

DOI:10.13350/j.cjpb.220804

• 论著 •

# 弓形虫免疫作图蛋白 1(TgIMP1)表位疫苗的设计及构建\*

徐昊志<sup>1</sup>, 周贝贝<sup>2</sup>, 刘俏俏<sup>3</sup>, 董宏杰<sup>1</sup>, 代莉莎<sup>1</sup>, 谢环环<sup>1</sup>, 孙航<sup>1</sup>, 王琦<sup>1</sup>, 张俊梅<sup>1</sup>, 赵桂华<sup>1</sup>, 徐超<sup>1</sup>, 尹昆<sup>1\*\*</sup>

(1. 山东省寄生虫病防治研究所, 山东第一医科大学(山东省医学科学院), 山东济宁 272033;

2. 济宁市中心血站; 3. 莱州市人民医院)

**【摘要】** 目的 设计基于弓形虫免疫作图蛋白 1(TgIMP1)抗原蛋白的表位疫苗并进行结构验证。方法 分别采用 IEDB 和 ABCpred 软件预测 TgIMP1 蛋白的 B 细胞抗原表位, 分别采用 SYFPEITHI 和 IEDB 软件预测 TgIMP1 蛋白的 T 细胞抗原表位, 运用 DNA man 比对筛选出 T-B 联合表位, 在 PfIMP2 同源结构中验证表位性质并设计 TgIMP1 优势表位盒。结果 通过计算机虚拟设计, 得到了 4 条 TgIMP1 的优势 B 细胞表位(B1-B4)和 2 条优势 T 细胞表位(T1-T2), 6 条优势表位均处于 PfIMP2 结构外侧的无规卷曲区, 且均为极性表面, 适合作为表位疫苗的备选肽段。结论 根据预测结果构建了 3 种 TgIMP1 优势表位盒, 为多价表位疫苗的研发奠定基础。

**【关键词】** 免疫作图蛋白 1; 抗原表位; 蛋白三维结构; 虚拟设计; 弓形虫

**【中图分类号】** R382.5

**【文献标识码】** A

**【文章编号】** 1673-5234(2022)08-0887-05

[Journal of Pathogen Biology. 2022 Aug.; 17(8):887-891.]

## Design and construction of an epitope vaccine of *Toxoplasma gondii* immune mapped protein 1 (TgIMP1)

XU Hao-zhi<sup>1</sup>, ZHOU Bei-bei<sup>2</sup>, LIU Qiao-qiao<sup>3</sup>, DONG Hong-jie<sup>1</sup>, DAI Li-sha<sup>1</sup>, XIE Huan-huan<sup>1</sup>, SUN Hang<sup>1</sup>, WANG Qi<sup>1</sup>, ZHANG Jun-mei<sup>1</sup>, ZHAO Gui-hua<sup>1</sup>, XU Chao<sup>1</sup>, YIN Kun<sup>1</sup> (1. Shandong Institute of Parasitic Diseases, Shandong First Medical University & Shandong Academy of Medical Sciences, Jining 272033, Shandong, China; 2. Jining Blood Center; 3. Laizhou City People's Hospital)

**【Abstract】** **Objective** Design an epitope vaccine based on *Toxoplasma gondii* immune mapped protein 1 (TgIMP1) and verified the prediction vaccine using the homologous protein structure. **Methods** B cell epitopes of TgIMP1 protein were predicted by IEDB and ABCpred software, respectively; T cell epitopes of TgIMP1 protein were predicted by SYFPEITHI and IEDB, respectively. T-B combined epitopes were screened by DNA MAN comparison. The properties of predicted epitopes were verified in PfIMP2 homologous structure. Based on the results, the TgIMP1 dominant epitope boxes were designed and constructed. **Results** Four dominant B cell epitopes (B1-B4) and two dominant T cell epitopes (T1-T2) of TgIMP1 were successfully predicted by computer virtual design method. All of the predicted dominant epitopes were located on the outside of the PfIMP2 structure, in the random curl zone and with polar surfaces, indicating that they were appropriate as candidates for constructing epitope vaccine. **Conclusion** Based on the above virtual design results, three TgIMP1 dominant epitope boxes were constructed, laying a foundation for the subsequent development of multivalent epitope vaccines.

**【Key words】** Immune mapped protein 1(TgIMP1); epitope; protein three dimensional structure; virtual design; *Toxoplasma gondii*

\*\*\*刚地弓形虫(*Toxoplasma gondii*)为机会性致病寄生虫,可引起人兽共患弓形虫病。目前世界人群弓形虫血清学阳性率已达 30%,我国平均阳性率为 12.3%<sup>[1]</sup>,我国献血人群总阳性率约为 6.26%,同时呈现较为明显的区域性差异<sup>[2]</sup>。我国 30 个省发现人畜感染病例<sup>[3]</sup>;孕妇感染后垂直感染率达 50%,可造成胎儿死胎、畸形和弱智<sup>[4]</sup>。免疫缺陷病人感染可引发全身急性弓形虫病,病死率高<sup>[5]</sup>。孕妇 TORCH 检查在一定程度上可有效降低弓形虫感染风险,但目前在健康献血者群体中进行常规筛查鲜有报道,弓形虫感染存在潜在的输血传播风险。此外,免疫系统正常的人

也可能患上严重的眼部疾病或中枢神经系统疾病<sup>[6]</sup>。美国和法国已将其列为继沙门氏菌和李斯特菌后的第

\* **【基金项目】** 山东省泰山学者项目工程(No. tsqn202103186);山东省医药卫生科技发展计划项目(No. 202101050270),济宁市重点研发计划(2022YXNS152),山东省自然科学基金联合专项(No. ZR2018LH016),山东第一医科大学学术提升计划项目(No. 2019QL005),山东省医学科学院医药卫生科技创新工程。

\*\* **【通讯作者】** 尹昆, E-mail: kyun@sdfmu.edu.cn

**【作者简介】** 徐昊志(1997-),男,山东泰安人,在读研究生,主要从事基础医学研究。E-mail: 316676440@qq.com

三大致死性食源菌<sup>[7]</sup>。目前国内外弓形虫病的预防性疫苗的研发经历了从弱毒/减毒株疫苗、特异组分亚单位疫苗、核酸疫苗到表位疫苗的发展过程。弓形虫疫苗备选抗原集中于速殖子导致的急性感染阶段,包括黏附宿主细胞的表面抗原蛋白 SAG1、SAG2 和 SAG3 等外源凝集素和黏连蛋白<sup>[8]</sup>。识别并粘附宿主细胞受体的 MICs 蛋白如 MIC1-MIC12<sup>[9]</sup>、顶端膜抗原 1 (AMA1)<sup>[10]</sup>、SUB1 和 SUB2<sup>[8]</sup>等。以及介导纳虫小泡膜的棒状体蛋白 (ROPs)<sup>[10]</sup> 和致密颗粒蛋白 (GRAs)<sup>[12]</sup>。但目前尚无完全保护力的抗弓形虫疫苗。

免疫作图蛋白 1 (Immune mapped protein-1, IMP1) 于 2011 年由 Blake 等<sup>[13]</sup> 通过基因图谱分析,在爱美耳球虫 (*Eimeria tenella*) 基因组内被发现 IMP1 表达谱广泛,在包括 *mox/wa*、*Toxoplasma gondii* 和 *Neospora caninum* 的艾美耳球虫属多个物种中均可表达<sup>[14-15]</sup>,是球虫属不同物种中共享的保护性抗原,其表达产物可作为疫苗候选抗原<sup>[16]</sup>。鸡球虫编码的 EtIMP1 免疫实验用鸡,具有较强的抗鸡球虫病免疫原性,对鸡具有明显的免疫保护作用。IMP1 亚单位疫苗和核酸疫苗的免疫效果在弓形虫和新孢子虫中得到验证。Cui 等<sup>[14]</sup> 构建的 pcDNA (3.1)-IMP1 单价 TgIMP1 核酸疫苗被证明具有较强的免疫原性,倾向于产生 Th1 型免疫反应,且对免疫小鼠的免疫保护效果显著。Yin 等<sup>[17]</sup> 构建和纯化的艾美耳球虫 EtIMP1-vFliC 亚单位疫苗的免疫原性和免疫保护性均显著优于 EtIMP1 单价亚单位疫苗以及福氏完全佐剂 (FCA)、vFliC 和 EtIMP1-FCA 等 4 种对照组。EtIMP1-CD40L 亚单位疫苗的功效也显著好于 EtIMP1 全长单价疫苗<sup>[18]</sup>,表明 IMP1 还具有良好的协同性,可配合其它抗原或佐剂共同发挥免疫功效。EtIMP1 (161-397) 蛋白片段对鸡具有与全长蛋白相当的免疫原性和保护力,特别是细胞因子 IFN- $\gamma$  的分泌水平高于全长蛋白,提示 IMP1 的 C-末端片段可能起主要的免疫作用<sup>[19]</sup>。

因此,本研究通过分析 TgIMP1 的 T 细胞及 B 细胞抗原表位,并在已释放的疟原虫 PfIMP2 的三维晶体结构<sup>[20]</sup> 中对表位进行构象验证,设计基于蛋白结构的 TgIMP1 的表位抗原,为开发基于 TgIMP1 候选抗原的多价表位抗弓形虫疫苗奠定基础。

## 材料与方 法

### 1 氨基酸序列及蛋白三维结构的获取

TgIMP1 蛋白的氨基酸序列来源于 NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 在线数据库,其蛋白登录号为 AFB35815.1。PfIMP2 蛋白的核磁共振三

维结构源于 RCSB PDB 数据库 (<http://www.rcsb.org/pdb/home>),结构 ID 号为 5LG9。

## 2 方 法

**2.1 B 淋巴细胞抗原表位预测** 运用在线预测网站 IEDB (<http://tools.immuneepitope.org/main/>) 等参数对 TgIMP1 抗原的 B 细胞表位进行预测。通过 IEDB 网站,输入氨基酸序列,通过 Karplus&Schulz 分析柔韧性,Kolaskar&Tongaonkar 预测抗原性,Emini 预测抗原表面可及性,Parker 预测亲水性,Chou&Fasman 法预测氨基酸编码蛋白的  $\beta$  转角。采用 ABCpred ([https://webs.iitd.edu.in/raghava/abcpred/ABC\\_submission.html](https://webs.iitd.edu.in/raghava/abcpred/ABC_submission.html)) 进行预测。

**2.2 优势 T 淋巴细胞抗原表位预测** 运用在线预测网站 SYFPEITHI (<http://www.syfpeithi.de/bin/MHCServer.dll/EpitopePrediction.htm>) 对 TgIMP1 的 T 细胞表位进行预测。方法:选择 HLA-A \* 02:01、HLA-A \* 03、HLA-B \* 07:02 和 HLA-B \* 15:16,选取得分大于 20 分的氨基酸序列进行分析。采用 IEDB (<http://tools.immuneepitope.org/main/>) 预测软件,选择 MHC-II Binding Prediction 功能对 TgIMP1 的 T 细胞表位进行平行预测。

**2.3 T-B 联合表位分析方法** 运用 DNA man 软件比对筛选出 TgIMP1 抗原 T-B 联合表位。综合二级结构的分析和 HLA 表位分布的预测结果,选出 TgIMP1 的优势表位氨基酸序列。从高评分表位里筛选重叠部分作为优势表位。

**2.4 三维结构验证方法** 运用 PyMOL 软件分析验证 TgIMP 的优势表位在 PfIMP2 三维结构中的位置及表面电势,处理生成结构验证图片。

## 结 果

### 1 TgIMP1 的 B 细胞表位预测结果

通过 IEDB 软件对 TgIMP1 抗原蛋白的 B 细胞表位进行预测 (图 1),根据 TgIMP1 蛋白的抗原指数、表面可及性、柔韧性、线性表位、亲疏水性和  $\beta$  转角等 6 个方面,筛选到的 TgIMP1 的 B 细胞表位见表 1。其中柔韧性参数以基线 1.0 为参照,>1.0 的氨基酸区段柔韧性强,是易于形成抗原表位的区域;可及性参数 >1.0 的区段易形成 B 细胞表位;亲水性参数以 2.09 作为基线。

根据 pfIMP2 蛋白的结构,预测了 pfIMP2 蛋白的构象表位,结果见图 2。pfIMP2 的构象表位集中存在于 40-80 位氨基酸之间,以及 95 位氨基酸附近。

采用了 ABCpred 对 TgIMP1 的 B 细胞表位进行了预测,预测结果见表 2。得分越高,其成为优势表位的可能性越大。

表 1 TgIMP1 蛋白的 B 细胞表位肽段预测结果

Table 1 Position of the predicted T cell epitope of TgIMP1 protein

预测方法 Prediction methods	预测结果(氨基酸位置) Prediction results (the position of amino acid)
抗原指数	29-35,47-52,80-89,98-105,112-124,126-136,151-161,177-187,193-199,212-224,258-268,287-325,344-350,367-373
表面可及性	8-17,63-77,162-173,198-209,224-235,252-258,269-274,279-285,325-331
线性表位	5-50,63-81,83-94,104-109,124-154,156-178,198-210,223-247,250-257,271-285,300-314,326-369,378-396

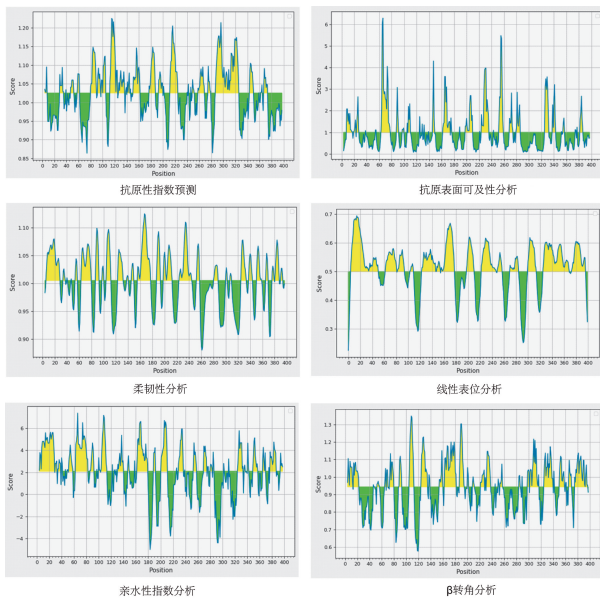


图 1 IEDB 分析的 TgIMP1 的 B 细胞抗原表位

Fig. 1 The predicted T cell epitopes analyzed by IEDB

表 2 ABCpred 预测的 TgIMP1 (176-360) B 淋巴细胞表位  
Table 2 Prediction results of TgIMP1 (176-360) B lymphocyte epitopes using ABCpred

位置 Position	序列 Sequence	得分 Score
263	ATVLKAANEYEAKVTV	0.90
275	KVTVREWTEEMPPQVF	0.87
239	LLTDIEAKWSVWKVNE	0.85
308	RGHPVDLGVFSHIAVV	0.83
223	KNVPRMKYEKGGKTE	0.81
346	AVAAGGADQRFAPRGI	0.80

## 2 TgIMP1 的 T 细胞表位预测

运用 SYFPEITHI 预测 TgIMP1 抗原的细胞毒性 T 淋巴细胞表位(CTL),在进行 T 细胞表位的预测后,选取了分值高的 7 个 CD8<sup>+</sup> T 细胞抗原表位,预测结果见表 3。运用 IEDB 软件,选择 MHC-II Binding Prediction 功能,预测所得的 TgIMP1(176-360)的 T 细胞表位序列见表 4。

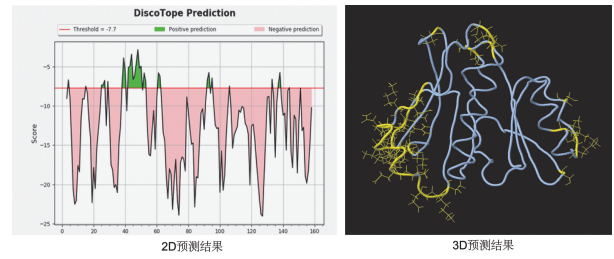


图 2 PfIMP2 蛋白的 B 淋巴细胞构象表位预测结果

Fig. 2 The Predicted B lymphocyte conformational epitopes of PfIMP2 protein

表 3 SYFPEITHI 预测的 T 细胞表位

Table 3 The predicted T cell epitopes by SYFPEITHI

序号 No	起始位置 Initial position	氨基酸序列 Sequence of amino acid	分值 Score
1	213	V L L S F V P A L	30
2	178	S A Y G Y L L F L	25
3	185	F L P D K G G S L	25
4	298	L V G N K V A S L	25
5	321	A V V P A D K N K	26
6	306	L P R G H P V D L	26
7	304	A S L P R G H P V	30

表 4 IEDB 软件预测的 TgIMP1 的 MHC-II T 细胞表位

Table 4 The predicted MHC-II T cell epitopes of TgIMP1 by IEDB

序号 No	起始位置 Initial position	氨基酸序列 Sequence of amino acid	终止位置 Ending position	分值 Score
1	255	KEIEALTGAPAAVTR	269	0.47
2	288	QVFISLLHVGLVGNK	302	0.67

## 3 TgIMP1 的 T-B 联合优势决定簇的选取和设计

根据 pfIMP2 的三维结构和 T、B 细胞表位预测区域,设计 B 细胞表位取舍。结合 PfIMP2 三维晶体结构数据,确定 B 细胞表位作为备选的优势决定簇,见表 5。根据 T 细胞表位重叠区域和三维空间结构,最终选取的优势 T 细胞抗原决定簇见表 6。

表 5 TgIMP1 的优势 B 细胞抗原决定簇

Table 5 The dominant B cell antigenic determinants of TgIMP1

序号 No	起始位置 Initial position	氨基酸序列 Sequence of amino acid	终止位置 Ending position
B1	219	PALHKNVPR	227
B2	277	TVREWTEEMPPQV	289
B3	331	FKDGFNLSE	339
B4	354	QRFAPRG	360

表 6 TgIMP1 的优势 T 细胞抗原决定簇

Table 6 The dominant T cell antigenic determinants of TgIMP1

序号 No	起始位置 Initial position	氨基酸序列 Sequence of amino acid	终止位置 Ending position
T1	186	LPDKGGS	192
T2	304	ASLPRGHPVDL	314

## 4 TgIMP1 的 T-B 联合优势决定簇在 pfIMP2 三维结构中的验证

得到 4 条 TgIMP1 的优势 B 细胞表位(B1-B4)和

2条优势 T 细胞表位(T1-T2),为明确这些表位的空间位置是否处于蛋白表面极性亲水区域,将 PfIMP2 蛋白结构中的这 6 条优势抗原决定簇用彩色进行了标识,结果表明,这 6 条优势表位均处于结构外侧的无规卷曲区,且均为极性表面,适合作为表位疫苗的备选肽段(图 3)。

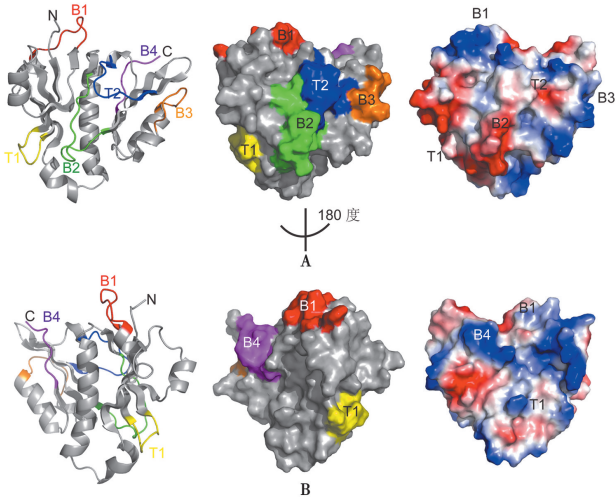


图 3 TgIMP1 的优势 T-B 细胞表位在同源结构 PfIMP2 中的位置及对应的表面电势(A. B. 自左至右分别为结构卡通展示图、结构表面展示图和表面电势图。)

Fig.3 Identification results of the dominant T-B cell epitopes of TgIMP1 in the homologous structure PfIMP2 and their corresponding surface potentials (A. B. from left to right are the cartoon structure diagram, the surface structure diagram and the surface potential diagram respectively)

### 5 TgIMP1 优势表位盒的构建策略

在 TgIMP1 的各 B 淋巴细胞优势表位之间用柔性 GS (甘氨酸/丝氨酸)Linker(序列:GGGGS)间隔,以延长融合蛋白在体内的作用时间并保持各表位的相对独立;此外,在 B 淋巴细胞和 T 淋巴细胞优势表位之间,用 2 个赖氨酸 KK 为间隔序列,使有利于蛋白酶进行适当切割,在不构成新的表位的同时发挥各表位的独立作用。由于 TgIMP1(176-360)蛋白为稳定核心, N 端和 C 端均缺失,进行通用 Th 表位预测没有得到有效的预测结果,可在表位盒 N 端加入通用 Th 表位序列 PADRE(序列为:AKFVAAWTLKAAA),该序列能够与大多数 MHC-II 类分子结合,一定程度能够克制结合识别上的限制性,有利于发挥表位作用。设计 3 种排列组合方式,3 种表位盒结构见图 4。

### 讨论

弓形虫可通过先天性感染及后天性获得感染,在临床上可通过器官、骨髓移植或输血感染,严重者可导致死亡。疫苗的研制对于先天性感染的阻断及获得性感染的预防性阻断,均具有重要的意义。弓形虫病疫苗的种类随着免疫学和分子生物学等科学技术的发展

而发展,先后经历了全虫疫苗、虫体特异组分疫苗和基因工程疫苗。由于基因工程疫苗在靶标抗原选取的广泛性、疫苗效果的可预测性、疫苗安全性等都有着明显的优势,且易于大规模生产,生产费用相对较低,因而目前疫苗研制的主要趋势。为提高候选抗原的免疫原性,通过基因工程手段,体外表达并人工合成病原体相关抗原表位(包括 T 细胞表位和 B 细胞表位),并结合有效的抗原提呈方式,可构建具备更高免疫活性的基因工程疫苗即表位疫苗。近年来随着免疫学的发展,利用具有强保守性和免疫原性的弓形虫抗原表位来研制弓形虫疫苗已成为弓形虫疫苗发展的新思路。如果把不同抗原的多个优势决定簇组合到一起,对免疫机体形成多层次、多特异性免疫保护,远大于单个抗原的保护力,且能克服传统疫苗毒力回复与扩散的缺点。

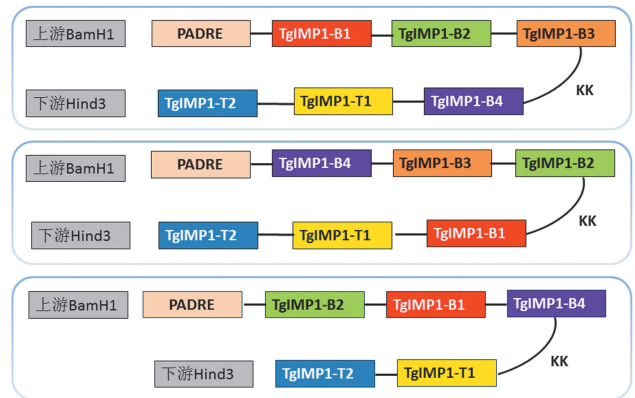


图 4 TgIMP1 的 3 种优势表位盒结构图  
Fig.4 Schematic diagram of TgIMP1's three dominant epitope boxes

研制表位疫苗的基础是寻找变应原的 T 细胞表位和 B 细胞表位,传统的确定 T/B 细胞表位的方法是重叠肽法,而这种方法耗时、耗力。随着生物信息学技术的发展和结构数据库的不断完善更新,利用生物信息学技术对备选抗原与 MHC 分子结合的可能性进行预测,初步筛选出备选的优势决定簇,并在其三维结构上进行验证的计算机虚拟预测筛选方法,不仅高效,且更加准确。TgIMP1 不仅可作为效果良好的疫苗候选抗原,基因敲除实验还表明,TgIMP1 还参与调控速殖子的胞内增殖过程<sup>[21]</sup>。因此,本研究在对 TgIMP1 的生物信息学分析基础上,结合 PfIMP2 的三维结构,设计了 TgIMP1 的优势构象表位盒,并通过其高分辨率三维晶体结构对表位盒内所包含的优势抗原决定簇进行了验证,为构建多基因多价表位疫苗奠定理论基础。

### 【参考文献】

[1] Pan M, Lyu C, Zhao J, et al. Sixty years (1957-2017) of research on toxoplasmosis in China-An Overview[J]. Front Microbiol, 2017(8):1825.

- [2] Wang T, Han Y, Pan Z, et al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in blood donors in mainland China: a systematic review and meta-analysis[J]. Parasite, 2018(25): 36.
- [3] 全国人体重要寄生虫病现状调查办公室, 全国人体重要寄生虫病现状调查报告[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2005(S1): 332-340.
- [4] Cong W, Dong XY, Meng QF, et al. *Toxoplasma gondii* infection in pregnant women: a seroprevalence and case-control study in eastern China[J]. Biomed Res Int, 2015(2015): 170278.
- [5] Dong H, Su R, Lu Y, et al. Prevalence, risk factors, and genotypes of *Toxoplasma gondii* in food animals and humans (2000-2017) From China[J]. Front Microbiol, 2018(9): 2108.
- [6] Tyebji S, Seizova S, Hannan AJ, et al. Toxoplasmosis: a pathway to neuropsychiatric disorders [J]. NeurosciBiobehav Rev, 2019(96): 72-92.
- [7] Dhaliwal S, Hoffmann S, White A, et al. cost of hospitalizations for leading foodborne pathogens in the united states: identification by international classification of disease coding and variation by pathogen[J]. Foodborne Pathog Dis, 2021, 18(11): 812-821.
- [8] Hartati S, Kusumawati A, Wuryastuti H, et al. Primary structure of mature SAG1 gene of an Indonesian *Toxoplasma gondii* and comparison with other strains[J]. J Vet Sci, 2006, 7(3): 263-270.
- [9] Dodangeh S, Daryani A, Sharif M, 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.
- [10] Gatkowska J, Dzitko K, Ferra BT, et al. The Immunogenic and immunoprotective activities of recombinant chimeric *T. gondii* proteins containing AMA1 antigen fragments[J]. Vaccines (Basel), 2020, 8(4): 724.
- [11] Foroutan M, Ghaffarifar F, Sharifi Z, et al. Rhoptry antigens as *Toxoplasma gondii* vaccine target [J]. Clin Exp Vaccine Res, 2019, 8(1): 4-26.
- [12] Rezaei F, Sarvi S, Sharif M, et al. A systematic review of *Toxoplasma gondii* antigens to find the best vaccine candidates for immunization [J]. Microb Pathog, 2019(126): 172-184.
- [13] Blake DP, Billington KJ, Copestake SL, et al. Genetic mapping identifies novel highly protective antigens for an apicomplexan parasite [J]. PLoS Pathogens, 2011, 7(2): e1001279.
- [14] Cui X, Lei T, Yang D, et al. *Toxoplasma gondii* immunemapped protein-1 (TgIMP1) is a novel vaccine candidate against toxoplasmosis [J]. Vaccine, 2012, 30(13): 2282-2287.
- [15] Cui X, Lei T, Yang DY, et al. Identification and characterization of a novel *Neosporacanium* immune mapped protein 1 [J]. Parasitology, 2012, 139(8): 998-1004.
- [16] Bai Y, He SY, Zhao G, et al. *Toxoplasma gondii*: bioinformatics analysis, cloning and expression of a novel protein TgIMP1 [J]. Exp Parasitol, 2012, 132(4): 458-464.
- [17] Yin G, Qin M, Liu X, et al. An *Eimeria* vaccine candidate based on *Eimeria tenella* immune mapped protein 1 and the TLR-5 agonist *Salmonella typhimurium* FliC flagellin [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2013, 440(3): 437-442.
- [18] Yin G, Lin Q, Qiu J, et al. Immunogenicity and protective efficacy of an *Eimeria* vaccine candidate based on *Eimeria tenella* immunemapped protein 1 and chicken CD40 ligand [J], 2015, 210(1-2): 19-24.
- [19] Yin G, Lin Q, Wei W, et al. Protective immunity against *Eimeria tenella* infection in chickens induced by immunization with recombinant C-terminal derivative of EtIMP1 [J]. Vet Immunol Immunopathol, 2014, 162(3-4): 117-121.
- [20] Jia Y, Benjamin S, Liu Q, et al. *Toxoplasma gondii* immune mapped protein 1 is anchored to the inner leaflet of the plasma membrane and adopts a novel protein fold [J]. Biochim Biophys Acta Proteins Proteom, 2017, 1865(2): 208-219.
- [21] Li ZY, Guo HT, Tan J, et al. Devitalization of the immune mapped protein 1 undermines the intracellular proliferation of *Toxoplasma gondii* [J]. Exp Parasitol, 2020(211): 107843.
- 【收稿日期】 2022-03-25 【修回日期】 2022-06-10

(上接 886 页)

- [12] Ma HY, Lu CY, Tsao KC, et al. Association of EV71 3C polymorphisms with clinical severity [J]. J Microbiol Immunol Infect, 2018, 51(5): 608-613.
- [13] Meng T, Kwang J. Attenuation of human enterovirus 71 high-replication-fidelity variants in AG129 mice [J]. J Virol, 2014, 88(10): 5803-5815.
- [14] Woodman A, Lee KM, Janissen R, et al. Predicting intraserotypic recombination in enterovirus 71 [J]. J Virol, 2019, 93(4): e02057-18.
- [15] Yoke-Fun C, AbuBakar S. Phylogenetic evidence for inter-typic recombination in the emergence of human enterovirus 71 sub-genotypes [J]. BMC Microbiol, 2006(6): 74.
- [16] Noisumdaeng P, Sangsiriwut K, Prasertsopon J, et al. Complete genome analysis demonstrates multiple introductions of enterovirus 71 and coxsackievirus A16 recombinant strains into Thailand during the past decade [J]. Emerg Microbes Infect, 2018, 7(1): 214.
- [17] Zhou J, Shi Y, Miao L, et al. Molecular epidemiology and recombination of enterovirus A71 in mainland China from 1987 to 2017 [J]. Int Microbiol, 2021, 2(19): 1-9.
- [18] Dan X, Wan Q, Yi L, et al. Hsp27 responds to and facilitates enterovirus A71 replication by enhancing viral internal ribosome entry site-mediated translation [J]. J Virol, 2019, 93(9): e02322.
- [19] Rasti M, Khanbabaei H, Teimoori A. An update on enterovirus 71 infection and interferon type I response [J]. Rev Med Virol, 2019, 29(1): e2016.
- [20] Ren L, Yang D, Ren X, et al. Genotyping of human rhinovirus in adult patients with acute respiratory infections identified predominant infections of genotype A21 [J]. Sci Rep, 2017(7): 41601.
- [21] Yee PTI, Mohamed RAH, Ong SK, et al. Characterization of significant molecular determinants of virulence of enterovirus 71 sub-genotype B4 in Rhabdomyosarcoma cells [J]. Virus Res, 2017(238): 243-252.
- [22] 刘永娟, 周井义, 赵绍林, 等. 肠道病毒 71 型衣壳蛋白 VP1 研究进展 [J]. 中华实用儿科临床杂志, 2018, 33(22): 1755-1758.
- 【收稿日期】 2021-05-15 【修回日期】 2022-07-16