

• 论 著 •

结核分枝杆菌 Rv1772 蛋白的结构与功能分析*

任 芹, 杨国平[△], 余海燕

(大理大学基础医学院医学微生物学及免疫学教研室, 云南 大理 671000)

[摘要] 目的 对结核分枝杆菌(MTB)Rv1772 蛋白的结构及功能进行生物信息学分析。方法 从美国国立生物技术信息中心获取 MTB 的 Rv1772 基因信息, 利用生物信息学软件分析 Rv1772 蛋白结构及功能。结果 Rv1772 蛋白的相对分子质量为 10 896.28, 由 103 个氨基酸构成, 其脂肪指数为 77.96, 不稳定系数为 43.98(>40), 属不稳定蛋白。Rv1772 蛋白的亲水性总平均值为 -0.105, 溶解度为 0.49。Rv1772 蛋白仅有胞内域和胞外域 2 个部分, 无跨膜区, 其可能为非跨膜蛋白。Rv1772 蛋白无信号肽[D 值为 0.112(<0.45)], 为可溶性蛋白, 定位于细胞质。Rv1772 含 6 个丝氨酸磷酸化位点, 5 个苏氨酸磷酸化位点, 其可能参与调控 MTB 感染中对宿主细胞间信号的传导。Rv1772 蛋白二级结构由 α -螺旋(52.43%)、 β -折叠(9.71%)、 β -转角(4.85%)和无规则卷曲(33.01%)组成。Rv1772 蛋白含较多的 α -螺旋结构, 其可能有多数 B 细胞抗原表位。Rv1772 蛋白含 3 个 IFN- γ 诱导阳性的 HTL 抗原表位, 2 个优势 CTL 抗原表位和 1 个优势线性 B 细胞抗原表位。Rv1772 蛋白与含有 AN-TAR 结构域的 MTB 蛋白具有高度同源性。Rv1772 蛋白与 Rv1592c、Rv0340、efpA、kasA、fbpC、oxyR、Rv2242、iniB、ndh、fadE24 有相互作用。结论 Rv1772 蛋白含多个潜在的优势 T 细胞抗原表位和 B 细胞抗原表位, 且能与其他蛋白相互作用, 其可作为抗结核疫苗的优势抗原。

[关键词] 结核分枝杆菌; Rv1772 蛋白; 生物信息学

DOI:10.3969/j.issn.1009-5519.2024.15.003

中图法分类号:R378.91

文章编号:1009-5519(2024)15-2533-06

文献标识码:A

Structural and functional analysis of Rv1772 protein in Mycobacterium tuberculosis*

REN Qin, YANG Guoping[△], YU Haiyan

(Medical Microbiology and Immunology Teaching and Research Office, School of Basic Medicine, Dali University, Dali, Yunnan 671000, China)

[Abstract] **Objective** To analyze the structure and function of Rv1772 protein in Mycobacterium tuberculosis(MTB). **Methods** Gene information for Rv1772 was obtained from the National Center for Biotechnology Information(NCBI). Bioinformatics tools were utilized to analyze the structure and function of Rv1772 protein. **Results** The Rv1772 protein had a relative molecular mass of 10 896.28 Da and consists of 103 amino acids. It exhibited a gravity index of 77.96 and an instability coefficient of 43.98(>40), indicating it was an unstable protein. The average hydrophilicity of Rv1772 was -0.105, with a solubility index of 0.49. The protein comprised only intracellular and extracellular domains, lacked transmembrane regions, suggesting it was a non-transmembrane protein. Rv1772 lacked a signal peptide [D value=0.112(<0.45)], confirming its solubility and cytoplasmic localization. Rv1772 contained six serine phosphorylation sites and five threonine phosphorylation sites, potentially involved in regulating signal transduction during MTB infection. The secondary structure of Rv1772 consisted of α -helix (52.43%), β -sheet (9.71%), β -turn (4.85%), and random coil (33.01%). It predominantly featured α -helical structures, suggesting multiple B-cell antigenic epitopes. Rv1772 harbored three IFN- γ -induced HTL antigenic epitopes, two dominant CTL antigenic epitopes, and one prominent linear B-cell antigenic epitope. It exhibited high homology with MTB proteins containing the AN-TAR domain. Rv1772 interacted with Rv1592c, Rv0340, efpA, kasA, fbpC, oxyR, Rv2242, iniB, ndh, and fadE24 proteins. **Conclusion** Rv1772 protein contains multiple potential dominant T-cell and B-cell antigenic epitopes, interacts with other proteins, and thus may serve as a promising antigen for tuberculosis vaccine development.

[Key words] Mycobacterium tuberculosis; Rv1772 protein; Bioinformatics

* 基金项目:云南省地方本科高校联合专项面上项目(2017FH001-085);大理大学高层次人才资助项目(KYBS201708)。

作者简介:任芹(1999—),硕士研究生,主要从事结核分枝杆菌感染与免疫研究工作。 [△] 通信作者, E-mail: qjygp33@163.com。

结核病(TB)是由结核分枝杆菌(MTB)感染引起的传染病,MTB通过其高度进化的非蛋白和蛋白毒力因子破坏宿主免疫系统建立持续感染^[1]。TB对人类健康、社会和经济造成了巨大影响,目前的防治形势依旧十分严峻^[2]。因此,开发安全、有效的新型抗结核疫苗对控制 MTB 感染具有重要意义。

使用免疫信息学方法开发针对 MTB 的多表位亚单位疫苗已有很多报道^[3-5],筛选优势 T 细胞抗原表位和 B 细胞抗原表位,能为多表位亚单位疫苗的研发提供思路。有研究显示,MTB 与卡介苗(BCG)的 16 个差异区(RD)基因编码蛋白有 38 个具有抗原性^[6],其中 RD1、RD7、RD9 和 RD11 区蛋白是免疫优势蛋白^[7];RD1 区^[8]和 RD2 区编码蛋白与 MTB 毒力相关^[9]。已有研究表明,RD 区蛋白抗原联合使用在 TB 的诊断和治疗方面具有重要价值^[8,10]。因此,筛选并阐明 RD 区蛋白的抗原表位特征及功能是筛选抗结核疫苗候选靶蛋白的有效途径。RD14 区的 Rv1768^[11]、Rv1769、Rv1772^[9]是免疫优势 T 细胞抗原蛋白,Rv1772 蛋白可能是潜在结核亚单位疫苗的候选蛋白^[9,12],而其结构特征及在 MTB 中的功能尚不清楚。本研究采用生物信息学方法预测 Rv1772 蛋白的结构及抗原表位,分析了其在 MTB 感染中的功能,以挖掘其可作为抗结核疫苗候选靶蛋白及含 Rv1772 抗原表位的多表位亚蛋白疫苗的潜力。

1 资料与方法

1.1 一般资料 从美国国立生物技术信息中心(NCBI)获取 MTB 的 Rv1772 基因信息,其基因序列在 NCBI GenBank 中的登录号为 NC_000962.3,在 H37Rv 基因组中的位置为 2006636~2006947,全长为 312 bp。Rv1772 编码蛋白编号为 NP_216288.1。

1.2 方法

1.2.1 Rv1772 蛋白理化性质分析 使用 ProtParam 软件对 Rv1772 的一般理化性质进行分析,包括 Rv1772 蛋白的分子质量、等电点、氨基酸组成、不稳定系数等。运用 ProtScale 软件分析 Rv1772 蛋白的亲疏水性,通过 NovoPro 服务器预测 Rv1772 蛋白的溶解性。

1.2.2 Rv1772 蛋白跨膜结构、信号肽、亚细胞定位分析 采用 TMHMM 和 Signal. 4.1 服务器分别预测 Rv1772 蛋白的跨膜结构及信号肽,使用 PSORT 软件分析该蛋白的亚细胞定位情况。Signal. 4.1 服务器预测结果中,C-score 用来区分是否为剪切点,S-score 用来区分相应位置是否为信号肽区域,Y-score 为 C-score 和 S-score 的几何平均数,用来避免多个高分 C-score 对结果的影响,曲线颜色指示各值的变化曲线,D 值是 S-mean 和 Y-max 的加权平均值。

1.2.3 Rv1772 蛋白磷酸化位点分析 使用 Net-Phos-3.1 软件对 Rv1772 蛋白的磷酸化位点进行分析。

1.2.4 Rv1772 蛋白二级结构和三级结构分析 利用 SOPMA、SWISS-MODEL 软件分别预测 Rv1772 的二级结构及三级结构。

1.2.5 Rv1772 蛋白辅助性 T 淋巴细胞(HTL)和细胞毒性 T 淋巴细胞(CTL)抗原表位预测 CD4⁺T 细胞通过主要组织相容性复合体(MHC)Ⅱ类途径与 MTB 感染的细胞相互作用,对控制 MTB 感染至关重要。使用 IEDB 服务器中 MHC Ⅱ 预测 Rv1772 蛋白的 HTL 抗原表位,并利用 VaxiJen v2.03 和 the IFN-gamma epitope 服务器对预测的 HTL 抗原表位进行抗原性和 γ 干扰素(IFN- γ)诱导性分析,最后采用 AllergenFP 和 Toxin-Pred 服务器对筛选的表位进行致敏性和毒性评估,作为 Rv1772 蛋白的优势 HTL 抗原表位。CTL 通过识别由感染细胞的 MHC Ⅰ 类分子呈递的 MTB 抗原杀死 MTB 感染细胞,并分泌细胞因子,介导对 MTB 感染的控制^[13]。使用 Class I Immunogenicity 服务器预测 Rv1772 蛋白的 CTL 抗原表位,通过 IEDB MHC Ⅰ 和 VaxiJen v2.03 服务器对筛选的 CTL 抗原表位的免疫原性和抗原性进行分析,并评估其致敏性和毒性,从而筛选出无毒性和致敏性且具较强免疫原性和抗原性的 CTL 抗原表位。

1.2.6 Rv1772 的 B 细胞抗原表位预测 B 细胞抗原表位是附着于免疫球蛋白上的抗原片段,线性 B 细胞抗原表位能诱导体液免疫应答并刺激机体产生针对 MTB 的特异性抗体^[14]。通过 ABCpred 软件筛选线性 B 细胞抗原表位,并通过 VaxiJen v2.03、Class I Immunogenicity、AllergenFP 和 Toxin-Pred 服务器对其抗原性、免疫原性、致敏性和毒性进行分析,从而筛选出优势线性 B 细胞抗原表位。

1.2.7 Rv1772 蛋白系统发育进化树构建 通过 NCBI-Blast 对 Rv1772 蛋白的氨基酸序列进行比对,并使用 MEAG 软件构建 Rv1772 蛋白的系统发育树。

1.2.8 Rv1772 蛋白相互作用网络构建 利用 STRING 软件分析 Rv1772 蛋白与其他蛋白之间的相互作用。

2 结果

2.1 Rv1772 蛋白理化性质分析结果 Rv1772 蛋白的相对分子质量为 10 896.28,分子式为 C₄₇₁H₇₄₈N₁₅₀O₁₄₁S₄,等电点为 9.00,呈碱性。Rv1772 蛋白由 103 个氨基酸构成,其中丙氨酸(Ala)占 18.4%,精氨酸(Arg)占 9.7%,丝氨酸(Ser)、甘氨酸(Gly)各占 8.7%,亮氨酸占 7.8%,其余氨基酸占比不足 7.0%。Rv1772 蛋白的脂肪指数为 77.96,消光系数(280 nm)为 11 125,其中带负电荷的氨基酸残基(天冬氨酸、谷氨酸)总数为 8,带正电荷的氨基酸残基(Arg、赖氨酸)总数为 10。Rv1772 蛋白的不稳定系数为 43.98(>40),属不稳定蛋白。Rv1772 蛋白的亲水性总平均值为-0.105,溶解度为 0.49。第 65 位氨基酸的疏水性最强,为 2.078;第 54、55 位氨基酸的亲

水性最强,为-1.667。预测 Rv1772 蛋白为亲水性蛋白。见图 1。

2.2 Rv1772 蛋白跨膜结构、信号肽、亚细胞定位分析结果 Rv1772 蛋白仅有胞内域和胞外域 2 个部分,无跨膜区,其可能为非跨膜蛋白(图 2A)。Rv1772 蛋白无信号肽[D 值为 0.112(<0.45)],为可溶性蛋白(图 2B)。Rv1772 蛋白定位于细胞质。

2.3 Rv1772 蛋白磷酸化位点分析结果 Rv1772 蛋白含 6 个 Ser 磷酸化位点,5 个苏氨酸(Thr)磷酸化位点。Rv1772 蛋白可能参与调控 MTB 感染中对宿主细胞间信号的传导。见图 3。

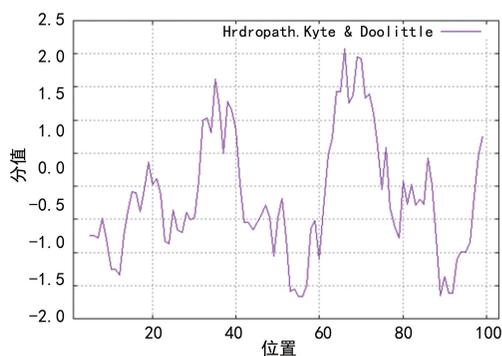
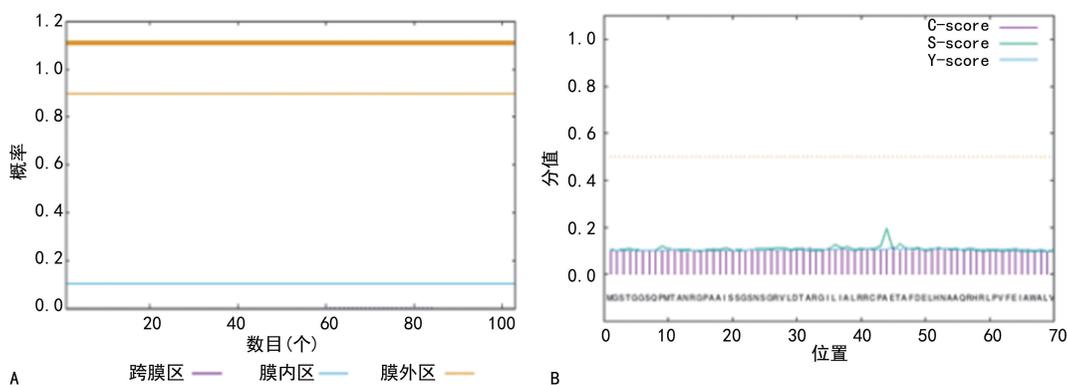
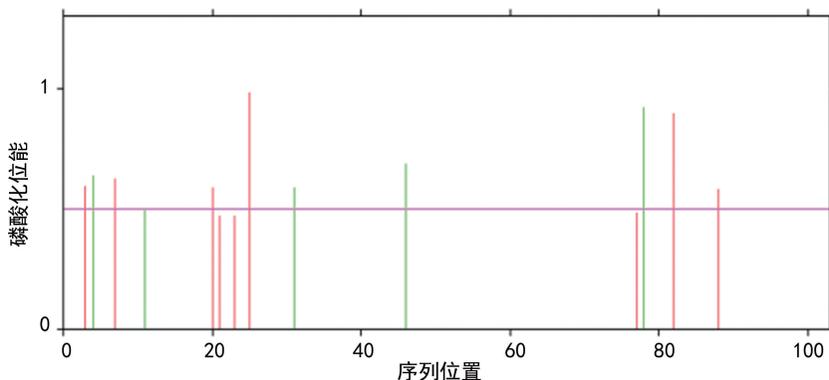


图 1 Rv1772 蛋白的亲疏水性分析



注:A.跨膜结构;B.信号肽。

图 2 Rv1772 蛋白跨膜结构及信号肽分析



注:红线表示 Ser,绿线表示 Thr,得分高于 0.5 的为阳性结果。

图 3 Rv1772 蛋白磷酸化位点预测

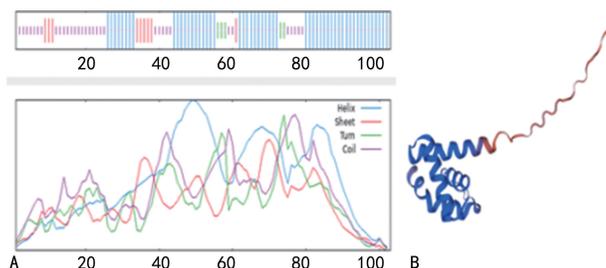
2.4 Rv1772 蛋白二、三级结构分析结果 Rv1772 蛋白二级结构由 α -螺旋(52.43%)、 β -折叠(9.71%)、 β -转角(4.85%)和无规则卷曲(33.01%)组成。Rv1772 蛋白含较多的 α -螺旋结构,其可能有多个 B 细胞抗原表位。见图 4。

2.5 Rv1772 蛋白抗原性、免疫原性、致敏性和毒性分析结果 Rv1772 蛋白抗原性和免疫原性评分分别为 0.474 30 和 1.678 79,其可能是过敏原、无毒性。

2.5.1 HTL 抗原表位预测 Rv1772 蛋白含 11 个百分位秩小于 0.5 的 HTL 抗原表位,3 个 IFN- γ 诱导阳性且无毒性、无致敏性的 HTL 抗原表位。见表 1、2。

2.5.2 CTL 抗原表位预测 Rv1772 蛋白含 31 个百

分位秩小于 0.5 的 CTL 抗原表位,其中具有免疫原性且评分大于 0 的表位为 24 个。对筛选的具有免疫原性抗原表位,分析其抗原性、毒性和致敏性,获得 2 个具有潜在优势的 CTL 抗原表位。见表 3。



注:A.二级结构模型;B.三级结构模型。

图 4 Rv1772 蛋白二级、三级结构

表 1 Rv1772 蛋白 HTL 抗原表位

表型分类	长度	表位序列	评分	百分秩
HLA-DRB5 * 01 : 01	15	PCRSFVDAQSAARRE	0.816 3	0.11
HLA-DRB5 * 01 : 01	15	RSFVDAQSAARREWG	0.812 7	0.12
HLA-DRB3 * 02 : 02	15	SQPMTANRGPAAISS	0.857 0	0.12
HLA-DRB5 * 01 : 01	15	CRSFVDAQSAARREW	0.794 3	0.14
HLA-DRB3 * 02 : 02	15	GSQPMTANRGPAAIS	0.825 3	0.14
HLA-DPA1 * 02 : 01/DPB1 * 14 : 01	15	TPCRSFVDAQSAARR	0.330 0	0.24
HLA-DRB3 * 02 : 02	15	GGSQPMTANRGPAAI	0.708 0	0.34
HLA-DPA1 * 02 : 01/DPB1 * 14 : 01	15	STPCRSFVDAQSAAR	0.263 7	0.43
HLA-DRB1 * 04 : 01	15	ETAFDELHNAAQRRH	0.835 1	0.46
HLA-DRB3 * 02 : 02	15	QPMTANRGPAAISSG	0.663 8	0.47
HLA-DRB5 * 01 : 01	15	TPCRSFVDAQSAARR	0.632 7	0.49

表 2 IFN-γ 诱导阳性的 HTL 抗原表位

表型分类	表位序列	IFN-γ 诱导结果	IFN-γ 诱导评分
HLA-DRB5 * 01 : 01	CRSFVDAQSAARREW	阳性	5.000 000 00
HLA-DPA1 * 02 : 01/DPB1 * 14 : 01	STPCRSFVDAQSAAR	阳性	0.106 844 40
HLA-DRB5 * 01 : 01	TPCRSFVDAQSAARR	阳性	0.013 692 74

表 3 Rv1772 蛋白 CTL 抗原表位

表型分类	长度	免疫原性评分	表位序列	抗原性评分
HLA-A * 32 : 01/A * 24 : 02/B * 58 : 01	9	0.381 37	RLPVFEIAW	1.721 3
HLA-B * 53 : 01	10	0.604 93	LPVFEIAWAL	2.073 2

2.6 Rv1772 蛋白 B 细胞抗原表位预测结果 对 Rv1772 蛋白序列进行分析,筛选出 11 个线性 B 细胞表位。见表 4。对筛选的表位进行抗原性和免疫原性预测,筛选出 VFEIAWALVHLAVEG 作为优势线性 B 细胞抗原表位,其抗原性评分为 1.186 2,免疫原性评分为 0.638 59。

表 4 Rv1772 蛋白 B 细胞抗原表位

序号	序列	开始位置	评分
1	MGSTGGSQPMTANRGP	1	0.94
2	AVEGSTPCRSFVDAQS	73	0.90
3	DELHNAAQRRHRLPVFE	49	0.81
4	PAAISSGSNSGRVLDLT	16	0.80
5	LRRCPAETAFDELHNA	39	0.76
6	RSFVDAQSAARREWGQ	81	0.75
7	VFEIAWALVHLAVEGS	62	0.60
8	RGILIALRRCPAETAF	33	0.60
9	SGRVLDLTARGILIALR	25	0.69
10	AQRHRLPVFEIAWALV	55	0.65
11	SAARREWQLFAHAAA	88	0.61

2.7 Rv1772 蛋白系统发育进化树构建情况 Rv1772 蛋白与含有 ANTAR 结构域的 MTB 蛋白具有高度同源性。见图 5。

2.8 Rv1772 蛋白相互作用网络 Rv1772 蛋白与 Rv1592c、Rv0340、efpA、kasA、fbpC、oxyR、Rv2242、iniB、ndh、fadE24 有相互作用。见图 6。



图 5 Rv1772 蛋白的系统发育进化树

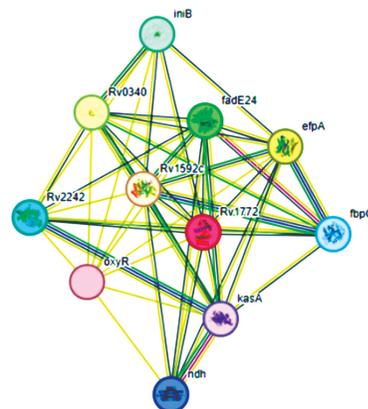


图 6 Rv1772 蛋白相互作用网络

3 讨 论

MTB 是一种兼性胞内寄生菌,作为 TB 的致病菌,能破坏宿主免疫并建立长期感染。MTB 与人类免疫缺陷病毒合并感染会增加获得性免疫缺陷综合征进展速度,加剧 TB 的防控难度^[15]。因此,开展 TB 的诊断和防治对公共卫生健康具有重要意义。MTB 细胞壁、脂阿拉伯甘露聚糖和分泌蛋白是其致病的重要结构^[16]。以 MTB 蛋白为研究靶点,筛选优势蛋白抗原的 T 细胞抗原表位和 B 细胞抗原表位能为 TB 多表位亚单位疫苗的研发奠定基础。

MTB 的 RD 区编码蛋白具有良好的免疫优势特性^[7],其被认为是 TB 血清学诊断和抗 TB 疫苗研制的靶点^[9],也是筛选抗 TB 多表位亚单位疫苗的候选蛋白。研究发现,RD1 区的 CFP10 和 ESAT-6 蛋白表达恢复可增强 BCG 菌株的免疫原性和毒性^[17];RD2 区的 Rv1987 蛋白可作为一种有效的亚单位疫苗抗原^[18];RD7 区的 Rv2346c 能抑制巨噬细胞的抗菌效应功能,使 MTB 在感染的巨噬细胞中持久存活^[19];RD7 区的 NHP1 蛋白可作为新型的抗 TB 多表位亚单位疫苗的候选蛋白^[7];RD13 区 Rv2653 蛋白能诱导 MTB 代谢的糖酵解过程,并能抑制 BCG 在 THP-1 细胞中的存活^[20]。以上研究表明,MTB 的 RD 区蛋白在 TB 诊断和治疗中具有重要作用。

存在于 MTB RD14 区的 Rv1772 基因可作为 T 细胞抗原^[9]。通过生物信息学分析能预测 Rv1772 蛋白的生物学结构及了解其在 MTB 感染中的作用。本研究结果显示,Rv1772 蛋白中,Ala 占 18.4%,Gly 占 8.7%,提示 Rv1772 蛋白可能与脂质运输相关。Rv1772 蛋白的脂肪指数为 77.96,具有热稳定性^[7]。Rv1772 蛋白为亲水性蛋白,其亚细胞定位于细胞质,且不含信号肽和跨膜区,提示其可能主要在细胞内发挥作用。Rv1772 蛋白二级结构中 α -螺旋占 52.43%,提示该蛋白可能是高度保守的蛋白质,且可能含多个与 B 细胞抗原识别受体相结合的抗原表位。本研究结果显示,Rv1772 蛋白具有良好的免疫原性。有研究构建了 pET32a-Rv1772 的原核表达质粒,并在大肠杆菌中实现了 Rv1772 蛋白的成功表达,为研究 Rv1772 蛋白具有诱导免疫应答的发生提供了基础^[12]。T 细胞介导的适应性免疫反应是防御 MTB 感染的重要途径,MTB 蛋白能刺激 CD4⁺T、CD8⁺T 淋巴细胞及 B 淋巴细胞产生免疫应答效应,这是 TB 亚单位疫苗研发成功的关键^[14]。本研究结果显示,Rv1772 蛋白含 11 个 HTL 抗原表位,31 个 CTL 抗原表位,11 个线性 B 细胞抗原表位,具有诱导产生细胞免疫及体液免疫的能力,是 MTB 的候选优势蛋白抗原。在采用 BCG 初免、Rv1772 蛋白增强免疫的策略中,Rv1772 蛋白在第 12~16 周可诱导更高比例的 CD4⁺T 细胞,并诱导分泌更多的 IFN- γ ;在第 12 周,Rv1772 蛋白可诱导更高比例的 CD8⁺T 细胞,并可诱

导机体产生 Th1 型免疫反应,增强 BCG 诱导的免疫原性^[12]。本研究也进一步证实,Rv1772 蛋白是 MTB 中的优势抗原,可介导细胞免疫和体液免疫应答反应的发生。本研究结果显示,Rv1772 蛋白含 3 个 IFN- γ 诱导阳性的 HTL 抗原表位,2 个优势 CTL 抗原表位和 1 个优势线性 B 细胞抗原表位,且这些表位无致敏性和毒性。这为 Rv1772 蛋白作为构建多表位肽疫苗的候选蛋白抗原提供了依据,同时丰富了 Rv1772 蛋白作为 MTB 亚单位疫苗候选蛋白的依据。

本研究结果显示,Rv1772 蛋白与含 ANTAR 结构域的结核分枝杆菌蛋白具有高度同源性,含 ANTAR 结构域的 MTB 蛋白含脂质代谢相关的酶^[21],参与 MTB 的脂质代谢。提示 Rv1772 蛋白可能与 MTB 的脂质代谢相关。本研究结果显示,Rv1772 蛋白与 Rv1592c 等蛋白存在相互作用。其中,Rv1592c 蛋白具有 α/β 水解酶拓扑结构^[22],而脂肪酶对 MTB 的细胞内生长和体内感染十分重要。提示 Rv1772 与 Rv1592c 等基因是引起异烟肼(INH)抗性的原因^[23],Rv1772 蛋白可能与 MTB 产生的 INH 耐药性相关,对 Rv1772 蛋白的结构分析可能有利于探索 MTB 的 INH 耐药机制。

综上所述,Rv1772 蛋白含多个潜在的优势 T 细胞抗原表位和 B 细胞抗原表位,且能与其他蛋白相互作用,其可作为抗结核疫苗的优势抗原。后续研究将对 Rv1772 蛋白进行原核表达,并分析其与巨噬细胞之间的相互作用,探究其在抗 MTB 感染中发挥的免疫学效应,为 TB 的防治提供思路。

参考文献

- [1] RAHLWES K C, DIAS B, CAMPOS P C, et al. Pathogenicity and virulence of Mycobacterium tuberculosis [J]. Virulence, 2023, 14 (1): 2150449.
- [2] BAGCCHI S. WHO's global tuberculosis report 2022[J]. Lancet Microbe, 2023, 4(1): e20.
- [3] KHAN M T, MAHMUD A, ISLAM M M, et al. Multi-epitope vaccine against drug-resistant strains of Mycobacterium tuberculosis: A proteome-wide subtraction and immunoinformatics approach[J]. Genomics Inform, 2023, 21 (3): e42.
- [4] SHARMA R, RAJPUT V S, JAMAL S, et al. An immunoinformatics approach to design a multi-epitope vaccine against Mycobacterium tuberculosis exploiting secreted exosome proteins[J]. Sci Rep, 2021, 11(1): 13836.
- [5] KHAN Z, UALIYEVA D, AMISSAH O B, et al. Insight into novel anti-tuberculosis vaccines by using immunoinformatics approaches [J].

- Front Microbiol, 2022, 13: 866873.
- [6] 陈莹, 徐平, 戴二黑, 等. 结核分枝杆菌抗原蛋白的研究及其应用新进展[J]. 微生物学报, 2023, 63(8): 2948-2966.
- [7] KOOTERY K P, SAROJINI S. Structural and functional characterization of a hypothetical protein in the RD7 region in clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis*: An in silico approach to candidate vaccines[J]. J Genet Eng Biotechnol, 2022, 20(1): 55.
- [8] MAHMOOD N, AKHTER M, HUSSAIN N, et al. The Rv3874-Rv3875 chimeric protein shows a promiscuous serodiagnostic potential for tuberculosis[J]. Tuberculosis (Edinb), 2022, 136: 102253.
- [9] 李文彬, 万康林. 结核分枝杆菌 RD 区蛋白研究进展[J]. 中国人兽共患病学报, 2018, 34(4): 362-371.
- [10] SEELE P P, DYAN B, SKEPU A, et al. Development of gold-nanoparticle-based lateral flow immunoassays for rapid detection of TB ESAT-6 and CFP-10[J]. Biosensors (Basel), 2023, 13(3): 354.
- [11] YUAN C H, ZHANG S, XIANG F, et al. Secreted Rv1768 from RD14 of *Mycobacterium tuberculosis* activates macrophages and induces a strong ifn-gamma-releasing of CD4(+) T cells[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2019, 9: 341.
- [12] LU M, XIA Z Y, BAO L. Enhancement of anti-mycobacterial Th1-cell responses by a *Mycobacterium bovis* BCG prime-protein boost vaccination strategy[J]. Cell Immunol, 2013, 285(2): 111-117.
- [13] JEONG E K, LEE H J, JUNG Y J. Host-directed therapies for tuberculosis[J]. Pathogens, 2022, 11(11): 1291.
- [14] JIANG F, HAN Y, LIU Y, et al. A comprehensive approach to developing a multi-epitope vaccine against *Mycobacterium tuberculosis*: From in silico design to in vitro immunization evaluation [J]. Front Immunol, 2023, 14: 1280299.
- [15] MEHTA D, KOOTTATHAZHATH A, RAM-ESH A. Discovery of ANTAR-RNAs and their mechanism of action in *Mycobacteria*[J]. J Mol Biol, 2020, 432(14): 4032-4048.
- [16] UNISSA A N, SUBBIAN S, HANNA L E, et al. Overview on mechanisms of isoniazid action and resistance in *Mycobacterium tuberculosis* [J]. Infect Genet Evol, 2016, 45: 474-492.
- [17] AZEVEDO-PEREIRA J M, PIRES D, CALADO M, et al. HIV/Mtb co-infection: From the amplification of disease pathogenesis to an “Emerging Syndemic”[J]. Microorganisms, 2023, 11(4): 853.
- [18] ITALIA A, SHAIK M M, PERI F. Emerging extracellular molecular targets for innovative pharmacological approaches to resistant MTB infection[J]. Biomolecules, 2023, 13(6): 999.
- [19] 高利, 罗丽莎, 吴新雅, 等. 结核分枝杆菌毒力因子 ESAT-6 和 CFP-10 的研究进展[J]. 中国病原生物学杂志, 2024, 19(1): 96-100.
- [20] AREGA A M, DHAL A K, PATTANAIK K P, et al. An immunoinformatics-based study of *Mycobacterium tuberculosis* region of difference-2 uncharacterized protein (Rv1987) as a potential subunit vaccine candidate for preliminary ex vivo analysis[J]. Appl Biochem Biotechnol, 2023, 196(4): 2367-239.
- [21] MOHANTY S, DAL MOLIN M, GANGULI G, et al. *Mycobacterium tuberculosis* EsxO (Rv2346c) promotes bacillary survival by inducing oxidative stress mediated genomic instability in macrophages[J]. Tuberculosis (Edinb), 2016, 96: 44-57.
- [22] DU Y, ZHENG R, YIN H, et al. *Mycobacterium tuberculosis* Rv2653 protein promotes inflammation response by enhancing glycolysis [J]. Jpn J Infect Dis, 2023, 76(6): 343-350.
- [23] KUMAR A, SHARMA A, KAUR G, et al. Functional characterization of hypothetical proteins of *Mycobacterium tuberculosis* with possible esterase/lipase signature: A cumulative in silico and in vitro approach[J]. J Biomol Struct Dyn, 2017, 35(6): 1226-1243.

(收稿日期: 2023-12-26 修回日期: 2024-04-21)