi E, Kian ARA F, et al. COVID-19 vaccines: Current evidence and considerations [J]. *Metabol Open*, 2021(12):100124.
- [22] Yang R, Zhang SB, Yu Y, et al. Adjuvant effects of bacterium-like particles in the intranasal vaccination of chickens against Newcastle disease [J]. *Vet Microbiol*, 2021(259):109144.
- [23] Bi JP, Li FS, Zhang M, et al. An HIV-1 vaccine based on bacterium-like particles elicits Env-specific mucosal immune responses [J]. *Immunol Lett*, 2020(222):29-39.
- [24] Li ET, Chi H, Huang P, et al. A Novel Bacterium-like particle vaccine displaying the MERS-CoV receptor-binding domain induces specific mucosal and systemic immune responses in mice [J]. *Viruses*, 2019, 11(9):799.
- [25] Keijzer C, Haijema BJ, Meijerhof T, et al. Inactivated influenza vaccine adjuvanted with Bacterium-like particles induce systemic and mucosal influenza A virus specific T-cell and B-cell responses after nasal administration in a TLR2 dependent fashion [J]. *Vaccine*, 2014, 32(24):2904-2910.
- [26] Rigger A, Widjaja I, Versantvoort H, et al. A Protective and safe intranasal RSV vaccine based on a recombinant prefusion-like form of the F protein bound to bacterium-like particles [J]. *PLoS One*, 2013, 8(8):e71072.
- [27] Oh SH, Kim SH, Jeon JH, et al. Cytoplasmic expression of a model antigen with M Cell-Targeting moiety in lactic acid bacteria and implication of the mechanism as a mucosal vaccine via oral route [J]. *Vaccine*, 2021, 39(30):4072-4081.
- [28] Takahashi K, Orito N, Tokunoh N, et al. Current issues regarding the application of recombinant lactic acid bacteria to mucosal vaccine carriers [J]. *Appl Microbiol Biot*, 2019, 103(15):5947-5955.
- [29] Mojgani N, Shahali Y, Dadar M. Immune modulatory capacity of probiotic lactic acid bacteria and applications in vaccine development [J]. *Benef Microbes*, 2020, 11(3):213-226.
- [30] Tonetti FR, Arce L, Salva S, et al. Immunomodulatory properties of bacterium-like particles obtained from immunobiotic lactobacilli: prospects for their use as mucosal adjuvants [J]. *Front Immunol*, 2020(11):15.
- 【收稿日期】 2021-11-24 【修回日期】 2022-02-15