

张来斌,马光皇,刘语涵,等. 枣瘿蚊图尔病毒(DjTV-2a)衣壳蛋白生物信息学分析及抗原表位预测[J]. 江苏农业科学,2022,50(9):33-36.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2022.09.006

枣瘿蚊图尔病毒(DjTV-2a)衣壳蛋白 生物信息学分析及抗原表位预测

张来斌¹, 马光皇¹, 刘语涵¹, 贺鹏鹏¹, 肖海兵^{1,2}, 杨明禄^{1,2}

(1. 塔里木大学农学院, 新疆阿拉尔 843300; 2. 南疆农业有害生物综合治理兵团重点实验室, 新疆阿拉尔 843300)

摘要:分析枣瘿蚊图尔病毒(DjTV-2a)衣壳蛋白的理化性质、蛋白结构及抗原表位。从 UniProt 数据库中得到 DjTV-2a 衣壳蛋白的氨基酸序列,利用 ExPasy、TMHMM、DNASar、SignalP 5.0、TMHMM、NetPhos 3.1、NET CGlyc 1.0、SOPMA、SWISS-MODEL 等生物信息学软件,预测 DjTV-2a 衣壳蛋白的理化性质、氨基酸组成、亲疏水性、信号肽、跨膜结构、磷酸化位点、糖基化位点、二级结构、三级结构和抗原表位等。结果表明,DjTV-2a 衣壳蛋白是由 449 个氨基酸构成的亲水蛋白,分子式为 $C_{2337}H_{3607}N_{601}O_{689}S_{15}$,分子量为 51.6 ku,理论等电点为 5.98;主要二级结构是无规则卷曲,存在 82 个磷酸化位点和 1 个糖基化位点,无信号肽和跨膜结构;该蛋白有 21 个 B 细胞优势抗原表位和 10 个 T 细胞优势抗原表位。DjTV-2a 衣壳蛋白属亲水蛋白,具有多个抗原表位,预测其具有免疫原性,是可用于建立血清学检测技术的潜在抗原。

关键词:枣瘿蚊;图尔病毒;衣壳蛋白;生物信息学;抗原表位

中图分类号:S433.89;S186 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2022)09-0033-04

枣瘿蚊属双翅目瘿蚊科,是枣树等果树的重要害虫之一。枣树在发芽过程中,枣瘿蚊吸吮叶汁,破坏幼芽和新叶,最终导致果实产量减少^[1-2]。随着新疆大面积推广和发展矮化密植枣园的生产方式以及不合理使用农药导致传统枣园的生态条件发生了改变,致使枣瘿蚊的危害日益加重。因此,必须对其进行有效防治^[3]。

图尔病毒属是囊泡病毒科的第 2 个属,目前仅记录了 2 个毒株,美双缘姬蜂图尔病毒(*Diadromus pulchellus* toursvirus 1, DpTV-1a)和枣瘿蚊图尔病毒(*Dasineura jujubifolia* toursvirus 2, DjTV-2a)^[4-5]。2018 年,首次在枣瘿蚊体内发现图尔病毒^[6],这为枣瘿蚊的防控提供了新思路。DjTV-2a 是大型的单链 DNA 病毒,这种病毒的衣壳是由病毒衣壳蛋白亚基形成的寡聚体,也称壳体^[6-7]。衣壳包裹着 DjTV-2a 的遗传物质,具有免疫原性的作

用,在 DjTV-2a 的侵染和运动中起着重要作用^[7]。本研究对枣瘿蚊图尔病毒衣壳蛋白进行生物信息学分析,以期为进一步研究致病机制奠定基础,同时为开发 DjTV-2a 血清学检测技术提供理论支撑。

1 材料与方法

1.1 试验材料

登录 UniProt(<https://sparql.uniprot.org/>)网站并查找 DjTV-2a 的登录信息,得到该病毒衣壳蛋白氨基酸序列,登录号为 A0A6G6ZQ66。

1.2 试验方法

1.2.1 理化性质分析 使用 ExPasy(<https://www.expasy.org/>)中的 ProtParam 预测蛋白质的理化性质,如分子式、氨基酸数量、分子量、理论等电点和不稳定系数;使用 ExPasy(<https://www.expasy.org/>)中的 ProtScale 预测蛋白质的亲水性^[8]。

1.2.2 信号肽和跨膜结构域分析 使用 SignalP 5.0 软件(<http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/>)预测蛋白质的信号肽;使用 TMHMM 软件(<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/>)预测蛋白质的跨膜结构^[9]。

1.2.3 磷酸化位点和糖基化位点分析 使用 NetPhos 3.1 软件(<http://www.cbs.dtu.dk/services/>)

收稿日期:2021-11-10

基金项目:新疆生产建设兵团财政科技计划(编号:2020DA003、2019DA001);塔里木大学研究生科研创新项目(编号:TDGR202019)。

作者简介:张来斌(1996—),男,山东临沂人,硕士研究生,研究方向为农业昆虫与害虫防治。E-mail:17865814775@163.com。

通信作者:杨明禄,博士研究生,教授,硕士生导师,研究方向为农业昆虫与害虫防治。E-mail:ymzktytd@163.com。

NetPhos/) 预测蛋白质的磷酸化位点;使用 NET CGlyc 1.0 软件 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/NetCGlyc/>) 预测蛋白质的糖基化位点^[10]。

1.2.4 二级结构和三级结构分析 使用 SOPMA 软件 (<https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin>) 预测蛋白质的二级结构;使用 SWISS - MODEL 软件 (<https://swissmodel.expasy.org>) 预测蛋白质的三级结构^[11]。

1.2.5 抗原表位预测 使用 DNASTar 中的 Protean 软件,利用 Jameson - Wolf 法和 AMPHI 法预测蛋白质的 B 细胞抗原位点和 T 细胞抗原位点^[12]。

2 结果与分析

2.1 DjTV - 2a 衣壳蛋白理化性质分析

ProtParam 软件分析结果表明,DjTV - 2a 衣壳蛋白的分子量为 51.6 ku,分子式为 C₂₃₃₇H₃₆₀₇N₆₀₁O₆₈₉S₁₅,原子总数为 7 249,理论等电点 (pI) 为 5.98,脂肪系数为 85.66。DjTV - 2a 衣壳蛋白由 449 个氨基酸构成(表 1),其中带负电荷的氨基酸残基(Asp + Glu)有 53 个,带正电荷的氨基酸残基(Arg + Lys)有 49 个。不稳定指数为 47.40,亲水性平均系数为 -0.319,属不稳定的亲水蛋白(图 1)。

表 1 DjTV - 2a 衣壳蛋白的氨基酸组成

氨基酸	简称	数量 (个)	百分比 (%)
丙氨酸	Ala (A)	10	2.20
精氨酸	Arg (R)	17	3.80
天冬酰胺	Asn (N)	42	9.40
天冬氨酸	Asp (D)	24	5.30
半胱氨酸	Cys (C)	7	1.60
谷氨酰胺	Gln (Q)	9	2.00
谷氨酸	Glu (E)	29	6.50
甘氨酸	Gly (G)	21	4.70
组氨酸	His (H)	6	1.30
缬氨酸	Val (V)	31	6.90
异亮氨酸	Ile (I)	34	7.60
亮氨酸	Leu (L)	39	8.70
赖氨酸	Lys (K)	32	7.10
蛋氨酸	Met (M)	8	1.80
苯丙氨酸	Phe (F)	29	6.50
脯氨酸	Pro (P)	23	5.10
丝氨酸	Ser (S)	33	7.30
苏氨酸	Thr (T)	31	6.90
色氨酸	Trp (W)	6	1.30
酪氨酸	Tyr (Y)	18	4.00

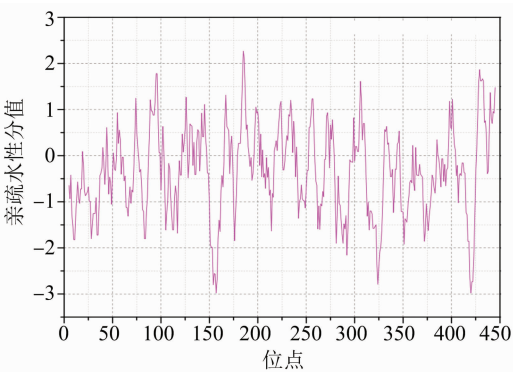


图 1 DjTV - 2a 衣壳蛋白的亲疏水性分析结果

2.2 DjTV - 2a 衣壳蛋白信号肽和跨膜结构域分析

使用 SignalP 5.0 软件和 TMHMM 软件对该蛋白进行分析,发现 DjTV - 2a 衣壳蛋白无信号肽(图 2),无信号识别功能,且无跨膜结构域(图 3),预测其为非分泌蛋白。

2.3 DjTV - 2a 衣壳蛋白磷酸化位点和糖基化位点分析

使用 NetPhos 3.1 软件和 NET CGlyc 1.0 软件对该蛋白进行分析,发现 DjTV - 2a 衣壳蛋白具有 33 个丝氨酸磷酸化位点,31 个苏氨酸磷酸化位点,18 个酪氨酸磷酸化位点(图 4),且在 370 位点存在 1 个糖基化位点。

2.4 DjTV - 2a 衣壳蛋白二级结构和三级结构分析

使用 SOPMA 软件预测蛋白质的二级结构,发现 DjTV - 2a 衣壳蛋白有 100 个 α - 螺旋(Hh),占 22.27%;109 个 β - 折叠(Ee),占 24.28%;18 个 β - 转角(Tt),占 4.01%;222 个无规则卷曲(Cc),占 49.44%(图 5)。使用 SWISS - MODEL 软件建立 DjTV - 2a 衣壳蛋白的三级结构模型,序列一致性为 32.71%,全局模型质量评估(GMQE)和 QMEAN 评分分别为 0.65、0.63(图 6)。

2.5 DjTV - 2a 衣壳蛋白抗原表位预测

使用 DNASTar 中的 Protean 软件预测 DjTV - 2a 衣壳蛋白的抗原表位。以 Jameson - Wolf 法,结合亲水性、柔韧性和可及性,综合分析预测 DjTV - 2a 衣壳蛋白的优势 B 细胞抗原表位有 21 个,分别位于 5 ~ 23、24 ~ 42、45 ~ 55、60 ~ 71、78 ~ 87、99 ~ 106、107 ~ 111、134 ~ 140、149 ~ 166、171 ~ 182、189 ~ 197、203 ~ 220、224 ~ 228、237 ~ 252、259 ~ 270、280 ~ 298、311 ~ 318、322 ~ 332、336 ~ 385、390 ~ 399、413 ~ 426 位氨基酸残基或附近;利用 AMPHI 法和 Rothbard - Taylor 法预测 DjTV - 2a 衣壳蛋白的 T 细胞抗原表位有 10 个,分别位于 22 ~

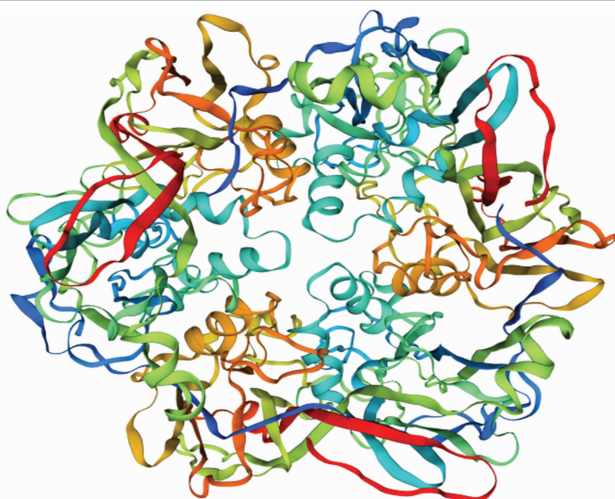


图6 DjTV-2a 衣壳蛋白的三级结构

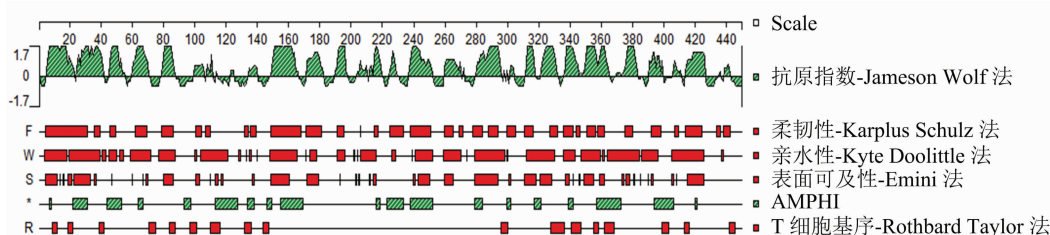


图7 DjTV-2a 衣壳蛋白的抗原表位分析结果

分析结果并不完全准确^[14]。因此,必须与其他抗原性较大的蛋白进行比较或合成表位多肽验证结果正确性^[15-16]。综合分析蛋白质的物理化学性质,可以推测 DjTV-2a 衣壳蛋白有 21 个 B 细胞抗原表位、10 个 T 细胞抗原表位,该蛋白是容易识别的潜在优势抗原,为后续基于血清学检测 DjTV-2a 提供了理论依据。

参考文献:

- [1] Jiao K L, Han P J, Yang M L, et al. A new species of gall midge (Diptera: Cecidomyiidae) attacking jujube, *Ziziphus jujuba* in China [J]. Zootaxa, 2017, 4247(4): 487-493.
- [2] 李 兰, 阿地力·沙塔尔, 潘存德, 等. 枣叶瘿蚊在阿克苏市的消长规律及其防治研究[J]. 新疆农业大学学报, 2010, 33(1): 36-39.
- [3] 安尼瓦尔·斯力木. 新疆枣瘿蚊综合防治研究[J]. 安徽农业科学, 2015, 43(34): 185-186.
- [4] Bigot Y, Rabouille A, Sizaret P Y, et al. Particle and genomic characteristics of a new member of the Ascoviridae: *Diadromus pulchellus* ascovirus [J]. The Journal of General Virology, 1997, 78(5): 1139-1147.
- [5] Asgari S, Bideshi D K, Bigot Y, et al. ICTV virus taxonomy profile: Ascoviridae [J]. The Journal of General Virology, 2017, 98(1): 4-5.
- [6] Wang J, Yang M L, Xiao H B, et al. Genome analysis of *Dasineura jujubifolia* toursvirus 2, a novel ascovirus [J]. Virologica Sinica, 2020, 35(2): 134-142.
- [7] 廖颖茵, 薛 亮, 高珊珊, 等. 诺如病毒分子结构特征及其衣壳蛋白功能研究进展[J]. 病毒学报, 2021, 37(2): 459-464.
- [8] 黄晓慧, 王 炜, 王 倩, 等. 生殖支原体 P110 蛋白的生物信息学分析[J]. 中国病原生物学杂志, 2021, 16(6): 639-643, 650.
- [9] 孙 敏, 向 月, 姜 华, 等. 阪崎克罗诺杆菌 OmpX 蛋白的生物信息学分析[J]. 中国病原生物学杂志, 2021, 16(3): 249-252, 257.
- [10] 鲍佳佳, 李 倩, 孙铭艳, 等. 铜绿假单胞菌 YfiB 蛋白的生物信息学分析[J]. 中国病原生物学杂志, 2021, 16(4): 406-410.
- [11] 王 宇, 李建云, 武 健, 等. 绵羊肺腺瘤病毒 Gag 蛋白的生物信息学分析及抗原表位预测[J]. 中国病原生物学杂志, 2021, 16(5): 502-506.
- [12] 王晓哲, 肖正洋, 韦双双, 等. 利用 DNASTar 软件预测热带无爪螨主要致敏原 Blo t 5 的抗原表位[J]. 热带生物学报, 2017, 8(1): 107-112.
- [13] de Groot A S, Shai H, Aubin C S, et al. Immuno-informatics: mining genomes for vaccine components [J]. Immunology and Cell Biology, 2002, 80(3): 255-269.
- [14] 马凡舒, 张 蕾, 王 洋, 等. B 细胞抗原表位预测方法的研究进展[J]. 中国畜牧兽医, 2016, 43(1): 63-67.
- [15] Goyal B, Kumar K, Gupta D, et al. Utility of B-cell epitopes based peptides of RD1 and RD2 antigens for immunodiagnosis of pulmonary tuberculosis [J]. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease, 2014, 78(4): 391-397.
- [16] 杨 军, 刘 妮, 张 婷, 等. HBeAg 的 B 细胞线性表位预测及鉴定[J]. 南方医科大学学报, 2013, 33(2): 253-257.