مقاله پژوهشی

تعیین ویژگی های فیزیکوشیمیایی ناحیه Fc ایمونوگلوبولین G انسان به روش بیوانفورماتیک

نویسندگان:

سهیلا روهانی[1] ، فاطمه حاجی قاسمی[2*]

۱- پزشک،گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

۲-دانشیار، گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

Pars Journal of Medical Sciences, Vol.19, No.1, Spring 2021

چکیده:

مقدمه: ایمونوگلوبولین‌ها [immunoglobulins (Igs)] پاتوژن‌ها را به طور اختصاصی شناسایی و منهدم می‌کنند. ایمونوگلوبولین G (IgG) فراوانترین Ig سرم بوده و نقش مهمی در دفاع علیه عوامل عفونی دارد. بخش دارای قابلیت کریستالیزاسیون [(fragment of crystallizable (Fc)] مولکول IgG، نقش اساسی در حذف عوامل بیگانه بازی می کند. بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی Fc ملکول IgG، در شناسایی بهتر اعمال آن و اهداف تشخیصی و درمانی سودمند است. بیوانفورماتیک حوزه علمی کارامدی است که از حجم عظیم اطلاعات زیستی موجود در کامپیوتر برای حل مسائل زیستی استفاده می‌کند. هدف این پژوهش شناسایی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی ناحیه Fc ملکول IgG انسان با استفاده از بیوانفورماتیک بود.

روش کار: توالی و ساختار سوم IgG مرجع انسان در پایگاه داده PDB (Protein Data Bank)، ساختار دوم آن با نرم افزار Phyre2 (Protein Homology/analogY Recognition Engine V 2) و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی شامل انعطاف پذیری، دسترسی سطحی و آب دوستی بخش Fc ملکول IgG توسط مرورگر IEDB (Immune Epitope Database) تعیین شدند.

یافته‌ها: در بخش Fc ملکول IgG انسان، مناطق دارای بیشترین دسترسی سطحی، آب دوستی و انعطاف پذیری در توالی حد فاصل اسید آمینه‌های شماره۲۰۰-۴۵۰ واقع شده اند. به علاوه، نواحی مذکور در توالی بین اسید های آمینه شماره ۲۹۱–۳۰۰ و ۳۸۱–۴۰۰ هم پوشانی دارند که محتمل ترین مناطق قرارگیری اپی‌توپ‌ها هستند.

نتیجه‌گیری: ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی ناحیه Fc ملکولIgG انسان که در این مطالعه تعیین شدند، در شناسایی هرچه بهتر اعمال IgG و پیشگویی اپی‌توپ‌های ایمونوژن آن برای تولید آنتی بادی های منوکلونال اختصاصی و در نهایت تولید کیت‌های تشخیصی، بهینه سازی کیت‌های موجود و تولید پروتئین‌های مشابه برای تشخیص، درمان و همچنین مطالعات فیلوژنتیکی سودمند هستند.

واژگان کلیدی: IgG انسان، بیوانفورماتیک، فیزیکوشیمیایی

Pars J Med Sci 2021;19(1):34-43

مقدمه:

آنتی‌بادی‌ها [antibodies (Abs)] گلیکوپروتئین‌های سرم هستند که توسط لنفوسیت‌های B در طی پاسخ ایمنی تولید می‌شوند. این‌ها واسطه‌های اولیه ایمنی هومورال هستند و عوامل بیگانه را به طور اختصاصی شناسایی می‌کنند [۱]. Ab ها مولکول‌هایی با دو کارکرد مشخص شامل شناسایی مولکول بیگانه توسط ناحیه متغیر و انهدام آن به وسیله ناحیه ثابت هستند [۲]. ارتباط حیرت انگیزی بین ساختمان و عملکرد پروتئین‌ها وجود دارد [۳]. ساختار هر یک از نواحی متغیر و ثابت Ab ها به نحوی است که با عملکرد آن‌ها انطباق دارد [۴]. ایمونوگلوبولین G (IgG) فراوان ترین Ab سرم بوده و نقش مهمی در دفاع علیه عوامل عفونی بر عهده دارد [۵]. ساختمان فیزیکوشیمیایی IgG به شکلی است که با فعالیت‌های آن تناسب و هماهنگی مستقیم دارد [۶]. جزء دارای قابلیت کریستالیزه شدن مولکولIgG که ازناحیه ثابت زنجیره‌های

* نویسنده مسئول، نشانی: دانشیار، دکتری ،گروه ایمنی شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، بزرگراه خلیج فارس، رو به روی حرم مطهر امام خمینی (ره)، تهران، ایران، کد پستی: ۳۳۱۹۱۱۸۶۵۱، صندوق پستی: ۱۵۹/۱۸۱۵۵ .

تلفن تماس: ۵۱۲۱۲۶۵۳(۰۲۱) -۰۹۱۲۷۰۵۹۱۲۳ پست الکترونیک:fatimahajighasemi@gmail.com

دریافت: ۱۳۹۹/۰۹/۲۹ اصلاح: ۱۴۰۰/۰۱/۳۰ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۲/۱۵

سنگین تشکیل شده است، فعالیت های اجرایی مولکول که موجب انهدام و حذف عامل بیگانه می شود را عهده دار است [۲].

بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی IgG نه تنها در شناسایی هرچه بهتر اعمال این مولکول مفید خواهد بود، بلکه در پیش‌گویی اپی‌توپ‌های ایمونوژن IgG، طراحی و تولید پروتئین‌های مشابه برای اهداف تشخیصی و درمانی سودمند است [۸-۷].

بیوانفورماتیک حوزه علمی به نسبت جدید، کارامد، ارزان و مقرون به صرفه‌ای است که از حجم عظیم اطلاعات آزمایشگاهی-زیستی گردآوری شده در کامپیوترها به عنوان یک ابزار بسیار با ارزش در حل مسائل زیستی استفاده می‌کند [۱۰-۹]. این علم اطلاعات به دست آمده از پژوهش‌های تجربی جمع‌آوری شده در کامپیوتر را دسته‌بندی و با نرم‌افزارهای کامپیوتری خاص داده کاوی می‌کند [۱۱]. بیوانفورماتیک می‌تواند به فهم بهتر پاسخ‌های ایمنی و تشخیص سریع‌تر و دقیق تر بیماری‌ها کمک کند [۱۳-۱۲]. این شاخه از علم فرصت‌های بدیعی برای پژوهش‌های آینده در زمینه ایمونولوژی فراهم کرده و درکلیه زمینه‌های فرایندهای ایمنی‌شناسی و بیماری‌ها گسترش پیدا کرده است [۱۷-۱۴]. هدف مطالعه حاضر بهره‌گیری از دانش بیوانفورماتیک برای تجزیه و تحلیل داده‌های آزمایشگاهی در مورد ساختار جزء Fc مولکول gG انسان به منظور شناسایی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی آن از جمله آب دوستی، انعطاف‌پذیری و قابلیت دسترسی این مولکول در راستای تعیین ارتباط بین ساختار و عملکرد آن به منظور استفاده برای اهداف تشخیصی و درمانی است.

روش کار:

۱-تعیین توالی اسید آمینه ای تائید شده برای IgG انسان با استفاده از بانک اطلاعاتی NCBI

(National Center for Biotechnology Information) و PDB (Protein Data Bank)

به منظور جستجو و یافتن توالی اسید آمینه‌ای تائید شده برای ایمونوگلوبولین G انسان از بانک اطلاعاتی NCBI به آدرس اینترنتی www.ncbi.nlm.nih.gov و از پایگاه داده PDB (Protein Data Bank) در وبگاه http://www.rcsb.org/pdb/ home/home.do استفاده شد [۱۸]. در بانک‌های اطلاعاتی مذکور چهار توالی مرجع با کد شناسایی 1IGT برای ایمونوگلوبولین G وجود داشت که هریک مربوط به یک زنجیره از ساختار چهار زنجیره‌ای آن است. این توالی‌ها از طریق روش‌های آزمایشگاهی و به کمک روش کریستالوگرافی تعیین شده‌اند.

۲- تعیین ساختار دوم و سوم IgG انسان

در پایگاه داده PDB در آدرس اینترنتی http://www.rcsb.org /pdb/ home/home.do ساختار دوم و سوم ایمونوگلوبولین G انسان برای توالی اسید آمینه‌ای مرجع با کد دسترسی 1IGT در دسترس است. این ساختارها از طریق بررسی‌های کریستالوگرافیک و آزمایشگاهی تعیین شده‌اند. همچنین نرم افزار Phyre2 که در وب گاه http://www.sbg.bio.ic.ac.uk/phyre قابل دسترسی است نیز در تعیین ساختار دوم ایمونوگلوبولین G انسان مورد استفاده قرار گرفت [۱۹].

۳- تعیین خصوصیات فیزیکوشیمیایی ناحیه Fc ایمونوگلوبولین G انسان

ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی اسید آمینه‌های موجود در بخش Fc ایمونوگلوبولین G انسان توسط مرورگر IEDB (Immune Epitope Database) در آدرس اینترنتی http:// www.immuneepitope.org تعیین شدند [۲۰]. ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی مورد بررسی در این مطالعه شامل انعطاف‌پذیری، در دسترس بودن در سطح و آب دوستی می‌باشند که به صورت تحلیل‌های مجزا روی توالی مرجع انجام و نتایج حاصل ثبت شدند.

یافته‌ها:

۱- توالی اسید آمینه‌ای نواحی Fab و Fc مولکول IgG انسان

توالی اسید آمینه‌ای زنجیره سنگین ایمونوگلوبولین G انسان که در برگیرنده نواحی Fab و Fc مولکول IgG انسان است در بانک اطلاعاتی با نام اختصاری 1IGT تعیین و در جدول ۱ نشان داده شده است . اسیدآمینه های زنجیره سنگین با نماد اختصاری تک حرفی نشان داده شده‌اند.

۲- ساختار دوم زنجیره سنگین IgG انسان

شکل ۱ ساختار دوم زنجیره سنگین IgG انسان را نشان می دهد که توسط نرم افزار Phyre2 به دست آمده است.

۳- ساختار سوم زنجیره سنگین IgG انسان

شکل ۲ ساختار سه بعدی مولکول ایمونوگلوبولین G انسان است که به روش کریستالوگرافی و بر اساس توالی اسید آمینه‌ای به عنوان مرجع، تعیین شده و در پایگاه داده IEDB موجود است. در بخش پایین تصویر بخش ثابت (FC) مولکول آنتی‌بادی که حاصل اتصال دو انتهای کربوکسیلی زنجیره‌های سنگین می‌باشد، قرار دارد.

٤- تعیین خصوصیات فیزیکوشیمیایی ناحیهFc ایمونوگلوبولین G انسان

٤-١ پیش بینی میزان در دسترس بودن در سطح ناحیه Fc ایمونوگلوبولین G انسان

نتایج نرم افزار IEDB در پیش بینی میزان در دسترس بودن اسید آمینه‌های زنجیره سنگین ایمونوگلوبولین G انسان در سطح ساختار سه بعدی مولکول در شکل ۳ نشان داده شده است .در سطح ناحیه Fc زنجیره سنگین ایمونوگلوبولین G انسان تجمع مناطق در دسترس در بخشی از توالی حد فاصل اسید آمینه های شماره ۲۱۱ تا ۲۳۱ ، ۲۹۱ تا ۳۰۰ ، ۳۵۱ تا ۳۶۵ ، ۳۸۱ تا ۴۰۰ و ۴۱۱ تا ۴۲۵ به اوج خود می‌رسد. این نواحی بیشترین میزان دسترسی سطحی را داشته و محتمل‌ترین نواحی از نظر قرار گیری اپی‌توپ‌ها هستند.

٤-٢- پیش بینی میزان هیدروفیلیسیته یا آب دوستی ناحیه Fc ایمونوگلوبولین G انسان

در شکل ۴ نتایج پیش‌بینی میزان آب دوستی در اسید آمینه‌های زنجیره سنگین IgG انسان در سطح ساختار سه بعدی مولکول توسط نرم افزار IEDB نشان داده شده است. در سطح ناحیه Fc زنجیره سنگین ایمونوگلوبولین G انسان به نظر می رسد میزان آب دوستی در حد فاصل اسید آمینه‌های شماره ۲۰۰ تا ۲۳۰ ، ۲۷۰ تا ۲۷۵ ، ۲۸۰ تا ۳۰۰ ، ۳۲۰ تا ۳۴۰ ، ۳۵۵ تا ۳۶۵ ، ۳۷۰ تا ۴۰۵ ، ۴۲۰ تا ۴۵۰ به اوج خود می رسد. محدوده ۲۷۰ تا ۲۷۵ و۲۸۰ تا ۳۰۰ ممتازترین نواحی و محتمل ترین نواحی از نظر قرار گیری اپی‌توپ‌ها هستند.

٤-٣-پیش‌بینی میزان انعطاف‌پذیری فضایی ناحیه Fc ایمونوگلوبولین G انسان

نتایج نرم افزار IEDB در پیش بینی میزان انعطاف‌پذیری فضایی اسید آمینه‌ها در طول بخش‌های مختلف زنجیره سنگین ایمونوگلوبولین G انسان در سطح ساختار سه بعدی مولکول در شکل ۵ نشان داده شده است. در سطح ناحیه Fc زنجیره سنگین ایمونوگلوبولین G انسان تجمع مناطق انعطاف‌پذیر در بخشی از توالی حد فاصل اسید آمینه های شماره ۲۱۰ تا ۲۴۰ ، ۲۷۵ تا ۳۰۰، ۳۲۰ تا ۳۴۵ ،۳۷۵ تا ۴۰۵ به اوج خود می‌رسد. این نواحی بیشترین میزان انعطاف‌پذیری فضایی را داشته و محتمل ترین نواحی از نظر قرارگیری اپی‌توپ‌ها هستند.

جدول ۱: توالی اسید آمینه ای زنجیره سنگین مولکول مرجع IgG انسان

ناحیه	توالی(sequences) *
Fab+	EVKLQESGGGLVQPGGSLKLSCATSGFTFSDYYMYWVRQTPEKRLEWVAYISNGGGST YYPDTVKGRFTISRDNAKNTLYLQMSRLKSEDTAMYYCARHGGYYAMDYWGQGTTVTVS SAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTL SSSVTVTSSTWPSQSITCNVAH**
Fc++	PASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNLLGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVS EDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDL PAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNY KNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSR **

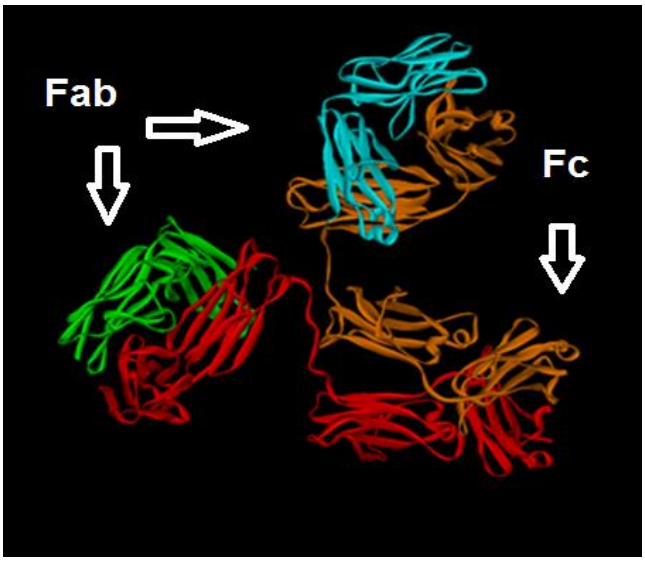
* توالی اسید آمینه ای زنجیره سنگین IgG انسان با استفاده از بانک اطلاعاتی NCBI و پایگاه داده PDB (Protein Data Bank)

** هر حرف بیانگر رمز تک حرفی یک اسید آمینه است.

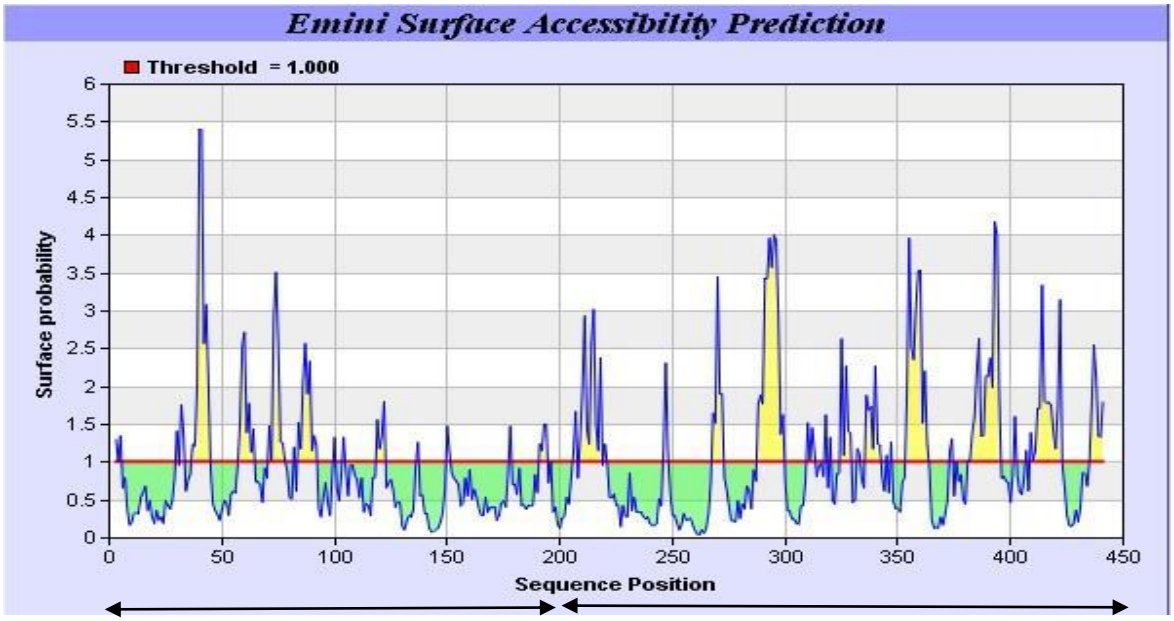
+ناحیه متصل شونده به آنتی ژن [Fragment of antigen binding (Fab)]

++ ناحیه دارای قابلیت کریستالیزه شدن [Fragment of crystallizable (Fc)]

شکل ۱: ساختار دوم زنجیره سنگین ایمونوگلوبولین G انسان که توسط نرم افزار Phyre 2 تعیین شده است. در شکل صفحات بتا با پیکان آبی رنگ و مارپیچ‌های آلفا با رنگ سبز نشان داده شده‌اند.

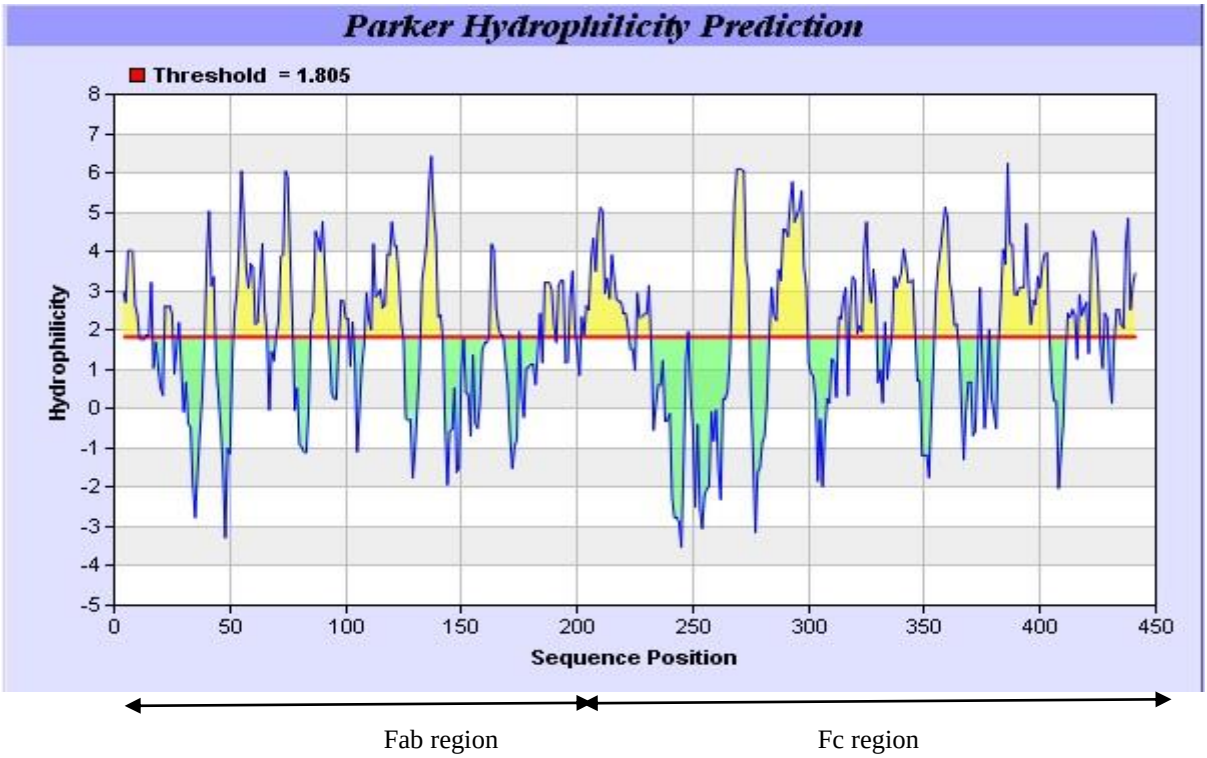


شکل ۲: ساختار سه بعدی مولکول ایمونوگلوبولین G انسان که به روش کریستالوگرافی و بر اساس توالی اسید آمینه ای مرجع، تعیین شده و در پایگاه داده IEDB موجود است. تصویر فوق با مدل رشته ای و صفحات بتا و مارپیچ آلفا نمایش داده شده است. دو زنجیره سبک به رنگ سبز و آبی و دو زنجیره سنگین به رنگ قرمز و قهوه ای نشان داده شده است. بخش بالای تصویر دو انتهای آمینی و نواحی متغیر مولکول (Fab) را نشان می دهد که هر کدام حاوی یک جایگاه اتصال با آنتی ژن هستند و از اتصال یک زنجیره سبک با انتهای آمینی زنجیره سنگین همان سمت تشکیل شده است. در مرکز تصویر ناحیه لولا قرار دارد که محل اتصال دو زنجیره سنگین به هم دیگر و ناحیه انعطاف پذیر شکل فضایی آن است. در بخش پایین تصویر بخش ثابت FC مولکول آنتی بادی که حاصل اتصال دو انتهای کربوکسیلی زنجیره های سنگین می باشد، قرار دارد.



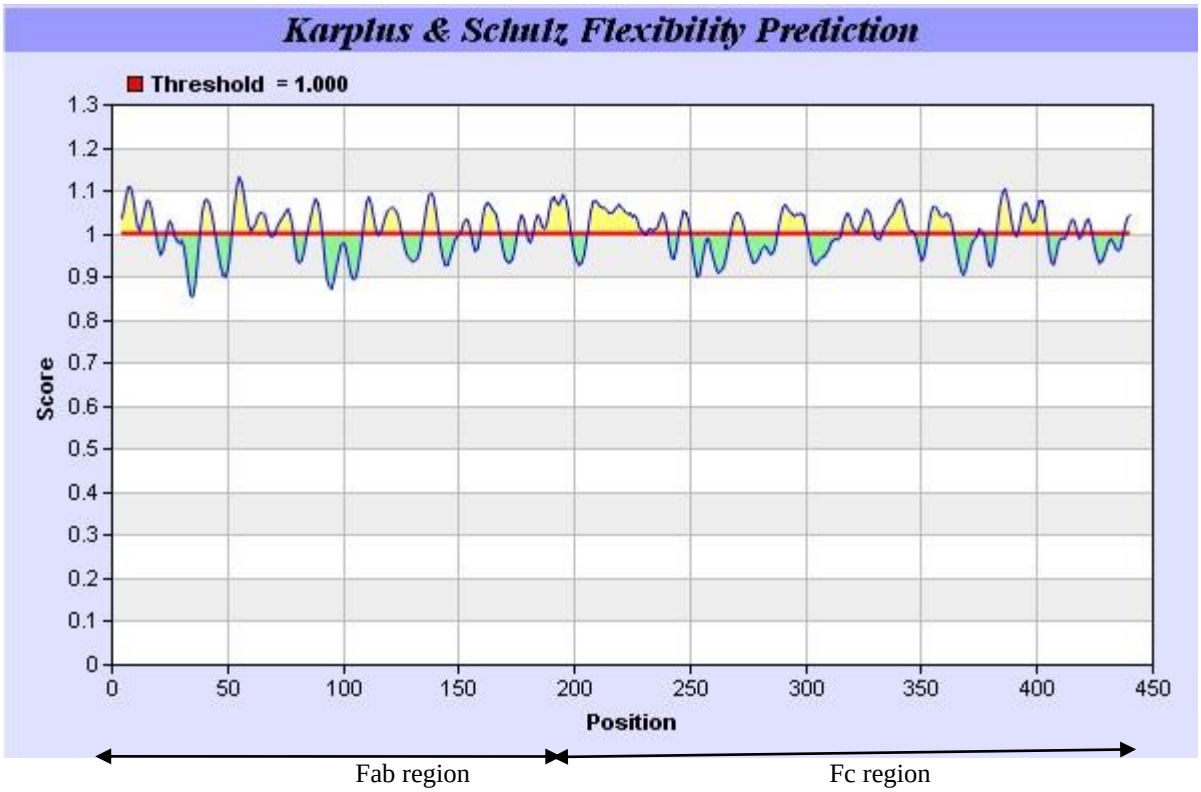
شکل۳: میزان دسترسی سطحی توالی اسیدآمینه ای زنجیره سنگین IgG انسان.

بر اساس نتایج تحلیل توالی اسیدآمینه ای زنجیره سنگین IgG انسان توسط مجموعه نرم افزار IEDB ، مناطقی از این زنجیره که میزان امتیاز کسب شده توسط اسید آمینه های آن از لحاظ در دسترس بودن در سطح مولکول بالاتر از حد آستانه تعیین شده توسط نرم افزار باشند (نواحی زرد رنگ، بالای خط قرمز آستانه) ، بیشترین میزان دسترسی سطحی را داشته و محتمل ترین نواحی از نظر قرار گیری اپی‌توپ‌هاهستند.



شکل۴: میزان آب دوستی توالی اسیدآمینه ای زنجیره سنگین IgG انسان.

تصویر فوق نتیجه تحلیل نرم افزار IEDB روی توالی اسید آمینه ای مرجع برای زنجیره سنگین IgG است. در این نمودار میزان آب دوستی اسید آمینه های زنجیره ی سنگین تعیین شده که هر چه امتیاز اختصاص داده شده به اسید آمینه بیشتر باشد و از حد آستانه تعیین شده توسط نرم افزار بالاتر باشد، میزان آب دوستی آن بیشتر است. مناطقی از زنجیره اسید آمینه ای که از نظر این ویژگی ممتاز باشند محتمل ترین نواحی از نظر قرار گیری اپی‌توپ‌های آنتی ژنیک در مولکول هستند.



شکل۵ : میزان انعطاف پذیری فضایی توالی اسیدآمینه ای زنجیره سنگین IgG انسان . در این تصویر نتیجه تحلیل IEDB روی توالی اسیدآمینه ای IgG برای تعیین نواحی از زنجیره سنگین آن که دارای بیشترین میزان انعطاف پذیری فضایی در مولکول است را نشان می دهد. با توجه به تصویر نواحی که امتیاز اسید آمینه های آن بالاتر از آستانه است (بالاتر از خط قرمز، نواحی زرد رنگ) دارای بیشترین انعطاف پذیری فضایی بوده و محتمل ترین نواحی برای قرارگیری اپی‌توپ‌ها هستند.

بحث:

۱- پیش بینی میزان در دسترس بودن سطحی ناحیه Fc ایمونوگلوبولین G انسان

بر اساس نتایج حاصل از این پژوهش، نواحی در دسترس در بخشی از توالی حد فاصل اسید آمینه های شماره ۲۱۱ تا ۲۳۱ ، ۲۹۱ تا ۳۰۰ ، ۳۵۱ تا ۳۶۵ ، ۳۸۱ تا ۴۰۰ و ۴۱۱ تا ۴۲۵ (۵ ناحیه) به اوج خود می‌رسند. از این پنج ناحیه دارای بیشترین میزان دسترسی سطحی، دو ناحیه (۴۰٪) (توالی حد فاصل اسید آمینه های شماره ۲۱۱ تا ۲۳۱ و ۲۹۱ تا ۳۰۰) در دومین CH2 و سه ناحیه (۶۰٪) (توالی حد فاصل اسید آمینه های شماره ۳۵۱ تا ۳۶۵ ، ۳۸۱ تا ۴۰۰ و ۴۱۱ تا ۴۲۵) در دومین CH3 واقع شده اند. باتوجه به این که میزان دردسترس بودن اسیدهای آمینه نقش مهمی در ایجاد اپی‌توپ دارد [۲۱]، نواحی مذکورکه بیشترین میزان دسترسی سطحی را دارند، محتمل ترین نواحی از نظر قرار گیری اپی‌توپ‌ها هستند. نتایج این مطالعه در توافق با نتایج مطالعه حاجی قاسمی و همکاران [۲۲] است. در مطالعه مذکور تقریباً ۹۱٪ اپی‌توپ‌های واقع بر زنجیره های سنگین مولکول IgG در دومین های CH2 و CH3 قرار داشتند و پنج اپی توپ شاخص در دومین CH3 قرار گرفته بودند [۲۲].

همچنین نتایج تحقیق حاضر توسط یک مطالعه دیگر تایید میشود [۲۳]. در پژوهش فوق تعدادی اپیتوپ فضایی واقع بر بخشFc مولکول IgG انسان

توسط نرم افزاهای ایمونوانفورماتیکی شناسایی شدندکه همگی در دومینهای CH2 و CH3 زنجیره سنگین مولکول IgG قرار داشتند.

۲- پیش بینی میزان آب دوستی ناحیه Fc ایمونوگلوبولین G انسان

نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد که میزان آب دوستی در حد فاصل اسید آمینه های شماره ۲۰۰ تا ۲۳۰ ، ۲۷۰ تا ۲۷۵ ،۲۸۰ تا ۳۰۰ ،۳۲۰ تا ۳۴۰ ، ۳۵۵ تا ۳۶۵ ، ۳۷۰ تا ۴۰۵ ، ۴۲۰ تا ۴۵۰ (۷ ناحیه) به اوج خود می‌رسد. محدوده ۲۷۰ تا ۲۷۵ و۲۸۰ تا ۳۰۰ ممتازترین نواحی‌اند. از این هفت ناحیه دارای بیشترین میزان آب دوستی، سه ناحیه (۴۳٪) (توالی حد فاصل اسید آمینه های شماره

۲۰۰ تا ۲۳۰ ، ۲۷۰ تا ۲۷۵ ،۲۸۰ تا ۳۰۰) در دومین CH2 و چهار ناحیه (۵۷٪) (توالی حد فاصل اسید آمینه های شماره ۳۲۰ تا ۳۴۰، ۳۵۵ تا ۳۶۵ ، ۳۷۰ تا ۴۰۵ و ۴۲۰ تا ۴۵۰) در دومین CH3 واقع شده‌اند. با توجه به این که میزان آب دوستی اسیدهای آمینه نقش مهمی در ایجاد اپی‌توپ دارد [۲۱]، نواحی مذکور با بیشترین میزان آب دوستی، محتمل‌ترین نواحی از نظر قرارگیری اپی‌توپ‌ها خواهند بود. نتایج پژوهش حاجی قاسمی و همکاران [۲۲] هم سو با نتایج مطالعه حاضر می‌باشد. در مطالعه مذکور تقریباً ۹۱٪ اپی‌توپ‌های واقع بر زنجیره های سنگین مولکول IgG در دومین‌های CH2 و CH3 قرار گرفته و پنج اپی توپ اصلی در دومین CH3 قرار داشتند [۲۲]. همچنین نتایج پژوهش حاضر توسط یک مطالعه دیگر نیز تایید شده است [۲۳]. در پژوهش فوق تعدادی اپی توپ فضایی واقع بر بخش Fc مولکولIgG انسان توسط نرم افزارهای ایمونوانفورماتیکی شناسایی شدند که همه آن ها در دومین های CH2 و CH3 زنجیره سنگین مولکول IgG قرار داشتند.

۳- پیش‌بینی میزان انعطاف پذیری فضایی ناحیه Fc ایمونوگلوبولین G انسان

نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد که در ناحیه Fc ایمونوگلوبولین G انسان تجمع مناطق انعطاف پذیر در بخشی از توالی حد فاصل اسید آمینه های شماره ۲۱۰ تا ۲۴۰ ، ۲۷۵ تا ۳۰۰ ، ۳۲۰ تا ۳۴۵ ،۳۷۵ تا ۴۰۵ (۴ ناحیه) به اوج خود می رسد. از این چهار ناحیه دارای بیشترین میزان انعطاف پذیری فضایی، دو ناحیه (۵۰٪) (توالی حد فاصل اسید آمینه‌های شماره ۲۱۰ تا ۲۴۰، ۲۷۵ تا ۳۰۰ در دومین CH2 و دو ناحیه (۵۰٪) (توالی حد فاصل اسید آمینه‌های شماره ۳۲۰ تا ۳۴۵ و۳۷۵ تا ۴۰۵ در دومین CH2قرار گرفته‌اند. این نواحی بیشترین میزان انعطاف پذیری فضایی را داشته و محتمل ترین نواحی از نظر قرارگیری اپی‌توپ‌ها محسوب می‌شوند. با توجه به این که میزان انعطاف پذیری فضایی اسیدهای آمینه نقش مهمی در ایجاد اپی‌توپ دارد [۲۱] ، نواحی مذکورکه بیشترین میزان انعطاف‌پذیری فضایی را دارند، محتمل ترین نواحی از نظر قرار گیری اپی‌توپ‌ها خواهند بود. دریک مطالعه انجام شده توسط حاجی قاسمی و همکاران [۲۲] حدود ۹۱٪ اپی‌توپ‌های واقع بر زنجیره های سنگین مولکول IgG در دومین های CH2 و CH3 واقع شده و پنج اپی توپ اصلی در دومین CH3 قرار داشتند [۲۲] که تایید کننده نتایج مطالعه حاضر است. همچنین در یک پژوهش دیگر [۲۳] تعدادی اپی‌توپ فضایی واقع بر بخش Fc مولکولIgG انسان توسط نرم‌افزارهای ایمونوانفورماتیکی شناسایی شدند که تمام آن‌ها در دومین های CH2و CH3 زنجیره سنگین مولکول IgG قرار داشتند. تمام این موارد تاییدی بر نتایج پژوهش حاضر هستند.

در طی چندین مطالعه انجام شده توسط حاجی قاسمی و همکاران، تعدادی از اپی‌توپ‌های اختصاصی IgG یا زیرکلاس‌های آن شناسایی شده اند [۲۶-۲۴]. در مطالعات مذکور حاجی قاسمی و همکاران دو اپی‌توپ خطی اختصاصی زیر کلاس IgG3 [۲۱]، چهار اپی‌توپ اختصاصی زیر کلاس های IgG1,2,4 ، سه اپی‌توپ اختصاصی زیرکلاس های IgG1,2,3 [۲۵] و چهار اپی‌توپ اختصاصی همه زیرکلاس های IgG را شناسایی کرده‌اند. در مطالعات یاد شده [۲۶-۲۴]، سیزده اپی توپ اختصاصی IgG یا زیر کلاس‌های آن شناخته شدند که همگی در بخش Fc مولکول IgG واقع شده‌اند. با توجه به وجود نواحی متعدد دارای انعطاف‌پذیری فضایی، آب دوستی و در دسترس بودن سطحی بالا در بخش Fc مولکول IgG که در مطالعه حاضر شناسایی شده‌اند و با توجه به این که ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی یاد شده اسیدهای آمینه نقش مهمی در ایجاد اپی‌توپ دارند [۲۱]، وجود تعداد زیادی اپی توپ اختصاصی IgG درناحیه Fc مولکول IgG که در مطالعات مذکور توسط حاجی قاسمی و همکاران معرفی شده‌اند [۲۶-۲۴]، تاییدی بر نتایج مطالعه حاضر خواهد بود.

براساس نتایج مطالعه حاضر، در بخش Fc مولکول IgG، نواحی دارای انعطاف پذیری فضایی، آب دوستی و دسترسی سطحی بالا در توالی حد فاصل اسید آمینه های شماره ۲۹۱-۳۰۰ و ۳۸۱-۴۰۰ (۲ ناحیه) با هم همپوشانی دارند. به عبارت دیگر توالی های مذکور دارای بالاترین انعطاف پذیری فضایی، آب دوستی و دسترسی سطحی بالا و در نتیجه محتمل ترین نواحی از نظر قرار گیری اپی‌توپ‌ها هستند. از این دو ناحیه، یکی (توالی حد فاصل اسید آمینه های شماره ۲۹۱-۳۰۰) در دومین CH2 و دیگری (توالی حد فاصل اسید آمینه های شماره ۳۸۱-۴۰۰)در دومین CH3 از بخش Fc مولکول IgG واقع شده اند. این دو ناحیه تا حد بسیار بالایی(۹۵٪) با دو اپی توپ شناسایی شده توسط حاجی قاسمی و همکاران [۲۲] هم پوشانی دارند. به این صورت که توالی حد فاصل اسیدآمینه‌های شماره ۲۹۱-۳۰۰ که در مطالعه حاضر دارای بیشترین انعطاف پذیری فضایی، آب دوستی و دسترسی سطحی در دومین CH2 بخش Fc مولکول IgG بوده است با اپی توپ اختصاصی بخش Fc مولکول IgG واقع شده در دومین CH2 دارای توالی اسیدآمینه‌های شماره ۲۹۰-۳۰۰ که در مطالعه حاجی قاسمی و همکاران [۲۲] شناسایی شده است، به میزان ۹۵٪ هم‌پوشانی دارد. به همین ترتیب توالی حد فاصل اسیدآمینه‌های شماره ۳۸۱-۴۰۰ که در مطالعه حاضر دارای بیشترین انعطاف‌پذیری فضایی، آب دوستی و دسترسی سطحی در دومین CH3 بخش Fc مولکول IgG بوده است با اپی‌توپ

اختصاصی بخش Fc مولکول IgG واقع شده در دومین CH3 دارای توالی اسید آمینه‌های شماره۳۸۰ تا ۴۰۰ که در مطالعه حاجی قاسمی و همکاران [۲۲] شناسایی شده است، به میزان ۹۵٪ هم پوشانی دارد. نتایج مطالعه حاضر و مطالعه حاجی قاسمی و همکاران [۲۲] در توافق با پژوهشی است که گزارش کرده است ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی از قبیل انعطاف پذیری فضایی، در دسترس بودن سطحی و آب دوستی اسیدهای آمینه نقش مهمی در ایجاد اپی توپ دارند [۲۱].

در مجموع در این مطالعه ویژگی های فیزیکوشیمیایی (انعطاف پذیری فضایی، در دسترس بودن سطحی و آب دوستی) اسیدهای آمینه بخش Fc مولکول IgG انسان توسط نرم‌افزارهای بیوانفورماتیکی شناسایی شدند. نتایج مطالعه اخیر نه تنها در شناسایی هرچه بهتر اعمال این مولکول مفید خواهد بود، بلکه در پیش گویی اپی‌توپ‌های ایمونوژن IgG انسان برای تولید آنتی بادی های منوکلونال اختصاصی به منظور تولید کیت‌های تشخیصی IgG و بهینه سازی کیت‌های موجود و همچنین طراحی و تولید پروتئین های مشابه برای اهداف تشخیصی و درمانی سودمند هستند [۸-۷]. به علاوه، نتایج این مطالعه می‌تواند برای مطالعات فیلوژنتیکی مورد استفاده قرار گیرند.

نتیجه‌گیری:

در این مطالعه ویژگی های فیزیکوشیمیایی اسیدهای آمینه بخش Fc مولکول IgG انسان توسط نرم‌افزارهای بیوانفورماتیکی شناسایی شدند. نتایج این پژوهش درشناسایی هرچه بهتر اعمال مولکول IgG انسان، پیش گویی اپی‌توپ‌های ایمونوژن آن برای تولید آنتی‌بادی‌های منوکلونال اختصاصی به منظور تولید کیت‌های تشخیصی IgG و بهینه سازی کیت‌های موجود، طراحی و تولید پروتئین‌های مشابه برای اهداف تشخیصی و درمانی و همچنین مطالعات فیلوژنتیکی سودمند هستند.

تشکر و قدردانی:

این مقاله حاصل بخشی از پایان نامه تحت عنوان:
انسان با استفاده از ایمونوانفورماتیک" IgG "شناسایی اپی‌توپ‌های ایمونوژن
در مقطع دکترای پزشکی می‌باشد که با حمایت دانشگاه شاهد اجرا شده است. نویسندگان این مقاله بر خود لازم می‌دانند از سرکار خانم فاطمه سفید به خاطر ارائه مشاوره‌های علمی ارزشمندشان قدردانی نمایند.

تعارض منافع:

نویسندگان مقاله اعلام می‌دارند که هیچگونه تضاد منافعی در خصوص این مطالعه وجود ندارد.

References:

1. Hoffman W, Lakkis FG, Chalasani G. B Cells, Antibodies, and More. Clin J Am Soc Nephrol 2016; 11(1): 137-54.
2. Murphy K: Janeway's Immunobiology, London, New York, Garland Science, 2012.
3. Woodruff TK. Structure-Function Relationships in Endocrinology. Endocrinology 2018; 159(6): 2376-2377.
4. Cymer F, Beck H, Rohde A, Reusch D. Therapeutic monoclonal antibody N-glycosylation - Structure, function and therapeutic potential. Biologicals 2018; 52: 1-11.
5. Castro-Dopico T, Clatworthy MR. IgG and Fcγ Receptors in Intestinal Immunity and Inflammation. Front Immunol 2019; 10: 805.
6. Schroeder HW Jr, Cavacini L. Structure and function of immunoglobulins. J Allergy Clin Immunol 2010; 125(2 Suppl 2): S41-52. Review.
7. Shaddel M, Ebrahimi M, Tabandeh MR. Bioinformatics analysis of single and multi-hybrid epitopes of GRA-1, GRA-4, GRA-6 and GRA-7 proteins to improve DNA vaccine design against Toxoplasma gondii. J Parasit Dis 2018; 42(2): 269–276.
8 Bumbaca D, Boswell CA, Fielder PJ, Khawli LA. Physiochemical and biochemical factors influencing the pharmacokinetics of antibody therapeutics. AAPS J 2012; 14(3): 554-8. Review.
9. MacLeod M, Nersessian NJ. Modeling complexity: cognitive constraints and computational model-building in integrative systems biology. Hist Philos Life Sci 2018; 40(1): 17.
10. Medvedev P. Modeling biological problems in computer science: a case study in genome asseiembly. Brf Bioinform 2019; 20(4): 1376-1383.
11. Hegde NR, Gauthami S, Sampath Kumar HM, Bayry J. The use of databases, data mining and immunoinformatics in vaccinology: where are we? Expert Opin Drug Discov 2018; 13(2): 117-130.
12. Basharat Z, Yasmin A, Masood N. Cancer Immunomics in the Age of Information: Role in Diagnostics and Beyond. Curr Pharm Des 2018; 24(32): 3818-3828.
13. Gauna A, Losada S, Lorenzo M, Toledo M, Bermúdez H, D'Angelo P, Sánchez D, Noya O. Use of Synthetic Peptides and Multiple Antigen Blot Assay

in the Immunodiagnosis of Hepatitis C Virus Infection. Viral Immunol 2018; 31(8): 568-574.
14. Mehmood A, Kaushik AC, Wei DQ. Prediction and validation of potent peptides against herpes simplex virus type 1 via immunoinformatic and systems biology approach. Chem Biol Drug Des 2019; 94(5): 1868-1883.
15. Ali A, Khan A, Kaushik AC, Wang Y, Ali SS, Junaid M, Saleem S, et. al. Immunoinformatic and systems biology approaches to predict and validate peptide vaccines against Epstein-Barr virus (EBV). Sci Rep 2019; 9(1): 720.
16. Eickhoff CS, Terry FE, Peng L, Meza KA, Sakala IG, Van Aartsen D, et. al. Highly conserved influenza T cell epitopes induce broadly protective immunity. Vaccine 2019; 37(36): 5371-5381.
17. Khan M, Khan S, Ali A, Akbar H, Sayaf AM, Khan A, Wei DQ. Immunoinformatics approaches to explore Helicobacter Pylori proteome (Virulence Factors) to design B and T cell multi-epitope subunit vaccine. Sci Rep 2019; 9(1): 13321.
18. Venter JC, Adams MD, Myers EW, Li PW, Mural RJ, Sutton GG, et al. The sequence of the human genome. Science's STKE 2001; 291: 1304.
19. Collins FS, Lander ES, Rogers J, Waterston RH, Conso I. Finishing the euchromatic sequence of the human genome. Nature 2004; 431: 931-945.
20. Yang J, Liu N, Zhang T, Zhao S, Qiang L, Su B, et al. Prediction and identification of B-cell linear epitopes of hepatitis B antigen. Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao 2013; 33(2): 253-7.
21. Wang Y, Wang G, Ou J, Yin H, Zhang D. Analyzing and identifying novel B cell epitopes within Toxoplasma gondii GRA4. Parasit Vectors 2014; 7: 474.
22. Hajighasemi F, Rohani S, Sefid F. Assessment of immunogenic linear epitopes on human immunoglobulin G by immunoinformatic approach. Res Med 2016; 40(1): 30-35. [Farsi].
23. Hajighasemi F, Rohani S, Sefid F. Identification of conformational epitopes on fragment crystallizable region of human Immunoglobulin G by immunoinformatic. Tehran University Medical Journal 2018; 76(5): 321-325. [Farsi].
24. Hajighasemi F, Shokri F. Generation and characterization of mouse hybridomas secreting monoclonal antibodies specific for human IgG3. Avicenna Journal of Medical Biotechnology 2009; 1(1): 19-26.
25. Hajighasemi F1, Shokri F. Production and characterization of mouse monoclonal antibodies recognizing multiple subclasses of human IgG. Avicenna Journal of Medical Biotechnology 2010; 2(1): 37-45.
26. Hajighasemi F1, Khoshnoodi J, Shokri F. Production and Characterization of Mouse Monoclonal Antibodies Recognizing Human Pan-IgG Specific Conformational or Linear Epitopes. Avicenna Journal of Medical Biotechnology 2012; 4(4): 170-7.

Original Article

Determination of Physicochemical Properties of Human Immunoglobulin G -Fc Fragment by Bioinformatic

Soheila Rohani[1], Fatemeh Hajighasemi [2]*

Received:2020.12.19 Revised:2021.04.19 Accepted: 2021.05.05

1. Medicine, Department of Immunology, Faculty of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran
2. Associate Professor, Department of Immunology, Faculty of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran

Pars Journal of Medical Sciences, Vol.19, No.1, Spring 2021

Pars J Med Sci 2021;19(1):34-43

Abstract:

Introduction:
Immunoglobulins (Igs) are defensive glycoproteins specifically recognize and destroy pathogens. Immunoglobulin G (IgG) is most abundant Ig in serum has important protective role against infections. Fragment of crystallizable (Fc) in IgG has essential role in pathogens destruction. Determination the physicochemical properties of IgG Fc is useful in well recognition of its function, diagnostic and therapeutic purposes. Bioinformatic is an efficient scientific field uses abundant biological information collected in computers for solving biologic problems. Aim of this study is recognition the physicochemical features of human IgG- Fc by bioinformatic.

Materials and Methods:
Amino acid sequence and third structure of reference human IgG were found in PDB (Protein Data Bank) database. Second IgG structure was determined by Protein Homology/analogY Recognition Engine V 2 (Phyre 2) software. Physicochemical properties (felexibility, accessibility and hydrophilicity) of IgG- Fc fragment were identified by IEDB (Immune Epitope Database) software.

Results:
According to results of this study, most accessibe, hydrophilic and felexible sites of IgG- Fc fragment were located to 200 – 450 amino acid sequences. Moreover most accessibe, hydrophilic and felexible positions were overlapped in 291- 300 and 381- 400 amino acid sequences and could be most probable locations of epitopes.

Conclusion:
Physicochemical properties of IgG- Fc fragment identified in present study are valuable in more exact recognition of IgG functions and its immunogenic epitopes which could be helpful in producing of specific monoclonal anti IgG antibodies for production IgG diagnostic tools, optimizing existing kits, development of similar proteins for diagnostic and therapeutic purposes and phylogenic studies.

Keywords: IgG, Bioinformatic, Physicochemical

* Corresponding author Email: fatimahajighasemi@gmail.com