DOI:10.16016/j.1000-5404.2004.02.007
第26卷第2期 第三军医大学学报 Vol. 26, No. 2
2004年1月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Jan. 2004

文章编号:1000-5404(2004)02-0101-03

论著

SARS病毒S蛋白的B细胞表位预测

吕燕波,万 瑛,吴玉章 (第三军医大学基础医学部全军免疫学研究所,重庆 400038)

提 要:目的 预测SARS病毒S蛋白的B细胞表位。方法 基于SARS蛋白基因组序列,采用Kyte-Doolittle的亲水性方案,Emini方案和Jameson-Wolf抗原指数方案,辅以对S蛋白的二级结构中的柔性区域的分析,预测SARS病毒S蛋白的B细胞表位。结果 推测最有可能的B细胞表位位于S蛋白N端第91~98区段、第1 121~1 153区段和第185~193区段内或它们的附近。其它,如S蛋白N端第1 050~1 059、752~765、41~50、666~674、264~287、340~348、408~416区段和第424~439区段内或附近也可能存在B细胞表位。结论 用多参数预测SARS病毒S蛋白的B细胞表位,为分子免疫学的深入研究提供线索。

关键词:SARS病毒;S蛋白;B细胞表位
中图法分类号:R373.1;R392.11 文献标识码:A

Prediction of the B cell epitope for the S protein of SARS coronavirus

LU Yan-bo, WAN Ying, WU Yu-zhang (Institute of Immunology, College of Medicine, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To predict the B cell epitopes for S protein of severe acute respiratory syndrome (SARS) coronavirus. Methods Based on SARS coronavirus genome sequence and the analysis of the flexible regions of secondary structure for S protein, the B cell epitopes for S protein were predicted by methods of Kyte-Doolittle hydrophilicity plot, Emini, and Jameson-Wolf. Results The computer-predicted most possible epitopes for S protein were located within or nearby its N-terminal No. 91—98, 1121—1153 and 185—193. The N-terminal No. 1050—1059, 752—765, 41—50, 666—674, 264—287, 340—348, 408—416, and 424—439 may be the possible B-cell epitopes. Conclusion Prediction of the B cell epitopes for the S protein based on multiple parameters is helpful for the identification of B cell epitopes using experimental methods.

Key words: SARS coronavirus; S protein; B cell epitope

SARS(severe acute respiratory syndrome)是一种新的急性呼吸道传染性疾病。SARS冠状病毒(SARS coronavirus)被确认为SARS的主要病原体[1]。S蛋白是冠状病毒的一个结构蛋白,与冠状病毒侵入细胞的过程密切相关,是冠状病毒主要的抗原蛋白,能诱导细胞免疫和体液免疫[2,3]。至2003年5月9日,共获得SARS病毒14个分离株的全基因序列。从已测序的SARS病毒的基因序列来看,SARS病毒和已知的其它病毒的同源性只有40%~60%。但从基因组结构来看,SARS病毒和其它已知的冠状病毒大体上是相似的[4~6]。这为应用生物信息学技术,进行分子免疫学的研究提供了依据。

通过SARS病毒与其它已知的冠状病毒基因组的序列比对,发现一个和其它冠状病毒的S蛋白同源的CDS,很可能就是SARS病毒的S蛋白的CDS。在对SARS病毒14个分离株的S蛋白的氨基酸序列比对后,结果显示,这些氨基酸序列较保守,变异不大,这说明可以从其中1株为基础进行抗原表位预测和疫苗设计。于是我们以SARS病毒Urbani株基因组序列为基础,分析和预测S蛋白的二级结构和B细胞表位,为研究针对SARS冠状病毒的免疫预防和免疫治疗措施提供线索。

1 材料与方法

1.1 SARS病毒(Urbani)S蛋白氨基酸序列

SARS病毒Urbani株基因组序列推测的S蛋白的氨基酸序列检索自GenBank,共有1255个氨基酸残基,序列编号为AAP13441。

1.2 S蛋白二级结构柔性区域预测

采用Garnier-Robson方法,Chou-Fasman方法和Karplus-Schulz方法预测蛋白质的二级结构中的柔性区域,各残基Pα,Pβ,PT,PC等参数意义见文献[7~9]。

1.3 S蛋白的B细胞表位预测

以7个氨基酸残基为一组的方案,按Kyte-Doolittle的氨基

作者简介:吕燕波(1975—),女,云南省保山市人,博士研究生,主要从事抗原表位分析方面的研究。电话:(023)68752234-807
通信作者:吴玉章,电话:(023)68752680;E-mail:wuyuzhang@yahoo.com.cn
收稿日期:2003-06-15;修回日期:2003-12-09

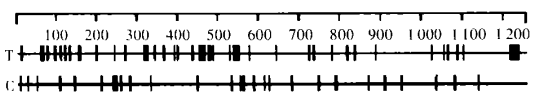
?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

酸亲水性标准，预测其亲水性；按 Emini 方案预测蛋白质的表面可能性；以及按 Jameson-Wolf 方案预测抗原性指数。各方案参数的意义见文献[10～12]。

2 结果

2.1 SARS 病毒 S 蛋白预测的二级结构柔性区域

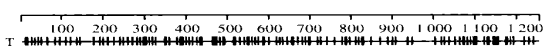
按 Garnier-Robson 方法预测结果见图 1。按 Chou-Fasman 方法预测结果见图 2。按 Karplus-Schulz 方法预测结果见图 3。被三种方法同时预测为柔性结构的区域很可能就是 S 蛋白的二级结构柔性区域。综合分析图 1，图 2 和图 3，S 蛋白的二级结构柔性区域位于 N 端第 11～15，49～51，95～96，105～112，119～122，134～135，143～146，190～192，198～203，210～213，239～242，247～248，258～260，267～271，279～282，297～299，310～311，318～320，345～346，391～393，399～401，413～414，425～426，434～436，461～468，488～490，528～532，587～592，616～618，643～646，668～671，690～693，727～729，758～760，819～820，824～826，871～874，1027～1028，1051～1053，1067～1068，1081～1084，1089～1091 区段和第 1143～1146 区段。



T：Turn regions；C：Coil regions

图 1 按 Garnier-Robson 方法预测的 S 蛋白二级结构柔性区域

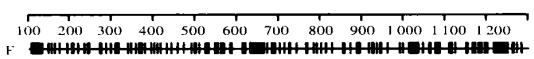
Fig 1 Flexible regions of S protein predicted by Garnier-Robson method



T：Turn regions

图 2 按 Chou-Fasman 方法预测的 S 蛋白二级结构柔性区域

Fig 2 Flexible regions of S protein predicted by Chou-Fasman method



F：Flexible regions

图 3 S 蛋白的柔性区域

Fig 3 Flexible regions for S protein

2.2 S 蛋白的 B 细胞表位预测结果

按 Kyte-Doolittle 的氨基酸亲水性标准分析 SARS 病毒 S 蛋白分子的亲水性区域，预测结果见图 4。按 Emini 方案预测 S 蛋白氨基酸残基位于蛋白质的表面可能性，预测结果见图 5。以及按 Jameson-Wolf 方案预测 S 蛋白序列中抗原指数较高的区段，预测结果见图 6。

经抗原指数，亲水性指数和蛋白质表面可能性指数筛选出的氨基酸区段中(抗原指数≥0，亲水性指数≥0，以及氨基酸的表面可能性指数≥1)，如果其内部或附近又具有柔性结构，则较有可能是 B 细胞表位。综合分析以上预测结果，S 蛋白较有可能为 B 细胞表位的区段位于 N 端第 41～50，91～98，105～113，141～147，185～193，199～205，264～287，340～348，387～401，408～416，424～439，460～468，587～594，666～674，752～765，1 050～1 059，1 064～1 075 区段和第 1 121～1 153 区段。

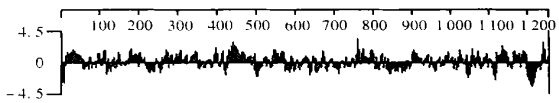


图 4 S 蛋白的亲水性分析

Fig 4 Hydrophilicity plot for S protein

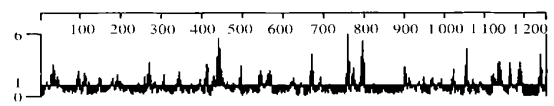


图 5 S 蛋白的表面可能性区域

Fig 5 Surface probability plot for S protein

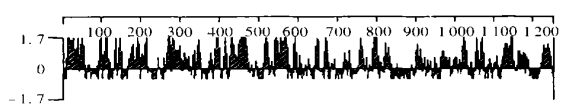


图 6 S 蛋白的抗原指数

Fig 6 Antigenicity index for the S protein

吴玉章等[13]根据 30 种病毒蛋白质 98 个 B 细胞表位共 944 个氨基酸残基各自所占的比例，与 314 种普通蛋白质中各氨基酸所占的比例进行比较分析，由二者之比取对数值建立了各氨基酸之抗原性指数(Antigenicity Index，AI)。用该方法计算 S 蛋白较有可能为 B 细胞表位的区段的平均抗原指数，结果见表 1。从表 1 可见，SARS 病毒 S 蛋白 N 端第 91～98 区段、第1 121～1 153区段和第 185～193 区段的抗原性指数最高，提示它们是 B 细胞表位的优势区段。

表 1 SARS 病毒 S 蛋白的 B 细胞表位优势区域的平均抗原性指数(AI)

Tab 1 The average antigenicity index (AI) of dominant regions of B-cell epitopes for S protein

Dominant regions of B-cell epitopes	Amino acid sequence	AI
41－50	YYPDEIFRSD	0.013 3
91－98	ATEKSNVV	0.026 9
105－113	STMNNKSQS	－0.016 2
141－147	SKPMGTQ	－0.045 4
185－193	FVFKNKDGF	0.026 1
199－205	GYQPIDV	－0.035 4
264－287	LKYDENGTITDAVDCSQNPLAELK	0.010 6
340－348	WERKKISNC	0.008 8
387－401	FVVKGDDVRQIAPGQ	－0.022 4
408－416	YNYKLPDDF	0.007 3
424－439	NTRNIDATSTGNYNYK	0.003 6
460－468	FSPDGKPCT	－0.008 3
587－594	GTNASSEV	－0.003 8
666－674	LRSTSQKSI	0.012 8
752－765	IAAEQDRNTREVFA	0.019 9
1 050－1 059	VPSQERNFTT	0.024 8
1 064－1 075	CHEGKAYFPREG	－0.008 8
1 121－1 153	DPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLGDISG	0.026 5

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

3　讨论

正确而详细地绘制蛋白质表位图谱对 SARS 的诊断及预后判定, 疫苗分子设计及免疫干预治疗等至关重要。根据 B 细胞表位的特征, 先预测抗原表位, 再合成肽段以实验工作确认, 是一种省时, 省力和经济的方法[14, 15]。

本研究联合使用 Kyte-Doolittle 的亲水性方案, Emini 的蛋白质表面可能性方案 mJameson-Wolf 的抗原指数方案和吴玉章抗原性指数预测法, 辅以 Garnier-Robson 方法, Chou-Fasman 方法和 Karplus-Schulz 方法, 预测 SARS 病毒 S 蛋白的 B 细胞表位。推测最有可能的 B 细胞表位位于 S 蛋白 N 端第 91 ~ 98 区段、第 1 121 ~ 1 153 区段和第 185 ~ 193 区段内或它们的附近。上述 3 个区域仅仅是 S 蛋白中 B 细胞表位优势区段, 而并不包括所有的抗原表位。我们推测在其它区域, 如 S 蛋白 N 端第 1 050 ~ 1 059, 752 ~ 765, 41 ~ 50, 666 ~ 674, 264 ~ 287, 340 ~ 348, 408 ~ 416 区段和第 424 ~ 439 区段也可能存在 B 细胞表位。

本研究仅是对 SARS 冠状病毒 S 蛋白的候选表位进行初步筛选, 但最终应用效果必须用实验结果来确认。

参考文献:

[1] Drosten C, Günther S, Preiser W, *et al*. Identification of a novel coronavirus in patients with serere acute respiratory syndrome[J]. N Engl J Med, 2003, 348(20): 1967－1976.

[2] Bergmann C C, Yao Q, Lin M, *et al*. The JHM strain of mouse hepatitis virus induces a spike protein-specific Db-restricted cytotoxic T cell response [J]. J Gen Virol. 1996, 77(Pt 2): 315－325.

[3] Collins A R, Knobler R L, Powell H, *et al*. Monoclonal antibodies to murine hepatitis virus-4 (strain JHM) define the viral glycoprotein responsible for attachment and cell-cell fusion[J]. Virology, 1982, 119(2): 358－371.

[4] Rota P A, Oberste M S, Monroe S S, *et al*. Characterization of a novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome[J]. Science, 2003, 300(5624): 1377－1378.

[5] Marra M A, Jones S J M, Astell C R, *et al*. The genome sequence of the SARS-associated coronavirus[J]. Science, 2003, 300(5624): 1399－1404.

[6] Ruan Y J, Wei C L, and Ee L A, *et al*. Comparative full-length genome sequence analysis of 14 SARS coronavirus isolates and common mutations associated with putative origins of infection[J]. Lancet, 2003, 361(9371): 1779－1785.

[7] Chou P Y. Prediction of Protein Structure and the Principles of Protein Conformatio[M]. New York: Plenum Press, 1990. 549－586.

[8] Garnier J, Osguthorpe D J, Robson. B. Analysis of the accuracy and implications of simple method for predicting the secondary structure of globular proteins[J]. J Mol Biol, 1978, 120(1): 97－120.

[9] Karplus P A, Schultz G E. Prediction of chain flexibility in proteins[J]. Naturwissenschaften, 1985, 72: 212－213.

[10] Kyte J, Doolittle R F. A simple method for displaying the hydropathic character of a protein[J]. J Mol Biol, 1982, 157(1): 105－132.

[11] Emini E A, Hughes J V, Perlow D S, *et al*. Induction of hepatitis a virus-neutralizing antibody by a virus-specific synthetic peptide[J]. J Virol, 1985, 55(3): 836－839.

[12] Jameson B A, Wolf H. The antigenic index: a novel algorithm for predicting antigenic determinants[J]. Comput Appl Biosci, 1988, 4(1): 181－186.

[13] 吴玉章, 朱锡华. 一种病毒蛋白 B 细胞表位预测方法的建立[J]. 科学通报, 1994, 39(24): 2275－2279.

[14] 吴玉章. 免疫识别、分子设计与抗原过程[J]. 第三军医大学学报, 2000, 22(10): 917－918.

[15] 吴玉章, 刘茂昌, 贾正才, 等. HBV 新型免疫原的设计、合成及免疫原性研究[J]. 第三军医大学学报, 2000, 22(10): 919－923.

(编辑　薛国文)

(上接 100 页)

度的保留正常结构是手术的原则, 术前仔细分析 CT 片, 精确判定病变部位及周围结构, 确定手术入路及方法, 有利于保证手术顺利进行, 肿瘤越过中线约 1.5 cm, 采用头皮冠状入路, 双额部开瓣, 切口隐蔽, 术后面部无切口瘢痕, 术野大, 显露清楚, 直视下操作, 彻底切除肿瘤, 并行视神经减压, 硬脑膜修补及颅底重建。显露肿瘤前, 应先切开侧面硬脑膜, 放出脑脊液减压, 利于抬起额叶时减轻脑组织损伤[2]; 骨瘤为良性肿瘤, 来源于颅骨, 与周围正常颅骨间有基底部相连, 应设法找到后游离肿瘤, 不可强行撕拽而损伤视神经及血管; 切除肿瘤后极时, 应注意保护视神经及血管, 我们认为, 如果肿瘤未侵犯视神经管, 不必打开视神经管减压, 如果肿瘤已经侵犯视神经管, 特别是术前未失明者, 应小心分块切除视神经管减压, 有利于术后视力的保护及视力的恢复, 本例术前视力: 左眼 0.04, 右眼 1.0, 术后视力: 左眼 0.1, 右眼 1.0, 眼球活动良好, 无搏动; 有效的硬脑膜修补是防止术后脑脊液漏及逆行性颅内感染的重要措施[3,4], 本例术中严密修补硬脑膜, 用 EC 胶明胶海绵粘贴缝合后的硬脑膜, 取备用骨膜颞肌瓣粘填于蝶窦、筛窦内, 并覆盖双侧额窦及整个眶顶, 悬吊硬脑膜于骨缘, 并用仿生颅骨塑型重建前颅底、左侧眉弓, 防止了术后脑膨出及搏动性眼部不适, 同时达到医学美容, 满足了患者的心理需要。

关键词: 巨大骨瘤
中图法分类号: R738.1　　文献标识码: B

参考文献:

[1] 夏　寅, 王天铎. 前颅底肿瘤手术入路 23 例报告[J]. 癌症, 2000, 19(9): 951－952.

[2] Raveh J, Turk J B, Ladrach K, *et al*. Extended anterior subcranial approach for skull base tumors: long-term results[J]. J Neurosurg, 1995, 82(6): 1002－1010.

[3] 胡守兴, 陈　兵, 阳楚雄, 等. 前额部带蒂帽状腱膜骨膜瓣在前颅底外科中的应用及评价[J]. 中国耳鼻喉科颅底外科杂志, 1997, 3(4): 221－224.

[4] 赵素萍, 肖健云, 刘志雄. 改良经颅径路行前颅底肿瘤切除[J]. 中国耳鼻喉科颅底外科杂志, 2001, 12(4): 2001－2003.

(编辑　栾　嘉)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net