مقاله پژوهشی

مجله انفورماتیک سلامت و زیست پزشکی
مرکز تحقیقات انفورماتیک پزشکی
دوره پنجم شماره سوم. ص ۴۲۲-۴۱۱، ۱۳۹۷

مقایسه اتصال اینترفرون بتای طبیعی و جهش‌یافته (mHuIFN-β 27-101) به پذیرنده IFNRA به کمک داکینگ مولکولی

سیدشریف بلخی[۱]، زهره حجتی[۲]*

• **دریافت مقاله:** ۹۷/۴/۲۸ • **پذیرش مقاله:** ۹۷/۷/۱۹

مقدمه: اینترفرون بتا جزء گروه I اینترفرون‌ها می‌باشد. ایجاد جهش‌های R27T و V101F از جمله پژوهش‌های مهم صورت گرفته در جهت بهبود عملکرد، کاهش ایمونوژنیسیتی، افزایش بیان و افزایش نیمه عمر آن می‌باشد. در این تحقیق اثر جهش‌های R27T و V101F بر اتصال اینترفرون بتا نوترکیب به پذیرنده IFNAR به کمک داکینگ مولکولی مورد بررسی قرار گرفت.

روش: این مطالعه به صورت بیوانفورماتیکی انجام شد. ساختارهای کریستالی موردنیاز از بانک اطلاعاتی RCSB تهیه گردید. شبیه‌سازی جهش R27T و V101Fدر نرم‌افزار بر خط Rosetta Bakrub انجام گرفت. مقایسه دسترسی به حلال برای اسیدآمینه‌ها در ساختارهای ایجاد شده، در سرور برخط asaview انجام گرفت. همچنین اثر جهش‌های ایجاد شده بر ساختار و پیچ خوردگی پروتئینی در سرور برخط Hope و نرم‌افزار SPDBV و داکینگ مولکولی بین HuIFN-β و ناحیه خارجی پذیرنده IFNAR با استفاده از سرور برخط داکینگ پروتئین-پروتئین ClusPro2 انجام گرفت.

نتایج: مقایسه مقادیر منفی‌ترین سطح انرژی اتصال(ΔG_{bind}) حاصل از داکینگ مولکولی پروتئین-پروتئین بین پذیرنده IFNAR و لیگاندهایHuIFN-β، mHuIFN-β-27، mHuIFN-β-101 و mHuIFN-β-27-101 تفاوت فاحشی را نشان ندادند و اختلاف معنی‌داری بین آن‌ها مشاهده نگردید (P>۰/۹۹).

نتیجه‌گیری: با توجه به این نتایج می‌توان استنباط کرد که جهش‌های ایجاد شده اثر منفی بر تشکیل ترکیب rHuIFN-β/IFNAR ندارد و اختلالی در اتصال اینترفرون بتای نوترکیب به پذیرنده ایجاد نمی‌کند و باعث افزایش بهبود و کیفیت rHuIFN-β تولیدی گردید.

کلید واژه‌ها: اینترفرون بتا، داکینگ مولکولی، پذیرنده اینترفرون

• **ارجاع:** بلخی سیدشریف، حجتی زهره. مقایسه اتصال اینترفرون بتای طبیعی و جهش‌یافته (mHuIFN-β 27-101) به پذیرندهIFNRA به کمک داکینگ مولکولی. مجله انفورماتیک سلامت و زیست پزشکی ۱۳۹۷؛ ۵(۳): ۴۱۱-۴۲۲.

۱. دانشجوی دکتری تخصصی ژنتیک مولکولی، بخش ژنتیک، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

۲. دکتری تخصصی ژنتیک مولکولی، دانشیار، بخش ژنتیک، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

* **نویسنده مسئول:** بخش ژنتیک، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

• **شماره تماس:** ۰۳۱۱-۳۷۹۳۲۴۷۸

• **Email:** z.hojati@sci.ui.ac.ir

[Downloaded from jhbmi.com on 2026-10-03]

مقدمه

اینترفرون‌ها جزء مهمی از خانواده بزرگ سایتوکاین‌ها می‌باشند که اولین بار در سال ۱۹۵۷ توسط Isaacs و Lindenmann به خاطر خاصیت ضد ویروسی خود شناخته شدند [۱]. امروزه طیف وسیعی از عملکردهای آن‌ها در زمینه‌های متنوع بیولوژیکی همچون دفاع در برابر عفونت‌های میکروبی، خواص ضدویروسی، ضدسرطانی، خودایمنی، التهابی، ایمن‌سازی، تکثیر، تمایز و بقاء سلول آشکار شده است [۳-۱]. این مولکول‌های پیام‌رسان کوچک (<۳۰ KDa) به عنوان یک پیغامبر خارج سلولی توسط سلول‌های مختلف مهره‌داران در پاسخ به محرک‌های مختلف ترشح می‌گردند که نقش مهمی را در حفظ سلامت ایفا می‌کنند [۲،۴]. اینترفرون‌ها اولین سایتوکاین‌های بودند که جهت اهداف درمانی به صورت مشتقات طبیعی و یا اشکال نوترکیب در انسان مورد استفاده قرار گرفتند [۵]. در چند سال اخیر اثرات درمانی انواع اینترفرون‌ها بر درمان بیمارهای مختلف از جمله انواع هپاتیت، سرطان‌ها، بیمارهای خودایمن، مولتیپل اسکلروزیس (Multiple sclerosis) و غیره مشخص گردیده و اهمیت آن‌ها در برنامه‌های درمانی به خوبی آشکار شده است [۸-۶]. اینترفرون‌ها براساس ویژگی‌های ساختاری، نوع سلول ترشح کننده، فعالیت بیولوژیکی و نوع پذیرنده سطح سلولی به سه گروه اصلی نوع I، II و III تقسیم‌بندی می‌شوند (جدول ۱) [۱]. بیان اینترفرون‌های نوع I و نوع III معمولاً در زمان عفونت‌های ویروسی به شدت افزایش می‌یابند که نشان‌دهنده نقش آن‌ها در کنترل عفونت‌های ویروسی می‌باشد [۱].

جدول ۱: تقسیم‌بندی انواع اینترفرون‌ها، موقعیت آن‌ها روی کروموزم و نوع پذیرنده [۱]

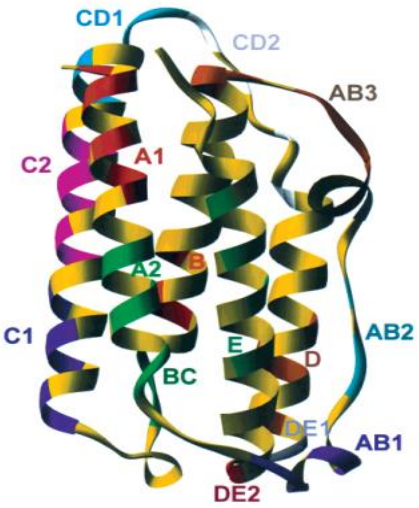
IFN TYPE	NAME (NO. OF GENES)	LOCATIONIN HUMANCHROMOSOMES	RECEPTORS
Type I	IFNα (14) IFNβ (1) IFNκ (1) IFNω (1) IFNε(1)	Chromosome 9	IFNAR1 AND IFNAR2 (ALSO KNOWN AS IFNAR1 AND IFNAR2)
Type II	IFNγ (1)	Chromosome 12	IFNGR1 AND IFNGR2 (ALSO KNOWN AS IFNGR1 AND IFNGR2)
Type III	IFNλ(3)	Chromosome 19	IFNLR1 (ALSO KNOWN AS IL-28RA) AND IL-10R2

نوع I در انسان شامل HuIFN-α (که بیش از ۱۲ ژن کد کننده دارد)، HuIFN-β، HuIFN-ω، HuIFN-ε و HuIFN-κ می‌باشد که از نظر طول بین ۱۷۲-۱۶۵ اسید آمینه دارند و از نظر توالی همولوژی بسیار نزدیک به هم دارند [۶]. اینترفرون‌های نوع I به علت عملکرد آن‌ها در سیستم ایمنی شناخته می‌شوند؛ ولی با این وجود در ایمن‌سازی، کنترل تکثیر سلولی، کنترل سلول‌های سرطانی و تنظیم سیستم ایمنی اکتسابی ایفای نقش می‌کنند [۹]. توزیع و گسترش پذیرنده‌های اینترفرون‌ها در گستره وسیعی از سلول‌ها نشان دهنده عملکرد وسیع و متنوع آن‌ها می‌باشد. همه انواع اینترفرون‌های نوع I پاسخ‌های متفاوت سلولی را از طریق اتصال به یک نوع پذیرنده به نام IFNAR فعال می‌کنند که به صورت هترودایمر شامل IFNAR1 و IFNAR2 هستند [۱۰]. تمایل هریک از زیر گروهای اینترفرون نوع I به پذیرنده‌های IFNAR1 و IFNAR2 با همدیگر متفاوت می‌باشد. به طوری که تقریباً همه انواع در ابتدا تمایل به تشکیل ساختار دوتایی IFNAR2-IFN دارند و سپس ساختار سه‌تایی IFNAR2-IFN-IFNAR1 ایجاد خواهد شد [۹]. به وضوح ثابت شده

[Downloaded from jhbmi.com on 2026-10-03]

است که به جای تفاوت در ساختار اینترفرون‌ها همین متفاوت بودن در تمایل اینترفرون‌ها به پذیرنده، عامل ایجاد پیام‌های متفاوت سلولی و در نتیجه عملکردهای متفاوت می‌گردد [۱۰]. البته برخلاف سایر زیر گروهای نوع I، اینترفرون بتا توانایی اتصال به IFNAR1 را به تنهایی با ۱۰۰ برابر تمایل بیشتر دارد و همین امر باعث ایجاد خصوصیات و ویژگی‌های عملکردی متمایز HuIFN-β گردیده است [۱۰]. اتصال اینترفرون‌های نوع I به پذیرنده‌های سطح سلولی آن باعث فعال شدن مسیر سیگنالینگ JAk1/STAT و TYK2 می‌گردد که بر بیان بیش از ۲۰۰۰ ژن مختلف با عملکردهای متنوع بیولوژیکی تأثیر می‌گذارد [۷]. اینترفرون بتا اهمیت به سزایی در روند درمان مولتیپل اسکلروزیس دارد و جزء اولین و تنها داروهای توسعه یافته در درمان آن می‌باشد [۱۱]. اینترفرون بتای انسانی (HuIFN-β) (UniProtKB - P01574) یا اینترفرون فیبروبلاستی، گلیکو پروتئینی به طول ۱۶۶ اسید آمینه به وزن تقریبی ۲۳ کیلو دالتون می‌باشد که تنها توسط یک ژن بدون اینترون بیان می‌گردد و به طور طبیعی در ساختار خود یک جایگاه گلیکوزیلاسیون روی ۸۰ Asn دارد.

HuIFN-β به طورعمده توسط فیبروبلاست‌ها تولید می‌شود؛ ولی با این حال سلول‌های دیگر مثل سلول‌های اپی‌تلیال، سلول‌های دندریتیک و فاگوسیت‌ها نیزدر تولید و ترشح آن نقش دارند [۶،۱۲]. از نظر ساختار ثانویه HuIFN-β و HuIFN-α2 تقریباً مشابه هم هستند و در بین IFNs I فقط این دو به طور طبیعی گلیکوزیله هستند [۱۳،۱۴]. ساختار ثانویه هر دو از پنج مارپیچ آلفا تشکیل شده‌اند که شامل A، B، C، D، E می‌باشند و فاصله بین هر دو ناحیه با یک لوپ ۲۸-۲ اسیدآمینه‌ای پر می‌شود AB،BC، CD و DE [۱۳،۱۵]. (شکل۱). مارپیچ A با B موازی و با سایر مارپیچ‌ها ناموازی می‌باشد. لوپ AB بزرگ است و معمولاً به سه قسمت AB1،AB2 و AB3 تقسیم می‌شود. در HuIFN-β یک پل دی‌سولفیدی بین Cys ۳۱ در لوپ AB و Cys۱۴۱ در لوپ DE وجود دارد هر دوی این لوپ‌ها نقش مهمی را در اتصال به پذیرنده دارند. همچنین Asn۸۰ به طور طبیعی گلیکوزیله می‌شود که این قند از انتهای دیگر با اسید آمینه‌های Asn۸۶ (مارپیچ C) و گلوتامین ۲۳ Gln(مارپیچ A) پیوند هیدروژنی برقرار می‌کند و این امر علاوه بر افزایش حلالیت باعث پایداری در ساختار سه بعدی اینترفرون نیز می‌گردد [۱۳].



شکل۱: ساختار سه بعدی اینترفرون بتای انسانی

شامل پنج مارپیچ آلفا A(A1,A2) ، B ، C (C1,C2) ، D و E همچنین لوپ‌های AB(AB1-Ab3) ، BC ، CD(CD1,CD2) و DE (DE1,DE2) می‌باشد [۲۳].

[Downloaded from jhbmi.com on 2026-10-03]

امروزه انواع rHuIFN-β با نام‌های تجاری مختلف همانند Betaseron، Avonex و Rebif در سلول‌های پروکایوتی و یوکاریوتی تولید می‌شوند و جهت درمان بیماران RRMS با دوزهای درمانی متفاوت مورد استفاده قرار می‌گیرند [۱۶]. از قابل توجه‌ترین تفاوت‌های این سه گروه فعالیت اختصاصی آن‌ها است که در IFNβ-1a نسبت به IFNβ-1b بسیار بالاتر می‌باشد. توضیح احتمالی که برای این امر می‌توان داشت مجتمع شدن IFN β-1b آن‌ها می‌باشد. چون IFN β-1b در *Ecoli* تولید می‌شود بر خلاف IFNβ-1a که در سلول‌های یوکاریوتی (مانند CHO) تولید می‌شوند، گلیکوزیله نمی‌شود و همین امر باعث از بین رفتن حلالیت آن و در نتیجه سبب تجمع، کاهش فعالیت و کمتر شدن نیمه عمر آن می‌گردد، که شاید در نتیجه اتصال ضعیف یا غیر مؤثر به پذیرنده باشد [۱۶]. به علت فعالیت کمتر، میزان دوز تجویزی بالا می‌باشد و این امر باعث ایمونوژنیسته و تولید آنتی‌بادی برعلیه آن در بیماران می‌گردد که یکی دیگر از معایب مصرف HuIFN β-1b می‌باشد. اهمیت اینترفرون‌بتا در درمان MS مشخص شده و همچنین اثرات مهم درمانی آن برآرتریت روماتوئید، سرطان و تومور مورد مطالعه قرار گرفته است [۶،۱۱]. پس با توجه به نقش و اهمیت اینترفرون بتا انسانی در درمان بیمارهای خودایمن و التهابی مانند MS و همچنین درمان عفونت‌های ویروسی لازم است تا این دارو با کیفیت بهتر تولید گردد، از این رو مطالعات زیادی در روند بهبود تولید، افزایش اثردرمانی، کیفیت و پایداری اینترفرون‌بتا نوترکیب صورت گرفته است. بهینه‌سازی محیط کشت، بهینه‌سازی شرایط رشد و ایجاد تغییرات در نواحی مختلف mRNA اینترفرون سبب افزایش پایداری و افزایش بیان HuIFN-β می‌گردد [۳،۱۷]. همچنین ایجاد جهش R27T سبب شکل‌گیری یک جایگاه N–گلیکوزیلاسیون جدید بر روی بیست‌وپنجمین اسید آمینه (Asn25) می‌شود که باعث افزایش حلالیت و نیمه عمر rHuIFNβ شده [۳،۱۸] و نیز جهش V101F باعث افزایش بیان rHuIFNβ تا چندین برابر می‌گردد [۳]. از آنجا که R27 و V101 در ناحیه‌ای قرار دارند که در اتصال HuIFNβ به پذیرنده آن‌ها نقش دارد و تغییرات در این ناحیه ممکن است بر اتصال اینترفرون به پذیرنده‌های خود تأثیرگذار باشد و با توجه به اینکه جهش‌های ایجاد شده بر حلالیت، نیمه عمر، فعالیت و بیان اینترفرون موثر می‌باشد؛ لذا مهم است تا اثر این جهش‌ها بر اتصال اینترفرون به پذیرنده خود موردبررسی قرار گیرد. در مطالعه حاضر اثر جهش‌های R27T و V101F بر اتصال rHuIFNβ طبیعی و جهش‌یافته mHuIFN-β 27-101 به پذیرنده IFNAR به کمک داکینگ مولکولی پروتئین–پروتئین مورد مقایسه و مطالعه قرار گرفت.

از ساختارهای کریستالی HuIFN-β (PDB ID: 1AU1)، IFN-β- ،IFN-a 2a/IFNAR2 (PDB ID: 2HYM) IFNAR1 (PDB: ID3wcy)، (ID:16vn PDB) IFNAR2EC و IFNAR1 (PDB ID:3s98) موجود در سرور RCSB (https://www.rcsb.org/structure/1n6v) استفاده گردید. شبیه‌سازی جهش آرژنین به ترونین در بیست‌وهفتمین اسیدآمینه (R27T) و همچنین جهش والین به فنیل‌آلانین در صدویکمین اسیدآمینه (V101F) در نرم‌افزار بر خط RosettaBakrub براساس ساختار کریستالی (PDB ID: 1AU1) HuIFN-β ایجاد گردید [۱۹]. مقایسه نواحی سطوح قابل دسترس (ASA) اسیدآمینه‌ها در ساختارهای ایجاد شده، در سرور برخط (http://asaview.netasa.org) asaview انجام گرفت [۲۰]. همچنین اثر جهش‌های ایجاد شده بر ساختار و فولد پروتئینی در سرور برخط HOPE (http://www.cmbi.ru.nl/hope) و نرم‌افزار SPDBV(/https://spdbv.vital-it.ch) مورد بررسی قرارگرفت [۲۱،۲۲].

HOPE، یک برنامه کاملاً اتوماتیک که اثرات ساختاری و کاربردی جهش‌های نقطه‌ای را تحلیل می‌کند. HOPE اطلاعات را از طیف گسترده‌ای از منابع اطلاعاتی از قبیل محاسبات در مختصات 3D پروتئین با استفاده از خدمات سرور WHAT IF، اطلاعات مربوط به توالی‌ها را از UniProt و پیش‌بینی‌های سرویس (Dense Alignment Surface) DAS را جمع آوری می‌کند [۲۱]. بررسی همولوژی مدل‌ها با YASARA (/http://www.yasara.org)انجام شد. داده‌های به دست آمده در یک پایگاه داده ذخیره شد جهت ویرایش نهایی اثرات جهش در ساختار و عملکرد پروتئین مورد استفاده قرار گرفت. HOPE یک گزارش با متن، ارقام و انیمیشن ایجاد می‌کندکه برای محققان آسان و قابل درک است [۲۱].

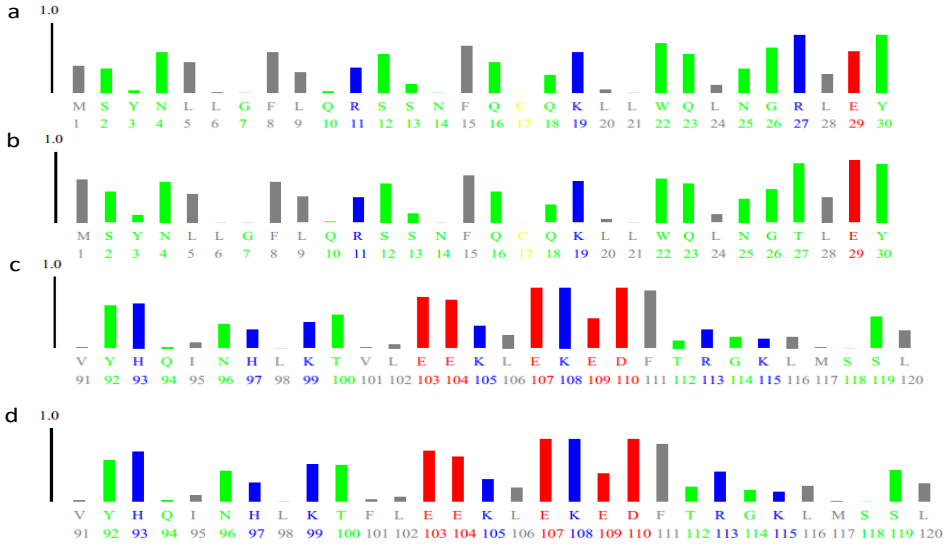
به علت شباهت ساختاری و نقاط اتصال به پذیرنده بین HuIFN-β و HuIFN-α2a، ترکیب IFN-a (PDB ID: 2HYM) 2a/IFNAR2 به عنوان الگوی اولیه برای ترکیب HuIFN-β/IFNAR2 و ترکیب سه‌گانه

[Downloaded from jhbmi.com on 2026-10-03]

HuIFNa2-IFNAR (PDB ID: 3se3) بـــرای ترکیـب HuIFN-β/IFNAR1 جهـت داکینـگ مولکـولی مورد استفاده قرار گرفت. داکینگ مولکولی بـین HuIFN-β و ناحیه خـارجی پذیرنـده IFNAR [۲۳]. بـا اسـتفاده از سـرور بـــرخط پـــروتئین – پـــروتئین داکینـــگ ClusPro2 (https://cluspro.org) انجـــام پـــذیرفت [۲۴]. ســـرور ClusPro (https://cluspro.org) ابـزاری اسـت کـه بـه طورگسترده برای پروتئین– پروتئین داکینگ مورد استفاده قـرار می‌گیرد که فایل ورودی مورد نیاز با قالب PDB (Protein Data Bank) بود. همچنـین دارای یـک تعـداد گزینـه‌های پیشرفته می‌باشد که برای تسـریع و اصـلاح در رونـد داکینـگ می‌توان از آن‌ها استفاده کرد. این سرور مرحله محاسباتی را بـه صورت زیر انجام می‌دهد: (۱) مجموعه داکینگ جسـم سـخت (rigid body docking) با نمونه گیـری میلیاردهـا ترکیـب، (۲) خوشه بندی مبتنـی برانحـراف معیـار ریشـه (RMSD) از ۱۰۰۰ سـاختار بـا کمتـرین انـرژی تولیـد شـده بـرای یـافتن بزرگ‌ترین خوشه‌ها که محتمل‌ترین مدل‌ها از ترکیب را نشـان می‌دهد و (۳) پاک‌سازی ساختارهای انتخـاب شـده بـا اسـتفاده ازحداقل انرژی، در پایان نتایج به صورت چندپارامتر انرژی به طور پیش فرض در ۱۰ مدل برای هر داکینگ ارائـه گردیـد و دسته‌ای که بیشترین تعداد جمعیتی و کمترین مقدار انرژی را به خـــود اختصـــاص داد و بـــالاترین امتیـــاز را دارد می‌توانـــد محتمل‌ترین ترکیـب باشـد [۲۴]. بـر اسـاس نتـایج داکینـگ مولکولی مدل‌هایی که ساختارهای هندسی آن‌ها مشـابه بودنـد بر اساس معیارRMSD گروه‌بنـدی شـدند: هـر گـروه شـامل ساختارهایی بودند که در حداکثرشعاع RMSD به اندازه 9A از یکدیگر متفاوت بودند. مشاهده ساختار مدل‌های ایجاد شـده حاصـل از داکینـگ مولکـولی در Cluspro2.2 بـه وسـیله نرم‌افزار PyMOL انجام شد. برای مشاهده، مقایسـه و آنـالیز سـاختارها بـا قالـب PDB از نرم‌افزارهـای PyMOL v 0.99، SPDBV v4.1، Chimera v 1.11YASARA، v 10.9.17 استفاده شد.

نتایج

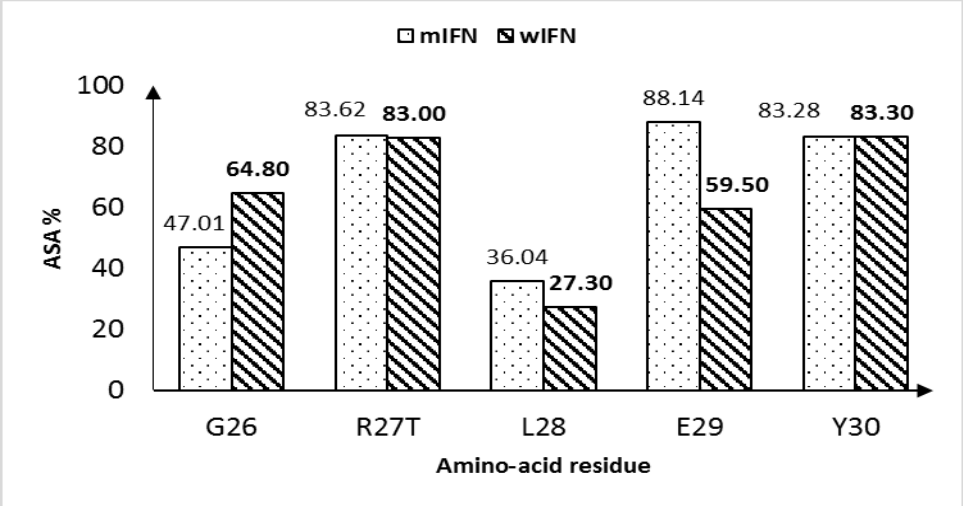
شبیه‌سـازی سـاختارهای mHuIFN-β-27، mHuIFN-β-101 و mHuIFN-β-27-101 براســـاس ســـاختار کریسـتالی HuIFN-β(PDB ID: 1AU1) در سـرور Rosetta Bakrubانجام گرفت و ساختارهایی که بـالاترین امتیاز را دارا بودنـد (منفی‌تـرین ΔG) جهـت مطالعـه انتخـاب گردیدند. مقایسه نواحی سطوح قابل دستر(ASA) یا دسترسی به حلال آمینو اسـیدهای سـاختارهای طبیعـی و جهـش یافتـه نشان داد که به علت جایگزینی اسیدآمینه‌های بـا زنجیره‌هـای جانبی متفاوت در سایز و نوع، سبب افزایش و کاهش دسترسی به حـلال (ASA) اسـیدآمینه‌هـای مجـاور گردیـد (شـکل ۲) (نمودار ۲).



شکل ۲: اثر جهش بر دسترسی به حلال اسید آمینه‌ها(ASA).

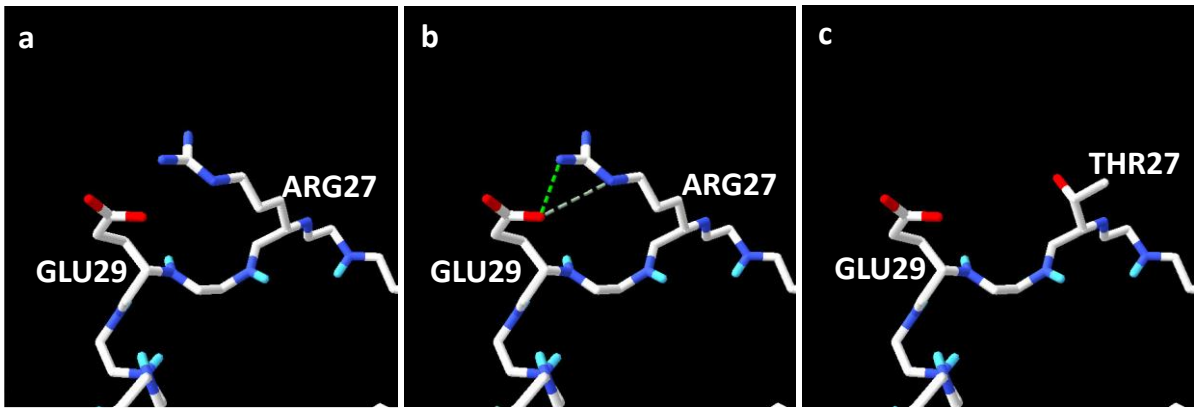
[Downloaded from jhbmi.com on 2026-10-03]

A-موقعیت و دسترسی به حلال R27 و اسید آمینه‌های اطراف آن در wIFNβ. B- در mIFNβ، که اسید آمینه جدید (T27) سبب تغییر در دسترسی به حلال بعضی از اسید آمینه‌ها می‌گردد و این امر در E29,G26 و M1 بیشتر مشهود می‌باشد. C- موقعیت و دسترسی به حلال V101 و اسید آمینه‌های اطراف آن در wIFN. D- جایگزینی V101F در mIFN تغیر چندانی بر اسید آمینه‌های اطراف ندارند.V101 و Phe هر دو در قسمت درونی مولکول قرار دارند و دسترسی به حلال آن‌ها بسیار کم می‌باشد.



نمودار ۲: اثرات جایگزینی R27T بر قابلیت دسترسی (ASA) اسیدآمینه‌های مجاور

نرم افـزار بـرخط Hope نشـان داد کـه تغییـر در نـوع اسـید آمینه‌های جایگزین شده با زنجیره‌های جانبی متفاوت در نـوع، سـایز و خصوصـیات می‌توانـد بـا توجـه بـه قـرار گیـری ایـن اسیدآمینه‌ها در موقعیتی که بر واکنش با سایر مولکول‌ها نقـش دارد، سبب ایجاد تغییراتی در پیوندهای هیدروژنی و اینترکشـن با سایر مولکول‌ها (پذیرنده) گردد که ایـن امـر در SPDBV نیز قابل مشاهده است (شکل ۳).



شکل ۳: تغییرات ایجاد شده با جایگزینی R27T

a –موقعیت اسیدآمینه ARG27 که در مجاورت اسیدآمینه GLU29 قرار دارد. b- دو اسید آمینه ARG و GLU با توجه به فاصله و موقعیت قادر به ایجاد رابطه هیدورژنی با هم می‌باشند. C- با جایگزینی R27T زنجیرهای جانبی متفاوت می‌گردند و موقعیت و دو اسیدآمینه THR و GLU فرق می‌کند به طوری که رابطه هیدورژنی بین آن دو ایجاد نمی‌گردد (تهیه شده با کمک نرم افزار SPDBV).

نتـایج پـروتئین-پـروتئین داکینـگ مولکـولی در مقایسـه بـا ترکیب‌هـای الگـو IFN-a 2a/IFNAR2(PDB ID: 2HYM)، IFN-β-IFNAR1(PDBID:3wcy) و ترکیـب سـه‌گانه HuIFNa2-IFNAR (PDB ID:

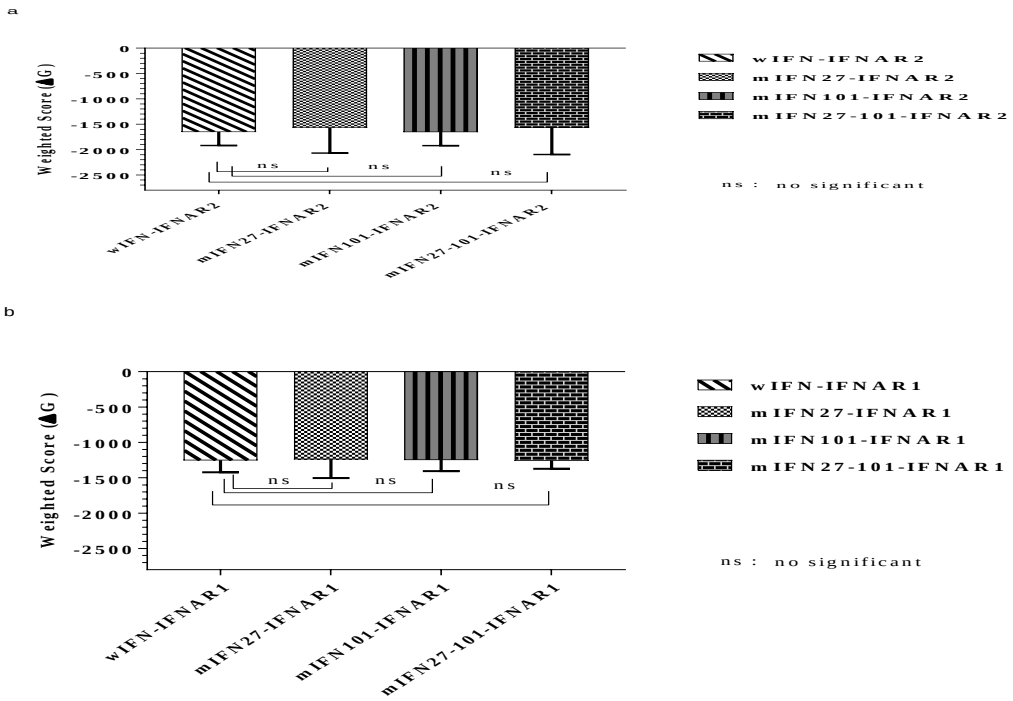
[Downloaded from jhbmi.com on 2026-10-03]

3se3 مجموعا در چهار پارامتر انرژی مورد بررسی قرار گرفتند (جدول ۳).

جدول ۳: نتایج منفی‌ترین سطح انرژی اتصال (ΔG_{bind}) برای هرساختار در چهار پارامتر انرژی

	متعادل شده (Kcal/mol)	الکترواستاتیک (Kcal/mol)	آبگریز (Kcal/mol)	واندروالس+ الکتروستاتیک(Kcal/mol)
wIFN-IFNAR2	– ۱۶۵۰	– ۱۷۳۲/۸	– ۱۸۱۴/۷	– ۳۱۶/۴
mIFN27-IFNAR2	– ۱۵۶۵	– ۱۶۰۸/۷	– ۱۷۶۱/۵	– ۲۹۲/۶
mFN101-IFNAR2	– ۱۶۵۲/۸	– ۱۷۳۴/۲	– ۱۸۱۵/۳	– ۳۴۵/۱
mIFN27-101-IFNAR2	– ۱۵۶۳/۹	– ۱۶۲۴/۸	– ۱۹۱۶/۵	– ۲۹۵/۷
wIFN-IFNAR1	– ۱۱۸۱/۲	– ۱۲۰۹/۷	– ۱۳۷۱/۳	– ۲۲۹/۷
mIFN27-IFNAR1	– ۱۱۳۵	– ۱۲۱۰/۷	– ۱۳۲۷/۱	– ۲۲۴
mFN101-IFNAR1	– ۱۱۲۶/۶	– ۱۲۵/۴	– ۱۲۱۱/۵	– ۲۲۹/۲
mIFN27-101-IFNAR1	– ۱۱۲۴/۸	– ۱۱۵۱/۷	– ۱۲۶۲/۸	– ۲۵۴/۹

مقایسه مقادیر منفی‌ترین سطح انرژی اتصال(ΔG_{bind}) حاصل از پروتئین- پروتئین داکینگ مولکولی بین پذیرنده IFNAR و لیگاندهای HuIFN-β، mHuIFN-β-27، mHuIFN-β-101 و mHuIFN-β-27-101 تفاوت فاحشی را نشان ندادند و اختلاف معنی‌داری بین آن‌ها مشاهده نگردید (P>۰/۹۹). (نمودار ۴)، با توجه به این نتایج می‌توان استنباط کرد که جهش‌های ایجاد شده اثر منفی بر تشکیل ترکیب mHuIFN-β /IFNAR ندارد.



نمودار ۴: مقایسه ΔG حاصل از مولکولار داکینگ

a– نتایج حاصل از مقایسهΔG کمپلکس بین wIFN/IFNAR2 و کمپلکس wIFN/IFNAR2 که نشان می‌دهد تغیرات ΔG معنی‌دار نمی باشد. b – نتایج حاصل از مقایسه ΔGکمپلکس بین wIFN/IFNAR1 و کمپلکس wIFN/IFNAR1 که نشان می‌دهد تغییرات ΔG معنی‌دار نمی‌باشد.

[Downloaded from jhbmi.com on 2026-10-03]

بحث و نتیجه گیری

ایجاد جهش‌های (R27T) و (V101F) ازجمله مطالعات انجام شده در راستای بهبود کیفیت، پایداری و افزایش بیان HuIFN-β جهت بالابردن اثرات درمانی، افزایش نیمه عمر و کاهش ایمونوژنیسیته می‌باشد [۳،۱۸،۲۵]. Song و همکاران نشان دادند که جهش (R27T) باعث ایجاد یک سیگنال گلیکوزیلاسیون جدید بر سطح rHuIFN-β و گلیکوزیلاسیون اسیدآمینه Asn 25 می‌گردد. گلیکوزیله شدن اسیدآمینه Asn25 در اتصال rHuIFNβ-1a به پذیرنده نه تنها ممانعت ایجاد نمی‌کند بلکه با ایجاد رابطه‌های هیدروژنی جدید بین قند متصل به Asn25 و آمینواسیدهای Thr 44 و Asn51 پذیرنده IFNAR2 سبب پایداری ترکیب mHuIFN-β-27/IFNAR2 می‌گردد [۱۸]. Goelz و همکاران و Kay و همکاران نشان دادند که جهش V101F باعث افزایش بیان و افزایش خاصیت آنتی‌ویروسی تا چندین برابر حالت طبیعی می‌گردد [۳،۲۵]. در مطالعه انجام گرفته توسط Song و همکاران [۱۸] جهش R27T بر اینترفرون ایجاد شده بود و اثر گلیکوزیلاسیون Asn 25 بر اتصال اینترفرون به پذیرنده مورد مطالعه قرار گرفته بود؛ ولی اثر خود جهش R27T بر اتصال اینترفرون به پذیرنده، اثرات آن بر ساختار پروتئین و بر قابلیت دسترسی به حلال (ASA) مورد مطالعه قرار نگرفته بود. Goelz و همکاران [۲۵] اثر جهش V101F را در اتصال اینترفرون به پذیرنده به صورت آزمایشگاهی نتایج نشان داد جهش ایجاد شده ممانعت برای اتصال اینترفرون به پذیرنده خود ندارد. Kay و همکاران به طور همزمان اثر هر دو جهش R27T و V101F روی بیان اینترفرون مورد مطالعه قرار داده بودند؛ ولی اثرات این جهش‌ها بر قابلیت دسترسی به حلال (ASA)، بر ساختار پروتئین و اتصال اینترفرون به پذیرنده خود مورد مطالعه قرار نگرفته بود[۳]. در مطالعه حاضر سعی بر این شده تا با کمک مطالعات *Insilco* اثر هر دو جهش R27T و V101F به طور همزمان بر اتصال اینترفرون به پذیرنده خود موردبررسی قرار گیرد و همچنین اثر این جهش‌ها بر قابلیت دسترسی به حلال آمینواسیدها و بر ساختار و فولد پروتئین مورد مطالعه قرار گیرد. اسیدآمینه‌های مهم در اتصال HuIFN-β به پذیرنده IFNAR2 در نواحی A2, AB1, AB2, E و به پذیرنده IFNAR1 در نواحی B, C2, DE, R27 قرار دارند [۱۵]. در ناحیه AB1 قرار دارد و V101در ناحیه C2 قرار دارد که این نواحی در اتصال HuIFN-β به پذیرنده IFNAR اهمیت دارد؛ بنابراین این تغییرات در مجموع ممکن است که اتصال HuIFN-β به پذیرنده اختصاصی خود را دچار تغیرات کند که در نهایت ممکن است روی عملکرد و نتایج درمانی آن مؤثر باشد. در این مطالعه اثرات این جهش‌ها بر دسترسی به حلال اسیدآمینه‌ها و اثرات آن بر ساختار پروتئین و در نهایت اثر این جهش‌ها براتصال rHuIFNβ-1a به پذیرنده مشترک IFNs نوع (IFNAR) I مورد مطالعه قرار گرفت.

نواحی قابل دسترس سطحی (ASA) یا دسترسی به حلال اسیدهای آمینه در یک پروتئین، کاربردهای مهمی دارد به طوری که شناختن سطح دسترسی اسیدآمینه‌ها به شناسایی جایگاه‌های فعال در یک پروتئین کمک می‌کند. نرم‌افزار برخط asaview یک الگوریتم، برنامه کاربردی و پایگاه اطلاعاتی از داده‌های دسترسی به حلال اسیدآمینه‌ها در ساختار پروتئین می‌باشد که به راحتی قابلیت دسترسی به حلال اسیدآمینه را محاسبه می‌کند و آمینو اسیدهای را که در سطح و قابل دسترس هستند و نیز اسیدآمینه‌های که در قسمت درونی قرار دارند را مشخص می‌کند و به صورت یک گراف از توزیع توپولوژیکی اسید آمینه‌ها را ارائه می‌کند. مقایسه دسترسی به حلال اسیدآمینه‌های ساختارهای طبیعی و جهش یافته نشان داد که به علت جایگزینی اسیدآمینه‌های با زنجیره‌های جانبی متفاوت در سایز و نوع، سبب افزایش و کاهش در نواحی سطوح قابل دسترس (ASA) اسیدآمینه‌های مجاور می‌گردد (جدول ۲). اسیدآمینه‌های T و R هر دو دسترسی به حلال بالاتر از ۸۰ درصد دارند و زنجیرهای جانبی آن‌ها به خاطر قرار گرفتن در سطح خارجی مولکول و نسبت به آمینواسیدهای داخلی‌تر به خوبی قابل دسترس‌تر می‌باشند (شکل ۲)، ولی اسیدآمینه‌های F و V هر دو در قسمت داخل قرار دارند و مخفی شده‌اند. طوری که دسترسی به حلال آن‌ها کمتر از ۳٪ می‌باشد و دسترسی آن‌ها به سطح مولکول خیلی کمتر است و نیز جایگزینی (V101F) تغییرات قابل توجه بر دسترسی به حلال اسیدآمینه‌های اطراف خود نداشت (شکل ۲). جایگزینی T در جایگاه ۲۷ سبب ایجاد تغییر در دسترسی به حلال اسیدآمینه‌های مجاور گردید به خصوص در E29 که دسترسی به حلال آن از ۵۹/۵٪ به ۸۸٪ افزایش داشته، افزایش دسترسی به حلال در اسیدآمینه L۲۸ از ۲۷/۳٪ به ۳۶/۰۴٪ و کاهش دسترسی به حلال در اسید آمینه G26 از ۶۴/۸٪ به ۴۷/۰۱٪ این اسیدآمینه‌ها در اتصال IFN به پذیرنده نقش دارندکه این تغییرات براثر جهش ایجاد شده ممکن است در نحوه اتصال IFN به پذیرنده خود تأثیر بگذارد.

[Downloaded from jhbmi.com on 2026-10-03]

نتایج به دست آمده از HOPE نشان داد که در جایگزینی R27T که هریک از اسیدآمینه Tو R دارای اندازه، شارژ و مقدار هیدروفوبی خاص خود است. طوری که اسیدآمینه T کوچک‌تر از اسید آمینه R می‌باشد و شارژ الکتریکی اسید آمینه R مثبت می‌باشد درحالی که اسیدآمینه T از این نظر خنثی می‌باشد و نیز اسیدآمینه T نسبت به R آبگریزتر می‌باشد. در حالت طبیعی بین اسید آمینه R27 و E29 یک رابطه هیدروژنی و یک پل نمکی وجود دارد تفاوت شارژ بین اسیدآمینه‌های T و R باعث مختل شدن برهمکنش‌هایی می‌شود که توسط اسید آمینه R شکل می‌گیرد. همچنین HOPE نشان داد که موقعیت اسید آمینه ۲۷ محافظت شده نمی‌باشد و آمینواسیدهای دیگر و همچنین T نیز در این موقعیت در همولگ‌های دیگر مشاهده شده‌اند؛ بنابراین بر اساس اطلاعات محافظتی احتمالاً جهش در این موقعیت آسیب‌رسان نمی‌باشد. بررسی دمین‌ها در HOPE نشان داد که موقعیت دنباله ۲۷ در دامنه‌ای است که برای اتصال مولکول‌های دیگر و اسید آمینه این جایگاه در تماس با اسیدآمینه‌های در یک دامنه دیگر اهمیت دارد. جهش ممکن است تعامل بین این دو حوزه را مختل کند و به همین ترتیب بر عملکرد پروتئین اثر می گذارد. نتایج به دست آمده از HOPE در رابطه با جهش V101F نشان داد که خصوصیات و ویژگی‌های دو اسیدآمینه V و F به همدیگر متفاوت می‌باشد. اسیدآمینه F از نظر اندازه نسبت به V بزرگ‌تر می‌باشد و از آنجا که V در قسمت مرکزی پروتئین نهفته است قرار گرفتن F با سایز بزرگ‌تر برای این ناحیه مناسب نمی‌باشد. همچنین این موقعیت محافظت شده نمی‌باشد و همولگ‌های دیگر برای این موقعیت وجود دارد؛ ولی از آنجا که همولوگ F مشاهده نشده احتمالاً این جهش مضر می‌باشد. نرم‌افزار بر خط HOPE مشخص کرد که V101 در دمینی قرار دارد که این ناحیه در تعامل اینترفرون با مولکول و اسیدآمینه‌های دیگر اهمیت دارد؛ بنابراین جهش در این ناحیه می‌تواند باعث مختل شدن تعامل با مولکول‌های دیگر شود.

برای داکینگ مولکولی ساختار کریستالی از ترکیب HuIFN-β/IFNAR2 وHuIFN-β/IFNAR1 موجود نمی‌باشد از آنجا که شباهت بسیار بالای بین ساختار HuIFN-β و HuIFN-α2a و نقاط اتصال آن‌ها به پذیرنده وجود دارد به همین دلیل از ترکیب دوتایی IFN-a 2a/IFNAR2 (PDB ID: 2HYM) و ترکیب سه‌گانه (PDB ID: 3se3) HuIFNa2-IFNAR به عنوان الگوی اولیه جهت مشخص شدن موقعیت و مکان تقریبی rHuIFN-β بر روی پذیرنده‌ها استفاده شد [۲۳،۲۶]. با توجه به مشخص بودن اسیدآمینه‌های مهم در اتصال HuIFN-β به پذیرنده و نواحی درگیر در اتصال [۱۳–۱۵] [۲۶]. بین ساختارهای mHuIFN-β-27، mHuIFN-β-101، mHuIFN-β-27-101 و HuIFN-β با پذیرندهای IFNAR به کمک نرم‌افزار برخط Cluspro 2.2 داکینگ مولکولی گذاشته شد. مشابه‌ترین مدل‌ها حاصل از پروتئین -پروتئین داکینگ مولکولی با بیشترین تعداد در یک دسته و کمترین مقدار انرژی تقریباً در موقعیت و مکان مشابه در مقایسه با ترکیب‌های الگو (PDB ID: 2HYM) IFN-a 2a/IFNAR2، (PDBID: 3wcy) IFN-β-IFNAR1، و ترکیب سه‌گانه (PDB ID: 3se3) HuIFNa2-IFNAR انتخاب شد و در چهار مجموعه از پارامترهای مختلف انرژی شامل بالانس (Balanced)، الکترواستاتیک (electrostatic-favored)، آبگریز (hydrophobic-favored) و الکترو استاتیک + واندروالس (van der Waals + electrostatics) مورد بررسی قرار گرفت. مقایسه منفی‌تر سطح انرژی اتصال (ΔG_{bind}) به دست آمده از داکینگ مولکولی بین ساختارهای mHuIFN-β-27، mHuIFN-β-101، mHuIFN-β-27-101 و HuIFN-β با پذیرندهای IFNAR نشان دهنده اختلاف معنی‌داری بین اینترفرون‌های جهش‌یافته و نوع طبیعی در اتصال به پذیرنده نمی‌باشد (P>۰/۹۹). که می‌توان گفت ایجاد جهش R27T و V101Fدر HuIFN-β با وجود قرار گرفتن این نقاط در نواحی مهم، در اتصال به پذیرنده اختلال ایجاد نمی‌کند و از آنجا که در مطالعات گذشته مشخص شده بود که این تغییرات باعث افزایش بهبود کیفیت و کارایی و افزایش میزان بیان rHuIFN-β می‌گردد؛ لذا به نظر می‌رسد که ایجاد این جهش‌ها در ساختار rHuIFN- β بسیار مناسب بوده و باعث افزایش بهبود و کیفیت rHuIFN-β تولیدی می‌گردد بدون اینکه اختلال در اتصال به پذیرندهای IFNAR ایجاد کند.

از محدویت‌های این کار می‌توان گفت علی‌رغم جستجوی فراوان اکثر نرم‌افزارهای داکینگ مولکولی قادر نبودند که با توجه به نقاط اتصالی بین لیگاند و پذیرنده، مولکول اینترفرون و پذیرنده آن را در موقعیت، جایگاه و جهت مناسب همانند مدل الگوی که در این مطالعه استفاده شد (IFN-a 2a/IFNAR2 (PDB ID: 2HYM) قرار دهند و فقط

[Downloaded from jhbmi.com on 2026-10-03]

نرم‌افزار برخط Cluspro2.2 این کار را به طور مناسب و مطلوب انجام داد. اگر این مشکل نبود می‌توانستیم کار را با نرم‌افزارهای داکینگ مولکولی دیگر هم بررسی و نتایج با همدیگر مقایسه شود.

در پایان پیشنهاد می‌شود که داکینگ مولکولی بین اینترفرون و هر دو پذیرنده به طور همزمان انجام گیرد و اثر جهش‌های ایجاد شده در اتصال همزمان به دو رسپتور مورد بررسی قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه دکتری و طرح تحقیقاتی به شماره ۹۲۰۴۲۸۵۶ می‌باشد. بدین‌وسیله از گروه زیست‌شناسی دانشگاه اصفهان و سازمان حمایت از پژوهشگران و فناوران ریاست جمهوری به خاطر فراهم‌آوری امکانات و تجهیزات پژوهش کمال قدردانی و سپاس را دارم. از دکتر گنجعلی‌خانی و دهباشی که در اجرای این پژوهش و نوشتن مقاله من را یاری کردند و زحمات بسیار کشیدند کمال قدردانی و تشکر را دارم.

تعارض منافع

در پایان اعلام می‌داریم که هیچ‌گونه تعارض علائق بین نویسندگان مقاله وجود ندارد.

References

1. Capobianchi MR, Uleri E, Caglioti C, Dolei A. Type I IFN family members: similarity, differences and interaction. Cytokine Growth Factor Rev 2015;26(2):103-11.

2. Schleicher U, Liese J, Justies N, Mischke T, Haeberlein S, Sebald H, et al. Type I Interferon Signaling Is Required for CpG-Oligodesoxynucleotide-Induced Control of Leishmania major, but Not for Spontaneous Cure of Subcutaneous Primary or Secondary L. major Infection. Front Immunol 2018;9:79.

3. Kay M, Hasan-Abad AM, Hojati Z, Korbekandi H. Targeted mutations in Val101 and Arg27 interferon beta protein increase its transcriptional and translational activities. Cytokine 2016;78:1-6.

4.Vazquez-Lombardi R, Roome, B, Christ D. Molecular Engineering of Therapeutic Cytokines Antibodies 2013; 2(4): 42651.

5. Penny R, Stuart-Harris R. Interferons: Therapeutic Uses. eLS 2001.

6. Muskardin TLW, Niewold TB. Type I interferon in rheumatic diseases. Nat Rev Rheumatol 2018;14(4):214-28.

7. Feld JJ. The beginning of the end: what is the future of interferon therapy for chronic hepatitis C? Antiviral Res 2014;105:32-8.

8. Dolati S, Babaloo Z, Jadidi-Niaragh F, Ayromlou H, Sadreddini S, Yousefi M. Multiple sclerosis: Therapeutic applications of advancing drug delivery systems. Biomed Pharmacother 2017;86:343-53.

9. Schreiber G, Piehler J. The molecular basis for functional plasticity in type I interferon signaling. Trends Immunol 2015;36(3):139-49.

10. Wilmes S, Beutel O, Li Z, Francois-Newton V, Richter CP, Janning D, et al. Receptor dimerization dynamics as a regulatory valve for plasticity of type I interferon signaling. J Cell Biol 2015;209(4):579-93.

11. Jakimovski D, Kolb C, Ramanathan M, Zivadinov R, Weinstock-Guttman B. Interferon beta for Multiple Sclerosis. Cold Spring Harb Perspect Med 2018;8(11).

12. Imanishi J. Basis and Clinical Applications of Interferon. Japan Medical Association Journal 2004;47(1):7-12.

13. Karpusas M, Whitty A, Runkel L, Hochman P. The structure of human interferon-beta: implications for activity. Cell Mol Life Sci 1998;54(11):1203-16.

14. Deonarain R, Chan DC, Platanias LC, Fish EN. Interferon-alpha/beta-receptor interactions: a complex story unfolding. Curr Pharm Des 2002;8(24):2131-7.

15. Runkel L, deDios C, Karpusas M, Betzenhauser M, Muldowney C, Zafari M, et al. Systematic mutational mapping of sites on human interferon-beta-1a that are important for receptor binding and functional activity. Biochemistry 2000;39(10):2538-51.

16. Rudick RA, Goelz SE. Beta-interferon for multiple sclerosis. Exp Cell Res 2011;317(9):1301-11.

17. Han YK, Koo TY, Lee GM. Enhanced interferon-beta production by CHO cells through elevated osmolality and reduced culture temperature. Biotechnol Prog 2009;25(5):1440-7.

18. Song K, Yoon IS, Kim NA, Kim DH, Lee J, Lee HJ, et al. Glycoengineering of interferon-beta 1a improves its biophysical and pharmacokinetic properties. PLoS One 2014;9(5):e96967.

19. Smith CA, Kortemme T. Backrub-like backbone simulation recapitulates natural protein conformational variability and improves mutant side-chain prediction. J Mol Biol 2008;380(4):742-56.

20. Ahmad S, Gromiha M, Fawareh H, Sarai A. ASAView: database and tool for solvent accessibility

[Downloaded from jhbmi.com on 2026-10-03]

representation in proteins. BMC Bioinformatics 2004;5:51.
21. Venselaar H, Te Beek TA, Kuipers RK, Hekkelman ML, Vriend G. Protein structure analysis of mutations causing inheritable diseases. An e-Science approach with life scientist friendly interfaces. BMC Bioinformatics 2010;11:548.
22. Guex N, Peitsch MC. SWISS-MODEL and the Swiss-PdbViewer: an environment for comparative protein modeling. Electrophoresis 1997;18(15):2714-23.
23. Chill JH, Quadt SR, Levy R, Schreiber G, Anglister J. The human type I interferon receptor: NMR structure reveals the molecular basis of ligand binding. Structure 2003;11(7):791-802.
24. Kozakov D, Hall DR, Xia B, Porter KA, Padhorny D, Yueh C, et al. The ClusPro web server for protein-protein docking. Nat Protoc 2017;12(2):255-278.
25. Goelz SE, Cate RL, Chow EP, Pepinsky RB. Muteins of IFN-β. Google Patents; 2000.
26. de Weerd NA, Matthews AY, Pattie PR, Bourke NM, Lim SS, Vivian JP, et al. A hot spot on interferon alpha/beta receptor subunit 1 (IFNAR1) underpins its interaction with interferon-beta and dictates signaling. J Biol Chem 2017;292(18):7554-65.

[Downloaded from jhbmi.com on 2026-10-03]

Original Article

Journal of Health and Biomedical Informatics
Medical Informatics Research Center
2018; 5(3): 411-422

Comparison of Wild Type and Mutated (mHuIFN-β 27-101) Interferon Binding to the IFNRA Receptor by Molecular Docking

Sayed Sharif Balkhi, Zohreh Hojati*

• **Received:** 19 July, 2018 • **Accepted:** 11 Oct, 2018

Introduction: Interferon beta is one of the members of type I interferons. Creating R27T and V101F mutations is one of the important researches performed to improve function, decrease immunogenicity, increase expression and increase half-life of interferon beta. In this study, the effects of R27T and V101F mutations on interferon beta binding to interferon receptors were studied by molecular docking.

Method: This study was performed through Bioinformatics methods. The required crystal structures were provided by the RCSB server. The simulations of R27T and V101F mutations were performed using online Rosetta Backrub software. Comparison of access to the solvent for the amino acids in the created structures was performed using asaview online server. Also, the effect of mutations on the structure and protein folding was investigated by the online Hope server and SPDBV software. The molecular docking between HuIFN-β and the external region of IFNAR receptor was performed using the online ClusPro2 protein-protein docking server.

Results: The comparison of the values of the negative binding energy (ΔGbind) obtained from protein-protein molecular docking between IFNAR receptor and HuIFN-β, mHuIFN-β-27, mHuIFN-β-101 and mHuIFN-β-27-101 ligands did not show a significant difference (P> 0.99).

Conclusion: Regarding these results, it can be concluded that the produced mutations do not have a negative effect on the forming of rHuIFN-β/IFNAR complex and does not interfere with the binding of the interferon beta to the receptor and thus improves the quality of the produced rHuIFN-β.

Keywords: Interferon Beta, Molecular Docking, IFNAR

• **Citation:** Balkhi SS, Hojati Z. Comparison of Wild Type and Mutated (mHuIFN-β 27-101) Interferon Binding to the IFNRA Receptor by Molecular Docking. Journal of Health and Biomedical Informatics 2018; 5(3): 411-422.

1. Ph.d, Student in Division of Genetics, Biology Dept., Faculty of Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran
2. Ph.d, in Division of Genetics, Biology Dept., Faculty of Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran

***Correspondence**: Division of Genetics, Biology Dept., Faculty of Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran
• **Tel:** +98-311-37932478 • **Email:** z.hojati@sci.ui.ac.ir

[Downloaded from jhbmi.com on 2026-10-03]