

SID



سرویس های
ویژه



سرویس ترجمه
تخصصی



کارگاه های
آموزشی



بلاگ
مرکز اطلاعات علمی



سامانه ویراستاری
STES



فیلم های
آموزشی

کارگاه های آموزشی مرکز اطلاعات علمی جهاد دانشگاهی

دوره آموزشی

کارگاه آنلاین
بررسی مقابله ای متون (مقدماتی)

دوره آموزشی

کارگاه آنلاین
پروپوزال نویسی و پایان نامه نویسی

دوره آموزشی

کارگاه آنلاین آشنایی با پایگاه های اطلاعات علمی
بین المللی و
ترند های جستجو

کاربرد DNA به عنوان ادجوانت در واکسن

غلامرضا نیکبخت بروجنی*، ریحانه قربان پور، ندا برجسته

چکیده

در طبیعت موجودات زنده با پاتوژن‌ها یا میکروارگانیسم‌های مختلفی مواجه می‌شوند و برای ادامه حیات خود به شناسایی و مبارزه با این پاتوژن‌ها نیاز دارند. پاتوژن‌ها در ساختار خود ترکیباتی از قبیل لیپولی ساکارید، نوکلئیک اسید و لیپوپروتئین دارند که دستگاه ایمنی موجود زنده می‌تواند آنها را شناسایی کند. از این ساختارهای مولکولی با عنوان الگوهای مولکولی پاتوژن نام می‌برند. شناسایی الگوهای مولکولی پاتوژن توسط دسته‌ای از گیرنده‌های سلولی (TLR) انجام می‌شود. تا کنون ۱۴ نوع از این گیرنده‌ها شناسایی شده است و هر کدام از آن‌ها مسؤول شناسایی گروهی از الگوهای مولکولی پاتوژن هستند. TLR۹ یکی از این گیرنده‌ها است و وظیفه شناسایی DNA باکتری و ویروس را بر عهده دارد. تحریک این گیرنده موجب آزادسازی تعدادی از واسطه‌های ایمنی و فعال شدن سامانه ایمنی اکتسابی می‌شود. این گیرنده یک توالی دی‌نوکلئوتید غیر متبیله، یعنی CPG، را شناسایی می‌کند. امروزه نوع سنتتیک این توالی در تحقیقات ایمنی شناسی کاربرد‌های فراوانی یافته که از آن جمله می‌توان به کاربرد آن به عنوان ادجوانت واکسن‌ها اشاره کرد. به علاوه، دی‌نوکلئوتید CPG غیر متبیله می‌تواند پاسخ لنفوسیت‌های T را در برابر تومورها القاء و پاسخ‌های ایمنی سلولی را تنظیم کند و در نهایت، ایمنی هومورال را فعال سازد. واژه‌های کلیدی: جرایز CPG؛ رسپتور Toll-like؛ ادجوانت؛ ایمونولوژی

مقدمه

پپتیدوگلیکان‌ها و اسیدهای نوکلئیک و ویروس‌ها، پروتئین‌ها و گلیکولیپیدهای قارچ‌ها هستند، الگوهای مولکولی پاتوژن (PAMP) می‌گویند. چنین الگوهای مولکولی در ساختار تمام میکروارگانیسم‌ها وجود دارند و در نتیجه، برخی پیشنهاد می‌کنند تا به جای عبارت PAMPs از واژه الگوی مولکولی میکروبی (MAMP)^۱ استفاده شود (۱). گیرنده‌های شناخت الگوی (PRR)^۲ که مسؤول شناسایی PAMP‌ها هستند، به دو گروه عمده طبقه‌بندی می‌شوند (۲):

بدن موجود زنده، غیر از سدهای فیزیکی و شیمیایی، دارای دو دستگاه ایمنی ذاتی و اکتسابی است که از بدن در برابر پاتوژن‌ها محافظت می‌کنند. برای این مقابله ابتدا باید پاتوژن‌ها شناسایی شوند. مولکول‌های کوچکی در ساختار پاتوژن‌ها وجود دارند که توسط گیرنده‌های موجود در سامانه ایمنی ذاتی گیاهان و حیوانات شناسایی می‌شوند. به این مولکول‌ها که شامل لیپولی ساکاریدها، اسیدهای نوکلئیک و لیپوپپتیدهای باکتری‌ها،

1. Pathogen-Associated Molecular Pattern
2. Microbe-Associated Molecular Pattern
3. Pattern Recognition Receptors

* غلامرضا نیکبخت بروجنی

دانشیار دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران

تهران، خیابان آزادی، تقاطع خیابان قریب تلفن ۰۹۱۲۲۱۸۲۱۶۸ Email: nikbakht@ut.ac.ir

تاریخ دریافت: ۸۹/۵/۱۸ تاریخ پذیرش: ۸۹/۸/۱۰

با PAMP را بر عهده دارد و یک زنجیره داخل سلولی شامل Toll/IL-1 R (TIR) دارد که برهم کنش های پروتئینی-پروتئینی را تحریک می کند و به فعال شدن گروهی از پروتئین های تطبیق دهنده^۶ و عوامل آبشاری منجر می شود. پنج پروتئین، با نام های MyD88، TIRAP،^۷ TRIF،^۸ TRAM،^۹ و SARM^{۱۰} شناخته شده اند (۶ تا ۴).

چهار پروتئین اول در پیام TLR نقشی اساسی دارند و تعیین مسیر فعال شدن آبشاری وابسته به این است که کدام یک از پروتئین های تطبیق دهنده توسط TLR استفاده شود. MyD88 اولین پروتئین ضروری در القاء پیام آبشاری TLR است و در بافت میلوئیدی یافت می شود. MyD نشان دهنده فعالیت تمایز میلوئیدی و ۸۸ تعداد ژن های القاء کننده بیان پروتئین MyD88 است. به طور کلی، این پروتئین میانجی پیام همه TLRها، به غیر از TLR3، است. TRIF پروتئین تطبیق دهنده ناشی از فعال شدن TLR3 است (۷ و ۴، ۸). MyD88 و TRIF به فعال شدن عامل ترجمه هسته ای (NF-κB)^{۱۱} و MAPKs^{۱۲} منجر می شوند که حاصل آن بیان ژن سیتوکین های پیش التهابی است و از طرف دیگر، عامل تنظیم کننده اینترفرون ها^{۱۳} را نیز فعال می کنند که به القاء ترشح اینترفرون ها می انجامد (۷ و ۴، ۸) (شکل ۱). TLRها با این سازوکارها هر دو سامانه ایمنی ذاتی و اکتسابی را علیه پاتوژن ها فعال می کنند و در واقع پل ارتباطی سامانه ایمنی ذاتی و اکتسابی بدن هستند (۴).

TLR9 مسؤل شناسایی DNA باکتری و ویروس

نام دیگر گیرنده CD289، TLR9، است و ۱۱۵ تا ۱۲۰ کیلودالتون وزن دارد. RNA پیام رسان TLR9 در بافت های ایمنی بدن، مثل گره های لنفاوی، مغز استخوان، لکوسیت های خون محیطی و به خصوص طحال، بیان می شود (۱۰). در انسان گیرنده TLR9 فقط در لنفوسیت های B خاطرهای و سلول های دندریتیک پلاسمایی (pDC) وجود دارد، اما در موش ها بیان TLR9 در مونوسیت ها، ماکروفاژ ها و سلول های دندریتیک نیز دیده می شود. وظیفه TLR9 شناسایی DNA باکتری، مایکوباکتری، ویروس و حتی انگل ها است (۱۱).

DNA پروکاریوت ها از توالی های دی نوکلئوتیدی سیتوزین و گوانوزین

- ۱- PRRهای پیام رسان؛ مانند TLR^۴ و NLR^۵
- ۲- PRRهای داخل سلولی؛ مانند گیرنده مانوز در ماکروفاژ و گیرنده پاک سازی کننده در فاگوسیت ها.

TLRها

TLRها گروهی از پروتئین ها هستند که در سامانه ایمنی ذاتی بدن موجودات زنده نقش مهمی بر عهده دارند. این گیرنده ها برای اولین بار در سال ۱۹۸۵ در دروزوفیلا کشف شدند، اما در سایر موجودات زنده، شامل بی مهرگان و مهره داران، نیز یافت می شوند و مولکول های اصلی آن ها در باکتریها و گیاهان نیز موجود است (۳). تخمین می زند که پستانداران بین ۱۳ تا ۱۵ نوع TLR دارند. سیزده نوع از این گیرنده ها، شامل TLR1 تا TLR13، در انسان ها و موش ها شناسایی شده اند. این گیرنده ها در سلول های ایمنی بدن، مانند ماکروفاژها، سلول های دندریتیک، نوتروفیلها و مونوسیت ها بیان می شوند (۴).

به طور کلی، می توان TLRها را با توجه به لیگاند، به دو گروه تقسیم کرد (۴):

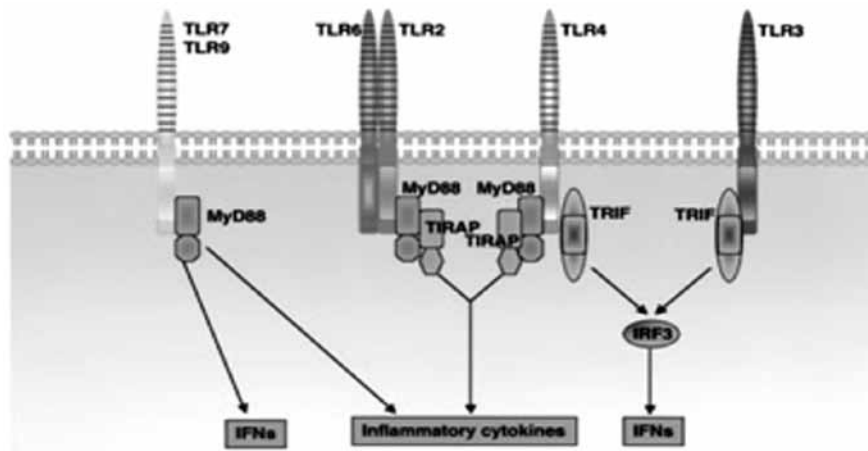
- ۱- گروه یک شامل TLR1، TLR2، TLR4، TLR6 است که PAMPها را از طریق لیپیدها شناسایی می کنند.
 - ۲- گروه دوم شامل TLR3، TLR7، TLR8، TLR9 است که PAMPها را از طریق اسیدهای نوکلئیک شناسایی می کنند.
- لیگاند TLR11 پروفیلین است و لیگاندهای TLR10، TLR12، TLR13 و TLR15 هنوز شناخته نشده اند (۳).

ژن کد کننده TLR10 در انسان و موش وجود دارد، ولی به نظر می رسد بیان آن در موش ها قبلاً توسط رتروویروس تخریب شده است. از سوی دیگر، ژن های TLR11، TLR12، TLR13 در موش ها کشف شده اند، ولی در انسان بیان نمی شوند. در سایر پستانداران نیز ممکن است TLRهایی بیان شوند که در انسان بیان نمی شوند و این موضوع استفاده پژوهشی از حیوانات را به عنوان نمونه ایمنی ذاتی انسانی پیچیده می سازد (۴). بیشتر TLRها روی غشاء سلول ها قرار دارند و به PAMPها متصل می شوند. تنها چهار گیرنده TLR3، TLR7، TLR8 و TLR9 داخل اندوزوم و درون سلول قرار دارند و مسؤل شناسایی و اتصال به اسید نوکلئیک پاتوژن ها هستند.

سازوکارهای حاصل از تحریک TLRها

هر پاتوژنی از PAMPهای مختلفی تشکیل شده است و می تواند یک یا چند TLR را فعال کند. هر پروتئین TLR از یک زنجیره خارج سلولی شامل توالی تکرار شونده لوسین تشکیل شده که وظیفه شناسایی و اتصال

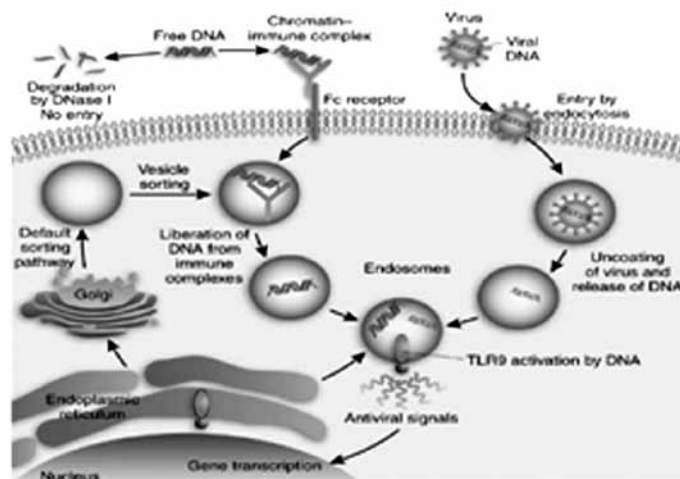
4. Toll-like Receptors
5. NOD-like Receptors
6. Adaptor Proteins
7. TLR Domain-containing Adaptor Protein
8. TIR Domain-containing Adapter-Inducing Interferon-β
9. TRIF-Related Adaptor Molecule
10. Sterile α and HEAT-Armadillo Motifs
11. Transcription Factor Nuclear Factor Kappa-B
12. Mitogen-Activated Protein Kinases
13. Interferon Regulatory Factor



شکل ۱: شرکت پروتئین های تطبیق دهنده در مسیر پیام رسانی TLR. پروتئین MyD88 جهت تولید سیتوکین های التهابی در پاسخ به تمام لیگاندهای TLR، به جز TLR3، ضروری است. پروتئین TIRAP برای تولید سیتوکین های التهابی وابسته به TLR2 و TLR4 ضروری است، ولی در مسیر پیام رسانی مستقل TLR4 شرکت ندارد. پروتئین TRIF جهت پیام رسانی TLR3 و نیز در مسیر پیام رسانی TLR4 غیر وابسته به MyD88 ضروری است. پروتئین های تطبیق دهنده دیگری نیز ممکن است در اثناء اینترفرون توسط سایر TLRها، مانند TLR7 و TLR9، شرکت داشته باشند (برگرفته از مرجع ۹).

از اتصال با CPG-DNA، می شوند. پیغام ها و سازوکارهایی که به این پیامد منجر می شود، هنوز کاملاً شناخته نشده اند (۱۲) (شکل ۲). TLR9 در سلول های اپیتلیوم، روی سطح و غشاء بازولترال، ظاهر می شود و بسته به جایگاه های مخصوص TLR9، پیام آن متفاوت است. تحریک TLR9 در غشاء بازولترال، هنگامی که در معرض DNA باکتریایی داخل لومن روده قرار می گیرد، به فعال سازی مسیر NF-κB منجر می شود، ولی تحریک TLR9 سطحی از فعالیت NF-κB با تجمع پروتئین های مهارکننده NF-κB ممانعت می کند. این خاصیت در سلول های اپیتلیوم روده ای باعث کنترل التهابات روده ای می شود (۴).

(CPG)، با فراوانی حدود ۲۰ برابر بیشتر از DNA یوکاریوت ها، تشکیل شده است. در ضمن، دی نوکلئوتید CPG در پروکاریوت ها غیر متیله و در یوکاریوت ها متیله است (۷). از طرف دیگر، DNA خودی پیش از ورود به داخل سلول، توسط آنزیم DNase I تجزیه می شود و وارد سلول نمی شود. در سلول های غیرفعال ایمنی، TLR9ها در شبکه رتیکولواندوپلاسمیک تجمع می یابند. با فعال شدن سلول، TLR9 به سمت بخش های اندوزومی و لیزوزومی می رود و در آنجا با CPG-DNA اندوسیتوز شده، در pH اسیدی (که به نظر می رسد برای شناسایی DNA ضروری است) واکنش می دهد (۴). بنابراین ترکیباتی مانند کلروکین و بافیلومایسین A₁، که اسیدی بودن اندوزوم را بر هم می زنند، سبب جلوگیری از فعالیت TLR9، پس



شکل ۲: TLR9 در شبکه رتیکولواندوپلاسمیک متمرکز می شود و بعد از فعال شدن سلول به بخش های لیزوزومی و اندوزومی می رود (۱۲).

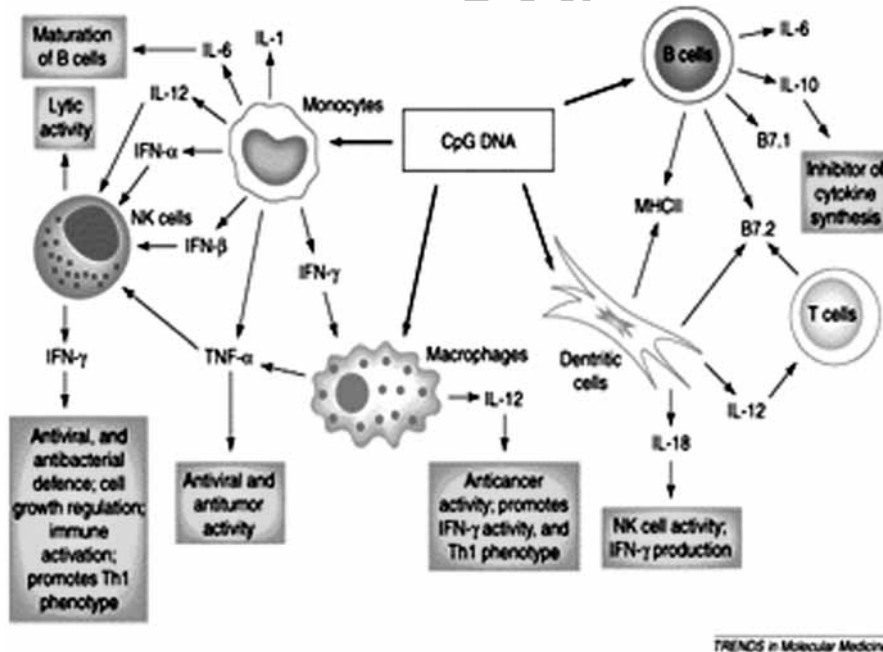
فرایند حاصل از واکنش CpG و TLR9

- سازوکارهای ایمنی ناشی از تحریک TLR9 که به صورت آبخاری و در پی هم فعال می شوند، به شرح زیر است (۴ تا ۹):
- ۱- فعال سازی سلول های NK و سلول های عرضه کننده آنتی ژن مثل ماکروفاژها و سلول های دندریتیک.
 - ۲- بلوغ سلول های دندریتیک نابالغ به سلول های عرضه کننده آنتی ژن (APC) ^{۱۴} و تولید سیتوکین های سلول های دندریتیک بالغ.
 - ۳- افزایش مهاجرت یاخته های شجری.
 - ۴- بیان بالای مولکول های MHC کلاس II، CD80، CD40 و CD86.
 - ۵- آغاز القاء پاسخ ایمنی Th1 توسط یاخته های شجری و در نتیجه، کاهش ساخت Ige توسط Th1 و افزایش ترشح IgG و IFN-γ.
 - ۶- آغاز تولید IL-6، IL-18، IL-12، IFN-α، IFN-β، IFN-γ و TNF-α که همگی به بهبود پاسخ ایمنی Th1 منجر می شوند و لنفوسیت های سیتوتوکسیک را نیز تحریک می کنند.
- این فرایندها به پاسخ ایمنی سلولی در برابر پاتوژن های اختصاصی و

تومورهای سیتوتوکسیک منجر می شوند. به این ترتیب، ممکن است بتوان از واکنش TLR9-CPG برای اهداف درمانی مختلف استفاده کرد. از جمله می توان از CPG-DNA به عنوان ادجوانت واکسن، در درمان سرطان، و نیز به عنوان ضد آلرژن و تقویت کننده ایمنی استفاده کرد (۸ و ۱۳).

عوارض جانبی CPG-DNA

- با وجود تمام مزایای ذکر شده، CPG معایب و عوارضی هم دارد که عبارتند از (۶):
- ۱- ترشح سیتوکین های التهابی و ایجاد پاسخ های التهابی.
 - ۲- ترشح مقادیر بالای IL-6 و TNF-α و ایجاد التهاب موضعی.
 - ۳- ایجاد التهاب موضعی در تزریق عضلانی واکسن حاوی CPG، اگرچه خوشبختانه هنوز موردی از تخریب بالینی ناشی از CPG-DNA باکتری گزارش نشده است.
 - ۴- القاء بیماری های خودایمن که سازوکار آن شامل موارد زیر است (۱۴):
- الف- تحریک تولید و فعال سازی پلی کلونال لنفوسیت های B



TRENDS in Molecular Medicine

شکل ۳: آثار CPG-DNA بر سلول های ایمنی میزبان. سیتوکین های مختلفی که در درمان مفید هستند، در پاسخ به فعال سازی سلول های ایمنی میزبان بوسیله CPG-DNA تولید می شوند (۵).

CPG الیگو داکسی نوکلئوتید های سنتتیک (C_pG-ODN)

آثار مفید پاسخ ایمنی ناشی از DNA باکتریایی در بدن باعث شد که محققان در آزمایشگاه، با الگو قرار دادن توالی C_pG باکتریایی، الیگو داکسی نوکلئوتید های سنتتیک حاوی توالی C_pG را بسازند (عوا ۱۱). دیده شده است که تحریک ایمنی توسط C_pG-ODN در گونه های مختلف حیوانی به خصوصیات ساختاری الیگو داکسی-نوکلئوتید ها (ODN)، مانند طول، تعداد و موقعیت واحدهای C_pG در یک ODN، بستگی دارد (ع ۶). محققان حدس می زنند که تغییرات تکاملی بین مولکول های TLR9 باعث تفاوت ویژه گونه ها در شناسایی DNA باکتری ها شده است. هنوز دقیقاً روشن نیست که کدام ساختار و گروه عملکردی در C_pG نقش حیاتی در شناسایی و واکنش گیرنده برای فعالیت تحریک ایمنی دارد.

یک مولکول DNA از سه جایگاه تشکیل شده است و هرگونه تغییری در این سه جایگاه باعث تغییر در واکنش TLR9-C_pG می شود. این سه جایگاه عبارتند از (۵):

۱- واحد هتروسیکلیک (پورین و پیریمیدین)

۲- قند (۲-داکسی ریبوز)

۳- زنجیره فسفات با بار منفی.

در آزمایش های مختلف برای ساخت CPG-ODN نتایج زیر به دست آمده است (۵):

۱- توالی ODN حداقل باید حاوی یک نسخه از CPG غیر متیله باشد.

۲- وجود چند نسخه از CPG غیر متیله در واکنش های DNA تحریک بیشتری ایجاد می کند.

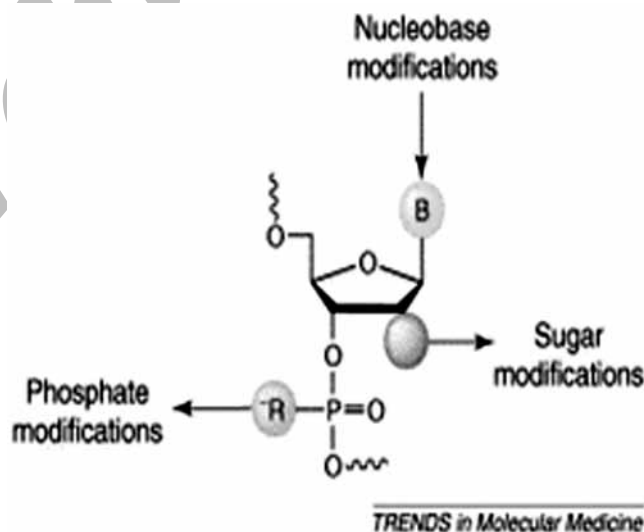
ب- ایجاد مقاومت در برابر فرایند آپوپتوز در لنفوسیت های B که مسؤؤل شناسایی آنتی ژن های خودی هستند.

ج- فعال کردن بنیانی لنفوسیت های B و تولید آنتی بادی علیه آنتی ژن های خودی.

CpG-DNA در افراد مستعد بیماری های خودایمن، به ویژه ابتلاء به لوپوس اریترماتوز سیستمیک (SLE) و آرتریت روماتوئید را افزایش می دهد. اما در این موارد، داروی کلروکین ممکن است با مهار IgG، جلوی بروز علائم بالینی این بیماری ها را بگیرد.

اثر توالی DNA بدون حضور دی نوکلئوتید CPG

توالی های DNA فاقد نوکلئوتید CPG نیز لنفوسیت های B را فعال می کنند، اما سیتوکین های Th1 و کموکین های مترشحه ناشی از آن ها بسیار محدود است (۴). برای مثال، توالی TC-5' از نوع فسفوتیوات، با تحریک TLR9 به پاسخ ایمنی Th2 منجر می شود و توالی های حاوی داکسی اینوزین و داکسی سیتیدین (5'-TCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCT) پاسخ ایمنی Th1 را فعال می کنند. همچنین توالی های غنی از T و A، مانند 5'-TATAATTTTACCAACTAGC نیز TLR9 را تحریک می کنند. برای نشان دادن اهمیت تحریک TLR9، محققان در آزمایشگاه با ایجاد نقص ژنتیکی، موش هایی بدون بیان پروتئین TLR9 تولید کردند. این موش ها در برابر CPG هیچ گونه اثری از تکثیر سلول های طحالی، تولید سیتوکین های التهابی از ماکروفاژها و بلوغ سلول های دندریتیک را نشان ندادند (عوا ۱۵).



شکل ۴: نمونه ای از ۲ داکسی نوکلئوتید. سه جایگاه مهم که روی عملکرد DNA-CPG در شناسایی و واکنش با گیرنده ها در مسیر تحریک ایمنی نقش دارند، در این تصویر مشاهده می شوند (۵).

پلی G، تشکیل شده است و در انتهای 3' حاوی توالی TCGTCG و GTCGTT مشابه با CPG-B است. از CPG-C، به علت دارا بودن خواص هر دو نوع A و B، در درمان سرطان و مبارزه با بیماری‌های عفونی استفاده شده است.

خاصیت ویژه گونه در CPG-ODN

هر کدام از CPG-ODN ها با توالی خاص خود خطری برای دستگاه ایمنی بیشتر حیوانات هستند، اما توالی متعارف آنها از گونه ای به گونه دیگر متفاوت است (۱۳). متأسفانه اطلاعات کمی درباره آثار CPG-ODN در حیوانات اهلی وجود دارد و بررسی و تحقیق درباره کارایی CPG-ODN در گونه های دامپزشکی به تازگی آغاز شده است. مطالعات آزمایشگاهی نشان داده اند که توالی GTCGTT بر تحریک لنفوسیت های گونه های مختلف، مانند گاو، گوسفند، بز، اسب، خوک، سگ، گربه و مرغ، مؤثر است (۶). مطالعات *in vivo* نیز نشان داده اند که توالی معمول محرک ایمنی CPG در انسان و جوندگان دارای الگوی P1P2CGP3P4 است. P1P2 شامل متغیبات است. P3P4 عموماً یک ۲-داکسی پیریمیدین، مانند تیمیدین، است (۵). بنابراین، در موش بیشتر هگزامر AACGTT و GACGTT و در انسان هگزامر GTCGTT مطرح است. در رابطه با فعال سازی مونسیت های خون محیطی خوک برای تکثیر و ترشح IL-6، IL-10 و TNF- α هگزامر پالیندروم ATCGAT شناسایی شده است (۵).

بررسی ها در مورد تحریک ایمنی توسط ODN در ماهی آتلانتیک نشان داده است که هگزامر 3-GTCGTT-5 پاسخ ایمنی بیشتری را القاء می کند و در ماهی می تواند مشابه تحریک ایمنی ذاتی مهره داران، باعث ایجاد ایمنی اولیه غیر اختصاصی ضد ویروس شود. در مقایسه القاء ایمنی یک ODN در دو گونه مختلف، اثر دو توالی ODN به شماره های ۲۲۱۶ از نوع A و ۲۰۰۷ از نوع B را توسط مونسیت های خون محیطی گاو و گوسفند بررسی کرده اند. نتایج نشان داده است که اثر واضح وابسته به دوز در ترشح فقط در ODN شماره ۲۲۱۶ و در مونسیت های خون محیطی گاو مشاهده می شود و در مورد مونسیت های خون محیطی گوسفند چنین اثری دیده نمی شود. اما القاء وابسته به دوز در ترشح IFN- α توسط ODN شماره ۲۰۰۷ در مونسیت های خون محیطی گوسفند دیده شده است (۶). این بررسی ها تفاوت واضحی در القاء CPG-ODN در پاسخ ایمنی ذاتی بین دو گونه مشخص را نشان می دهند (جدول ۱). نتیجه استفاده از CPG-ODN های مختلف در القاء پاسخ ایمنی انسان و گونه های متفاوت حیوانی در مطالعات *in vitro* (جدول ۱) و *in vivo* (جدول ۲) به اختصار آمده است (۶).

۳- زمینه فسفودی استر و فسفوتیوات و موقعیت نوکلئوتیدها در ODN مهم است؛ به طوری که پاسخ ایمنی ناشی از ODN با زمینه فسفوتیوات خیلی بیشتر تحریک می شود.

۴- در CPG، برخلاف انتهای 3'، هر گونه تغییری در انتهای 5' نقش مهمی در ایجاد پاسخ ایمنی ایفا می کند.

۵- حذف هر کدام از نوکلئوتیدهای C و G در CPG باعث کاهش تحریک ایمنی می شود.

۶- TLR9، CPG را از انتهای 5' به 3' می خواند.

۷- ایمونومرها که CPGهایی با دو انتهای 5' هستند، تحریک ایمنی بسیار قوی تری ایجاد می کنند (۱۶، ۱۳، ۱۷).

بررسی ها نشان داده است که می توان ODNها را در دو گروه اصلی جای داد (۳ تا ۶):

۱- نوع D که باعث آغاز تمایز مونسیت به سلول های دندریتیک بالغ می شود. ساختار این نوع ODN از نوع K پیچیده تر و الگوی آن شامل پیریمیدین /پورین /CG /پیریمیدین /پورین است که توسط ۳-۴ باز در پهلوهوا کامل می شود. یک D ODN بهینه شامل زمینه فسفودی استر و انتهای پلی گوانوزین و حدود ۴-۶ باز در انتهای 3' است. کمترین طول فعال ODN حدود ۱۸ باز است.

۲- تیپ K که باعث القاء مونسیت به تکثیر و ترشح IgM و IL-10 و IL-6 می شود. یک KODN بهینه شامل یک یا چند CPG غیر متیله با باز تیمیدین نزدیک موقعیت 5' و یک دی نوکلئوتید TPT یا APT در موقعیت 3' است. حداقل طول فعال کننده ایمنی KODN بیشتر از ۱۲ باز است.

در بررسی های آزمایشگاهی دیده شده است که سلول های ایمنی جدا شده از پریمات های غیر از انسان، مانند شامپانزه و میمون رزوس، به K ODN و D ODN با الگویی مشابه با سلول های مونسیت خون محیطی انسان پاسخ می دهند

در جدیدترین تقسیم بندی، ODN های سنتتیک را در سه گروه قرار می دهند (۶):

۱- CPG-A: در بخش اندوزومی جمع و به القاء مقادیر بالایی از IFN- α در یاخته های شجری پلاسماپی (pDC) منجر می شود و شامل یک CPG پالیندروم با انتهای 5' و 3' حاوی پلی G است.

۲- CPG-B: در بخش لیزوزومی سلول متمرکز می شود و به القاء کم IFN- α ، ولی تحریک قوی لنفوسیت های B و ترشح سیتوکین های پیش التهابی می انجامد و توالی آن شامل یک انتهای 5' حاوی TCGTCG و یک GTCGTT است.

۳- CPG-C: ترکیب ساختاری آن مشابه گروه های A و B است و به فعال سازی لنفوسیت های B و القاء IFN- α در pDC می انجامد. CPG-C از یک توالی CPG پالیندروم در مرکز و مشابه با CPG-A، بدون انتهای

جدول ۱: تحریک ایمنی CpG-ODN در مطالعات *in vitro*

منبع	اثر	پاسخ	سلول مؤثر	CpG-ODN (نوع)	توالی مؤثر	جاندار
۱۸	عامل هسته‌ای کاپا B (NF- κ B) و IL-8 (۲۰۰۶)	↑	سلول سلول HEK293 + hTLR9	2006	tcgtcgttttgcgttttgcgtt(B)	انسان
	تکثیر سلولی (۲۰۰۶)	↑	سلول B			
	IL-8 (۲۰۰۶)	↑	سلول دندریتیک محیطی			
	تکثیر سلولی	-	سلول شجری مشتق از منوسیت (MoDC)			
۱۹	IL-6 (۲۰۰۶، ۱۸۲۶ و IL-12 (۲۳۹۵، ۱۸۲۶) IFN- γ (۲۳۹۵ > ۲۰۰۶ و ۲۲۱۶) (۲۳۹۵ > ۲۰۰۶)	↑	سلول طحال	2395	tcgtcgttttgcggcgcgcccg(C)	موش
۲۰	تولید IFN- α و IFN- γ (۲۲۱۶)	↑	سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی (PBMC)	2007	tcgtcgttgcgttttgcgtt(B)	گاو
	سیتوتوکسیسیته مشابه سلول کشنده طبیعی (NK) (۲۰۰۷)	-		2216	ggGGGACGATCGTCggg	
				gg(A)		
۲۱	تکثیر سلولی (۲۰۰۷)؛ IFN- α (۲۰۰۷)؛ فعالیت 2'-5' A سنتتاز (۲۰۰۷، ۲۲۱۶)؛ سیتوتوکسیسیته مشابه سلول کشنده طبیعی (NK) (۲۲۱۶ > ۲۰۰۷) IFN- γ (۲۲۱۶ > ۲۰۰۷)	↑	سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی (PBMC)	2007	tcgtcgttgcgttttgcgtt(B)	گوسفند
		-		2216	ggGGGACGATCGTCggg	
				gg(A)		
				D19		
۲۲	IgM و مجموعه سازگار نسجی دسته II (MHC-II) (D19)	↑	PBMC		ggTGCATCGATGCAggg	خوک
				gg(A)		
۲۳	تکثیر سلولی	↑	لکوسیت‌های خون محیطی	1681	accgatgctgttcccggtgacg(B)	ماهی
	تولید عوامل مشابه INF	↑	لکوسیت‌های رأس کلیوی			
۲۴	IL-12p40 و IFN- γ (ODN2)	↑	PBMC	ODN2	ggTGC ATCGAT GCAGggggg(A)	سگ
۲۵	تکثیر سلولی (۱۷۶۰، ۱۸۲۶، ۲۰۰۰، ۲۰۰۲)	↑	PBMC	1760	ataatcgacttcaagcaag(B)	خرگوش

جدول ۲: تحریک ایمنی CpG-ODN در مطالعات in vivo

منبع	اثر	پاسخ	آنتی ژن	توالی مؤثر CpG-ODN (نوع)	جاندار
۲۶	جراحت جلدی (-) K ODN (mix > D ODN-mix)	↑	لیشمانیا	D29 ggTGCACCGGTGCAGggg gg(A)	میمون رزوس (SIV)
	تعداد انگل‌ها در جراحت (D ODN-mix)	↓		K3 atcgactctcgagcgttctc(B)	
۲۷	IgG1 > IgG2a در موش‌های جوان ۱ و ۳ و ۷ روزه؛ لنفوسیت T کشته در موش‌های بالغ (۱۴ روزه یا ۶-۸ هفته) (۱۸۲۶)	↑	آنتی ژن سطحی هپاتیت B (HBsAg)	1826 tccatgacgttctgacgtt (B)	موش
۲۸	تکثیر سلول‌های B (۲۰۰۸)، MSP2 و IgG (۲۰۰۶ > ۲۰۰۷)؛ IFN- γ ترشح‌کننده ویژه و IFN- γ ، PBMC در IL-4 ولی (۲۰۰۶) کم بیان mRNA اینترلوکین-۱۰	↑	پروتئین ۲ سطحی آناپلازما مارژیناله (MSP2)	2006 tcgtcgtttgtcgtttgtcgtt (B) 2007 tcgtcgttgcgtttgtcgtt (B) 2008 gcgtcgttgcgtttgtcgtt (B)	گاو
۲۹	IFN- γ و پاسخ‌های آنتی‌بادی سرمی (۲۰۰۷)	↑	مایکوباکتریوم بوویس CFP	2007 tcgtcgttgcgtttgtcgtt (B)	گاو
۲۵	تیتر IgG و تیتر خنثی‌کننده ویروس (۲۱۳۵)	↑	tgB ^۵	2135 tcgtcgtttgtcgtttgtcgtt (B)	گوسفند
۳۰	۲'5' الیگوآدنیلات (A2'-5')؛ فعالیت الیگوآدنیلات سنتتاز (۲۰۰۷)	↑		2007 tcgtcgttgcgtttgtcgtt (B)	گوسفند
۳۱	IgG (۲۰۰۷)	↑	تاک‌زویت	2007 tcgtcgttgcgtttgtcgtt (B)	خوک
۳۲	بقاء (۲۰۰۷)	↑	اشریشیا کولی	2007 tcgtcgttgcgtttgtcgtt (B)	جوجه
۳۳	بقاء	↑	ادواردشیل تاردا	TCCATGACGTTCTGAT GCT	ماهی

1. *Anaplasma marginale* mahor surface protein; 2. Truncated versions of glycoprotein B

نتیجه گیری

محققان در تلاشند تا از این دانش برای درمان آلرژی‌ها، بیماری‌های عفونی و سرطان‌ها استفاده کنند. تحقیقات بیشتر برای جلوگیری از عوارض جانبی CPG-DNA و شناسایی مولکول‌های کوچک، به‌عنوان آگونیست‌های TLR9، در حال انجام است.

در مجموع تحقیقات اخیر درباره عملکرد TLRها نشان داده است که چگونه سامانه ایمنی ذاتی پاتوژن‌های مهاجم را شناسایی و پاسخ ایمنی اکتسابی را تحریک می‌کند. تحقیقات بسیاری بر روی TLR9 و اثر مستقیم آن بر سلول‌های ایمنی ذاتی و ایمنی اکتسابی متمرکز شده است و

References

1. Tsan MF, Gao B. Pathogen-associated molecular pattern contamination as putative endogenous ligands of Toll-like receptors. *J Am Acad Orthop Surg* 2008;16:S56-62.
2. Lata S, Raghava GP. PRRDB: A comprehensive database of Pattern-Recognition Receptors and their ligands. *BMC Genomics* 2008;9:108.
3. Takeda K, Kaisho T, Akira S. Toll-like receptors. *Annu Rrv Immunol* 2003;21:335-76.
4. Unmatsu S, Akira S, Toll-like receptors (TLRs) and their ligands. In: Bauers, Hartmann G. Editors. *Toll-like receptors (TLRs) and innate immunity*. Heidelberg: Springer; 2008.
5. Agrawal S, Kandimalla ER. Medicinal chemistry and therapeutic potential of CpG DNA. *Trends Mol Med* 2002;8:114-21.
6. Chaung HC. CpG oligodeoxynucleotides as DNA adjuvants in vertebrates and their applications in immunotherapy. *Int Immunopharmacol* 2006;6:1586-96
7. Wagner H. Interactions between bacterial CpG-DNA and TLR9 bridge innate and adaptive immunity. *Curr Opin Microbiol* 2002;5:62-9.
8. Takeshita F, Gursel I, Ishii KJ, et al. Signal transduction pathways mediated by the interaction of CpG DNA with Toll-like receptor 9. *Semin Immunol* 2004;16:17-22.
9. Akira Sh. Toll-like receptor signaling. *The Journal of Biological Chemistry* 2003; 40:38105-8.
10. Kandimalla ER, Zhu FG, Bhagat L, et al. Toll-like receptor 9: modulation of recognition and cytokine induction by novel synthetic CpG DNAs. *Biochemical Society Transactions* 2003;31:part 1.
11. Wang Y, Wang W, Li N, et al. Activation of antigen-presenting cells by immunostimulatory plant DNA: a natural resource for potential adjuvant. *Vaccine* 2002;20:2764-71.
12. Latz E, Schoenemeyer A, Visintin A, et al. TLR9 signals after translocating from the ER to CpG DNA in the lysosome. *Nat Immunol* 2004;5:190-8.
13. Agrawal S, Kandimalla ER. Modulation of Toll-like receptor 9 responses through synthetic immunostimulatory motifs of DNA. *Ann NY Acad Sci* 2003;1002:30-42.
14. He B, Qiao X, Cerutti A. CpG DNA induces IgG class switch DNA recombination by activating human B cells through an innate pathway that requires TLR9 and cooperates with IL-10. *J Immunol* 2004;173:4479-91.
15. Vollmer J, Weeratna RD, Jurk M, et al. Oligodeoxynucleotides lacking CpG dinucleotides mediate Toll-like receptor 9 dependent T helper type 2 biased immune stimulation. *Immunology* 2004;113:212-23.
16. Kandimalla ER, Bhagat L, Wang D, et al. Divergent synthetic nucleotide motif recognition pattern: design and development of potent immunomodulatory oligodeoxyribonucleotide agents with distinct cytokine induction profiles. *Nucleic Acids Res* 2003;31:2393-400.
17. Li Y, Kandimalla ER, Yu D, et al. Oligodeoxynucleotides containing synthetic immunostimulatory motifs augment potent Th1 immune responses to HBsAg in mice. *Int Immunopharmacol* 2005;5:981-91.
18. Bauer S, Kirschning CJ, Hacker H, et al. Human TLR9 confers responsiveness to bacterial DNA via species-specific CpG motif recognition. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98:9237-42.
19. Vollmer J, Weeratna R, Payette P, et al. Characterization of three CpG oligodeoxynucleotide classes with distinct immunostimulatory activities. *Eur J Immunol* 2004;34:251-62.
20. Mena A, Nichani AK, Popowych Y, et al. Bovine and ovine blood mononuclear leukocytes differ markedly in innate immune responses induced by Class A and Class B CpG-ligodeoxynucleotide. *Oligonucleotides* 2003;13:245-59.
21. Mena A, Nichani AK, Popowych Y, et al. Innate immune responses induced by CpG-ligodeoxynucleotide stimulation of ovine blood mononuclear cells. *Immunology* 2003;110:250-7.
22. Van der Stede Y, Verdonck F, Verfaillie T, et al. CpG-ligodeoxynucleotide activates B-cells and increases the expression of MHC-II molecules on lymphocytes. *Vet Immunol Immunopathol* 2005;105:115-24.

23. Jorgensen JB, Johansen LH, Steiro K, et al. CpG DNA induces protective antiviral immune responses in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *J Virol* 2003;77:11471-9.
24. Kurata K, Iwata A, Masuda K, et al. Identification of CpG-ligodeoxynucleotide sequences that induce IFN- γ production in canine peripheral blood mononuclear cells. *Vet Immunol Immunopathol* 2004;102:441-50.
25. Rankin R, Pontarollo R, Ioannou X, et al. CpG motif identification for veterinary and laboratory species demonstrates that sequence recognition is highly conserved. *Antisense Nucleic Acid Drug Dev* 2001;11:333-40.
26. Verthelyi D, Klinman DM. Immunoregulatory activity of CpG-ligodeoxynucleotides in humans and nonhuman primates. *Clin Immunol* 2003;109:64-71.
27. Brazolot Millan CL, Weeratna R, Krieg AM, et al. CpG DNA can induce strong TH1 humoral and cell-mediated immune responses against hepatitis B surface antigen in young mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:15553-8.
28. Zhang Y, Shoda LK, Brayton KA, et al. Induction of interleukin-6 and interleukin-12 in bovine B lymphocytes, monocytes, and macrophages by a CpG oligodeoxynucleotide (ODN 2059) containing the GTCGTT motif. *J Interferon Cytokine Res* 2001;21:871-81.
29. Wedlock DN, Skinner MA, de Lisle GW, et al. Vaccination of cattle with *Mycobacterium bovis* culture filtrate proteins and CpG oligodeoxynucleotides induces protection against bovine tuberculosis. *Vet Immunol Immunopathol* 2005;106:53-63.
30. Nichani AK, Mena A, Popowych Y, et al. In vivo immunostimulatory effects of CpG oligodeoxynucleotide in cattle and sheep. *Vet Immunol Immunopathol* 2004;98:17-29.
31. Kringel H, Dubey JP, Beshah E, et al. CpG-oligodeoxynucleotides enhance porcine immunity to *Toxoplasma gondii*. *Vet Parasitol* 2004;123:55-66.
32. Gomis S, Babiuk L, Godson DL, et al. Protection of chickens against *Escherichia coli* infections by DNA containing CpG motifs. *Infect Immun* 2003;71:857-63.
33. Lee CH, Jeong HD, Chung JK, et al. CpG motif in synthetic ODN primes respiratory burst of olive flounder *Paralichthys olivaceus* phagocytes and enhances protection against *Edwardsiella tarda*. *Dis Aquat Organ* 2003;56:43-8.

Archive

SID



سرویس های ویژه



سرویس ترجمه تخصصی



کارگاه های آموزشی



بلاگ مرکز اطلاعات علمی



سامانه ویراستاری STES



فیلم های آموزشی

کارگاه های آموزشی مرکز اطلاعات علمی جهاد دانشگاهی

تازه ترین

بررسی مقاله ای متون (مقدماتی)

کارگاه آنلاین
بررسی مقابله ای متون (مقدماتی)

PROPOSAL
پروپوزال

تازه ترین

پروپوزال نویسی و پایان نامه نویسی

کارگاه آنلاین
پروپوزال نویسی و پایان نامه نویسی

تازه ترین

آشنایی با پایگاه های اطلاعات علمی بین المللی و ترند های جستجو

کارگاه آنلاین آشنایی با پایگاه های اطلاعات علمی بین المللی و ترند های جستجو