کاربری پروتیین‌های جدید در ساخت واکسن استافیلوکوکوس اورئوس

دکتر محمدرضا پورمند[*1]
پروفسور سایمون فوستر[2]

۱. گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
۲. گروه بیولوژی مولکولی ، دانشگاه شفیلد

چکیده

زمینه و هدف: به منظور یافتن راه حلی مناسب‌تر جهت درمان عفونت‌های ناشی از استافیلوکوکوس اورئوس، رویکردهای جدیدی به آنتی‌بادی درمانی و واکسیناسیون صورت گرفته است. این تلاش‌ها به دنبال افزایش روزافزون مقاومت استافیلوکوکوس اورئوس به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف، شدت گرفته است.

روش بررسی: با استفاده از روش‌های بیوانفورماتیک تلاش شد منطقه حفاظت شده‌ای ردیابی گردد که متأسفانه در تحقیقات گذشته بدان توجه نشده بود. در این مطالعه از NCBI/BLAST و TIGRجهت آنالیز ژنها استفاده شد.

یافته‌ها: در مطالعه حاضر خانواده ژنی جدیدی در استافیلوکوکوس اورئوس و اپیدرمیدیس پیدا شد که پروتئین‌های ناشی از این خانواده ژنی، در بخش C ترمینال با همدیگر مشابه بوده و ویژگی‌های نسبتاً یکسانی با هم دارند.

نتیجه‌گیری: مطالعات بیشتر در زمینه عرضه این بخش محافظت شده در خارج از سلول ممکن است منجر به تولید آنتی‌بادی‌های اختصاصی شده و ابزار مناسبی جهت واکسیناسیون را در اختیار قرار دهد .

کلمات کلیدی: استافیلوکوکوس اورئوس, واکسن, بیوانفورماتیک

* ***نشانی***: گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تلفن: ۸۸۹۷۳۹۰۱ ،

پست الکترونیک: mpourmand@tums.ac.ir

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-05-21]

مقدمه

مقاومت آنتی بیوتیکی استافیلوکوکوس اورئوس به پنی‌سیلین و متعاقب آن به متی‌سیلین و وانکومایسین [۱]، زمینه‌ساز چاره‌جویی برای یافتن راه‌حل‌های دیگری جهت درمان عفونت‌های ناشی از این پاتوژن, نظیر استفاده از آنتی‌بادی‌های اختصاصی و واکسیناسیون بوده است [۲، ۳].

واکنش دستگاه ایمنی در برابر میکروارگانیسم‌های پاتوژن، می‌تواند به صورت تولید آنتی‌بادی‌های اختصاصی باشد. یکی از روش‌های شناسایی این آنتی‌بادی‌ها استفاده از بیان مخزن‌های ژنی است. مطالعات پنج ساله اخیر پیرامون استافیلوکوکوس اورئوس، منجر به شناسایی تعدادی از پروتئین‌ها شده که قادر به تحریک سیستم ایمنی و تولید آنتی‌بادی‌های اختصاصی برعلیه آنها می‌باشند [۸-۴].

برخی از این تحقیقات در جستجو برای یافتن واکسن مناسبی برای عفونت‌های ناشی از استافیلوکوکوس اورئوس صورت گرفته‌اند [۵، ۶]. برخی از این پروتئین‌های ترشحی و یا مستقر در سطح باکتری، دارای بخش‌های هومولوگ می‌باشند. برای مثال تعداد ۶۰ پروتئین ایمونوژن به تنهایی در تحقیق Etz و همکاران وی شناسایی شده‌اند [۵].

با بررسی بعمل آمده در تحقیق حاضر، متوجه شدیم که چهار پروتئین شناسایی شده (SACOL0507, SACOL2581, SACOL0723, SACOL2291)، دارای بخش‌های هومولوگ می باشند. مطالعه حاضر با استفاده از روش‌های بیوانفورماتیک به معرفی و شناسایی دقیق خانواده جدید ژنی یا به عبارتی ۱۰پروتئین خانواده اسکا (Sca) می‌پردازد که ممکن است پتانسیل‌های لازم برای ساخت واکسن مناسبی برعلیه عفونت‌های ناشی از استافیلوکوکوس اورئوس را دارا باشند.

روش بررسی

مطالعه فوق با استفاده از کروموزوم استافیلوکوکوس اورئوس، با حدود ۲/۸ میلیون جفت باز که در پایگاه TIGR سکانس گردیده، صورت گرفته است. در بانک میکروبی TIGR، سویه مقاوم به متی سیلین که COL نامیده می‌شود، مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت [۹].

جهت ردیابی ژن‌های مورد مطالعه در گونه نزدیک به این پاتوژن، همزمان ژنوم استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس (ATCC 12228) که با ۲/۵ میلیون جفت باز توسط مرکز ملی ژنوم انسانی چین[1] در TIGR سکانس شده بود، مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت [۱۰].

پس از استخراج ردیف اسیدهای آمینه TIGR به کمک NCBI / BLAST، پروتئین‌های هومولوگ استخراج گردیدند. ضمناً بسته‌های نرم‌افزاری Align Plus 4 و Clone Manager 7 نیز جهت تأئید نتایج مورد استفاده قرار گرفتند.

یافته‌ها

تعداد ۱۰ پروتئین در استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس که در قسمت C ترمینال خود مشابه و دارای هومولوژی از ۳۸٪ تا ۶۰٪ می‌باشند شناسایی گردیدند. این پروتئین‌ها بنام آنتی‌ژن‌های حفاظت شده استافیلوکوکی[2] یا اسکا (Sca) نام‌گذاری گردیدند. براساس شماره لوکوس پروتئین‌های فوق و میزان هومولوژی در ۱۱۰ اسید آمینه بخش انتهایی C ترمینال، این پروتئین ها به نام‌های (J و I و H و G و F و E و D و C و B و Sca A) نام‌گذاری گردیدند (شکل ۱). همانگونه که در تصویر یک مشاهده می‌گردد، بیشترین هومولوژی در بخش C ترمینال با ۶۰٪ مربوط به ScaA و

1- Chinese National Human Genome Center
2- Staphylococcal Conserved Antigens

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-05-21]

کمترین هومولوژی مربوط به ScaH و Sca I با ۳۸٪ می‌باشد. سه عضو این خانواده جدید یعنی ScaB، ScaA و ScaE، دارای مناطق LysM می باشند که به پروتئین‌ها ویژگی اتصال به دیواره سلولی باکتری را می‌دهند [۱۱]. با استفاده از بانک اطلاعاتی Blast P، مشخص گردید که ScaA و ScaB استافیلوکوکوس اورئوس، به ترتیب دارای ۵۹٪ و ۷۰٪ هومولوژی با دو پروتئین SA0507 و SA0723 می‌باشند. براساس هومولوژی با ۱۱۰ اسید آمینه C ترمینال SA0723 مجموعه‌ای از ۹ پروتئین شناسایی شدند که از ۳۸٪ تا ۵۹٪ با هم هومولوژی دارند (شکل ۲). با بررسی دقیق‌تر می‌توان مشاهده کرد که دو خانواده پروتئینی Sca از استافیلوکوکوس اورئوس و اپیدرمیدیس دارای ویژگی‌های مشابهی در نقطه ایزوالکتریک (pI)، درصد هومولوژی و LysM و همچنین وجود Signal Peptide می‌باشند (جدول۱). بیشترین هومولوژی در پروتئین‌های ScaB و ScaG با ۷۰٪ و کمترین هومولوژی بین پروتئین‌های ScaI با ۳۸٪ در بین دو گونه مشاهده می‌شود.

جدول ۱- مقایسهٔ پروتئین های خانواده اسکا (Sca) در استافیلوکوکوس اورئوس و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس

S. epidermids MW(kDa), pI	*S. aureus* MW(kDa), pI	% identity	Signal peptide	LysM domain	Proposed name
SE2319 35, 10.3	SA0507 36, 9.99	59	√	√	ScaA
SE0433 28, 6.5	SA0723 28, 6.6	70	√	√	ScaB
SE1872 28, 8.6	SA2581 28, 8.26	55	√	-	ScaC
SE2124 28, 8.6	SA2291 29, 9.1	67	√	-	ScaD
SE0537 29, 4.1	SA0820 30, 10.6	46	√	√	ScaE
SE0870 18, 9.7	- -	-	√	-	ScaF
- -	SA0270 33, 6.3	-	√	-	ScaF
SE2108 17, 10.8	SA2557 17, 10.6	70	√	-	ScaG
SE2231 74, 4.7	SA2666 69, 6.3	63	√	-	ScaH
SE1489 39, 8.95	SA1576 38, 9.8	38	√	-	ScaI
SE1876 18, 5.03	-	-	√	-	ScaJ

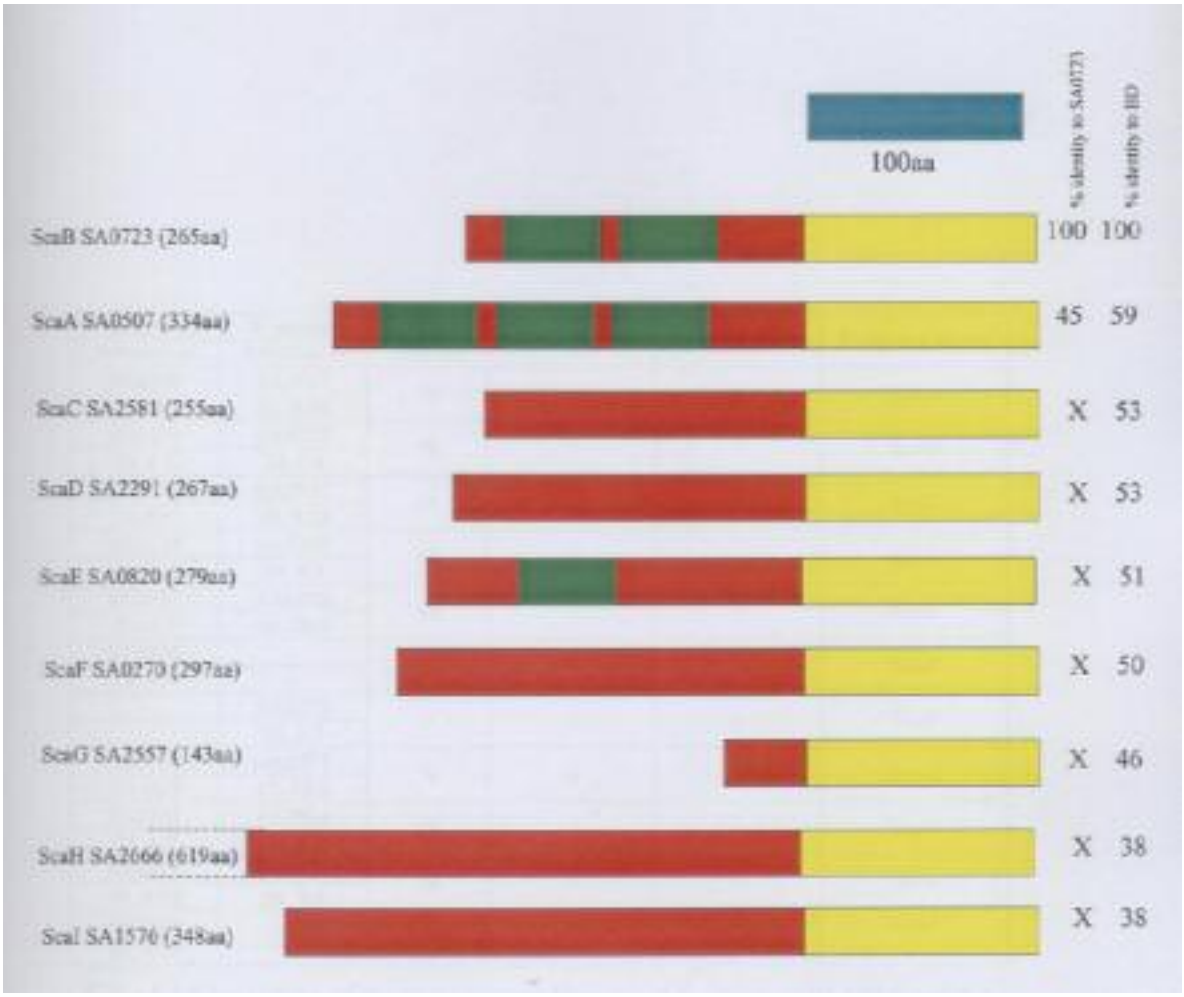
[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-05-21]

شکل ۱- تصویر شماتیک پروتئین‌های خانواده اسکا (Sca) در استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس.

در این تصویر ۱۱۰ اسیدآمینه بخش C ترمینال پروتئین‌ها به همراه بخش‌های LysM نمایش داده شده است . برای مثال ScaB دارای ۲ بخش LysM می باشد. علامت X به معنای برابر بودن هومولوژی پروتئین با بخش C ترمینال است.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-05-21]

شکل ۲- تصویر شماتیک پروتئین‌های خانواده اسکا (Sca) در استافیلوکوکوس اورئوس.



در این تصویر ۱۱۰ اسیدآمینه بخش C ترمینال پروتئین‌ها به همراه بخش‌های LysM نمایش داده شده است . برای مثال ScaB دارای ۲ بخش LysM می باشد. علامت X به معنای برابر بودن هومولوژی پروتئین با بخش C ترمینال است.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-05-21]

بحث

پروتئین‌های حاوی LPXTG، در یک خانواده پروتئینی در استافیلوکوکوس اورئوس به همین نام طبقه‌بندی گردیده‌اند و امروزه نقش این پروتئین‌ها در بیماریزایی روشن شده است [۱۲]. اعضای خانواده اسکا (Sca) در استافیلوکوکوس اورئوس و اپیدرمیدیس فاقد LPXTG در ردیف اسید آمینه‌ای خود می‌باشند، با این حال بدلیل وجود Signal Peptide در بخش N ترمینال همه پروتئین‌های اسکا (Sca)، ممکن است این پروتئین‌ها ترشحی و یا در سطح سلول باکتری عرضه شوند.

سازوکارهای مختلفی در باکتری‌های گرم مثبت مشاهده شده‌اند که پروتئین‌های سطح سلولی را توصیف می‌نمایند. برای مثال در استرپتوکوکوس پنومونی، ۲۰ اسید آمینه تکرار شونده، پروتئین LytA را به کولین تیکوئیک یا لیپوتکوئیک اسید متصل می‌کنند [۱۳]. در لیستریا، پروتئین In1B توسط توالی تکرار شونده بخش C ترمینال که حاوی GW است به اسیدهای لیپوتیکوئیک می چسبد [۱۴].

شاید بتوان خانواده اسکا (Sca) را به عنوان زیر مجموعه‌ای از خانواده بزرگ پروتئین MSCRAMMs لحاظ کرد [۱۵]. این خانواده، نقشی حیاتی در کلونیزه کردن استافیلوکوکوس اورئوس روی سلول‌های میزبان دارد. از آنجائی که استافیلوکوکوس اورئوس، یک پاتوژن خارج سلولی محسوب می شود که احتمالاً از سازوکارهای متعددی جهت چسبیدن به سلولهای میزبان برخوردار بوده و دارای راهبردهای متنوعی برای مقابله با میزبان می‌باشد.

به تازگی شناسایی لیگاندها و سازوکارهای مولکولی چسبندگی، ابعاد جدی در استافیلوکوکوس اورئوس و سایر گونه‌ها پیدا کرده است [۱۶]. برای مثال با استفاده از Blast می‌توان پی برد که خانواده اسکا (Sca) دارای یک منطقه (CHAP) می‌باشد که در هیدرولیز پپتیدوگلیکان نقش دارد [۱۷، ۱۸]. به همین دلیل پروتئین PcsB از گونه استرپتوکوکوس پنومونی شباهت بسیاری با اعضاء این خانواده داشته و همانطور که قبلاً نشان داده شده است، PcsB پروتئینی است که در تقسیم سلولی و حساسیت به آنتی بیوتیک‌ها نقش دارد [۱۹].

بدین ترتیب بنظر می‌رسد که ناحیه حفاظت شده‌ای در بین گونه‌های مختلف وجود دارد. مطالعات دقیقتر در آزمایشگاه می‌تواند به شناسایی نقش این منطقه محافظت شده در اتصال به سلول‌های میزبان کمک کرده و نقش اپی‌توپ‌های حفاظتی جهت واکسیناسیون بین گونه‌ای را آشکارتر سازد.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-05-21]

References

1. MMWR. Staphylococcus aureus Resistant to Vancomycin United States, 2002. *MMWR* 2002; 51 :565-7.
2. Josefsson E, Hartford O, O'Brien L, Patti JM, Foster T. Protection against experimental Staphylococcus aureus arthritis by vaccination with clumping factor A, a novel virulence determinant. *J Infect Dis* 2001; 184: 1572-80.
3. McKenney D, Pouliot KL, Wang Y, Murthy V, et al. Broadly protective vaccine for Staphylococcus aureus based on an in vivo-expressed antigen. *Science* 1999; 284: 1523-7.
4. Burnie JP, Matthews RC, Carter T, Beaulieu E, et al. Identification of an immunodominant ABC transporter in methicillinresistant Staphylococcus aureus infections. *Infect Immun* 2000; 68: 3200-9.
5. Etz H, Minh DB, Henics T, Dryla A, et al. Identification of in vivo expressed vaccine candidate antigens from Staphylococcus aureus. *Proc Natl Acad Sci* 2002; 99: 6573-8.
6. Weichhart T, Horky M, Sollner J, Gangl S, et al. Functional selection of vaccine candidate peptides from Staphylococcus aureus wholegenome expression libraries in vitro. *Infect Immun* 2003; 71: 4633-41.
7. Colque-Navarro P, Palma M, Soderquist B, Flock JI, Mollby R. Antibody responses in patients with staphylococcal septicemia against two Staphylococcus aureus fibrinogen binding proteins: clumping factor and an extracellular fibrinogen binding protein. *Clin Diagn Lab Immunol* 2000; 7: 14-20.
8. Vytvytska O, Nagy E, Bluggel M, Meyer HE, et al. Identification of vaccine candidate antigens of Staphylococcus aureus by serological proteome analysis. *Proteomics* 2002; 2: 580-90.
9. Gill SR, Fouts DE, Archer GL, Mongodin EF, et al. Insights on evolution of virulence and resistance from the complete genome analysis of an early methicillinresistant Staphylococcus aureus strain and a biofilm-producing methicillinresistant Staphylococcus epidermidis strain. *J Bacteriol* 2005; 187: 2426-38.
10. Zhang YQ, Ren SX, Li HL, Wang YX, et al. Genome-based analysis of virulence genes in a nonbiofilm-forming Staphylococcus epidermidis strain (ATCC 12228). *Mol Microbiol* 2003; 49: 1577-93.
11. Bateman A, Bycroft M. The structure of a LysM domain from E. coli membrane-bound lytic murein transglycosylase D (MltD). *J Mol Biol* 2000; 299: 1113-9.
12. Roche FM, Massey R, Peacock SJ, Day NP, et al. Characterization of novel LPXTG-containing proteins of Staphylococcus aureus identified from genome sequences. *Microbiology* 2003; 149: 643-54.
13. Holtje JV, Tomasz A. Specific recognition of choline residues in the cell wall teichoic acid by the N-acetylmuramyl-L-alanine amidase of Pneumococcus. *J Biol Chem* 1975; 250: 6072-6.
14. Jonquieres R, Bierne H, Fiedler F, Gounon P, Cossart P. Interaction between the protein InlB of Listeria monocytogenes and lipoteichoic acid: a novel mechanism of protein association at the surface of gram-positive bacteria. *Mol Microbiol* 1999; 34: 902-14.
15. Crossley KB, Archer G. The staphylococci in human disease. New York: Churchill Livingstone: 1997.
16. Ryan PA, Pancholi V, Fischetti VA. Group A streptococci bind to mucin and human pharyngeal cells through sialic acid-containing receptors. *Infect Immun* 2001; 69: 7402-12.
17. Bateman A, Rawlings ND. The CHAP domain: a large family of amidases including GSP amidase and peptidoglycan hydrolases. *Trends Biochem Sci* 2003; 28: 234-7.
18. Rigden DJ, Jedrzejas MJ, Galperin MY. Amidase domains from bacterial and phage autolysins define a family of gamma-D, L-gluta-mate-specific amidohydrolases. *Trends Bio-chem Sci* 2003; 28: 230-4.
19. Reinscheid DJ, Gottschalk B, Schubert A, Eikmanns BJ, Chhatwal GS. Identification and molecular analysis of PcsB, a protein required for cell wall separation of group B streptoco-ccus. *J Bacteriol* 2001; 183: 1175-83.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-05-21]

A novel bioinformatic approach for Staphylococcal Vaccine development

M. R. Pourmand[1*]
S. Foster [2]

1. Department of Pathobiology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
2. Department of Molecular Biology, University of Sheffield, UK.

Abstract

***Background*:** Staphylococcus aureus and Staphylococcus epidermidis are major human pathogens of increasing importance due to the spread of antibiotic resistance. Novel potential targets for therapeutic antibodies are products of staphylococcal genes expressed during human infection. Previously, the secreted and surface-exposed proteins among seroreactive antigens have been discovered. Furthermore, approximately 60 immunogenic proteins were identified and have shown that bacterial surface display is uniquely suited to assess the value of the antigenic epitope.
***Methods*:** Using a bioinformatic analysis, a novel gene family was identified in Staphylococcus aureus and S. epidermidis. NCBI (National Center for Biotechnology Information) BLAST and TIGR search were used for identification of the loci on Staphylococcal genomes.
***Results*:** The members of nine gene family from S. aureus based on a conserved C-terminal domain following an N-terminal domain which varies in sequence and length. Further Blast P searches for paralogues revealed the novel Sca gene family in S. epidermidis has also highly conserved 110 amino acid C-terminal domain. Thus the Sca family has a conserved domain across different genera.
Conclusion: Further studies to determine the role of the conserved Sca domain in ligand binding and demonstration of conserved epitope may establish the domain as a credible target for cross species vaccination.

***Keywords*:** Staphylococcus aureus, vaccine, bioinformatics

* School of public Health, Tehran university of medical sciences, Tehran, Iran, Tel: +98 (21) 88973901, E-mail: mpourmand@tums.ac.ir

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-05-21]