

## تعیین ویژگی های فیزیوشیمیایی ناحیه Fc ایمونوگلوبولین G انسان به روش بیوانفورماتیک

نویسندگان:

سهیلا روانی<sup>۱</sup>، فاطمه حاجی قاسمی<sup>۲\*</sup>

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:** ایمونوگلوبولین ها [ immunoglobulins (Igs) ] پاتوزن ها را به طور اختصاصی شناسایی و منهدم می کنند. 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 فیزیوشیمیایی 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 می کند. هدف این پژوهش شناسایی ویژگی های فیزیوشیمیایی ناحیه Fc ملکول IgG انسان با استفاده از بیوانفورماتیک بود.

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

**یافته ها:** در بخش Fc ملکول IgG انسان، مناطق دارای بیشترین دسترسی سطحی، آب دوستی و انعطاف پذیری در توالی حد فاصل اسید آمینه های شماره ۲۰۰-۴۵۰ 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 اپی توپ ها هستند.

**نتیجه گیری:** ویژگی های فیزیوشیمیایی ناحیه Fc ملکول IgG انسان که در این مطالعه تعیین شدند، در شناسایی هرچه بهتر اعمال IgG و پیشگویی اپی توپ های ایمونوزن آن برای تولید آنتی بادی های منوکلونال اختصاصی و در نهایت تولید کیت های تشخیصی، بهینه سازی کیت های موجود و تولید پروتئین های مشابه برای تشخیص، درمان و همچنین مطالعات فیلوژنتیکی سودمند هستند.

**واژگان کلیدی:** IgG انسان، بیوانفورماتیک، فیزیوشیمیایی

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

## مقدمه:

هر یک از نواحی متغیر و ثابت Ab ها به نحوی است که با عملکرد آن ها انطباق دارد [۴]. ایمونوگلوبولین G ( IgG ) فراوان ترین Ab سرم بوده و نقش مهمی در دفاع علیه عوامل عفونی بر عهده دارد [۵]. ساختمان فیزیوشیمیایی IgG به شکلی است که با فعالیت های آن تناسب و هماهنگی مستقیم دارد [۶]. جزء دارای قابلیت کریستالیزه شدن مولکول IgG که از ناحیه ثابت زنجیره های

آنتی بادی ها [ antibodies (Abs) ] گلیکوپروتئین های سرم هستند که توسط لنفوسیت های B در طی پاسخ ایمنی تولید می شوند. این ها واسطه های اولیه ایمنی هومورال هستند و عوامل بیگانه را به طور اختصاصی شناسایی می کنند [۱]. Ab ها مولکول هایی 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 پروتئین ها وجود دارد [۳]. ساختار

\* 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.

پست الکترونیک: fatimahajighasemi@gmail.com

تلفن تماس: ۰۹۱۲۷۰۵۹۱۲۳- (۰۲۱) ۵۱۲۱۲۶۵۳

پذیرش: ۱۴۰۰/۰۲/۱۵

اصلاح: ۱۴۰۰/۰۱/۳۰

دریافت: ۱۳۹۹/۰۹/۲۹

## 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 IGT 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 فیزیکی شیمیایی ناحیه Fc ایمونوگلوبولین G انسان

ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی 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 فیزیکی شیمیایی مورد بررسی در این مطالعه شامل انعطاف پذیری، 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 IGT تعیین و در جدول ۱ نشان داده شده است. اسیدآمینه‌های 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 می‌دهد 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.

سنگین تشکیل شده است، فعالیت‌های اجرایی مولکول که موجب انهدام و حذف عامل بیگانه می‌شود را عهده دار است [۲]. بررسی خصوصیات فیزیکی شیمیایی 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، کارآمد، 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 دقیق‌تر بیماری‌ها کمک کند [۱۳-۱۲]. این شاخه از علم فرصت‌های بدیعی برای پژوهش‌های آینده در زمینه ایمونولوژی فراهم کرده و در کلیه 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 IgG انسان به منظور شناسایی ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی 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 تأیید 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 تأیید شده برای ایمونوگلوبولین G انسان از بانک اطلاعاتی NCBI به آدرس اینترنتی [www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov) و از پایگاه داده PDB (Protein Data Bank) در وبگاه <http://www.rcsb.org/pdb/> در بانک‌های اطلاعاتی مذکور <http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do> استفاده شد [۱۸]. در بانک‌های اطلاعاتی مذکور چهار توالی مرجع با کد شناسایی IGT برای ایمونوگلوبولین G وجود داشت که هر یک مربوط به یک زنجیره از ساختار چهار زنجیره‌ای آن است. این توالی‌ها از طریق روش‌های آزمایشگاهی و به کمک روش کریستالوگرافی تعیین شده‌اند.

## ۴- تعیین خصوصیات فیزیکوشیمیایی ناحیه Fc

## ایمونوگلوبولین G انسان

## ۱- 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 آمینه های 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 می رسد. این نواحی بیشترین میزان دسترسی سطحی را داشته و محتمل ترین نواحی از نظر قرار گیری اپی توپها هستند.

## ۲- پیش بینی میزان هیدروفیلیسیتته یا آب دوستی

## ناحیه Fc ایمونوگلوبولین G انسان

در شکل ۴ نتایج پیش بینی میزان آب دوستی در اسید آمینه های 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 آمینه های 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 و ۲۸۰ تا ۳۰۰ ممتازترین نواحی و محتمل ترین نواحی از نظر قرار گیری اپی توپها هستند.

## ۴-۳- پیش بینی میزان انعطاف پذیری فضایی ناحیه

## ایمونوگلوبولین G انسان

نتایج نرم افزار IEDB در پیش بینی میزان انعطاف پذیری فضایی اسید آمینه ها در طول بخش های 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 انعطاف پذیر 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 می رسد. این نواحی بیشترین میزان انعطاف پذیری فضایی را داشته و محتمل ترین نواحی از نظر قرار گیری اپی توپها هستند.

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

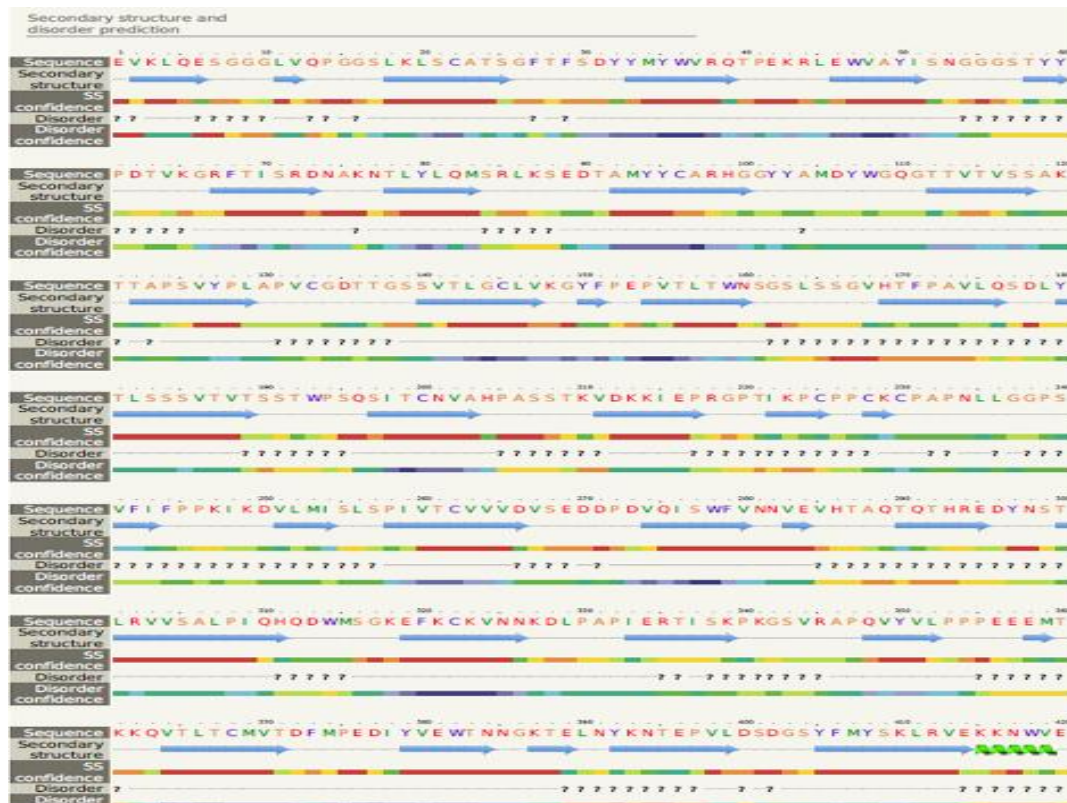
ناحیه	توالی (sequences) *
Fab+	EVKLQESGGGLVQPGGSLKLSKATSGFTFSDYYMYWVRQTPEKRLEWVAYISNGGGST YYPDTVKGRFTISRDNKNTLYLQMSRLKSEDTAMY YCARHGGYYAMDYWGQGT TTVTS SAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTL SSSVTVTSSTWPSQSITCNVAH**
Fc++	PASSTKVDKKEIPRGPTIKPCPPCKCPAPNLLGGPSVFIFPPKIKDVLMSLSPIVTCVVVDVS EDDPDVQISWVFNNEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQQDWMGKFEKCKVNNKDL PAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTLTCMVTD FMPEDIYVEWTNNGKTELNY KNTEPVLDSGYSFYMSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSR **

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

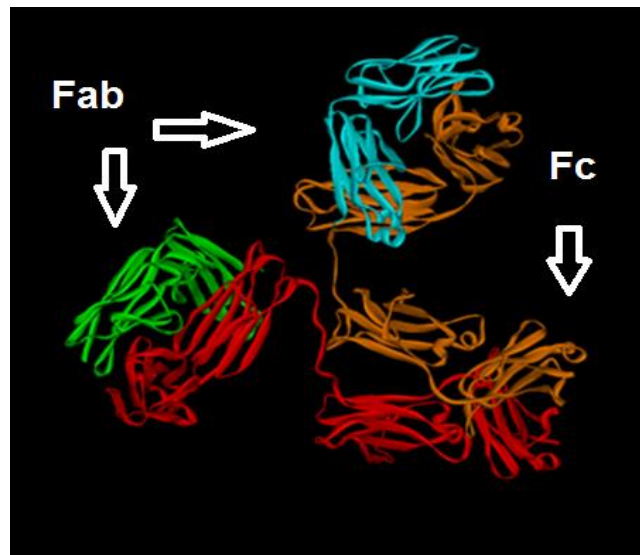
\*\* هر حرف بیانگر رمز تک حرفی یک اسید آمینه است.

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

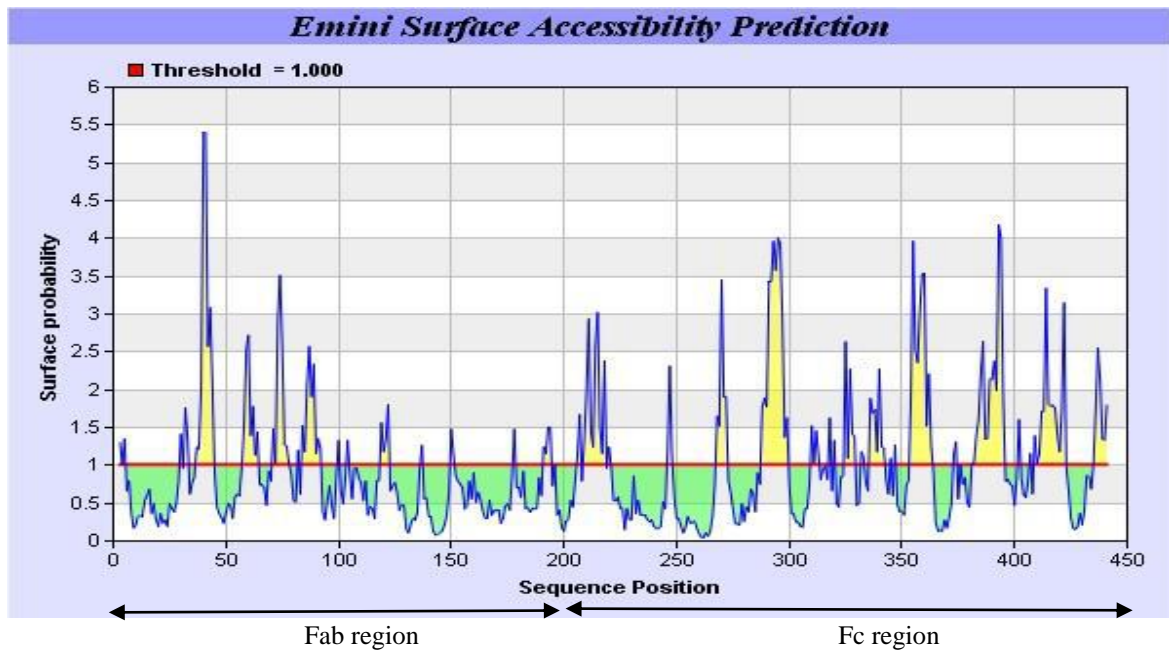
++ ناحیه دارای قابلیت کریستالیزه شدن [Fragment of crystallizable (Fc)]



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 ماریج های آلفا با رنگ سبز نشان داده شده اند.

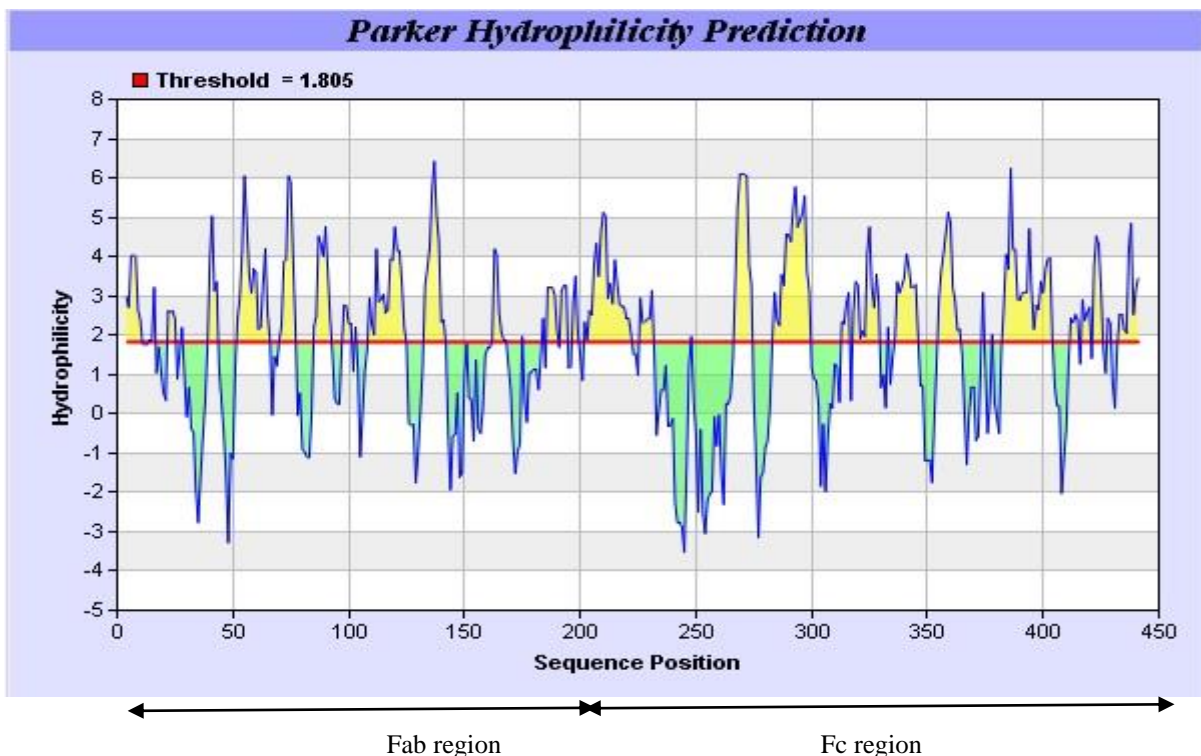


شکل ۲: ساختار سه بعدی مولکول ایمونوگلوبولین G انسان که به روش کریستالوگرافی و بر اساس توالی اسید آمینه ای مرجع، تعیین شده و در پایگاه داده IEDB موجود است. تصویر فوق با مدل رشته ای و صفحات بتا و ماریج آلفا نمایش داده شده است. دو زنجیره سبک به رنگ سبز و آبی و دو زنجیره سنگین به رنگ قرمز و قهوه ای نشان 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.



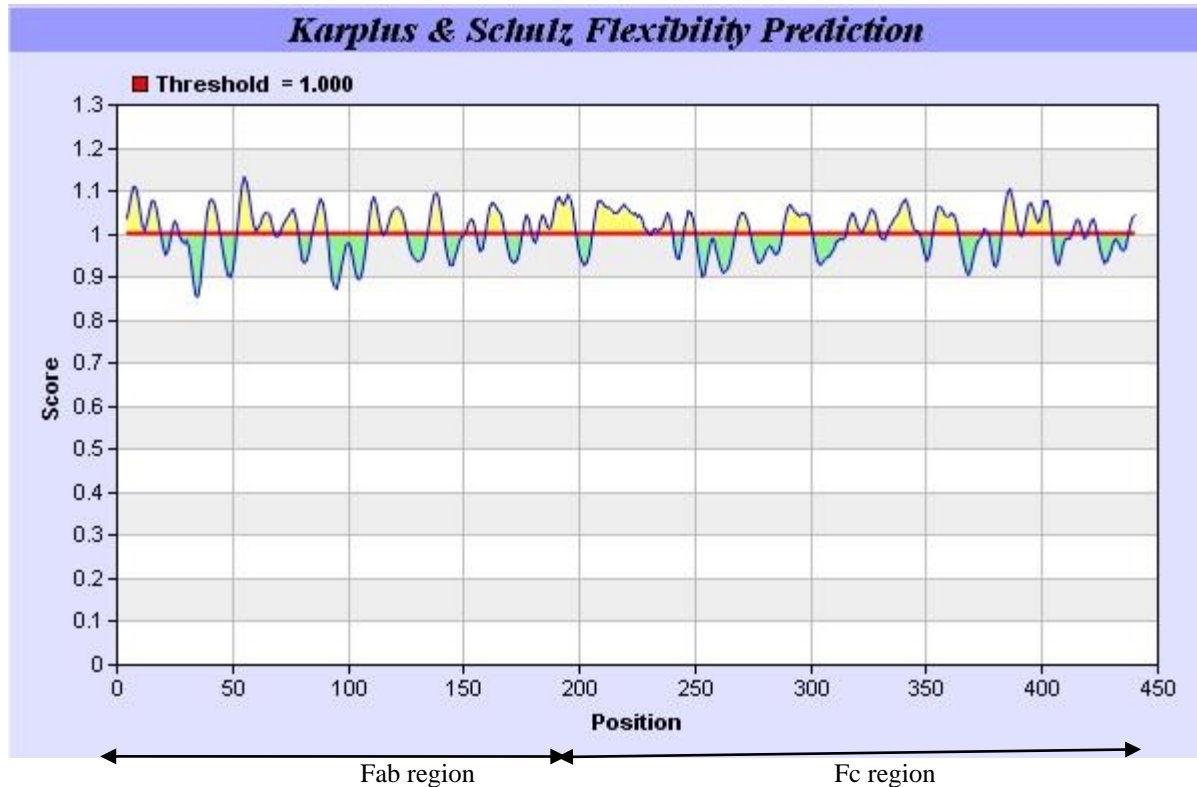
شکل ۳: میزان دسترسی سطحی توالی اسیدآمینه ای زنجیره سنگین IgG انسان.

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 باشد (نواحی زرد رنگ، بالای خط قرمز آستانه)، بیشترین میزان دسترسی سطحی را داشته و محتمل ترین نواحی از نظر قرار گیری اپی-توپ‌ها هستند.



شکل ۴: 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 اپی-توپ‌های آنتی ژنیک در مولکول هستند.



شکل ۵: میزان انعطاف پذیری فضایی توالی اسید آمینه ای زنجیره سنگین IgG انسان. در این تصویر نتیجه تحلیل IEDB روی توالی اسید آمینه 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 اپی توپها 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 می رسند. 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 در دسترس بودن اسیدهای آمینه نقش مهمی در ایجاد اپی توپ دارد [۲۱]، نواحی مذکور که بیشترین میزان دسترسی سطحی را دارند، محتمل ترین نواحی از نظر قرارگیری اپی توپها هستند. نتایج این مطالعه در توافق با نتایج مطالعه حاجی قاسمی و همکاران [۲۲] است. در مطالعه مذکور تقریباً ۹۱٪ اپی توپهای 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 اپی توپ فضایی واقع بر بخش Fc مولکول IgG انسان توسط نرم افزارهای ایمونوآنفورماتیکی شناسایی شدند که 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 می رسد. محدوده ۲۷۰ تا ۲۷۵ و ۲۸۰ تا ۳۰۰ ممتازترین نواحی اند. از این هفت ناحیه دارای بیشترین میزان آب دوستی، سه ناحیه (۴۳٪) (توالی حد فاصل اسید آمینه های شماره

۲۰۰ تا ۲۳۰ ، ۲۷۰ تا ۲۸۰، ۲۷۵ 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 اپی‌توپ اصلی در دومین CH3 قرار داشتند [۲۲]. همچنین نتایج پژوهش حاضر توسط یک مطالعه دیگر نیز تایید شده است [۲۳]. در پژوهش فوق تعدادی اپی‌توپ فضایی واقع بر بخش Fc مولکول IgG انسان توسط نرم افزارهای ایمونوآنفورماتیکی شناسایی شدند که همه آن‌ها 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، ۲۴۰ تا ۲۷۵، ۳۰۰ تا ۳۲۰ ، ۳۲۰ تا ۳۴۵، ۳۴۵ تا ۴۰۵ (۴ ناحیه) به اوج خود می‌رسد. 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 و ۳۴۵ تا ۴۰۵ در دومین CH2 قرار گرفته‌اند. این نواحی بیشترین میزان انعطاف پذیری فضایی را داشته و محتمل‌ترین 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 مذکور که بیشترین میزان انعطاف‌پذیری فضایی را دارند، محتمل‌ترین نواحی از نظر قرار گیری اپی‌توپ‌ها خواهند بود. در یک مطالعه انجام شده توسط حاجی قاسمی و همکاران [۲۲] حدود ۹۱٪ اپی‌توپ‌های واقع بر زنجیره های سنگین مولکول IgG در دومین‌های CH2 و CH3 واقع شده و پنج اپی‌توپ 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 مولکول IgG انسان توسط نرم‌افزارهای ایمونوآنفورماتیکی شناسایی شدند که تمام آن‌ها در دومین های

CH2 و 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 شده‌اند [۲۴-۲۶]. 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 [۲۴-۲۶]، سیزده اپی‌توپ 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 اپی‌توپ اختصاصی IgG در ناحیه Fc مولکول IgG که در مطالعات مذکور توسط حاجی قاسمی و همکاران معرفی شده‌اند [۲۴-۲۶]، تاییدی بر نتایج مطالعه حاضر خواهد بود.

براساس نتایج مطالعه حاضر، در بخش Fc مولکول IgG، نواحی دارای انعطاف‌پذیری 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 محتمل‌ترین 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 شده‌اند. این دو ناحیه تا حد بسیار بالایی (۹۵٪) با دو اپی‌توپ شناسایی شده توسط حاجی قاسمی و همکاران [۲۲] هم پوشانی دارند. به این صورت که توالی حد فاصل اسید آمینه‌های شماره ۲۹۱-۳۰۰ که در مطالعه حاضر دارای بیشترین انعطاف‌پذیری فضایی، آب دوستی و دسترسی سطحی در دومین CH2 بخش Fc مولکول IgG بوده است با اپی‌توپ اختصاصی بخش Fc مولکول IgG واقع شده در دومین CH2 دارای توالی اسید آمینه‌های 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 اسید آمینه‌های 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

شناسایی شدند. نتایج این پژوهش در شناسایی هرچه بهتر اعمال مولکول IgG انسان، پیش گویی اپی توپ های ایمونوزن آن برای تولید آنتی بادی های منوکلونال اختصاصی به منظور تولید کیت های تشخیصی IgG و بهینه سازی کیت های موجود، طراحی و تولید پروتئین های 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 ایمونوفورماتیک " IgG " شناسایی اپی توپ های ایمونوزن در مقطع دکترای پزشکی می باشد که با حمایت دانشگاه شاهد اجرا شده است. نویسندگان این مقاله بر خود لازم می دانند از سرکار خانم فاطمه سفید به خاطر ارائه مشاوره های علمی ارزشمندشان قدردانی نمایند.

### تعارض منافع:

نویسندگان مقاله اعلام می دارند که هیچگونه تضاد منافی در خصوص این مطالعه وجود ندارد.

اختصاصی بخش Fc مولکول IgG واقع شده در دومین CH3 دارای توالی اسید آمینه های شماره ۳۸۰ 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 ویژگی های 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 نرم افزارهای بیوانفورماتیکی شناسایی شدند. نتایج مطالعه اخیر نه تنها در شناسایی هرچه بهتر اعمال این مولکول مفید خواهد بود، بلکه در پیش گویی اپی توپ های ایمونوزن IgG انسان برای تولید آنتی بادی های منوکلونال اختصاصی به منظور تولید کیت های تشخیصی IgG و بهینه سازی کیت های موجود و همچنین طراحی و تولید پروتئین های مشابه برای اهداف تشخیصی و درمانی سودمند هستند [۷-۸]. به علاوه، نتایج این مطالعه می تواند برای مطالعات فیلوژنتیکی مورد استفاده قرار گیرند.

### نتیجه گیری:

در این مطالعه ویژگی های فیزیکوشیمیایی اسیدهای آمینه بخش Fc مولکول IgG انسان توسط نرم افزارهای بیوانفورماتیکی

## References:

- Hoffman W, Lakkis FG, Chalasani G. B Cells, Antibodies, and More. Clin J Am Soc Nephrol 2016; 11(1): 137-54.
- Murphy K: Janeway's Immunobiology, London, New York, Garland Science, 2012.
- Woodruff TK. Structure-Function Relationships in Endocrinology. Endocrinology 2018; 159(6): 2376-2377.
- Cymer F, Beck H, Rohde A, Reusch D. Therapeutic monoclonal antibody N-glycosylation - Structure, function and therapeutic potential. Biologicals 2018; 52: 1-11.
- Castro-Dopico T, Clatworthy MR. IgG and Fcγ Receptors in Intestinal Immunity and Inflammation. Front Immunol 2019; 10: 805.
- Schroeder HW Jr, Cavacini L. Structure and function of immunoglobulins. J Allergy Clin Immunol 2010; 125(2 Suppl 2): S41-52. Review.
- 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.
- Bumbaca D, Boswell CA, Fielder PJ, Khawli LA. Physicochemical and biochemical factors influencing the pharmacokinetics of antibody therapeutics. AAPS J 2012; 14(3): 554-8. Review.
- MacLeod M, Nersessian NJ. Modeling complexity: cognitive constraints and computational model-building in integrative systems biology. Hist Philos Life Sci 2018; 40(1): 17.
- Medvedev P. Modeling biological problems in computer science: a case study in genome assembly. Brf Bioinform 2019; 20(4): 1376-1383.
- 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.
- 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.
- 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.

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

Soheila Rohani<sup>1</sup>, Fatemeh Hajighasemi<sup>2\*</sup>

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 (flexibility, accessibility and hydrophilicity) of IgG- Fc fragment were identified by IEDB (Immune Epitope Database) software.

#### **Results:**

According to results of this study, most accessible, hydrophilic and flexible sites of IgG- Fc fragment were located to 200 – 450 amino acid sequences. Moreover most accessible, hydrophilic and flexible 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 phylogenetic studies.

**Keywords:** IgG, Bioinformatic, Physicochemical

\* Corresponding author Email: fatimahajighasemi@gmail.com