Original Article

Design of A Multi-epitope Vaccine Candidate against Q Fever based on the Outer Membrane Proteins OMP1 and LolB: An Immunoinformatic Study

10.66224/ismj.29.3.123

Hamid Vaez [1,2*], Ladan Shahrakimojahed [3]

[1] Department of Microbiology, School of Medicine, Zabol University of Medical Sciences, Zabol, Iran
[2] Pediatric Gastroenterology and Hepatology Research Center, Zabol University of Medical Sciences, Zabol, Iran
[3] Veterinary organization, Sistan and Baluchistan, Zabol, Iran

Abstract

Background: Q fever—caused by Coxiella burnetii—is a zoonotic disease reported worldwide. It can cause severe complications in the host, manifesting with conditions such as liver, heart, and vascular failure, pneumonia, and long-term chronic fatigue. Given the significant impact of C. burnetii on public health and the limitations of previously designed vaccines, this study aimed to design a Q fever vaccine based on C. burnetii outer membrane proteins using bioinformatics methods.

Materials and Methods: Epitopes that stimulate B- and T-lymphocytes were identified using the ABCpred and IEDB servers. After evaluating various properties—such as non-toxicity (ToxinPred server), lack of allergenicity (AllerTOP server), and immunogenicity (VaxiJen server)—a recombinant vaccine was designed. The characteristics of the vaccine candidate were evaluated using different servers (ProtParam, Solpro, PSIPRED, Cluspro, and C-ImmSim).

Results: Following comprehensive evaluations, three B-lymphocyte-stimulating epitopes and 17 T-lymphocyte-stimulating epitopes were selected for the OMP1 and LolB proteins, respectively. In addition, 17 and 9 T-lymphocyte-stimulating epitopes were identified for OMP1 and LolB, respectively. Various properties of the designed vaccine candidate, including physicochemical properties, secondary structure, expression levels, non-toxicity, and ability to elicit a positive immune system, were predicted.

Conclusion: Based on the computational findings of this study, the designed vaccine may effectively stimulate the immune system and provide immunity against Q fever. Further in vitro and in vivo studies are necessary to ensure the effectiveness and safety of the designed vaccine.

Keywords:
Q fever
Coxiella burnetiid
Vaccine
OMP1
LolB

***Corresponding author**
Hamid Vaez
h_vaez@zbmu.ac.ir

Received: 2026/05/17
Accepted: 2026/07/28

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-09-08]

[DOI: 10.66224/ismj.29.3.123]

دانشگاه علوم پزشکی
و خدمات بهداشتی و درمانی بوشهر

مقاله پژوهشی

طراحی کاندید واکسن چند اپی‌توپی علیه تب کیو بر پایه پروتئین‌های غشای خارجی OMP1 و LolB : یک مطالعه ایمونوانفورماتیک

CrossMarck

doi 10.66224/ismj.29.3.123

حمید واعظ [۱و۲*]، لادن شهرکی مجاهد [۳]

[۱] گروه میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زابل، زابل، ایران
[۲] مرکز تحقیقات گوارش و کبد کودکان، دانشگاه علوم پزشکی زابل، زابل، ایران
[۳] سازمان دامپزشکی، اداره دامپزشکی سیستان و بلوچستان، زابل، ایران

چکیده

زمینه: تب کیو (کوکسیلا بورنتی)، بیماری مشترک بین انسان و حیوان است و می‌تواند مشکلات جدی مانند نارسایی‌های کبدی، قلبی و عروقی، پنومونی و خستگی‌های مزمن طولانی را در میزبان ایجاد کند. با توجه به تأثیر مهم کوکسیلا بورنتی بر سلامت جامعه و محدودیت در استفاده از واکسن‌های طراحی شده قبلی، هدف از این مطالعه طراحی واکسن تب کیو بر اساس پروتئین‌های غشای خارجی کوکسیلا بورنتی با استفاده از روش‌های بیوانفورماتیک بوده است.

مواد و روش‌ها: اپی‌توپ‌های تحریک کننده لنفوسیت‌های B و T پروتئین‌های OMP1 و LolB با استفاده از سرورهای IEDB و ABCpred شناسایی شد. پس از ارزیابی ویژگی‌های مختلف مانند عدم سمیت (سرور ToxinPred)، عدم ایجاد آلرژی (سرور AllerTOP) و توانایی تحریک سیستم ایمنی (سرور VaxiJen)، اپی‌توپ‌های نهایی انتخاب و کاندید واکسن نوترکیب طراحی شد. ویژگیهای کاندید واکسن طراحی شده با استفاده از سرورهای مختلف (ProtParam، Solpro، PSIPRED، Cluspro و C-ImmSim) ارزیابی شد.

یافته‌ها: در نهایت، برای پروتئین OMP1، ۳ اپی‌توپ تحریک کننده لنفوسیت B و ۱۷ اپی‌توپ تحریک کننده لنفوسیت T شناسایی شد. همچنین ۱ اپی‌توپ تحریک کننده لنفوسیت B و ۹ اپی‌توپ تحریک کننده لنفوسیت T برای پروتئین LolB شناسایی شد. ویژگی‌های مختلف کاندید واکسن طراحی شده مانند ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، ساختار ثانویه، عدم سمیت و توانایی تحریک سیستم ایمنی مثبت پیش بینی شد.

نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج محاسباتی مطالعه حاضر، کاندید واکسن طراحی شده ممکن است به خوبی سیستم ایمنی را تحریک و موجب ایمنی در برابر بیماری تب کیو شود. جهت اطمینان از اثربخشی و ایمن بودن کاندید واکسن طراحی شده مطالعات تکمیلی در شرایط آزمایشگاهی و بدن موجود زنده ضروری است.

واژگان کلیدی
تب کیو
کوکسیلا بورنتی
واکسن
OMP1
LolB

***نویسنده مسئول**
حمید واعظ
h_vaez@zbmu.ac.ir

دریافت: ۱۴۰۵/۰۲/۲۷
پذیرش: ۱۴۰۵/۰۵/۰۶

پیام کلیدی: پروتئین‌های غشای خارجی OMP1 و LolB حامل اپی‌توپ‌های تحریک کننده سیستم ایمنی هستند و می‌توانند به عنوان کاندید مناسبی برای تهیه واکسن ضد تب کیو مورد استفاده قرار بگیرند.

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-09-08]

[DOI: 10.66224/ismj.29.3.123]

مقدمه

باکتری گرم منفی و درون سلولی کوکسیلا بورنتی (عامل بیماری تب کیو) برای اولین بار در اوایل قرن بیستم در کارگران کشتارگاهی در استرالیا شناسایی شد (۱). تب کیو (بیماری مشترک بین انسان و حیوان) از سراسر دنیا گزارش شده است. این باکتری در حیوانات مختلفی مانند پرندگان، گاو، گوسفند، سگ، گربه و بز وجود دارد و انسان از طریق استنشاق آئروسول و یا مصرف غذای آلوده به بیماری مبتلا می‌شود. بیماری تب کیو می‌تواند مشکلات جدی را در میزبان ایجاد کند و همراه علائمی مانند نارسایی‌های کبدی، قلبی، عروقی، پنومونی و خستگی‌های مزمن طولانی مدت بروز کند، به همین دلیل کوکسیلا بورنتی توسط مرکز کنترل بیماری‌های آمریکا به عنوان یک سلاح مهم بیولوژیک طبقه‌بندی شده است (۲). کوکسیلا بورنتی در خانم‌های باردار جفت را آلوده می‌کند و با تحریک سیستم ایمنی موجب تخریب آن و در نتیجه زایمان زودرس، تولد نوزاد نارس، سقط جنین و حتی مرگ نوزاد می‌شود. تب کیو در دامپزشکی نیز اهمیت بسیاری دارد زیرا می‌تواند موجب سقط جنین و زیان‌های اقتصادی فراوان در صنعت دامداری شود (۲ و ۳).

کوکسیلا بورنتی چرخه زنگی منحصر به فردی دارد و در طبیعت به دو شکل سلول‌های بزرگ (LCV: Large Cell Variant) و سلول‌های کوچک (SCV: Small Cell Variant) دیده می‌شود. اشکال LCV از نظر متابولیکی فعال هستند، غشای خارجی و لیپوپلی ساکارید کامل دارند و به شرایط محیطی حساس هستند، در حالی‌که اشکال SCV این ویژگی‌ها را ندارند و در برابر شرایط نامساعد محیطی نیز مقاوم هستند. کوکسیلا بورنتی دچار تغییرات فازی می‌شود (فاز یک و دو). در فاز یک به دلیل داشتن لیپوپلی ساکارید کامل، قدرت بیماری‌زایی بالایی دارد، در حالی‌که با جهش در لیپوپلی ساکارید، باکتری به فاز دو که قدرت بیماری‌زایی آن به شدت کاهش یافته، تبدیل می‌شود (۴).

به دلیل نیاز به داروهای متعدد و زمان درمان طولانی، واکسیناسیون می‌تواند نقش مهمی در کنترل و پیشگیری بیماری تب کیو ایفا کند. واکسن تهیه شده از کوکسیلا بورنتی غیر فعال شده فاز یک (Coxevac®) به‌عنوان تنها واکسن تأیید شده در بازار، در دسترس عموم قرار دارد محدودیت‌هایی مانند نیاز به تزریقات یادآور مکرر، واکنش‌های متفاوت در نژادهای مختلف و همچنین ایجاد اثرات جانبی ناخواسته، استفاده از این واکسن را محدود کرده است (۵ و ۶).

امروزه گسترش روش‌های بیوانفورماتیک و ژنتیک تحولی بنیادی در نگرش دانشمندان نسبت به چگونگی تعامل میزبان با میکروارگانیسم‌ها و همچنین طراحی واکسن برای پیشگیری از بیماری‌های عفونی ایجاد کرده است. یکی از این روش‌ها واکسیناسیون معکوس است، در این روش پروتئین‌ها و نواحی مختلف آن مورد ارزیابی قرار می‌گیرند و قسمت‌هایی که توانایی بیشتری در تحریک سیستم ایمنی دارند (اپی‌توپ) انتخاب و معرفی می‌شوند (۷ و ۸). با توجه به گسترش روش‌های تعیین توالی و پایگاه‌های اطلاعاتی مختلف، نقش و عملکرد ژن‌های مختلف کوکسیلا بورنتی در ایجاد بیماری مشخص شده است (۹). به عنوان مثال نتایج مطالعات نشان داده است که پروتئین‌های غشای خارجی کوکسیلا بورنتی نقش بسیار مهمی در تحریک سیستم ایمنی دارند (۹ و ۱۰). پروتئین‌های غشای خارجی OMP1 و LolB از مهم‌ترین این پروتئین‌ها بوده و در حفظ ساختار باکتری، مقاومت در برابر سیستم ایمنی میزبان و تحریک سیستم ایمنی نقش مهمی ایفا می‌کنند (۹ و ۱۰). با توجه به تأثیر مهم کوکسیلا بورنتی بر سلامت جامعه و محدودیت در استفاده از واکسن‌های طراحی شده قبلی، هدف از این مطالعه

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-09-08]

[DOI: 10.66224/ismj.29.3.123]

طراحی کاندید واکسن تب کیو بر اساس پروتئین‌های غشای خارجی OMP1 و LolB کوکسیلا بورنتی با استفاده از روش‌های بیوانفورماتیک است.

مواد و روش‌ها

توالی FASTA پروتئین OMP1 (شماره دسترسی Q83EK8.2) و پروتئین LolB (شماره دسترسی Q83AQ2.1)، سویه مرجع Coxiella burnetii strain RSA 493، از پایگاه اینترنتی NCBI به نشانی (https:// www.ncbi. nlm. nih. gov/) دانلود شد. همچنین توالی ژن‌های بتا دفنسین ۲ (PDP ID:1FD3) و بتا دفنسین ۳ (PDB ID:1KJ6) از پایگاه اینترنتی PDB به آدرس (https:// www. rcsb. org) دانلود شد. ژن‌های بتا دفنسین به‌عنوان یاور (ادجوانت) عمل کرده و با تحریک سیستم ایمنی اثر بخشی واکسن را افزایش می‌دهند.

ارزیابی اپی‌توپ‌های تحریک کننده لنفوسیت B

برای اثربخشی واکسن، توانایی تحریک لنفوسیت‌های B و T توسط اپی‌توپ‌های مورد نظر ضروری است. به همین منظور برای شناسایی اپی‌توپ‌های خطی تحریک کننده لنفوسیت B از سرورهای IEDB و ABCpred به نشانی (https://www.iedb.org/) و (http://crdd. osdd. net/) استفاده شد. از تنظیمات پیش فرض سرورها برای شناسایی اپی‌توپ‌ها استفاده شد. سرور ABCpred با استفاده از شبکه‌بندی مصنوعی ANN (Artificial Neural Network) و RNN (Recurrent Neural Network) اپی‌توپ‌ها را شناسایی و امتیازدهی می‌کند. در سرور IEDB با در نظر گرفتن ویژگی‌های اسیدهای آمینه احتمال واکنش قسمت‌های مختلف پروتئین با سیستم ایمنی بررسی می‌شود (۱۱ و ۱۲). پس از ارزیابی اولیه، نتایج حاصل از دو سرور باهم مقایسه و توالی‌هایی که بیشترین هم‌پوشانی و امتیاز را داشتند برای ادامه کار ا نتخاب شدند.

ارزیابی اپی‌توپ‌های تحریک کننده لنفوسیت T

به منظور تحریک سیستم ایمنی توسط واکسن، وجود اپی‌توپ‌های تحریک کننده لنفوسیت‌های T (CTL و HTL) ضروری است. به همین منظور توانایی اتصال اپی‌توپ‌های پروتئین‌های غشای خارجی مورد ارزیابی به MHC کلاس یک و دو با استفاده از سرور TepiTool به نشانی اینترنتی (https://tools.iedb.org/tepitool) مورد ارزیابی قرار گرفت. برای شناسایی اپی‌توپ‌ها از تنظیمات پیش فرض سرور استفاده شد. برای شناسایی اپی‌توپ‌های قوی‌تر واکنش دهنده با MHC کلاس یک و دو به‌ترتیب اپی‌توپ‌هایی که براساس امتیاز دهی سرور در گروه یک دهم درصد و پنج درصد قرار گرفتند انتخاب شدند. با توجه به وسعت الل‌های HLA به‌ترتیب از ۲۷ و ۲۶ الل HLA کلاس یک و دو که در بین جمعیت‌های مختلف انسانی بیشتری شیوع را دارند استفاده شد (۱۳).

ارزیابی حساسیت‌زایی، سمیت و توانایی تحریک سیستم ایمنی در اپی‌توپ‌های انتخاب شده

به منظور پیشگیری از واکنش‌های ناخواسته در میزبان، اپی‌توپ‌های مورد استفاده در طراحی واکسن علاوه بر توانایی تحریک سیستم ایمنی باید از نظر حساسیت‌زایی و سمیت نیز مورد ارزیابی قرار بگیرند. به همین منظور برای ارزیابی حساسیت‌زایی و سمیت اپی‌توپ‌ها به‌ترتیب از سرورهای AllerTOP و ToxinPred به نشانی (https:// www.ddg- pharm fac. net) و (https://webs.iiitd.edu.in/raghava/toxinpred/) استفاده شد (۱۴ و ۱۵). برای اطمینان از توانایی تحریک سیستم ایمنی توسط اپی‌توپ‌های مورد بررسی از سرور VaxiJen به نشانی

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-09-08]

[DOI: 10.66224/ismj.29.3.123]

https://www.ddg-pharmfac.net استفاده شد. در این سرور توالی اسیدهای آمینه با استفاده از الگوریتم‌های خاصی بررسی، مقایسه و امتیاز دهی می‌شوند. اپی‌توپ‌هایی که امتیاز بالاتر از ۰/۴ را کسب کردند برای ادامه کار انتخاب شدند.

طراحی واکسن نوترکیب

با توجه به اینکه برای واکنش مناسب سیستم ایمنی در برابر کاندید واکسن طراحی شده در میزبان، اپی‌توپ نباید حساسیت‌زا و سمی باشد، پس از بررسی نتایج سرورهای مختلف و ویژگی‌هایی مانند سمیت، حساسیت‌زایی و توانایی تحریک سیستم ایمنی، اپی‌توپ‌های نهایی انتخاب شدند. به منظور طراحی واکسن نوترکیب اپی‌توپ‌های انتخاب شده در مراحل قبل) لنفوسیت B و (T با استفاده از اتصال دهنده‌ها به یکدیگر وصل شدند. برای اتصال اپی‌توپ‌های مربوط به CTL، HTL و لنفوسیت B به‌ترتیب از اتصال دهنده‌های AAY، GPGPG و KK استفاده شد، همچنین برای اتصال پروتئین‌های بتا دفنسین (ادجوانت) از اتصال دهنده EAAAK استفاده شد. اتصال دهنده AAY باعث می‌شود شکست آنزیمی راحت‌تر انجام شود و فرایند فعال شدن لنفوسیت‌های T بهتر انجام شود. اتصال دهنده GPGPG موجب افزایش انعطاف‌پذیری پروتئین و افزایش عرضه آنتی ژن توسط MHC کلاس دو می‌شود. اتصال دهنده KK موجب عملکرد بهتر پروتئازهای سلولی و عرضه بهتر اپی‌توپ‌ها در سطح پروتئین می‌شود. اتصال دهنده EAAAK ساختار محکمی دارد و از ایجاد واکنش‌های ناخواسته در پروتئین جلوگیری می‌کند (۱۶).

ارزیابی ویژگی‌های کاندید واکسن نوترکیب طراحی شده

توانایی تحریک سیستم ایمنی و همچنین توانایی ایجاد حساسیت و شباهت واکسن طراحی شده با پروتئین‌های انسانی به ترتیب با استفاده از سرورهای سرور VaxiJen به نشانی https://www.ddg-pharmfac.net، Allergen FP به نشانی http://ddg-pharmfac.net/AllergenFP و NCBI Blast به نشانی https://blast.ncbi.nlm.nih.gov مورد ارزیابی قرار گرفت. ویژگی‌های ساختاری پروتئین با استفاده از سرور ProtParam(https:// web. expasy.org) ارزیابی شد. در سرور ProtParam بسیاری از ویژگی‌های مهم پروتئین مانند وزن مولکولی، پی اچ ایزوالکتریک، نیمه عمر، میزان آبدوستی و پایداری پروتئین در برابر حرارت مورد بررسی قرار می‌گیرد (۱۷). یکی از ویژگی‌های مهم پروتئین که می‌تواند عملکرد آن‌ها را تحت تأثیر قرار دهد، حلالیت آن است. به همین منظور حلالیت کاندید واکسن طراحی شده با استفاده از سرور SOLpro (http:// scrat ch. prote omics. ics. uci. edu/) ارزیابی شد (۱۷).

ارزیابی ساختار دوم و سوم کاندید واکسن طراحی شده

برای تهیه ساختار دوم پروتئین از سرور SOPMA (https:// npsa- prabi. ibcp. fr/ml) و PSIPRED (http:// bioinf. cs. ucl. ac. uk) استفاده شد. در این سرورها با استفاده از توالی خطی اسیدهای آمینه ساختار دوم پروتئین و نواحی مختلف مانند صفحه بتا، آلفا هلیکس و نواحی نامنظم پیش‌بینی می‌شود. به منظور تهیه ساختار سوم پروتئین از سرور آلفافولد https://alphafoldserver.com استفاده شد. بهینه‌سازی ساختار سوم کاندید واکسن طراحی شده با استفاده از سرور GalaxyRefine به نشانی (http:// galaxy. Seoklab)، انجام شد. در این سرور زنجیره‌های جانبی پروتئین ساخته می‌شود و با بررسی و حذف عواملی که موجب استرس و آشفتگی در ساختار نهایی پروتئین می‌شوند، ساختار بهینه می‌شود. همچنین به منظور کنترل کیفیت نهایی ساختار سوم از سرور ProsA به نشانی

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-09-08]

[DOI: 10.66224/ismj.29.3.123]

https://prosa.services.came.sbg.ac.at/prosa.php و UCLA به نشانی https://saves.mbi.ucla.edu استفاده شد. در سرور UCLA از ابزارهای متنوعی مانند PROCHECK، ERRAT و نمودار Ramachandran برای تأیید کیفیت ساختار طراحی شده استفاده می‌شود. در نمودار Ramachandran زوایای اتصال اتم‌ها به یکدیگر مورد بررسی قرار می‌گیرد و در نهایت نواحی مطلوب شناسایی می‌شود (۱۸ و ۱۹). در سرور ProsA بر اساس میزان کل انرژی ساختار، خطاهای احتمالی (Z Score) شناسایی می‌شود (۱۸ و ۱۹).

کلونینگ کاندید واکسن طراحی شده

جهت تبدیل توالی پروتئین به نوکلئوتید از سرور Backtranseq به نشانی (https:// www. ebi. ac. uk/ Tools) استفاده شد (۲۰). با توجه به اهمیت وجود کدون مناسب برای بالا بردن میزان بیان ژن از سرور JCat به نشانی (http:// www. jcat. de/) استفاده شد (۲۱). در نهایت با استفاده از نرم افزار SnapGene و پلاسمید (+) pET28a کلونینگ پروتئین طراحی شده انجام شد.

ارزیابی اتصال کاندید واکسن طراحی شده به HLA سیستم ایمنی

مولکولار داکینگ از روش‌های محاسباتی است که از آن برای مطالعه اتصال و واکنش لیگاند (دارو یا پروتئین) با رسپتور استفاده می‌شود. نظر به اهمیت اتصال بهینه واکسن تهیه شده به HLA برای تحریک و ایجاد پاسخ سیستم ایمنی، از نرم‌افزار ClusPro برای شبیه‌سازی و اتصال کاندید واکسن تهیه شده با HLA-A-02:01 (PDB ID: 3TO2) استفاده شد (۲۲). همچنین برای ارزیابی عملکرد و پایداری کاندید واکسن تهیه شده از سرور iMODS به نشانی https://imods.chaconlab.org استفاده شد. در این سرور با ارزیابی انعطاف‌پذیری اتصال واکسن تهیه شده با رسپتور (HLA) میزان موفق بودن اتصال پیش‌بینی می‌شود (۲۳).

ارزیابی پاسخ سیستم ایمنی به کاندید واکسن طراحی شده

جهت ارزیابی تأثیر کاندید واکسن طراحی شده بر سیستم ایمنی از سرور C-ImmSim به نشانی https://kraken.iac.rm.cnr.it/C-IMMSIM/index.php استفاده شد. در این سرور پاسخ سیستم ایمنی خونی و سلولی با بررسی تولید سایتوکاین‌های مختلف، پاسخ سلول‌های لنفوسیتی مختلف (LB، PLB، Th و CTL) و همچنین ماکروفاژها و سلول‌های دندرتیک ارزیابی می‌شود. برای بررسی تأثیر واکسن از تزریق سه بار واکسن به فاصله زمانی یک ماه استفاده شد (۲۴).

یافته‌ها

ارزیابی اپی‌توپ‌های تحریک کننده لنفوسیت B و T

در ارزیابی اولیه ۶ اپی‌توپ تحریک کننده لنفوسیت B، ۳۴ اپی‌توپ تحریک کننده CTL و ۸۰ اپی‌توپ تحریک کننده HTL برای پروتئین OMP1 شناسایی شد. پس از بررسی حساسیت‌زایی، سمیت و فعالیت آنتی‌ژنسیتی، ۳ اپی‌توپ تحریک کننده لنفوسیت B و ۱۷ اپی‌توپ تحریک کننده لنفوسیت Tبرای طراحی کاندید واکسن نوترکیب انتخاب شدند. همچنین در ارزیابی اولیه برای پروتئین LolB، ۴ اپی‌توپ تحریک کننده لنفوسیت B و ۲۷ اپی‌توپ تحریک کننده CTL و ۶۶ اپی‌توپ تحریک کننده HTL شناسایی شد. پس از بررسی حساسیت‌زایی، سمیت و فعالیت آنتی‌ژنسیتی، ۱ اپی‌توپ تحریک کننده لنفوسیت B و ۹ اپی‌توپ تحریک کننده لنفوسیت T برای طراحی کاندید واکسن نوترکیب انتخاب شدند (جداول ۱ و ۲).

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-09-08]

[DOI: 10.66224/ismj.29.3.123]

جدول ۱. نتایج ارزیابی اپی‌توپ‌های تحریک کننده لنفوسیت B توسط سرورهای IEDB و ABCpred			
Q83AQ2.1 (Outer-membrane lipoprotein LolB)		Q83EK8.2 (OMP1)	
Peptide	Start	Peptide	Start
IRGIPAPGAYQADFDT	۱۴۷	LGFGYKSYTYDQVGTV	۴۰
		GVKAQYQYDNVRSVHI	۹۶
		APLVGSNYSYRTRLGS	۱۱۴

جدول ۲. نتایج ارزیابی اپی‌توپ‌های تحریک کننده لنفوسیت T							
Q83AQ2.1 (LolB)	VaxiJen Score	سمیت	حساسیت	Q83EK8.2 (OMP1)	VaxiJen Score	سمیت	حساسیت
CTL				CTL			
EERSLRVRY	۲/۲۷۳۱	منفی	منفی	RLNGGIAGI	۰/۸۸۷۲	منفی	منفی
YTASTPEQL	۰/۵۱۸۱	منفی	منفی	TTTKLAIGV	۰/۷۱۹۱	منفی	منفی
AVKIVVKHW	۰/۴۶۹۰	منفی	منفی	RTRLGSHLT	۰/۴۴۵۱	منفی	منفی
RIHSSLDIY	۰/۹۴۴۵	منفی	منفی	IPMIDMNGF	۱/۰۰۱۷	منفی	منفی
QQSGWHIRF	۲/۴۰۱۷	منفی	منفی	DAPLVGSNY	۰/۸۹۰۰	منفی	منفی
HTL				KLAIGVSAL	۰/۶۹۶۴	منفی	منفی
GWHIRFSQYTTVGSV	۱/۳۱۴۰	منفی	منفی	TAIGVSGTV	۰/۸۵۲۷	منفی	منفی
ISQWNIDGAFSIQQP	۰/۴۸۸۸	منفی	منفی	HTL			
PAPGAYQADFDTYTH	۰/۶۴۳۰	منفی	منفی	VKAQYQYDNVRSVHI	۱/۰۶۱۹	منفی	منفی
PRTLQLSNGSLAVKI	۰/۷۸۸۵	منفی	منفی	LAGIKVNEANAVYLE	۰/۸۰۶۵	منفی	منفی
				GYTFASDWWIAGVKA	۰/۶۹۹۱	منفی	منفی
				DWWIAGVKAQYQYDN	۰/۶۹۲۱	منفی	منفی
				NGGTVLSVLHPVSAS	۰/۴۶۱۳	منفی	منفی
				VSMKNRLNGGIAGIG	۰/۸۱۲۷	منفی	منفی
				DIPMIDMNGFHIGLG	۱/۳۸۳۶	منفی	منفی
				GTAIGVSGTVQNPKR	۰/۷۶۱۴	منفی	منفی
				SNYSYRTRLGSHLTA	۰/۷۷۷۰	منفی	منفی
				NPKRVAINGITATVN	۰/۷۲۴۷	منفی	منفی

طراحی کاندید واکسن نوترکیب

پس از بررسی ویژگی‌هایی مانند سمیت، حساسیت‌زایی و توانایی تحریک سیستم ایمنی، در مجموع ۴ اپی‌توپ لنفوسیت B، ۱۲ اپی‌توپ CTL و ۱۴ اپی‌توپ HTL برای ساخت واکسن نوترکیب حاوی ۶۰۹ اسید آمینه انتخاب شدند (شکل ۱ و پیوست).

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-09-08]

[DOI: 10.66224/ismj.29.3.123]

شکل ۱. اتصال اپی‌توپ‌های شناسایی شده به یکدیگر و تشکیل پروتئین نوترکیب با ۶۰۹ اسیدآمینه. اپی‌توپ‌های مختلف با استفاده از رنگ‌های مختلف نشان داده شده است

Fig 1. Linking the identified epitopes to form a recombinant protein consisting of 609 amino acids. Epitopes are indicated by different colors

ارزیابی ویژگی‌های کاندید واکسن نوترکیب طراحی شده

براساس نتایج تجزیه و تحلیل Protparam کاندید واکسن طراحی شده از ۶۰۹ اسید آمینه تشکیل شده و وزن مولکولی آن ۶۳۴۹۴/۴۱ دالتون است. پی اچ ایزوالکتریک واکسن طراحی شده ۹/۸ بدست آمد. تعداد کل اسید آمینه با بار منفی (گلوتامیک و آسپارتیک اسید) و اسید آمینه با بار مثبت (آرژنین و لیزین) به‌ترتیب ۲۶ و ۶۶ است. ضریب پایداری و شاخص آلیفاتیک به‌ترتیب ۲۳/۶۵ و ۷۳/۱۰ بدست آمد که نشان دهنده پایداری پروتئین طراحی شده است. شاخص گراویتی برای پروتئین طراحی شده ۰/۲۴۸- بدست آمد، این مقدار منفی نشان می‌دهد که پروتئین آبدوست است و می‌تواند با مولکول‌های آب واکنش بدهد. نیمه عمر کاندید واکسن طراحی شده در شرایط موجود زنده مانند سلول‌های انسانی، باکتریایی و مخمر به‌ترتیب ۳۰، بیش از ۱۰ و بیش از ۲۰ ساعت تخمین زده شد. تجزیه و تحلیل حلالیت کاندید واکسن طراحی شده با سرور Solpro نشان داد که پروتئین به احتمال ۸۰ درصد رسوب نخواهد کرد. بر اساس نتایج سرور VaxiJen آنتی ژنسیتی کاندید واکسن طراحی شده ۰/۸۸ بدست آمد، با توجه به اینکه این مقدار بالاتر از ۰/۴ است این پروتئین می‌تواند سیستم ایمنی را تحریک کند. همچنین نتایج آلرژی‌زا بودن، شباهت به پروتئین‌های انسانی و سمیت برای پروتئین طراحی شده منفی بود.

ارزیابی ساختار دوم و سوم واکسن طراحی شده

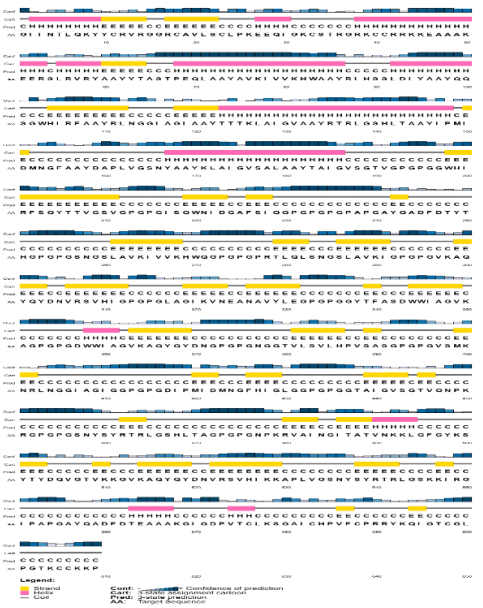
ارزیابی ساختار دوم نشان داد که کاندید واکسن طراحی شده تشکیل شده است از ۷۸/۶۵ درصد Random Coil، ۱۹/۲۱ درصد Extended Strand و ۲/۱۳ درصد آلفا هلیکس (شکل ۲).

پس از طراحی ساختار سه بعدی کاندید واکسن طراحی شده توسط سرورآلفافولد، کیفیت آن با استفاده از سرور GalaxyRefine اصلاح شد. با توجه به اهمیت کیفیت ساختار سوم واکسن طراحی شده برای ارزیابی اتصال و واکنش آن با سلول‌های سیستم ایمنی، کیفیت ساختار سوم طراحی شده با سرورهای مختلف مانند ProSA و UCLA مورد ارزیابی قرار گرفت. نمره کیفیت ساختار سوم ارزیابی شده توسط UCLA ۷۲/۵۲ و نمره Z Score ۳/۸۷ (محاسبه شده توسط سرور ProSA) به‌دست آمد. اعداد به‌دست آمده بیانگر کیفیت مناسب کاندید واکسن طراحی شده است.

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-09-08]

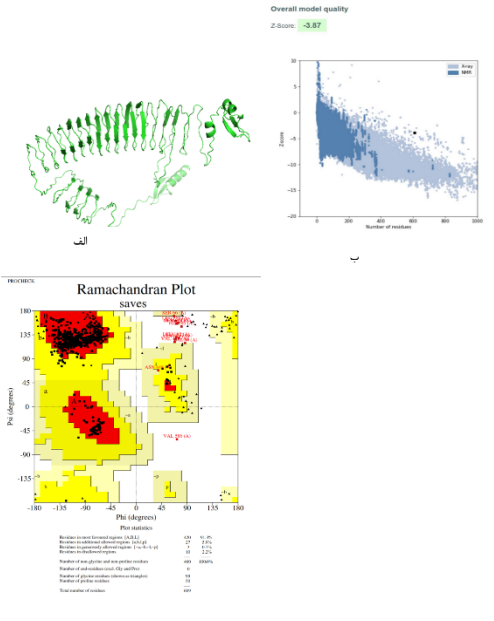
[DOI: 10.66224/ismj.29.3.123]

همچنین بر اساس تجزیه و تحلیل Ramachandran map(محاسبه شده توسط سرور UCLA) ۹۸ درصد از اسیدهای آمینه کاندید واکسن طراحی شده در ناحیه مجاز قرار دارند (شکل ۳).



شکل ۲. پیش‌بینی ساختار دو بعدی کاندید واکسن طراحی شده توسط سرور PSIPRED

Fig 2. Two-dimensional structure prediction of the designed vaccine candidate by the PSIPRED server



الف

ب

ج

شکل ۳. الف. ساختار سه بعدی کاندید واکسن طراحی شده توسط نرم افزار پایمول ورژن ۳ ب. نتیجه سرورProSA. ج. نتایج نمودار Ramachandran map برای ارزیابی کیفیت ساختار پیش‌بینی شده توسط سرور UCLA

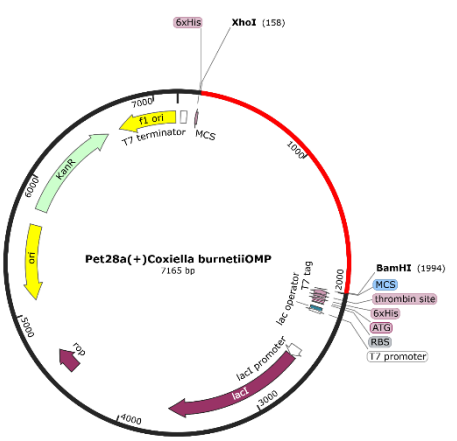
Fig 3. Up left: 3D structure of the vaccine candidate designed using PyMOL software (V3). Up right: ProSA server result. Down; Ramachandran plot results for evaluating the quality of the predicted structure, generated by the UCLA server

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-09-08]

[DOI: 10.66224/ismj.29.3.123]

کلونینگ کاندید واکسن طراحی شده

به منظور شبیه‌سازی بیان کاندید واکسن طراحی شده در ابتدا توالی اسیدهای آمینه با استفاده از سرور Backtranseq به کدون تبدیل شد. با توجه به اینکه تمام کدون‌ها به یک میزان دربیان ژن مؤثر نیستند، کدون‌ها با استفاده از سرور JCAT بهینه‌سازی شدند. ضریب Compatibility Index(CIA) در شرایط بهینه باید در دامنه هشت ۱-۰/۸ باشد. همچنین به منظور بیان بهینه و تولید محصول بیشتر درصد GC پروتئین طراحی شده باید در دامنه ۳۰ تا ۷۰ درصد باشد. نتایج CIA و درصد GC برای واکسن طراحی شده به‌ترتیب ۱ و ۵۴/۶۲ بدست آمد. در شکل ۴ نتیجه طراحی پلاسمید نوترکیب برای بیان کاندید واکسن طراحی شده نشان داده شده است.



شکل ۴. نتیجه کلون کردن کاندید واکسن طراحی شده درمیان آنزیم‌های محدودالاثر BamHI و Xho با استفاده از وکتور pET28a (+) . رنگ قرمز نشان دهنده کاندید واکسن طراحی شده، رنگ مشکی وکتورpET28a. سایر رنگها نشان دهنده ژنهای مختلف موجود در وکتور

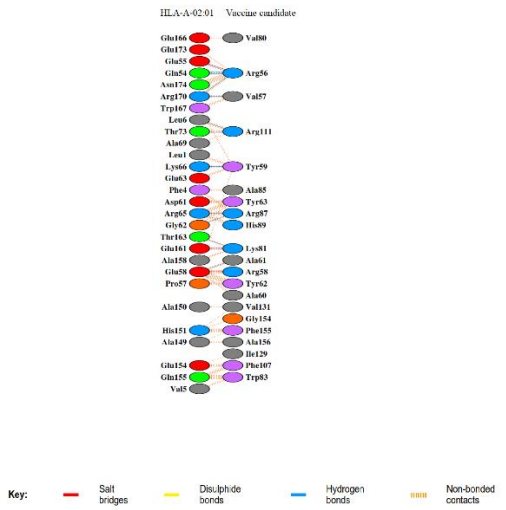
Fig 4. Result of cloning the designed vaccine candidate between the BamHI and XhoI restriction sites using the pET28a (+) vector. Red color indicates the designed vaccine candidate; black color indicates the pET28a vector. Other colors represent various genes present in the vector

ارزیابی اتصال کاندید واکسن طراحی شده به HLA سیستم ایمنی

برای اطمینان از اتصال واکسن طراحی شده به HLA و تحریک سیستم ایمنی از سرور Cluspro استفاده شد. براساس نتایج این سرور ۲۹ کمپلکس به‌دست آمد و بر اساس میزان انرژی کمپلکس‌های پیش‌بینی شده، کمپلکس با حداقل میزان انرژی (Weighted score=-1097.3) انتخاب شد. نتایج واکنش واکسن کاندید طراحی شده و HLA-A-02:01 در شکل ۵ نمایش داده شده است. در مجموع بیست و یک اسید آمینه از کاندید واکسن طراحی شده با ۲۸ اسید آمینه از HLA-A-02:01 ارتباط داشتند. نتایج ارزیابی انعطاف‌پذیری و پایداری اتصال کاندید واکسن طراحی شده با HLA در شکل ۶ نشان داده شده است. در نمودار تغییرپذیری، نواحی که در آن‌ها احتمال بیشتری برای تغییر شکل وجود دارد، نشان داده شده است. در نمودار مربوط به فاکتور B، در موقعیت‌هایی که عدد بزرگ‌تری بدست آمده است امکان جابجایی بیشتر اتم‌ها در ساختار واکسن طراحی شده وجود دارد. شاخص Eigenvalue نشان دهنده میزان حرکت و پویایی در نواحی مختلف واکسن طراحی شده است، نواحی با اعداد کم نشان دهنده تغییر آسان با انرژی کمتر است. شاخص کوواریانس نشان دهنده واکنش اتم‌های مجاور در واکسن طراحی شده نسبت به یکدیگر است. مقدار مثبت نشان دهنده حرکت همسوی مولکول‌ها نسبت به یکدیگر و اعداد منفی نشان دهنده حرکت غیرهمسوی مولکول‌ها می‌باشد. نتایج مربوط به آنالیز شبکه الاستیک پروتئین طراحی شده به‌طور کلی نشان می‌دهد که در کدام نواحی اتصال بین مولکول‌ها قوی می‌باشد و در کدام نواحی میزان انعطاف‌پذیری ساختار طراحی شده بیشتر است.

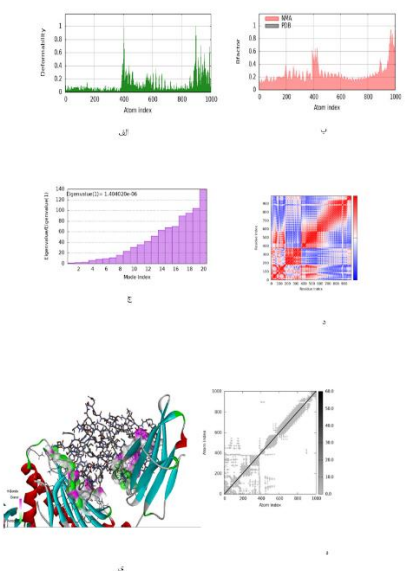
[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-09-08]

[DOI: 10.66224/ismj.29.3.123]



شکل ۵. نتایج برهم کنش اسیدهای آمینه در کاندید واکسن طراحی شده و .HLA-A-02:01 بیست و یک اسید آمینه از کاندید واکسن طراحی شده با ۲۸ اسید آمینه از HLA-A-02:01 ارتباط داشتند.

Fig 5. Results of amino acid interactions between the designed vaccine candidate and HLA-A-02:01. Twenty-one amino acids from the designed vaccine candidate interacted with 28 amino acids of HLA-A-02:01



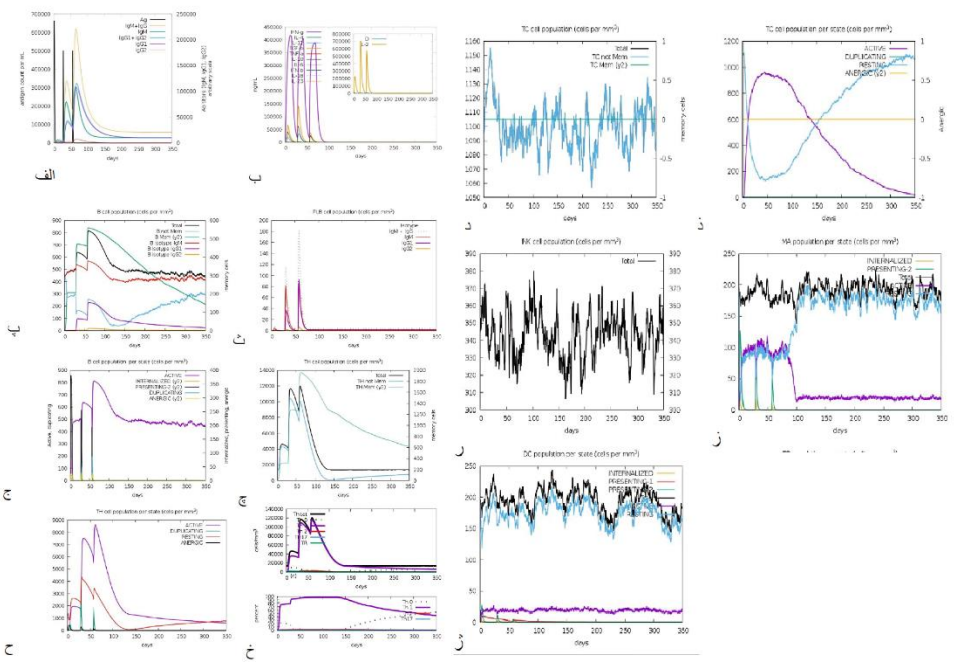
شکل ۶. نتایج ارزیابی عملکرد و پایداری کاندید واکسن طراحی شده با استفاده از سرور iMODS. نمودار الف: نشان دهنده تغییر شکل پروتئین در نواحی مختلف، اعداد بزرگ‌تر نشان دهنده احتمال بیشتر برای تغییر. نمودار ب: نشان دهنده تغییرات اتم‌ها نسبت به یکدیگر، اعداد بزرگ‌تر نشان دهنده موقعیت‌هایی است که در آن احتمال جابجایی اتم‌ها بیشتر است. نمودار ج: نشان دهنده حرکت و پویایی در قسمت‌های مختلف کمپلکس تشکیل شده است، اعداد کوچک‌تر نشان دهنده حرکت و پویایی بیشتر است. نمودار د: نشان دهنده نشان دهنده حرکت جمعی اتم‌ها، اعداد مثبت نشان دهنده حرکت در جهت یکسان و اعداد منفی نشان دهنده حرکت در جهت منفی و عدد صفر نشان دهنده عدم تحرک. نمودار ه: نشان دهنده استحکام کلی واکسن طراحی شده. شکل ی: نشان دهنده اتصال واکسن (مولکول‌های میله‌ای) به رسپتور (روبان پهن)

Fig 6. Results of the performance and stability assessment of the designed vaccine candidate using the iMODS server. Up left: Shows protein deformation across different regions; higher values indicate a greater probability of change. Up right: Shows atomic displacements relative to one another; higher values indicate positions where atomic displacement is more likely. Middle left: Illustrates the motion and dynamics within various parts of the formed complex; lower values indicate greater motion and dynamics. Middle right: Illustrates the collective motion of the atoms; positive values indicate motion in the same direction, negative values indicate motion in the opposite direction, and zero indicates a lack of motion. Down left: binding of the vaccine (rod-like molecules) to the receptor (broad ribbon). Down right: Shows the overall stability of the designed vaccine

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-09-08]

[DOI: 10.66224/ismj.29.3.123]

در شکل ۷ نتایج پاسخ سیستم ایمنی به کاندید واکسن طراحی شده نشان داده شده است. بر اساس نتایج محاسباتی مطالعه حاضر، تولید آنتی‌بادی IgM ممکن است در اولین تزریق با موفقیت انجام شود، همچنین در تزریق‌های بعدی ممکن است تولید آنتی‌بادی IgG نیز با موفقیت و مقدار قابل توجه انجام شود. تحریک و پاسخ لنفوسیت‌های B که نشان دهنده پایداری واکسن و توانایی مناسب آن در تحریک پاسخ سیستم ایمنی است مشاهده شد. نتایج تجزیه و تحلیل تولید سایتوکاین‌ها و فعال شدن لنفوسیت‌های T نشان داد که کاندید واکسن طراحی شده ممکن است تولید اینترفرون گاما و اینترلوکین ۲ را تحریک کند و همچنین موجب فعال شدن لنفوسیت‌های T سیتوتوکسیک شود. یافته‌های حاصل از محاسبات مطالعه حاضر نشان داد که امکان فعال شدن سایر سلول‌های سیستم ایمنی مانند ماکروفاژها، سلول‌های دندرتیک و سلول‌های NK وجود دارد.



شکل ۷. نتایج تحریک سیستم ایمنی توسط کاندید واکسن طراحی شده. نمودار الف: نشان دهنده تولید موفق آنتی‌بادی. نمودار ب: نشان دهنده تولید موفق انترفرون گاما و انترلوکین ۲. نمودارهای پ، ث و ج: نشان دهنده فعال شدن لنفوسیت‌های B. نمودارهای چ، ح، خ، د، ذ و ر: نشان دهنده فعال شدن لنفوسیت‌های T. نمودارهای ز و ژ: نشان دهنده فعال شدن ماکروفاژها و سلول‌های دندرتیک

Fig 7. Results of immune system stimulation (Antibody production, Cytokine production, Lymphocytes and microphage activation) by the designed vaccine candidate

بحث

بیماری تب کیو از بیماری‌های عفونی قدیمی شناخته شده مشترک بین انسان و حیوان است و مشکلات زیادی را برای سیستم‌های بهداشتی و درمانی در سراسر دنیا ایجاد می‌کند (۲۵ و ۲۶). هرچند واکسن‌های تهیه شده با استفاده از روش‌های قدیمی مانند استفاده از سلول میکروب ضعیف شده و یا غیرفعال شده موفق بوده است ولی وجود

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-09-08]

[DOI: 10.66224/ismj.29.3.123]

محدودیت‌هایی مانند امکان برگشت به حالت پاتوژن طبیعی، عدم امکان استفاده از واکسن برای افراد با سیستم ایمنی غیرطبیعی، عدم تحریک کافی سیستم ایمنی، کند بودن فرایند تولید، نیاز به تجهیزات و امکانات گران‌قیمت، نیاز به استفاده از زنجیره سرما، تغییرات آنتی‌ژنی، خطر آلودگی و واکنش‌های ناخواسته، استفاده از این نوع واکسن‌ها را با محدودیت روبرو کرده است (۲۷ و ۲۸). واکسن تهیه شده از کوکسیلا بورنتی غیرفعال شده فاز یک با عنوان Coxevac® به‌عنوان تنها واکسن تأیید شده در بازار در دسترس قرار دارد ولی محدودیت‌هایی مانند واکنش ناخواسته شدید در افرادی که قبلاً با کوکسیلا بورنتی مواجه شده‌اند، داخل سلولی بودن باکتری و عدم تحریک مناسب سیستم ایمنی، عدم دسترسی وسیع و نیاز به غربالگری قبل از انجام واکسیناسیون، استفاده از این واکسن را محدود کرده است (۳۰-۲۷). گسترش روش‌های تعیین توالی ژنوم میکروب‌ها موجب گسترش روش‌های نوین مانند استفاده از اپی‌توپ‌های چندگانه برای طراحی واکسن‌ها شده است.

با توجه به محدودیت‌های مذکور واکسن تب کیو، و نظر به اینکه امروزه سنتز و تولید پروتئین با استفاده از روش‌های مختلف بیوتکنولوژی گسترش یافته و بیشتر از پیش در دسترس جوامع علمی می‌باشد، هدف از این مطالعه طراحی واکسن نوترکیب با استفاده از اپی‌توپ‌های پروتئین‌های غشای خارجی (OMP1 و LolB) کوکسیلا بورنتی بوده است.

اهمیت پروتئین‌های غشای خارجی کوکسیلا بورنتی در ایجاد بیماری و تحریک سیستم ایمنی در مطالعات قبلی گزارش شده است (۹ و ۳۱). در مطالعه حاضر، با استفاده از ابزار بیوانفورماتیک ویژگی‌های پروتئین‌های غشای خارجی OMP1 و LolB به منظور طراحی واکسن نوترکیب مورد بررسی قرار گرفت. این پروتئین‌ها در حفظ ساختار باکتری، مقاومت در برابر سیستم ایمنی میزبان و تحریک سیستم ایمنی نقش مهمی ایفا می‌کنند (۹). در مطالعه لی (Li) و همکاران با استفاده از تکنیک فیوژن پروتئین، پروتئین‌های غشای خارجی OMP1 و HspB به یکدیگر متصل شدند و به‌عنوان واکسن مورد استفاده قرار گرفت (۳۲). نتایج مطالعه مذکور نشان داد که فیوژن پروتئین طراحی شده می‌تواند موجب تحریک سیستم ایمنی و محافظت شود. همچنین در مطالعه گرلاک (Gerlach) و همکاران لیپوپروتئین Lol به‌عنوان هدفی مناسب برای تشخیص بیماری و تهیه واکسن معرفی شده است (۳۳). در مطالعات مشابه دیگر موفقیت واکسن‌های نوترکیب در تحریک سیستم ایمنی بدون داشتن عوارض جانبی واکسن‌های قدیمی گزارش شده است (۳۴ و ۳۵).

برای اثر بخشی واکسن طراحی شده، فعال شدن لنفوسیت‌های B و T ضروری است. در مرحله اول مطالعه حاضر، پس از ارزیابی شاخص‌های کلیدی مانند توانایی تحریک سیستم ایمنی، عدم سمیت و عدم ایجاد حساسیت، در نهایت ۴ اپی‌توپ تحریک کننده لنفوسیت B و همچنین ۱۲ و ۱۴ اپی‌توپ تحریک کننده سلول‌های CTL و HTL شناسایی شد. به منظور افزایش بیان واکسن طراحی شده و همچنین حفظ ساختار و پایداری آن، اپی‌توپ‌ها با استفاده از اتصال دهنده‌های AAY، GPGPG و KK به‌یکدیگر متصل شدند. دفنسین با فعال کردن منوسیت‌ها، سلول‌های اپیتلیالی و لنفوسیت‌ها می‌تواند موجب تحریک تولید سایتوکاین‌ها و فعال شدن سیستم ایمنی شود، به همین دلیل به‌عنوان ادجوانت با استفاده از اتصال دهنده EAAAK به واکسن اضافه شد. به دلیل پل‌های نمکی که توسط گلوتامیک اسید و لیزین موجود در این اتصال دهنده ایجاد می‌شود، استفاده از آن موجب جلوگیری از ناپایداری ساختار می‌شود (۱۶).

در این مطالعه بیشترین اپی‌توپ‌های شناخته شده مربوط به HLA-II (HTL) بود، در مطالعه‌ای که در

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-09-08]

[DOI: 10.66224/ismj.29.3.123]

هلند انجام شده، نتایج نشان داده است که اپی‌توپ‌های واکنش دهنده با HLA-II می‌توانند به خوبی لنفوسیت‌های T را تحریک و ایمنی بلند مدت ایجاد کنند (۳۶). این یافته‌ها می‌تواند نشان دهنده اهمیت بیشتر لنفوسیت‌های T در ایمنی بر علیه کوکسیلا بورنتی باشد.

کاندید واکسن طراحی شده در این مطالعه وزنی حدود ۶۳ کیلو دالتون دارد که می‌تواند نشان دهنده مؤثر بودن آن باشد. جهت جلوگیری از رسوب پروتئین، دور بودن پی اچ ایزوالکتریک پروتئین از پی اچ ایزوالکتریک طبیعی بدن ضروری است. پی اچ ایزوالکتریک کاندید واکسن طراحی شده ۹/۸ بود، که نشان دهنده مناسب بودن آن است. یکی دیگر از شاخص‌های مهمی که در پروتئین باید در نظر گرفته شود ضریب پایداری و آبدوستی است، بر اساس پایگاه Protparam ضریب پایداری کمتر از ۴۰ و میزان گراویتی منفی به‌ترتیب نشان دهنده پایداری و آبدوستی پروتئین است، در این مطالعه ضریب پایداری ۲۳/۶۵ و شاخص گراویتی ۰/۲۴۸- بود، که نشان دهنده پایداری و آبدوستی واکسن طراحی شده است. نیمه عمر بالای پروتئین طراحی شده در میزبان‌های زنده (ای کلای، مخمر و یا کشت سلول) از شاخص‌های مهم یک پروتئین نوترکیب محسوب می‌شود (۳۷). نیمه عمر واکسن طراحی شده در شرایط موجود زنده مانند سلول‌های انسانی، باکتریایی و مخمر به‌ترتیب ۳۰، بیش از ۱۰ و بیش از ۲۰ ساعت تخمین زده شد. از دیگر شاخص‌های مهم برای یک پروتئین نوترکیب، عدم سمیت، عدم ایجاد حساسیت، توانایی تحریک سیستم ایمنی و عدم شباهت به پروتئین‌های انسانی است که تمام موارد مذکور در واکسن طراحی شده وجود داشت.

کیفیت ساختار سوم پروتئین در واکنش آن و تحریک سیستم ایمنی کاملاً تأثیرگذار است. در مطالعه حاضر با توجه به نمره Z Score که ۳/۸۷- و نمره شاخص کیفیت که ۷۲/۵۲ به‌دست آمد، می‌توان چنین نتیجه گرفت که ساختار سوم واکسن تهیه شده از کیفیت مناسبی برای واکنش با سیستم ایمنی برخوردار است، زیرا اعداد منفی در Z اسکور و شاخص کیفیت بالاتر از ۵۰ نشان از کیفیت قابل قبول پروتئین دارد (۳۸). همچنین در این مطالعه جهت اطمینان از اتصال مناسب کاندید واکسن طراحی شده با سیستم ایمنی از آنالیز Cluspro و iModsاستفاده شد، نتایج بدست آمده (شکل ۵ و ۶) مؤید واکنش مؤثر واکسن طراحی شده با HLA-A-02:01 بود.

تمام کدون‌ها به میزان مساوی بیان نمی‌شوند، به همین منظور و برای افزایش بیان واکسن طراحی شده، بهینه‌سازی کدون انجام شد. با توجه به نتایجی که بدست آمد، CIA و درصد GC برای واکسن طراحی شده به‌ترتیب ۱ و ۵۴/۶۲ بود، در نتیجه می‌توان انتظار داشت که واکسن طراحی شده به میزان مناسبی در میزبان (ای کلای) بیان شود.

توانایی تحریک سیستم ایمنی (خونی و سلولی) برای موفق بودن واکسن کاملاً ضروری است. نتایج محاسباتی نشان می‌دهد که واکسن طراحی شده ممکن است سیستم ایمنی را تحریک کند زیرا همانطور که در شکل ۷ نشان داده شده است تحریک تولید سایتوکاین‌ها، آنتی‌بادی و لنفوسیت‌ها با موفقیت پیش‌بینی شده است. عدم بررسی تغییرات پس از ترجمه، عدم مطالعه واکنش کاندید واکسن طراحی شده با گیرنده‌های TLR و همچنین عدم ارزیابی نتایج حاصل از این مطالعه در شرایط بدن موجود زنده از محدودیت‌های مطالعه حاضر می‌باشد و باید در مطالعات آتی مد نظر قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

امروزه طراحی واکسن حامل اپی‌توپ‌های چندگانه با استفاده از روش‌های بیوانفورماتیک بسیار ضروری به نظر می‌رسد زیرا علاوه بر کاهش هزینه‌ها می‌تواند موجب بهبود عملکرد واکسن در مقایسه با

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-09-08]

[DOI: 10.66224/ismj.29.3.123]

واکسن‌های تهیه شده با روش‌های قدیمی‌تر شود. در مطالعه حاضر واکسن طراحی شده حاوی ۳۰ اپی‌توپ مختلف بود. نتایج محاسباتی این مطالعه نشان داد که کاندید واکسن طراحی شده ممکن است سیستم ایمنی را تحریک کند و موجب محافظت در میزبان شود. علی‌رغم نتایج امیدوارکننده‌ای که در مطالعه حاضر مشاهده شد، جهت اطمینان از اثربخشی کاندید واکسن طراحی شده مطالعات تکمیلی در شرایط آزمایشگاهی و همچنین بدن موجود زنده ضروری است.

سپاس و قدردانی

بدینوسیله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی زابل که از انجام این مطالعه حمایت کرده‌اند، تشکر می‌گردد.

مطالعه حاضر تحت حمایت مالی هیچ سازمان و یا مؤسسه‌ای نبوده است.

تضاد منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

References:

1.Mezouar S, Desnues B, Bechah Y, et al. Pathogenicity and Virulence of Coxiella burnetii: Focus on Q fever. Virulence 2025; 16(1): 2495842. 10.1080/21505594.2025.2495842

2.Bauer BU, Knittler MR, Andrack J, et al. Interdisciplinary studies on Coxiella burnetii: From molecular to cellular, to host, to one health research. Int J Med Microbiol 2023; 313(6): 151590. 10.1016/j.ijmm.2023.151590

3.Latifian M, Amiri FB, Mostafavi E, et al. Evidence of Coxiella burnetii infection among pregnant and aborted women: A systematic review and meta-analysis. New Microbes New Infect 2025; 67: 101619. 10.1016/j.nmni.2025.101619

4.Sasikala A, Prakash C, Valli Ramamoorthy M, et al. Coxiella burnetii as a model system for understanding host immune response against obligate intracellular, vacuolar pathogens. PLoS Pathog 2025; 21(5): e1013071. 10.1371/journal.ppat.1013071

5.Ullah Q, Jamil T, Saqib M, et al. Q fever—a neglected zoonosis. Microorganisms 2022; 10(8): 1530. 10.3390/microorganisms10081530

6.Gisbert P, Hurtado A, Guatteo R. Efficacy and safety of an inactivated phase I Coxiella burnetii vaccine to control Q fever in ruminants: a systematic review. Animals 2024 ;14(10): 1484. 10.3390/ani14101484

7.Basmenj ER, Pajhouh SR, Fallah AE, et al. Computational epitope-based vaccine design with bioinformatics approach; a review. Heliyon 2025; 11(1): e41714. 10.1016/j.heliyon.2025.e41714

8.García-Machorro J, Ramírez-Salinas GL, Martinez-Archundia M, et al. The advantage of using immunoinformatic tools on vaccine design and development for coronavirus. Vaccines 2022; 10(11): 1844. 10.3390/vaccines10111844

9.Kodori M., Amani J, Ahmadi A. Unveiling promising immunogenic targets in Coxiella burnetii through in silico analysis: paving the way for novel vaccine strategies. BMC Infect Dis 2023; 23(1): 902. 10.1186/s12879-023-08904-7

10.Metters G, Hemsley C, Norville I, et al. Identification of essential genes in Coxiella burnetii. Microb Genom 2023; 9(2): mgen000944. 10.1099/mgen.0.000944

11.Sanchez-Trincado JL, Gomez-Perosanz M, Reche PA. Fundamentals and methods for T-and B-cell epitope prediction. J immunol res 2017; 2017: 2680160. 10.1155/2017/2680160

12.Vaez H, Vaez V. Comprehensive analysis of four major surface proteins for vaccine design against Klebsiella pneumoniae. Infect Epidemiol Microbiol 2025; 11(1): 1-12. 10.61186/iem.11.1.1

13.Paul S, Sidney J, Sette A, et al. TepiTool: a pipeline for computational prediction of T cell epitope candidates. Curr protoc immunol 2016; 114: 1-18. 10.1002/cpim.12

14.Gupta S, Kapoor P, Chaudhary K, et al. In silico approach for predicting toxicity of peptides and proteins. PloS one 2013; 8(9): e73957. 10.1371/journal.pone.0073957

15.Nguyen MN, Krutz NL, Limviphuvadh V, et al. AllerCatPro 2.0: a web server for predicting protein allergenicity potential. Nucleic Acids Res 2022; 50(W1): W36-W43. 10.1093/nar/gkac446

16.Rouzbahani AK, Kheirandish F, Hosseini SZ. Design of a multi-epitope-based peptide vaccine against the S and N proteins of SARS-COV-2 using immunoinformatics

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-09-08]

[DOI: 10.66224/ismj.29.3.123]

approach. Egy J Med Hum Genet 2022; 23(1): 16. 10.1186/s43042-022-00224-w
17.Gasteiger E, Hoogland C, Gattiker A, et al. Protein Identification and Analysis Tools on the Expasy Server. In The Proteomics Protocols Handbook 2005. Totowa, NJ: Humana press; 571-607. 10.1385/1-59259-890-0:571
18.Wiederstein M, Sippl MJ. ProSA-web: interactive web service for the recognition of errors in three-dimensional structures of proteins. Nucleic acids res 2007; 35: W407-410. 10.1093/nar/gkm290
19.Heo L, Park H, Seok C. GalaxyRefine: Protein structure refinement driven by side-chain repacking. Nucleic acids res 2013; 41: W384-388. 10.1093/nar/gkt458
20.Madeira F, Park YM, Lee J, et al. The EMBL-EBI search and sequence analysis tools APIs in 2019. Nucleic acids res 2019; 47: W636-W641. 10.1093/nar/gkz268
21.Grote A, Hiller K, Scheer M, et al. JCat: a novel tool to adapt codon usage of a target gene to its potential expression host. Nucleic acids res 2005; 33: W526-531. 10.1093/nar/gki376
22.Desta IT, Kotelnikov S, Jones G, et al. The ClusPro AbEMap web server for the prediction of antibody epitopes. Nat protoc 2023; 18(6): 1814-1840. 10.1038/s41596-023-00826-7
23.López-Blanco JR, Aliaga JI, Quintana-Ortí ES, et al. iMODS: internal coordinates normal mode analysis server. Nucleic acids res 2014; 42: W271-276. 10.1093/nar/gku339
24.Castiglione F, Mantile F, De Berardinis P, et al. How the interval between prime and boost injection affects the immune response in a computational model of the immune system. Comput math meth med 2012; 2012(1): 842329. 10.1155/2012/842329
25.Tan T, Heller J, Firestone S, et al. A systematic review of global Q fever outbreaks. One Health 2023; 18: 100667. 10.1016/j.onehlt.2023.100667
26.Ahmadinezhad M, Mounesan L, Doosti-Irani A, et al. The prevalence of Q fever in the Eastern Mediterranean region: a systematic review and meta-analysis. Epidemiol Health 2022; 44: e2022097. 10.4178/epih.e2022097
27.Sam G, Stenos J, Graves SR, et al. Q fever immunology: the quest for a safe and effective vaccine. NPJ Vaccines 2023; 8(1): 133. 10.1038/s41541-023-00727-6
28.Fratzke AP, van Schaik EJ, Samuel JE. Immunogenicity and reactogenicity in Q fever vaccine development. Front Immunol 2022; 13:886810. 10.3389/fimmu.2022.886810
29.Sellens E, Bosward KL, Willis S, et al. Fre¬quency of adverse events following Q Fever immunisation in young adults. Vaccines 2018; 6(4): 83. 10.3390/vaccines6040083
30.Sellens E, Bosward KL, Norris JM, et al. Coxiella burnetii seroprevalence in unvaccinated veterinary workers in Austra¬lia: evidence to support Q Fever vaccination. Zoonoses Public Health 2020; 67(1): 79–88. 10.1111/zph.12658
31.Sam G, Plain K, Chen S, et al. Synthetic particulate subunit vaccines for the prevention of Q fever. Adv Health Mater 2024; 13(7): e2302351. 10.1002/adhm.202302351
32.Li Q, Niu D, Wen B, et al. Protective immunity against Q Fever induced with a recombinant P1 antigen fused with HspB of Coxiella burnetii. Ann N Y Acad Sci 2005; 1063: 130–142. 10.1196/annals.1355.021
33.Gerlach C, Škultéty Ľ, Henning K, et al. Coxiella burnetii immunogenic proteins as a basis for new Q Fever diagnostic and vaccine development. Acta Virol 2017; 61(3): 377–390. 10.4149/av_2017_320
34.Sluder AE, Raju Paul S, Moise L, et al. Evaluation of a human T cell-targeted multi-epitope vaccine for Q fever in animal models of Coxiella burnetii immunity. Front immunol 2022; 13: 901372. 10.3389/fimmu.2022.901372
35.Rashidian E, Gandabeh ZS, Forouharmehr A, et al. Immunoinformatics approach to engineer a potent poly-epitope fusion protein vaccine against Coxiella burnetii. Int J Pep Res Ther 2020; 26(4): 2191-2201. 10.1007/s10989-019-10013-610.1007/s10989-019-10013-6
36.Scholzen A, Richard G, Moise L, et al. Promiscuous Coxiella burnetii CD4 epitope clusters associated with human recall responses are candidates for a novel T-cell targeted multi-epitope Q Fever vaccine. Front Immunol 2019; 10: 207. 10.3389/fimmu.2019.00207
37.Duvaud S, Gabella C, Lisacek F, et al. Expasy, the Swiss Bioinformatics Resource Portal, as designed by its users. Nucleic Acids Res 2021; 49(W1): W216–W227. 10.1093/nar/gkab225
38.Laskowski RA, MacArthur MW, Moss DS, et al. PROCHECK: a program to check the stereochemical quality of protein structures. Applied Crystallog 1993; 26(2): 283-291. 10.1107/S0021889892009944

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-09-08]

[DOI: 10.66224/ismj.29.3.123]

GIINTLQKYYCRVRGGRCAVLSCLPKEEQIGKCSTRGRKCCRRKKEAAAKEERSLRVRYAAYYTASTPEQLAAYAV
KIVVKHWAAYRIHSSLDIYAAYQQSGWHIRFAAYRLNGGIAGIAAYTTTKLAIGVAAYRTRLGSHLTAAYIPMIDMNGFA
AYDAPLVGSNYAAYKLAIGVSALAAYTAIGVSGTVGPGPGGWHIRFSQYTTVGSVGPGPGISQWNIDGAFSIQQP
GPGPGPAPGAYQADFDTYTHGPGPGSNGSLAVKIVVKHWQGPGPGPRTLQLSNGSLAVKIGPGPGVKAQYQ
YDNVRSVHIGPGPGLAGIKVNEANAVYLEGPGPGGYTFASDWWIAGVKAGPGPGDWWIAGVKAQYQYDNG
PGPGNGGTVLSVLHPVSASGPGPGVSMKNRLNGGIAGIGGPGPGDIPMIDMNGFHIGLGGPGPGGTAIGVS
GTVQNPKRGPGPGSNYSYRTRLGSHLTAGPGPGNPKRVAINGITATVNKKLGFGYKSYTYDQVGTVKKGVKAQ
YQYDNVRSVHIKKAPLVGSNYSYRTRLGSKKIRGIPAPGAYQADFDTEAAAKGIGDPVTCLKSGAICHPVFCPRRY
KQIGTCGLPGTKCCKKP

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-09-08]

[DOI: 10.66224/ismj.29.3.123]