مجله علوم پزشکی رازی دوره ۲۹، شماره ۸، آبان ۱۴۰۱ http://rjms.iums.ac.ir

مقاله پژوهشی

تطبیق صفحات بتا با اپی توپ های پیش بینی شده توسط ایمونوانفورماتیک در مولکول IgG انسان

سهیلا روهانی: گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

فاطمه حاجی قاسمی: دانشیار، گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران (* نویسنده مسئول) fatimahajighasemi@gmail.com

چکیده

زمینه و هدف: آنتی‌بادی‌ها یا ایمونوگلوبولین‌ها [(immunoglobulins (Igs)]، توسط لنفوسیت‌های B تولید شده و برای تشخیص برخی بیماری‌ها شامل عفونت‌ها ارزشمند هستند. سنجش Igs نیازمند ابزارهای تشخیصی اختصاصی از جمله آنتی‌بادی‌های منوکلونال [monoclonal antibodies (MAbs)] بوده و تولید MAbs مستلزم تعیین اپی‌توپ‌های Igs ا ست. اپی‌توپ ناحیه‌ای از آنتی‌ژن ا ست که تو سط آنتی‌بادی شنا سایی می شود. صفحات بتا نقش مهمی در ایجاد اپیتوپ دارند. IgG فراوانترین Ig سرم بوده و نقش مهمی در دفاع علیه عوامل عفونی دارد. هدف این پژوهش شنا سایی صفحات بتا و تطبیق آنها با اپیتوپ های پیش بینی شده در IgG انسان توسط ایمونوانفورماتیک میباشد.

روش کار: توالی اسیدهای آمینه IgG مرجع انسان در پایگاه اطلاعاتی PDB (Protein Data Bank)، ساختار دوم IgG تو سط نرم افزار Phyre2 (Protein Homology/analogY Recognition Engine V 2.0) و محل قرار گیری صفحات بتا و اپیتوپهای IgG با استفاده از پایگاه داده IEDB (Immune Epitope Database) تعیین شدند.

یافته‌ها: ناحیه‌ای از IgG که بیشترین احتمال قرارگیری صفحات بتا را دارد، در زنجیره سبک در محدوده اسیدآمینه های ۱۵۰ تا ۱۷۵ و در زنجیره سنگین در محدوده ا سیدامینه‌های ۱۴۰–۱۳۰، ۱۷۰–۱۶۰ ،۲۰۰– ۱۹۰ ، ۲۴۵– ۲۲۰، ۴۱۰– ۳۷۵ و ۴۲۵–۴۲۰، قرار دارد. سه اپی‌توپ در زنجیره سبک در ناحیه بین ا سید آمینه‌های شماره ۱۶۰– ۱۵۰، ۱۷۵– ۱۶۰و ۲۰۵ -۱۸۰ و سه اپی‌توپ نیز در زنجیره سنگین در ناحیه بین اسید آمینه‌های شماره ۲۷۰– ۲۰۰ ، ۳۶۰– ۲۹۰ و۴۰۰– ۳۸۰ شناسایی شدند.

نتیجه‌گیری: غالب اپیتوپ های IgG انسان در نواحی از مولکول که بیشترین احتمال قرارگیری صفحات بتا هست، قرار گرفته‌اند که نمایانگر انطباق نسبتا بالای صفحات بتا با اپی‌توپ‌های IgG است. این یافته‌ها در شناسایی هرچه بهتر اعمال IgG، طراحی اپی‌توپ‌های ایمنی زا برای تولید MAbs اخت صا صی به هدف بهینه سازی کیت‌های ت شخی صی IgG و همچنین تولید پروتئین‌های مشابه جهت اهداف تشخیصی مفید هستند.

تعارض منافع: گزارش نشده است.

منبع حمایت‌کننده: حامی مالی ندارد.

کلیدواژه‌ها

B-sheets،

IgG،

اپی‌توپ،

ایمونوانفورماتیک

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۶/۱۲

تاریخ چاپ: ۱۴۰۱/۰۸/۱۴

شیوه استناد به این مقاله:

Rohani S, Hajighasemi F. Compatibility of B-Sheets with Epitopes Predicted by Immunoinformatic in Human IgG. Razi J Med Sci. 2022;29(8):166-177.

*انتشار این مقاله به‌صورت دسترسی آزاد مطابق با CC BY-NC-SA 3.0 صورت گرفته است.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-28]

Razi Journal of Medical Sciences. 2022;29(8):166-177. http://rjms.iums.ac.ir

Original Article

Compatibility of B-Sheets with Epitopes Predicted by Immunoinformatic in Human IgG

Soheila Rohani: Department of Immunology, Faculty of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran
Fatemeh Hajighasemi: Associate Professor, Department of Immunology, Faculty of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran (* Corresponding author) fatimahajighasemi@gmail.com

Abstract

Background & Aims: Antibodies, well-known as immunoglobulins (Igs), are produced by B lymphocytes and specifically defend against pathogens. Igs are glycoproteins and have high diagnostic value in several diseases including infections (1). Igs are composed of light and heavy chains (2, 3). Each chain is comprised of about 110-120 amino acid residues which create immunoglobulin folds named domains (4, 5). Domains play an important role in Igs biological functions. Every domain is included of two anti-parallel β-sheets. B-sheets play an important role in epitope formation because most of the epitopes are located in B-sheets (6, 7). Epitope/ antigenic determinant is a part of antigen recognized by antibody (8). For precise detections of Igs, diagnostic tools such as Igs- epitope specific monoclonal antibodies (MAbs) are needed (11). Therefore B-sheets are valuable tools in detection of proteins epitopes.
IgG is the highest Ig in serum and has vital role in defense against infections (12). For optimizing current IgG diagnostic tests, accurate determination of IgG-specific epitopes is extremely important (18). Immunoinformatic is a branch of immunology uses a large amount of computer-generated biological information to solve immunological problems and diagnosis of diseases faster and more accurate (19-21). Immunoinformatic has spread to almost all areas of immunology and has exceedingly facilitated understanding of immune responses and their role in disease and health. Accordingly immunoinformatic has provided novel research opportunities to study the molecular mechanisms of immunological processes and related diseases and thus provide more effective diagnostic and treatment strategies (24-26). As B-sheets play an important role in epitope formation (6, 7) and immunogenic epitopes are very useful tools for production of specific monoclonal antibodies against a molecule (11), we conducted this research for recognition of human IgG B-sheets with immunoinformatic method and study their compatibility with IgG epitopes.
Methods: The confirmed amino acid sequence of reference human IgG was determined with PDB data bank in http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do web site. The second structure of human IgG was obtained with Phyre2 (Protein Homology/analogy Recognition Engine V 2.0) software available on the http://www.sbg.bio.ic.ac.uk/phyre website. The location of B-sheets and epitopes in IgG was determined by the IEDB (Immune Epitope Database) at www.immuneepitope.org. Website.
Results: Figures 1 and 2 show the second structure of light and heavy chains of the human IgG molecule, respectively, obtained by phyre2 software. The IgG light and heavy chains second structure consists of alpha spirals and B-sheets.
Figures 3 and 4 show the location of B-sheets in light and heavy chains of the human IgG molecule obtained by IEDB software.
Most of the B-sheets in IgG molecules were located in 150 - 175 amino acid sequences of light chains and in 130-140, 160-170, 190-200, 220-245, 375-410 and 420-425 amino acid sequences of heavy chains respectively as was determined by IEDB software.
Three epitopes sited to constant domain of IgG light chain (CL) were predicted. These epitopes were located at 150-175 and 180-205 amino acid sequences of light chain. Also three epitopes situated to second and third constant domains of IgG heavy chain (CH2 and CH3) were predicted. These epitopes were located at 200-270, 290-360 and 380-400 amino acid sequences of heavy chain.

Keywords
B-Sheets,
Human IgG,
Immunoinformatic,
Epitope

Received: 03/09/2022
Published: 05/11/2022

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-28]

Based on the results of present study, 66% of human IgG light chain epitopes and 66% of human IgG heavy chain epitopes are situated at the IgG B-sheets locations. Also in present study, 91% of the amino acids forming B-sheets sited in the heavy chains of IgG molecule were located in the CH2 and CH3 domains and 100% of the human IgG heavy chain epitopes were located in the CH2 and CH3 domains

Conclusion: According to the results of this study, most of human IgG epitopes are located in regions of the molecule where B-sheets are most likely situated, indicating a relatively high compatibility of B-sheets with IgG epitopes.

Given that the B-sheets present in the second structure of proteins play an important role in epitope formation (6, 7), the occurrence of most human IgG epitopes (66%) at the location of B-sheets seems evident.

Moreover, according to the findings of the present study, a total of 91% of the amino acids forming B-sheets sited in the heavy chains of IgG molecule were located in the CH2 and CH3 domains and 100% of the human IgG heavy chain epitopes were located in the CH2 and CH3 domains. This again indicates the high compatibility of B-sheets with epitopes located on the heavy chain of the human IgG molecule.

The findings of our study are confirmed by Hajighasemi et al. study (31). In study of Hajighasemi et al. (31), about 91% of the linear epitopes located on the heavy chains of the IgG molecule, were situated in the CH2 and CH3 domains. Similarly, in our study 100% of human IgG heavy chain epitopes located on CH2 and CH3 domains.

Also the results of present study are confirmed by another research (36) in which all (100%) of spatial epitopes on fragment of crystallizable [Fc] component (part of heavy chains) of the human IgG molecule were located in CH3 and CH2 domains as were identified by DiscoTope and ElliPro immunoinformatic softwares. Similarly in the present study, 100% of IgG heavy chain epitopes were located in the CH2 and CH3 domains.

Moreover the results of another study performed by Rohani et al. (37) support the findings of current study. Rohani et al., reported that most of the areas with highest surface accessibility, hydrophilicity and flexibility, were situated in CH2 and CH3 domains of human IgG heavy chains. (37). According to our results, most of B-sheets are located in the CH2 and CH3 domains of human IgG heavy chains. As B-sheets are regions with high accessibility, hydrophilicity and flexibility (6), presence of most B-sheets in the CH2 and CH3 domains which are reported to be highly accessible, hydrophilic and flexible (37), is reasonable.

Furthermore, the high immunogenicity of B-sheets (39), once again confirms results of the present study. As immunogenicity plays an important role in epitope development, the high adaptation between the location of B-sheets and epitopes (shown in our study) which both are highly immunogenic, seems logical.

Besides since B-sheets play an important role in epitope formation(6, 7), the high compatibility between location of B-sheets and IgG epitopes (shown in present study) seems sensible.

Overall, presence the most of B-sheets and IgG epitopes in CL, CH2 and CH3 domains of human IgG, shows the high compatibility between location of B-sheets and epitopes in human IgG. These findings are precious tools not only for prediction of IgG immunogenic epitopes in order to producing specific monoclonal anti IgG antibodies to optimize current human IgG diagnostic kits but also for more exact detection of IgG functions. Moreover our results are helpful in producing of similar proteins for diagnostic and therapeutic aims, structure- function relationships and phylogenic studies.

Conflicts of interest: None
Funding: None

Cite this article as:

Rohani S, Hajighasemi F. Compatibility of B-Sheets with Epitopes Predicted by Immunoinformatic in Human IgG. Razi J Med Sci. 2022;29(8):166-177.

*This work is published under CC BY-NC-SA 3.0 licence.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-28]

مقدمه

آنتی بادی ها (ایمونوگلوبولین ها immunoglobulins (Igs)) یکی از اجزاء اصلی دفاع اختصاصی بدن در برابر عوامل بیگانه به شمار می‌روند (۱). Igs ساختار گلیکوپروتئینی دا شته و از زنجیره‌های سبک و سنگین تشکیل شده‌اند (۲ ، ۳). هر کدام از زنجیره‌های سبک و سنگین، دارای نواحی متغیر و ثابت هستند و از واحدهای چین خورده کروی شکل به طول تقریبی ۱۱۰-۱۲۰ اسید امینه تشکیل شده اند که دومین‌های ایمونوگلوبولین (Domains) نامیده می‌شوند. هردومین از دو لایه از صفحات چین خورده بتا حاوی سه تا پنج زنجیره پلی پپتیدی موازی وناهمسو تشکیل شده است . این دو لایه توسط یک پل دی سولفیدی در کنار هم نگه داشته شده‌اند (۴ ، ۵). صفحات بتا ساختار دوم پروتئینها را تشکیل می‌دهند. ساختار دوم هر پروتئین نقش مهمی در عملکردهای بیولوژیک آن دارد و طبق مطالعات موجود، اکثراپی توپ های موجود در پروتئین‌ها از جمله ایمونوگلوبولین‌ها در صفحات بتا که جزیی ازساختار دوم این مولکولهاست قرار دارند. بنابراین صفحات بتا نقش مهمی در ایجاد اپیتوپ دارند (۶ ، ۷) و ابزار با ارزشی در گزینش مناطق بالقوه برای اپی توپ بودن درهر پروتئین هستند. زمانی که ساختارهای سه بعدی آنتی ژنیک پروتئین‌ها بهتر شناخته شد، روش های پیش بینی اپی توپ سلول‌های B بر پایه ساختار دوم ودر نهایت ساختار سوم پروتئین‌ها پایه گذاری شد. اپی توپ بخشی از مولکول انتی ژن است که توسط آنتی بادی شناسایی میشود(۸). تشخیص دقیق و اختصاصی یک مولکول نیازمند ابزار هایی شناسایی اختصاصی دارای حساسیت و ویژگی بالا از جمله آنتی بادی‌های منوکلونال می‌باشد (۹، ۱۰). جهت تولید آنتی بادیهای منوکلو نال اختصاصی شناسایی کننده یک مولکول، تعیین اپیتوپهای ایمونوژن آن بسیار سودمند ا ست (۱۱). تشخیص و سنجش دقیق Igs که مولکولهای دفاعی مهم بدن هستند از اهمیت ویژه ای برخوردار است. در انسان بر اساس اختلاف در ا سیدهای امینه ناحیه ثابت زنجیره سنگین، پنج کلاسIgs شنا سایی شده اند که فراوانترین آنهادر سرم، ایمونوگلوبولین G (IgG) ا ست (۱۲). بین سطح IgG سرم و شدت چندین بیماری شامل نقائص ایمنی و بیماریهای عفونی ارتباط معنی داری وجود دارد (۱۵-۱۳). لذا IgG از ارزش تشخیصی خاصی برخوردار است (۱۶، ۱۷). برای بهینه سازی آزموهای تشخیصی IgG، تعیین دقیق اپی توپ های اختصاصی IgG از اهمیت فوق العاده ای برخورداراست (۱۸). ایمونوانفورماتیک، شاخه ای از دانش ایمونولوژی است که از حجم زیادی از اطلاعات زیستی گرد آوری شده در کامپیوتر برای حل مشکلات ایمونولوژیک ا ستفاده کرده و به تشخیص سریعتر و بهتر بیماری ها کمک می کند (۲۱-۱۹). ایمونوانفور ماتیک، از کامپیوتر به عنوان آز مایشگاه استفاده کرده و داده های حاصل از تحقیقات تجربی ذخیره شده در کامپیوتر را د سته بندی و با برنامه های کامپیوتری آنالیزو داده کاوی می کند(۲۲ , ۲۳). ایمونوانفور ماتیک تقریبا در کلیه حوزه های ایمنی شنا سی گسترش یافته و به درک عمیق تر پا سخ های ایمنی و نقش آنها در بیماری‌ها و سلامت کمک کرده است. این علم فرصت‌های پژوهشی بدیعی جهت بررسی و شناخت و تشخیص دقیق تر مکانیسمهای مولکولی فرآیندهای ایمونولوژی و بیماریهای مرتبط و در نتیجه ارایه راهکارهای درمانی موثرتر فراهم نموده است (۲۶-۲۴).

حاجی قاسمی و همکاران درطی چندین مطالعه آزمایشگاهی، با تولید آنتی بادیهای منوکلونال علیه IgG انسان در موش و بررسی ویژگیهای آنتی بادیهای منوکلونال مذکور، اپیتوپهای اختصاصی ایدیوتیپها، ایزوآلوتیپ‌ها، کلاس یا زیرکلاسهای IgG انسان را معرفی کرده‌اند (۳۰-۲۷). در مطالعات حاجی قاسمی و همکاران چهار اپیتوپ اختصاصی همه زیرکلاسهای IgG (۲۹) و دو اپیتوپ خطی اختصاصی زیرکلاس IgG3(۳۰) معرفی شده اند. در مطالعات مذکور کلیه اپیتوپهای اخت صا صی IgG یا زیرکلا سهای آن دربخش Fc مولکول IgG که شامل دومینهای CH2 و CH3 میباشد، واقع شده بوده‌اند (۲۹ و ۳۰).

دریک مطالعه بعمل آمده توسط حاجی قاسمی و همکاران (۳۱) با استفاده از نرم افزار IEDB ، مهمترین اپیتوپ‌های خطی IgG انسان در ناحیه ا سیدآمینه های ۱۶۰ تا ۱۷۵ در دومین ثابت زنجیره سبک [Constant Light (CL)] واقع شده بودند. همچنین در مطالعه مذکور، تقریبا ۹۱٪ اپی توپ‌های خطی واقع بر

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-28]

زنجیره‌های سنگین مولکول IgG در دومین‌های CH2 و CH3 قرار داشتند و ۵ اپی توپ شاخص در دومین CH3 قرار گرفته بودند (۳۱). با توجه به اینکه دومینها از صفحات بتا تشکیل شده اند و صفحات بتا نقش مهمی در ایجاد اپیتوپ دارند (۶، ۷) و اپیتوپ‌های ایمونوژن جزء ابزارهای بسیار مفیدی جهت تولید آنتی بادیهای منوکلونال اختصاصی شناسایی کننده یک مولکول بشمار می‌روند (۱۱)، هدف این مطالعه استفاده از ایمونوانفورماتیک برای شناسایی صفحات بتا و تطبیق اپی توپ های پیش بینی شده توسط ایمونوانفورماتیک در مولکول IgG انسان با صفحات بتا موجود در آن به منظور طراحی و بهینه سازی تست‌های تشخیصی IgG انسان مشتمل بر کیت های تشخیصی IgG می‌باشد.

روش کار

۱- ثبت توالی تائید شده اسید های آمینه زنجیره‌های پپتیدی سبک و سنگین ایمونوگلوبولین G انسان به وسیله بانک داده NCBI (National Center for Biotechnology Information)

توالی‌های اسیدهای آمینه تائید شده زنجیره های پپتیدی سبک و سنگین IgG انسان با استفاده از بانک داده NCBI به آدرس اینترنتی http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ مشخص شدند (۳۲). در این بانک داده، ۲ توالی مرجع با کد شناسایی 1IGT برای IgG بدست آمد که هر کدام مربوط به یکی از زنجیره های پپتیدی سبک و سنگین مولکول IgG می‌باشند. این توالی‌ها به کمک کریستالوگرافی با استفاده از روش‌های آزمایشگاهی تعیین شده‌اند.

۲- تعیین ساختار دوم IgG انسان با استفاده از نرم افزار Protein Homology/analogy Phyre2 (Recognition Engine V 2.0)

ساختار دوم IgG انسان برای توالی اسیدآمینه ای مرجع با کد دسترسی 1IGT با استفاده ازنرم افزار Phyre2 که در وبگاه ذیل http://www.sbg.bio.ic.ac.uk/phyre در دسترس می‌باشد (۳۳) بدست آمد. این ساختارها از طریق بررسی‌های آزمایشگاهی و کریستالوگرافیک تعیین شده و از مارپیچ‌های آلفا و صفحات بتا تشکیل شده‌اند.

۳- تعیین محل قرارگیری صفحات بتا در زنجیره‌های سبک و سنگین مولکول IgG انسان با استفاده از پایگاه داده IEDB (Immune Epitope Database)

محل قرار گیری صفحات بتا در زنجیره های سبک و سنگین مولکول IgG انسان با استفاده از پایگاه داده IEDB در آدرس اینترنتی ذیل www.immuneepitope.org تعیین شد (۳۴ و ۳۵).

۴- پیش بینی اپیتوپ‌هایIgG انسان با استفاده از نرم افزار Bepipred موجود در پایگاه Database Epitope Immune (IEDB)

پیش بینی اپیتوپ‌های مولکول ایمونوگلوبولین G انسان با استفاده از نرم افزارBepipred موجود در پایگاه IEDB در آدرس اینترنتی ذیل www.immuneepitope.org انجام شد.

یافته‌ها

۱: تعیین ساختار دوم زنجیره‌های سبک و سنگین مولکول IgG انسان توسط نرم افزار phyre2

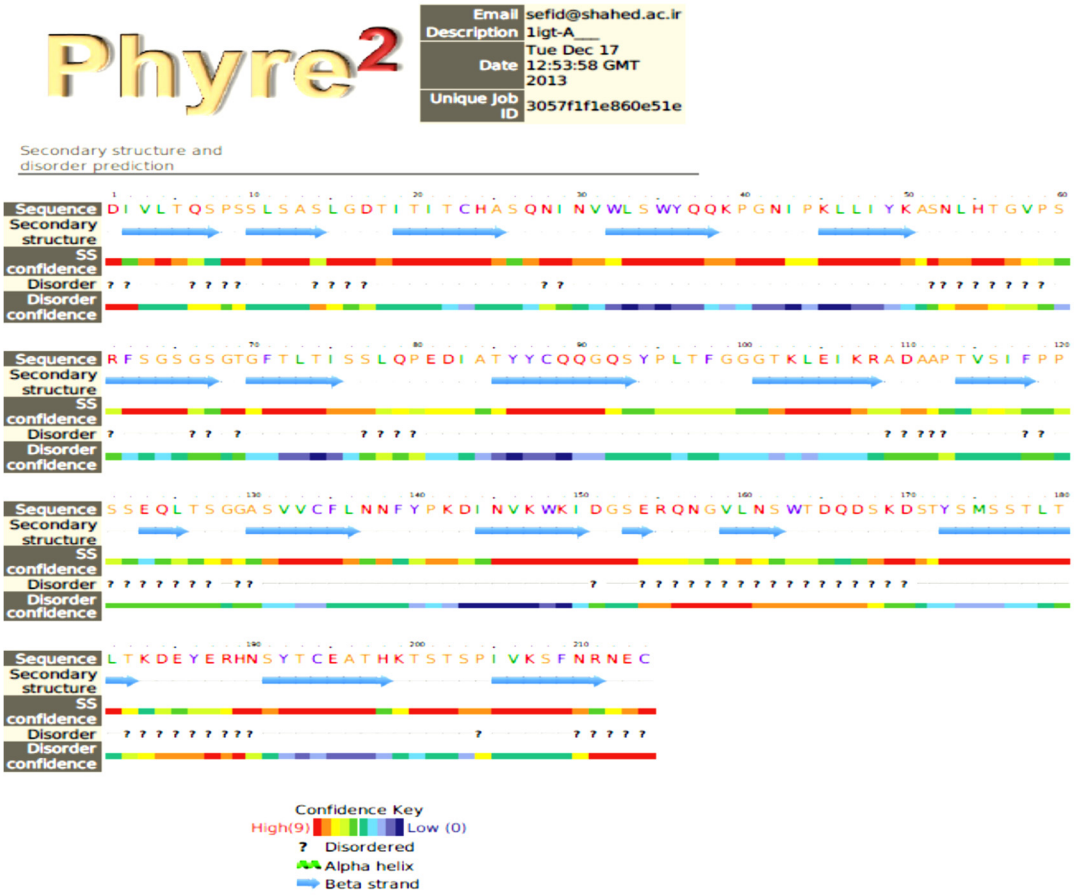
شکل‌های ۱و۲ به ترتیب ساختار دوم زنجیره‌های سبک و سنگین مولکول IgG انسان را نشان می‌دهند که توسط نرم افزار phyre2 به دست آمده اند. ساختار دوم ازمارپیچ های آلفا و صفحات بتا تشکیل شده است.

۲: تعیین محل قرارگیری صفحات بتا در زنجیره‌های سبک و سنگین مولکول IgG انسان با استفاده از پایگاه داده IEDB

شکل‌های ۳و۴ به ترتیب احتمال محل قرار گیری صفحات بتا در زنجیره‌های سبک و سنگین مولکول IgG انسان را نشان می‌دهند که با استفاده از پایگاه داده IEDB بدست آمده است.

همان گونه که در شکل۳ مشاهده می شود، ناحیه‌ای از زنجیره‌ی سبک مولکول IgG انسان که بیشترین احتمال قرارگیری صفحات بتا در آن وجود دارد، در محدوده اسیدآمینه‌های ۱۵۰ تا ۱۷۵ قرار دارد. زیرا بالاترین امتیاز (Score) مربوط به این ناحیه است. این منطقه در دومین ثابت (Constant domain) زنجیره سبک واقع شده است.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-28]



شکل ۱- ساختمان دوم زنجیره سبک IgG انسان که توسط نرم افزار phyre 2 به دست آمده است. در شکل صفحات بتا با پیکان آبی رنگ و مارپیچ های آلفا با رنگ سبز نشان داده شده اند.

همان گونه که در شکل ۴ مشاهده می‌شود، نواحی از زنجیره‌ی سنگین مولکول IgG انسان که بیشترین احتمال قرارگیری صفحات بتا در آن وجود دارد، در محدوده اسیدآمینه‌های ۱۳۰ تا ۱۴۰، ۱۶۰ تا ۱۷۰، ۱۹۰ تا ۲۰۰ ، ۲۲۰ تا ۲۴۵، ۳۷۵ تا ۴۱۰ و ۴۲۰ تا ۴۲۵ قرار دارند. زیرا امتیاز های بالاتر مربوط به این نواحی است. این مناطق در دومین‌های ثابت (Constant domains) زنجیره سنگین واقع شده‌اند که محدوده ۲۲۰ تا ۲۵۰ از بقیه برجسته‌تر است.

۴- پیش بینی اپیتوپ‌های IgG انسان با استفاده از نرم افزار Bepipred

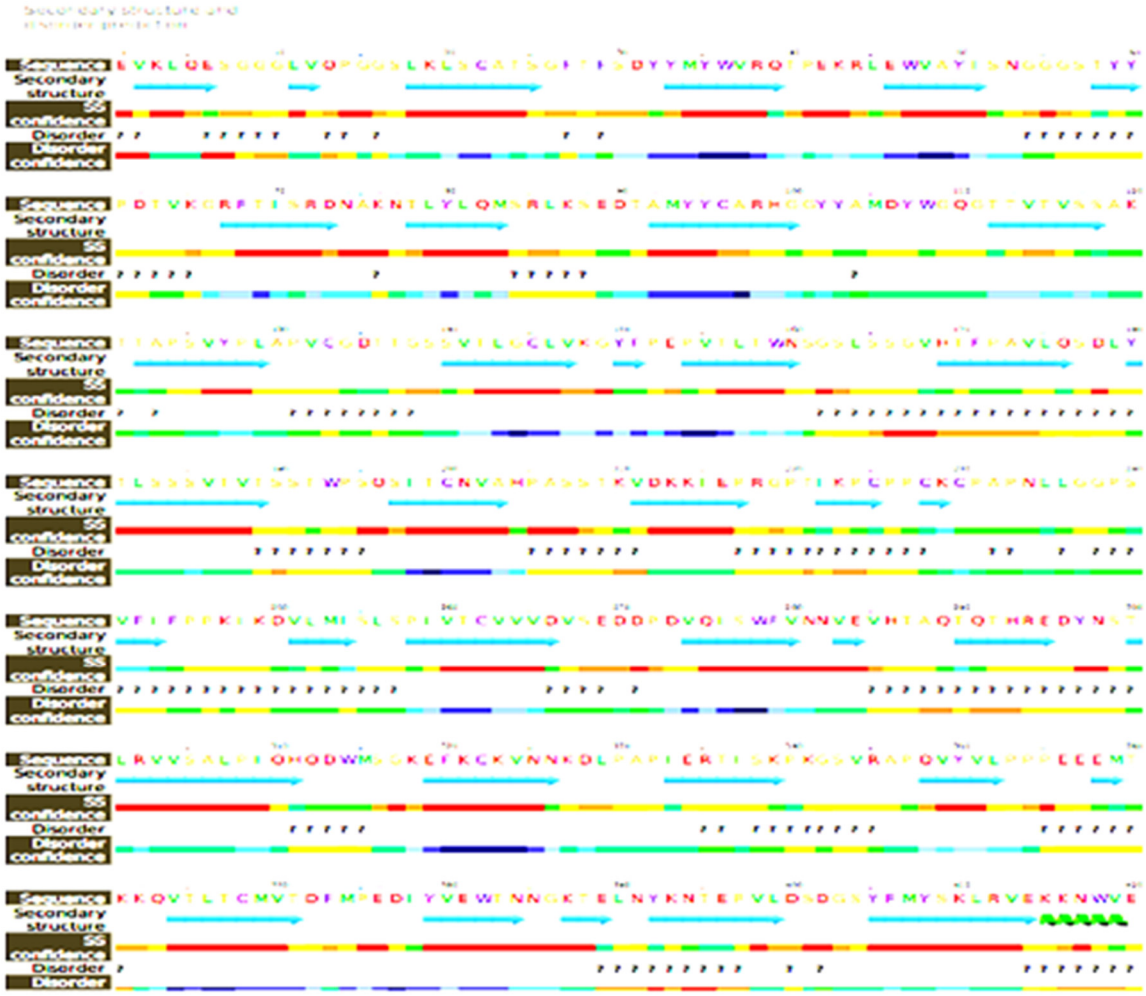
جدول ۱ اپی توپ‌های خطی IgG انسان پیش گویی شده توسط نرم افزارBepipred را نشان می‌دهد.

طبق نتایج بدست آمده از نرم افزار Bepipred که در جدول شماره ۱ نمایش داده شده ا ست، اپی توپ‌های زنجیره سبک IgG انسان در ناحیه بین اسید آمینه‌های شماره ۱۵۰ تا ۱۷۵و ۱۸۰ تا ۲۰۵ [دومین ثابت زنجیره سبک (CL)] واقع شده‌اند. همچنین در زنجیره سنگین IgG انسان، اپی توپ‌ها در ناحیه بین اسید آمینه های شماره ۲۰۰ تا ۲۷۰ (دومین CH2)، ۲۹۰ تا ۳۶۰ (دومین‌های CH2 وCH3) و ۳۸۰ تا ۴۰۰ (دومین CH3) قرار دارند.

بحث

بر اساس نتایج حاصل از این پژوهش، بیشترین صفحات بتا در زنجیره سبک IgG انسان، در محدوده اسیدآمینه‌های شماره ۱۵۰ تا ۱۷۵ و در زنجیره سنگین در محدوده اسیدامینه های ۱۳۰ تا ۱۴۰، ۱۶۰ تا۱۷۰

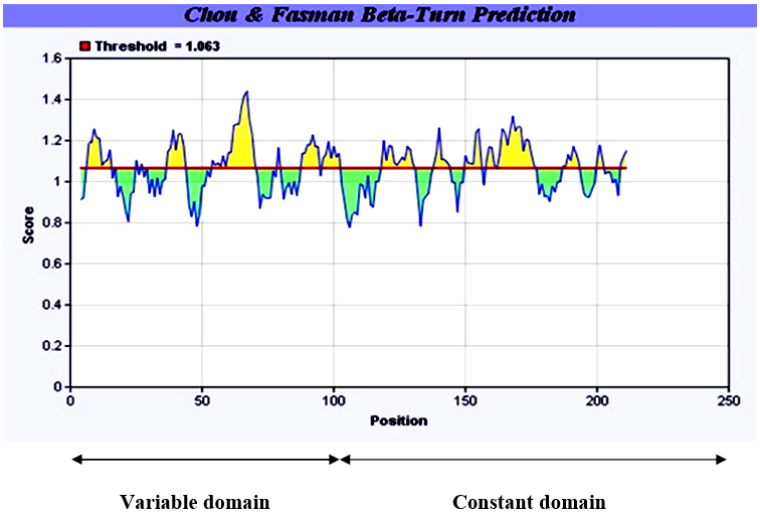
[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-28]



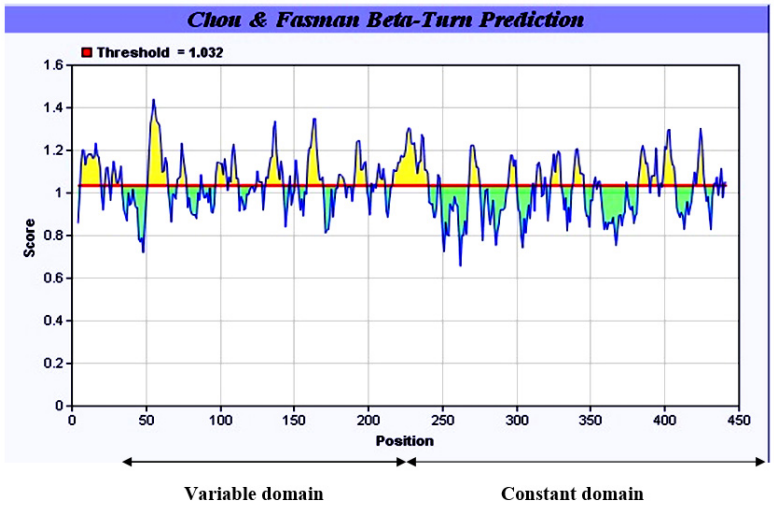
شکل ۲- ساختمان دوم زنجیره سنگین IgG انسان که توسط نرم افزار phyre 2 تعیین شده است. در شکل صفحات بتا با پیکان آبی رنگ و مارپیچ های آلفا با رنگ سبز نشان داده شده اند.

۱۹۰، ۲۰۰ تا ۲۲۰ ، ۲۵۰ تا ۳۷۵ تا ۴۱۰ و۴۲۰ تا ۴۲۵ قرار دارند که محدوده ۲۲۰ تا ۲۵۰ از سایرین برجسته تر است. همچنین بر اساس نتایج حاصل از مطالعه حاضر، اپی توپ‌های زنجیره سبک در ناحیه بین اسید آمینه‌های شماره ۱۵۰ تا ۱۷۵و ۱۸۰ تا ۲۰۵ [دومین ثابت زنجیره سبک (CL)] واقع شده اند و اپیتوپ های زنجیره سنگین در ناحیه بین اسید آمینه‌های شماره ۲۰۰ تا ۲۷۰ (دومین CH2)، ۲۹۰ تا ۳۶۰ (دومین‌های CH2 وCH3) و ۳۸۰ تا ۴۰۰ (در دومین CH3) قرار دارند. بر اساس این نتایج، ۶۶٪ اپیتوپ های زنجیره سبک و همینطور ۶۶٪ اپیتوپ‌های زنجیره سنگینIgG انسان، در محل قرارگیری صفحات بتا واقع شده‌اند. با توجه به اینکه صفحات بتا موجود در ساختار دوم پروتئین‌ها نقش مهمی در ایجاد اپیتوپ دارند (۶، ۷)، واقع شدن اکثر اپیتوپ های زنجیره سبک و سنگین IgG انسان (۶۶٪) در نواحی از زنجیره ها که بیشترین صفحات بتا وجود دارد، منطقی به نظر میرسد و این مطلب نمایانگر تطابق نسبتا بالای صفحات بتا با اپی‌توپ های واقع بر مولکول IgG است. نتایج این مطالعه در توافق با یافته های مطالعه حاجی قاسمی و همکاران (۳۱) میباشد. زیرا طبق نتایج مطالعه مذکور، ۵۰٪ از اپی توپ های واقع بر زنجیره سبک مولکول

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-28]



شـــکل ۳- محل قرار گیری صـــفحات بتا در زنجیره ســـبک مولکول IgG انســـان که با اســـتفاده از پایگاه داده IEDB Immune Epitope (Database) تعیین شده است. نواحی از زنجیره ی سبک که بیشترین احتمال قرارگیری صفحات بتا در آن وجود دارد نشان داده شده است. این نواحی، مناطقی از مولکول هستند که امتیاز (score) اختصاص داده شده به آن توسط نرم افزار بالاتر از حد آستانه ی تعیین شده (نواحی زرد رنگ) وبالای خط قرمز می باشد. هر چه یک اسید آمینه یا بخشی از توالی یک زنجیره score بالاتری داشته باشد احتمال قرار گیری صفحات بتا در آن توالی بیشتر است.



شـــکل ۴- محل قرار گیری صـــفحات بتا در زنجیره ســـنگین مولکول IgG انســـان که با اســـتفاده از پایگاه داده IEDB Immune Epitope (Database) تعیین شده است. نواحی از زنجیره سنگین که بیشترین احتمال قرارگیری صفحات بتا در آنها قرار دارد نمایش داده شده است. این نواحی از مولکول همان مناطقی هستند که score اختصاص داده شده به آنها توسط نرم افزار بالاتر از حد آستانه ی تعیین شده (نواحی زرد رنگ) و بالای خط قرمز می باشد. هر چه یک اسید آمینه یا بخشی از توالی یک زنجیره score بالاتری را دارا باشد احتمال قرار گیری صفحات بتا در محل آن توالی اسید آمینه ای زنجیره بیشتر است.

IgG انســـان و مهمترین اپیتوپهای خطیIgG زنجیره سبک انسان در محدوده اسیدآمینه های شماره ۱۵۰ تا ۱۷۵ واقع شـده اند (۳۱) و مطابق نتایج مطالعه حاضـر، توالی مذکور دارای بیشترین صفحات بتا میباشد.

همچنین بر اســـاس نتایج مطالعه حاجی قاســـمی و همکاران (۳۱)، ۵۰٪ از اپی توپ های واقع بر زنجیره سنگین مولکول IgG انسان در موقعیت اسیدآمینه های شـــماره‌های ۱۳۰ تا ۱۴۰، ۲۲۰ تا ۲۵۰ و ۳۷۵ تا ۴۱۰ واقع شـــده اند (۳۱) و مطابق نتایج مطالعه حاضـــر، توالیهای مذکور دارای بیشترین صفحات بتا میباشند که نشـــان دهنده انطباق نســـبتا بالای صـــفحات بتا با اپی توپ‌های واقع بر زنجیره ســـنگین مولکول IgG **از سان**

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-28]

جدول ۱- اپی‌توپ‌های خطی IgG انسان پیش بینی شده توسط نرم افزار Bepipred

	زنجیره سنگین	زنجیره سبک
موقعیت اسیدهای آمینه	۲۰۰-۲۷۰	۱۵۰-۱۶۰
	۲۹۰-۳۶۰	۱۶۰-۱۷۵
	۳۸۰-۴۰۰	۱۸۰-۲۰۵

است

بعلاوه طبق یافته‌های پژوهش حاضر، در مجموع ٪۹۱ ازاسیدآمینه های تشکیل دهنده صفحات بتای واقع شده در زنجیره های سنگین مولکول IgG ، در دومینهای CH2 و CH3 قرار داشتند و ٪۱۰۰ اپیتوپ‌های زنجیره سنگینIgG انسان نیز در دومینهای CH2 و CH3 واقع شده بودند که خود بیانگر تطابق بالای صفحات بتا با اپی توپ های واقع بر زنجیره سنگین مولکول IgG انسان است.

نتایج پژوهش حاضر توسط یک مطالعه دیگر نیز تایید می‌شود (۳۶). در پژوهش فوق الذکر تعدادی از اپیتوپ‌های فضایی بخش fragment of crystallizable (Fc) جزء دارای قابلیت کریستالیزاسیون)] مولکول IgG انسان توسط دو نرم افزار DiscoTope و ElliPro شناسایی شده‌اند که همگی در دُومین‌های CH3 و CH2 زنجیره سنگین مولکولIgG واقع شده بودند. با توجه به اینکه در مطالعه حاضر، ٪۹۱ از اسیدآمینه های موجود در صفحات بتا واقع شده در زنجیره های سنگین مولکول IgG در دومینهای CH2 و CH3 قرار داشتند، یکبار دیگر انطباق بالای صفحات بتا با اپی توپ های واقع بر زنجیره سنگین مولکول IgG انسان تایید میشود.

نتایج یک مطالعه دیگر بعمل آمده توسط روهانی و همکاران (۳۷)، نیز یافته های پژوهش اخیر را تایید می‌کنند. بر اساس نتایج مطالعه مذکور، در بخش Fc مولکول IgG انسان، درصد نسبتا بالایی از نواحی دارای بیشترین میزان دسترسی سطحی، آبدوستی و انعطاف پذیری فضایی، در دومین های CH2 و CH3 زنجیره‌های سنگین IgG انسانی قرار دارند. با توجه به نتایج مطالعه حاضر، بیشتر صفحات B نیز در دومین های CH2 و CH3 زنجیره‌های سنگین IgG انسانی قرار دارند. از آنجایی که صفحات B مناطقی با قابلیت دسترسی ، آب دوستی و انعطاف پذیری بالا (۶) هستند، وجود بیشتر صفحات B در حوزه های CH2 و CH3 که بسیار قابل دسترس، آبدوست و انعطاف پذیر گزارش شده‌اند (۳۷)، منطقی است.

بعلاوه نظر به اینکه ویژگیهای فیزیکو شیمیایی شامل میزان دسترسی سطحی، آبدوستی و انعطاف پذیری فضایی اسیدهای آمینه (۳۸) و وجود صفحات بتا (۶، ۷) نقش مهمی در ایجاد اپیتوپ دارند، همپوشانی این نواحی با یکدیگر بدیهی به نظر میرسد. از طرفی قدرت ایمنی زایی بالای صفحات بتا (۳۹)، بار دیگر نتایج مطالعه حاضر مبنی بر انطباق بالای اپیتوپ های پیش بینی شده توسط ایمونوانفورماتیک در مولکول IgG انسان با موقعیت قرارگیری صفحات بتا را تایید میکند. چرا که هر چه قدرت ایمنی زایی یک ناحیه از مولکول بالاتر باشد، توانایی آن در تحریک سیستم ایمنی نیز بیشتر بوده و می‌تواند اپیتوپ مناسب تری برای تحریک تولید آنتی بادی‌های اختصاصی باشد (۴۰) و در نتیجه می‌توان از آن برای بهینه سازی تستهای تشخیصی مربوطه استفاده کرد. بنابراین اپیتوپ‌ها و صفحات بتا، هر دو دارای قدرت ایمنی زایی بالایی هستند و انطباق بالای اپیتوپ های پیش بینی شده در این مطالعه با صفحات بتا منطقی و قابل درک است.

در چندین مطالعه انجام شده توسط حاجی قاسمی و همکاران، تعداد معتنابهی از اپی توپ‌های اختصاصی مولکول IgG انسان شناسایی شده‌اند (۲۷-۳۰). در مطالعات حاجی قاسمی و همکاران چهار اپیتوپ اختصاصی همه زیرکلاسهای IgG (۲۹) و دو اپی توپ اختصاصی زیر کلاس IgG3 (۳۰) معرفی شده اند. در مطالعات مذکور کلیه اپیتوپ‌های اختصاصی IgG یا زیرکلاس آن (IgG3) در بخش Fc مولکول IgG که شامل دومینهای CH2 و CH3 میباشد، واقع شده بوده‌اند (۲۹ و ۳۰). با توجه به اینکه اکثر صفحات بتا شناسایی شده در مطالعه حاضر، در دومینهای CH2 و

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-28]

CH3 از زنجیره های سنگین مولکول IgG قرار داشتند، وجود تعداد زیادی اپی توپ اختصاصی IgG در ناحیه Fc (دومین‌های CH2 و CH3) مولکول IgG که در مطالعات حاجی قاسمی و همکاران معرفی شده اند (۲۷-۳۰)، بار دیگر تایید برنتایج مطالعات حاضر و میزان انطباق بالای صفحات بتا با اپیتوپ های پیش بینی شده توسط ایمونوانفورماتیک در مولکول IgG انسان میباشد.

در مجموع در این مطالعه موقعیت صفحات بتا و اپیتوپ‌های زنجیره‌های سبک و سنگین مولکول IgG انسان توسط نرم افزارهای بیوانفورماتیکی شناسایی با یکدیگر انطباق داده شدند. بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه، اپی توپ‌های ایمونوژن IgG انسان تا حد زیادی با صفحات بتای واقع بر زنجیره های سبک و سنگین مولکول IgG مطابقت و همپوشانی دارند.

نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه اخیر نه تنها درشناسایی هرچه بهتر اعمال مولکولIgG مفید خواهند بود بلکه در پیش بینی اپی‌توپهای ایمنی زای IgG انسان برای تولید آنتی بادی های منوکلونال اختصاصی به هدف طراحی کیت‌های تشخیصی IgG و بهینه سازی تستهای تشخیصی موجود و همچنین تهیه و تولید پروتئینهای مشابه جهت اهداف تشخیصی و درمانی مفید هستند. همچنین نتایج این پژوهش می‌توانند برای بررسی‌های ارتباط ساختمان و عملکرد پروتئین ها و همچنین تحقیقات فیلوژنتیکی مورد استفاده قرار گیرند.

در این مطالعه، موقعیت صفحات بتا و همچنین اپیتوپ‌های واقع بر مولکول IgG انسان توسط ایمونوانفورماتیک پیش بینی و تعیین شد. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که اکثر اپیتوپ‌های آنتی بادی IgG انسان، در نواحی از مولکول که بیشترین صفحات بتا وجود دارد، قرار گرفته‌اند. این مطلب نمایانگر تطابق نسبتا بالای صفحات بتا با اپی توپ‌های واقع بر مولکول IgG است. با توجه به اینکه صفحات بتا موجود در ساختار دوم پروتئینها نقش مهمی در ایجاد اپیتوپ دارند، انطباق بالای صفحات بتا با اپیتوپها منطقی و قابل درک است. یافته های مطالعه اخیر نه تنها درشناسایی هرچه بهتر اعمال مولکول IgG مفید خواهند بود بلکه می‌توانند در طراحی و تهیه اپیتوپهای ایمنی زای IgG انسان برای تولید آنتی بادی های منوکلونال اختصاصیIgG انسان به هدف بهینه سازی کیتهای تشخیصی IgG موجود و همچنین تهیه و تولید پروتئینهای مشابه جهت اهداف تشخیصی مورد استفاده قرار گیرند. بعلاوه نتایج این پژوهش برای مطالعات ارتباط ساختمان- عملکرد پروتئین ها و همچنین تحقیقات فیلوژنتیکی سودمند خواهند بود.

تقدیر و تشکر

این مقاله ماحصل قسمتی از پایان نامه خانم دکتر سهیلا روهانی تحت عنوان: " شناسایی اپیتوپهای ایمونوژن IgG انسان با استفاده از ایمونوانفورماتیک" فارغ التحصیل در مقطع دکترای پزشکی عمومی میباشد که با حمایت دانشگاه شاهد انجام شده است. نویسندگان این مقاله از سرکارخانم فاطمه سفید به خاطر مشاوره های علمی ارزشمند ایشان قدردانی می‌نمایند.

References

1. Murphy K: Janeway's Immunobiology, 9nd edn. London, New York, Garland Science, 2019.
2. Ma H, O'Kennedy R. The Structure of Natural and Recombinant Antibodies. Methods Mol Biol. 2015;1348:7-11.
3. Goulet DR, Atkins WM. Considerations for the Design of Antibody-Based Therapeutics. J Pharm Sci. 2020;109(1):74-103.
4. Posner J, Barrington P, Brier T, Datta-Mannan A. Monoclonal Antibodies: Past, Present and Future. Handb Exp Pharmacol. 2019; 260:81-141.
5. Tiller KE, Tessier PM. Advances in Antibody Design. Annu Rev Biomed Eng. 2015;17:191-216.
6. Xia F, Li MS, Liu QM, Liu M, Yang Y, Cao MJ, Crystal Structure Analysis and conformational epitope of Triosephosphate Isomerase, a Mud Crab Allergen. J Agric Food Chem. 2019 Nov 20;67(46):12918-12926.
7. Banerjee A, Santra D, Maiti S. Energetics and IC50 based epitope screening in SARS CoV-2 (COVID 19) spike protein by immunoinformatic analysis implicating for a suitable vaccine

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-28]

development. J Transl Med. 2020 Jul 10;18(1):281.

8. Kapingidza AB, Kowal K, Chruszcz M. Antigen-Antibody Complexes. Subcell Biochem. 2020;94:465-497.

9. Cox RM, Chan E, Sangoi AR, Zou Y, McKenney JK.STAT6 monoclonal antibody is highly specific for the distinction between solitary fibrous tumour and prostatic stromal proliferations. Histopathology. 2020; 76(4): 625-626.

10. Di Rubbo A, McNabb L, Klein R, White JR, Colling A, Dimitrov DS, et. al. Optimization and diagnostic evaluation of monoclonal antibody-based blocking ELISA formats for detection of neutralizing antibodies to Hendra virus in mammalian sera. J Virol Methods. 2019; 274: 113731.

11. Oyen D, Torres JL, Aoto PC, Flores-Garcia Y, Binter Š, Pholcharee T, et al. Structure and mechanism of monoclonal antibody binding to the junctional epitope of Plasmodium falciparum circumsporozoite protein. PLoS Pathog. 2020;16(3):e1008373.

12. Suhandynata RT, Hoffman MA, Kelner MJ, McLawhon RW, Reed SL, Fitzgerald RL. Longitudinal Monitoring of SARS-CoV-2 IgM and IgG Seropositivity to Detect COVID-19. J Appl Lab Med. 2020;5(5):908-920.

13. Damelang T, Rogerson SJ, Kent SJ, Chung AW.Role of IgG3 in Infectious Diseases. Trends Immunol. 2019;40(3):197-211.

14. Mahajan A, Manchikanti L. Value and Validity of Coronavirus Antibody Testing. Pain Physician. 2020; 23(4S):S381-S390.

15. Béné MC, de Carvalho Bittencourt M, Eveillard M, Le Bris Y. Good IgA Bad IgG in SARS-CoV-2 Infection? .Clin Infect Dis. 2020 Jul 28;71(15):897-898.

16. Bouthry E, Hervé A, Brichler S, Poveda JD, Roque-Afonso AM, Vauloup-Fellous C. Evaluation and optimisation of commercial Zika IgG avidity assay. J Clin Virol. 2020;124:104260.

17. Sanz MG, Oliveira AF, Loynachan A, Page A, Svansson V, Giguère S, Horohov DW. Validation and evaluation of VapA-specific IgG and IgG subclass enzyme-linked immunosorbent assays (ELISAs) to identify foals with Rhodococcus equi pneumonia. Equine Vet J. 2016;48(1):103-8.

18. Falkenburg WJJ, Oskam N, Koers J, van Boheemen L, Ooijevaar-de Heer P, Verstappen GM, et al. Identification of Clinically and Pathophysiologically Relevant Rheumatoid Factor Epitopes by Engineered IgG Targets. Arthritis Rheumatol. 2020;72(12): 2005-2016.

19. Banerjee A, Santra D, Maiti S. Energetics and IC50 based epitope screening in SARS CoV-2 (COVID 19) spike protein by immunoinformatic analysis implicating for a suitable vaccine development. J Transl Med. 2020;18(1):281.

20. Yu-Jie Wang, Lin Li, Wei-Juan Song, Yan-Jun Zhou1, Meng-Da Cao1, XiangRong Zuo1,2 and Ji-Fu Wei1 Canis familiaris allergen Can f 6: expression, purification and analysis of B-cell epitopes in Chinese dog allergic children. Oncotarget. 2017;8(53): 90796-90807.

21. Bhattacharya M, Sharma AR, Patra P, Ghosh P, Sharma G, Patra BC, et al. Development of epitope-based peptide vaccine against novel coronavirus, (SARS-COV-2): Immunoinformatics approach [published online ahead of print, 28 Feb 2020]. J Med Virol. 2019.

22. Ethan A. Peretsa, Daniel Konstantinovskyab, Li Fua, Jiantao Chena c, Hong-Fei Wangde, Sharon Hammes-Schiffera, Elsa C. Y. Yana. Mirror-image antiparallel β-sheets organize water molecules into superstructures of opposite chirality. PNAS. 2020;117(52):32902–32909.

23. Waterhouse A, Bertoni M, Bienert S, Studer G, Tauriello G, Gumienny R, et al. SWISS-MODEL: homology modelling of protein structures and complexes. Nucleic Acids Res. 2018; 46(W1):W296–303.

24. Weng G, Wang E, Wang Z, Liu H, Zhu F, Li D. HawkDock: a web server to predict and analyze the protein-protein complex based on computational docking and MM/GBSA. Nucleic Acids Res. 2019;47(W1):W322–30.

25. 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.

26. 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.

27. Hajighasemi F, Gharagozlou S, Ghods R, Khoshnoodi J, Shokri F. Private idiotypes located on light and heavy chains of human myeloma proteins characterized by monoclonal antibodies. Hybridoma (Larchmt). 2006;25(6):329-35.

28. Hajighasemi F, Khoshnoodi J, Shokri F. Development of two murine monoclonal antibodies recognizing human nG1m(a)-like isoallotypic markers. Hybridoma (Larchmt). 2008;27(6):473-479.

29. 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.

30. Hajighasemi F, Shokri F. Generation and characterization of mouse hybridomas secreting monoclonal antibodies specific for human IgG3. Avicenna J Med Biotechnol. 2009;1(1):19-26.

31. Hajighasemi F, Rohani S, Sefid F. Assessment of immunogenic linear epitopes on human mmunoglobulin G by immunoinformatic approach.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-28]

Res Med. 2016;40(1):30-35. [Persian].
32. 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.
33. Kelley LA, Mezulis S, Yates CM, Wass MN, Sternberg MJE. The Phyre2 web portal for protein modeling, prediction and analysis. Nat Protoc. 2015;10(6):845–858.
34. He L, Zhu J. Computational tools for epitope vaccine design and evaluation. Cur Opin Virol. 2015;11:103-12.
35. Nakano S, Megro S, Hase T, Suzuki T, Isemura M, Nakamura Y, Ito S. Computational Molecular Docking and X-ray Crystallographic Studies of Catechins in New Drug Design Strategies. Molecules. 2018;23(8):2020.
36. Hajighasemi F, Rohani S, Sefid F. Identification of conformational epitopes on fragment crystallizable region of human Immunoglobulin G by immunoinformatic. Tehran Univ Med J. 2018;76(5):321-325. [Persian]
37. Hajighasemi F, Rohani S. Determination of Physicochemical Properties of Human Immunoglobulin G -Fc Fragment by Bioinformatic. Pars J Med Sci. 2021;19(1):34-43. [Persian].
38. 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.
39. Yaoying Wu, Sean H. Kelly, Luis Sanchez-Perez, John H. Sampson, Joel H. Collier. Comparative study of α–helical and β-sheet self-assembled peptide nanofiber vaccine platforms: Influence of integrated Tcell epitopes Biomater Sci. 2020;8(12):3522–3535.
40. Alvaro Ras-Carmona, Hector F. Pelaez-Prestel, Esther M. Lafuente, Pedro A. Reche. BCEPS: A Web Server to Predict Linear B Cell Epitopes with Enhanced Immunogenicity and Cross-Reactivity. Cells. 2021;10(10):2744.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-28]