Journal of Ilam University of Medical Sciences

P-ISSN: 1563-4728
E-ISSN: 2588-3135

Synthesis of PEG-PLA Block Copolymer Nanospheres Containing Mixed Recombinant Proteins of Protective Antigen and Lethal Factor of Bacillus anthracis

Hossein Honari[1*], Mohammad Ebrahim Minaei[1], Hassan Mirhaj[1], Sayyed Masih Etemadaubi[1]

[1.]Dept of Biology, Faculty of Basic Sciences, Imam Hossein Comprehension University, Tehran, Iran

Article Info

Article type:
Research article

Article History:
Received: 05 December 2020
Revised: 16 December 2020
Accepted: 01 September 2021

**** Correspondence to:***
Hosein Honari
Dept of Biology, Faculty of Basic Sciences, Imam Hossein Comprehension University, Tehran, Iran

Email: Honari.hosein@gmail.com

A B S T R A C T

Introduction: Anthrax is a zoonotic disease and vaccine production is one way to protect people against this bacterium. This study investigates the application of copolymer nanocapsule (PEG-PLA) systems with controlled release specificity for a recombinant protective antigen and lethal factor of Bacillus anthracis to provide a vaccine candidate.

Material & Methods: In this experimental study, the dual solvent evaporation emulsion method was used to produce nanocapsules. Moreover, zeta potential and size of nanoparticles, loading efficiency of nanoparticles, recombinant protein release pattern, the probable effect of PLA-PEG nanoparticle production on the shelf life of recombinant proteins were investigated in this study. Mice were used as test and control samples for antibody production and immune response evaluation.
(Ethic code: 9727250)

Findings: The results of this study showed that mixed proteins (LFD1+PAD4) loaded on PEG-PLA block copolymer had an average size of 109 nm, the zeta potential of -27.7 mV, and PDI=0.394. In this study, it was shown that the release of these antigens was carried out in two stages of rapid and slow release. The release of the proteins was estimated at about 20% on the first day and 78% on the 49th day. The titers of antibodies produced in the serum of the mouse groups against these antigens at defined intervals were significantly different from each other.

Discussion & Conclusion: The results of this study suggest the application of PEG-PLA block copolymer nanocapsules containing mixed recombinant proteins of protective antigen and lethal factor of Bacillus anthracis. Due to less degradation and more protection of antigen activity in nanoparticles, compared to traditional methods, as well as fewer repeat injections, higher specificity, reduced side effects, lower cost, and slower release rate, the use of nanoparticles is a good option to replace traditional methods.

Keywords: Copolymer nanocapsule, Lethal factor, Protective antigen, Vaccine

➢ **How to cite this paper**

Honari H, Minaei ME, Mirhaj H, Etemadaubi SM. Synthesis of PEG-PLA Block Copolymer Nanospheres Containing Mixed Recombinant Proteins of Protective Antigen and Lethal Factor of Bacillus anthracis. Journal of Ilam University of Medical Sciences. 2022;29(5): 89-101.

© The Author(s)

Publisher: Ilam University of Medical Sciences

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]

[DOR: 20.1001.1.15634728.1400.29.5.3.3]
[DOI: 10.52547/sjimu.29.5.89]

مجله دانشگاه علوم پزشکی ایلام

P-ISSN: ۱۵۶۳-۴۷۲۸

E-ISSN: ۲۵۸۸-۳۱۳۵

سنتز نانوسفر کوپلیمری دوبلوکهٔ PEG-PLA حاوی مخلوط پروتئین‌های نوترکیب آنتی‌ژن محافظت‌کننده و فاکتور کشندهٔ باسیلوس آنتراسیس

حسین هنری[1*]، محمدابراهیم مینایی[1]، حسن میرحاج[1]، سید مسیح اعتماد ایوبی[1]

[1] مرکز علم و فناوری زیست‌شناسی، دانشکده و پژوهشکده علوم پایه، دانشگاه جامع امام حسین (ع)، تهران، ایران

اطلاعات مقاله

نوع مقاله: پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۹/۱۵

تاریخ داوری: ۱۳۹۹/۰۹/۲۶

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۶/۱۰

نویسنده مسئول:
حسین هنری
مرکز علم و فناوری زیست‌شناسی، دانشکده و پژوهشکده علوم پایه، دانشگاه جامع امام حسین (ع)، تهران، ایران

Email:
Honari.hosein@gmail.com

چکیده

مقدمه: سیاه‌زخم از بیماری‌های مشترک انسان و دام است و تولید واکسن یکی از راه‌های محافظت افراد در برابر این باکتری است. مطالعهٔ حاضر کاربرد سامانه‌های نانوکپسول کوپلیمری (PEG-PLA) با ویژگی رهایش کنترل‌شده برای پروتئین‌های نوترکیب آنتی‌ژن محافظت‌کننده و فاکتور کشنده باسیلوس آنتراسیس را با هدف ارائهٔ کاندید واکسن بررسی می‌کند.

مواد و روش ها: در این مطالعهٔ تجربی، برای تولید نانوکپسول‌ها از روش امولسیون دوگانهٔ تبخیر حلال استفاده شد و اندازه و پتانسیل زتای نانوذرات، بازده بارگذاری نانوذرات، الگوی رهایش پروتئین نوترکیب، تأثیر احتمالی روش تولید نانوذره PLA-PEG بر پایداری و ماندگاری پروتئین‌های نوترکیب بررسی گردید. به‌منظور تولید آنتی‌بادی و بررسی پاسخ ایمنی، از موش‌های سوری به‌عنوان نمونهٔ آزمایش و شاهد بهره گرفته شد.

یافته‌ها: نتایج این تحقیق نشان داد که پروتئین‌های مخلوط (LFD1+PAD4) بارگذاری‌شده در کوپلیمر دوبلوکهٔ PEG-PLA اندازهٔ میانگین ۱۰۹ نانومتر و پتانسیل زتا ۲۷/۷- میلی ولت و PDI=۰/۳۹۴ دارند. در این تحقیق نشان داده شد که رهایش آنتی‌ژن‌های یادشده در دو مرحلهٔ رهایش سریع و آهسته انجام می‌شود که آزادسازی پروتئین‌ها در روز اول حدود ۲۰ درصد و پس از گذشت ۴۹ روز، به میزان ۷۸ درصد محاسبه گردید. میزان آنتی‌بادی تولیدشده در سرم گروه‌های موشی علیه این آنتی‌ژن‌ها در فواصل زمانی مشخص، با یکدیگر اختلاف معناداری داشتند.

بحث و نتیجه‌گیری: نتایج به‌دست‌آمده در این تحقیق، به‌کارگیری نانوکپسول کوپلیمری دوبلوکهٔ PEG-PLA حاوی مخلوط پروتئین‌های نوترکیب آنتی‌ژن محافظت‌کننده و فاکتور کشندهٔ باسیلوس آنتراسیس را توصیه می‌کند. با توجه به تخریب کمتر و حفاظت بیشتر فعالیت آنتی‌ژن در نانوذرات نسبت به استفاده از روش‌های سنتی و نیز تکرار تزریق کمتر، اختصاصیت بالاتر، کاهش عوارض جانبی، هزینهٔ کمتر و آهسته رهش بودن، استفاده از نانوذرات گزینهٔ مناسبی برای جایگزین شدن با روش‌های سنتی است.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌ژن محافظت‌کننده، فاکتور کشنده، نانوکپسول کوپلیمری، واکسن

استناد: هنری، حسین؛ مینایی، محمد ابراهیم؛ میرحاج، حسن؛ اعتماد ایوبی، سید مسیح. سنتز نانوسفر کوپلیمری دوبلوکهٔ PEG-PLA حاوی مخلوط پروتئین‌های نوترکیب آنتی‌ژن محافظت‌کننده و فاکتور کشندهٔ باسیلوس آنتراسیس. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی ایلام، دی ۱۴۰۰؛۲۹(۵): ۱۰۱-۸۹.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]

[DOR: 20.1001.1.15634728.1400.29.5.3.3]

[DOI: 10.52547/sjimu.29.5.89]

حق‌مؤلف © نویسندگان

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]

[DOR: 20.1001.1.15634728.1400.29.5.3.3]
[DOI: 10.52547/sjimu.29.5.89]

مقدمه

بیماری سیاه‌زخم در انسان، درنتیجهٔ تماس مستقیم با حیوانات بیمار و یا فراورده‌های حیوانات مانند پوست، مو و پشم ایجاد می‌شود؛ بنابراین دامپزشکان، دامداران، میکروب‌شناسان، کشاورزان، چوپانان، کارگران کشتارگاه‌ها و کارگران مشغول‌به‌کار در صنایع پوست و پشم، بیشتر در معرض ابتلا به این بیماری هستند. سه راه بروز آلودگی در انسان به‌صورت پوستی، تنفسی و گوارشی است. سیاه‌زخم پوستی، شایع‌ترین شکل سیاه‌زخم در انسان است که درنهایت، موجب ایجاد یک جوشگاه سیاه‌رنگ می‌شود. این نوع از سیاه‌زخم به مرگ در ۲۰ درصد موارد منجر می‌گردد. سیاه‌زخم تنفسی که درنتیجهٔ تنفس اسپورباکتری رخ می‌دهد، کشنده‌ترین شکل بیماری محسوب می‌شود و موجب مرگ بیمار در مدت ۲۴ ساعت می‌گردد. سیاه‌زخم گوارشی ناشی از مصرف غذای آلوده به اسپور و نادرترین شکل بیماری در انسان است. تقریباً ۹۵ درصد از موارد ابتلا به سیاه‌زخم در انسان، از نوع جلدی و پنج درصد از موارد، به شکل تنفسی است (۲، ۱). باکتری باسیلوس آنتراسیس سه آنتی‌ژن شامل آنتی‌ژن کپسولی، آنتی‌ژن سوماتیک و کمپلکس سمی دارد (۳).

کمپلکس سمی از سه جزء جداگانه تشکیل‌شده است که مسئول بیشتر نشانه‌های بالینی برای سیاه‌زخم است. این سم شامل آنتی‌ژن حفاظتی (۸۳ کیلودالتون)، عامل کشنده (۹۰ کیلودالتون) و عامل آماس یا ادم (۸۹ کیلودالتون) است که به‌ترتیب توسط ژن‌های pag، lef و cya موجود روی پلاسمید pXO1 باکتری کد می‌شود. ژن atxA به‌عنوان فعال‌کنندهٔ سم سیاه‌زخم معروف است که تنظیم‌کنندهٔ رونویسی ژن‌های کدکنندهٔ سه سم پروتئینی است (۴). وجود پلاسمید و ژن تنظیمی atxA که روی پلاسمید قرار گرفته، برای بیماری‌زایی ضروری است. آنتی‌ژن حفاظتی به علت نقشی که در فراخوانی پاسخ ایمنی حفاظتی علیه سیاه‌زخم دارد، به این نام خوانده‌شده است. ژن کدکنندهٔ PA در لوکوس pag روی پلاسمید pXO1 قرار گرفته است و پیش‌تر به pBA1 معروف بود. ساختار سه‌بعدی آنتی‌ژن حفاظتی شناسایی‌شده است. ساختار کریستالی آن نشان می‌دهد که این مولکول به چهار دومین مجزا از نظر عملکردی تقسیم‌بندی می‌شود که روی هم تا می‌خورند. هر دومین برای مرحلهٔ خاصی از ایجاد سمیت ضروری است (۵).

واکسیناسیون مؤثرترین روش پیشگیری از بیماری سیاه‌زخم محسوب می‌شود که می‌تواند جان هزاران نفر را نجات بخشد. عامل این بیماری شامل سه جزء مهم یعنی اسپور، باسیل و سم است که حذف هریک از این موارد حفاظت حداقل را علیه سیاه‌زخم ایجاد می‌کند (۶).

سویه‌های بیماری‌زای باسیلوس آنتراسیس واجد دو پلاسمید بزرگ هستند: پلاسمید توکسین pXO1 و پلاسمید کپسول pXO2. سویه‌هایی که تنها واجد یکی از این‌ها باشند، غیر بیماری‌زا هستند. اولین واکسن که پاستور در سال ۱۸۸۱ تولید کرد، یک سویهٔ تخفیف حدت یافته بود (pXO1−/pXO2+) که کپسول داشت؛ اما توکسین تولید نمی‌کرد. این سویه سطح بسیار پایین‌تری از ایمنی را در مقایسه با سویه‌های واکسن تولیدکنندهٔ توکسین ایجاد می‌نمود. واکسنی که پاستور تهیه کرده بود، ۵۰ سال به‌طور وسیع در اروپا و آمریکا، برای واکسینه نمودن گاو و گوسفندها به‌کاربرده شد (۷).

واکسن‌های تأییدشدهٔ AVA (استفاده‌شده در آمریکا) و AVP (استفاده‌شده در انگلیس) برای جلوگیری از مرگ‌ومیر ناشی از سیاه‌زخم کاربرد دارند. آنتی‌ژن حفاظتی (PA) جزء اصلی این واکسن‌ها است که در ساختار توکسین کشنده و ادم مشترک است و این توکسین‌ها نقش اصلی را در بیماری‌زایی باکتری دارند.AVP در مقایسه با AVA، حاوی سطوح پایین‌تری از PA و غلظت‌های بالاتری از آنتی‌ژن‌های دیگر سیاه‌زخم مانند فاکتور کشنده (LF)، فاکتور ادم (EF) و برخی از پروتئین‌های سطحی است و درنتیجه ممکن است از نظر ایجاد مصونیت به بیماری، از AVA اندکی بهتر

عمل کند (۸).

واکسن‌های مبتنی بر PA نوترکیب (rPA) یکی از گزینه‌های جایگزین برای واکسن‌های AVA و AVP هستند. این واکسن‌های نوترکیب با سرعت بیشتری سبب مصونیت می‌شوند و بنابراین می‌توانند در موارد پس از مواجهه با عامل بیماری سیاه‌زخم، مؤثرتر از واکسن‌های نسل گذشته عمل کنند. از سویی، واکسن‌های نوترکیب از نظر فرمولاسیون، همگنی بالاتری دارند و ایمنی و مصونیت‌زایی این واکسن‌ها با استفاده از آزمایش‌های بالینی مشخص‌شده است (۹)؛ همچنین با توجه به مطالعات صورت‌گرفته، تولید واکسن‌های نوترکیب حاوی PA و فاکتور کشنده می‌تواند اثرگذاری بیشتری برای فعال‌سازی دستگاه ایمنی داشته باشد؛ درنتیجه، نسل‌های جدید واکسن به‌سوی تولید واکسن‌های کایمر بین آنتی‌ژن حفاظتی و فاکتور سم است (۱۰). تجویز PA به‌صورت داخل جلدی، جزو روش‌های موفقیت‌آمیز برای واکسیناسیون سیاه‌زخم است. استفاده از پچ‌های پوستی حاوی rPA و جایگزینی آن زیرپوست، موجب القای سطح چشمگیری از آنتی‌بادی در حیوانات الگو شده است (۱۱).

در این مطالعهٔ تجربی، به‌کارگیری سامانه‌های نانوکپسول کوپلیمری (PEG-PLA) با ویژگی رهایش کنترل‌شده برای پروتئین‌های نوترکیب آنتی‌ژن محافظت‌کننده و فاکتور کشندهٔ باسیلوس آنتراسیس با هدف ارائهٔ کاندید واکسن بررسی‌شده است. استفاده از نانوکپسول برای تولید واکسن نوترکیب سیاه‌زخم، با توجه به ویژگی‌های نانوذرات در رهایش و حفاظت بیشتر فعالیت آنتی‌ژن می‌تواند گزینهٔ مناسبی برای جایگزین شدن با روش‌های سنتی باشد.

مواد و روش ها

تهیهٔ نانوذرات حاوی پروتئین‌های مخلوط LFD1 و PAD4: آنتی‌ژن‌های استفاده‌شده در این تحقیق، مخلوط پروتئین‌های نوترکیب LFD1 (دامنهٔ ۱ فاکتور کشنده) و PAD4 (دامنهٔ ۴ آنتی‌ژن حفاظتی) سیاه‌زخم بود که باکتری‌های دارای این دو ژن به‌صورت جداگانه، از مرکز تحقیقات زیست‌شناسی دانشگاه جامع امام حسین(ع) تهیه و پروتئین‌های مربوط بیان و تخلیص گردید. برای تولید نانوکپسول‌ها از روش امولسیون دوگانهٔ تبخیر حلال استفاده شد. در این روش، محلول بافری به فاز آلی شامل پلیمر اضافه می‌شود و امولسیون اولیه (W/O) را تشکیل می‌دهد. این امولسیون به‌آرامی و در حین هم زدن، به حجم بزرگی از آب که شامل امولسیفایر است (امولسیفایر در این آزمایش پلی وینیل الکل یا PVA است) اضافه می‌گردد تا امولسیون آب-روغن-آب حاصل شود. در پایان، حلال از امولسیون به روش تبخیر و استخراج حلال جدا می‌گردد (۱۲).

برای تهیهٔ نانوذرات PLA-PEG، در یک بشر ۲ میلی‌لیتر تتراهیدروفوران (THF) ریخته و ۴۰ میلی‌گرم پلیمر PLA-PEG اضافه و سپس حدود ۲ ساعت اجازه داده شد تا پلیمر روی همزن مغناطیسی به‌خوبی حل شود. پس از گذشت مدت‌زمان بالا، یک میلی‌لیتر از مخلوط مساوی پروتئین‌های LFD1 و PAD4 (یک میلی‌گرم از هر پروتئین) به‌صورت قطره‌قطره به محلول پلیمری در حال هم زدن اضافه گردید و سپس حدود ۵ دقیقه اجازه داده شد. پس از این مرحله، امولسیون تهیه‌شده با قدرت ۷۵ درصد و سیکل ۰/۵ به مدت ۳۰ ثانیه سونیکیت شد. یک میلی‌لیتر محلول پلی وینیل الکل (PVA) یک درصد در آب مقطر به‌صورت تازه آماده و سپس با سرنگ محلول حاوی نمونه پلیمر و پروتئین، قطره‌قطره به PVA در حال هم زدن اضافه گردید؛ سپس همانند مرحلهٔ پیش، نمونهٔ سونیکت شد؛ اما این بار مدت‌زمان سونیکت ۶۰ ثانیه بود. در این مرحله، حجم امولسیون دوگانهٔ W/O/W به‌دست‌آمده را با آب مقطر به ۳۰ میلی‌لیتر رسانده و بشر بر روی همزن قرار گرفت و ۲ ساعت اجازه داده شد تا در حال هم زدن، حلال تتراهیدروفوران کاملاً تبخیر شود. با گذشت زمان لازم برای تبخیر حلال و سخت شدن ذرات موجود در محلول، جمع‌آوری ذرات آن‌ها انجام گرفت. برای جمع‌آوری ذرات، کل محلول به داخل دو لولهٔ فالکون ۵۰ میلی‌لیتری جداگانه ریخته و به مدت ۲۰ دقیقه با

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]

[DOR: 20.1001.1.15634728.1400.29.5.3.3]

[DOI: 10.52547/sjimu.29.5.89]

سرعت g ۲۰۰۰۰ سانتریفوژ گردید. پس از ته‌نشین شدن کامل ذرات، به‌منظور ارزیابی بازده بارگذاری از لحاظ مقدار پروتئین منتقل‌شده به فاز آبی دوم، مایع رویی جمع‌آوری و بررسی شد؛ سپس رسوب دو بار و هر بار با ۱۵ میلی‌لیتر آب مقطر دو بار تقطیرشده شستشو داده و با سرعت g ۲۰۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ گردید (۱۳).

بررسی ویژگی‌های ظاهری نانوذرات: برای بررسی اندازهٔ و پتانسیل زتای نانوذرات تولیدشده، با استفاده از پراش نور پویا از دستگاه DLS(مدل Malvern ساخت کشور انگلستان) استفاده شد. برای بررسی ویژگی‌های ظاهری نانوذرات، از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) (مدل EM3200 ساخت شرکت KYKY ساخت کشور چین) استفاده گردید. به‌منظور جلوگیری از رشد نانوذرات، نمونه‌های تازه تهیه‌شده روی یک سطح شیشه‌ای قرار گرفتند. پس از خشک شدن کامل، نمونه به‌وسیلهٔ یک‌لایهٔ نازک طلا با روش P.V.D پوشش داده شد. برای انجام لایه‌نشانی طلا از دستگاه Sputter coater (مدل SBC12 ساخت شرکت KYKY ساخت کشور چین) استفاده گردید. درنهایت، پس از لایه‌نشانی، نمونهٔ نانوذرات توسط میکروسکوپ ارزیابی شدند.

بررسی بازده بارگذاری نانوذرات: به‌منظور بررسی بازده بارگذاری نانوذرات، پس از تهیهٔ نانوذرات و انجام سانتریفیوژ، ۲۰ میلی‌گرم از نانوذرات در یک میلی‌لیتر سود یک مولار مخلوط و به‌آرامی برای چند دقیقه، ورتکس و پروتئین در محلول PBS از نانوذرات خارج می‌شود؛ سپس محلول سانتریفیوژ و سوپ به‌دست‌آمده برای مشخص شدن میزان پروتئین آنالیز می‌گردد. بازده بارگذاری با استفاده از فرمول زیر محاسبه می‌شود (۱۳):

$$EE = \frac{m}{m_0} \times 100\%$$

m0= میزان پروتئین اولیه

m= میزان پروتئین بارگذاری‌شده در نانوذرات

بررسی برون‌تن رهایش آنتی‌ژن از نانوذرات: برای بررسی الگوی رهایش پروتئین نوترکیب، میزانی از نانوذرات PLA-PEG حاوی ۳ میلی‌گرم پروتئین در حجم ۵۰۰ میکرولیتر محلول PBS درون میکروتیوب ۲ میلی‌لیتری ریخته و با هم زدن پراکنده شد. میکروتیوب درون شیکر انکوباتور در دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد و ۲۰۰ rpm قرار گرفت و در فواصل زمانی منظم، نمونه‌برداری از محلول انجام گردید (۱۴). انجام این آزمون به مدت ۴۹ روز ادامه داشت؛ سپس با استفاده از روش پروتئین‌سنجی برادفورد با سه بار تکرار، غلظت پروتئین موجود در نمونه تعیین شد. درنهایت، منحنی درصد تجمعی پروتئین رهاشده از نانوذرات در مدت‌زمان‌های تعیین‌شده ترسیم گردید.

بررسی پایداری و ماندگاری پروتئین در طول تهیهٔ نانوذرات: برای مشخص کردن تأثیر احتمالی روش تولید نانوذرهٔ PLA-PEG بر پایداری و ماندگاری پروتئین، ابتدا حجم مشخصی از محلول حاوی نانوذره پس از تولید به یک لولهٔ فالکون ۱۵ میلی‌لیتری منتقل و سپس سانتریفیوژ شد. پس از حذف محلول رویی، به رسوب آن‌ها ۲ میلی‌لیتر بافر رهایش نانوذره (محلول حاوی SDS 5% و NaOH 0.1M) اضافه گردید (۱۵)؛ سپس نمونهٔ نانوذرات در مدت‌زمان ۱۶ ساعت در محلول رهایش سریع روی شیکر به‌آرامی شیک شدند. درنهایت، نمونهٔ جمع‌آوری‌شده از تخریب کامل نانوذرات به همراه حجم مشخص پروتئین نوترکیب، در ژل SDS-PAGE رنگ‌آمیزی گردید تا وجود باندهای پروتئینی رهایش‌شده از نانوذرات مشخص شود.

تزریق زیرپوستی پروتئین‌های مخلوط (LFD1 و PAD4) به گروه‌های موشی: به‌منظور تولید آنتی‌بادی و بررسی پاسخ ایمنی، از موش‌های سوری (از نوع Mus musculus ماده با وزن ۲۵-۲۰ گرم و سن ۴ هفته) به‌عنوان نمونهٔ آزمایش و شاهد استفاده شد. برای انجام ایمنی‌زایی، مخلوط پروتئین‌های نوترکیب PAD4+LFD1 (به نسبت مساوی) که هر دو غیر بارگذاری‌شده هستند، به‌طور جداگانه طی چهار نوبت به گروه آزمایش به‌ترتیب در روز اول، روز چهاردهم، روز بیست‌وهشتم و روز چهل‌ودوم به‌صورت زیرپوستی و به گروه شاهد به همین

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.15634728.1400.29.5.3.3]
[DOI: 10.52547/sjimu.29.5.89]

ترتیب PBS تزریق گردید (جدول شمارهٔ ۱)؛ همچنین مخلوط پروتئین‌های نوترکیب PAD4+LFD1 کپسوله‌شده در نانوذرات PLA-PEG نیز به شکل یک‌تزریقه (روز اول) و دوتزریقه (روز اول و بیست‌وهشتم) به‌صورت زیرپوستی انجام شد (جدول شمارهٔ ۲). برای حیوانات شاهد نیز به‌جای آنتی‌ژن از نانوذرات بدون پروتئین و PBS استفاده گردید.

به‌منظور تعیین تیتر آنتی‌بادی موجود در سرم موش از روش الیزای غیرمستقیم استفاده گردید. برای بررسی آماری داده‌ها از آزمون‌های ANOVA و T.test بهره گرفته شد. این آزمون برای مقایسهٔ میانگین تیتر آنتی‌بادی نمونه‌ها انجام گردید.

جدول ۱. گروه‌ها، زمان و مقادیر پروتئینی غیر بارگذاری‌شدهٔ تزریقی در مراحل ایمن‌سازی

ردیف	پروتئین تزریقی	تزریق ۱ (۲۰ میکروگرم) روز اول	تزریق ۲ (۱۵ میکروگرم) روز ۱۴	تزریق ۳ (۱۰ میکروگرم) روز ۲۸	تزریق ۴ (۱۰ میکروگرم) روز ۴۲	تعداد موش‌ها در هر گروه	روش تزریق
۱	پروتئین مخلوط LFD1+PAD4 آزاد	+	+	+	+	۵ سر در هر گروه	زیرپوستی
۲	PBS	+	+	+	+		

جدول ۲. گروه‌ها، زمان و مقادیر پروتئینی بارگذاری‌شدهٔ تزریقی در مراحل ایمن‌سازی

ردیف	پروتئین تزریقی	تزریق ۱ (۲۰ میکروگرم) روز اول	تزریق ۲ (۲۰ میکروگرم) روز ۲۸	تعداد موش‌ها در هر گروه	روش تزریق
۱	پروتئین مخلوط LFD1+PAD4 بارگذاری‌شده در نانوذرات	+	–	۵ سر در هر گروه	زیرپوستی
۲	پروتئین مخلوط LFD1+PAD4 بارگذاری‌شده در نانوذرات	+	+		
۳	نانوذرات PLA-PEG	+	+		

یافته ها

نتایج بازده بارگذاری نانوذرات: برای بررسی بازده بارگذاری نانوذرات، پس از ساخت نانوذرات و انجام سانتریفیوژ، نانوذرات Freez drying شدند. محلول رویی جمع‌آوری و پروتئین‌سنجی انجام و بر اساس فرمول بخش روش‌ها ظرفیت بارگیری نانوذرات محاسبه گردید (جدول شمارهٔ ۳).

بر اساس نتایج جدول شمارهٔ ۳، بهترین شرایط برای بیشترین میزان بارگذاری پروتئین هنگامی بود که از محلول PEG-PLA با غلظت ۲۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر حلال آلی (غلظت ۲ درصد) و میزان پروتئین ۲ میلی‌گرم استفاده شد. در این شرایط، میزان بارگذاری پروتئین در نانوذرات حدود ۴۴/۴ درصد برای پروتئین مخلوط محاسبه گردید.

نتایج بررسی برون‌تن رهایش آنتی‌ژن از نانوذرات: برای بررسی برون‌تن رهایش آنتی‌ژن از نانوذرات PEG-PLA پس از ۴۹ روز، بر اساس درصد تجمعی

جدول ۳. بررسی مقدار بهینهٔ ظرفیت بارگیری با تغییر غلظت پلیمر و آنتی‌ژن. فرمولاسیون‌های متفاوت با تغییر غلظت پلیمر و غلظت پروتئین مخلوط برای به‌دست آوردن بیشترین ظرفیت بارگیری نانوذرات تهیه شد.

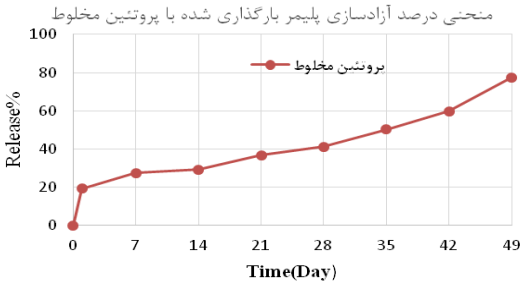
غلظت پلیمر (درصد)	غلظت پروتئین مخلوط (میلی‌گرم)	درصد ظرفیت بارگیری LFD1+PAD4
۲	۲	۴۴/۴
۴	۲	۳۵/۴
۶	۲	۴۱
۸	۲	۳۳
۲	۱	۴۲

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.15634728.1400.29.5.3.3]
[DOI: 10.52547/sjimu.29.5.89]

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.15634728.1400.29.5.3.3]
[DOI: 10.52547/sjimu.29.5.89]

رهایش پروتئین در نمودار نمایش داده شد. همان‌طور که در شکل شمارهٔ ۱ مشاهده می‌شود، پس از این مدت‌زمان، در حدود ۷۸ درصد رهایش از نانوذرات PEG-PLA انجام‌شده است.

نتایج بررسی ویژگی‌های ظاهری نانوذرات: در بررسی اندازه و پتانسیل زتای نانوذرات با استفاده از پراش نور پویا، نتایج نشان‌دهندهٔ این بود که از نظر پتانسیل زتا و PDI نانوذرات در محدودهٔ مناسبی قرار داشتند (جدول شمارهٔ ۴).



شکل ۱. نتایج درصد تجمعی رهایش پروتئین نوترکیب مخلوط از نانوذرات PEG-PLA در طول مدت ۴۹ روز. پس از گذشت ۴۹ روز، درصد رهایش پروتئین‌های مخلوط نوترکیب PAD4+LFD1 کپسوله‌شده در نانوذرات PLA-PEG حدود ۷۸ درصد تعیین گردید.

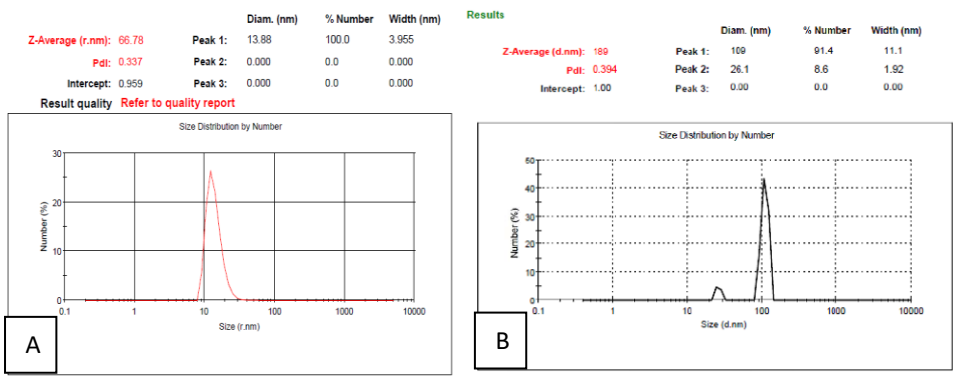
جدول ٤. بررسی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی نانوذرات با استفاده از پراش نور پویا. با تغییر در مؤلفه‌های مؤثر در فرایند ساخت نانوذرات، درنهایت نانوذرات آنتی‌ژن مخلوط PAD4+LFD1 بارگذاری‌شده در PEG-PLA با میانگین اندازهٔ ۱۰۹ نانومتر و پتانسیل زتای ۲۷/۷- میلی‌ولت و 0.394= DPI تهیه شد.

	پتانسیل زتا (میلی ولت)	اندازه (نانومتر)	PDI
نمونهٔ کنترل	-۳۲/۱	۱۳/۸۸	۰/۳۳۷
نانوذرات حاوی مخلوط پروتئین‌های PAD4 و LFD1	-۲۷/۷	۱۰۹	۰/۳۹۴

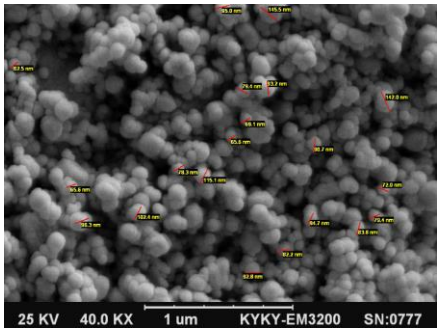
در بررسی ویژگی‌های ظاهری نانوذرات توسط میکروسکوپ الکترونی، تصاویر میکروسکوپ الکترونی کروی و صاف بودن سطح ذرات حاصل از فرایند تولید نانوذرات در شرایط بهینه را مطلوب نشان داد. شکل شمارهٔ ۳ تصویر میکروسکوپ الکترونی از نانوذرات تهیه‌شده است که کروی و تا حد بسیاری حائز شرایط ایدئال هستند.

نتایج بررسی پایداری و ماندگاری پروتئین نوترکیب در طول تهیهٔ نانوذرات: پایداری و ماندگاری پروتئین نوترکیب در طول تهیهٔ نانوذرات و در شرایط خنثی، از طریق الگوی الکتروفورز بررسی گردید. کیفیت الگوی باندی پروتئین‌های LFD1 و PAD4 پیش از بارگذاری در نانوذرات PEG-PLA و پس از رهایش از آن‌ها تغییر مشخصی نداشت (شکل شمارهٔ ۴).

ارزیابی تیتر IgG در سرم موش‌های ایمن‌شده: به‌منظور ارزیابی تیتر آنتی‌بادی تولیدشده از تزریق پروتئین‌های مخلوط (LFD1 و PAD4) به سه شکل

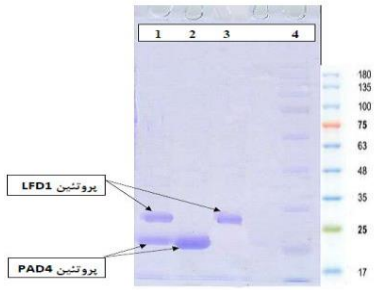


شکل ۲. نمودار بررسی بازه توزیع اندازهٔ نانوذرات PEG-PLA حاوی پروتئین مخلوط PAD4+LFD1 (A) و بدون پروتئین (B) در شرایط بهینه توسط دستگاه DLS. منحنی‌های آزمون پراکندگی نور دینامیکی برحسب اندازه و (nm) و توزیع (%).

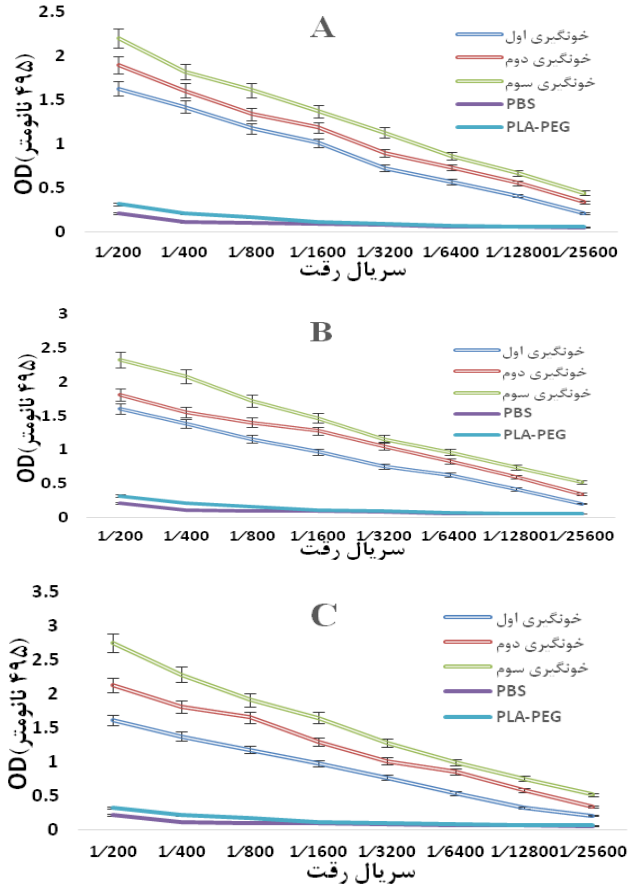


شکل ۳. تصویر میکروسکوپ الکترونی SEM مدل KYKY-EM3200 از نانوذرات حاوی پروتئین (نانوذرات خشک‌شده بر سطح شیشه‌ای، روی گرید قرار گرفته و پس از پوشش‌دهی با طلا، تصویربرداری شد).

آزاد (چهار بار تزریق)، بارگذاری‌شده (یک‌بار تزریق) و بارگذاری‌شده (دو بار تزریق) و محاسبهٔ میزان آن در هر مرحلهٔ تزریق، از روش الایزای غیرمستقیم علیه آنتی‌ژن‌های LFD1،PAD4 و پروتئین مخلوط PAD4+LFD1 استفاده شد که نتایج در شکل‌های شمارهٔ ۵، ۶ و ۷ مشاهده

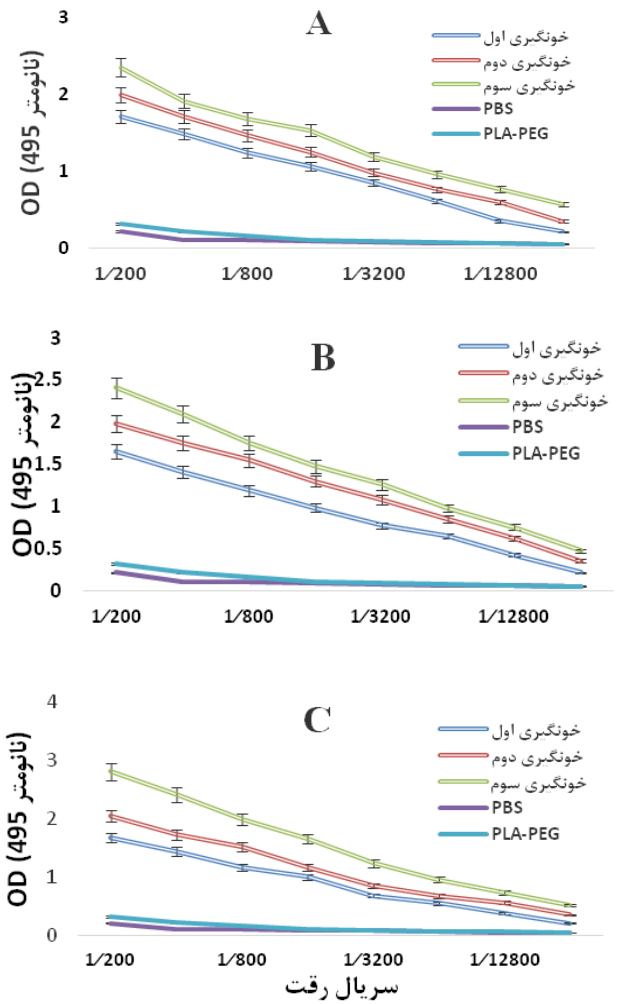


شکل ٤. الگوی الکتروفورز ارزیابی کیفیت پروتئین مخلوط LFD1 و PAD4 رهایش‌یافته از نانوذرات PEG-PLA. ستون ۱. پروتئین‌های LFD1 و PAD4 رهایش یافته از نانوذرات PEG-PLA؛ ستون ۲. پروتئین PAD4 پیش از بارگذاری در نانوذرات PEG-PLA؛ ستون ۳. پروتئین LFD1 پیش از بارگذاری در نانوذرات PEG-PLA؛ ستون ۴. نشانگر مولکولی پروتئین. با مقایسهٔ الگوی باندی پروتئین‌های LFD1 و PAD4 پیش از بارگذاری در نانوذرات PEG-PLA و پس از رهایش از آن‌ها، تغییری در کیفیت آن ایجاد نشده است.



شکل ۵. منحنی الیزای تولید آنتی‌بادی IgG ۱۰ روز پس از هر بار تجویز تزریقی پروتئین مخلوط LFD1 و PAD4 به سه صورت آزاد (A)، بارگذاری‌شدهٔ یک‌تزریقه (B) و بارگذاری‌شدهٔ دوتزریقه (C) علیه پروتئین LFD1. تولید آنتی‌بادی علیه پروتئین‌های مخلوط نوترکیب PAD4+LFD1 در برابر آنتی‌ژن LFD1 انجام‌شده است و بالاترین میزان تیتر آنتی‌بادی مربوط به خونگیری سوم است. تیتر آنتی‌بادی علیه پروتئین‌های مخلوط به‌صورت دو بار تزریق بارگذاری‌شده در نانوذرات PLA-PEG، نسبت به یک‌بار تزریق بارگذاری‌شده و آزاد، بیشتر است.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.15634728.1400.29.5.3.3]
[DOI: 10.52547/sjimu.29.5.89]

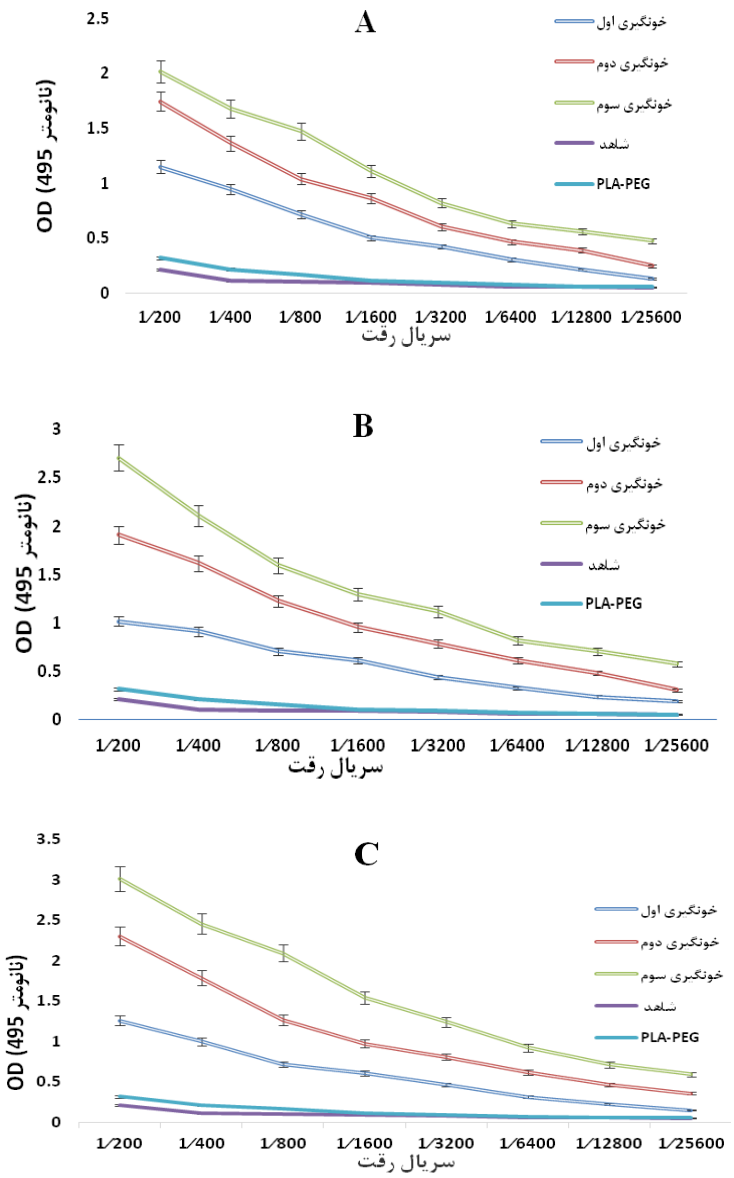


شکل ٦. منحنی الیزای تولید آنتی‌بادی IgG ۱۰ روز پس ازهر بار تجویز تزریقی پروتئین مخلوط LFD1 و PAD4 به سه صورت آزاد (A)، بارگذاری‌شدهٔ یک‌تزریقه (B) و بارگذاری‌شدهٔ دوتزریقه (C) علیه پروتئین PAD4. تولید آنتی‌بادی علیه پروتئین‌های مخلوط نوترکیب PAD4+LFD1 در برابر آنتی‌ژن PAD4 انجام‌شده است و بالاترین میزان تیتر آنتی‌بادی مربوط به خون‌گیری سوم است. تیتر آنتی‌بادی علیه پروتئین‌های مخلوط به‌صورت دو بار تزریق بارگذاری‌شده در نانوذرات PLA-PEG، نسبت به یک‌بار تزریق بارگذاری‌شده و آزاد، بیشتر است.

می‌شود. نتایج نشان داد که بالاترین میزان تیتر آنتی‌بادی در همهٔ تجویزها مربوط به خون‌گیری سوم بود که ۱۰ روز پس از آخرین تزریق، خون‌گیری از موش‌ها به‌عمل‌آمده است؛ همچنین در خون‌گیری آخر، بیشترین آنتی‌بادی علیه نانوذرات بارگذاری‌شده با آنتی‌ژن مخلوط PAD4+LFD1 اندازه‌گیری شد.

افزایش تیتر آنتی‌بادی در گروه‌هایی که نانوذرات حاوی آنتی‌ژن مخلوط PAD4+LFD1 را دریافت کرده‌اند، نشان می‌دهد که نانوذرات توانسته‌اند به‌عنوان ادجوانت عمل کنند و با رهایش مناسب و طولانی‌مدت آنتی‌ژن، آنتی‌بادی بیشتری را تولید نمایند. تیتر آنتی‌بادی علیه پروتئین‌های مخلوط به‌صورت بارگذاری‌شده نسبت به آزاد، تولید میزان بیشتر آنتی‌بادی را نشان می‌دهد؛ همچنین اختلاف تیتر آنتی‌بادی میان گروه‌های یک‌بار تزریق بارگذاری‌شده و دو بار تزریق بارگذاری‌شده و آنتی‌ژن آزاد نشان‌دهندهٔ آن است که بیشترین تیتر آنتی‌بادی، مربوط به دو بار تزریق بارگذاری‌شده است. نتایج الیزا نشان داد که نانوذرات حاوی آنتی‌ژن مخلوط PAD4+LFD1 می‌تواند با رهایش تدریجی و عرضهٔ آن به دستگاه ایمنی، میزان مناسبی آنتی‌بادی تولید کند.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.15634728.1400.29.5.3.3]
[DOI: 10.52547/sjimu.29.5.89]



شکل ۷. منحنی الیزای تولید آنتی‌بادی IgG ۱۰ روز پس از هر بار تجویز تزریقی پروتئین مخلوط LFD1 و PAD4 به سه صورت آزاد (A)، بارگذاری‌شدهٔ یک‌تزریقه (B) و بارگذاری‌شدهٔ دوتزریقه (C) علیه پروتئین مخلوط LFD1 +PAD4. تولید آنتی‌بادی علیه پروتئین‌های مخلوط نوترکیب PAD4+LFD1 در برابر آنتی‌ژن PAD4+LFD1 انجام‌شده است و بالاترین میزان تیتر آنتی‌بادی مربوط به خون‌گیری سوم است. تیتر آنتی‌بادی علیه پروتئین‌های مخلوط به‌صورت دو بار تزریق بارگذاری‌شده در نانوذرات PLA-PEG، نسبت به یک‌بار تزریق بارگذاری‌شده و آزاد، بیشتر است؛ همچنین تولید آنتی‌بادی علیه پروتئین‌های مخلوط نوترکیب PAD4+LFD1 در برابر آنتی‌ژن PAD4+LFD1، نسبت به آنتی‌ژن LFD1 (شکل شمارهٔ ۵) و آنتی‌ژن PAD4 (شکل شمارهٔ ۶) بیشتر بود.

بحث و نتیجه‌گیری

در چند سال اخیر، به استفاده از سامانه‌های کنترلی انتقال دارو و واکسن توجه شده است. کاربرد این سامانه‌ها بیانگر این نکتهٔ مهم است که سرنوشت و عملکرد دارو در بدن، تنها به خواص دارو بستگی ندارد، بلکه رهایش کنترل‌شدهٔ آن نیز نقش مهمی در این زمینه ایفا می‌کند. امروزه، تلاش‌های فراوانی برای بهینه کردن عملکرد داروها و واکسن‌ها به‌منظور کاهش آثار جانبی آن انجام می‌شود. نانوذرات وسیلهٔ مناسبی برای تحویل داروهایی با وزن مولکولی کم و نیز ماکرومولکول‌های بزرگ مانند پروتئین‌ها، پپتیدها و یا ژن‌ها در بدن (از راه‌های تجویزی مختلف) هستند (۱۷، ۱۶). از نانوذرات

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.15634728.1400.29.5.3.3]
[DOI: 10.52547/sjimu.29.5.89]

کوپلیمر PLA-PEG به‌عنوان سامانه‌های رسانش دارو و پروتئین ازجمله داروهای ضدسرطان، ضدویروسی و کاندیدای واکسن برای بیماری‌های مختلف استفاده‌شده است (۱۸).

ویلا و همکاران توکسوئید کزاز را در نانوذرات پلیمری دوبلوکهٔ PLA-PEG بارگذاری کردند و بازده بارگذاری را حدود ۳۵ درصد گزارش نمودند که از مطالعهٔ این پژوهش کمتر است. در این مطالعه، رهایش آنتی‌ژن در دو مرحلهٔ سریع و آهسته گزارش گردید که البته به زمان و درصد آن اشاره‌ای نشده است (۱۹).

مانیش و همکاران دامنهٔ ۴ آنتی‌ژن حفاظتی باسیلوس آنتراسیس را در نانوذرات پلیمری PLGA بارگذاری کردند که رهایش دومرحله‌ای از این نانوذرات حدود ۵۰ درصد در روز اول و ۷۵ درصد تا روز ۲۸ گزارش گردید (۲۰). در مطالعهٔ مانیش و همکاران، اندازهٔ نانوذرات ۲۴۵ نانومتر و پتانسیل زتای ۱۹- میلی ولت تعیین شد (۲۰) و در مطالعهٔ ویلا و همکاران، اندازهٔ نانوذرات ۲۰۰ نانومتر و پتانسیل زتا حدود ۲۵/۵- میلی ولت (۱۹) گزارش گردید.

در مطالعهٔ دیگری، قاسمی و همکاران فاکتور رشد انسانی نوترکیب را در نانوذرات پلیمری دوبلوکهٔ PLA-PEG بارگذاری و رهایش سریع را ۱۷/۵ درصد و رهایش آهسته در مدت ۴۲ روز را ۶۵ درصد گزارش کردند؛ همچنین بازده بارگذاری حدود ۴۶ درصد گزارش شد که با مطالعهٔ حاضر همخوانی دارد (۱۳).

در پژوهشی که مالیک و همکاران دربارهٔ بارگذاری آنتی‌ژن حفاظتی در نانوذرات کیتوزان انجام دادند، غلظت مناسب کیتوزان برای بارگذاری حدود ۱۰ میلی‌گرم و مقدار پروتئین PA حدود ۰/۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. اندازهٔ نانوذرات به‌دست‌آمده حدود ۲۵۴ نانومتر محاسبه گردید. در رهایش سریع، حدود ۳۰ درصد در زمان ۶ ساعت و تا ۱۰۰ ساعت، حدود ۷۵ درصد پروتئین آزاد گردید (۲۱).

به‌طورکلی، کاربرد PLA به علت آب‌گریزی بالای آن، زمان تجزیهٔ بیش‌ازحد طولانی، تولید محیط اسیدی به‌محض تجزیهٔ آن به اسید لاکتیک، محیط غیردوستانه برای داروهای هیدروفیل به‌ویژه پروتئین‌ها و کپسوله شدن پایین داروهای قطبی تا حدودی محدود می‌شود (۲۲). ماندگاری اندک سامانه‌های هموپلیمری PLA در خون، به علت تشخیص و به دام افتادن آن‌ها به‌وسیلهٔ ماکروفاژها در سیستم فاگوسیت تک‌هسته‌ای است که این فرایند فاگوسیتوز، از اینتراکشن نانوذرات با بعضی از پروتئین‌های خون طی فرایند اُپسونیزاسیون ناشی می‌گردد. اُپسونی شدن وابسته به هیدروفوبیسیته سطح نانوذرات است، به‌گونه‌ای که هرچه هیدروفوبیسیته سطح بیشتر باشد، فرایند اُپسونی شدن بیشتر اتفاق می‌افتد و ماندگاری آن نانوذرات در خون کاهش می‌یابد (۲۳). برای رفع این معایب، از پلی‌اتیلن گلیکول (PEG) در ساخت این پلیمر استفاده شد. استفاده از این ماده در پلیمر یادشده تقریباً بیشتر مشکلات بیان‌شده را رفع کرد.

لی و همکاران اثربخشی واکسنی زیرواحدی مرکب از سه پروتئین غشای خارجی هموفیلوس پاراسوئیس را در مدل موشی بررسی کردند که در این مطالعه، نسبت مساوی از ترکیبات دوتایی و سه‌تایی آن‌ها برای تزریق به حیوان آزمایشگاهی استفاده گردید. نتایج به‌دست‌آمده نشان داد که این پروتئین‌های مخلوط در مقایسه با پروتئین انفرادی، بیشترین میزان آنتی‌بادی و ایمنی‌زایی را ایجاد می‌کنند (۲۴). مارتین و همکاران، به‌منظور ایجاد ایمنی علیه لیشمانیوز احشایی (کالاآزار)، واکسنی متشکل از ترکیب نسبت‌های مساوی سه پروتئین لیشمانیا اینفانتوم را بررسی کردند (۲۵).

در پژوهش حاضر، در انتخاب نوع نانوذره‌ای که بتواند اهداف این پژوهش را برآورده کند، نکاتی مانند زیست‌سازگاری و زیست‌تخریب‌پذیری، ساختار فیزیکی و شیمیایی نانوذره، عدم آسیب به آنتی‌ژن یعنی محلول در آب باشد و طی فرآیند سنتز آن از موادی استفاده نشود که منجر به تخریب آنتی‌ژن گردد، رهایش آنتی‌ژن کنترل‌شده و قابل تنظیم، مقرون‌به‌صرفه بودن تهیه و استفاده از آن مدنظر بوده است. در این زمینه، کوپلیمرهای دوتایی PEG-PLA انتخاب گردید و پروتئین‌های مخلوط (LFD1+ PAD4) در نانوذره بارگذاری شد. در این تحقیق نشان داده

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.15634728.1400.29.5.3.3]
[DOI: 10.52547/sjimu.29.5.89]

شد که رهایش آنتی‌ژن‌های یادشده در دو مرحلهٔ رهایش سریع و آهسته انجام می‌شود که آزادسازی پروتئین‌ها در روز اول حدود ۲۰ درصد و پس از گذشت ۴۹ روز، به میزان ۷۸ درصد محاسبه گردید؛ همچنین بازده کپسول‌سازی آنتی‌ژن‌ها در این نانوذرات حدود ۴۵ درصد تعیین شد. در این مطالعه، بهترین شرایط برای بارگذاری پروتئین در نانوذرات PLA-PEG زمانی است که محلول پلیمر با غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر (۲ درصد) و میزان پروتئین بارگذاری‌شده حدود ۲ میلی‌گرم باشد. اندازهٔ نانوذرات حاصل برای نانوذرات حاوی آنتی‌ژن مخلوط حدود ۱۰۹ نانومتر بود.

مطابق با نتایج به‌دست‌آمده، بررسی رهایش آنتی‌ژن به‌وسیلهٔ کوپلیمرهای دوتایی PLA-PEG نشان داد که کوپلیمر به‌دست‌آمده، بازدهی نسبتاً خوبی در حدود ۴۵ درصد دارد؛ همچنین سازوکار رهایش و پایداری نانوذرات طولانی‌مدت است و با سرعت ثابتی آنتی‌ژن را رها می‌کند؛ درنتیجه به نظر می‌رسد که نانوذرات PLA-PEG یک حامل کارآمد برای سامانه‌های آنتی‌ژن‌رسانی کنترل‌شده باشد.

بنابراین، بر اساس مطالعات مختلف، بهترین راه جلوگیری از بیماری سیاه‌زخم، پیشگیری با استفاده از واکسن‌های مناسب است. به علت اهمیت و قابل‌استفاده بودن عامل سیاه‌زخم در جنگ‌ها و فعالیت‌های بیوتروریستی، طراحی سامانه‌ای برای پیشگیری یا درمان یک ضرورت است. در سال‌های اخیر، تلاش‌های فراوانی برای استفاده از فناوری نانو به‌منظور تحویل دارو و واکسن صورت گرفته است. در صنعت تولید واکسن، سامانه‌های سنتی آنتی‌ژن‌رسانی که میزان بارگیری پایینی دارند، موجب تخریب بخشی از آنتی‌ژن می‌شوند. پایداری اندک، آزادسازی سریع آنتی‌ژن را به دنبال دارد و انتقال مقدار موردنیاز آنتی‌ژن به بدن حیوان، نیازمند تکرار تزریق است؛ بنابراین، با توجه به تخریب کمتر و حفاظت بیشتر فعالیت آنتی‌ژن در نانوذرات نسبت به استفاده از روش‌های سنتی و نیز تکرار تزریق کمتر، اختصاصیت بالاتر، کاهش عوارض جانبی، هزینهٔ کمتر و آهسته رهش بودن، استفاده از نانوذرات گزینهٔ مناسبی برای جایگزین شدن با سامانه‌های سنتی است.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌کنند که تضاد منافعی در این مطالعه وجود ندارد.

کد اخلاق: ۹۵۲۷۲۵۰

References

1. Riedel S, Hobden JA, Miller S, Morse SA, Mietzner TA, Detrick B, et al. Jawetz melnick adelbergs medical microbiology. 28th ed. Mcgraw Hill Publication. 2007; P.231-6.
2. Khardori N. Anthrax bacteriology clinical presentations and management in khardori bioterrorism preparedness medicine public health policy. Wiley VCH Verlag GmbH Weinheim Publication.2006; P. 123-45.
3. Gonzalez MR, Bischofberger M, Pernot L, Goot FG, Freche B. Bacterial poreforming toxins the hole story. Cell Mol Life Sci 2008; 65:493-507
4. Edwards KA, Clancy HA, Baeumner AJ. Bacillus anthracis toxicology, epidemiology and current rapid detection methods. Anal Bioanal Chem2006;384:73-84. doi.10.1007/s00216-005-0090-x.
5. Gupta P, Waheed SM, Bhatnagar R. Expression and purification of the recombinant protective antigen of Bacillus anthracis. Prote Exp Pur 1999; 16:369-76. doi.10.1006/prep.1999.1066.
6. Wang, JY, Roehrl, MH. Anthrax vaccine design: strategies to achieve comprehensive protection against spore Bacillus and toxin. Med Immunol2005; 24: 4:4. doi.10.1186/1476-9433-4-4
7. Hepburn MJ, Hugh Dyson E, Simpson AJ, Brenneman KE, Bailey N, Wilkinson L, Hornby R, Mateczun AJ, Bell MG, Baillie LW. Immune response to two different dosing schedules of the anthrax vaccine precipitated vaccine. Vaccine2007; 25:6089-97. doi.10.1016/j.vaccine.2007.05.018.
8. Chi X, Li J, Liu W, Wang X, Yin K, Liu J, Zhang X. Generation and characterization of human monoclonal antibodies targeting anthrax protective antigen following vaccination with a recombinant protective antigen vaccine. Clin Vac Immunol 2015; 22: 553-60. doi.10.1128/CVI.00792-14
9. Williamson D, Dyson EH. Anthrax prophylaxis recent advances and future directions. Front Microbiol2015; 6, 1009. doi.10.3389/fmicb. 2015.01009
10. Knockenhauer KE, Sawicka KM, Roemer EJ, Simon SR. Protective antigen composite nanofibers as a transdermal anthrax vaccine. Con Proc IEEE Eng Med Biol Soc2008;5: 1040-3. doi. 10.1109/IEMBS.2008.4649337
11. Blum JS, Saltzman WM. High loading efficiency and tunable release of plasmid DNA encapsulated

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.15634728.1400.29.5.3.3]
[DOI: 10.52547/sjimu.29.5.89]

in submicron particles fabricated from Plga conjugated with poly L lysine]. J Cont Rel 2008;129:66-72. doi.10.1016/j.jconrel.2008.04.002
12. Ghasemi R, Abdollahi M, Zadeh EE, Khodabakhshi K, Badeli A, Bagheri H, et al. Mpeg-pla and pla-peg-pla nanoparticles as new carriers for delivery of recombinant human growth hormone. Sci Rep2018;8:9854. doi.10.1038/ s41598-018-28092-8
13. Etemadaubi M, Honari H, Hajinourmohamadi A, Bagheri H, Noofeli M. [Assessment of cytotoxicity of Bacillus anthracis recombinant protective antigen in free and encapsulated forms by double block Pla-peg and Pcl-peg copolymers on vero cell]. Jundishapur Sci Med J 2018; 17:377-86. (Persian)
14. Singh NA, Mandal AKA, Khan ZA. Fabrication of Pla-peg nanoparticles as delivery systems for improved stability and controlled release of catechin. J Nanomate 2017; :1-9. doi. 10.1155/2017/6907149
15. Kim SK, Foote MB, Huang L. The targeted intracellular delivery of cytochrome C protein to tumors using lipid apolipoprotein nanoparticles]. Biomaterials2012;33:3959-66. doi. 10.1016/j. biomaterials.2012.02.010
16. Park J, Wrzesinski SH, Stern E, Look M, Criscione J, Ragheb R, et al. Combination delivery of TGFβ inhibitor and IL2 by nanoscale liposomal polymeric gels enhances tumour immunotherapy. Nat Mate 2012;11:895-905. doi.10.1038/nmat3355
17. Manickavasagam D, Novak K, Oyewumi MO. Therapeutic delivery of simvastatin loaded in Pla-peg polymersomes resulted in amplification of anti inflammatory effects in activated microglia. AAPS J2017;20:18. doi.10.1208/s12248-017-0176-3
18. Vila A, Gill H, Mccallion O, Alonso MJ. Transport of Pla-peg particles across the nasal mucosa effect of particle size and peg coating density]. J Cont Rel2004;98:231-44. doi.10.1016/j.jconrel.2004. 04.026
19. Manish M, Rahi A, Kaur M, Bhatnagar R, Singh S. A single dose Plga encapsulated protective antigen domain 4 nanoformulation protects Mice against Bacillus anthracis spore challenge. Plos One 2013;8:61885. doi.10.1371/journal.pone.0061885
20. Malik A, Gupta M, Mani R, Gogoi H, Bhatnagar R. Trimethyl chitosan nanoparticles encapsulated Protective antigen protects the Mice against anthrax. Front Immunol. 2018;9:562. doi. 10.3389/fimmu.2018.00562
21. Jain AK, Goyal AK, Mishra N, Vaidya B, Mangal S, Vyas SP. Peg-pla–peg block copolymeric nanoparticles for oral immunization against hepatitis B. Int J Pharm 2010;387:253-62. doi.10.1016/j.ijpharm.2009.12.013
22. Dong Y, Feng SS. Nanoparticles of poly D L-lactide methoxy poly ethylene glycol poly D L lactide blends for controlled release of paclitaxel. J Biomed Mate Res2006;78:9-12. doi. 10.1002/jbm.a.30684
23. Li M, Cai RJ, Song S, Jiang ZY, Li Y, Gou HC, Qiu HJ. Evaluation of immunogenicity and protective efficacy of recombinant outer membrane proteins of Haemophilus parasuis serovar 5 in a murine model. PLos One 2017;12:176537. doi.10.1371/journal.pone.0176537
24. Martins VT, Chavezfumagalli MA, Lage DP, Duarte MC, Garde E, Costa LE. et al. Antigenicity immunogenicity and protective efficacy of three proteins expressed in the promastigote and amastigote stages of Leishmania infantum against visceral Leishmaniasis. PLos One2015;10:137683. doi. 10.1371/journal.pone.0137683

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.15634728.1400.29.5.3.3]
[DOI: 10.52547/sjimu.29.5.89]