**审稿意见与作者修改说明（稿号：2020-0109）**

——————————————**初审专家意见与作者修改说明**—————————————

专家意见一：

1. 文章引言太长，应精练、压缩，突出与本文研究相关重点。

回复：您好，非常感谢您提出的意见。现已将引文进行删减，修改为：

鼻疽诺卡菌是一种在环境中广泛存在的需氧的革兰阳性、弱抗酸阳性菌，是一种条件致病菌，可以引起严重的肺部、脑部疾病，有时甚至引起危及生命的播散性感染，累及多个器官[1-4]。鼻疽诺卡菌是临床上最常见的诺卡菌属细菌之一，由于它的毒性更强易导致疾病的播散以及对治疗药物的耐药性增加[5-7]，因此误诊漏诊以及错误治疗会造成患者的严重损害甚至死亡，所以其早期诊断和早期治疗对于降低死亡率或改善预后至关重要[4, 8]。

诺卡菌感染的诊断主要依靠分离和培养，但其分离培养费时费力易耽误治疗。研究表明，诺卡菌能够引起强烈的血清反应，这提示间接免疫荧光和免疫印迹等血清学检测可能对诺卡菌病的诊断评价和临床监测有价值[9]。但诺卡菌病患者血清与结核分枝杆菌病人血清之间存在交叉反应，增加鉴别诊断的难度，因此寻找特异性的抗原具有重要的意义。在我们课题组的研究中，发现鼻疽诺卡菌的细胞壁中存在一种蛋白即Nfa34810蛋白，它能够促进鼻疽诺卡菌对哺乳动物细胞的侵袭，能够引起抗体反应，并且Nfa34810蛋白只能被鼻疽诺卡菌动物抗血清识别，而不能被具有相似氨基酸序列的巴西诺卡菌和盖尔森基兴诺卡菌的动物抗血清识别，具有一定的特异性，具有潜在的临床诊断应用价值[10]。同时使用合成肽进行临床诊断分析被认为比使用重组或天然蛋白抗原的诊断方法更有优势[11]。因此本次研究中，我们从制备Nfa34810蛋白的单克隆抗体入手，并使用肽扫描法对Nfa34810蛋白的B细胞抗原表位进行筛选鉴定。

2. 材料与方法的1.2方法内容太长，是否可以将截短的结果归类到2结果中。避免文章头重脚轻。

回复：您好，十分感谢您的意见。现已删除方法中对截短的过多描述，将截短结果归到结果2.5中。

3. 单克隆编号是否可以与Nfa34810蛋白和P2相对应避免混乱；P2-g的分段是否可以P2g-X表示，容易理解。

回复：您好，十分感谢您的意见。单克隆编号现已对应，更改为：最终筛选出5株针对Nfa34810完整蛋白的杂交瘤细胞株命名为1G7、2F5、4B12、5B1、6D9和4株针对P2截短蛋白的杂交瘤细胞株命名为1号、6号、7-1号、7-2号。

P2-g的分段全部改为以P2g-X表示。

4. 讨论部分的第3自然段删除“而在P2-g-6（369-405aa）和……，造成了假阳性。”或移至最后自然段，并说明本研究主要针对蛋白的一级结构，蛋白的二级结构是否对实验室结果有影响，还需要进一步研究。

回复：您好，十分感谢您的意见。现已将此部分删除。

专家二意见：

论文对鼻疽诺卡菌IFM10152菌株的Nfa34810蛋白抗原表位进行了筛选与鉴定，结果获得了Nfa34810蛋白的单克隆抗体，并定位了其抗原表位。该研究对鼻疽诺卡菌的血清学诊断具有一定参考意义。

1、 论文的研究背景中提及，巴西诺卡菌和盖尔森基兴诺卡菌的基因组中包括一个与鼻疽诺卡菌nfa34810基因高度相似的基因，但Nfa34810仅被鼻疽诺卡菌的动物抗血清识别，而不能被巴西诺卡菌和盖尔森基兴诺卡菌的动物抗血清识别，因此，本研究鉴定的抗原表位对另外2种诺卡菌的相应蛋白是否是特异的？甚至通过现有序列数据库的比对，对其他细菌也是特异性的？另一方面，nfa34810基因在鼻疽诺卡菌其他菌株的保守情况？

回复：您好，十分感谢您的意见。通过氨基酸序列比对，发现巴西诺卡菌和盖尔森基兴诺卡菌含有与Nfa34810蛋白相似的序列，序列一致性在70%左右，而该两种细菌的抗血清不能识别Nfa34810蛋白；通过氨基酸序列比对发现筛选到的表位378DYNKVGFDCSGLMVYAFAGIGVSLPHYS405和369DGGVADSYGDYNKVGFDCSGLMVYAFAGIGVSLPHYS405与巴西诺卡菌和盖尔森基兴诺卡菌等其他诺卡菌具有较高的一致性，而与其他种属细菌无交叉，表明该抗原表位在诺卡菌中具有一定的特异性，而巴西诺卡菌和盖尔森基兴诺卡菌的动物抗血清是否能够识别此抗原表位还尚未验证。

目前鼻疽诺卡菌基因组信息较少，无法准确判断nfa34810基因的保守性，通过NCBI对nfa34810基因进行BLAST，发现已公布的两株鼻疽诺卡菌的对应基因的序列，与nfa34810的序列一致性达99.3%。

2、 论文篇幅冗长，可通过几方面进行精简：部分常规实验方法如单克隆抗体制备、Western blot等方法的描述可以删减，引用相应的文献或技术手册；在给出nfa34810基因序列号及图1各氨基酸片段的位置信息后，可以删除表1；图2不含更多信息，可以删除；讨论部分的最后3段，涉及过多的结果性重复描述，可精简。

回复：您好，十分感谢您的意见。常规实验方法现已做出一定删改；原表1和图2已做删除处理；讨论也做出删改精简。

3、 部分用词不规范：如弗式不完全佐剂应为弗氏不完全佐剂；蛋白分子量KD和kDa在本文中均有混用。

回复：您好，十分感谢您的意见。现已将弗式不完全佐剂改为弗氏不完全佐剂；文中KD和kDa混用现已全部改为kDa。

——————————————**复审专家意见与作者修改说明**—————————————

专家意见：

1. 请认真阅读修改，避免口语化，规范书写。

回复：已认真阅读并进行修改。