ORIGINAL ARTICLE

# *Bioinformatics Study of the Interaction between Melittin Protein and P24 Protein in HIV and SIV Viruses*

Zahra Hasanshahi[1],
Behzad Dehghani[2],
Tayebeh Hashempour[3],
Javad Moayedi[1]

[1] MSc in Microbiology, Shiraz HIV/AIDS Research Center, Institute of Health, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran
[2] BSc in Biology, Shiraz HIV/AIDS Research Center, Institute of Health, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran
[3] PhD in Virology, Shiraz HIV/AIDS Research Center, Institute of Health, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

(Received August 25, 2019 ; Accepted September 20, 2022)

## *Abstract*

**Background and purpose:** P24 is one of the important components of retroviruses capsid. Several studies have shown the inhibitory effect of melittin protein on the function of AIDS virus. The aim of this study was to evaluate the effect of this protein on P24 in SIV and HIV viruses using bioinformatics software.

**Materials and methods:** P24 protein sequences of SIV and HIV were obtained from a gene bank and their features were analyzed using different software programs. Also, structural similarities of P24 protein between SIV and HIV viruses were examined. Docking analysis was used to examine the interactions between melittin and P24 proteins. The stability of docking results were confirmed by molecular dynamics simulation.

**Results:** Findings showed numerous phosphorylation, glycosylation sites, and di-sulfide bonds in P24 protein. Docking results indicated a probable interaction between P24 protein of both viruses and melittin. The results showed similarity of the third structure of P24 protein between the two viruses. Analysis of molecular dynamics showed molecular stability of the interactions between P24 and melittin proteins.

**Conclusion:** High energy values of the interaction between melittin and P24 indicated high binding potential of the two proteins, which can determine the inhibitory effect of melittin on the function of HIV capsid. Analysis of the third structure of P24 protein in both viruses showed that they are very similar despite the high difference in protein sequences from the point of view of folding and 3D structure. Application of melittin to control SIV infections in primates can be used as a model for inhibiting HIV in humans.

***Keywords:*** HIV, SIV, melittin, bioinformatics

**J Mazandaran Univ Med Sci 2022; 32 (214): 153-166 (Persian).**

**Corresponding Author: Tayebeh Hashempour -** Shiraz HIV/AIDS Research Center, Institute of Health, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran. (E-mail: thashem@sums.ac.ir)



[ Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-10-12 ]

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره سی و دوم شماره 214 آبان سال 1401 (166-153)

# بررسی بیوانفورماتیکی برهم کنش پروتئین ملیتین با پروتئین P24 ویروس‌های HIV و SIV

زهرا حسن شاهی[1]
بهزاد دهقانی[2]
طیبه هاشم پور[3]
جواد مویدی[1]

## چکیده

**سابقه و هدف:** P24 یکی از اجزای مهم کپسید رتروویروس‌ها می‌باشد. مطالعات متعددی اثر مهاری پروتئین ملیتین را بر روی عملکرد ویروس ایدز نشان داده‌اند. هدف این مطالعه بررسی تأثیر این پروتئین بر روی پروتئین P24 در دو ویروس SIV (ویروس نقص ایمنی میمونی) و HIV (ویروس نقص ایمنی انسانی) با استفاده از نرم‌افزارهای بیوانفورماتیکی بود.

**مواد و روش‌ها:** توالی‌های پروتئین P24 دو ویروس SIV و HIV از بانک ژنی دریافت شد و سپس توسط نرم‌افزارهای متعددی ویژگی‌های آن بررسی شد. هم‌چنین تشابهات ساختاری پروتئین P24 در SIV و HIV مورد مطالعه قرار گرفت و از آنالیز داکینیگ برای بررسی برهم‌کنش پروتئین‌های ملیتین و P24 استفاده شد و پایداری نتایج داکینیک به روش دینامیک مولکولی تایید شدند.

**یافته‌ها:** وجود جایگاه‌های متعدد فسفوریلاسیون، گلیکوزیلاسیون و پیوند دی سولفید در پروتئین P24 مشاهده شد. نتایج داکینگ نشان‌دهنده امکان اتصال بالایی بین پروتئین P24 هر دو ویروس و ملیتین بود. هم‌چنین تشابه بالای ساختار سوم پروتئین P24 در دو ویروس مشخص شد. بررسی دینامیک مولکولی نشان دهنده پایداری مولکولی برهم‌کنش بین دو پروتئین ملیتین و P24 بود.

**استنتاج:** انرژی بالای اتصال بین ملیتین و پروتئین P24 نشان‌دهنده امکان زیاد اتصال این دو پروتئین است که می‌تواند تعیین‌کننده اثر مهاری پروتئین ملیتین بر عملکرد ساختار کپسید هر دو ویروس باشد. بررسی تشابه ساختار سوم پروتئین P24 در هر دو ویروس نیز نشان داد علی‌رغم وجود تفاوت بالا در توالی پروتئینی، آن‌ها ازلحاظ فولدینگ و ساختار فضایی بسیار مشابه هستند. استفاده از ملیتین در مهار عفونت‌های SIV در میمون‌ها می‌تواند به عنوان مدلی برای مهار ویروس HIV در انسان استفاده شود.

**واژه های کلیدی:** HIV، SIV، P24، ملیتین، بیوانفورماتیک

## مقدمه

ویروس نقص ایمنی میمونی (SIV: Simian immunodeficiency virus) یک عامل عفونی از خانواده رتروویروس‌ها و از سرده ویروس‌های آهسته گستر (لنتی ویروس) است(1).

**مولف مسئول: طیبه هاشم پور -** شیراز: خیابان لاوان، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، پژوهشکده سلامت E-mail: thashem@sums.ac.ir
1.کارشناسی ارشد میکربیولوژی، مرکز تحقیقات ایدز شیراز، پژوهشکده سلامت، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران
2. لیسانس زیست شناسی، مرکز تحقیقات ایدز شیراز، پژوهشکده سلامت، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران
3. دکترای ویروس شناسی، مرکز تحقیقات ایدز شیراز، پژوهشکده سلامت، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران
تاریخ دریافت : 1398/6/3 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : 1398/9/3 تاریخ تصویب : 1401/6/29



[ Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-10-12 ]

به‌طوری‌که دوره انکوباسیون طولانی ویروس قبل از علائم بیماری نشان‌دهنده این موضوع است. این ویروس بسیار شبیه به ویروس نقص ایمنی انسانی (HIV: Human immunodeficiency virus) است. این کشف نشان داد که SIV از گوریل‌ها به انسان منتقل‌شده است(3،2). مطالعات مربوط به مبانی تکاملی نشان می‌دهد که SIV شکل پیش ماده ویروس HIV در انسان است که این ویروس به طریقی از پریمات‌ها به انسان منتقل‌شده است و از طریق جهش تصادفی به HIV تبدیل شد(5،4). SIV مانند ویروس HIV از طریق تماس با مایعات آلوده بدن مانند خون منتقل می‌شود(6). این ویروس در بیش‌تر گونه‌ها بیماری شدیدی را به وجود نمی‌آورد، بااین‌حال در شامپانزه‌ها عفونت ویروس SIV می‌تواند یک بیماری شبیه به ایدز در انسان ایجاد کند. مطالعات نشان داده است که ویروس SIV همانند ویروس HIV سلول‌های T helper را که گلبول‌های سفید خون هستند و نقش مهمی در تنظیم انواع عملکرد ایمنی دارند را آلوده می‌کند(7). سلول‌های آلوده به SIV معمولاً طی یک روز از شروع عفونت باعث ایجاد آپوپتوز (مرگ سلولی برنامه‌ریزی‌شده) سلولی می‌شوند. درنهایت به علت مرگ سریع سلول‌ها، سیستم ایمنی بدن توانایی جایگزین کردن دوباره آن‌ها را ندارد و بنابراین عملکرد سیستم ایمنی به‌تدریج ضعیف‌تر می‌شود و موجب سندرم نقص ایمنی شده و باعث می‌شود حیوان سریع‌تر احساس خستگی کند و نسبت به عفونت‌ها آسیب‌پذیرتر شود. HIV عامل بیماری ایدز در سال‌های اخیر یکی از مهم‌ترین نگرانی‌های سیستم بهداشت عمومی دربسیاری از کشورهای جهان بوده است و تلاش‌های بسیاری برای یافتن راه درمانی یا پیشگیری از این بیماری انجام‌شده که تاکنون راه درمانی یا واکسن مؤثری برای آن یافت نشده است(11-8).

مطالعات بسیار زیادی بر روی تأثیر پروتئین ملیتین بر ویروس HIV صورت گرفته است. درسال 2013 گزارشی مبنی بر اثرات ملیتین روی ویروس ایدز منتشر شد. ملیتین فعال‌ترین جزء زهر زنبور بوده و شامل 52 درصد از پپتیدهای موجود در زهر است، که اولین بار از زهر Apis mellifera جداسازی شد که شدیداً قلیایی و دارای 26 آمینواسید است(14-12). قسمت انتهایی نیتروژن‌دار آن آب‌گریز و قسمت کربن در انتهای آن آب‌دوست است(15). این پروتئین پیوند دی سولفید ندارد و به‌عنوان یک فاکتور لیز کننده غشای سلولی عمل می‌کند و نفوذپذیری غشای سلول‌ها را نسبت به یون‌ها افزایش می‌دهد و یک عامل ضدالتهابی قوی بوده و سبب القای کورتیزول در بدن می‌شود.از دیگر اثرات و عملکردهای این پروتئین تجزیه سلول‌های خونی، خواص ضد میکروبی و ضد توموری است که با تخریب دیواره سلولی سبب نابودی سلول‌های توموری می‌شود. یک نانوذره حامل ملیتین با از بین بردن پوشش دولایه لیپیدی احاطه‌کننده HIV سبب نابودی ویروس می‌شود. مطالعات نشان می‌دهد که ملیتین علاوه بر تأثیر روی پوشش ویروس، تأثیر بسزایی نیز روی پروتئین GAGدارد و از رونویسی آن جلوگیری می‌کند. همچنین فعالیت LTR ویروس را کاهش می‌دهد و به‌صورت کلی باعث کاهش تکثیر و بیان ویروس می‌شود.

مطالعات متعددی توسط دهقانی و همکاران(16)، Fujii و همکاران(17)، Apellániz و همکاران(18)، معماریانی و همکاران(19) در سالیان اخیر موید تاثیر مهاری پروتئین ملیتین بر envelope ویروس HIV بوده‌اند. به علاوه Hood و همکاران از نانوذرات برای انتقال این پروتئین استفاده نموده و توانایی این پروتئین برای ایجاد منافذی در envelope ویروس HIV و در نهایت تخریب آن را تایید کردند(20). هم‌چنین Wachinger در سال 1998 نشان داد ملیتین با اثر مستقیم سرکوب‌کننده بر فعالیت HIV LTR مانع بیان ژن HIV می‌شود(21). در سالیان اخیر استفاده از روش‌های بیوانفورماتیکی برای بررسی پدیده‌های زیستی نقش تعیین‌کنندگی در تحقیقات ویروس‌شناسی ایفا کرده است. در این میان نرم‌افزارهای متعددی برای تعیین خواص فیزیکی و شیمیایی، تعیین پیرایش‌های پساترجمه‌ای، تعیین ساختارهای دوم و سوم

[ Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-10-12 ]

پروتئین‌های با دقت قابل قبول ارائه شده‌اند. هم‌چنین نرم‌افزارهای متعددی مانند Hex نیز در سال‌های اخیر برای بررسی برهم‌کنش‌های لیگاند- پروتئین و پروتئین- پروتئین معرفی شده‌اند، که برای درک بهتر برهم کنش‌های ممکن بین ماکرومولکول‌ها به کمک محقیقن آمده‌اند. در مطالعات متعددی از این فرایندها برای بررسی پروتئین‌های ویروسی و هم‌چنین برهم کنش پروتئین‌های ویروسی یا داروهای مهار کننده و هم مهار کننده‌های طبیعی استفاده شده است که درک بهتری از توانایی این مهارکننده‌ها در اختیار محقیقن قرار داده‌اند. با توجه به تشابهات ژنوم و پروتئین‌های دو ویروس HIV و SIV انتظار می‌رود تشابهات بسیاری نیز در ساختار کپسید این دو ویروس وجود داشته باشد. پروتئین P24 جزء اصلی تشکیل‌دهنده کپسید این ویروس است. با توجه به اطلاعات موجود درمورد تشابهات ژنومی این دو ویروس هدف این مطالعه بررسی تغیرات فیزیکی و شیمیایی و هم‌چنین تغییرات آمینواسیدهای ملیتین و P24 SIV و P24 HIV بود و همچنین تجزیه و تحلیل ساختارهای سوم این پروتئین‌ها و بررسی برهم‌کنش پروتئین ملیتین با P24 HIV و P24 SIV انجام شد که نتایج آن می‌تواند راه را برای مطالعات بیش‌تر بر روی عملکرد پروتئین ملیتین در جهت مهار ویروس SIV در پریمات‌ها و در نهایت ویروس HIV در انسان هموار کند.

## مواد و روش‌ها

تجزیه‌وتحلیل توالی

سه توالی ملیتین از سه گونه زنبورعسل و سه توالی P24 HIV از سه subtype متفاوت و هم‌چنین چهارده سکانس P24 SIV از بانک ژنی NCBI تهیه شد و مورد بررسی قرار گرفت (جدول شماره 1).

سه گونه زنبور عسل Apis cerana (سرنا)، Apis florea (فلورئا) و Apis mellifera (ملیفرا) از مهم‌ترین گونه‌های زنبور عسل موجود در جهان هستند. Apis cerana از گونه‌های اصلی موجود در این ایران و هم‌چنین جنوب شرق آسیا است. Apis florea زنبور بومی اروپا و آفریقاست و Apis mellifera نیز بومی در خاورمیانه و قسمت‌هایی ازجنوب شرق آسیاست. با انتخاب سه توالی از این سه گونه زنبور، تغییرات در سطح پروتئین ملیتین مورد بررسی قرار گرفت و هم‌چنین تاثیر این تغییرات روی برهم‌کنش این پروتئین با پروتئین P24 بررسی شد.

**جدول شماره 1:** شماره‌های دسترسی ثبت شده در بانک ژنی توالی‌های ملیتین، p24 SIV و p24 HIV که در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفته اند

| SIV | Melittin | HIV |
|---|---|---|
| KP162156 | AF487907(Apis cerana) | HIV AD35 (AB703607) |
| KP162163 | XP_003689966(Apis florea) | HIV A1(U51190) |
| KP162160 | NM_001011607(Apis mellifera) | HIV B(M17451) |
| KP162154 | | |
| KP162161 | | |
| KP162153 | | |
| KP162159 | | |
| KP162151 | | |
| KP162155 | | |
| KP162150 | | |
| KP162152 | | |
| KP162157 | | |
| KP162162 | | |
| KY359408 | | |
| AY221515 | | |
| KP162158 | | |

*تغییرات فیزیکی و شیمیایی و تغییرات پس از ترجمه*

نقطه ایزو الکتریک (PI) پروتئین، پایداری آن در برابر حرارت (Aliphatic index)، پایداری در لوله آزمایش (Instability index) و در بدن یک موجود زنده (Half-life) و هم‌چنین آب‌دوستی و آبگریزی (Gravy) با استفاده از سایت protparam برای تمام توالی‌های ملیتین و همچنین پروتئین‌های P24 دو ویروس HIV و SIV انجام شد. ابتدا توالی‌ها با فرمت FASTA در نرم‌افزار آنلاین protparam ثبت شدند سپس نتایج هر توالی جداگانه در نرم‌افزار Excel وارد شدند(23،22).

*پیش‌بینی جایگاه‌های پیوند دی سولفید و تغییرات پس ترجمه‌ای*

جایگاه‌های پیوند دی سولفید از طریق سایت "DiANNA" (24) پیش‌بینی شد. به‌منظور پیش‌بینی جایگاه‌های فسفوریلاسیون از سایت"DISPHOS" (25)

[ Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-10-12 ]

و "NetPhos" (26) استفاده شد. از "GlycoEP" (27) و "NetNGlyc" (28) برای پیش‌بینی جایگاه‌های N-glycosylation استفاده شد. برای تعیین مشخصات کلی هر کدام از پروتئین‌های مورد بررسی از نرم‌افزارهای مشخصی برای تعیین تغییرات پسا ترجمه ای استفاده شد، که نتایج آن می‌تواند درک بهتری از ساختار و عملکرد این پروتئین‌ها ارائه دهد. پیوندهای دی سولفید در تشکیل ساختار یک پروتئین و در نهایت امکان برهم کنش این پروتئین نقش کلیدی بازی می‌کند و بررسی تغییرات در تعداد و محل تشکیل آن‌ها در فهم بهتر شرایط یک پروتئین بسیار یاری‌دهنده است. فرایند فسفوریلاسیون نیز در عملکرد پروتئین‌ها نقش‌های مهمی ایفا می‌کنند که شامل مهار فرایندهای ایمنی‌زایی، انتقال سیگنال‌های سلولی و همچنین تاثیر آن روی برهم‌کنش پروتئین و لیگاند است. در این مطالعه نیز این فرایند در تمام پروتئین‌های مورد بررسی تعیین شد که نتایج آن می‌تواند روی برهم‌کنش پروتئین‌ملیتین و پروتئین P24 موثر واقع شود. فرایند گلیکوزیلاسیون از فرایندهای کلیدی در تعیین ساختار، عملکرد و پایداری یک پروتئین است. از نظر ساختاری این فرایند بر پیکربندی سه بعدی یک پروتئین بسیار موثر است که به ویژه تاثیر عمده‌ای روی برهم‌کنش‌های پروتئین -پروتئین که در این مطالعه بررسی می‌شود، دارد. هم‌چنین بررسی تمام فرایندهای پسا ترجمه‌ای می تواند به محققان در زمینه استفاده از این پروتیئن‌ها در فرایندهای کلونینگ و بیان و تخلیص پروتئین و هم‌چنین تعیین میزبان مناسب برای بیان هر کدام از پروتئین‌ها کمک کند.

*پیش‌بینی ساختار دوم و ساختار سوم پروتئین*

از "SOPMA" (29) برای پیش‌بینی ساختار دوم استفاده شد و برای ساخت ساختار سه‌بعدی پروتئین از سایت "I-TASSER" (30) استفاده شد.

*تجزیه‌وتحلیل داکینگ*

از طریق برنامه HEX docking برهم‌کنش بین پروتئین‌های ملیتین و P24 SIV و هم‌چنین پروتئین ملیتین و P24HIV بررسی شد.

*بررسی دینامیک مولکولی*

برای بررسی دینامیک مولکولی از نرم‌افزار GROMACS استفاده شد، در ابتدا از یون‌های سدیم به جای مولکول‌های آب برای تعادل و خنثی‌سازی سیستم استفاده شد. زمان شبیه‌سازی در این بررسی 10 نانو ثانیه با گام‌های 2 پیکو ثانیه‌ای در نظر گرفته شد.

*بررسی هم‌ترازی*

برای بررسی هم ترازی ساختار سوم پروتئین P24 دو ویروس HIV و SIV با استفاده از نرم‌افزار TM-align انجام شد.

*ملاحضات اخلاقی*

مطالعه حاضر در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی شیراز با کد (IR.SUMS.REC.1397.314) تصویب شده است. آدرس تمام سایت‌های استفاده‌شده در این مطالعه در جدول شماره 2 قرار داده شد.

**جدول شماره 2:** آدرس سرورها و سایت‌های مورداستفاده در این مطالعه به همراه آدرس اینترنتی و عملکرد هر یک از آن‌ها

| عملکرد | آدرس URL | عنوان برنامه |
|---|---|---|
| بررسی خواص فیزیکی و شیمیایی پروتئین | http://expasy.org/ tools/protparam.html | protparam |
| تعیین جایگاه‌های پیوند دی سولفید | http://clavius.bc.edu/~clotelab/DiANNA | DiANNA |
| تعیین جایگاه‌های فسفوریلاسیون | http://www.dabi.temple.edu/disphos/pred.html | DISPHOS |
| تعیین جایگاه‌های فسفوریلاسیون | http://www.cbs.dtu.dk/services/NetPhos | NetPhos |
| تعیین جایگاه‌های گلیکوزیلاسیون | http://www.cbs.dtu.dk/services/NetNGlyc | NetNGlyc |
| تعیین جایگاه‌های گلیکوزیلاسیون | http://www.imtech.res.in/raghava/glycoep/submit.html | GlycoEP |
| تعیین ساختار دوم | http://npsapbil.ibcp.fr/cgibin/npsa_automat.pl?page=npsa_sopma.html | SOPMA |
| تعیین ساختار سوم | http://zhanglab.ccmb.med.umich.edu/I-TASSER | I-TASSER |
| هم ترازی دو ساختار سوم پروتئین | https://zhanglab.ccmb.med.umich.edu/TM-align/ | TM-align |

[ Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-10-12 ]

## یافته ها

*تغییرات آمینواسیدها*

توالی آمینواسیدها در مقایسه با توالی مرجع مورد بررسی قرار گرفتند که نتایج نشان‌دهنده چندین جایگزینی در پروتئین‌های ملیتین و SIV P24 و HIV P24 را نشان می‌دهد و به ترتیب در جداول شماره 3و 4 و5 نشان داده شده‌اند.

**جدول شماره 3:**تغییرات آمینواسیدی در پروتئین P24ویروس SIV در مقایسه با توالی مرجع نشان داده شده است. بیش‌ترین فراوانی مربوط به جایگاه 117 می‌باشد که در 10 نمونه از نمونه‌های مورد بررسی یافت شده است

| موتاسیون | فراوانی | موتاسیون | فراوانی | موتاسیون | فراوانی |
|---|---|---|---|---|---|
| V5I | 1 | P 88 X | 1 | H 117 Y | 10 |
| V5X | 1 | L 89 P | 1 | H 117 X | 1 |
| Y9H | 1 | L 89 I | 1 | L 135 V | 1 |
| S 15 N | 1 | P 90 Q | 1 | L 135 X | 1 |
| V 26 I | 1 | A 91 Q | 1 | P159 S | 6 |
| S 37 P | 2 | A 91 P | 1 | P 159X | 5 |
| T 47 I | 1 | S 98 X | 2 | Q161X | 1 |
| E 60 D | 1 | S 98 R | 2 | P 178 A | 1 |
| E 70 D | 1 | S 98 T | 2 | M 206 V | 1 |
| L 81 V | 2 | S 98 G | 1 | I 220 V | 1 |
| L 81 X | 1 | T 108 S | 1 | | |
| G 87 X | 1 | V 109 X | 1 | | |
| G 87 N | 1 | V 109 A | 1 | | |
| G 87 A | 1 | E 110 D | 1 | | |

**جدول شماره 4:** تغییرات آمینواسیدها در پروتئین ملیتین با مقایسه سه توالی مورد استفاده در این مطالعه، مناطقی که دچار تغییر شده‌اند به صورت بولد نشان داده شده است

| شماره ثبت توالی | توالی پروتئینی |
|---|---|
| NM001011607 | GIGA**V**LKVL**T**TGLP**A**LI**S**WIK**R**KR**Q**Q |
| AF487907 | GIGA**V**LKVL**T**TGLP**A**LI**G**WIK**R**KR**Q**Q |
| 003689966 XP | GIGA**I**LKVL**A**TGLP**T**LI**G**WIK**N**KR**K**Q |

**جدول شماره 5:** تغییرات آمینواسیدها در پروتئین p24 ویروس HIV در مقایسه با توالی مرجع نشان داده شده است، بیش‌ترین فراوانی در جایگاه‌های 17، 52 و 212 اتفاق افتاده است

| موتاسیون | فراوانی | موتاسیون | فراوانی | موتاسیون | فراوانی |
|---|---|---|---|---|---|
| V 5 I | 2 | I 85 V | 1 | T 165 A | 1 |
| A 8 S | 1 | A 86 P | 1 | S 172 T | 1 |
| A 8 N | 1 | M 90 I | 2 | N 177 G | 1 |
| I 9 L | 2 | T 101 A | 1 | N 177 S | 1 |
| **R 17 W** | **3** | L 105 P | 2 | E 181 D | 1 |
| V 21 I | 2 | I 109 L | 1 | V 185 I | 1 |
| S 35 T | 1 | G 110 A | 1 | T 194 S | 2 |
| T 48 M | 1 | G 110 Q | 1 | K 197 R | 1 |
| T 48 V | 1 | N 114 G | 1 | P 201 S | 1 |
| **T 52 I** | **3** | E 122 D | 2 | G 202 A | 1 |
| E 65 D | 2 | T 142 V | 1 | S 212 C | 3 |
| V 77 M | 1 | R 148 K | 2 | | |
| V 77 L | 1 | P 154 X | 1 | | |
| H 81 Q | 1 | Y 163 F | 2 | | |

در مورد پروتئین P24 ویروس SIV تغییر اسید آمینه در جایگاه 117 مهم‌ترین موتاسیون یافت شده بود. در مورد پروتئین ملیتین، 6 جایگاه تغییر اسیدهای آمینه یافت شدند و در مورد پروتئین p24 ویروس HIV نیز موتاسیون‌های متعددی یافت شد که بیش‌ترین فراوانی در جایگاه‌های 17، 52 و 212 اتفاق افتاده بود.

*نتایج "Protparam"*

نتایج آنالیز pI نشان داد که پروتئین P24 دو ویروس HIV و SIV یک پپتید قلیایی است و پروتئین ملیتین یک پپتید اسیدی است. شاخص آبگریزی نشان داد پروتئین P24 یک پروتئین کاملا آب دوست است و پروتئین ملیتین زنبور عسل گونه‌های سرنا و ملیفرا پروتئین کاملا آبگریزی است. هم‌چنین موتاسیون‌های یافت شده در این دو پروتئین هیچ تاثیری بر خواص فیزیکی و شیمیایی این دو پروتئین ندارد (جدول شماره 6). بررسی خواص آبدوستی و آبگریزی هر کدام از این پروتئین‌ها به درک بهتری از جایگاه آن‌ها در سلول و هم‌چنین تعیین این موضوع که پروتئین‌ها در معرض (expose) اتصال به لیگاند هستند، بسیار حیاتی هستند. در این مطالعه نیز به علت آب دوست بودن پروتئین P24 در هر دو ویروس، احتمال امکان در معرض بودن آن و هم‌چنین اتصال آن به پروتئین ملیتین بالاست.

*آنالیز تغییرات پس ترجمه‌ای*

در پروتئین‌های مورد بررسی، جایگاه‌های فسفریله شدن اسیدهای آمینه سرین و ترونین و تیروزین از طریق سایت‌های "NETPHOS" "DISPHOS" مشخص شد که در جدول شماره 7 بیان شد، که نتایج نشان دهنده جایگاه‌های متعددی برای پروتئین‌های مورد بررسی بود. در مورد پروتئین P24 در انواع ساب تایپ‌های ویروس HIV جایگاه‌های ۱۴۳، ۱۴۰، ۳۸، ۲۷و 172در همه ساب تایپ‌های این ویروس یافت شدند که نشان‌دهنده حفاظت شده بودن این نواحی می‌باشند و هم‌چنین نشان از اهمیت بالای آن‌ها در ساختار و عملکرد این پروتئین

[ Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-10-12 ]

دارد. هم‌چنین جایگاه‌های اتصال قند به پروتئین به‌وسیله سایت‌های "NETGLYCO" و "GLYCOEP" مشخص شدند. نتایج نشان دهنده دوجایگاه اتصال قند(207،145) به پروتئین P24 ویروس SIV بود. در ضمن تفاوت در جایگاه اتصال قند در پروتئین P24 ساب تایپ‌های مختلف ویروس HIV مشاهده شد، که نشان‌دهنده تاثیر موتاسیون‌های بر جایگاه اتصال قند در پروتئین P24 این ویروس است، در حالی که این موتاسیون‌ها هیچ تاثیری بر جایگاه‌های اتصال قند در پروتئین P24 ویروس SIV نداشتند. با توجه به تاثیر فرایند گلیکوزیلاسیون بر پیکربندی سه بعدی یک پروتئین و در نهایت تاثیر آن روی برهم‌کنش پروتئین با پروتئین، تفاوت در جایگاه اتصال قند به پروتئین P24 در دو ویروس HIV و SIV می‌تواند بیانگر تفاوت در نوع و قدرت اتصال این پروتئین با پروتئین ملیتین باشد. بررسی پروتئین ملیتین نشان داد که هیچ تغییر پس ترجمه‌ای در این پروتئین وجود ندارد.

نتایج سایت‌های بررسی‌کننده جایگاه پیوند دی‌سولفید نشان‌دهنده دو جایگاه پیوند دی‌سولفید است که در پروتئین ملیتین این پیوند وجود نداشت، ولی در پپتید P24 دو پیوند مشخص شد که در جدول شماره 7 نشان داده‌شده است. در پپتید HIV در جایگاه 212 در همه انواع آن موتاسیون S به C اتفاق افتاده است و همین باعث ایجاد پیوند دی‌سولفیدی در آن‌ها شده است.

*پیش‌بینی ساختار دوم*

تجزیه و تحلیل داده‌ها مشخص کرد که بیش‌ترین ساختار پروتئین ملیتین به ترتیب آلفاهلیکس و بتا ترن است و پروتئین P24 SIV آلفا هلیکس و رندوم کویل است و هم‌چنین تجزیه وتحلیل توالی‌های پروتئین P24 HIV نشان داد که بیش‌ترین ساختار این پروتئین به ترتیب الفاهلیکس و رندم کویل است. وجود جایگزینی‌ها در توالی HIV A1 باعث تغییر در ساختار دوم شده است (جدول شماره 8).

**جدول شماره 6 :** نتایج "Protparam" پروتئین P24 و پروتئین ملیتین نشان داده شده است، که شامل وزن مولکولی، pI، نیمه عمر پروتئین، پایداری و خواص آبگریزی این دو پروتئین می‌باشد

| Protparam | P24 (SIV) | ملیتین (فلورنا) | ملیتین(سرنا) | ملیتین (ملیفرا) | P24 ( Reference HIV) | P24 (HIV subtype A) | P24 (HIV subtype B) | P24 (HIV subtype AD) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| وزن مولکولی (دالتون) | 25732 | 2819 | 2817 | 2847 | 2397 | 23617 | 23657 | 23615 |
| نقطه ایزوالکتریک | 6/14 | 11/33 | 12/02 | 12/02 | 5/86 | 5/61 | 5/63 | 5/44 |
| نیمه عمر پروتئین | 20 ساعت در رتیکولوسیت های پستانداران | 30 ساعت در رتیکولوسیت های پستانداران | 30 ساعت در رتیکولوسیت های پستانداران | 30 ساعت در رتیکولوسیت های پستانداران | 1 ساعت در رتیکولوسیت های پستانداران | 1 ساعت در رتیکولوسیت های پستانداران | 1 ساعت در رتیکولوسیت های پستانداران | 1 ساعت در رتیکولوسیت های پستانداران |
| | 20 ساعت در مخمر | 20 ساعت در مخمر | 20 ساعت در مخمر | 10 ساعت در مخمر | 10 ساعت در مخمر | 10 ساعت در مخمر | 10 ساعت در مخمر | 10 ساعت در مخمر |
| | 10 ساعت در باکتری *E.coli* | 10 ساعت در باکتری *E.coli* | 10 ساعت در باکتری *E.coli* | 10 ساعت در باکتری *E.coli* | 10 ساعت در باکتری *E.coli* | 10 ساعت در باکتری *E.coli* | 10 ساعت در باکتری *E.coli* | 10 ساعت در باکتری *E.coli* |
| شاخص ناپایداری | ناپایدار | پایدار | ناپایدار | ناپایدار | ناپایدار | ناپایدار | ناپایدار | ناپایدار |
| شاخص آلیفاتیک | 82/6 | 138/85 | 135 | 135 | 79/62 | 84/25 | 80 | 82/41 |
| شاخص آب گریزی | -0/44 | -0/308 | 0/288 | 0/273 | -0/393 | -0/306 | -0/35 | -0/295 |
| تعداد اسید های آمینه | 230 | 26 | 26 | 26 | 212 | 212 | 212 | 212 |

**جدول شماره 7:** نتایج بررسی جایگاه‌های فسفوریلاسون و گلیکوزیلاسیون و پیوندهای دی‌سولفید پروتئین P24 ویروس‌های SIV وHIV نشان داده شده‌اند

| فسفوریلاسیون | P24 (SIV) | P24(HIV subtype A) | P24(HIV subtype B) | P24(HIV subtype AD) |
|---|---|---|---|---|
| سرین | 107-170-162-100-98-43-15 | -177-143-140-96-38-27-10 | 172-143-140-96-38-27 | 172-143-140-96-38-27-10 |
| ترئونین | 176-108-106-47 | 104-42 | 204-165-42 | 165-104-42 |
| تیروزین | 163-168-49 | | | |
| گلیکوزیلاسیون | 207-145 | 103-96-8 | 101 | 101 |
| باندهای دی سولفید | 207-197و 217-140 | 212-192 | 212-192 | 212-192 |

**جدول شماره 8:** نتایج بررسی ساختار دوم در پروتئین ملیتین در سه گونه زنبور عسل و همچنین پروتئین P24 در ویروس HIV و SIV نمایش داده شده است

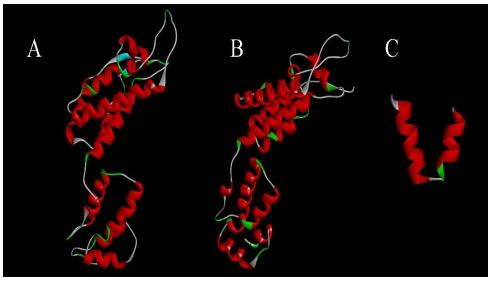
| SOPMA | P24 (SIV) | ملیتین (فلورنا) | ملیتین(سرنا) | ملیتین (ملیفرا) | P24(HIV subtype A) | P24(HIV subtype B) | P24(HIV subtype AD) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| مارپیچ آلفا (درصد) | 47/39 | 46/15 | 50 | 53/8 | 53/30 | 51/42 | 53/77 |
| رشته ممتد (درصد) | 12/17 | 19/23 | 11/50 | 7/70 | 8/49 | 10/85 | 9/43 |
| چرخش بتا (درصد) | 8/70 | 19/3 | 23 | 26/90 | 10/85 | 8/49 | 8/49 |
| پیچ تصادفی (درصد) | 31/74 | 15/38 | 15/40 | 11/50 | 27/36 | 29/25 | 28/30 |

[ Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-10-12 ]

در تمام موارد قسمت اصلی پروتئین‌های مورد بررسی شامل مارپیچ آلفا می‌باشد. بررسی ساختار دوم نشان‌دهنده تفاوت ساختار پروتئین ملیتین در سه گونه زنبور عسل می‌باشد که به علت وجود تغییرات در سطح اسید آمینه این پروتئین است. در حالی که درصد پیچ آلفا در ملیفرا در حدود 53/8 می‌باشد این میزان به 50 درصد در سرنا و هم‌چنین 46 درصد در فلورئا کاهش یافته و این تغییرات در ساختار می‌تواند بر برهم‌کنش این پروتئین‌ها با پروتئین P24 تاثیر گذار باشند. هم‌چنین بررسی ساختار دوم در پروتئین P24 ویروس SIV و سه ساب تایپ ویروس HIV نشان‌دهنده تاثیر تغییرات در سطح اسیدها آمینه بر ساختار این پروتئین است که این امر نیز می‌تواند بر برهم‌کنش آن با پروتئین ملیتین موثر باشد.

*ساختار سوم (3D)*

ساختار نهایی پروتئین P24 دو ویروس SIV و HIV و هم‌چنین ملیتین درتصویر شماره 1 نمایش داده شد. جدول شماره 9 نشان‌دهنده نتایج بررسی کیفیت ساختارهای سوم پروتئین‌های ملیتین و ساختار سوم پروتئین P24 در دو ویروس HIV و SIV به‌وسیله برنامه‌های QMEAN و RAMACHANDRAN PLOT است. این تصویر نمایش‌دهنده ساختارهای نهایی سه پروتئین مورد بررسی در این مطالعه می‌باشد. در هر سه پروتئین قسمت اعظم ساختار به صورت مارپیچ آلفا و قرمز رنگ نمایش داده شده است و دیگر ساختارها، صفحات بتا به صورت آبی رنگ، پیچ تصادفی به صورت سفید رنگ و چرخش بتا به صورت سبز رنگ به تصویر کشیده شده است.




**تصویر شماره1:** نتایج نهایی تعیین ساختار سوم پروتئین P24 در دو ویروس HIV و SIV و همچنین پروتئین ملیتین با استفاده از نرم‌افزار A.I-TASSER: پروتئین P24 ویروس SIV، B: پروتئین P24 ویروس HIV، و C: پروتئین ملیتین

**جدول شماره 9:** نتایج بررسی کیفیت ساختارهای سوم پروتئین‌های P24 و ملیتین با استفاده از روش‌های Ramachandran و QMEAN نشان داده شده است، که نشان‌دهنده کیفیت مناسب این ساختارهای پیشنهادی می‌باشد. با توجه با این‌که در نتایج نقشه Ramachandran در اکثر نمونه‌ها نزدیک به 90 درصد اسیدهای آمینه در منطقه مطلوب قرار گرفته‌اند و هم‌چنین امتیاز QMEAN نیز در اکثر نمونه‌های نزدیک به صفر است، لذا می‌توان نتیجه گرفت که این ساختارها از کیفیت بالایی برخوردار هستند

| | P24 (SIV) | P24 (HIV) | ملیتین (فلورئا) | ملیتین (سرنا) | ملیتین (ملیفرا) |
|---|---|---|---|---|---|
| تعداد اسید های آمینه در ناحیه مطلوب (درصد) | 87/3 | 93/3 | 83/3 | 91/7 | 91/7 |
| تعداد اسید های آمینه در ناحیه مجاز (درصد) | 9/6 | 5/7 | 16/7 | 8/3 | 8/3 |
| Qmean امتیاز | -3/4 | -2/07 | -1/13 | -1/15 | -0/93 |

*نتایج داکینگ*

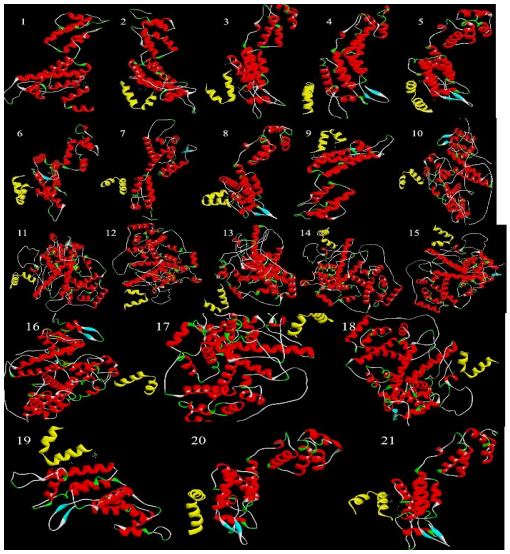
نتایج بررسی داکینیک برهم‌کنش پروتئین ملیتین از گونه‌های زنبور مورد بررسی و پروتئین P24 دو ویروس SIV و HIV در جدول شماره 10 نمایش داده شده است. با توجه به نتایج به‌دست آمده، به‌صورت کلی می‌توان نتیجه‌گیری کرد که پروتئین ملیتین اتصال قویی با پروتئین P24 هر دو ویروس مورد بررسی می‌تواند برقرار کند. پایدارترین برهم کنش (بالاترین انرژی برهم کنش) مربوط به پروتئین P24 ویروس HIV و ساب تایپ B و ملیتین گونه سرنا بود. نتایج برهم‌کنش ملیتین و P24 ویروس SIV نشان داد که، موتاسیون‌های مورد بررسی در توالی‌های موتانت تاثیر چندانی روی برهم‌کنش بین این دو پروتئین ندارند. به علاوه ساب تایپ‌های مختلف HIV نیز، برهم‌کنش‌های تقریبا مشابه‌ای با انواع ملیتین نشان دادند که این نتیجه می‌تواند بیان‌کننده آن باشد که منطقه اتصال بین دو پروتئین منطقه‌ای حفظ شده از لحاظ ژنتیکی و تکاملی باشد. باتوجه به انرژی‌های اتصال می‌توان نتیجه گرفت پروتئین ملیتین گونه سرنا به‌صورت کلی اتصال قوی‌تری با پروتئین P24 دو ویروس HIV و SIV بر قرار می‌کند و می‌تواند گزینه مناسب‌تری برای مهار این

[ Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-10-12 ]

پروتئین باشد. تصاویر برهم‌کنش بین پروتئین ملیتین و پروتئین P24 دو ویروس SIV و HIV در تصاویر شماره 2 نمایش داده شده است.

**جدول شماره 10:** نتایج برهم‌کنش‌های بین پروتئین ملیتین و دو پروتئین SIV و HIV بیان شده است. انرژی برهم‌کنش بین پروتیئن‌ها نشان‌دهنده اتصال قوی بین پروتئین‌های مورد بررسی بود و بیش‌ترین انرژی اتصال مربوط به پروتئین P24 ویروس HIV و پروتئین ملتین از زنبور عسل گونه سرنا بود.

| | ملیتین (فلورئا) | ملیتین(سرنا) | ملیتین (ملیفرا) |
|---|---|---|---|
| P24(SIV-mutant 117) | -355 | -350 | -367 |
| P24(SIV-mutant 159S) | -310/9 | -332 | -292 |
| P24(SIV-mutant 159X) | -368 | -385 | -369 |
| P24(SIV توالی مرجع) | -339/9 | -378 | -371/3 |
| P24(HIV subtype AD) | -409/1 | -379/9 | -361/3 |
| P24(HIV subtype A) | -393/9 | -411/2 | -397/8 |
| P24(HIV subtype B) | -357 | -417/3 | -377/8 |



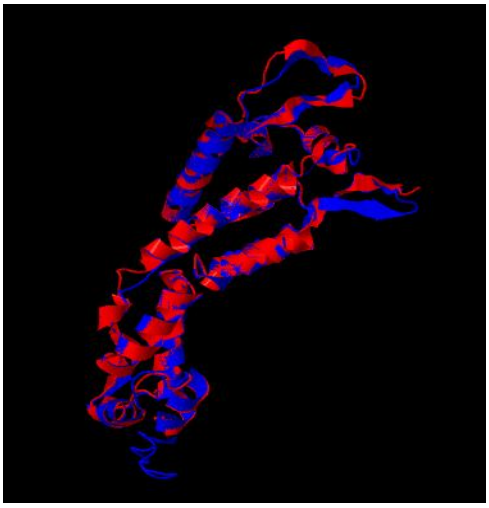

**تصویر شماره 2:** نتایج داکینگ پروتئین‌های ملیتین و P24، 1: موتانت 117 با ملیتین (فلورئا)، 2: موتانت 117 با ملیتین (سرنا)، 3: موتانت 117 با ملیتین (ملیفرا) 4: موتانت 159s با ملیتین (فلورئا)، 5: موتانت 159s با ملیتین (سرنا)، 6:موتانت 159s با ملیتین (ملیفرا)، 7: موتانت 159x با ملیتین (فلورئا)، 8: موتانت 159x با ملیتین(سرنا)، 9: موتانت 159x با ملیتین(ملیفرا)، 10: P24 (AD) با ملیتین (فلورئا)، 11: P24 (AD) با ملیتین (سرنا)، 12: P24 (AD) با ملیتین(ملیفرا)، 13: P24(A) با ملیتین (فلورئا)، 14: P24(A) با ملیتین(سرنا)، 15: P24 (AD) با ملیتین (ملیفرا)، 16: P24 (B) با ملیتین (فلورئا)، 17: P24 (B) با ملیتین (سرنا)، 18: P24 (B) با ملیتین (ملیفرا)، 19: P24(SIV) با ملیتین (فلورئا)، 20: P24(SIV) با ملیتین (سرنا)، 21: P24(SIV) با ملیتین(ملیفرا).

*نتایج دینامیک مولکولی*

برای بررسی دینامیک ابتدا بهینه‌سازی انرژی از لحاظ مولکولی انجام شد و پس از رسیدن به پایداری در حدود زمان‌های 4 تا 6 نانوثانیه انرژی پتانسیل همگرا شد. از معیار RMSD برای نشان دادن پایداری سیستم در بررسی‌های دینامیک مولکولی استفاده شد، که از زمان 6 نانو ثانیه این مقدار بسیار پایین و نزدیک به صفر (0/0014) بوده که نشان‌دهنده رفتار مناسب سیستم مولکولی می باشد.

بررسی‌های هم‌ترازی ساختار پروتئین‌های P24 دو ویروس SIV و HIV

و نتیجه هم‌ترازی پروتئین P24 دو ویروس HIV و SIV با استفاده از نرم‌افزار TM-align در تصویر شماره 3 نشان داده شد. TM-score در حدود 0/97 نشان‌دهنده آن است که هر دو پروتئین ازلحاظ فولدینگ و ساختار فضایی بسیار مشابه یکدیگر هستند.



**تصویر شماره 3:** نتیجه هم ترازی ساختار سوم پروتئین P24 در دو ویروس HIV و SIV نشان‌دهنده تشابه بسیار بالایی ساختار سوم و فولدینگ این پروتئین در این دو ویروس است. با توجه به تشابه ساختاری این دو پروتئین انتظار می روند روند برهم کنش مشابهی بین این دو پروتئین و پروتئین ملیتین وجود داشته باشد. رنگ آبی پروتئین P24 در ویروس SIV و رنگ قرمز نشان‌دهنده پروتئین P24 در ویروس HIV می‌باشد.

[ Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-10-12 ]

## بحث

هرچند گونه‌های متعدد زنبورعسل در مناطق مختلف جهان یافت شده‌اند اما سه گونه Apis cerana، Apis mellifera، و Apis Florea از گونه‌های با گستره بالا در جهان می‌باشند و در این مطالعه نیز ملیتین مرتبط با این سه گونه موردبررسی قرار گرفتند. Apis cerana به زنبورعسل آسیایی معروف است و در شرق ایران زندگی می‌کند(31). Apis mellifera که به زنبورعسل غربی معروف است اندازه متوسطی دارد و در زیستگاه‌ها و اقلیم‌های مختلفی زندگی می‌کند(32).

Apis Florea زنبور عسل کوچکی است که بیش‌تر در جنوب شرقی آسیا و خاورمیانه زندگی می‌کند(32). هرچند این سه گونه دارای جد مشترکی هستند ولی ازلحاظ توالی ملیتین تغییراتی دارند.

در سال 1970 اولین گزارش‌ها در مورد عملکرد زنبورعسل منتشر شد و بیان شد که بخشی از زهر زنبور که ملیتین نامیده می‌شود خاصیت ضد سرطانی و ضد میکروبی و هم‌چنین لیز سلولی دارد(33).

برای پروتئین ملیتین فعالیت‌های ضدویروسی متعددی بیان‌شده است، این پروتئین باعث تغییر فعالیت‌های درون‌سلولی شده که به‌صورت انتخابی تولید یک سری از پروتئین‌های ویروسی را کاهش می‌دهد. در دهه 90 میلادی قابلیت این پروتئین به‌عنوان یک ترکیب مکمل همراه با azidothymidine برای مهار عملکرد آنزیم reverse transcriptase ویروس ایدز تائید شد که توانست اثر مهاری بر رشد ویروس داشته باشد(13). هم‌چنین اخیراً این پروتئین در ساختاری از نانوذره‌ها به‌عنوان داروی موضعی برای مهار ویروس ایدز به‌کار رفته‌اند(34). در مطالعه حاضر مشخص شد نزدیک به 50 درصد ساختار ملیتین از آلفا هلیکس تشکیل شده است. هم‌چنین در ساختار سوم پیش‌بینی‌شده با نرم‌افزار I-Tasser وجود دو ساختار آلفا هلیکس به‌وضوح مشخص‌شده است.

Terwilliger و همکارانش ساختار ملیتین را با اشعه ایکس تجزیه وتحلیل کردند و مشخص شد که پروتئین ملیتین از چهار زنجیره پلی پپتیدی ساخته شده است که هر زنجیره شامل دو ساختار آلفا هلیکس است که با نتایج بررسی حاضر تشابه دارد(15).

در سال 2019، Ramirez و همکاران با استفاده از روش بیوشیمیایی NMR ساختار پروتئین ملیتین را مورد بررسی قرار دادند، مشابه با نتایج مطالعه حاضر، نتایج نشان دهنده ساختار مارپیچ آلفا و نیز پیچ تصادفی در این پرو تئین بود(35).

مشابه با نتایج مطالعه حاضر، Terwilliger و همکاران نیز خواص آب دوستی پروتئین ملیتین را با روش‌های کریستالوگرافی نشان دادند، هم‌چنین نتایج آن‌ها نشان‌دهنده ساختار مارپیچی این پروتئین نیز بود(36). به علاوه، دو مطالعه دیگر توسط دهقانی و همکاران و Ceremuga و همکاران با استفاده از نرم‌افزارهای بیوانفورماتیکی موید نتایج مطالعه حاضر در مورد ساختار و هم‌چنین خواص فیریکی وشیمیایی پروتئین ملیتین بود(37).

Shi و همکارانش در سال 2004 پایداری این پروتئین را در باکتری *E.coli* بررسی کردند و پایداری آن را در این میزان تائید کردند. دادهای ما نشان داد که هر دو پپتید Melittin و SIV P24 در سلول پستانداران و مخمر پایدارند اما پپتید HIV P24 در این میزبان‌ها پایدار نیست و در باکتری E.coli فقط پروتئین‌های Melittin و HIV P24 پایدار هستند(38).

Instability index پایداری پروتئین را در لوله آزمایش تخمین می‌زند که بر اساس یافته‌ها تمام پروتئین‌های بررسی‌شده در این مطالعه در لوله آزمایش ناپایدارند به‌جز یکی از گونه‌های پپتید ملیتین از گروه فلورا که پایداراست. این پپتید توالی آمینواسیدی متفاوتی نسبت به دو نوع ملیتین دیگر دارد و همچنین پایداری پپتید HIV AD35 نسبت به گونه‌های دیگر HIV بیش‌تر است و این بررسی‌ها نشان می‌دهد که ملیتین استخراج‌شده از Apis Florea مناسب برای بررسی‌های آزمایشگاهی است.

[ Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-10-12 ]

Aliphatic index عاملی است که پایداری یک پروتئین را در دماهای بالا نشان می‌دهد و بر اساس یافته‌ها تمام پروتئین‌ها در دمای بالا پایدارند که پایداری فلورا نسبت به دیگرگونه‌های ملیتین و پپتید HIV 1A نسبت به گونه‌های دیگر HIVپایدارتر است.

نتایج پیش‌بینی جایگاه‌های تغییرات پس ترجمه‌ای برای پروتئین P24 نشان می‌دهد جایگاه‌های متعددی تحت تأثیر این فرایندها قرارگرفته‌اند. 14 آمینواسید به‌عنوان جایگاه‌های فسفوریلاسیون در پروتئین P24 ویروس SIV پیش‌بینی‌شده‌اند و همچنین در ویروس HIV حداقل 8 جایگاه تحت تأثیر این فرایند قرارگرفته است. مطالعات متعددی نشان می‌دهد که این فرایند در فرایند uncoating ویروس و تکثیر آن در سلول میزبان نقش بسیار حیاتی را بازی می‌کند. هم‌چنین آمینو اسید 101 در پروتئین P24 ویروس HIV و جایگاه‌های 145 و 207 در ویروس SIV جایگاه‌های فرایند گلکوزیلاسیون بودند. گلیکوزیلاسون نقش مهمی در بیماری‌زایی و توانایی ویروس در زنده ماندن در سلول دارد. پیوندهای دی سولفید یکی از اجزای مهم در تشکیل ساختار سوم پروتئین است و نیز نقش مهمی در عملکرد پروتئین‌های مختلف دارد، نتایج این مطالعه نیز نشان می‌دهد حداقل یک پیوند دی‌سولفید در پروتئین P24 ویروس HIV و دو پیوند دی‌سولفید درP24 ویروس SIV وجود دارد.

نتایج داکینگ بین پروتئین P24 در دو ویروس HIV و SIV با پروتئین ملیتین نشان داد پروتئین ملیتین با انرژی بالایی به این پروتئین در هر دو ویروس متصل می‌شود. موتاسیون در پروتئین P24 در ویروس SIV تاثیر چندانی در تغییر این اتصال ندارد و هم‌چنین پروتئین ملیتین در سه گونه زنبور با انرژی تقریبا مشابهی به پروتئین P24 دو ویروس SIV و HIV اتصال می‌یابد. به همین صورت پروتئین P24 در سه ساب تایپ مورد بررسی با انرژی تقریبا مشابهی به پروتئین ملیتین متصل می‌گردد. نتایج بررسی دینامیک مولکولی برهم کنش پروتئین‌های ملیتین و P24 نیز نشان‌دهنده پایداری مولکولی مناسب این برهم‌کنش‌ها بود و موید نتایج به‌دست آمده در داکینگ بود.

تحقیقات بر روی ویروس SIV همواره به عنوان تحقیقات بنیادی برای مهار ویروس ایدز در انسان مطرح بوده است و هر گونه موفقیت در مهار این ویروس در پریمات‌ها می‌تواند راهی برای درمان ویروس ایدز در انسان باشد. با توجه به تشابه ساختاری و ژنومی این دو ویروس، انتظار می‌رود مهارکنندگان تأثیر تقریباً مشابهی بر مهار این دو ویروس داشته باشند. با توجه به این پیش‌زمینه در این مطالعه با بررسی پروتئین اصلی کپسید، پروتئین P24، در دو ویروس SIV و HIV و بررسی تشابه این پروتئین از لحاظ توالی و هم‌چنین ساختاری، زمینه‌های متفاوتی برای مطالعه مهارکننده طبیعی ملیتین ایجاد شده است.

مطالعات متعددی نشان دهنده تاثیر مهاری پروتئین ملیتین بر روی پوشش ویروس ایدز بوده است. همچنین پشنهاداتی در مورد امکان تاثیر این پروتئین بر روی دیگر اجزای این ویروس ارائه شده است.

در این مطالعه به بررسی برهم‌کنش این پروتئین با پروتئین P24 که جزء مهمی از ساختار کپسید ویروس ایدز است، پرداختیم. نتایج نشان می‌دهد هرچند در سطح آمینو اسید تفاوت بالایی بین پروتئین P24 در این دو ویروس مشاهده می‌شود، اما ازلحاظ فولدینگ و ساختار سوم این دو پروتئین بسیار مشابه هستند که این امر می‌تواند تفسیری برای نتایج مشابه اتصال پروتئین ملیتین با این پروتئین در دو ویروس باشد.

با توجه به محدودیت نمونه‌های حیوانی برای تست‌های آزمایشگاهی ویروس ایدز بررسی هر مهارکننده‌ای بر روی ویروس SIV در پریمات‌ها می‌تواند الگوی مناسبی برای مهار ویروس ایدز ارائه دهد. لذا با توجه به نتایج این مطالعه، انتظار می‌رود استفاده از پروتئین ملیتین برای مهار ویروس SIV در پریمات ها نتایج قابل قبولی را در پی داشته باشد که به نوبه خود می‌تواند به‌عنوان راهکاری برای مهار ویروس ایدز نیز استفاده گردد.

[ Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-10-12 ]

## سپاسگزاری

این پژوهش با حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی شیراز انجام شد و بخشی از طرح مصوب (به شماره: 1396-01-21-16321) این دانشگاه می‌باشد. نویسندگان این مطالعه کمال تشکر از از مسئولین محترم دانشگاه علوم پزشکی شیراز را دارند.

## References

1. Miller RJ, Cairns JS, Bridges S, Sarver N. Human immunodeficiency virus and AIDS: insights from animal lentiviruses. J Virol 2000; 74(16): 7187-7195.
2. Sharp PM, Hahn BH. Origins of HIV and the AIDS pandemic. Cold Spring Harb Perspect Med 2011; 1(1): a006841.
3. D'arc M, Ayouba A, Esteban A, Learn GH, Boué V, Liegeois F, et al. Origin of the HIV-1 group O epidemic in western lowland gorillas. Proc Natl Acad Sci U S A 2015; 112(11): E1343-E1352.
4. Stephens EB ,Mukherjee S, Liu ZQ, Sheffer D, Lamb-Wharton R, Leung K, et al. Simian-human immunodeficiency virus (SHIV) containing the nef/long terminal repeat region of the highly virulent $SIV_{smm}$PBj14 causes PBj-like activation of cultured resting peripheral blood mononuclear cells, but the chimera showed No increase in virulence. J Virol 1998; 72(6): 5207-5214.
5. Ndung'u T, Lu Y, Renjifo B, Touzjian N, Kushner N, Pena-Cruz V, et al. Infectious simian/human immunodeficiency virus with human immunodeficiency virus type 1 subtype C from an African isolate: rhesus macaque model. J Virol 2001; 75(23): 11417-11425.
6. Williams KC, Burdo TH. HIV and SIV infection: the role of cellular restriction and immune responses in viral replication and pathogenesis. APMIS 2009; 117(5-6): 400-412.
7. Sun Y, Permar SR, Buzby AP, Letvin NL. Memory CD4+T-lymphocyte loss and dysfunction during primary simian immunodeficiency virus infection. J Virol 2007; 81(15): 8009-8015.
8. Frieden TR, Das-Douglas M, Kellerman SE, Henning KJ. Applying public health principles to the HIV epidemic. N Engl J Med 2005; 353: 2397-2402.
9. Dehghani A, Dehghani P, Dehghani B. HIV/AIDS Knowledge and Attitude among High School Students in Shiraz, Iran in 2015. J Midwifery Reprod Health 2017; 5(2): 897-903.
10. Behzad D, Zahra H, Tayebeh H, Parvin Afsar K. Subtype Classification by Polymerase and Gag Genes of HIV-1 Iranian Sequences Registered in the NCBI GenBank. Curr Proteom 2021; 18(2): 153-161.
11. Dehghani B,Dehghani A, Sarvari J. Knowledge and Awareness Regarding Hepatitis B, Hepatitis C, and Human Immunodeficiency Viruses Among College Students: A Report From Iran. Int Q Community Health Educ 2019; 41(1): 15-23.
12. Heinen TE, da Veiga ABG. Arthropod venoms and cancer. Toxicon 2011; 57(4): 497-511.
13. Moreno M, Giralt E. Three valuable peptides from bee and wasp venoms for therapeutic and biotechnological use: melittin, apamin and mastoparan. Toxins 2015; 7(4): 1126-1150.
14. Cornara L, Biagi M, Xiao J, Burlando B. Therapeutic properties of bioactive compounds from different honeybee products. Front Pharmacol 2017; 8: 412.
15. Terwilliger TC, Weissman L, Eisenberg D. The structure of melittin in the form I crystals and its implication for melittin's lytic

[ Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-10-12 ]

and surface activities. Biophys J 1982; 37(1): 353-361.

16. Dehghani B, Hasanshahi Z, Hashempour T. HIV Capsid and Protease, New Targets of Melittin. Int J Pept Res Ther 2020; 26: 2057-2065
17. Fujii G ,Horvath S, Woodward S, Eiserling F, Eisenberg D. A molecular model for membrane fusion based on solution studies of an amphiphilic peptide from HIV gp41. Protein Sci 1992; 1(11): 1454-1464.
18. Apellániz B, Ivankin A, Nir S, Gidalevitz D, Nieva JL. Membrane-proximal external HIV-1 gp41 motif adapted for destabilizing the highly rigid viral envelope. Biophys J 2011; 101(10): 2426-2435.
19. Memariani H, Memariani M, Moravvej H, Shahidi-Dadras M. Melittin: a venom-derived peptide with promising anti-viral properties. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2020; 39(1): 5-17.
20. Hood JL, Jallouk AP, Campbell N, Ratner L, Wickline SA. Cytolytic nanoparticles attenuate HIV-1 infectivity. Antivir Ther 2013; 18(1): 95-103.
21. Wachinger M, Kleinschmidt A, Winder D, von Pechmann N, Ludvigsen A, Neumann M, et al. Antimicrobial peptides melittin and cecropin inhibit replication of human immunodeficiency virus 1 by suppressing viral gene expression. J Gen Virol 1998; 79(Pt 4): 731-740.
22. Walker JM. The proteomics protocols handbook. Berlin: Springer; 2005.
23. Dehghani B, Hashempour T, Hasanshahi Z, Rasooli I. Immunogenicity, antigenicity and epitope mapping of Salmonella InvH protein: An in silico study. J Curr Biomed Rep 2020; 1(2): 81.
24. Ferrè F, Clote P. DiANNA 1.1: an extension of the DiANNA web server for ternary cysteine classification. Nucleic Acids Res 2006; 34(suppl_2): W182-W185.
25. Iakoucheva LM, Radivojac P, Brown CJ, O'Connor TR, Sikes JG, Obradovic Z, et al. The importance of intrinsic disorder for protein phosphorylation. Nucleic Acids Res 2004; 32(3): 1037-1049.
26. Blom N, Gammeltoft S, Brunak S. Sequence and structure-based prediction of eukaryotic protein phosphorylation sites. J Mol Biol 1999; 294(5): 1351-1362.
27. Chauhan JS, Rao A, Raghava GP. In silico platform for prediction of N-, O-and C-glycosites in eukaryotic protein sequences. PloS One 2013; 8(6): e67008.
28. Gupta R, Jung E. Brunak. S. Prediction of N-glycosylation Sites in Human Proteins, 2004. Available from: http://www.cbs.dtu.dk/services/NetNGlyc/. Accessed May 2, 2021.
29. Hashempour T, Dehghani B, Musavi Z, Moayedi J, Hasanshahi Z, Sarvari J, et al. Impact of IL28 Genotypes and Modeling the Interactions of HCV Core Protein on Treatment of Hepatitis C. Interdiscip Sci 2020; 12(4): 424-437.
30. Dehghani B, Hasanshahi Z, Hashempour T, Motamedifar M. The possible regions to design Human Papilloma Viruses vaccine in Iranian L1 protein. Biologia (Bratisl) 2020; 75(5): 749-759.
31. Oldroyd BP, Wongsiri S. Asian honey bees: biology, conservation, and human interactions: London: Harvard University Press; 2009.
32. Gupta RK. Taxonomy and distribution of different honeybee species. In: Gupta RK, editors . Beekeeping for Poverty Alleviation and Livelihood Security. Berlin: Springer; 2014. p. 63-103.
33. Habermann E, Kowallek H. Modifications of amino groups and tryptophan in melittin as

[ Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-10-12 ]

an aid to recognition of structure-activity relationships. Hoppe Seylers Z Physiol Chem 1970; 351(7): 884-890.

34. Hood JL, Jallouk AP, Campbell N, Ratner L, Wickline SA. Cytolytic nanoparticles attenuate HIV-1 infectivity. Antivir Ther 2013; 18(1): 95-103.
35. Ramirez LS, Pande J, Shekhtman A. Helical Structure of Recombinant Melittin. J Phys Chem B 2019; 123(2): 356-368.
36. Terwilliger TC, Eisenberg D. The structure of melittin. I. Structure determination and partial refinement. J Biol Chem 1982; 257(11): 6010-6015.
37. Ceremuga M, Stela M, Janik E, Gorniak L, Synowiec E, Sliwinski T, et al. Melittin-A Natural Peptide from Bee Venom Which Induces Apoptosis in Human Leukaemia Cells. Biomolecules 2020; 10(2): 247.
38. Shi W, Cheng J, Zhang C. Expression of the melittin gene of Apis cerana cerana (Hymenoptera: Apidae) in insect cells. Eur J Entomol 2006; 103(4): 867-870.

[ Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-10-12 ]