تعیین اپی‌توپ‌های فضایی جزء دارای قابلیت کریستالی مولکول ایمونوگلوبولین G انسان توسط ایمونوانفورماتیک

سهیلا روهانی[1]
فاطمه حاجی‌قاسمی[1*]
فاطمه سفید[2]

۱- گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران.
۲- گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شاهد، تهران، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: ایمونوگلوبولین‌ها گروهی از پروتیین‌های سرم هستند که نقش مهمی در دفاع علیه میکروارگانیسم‌ها بر عهده دارند. ایمونوگلوبولین G فراوان‌ترین ایمونوگلوبولین سرم بوده و بین شدت برخی بیماری‌ها از جمله عفونت‌ها و سطح ایمونوگلوبولین G، ارتباط وجود دارد. برای سنجش دقیق ایمونوگلوبولین G، ابزارهای شناسایی اختصاصی از جمله آنتی‌بادی‌های منوکلونال مورد نیاز می‌باشند. ایمونوانفورماتیک شاخه‌ای از ایمونولوژی است که با به‌کارگیری داده‌های زیستی موجود در کامپیوتر به تشخیص دقیق‌تر بیماری‌ها کمک می‌کند. هدف از پژوهش کنونی تعیین اپی‌توپ‌های فضایی جزء دارای قابلیت کریستالی مولکول ایمونوگلوبولین G انسان به‌وسیله ایمونوانفورماتیک می‌باشد.

روش بررسی: این مطالعه از نوع مطالعات علوم پایه بوده که از تیر ۱۳۹۲ تا خرداد ۱۳۹۳ در دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد در شهر تهران انجام شد. توالی اسیدهای آمینه و ساختار سوم IgG مرجع انسان در پایگاه اطلاعاتی Protein Data Bank (PDB)، ساختار دوم IgG مرجع توسط نرم‌افزار Phyre2 (http://www.sbg.bio.ic.ac.uk/~phyre2/) و اپی‌توپ‌های فضایی بخش Fc مولکول IgG انسان توسط نرم‌افزارهای ElliPro (http://tools.iedb.org/ellipro/) و DiscoTope (http://www.cbs.dtu.dk/services/DiscoTope/) تعیین شدند.

یافته‌ها: دو اپی‌توپ فضایی توسط نرم‌افزار ElliPro (یکی در دُمین CH2 و دیگری مشترک بین دُمین‌های CH2 و CH3) و دو اپی‌توپ فضایی توسط نرم‌افزار DiscoTope که هر دو مشترک بین دُمین‌های CH2 و CH3 هستند در بخش Fc مولکول IgG انسان شناسایی شدند.

نتیجه‌گیری: در این پژوهش تعدادی از اپی‌توپ‌های فضایی بخش Fc مولکول IgG انسان توسط دو نرم‌افزار ایمونوانفورماتیکی شناسایی شدند. اپی‌توپ‌های شناسایی‌شده توسط هر دو نرم‌افزار، در دُمین‌های CH2 و CH3 زنجیره سنگین مولکول IgG واقع شده‌اند.

دریافت: ۱۳۹۶/۱۱/۲۶ ویرایش: ۱۳۹۶/۱۲/۰۳ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۵/۰۸ آنلاین: ۱۳۹۷/۰۵/۱۸

کلمات کلیدی: اپی‌توپ‌ها، ایمونوگلوبولین G، ایمونولوژی.

*نویسنده مسئول: تهران، بزرگراه خلیج فارس، دانشگاه شاهد، دانشکده پزشکی، گروه ایمنی‌شناسی.
کدپستی: ۳۳۱۹۱۱۸۶۵۱ تلفن: ۰۲۱-۵۱۲۱۲۶۵۳
E-mail: fatimahajighasemi@gmail.com

مقدمه

ایمونوگلوبولین G فراوان‌ترین ایمونوگلوبولین سرم بوده و بین شدت برخی بیماری‌ها از جمله نقایص ایمنی با سطح ایمونوگلوبولین G ارتباط وجود دارد.[1] بنابراین ایمونوگلوبولین G دارای ارزش تشخیصی خاصی است.[2] برای سنجش دقیق ایمونوگلوبولین G، ابزارهای شناسایی اختصاصی دارای حساسیت و ویژگی بالا از جمله آنتی‌بادی‌های منوکلونال مورد نیاز هستند.[3] افزون‌براین هدف‌گیری ایمونوگلوبولین G برای درمان برخی از بیماری‌ها مفید گزارش شده است.[4] بنابراین جهت بهینه‌سازی تست‌های تشخیصی ایمونوگلوبولین G و افزایش اثرات درمان‌های آنتی‌ایمونوگلوبولین G، شناسایی دقیق اپی‌توپ‌های اختصاصی مولکول ایمونوگلوبولین G از اهمیت خاصی

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-07-02]

برخوردار است.[۵] ایمونوانفورماتیک شاخه‌ای به‌نسبت جدید از ایمونولوژی است که از داده‌های زیستی موجود در کامپیوتر به‌عنوان ابزاری کارآمد جهت آنالیز، مدل‌سازی و پیشگویی فعالیت سیستم ایمنی در دو حالت سلامتی و بیماری همچنین تشخیص سریع‌تر و دقیق‌تر بیماری‌ها کمک می‌کند.[۶]

علم ایمونوانفورماتیک، حجم زیادی از داده‌های آزمایشگاهی گردآوری‌شده در کامپیوتر را آنالیز و دسته‌بندی کرده و با برنامه‌های کامپیوتری داده کاوی می‌کند. بنابراین علم ایمونوانفورماتیک به‌طور تقریبی در تمامی زمینه‌های ایمنی‌شناسی و بیماری‌ها توسعه پیدا کرده و از کارایی بسیار بالایی برخوردار است. این علم فرصت‌های جدید و بدیعی برای پژوهش‌های آینده در زمینه ایمونولوژی فراهم نموده است.[۷]

بر اساس پژوهش‌های آزمایشگاهی، جزء دارای قابلیت کریستالی مولکول ایمونوگلوبولین G انسان که از دُمین‌های ثابت شماره دو و سه زنجیره سنگین تشکیل شده است دارای ایمونوژنیسیته به‌نسبت بالایی است.[۸و۹] هدف پژوهش کنونی به‌کارگیری دانش ایمونولوژی کامپیوتری جهت تجزیه و تحلیل داده‌های آزمایشگاهی موجود در کامپیوتر در مورد ساختمان مولکول ایمونوگلوبولین G انسان به‌منظور تعیین اپی‌توپ‌های فضایی جزء دارای قابلیت کریستالی آن بود.

روش بررسی

این مطالعه از نوع مطالعات علوم پایه بود که از تیر ۱۳۹۲ تا خرداد ۱۳۹۳ در دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد در شهر تهران انجام شد. ابتدا توالی اسیدهای آمینه زنجیره‌های پپتیدی سبک و سنگین و ساختمان سوم مولکول IgG مرجع انسان با کد شناسایی 1IGT با استفاده از بانک اطلاعاتی NCBI به آدرس اینترنتی http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ تعیین شدند.[۱۰]

سپس ساختار دوم IgG مرجع انسان توسط نرم‌افزار Phyre2 به آدرس اینترنتی http://www.sbg.bio.ic.ac.uk/phyre به‌دست آمد.[۱۱] در نهایت اپی‌توپ‌های فضایی بخش Fc مولکول IgG توسط نرم‌افزارهای ElliPro و DiscoTope که مبتنی بر ساختار سه‌بعدی مولکول هستند و نسبت به نرم‌افزارهای مبتنی بر توالی اسید آمینه‌ای از صحت و دقت بالاتری برخوردار است تعیین شدند.[۱۲و۱۳] نرم‌افزار ElliPro در آدرس http://tools.iedb.org/ellipro/[۱۲] و نرم‌افزار DiscoTope در آدرس اینترنتی http://www.cbs.dtu.dk/services/DiscoTope قابل دسترسی است.[۱۳]

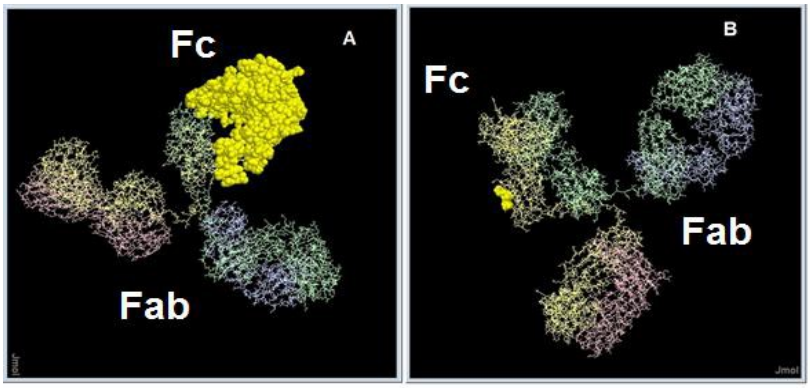
یافته‌ها

توالی اسید آمینه‌ای، ساختار دوم و ساختار سوم زنجیره سنگین ایمونوگلوبولین G مرجع انسان (1IGT)، توسط نرم‌افزارهای Immune Epitope Database Analysis Resource (IEDB) (Vita et al., 2010)، Phyre2 تعیین شدند. نرم‌افزارهای ElliPro و DiscoTope هر یک دو اپی‌توپ فضایی در بخش Fc مولکول IgG انسان شناسایی و پیش‌بینی نمودند. اپی‌توپ‌های پیش‌بینی‌شده توسط این نرم‌افزارها در جدول ۱ و شکل ۱ نمایش داده شده‌اند.

جدول ۱: اپی‌توپ‌های فضایی بخش Fc مولکول IgG انسان که توسط نرم‌افزارهای ElliPro و DiscoTope پیش‌بینی شده‌اند.

شماره اسیدهای آمینه	تعداد اسیدهای آمینه	شماره اپی‌توپ	نرم‌افزار
259-271, 307-336, 358-361, 363-375, 377-379, 381-402, 405-411, 414-418, 422-428, 430, 433-474	۱۴۷	۱	ElliPro
308-310	۳	۲	
232, 235, 266, 267, 281-283, 317, 328-330, 333-335, 345-348, 359-366, 381-385, 396-398, 408-415, 417, 430-433, 444-453, 461, 462, 464-466, 473, 474	۶۴	۱	DiscoTope
266, 267, 280-282, 284, 314-317, 329, 330, 333-335, 345, 359-366, 381-385, 396, 397, 408-415, 417, 430-433, 444-453, 462, 464-466, 473, 474	۶۰	۲	

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-07-02]



شکل ۱: اپی‌توپ‌های فضایی بخش Fc مولکول IgG انسان

تصاویر A و B به‌ترتیب مربوط به اپی‌توپ‌های شماره ۱ و ۲ تعیین‌شده توسط نرم‌افزار ElliPro هستند که در جدول ۱ نشان داده شده‌اند.

بحث

براساس نتایج نرم‌افزار ElliPro، مهمترین اپی‌توپ‌های فضایی پیشگویی‌شده در بخش Fc مولکول IgG انسان در محدوده اسید آمینه‌های شماره ۲۵۹ تا ٤٧٤ می‌باشند و در این منطقه دو اپی‌توپ شناسایی شدند. همچنین بر اساس نتایج به‌دست‌آمده توسط نرم‌افزار DiscoTope، مهمترین اپی‌توپ‌های پیشگویی‌شده در بخش Fc مولکول IgG انسان در محدوده اسید آمینه‌های شماره ۲۳۲ تا ٤٧٤ می‌باشند. نرم‌افزار DiscoTope نیز در این منطقه دو اپی‌توپ را پیش‌بینی نموده است. همان‌طور که از نتایج گفته‌شده مشهود است، مناطق حاوی اپی‌توپ‌های پیش‌بینی‌شده توسط نرم‌افزارهای ElliPro و DiscoTope تا حد زیادی با یکدیگر همپوشانی دارند. با توجه به اینکه هر دو این نرم‌افزارها اپی‌توپ‌های فضایی را بر اساس ساختار سه‌بعدی مولکول پیش‌بینی می‌کنند، طبیعی است که اپی‌توپ‌های فضایی مشابهی را پیش‌بینی نمایند.

از دو اپی‌توپ فضایی شناسایی‌شده توسط نرم‌افزار ElliPro در بخش Fc مولکول IgG، یک اپی‌توپ در دُمین CH2 و اپی‌توپ دیگر به‌صورت مشترک بین دُمین‌های CH2 و CH3 واقع شده است. ۲۹/۳٪ و ۷۰/۷٪ اسیدهای آمینه اپی‌توپ اخیر به‌ترتیب در دُمین CH2 و CH3 قرار دارند. همچنین هر دو اپی‌توپ فضایی شناسایی شده توسط نرم‌افزار DiscoTope، بین دُمین‌های CH2 و CH3 مشترک هستند. در یکی از اپی‌توپ‌های شناسایی‌شده توسط نرم‌افزار DiscoTope، ۲۲٪ و ۷۸٪ و در اپی‌توپ دیگر ۲۵٪ و ۷۵٪ اسیدهای آمینه به‌ترتیب در دُمین‌های CH2 و CH3 قرار دارند. همان‌طور که از مجموع نتایج به‌دست‌آمده مشهود است از چهار اپی‌توپ فضایی پیش‌بینی‌شده توسط نرم‌افزارهای ElliPro و DiscoTope یکی از آن‌ها (۲۵٪) در دُمین CH2 واقع‌شده و سه اپی‌توپ دیگر (۷۵٪) از اسیدهای آمینه هر دو دُمین CH2 و CH3 تشکیل شده‌اند. همچنین براساس نتایج به‌دست‌آمده از هر دو نرم‌افزار، تعداد اسیدهای آمینه‌هایی که از دُمین CH3 در ساختار این اپی‌توپ‌های فضایی شرکت دارند به‌طور تقریبی سه برابر تعداد اسیدهای آمینه‌هایی است که از دُمین CH2 در ساختار این اپی‌توپ‌های فضایی شرکت دارند. در مطالعه انجام‌شده پیشین ده اپی‌توپ خطی توسط نرم‌افزار ElliPro در ناحیه Fc مولکول IgG انسان پیش‌گویی شدند که ۵۰٪ آن‌ها در دُمین CH2 و ۵۰٪ دیگر در دُمین CH3 واقع شده‌اند.[14] در آن مطالعه اپی‌توپ‌های خطی موجود در کل ناحیه ثابت مولکول IgG (ناحیه لولا، دُمین‌های CH1، CH2 و CH3) بررسی و معرفی شدند[14] درحالی‌که در پژوهش کنونی اپی‌توپ‌های فضایی موجود در ناحیه Fc مولکول IgG (ناحیه لولا، دُمین‌های CH2 و CH3) بررسی و پیش‌بینی شدند.

در چند مطالعه آزمایشگاهی به‌عمل‌آمده توسط Hajighasemi و همکارانشان، تعدادی از اپی‌توپ‌های فضایی اختصاصی IgG انسان یا زیرکلاس‌های آن تعیین شده‌اند.[8و9] در پژوهش‌های گفته‌شده، ۱۱

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-07-02]

اپی‌توپ اختصاصی IgG یا زیرکلاس‌های آن شناخته شده‌اند که همگی در بخش Fc مولکول IgG واقع شده و پنج تای آن‌ها (٤٥٪) فضایی بوده‌اند. نتایج مطالعات Hajighasemi و همکاران تاییدی بر نتایج مطالعه کنونی است. در مطالعه ما چهار اپی‌توپ فضایی واقع بر بخش Fc مولکول IgG انسان توسط نرم‌افزارهای ElliPro و DiscoTope شناسایی شدند که ۲۵٪ آن‌ها در دُمین CH2 واقع شده و ۷۵٪ دیگر از اسیدهای آمینه هر دو دُمین CH2 و CH3 تشکیل شده‌اند.

ازآنجایی‌که برخی از آنتی‌بادی‌های منوکلونال اختصاصی مولکول IgG با افینیتی بالا تولید شده‌اند که اپی‌توپ‌های فضایی مولکول را شناسایی می‌کنند،[14] پیشگویی اپی‌توپ‌های فضایی مولکول IgG می‌تواند در بهینه‌سازی تولید آنتی‌بادی‌های منوکلونال اختصاصی مولکول IgG دارای افینیتی بالا در اتصال به IgG و افزایش حساسیت تست‌های تشخیصی این مولکول بسیار موثر باشد. از طرفی بسیاری از آنتی‌بادی‌های مورد استفاده برای اهداف درمانی اپی‌توپ‌های فضایی را هدف قرار می‌دهند. بنابراین پیش‌گویی و تعیین اپی‌توپ‌های فضایی از این جنبه نیز دارای اهمیت و در خور توجه است.

در این پژوهش تعدادی از اپی‌توپ‌های فضایی بخش Fc مولکول IgG انسان توسط دو نرم‌افزار ایمونوانفورماتیکی ElliPro و DiscoTope شناسایی شدند. اپی‌توپ‌های شناسایی‌شده توسط هر دو نرم‌افزار، در دُمین‌های CH2 و CH3 زنجیره سنگین مولکول IgG واقع شده‌اند.

سپاسگزاری: ایـن مقالـه حاصـل (بخشـی از) پایان‌نامـه تحـت عنـوان "شناسایی اپی‌توپ‌های ایمونوژن IgG انسان با استفاده از ایمونوانفورماتیـک" در مقطع دکترای پزشکی در سـال ۱۳۹۳ و کـد ٥۲٤ می‌باشـد کـه بـا حمایت دانشگاه شاهد اجرا شده است.

References

1. Martin CS, Sirbu AE, Betivoiu MA, Florea S, Barbu CG, Fica SV. Serum immunoglobulin G4 levels and Graves' disease phenotype. *Endocrine* 2017;55(2):478-484.
2. Wang ZZ, Shi K, Peng J. Serologic testing of a panel of five antibodies in inflammatory bowel diseases: Diagnostic value and correlation with disease phenotype. *Biomed Rep* 2017;6(4):401-410.
3. Howie HL, Delaney M, Wang X, Er LS, Vidarsson G, Stegmann TC, et al. Serological blind spots for variants of human IgG3 and IgG4 by a commonly used anti-immunoglobulin reagent. *Transfusion* 2016;56(12):2953-2962.
4. Xie X, Weisser NE, McLean MD, Hall JC. Complexes with anti-epitope tag IgGs improve the therapeutic potential of epitope-tagged antibody fragments. *Mol Immunol* 2010;47(7-8):1529-34.
5. Stubenrauch K, Wessels U, Essig U, Kowalewsky F, Vogel R, Heinrich J. Characterization of murine anti-human Fab antibodies for use in an immunoassay for generic quantification of human Fab fragments in non-human serum samples including cynomolgus monkey samples. *J Pharm Biomed Anal* 2013;72:208-15.
6. Wada Y, Nithichanon A, Nobusawa E, Moise L, Martin WD, Yamamoto N, et al. A humanized mouse model identifies key amino acids for low immunogenicity of H7N9 vaccines. *Sci Rep* 2017;7(1):1283.
7. Hu X, Chen Q, Sowrirajan B, Bosche M, Imamichi T, Sherman BT. Genome-Wide Analyses of MicroRNA Profiling in Interleukin-27 Treated Monocyte-Derived Human Dendritic Cells Using Deep Sequencing: A Pilot Study. *Int J Mol Sci* 2017;18(5). pii: E925.
8. Hajighasemi F, Khoshnoodi J, Shokri F. Production and characterization of mouse monoclonal antibodies recognizing human Pan-IgG specific conformational or linear epitopes. *Avicenna J Med Biotechnol* 2012;4(4):170-7.
9. Hadji-Ghasemi F, Gharagozlou S, Ghods R, Roohi A, Khoshnoodi J, Shokri F. Generation and characterization of a mouse monoclonal antibody with specificity similar to staphylococcal protein A (SPA). *Hybrid Hybridomics* 2003;22(1):33-9.
10. Tomar N, De RK. Immunoinformatics: a brief review. *Methods Mol Biol* 2014;1184:23-55.
11. Bennett-Lovsey RM, Herbert AD, Sternberg MJ, Kelley LA. Exploring the extremes of sequence/structure space with ensemble fold recognition in the program Phyre. *Proteins* 2008;70(3):611-25.
12. Ponomarenko J, Bui HH, Li W, Fusseder N, Bourne PE, Sette A, et al. ElliPro: a new structure-based tool for the prediction of antibody epitopes. *BMC Bioinformatics* 2008;9:514.
13. Haste Andersen P, Nielsen M, Lund O. Prediction of residues in discontinuous B-cell epitopes using protein 3D structures. *Protein Sci* 2006;15(11):2558-67.
14. Hajighasemi F, Rohani S, Sefid F. Assessment of immunogenic linear epitopes on human mmunoglobulin G by immunoinformatic approach. *Res Med* 2016;40(1):30-35.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-07-02]

TUMJ monthly Tehran University Medical Journal
Tehran University Medical Journal, August 2018; Vol. 76, No. 5: 321-325 *Original Article*

Identification of conformational epitopes on fragment crystallizable region of human Immunoglobulin G by immunoinformatic

Soheyla Rohani M.D.[1]
Fatemeh Hajighasemi Ph.D.[1*]
Fatemeh Sefid M.Sc.[2]

1- Department of Immunology, Faculty of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran.
2- Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Shahed University, Tehran, Iran.

[*] Corresponding author: Department of Immunology, Faculty of Medicine, Shahed University, Persian Gulf Highway, Tehran, Iran.
Postal Code: 3319118651
Tel: +98 21 51212653
E-mail: fatimahajighasemi@gmail.com

Abstract

Received: 15 Feb. 2018 Revised: 22 Feb. 2018 Accepted: 30 Jul. 2018 Available online: 09 Aug. 2018

Background: Immunoglobulins are a group of proteins have important role in defense against microorganisms. Human immunoglobulins are divided into five classes: IgA, IgM, IgD, IgE and IgG. Immunoglobulin G (IgG) is the highest abundant antibody in serum and extravascular fluids. The extent of serum IgG is related to severity of several diseases such as infections, so IgG has great diagnostic worth. Accurate measurement of IgG, needs exact and sensitive diagnostic instruments such as human IgG- specific monoclonal antibodies. Moreover, targeting of IgG has been useful in treatment of a number of diseases. According to experimental studies the Fc region of human IgG is highly immunogenic. Immunoinformatic is a division of immunology uses the computational biology for more precise diagnosis of diseases. The aim of this study was determination of conformational epitopes in the fragment of crystallizable (Fc) fragment of human IgG by immunoinformatic.

Methods: The amino acid residues and third structure of reference human IgG were found in protein data bank (PDB). Second IgG structure was defined by Phyre2 software (http://www.sbg.bio.ic.ac.uk/~phyre2/). Conformational epitopes of the Fc fragment in human IgG were specified by ElliPro (http://tools.iedb.org/ellipro/) and DiscoTope (http://www.cbs.dtu.dk/services/DiscoTope) softwares.

Results: In this study two conformational epitopes (one in constant heavy chain 2 (CH2) domain and another one common between CH2 and CH3 domains) sited in Fc fragment of human IgG were determined by ElliPro software. Also, two conformational epitopes (Both common between CH2 and CH3 domains) located to Fc fragment of human IgG were determined by DiscoTope software.

Conclusion: In this study a number of conformational epitopes located to Fc fragment of human IgG were determined by two immunoinformatic softwares (ElliPro and DiscoTope). The epitopes recognized by both softwares were situated in CH2, CH3 or both of these domains in the human IgG heavy chain. Thus, it seems that CH2 and CH3 domains of Fc region in human IgG are highly immunogenic. Moreover, ElliPro and DiscoTope softwares can be useful tools for identification of epitopes located to Fc fragment of human IgG.

Keywords: epitopes, immunoglobulin G, immunology.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-07-02]