ORIGINAL ARTICLE

Phylogenetic and In Silico Analysis of Interferon Beta-1b Protein

Seyed Ziaeddin Mirhoseini[1],
Zahra Pezeshkian[2],
Shahrokh Ghovvati[3]

[1] Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Guilan, Rasht, Guilan, Iran
[2] PhD Student in Molecular Genetics, Faculty of Agriculture, University of Guilan, Rasht, Guilan, Iran
[3] Assistant Professor, Department of Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Guilan, Rasht, Guilan, Iran

(Received August 8, 2016 ; Accepted December 26, 2016)

Abstract

Background and purpose: Interferon beta-1b recombinant protein is used for reducing the relapse rate and treatment in patients with Multiple sclerosis (MS). In this study, phylogenetic and in silico analysis of interferon beta-1b were conducted by servers and bioinformatics tools to predict its structural potential.

Materials and methods: Physiological and physico-chemical characteristics of interferon beta-1b protein were evaluated by ProtScale and ProtParam servers, respectively. The 3D structure of the interferon beta-1b protein and its interaction with other proteins were studied using Swiss-Model server and the STRING platform, respectively.

Results: The results of the phylogenetic analysis showed that the human interferon beta protein is closest to Daubenton's bat in the amino acid structure by 96%. The in silico analysis of interferon beta 1b protein implied the existence of signal peptide and lack of the transmembrane domain. The results of post-translational modification predictions showed that protein acetylation and phosphorylation may occur in some regions of interferon beta-1b protein. The analysis of the protein networking of interferon beta-1b revealed more interactions between this protein and interferon receptor 1 (IFNAR1) and interferon regulatory factor 3 (IRF3).

Conclusion: In Silico analysis showed that interferon beta-1b, is a protein with effective regulatory role but unstable in vitro. This bioinformatic analysis of interferon beta-1b protein can provide the groundwork for practical tests and future functional studies.

Keywords: interferon beta-1b, bioinformatics tools, multiple sclerosis, in silico analysis, protein-protein interaction.

J Mazandaran Univ Med Sci 2017; 26 (145): 70-82 (Persian).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-01]

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و ششم شماره ۱۴۵ بهمن سال ۱۳۹۵ (۸۲-۷۰)

تجزیه و تحلیل فیلوژنتیکی و آنالیز In Silico پروتئین اینترفرون بتا ۱ بی

سید ضیاءالدین میرحسینی[۱]
زهرا پزشکیان[۲]
شاهرخ قوتی[۳]

چکیده

سابقه و هدف: پروتئین اینترفرون بتا ۱ بی، جهت درمان بهبود دهنده بیماری MS و کاهش تعداد حملات در بیماران استفاده می‌گردد. روابط فیلوژنتیکی و آنالیز بیوانفورماتیکی پروتئین اینترفرون بتا ۱ بی به صورت In Silico با هدف پیش‌بینی پتانسیل ساختاری‌اش توسط سرورها و ابزارهای بیوانفورماتیکی معتبر مورد پیش بینی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: ویژگی‌های فیزیولوژیکی و فیزیکوشیمیایی پروتئین اینترفرون بتا ۱ بی نیز توسط سرورهای ProtScale و ProtParam مورد بررسی قرار گرفت. ساختار سه بعدی پروتئین اینترفرون بتا ۱ بی با استفاده از سرور Swiss-Model و اثرات متقابل آن با پروتئین‌های دیگر توسط پلت فرم STRING بررسی شد.

یافته‌ها: نتایج تجزیه و تحلیل درخت تکاملی نشان دادند که پروتئین اینترفرون بتای انسانی بیشترین قرابت را از لحاظ ساختار اسیدآمینه ای به میزان ۹۶ درصد به خفاش آبی دارد. نتایج بررسی In Silico ساختار پروتئین اینترفرون بتا ۱ بی، حاکی از وجود توالی راهنما و عدم وجود منطقه تراغشایی در این پروتئین بود. نتایج پیش بینی تغییرات پس از ترجمه نشان دادند که در مناطقی از این پروتئین امکان استیلاسیون و فسفریلاسیون محتمل می‌باشد. نتایج تجزیه و تحلیل شبکه پروتئینی نشان داد که بیش‌ترین تقابل بین پروتئین اینترفرون بتا ۱ بی و پروتئین گیرنده اینترفرون ۱ و فاکتور تنظیمی ۳ اینترفرون وجود دارد.

استنتاج: به طور کلی نتایج نشان دادند که پروتئین اینترفرون بتا ۱ بی، پروتئینی با نقش تنظیمی موثر اما ناپایدار در شرایط آزمایشگاهی است. آنالیزهای بیوانفورماتیکی انجام شده روی پروتئین اینترفرون بتا ۱ بی‌زمینه را برای مطالعات عملکردی آینده فراهم می‌کند.

واژه های کلیدی: اینترفرون بتا ۱ بی، ابزارهای بیوانفورماتیکی، اسکلروز چندگانه (MS)، آنالیز In Silico، اثر متقابل پروتئین- پروتئین

مقدمه

اینترفرون‌ها پروتئین‌های ترشحی هستند که موجب ایجاد یک حالت ضد ویروس در سلول‌های هدف خود می‌شوند(۱). آن‌ها متعلق به گروه بزرگی از پروتئین‌ها به نام سایتوکاین‌ها هستند، مولکول‌هایی که برای ارتباط بین سلول‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند تا موجب فعال نمودن دفاع حفاظتی سیستم ایمنی بدن شوند که منجر به ریشه کنی عوامل بیماری‌زا می‌شود(۲). اینترفرون بتا ۱ بی یک آنالوگ (۱۶۵ اسیدآمینه، ۱۸۵۰۰ دالتون) از

مولف مسئول: شاهرخ قوتی- رشت: کیلومتر ۵ بزرگراه خلیج فارس، دانشگاه گیلان E-mail: Ghovvati@guilan.ac.ir
۱. استاد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران
۲. دانشجوی دکتری تخصصی ژنتیک مولکولی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران
۳. استادیار، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران
تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۵/۱۸ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۵/۹/۱۶ تاریخ تصویب: ۱۳۹۵/۱۰/۶

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-01]

اینترفرون بتای انسانی می‌باشد که امروزه به صورت نوترکیب در سامانه باکتریایی تولید می‌شود. این پروتئین آنالوگ نوترکیب دارای مزایایی از قبیل عدم نیاز به گلیکوزیله شدن و بیان در سلول پستانداران می‌باشد. همچنین در موقعیت ۱۷ این پروتئین اسیدآمینه سرین جایگزین سیستئین شده است. با وجود چنین تفاوتی، این پروتئین نوترکیب به همان گیرنده‌های اینترفرون بتای طبیعی متصل می‌گردد(۳). دو نوع پروتئین اینترفرون بتا نوترکیب وجود دارد: اینترفرون بتا ۱ بی که اولین درمان بهبود دهنده بیماری اسکلروز چند گانه (MS[1]) بود که توسط سازمان غذا و دارو (FDA[2]) مورد تایید قرار گرفت(۴) و اینترفرون بتا ۱ آ که آن هم برای درمان MS با مشخصات دارویی بسیار مشابه مورد استفاده قرار می‌گیرد(۵). MS یک بیماری التهابی مزمن سیستم عصبی مرکزی است که بزرگسالان به خصوص جوانان را تحت تاثیر قرار می‌دهد. این بیماری از طریق وقوع عود کننده اختلالات عصبی ناشی از یک حمله خود ایمنی وابسته به سلول T علیه بافت‌های سیستم عصبی مرکزی مشخص می‌شود(۶). پروتئین اینترفرون بتا ۱ بی سبب کاهش تعداد حملات در بیمارانی می‌شود که مبتلا به اسکلروز چندگانه عود کننده هستند. به‌طور متوسط استفاده از همه تولیدات اینترفرون بتا باعث کاهش حدود یک سوم میزان عود سالانه در بیماران مبتلا به MS می‌شود. مشاهدات حاصل از MRI[3] نیز نشان دهنده ۵۰ تا ۷۰ درصد کاهش در فعالیت بیماری پس از مصرف این دارو بود(۷). مطالعات دیگری در زمینه استفاده زود هنگام اینترفرون بتا در مواردی از بیماری انجام شد که موجب تاخیر در اولین حمله بیماری و تبدیل آن به MS قطعی کلینیکی و نیز تاخیر در پیشرفت ناتوانی اعضا می‌شود(۸). تاکنون مطالعاتی در مورد بیان پروتئین اینترفرون بتا ۱ بی در باکتری اشرشیاکلی(۹)، پایدار سازی این پروتئین و عدم تشکیل توده در بدن(۱۰) و بررسی اثرات ایمیونوژنتیکی(۱۱) این پروتئین انجام شده است. بهره برداری از توانایی و پتانسیل بالقوه ابزارهای بیوانفورماتیکی یک استراتژی قدرتمند برای صرفه جویی در هزینه و وقت می‌باشد. هدف از این مطالعه تجزیه و تحلیل تکاملی پروتئین اینترفرون بتا در پستانداران و آنالیز In silico آن به منظور پیش بینی پتانسیل ساختاری پروتئین اینترفرون بتا ۱ بی توسط ابزارهای بیوانفورماتیکی بود.

مواد و روش ها

توالی‌ها و ترسیم درخت تکاملی

تمام توالی‌های پروتئین اینترفرون بتا مربوط به گونه‌های مختلف پستانداران شامل: Homo sapiens (AAC41702.1) (انسان)، Ailuropoda melanoleuca (ADN34671.1) (پاندا)، Bos Taurus (ABX72063.1) (گاو)، Canis lupus familiaris (ACI22684.1) (سگ)، Capra hircus (AFU82528.1) (بز)، Cricetulus griseus (EGV95888.1) (همستر چینی)، Equus caballus (CAA02145.1) (اسب)، Felis catus (ABL74243.1) (گربه)، Macaca mulatta (EHH24077.1) (میمون)، Macaca fascicularis (EHH57361.1) (میمون دم دراز)، Myotis daubentonii (AEZ67293.1) (خفاش آبی)، Sus scrofa (AAB22723.1) (گراز)، Mus musculus (P01575.1) (موش)، Ovis aries (AFU82527.1) (گوسفند)، Pteropus vampyrus (ADK11364.1) (خفاش میوه بزرگ)، Rousettus aegyptiacus (BAF37103.1) (خفاش میوه خوار مصری) و Panthera tigris altaica (ALJ03295.1) (ببر سیبری) از پایگاه داده NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov) با کدهای دسترسی که در پرانتز آمده است، به‌دست آمد. جهت بررسی روابط تکاملی و تفاوت ساختار اسید آمینه‌ای این پروتئین در

1. Multiple sclerosis
2. Food and Drug Administration
3. Magnetic Resonance Imaging

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-01]

انسان و سایر گونه‌ها، توالی پروتئین اینترفرون بتای گونه‌های مختلف توسط نرم افزار DNAMAN نسخه ۸ هم‌ردیف شدند و سپس درخت تکاملی ترسیم و فواصل ژنتیکی بررسی شد.

آنالیزهای بیوانفورماتیکی

توالی راهنمای پروتئین اینترفرون بتا ۱ بی توسط سرور SignalP 4.1 پیش بینی شد که مطمئن‌ترین ابزار با صحت ۸۷ درصد(۱۲) بین نرم‌افزارها و ابزارهای پیش بینی توالی راهنمای پروتئین‌ها و مناطق برش آن‌ها است. این سرور به آدرس http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP در دسترس می‌باشد(۱۵). جهت پیش‌بینی منطقه تراغشایی و جهت‌گیری‌های مرتبط با پروتئین اینترفرون بتا، از سرور TMpred به آدرس http://www.ch.embnet.org/software/TMPRED_form.html استفاده شد. سرور ProtScale در پلت فرم Expasy به آدرس (http://web.expasy.org/protscale/) جهت پیش بینی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی شامل آب دوستی، قابلیت دسترسی، قطبیت، انعطاف‌پذیری، تغییرپذیری و بزرگی پروتئین اینترفرون بتا ۱ بی به کار رفت. سایر پارامترهای مختلف فیزیولوژیکی و فیزیکوشیمیایی پروتئین اینترفرون بتا ۱ بی شامل وزن مولکولی، pI[1]، شاخص آلیفاتیک، شاخص ناپایداری و نیمه عمر پروتئین توسط سرور Protparam از پلت فرم expasy (http://web.expasy.org/protparam/) ارزیابی شد. تغییرات پس از ترجمه پروتئین اینترفرون بتا شامل جایگاه‌های مانوزیله شدن، گلیکولیزه شدن و فسفریله شدن توسط سرور CBS (http://www.cbs.dtu.dk/services) پیش بینی شد.

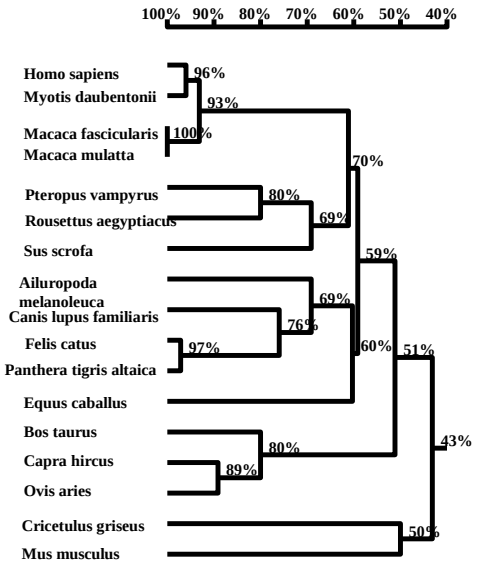
آنالیز اثر متقابل پروتئین- پروتئین اینترفرون بتا ۱ بی

مطالعه اثر متقابل پروتئین- پروتئین با استفاده از تکنیک شبکه ژنی و ابزار جستجوی بازیابی تعامل ژن‌ها و پروتئین‌ها (STRING[2] نسخه ۱۰) که یک پایگاه داده از اثرات متقابل پروتئینی شناخته و پیش‌بینی شده است، صورت گرفت (www. http://string-db.org). هم‌چنین ساختار سه بعدی پروتئین اینترفرون بتا ۱ بی با استفاده از سرور Swiss-Model پیش‌بینی شد.

یافته ها

توالی‌ها و بررسی درخت تکاملی

به منظور بررسی رابطه فیلوژنتیکی و تکاملی پروتئین اینترفرون بتای گونه‌های پستاندار مورد مطالعه، نمودار درختی با استفاده از توالی‌های همردیف شده اسید آمینه مربوط به آن‌ها، توسط نرم افزار قدرتمند DNAMAN نسخه ۸ رسم گردید (تصویر شماره ۱).



تصویر شماره ۱: نتایج درخت تکاملی رسم شده توسط نرم افزار DNAMAN. مقایسه رابطه تکاملی پروتئین اینترفرون بتای گونه ی انسان (Homo sapiens) با سایر گونه های پستاندار، که بیشترین نزدیکی ساختاری با گونه ی خفاش آبی (Myotis daubentonii) به میزان ۹۶ درصد و میمون (Macaca mulatta) و میمون دم دراز (Macac fascicularis) به میزان ۹۳ درصد و بیشترین فاصله ژنتیکی با گونه‌های همستر چینی (Cricetulus_griseus) و موش خانگی (Mus_musculus) به میزان ۵۰ درصد مشاهده شد

1. Isoelectric Point

2. Search Tool for the Retrieval of Interacting Genes/Proteins

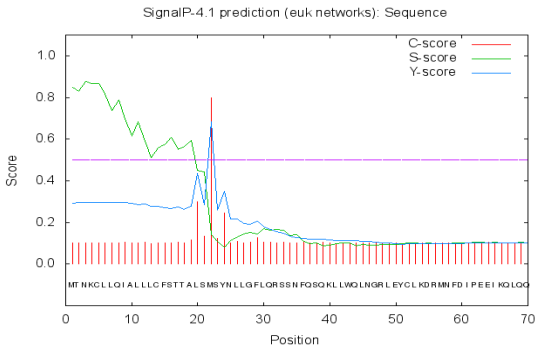
[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-01]

نتایج این آزمون نشان داد که توالی پروتئین اینترفرون بتا در گونه‌های پستانداران در طول زمان تقریباً حفاظت شده باقی مانده است. به نحوی که این اثر حفاظتی در گونه‌های نزدیک‌تر از نظر علم طبقه‌بندی زیست شناسی بیش‌تر بود. هم‌چنین این نتایج نشان دادند که پروتئین اینترفرون بتای انسانی به ترتیب بیش‌ترین نزدیکی را از لحاظ ساختار اسید آمینه‌ای به خفاش آبی (Myotis daubentonii) با ۹۶ درصد و میمون (Macaca mulatta) و میمون دم‌دراز (Macaca fascicularis) با ۹۳ درصد داشت. از طرفی نتایج بررسی درخت تکاملی هم‌چنین نشان دادند که بیشترین فاصله ژنتیکی و ساختاری پروتئین اینترفرون بتای انسانی با توالی اسید آمینه این پروتئین در گونه‌های همستر چینی (Cricetulus_griseus) و موش خانگی (Mus_musculus) حاصل گردیده است. به طوری که این پروتئین‌ها در دو گروه هاپلوتیپی مجزا قرار گرفته ولی با این وجود بخشی از ساختار آنها در طول فرآیند تکامل حفاظت شده باقی مانده است.

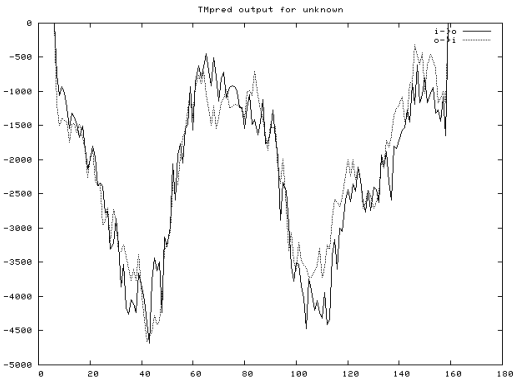
پیش بینی توالی راهنما و منطقه تراغشایی

توالی راهنمای اینترفرون بتا ۱ بی‌توسط سرور SignalP 4.1 پیش‌بینی شد (تصویر شماره ۲). خروجی‌های حاصل از این پیش بینی شامل نمره‌های C، S و Y بودند که مقادیر همه آن‌ها بالاتر از مقدار استاندارد (۰/۵) برای تشخیص یک توالی به عنوان توالی راهنما بود. همچنین در خروجی آنالیز انجام شده توسط این سرور، مقدار نمره D که معیار تمایز بین پروتئین‌های ترشحی و غیر ترشحی است، ۰/۶۷۹ بود. توالی های پروتئینی با نمره D بالاتر از ۰/۵ به احتمال زیاد توالی راهنما دارند(۱۳). بنابراین پروتئین اینترفرون بتا ۱ بی دارای توالی راهنما می‌باشد.

سپس منطقه تراغشایی پروتئین اینترفرون بتا ۱ بی توسط سرور TMpred پیش بینی شد. نتایج به دست آمده نشان دادند که تمامی مقادیر زیر صفر بودند و هیچ مارپیچ آلفای احتمالی از داخل به خارج یا از خارج به داخل غشا یافت نشد (تصویر شماره ۳). بنابراین این پروتئین فاقد منطقه تراغشایی می‌باشد.



تصویر شماره ۲: پیش بینی توالی راهنما توسط سرور SignalP. خروجی های سرور SignalP شامل مواردی زیر است: ۱- نمره‌ی C (C-score) که محل برش را شناسایی می کند (۰/۸۰۰)، ۲- نمره S (S-score) که موقعیت توالی راهنما را تشخیص می‌دهد (۰/۸۷۷)، ۳- نمره‌ی Y (Y-score) که مشتقی از نتایج نمره های C و S با پیش بینی دقیق‌تر محل‌های برش نسبت به نمره‌ی C خام است (۰/۶۸۵). نتایج حاکی از وجود توالی راهنما و محل برش بین اسیدآمینه موقعیت ۲۱ و ۲۲ با توالی ALS-MS بود. محور افقی نشان‌دهنده توالی اسید آمینه و محور عمودی نمره های پیش بینی شده توسط سرور است



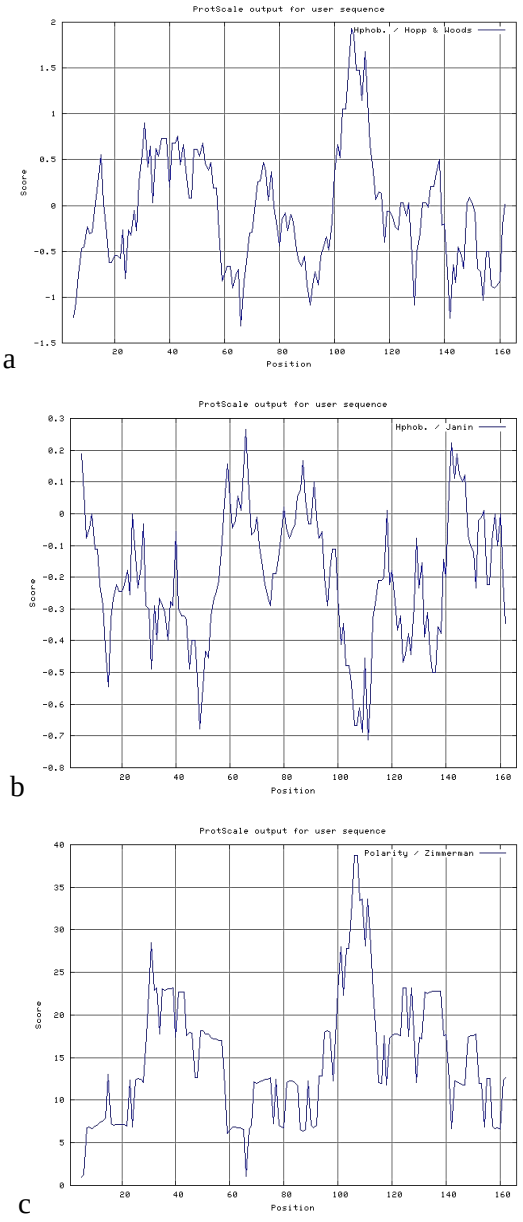
تصویر شماره ۳: پیش بینی منطقه تراغشایی پروتئین اینترفرون بتا ۱ بی توسط سرور TMPred. مارپیچ آلفا از داخل به خارج (i->o) و از خارج به داخل (o->i) مشاهده نشد و تمام مقادیر زیر صفر بود. در حالی که تنها مقادیر بالای ۵۰۰ به صورت معنی‌دار در نظر گرفته می‌شوند. محور افقی نشان دهنده توالی اسیدآمینه و محور عمودی مقادیر پیش بینی شده توسط سرور است

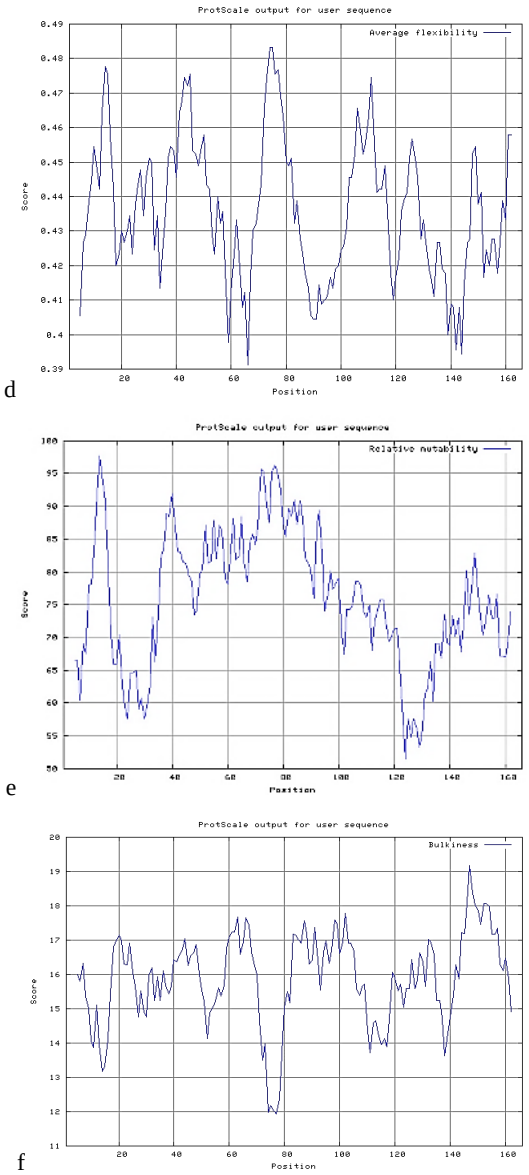
پیش‌بینی آب دوستی، قابلیت دسترسی، قطبیت، انعطاف پذیری، تغییر پذیری و بزرگی

به منظور بررسی برخی از پارامترهای بسیار مهم در مهندسی پروتئین و پروتئین‌های نوترکیب که شامل: آب دوستی، قابلیت دسترسی، قطبیت، انعطاف‌پذیری،

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-01]

تغییرپذیری و بزرگی پروتئین بود از سرور معتبر ProtScale که توسط پلت فرم Expasy ایجاد شده است برای آنالیز پروتئین اینترفرون بتا ۱ بی‌استفاده شد. نمره‌های بالاتر نشان‌دهنده احتمال بالاتری برای هر یک از پارامترهای پیش‌بینی شده مربوط به پروتئین اینترفرون بتا ۱ بی بود. نتایج تجزیه تحلیل به درستی نشان داد که کم‌ترین و بیش‌ترین مقادیر آب دوستی پروتئین اینترفرون بتا ۱ بی‌بین ۱/۳۱۱- برای موقعیت اسیدآمینه ۶۶ (ایزولوسین) و ۱/۹۳۳ برای موقعیت اسیدآمینه ۱۰۶ (لوسین) بود (تصویر شماره ۴-a).





تصویر شماره ۴: آب دوستی (a)، قابلیت دسترسی (b)، قطبیت (c)، انعطاف پذیری (d)، تغییرپذیری (e) و بزرگی (f) پروتئین اینترفرون بتا ۱ بی توسط سرور protscale. نمره‌های بالاتر نشان‌دهنده احتمال بالاتری برای هر یک از پارامترهای پیش بینی شده بود. محور افقی (Position) نشان‌دهنده موقعیت اسید آمینه ها در توالی پروتئین و محور عمودی نمره مربوط به هر پارامتر است

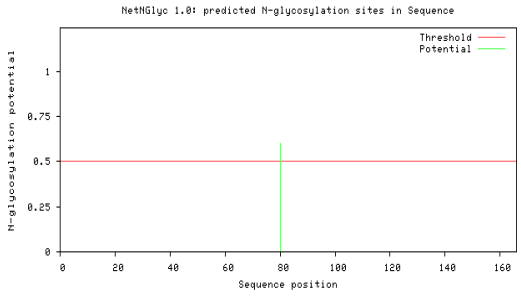
بررسی قابلیت دسترسی پروتئین اینترفرون بتا ۱ بی توسط مقیاس Janin که نشان‌دهنده انرژی آزاد انتقال از داخل به خارج یک پروتئین کروی است محاسبه گردید (تصویر شماره ۴-b).نتایج این آنالیز نشان دادند که کم‌ترین و بیش‌ترین میزان دسترسی برای این پروتئین بین ۰/۷۱۱- برای موقعیت اسیدآمینه ۱۱۱ (فنیل آلانین)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-01]

و ۰/۲۶۷ برای موقعیت اسیدآمینه ۶۶ (ایزولوسین) بود. هم‌چنین قطبیت پروتئین اینترفرون بتا ۱ بی نیز محاسبه گردید (تصویر شماره ۴-c). کم‌ترین و بیش‌ترین میزان قطبیت به ترتیب بین ۰/۹۸۱ برای اسیدآمینه موقعیت ۵ (لوسین) و ۳۸/۷۵۳ برای اسیدآمینه در موقعیت ۱۰۷ (اسیدگلوتامیک) بود. انعطاف پذیری پروتئین اینترفرون بتا ۱ بی نیز توسط شاخص میانگین انعطاف پذیری مورد آنالیز قرار گرفت (تصویر شماره ۴-d). نتایج این آزمون نشان داد که کم‌ترین و بیش‌ترین مقادیر مربوط به انعطاف‌پذیری پروتئین بین ۰/۳۹۱ برای اسیدآمینه موقعیت ۶۶ (ایزولوسین) و ۰/۴۸۳ برای اسیدآمینه موقعیت ۷۴ (سرین) متغیر بود. تغییر پذیری نسبی پروتئین اینترفرون بتا ۱ بی نیز مورد بررسی قرار گرفت (تصویر شماره ۴-e). نتایج این بررسی نشان دادند که کم‌ترین و بیش‌ترین مقادیر آن بین ۵۱/۴۴۴ برای اسیدآمینه موقعیت ۱۲۴ (آرژنین) و ۹۷/۶۶۷ برای اسیدآمینه موقعیت ۱۴ (آسپارژین) بود. آنالیز مقادیر بزرگی[1] (حجم) پروتئین اینترفرون بتا ۱ بی نشان داد که کمترین و بیشترین مقدار حجم به ترتیب بین ۱۱/۹۲۴ برای اسیدآمینه ۷۷ (ترئونین) و ۱۹/۱۸۱ برای اسیدآمینه موقعیت ۱۴۷ (آرژنین) متغیر بود (تصویر شماره ۴-f).

تغییرات پس از ترجمه

برای آنالیز ساختاری پروتئین اینترفرون بتا ۱ بی، پارامترهای مختلفی از تغییرات پس از ترجمه با استفاده از سرور CBS پیش‌بینی شد. ابتدا جایگاه استیلاسیون انتهای N توسط سرور NetAcet پیش‌بینی شد. نتایج این بررسی نشان دادند که یک واکنش استیلاسیون بر روی اسید آمینه سرین در موقعیت ۲ توالی با نمره ۰/۵۲۳ پیش‌بینی می‌شود. سپس جایگاه مانوزیلاسیون انتهای C توسط سرور NetCGlyc به صورت آنلاین پیش‌بینی شد. در این سرور برای هر اسیدآمینه تریپتوفان در توالی ورودی اطلاعاتی پیش‌بینی می‌شود که شامل نمره مانوزیلاسیون نیز می‌باشد. مانوزیلاسیون در مواردی رخ می‌دهد که مقدار پیش‌بینی شده این نمره بالاتر از ۰/۵ باشد. از بین ۳ اسیدآمینه‌ی تریپتوفان موجود در موقعیت‌های ۲۲، ۷۹ و ۱۴۳ توالی پروتئین اینترفرون بتا ۱ بی، هیچ‌کدام نمره بالاتر از ۰/۵ را کسب نکردند. بنابراین در این توالی جایگاه مانوزیلاسیون پیش‌بینی نشد. جایگاه گلیکوزیلاسیون متصل به انتهای N برای پروتئین اینترفرون بتا ۱ بی با استفاده از سرور NetNGlyc پیش‌بینی شد. نتایج نشان داد که فقط در جایگاه اسیدآمینه موقعیت ۸۰ (آسپارژین) پتانسیل گلیکوزیلاسیون به میزان ۰/۶۰۱۸ وجود دارد (تصویر شماره ۵). به‌طور موازی نیز از سرور NetOGlyc جهت پیش بینی جایگاه گلیکوزیلاسیون استیل گالاکتوزآمین متصل به انتهای (O-GalNAc) نوع تراوشه (mucin) در پروتئین اینترفرون بتا ۱ بی مورد استفاده قرار گرفت. نتایج نشان داد که نمره O گلیکوزیلاسیون در تمام جایگاه‌ها کمتر از ۰/۵ بوده و بنابراین جایگاهی برای O گلیکوزیلاسیون پیش بینی نشد.



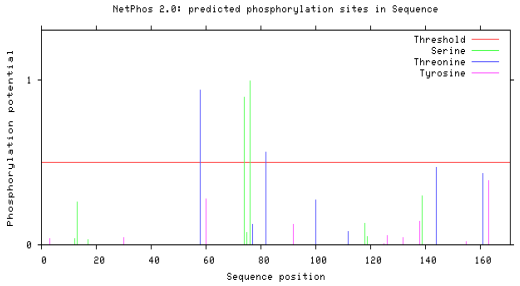
تصویر شماره ۵: جایگاه گلیکوزیلاسیون متصل به انتهای N پروتئین اینترفرون بتا ۱ بی توسط سرور NetNGlyc. نتایج آنالیز نشان داد که پتانسیل گلیکوزیلاسیون در جایگاه اسیدآمینه موقعیت ۸۰ به میزان ۰/۶۰۱۸ وجود دارد. محور افقی نشان‌دهنده موقعیت توالی اسیدآمینه و محور عمودی نشان‌دهنده پتانسیل گلیکوزیلاسیون متصل به انتهای N است.

هم‌چنین از سرور NetPhos جهت آنالیز و پیش‌بینی جایگاه‌های فسفریلاسیون عمومی پروتئین

1. Bulkiness

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-01]

اینترفرون بتا ۱ بی استفاده شد. نتایج این آزمون نشان دادند که ۲ جایگاه فسفریلاسیون سرین برای پروتئین اینترفرون بتا ۱ بی‌پیش‌بینی می‌گردد. این احتمال در اسیدآمینه موقعیت ۷۴ (سرین) نمره ۰/۸۹۵ و در اسید آمینه موقعیت ۷۶ (سرین) نمره‌ی ۰/۹۹۵ را به خود اختصاص داد. در این آزمون جایگاه‌هایی با نمره‌های بالاتر از ۰/۵ به عنوان جایگاه‌های محتمل برای فسفریلاسیون پیش بینی می‌شوند و هرچه این نمره‌ها بالاتر باشد، احتمال فسفریلاسیون بیش‌تر است(۱۴). هم‌چنین دو جایگاه برای فسفریلاسیون ترئونین در موقعیت اسیدآمینه ۵۸ با نمره ۰/۹۳۵ و موقعیت اسیدآمینه ۸۲ با نمره ۰/۵۶۳ پیش‌بینی شد (تصویر شماره ۶).



تصویر شماره ۶: تغییرات پس از ترجمه پروتئین اینترفرون بتا ۱ بی توسط سرور NetPhos. مقادیر بالاتر از حد آستانه (۰/۵) به عنوان جایگاه‌های محتمل برای فسفریلاسیون پیش بینی می‌شوند. دو جایگاه فسفریلاسون سرین و ودو جایگاه فسفریلاسیون ترئونین در شکل دیده می‌شوند.

پارامترهای فیزیولوژیکی و فیزیکوشیمیایی پروتئین اینترفرون بتا ۱ بی

سرور ProtParam جهت پیش‌بینی پارامترهای فیزیولوژیکی و فیزیکو شیمیایی مختلف مورد استفاده قرار گرفت. نتایج به‌دست آمده نشان دادند که وزن مولکولی پیش‌بینی شده ۲۰۰۱۱ دالتون (۲۰ کیلودالتون) و pH ایزوالکتریک تئوری آن ۹/۰۲ بود. فرمول خطی شیمیایی مربوط به پروتئین اینترفرون بتا ۱ بی به صورت $C_{908}H_{1408}N_{246}O_{253}S_6$ و تعداد کلی اتم‌های برآورد شده آن برابر با ۲۸۲۱ بود. شاخص ناپایداری تخمینی از ثبات پروتئین در شرایط لوله آزمایش فراهم می‌آورد. پروتئین با شاخص ناپایداری کوچک‌تر از ۴۰ به عنوان پایدار و مقادیر بالاتر از ۴۰ به عنوان پروتئین ناپایدار پیش‌بینی می‌گردند(۱۵). شاخص ناپایداری پیش‌بینی شده برای پروتئین اینترفرون بتا ۱ بی، ۵۳/۹۵ پیش‌بینی شد. نتایج این پیش‌بینی نشان می‌دهد که این پروتئین یک پروتئین ناپایدار تحت شرایط لوله آزمایش است. شاخص آلیفاتیک یک پروتئین به صورت حجم نسبی اشغال شده توسط زنجیره جانبی آلیفاتیک (آلانین، والین، ایزولوسین و لوسین) تعریف شده و نشان‌دهنده مقدار آب گریزی پروتئین است و یک عامل مثبت برای پایداری حیاتی پروتئین و ساختار سه بعدی آن محسوب می‌گردد. شاخص آلیفاتیک برای این پروتئین اینترفرون بتا ۱ بی ۹۴/۵۸ بود. میانگین نسبی آب دوستی یا آب‌گریزی (GRAVY[1]) پروتئین اینترفرون بتا ۱ بی نیز محاسبه شد. این میانگین از مجموع مقدار آب دوستی یا آب گریزی هر اسیدآمینه، تقسیم بر طول پروتئین به دست می‌آید و مقدارش برای این پروتئین ۰/۴۴۷- بود. نتایج به‌دست آمده بیانگر آبگریز بودن نسبی پروتئین اینترفرون بتا ۱ بی می‌باشد. همچنین نیمه عمر برآورد شده پروتئین اینترفرون بتا ۱ بی در سلول پستانداران در شرایط آزمایشگاهی ۳۰ ساعت، در مخمر کم‌تر از ۲۰ ساعت و در باکتری اشرشیاکلی کمتر ۱۰ ساعت برآورد گردید.

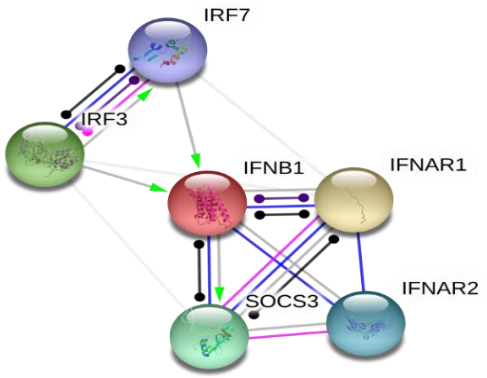
آنالیز اثر متقابل پروتئین- پروتئین برای پروتئین اینترفرون بتا ۱ بی

پلت فرم STRING یک پایگاه داده از اثرات متقابل پروتئین‌های شناخته شده و پیش‌بینی شده است. نتایج این تجزیه و تحلیل نشان داد که پروتئین اینترفرون بتا ۱ بی فعالیت ضد رشد و ضد ویروسی دارد. نتایج این آنالیز حاکی از این بود که پروتئین اینترفرون بتا ۱ بی در مرکز شبکه با پروتئین‌های گیرنده اینترفرون ۱، فاکتور تنظیمی ۳ اینترفرون، پروتئین سرکوبگر پیام رسان

1. Grand Average of Hydropathicity

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-01]

سایتوکاین ۳، گیرنده اینترفرون ۲ و فاکتور تنظیمی ۷ اینترفرون در ارتباط بوده و اثر متقابل دارد (تصویر شماره ۷). نتایج آنالیز شبکه نشان داد که بالاترین نمره همکاری برآورد شده در شبکه پروتئینی برابر ۰/۹۹۱ و مربوط به پروتئین‌های گیرنده اینترفرون ۱ و فاکتور تنظیمی ۳ اینترفرون بود (جدول شماره ۱).



تصویر شماره ۷: نتایج آنالیز اثر متقابل پروتئین- پروتئین برای پروتئین اینترفرون بتا ۱ بی توسط پلت فرم STRING. در این تصویر اثرات متقابل پیش بینی شده بین پروتئین اینترفرون بتا ۱ بی و سایر پروتئین های همکار مشاهده می‌شود. این پروتئین اثر تنظیمی را با اتصال به پروتئین‌های گیرنده اینترفرون ۱ (IFNAR1)، گیرنده اینترفرون ۲ (INFAR2) و پروتئین سرکوبگر پیام رسان سایتوکاین ۳ (SOCS3) اعمال می کند

جدول شماره ۱: هم گروه های عملکردی پیش بینی شده ی پروتئین اینترفرون بتا ۱ بی: نتایج پیش بینی، ارزیابی و امتیاز مترتب به پروتئین های همکار با پروتئین اینترفرون بتا ۱ بی در شبکه ژنی به صورت زیر حاصل گردیده است

پروتئین	نمره
گیرنده اینترفرون (آلفا، بتا و گاما) ۱ (IFNAR1)	۰/۹۹۱
فاکتور تنظیمی ۳ اینترفرون (IRF3)	۰/۹۹۱
پروتئین سرکوبگر پیام رسان سایتوکاین۳ (SOCS 3)	۰/۹۸۲
گیرنده اینترفرون (آلفا، بتا و گاما) ۲ (IFNAR2)	۰/۹۶۲
فاکتور تنظیمی ۷ اینترفرون (IRF7)	۰/۹۴۹

نتایج به دست آمده نشان دادند که پروتئین اینترفرون بتا علاوه بر همکاری و اثر متقابل بر سایر پروتئین‌ها، به صورت مستقیم به پروتئین‌های گیرنده اینترفرون ۱، گیرنده اینترفرون ۲ و پروتئین سرکوبگر پیام‌رسان سایتوکاین ۳ جهت اعمال اثر تنظیمی و فعال‌سازی آبشارهای پایین دستی متصل می گردد.

بحث

پروتئین اینترفرون بتا انسانی از خانواده پروتئینی سایتوکاین‌ها بوده و توسط القای ژن اینترفرون بتا در پاسخ به حضور عوامل خارجی نظیر ویروس‌ها، باکتری‌ها و حتی سلول‌های سرطانی در سلول‌های فیبروبلاست تولید می گردد(۱۶). اینترفرون بتا در حالت طبیعی به گیرنده اینترفرون متصل می‌شود. این گیرنده دارای دو بخش IFNAR1 و IFNAR2 است و مسیر سیگنال رسانی JAK/STAT[1] را فعال می کند که منجر به فسفریله شدن دو زیر واحد STAT1 و STAT2 می‌شود. این دو با هم دایمر تشکیل داده و با فاکتور تنظیمی اینترفرون (IRF3) همراه می‌شوند تا به عناصر مسئول تحریک اینترفرون در هسته باند شوند. این اتصال سبب فعال سازی ژن‌های تحریک‌کننده اینترفرون می‌شودکه سبب تولید محصولات ضد ویروسی، ضد تکثیری و ضد توموری می‌شود(۱۷).

در این مطالعه ساختار پروتئین اینترفرون بتا ۱ بی‌انسانی توسط ابزارهای بیوانفورماتیکی مورد بررسی قرار گرفت. توالی پروتئین اینترفرون بتای انسانی و سایر گونه‌ها هم‌ردیف شد و نتایج تجزیه و تحلیل درخت تکاملی حاکی از قرابت ژنتیکی توالی پروتئینی اینترفرون بتا خفاش آبی (۹۶درصد) به توالی پروتئین اینترفرون بتای انسانی بود. از نتایج آنالیز In Silico به‌دست آمده می‌توان چنین استنباط نمود که با بکارگیری دانش مهندسی ژنتیک و استفاده از تکنیک جدید ویرایش ژنوم، شاید بتوان در آینده حیوانات تراریختی تولید نمود که به عنوان یک بیوراکتور زنده در خدمت صنایع دارویی جهت تولید پروتئین نوترکیب اینترفرون بتای انسانی در سطح انبوه باشند. از آن‌جا که شباهت ژنتیکی ساختار پروتئینی آن تا حدود ۹۶ درصد

1. Janus kinase (JAK)/ Signal Transducer and Activator of Transcription (STAT)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-01]

می‌باشد، پیش‌بینی می‌گردد که این پروتئین نوترکیب هیچ اثر سمی و مضری برای حیوان تراریخت نخواهد داشت(۱۹،۱۸). به‌علاوه این‌که خفاش از پستانداران و یوکاریوت‌های پیشرفته می‌باشد که این امر زمینه پیچش و تاخوردگی مناسب و صحیح پروتئین را نیز فراهم می‌آورد(۲۱،۲۰). هم‌چنین این نتایج بیانگر این نکته است که امکان استفاده از این شباهت ساختاری برای ساخت و تولید سایر پروتئین‌های دارویی با استفاده از بیوراکتورهای زنده نیز وجود دارد. این امر مستلزم بررسی‌های بیوانفورماتیکی و انجام مطالعات In Silico بیش‌تر به منظور آشکارسازی این پتانسیل برای سایر پروتئین‌های دارویی می‌باشد. از دیگر نکات قابل توجه در تجزیه و تحلیل نتایج درخت تکاملی، نزدیکی و شباهت ژنتیکی ساختاری و تکاملی پروتئین اینترفرون بتا در گونه‌های هم‌خانواده بود به‌طوری‌که توالی اسید آمینه‌ای پروتئین اینترفرون بتا در درون خانواده گربه سانان، اسب سانان، نشخوارکنندگان و ... کمترین فاصله ژنتیکی را داشته و این امر موئید حفاظت توالی این پروتئین در طی دوره تکامل و اهمیت این پروتئین در سیستم ایمنی پستانداران می‌باشد. نتیجه‌ی آنالیز پلت فرم SignalP جهت یافتن توالی راهنما در توالی این پروتئین مثبت بود و نشان داده شد که پروتئین اینترفرون بتا ۱ بی به صورت طبیعی دارای توالی راهنما جهت هدایت این پروتئین است. طراحی، انتخاب و اتصال توالی راهنما مناسب جهت هدایت این پروتئین به مکان صحیح و به صورت ترشحی می‌تواند راه‌کاری در جهت بهره‌برداری از تولید این پروتئین نوترکیب در تحقیقات آینده باشد. از این رو استفاده از پتانسیل بالقوه ابزارهای بیوانفورماتیکی و بکارگیری دانش مهندسی ژنتیک به منظور انتخاب توالی‌های راهنمای مناسب و جایگزین نمودن آن با توالی راهنمای وحشی راهکاری قابل تأمل برای بیان پروتئین در سامانه پروکاریوتی می‌باشد. پیش‌بینی تغییرات پس از ترجمه حاکی از احتمال وقوع استیلاسیون در اسیدآمینه موقعیت ۲ پروتئین اینترفرون بتا ۱ بی و گلیکوزیلاسیون در موقعیت اسیدآمینه ۸۰ پروتئین اینترفرون بتا ۱ بی بود. البته به طور کلی پروتئین‌هایی که در سامانه‌های پروکاریوتی بیان می‌گردند بعید است که در معرض گلیکوزیلاسیون انتهای N قرار بگیرند. بنابراین حتی اگر شامل موتیف‌های با پتانسیل گلیکوزیلاسیون باشند، گلیکوزیله نمی‌شوند. اما این مشکل با بیان آنها در سامانه‌های یوکاریوتی برطرف خواهد شد(۲۲). پارامترهای فیزیکوشیمیایی مختلف پروتئین اینترفرون بتا ۱ بی توسط سرور ProtParam آنالیز شد. شاخص آلیفاتیک پروتئین اینترفرون بتا ۱ بی ۹۴/۵۸ بود. این مقدار شاخص آلیفاتیک یک فاکتور مثبت افزایش پایداری ساختار کروی پروتئین در برابر حرارت محسوب می‌گردد(۲۳). ۲ جایگاه فسفریلاسیون سرین و ۲ جایگاه فسفریلاسیون ترئونین در توالی این پروتئین پیش‌بینی شد. نتایج کلی حکایت از این داشت که پروتئین اینترفرون بتا ۱ بی در شرایط لوله آزمایش، پروتئینی ناپایدار است.

در حال حاضر کریستالوگرافی اشعه ایکس[1]، NMR[2] و cryo-EM[3] سه روش رایج برای تعیین ساختار سه بعدی پروتئین‌ها می‌باشند. اما تمام این روش‌ها به مقادیر زیادی از پروتئین با خلوص بسیار بالا نیاز دارند که این امر یکی از المان‌های محدودکننده استفاده از این روش‌ها برای تعیین ساختار سه بعدی پروتئین‌ها محسوب می‌گردد(۲۴). پیش‌بینی ساختار سه بعدی پروتئین‌ها با استفاده از توالی اسید آمینه یک روش سودمند جهت صرفه‌جویی در زمان و هزینه علاوه بر بستر سازی مناسب برای مهندسی پروتئین می‌باشد. شکل سه بعدی پروتئین اینترفرون بتا ۱ بی نیز بر اساس روش SWISS-MODEL شبیه‌سازی و ترسیم شد که مبتنی بر شبکه عصبی مصنوعی و استفاده از روش HMMS[4] بود(۲۶،۲۵). نتایج آزمون مدل‌سازی همولوژیک اینترفرون بتا ۱ بی در این مقاله نمایش داده نشده است.

1. X-ray crystallography
2. Nuclear magnetic resonance
3. Cryo-electron microscopy
4. Hidden Markov Models

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-01]

تقابل پروتئین اینترفرون بتای ۱ بی و پروتئین‌های دیگر بر اساس پلت فرم STRING مورد بررسی قرار گرفت. نتایج تجزیه تحلیل اثر متقابل پروتئین بر روی پروتئین نشان داد که بیش‌ترین تقابل بین پروتئین اینترفرون بتا ۱ بی و پروتئین گیرنده اینترفرون ۱ و هم‌چنین فاکتور تنظیمی ۳ اینترفرون وجود دارد، که اتصال به گیرنده‌های اینترفرون سبب فعال‌سازی مسیرهای سیگنال رسانی JAK/STAT شده و این فعال‌سازی خود به صورت سلسله مراتبی سبب فعال شدن حدود ۱۰۰ پروتئین سیستم ایمنی ضد ویروسی می‌گردد(۲۸،۲۷). فاکتور تنظیمی ۳ اینترفرون نقشی تنظیم‌کننده رونویسی پروتئین اینترفرون را دارد که فعالیت آن وابسته به پاسخ سیستم ایمنی بوده و نقش حیاتی در ایمنی ذاتی بر علیه DNA و RNA ویروسی بازی می‌کند(۳۱-۲۹). محصولات آبشار فعال سازی این پروتئین می‌توانند با راندمان مناسبی ژن‌های اینترفرون بتا و حتی آلفا را فعال نموده و به صورت غیر مستقیم سبب القای فعالیت ضد ویروسی از طریق مسیر مستقل MyD88 و TLR فعال شده شوند(۳۳،۳۲). به صورت کلی پروتئین اینترفرون بتا در مرکز شبکه به پروتئین‌های گیرنده اینترفرون ۱، پروتئین سرکوبگر پیام رسان سایتوکاین ۳ و گیرنده اینترفرون ۲ متصل می‌گردد و سبب فعال شدن همه پروتئین‌های مرتبط با آن می‌گردد. از آن‌جاکه همیشه کلیدی‌ترین پروتئین در مرکز شبکه قرار می‌گیرد این امر در مورد پروتئین اینترفرون بتا بیانگر نقش اصلی آن در فعال‌سازی پاسخ سیستم ایمنی می‌باشد. پروتئین‌های خانواده SOCS(Suppressor Of Cytokine Signaling) بخشی از یک سیستم بازخورد منفی کلاسیک هستند که سیستم تنظیم انتقال و هدایت سیگنال سایتوکاین را تشکیل می‌دهند. SOCS3 از طریق هدایت مسیر انتقال پیام JAK/STAT در تنظیم منفی سایتوکاین‌ها نقش دارد و حساسیت‌های آلرژیک را کاهش می‌دهد(۳۴).

به‌طورکلی و به صورت خلاصه اثرات محرک سیستم ایمنی اینترفرون بتا ۱ بی‌انسانی شامل: افزایش فعالیت سلول‌های T سرکوبگر، کاهش واکنش های پس التهابی تولید سیتوکاین (ضد التهابی)، کاهش بیان عرضه کننده‌های آنتی ژن، مهار و جلوگیری از انتقال لنفوسیت‌ها به سیستم عصبی مرکزی می‌باشد(۳۶،۳۵). در مجموع نتایج بررسی‌های بیوانفورماتیکی نشان دادند که پروتئین اینترفرون بتا ۱ بی پروتئینی ناپایدار، دارای توالی راهنما و فاقد منطقه تراغشایی است. هم‌چنین نتایج بررسی In Silico پیشنهاد نمودند که طراحی توالی راهنما مناسب برای افزایش ترشح این پروتئین دارویی می‌تواند منجر به افزایش کارایی تولید انبوه این دارو در سامانه‌های متداول پروکاریوتی گردد. تمامی نتایجی که از آنالیزهای بیوانفورماتیکی پروتئین اینترفرون بتا ۱ بی در این پژوهش حاصل شد می‌تواند زمینه مطالعات بیش‌تر برای انجام آزمایشات عملی در آینده بر روی این پروتئین را فراهم آورد.

سپاسگزاری

از معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه گیلان که امکانات پژوهشی و تجهیزات سخت افزاری لازم جهت پیشرفت تحقیق حاضر را تامین نمود و در اختیار محققان قرار داد، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌شود.

References

1. Arora D, Khanna N. Method for increasing the yield of properly folded recombinant human gamma interferon from inclusion bodies. J Biotechnol 1996; 52(2): 127-133.
2. Parkin J, Cohen B. An overview of the immune system. Lancet 2001; 357(9270): 1777-1789.
3. Goodkin DE. Interferon beta-1b. Lancet 1994; 344(8929): 1057-1060.
4. Marziniak M, Meuth S. Current perspectives on interferon Beta-1b for the treatment of multiple sclerosis. Adv Ther 2014; 31(9): 915-931.
5. Croze E, Yamaguchi KD, Knappertz V,

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-01]

Reder AT, Salamon H. Interferon-beta-1b-induced short- and long-term signatures of treatment activity in multiple sclerosis. Pharmacogenomics J 2013; 13(5): 443-451.

6. Kolb-Maurer A, Goebeler M, Maurer M. Cutaneous adverse events associated with Interferon-beta treatment of multiple sclerosis. Int J Mol Sci 2015; 16(7):14951-1460.
7. Farrell RA, Giovannoni G. Current and future role of Interferon beta in the therapy of multiple sclerosis. J Interferon Cytokine Res 2010; 30(10): 715-726.
8. Kappos L, Freedman MS, Polman CH, Edan G, Hartung HP, Miller DH, et al. Effect of early versus delayed interferon beta-1b treatment on disability after a first clinical event suggestive of multiple sclerosis: a 3-year follow-up analysis of the benefit study. Lancet 2007; 370(9585): 389-397.
9. Rao DV, Ramu CT, Rao JV, Narasu ML, Rao AK. Cloning, high expression and purification of recombinant human Intereferon-β-1b in Escherichia coli. Appl Biochem Biotechnol 2009; 158(1):140-154.
10. Mahjoubi N, Fazeli MR, Dinarvand R, Khoshayand MR, Fazeli A, Taghavian M, et al. Preventing aggregation of recombinant Interferon beta-1b in solution by additives: Approach to an albumin-free formulation. Adv Pharm Bull 2015; 5(4): 497-505.
11. Abdolvahab MH, Fazeli A, Radmalekshahi M, Nejadnik MR, Fazeli MR, Schellekens H. An albumin-Free formulation for Escherichia coli derived Interferon beta-1b with decreased immunogenicity in immune tolerant mice. J Interferon Cytokine Res 2016; 36(3): 192-203.
12. Bendtsen JD, Nielsen H, Von Heijne G, Brunak S. Improved prediction of signal peptides: SignalP 3.0. J Mol Biol 2004; 340(4): 783-795.
13. Petersen TN, Brunak S, von Heijne G, Nielsen H. SignalP 4.0: discriminating signal peptides from transmembrane regions. Nat Methods 2011; 8(10): 785-786.
14. Blom N, Gammeltoft S, Brunak S. Sequence- and structure-based prediction of eukaryotic protein phosphorylation sites. J Mol Biol 1999; 294(5): 1351-1362.
15. Gasteiger E, Hoogland C, Gattiker A, Duvaud S, Wilkins MR, Appel RD, et al. Protein identification and analysis tools in the ExPASy server. In: The Proteomics Protocols Handbook. Walker JM. Totowa: Humana Press; 2005. p. 571-607.
16. Ghane M, Yakhchali B, Khodabandeh M, Malekzadeh F. Design, construction, and expression of a synthetic β-Interferon (IFN-β) gene in E. coli. Pak J Biol Sci 2006; 9: 2922-2926.
17. Kasper LH, Reder AT. Immunomodulatory activity of interferon-beta. Ann Clin Transl Neurol 2014; 1(8):622-631.
18. Houdebine LM. Production of pharmaceutical proteins by transgenic animals. Comp Immunol Microbiol Infect Dis 2009; 32(2):107-121.
19. Wang Y, Zhao S, Bai L, Fan J, Liu E. Expression systems and species used for transgenic animal bioreactors. Bio Med Res Int 2013; 2013
20. Dalton AC, Barton WA. Over-expression of secreted proteins from mammalian cell lines. Protein Sci 2014; 23(5): 517-525.
21. Khan KH. Gene expression in mammalian cells and its applications. Adv Pharm Bull 2013; 3(2): 257-263.
22. Skoko N, Argamante B, Grujicic NK, Tisminetzky SG, Glisin V, Ljubijankic G. Expression and characterization of human interferon-beta1 in the methylotrophic yeast

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-01]

Pichia pastoris. Biotechnol Appl Biochem 2003; 38(3): 257-265.

23. Shen P, Zhang H, Su Z, Wang S, Xu H. In silico analysis of tumor necrosis factor alpha induced protein 8-like-1 (TIPE1) protein. PLoS ONE 2015; 10(7): e0134114.
24. Dorn M, MB ES, Buriol LS, Lamb LC. Three-dimensional protein structure prediction: Methods and computational strategies. Comput Biol Chem 2014; 53: 251-276.
25. Arnold K, Bordoli L, Kopp J, Schwede T. The SWISS-MODEL workspace: a web-based environment for protein structure homology modelling. Bioinformatics 2006; 22(2):195-201.
26. Kiefer F, Arnold K, Kunzli M, Bordoli L, Schwede T. The SWISS-MODEL Repository and associated resources. Nucleic Acids Res 2009; 37: 387-392.
27. Russell-Harde D, Wagner TC, Perez HD, Croze E. Formation of a uniquely stable type I interferon receptor complex by interferon beta is dependent upon particular interactions between interferon beta and its receptor and independent of tyrosine phosphorylation. Biochem Biophys Res Commun 1999; 255(2): 539-544.
28. Zhu F, Han B, Kumar P, Liu X, Ma X, Wei X, et al. Update of TTD: Therapeutic target database. Nucleic Acids Res 2010; 38: 787-791.
29. DeWitte-Orr SJ, Mehta DR, Collins SE, Suthar MS, Gale M, Jr, Mossman KL. Long double-stranded RNA induces an antiviral response independent of IFN regulatory factor 3, IFN-beta promoter stimulator 1, and IFN. J Immunol 2009; 183(10):6545-6553.
30. Fredericksen B, Akkaraju GR, Foy E, Wang C, Pflugheber J, Chen ZJ, et al. Activation of the interferon-beta promoter during hepatitis C virus RNA replication. Viral Immunol 2002; 15(1): 29-40.
31. Lin L, Pan S, Zhao J, Liu C, Wang P, Fu L, et al. HSPD1 interacts with IRF3 to facilitate interferon-beta induction. PLoS ONE 2014; 9(12): e114874.
32. Hiscott J. Triggering the innate antiviral response through IRF-3 activation. J Biol Chem .2007; 282(21): 15325-15329.
33. Seth RB, Sun L, Chen ZJ. Antiviral innate immunity pathways. Cell Res 2006; 16(2): 141-147.
34. Akhtar LN, Qin H, Muldowney MT, Yanagisawa LL, Kutsch O, Clements JE, et al. Suppressor of cytokine signaling 3 inhibits antiviral IFN-beta signaling to enhance HIV-1 replication in macrophages. J Immunol 2010; 185(4): 2393-2404.
35. Miller A, Lanir N, Shapiro S, Revel M, Honigman S, Kinarty A, et al. Immunoregulatory effects of interferon-beta and interacting cytokines on human vascular endothelial cells. Implications for multiple sclerosis autoimmune diseases. J Neuroimmunol 1996; 64(2):151-161.
36. Smith BT. Concepts in Immunology and Immunotherapeutics. 4th ed. Maryland ASHP; 2008.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-01]