

DOI:10.13350/j.cjpb.240407

• 论著 •

生殖支原体 MG_095 蛋白的生物信息学分析及抗原表位预测^{*}

陈列松, 易希阳, 曾麒麟, 吴移谋^{**}

(南华大学衡阳医学院基础医学院病原生物学研究所, 特殊病原体防控湖南省重点实验室, 湖南衡阳 421001)

【摘要】 目的 本研究旨在应用生物信息学方法对生殖支原体 MG_095 蛋白的理化性质进行分析, 并预测其结构和表位, 以探讨其作为潜在疫苗候选抗原的可能性。 **方法** 首先, 利用 DEG 数据库分析 MG_095 基因是否为生殖支原体必需基因; 其次, 采用 Prot-Param、ProtScale、BUSCA、SOPMA、DeepTMHMM、SignalP 6.0、Motif Scan、STRING 等在线软件预测生殖支原体 MG_095 蛋白的氨基酸组成、理化性质、亲/疏水性、亚细胞定位、二级结构、跨膜区、信号肽、修饰位点和互作蛋白; 最后, 使用 IEDB、ABCpred、SYFPEITHI 和 NetMHCIIpan 4.1 软件预测靶蛋白的 B、T 细胞抗原表位。 **结果** 靶蛋白 MG_095 为生殖支原体必需基因 MG_095 所编码, 是由 398 个氨基酸构成的稳定亲水性蛋白, 其分子式为 $C_{2018}H_{3127}N_{527}O_{632}S_6$, 分子质量为 44.931 54 ku, 理论等电点为 8.80。该蛋白的二级结构主要由 α -螺旋和无规卷曲组成, 其亚细胞定位于细胞外, 无跨膜区, 含有信号肽, 存在 19 个磷酸化位点、4 个糖基化位点和 2 个 N-豆蔻酰化位点, 并与多个核糖体蛋白有互作关系。此外, 靶蛋白 MG_095 含 6 个优势 B 细胞抗原表位和 3 个优势 T 细胞抗原表位。 **结论** 假定表面暴露分子 MG_095 具有良好的免疫原性, 可作为生殖支原体潜在的疫苗候选分子。

【关键词】 生殖支原体; MG_095; 生物信息学分析; 抗原表位

【文献标识码】 A

【文章编号】 1673-5234(2024)04-0411-06

[Journal of Pathogen Biology. 2024 Apr.; 19(4):411-416, 423.]

Bioinformatic analysis and epitope prediction of MG_095 protein of *Mycoplasma genitalium*

CHEN Liesong, YI Xiyang, ZENG Qilin, WU Yimou (Institute of Pathogenic Biology, Basic Medical School, Hengyang Medical College, Hunan Provincial Key Laboratory for Special Pathogens Prevention and Control, Hengyang, 421001, Hunan, China)

【Abstract】 Objective The physicochemical properties, structure and epitopes of MG_095 protein of *Mycoplasma genitalium* was analyzed by bioinformatics methods, which contributed to further explore its potential as a potential vaccine candidate antigen. **Methods** Firstly, the DEG database was used to investigate whether the MG_095 gene is an essential gene for *M. genitalium*; Secondly, the amino acid composition, physicochemical properties, hydrophilic/hydrophobicity, subcellular localization, secondary structure, transmembrane structural region, signal peptide, modification sites and interacting proteins of target protein MG_095 were analyzed by bioinformatics softwares, such as Prot-Param, ProtScale, DeepTMHMM, SignalP6.0, BUSCA, SOPMA, Motif Scan and STRING; Finally, B- and T-cell antigenic epitopes of target protein were predicted using software IEDB, ABCpred, SYFPEITHI and NetMHCIIpan 4.1. **Results** The target protein MG_095, encoded by the *M. genitalium* essential gene MG_095, is a stable hydrophilic protein consisting of 398 amino acids, with a molecular formula of $C_{2018}H_{3127}N_{527}O_{632}S_6$, a molecular mass of 44.931 54 ku, and a theoretical isoelectric point of 8.80. Its secondary structure consists mainly of α -helices and random convolutions. MG_095 protein is localized to the extracellular, which contains a signal peptide, has no transmembrane region, possesses 19 phosphorylation sites, 4 glycosylation sites and 2 N-cardamoylation sites, and interacts with several ribosomal proteins. In addition, the target protein MG_095 contains 6 dominant B-cell antigenic epitopes and 3 dominant T-cell antigenic epitopes. **Conclusion** MG_095 protein, as a putative surface-exposed molecule, has excellent immunogenicity and could be a potential vaccine candidate molecule for *M. genitalium*.

【Key words】 *Mycoplasma genitalium*; MG_095; Bioinformatics analysis; antigen epitopes^{***}

^{*} **【基金项目】** 国家自然科学基金青年科学基金项目(No. 81902077); 湖南省自然科学基金青年基金项目(No. 2020JJ5476); 湖南省教育厅优秀青年项目(No. 20B498)。

^{**} **【通讯作者】** 吴移谋, E-mail: yimouwu@sina.com

【作者简介】 陈列松(1985-), 男, 安徽安庆人, 硕士研究生, 讲师, 主要从事支原体的致病机制与防治研究。E-mail: sciencechen@126.com

生殖支原体 (*Mycoplasma genitalium*, Mg) 是 1981 年首次从男性非淋菌性尿道炎 (nongonococcal urethritis, NGU) 患者的尿道分泌物中分离出的一种基因组最小的原核细胞型微生物^[1-2]。研究表明, Mg 感染与 NGU、包皮龟头炎、宫颈炎、盆腔炎和输卵管性不孕等疾病密切相关^[3-5]。此外, Mg 是 HIV 发生发展相关的病原体之一, 故常称之为艾滋病相关支原体^[6]。由于 Mg 感染人体后大多无明显临床表现, 患者病情容易被忽略而导致慢性迁延, 使得 Mg 感染宿主后易引起慢性持续性感染, 造成机体不可逆的病理损伤, 已成为促进性传播疾病流行的一个潜在的“超级细菌”^[7]。

目前, Mg 的耐药性日益严峻, 免疫接种是防控 Mg 感染的首选策略。大量研究表明, 抗原表位暴露在菌体表面, 通过产生抗体介导的杀菌作用是抗细菌感染的关键过程^[8]。因此, 针对表面暴露抗原分子进行疫苗开发将是预防 Mg 感染和控制其传播的潜在有效策略。有文献报道^[9], 采用消减基因组学分析 Mg 全基因组, 发现 MG_095 蛋白有可能成为疫苗开发的一个新靶点, 但未对该蛋白分子进行结构、表位等生物学特性分析, 缺少相关支撑数据。本研究采用生物信息学方法综合分析假定蛋白 MG_095 的理化性质、结构特征和抗原表位, 为 Mg 分子肽疫苗研发奠定理论基础。

材料与方法

1 MG_095 蛋白的氨基酸序列信息获取

通过美国国家生物技术信息中心 NCBI (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>) 在线获取靶蛋白 MG_095 的氨基酸序列, 其 Protein ID 为 WP_009885652.1, 具体序列如下: MKLKIFYKLPLITTAFSFVFLTA CSTPQSSFFLPAQTISTLKINGMENKTGYFLET QRSRGSYNPTASLTMIKLGDEKEFKNVDTTKQD EVLFANIYGGISLLNFRIHQPMLTYWNLVNNSLS QIGSTNDLITFKDSGYKDLAKALANNLIVADEG NNNFWFGLKALKFDTVKLQANNTATSSTRAST TQNTNNKIDAREKITINGNGGTNNDQNATVQKL IGIEINIEVEFSFVKTFGNGNEIKFEDYVTDSSPTT SLLKQVWKSQYLPNGFSFLFPSNLEGKIDSSKSY WNNLVDFSKRTTNEENTMLLTDLQKKQDQVN RFVGVFIGQNHFTLSANSINEKQFNDASTADFFKA IFQKVSINE。

2 方法

2.1 MG_095 蛋白的理化性质分析及其编码基因分析 利用 NovoPro 网站 (<https://novopro.cn/tools/gc-content.html>) 中提供的在线工具“核酸序列 DNA

GC 含量计算器”分析 MG_095 基因的全长、GC 含量; 同时应用 Database of Essential Genes (DEG) 数据库 (<https://tubic.org/deg/public/index.php/blast/bacteria>) 分析 MG_095 基因是否为 Mg 基因组中必需基因。采用 ExPASy 网站中的 Prot-Param 软件在线分析 MG_095 蛋白的理化性质; 使用在线软件 ProtScale 分析其组成氨基酸残基的亲/疏水性。

2.2 MG_095 蛋白的亚细胞定位分析 应用 Bologna Unified Subcellular Component Annotator (BUSCA) 在线软件 (<http://busca.biocomp.unibo.it/>) 预测 MG_095 蛋白的亚细胞定位。

2.3 MG_095 蛋白的二级结构预测 采用 SOPMA (https://npsa.lyon.inserm.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=/NPSA/npsa_sopma.html) 预测 MG_095 蛋白的二级结构。

2.4 MG_095 蛋白的跨膜区与信号肽分析 使用在线工具 DeepTMHMM (<https://dtu.biolib.com/DeepTMHMM>) 分析 MG_095 蛋白的跨膜区域, SignalP6.0 软件 (<https://services.healthtech.dtu.dk/service.php?SignalP-6.0>) 预测其信号肽序列及其位置。

2.5 MG_095 蛋白修饰位点分析 利用 Motif Scan 软件 (https://myhits.sib.swiss/cgi-bin/motif_scan) 预测 MG_095 蛋白的翻译后修饰位点。

2.6 MG_095 蛋白的互作蛋白预测 利用 STRING (<https://cn.string-db.org/>) 在线软件分析 MG_095 的相互作用蛋白。

2.7 B 细胞抗原表位预测 采用 ABCpred 服务器 (https://webs.iitd.edu.in/raghava/abcpred/ABC_submission.html) 和 IEDB 软件 (<http://tools.iedb.org/bcell/>) 联合分析 MG_095 蛋白的 B 细胞抗原表位, 并利用在 IEDB 服务器提供的“Chou&Fasman Beta-Turn Prediction”方法预测靶蛋白的 β 转角, “Emini Surface Accessibility Prediction”方法预测其抗原表面可及性, “Karplus & Schulz Flexibility Prediction”方法分析其柔韧性, “Kolaskar & Tongaonkar Antigenicity”方法预测其抗原性, “Parker Hydrophilicity Prediction”方法预测其亲水性, “Bepipred Linear Epitope Prediction 2.0”方法预测其线性表位, 综合分析后预测靶蛋白 MG_095 的优势 B 细胞抗原表位。

2.8 T 细胞抗原表位预测 使用 SYFPEITHI 软件在线预测 MG_095 蛋白 T 细胞抗原表位。生殖支原体侵入胞内后, CD4⁺ Th1、Th17 细胞介导的细胞免疫在抗支原体感染中发挥重要作用^[10-11]。故本研究主要预测 MG_095 蛋白的 HLA-DRB1 * 0101、HLA-

DRB1 * 0301、HLA-DRB1 * 0401、HLA-DRB1 * 0701、HLA-DRB1 * 1101、HLA-DRB1 * 1501 这 6 种等位基因所对应的辅助性 T 细胞抗原表位 (HTL 表位)。同时,应用 NetMHCIIpan 4. 1 软件 (<https://services.healthtech.dtu.dk/services/Net-MHCIIpan-4.1/>) 预测 MG_095 蛋白的 HTL 表位,综合分析后获取靶蛋白的优势 T 细胞抗原表位。

结 果

1 MG_095 蛋白的理化性质及其编码基因 MG_095 的性质

MG_095 基因位于 Mg 基因组 120 191~121 387 位置,全长 1 197 bp,含 4 个开放阅读框,G+C 含量为 31. 75%。采用 DEG 数据库分析结果显示,该基因为 Mg 必需基因,在 DEG 数据库中的编号为 DEG10060077,编码产物 MG_095 被注释为假定的脂蛋白。同时,Prot-Param 软件预测结果显示,MG_095 蛋白由 398 个氨基酸组成,分子式为 C₂₀₁₈H₃₁₂₇N₅₂₇O₆₃₂S₆,分子质量为 44. 931 54 ku,理论等电点为 8. 80。该蛋白包含 20 种氨基酸,其中含量最高的为 Asn,占比 11. 1%(表 1),带正电荷的残基 (Arg+Lys) 总数为 41,带负电荷的残基 (Asp+Glu) 总数为 37。脂肪系数为 76. 46,亲水性平均值为 -0. 425,不稳定系数为 21. 09。进一步利用在线软件 ProtScale 对靶蛋白进行亲水性分析,结果显示,该蛋白的总分值为 -169. 1(图 1),表明 MG_095 为亲水性蛋白,与 Prot-Param 预测结果相符。

表 1 MG_095 蛋白的氨基酸组成
Table 1 Amino acid composition of MG_095 protein

氨基酸 Amino acid	数量(个) Quantity	占比(%) Percent of total amino acid
丙氨酸 Ala (A)	20	5. 0
精氨酸 Arg (R)	7	1. 8
天冬酰胺 Asn (N)	44	11. 1
天冬氨酸 Asp (D)	18	4. 5
半胱氨酸 Cys (C)	1	0. 3
谷氨酰胺 Gln (Q)	21	5. 3
谷氨酸 Glu (E)	19	4. 8
甘氨酸 Gly (G)	20	5. 0
组氨酸 His (H)	2	0. 5
异亮氨酸 Ile (I)	23	5. 8
亮氨酸 Leu (L)	38	9. 5
赖氨酸 Lys (K)	34	8. 5
甲硫氨酸 Met (M)	5	1. 3
苯丙氨酸 Phe (F)	32	8. 0
脯氨酸 Pro (P)	8	2. 0
丝氨酸 Ser (S)	35	8. 8
苏氨酸 Thr (T)	40	10. 1
色氨酸 Trp (W)	5	1. 3
酪氨酸 Tyr (Y)	10	2. 5
缬氨酸 Val (V)	16	4. 0

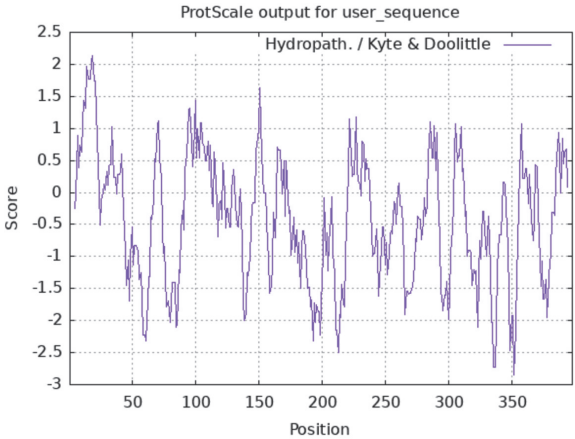


图 1 MG_095 蛋白的亲水性预测
Fig. 1 Hydropobicity of MG_095 protein

2 MG_095 蛋白的亚细胞定位预测

BUSCA 软件预测结果显示,靶蛋白 MG_095 位于细胞外空间 (extracellular space), 得分为 0. 88(图 2), 这提示 MG_095 蛋白可能是假定的表面暴露蛋白。

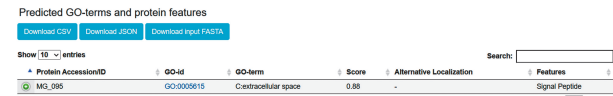


图 2 MG_095 蛋白的亚细胞定位分析
Fig. 2 Analysis of subcellular localization of MG_095 protein

3 MG_095 蛋白的二级结构特征预测

应用 SOPMA 软件预测 MG_095 蛋白的二级结构,结果显示 MG_095 蛋白的二级结构中含 α -螺旋、无规卷曲、延伸链和 β -转角,占比依次为 32. 16%、41. 71%、21. 11% 和 5. 03%(图 3),提示该蛋白的二级结构以 α 螺旋和无规卷曲为主。该结果与 AlphaFold 结构数据库中提供的三级结构特征 (编号: AF-P47341-F1) 相符。

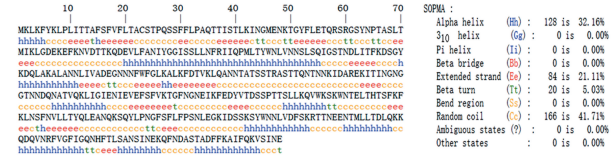


图 3 MG_095 蛋白的二级结构预测
Fig. 3 Prediction of secondary structure of MG_095 protein

4 MG_095 蛋白的跨膜区域与信号肽预测

经 DeepTMHMM 软件在线预测,发现 MG_095 蛋白不含跨膜结构,所显示的预测指示线位于细胞膜外部的概率为 100%(图 4)。使用 SignalP 6. 0 预测结果显示,该蛋白含有脂蛋白信号肽 (Sec/SP II), 其概率为 100%(图 5)。该信号肽的切割位点位于 22~23 位间的概率为 99. 72%。

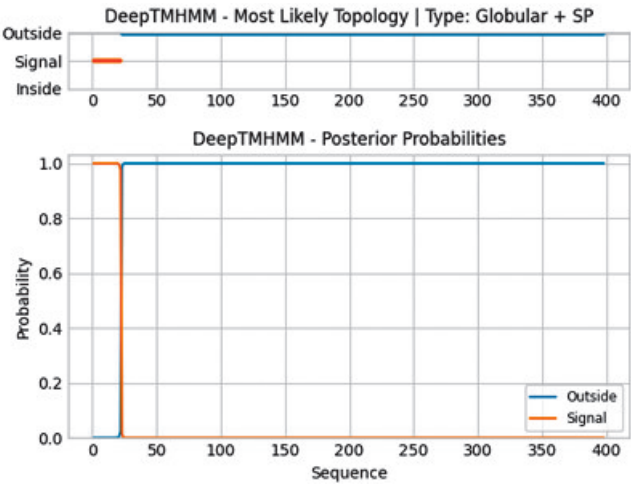


图 4 MG_095 蛋白的跨膜区预测
Fig. 4 Prediction of MG_095 protein transmembrane region

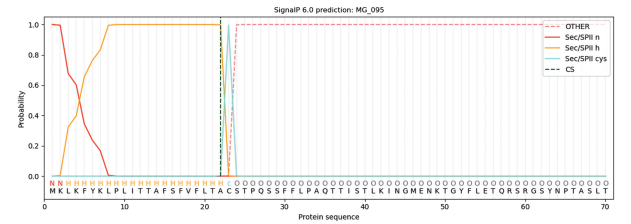


图 5 MG_095 蛋白的信号肽预测
Fig. 5 Prediction of signal peptide of MG_095 protein

5 MG_095 蛋白翻译后修饰位点预测

使用在线工具 Motif Scan 对 MG_095 蛋白翻译后修饰位点进行预测,结果显示,该蛋白存在 4 个糖基化位点,分别位于 48~51 位、120~123 位、179~182 位和 217~220 位;19 个磷酸化位点,分别位于 333~336 位、86~89 位、128~131 位、134~137 位、212~215 位、312~315 位、335~338 位、372~375 位、382~385 位、395~398 位、40~42 位、56~58 位、85~87 位、134~136 位、173~175 位、185~187 位、277~279 位、320~322 位和 332~334;此外,还有 2 个 N-豆蔻酰化位点,位于 98~103 位和 208~213 位(表 2)。

表 2 MG_095 蛋白翻译后修饰位点预测结果
Table 2 Post-translational modification site prediction of MG_095 protein

翻译后修饰 Post-translational modification	修饰位点 Modification Site
N-糖基化	48~51, 120~123, 179~182, 217~220
cAMP 与 cGMP 依赖的蛋白激酶磷酸化	333~336
酪蛋白激酶 2 磷酸化	86~89, 128~131, 134~137, 212~215, 312~315, 335~338, 372~375, 382~385, 395~398
蛋白激酶 C 磷酸化	40~42, 56~58, 85~87, 134~136, 173~175, 185~187, 277~279, 320~322, 332~334
N-豆蔻酰化	98~103, 208~213

6 MG_095 蛋白的互作蛋白预测

经 STRING 在线软件预测分析,结果显示 MG_095 蛋白与 rpsF(MG_090)、ssb(MG_091)、rpsR(MG_092)、rplI(MG_093)、dnaB(MG_094)、fusA(MG_089)、rpsG(MG_088)、rpsL(MG_087)、rplK(MG_081)和 rplA(MG_082)存在互作关系(图 6),提示 MG_095 可能参与生殖支原体自身的蛋白质合成过程。

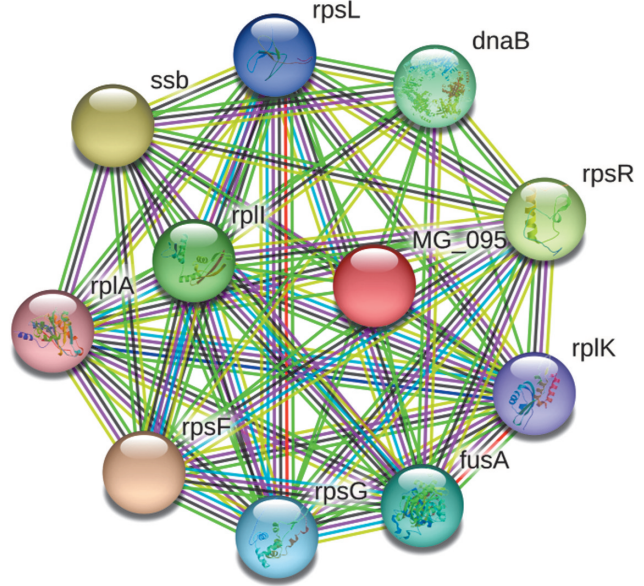


图 6 MG_095 蛋白的互作网络
Fig. 6 Protein-protein interaction network for MG_095 protein

7 MG_095 的 B 细胞抗原表位预测结果

利用 IEDB 软件中提供的辅助预测工具对 MG_095 蛋白序列的 β -转角、表面可及性、柔韧性、抗原性、亲水性及线性表位进行分析,结果见图 7。图中所在的黄色区域均高于基线,提示这些区段更易形成 B 细胞抗原表位。综合这些分析结果,IEDB 软件筛选出的靶蛋白 MG_095 的 B 细胞抗原表位有 13 个(表 3)。同时,利用 ABCpred 在线服务器的递归神经网络对 MG_095 蛋白的 B 细胞表位进行预测分析,阈值设置为默认值 0.5,将得分高于 0.5 的纳入预测结果,共得到 25 个可能的 B 细胞表位。从这两种方法的预测结果中筛选出得分高的共同 B 细胞表位,共获得 6 个优势 B 细胞表位(表 4)。

8 MG_095 的 T 细胞抗原表位预测结果

运用 SYFPEITHI 软件预测 MG_095 的 HLA-DRB1 * 0101、HLA-DRB1 * 0301、HLA-DRB1 * 0401、HLA-DRB1 * 0701、HLA-DRB1 * 1101 和 HLA-DRB1 * 1501 限制性 HTL 表位,筛选出软件得分 >30 的肽段,共有 14 条(表 5)。

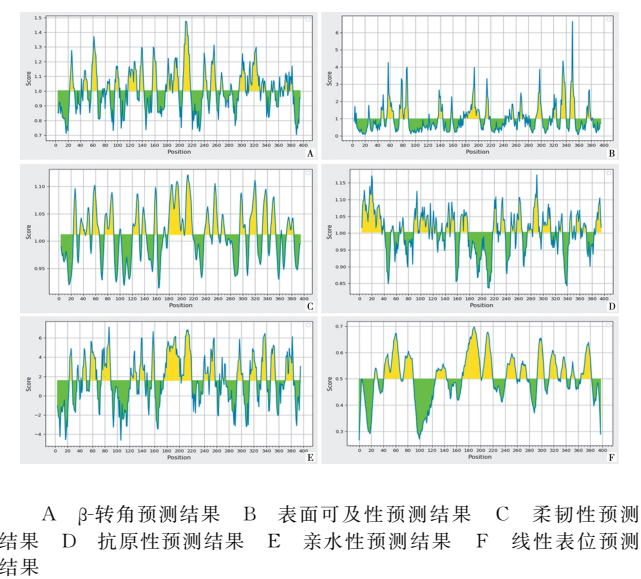


图 7 MG_095 蛋白的 B 细胞抗原表位预测

A Beta-turn prediction result B Surface accessibility prediction result C Flexibility prediction result D Antigenicity result E Hydrophobicity prediction F Bepipred Linear Epitope Prediction 2.0 result

Fig. 7 Prediction of B cell antigen epitopes of MG_095 protein

表 3 IEDB 软件预测 MG_095 蛋白的 B 细胞抗原表位

Table 3 The possible B cell antigen epitopes of MG_095 protein predicted by IEDB software

序号 Serial number	起始氨基酸位点 Starting amino acid site	终止氨基酸位点 Ending amino acid site	序列 Sequence	序列长度 (bp) Sequence length
1	26	31	PQSSFF	6
2	42	69	KINGMENKTGYFLETQRSRGSYNPTASL	28
3	74	90	LGDEKEFKNVDTTKQDE	17
4	127	144	GSTNDLITFKDSGYKDQL	18
5	170	201	KFDTVKLQANNTATSSTRASTTQNTNNKIDAR	32
6	203	220	KITINGNGGTNNDQNATV	18
7	243	259	NEKFEDYVTDSSPTTS	17
8	266	276	KSKWNTLTHHT	11
9	294	305	EANQKSQYLPNG	12
10	314	327	LEGKIDSSKSYWNN	14
11	333	342	KRTTNEENTM	10
12	349	356	KKQDQVNR	8
13	366	383	FTLSANSINEKQFNDAST	18

表 4 MG_095 蛋白的优势 B 细胞抗原表位预测结果

Table 4 Prediction of dominant B cell epitopes of MG_095 protein

序号 Serial number	起始氨基酸位点 Starting amino acid site	序列 Sequence	氨基酸数量 Amount of amino acids	得分 Score
1	333	KRTTNEENTM	10	0.92
2	266	KSKWNTLTHHT	11	0.90
3	315	EGKIDSSKSYWNN	13	0.88
4	56	TQRSRGSYNPTASL	14	0.87
5	250	YVTDSSPTTS	10	0.85
6	189	STTQNTNNKIDAR	13	0.85

表 5 经 SYFPEITHI 软件预测得分>30 的 MG_095 蛋白的 HTL 表位

Table 5 HTL epitopes of MG_095 proteins with score >30 predicted by SYFPEITHI software

序号 Serial number	等位基因 Allele	起始氨基酸位点 Starting amino acid site	序列 Sequence	得分 Score
1	HLA-DRB1 * 0101	160	NNFWFGLKALKFDTV	35
2	HLA-DRB1 * 0101	137	DSGYKDKLAKALANN	34
3	HLA-DRB1 * 0101	282	LNSFNVLTTYQLEAN	33
4	HLA-DRB1 * 0101	303	PNGFSFLFPSNLEGK	33
5	HLA-DRB1 * 0101	90	EVLFANIYGGISLL	32
6	HLA-DRB1 * 0101	51	GYFLETQRSRGSYNP	31
7	HLA-DRB1 * 0301	340	NTMLLTDLQKKQDQV	30
8	HLA-DRB1 * 0701	60	RGSYNPTASLTMIKL	34
9	HLA-DRB1 * 0701	375	EKQFNDASTADFFKA	30
10	HLA-DRB1 * 1501	109	IQPMLTYWNLVNNSL	34
11	HLA-DRB1 * 1501	351	QDQVNRFGVFIGQNH	34
12	HLA-DRB1 * 1501	100	ISSLLNFRIQPMLT	30
13	HLA-DRB1 * 1501	110	QPMLTYWNLVNNSLS	30
14	HLA-DRB1 * 1501	279	KFKLNSFNVLTTYQL	30

使用在线软件 NetMHCIIpan 4.1 选择相同的 HLA 等位基因进行靶蛋白 HTL 表位预测,设置筛选的随机肽段与选定的 MHC 分子强结合的阈值为结合力排序前 0.5%,弱结合为结合力排序前 0.5%~2%,预测结果显示,强结合的肽段有 19 条,弱结合的肽段有 53 条(表 6)。综合分析这两个软件的预测结果可推断 MG_095 蛋白含有 3 条优势 HTL 表位(表 7)。

表 6 NetMHCIIpan 4.1 预测 MG_095 蛋白与 MHCII 结合力预测结果

Table 6 Prediction of MG_095 protein binding to MHCII by NetMHCIIpan 4.1

编码 MHCII 分子的等位基因 Allele encoding MHCII	强结合的肽段数 Amount of strong binding peptide segments	弱结合的肽段数 Amount of weak binding peptide segments	合计 Total
HLA-DRB1 * 0101	2	5	7
HLA-DRB1 * 0301	1	8	9
HLA-DRB1 * 0401	10	17	27
HLA-DRB1 * 0701	3	7	10
HLA-DRB1 * 1101	2	5	7
HLA-DRB1 * 1501	1	11	12

表 7 MG_095 蛋白的优势 HTL 表位预测结果

Table 7 Prediction of dominant HTL epitopes of MG_095 protein

序号 Serial number	编码 MHCII 分子的等位基因 Allele encoding MHCII	起始氨基酸位点 Starting amino acid site	序列 Sequence	得分 Score
1	HLA-DRB1 * 0701	60	RGSYNPTASLTMIKL	34
2	HLA-DRB1 * 1501	351	QDQVNRFGVFIGQNH	34
3	HLA-DRB1 * 0101	303	PNGFSFLFPSNLEGK	33

讨 论

Mg 已被列入疾病预防控制中心的“观察者名单”^[12],作为一种新出现的超级性传播病原体,严重威

胁着人类健康。因自身无细胞壁,该病原体对 β -内酰胺类抗生素天然耐药,临床治疗仅限于选用干扰蛋白质合成和DNA复制的抗生素,如大环内酯类、喹诺酮类药物等。然而,近年来Mg对这些药物的耐药性在全球范围内呈逐渐升高趋势,使得临床治疗面临着严峻挑战^[13-14]。此外,目前尚无成熟的Mg疫苗问世。因此,探究疫苗靶点,进而开发有效疫苗用于人群的预防接种将是防控Mg感染中亟待解决的关键问题。

近年来,基于生物信息学的多组学技术广泛应用于感染性疾病相关的治疗靶点或疫苗靶点的筛选。应用大数据分析技术从病原体的基因组、蛋白组和代谢组数据中挖掘出靶基因编码产物的理化性质、结构特征和抗原表位等重要信息,可以实现疫苗靶点的高效筛选,为疫苗开发提供科学依据。

本研究选择有希望成为疫苗靶标分子的MG_095蛋白为研究对象,应用多种生物信息学软件综合分析其生物学特性。结果表明,该蛋白为必需基因编码的稳定亲水性蛋白,其一级结构的氨基酸序列主要由天冬酰胺、苏氨酸和丝氨酸等脂肪族氨基酸组成,提示靶蛋白MG_095可能是脂质代谢途径中的重要分子。同时,Uniport数据库中将该蛋白注释为假定的脂蛋白,经脂化作用将甘油类脂质或脂肪酸类脂质附着于蛋白质部分而使其自身的蛋白质锚定于细胞膜,这与亚细胞定位的预测结果相吻合。信号肽预测结果显示,MG_095蛋白有脂蛋白信号肽,存在脂蛋白切割位点。STRING软件预测结果显示,与MG_095蛋白相互作用的rpsL、rpsR、rplK、rpsG、rpsF、rplI、rplA、ssb、dnaB和fusA蛋白均定位于细胞内部,这进一步证实了靶蛋白MG_095含有信号肽序列。在生殖支原体的自身代谢过程中,脂蛋白信号肽引导该蛋白进入到细胞内,为蛋白分子间的互作奠定了基础。二级结构的预测结果显示,MG_095蛋白主要的二级结构为 α -螺旋和无规卷曲,前者可维持蛋白分子的稳定性,后者可为抗体产生提供必要的空间结构^[15],并且这两种结构易发生扭曲,提高了抗原表位形成的机率^[16-18]。蛋白翻译后修饰位点预测结果显示,MG_095蛋白形成 α -螺旋和无规卷曲的区域常存在磷酸化修饰位点,这提示该蛋白可能经磷酸化修饰而改变 α -螺旋和无规卷曲进而调控自身的功能^[19]。

人体感染生殖支原体会诱导特异性的体液免疫和细胞免疫,膜表面分子诱导的抗体在抗感染中起着重要作用。亚细胞定位显示,MG_095蛋白可能是膜表面暴露的分子,可通过诱导机体产生抗体来抵抗病原菌感染,该结果与Nogueira等人的报道^[9]相一致。在线软件预测表明,该蛋白有6个优势B细胞抗原表位,这些表位具有良好的 β -转角、表面可及性、柔韧性、

抗原性和亲水性等性质,有利于与抗体结合^[19]。有文献报道,Mg感染后可侵入宿主细胞内以逃逸抗体损伤^[20]。此时,机体主要依赖MHCII类分子限制的CD4⁺Th1细胞和Th17细胞介导的细胞免疫拮抗Mg感染。因此,本研究选择编码MHCII类分子的常见等位基因HLA-DRB1*0101、HLA-DRB1*0301、HLA-DRB1*0401、HLA-DRB1*0701、HLA-DRB1*1101和HLA-DRB1*1501来预测HTL表位。结果表明,MG_095蛋白具有3个优势HTL表位,可与MHC分子呈强结合状态,有效激发机体T细胞应答。

本研究通过对靶蛋白MG_095进行多维度的生物信息学分析,初步证实了该蛋白具有良好的免疫原性,可作为候选的疫苗靶点,为后续的Mg疫苗研发提供了参考依据。

【参考文献】

- [1] Tully JG, Taylor-Robinson D, Cole RM, et al. A newly discovered mycoplasma in the human urogenital tract[J]. Lancet, 1981, 1 (8233): 1288-1291.
- [2] Fraser CM, Gocayne JD, White O, et al. The minimal gene complement of *Mycoplasma genitalium* [J]. Science, 1995, 270 (5235): 397-403.
- [3] Edouard S, Tissot-Dupont H, Dubourg G, et al. *Mycoplasma genitalium*, an agent of reemerging sexually transmitted infections [J]. APMIS, 2017, 125(10): 916-920.
- [4] Waites KB, Crabb DM, Ratliff AE, et al. Latest advances in laboratory detection of *Mycoplasma genitalium* [J]. J Clin Microbiol, 2023, 61(3): e0079021.
- [5] Lefebvre M, Couterut J, Gibaud S, et al. Prevalence of *Mycoplasma genitalium* infection and relationship with symptoms among adults attending a sexual health centre [J]. Acta Derm Venereol, 2017, 97(4): 543-545.
- [6] Pollack JD, Jones MA, Williams MV. The metabolism of AIDS-associated mycoplasmas [J]. Clin Infect Dis, 1993, 17(Suppl 1): S267-S271.
- [7] Kirby T. *Mycoplasma genitalium*: a potential new superbug [J]. Lancet Infect Dis, 2018, 18(9): 951-952.
- [8] Fadil AB, Sara S, Camilla AG, et al. Bacterial vaccine antigen discovery in the reverse vaccinology 2.0 era: progress and challenges [J]. Front Immunol, 2018, 9: 2315.
- [9] Nogueira WG, Jaiswal AK, Tiwari S, et al. Computational identification of putative common genomic drug and vaccine targets in *Mycoplasma genitalium* [J]. Genomics, 2021, 113(4): 2730-2743.
- [10] Sasaki Y, Honda M, Makino M, et al. Mycoplasmas stimulate replication of human immunodeficiency virus type 1 through selective activation of CD4⁺ T lymphocytes [J]. AIDS Res Hum Retroviruses, 1993, 9(8): 775-780.
- [11] Masson L, Salkinder AL, Olivier AJ, et al. Relationship between female genital tract infections, mucosal interleukin-17 production and local T helper type 17 cells [J]. Immunology, 2015, 146(4): 557-567.

(下转 423 页)

综上,本研究的发现突出了微生物组学在眼科研究中的应用潜力,并为白内障的微生物组学研究提供了新的线索,未来的研究需要在更大的样本量上进行验证,并结合功能性研究来更深入地理解微生物组与白内障之间的关系,也应探讨如何利用这些发现来改进白内障的预防、诊断和治疗方法。

【参考文献】

- [1] 周天球,张俊芳. 感染性眼内炎临床特征及危险因素分析[J]. 中国病原生物学杂志,2022,17(9):1053-1056,1060.
- [2] Liu YC, Wilkins M, Kim T, et al. Cataracts[J]. Lancet, 2017, 390:600-612.
- [3] Gali HE, Sella R, Afshari NA. Cataract grading systems: a review of past and present[J]. Curr Opin Ophthalmol, 2019, 30:13-18.
- [4] Xu X, Li J, Guan Y, et al. GLA-Net: A global-local attention network for automatic cataract classification [J]. J Biomed Inform, 2021, 124:103939.
- [5] Borroni D, Paytuví-Gallart A, Sanseverino W, et al. Microbiome and ocular surface disease: Exploring the microbiota niche to characterize new eye community state types [J]. Investigat Ophthalmol Visual Sci, 2023, 64(8):202.
- [6] Haarman AEG, Enthoven CA, Tideman JWL, et al. The complications of myopia: A review and meta-analysis[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2020, 61:49.
- [7] Delbeke H, Casteels I, Joossens M. DNA extraction protocol impacts ocular surface microbiome profile[J]. Front Microbiol, 2023, 14:1128917.
- [8] Schlegel I, De Gouyon Matignon de Pontourade CMF, Lincke JB, et al. The human ocular surface microbiome and its associations with the tear proteome in dry eye disease[J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(18):14091.
- [9] Mueller UG, Linksvayer TA. Microbiome breeding: conceptual and practical issues[J]. Trends Microbiol, 2022, 30:997-1011.
- [10] Davenport ER, Sanders JG, Song SJ, et al. The human microbiome in evolution[J]. BMC Biol, 2017, 15:127.
- [11] Michels N, Zouiouich S, Vanderbauwhede B, et al. Human microbiome and metabolic health: An overview of systematic reviews[J]. Obes Rev, 2022, 23:e13409.
- [12] Aragona P, Baudouin C, Benitez Del Castillo JM, et al. The

(上接 416 页)

- [12] Khalid K, Hussain T, Jamil Z, et al. Vaccinomics-aided development of a next-generation chimeric vaccine against an emerging threat: *Mycoplasma genitalium* [J]. Vaccines (Basel), 2022, 10(10):1720.
- [13] 苏晓红. 生殖支原体感染的诊疗进展[J]. 皮肤科学通报, 2021, 38(1):58-64.
- [14] Machalek DA, Tao Y, Shilling H, et al. Prevalence of mutations associated with resistance to macrolides and fluoroquinolones in *Mycoplasma genitalium*: a systematic review and meta-analysis[J]. Lancet Infect Dis, 2020, 20(11):1302-1314.
- [15] Jahangiri F, Jalallou N, Ebrahimi M. Analysis of Apical Membrane Antigen (AMA)-1 characteristics using bioinformatics tools in order to vaccine design against *Plasmodium vivax*[J]. Infect Genet Evol, 2019, 71:224-231.
- [16] 李佳霓,李娟娟,马香,等. 维氏气单胞菌 TolC 蛋白的生物信息

ocular microbiome and microbiota and their effects on ocular surface pathophysiology and disorders[J]. Surv Ophthalmol, 2021, 66:907-925.

- [13] 高南南,王崇,余一然,等. Chinese 1 型弓形虫眼病小鼠 NK 细胞亚群的初步分析[J]. 中国病原生物学杂志,2022,17(12):1420-1424.
- [14] Priluck A, Ramulu P, Dosto N, et al. Validation of 16S rRNA gene sequencing of the periocular microbiome and lack of alteration by topical eyedrops[J]. Transl Vis Sci Technol, 2023, 12(2):32.
- [15] Chowdhary A, Van Gelder RN, Sundararajan M. Methodologic considerations for studying the ocular surface microbiome[J]. Ophthalmol Sci, 2023, 3(4):100408.
- [17] 杨俭伟,张宏彬,史俊虎,等. 河北地区外眼感染疑似患者病原菌体外生物膜形成和耐药模式分析[J]. 中国病原生物学杂志, 2021, 16(2):218-223.
- [19] Ozkan J, Majzoub ME, Coroneo M, et al. Ocular microbiome changes in dry eye disease and meibomian gland dysfunction [J]. Exp Eye Res, 2023, 235:109615.
- [21] Armstrong G, Rahman G, Martino C, et al. Applications and comparison of dimensionality reduction methods for microbiome data[J]. Front Bioinform, 2022, 2:821861.
- [22] Chiang MC, Chern E. Ocular surface microbiota: Ophthalmic infectious disease and probiotics[J]. Front Microbiol, 2022, 13:952473.
- [23] Chun GK, Menon RK. The Microbiome of peri-implantitis: a systematic review of next-generation sequencing studies[J]. Antibiotics (Basel), 2023, 12(11):1610.
- [24] Tong SY, Davis JS, Eichenberger E, et al. *Staphylococcus aureus* infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management [J]. Clin Microbiol Rev, 2015, 28:603-661.
- [25] Zysset-Burri DC, Morandi S, Herzog EL, et al. The role of the gut microbiome in eye diseases[J]. Prog Retin Eye Res, 2023, 92:101117.
- [26] Giannaccare G, Comis S, Jannuzzi V, et al. Effect of liposomal-lactoferrin-based eye drops on the conjunctival microflora of patients undergoing cataract surgery[J]. Ophthalmol Ther, 2023, 12(2):1315-1326.

【收稿日期】 2023-11-22 【修回日期】 2024-02-15

学分析[J]. 中国病原生物学杂志,2023,18(5):502-507.

- [17] 陆宝燕,王宁,赵鹏鹏,等. 细粒棘球绦虫 TSP3 基因的生物信息学分析及原核表达[J]. 中国病原生物学杂志,2022,17(11):1297-1302.
- [18] Lyn D, Gill DS, Scroggs RA, et al. The nucleoproteins of human parainfluenza virus type 1 and Sendai virus share amino acid sequences and antigenic and structural determinants[J]. J Gen Virol, 1991, 72 (Pt 4):983-987.
- [19] 王晓强,王文涛,刘畅,等. 结核分枝杆菌 fadA2 蛋白的生物信息学分析[J]. 中国病原生物学杂志,2023,18(10):1141-1146.
- [20] Yueyue W, Feichen X, Yixuan X, et al. Pathogenicity and virulence of *Mycoplasma genitalium*: Unraveling Ariadne's Thread[J]. Virulence, 2022, 13(1):1161-1183.

【收稿日期】 2023-11-23 【修回日期】 2024-02-26