

## بررسی ایمونوفورماتیک پروتئین OmpA/اسیتوباکتر بومانی و مقایسه پاسخ‌های ایمنی القا‌یی در بازه‌های زمانی متفاوت تزریق

ثناء یوسفیان جزی<sup>۱</sup>، بابک بیگزاده<sup>۲\*</sup>

تاریخ دریافت ۱۴۰۳/۰۴/۲۳ تاریخ پذیرش ۱۴۰۳/۰۶/۲۶

### چکیده

**پیش‌زمینه و هدف:** اسیتوباکتر بومانی به‌عنوان یکی از عوامل ایجادکننده عفونت بیمارستانی، سالانه باعث مرگ بسیاری از بیماران می‌شود. استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها به دلیل مقاومت بالای این باکتری، کنترل عفونت‌های ناشی از آن را با چالش روبه‌رو کرده است. علاوه بر این تاکنون واکنش مؤثری برای این باکتری تولید نشده است. از این‌رو در مطالعه حاضر با استفاده از ابزارهای ایمونوفورماتیک پروتئین OmpA به‌عنوان کاندید واکنش بررسی پاسخ‌های ایمنی در زمان‌بندی‌های متفاوت تجویز آن بررسی شد تا علاوه بر معرفی یک کاندید واکنش، بهترین زمان‌بندی تجویز آن هم ارائه گردد.

**روش کار:** در این مطالعه، پروتئین OmpA/اسیتوباکتر بومانی انتخاب گردید و با استفاده از پایگاه‌های ایمونوفورماتیک اپی‌توپ‌های لئفوسیت‌های T و B پیش‌بینی شد. سپس خاصیت آنتی‌ژنی، عدم ایجاد حساسیت، سم‌زایی، خصوصیات فیزیکی و شیمیایی و توانایی اتصال به گیرنده‌های ایمنی ذاتی و تطبیقی ارزیابی شد. در نهایت توانایی القاء پاسخ‌های ایمنی در پنج برنامه تزریق مختلف مورد بررسی قرار گرفت.

**یافته‌ها:** نتایج حاصل نشان داد که OmpA پروتئینی با خاصیت آنتی‌ژنی، بی‌خطر، آب‌دوست با قابلیت حل‌الیت مناسب است. این پروتئین توانایی اتصال به گیرنده‌های ایمنی ذاتی و تطبیقی را دارد و همچنین در تزریق سه نوبته و چهار نوبته توانایی القاء پاسخ ایمنی هومورال و سلولی را دارد.

**بحث و نتیجه‌گیری:** در مجموع این مطالعه نشان می‌دهد که OmpA علاوه بر خاصیت ایمنی‌زایی به‌عنوان کاندید واکنش با تجویز سه نوبته توانایی القاء واسطه‌های ایمنی را دارد. با این حال تجویز چهارنوبته این پروتئین پاسخ ایمنی قوی‌تری را ایجاد می‌کند.

**کلیدواژه‌ها:** اسیتوباکتر بومانی، زمان‌بندی تزریق، واکنش، OmpA

مجله مطالعات علوم پزشکی، دوره سی و پنجم، شماره پنجم، ص ۳۶۰-۳۵۰، مرداد ۱۴۰۳

آدرس مکاتبه: دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران. تلفن: ۰۳۱۳۷۹۳۴۳۶۵

Email: b.beikzadeh@bio.ui.ac.ir

### مقدمه

۶۰ درصد در بخش مراقبت‌های ویژه گزارش شده است. حتی برخی گزارش‌ها حاکی از مرگ‌ومیر ۸۴/۳ درصدی در مبتلایان به سویه‌های MDR است (۱، ۳، ۴). عواملی همچون سن بالا، جنس مذکر، اعتیاد به الکل و دخانیات، دیابت و بیماری‌های مزمن ریه و کلیه می‌تواند ریسک خطر را افزایش دهد (۱). ویژگی‌هایی مثل توانایی در تشکیل بیوفیلم و تحمل شرایط نامطلوب گسترده مانند مقاومت در برابر مواد ضدعفونی‌کننده و زنده ماندن در سطوح خشک مثل پوست به مدت طولانی و دارا بودن طیف گسترده‌ای از عوامل حدت، باعث پایداری و گسترده‌گی و در نتیجه تکثیر این باکتری در مکان‌های مختلف خصوصاً مراکز درمانی شده است و ریشه‌کن کردن آن از مسائل مطرح بهداشت جهانی است (۲، ۵، ۶). اصلی‌ترین راه

اسیتوباکتر بومانی *Acinetobacter baumannii* باکتری گرم منفی، کوکوباسیل و غیرمتحرک است (۱، ۲). باکتری اسیتوباکتر بومانی یکی از شش عامل بیماری‌زای اصلی مقاوم به چند دارو (MDR) در بیمارستان‌ها است (۲). این پاتوژن می‌تواند در ایجاد بیماری‌هایی مثل ذات‌الریه (۸۵ درصد مبتلایان به این جنس)، عفونت پوست و بافت نرم چشم، عفونت دستگاه ادراری، مننژیت، عفونت زخم‌های جراحی، اندوکاردیت و در نهایت باکتری می‌شود (۱، ۳). طبق آمار جهانی، سالانه حدود ۱۰۰۰۰۰۰ نفر به این باکتری مبتلا می‌شوند که نیمی از آن‌ها از سویه‌های MDR است (۳). مرگ‌ومیر ناشی از عفونت با این باکتری از ۳۵ درصد تا حدود

<sup>۱</sup> گروه زیست‌شناسی سلولی مولکولی و میکروبیولوژی، دانشکده علوم و فناوری‌های زیستی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

<sup>۲</sup> استادیار ایمنی شناسی، گروه زیست‌شناسی سلولی مولکولی و میکروبیولوژی، دانشکده علوم و فناوری‌های زیستی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران (نویسنده مسئول)

واکسن مؤثر است. این پژوهش باهدف بررسی و مقایسه پاسخ‌های ایمنی علیه OmpA در نوبت‌های تزریق متفاوت و بازه‌های زمانی بین آن‌ها با استفاده از روش‌های ایمونوفورماتیکی انجام شده است. استفاده از پایگاه‌های داده آنالین و تحلیل‌های ایمونوفورماتیکی می‌تواند از خطرات زیستی احتمالی و هزینه‌های مرتبط با آزمایش‌های بالینی جلوگیری کند. از این رو سرعت و دقت زیادی در پیش‌بینی نتایج وجود دارد به‌گونه‌ای که امروزه مطالعات ایمونوفورماتیک از مراحل ضروری تولید واکسن است؛ با این وجود ایمونوفورماتیک و طراحی واکسن به‌رغم مزایای قابل توجهی که دارند، با چالش‌ها و ایراداتی نیز مواجه هستند. به‌طور مثال عدم استانداردسازی در پروتکل‌های تحلیلی و الگوریتم‌های مورد استفاده در این تحقیقات، می‌تواند به تفسیرهای و نتایج متفاوت منجر شود. از طرفی محدودیت‌های محاسباتی و نیاز به منابع سخت‌افزاری قوی برای پردازش داده‌های بزرگ، می‌تواند بر سرعت و دقت تحقیقات تأثیر بگذارد و به تأخیر در توسعه واکسن‌های جدید منجر شود و در نهایت، به دلیل دخالت عوامل مختلف در پاسخ ایمنی هر فرد از جمله سابقه ژنتیکی، عوامل محیطی پیش‌بینی پاسخ ایمنی القایی نیز به‌طور دقیق امکان‌پذیر نیست. با توجه به اینکه که در تحقیقات انجام شده تاکنون، معمولاً واکسن‌ها به‌صورت سه نوبته در روزهای ۸۴،۰ و ۱۶۸ تزریق می‌گردند (۱۲). نویسندگان با استناد به مطالعات پیشین (۱۲)، شیوه‌ای جدید را برای اولین بار بررسی کردند که پس از تزریق سوم، با فاصله ۸ هفته یعنی در روز ۲۰۰ نیز تزریق دیگری انجام شود. در مطالعات انجام شده به‌صورت محدود، تزریق سه نوبته در روزهای ۲۱۰ و ۴۲، تزریق دو نوبته روزهای ۰ و ۴۲ نیز بررسی شده است (۱۳، ۱۴). از آنجایی که گاهی افراد به دلایل مختلفی زمان تزریق دوزها را فراموش می‌کنند و این شبیه وجود دارد که پس از گذشت به‌طور مثال ۲ هفته، آیا هنوز تزریق واکسن مؤثر است یا خیر؟ در زمان‌بندی جدید، برای اولین بار تزریقی را با تأخیر ۱۶ روزه در دوز دوم یعنی در روزهای ۱، ۱۰۰ و ۱۶۸ مورد آزمایش قرار گرفت. بنابراین در این مطالعه، ما به بررسی و مقایسه پاسخ‌های ایمنی علیه OmpA در نوبت‌های تزریق متفاوت و بازه‌های زمانی مختلف می‌پردازیم. انتخاب بازه‌های زمانی مناسب برای تزریق واکسن، به‌ویژه در مورد باکتری‌هایی که دارای ویژگی‌های منحصربه‌فردی مانند *اسینتوباکتر بومانی* هستند، می‌تواند بر ایمنی‌زایی تأثیرگذار باشد. استفاده از روش‌های ایمونوفورماتیک، نه تنها خطرات زیستی مرتبط با آزمایش‌های بالینی را کاهش می‌دهد، بلکه به پیش‌بینی دقیق و سریع پاسخ‌های ایمنی نیز کمک می‌کند. هدف ما یافتن بهترین برنامه زمانی برای تزریق واکسن است تا اثربخشی آن را به حداکثر برساند.

درمان عفونت‌های باکتریایی، استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها شناخته می‌شود ولی در سال‌های اخیر به علت مقاوم شدن باکتری‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف، کنترل و درمان با چالش‌های جدی مواجه شده است (۴). بر همین اساس استفاده از واکسن می‌تواند از اقدامات مؤثر بر کنترل عفونت‌های ناشی از این باکتری باشد. واکسیناسیون می‌تواند به کاهش هزینه‌های درمانی و اقتصادی مرتبط با بیماری‌ها کمک کند (۷).

از آنجایی که در ساخت یک واکسن اولین قدم شناسایی و انتخاب یک آنتی‌ژن با قابلیت ایمنی‌زایی است، برای انتخاب آنتی‌ژن در باکتری *اسینتوباکتر بومانی* به مواردی همچون نقش آنتی‌ژن در بیماری‌زایی، پایداری آن در محیط و بدن، قابلیت جداسازی، وزن مولکولی و قابلیت تحریک سیستم ایمنی باید توجه کرد. بنابراین در این پژوهش از پروتئین OmpA که گروهی از پورین‌ها با تعداد کمی بالا در سطح باکتری‌های گرم منفی هستند، استفاده شد. پورین‌ها کانال‌هایی هستند در دیواره باکتری که در تبادل مواد و بیماری‌زایی نقش دارند (۸). این پروتئین‌های سطحی اولین بار در *اشرشیا کلای* جداسازی شده و برای اتصال به سلول‌های اپیتلیال روده ضروری است. علاوه بر آن OmpA از پروتئین‌های ایمونوژنیک اصلی است که مسئول اعمالی چون فرار از ایمنی، تحمل استرس و مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها و تولید بیوفیلم است (۳، ۵). *اسینتوباکتر بومانی* توانایی نفوذ و زنده ماندن در سلول‌های اپیتلیال را دارد (۳). OmpA در جریان بیماری‌زایی این باکتری ابتدا به سلول میزبان متصل می‌شود سپس با ورود به سلول و نفوذ به هسته، آن را متلاشی و در بافت و جریان خون منتشر می‌شود (۳). این پروتئین هنگامی که توسط وزیکول‌های غشاء خارجی ترشح شود، می‌تواند مستقیماً باعث مرگ سلول میزبان شود (۳). وزیکول‌های خارج غشایی، ساختارهایی هستند که نقش مهمی در ارتباطات بین‌سلولی ایفا می‌کنند. این وزیکول‌ها ترشچی و حامل پروتئین‌ها، DNA، RNA و دیگر ترکیبات سلولی هستند. از این رو می‌توانند کاندید مناسبی برای استفاده در واکسن‌ها باشند (۹). تحقیقات اخیر دال بر حفاظت شدید (<۸۹٪) ساختار OmpA در *اسینتوباکتر بومانی* و عدم شباهت آن با پروتئوم انسانی است (۳، ۱۰). پیش‌تر مطالعاتی بر روی ایمنی‌زایی ompA در موش انجام گرفته است اما تاکنون واکسنی برپایه این پروتئین به مراحل آزمایش‌های بالینی نرسیده است (۱۱). با توجه به ویژگی‌های ذکر شده در خصوص OmpA و نبود واکسن برای عفونت‌های ناشی از این باکتری، OmpA می‌تواند کاندیدی برای تحقیقات بیشتر در تولید واکسن باشد.

از آنجایی که علاوه بر نوع آنتی‌ژن مورد استفاده در واکسن، زمان‌بندی تزریق یا تعداد دفعات تزریق OmpA هم در ایمنی‌زایی

## روش کار

### طراحی آزمایش:

به‌منظور بررسی پاسخ‌های ایمنی علیه پروتئین OmpA از روش‌های ایمونوفورماتیک استفاده گردید. در ابتدا توالی اسید آمینه آن از پایگاه داده NCBI انتخاب، سپس این پروتئین از نظر ایمنی توپ‌های لئوسیت‌های T و B مورد ارزیابی قرار گرفت. در مرحله بعد، خواص فیزیکی و شیمیایی پروتئین مورد بررسی قرار گرفت و توانایی اتصال آن به گیرنده‌های ایمنی ذاتی و تطبیقی ارزیابی شد. در نهایت بر اساس نتایج تحقیقات گذشته و مستندات ۵ نوع تزریق آزمایش شد. دوز تزریقی در همه موارد ثابت و ۱۰۰۰ تعیین گردید. در زمان بندی اول، دو نوبت تزریق در روز ۰ و ۴۲ و در نوع دوم، سه نوبت تزریق در روزهای ۰، ۲۱ و ۴۲ بررسی شد. زمان بندی سوم تزریق نیز در سه نوبت در روزهای ۰-۸۴-۱۶۸ و زمان بندی چهارم با تأخیر غیرممتعارف برای دوز دوم در روزهای ۰، ۱۰۰ و ۱۶۸ و بازه‌های زمانی تزریق پنجم برای اولین بار در چهار نوبت در روزهای ۰ و ۸۴ و ۱۶۸ و ۲۵۲ معین شد.

### انتخاب توالی:

توالی OmpA اسپینتوباکتر بومانی از پایگاه داده NCBI با شماره دسترسی QCS03426.1 دریافت شد.

### پیش‌بینی ایمنی توپ‌های لئوسیت‌های T:

هنگامی که واکنس تزریق می‌شود، سلول‌های سیستم ایمنی از جمله لئوسیت‌های T به‌عنوان عوامل شناساگر و دفاعی بدن شناخته می‌شوند (۱۵). در این میان نقش لئوسیت‌های T سیتوتوکسیک (CTL) و لئوسیت‌های T کمکی (HTL) در ایمنی‌زایی بسیار مهم است. از همین رو با استفاده از پایگاه داده IEDB (<http://tools.iedb.org/main/tcell>) ایمنی توپ‌های لئوسیت T پیش‌بینی شد. برای پیش‌بینی ایمنی توپ‌های CTL از روش NetMHCpan 4.1 و برای ایمنی توپ‌های HTL از روش NetMHCpan 2.1 استفاده گردید. روش NetMHCpan 2.1 پپتیدهایی را که توانایی اتصال به MHC را دارند توسط شبکه عصبی مصنوعی شناسایی می‌کند. این روش توانایی پیش‌بینی اتصال بیش از ۸۵۰ هزار نوع پپتید در انسان و گونه‌های مختلف حیوانی را دارد. در مجموع با استفاده از این ابزار، برای هر یک از لئوسیت‌ها ۳ ایمنی توپ پیش‌بینی شد.

### پیش‌بینی ایمنی توپ‌های خطی لئوسیت‌های B:

آنتی‌بادی‌ها از مهم‌ترین واسطه‌های ایمنی تطبیقی برای خنثی‌سازی عفونت‌های باکتریایی هستند. از این رو پروتئین‌هایی که به‌عنوان واکنس استفاده می‌گردند باید قابلیت القاء تولید آنتی‌بادی را داشته باشند. یکی از روش‌های ارزیابی این قابلیت، پیش‌بینی ایمنی توپ‌های لئوسیت B است. بدین منظور از پایگاه داده

## ABCpred

[https://webs.iitd.edu.in/raghava/abcpred/ABC\\_submi](https://webs.iitd.edu.in/raghava/abcpred/ABC_submi)

([ssion.html](https://webs.iitd.edu.in/raghava/abcpred/ABC_submi)) با توانایی پیش‌بینی ایمنی توپ‌هایی به طول ۱۶ اسید آمینه با حد آستانه ۰/۵۱ استفاده گردید (۱۶).

### بررسی خواص فیزیکی و شیمیایی:

به‌منظور جلوگیری از واکنش‌های ناخواسته سیستم ایمنی با واکنس پس از تزریق و آسیب‌زایی آن، خاصیت‌های توکسیسیته ([https://webs.iitd.edu.in/raghava/toxinpred/multi\\_sub](https://webs.iitd.edu.in/raghava/toxinpred/multi_sub))

(<https://www.ddg->)، آنتی‌ژنیسیته (<https://www.ddg->)، ([mit.php](https://www.ddg-))، ([pharmfac.net/vaxijen/VaxiJen/VaxiJen.html](https://www.ddg-))

آلرژنیسیته (<https://www.ddg->)

(<https://www.ddg->) و ([pharmfac.net/AllerTOP/index.html](https://www.ddg-))

(<https://www.ddg->)، ([pharmfac.net/AllergenFP](https://www.ddg-))، حلالیت (<https://www.ddg->)

(<https://www.ddg->)، ([sol.manchester.ac.uk](https://www.ddg-))، ویژگی‌های عمومی

(<https://www.ddg->) با استفاده از سرورهای

آنلاین مذکور پیش‌بینی شد (۱۷).

### پیش‌بینی ساختار دوم و سوم:

برای پیش‌بینی ساختار دوم از ابزار آنالین SOPMA

(<https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi->)

([bin/npsa\\_automat.pl?page=NPSA/npsa\\_sopma.html](https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-))

و جهت مدل‌سازی ساختمان سوم واکنس، از سرور I-TASSER

(<https://zhanglab.ccmb.med.umich.edu/I-TASSER>)

بهره گرفتیم. این ابزار آنالین با دقت بالا، ساختارهای آلفاهلیکس،

بتا استرند و کویل‌ها را پیش‌بینی می‌کند و قابلیت تعیین

انعطاف‌پذیری ساختار را نیز داراست (۱۸).

### بهینه‌سازی ساختار سوم:

پایدارترین ساختار OmpA زمانی محقق می‌شود که کمینه

انرژی برای نگهداری ساختار استفاده شود. در همین راستا با استفاده

از سرور Refine Galexi

(<https://galaxy.seoklab.org/index.html>) بازسازی زنجیرهای

جانبی و بازآرایی ساختمان این پروتئین انجام شد این بهینه‌سازی

باعث بهبود پایداری ساختار OmpA و کاهش احتمال تغییرات

ناخواسته در ساختار می‌شود (۱۹).

### بررسی توانایی اتصال OmpA به گیرنده‌های ایمنی ذاتی و تطبیقی:

با توجه به نقش کلیدی سیستم ایمنی ذاتی و پاسخ‌های آن در

ایمنی فرد، توجه ویژه‌ای به سلول‌های این بخش شده است.

گیرنده‌های TLR مسئول آغاز این پاسخ‌ها هستند و امکان اتصال

مولکول‌های واکنس با این گیرنده‌ها وجود دارد. در میان این

سلول‌ها TLR1, TLR2, TLR4 به‌عنوان مهم‌ترین گیرنده‌های

**بررسی پاسخ‌های ایمنی:**

برای پیش‌بینی دقیق پاسخ‌های سیستم ایمنی و مقایسه آن‌ها با یکدیگر از ابزار آنلاین C-IMMSIM (<https://kraken.iac.rm.cnr.it/C-IMMSIM>) استفاده شد. این سرور به‌عنوان یک ابزار قدرتمند در پژوهش‌های بالینی استفاده می‌شود و به محققان کمک می‌کند تا پاسخ‌های سیستم ایمنی را در برابر واکنش‌ها و سایر مواد زیستی پیش‌بینی کنند (۲۱). این ابزار به‌صورت آنلاین در دسترس است و با استفاده از آن، می‌توان به‌صورت سریع و دقیق پاسخ‌های سیستم ایمنی را بررسی کرد و از آن برای بهبود طراحی واکنش‌ها و استفاده کرد. با استفاده از این ابزار، می‌توان میزان آنتی‌بادی‌ها، انواع سلول‌های ایمنی و میزان تولید سیتوکین‌ها و همچنین تغییرات آن‌ها را در طول زمان را پیش‌بینی کرد. بدین منظور ۵ نوع برنامه تزریق OmpA به همراه روزهای تزریق و دوز آن طبق جدول ۶ در سرور ثبت و نتایج بررسی گردید.

**یافته‌ها****پیش‌بینی اپی‌توپ‌های لنفوسیت T:**

با استفاده از سرور IEDB اپی‌توپ‌هایی از توالی واکنش که توسط لنفوسیت‌های T سیتوتوکسیک (CTL) و لنفوسیت‌های T کمکی (HTL) شناسایی می‌شود پیش‌بینی شده و در قالب جدول‌های ۱ و ۲ آورده شده است. پپتیدها با بالاترین امتیاز برای مراحل بعد کاندید شد.

**جدول (۱): اپی‌توپ‌های پیش‌بینی شده CTL**

موقعیت شروع پپتید	موقعیت پایان پپتید	پپتید	رتبه درصد ▼	آل
160	168	RLNDALSLR	0.01	HLA-A*74:01
251	259	KVAEKLSEY	0.01	HLA-C*02:02
304	312	RLSTQGFAY	0.01	HLA-A*32:01

**جدول (۲): اپی‌توپ‌های پیش‌بینی شده HTL**

موقعیت شروع پپتید	موقعیت پایان پپتید	توالی پپتید	امتیاز	رتبه درصد ▼	آل
295	309	VNEYVDASRLSTQG	0.9635	0.02	HLA-DRB1*04:01
129	143	HYKYDFDGVNRGTRG	0.9655	0.02	HLA-DRB1*04:01
253	267	AEKLSEYPNATARIE	0.9518	0.03	HLA-DRB1*15:01

ساختار دوم پیشنهاد شده توسط سرور SOPMA، از ۴۰/۷۳ درصد رندوم کوئل، ۳۷/۶۴ درصد آلفا هلیکس و ۵/۶۲ درصد صفحات بتا (beta turn) تشکیل شده است. ساختارهای سوم پیشنهادی دارای امتیاز C هستند که این امتیاز در سرور I-TASSER در بازه ۲ الی ۵- تعریف می‌شود که بهترین مدل پیشنهادی دارای بالاترین امتیاز

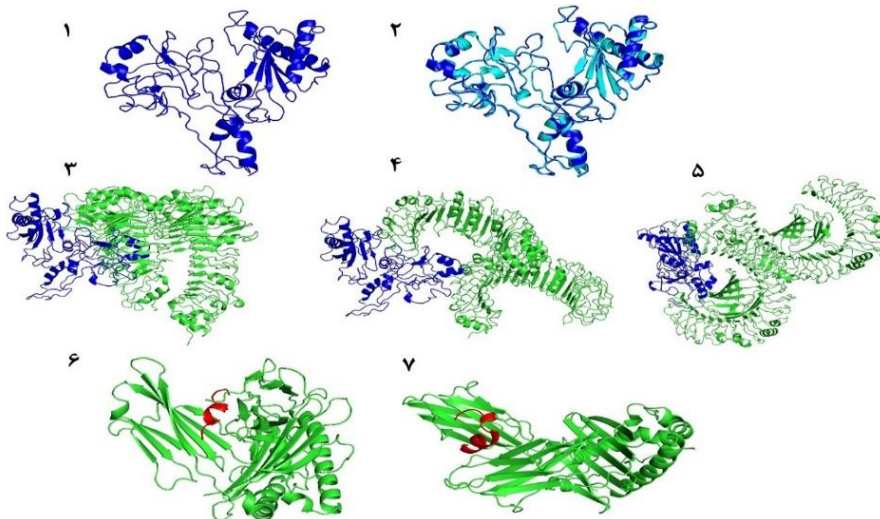
درگیر در آغاز پاسخ التهابی علیه اسینتو باکتر بومانی‌ها محسوب می‌شوند (۲۰). بنابراین، با استفاده از روش داکینگ مولکولی و سرور ClusPro 2.0، پیش‌بینی این اتصال صورت گرفت. فایل‌های PDB MHC-I (شناسه 2xpg)، MHC-II (شناسه 316f)، TLR-1 (شناسه 6NIH)، TLR-2 (شناسه 2z7x) و TLR-4 (شناسه 3fxi) از پایگاه داده (<https://www.rcsb.org>) PDB دریافت شدند. بانک داده پروتئین یا PDB به دلیل دقت و حجم بالای اطلاعات ساختاری پروتئین‌ها و دیگر ساختارهای زیستی، از روش‌های تجربی مانند کریستالوگرافی اشعه ایکس و اندازه‌گیری NMR برای تعیین محل دقیق اتم‌های هر مولکول استفاده می‌کند. از این رو به‌عنوان منبع مناسب برای داکینگ مولکولی شناخته می‌شود. همچنین، امکان‌پذیری آسان و پشتیبانی از نرم‌افزارهای داکینگ مولکولی، به پژوهشگران این امکان را می‌دهد که به بررسی ساختارهای پیچیده و طراحی پروتئین‌های جدید بپردازد، که در نهایت به بهبود پیش‌بینی‌های داکینگ کمک می‌کند. علاوه بر آن پیش‌بینی اپی‌توپ‌های شناسایی شونده با سلول‌های ایمنی CTL و HTL به‌وسیله MHC1 و MHC2 نیز با پایگاه داده IEDB انجام گرفت و پس‌از آن با استفاده از ساختار دوم پیشنهادی سرور TASSER، به پیش‌بینی ساختار سوم آن در سایت Galaxy Refine پرداخته شد. در نهایت پیش‌بینی داکینگ مولکولی این اپی‌توپ‌ها با توالی MHC-I ([www.rcsb.org/structure/2XPG](http://www.rcsb.org/structure/2XPG)) و MHC-II ([www.rcsb.org/structure/316f](http://www.rcsb.org/structure/316f)) انسانی در پایگاه ClusPro 2.0 انجام شد.

**پیش‌بینی اپی‌توپ‌های لنفوسیت‌های B:** نتایج سرور ABCpred نشان‌دهنده ۴۱ اپی‌توپ ۱۶ اسیدآمینوای برای لنفوسیت‌های B در پروتئین OmpA بوده است. **پیش‌بینی ساختار دوم و سوم:** با استفاده از سرور SOPMA و I-TASSER به ترتیب ساختار دوم و سوم OmpA پیش‌بینی شد.

شد که با توجه به حد آستانه حلالیت پروتئین بیان‌شده در E.coli که ۰/۴۵ است، OmpA حلالیت مناسبی دارد.

#### داکینگ سازه نهایی OmpA با گیرنده‌های شبه Toll (TLR) و MHC:

نتایج به‌دست‌آمده از سرور cluspro2.0 برای داکینگ سازه ۳ OmpA با TLR1، TLR2 و TLR4 حاکی از توانایی اتصال خوب OmpA با گیرنده‌های ایمنی است. که پایین‌ترین انرژی‌های اتصال برای TLR1، TLR2 و TLR4 به ترتیب  $-10.54/5$ ،  $-9.96/2$  و  $-9.96/2$  بود. توالی RLNDALSLR که توسط MHC-I شناخته می‌شود انتخاب و مدل‌سازی ساختمان دوم با I-TASSER انجام شد. بهترین سازه پیشنهادی، مدل ۱ با کمترین C-Score  $-1/20$  = بود؛ که برای بهینه‌سازی ساختار از پایگاه گلکسی استفاده شد. بهترین خروجی آن نیز مدل ۳ با  $GDT-HA = 0/9000$  و  $2/097$  = MolProbity = در نهایت با توالی MHC-I انسانی داکینگ مولکولی انجام شد و بهینه‌ترین مدل پیشنهادی با کمینه انرژی اتصال  $-6.95/9$  بود (شکل ۱). همچنین توالی VNEYNVDSRLSTQG که توسط MHC-II شناخته می‌شود انتخاب و مدل‌سازی ساختمان دوم نیز همانند MHC1 انجام شد. بهترین سازه با حداقل  $C-Score = -0/55$  = کاندید و برای بهینه‌سازی ساختار به پایگاه گلکسی داده شد. بهترین خروجی آن نیز سازه ۳ با  $GDT-HA = 0/9167$  و  $MolProbity = 2/127$  = بود. در آخرین مرحله توالی MHC-II داکینگ مولکولی انجام شد و بهترین سازه با کمینه انرژی اتصال  $-5.82/6$  = بود (شکل ۱).



شکل (۱): ۱- ساختار سوم پروتئین OmpA، ۲- ساختار اصلاح‌شده OmpA، نواحی فیروزه‌ای رنگ نشان‌دهنده اصلاحات صورت گرفته است، ۳- داکینگ مولکولی TLR-1 (سبز) با OmpA (آبی)، ۴- داکینگ مولکولی TLR-2 (سبز) با OmpA (آبی)، ۵- داکینگ مولکولی TLR-4 (سبز) با OmpA (آبی)، ۶- داکینگ مولکولی MHC-I (سبز) با اپی‌توپ OmpA (قرمز)، ۷- داکینگ مولکولی MHC-II (سبز) با اپی‌توپ OmpA (قرمز)

است. بر این اساس ساختار اول پیش‌بینی‌شده با  $C-score = 2/03$  انتخاب شد.

**بهینه‌سازی ساختار سوم:** با استفاده از سایت آنلاین GALAXY ساختار سوم انتخاب‌شده از مرحله قبل، بهینه‌سازی شد و به حالتی بازآرایی شد که کمینه انرژی لازم برای پایداری را داشته باشد. از میان ۵ ساختار جدید پیشنهادی، مدلی انتخاب می‌شود که نسبت به دیگر ساختارها بالاترین GDT-HA و MolProbity را داشته باشد. که بر این اساس ساختار ۳ با  $GDT-HA = 0/9256$  و  $MolProbity = 2/885$  = برای مراحل بعدی کاندید شدند (شکل ۱).  
**خواص فیزیکی و شیمیایی:** با استفاده از دو سرور آنلاین AllerTOP v. 2.0 و AllergenFP v.1.0 خاصیت آلرژی‌نسیته توالی OmpA بررسی شد که طبق پیش‌بینی این دو سرور این پروتئین خاصیت آلرژی‌نسیته ندارد. همچنین نتایج حاصل از سرور ToxinPred عدم سمیت این پروتئین را تأیید کرد. علاوه بر این سرور vaxijen با توجه به اینکه OmpA یک پروتئین باکتریایی است و حد آستانه برای این نوع از پروتئین‌ها  $0/4 \geq$  است، آنتی‌ژنیسیته OmpA را  $0/848$  پیش‌بینی کرد. سرور آنلاین expasy ویژگی‌هایی مانند نقطه ایزوالکتریک تئوری  $pI: 5/360$  و وزن مولکولی  $38449/99$  دالتونی را مشخص کرد. شاخص آلیفاتیک  $80/93$  و شاخص ناپایداری  $33/65$  که در مجموع نشان‌دهنده ساختار پایدار OmpA است. همچنین شاخص GRAVY  $-0/389$  تعیین گردید که نشان‌دهنده آب دوست بودن این پروتئین است. میزان حلالیت این پروتئین  $0/592$  پیش‌بینی

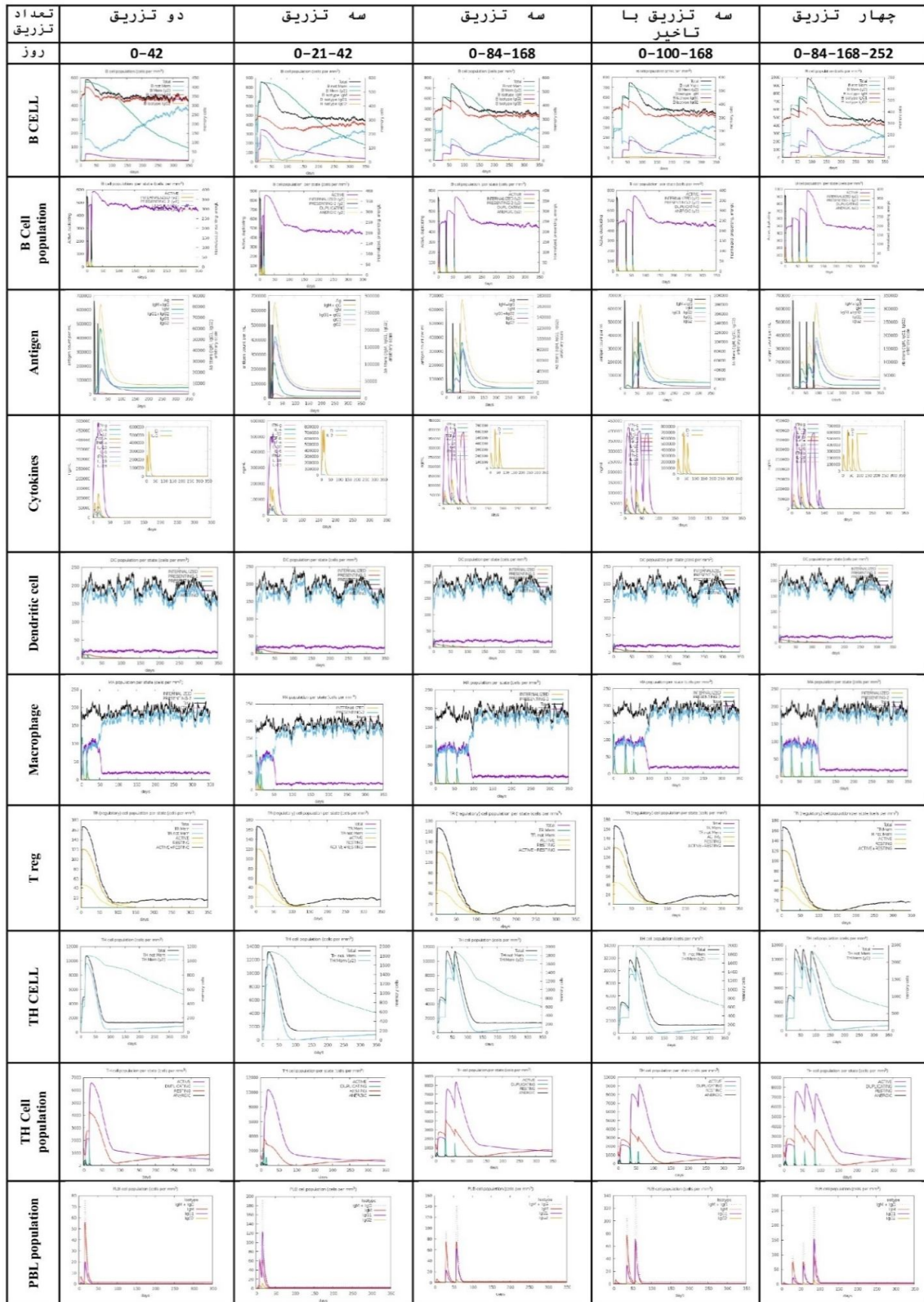
**پاسخ‌های ایمنی:**

نتایج پاسخ‌های ایمنی القایی در زمان‌بندی‌های متفاوت تزریق از ۱ تا روز ۲۵۲ در جدول ۳ و شکل ۲ نشان داده شده است. برای مقایسه بهتر تغییرات پاسخ‌های ایمنی در بازه‌های زمانی مختلف، بالاترین میزان (پیک) هر شاخص ایمنی و سطح پایدار آن در سرم بعد از یک سال در جدول ۳ آورده شده است. سطح شاخص‌های مختلف در بالاترین حد بازه یک‌ساله با علامت max و سطح پایدار پس از یک سال با علامت end نشان داده شده است. نتایج حاصله

نشان‌دهنده بالاترین سطح آنتی‌بادی و لنفوسیت B و TH خاطره در تزریق چهار نوبت است. اما بیش‌ترین میزان IFN- $\gamma$  و IL-2 در نوع دوم تزریق یعنی سه نوبت (۴۲-۲۱-۱) مشاهده می‌شود. پایین‌ترین سطح ایمنی در تزریق دوم‌مرحله‌ای مشاهده شد. همچنین این نتایج نشان می‌دهد که تأخیر دوهفته‌ای در تزریق دوز یادآور تأثیر منفی مانند کاهش آنتی‌بادی و سایتوکاین‌ها و یا سلول‌های ایمنی ندارد.

**جدول (۳): پیش‌بینی پاسخ‌های ایمنی در تزریق‌ها با زمان‌بندی‌های متفاوت**

برنامه تزریق	تزریق اول	تزریق دوم	تزریق سوم	تزریق چهارم	تزریق پنجم
روزهای تزریق	۴۲-۰	-۲۱-۰	-۸۴-۰	-۱۰۰-۰	-۸۴-۰
میانگین SD	میانگین SD	میانگین SD	میانگین SD	میانگین SD	میانگین SD
	۴۲-۰	۴۲	۱۶۸	۱۶۸	۲۵۲
<b>B Cell</b>					
<b>total(max)</b>	۵۹۰	۵۶۰	۷۵۰	۷۵۰	۱۰۰۰
		۶۵۵	۶۰۰	۶۰۰	۷۱۵
<b>B Cell</b>					
<b>total(end)</b>	۴۵۰	۴۵۰	۴۵۰	۴۵۰	۴۳۰
	(۹۸/۹۹)	(۲۸۹/۹۱)	(۲۱۲/۱۳)	(۲۱۲/۱۳)	(۴۰۳/۰۵)
<b>B</b>					
<b>memory(max)</b>	۴۳۰	۵۶۰	۵۲۰	۵۴۰	۶۲۰
		۳۴۰	۳۲۵	۳۴۰	۴۰۵
<b>B</b>					
<b>memory(end)</b>	۷۰	۱۲۰	۱۳۰	۱۴۰	۱۹۰
	(۲۱۳/۲۸)	(۳۱۱/۱۲)	(۲۷۵/۷۷)	(۲۸۲/۸۴)	(۳۰۴/۰۵)
<b>PLI B</b>					
<b>IgG+IgM(Max)</b>	۷۶	۱۹۰	۱۴۰	۱۴۰	۲۶۰
		۹۵	۷۰	۷۰	۱۳۰
<b>PLI B</b>					
<b>IgG+IgM(end)</b>	.	.	.	.	.
	(۵۳/۷۴)	(۱۳۴/۳۵)	(۹۸/۹۹)	(۹۸/۹۹)	(۱۸۳/۸۴)
<b>IgG+IgM</b>					
<b>(max)</b>	۸۲۰۰۰	۲۷۷۰۰۰	۱۷۲۰۰۰	۱۸۰۰۰۰	۳۱۹۰۰۰
		۱۵۱۰۰۰	۹۵۵۰۰	۹۸۶۵۰	۱۸۱۷۰۰
<b>IgG+IgM (end)</b>	۸۵۰۰	۲۵۰۰۰	۱۹۰۰۰	۱۷۳۰۰	۴۴۴۰۰
	(۵۱۹۷۲/۳۴)	(۱۷۸۱۹۰/۹)	(۱۰۸۱۸۷/۳۳)	(۱۱۵۰۴۶/۲۷)	(۱۹۴۱۷۱/۵)
<b>IFN-<math>\gamma</math> (max)</b>	۴۹۰۰۰۰	۲۴۵۰۰۰	۴۲۰۰۰۰	۲۱۰۰۰۰	۴۲۰۰۰۰
		۲۶۰۰۰۰	۲۱۰۰۰۰	۲۱۰۰۰۰	۲۱۰۰۰۰
<b>IFN-<math>\gamma</math> (end)</b>	.	.	.	.	.
	(۳۴۶۴۸۲/۳۲)	(۳۶۷۶۹۵/۵۲)	(۲۹۶۹۸۴/۸۴)	(۲۹۶۹۸۴/۸۴)	(۲۹۶۹۸۴/۸)
<b>IL-2 (max)</b>	۵۴۰۰۰۰	۷۵۰۰۰۰	۶۴۰۰۰۰	۷۰۰۰۰۰	۶۴۰۰۰۰
		۳۷۵۰۰۰	۳۲۰۰۰۰	۳۵۰۰۰۰	۳۲۰۰۰۰
<b>IL-2 (end)</b>	.	.	.	.	.
	(۳۸۱۸۳۷/۶۶)	(۵۳۰۳۲۰/۰۸)	(۴۵۲۵۴۸/۳۴)	(۴۹۴۹۷۴/۷۴)	(۴۵۲۵۴۸/۳)
<b>TH total(max)</b>	۱۰۵۰۰	۱۳۰۰۰	۱۱۱۵۰	۱۲۲۰۰	۱۱۱۵۰
		۷۱۵۰	۶۲۲۵	۶۴۵۰	۶۲۳۵
<b>TH total(end)</b>	۱۰۰۰	۱۳۰۰	۱۳۰۰	۷۰۰	۱۳۰۰
	(۶۷۱۷/۵۱)	(۸۲۷۲/۱۴)	(۶۹۶۵)	(۸۱۳۱/۷۲)	(۶۹۶۵)
<b>TH</b>					
<b>memory(max)</b>	۱۰۶۰	۱۸۸۰	۱۸۸۰	۲۰۰۰	۲۳۰۰
		۱۲۴۰	۱۲۴۵	۱۳۰۵	۱۴۹۰
<b>TH</b>					
<b>memory(end)</b>	۵۵۰	۶۰۰	۶۱۰	۶۱۰	۶۸۰
	(۳۶۰/۶۲)	(۹۰۵/۰۹)	(۸۹۸/۰۲)	(۹۸۲/۸۷)	(۱۱۴۵/۵۱)



شکل (۲): پاسخ‌های ایمنی پیش‌بینی‌شده در بازه‌های زمانی متفاوت توسط سرور C-IMMUNE

## بحث و نتیجه گیری

از آنجایی که امروزه درمان عفونت‌های ناشی از *اسینتوباکتر بومانی* با آنتی‌بیوتیک به بن‌بست خورده است و این باکتری به تمام آنتی‌بیوتیک‌های در دسترس، مقاومت نشان داده است (۲۲)، باید روش‌های پیشگیری از ابتلا به این عفونت در اولویت قرار گیرد. واکسیناسیون افراد دارای ریسک خطر نسبت به *اسینتوباکتر بومانی* را می‌توان از بهترین و مطمئن‌ترین راه‌های کاهش خسارات جبران‌ناپذیر جانی و مالی برشمرد. به‌عنوان مثال واکسن کزار، دیفتری، سیاه‌سرفه، وبا و مننگوکوک از جمله واکسن‌های موفق باکتریایی هستند که باعث کنترل و کاهش عفونت‌های ناشی از باکتری‌ها شده‌اند (۲۳).

با این حال، حتی در صورت ساخت واکسن برخی از بیماری‌های قابل‌پیشگیری با واکسن همچنان ممکن است شیوع یابند که یکی از علل آن کاهش اثربخشی واکسن و پاسخ‌های ایمنی متعاقب آن است. عوامل دیگر شامل عدم اثربخشی تجویز اولیه واکسن، پوشش ناکافی دوزهای یادآور، کاهش ایمنی در طول زمان و مدت‌زمان محافظت واکسیناسیون است (۲۴). برنامه‌های بهینه واکسیناسیون برای برخی از بیماری‌های قابل‌پیشگیری با واکسن هنوز مبهم است و زمان‌بندی اصولاً بر اساس زمینه اپیدمیولوژیکی در محیط‌های فردی تعیین می‌شود. این موضوع چالش‌های خاصی را برای برنامه‌های ایمن‌سازی سلامت عمومی ایجاد می‌کند که می‌تواند منجر به کاهش ایمنی گروهی و بازگشت بیماری شود. با وجود اهمیت فاصله زمانی بین واکسیناسیون اولیه و دوزهای یادآور، چارچوب مشخصی برای بررسی تأثیر تزریق‌ها و زمان‌بندی‌های مختلف واکسیناسیون بر گستردگی بیماری در جمعیت در حال حاضر وجود ندارد (۲۴-۲۶).

در پژوهش‌های انجام شده در زمینه واکسن علیه عفونت ناشی از *اسینتوباکتر بومانی*، واکسن‌های متعددی مبتنی بر گیرنده سیدروفور، پروتئین‌های سطحی *OmpA* و *OprD*، پپلی (۲۲)، *OmpK* (۲۷) طراحی شده است. پس از انتخاب بهترین پروتئین‌های کاندید واکسن و طراحی واکسن طبق آن‌ها، مرحله تزریق مطرح می‌شود که باید دفعات تزریق و بهترین زمان‌بندی تزریق را تعیین کرد تا سیستم ایمنی بهترین پاسخ را در کوتاه‌مدت و بلندمدت القاء کند.

در مطالعه حاضر *OmpA* به دلیل نقش در فرار باکتری از سیستم ایمنی به‌عنوان کاندید واکسن انتخاب گردید و پس از انجام آنالیزهای ایمونوفورماتیک و تأیید آنتی‌ژنیسیته و عدم ایجاد حساسیت، سمزایی و تأیید اتصال به گیرنده‌های ایمنی ذاتی و تطبیقی در زمان‌بندی‌های متفاوت از روز ۱ تا ۲۵۲ تزریق آن

شبیه‌سازی گردید. زمان‌بندی اول دو نوبته در روزهای ۰ و ۴۲ بود که بر اساس مطالعه‌ای مشابه بر واکسن چند اپی‌توپی علیه لیشرمانیا دونوانی انجام گرفته بود (۱۴). دومین زمان‌بندی سه دوز در روزهای ۰، ۲۱ و ۴۲ بود که این فواصل ۳ هفته‌ای در مقاله‌ای درباره تأثیر واکسن کرونا علیه واریانت آمیکرون پیشنهاد شده بود (۱۳). رایج‌ترین بازه زمانی آزمایش‌شده در تحقیقات، تزریق در روزهای ۰، ۸۴ و ۱۶۸ است که مقالات متعددی در واکسن‌هایی علیه آنفولانزا، کووید و سیرکویروس این زمان‌بندی را برای واکسن خود انتخاب کرده‌اند (۱۲، ۲۸، ۲۹). بر همین اساس سومین زمان‌بندی را در روزهای ۰، ۸۴ و ۱۶۸ قرار دادیم. در زمان‌بندی دیگر با در نظر گرفتن حالتی خاص، یادآور دوم را با ۱۶ روز تأخیر یعنی روز ۱۰۰ به جای ۸۴ در نظر گرفته شد. هدف از این نوع زمان‌بندی پیش‌بینی تأثیر در تأخیر تزریق دومین واکسن به دلایل مختلف مانند فراموشی، بیماری و غیره بود. در دیگر منابع (۱۲) به فاصله زمانی ۸ هفته، ۳ ماه و ۶ ماه به‌عنوان بازه‌های مناسب بین دوزهای اصلی و یادآور اشاره شده است. که بر اساس آن تزریق در روزهای ۰، ۸۴، ۱۶۸ و ۲۵۲ یعنی با ۳ ماه فاصله، به‌عنوان پنجمین زمان‌بندی برای اولین بار آزمایش شد. نتایج نشان‌دهنده افزایش قابل‌توجه در پاسخ‌های ایمنی است که با پاسخ‌های ایمنی واقعی قابل‌مقایسه بود. پاسخ اولیه با افزایش سطح *IgM* تعیین شد.

نتایج شبیه‌سازی‌های پاسخ‌های ایمنی تولیدشده توسط سرور *SimImm-C* نشان می‌دهد که تجویز سه و چهار نوبت *OmpA* می‌تواند واسطه‌های مختلف ایمنی را تحریک و پاسخ‌های ایمنی را القاء کند. در طی سه و چهار نوبت تزریق، لنفوسیت‌های *B* و *T* فعال می‌گردد و جمعیت آن‌ها افزایش می‌یابد. لنفوسیت‌های *TH* با کمک به لنفوسیت‌های *B* در تولید آنتی‌بادی باعث افزایش سطح *IgG + IgM* می‌شوند. همچنین افزایش تولید *IL-2* نشان‌دهنده تکثیر و افزایش جمعیت لنفوسیت‌های *TH* است که به همراه افزایش سطح *IFN-γ* نشان‌دهنده توانایی *OmpA* در جهت‌دهی پاسخ *T* به سمت *TH1* است. در نهایت این دو بازه طمانی تزریقی، جمعیت لنفوسیت *T* و *B* خاطرهای اختصاصی *OmpA* را افزایش می‌دهد. همچنین تأخیر در تزریق دوز دوم تأثیر منفی قابل‌توجهی بر پاسخ ایمنی ندارد، حتی می‌تواند در برخی موارد باعث بهبود سطح پارامترهای ایمنی در خون شود.

بر اساس نتایج جدول ۳، برنامه تزریق پنجم با چهار نوبت تزریق، به دلیل بالا بودن سطح سلول‌های *B* و *TH* خاطر و مجموع ایمونوگلوبولین‌ها، به‌عنوان بهترین برنامه تزریق پیشنهاد می‌شود. با این حال، باید جنبه‌های اقتصادی و آثار سوء احتمالی دوزهای یادآور زیاد را نیز در نظر گرفت.



**حمایت مالی تحقیق**

ندارد.

**تضاد منافع**

نویسندگان هیچ‌گونه تضاد منافی اعلام ننموده‌اند.

**ملاحظات اخلاقی**

با توجه به اینکه مطالعه حاضر ایمونوفورماتیک و تئوری هست، کد اخلاقی ندارد.

این مطالعه می‌تواند به‌عنوان پایه‌ای برای تحقیقات بیشتر در زمینه طراحی بهینه واکسن‌های اسپینتوباکتر بومانی مورد استفاده قرار گیرد. ادامه این مطالعه در سطح آزمایشگاهی می‌تواند به تأیید برنامه‌های تزریق بهینه و در نهایت، کمک به کنترل عفونت‌های ناشی از این باکتری کمک کند.

**تشکر و قدردانی**

ندارد.

**References:**

1. Antunes LC, Visca P, Towner KJ. *Acinetobacter baumannii*: evolution of a global pathogen. *Pathog. Dis* 2014;71(3):292-301. <https://doi.org/10.1111/2049-632X.12125>
2. Whiteway C, Breine A, Philippe C, Van der Henst C. *Acinetobacter baumannii*. *Trends Microbiol* 2022;30(2):199-200. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2021.11.008>
3. Nie D, Hu Y, Chen Z, Li M, Hou Z, Luo X, et al. Outer membrane protein A (OmpA) as a potential therapeutic target for *Acinetobacter baumannii* infection. *J. Biomed. Sci* 2020;27:1-8. <https://doi.org/10.1186/s12929-020-0617-7>
4. Kyriakidis I, Vasileiou E, Pana ZD, Tragiannidis A. *Acinetobacter baumannii* antibiotic resistance mechanisms. *Pathogens* 2021;10(3):373. <https://doi.org/10.3390/pathogens10030373>
5. Uppalapati SR, Sett A, Pathania R. The outer membrane proteins OmpA, CarO, and OprD of *Acinetobacter baumannii* confer a two-pronged defense in facilitating its success as a potent human pathogen. *Front. microbiol* 2020;11:589234. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.589234>
6. Ceparano M, Baccolini V, Migliara G, Isonne C, Renzi E, Tufi D, et al. *Acinetobacter baumannii* isolates from COVID-19 patients in a hospital intensive care unit: molecular typing and risk factors. *Microorganisms* 2022;10(4):722. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10040722>
7. Andre FE, Booy R, Bock HL, Clemens J, Datta SK, John TJ, et al. Vaccination greatly reduces disease, disability, death and inequity worldwide. *Bulletin of the World health organization* 2008;86:140-6. <https://doi.org/10.2471/BLT.07.040089>
8. Galdiero S, Falanga A, Cantisani M, Tarallo R, Elena Della Pepa M, et al. Microbe-host interactions: structure and role of Gram-negative bacterial porins. *Curr. Protein Pept. Sci* 2012;13(8):843-54. <https://doi.org/10.2174/138920312804871120>
9. Beikzadeh B, Nikbakht Brujeni G. Protection against neonatal enteric colibacillosis employing E. Coli-derived outer membrane vesicles in formulation and without vitamin D3. *BMC Res. Notes* 2018;11(1):1-8. <https://doi.org/10.1186/s13104-018-3442-2>
10. Choi CH, Lee EY, Lee YC, Park TI, Kim HJ, Hyun SH, et al. Outer membrane protein 38 of *Acinetobacter baumannii* localizes to the mitochondria and induces apoptosis of epithelial cells. *Cell. Microbiol* 2005;7(8):1127-38. <https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2005.00538.x>
11. Yang N, Jin X, Zhu C, Gao F, Weng Z, Du X, et al. Subunit vaccines for *Acinetobacter baumannii*. *Front. Immunol* 2023;13:1088130. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.1088130>
12. Kaushik V, Jain P, Akhtar N, Joshi A, Gupta LR, Grewal RK, et al. Immunoinformatics-aided design and in vivo validation of a peptide-based multi-epitope vaccine targeting canine circovirus. *ACS Pharmacol. Transl. Sci* 2022;5(8):679-91. <https://doi.org/10.1021/acspsci.2c00130>
13. He C, Yang J, Hong W, Chen Z, Peng D, Lei H, et al. A self-assembled trimeric protein vaccine induces protective immunity against Omicron variant. *Nat.*

- Commun 2022;13(1):5459.  
<https://doi.org/10.1038/s41467-022-33209-9>
14. Saha S, Vashishtha S, Kundu B, Ghosh M. In-silico design of an immunoinformatics based multi-epitope vaccine against *Leishmania donovani*. BMC bioinformatics 2022;23(1):319.  
<https://doi.org/10.1186/s12859-022-04816-6>
  15. Crotty S. T follicular helper cell differentiation, function, and roles in disease. Immunity 2014;41(4):529.  
<https://doi.org/10.1016/j.immuni.2014.10.004>
  16. Beikzadeh B. Immunoinformatics design of multi-epitope vaccine using OmpA, OmpD and enterotoxin against non-typhoidal salmonellosis. BMC bioinformatics 2023;24(1):63.  
<https://doi.org/10.1186/s12859-023-05183-6>
  17. Beikzadeh B, Ahangarzadeh S. In-Silico Design of a Novel Multi-Epitope Fimbriae Vaccine against Non-typhoidal Salmonella. Vac. Res 2023;10(1):23-33.  
<https://doi.org/10.61186/vacres.10.1.23>
  18. Sanches RC, Tiwari S, Ferreira LC, Oliveira FM, Lopes MD, Passos MJ, et al. Immunoinformatics design of multi-epitope peptide-based vaccine against *Schistosoma mansoni* using transmembrane proteins as a target. Front. Immunol 2021;12:621706.  
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.621706>
  19. Seok C, Baek M, Steinegger M, Park H, Lee GR, Won J. Accurate protein structure prediction: what comes next. Biodesign; 2021.  
<https://doi.org/10.34184/kssb.2021.9.3.47>
  20. Takeda K, Akira S. Toll-like receptors in innate immunity. Int. Immunol 2005;17(1):1-14.  
<https://doi.org/10.1093/intimm/dxh186>
  21. Castiglione F, Deb D, Srivastava AP, Liò P, Liso A. From infection to immunity: understanding the response to SARS-CoV2 through in-silico modeling. Front. Immunol 2021;12:646972.  
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.646972>
  22. Ud-Din M, Albutti A, Ullah A, Ismail S, Ahmad S, Naz A, et al. Vaccinomics to design a multi-epitopes vaccine for *Acinetobacter baumannii*. Int. J. Environ. Res. Public Health 2022;19(9):5568.  
<https://doi.org/10.3390/ijerph19095568>
  23. Osterloh A. Vaccination against bacterial infections: challenges, progress, and new approaches with a focus on intracellular bacteria. Vaccines 2022;10(5):751.  
<https://doi.org/10.3390/vaccines10050751>
  24. Wang Z, Röst G, Moghadas SM. Delay in booster schedule as a control parameter in vaccination dynamics. J. Math. Biol 2019;79(6):2157-82.  
<https://doi.org/10.1007/s00285-019-01424-6>
  25. Omer SB, Salmon DA, Orenstein WA, Dehart MP, Halsey N. Vaccine refusal, mandatory immunization, and the risks of vaccine-preventable diseases. NEJM 2009;360(19):1981-8.  
<https://doi.org/10.1056/NEJMsa0806477>
  26. Briere EC, Rubin L, Moro PL, Cohn A, Clark T, Messonnier N. Prevention and control of haemophilus influenzae type b disease: recommendations of the advisory committee on immunization practices (ACIP). MMWR Recomm Rep 2014;63(RR-01):1-14.
  27. Heidarinia H, Ghadiri K, Zargaran FN, Lorestani RC, Rostamian M. An In silico Study on B-cell Epitope Mapping of *Acinetobacter baumannii* Outer Membrane Protein K. CURR COMPUT-AID DRUG 2024.  
<https://doi.org/10.2174/0115734099281401240118054834>
  28. Tarrahimofrad H, Rahimnahal S, Zamani J, Jahangirian E, Aminzadeh S. Designing a multi-epitope vaccine to provoke the robust immune response against influenza A H7N9. Sci. Rep 2021;11(1):24485.  
<https://doi.org/10.1038/s41598-021-03932-2>
  29. Singh A, Thakur M, Sharma LK, Chandra K. Designing a multi-epitope peptide based vaccine against SARS-CoV-2. Sci. Rep 2020;10(1):16219.  
<https://doi.org/10.1038/s41598-020-73371-y>

## IMMUNOINFORMATICS STUDY OF *ACINETOBACTER BAUMANNII* OMPA PROTEIN AND COMPARISON OF INDUCED IMMUNE RESPONSES IN DIFFERENT TIME INTERVALS OF INJECTION

Sana Yousefian Jazi<sup>1</sup>, Babak Beikzadeh<sup>2\*</sup>

Received: 13 July, 2024; Accepted: 16 September, 2024

### Abstract

**Background & Aims:** *Acinetobacter baumannii*, as one of the causes of hospital infection, causes the death of many patients every year. Due to the high antibiotic resistance, controlling the infections has faced a challenge. In addition, no effective vaccine has been produced for this bacterium. Therefore, in the present study, using immunoinformatics tools, OmpA protein as a vaccine candidate was used to investigate the immune responses in different time points of administration so that in addition to introducing a vaccine candidate, the best timing of its administration was also provided.

**Methods:** In this study, The *Acinetobacter baumannii* OmpA protein was chosen and the epitopes of T and B lymphocytes were predicted using immunoinformatics servers. Then, the antigenic properties, non-allergenicity, non-toxicity, physical and chemical properties, and binding ability to innate and adaptive immune receptors were evaluated. Finally, the ability to induce immune responses in five different injection programs was investigated.

**Results:** The results showed that OmpA is an antigenic, safe, hydrophilic protein with good solubility. This protein can bind to innate and adaptive immune receptors and can induce humoral and cellular immune responses in three-time and four-time injections.

**Conclusion:** In total, this study shows that OmpA, in addition to its immunogenic properties, as a vaccine candidate, can induce immune mediators by administering it three times, however, four times administrations of this protein create a stronger immune response.

**Keywords:** *Acinetobacter baumannii*, injection timing, vaccine, OmpA

**Address:** Faculty of Biological Science and Technology, University of Isfahan, Isfahan, Iran

**Tel:** +983137934365

**Email:** b.beikzadeh@bio.ui.ac.ir

SOURCE: STUD MED SCI 2024; 35(5): 360 ISSN: 2717-008X

This is an open-access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, as long as the original work is properly cited.

<sup>1</sup> Department of Cell and Molecular Biology & Microbiology, Faculty of Biological Science and Technology, University of Isfahan, Isfahan, Iran

<sup>2</sup> Assistant Professor, Department of Cell and Molecular Biology and Microbiology, Faculty of Biological Science and Technology, University of Isfahan, Isfahan, Iran (Corresponding Author)