ایمونوانفورماتیک و روش های پیشگویی اپی توپ، دانشی پویا با دستاوردهای امیدبخش

محمدمهدی رنجبر[۱]، سیدداوود موسوی نسب[۲]، آرش قلیان چیان[۳]، احمد نازکتبار[۴]، نایبعلی احمدی[۵]*، ریحانه خوشنویسان[۶]، سحر اسفندیاری[۶]، جمشید وفائی منش[۷]، اکبر اکبری[۸]

۱) گروه ایمنی شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران

۲) گروه ویروس شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس

۳) گروه میکروب شناسی،دانشگده دامپزشکی، دانشگاه تهران

۴) گروه میکروب شناسی، دانشگاه دامپزشکی، دانشگاه مازندران

۵) گروه علوم آزمایشگاهی، مرکزتحقیقات پروتئومیکس، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تهران

۶) گروه دامپز شکی، دانشگاه تهران

۷) دانشگاه علوم پزشکی قم

۸) گروه ایمونولوژی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام

تاریخ دریافت: ۹۲/۳/۱۹ تاریخ پذیرش: ۹۲/۷/۲۱

چکیده

روش های نوین ایمونوانفورماتیک راهبردهای تازه ای را جهت شناسایی، طراحی و ساخت اپی توپ های اختصاصی آنتی ژن جهت استفاده در مقاصد گوناگون نظیر؛ واکسن ها، آلرژی ها، ایمنی درمانی و غیره فراهم آورده است. الگوهای تازه در طراحی واکسن ها، شناسایی آلرژن ها و ایمنی درمانی به واسطه اکتشافات مهم در علم ایمنی شناسی و توسعه ابزارها و الگوریتم های پیشگویی اپی توپ های سلول B و T، به نظر امری ضروری است. در این مقاله، تلاش شده است که دانش ایمونوانفورماتیک را به محققیق علوم بیولوژی مولکولی معرفی کرده و سپس دانشی را درمورد رهیافت های متنوع پیشگویی اپی توپ های سلول B و T مهیا شود. به طور ایده ال این مقاله به محققین ایرانی جهت فهم بیشتر در مورد روش ها و ابزارهای پیشگویی اپی توپ و مزایا و معایب آن ها کمک کرده، و این امکان را می دهد که به درستی از این ابزارها استفاده کرده و اطلاعات علمی خود را تجزیه و تحلیل کنند.

واژه های کلیدی: ایمونوانفورماتیک، اپی توپ، سلول B، سلول T، پیشگویی

***نویسنده مسئول**: گروه علوم آزمایشگاهی، مرکزتحقیقات پروتئومیکس، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تهران

Email: nayebalia@yahoo.com, nayebalia@sbmu.ac.ir

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-11-09]

مقدمه

ایمونوانفورماتیک دانشی جوان و پویا در علم ایمنی شناسی است که توانسته سبب پیشرفت های شگرف و سریعی در این علم گردد. پیشگویی اپی توپ ها و ارزیابی مجازی ایمونوژنسیتی انگیزه ویژه ای را در محققین علوم پایه و بالینی پزشکی برانگیخته اند، بدین سبب که پتانسیل وسیعی را برای طراحی واکسن، پیشگیری از بیماری ها، تشخیص و درمان بیمارها میسر می کنند.(۱،۲،۳)

پیشرفت واکسن ها در گذشته انحصاراً متکی بر تجربیات ایمنی شناسی و بیوشیمی نظیر روش های کتابخانه نمایش فاژی، پپتیدهای هم پوشان، الایزا، NMR، ایمونوفلورسانس، رادیوایمونواسی، وسترن بلات، ایمونوهیستوشیمی، مطالعات کریستالوگرافی اشعه X ساختار آنتی بادی-آنتی ژن و توجه به پاتوژن های وحشی با ایجاد جهش های تصادفی و پاساژهای پی در پی بوده است، که معایب آن ها هزینه بالا، زمان بر بودن، ایمونوژنیسیته پائین فرآورده حاصل و احتمال برگشت پذیری به حالت پاتوژن وحشی می باشد،(۲). با کمک ابزارهای ایمونوانفورماتیک نظیر برنامه ها و پایگاه های داده پیشگویی اپی توپ، قادر هستیم بر روی پروتئین ایمونوژن موردنظر خود تمرکز کرده و به طور قابل توجهی از تعداد آزمایش های in vitro بکاهیم،(۲). به طور کلی برخی از حوزه های تحقیقات ایمونوانفورماتیک عبارت از: ایمونوژنومیکس، ایمونوپرتئومیکس، پیشگویی اپی توپ ها و واکسیناسیون in silico، پیوند، خودایمنی، شناسایی ژن های حدت، پروتئین هایی مستقر در سطوح، آلرژن ها، ساخت پایگاه داده ایمنی شناسی و مدل سازی پاسخ سیستم ایمنی و شبیه سازی آزمایشات آزمایشگاهی می باشند. اخیراً نیز رهیافت های زیست شناسی سیستماتیک به منظور بررسی خصوصیت رفتار پویای سیستم ایمنی نتایج چشمگیری را نشان داده اند.

هدف این مقاله در مجموع بحث در مورد روش های متنوع پیشگویی اپی توپ سلول B و T و ابزارهای موجود جهت رسیدن به این هدف می باشد، لذا از بررسی پایگاه های عمومی اطلاعات ایمونولوژیک و پایگاه های اختصاصی معرفی کننده اپی توپ های سلول B و T پرهیز می شود.

ماهیت اپی توپ ها

فعالیت آنتی ژنیک یا توانایی شناخت و پیوند اختصاصی یک آنتی ژن با گیرند سلول B و T، مربوط به قسمت های محدودی از آنتی ژن می باشد که آن را شاخص های آنتی ژنیک یا اپی توپ می نامند. اپی توپ ها بسته به محل و نحوه قرارگیری آن ها در مولکول، نام گذاری می شوند. شاخص هائی که در زوایای مولکول آنتی ژن قرار دارند، شاخص های فضایی(Conformational determinant) یا شاخص غیر ممتد(Discontinuous)(در صورت شکل گیری آن ها در اثر تاخوردگی پروتئین) می گویند. شاخص های اخیر در واقع نمایی از ساختمان سوم و چهارم مولکول پروتئین هستند و به وسیله سلول های لنفوسیت B و آنتی بادی های ترشحی آن ها شناسایی می شوند. شاخص هایی که شامل باقی مانده های مجزائی از آمینواسیدهای درون توالی پروتئین بوده و در سطح صاف مولکول هستند، اپی توپ های خطی(Linear) نامیده می شوند،(۴،۱،۳). این شاخص ها به وسیله هر دو سلول لنفوسیت B و T شناسایی می شوند. پروتئین های واجد ساختمان کروی بیشتر دارای اپی توپ های فضایی یا غیرممتد و پروتئین های با ساختمان رشته ای دارای اپی توپ های خطی هستند. شاخص های فضایی، واجد قدرت ایمنی زایی و تولید آنتی بادی بیشتری نسبت به سایر اپی توپ های یک آنتی ژن می باشند.(۵،۶)

روش ها و ابزارهای متنوع پیشگویی

پیشگویی اپی توپ های با ایمونوژنسیته بالا هم چنان به عنوان یک امر حیاتی و چالش برانگیز در بیوانفورماتیک خودنمایی می کند. پیچیدگی ذاتی شناسایی آنتی ژن، پیشگویی اپی توپ را مشکل می کند از این رو الگوریتم های متنوعی جهت پیشگویی اپی توپ ها طراحی شده اند.(۷)

رهیافت های پیشگویی آنتی ژنسیتی یا اپی توپ را می توان به ترتیب به صورت پیشگویی عناصر متصل شونده به TAP، پیشگویی نواحی برش پروتئوزومی، پیشگویی مناطق متصل شوند به MHC و پیشگویی اپی توپ های سلول T و B نام گذاری نمود. به همین دلیل، پیشگویی کننده ها و پایگاه های اپی توپ به وجود آمده اند که بر یک یا چندین مرحله از فرایند چند مرحله ای تولید اپی توپ تمرکز کرده اند. روش های تجربی در این زمینه مشکل و زمان بر می باشند،(۸). از این رو چندین روش in silico توسعه و در جهت شناسایی اپی توپ به کار گرفته شده اند. این رهیافت ها در برگیرنده روش های مشتق از ماتریکس ها(matrix-driven methods)، یافتن موتیف های متصل شونده ساختاری، آنالیز ارتباط فعالیت-ساختار QSAR، همولوژی مدلینگ (Homology Modeling)، بندکشی پروتئینی(Protein Threading)،

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-11-09]

تکنیک داکینگ و طراحی چندین الگوریتم و ابزار یادگیری ماشین(Machine learning) می باشد،(۸). در گذشته، روش های محاسبه ای تنها قادر به شناسایی خصوصیات توالی بودند اما الگوریتم ها و ابزارهای نوین بهینه شده و طراحی آن ها جهت افزایش کارایی عملیات پیشگویی صورت گرفته است، البته مطالعه مبتنی بر آزمون و خطا نشان داده که ترکیب نتایج ابزارهای مختلف که از الگوریتم های متفاوت استفاده می کنند، مثلاً در مورد پیشگویی متصل شوندگان به MHC کلاس I، نتایج دقیق تری نسبت به استفاده از هر کدام از ابزارها به تنهایی می دهد.(۸)

الف) پیشگویی اپی توپ های سلول B

پیشگویی اپی توپ های پیوسته سلول B بسیار مشابه به پیشگویی اپی توپ سلول T است، اما پیشگویی اپی توپ های غیر پیوسته و فضایی نیاز به شناخت از ساختار سه بعدی کمپلکس آنتی ژن–آنتی بادی و سایر مسائل نیز دارد. تجربیات پیشگویی در مورد سلول های B عموماً بر مبنای اپی توپ های خطی است و برای اپی توپ های خطی هم ابزارهای پیشگویی کننده بر مبنای توالی وجود دارد و هم بر مبنای ساختار، اما ابزارهای پیشگویی کننده برای اپی توپ های غیرپیوسته سلول B محدود می باشند.(۳،۹)

پیشگویی اپی توپ های سلول B بر مبنای میل ذاتی آمینواسید

یکی از اولین و مهم ترین مقالات تاثیرگذار در مورد پیشگویی اپی توپ مقاله ای است که روش ارائه شده در آن بدین صورت بود که یک مقدار عددی هیدروفیلیسیتی برای هر یک از ۲۰ آمینواسید اصلی تعیین می کرد و میانگین حسابی هیدروفیلیسیتی بر روی پنجره متغیری از چندین باقی مانده در طول توالی زنجیره پلی پپتید ارزیابی و در نهایت یک پروفایل توالی ایجاد می شد که بیشینه ها به عنوان اپی توپ های فرضی سلول B محسوب می شدند،(۱۰). در ادامه روش های بسیار متنوعی ابداع شده اند که از جایگزین هایی برای مقادیر هیدروفیلیسیتی و نمودارهای میانگین استفاده می کنند،(۱۱،۱۲)، و ترکیبی از رهیافت های پیشگویی(بر اساس توافق مابین چندین روش مختلف) را به نوبت به کار می گیرند.(۱۳)

پلیکوئر و همکاران،(۱۱)، چندین روش مقیاس میل ذاتی را به واسطه بررسی مجموعه ای از ۱۴ اپی توپ از ۱۱ پروتئین که به خوبی شناسایی و شرح نویسی شده بودند را با یکدیگر مقایسه کردند و متوجه شدند که مقیاس های پارکر و همکاران، لئویت و ایمینی و همکاران نتایج بهتری را نسبت به سایر مقیاس های بررسی شده ارائه می دهند،(۱۱،۱۴،۱۵). البته در نتیجه گیری نهایی، آن ها بیان کردند موفقیت اندکی در استفاده از انواع مختلف روش های مورد استفاده جهت پیشگویی اپی توپ حاصل شده است. الگوریتم های متنوع مورد استفاده جهت پیشگویی اپی توپ، از ترکیبی از این خصوصیات استفاده می کنند، که در نهایت حساسیت آن ها حدود ۶۰ تا ۸۰ درصد است.

هم چنین کولاسکار و تانگائوکار روشی را ارائه کردند که از ترکیبی از هیدروفوبیسیتی، انعطاف پذیری و دسترسی سطحی پروتئین استفاده می کرد و به نام «مقیاس تمایل ذاتی آنتی ژنیک بودن» نام گذاری و به عنوان یک استاندارد طلایی در پیشگویی اپی توپ معرفی شد که دقت آن حدود ۷۵ درصد است.(۱۶)

ابزار BEPITOPE اپی توپ های پیوسته را بر اساس پیشگویی نواحی چرخش پروتئینی پیشگویی می کند،(۱۳). پایگاه PREDITOP نسبت به پایگاه BCIPEP که تنها از ۳۰ مورد از مقادیر مقیاس میل ذاتی استفاده می کند نسخه به روزتری می باشد.

سرور BCEPRED اپی توپ های سلول B را با دقت ۵۸/۷ درصد پیشگویی می کند. این سرور با تکیه بر ترکیبی از خصوصیات آمینواسیدی نظیر دسترسی، هیدروفیلیسیتی، انعطاف پذیری، سطح در معرض و نواحی چرخش پیشگویی می کند،(۱۱،۱۷). آنالیز میان کنش های آنتی بادی با آنتی ژن که در نواحی اتصال آنتی بادی به آنتی ژن رخ می دهد به پیشگویی اپی توپ های فضایی سلول B کمک می کند.

توجه به این امر ضروری است که یک پایگاه داده به نام AGABDB (http://202.41.70.51) توسعه یافته که بر مبنای میان کنش های مولکولی ساختارهای Co-crystal آنتی ژن–آنتی بادی عمل می کند.(۱۸)

پیشگویی اپی توپ سلول B با استفاده از روش های یادگیری ماشین

چندین گروه تحقیقاتی با استفاده از الگوریتم ها و ابزارهای یادگیری، ماشین را به جهت بازیابی خصوصیات یک اپی توپ از طریق یک مجموعه داده های آموزشی به کار برده اند.

برای مثال ساها و راگ هاوا از مدل شبکه های عصبی مصنوعی(Networks Artificial Neural (NAN در سرور ABCPRED و سوردوسکی و بالدی پایگاه COBEPRO را ارائه کردند که از یک Support Vector Machine (SVM) استفاده می کند. ساها و

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-11-09]

راگ هاوا از روش های ثبات پیشخوردی و شبکه های عصبی تکراری جهت پیشگویی اپی توپ های سلول B استفاده کرده اند.(۹)

پایگاه COBEPRO،(۱۹)، از یک سیستم دو مرحله ای برای پیشگویی اپی توپ های پیوسته سلول B استفاده می کند. پایگاه COBEPRO پروتئین را قطعه قطعه کرده و سپس یک امتیاز میل ذاتی به هر قطعه جهت اپی توپ بودن با استفاده از یک SVM می دهد،(۱۹). در حال حاضر COBEPRO با پایگاه SCARTCH (http://scratch.proteomics.ics.uci.edu) یکپارچه شده است. به هر حال COBEPRO را نمی توان جهت تمایز آنتی ژن از غیر آنتی ژن استفاده کرد. این سرور باید با تکنولوژی های با برون ده بالا استفاده شود تا اثربخشی آن افزایش یابد.

لارسن و همکاران BEPIPRED (http://ww-w.cbs.dtu.dk/services/BepiPred) را معرفی کردند،(۲۰). آن ها سه مجموعه داده را از اپی توپ های خطی سلول B مستخرج از پروتئین های شرح نویسی شده از مقالات، پایگاه داده ANTIJEN و پایگاه داده Los Alamos به نشانی(http://www.hiv.lanl.gov) ساختند که تعدادی از روش های مقیاس میل ذاتی را روی دسته داده های پلیکوئر و همکاران آزمون کردند، و متوجه شدند بهترین مقیاس موجود مقیاس Levitt می باشد.(۱۱،۲۱)

روش شناسی پیشگویی اپی توپ های غیر پیوسته سلول B

همان طور که پیشتر گفته شد بیش از ۹۰ درصد از اپی توپ های سلول B غیر پیوسته هستند، که این امر پیشگویی اپی توپ های فضایی سلول B را بیشتر با اهمیت می کند. در واقع یک نوع ویژه ای از میان کنش های پروتئین-پروتئین در این اپی توپ ها وجود دارد و تغییر در تاخوردگی پروتئین ممکن است منجر به تغییر تعداد اپی توپ ها شود،(۲۲). تشخیص و پیشگویی اپی توپ های سلول B اساساً وابسته به ساختار فضایی است از این رو پیچیدگی های پیشگویی سلول B در مقایسه با پیشگویی اپی توپ برای سلول T بیشتر است. دقیق ترین روش جهت شناسایی اپی توپ های سلول B، کریستالوگرافی اشعه ایکس است. برای نمونه اولین سرور پیشگویی کننده اپی توپ های خطی و فضایی به نام CEP (CEP Web Interface) در سال ۲۰۰۵ معرفی گردید،(۲۳). این تارنما جهت پیشگویی شاخص های آنتی ژنیک مبتنی بر ذات سه بعدی پروتئین آنتی ژنتیک از معیارهای مبتنی بر ساختار، دسترسی آمینواسیدها به حلالی که در آن حل شده اند و آستانه ای برای میزان فاصله فضایی استفاده می کند. دسترسی محدود این سرور به ساختارهای سه بعدی آنتی ژن های پروتئینی، کاربرد آن را کم کرده است. به دنبال آن اندرسون و همکاران روشی به نام DiscoTope ارائه کردند که بر اساس ترکیبی از آمار مقیاس های میل ذاتی آمینواسیدی، اطلاعات فضایی و در معرض قرارگیری سطحی می باشد،(۲۴). این روش بر مبنای یک دسته داده از اپی توپ های غیرپیوسته از ۷۶ ساختار حاصل از اشعه ایکس و کمپلکس آنتی ژن- آنتی بادی بنا شده است. این روش ۱۵ درصد از اسیدهای آمینه ای را که در اپی توپ های غیرپیوسته قرار گرفته اند را با ویژگی ۹۵ درصد ردیابی می کند. مقیاس مرسوم هیدروفیلیسیتی پارکر جهت پیشگویی اپی توپ سلول B تنها ۱۱ درصد از اسیدهای آمینه موجود در اپی توپ غیرپیوسته را با ۹۵درصد ویژگی پیشگویی می کند،(۲۴). گفته شده است که این اولین روش برای پیشگویی اپی توپ های غیرپیوسته سلول B بوده که عملکرد به نسبت بهتری از روش های مبتنی بر توالی پروتئینی دارد.

سپس بائوبلیل و همکاران، MAPITOPE را جهت نقشه یابی اپی توپ های سلول B توسعه دادند،(۲۵). فرضیه که در پس MAPITOPE نهفته است این می باشد که ساده ترین قطعه معنی دار یک اپی توپ، یک جفت آمینواسید از باقی مانده هایی است که درون اپی توپ قرار گرفته و حاصل تاخوردگی اند.

BEpro روش DiscoTope را با ارائه خواص فضایی نیمکره در معرض بهبود بخشید،(۱۹). بعد از آن، ElliPro معرفی شد که یک ابزار اینترنتی است و از ابزار های روش Thornton با یک الگوریتم خوشه بندی کننده باقی مانده ها، برنامه MODELLER و Jmol viewer جهت پیشگویی و تجسم اپی توپ های آنتی بادی در پروتئین یا ساختار مورد بررسی، استفاده می کند،(۱۷). سولنر و همکاران یک روش محاسبه ای ارائه کرده اند که به طور خودکار پپتیدها را جهت شبیه سازی اتصال به آنتی بادی انتخاب و امتیازدهی می کند،(۲۶). آن ها همبستگی پیشگویی اپی توپ سلول B را با تغییرپذیری آنتی ژن و الگوهای محافظت شدگی برای پیشگویی تغییرات پس از ترجمه بررسی کردند و متوجه آنتی ژنسیتی بالا، تغییرپذیری پائین و احتمال کمتر تغییرات پس از ترجمه در نواحی مرتبط با فعالیت زیستی شدند.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-11-09]

با مقایسه و هم تراز کردن روش های ذکر شده، عملکرد بهتر به وسیله SEPPA که در سال ۲۰۰۹ ارائه گردید، حاصل می شود،(۲۷). در طرح ریزی الگوریتم های آن فاکتورهای فضایی بیشتری مورد توجه قرار گرفته است(نظیر وجود ویژگی های توپولوژیکی و معیارهای residue-triangleunits).

بر اساس این مطالعات، EPSVR و EPMeta توسعه یافتند. اولین ابزاری است که از روش Support Vector Regression (SVR) جهت یکپارچه سازی شش روش امتیازدهی استفاده کرده است،(۲۸). به علاوه، با پنج سرور پیشگویی اپی توپ ترکیب شده تا EPMeta را بسازد.

ب) پیشگویی اپی توپ های سلول T

عموماً اپی توپ های سلول T به واسطه شناسایی عناصر متصل شونده به MHC کلاس I و II پیشگویی می شوند. روش های پیشگویی برای MHC کلاس I و II با یکدیگر متفاوت است بدین سبب که شیار اتصالی MHC کلاس I بسته است، در حالی که شیار اتصالی MHC کلاس II از هر دو سو باز است که این امر منجر به سازگاری با پپتیدهای با طول متنوع(عموماً ۱۳ تا ۲۵ آمینواسید) می شود،(۸). نتایج پیشگویی عناصر متصل شونده به MHC کلاس II با دقت و صحت بسیار کمتری از MHC کلاس I انجام می شود. نرم افزارهای پیشگویی کننده MHC کلاس I و II دارای دقت و درستی پیشگویی قابل تحسین ۹۰-۷۰ درصد برای عناصر متصل شونده و ۸۰-۴۰ درصد برای عناصر غیر متصل شونده با دامنه محدودی از آلل های MHC قابل بررسی و طول پپتیدی ثابت می باشند،(۸). در کل ابزارهایی که به طور اختصاصی عناصر متصل شونده به MHC کلاس II را پیشگویی می کنند به نسبت MHC کلاس I بسیار کمتر می باشند و این امر به سبب خصوصیاتی ذاتی فیزیکی و شیمیایی مولکول MHC کلاس II است. به عنوان نمونه می توان از ابزارهای EpiDirect، MHC-THREAD، IEDB MHC II، MHC2Pred و ProPred نام برد. مثلاً در پایگاه IIIEDB MHC یک فهرستی از چهار روش پیشگویی با نام های روش توالی مورد توافق، میانگین نسبی اتصال یا ARB (Average Relative Binding)، SMM و Sturniolo وجود دارد،(۲،۴،۸). ابزارهایی که برای پیشگویی عناصر متصل شونده به هر دوی MHC کلاس I و II قابل استفاده هستند معمولاً مبتنی بر روش های هیبریدی می باشند یا این که چندین روش را با هم یکپارچه کرده اند. از این نوع ابزارها می توان به RANKPEP، SVMHC، ARB Matrix، AntiBP و EpiVaxb اشاره کرد. روش هایی جهت پیشگویی پپتیدهای متصل شونده به MHC کلاس I و IIوجود دارد که هر کدام بر مبنای فرضیه ای متفاوت بنیان نهاده شده اند.(۲،۴،۸)

پ) پیشگویی نواحی برش پرتئوزومی

ناحیه انتهای C لیگاندهای MHC کلاس I می بایست به واسطه پرتئوزوم برش خورد. معمولاً پرتئوزوم پیش سازهای لیگاندهای MHC را با گستردگی در انتهای N تولید می کند. این پیش سازها می توانند در ناحیه N در شبکه اندوپلاسمیک پیرایش شوند. پرتئوزم نقش مهمی را در انتخاب پپتیدهایی که به سلول CD8+T عرضه می شوند، بازی می کند،(۴). عموماً پیشگویی نواحی برش پرتئوزوم یک راه فرعی جهت پیشگویی اپی توپ های سلول T است. اما حساسیت این روش چندان بالا نیست زیرا که برش پرتئوزومی تنها اولین گام در فرایند تولید اپی توپ است و در طی مراحل بعدی اکثریت پپتیدها قابلیت اتصال به MHC نخواهند داشت،(۲،۴،۸). به هر حال، پیشگویی نواحی برش می تواند مکمل مراحل پیشگویی نرم افزارها باشد. NetChop، FRAGPREDICT، WAPP، MAPPP، PAProC و Pcleavage تنها نمونه هایی از ابزارهای پیشگویی کننده نواحی برش پروتئوزومی هستند،(۴). ابزار NetChop نواحی برش پروتئوزومی و لیگاندهای MHC کلاس I با استفاده از مدل شبکه های عصبی پیشگویی می کند. ابزار Pcleavage(http://www.imtech.res.in/raghava/pcleavage) ابزاری مبتنی بر روش SVM بوده که بر اساس سه الگوریتم یادگیری ماشین است و به نظر می رسد هم اکنون بهترین روش برای پیشگویی نواحی برش پروتئوزومی می باشد.(۴)

PAProC علاوه بر پیشگویی نواحی برش به واسطه پرتئوزوم های انسان و مخمر، به ایمنی شناسانی که بر روی فرایند پردازش آنتی ژن و پیشگویی لیگاند های مولکول MHC کلاس I و اپی توپ های CTL کار می کنند، کمک می کند.(۴)

ت) روش ها و ابزارهای پیشگویی اتصال به TAP

پروتئین TAP(Transporter associated with Antigen Processing) جزئی از مسیر پردازش و عرضه MHC کلاس I می باشد. یک TAP transporter قادر به انتقال ۸ تا ۴۰ آمینواسید به درون شبکه اندوپلاسمی می باشد. انتقال TAP، یک مرحله نسبتاً کم اهمیت در فرایند

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-11-09]

تولید اپی توپ در روش پیشگویی اپی توپ است، چون بسیاری از عناصر متصل شونده به TAP مشخص شده که به طور طبیعی به وسیله مولکول MHC عرضه نمی شوند،(۲،۴،۸). از این رو ابزارهای انحصاری پیشگویی کننده TAP محدود می باشند که از آن جمله می توان به TAP Pred، PREDTAP اشاره کرد. نرم افزارهایی که در پیشگویی اپی توپ، واجد مرحله پیشگویی پپتیدهای اتصالی به TAP نیز می باشند عبارت از IEDB Binding، MHCPred، TAP Pred. پیشگویی اتصال TAP چندان اطلاعاتی را در مورد شناسایی اپی توپ های بالقوه به دست نمی دهد، آن ها عموماً در تلفیق با نرم افزارهای دیگر جهت حصول به نتایج پیشگویی اپی توپ قابل اطمینان تر به کار می روند.(۴)

ث) برنامه های پیشگویی پردازش اپی توپ

تعداد نرم افزارهایی که همه فرایندهای تولید اپی توپ را در یک روش یکپارچه می کنند، محدود است. شیوه اجرای این عملیات بسته به نحوه طراحی نرم افزار فرق می کند. در تئوری، این رهیافت می بایست بر همه ابزارهایی که فرایند تک مرحله ای را انجام می دهند برتری داشته باشد، اما در عمل همیشه این طور نیست،(۲،۴،۸). WAPP یکی از همین نرم افزارها می باشد که نواحی برش پروتئوزومی، TAP و اتصال MHC را در یک سیستم واحد ترکیب کرده است. IEDB binding یکی از روش های پیشگویی اپی توپ MHC کلاس I است که برش پروتئوزومی، TAP transportation و اتصال MHC کلاس I را با هم ترکیب می کند. استفاده از این نوع نرم افزارها، همراه با ابزارهای دیگر، انتظار می رود که سبب اجرای بهتر پیشگویی اپی توپ شود.(۴)

ج) پیشگویی آلرژی زایی

سبب شناسی آلرژی می تواند به هر دو علت برون زا و درون زا باشد. استفاده از غذاهایی که به صورت ژنتیکی تغییر یافته اند و مواد بهداشتی-درمانی اهمیت پیشگویی پروتئین های آلرژی زا را جهت برقراری ایمنی غذایی(Food Safety) دو چندان کرده است. در این رهگذر، پایگاه های توالی های آلرژن ها ابزاری ضروری برای ارزیابی امنیت غذایی در مهندسی بیولوژی می باشند و قادرند ساختار و خصوصیات فیزیکی و شیمیایی پروتئین های آلرژی زای غذایی را تحلیل کنند. آن ها بر روی اطلاعات مولکولی نظیر توالی های پروتئین ها، ساختارها و اطلاعات بیومدیکال متمرکز هستند.(۲۹)

بر اساس الگوی ارائه شده توسط سازمان بهداشت جهانی(WHO) و سازمان جهانی غذا و کشاورزی(FAO) در سال ۲۰۰۱، یک پروتئین زمانی آلرژن به حساب می آید که حداقل واجد شش آمینواسید پیوسته یا یک پنجره ۸۰ آمینواسیدی هنگام مقایسه با آلرژن شناخته شده باشد. به علاوه مشخص شده که آلرژن ها واجد خصوصیات ساختاری مشابه نمی باشند. بدین سبب پایگاه های داده آلرژن ها به عنوان مرجعی جهت یافتن تشابه توالی در ارزیابی آلرژنسیتی به حساب می آیند،(۲۹). مبنای عمل این پایگاه ها این است که پروتئینی به عنوان آلرژن تلقی می شود که واجد منطقه ای یا پپتیدهای مشابه به یک اپی توپ IgE شناخته شده باشد. کونگ و همکاران روش پیشگویی بر مبنای تعیین ترکیبی از دو موتیف آلرژن در توالی پروتئین ارائه کردند،(۳۰). آن ها ۵۷۵ پروتئین را به عنوان دسته داده آلرژی زا و ۷۰۰ توالی را به عنوان دسته داده غیر آلرژی زا جهت آزمون آلرژی زایی از منابع معتبر جمع آوری کردند.(۳۱)

ALGPRED توسط ساها و راگ هاوا ساخته شد که از SVM و نیز بر پایه هم ردیفی جهت آنالیز استفاده می کند،(۹). این سرور امکان استفاده از انتخاب رهیاف هیبریدی(ترکیبی از روش های موجود) را به کاربر می دهد(نظیر SVMc، اپی توپ IgE، بلاست ARP ها و MAST). استادلر و همکاران از ابزار کشف موتیف MEME جهت شناسایی بیشترین موتیف های مرتبط موجود در یک توالی آلرژن استفاده کردند،(۲۹). اگر برای توالی استعلام شده یک موتیف آلرژن پیدا شود و یا در مرحله هم ردیفی جفتی توالی ها امتیازی بهتر از E-value 10^{-8} مشاهده شود این روش آن توالی را به عنوان توالی آلرژنیک محسوب می کند. سپس توالی با انجام پیشگویی آلرژنسیتی برای توالی در SWISSPROT و یک پایگاه داده آزمایشی مصنوعی با معیارهای عمل FAO/WHO مقایسه می گردد.

Allermatch یک ابزار اینترنتی است که از رهیافت پنجره متحرک جهت پیشگویی پتانسیل آلرژنسیتی پروتئین استفاده می کند و این عمل را بر اساس توصیه های رایج FAO/WHO در بخش قانون نامه مواد غذایی انجام می دهد،(۳۲). این روش واجد موارد مثبت و منفی کاذب می باشد لذا FAO/WHO پیشنهاد کرده که در تفسیر نتایج باید ترکیبی از سایر روش های ارزیابی آلرژنسیتی نیز استفاده می شود.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-11-09]

ابزار APPEL (Allergen Protein Prediction E-Lab) از SVM و روش های آماری جهت شناسایی پتانسیل پروتئین های جدید جهت آلرژی زایی استفاده می کند،(۳۳). این ابزار به درستی ۹۳ درصد از ۲۲۹ آلرژی زا و ۹۹/۹ درصد از غیر آلرژی زا ها را طبقه بندی کرده است.

EVALLER وب سروری است به نشانی(http://bioinformatics.bmc.uu.se/ evaller.html) از یک روش فیلترینگ تنظیم شده بر مبنای طول پپتیدهای آلرژی زا(DFLAP) جهت شناسایی پتانسیل پروتئین های آلرژی زا استفاده می کند،(۳۴). ابزار DFLAP قطعات توالی آلرژن با طول های متنوع را استخراج کرده و از الگوریتم SVM بهره می گیرد. عدم قطعیت امتیازدهی در این ابزار نشان دهنده این موضوع است که Evaller در شناسایی یک آلرژن احتمالی از غیر آلرژن ها بسیار قابل اطمینان است. ابزارهایی که بر مبنای خصوصیات ساختاری و فیزیکی عمل می کنند در شناسایی پروتئین های واجد پتانسیل واکنش متقاطع که ممکن است با استفاده از روش تشابه توالی فرار کنند، مفید می باشند.(۴،۸)

بحث و نتیجه گیری

روش های سنتی ایمونوانفورماتیک که بر اساس پروفایل توالی ها می باشند از نظر محاسبه ای سودمند و کاربردی هستند، اما در زمانی که توالی پروتئین شناخته شده است در برخی اوقات تا اندازه ای قابل انتقاد می باشند زیرا توالی پروتئینی را از لحاظ معیار ساختار فضایی و ابعاد پروتئین در جهت پیشگویی اپی توپ سلول B مورد ارزیابی قرار نمی دهند،(۵،۱۲). اما این انتقاد به روش های دیگر که جزئیات ساختار سه بعدی پروتئین را به بررسی توالی به تنهایی جهت پیشگویی اپی توپ سلول B ترجیح می دهند و یا جهت افزایش قدرت پیشگویی از تکنیک های پیچیده تر و سنجیده تر محاسبه ای استفاده می کنند، بسیار کمتر است،(۲۰،۳۵). متاسفانه اعتبارسنجی روش های پیشگویی اپی توپ سلول B عموماً با قطعیت امکان پذیر نیست، که این امر سبب هدایت تلاش ها به سوی بهبود و اصلاح سیستماتیک روش ها، جهت تقویت بیشتر کیفیت پیشگویی شده است،(۳۶). هم چنین اکثریت روش های پیشگویی اپی توپ برای سلول های T این عمل را به طور غیرمستقیم با پیشگویی اپی توپ های با افینیتی بالا برای مولکول MHC انجام می دهند، که این امر خالی از اشکال نیست و پیشگویی های آینده می بایست اتصال پپتید به TCR را هم در بر گیرد.(۵)

امید است با پیشرفت هر بیشتر علم ایمونولوژی و روش های پیشگویی ریاضیاتی و کامپیوتری در آینده این مشکلات و چالش ها مرتفع گردیده و افق های روشن تری پیش روی محققین قرارد بگیرد. به طور ایده ال این مقاله به محققین ایرانی جهت فهم بیشتر در مورد روش ها و ابزارهای پیشگویی اپی توپ و مزایا و معایب آن ها کمک کرده، و از سوی دیگر این امکان را می دهد که به درستی از این ابزارها استفاده و اطلاعات علمی خود را تجزیه و تحلیل کنند.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-11-09]

References

1.Korber B, LaBute M, Yusim K. Immunoinformatics comes of age. PLoS Comput Biol 2006;2:1-15.

2.De Groot AS. Immunomics: discovering new targets for vaccines and therapeutics. Drug discov today. 2006;11:203-9.

3.Tong JC, Ren EC. Immunoinformatics: Current trends and future directions. Drug Disc Today 2009;14:684-9.

4.Tomar N, De RK. Immunoinformatics: an integrated scenario. Immunology 2010; 131:153-68.

5.Van Regenmortel M. Synthetic peptides versus natural antigens in immunoassays. Ann de Biologie Clinique 1993;51:39-41.

6.Langeveld JP, Martinez-Torrecuadrada J, Boshuizen RS, Meloen RH, Ignacio Casal J. Characterisation of a protective linear B cell epitope against feline parvoviruses. Vaccine 2001;19:2352-60.

7.Flower DR. Towards in silico prediction of immunogenic epitopes. Tren Immunol 2003;24:667-74.

8.Yang X, Yu X. An introduction to epitope prediction methods and software. Rev Med Virol 2009;19:77-96.

9.Saha S, Raghava G. Prediction of continuous B-cell epitopes in an antigen using recurrent neural network. Proteins 2006; 65:40-8.

10.Hopp TP, Woods KR. Prediction of protein antigenic determinants from amino acid sequences. Proc Nation Acad Sci 1981; 78:3824-8.

11.Pellequer J-L, Westhof E, Van Regenmortel MH. Correlation between the location of antigenic sites and the prediction of turns in proteins. Immunol lett 1993;36:83-99.

12.Blythe MJ, Doytchinova IA, Flower DR. JenPep: a database of quantitative functional peptide data for immunology. Bioinformatics 2002;18:434-9.

13.Odorico M, Pellequer JL. BEPITOPE: predicting the location of continuous epitopes and patterns in proteins. J Mol Recog 2003;16:20-2.

14.Emini EA, Hughes JV, Perlow D, Boger J. Induction of hepatitis A virus-neutralizing antibody by a virus-specific synthetic peptide. J Virol 1985;55:836-9.

15.Levitt M. Conformational preferences of amino acids in globular proteins. Biochemistry 1978;17:4277-85.

16.Kolaskar A, Tongaonkar PC. A semi-empirical method for prediction of antigenic determinants on protein antigens. FEBS lett 1990;276:172-4.

17.Saha S, Raghava G. BcePred: Prediction of continuous B-cell epitopes in antigenic sequences using physico-chemical properties. Artific Imm Sys 2004;5: 197-204.

18.Ghate A, Bhagwat B, Bhosle S, Gadepalli S, Kulkarni-Kale U. Characterization of antibody-binding sites on proteins: development of a knowledgebase and its applications in improving epitope prediction. Protein Peptide lett 2007;14:531-5.

19.Sweredoski MJ, Baldi P. COBEpro: a novel system for predicting continuous B-cell epitopes. Protein Engin Design Select 2009;22:113-20.

20.Larsen JE, Lund O, Nielsen M. Improved method for predicting linear B-cell epitopes. Immunome Res 2006;2:2-8.

21.Toseland CP, Clayton DJ, McSparron H, Hemsley SL, Blythe MJ, Paine K, et al. AntiJen: a quantitative immunology database integrating functional, thermodynamic, kinetic, biophysical, and cellular data. Imm Res 2005;1:4-7.

22.Pomés A. Relevant B cell epitopes in allergic disease. Int Arch Allergy Immunol 2009;152:1-11.

23.Kulkarni-Kale U, Bhosle S, Kolaskar AS. CEP: a conformational epitope prediction server. Nucleic Acids Res 2005; 33:W168-W71.

24.Haste Andersen P, Nielsen M, Lund O. Prediction of residues in discontinuous B-cell epitopes using protein 3D structures. Protein Sci 2006;15:2558-67.

25.Bublil EM, Freund NT, Mayrose I, Penn O, Roitburd-Berman A, Rubinstein ND, et al. Stepwise prediction of conformational discontinuous B-cell epitopes using the Mapitope algorithm. Proteins 2007;68:294-304.

26.Sollner J, Grohmann R, Rapberger R, Perco P, Lukas A, Mayer B .Analysis and prediction of protective continuous B-cell

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-11-09]

epitopes on pathogen proteins. Imm Res 2008;4:1-6.

27.un J, Wu D, Xu T, Wang X, Xu X, Tao L, et al. SEPPA: a computational server for spatial epitope prediction of protein antigens. Nucleic Acids Res 2009;37:612-6.

28.Liang S, Zheng D, Standley D, Yao B, Zacharias M, Zhang C. EPSVR and EPMeta: prediction of antigenic epitopes using support vector regression and multiple server results. BMC Bioinform 2010;11:381-7.

29.Stadler MB, Stadler BM. Allergenicity prediction by protein sequence. FASEB J 2003;17:1141-3.

30.Kong W, Tan TS, Tham L, Choo KW. Improved prediction of allergenicity by combination of multiple sequence motifs. In silico Biol 2007;7:77-86.

31.Björklund ÅK, Soeria-Atmadja D, Zorzet A, Hammerling U, Gustafsson MG. Supervised identification of allergen-representative peptides for in silico detection of potentially allergenic proteins. Bioinformatics 2005;21:39-50.

32.Fiers MW, Kleter GA, Nijland H, Peijnenburg AA, Nap JP, van Ham RC. Allermatch™, a webtool for the prediction of potential allergenicity according to current FAO/WHO Codex alimentarius guidelines. BMC Bioinform 2004;5:133-8.

33.Cui J, Han LY, Li H, Ung CY, Tang ZQ, Zheng CJ, et al. Computer prediction of allergen proteins from sequence–derived protein structural and physicochemical properties. Mol Immunol 2007;44:514-20.

34.Barrio AM, Soeria-Atmadja D, Nistér A, Gustafsson MG, Hammerling U, Bongcam-Rudloff E. EVALLER: a web server for in silico assessment of potential protein allergenicity. Nucleic Acids Res 2007;35:694-700.

35.El-Manzalawy Y, Dobbs D, Honavar V. Predicting protective linear B-cell epitopes using evolutionary information. Bioinform Biomed 2008: 289-92.

36.Caoili S. B-cell epitope prediction for peptide-based vaccine design: towards a paradigm of biological outcomes for global health. Imm Res 2011;7:2-9.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-11-09]

Immnoinformatics and epitope prediction methods; dynamic science with promising achievements

Ranjbar MM[1], Mousavi-Nasab S[2], Ghalyanchi-Langeroudi A[3], Nazaktabar A[4], Ahmadi A[5], Khoshnevisan R[6], Esfandyari S[6], Vafaeimanesh J[7], Akbari A[8]

(Received: 9 Jun. 2013 Accepted: 13 Oct. 2013)

Abstract

Modern immunoinformatic approaches provide new strategies for the identification, design and synthesis of antigen-specific epitops for different purposes such as vaccines production, allergies management, immunotherapy and etc. New developments in vaccine design, allergens identification and immunotherapy has been emerged following important discoveries in immuneology and development of new epitope prediction tools/algorithms for B and T cells. Here, we initially attempted to introduce immunoinformatic achievements to molecular biologist and then provide different approaches for B cell and T cell epitope prediction. Ideally, this article help researcher to find out more about epitope prediction methods and their challenges, how to use these approaches correctly and analysis their scientific data.

Keywords: Immunoinformatic, Epitope, B cell, T cell, Prediction

1.Dept of Immunology, Universit y of Tehran, Tehran, Iran
2.Dept of Virology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
3.Dept of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.
4.Dept of Microbiology, of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran .
5.Dept of Laboratory Sciences, Proteomics Research Center, Faculty of Paramedical Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
6. Faculty of Veterinary, University of Tehran, Tehran, Iran
7.Qom University of Medical Sciences, Qom, Iran
8.Dept of Laboratory Sciences, Faculty of Allied Medical Sciences, Ilam University of Medical Sciences, Ilam, Iran
**(corresponding author)*

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-11-09]