واکسن‌های DNA استراتژی قدرتمندی برای کنترل بروسلوز

سعید عابدی[1*]، غزال پورمحمدحسینی[2]، گلنوش رضائی زاده[3]

۱- استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، واحد فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی، فلاورجان، ایران.
۲- دانشجوی کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، واحد فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی، فلاورجان، ایران.
۳- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، واحد فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی، فلاورجان، ایران.

دریافت مقاله: ۲۱ دی ۱۴۰۱، بازنگری: ۷ اسفند ۱۴۰۱، پذیرش نهایی: ۱۶ اردیبهشت ۱۴۰۲

چکیده

بروسلوز یک بیماری مشترک بین انسان و دام با توزیع جهانی و با روند صعودی می‌باشد. کنترل بروسلوز در انسان به کنترل بیماری حیوانی بستگی دارد. با وجود این که تاکنون واکسن تأیید شده‌ای برای بروسلوز در انسان وجود ندارد، تلاش‌های زیادی برای ساخت واکسن‌هایی با کارایی بالا و عوارض جانبی پائین برای حیوانات صورت گرفته است. واکسن‌های زنده ضعیف شده ارزان‌تر و مؤثرتر از سایر واکسن‌ها هستند اما می‌توانند موجب افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی، تداخل با آزمایش‌های تشخیصی سرولوژیکی و افزایش حدت در حیوان شوند. واکسیناسیون حیوانات با واکسن‌های موجود در بازار ممکن است باعث بیماری شود و در برخی شرایط اثربخشی پایینی دارند. واکسن‌های حاوی پروتئین نوترکیب یا DNA کدکننده آنها می‌توانند جایگزین مناسبی برای واکسن‌های مرسوم باشند، زیرا می‌توانند موجب کاهش عوارض ناخواسته شوند. انتخاب آنتی‌ژن مناسب که سیستم ایمنی را به خوبی تحریک کند در تهیه این واکسن‌ها اهمیت زیادی دارد. در این مطالعه مروری با بررسی واکسن‌های نوترکیبی که بر مبنای پروتئین‌های نوترکیب و DNA ساخته شده‌اند، تلاش شده است تا نقاط قوت و ضعف آنها و چشم‌انداز جدید واکسیناسیون بر علیه بیماری بروسلوز روشن‌تر شود. مطالعه حاضر با جستجو در پایگاه‌های اطلاعاتی Google scholar، PubMed و SID تا سال ۲۰۲۱ میلادی به تحقیقات جدید در مورد پروتئین نوترکیب و واکسن‌های DNA علیه بروسلوز پرداخته است. با توجه مزیت‌ها و معایب واکسن‌های معمول و جدید بروسلوز، واکسن‌های نوترکیب و DNA، پس از گذراندن مراحل تحقیقات در حیوانات بزرگ، می‌توانند راهکار مناسبی برای جلوگیری از پیشرفت بروسلوز باشند.

واژگان کلیدی: *بروسلوز، واکسن، پروتئین نوترکیب، واکسن‌های DNA*

* پست الکترونیک نویسنده مسئول مکاتبه: said_abedi83@yahoo.com

مقدمه

بروسلوز (*Brucellosis*) یا تب مالت یک عفونت مشترک بین حیوانات اهلی و وحشی است. باکتری بروسلا (*Brucella*) به عنوان انگل درون سلولی اختیاری عمل می‌کند و باعث ایجاد بیماری مزمن می‌شود که ممکن است تا آخر عمر ادامه داشته باشد. انسان توسط چهار گونه بروسلا *ابورتوس* (*B. abortus*)، بروسلا *کنیس* (*B. canis*)، بروسلا *ملی‌تنسیس* (*B. melitensis*) و بروسلا *سوئیس* (*B. suis*) آلوده می‌شود (۱). علائم بیماری شامل تب‌های مواج، تعریق، درد مفاصل و درد عضلانی است. علاوه بر آن کاهش گلبول‌های سفید و قرمز خون، افزایش آنزیم‌های کبدی مانند آسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز در بیماران دیده می‌شود. در ۷۰ درصد موارد، علائم گوارشی مانند تهوع، استفراغ، کاهش اشتها، کاهش وزن ناخواسته، ناراحتی معده، یبوست، اسهال، التهاب کبد، بزرگ شدن کبد و بزرگ شدن طحال رخ می‌دهد (۲) بروسلوز انسانی عمدتاً با مصرف شیر غیر پاستوریزه و پنیرهای نرم حاصل از شیر حیوانات آلوده به‌خصوص بزها به بروسلا *ملی‌تنسیس* ایجاد می‌شود. سایر فراورده‌های حیوان آلوده مثل جگر و گوشت که به‌صورت خام یا نیمه‌پخته مصرف شوند هم می‌توانند باعث ایجاد بیماری شوند (۳). تب مالت در تمام نقاط ایران پراکنده است ولی وفور آن در مناطق مختلف یکسان نیست. با نگاهی به برخی بررسی‌ها و گزارش‌ها مشخص شده است که از سال ۱۳۸۷ تا ۱۳۸۹، میزان ابتلا به بروسلوز در کشور کاهش یافته است، اما از سال ۱۳۸۹ تا ۱۳۹۲روند صعودی داشته است. از نظر بروز تب مالت در سال ۱۳۹۹، استان‌های کردستان، لرستان، ایلام، زنجان و کرمانشاه، جزو مناطق با شیوع بال گزارش شده‌اند(۴).

با توجه به این که واکسن مؤثری برای پیشگیری بروسلوز در انسان وجود ندارد، باید راه‌های ابتلای دام به این بیماری را کنترل کرد. در حال حاضر، از سه سویه بروسلا در ساخت واکسن علیه بروسلوز استفاده می‌شود که شامل سویه‌های S۱۹ و RB۵۱ برای گاو و سویه Rev۱ برای نشخوارکنندگان کوچک است. اگرچه سویه‌های S۱۹ *بروسلا ابورتوس* و Rev۱ *بروسلا ملی‌تنسیس* می‌توانند سطوح مؤثری از محافظت را در گاو، بز و گوسفند ایجاد کنند، اما محدودیت‌های خاصی از جمله خطر سقط جنین درگاوهای بالغ آبستن را دارند (۵). همچنین بر اساس مطالعات انجام شده، واکسن‌های S۱۹ و Rev۱ محافظت کاملی در برابر عفونت با برخی سویه‌های خطرناک ایجاد نمی‌کنند (۶). بروسلا یک پاتوژن داخل سلولی است که در نوتروفیل‌ها بدون فعال‌سازی قابل توجه دستگاه ایمنی، زنده می‌ماند. همچنین این باکتری به شدت به عملکرد باکتری‌کشی پپتیدهای ضد میکروبی و سرم مقاوم است. بنابراین، توسعه موفقیت‌آمیز واکسن‌های بروسلوز یک چالش بزرگ است (۲- ۷).

بروسلا از چندین روش برای سرکوب سیستم ایمنی استفاده می‌کند که توجه به این روش‌ها برای ساخت واکسن بسیار ضروری است. توانایی بروسلا در فرار یا مسدود کردن عناصر پاسخ‌های ایمنی ذاتی و اکتسابی میزبان برای بیماری‌زایی آنها ضروری است. این ارگانیسم از طریق کاهش، تغییر یا پنهان کردن شاخص‌های مولکولی مرتبط با پاتوژنیسیته مانند لیپوپلی‌ساکارید (Lipopolysacharide, LPS) و تاژک، استراتژی‌هایی برای فریب دادن سیستم ایمنی ذاتی میزبان ابداع کرده است. با استفاده از این تکنیک، باکتری‌ها می‌توانند بدون ایجاد پاسخ ایمنی تطبیقی وارد واکوئل شوند. آنتی‌بادی‌های تولیدشده علیه LPS باعث محافظت ناقص در برابر عفونت می‌شوند، حتی باکتری‌های اپسونیزه شده به‌طور مؤثری توسط ماکروفاژها کشته نمی‌شوند. آنتی‌بادی‌های تولیدشده علیه پروتئین‌های سطحی بروسلا نیز در حذف عفونت کارایی کمتری دارند. پاک‌سازی بروسلا ها وابسته به پاسخ‌های لنفوسیت نوع Th۱ با تولید اینترفرون گاما (IFN-γ) و تولید سایتوکاین‌های مهمی مانند اینترلوکین (IL-۱) و اینترلوکین ۱۲(IL-۱۲) و فاکتور نکروزدهنده تومور α (TNFα) همراه است (۸).

لیپید A در LPS بروسلا در مقایسه با سایر باکتری‌های گرم‌منفی، می‌تواند باعث تأخیر و کاهش پاسخ التهابی در میزبان آلوده شود. آنتی‌ژن O که بیرونی‌ترین جزء LPS در باکتری بروسلا است، می‌تواند از طریق واکنش با گیرنده‌های اختصاصی سطح سلول میزبان و با کاهش فعالیت ماکروفاژها به بقاء و مقاومت باکتری در بدن میزبان کمک نماید (۹). آنتی‌ژن O می‌تواند با مولکول‌های MHC کلاس II واکنش داشته باشد و کمپلکس‌هایی را تشکیل دهد که ماکروفاژهای آلوده به بروسلا با عرضه آن آنتی‌ژن‌های پروتئینی در سطح خود باعث کاهش فعالیت‌های سلول‌های T شوند (۱۰).

واکسن‌های کلاسیک علیه بروسلوز: در مراحل اولیه ساخت واکسن بروسلا، اجزای سلولی از جمله پروتئین غشای خارجی، عصاره‌های محلول و نامحلول پوشش سلولی، سلول‌های مرده کامل، پروتئین‌های پری‌پلاسمیک و پروتئین‌های قابل استخراج استفاده شدند (۱۱).

واکسن‌های زنده ضعیف شده مؤثرترین واکسن‌هایی هستند که برای کنترل بروسلوز حیوانی استفاده می‌شوند (۸). به دلیل کارایی کمتر واکسن‌های بروسلوز غیر فعال و زیرواحد پروتئینی در تحریک سیستم ایمنی، دوزهای متعدد باید تجویز شود، در حالی که واکسن‌های تضعیف شده ارزان‌تر و مؤثرتر هستند و از طریق پاسخ‌های هومورال و سلولی باعث ایجاد ایمنی می‌شوند (۱۲). با این حال، برخی از اشکالات در تجویز واکسن‌های بروسلوز زنده ضعیف شده گزارش شده است که از جمله آنها مقاومت آنتی‌بیوتیکی، تداخل با آزمایش‌های تشخیصی سرولوژیکی و حدت باقیمانده در حیوانات می‌باشند (۸). واکسن *بروسلا ابورتوس* S۱۹، که همچنان به‌عنوان واکسن استانداردی که سایر واکسن‌ها در برابر آن ارزیابی می‌شوند، گسترده‌ترین واکسن مورد استفاده برای پیشگیری از بروسلوز در گاو است (۱۳). از واکسن‌هایی که برای کنترل بروسلوز از سالیان گذشته مورد استفاده قرار گرفته واکسن تخفیف حدت یافته *بروسلا ملی‌تنسیس* سویه Rev۱ هم وجود دارد که هنوز به‌عنوان موثرترین واکسن علیه بیماری در گوسفند و بز مورد استفاده قرار می‌گیرد (۶).

واکسن‌های زنده ضعیف شده به‌طور گسترده در برابر بروسلوز استفاده شده‌اند، مانند سویه S۱۹ *بروسلا ابورتوس* و سویه‌های Rev۱ و M۵ *بروسلا ملی‌تنسیس* و سویه S۲ *بروسلا سوئیس* که نوع آخر به‌عنوان یک فنوتیپ ضعیف شده توسط پاساژ مکرر سویه ۲۳۰۸ در شرایط آزمایشگاهی به‌دست آمده است. تحقیقات متعددی در مورد اثربخشی این واکسن‌ها در حیوانات آزمایشی انجام شده است و ثابت شده است که حیوانات واکسینه شده به‌طور مؤثر در برابر باکتری‌های نوع وحشی محافظت می‌شوند (۸، ۱۱، ۱۲). اشکال اصلی سویه‌های واکسن و Rev۱ این است که آگلوتینین‌های القا شده توسط این واکسن‌ها برای مدت طولانی در حیوانات ایمن‌شده باقی می‌مانند و با تست‌های تشخیصی سرولوژی استاندارد تداخل ایجاد می‌کنند، زیرا آنتی‌بادی‌های تولید شده توسط این دو واکسن بادوام هستند. بنابراین، تشخیص بین حیوانات آلوده و واکسینه شده با سویه واکسن S۱۹ یا Rev۱ دشوار است. اگرچه میزان بروز سقط جنین پایین است، اما برای غلبه بر این نقایص، نیاز به یک واکسن ایمن و کارآمد احساس می‌شود (۱۴). یکی دیگر از واکسن‌های این دسته واکسن زنده ضعیف شده است که حاوی *بروسلا سوئیس* سویه S۲ می‌باشد. واکسیناسیون با این واکسن یکی از برنامه‌های کنترل بروسلوز در چین است. مطالعات نشان می‌دهد که این واکسن پاسخ ایمنی هومورال و سلولی خوبی ارائه می‌دهد و در برابر گونه‌های دیگر *بروسلا* نیز محافظت ایجاد می‌کند (۳)، البته این واکسن دامنه میزبانی محدودی دارد (۱۱).

واکسن‌های بروسلوز مبتنی بر پروتئین‌های نوترکیب: واکسن‌های پروتئین نوترکیب به‌عنوان جایگزین واکسن‌های مرسوم بسیار نویدبخش هستند، زیرا می‌توانند در بازدهی زیاد، خلوص بالا و با قابلیت اصلاح به‌منظور افزایش فعالیت‌های دلخواه و کاهش فعالیت‌های

ناخواسته ساخته شوند. فرمولاسیون این واکسن‌ها استفاده از یک پروتئین نوترکیب بسیار حفاظت شده است که می‌تواند بر گونه‌های متعدد بروسلا تأثیر بگذارد. در این طرح، انتخاب یک آنتی‌ژن (متفاوت از آنتی‌ژن مورد استفاده در تست‌های تشخیصی) برای واکسیناسیون، امکان تمایز بین حیواناتی که واکسینه شده‌اند و حیواناتی که عفونت بروسلا دارند را فراهم می‌کند. همچنین، این واکسن‌ها بیماری را گسترش نمی‌دهند و نمی‌توانند به سویه‌های خطرناک تبدیل شوند و این باعث می‌شود که استفاده از آنها ایمن‌تر از سایر واکسن‌ها باشد (۱۵). در یک واکسن بروسلا با نام X4072bl، از یک سویه ضعیف شده *سالمونلا تیفی‌موریوم* حامل پلاسمید نوترکیب asd-pBL، به‌عنوان یک ناقل برای انتقال پروتئین‌های الحاقی AL7/L12 و BLS بروسلا به مناطق مهم ایمنی استفاده شد. هنگامی که این واکسن به‌صورت خوراکی روی موش‌های BALB/c تجویز شد، سویه ناقل ضعیف شده قادر به ایجاد ایمنی مخاطی و سیستمیک و محافظت موش‌ها در برابر عفونت بروسلا *آبورتوس* سویه ۵۴۴ شد (۱۶).

واکسن‌های زیرواحدی، به دلیل قابلیت دستکاری برای به حداکثر رساندن فعالیت‌های مطلوب، واکسن‌های امیدوارکننده‌ای هستند. با این حال، آنها نمی‌توانند عفونت طبیعی بروسلا (تروپیسم بافتی و سلولی) را تکثیر و تقلید کنند و بنابراین در مقایسه با واکسن‌های زنده ضعیف شده، کارایی محافظتی کمتری دارند (۱۷). فعالیت آنتی‌ژنی ضعیف، ناپایداری و نیمه عمر کوتاه آنتی‌ژن‌های نوترکیب مانع اصلی در طراحی یک واکسن زیرواحدی مؤثر علیه بروسلوز شده است (۱۸). در این زمینه، استفاده از ادجوانت‌ها، تعدیل‌کننده‌های ایمنی و سیستم‌های تحویل آنتی‌ژن برای تقویت پاسخ‌های ایمنی علیه این آنتی‌ژن‌ها ضروری است. نوع پاسخ ایمنی القایی به نوع آنتی‌ژن و ادجوانت مورد استفاده در واکسن‌های حاوی پروتئین نوترکیب بروسلا بستگی دارد. ادجوانت فروند (متداول‌ترین ادجوانت)، ادجوانت آلوم و هیدروکسید آلومینیوم (تنها ادجوانت مجاز برای استفاده در واکسن‌های انسانی) پاسخ‌های ایمنی نوع Th۲را ایجاد می‌کنند، در حالی که لیپید مونوفسفوریل A پاسخ‌های نوع Th۱ را القا می‌کند. برای غربالگری و ارزیابی آنتی‌ژن‌های محافظ، ترکیبی از یک آنتی‌ژن مناسب، ادجوانت، تقویت‌کننده و وکتور تحویل دهنده برای ایجاد یک پاسخ ایمنی محافظتی قوی، مانند پاسخ ایمنی Th۱به‌عنوان ایمنی غالب در برابر بروسلوز مورد نیاز است (۱۹). برای ایجاد یک واکسن مؤثر علیه پاتوژن داخل سلولی که توسط بروسلا ارائه می‌شود، تولید سایتوکاین‌های مشتق از (IL-۱۲)، Th۱ ، TNFα، IFNγ و همچنین فعال‌سازی ماکروفاژها، سلول‌های دندریتیک و سلول‌های T CD۴+ و+۸ CD از عوامل کلیدی برای پاکسازی عفونت هستند، در حالی که پاسخ‌های ایمنی Th۲، که توسط سیستم ایمنی هومورال القا می‌شوند، نقش جزئی در پاکسازی عفونت دارند. سیتوکین‌ها نقش اصلی را در رشد، بلوغ، تمایز و فعال سازی سلول‌های ایمنی ایفا می‌کنند. به‌عنوان مثال، IL-۴ (سیتوکین Th۲) با تمایز سلول‌های T CD۴+ ساده به سلول‌های ۲ Thباعث تولید آنتی‌بادی IgG۱ می‌شود، در حالی که IFN γ(سیتوکین Th۱) با تمایز سلول‌های T CD۴+ ساده، تشکیل آنتی‌بادی IgG۲ را القا می‌کند (۲۰). IL -۱۰ یک سیتوکین تنظیم‌کننده ایمنی است که تعادل پاسخ‌های ایمنی Th۱یا Th۲را برای جلوگیری از فعالیت بیش از حد سیستم ایمنی و محدود کردن آسیب بیشتر بافت ایجاد می‌کند (۲۱).

سطوح سلولی و اجزای درون سلولی متعددی از بروسلا مانند پروتئین‌های غشای خارجی و ریبوزومی Omp۲B، Omp۱۶، Omp۱۹، Omp۳۱ و L۷/ L۱۲ در *E. coli*بیان شده است و به‌عنوان آنتی‌ژن‌های محافظ در مدل‌های موش مورد استفاده قرار گرفته است (۲۲). با این حال، هیچ یک از آنها نتیجه موفقیت‌آمیزی نشان نداده‌اند و نیاز به بررسی بیشتری دارند. مطالعات قبلی نشان داده‌اند که پروتئین‌هایی که طیف وسیعی از ایمنی‌زایی را

ایجاد می‌کنند، می‌توانند پاسخ‌های ایمنی قوی‌تر و محافظت بهتری در برابر بروسلا نسبت به همتایان تک ظرفیتی خود ایجاد کنند (۲۳). در عین حال، سایر مطالعات چنین یافته‌هایی را مشاهده نکرده‌اند (۲۴). طیف وسیعی از عوامل مؤثر بر پاسخ‌های ایمنی و محافظت ناشی از واکسیناسیون در مدل موش وجود دارد، از جمله عوامل ذاتی میزبان (جنس، سن و نوع موش)، عوامل واکسن (مانند نوع واکسن، نوع ادجوانت، تعداد و دوز واکسیناسیون)، عوامل تجویز (برنامه، محل، مسیر، زمان واکسیناسیون)، و عوامل چالش (سویه پاتوژن چالش برانگیز و فاصله زمانی بین واکسیناسیون و ارزیابی شدت عفونت باکتریایی طحال) (۲۳). در زیر به چند پروتئین بروسلا که در طراحی واکسن‌های زیرواحدی مورد استفاده قرار گرفته‌اند اشاره می‌شود.

L۷/ L۱۲ (پروتئین ریبوزومی) یکی از اولین پروتئین‌های نوترکیب خالص شده است که علیه بروسلا آزمایش شده است. یافته‌ها نشان می‌دهد که تجویز L۷/ L۱۲ با کمک ادجوانت، منجر به محافظت قابل توجهی در برابر عفونت *بروسلا آبورتوس* می‌شود. (۱۷). در سال ۲۰۰۷، مطالعه گروهی از پژوهشگران نشان داد که آرایه سیتوزولی پروتئین نوترکیب rL۱۲ /L۷ با استفاده از لیپید لیپوزومی اشریشیاکلی (اشریوزوم) می‌تواند پاسخ‌های ایمنی قوی را در موش‌های BALB/c ایجاد کند (۲۱).

پروتئین غشای خارجی ۳۱ کیلو دالتون (Omp۳۱) یک پروتئین غشایی بروسلا است و نقش مهمی در محافظت *بروسلا* ملی‌تنسیس دارد. در واقع Omp۳۱ یک عامل حدت قابل توجه برای گونه‌های بروسلا است و پتانسیل بالایی به‌عنوان آنتی‌ژن واکسن دارد. (۲۵). در یک بررسی در سال ۲۰۰۵ تزریق پروتئین غشای خارجی نوترکیب ۳۱ کیلو دالتونی *بروسلا ملی‌تنسیس* (rOmo۳۱) همراه با ادجوانت فروند به موش‌ها، موجب تحریک پاسخ شدید ایمونوگلوبولین IgG و تولید بالای IL-۲ و IFN-γ شد (۲۶).

پروتئین اتصال پری پلاسمیک (P۳۹) جزء غشای سیتوپلاسمی محیطی بروسلا است و ثابت شده است که یک آنتی‌ژن محافظت کننده است. گروهی از دانشمندان در سال ۲۰۱۰ دریافتند که واکسیناسیون موش‌ها با پروتئین P۳۹ بروسلا و ایجاد عفونت متعاقب آن با باکتری‌های سویه M ۱۶، تعداد این باکتری را در طحال در هفته‌های ۴ و ۸ پس از واکسیناسیون کاهش داده است. (۲۷).

پروتئین بسیار ایمنی‌زای بروسلا لومازین سنتاز (BLS) دارای ویژگی‌های یک آدجوانت خوب است و همین موضوع باعث شده که به‌عنوان یک حامل پروتئین مفید برای واکسن شناخته شود. این پروتئین اصولاً باعث تحریک سیستم ایمنی می‌شود (۲۵). محققان ایرانی، کلونینگ، بیان و خالص‌سازی پروتئین بروسلا لومازین سنتاز را در باکتری *اشریشیاکلی سویه* BL۲۱ انجام دادند. روش مورد استفاده در این مطالعه را می‌توان برای تولید یک BLS نسبتاً خالص در صنعت واکسیناسیون به کار برد. (۲۸).

اگرچه واکسن‌های زیرواحدی از مزیت ایمنی برخوردار هستند، اما به تقویت‌کننده‌های متعدد و ترکیبی از چندین آنتی‌ژن، ادجوانت و وکتور برای ایجاد ایمنی مؤثر و محافظت در برابر بروسلوز در گاو نیاز دارند که از نظر اقتصادی مقرون به صرفه نیست (۲۹). لازم به ذکر است که از کپسولاسیون‌هایی مانند اسکریوزوم‌ها و لیپوزوم‌ها و همچنین تقویت با سایتوکاین‌های IL -۱۸ می‌توان برای تقویت واکسیناسیون زیرواحدی استفاده کرد. برای تعیین اینکه آیا این واکسن‌های بالقوه، در حیوانات موثر هستند یا نه، تحقیقات بیشتری مورد نیاز است (۲۰).

واکسن‌های DNA علیه بروسلوز: واکسن‌های نسل سوم عبارتند از تزریق مستقیم پلاسمید (DNA) نوترکیب خاصی که قدرت القای ژن مورد نظر را درون سلول‌های بدن دارد. بنابراین اساس کار واکسن‌های ژنی بر فرآیند طبیعی عمل ترجمه ژن‌ها به پروتئین در سلول‌های بدن انسان و تمام موجودات زنده است و پروتئین نوترکیبی که

برای تحریک سیستم ایمنی لازم است به جای آن‌که در خارج از بدن تولید و به بدن تزریق شود، در داخل بدن تولید و مستقیماً در اختیار سیستم ایمنی قرار می‌گیرد. واکسن‌های بروسلا مبتنی بر DNA پاسخ‌های ایمنی را به دنبال دوزهای متعدد تحریک می‌کنند (۲۵). این واکسن‌ها به دلیل تحریک پاسخ‌های ایمنی سلولی قوی، بیان چندین آنتی‌ژن و شرایط نگهداری ساده، واکسن‌های ایمن و کارآمد علیه بروسلوز هستند (۱۱). واکسن‌های مبتنی بر DNA حاوی توالی‌های ژنی از پاتوژن‌ها هستند که برای بقای درون سلولی گونه‌های بروسلا ضروری هستند. ایمنی‌زایی و کارایی ژن‌های حدت مورد استفاده در واکسن‌های DNA در مطالعات حیوانی از جمله سیستم دو جزئی BvrR/BvrS نشان داده شده است (۳۰). مثال‌های پروتئین‌های کدشده توسط این واکسن‌ها شامل سوپراکسید دیسموتاز (Superoxide dismutase, SOD) (۳۱)، L۱۲ /L۷ ریبوزومی، بروسلا لومازین سنتاز (BLS) (۳۲)، Omp۳۱ و Omp۲۵) (۳۰) ژن پروتئین سطحی آنتی‌ژنی (BCSP۳۱) (۳۳)، (SP۴۱) (۳۴) و پروتئین ریبوزومی (rL) L۹ می‌باشند (۲۷). با توجه به مطالعات انجام شده، واکسن‌های DNA ممکن است برخی معایب سایر انواع واکسن‌های بروسلوز را نداشته باشند (۳۵). در اکثر مطالعات، حیواناتی که با انواع مختلف واکسن‌های DNAواکسینه شده‌اند، محافظت کامل در برابر سویه‌های بدخیم (مانند *بروسلا ابورتوس* S۱۹، *بروسلا ابورتوس* ۲۳۰۸، *بروسلا ملی‌تنسیس* M۱۶ و *بروسلا ملی‌تنسیس* Rev۱) نشان داده‌اند (۳۱). ترکیبی از چندین آنتی‌ژن مناسب، مانند L۱۲ /L۷ ، BCSP۳۱، SOD، P۳۹ و Omp۱۶، می‌تواند برای ساخت واکسن DNA آنتی‌ژنی دو ظرفیتی یا چند ظرفیتی استفاده شود. این واکسن‌ها به دلیل دارا بودن اجزای آنتی‌ژنی بیشتر، موجب القای طیف وسیعی از پاسخ‌های ایمنی هومورال و سلولی شده‌اند و شبیه‌ترین وضعیت به عفونت بروسلا را ایجاد کرده‌اند (۲۵).

با این حال برخی مطالعات نشان داده‌اند که پس از تجویز واکسن DNA، هیچ پاسخ محافظتی در مقابل بروسلا مشاهده نشده است یا پاسخ ایمنی القا شده خفیف است (۳۵). این امر ممکن است به دلیل ناتوانی واکسن در بیان آنتی‌ژن‌های خاصی مانند آنتی‌ژن GroEL-Hsp توسط واکسن‌های پلاسمیدی باشد (۳۶). به دلیل خاموش شدن سریع ژن‌ها و از دست دادن پاسخ محافظتی در طولانی مدت، تجویز این واکسن‌ها نیاز به دوزهای مکرر تقویت‌کننده دارد. در این راستا یافته‌های مطالعه‌ای نشان داده است به دنبال واکسیناسیون مکرر با PcDNA ۳ حاوی ژن BLS، پاسخ محافظتی و تولید IgG۲a در موش‌ها القا می‌شود (۳۷). بنابراین، علی‌رغم این که واکسن‌های مبتنی برDNA بیان آنتی‌ژن‌های محافظ را موجب می‌شوند ولی ممکن است این بیان آنتی‌ژن به دلیل خاموش شدن زود هنگام ژن کدکننده، بالا نباشند. امروزه تلاش‌هایی برای به تأخیر انداختن خاموشی ژن برای مدت طولانی‌تری با استفاده از عواملی مانند ادجوانت انجام می‌شود (۳۰).

مزایای واکسن‌های DNA : واکسن‌های DNA به‌عنوان یک استراتژی ایده‌آل درمانی با توجه به مزایای متعدد بر روی پلتفرم‌های رقابتی پیشنهاد شده است. به‌عنوان مثال، واکسن‌های DNA غیر زنده و بدون تکثیر هستند و در نتیجه بر خلاف واکسن‌های زنده قادر به تبدیل شدن به نوع بیماری‌زا نیستند. علاوه بر این، واکسن‌های DNA بسیار قابل تنظیم هستند و از این‌رو، آنتی‌ژن‌های چندگانه را می‌توان در یک پلاسمید DNA منفرد رمزگذاری کرد. این امر اجازه می‌دهد تا در پاسخ ایمنی میزبان، وسعت بسیار بیشتر و حفاظت بهتر صورت گیرد، زیرا اپی‌توپ‌های مختلف در یک پاتوژن انواع مختلفی از پاسخ‌های ایمنی را به ارمغان می‌آورد. علاوه بر این، بهینه‌سازی وکتورهای واکسن و آنتی‌ژن‌های کد شده بیان و واکنش متقابل سلولی/هومورال را افزایش داده است. در نهایت، واکسن‌های DNA ساده و ارزان هستند و به راحتی می‌توانند در مقادیر زیادی تولید شوند، این واکسن‌ها پایدارتر از واکسن‌های معمولی هستند (در دمای

اتاق به راحتی قابل نگهداری هستند) و می‌توانند به راحتی ذخیره و حمل شوند (۲۵).

برخی واکسن‌های DNA طراحی شده علیه بروسلوز: در سال ۲۰۰۱، گروهی از محققان، ناقل بیانی یوکاریوتی به نام‌های pCIBFR و pCIP۳۹ ساختند که آنتی‌ژن‌های BFR یا P39 را کد می‌کردند. آنها دریافتند که هر دو ناقل یک پاسخ گاما اینترفرون قابل توجه ایجاد کرده و باعث تکثیر بیشتر سلول T در موش‌ها شدند (۳۸).

محققان ایرانی در پژوهشی، واکسن DNA کدکننده پروتئین OMP۳۱ *بروسلا ملی‌تنسیس* (pcDNA۳/۱-OMP۳۱) را طراحی کردند. آنها دریافتند که تزریق داخل عضلانی این واکسن DNA به موش‌های BALB/c به‌طور قابل توجهی پاسخ ایمنی هومورال و سلولی را بر می‌انگیزد. علاوه بر این، واکسن DNA، پاسخ تکثیری به سلول T و همچنین تولید اینترفرون گاما را القا کرد (۳۹).

در سال ۲۰۱۵، گروهی از محققین ایرانی از ژن‌های stx۲ و P۳۹ برای ساخت واکسن DNA استفاده کردند. آنها موفق شدند وکتور نوترکیب pcDNA۳/۱+stx۲-P۳۹ را به‌طور مؤثری ایجاد کنند و پیشنهاد کردند که در تحقیقات آینده ممکن است ساختار P۳۹-pcDNA۳/۱+stx۲ ایجاد شده بتواند به‌عنوان کاندیدای واکسن DNA در برابر سویه‌های بدخیم *بروسلا ملی‌تنسیس* و اشریشیاکلای که سموم شیگا را در مدل‌های حیوانی تولید می‌کنند، بکار گرفته شود (۳۹).

در سال ۲۰۱۵، دانشمندان ژن OMP۳۱ و ژن bls را با هم در یک سلول کلون کردند و پروتئین نوترکیب را بیان کردند. یافته‌ها نشان داد که OMP۳۱ یک کاندید اصلی برای واکسیناسیون است و مولکول Bls یک حامل مناسب برای انتقال پروتئین‌های آنتی‌ژنی در بدن می‌باشد (۴۰).

درمطالعه‌ای در سال ۲۰۰۵ برای ارزیابی ایمنی‌زایی و اثر حفاظتی OMP۳۱ *بروسلا ملی‌تنسیس* کلون شده در پلاسمید pCI (با نام pCI OMP۳۱) انجام شد. ایمن‌سازی موش‌های BALB/c با pCI OMP۳۱ محافظت خوبی در برابر عفونت‌های بروسلا ایجاد کرد. سلول‌های طحال موش‌های واکسینه شده با OMP۳۱ فعالیت سیتوتوکسیک خاص لنفوسیت T ایجاد کردند که باعث شد ماکروفاژهای آلوده به بروسلا در شرایط آزمایشگاهی لیز شوند (۳۹).

در سال ۲۰۰۲، زیست‌شناسان در مطالعه‌ای دریافتند که تزریق پلاسمید حامل ژن BLS (pcDNA-BLS) به موش‌های BALB/c می‌تواند پاسخ‌های ایمنی هومورال و سلولی را در آنها ایجاد کند. همچنین سلول‌های طحال حیوانات واکسینه شده اینترلوکین ۲ و گاما اینترفرون تولید کردند. این یافته‌ها نشان دادند که pcDNA-BLS یک ایمونوژن خوب برای تولید پاسخ‌های هومورال و سلولی است (۳۷).

در یک مطالعه، کلون‌سازی مولکولی و تجزیه و تحلیل بیان ژن OMP۲۵ در طراحی یک واکسن زیرواحد علیه بروسلا با استفاده از وکتور pET۳۲ (a) مورد آزمایش قرار گرفت. دانشمندان این ژن را به‌عنوان یک کاندید برای تحریک سیستم ایمنی با واسطه سلولی و هومورال در مطالعات آینده مفید یافتند (۴۱).

در سال ۲۰۱۷ محققان ایمنی‌زایی واکسن DNA چند اپی‌توپی کدکننده سوپراکسید دیسموتاز مس- روی را علیه *بروسلا ابورتوس* در موش مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان‌دهنده یک پاسخ ایمنی هومورال و سلولی اختصاصی در موش BALB/c به واسطه پاسخ T CD۴+، تولید ایمونوگلوبولین G۲a و IFN-γ بود (۳۲).

در یک مطالعه، محققان قابلیت واکسن DNA کدکننده پروتئین ۱۶Momp۳۱ را برای تحریک پاسخ‌های ایمنی سلولی و هومورال در موش بررسی کردند. این واکسن با استفاده از ناقل بیان یوکاریوتی ۳۱ pTargeTomp طراحی و ساخته شد. pTargeTomp۳۱ پاسخ آنتی‌بادی مثبت و طولانی مدتی ایجاد کرد و علاوه بر پاسخ تکثیر سلول T، میزان IFN-γ را نیز افزایش داد (۴۲).

گروهی از پژوهشگران واکسن DNA مبتنی بر ژن کدکننده پروتئین سطحی آنتی‌ژنی BCSP۳۱ را با استفاده از وکتور pTz۵۷R\T طراحی و بر روی خرگوش آزمایش کردند. نتایج نشان داد که پاسخ‌های اختصاصی IgG در گروه‌های واکسینه شده در مقایسه با گروه شاهد بسته به دوز تزریقی واکسن به‌طور معنی‌داری بیشتر بود. (۳۴).

گروهی از پژوهشگران چینی در سال ۲۰۱۹ میلادی به‌منظور ارزیابی ایمنی‌زایی و اثر حفاظتی واکسن DNA کدکننده بروسلا BvrR، پلاسمید نوترکیب pCDNA-BvrR را با قرار دادن قطعه ژن BvrR در یک وکتور بیانی ساختند و پس از تزریق این واکسن به موش‌ها و بررسی کلیرانس باکتریایی سیستمیک و سطح IgG دریافتند که واکسن pCDNA-BvrR سطح قابل توجهی از محافظت را در موش‌های BALB/c ایجاد کرده است. این نتایج نشان داد که BvrR ممکن است کاندید خوبی برای واکسن DNA علیه بروسلوز باشد (۳۱).

محققان واکسن DNA فیوژن دو ظرفیتی pcDNA3.1-L7/L12-Omp16 را در سال ۲۰۰۶ برای آزمایش ایمنی‌زایی و اثر محافظتی پروتئین‌های *بروسلا آبورتوس* L7/L12 (پروتئین ریبوزومی) و Omp16 ابداع و به‌صورت عضلانی به موش BALB/c تزریق کردند. یافته‌ها نشان داد هر دو پاسخ ایمنی هومورال و سلولی به شدت القا شدند. در یک سری از آنتی‌بادی‌های تولید شده، ایمونوگلوبولین G۲a(IgG۲a) بر ایمونوگلوبولین G۱ غالب بود (۲۵).

در سال ۱۹۹۴، محققان سه پپتید از ساختار اصلی آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز روی- مس (Cu-Zn SOD) *بروسلا ابورتوس* را تولید و از آن برای ایجاد واکسن بروسلوز استفاده کردند. تحقیقات آنها نشان داد که تنها پپتید سوم (GGAPGEKDGKIVPAG) دارای فعالیت بیولوژیکی پیشگیرانه است که معلوم شد می‌تواند باعث جلوگیری از بزرگی طحال و کاهش شدت عفونت طحال شود (۴۳).

در سال ۲۰۰۷، محققان پنج ژن کاندید را در ژنوم *بروسلا ملی‌تنسیس* ۱۶M انتخاب کردند و در مدل موشی(BALB/c) عفونت تب مالت، اثربخشی و خواص محافظتی هر واکسن را مورد ارزیابی قرار دادند. محققان توانستند اثر محافظتی قابل توجهی را با استفاده از آنتی‌ژن Omp۲۵ مشاهده نمایند (۲۳).

پژوهشگران برای نخستین بار واکسن نوترکیب BCG یا (rBCG) بیان کننده پروتئین P۳۹-L۷/۱۲ *بروسلا ملی‌تنسیس* را علیه عفونت بروسلا ساختند و پس از بررسی‌ها دریافتند که واکسن rBCG در داخل بدن ایمنی هومورال و ایمنی سلولی با واسطه سلول T را تقویت می‌کند. علاوه بر این، سطح حفاظت القا شده توسط واکسن rBCG به‌طور قابل توجهی بالاتر از سطح حفاظتی القا شده توسط BCG بود. در مجموع، این نتایج نشان می‌دهد که واکسن rBCG می‌تواند به‌عنوان یک واکسن مناسب و یک استراتژی جدید در برابر بروسلوز انسانی عمل کند (۲۳).

در سال ۲۰۲۰ میلادی گروهی از محققان آنتی‌ژن L۱۲/L۷ *بروسلا آبورتوس* را به‌صورت سازه پلاسمید pJHL ۶۵ : L۱۲/L۷ به سویه ضعیف شده *سالمونلا تیفی‌موریوم*، منتقل کردند و سپس این واکسن DNA تولید شده را به موش تزریق کردند. آنها دریافتند که پاسخ‌های ایمنی هومورال و سلولی با برانگیختن موفقیت‌آمیز پاسخ‌های ایمنی Th۱ و Th۲ ایجاد شد (۴۴).

در مطالعه‌ای در سال ۲۰۲۱ میلادی پژوهشگران موش‌های BALB/c را با pcDNA-omp31 و pVAX-۳۱ Omp ایمن‌سازی کردند و برای یادآور از Omp۳۱ نوترکیب استفاده کردند. در موش‌های تلقیح شده، هر دو نامزد واکسن DNA، پاسخ‌های قوی از نوع Th۱ با سطوح بیشتری از سایتوکاین‌ها و ایمونوگلوبولین‌ها را القا کردند (۴۵).

محققان در سال ۲۰۲۱، ژن Omp۲۵ را تکثیر و در وکتور بیانی Pet102/D-TOPO کلون کردند. آنها دریافتند

که دوزهای ۱ میکروگرم در میلی‌لیتر و کمتر این واکسن به‌طور قابل توجهی التهاب را از طریق افزایش سطوح اکسید نیتریک (NO) افزایش می‌دهد و مطالعات روی بقاء سلولی Th1و انتشار سیتوکین مربوطه، امید ساخت واکسن بر مبنای پروتئین Omp۲۵ را بسیار افزایش داده است (۴۶).

نتیجه‌گیری

وجود اشکالاتی مانند مقاومت آنتی‌بیوتیکی، تداخل با آزمایش‌های تشخیصی سرولوژیکی و احتمال برگشت به حالت بیماری‌زا در واکسن‌های بروسلوز زنده ضعیف شده، موجب شده است دانشمندان در صدد طراحی واکسن‌هایی با تکنولوژی‌های نوین‌تر باشند. واکسن‌های حاوی زیرواحدهای پروتئینی و DNA واکسن‌ها در این زمینه مورد توجه زیادی قرار گرفته‌اند. با این وجود، فعالیت آنتی‌ژنی ضعیف، ناپایداری و نیمه عمر کوتاه واکسن‌های حاوی زیرواحدهای پروتئینی که از طریق تکنولوژی DNA نوترکیب به دست آمده‌اند، مانع اصلی در استفاده از آنها به‌عنوان یک واکسن مؤثر علیه بروسلوز است. استفاده از ادجوانت‌ها یکی از راه‌های غلبه بر این مشکل است. واکسن‌های DNA نیز معایب واکسن‌های حاوی زیرواحدهای پروتئینی را دارند اما با رمزگذاری آنتی‌ژن‌های چندگانه در یک پلاسمید منفرد می‌توان موجب شد پاسخ ایمنی میزبان با وسعت بسیار بیشتر و حفاظت بهتر صورت گیرد، زیرا اپی‌توپ‌های مختلف در یک پاتوژن انواع مختلفی از پاسخ‌های ایمنی را به تحریک می‌کنند. از جمله ژن‌های بروسلایی مورد استفاده در این واکسن‌ها می‌توان به ژن‌های کدکننده پروتئین‌های Omp۳۱، BFR، P۳۹، BLS، Omp۲۵، سوپراکسید دیسموتاز مس- روی، ۱۶Momp۳۱، BCSP۳۱، BvrR و P۳۹-L۷/۱۲ اشاره کرد که در تحقیقات مختلف طراحی DNA واکسن علیه بروسلا بکار رفته‌اند. با درنظر گرفتن مزیت‌ها و معایب انواع واکسن‌های بروسلوز، واکسن‌های DNA می‌توانند استراتژی خوبی برای درمان بروسلوز باشند. با این حال، برای افزودن نامزدهای بیشتری برای تولید این واکسن‌ها به عنوان واکسن‌های برتر، ایمن و مؤثر در برابر این بیماری، باید از تحقیقات در حیوانات بزرگ در زمینه واکسن DNA بروسلا حمایت شود.

References

1- Madkour MM. Brucellosis. Elsevier; 2014.

2- Vishnu US, Sankarasubramanian J, Gunasekaran P, Rajendhran J. Identification of potential antigens from non-classically secreted proteins and designing novel multitope peptide vaccine candidate against Brucella melitensis through reverse vaccinology and immunoinformatics approach. *Infection, Genetics and Evolution*. 2017; 55: 151-8.

3- Zhu L, Feng Y, Zhang G, Jiang H, Zhang Z, Wang N, *et al.* *Brucella suis* strain 2 vaccine is safe and protective against heterologous *Brucella spp*. infections. *Vaccine*. 2016; 34(3): 395-400.

4- Shirzadi MR, Mohammadi P, Moradi G, Goodarzi E, Khazaei S, Moayed L, *et al.* The Incidence and Geographical Distribution of Brucellosis in Iran Using Geographic Information System and Prediction of its Incidence in 2021. *Journal of preventive medicine and hygiene*. 2021;62(3): E635.

5- Djangwani J, Ooko Abong' G, Gicuku Njue L, Kaindi DW. Brucellosis: Prevalence with reference to East African community countries–A rapid review. *Veterinary Medicine and Science*. 2021;7(3): 851-67.

6- Dadar M, Tiwari R, Sharun K, Dhama K. Importance of brucellosis control programs of livestock on the improvement of one health. Veterinary Quarterly. 2021; 41(1): 137-51.

7- Moreno E, Barquero-Calvo E. The role of neutrophils in brucellosis. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 2020; 84(4): e00048-20.

8- Li ZQ, Shi JX, Fu WD, Zhang Y, Zhang J, Wang Z, *et al.* A *Brucella melitensis* M5-90 wboA deletion strain is attenuated and enhances vaccine efficacy. *Molecular Immunology*. 2015;66(2): 276-

83.

9- Pei J, Turse JE, Ficht TA. Evidence of *Brucella abortus* OPS dictating uptake and restricting NF-κB activation in murine macrophages. *Microbes and infection*. 2018; 10(6): 582-90.

10- Barrionuevo P, Cassataro J, Delpino MV, Zwerdling A, Pasquevich KA, Samartino CG, *et al.* *Brucella abortus* inhibits major histocompatibility complex class II expression and antigen processing through interleukin-6 secretion via Toll-like receptor 2. *Infection and immunity*. 2018; 76(1): 250-62.

11- Gheibi A, Khanahmad H, Kashfi K, Sarmadi M, Khorramizadeh MR. Development of new generation of vaccines for *Brucella abortus*. *Heliyon*. 2018; 4(12): e01079.

12- Mansoori N, Pourmand MR. Vaccines and vaccine candidates against brucellosis. *Infection Epidemiology and Microbiology*. 2016; 2(4): 32-6.

13- Mohammed FA, Salman AM. Risk Assessment of *Brucellosis* in Dairy Cows in Bahri North Locality, Sudan.

14- Truong QL, Cho Y, Park S, Park BK, Hahn TW. *Brucella abortus* mutants lacking ATP-binding cassette transporter proteins are highly attenuated in virulence and confer protective immunity against virulent B. abortus challenge in BALB/c mice. *Microbial pathogenesis*. 2016; 95: 175-85.

15- Reed SG, Bertholet S, Coler RN, Friede M. New horizons in adjuvants for vaccine development. *Trends in immunology*. 2019; 30(1): 23-32.

16- Zhao Z, Li M, Luo D, Xing L, Wu S, Duan Y, *et al.* Protection of mice from Brucella infection by immunization with attenuated *Salmonella enterica* serovar typhimurium expressing A L7/L12 and BLS fusion antigen of Brucella. *Vaccine*. 2009; 27(38): 5214-9.

17- Bugybayeva D, Kydyrbayev Z, Zinina N, Assanzhanova N, Yespembetov B, Kozhamkulov Y, *et al.* A new candidate vaccine for human brucellosis based on influenza viral vectors: development of immunization schedule in guinea pig model. 2021; 25(10): 112-55.

18- Tabynov K. Influenza viral vector based *Brucella abortus* vaccine: a novel vaccine candidate for veterinary practice. *Expert Review of Vaccines*. 2016; 15(10): 1237-9.

19- Li ZQ, Zhang JL, Xi L, Yang GL, Wang SL, Zhang XG, *et al.* Deletion of the transcriptional regulator GntR down regulated the expression of genes related to virulence and conferred protection against wild-type *Brucella* challenge in BALB/c mice. *Molecular Immunology*. 2017; 92: 99-105.

20- Hop HT, Reyes AW, Simborio HL, Arayan LT, Min WG, Lee HJ, *et al.* Immunization of mice with recombinant Brucella abortus organic hydroperoxide resistance (Ohr) protein protects against a virulent *Brucella abortus* 544 Infection. *Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2016; 26(1): 190-6.

21- Hewawaduge C, Senevirathne A, Lee JH. Enhancement of host infectivity, immunity, and protective efficacy by addition of sodium bicarbonate antacid to oral vaccine formulation of live attenuated Salmonella secreting *Brucella* antigens. *Microbial pathogenesis*. 2020; 138: 103-857.

22- Ghasemi A, Jeddi-Tehrani M, Mautner J, Salari MH, Zarnani AH. Immunization of mice with a novel recombinant molecular chaperon confers protection against *Brucella melitensis* infection. *Vaccine*. 2014; 32(49): 6659-66.

23- Zhou Y, Zheng Y, Chen Y, Li Y, Sun X, Huo Y, *et al.* Evaluation of a recombinant *bacillus* calmette-guérin vaccine expressing P39-L7/L12 of Brucella melitensis: An immunization strategy against brucellosis in BALB/c mice. *Materials Express*. 2020; 10(3): 350-62.

24- Tadepalli G, Konduru B, Murali HS, Batra HV. Intraperitoneal administration of a novel chimeric immunogen (rOP) elicits IFN-γ and IL-12p70 protective immune response in BALB/c mice against virulent *Brucella*. *Immunology Letters*. 2017; 192: 79-87.

25- Zhang F, Li Z, Jia B, Zhu Y, Pang P, Zhang C, *et al.* The immunogenicity of OMP31 peptides and its protection against *Brucella melitensis* infection in mice. *Scientific Reports*. 2019;9(1): 1-7.

26- Abdollahi A, Mansouri S, Amani J, Fasihi-Ramandi M, Ranjbar R, Ghasemi A, *et al.* A Recombinant Chimera Protein as a Novel *Brucella* Subunit Vaccine: Protective Efficacy and Induced Immune Response in BALB/c Mice. *Jundishapur Journal of Microbiology*. 2018;11(1).

27- Al-Mariri A, Abbady AQ. Evaluation of the immunogenicity and the protective efficacy in mice of a DNA vaccine encoding SP41 from *Brucella melitensis*. *The Journal of Infection in Developing Countries*. 2013; 7(04): 329-37.

28- Majidi B, Najafi MF, Saeedian S. Cloning, expression and purification of *Brucella*

lumazine synthase protein in E. coli BL21. *Journal of Advanced Pharmacy Education & Research*. 2019; 9(S2).

29- Zimmermann P, Curtis N. Factors that influence the immune response to vaccination. *Clinical microbiology reviews.* 2019; 32(2): e00084-18.

30- Hu XD, Yu DH, Chen ST, Li SX, Cai H. A combined DNA vaccine provides protective immunity against *Mycobacterium bovis* and *Brucella abortus* in cattle. *DNA and Cell Biology*. 2009; 28(4): 191-9.

31- Chen B, Liu B, Zhao Z, Wang G. Evaluation of a DNA vaccine encoding *Brucella* BvrR in BALB/c mice. *Molecular Medicine Reports*. 2019; 19(2): 1302-8.

32- Escalona E, Sáez D, Oñate A. Immunogenicity of a multi-epitope dna vaccine encoding epitopes from Cu–Zn superoxide dismutase and open reading Frames of *Brucella abortus* in mice. *Frontiers in immunology*. 2017; 8: 125.

33- Shojaei M, Tahmoorespur M, Soltani M, Sekhavati MH. Immunogenicity evaluation of plasmids encoding *Brucella* melitensis Omp25 and Omp31 antigens in BALB/c mice. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*. 2018; 21(9): 957.

34- Imtiaz W, Khan A, Gul ST, Saqib M, Saleemi MK, Shahzad A, *et al.* Evaluation of DNA vaccine encoding BCSP31 surface protein of *Brucella abortus* for protective immunity. *Microbial pathogenesis*. 2018; 125: 514-20.

35- Jain S, Afley P, Dohre SK, Saxena N, Kumar S. Evaluation of immunogenicity and protective efficacy of a plasmid DNA vaccine encoding ribosomal protein L9 of *Brucella abortus* in BALB/c mice. *Vaccine*. 2014; 32(35): 4537-42.

36- Da Sol Choi SI, Shin WG, Park CH. Risk for colorectal neoplasia in patients with Helicobacter pylori infection: A systematic review and meta-analysis. *Clinical and Translational Gastroenterology*. 2020; 11(2): 1401-553.

37- Kwon AJ, Moon JY, Kim WK, Kim S, Hur J. Protection efficacy of the *Brucella abortus* ghost vaccine candidate lysed by the N-terminal 24-amino acid fragment (GI24) of the 36-amino acid peptide PMAP-36 (porcine myeloid antimicrobial peptide 36) in murine models. *Journal of Veterinary Medical Science*. 2016: 16-0036.

38- Du ZQ, Wang JY. A novel lumazine synthase molecule from *Brucella* significantly promotes the immune-stimulation effects of antigenic protein. *Genet Mol Res*. 2015; 14(4): 13084-95.

39- Doosti A, Ghasemi-Dehkordi P, Kargar M, Sharifi A. Generation of divalent DNA vaccine based on p39 and shiga-like toxin 2 (stx2) genes. *Genetika*. 2015; 47(2): 499-507.

40- Ke Y, Wang Y, Li W, Chen Z. Type IV secretion system of *Brucella spp*. and its effectors. *Frontiers in cellular and infection microbiology*. 2015; 5: 72.

41- Yousefi S, Tahmoorespur M, Sekhavati MH. Cloning, expression and molecular analysis of Iranian *Brucella melitensis* Omp25 gene for designing a subunit vaccine. *Research in pharmaceutical sciences*. 2016; 11(5): 412.

42- Gupta VK, Rout PK, Vihan VS. Induction of immune response in mice with a DNA vaccine encoding outer membrane protein (omp31) of *Brucella melitensis* 16M. *Research in veterinary science*. 2017; 82(3): 305-13.

43- Deng Y, Liu X, Duan K, Peng Q. Research progress on brucellosis. *Current Medicinal Chemistry*. 2019; 26(30): 5598-608.

44- Senevirathne A, Hewawaduge C, Lee JH. Live vaccine consisting of attenuated Salmonella secreting and delivering *Brucella* ribosomal protein L7/L12 induces humoral and cellular immune responses and protects mice against virulent *Brucella abortus* 544 challenge. *Veterinary research*. 2020; 51(1): 1-0.

45- Harzandi N, Aghababa H, Khoramabadi N, Tabaraie T. Efficient Immunization of BALB/c Mice against Pathogenic Brucella melitensis and B. ovis: Comparing Cell-Mediated and Protective Immune Responses Elicited by pCDNA3. 1 and pVAX1 DNA Vaccines Coding for Omp31 of *Brucella melitensis*. *Iranian Journal of Biotechnology*. 2021; 19(1): e2618.

46- Atabey T, Acar T, Derman S, Ordu E, Erdemir A, Taşlı PN, *et al.* In Vitro Evaluation of Immunogenicity of Recombinant OMP25 Protein Obtained from Endemic *Brucella abortus* Biovar 3 as Vaccine Candidate Molecule Against Animal Brucellosis. *Protein and Peptide Letters*. 2021;28(10): 1138-47.

DNA vaccines: a powerful strategy for brucellosis control

Saeid Abedi[1]*, Ghazal Pourmohammad Hosseini [2], Golnoosh Rezaeizadeh[3]

1- Assistant Professor, Department of Microbiology, Faculty of Biology Science, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Falavarjan, Iran.
2- Masters student, Department of Microbiology, Faculty of Biology Science, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Falavarjan, Iran.
3- Masters, Department of Microbiology, Faculty of Biology Science, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Falavarjan, Iran

Receive: January 11, 2023; Revise: February 26, 2023; Accept: May 6, 2023

Summary

Brucellosis is a common disease between humans and animals with global distribution and an increasing trend. The control of brucellosis in humans depends on the control of the animal disease. Although there is no approved vaccine for brucellosis in humans, many efforts have been made to develop vaccines with high efficiency and low side effects for animals. Live attenuated vaccines are cheaper and more effective than other vaccines, but they can increase antibiotic resistance, interfere with serological diagnostic tests, and increase virulence in animals. Vaccination of animals with commercially available vaccines may cause disease and, in some cases, have low efficacy. Vaccines containing recombinant protein or their coding DNA can be suitable alternatives to the conventional vaccines, because they can reduce unwanted side effects. Choosing the suitable antigen that stimulates the immune system is very important in the preparation of these vaccines. In the present study, by observing the new recombinant vaccines that are made based on recombinant proteins and DNA, it has been tried to clarify their strengths and weaknesses and the new perspective of vaccination against brucellosis. There is currently no approved vaccine for brucellosis in humans. In addition, the control of brucellosis in humans depends on the control of the animal disease. This review article searches Google scholar, PubMed, and SID databases for new research on recombinant protein and DNA vaccines against brucellosis until 2021. Considering the advantages and disadvantages of common and new brucellosis vaccines, recombinant and DNA vaccines, after conducting the research stages in large animals, can be a suitable approach to prevent the progress of brucellosis.

Key words: *Brucellosis, vaccine, recombinant protein, DNA vaccines*