



中国农业科学院

CHINESE ACADEMY OF AGRICULTURAL SCIENCES

通过反向疫苗学方法筛选大口黑鲈病毒 抗原表位

汇报人： G02A 夏冬梅

小组成员： G02B 王霖

G02 C 刘建涵

G02D张洲颖

目录

- 一. 背景
- 二. 潜在抗原序列筛选
- 三. 线性表位预测
- 四. 不连续抗原预测
- 五. 下一步计划

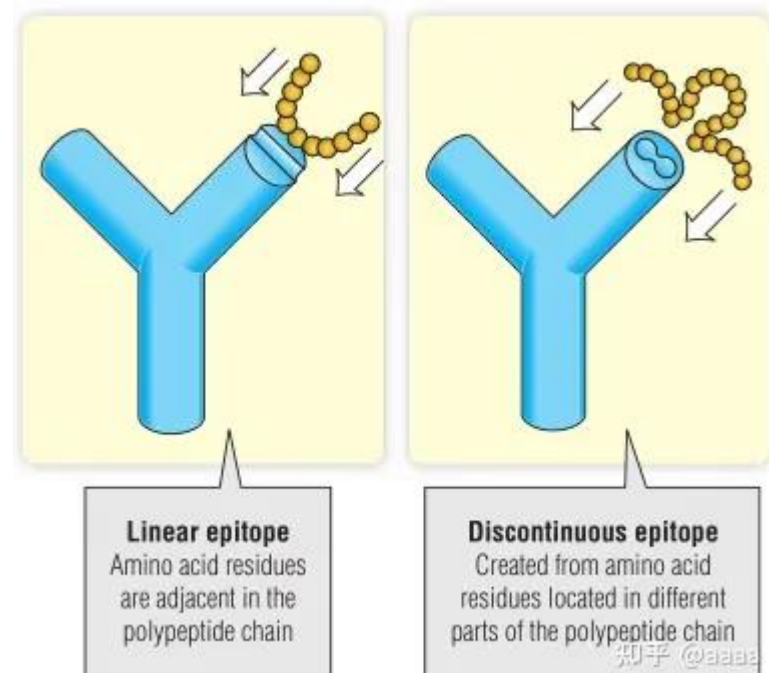
一.背景

1. 抗原表位

- 抗原表位：又称“抗原决定簇”，是决定抗原分子特异性的特殊化学基团。
- 筛选原则：排除胞内区、跨膜区、蛋白三维空间结构内部等不易触及区域和拥有较大空间位阻的翻译后修饰位点。

- ① 尽可能是在蛋白表面
- ② 保证该段序列不形成 α -helix
- ③ N,C端的肽段比中间的肽段更好
- ④ 避免蛋白内部重复或接近重复段的序列
- ⑤ 避免同源性太强的肽段

.....



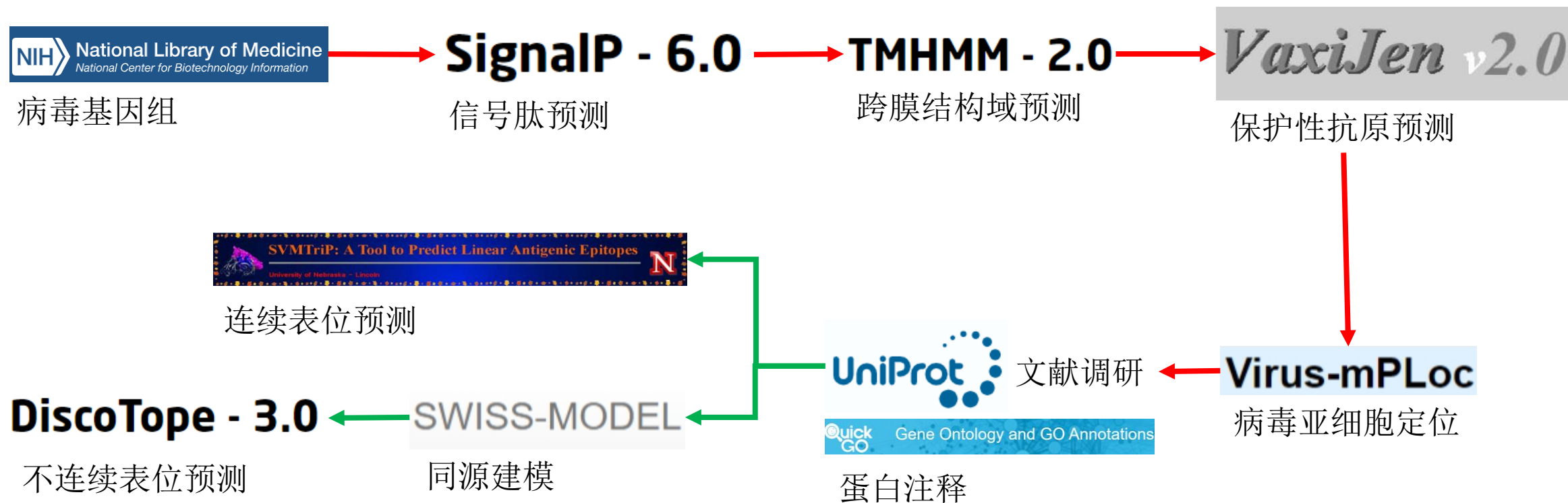
2. 连续表位和不连续表位

- **表达载体**: 原核生物表达载体无法对蛋白质进行三级结构折叠, 真核生物如酵母也仅有一些糖基化修饰等简单的蛋白修饰, 是否可形成三级结构, 并没有进行晶体结构测定, 且疫苗多为亚单位疫苗即蛋白质, 故现有疫苗常用线性表位制备疫苗。
- **核酸疫苗**: 利用宿主系统表达含有不连续表位的序列。
- **连续表位**: ABCpred、BepiPred、COBEpro、iBCE-EL和SVMTriP可用。SVMTriP利用SVM将三肽相似度和倾向得分相结合进行预测, 80.1%的灵敏度和 55.2% 精密度。
- **不连续表位**: CEP、DiscoTope、PEPITO、ElliPro、EPITOPIA、PEASE、EpiPred、SEPIa、EPCES和 EPSVR。EPCES灵敏度47.8%、特异性69.5%和AUC值0.632。

3. 抗原表位筛选的必要性

- 亚单位疫苗：蛋白表达----蛋白纯化----蛋白晶体测定----动物实验，工作繁琐，周期长。
- 核酸疫苗：一个序列，一个动物实验，周期长。

4. 方法和思路



5. 大口黑鲈病毒基因组

- **Scientific name:** Largemouth bass virus
- **Other names:** LMBV; Largemouth bass iridovirus; Largemouth bass ranavirus
- **Lineage:** 虹彩病毒科 > 蛙病毒属 (跨物种感染全球变温动物)

Assembly	GenBank	Scientific name	Submitter	国家	size(M)	level	release date	protein	source
<u>LMBV-FS001</u>	GCA_029269695.1	<u>Largemouth bass virus</u>	Northwest A&F University	中国	0.1005	Complete Genome	2023-03-13	104	NCBI
<u>Alleghany 12-343</u>	GCA_013122635.1	Largemouth bass virus	Wayne State University	美国	0.09983	Complete Genome	2020-04-27		
<u>ASM2472324v1</u>	GCA_024723245.1	Largemouth bass virus	Guangdong Ocean University	中国	0.09932	Complete Genome	2022-08-15	86	uniprot
<u>Pine 14-204</u>	GCA_013122655.1	Largemouth bass virus	Wayne State University	美国	0.09929	Complete Genome	2020-04-27		
<u>ASM2643222v1</u>	GCA_026432225.1	Largemouth bass virus	Sichuan Agricultural University	中国	0.001365	Complete Genome	2022-11-22		

二、潜在抗原序列筛选

2.1 删除有信号肽的蛋白序列

- SignalIP 6.0, [SignalP 6.0 - DTU Health Tech - Bioinformatic Services](#)。
- 9个序列有信号肽，剩余95条序列。

2.2 删除有 α 螺旋的蛋白序列

- TMHMM-2.0, [TMHMM 2.0 - DTU Health Tech - Bioinformatic Services](#)。
- 13条有1-2个跨膜区，删除含有 α 螺旋，剩余82条序列。

二、潜在抗原序列筛选

2.3 潜在抗原性预测

- VaxiJen v2.0, [VaxiJen \(ddg-pharmfac.net\)](http://ddg-pharmfac.net)。
- Model selected: virus; Threshold for this model: 0.5
- 结果: 36条序列Probable ANTIGEN。

2.4 亚细胞定位

- Virus-mPLOC, [Virus-mPLOC server \(sjtu.edu.cn\)](http://sjtu.edu.cn) 。
- 结果: 1条衣壳蛋白, 其余定位在宿主细胞膜、胞浆等位置, 可能与病毒的复制、装配、释放、调节有关。

二、潜在抗原序列筛选

2.5 蛋白注释

- Uniprot、GO annotation、文献调研。UniProt；QuickGO (ebi.ac.uk)
- 基本都是未表征蛋白，通过相似蛋白（95%以上）或同一家族蛋白信息进行分析，**结果表明，36条蛋白**序列涉及能量、代谢、复制等病毒生命活动，基本都和疾病相关。

三、连续表位预测

SVMTriP, [SVMTriP: a tool to predict linear antigenic epitopes \(unl.edu\)](#)。

- 28条蛋白序列有1个以上的推荐抗原表位。

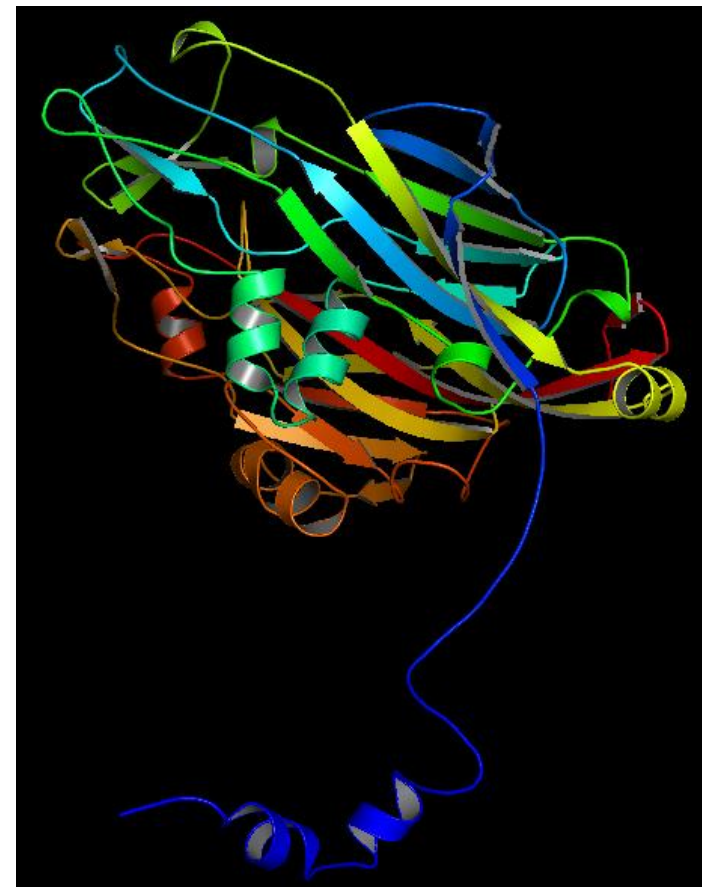
四、不连续表位预测

4.1 同源模建

- Swiss-model。
- 以主要衣壳蛋白（WEI29025.1）为例，模板是Singapore grouper iridovirus capsid，选择model 4。

Model #04	File	Built with	Oligo-State	Ligands	GMQE	QMEANDisCo Global
	PDB	ProMod3 3.4.0	monomer	None	0.84	0.76 ± 0.05

Template	Seq Identity	Oligo-state	QSQE	Found by	Method	Resolution	Seq Similarity	Range	Coverage	Description
8hif.2.A	73.65	monomer	0.00	BLAST	EM	-	0.53	5 - 463	1.00	Major capsid protein



四、不连续表位预测

4.不连续表位预测

- 表位基本位于蛋白不规则表面。



五、下一步计划

分子对接：模型评价。

湿实验：验证抗原表位免疫原性。

Thanks for your attentions!