



مجله علمی پژوهشی دامپزشکی گورگان

نشریه پژوهش در نشخوارکنندگان

جلد هشتم، شماره اول، ۱۳۹۹

<http://ejrr.gau.ac.ir>

۱-۱۶

## بررسی بیوانفورماتیکی میانکنش شش پپتید نوترکیب لاکتوفرین شتری با پروتئین‌های سطحی روتا ویروس گاوی

مریم السادات شاه امیری<sup>۱</sup>، \* مجتبی طهمورث پور<sup>۱</sup>، مرجان ازغندی<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup> دانشجوی دکتری و آستاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

تاریخ دریافت: ۹۸/۶/۲۶؛ تاریخ پذیرش: ۹۹/۱/۲۸

### چکیده

**سابقه و هدف:** اسهال یک بیماری رایج میان گوساله‌ها بوده که سبب زیان اقتصادی چشمگیر در صنعت گاوهای شیری و گوشتی به علت افزایش میزان مرگ و میر، هزینه‌های درمان و کاهش نرخ رشد و افزایش سن اولین زایمان می‌گردد. روتاویروس گاوی یکی از عوامل اصلی ابتلا به اسهال در گوساله‌ها در سن یک تا دوهفتگی است. دو پروتئین vp4 و vp7 کپسید خارجی ویروس را ساخته و سبب تولید آنتی بادی و تحریک سیستم ایمنی می‌شوند. لاکتوفرامپین-لاکتوفریسین شتری یک ضد ویروس قوی است که با اتصال به هپارین سولفات پروتئوگلیسین مانع ورود ویروس به سلول میزبان شده و می‌تواند جایگزین داروهای ضد ویروسی شود. هدف از این پژوهش بررسی امکان جایگزینی پپتید لاکتوفرین شتری با داروهای ضد ویروسی می‌باشد.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه امکان جایگزینی شش پپتید نوترکیب لاکتوفرین شتری به نام‌های clf36-1، clf36-2، 12A-36F+BC، AF، Arm با داروهای ضد ویروسی و اتصال کارآمد این پپتیدها با پروتئین‌های سطحی روتاویروس گاوی (vp4 و vp7) با استفاده از روش شبیه‌سازی دینامیک مولکولی و با استفاده از نرم افزار گرومکس بررسی و با توجه به انرژی آزاد پیوند شدن لیگاند-پروتئین در مرحله داکینگ و میزان بار الکتریکی سیستم پیش از خنثی‌سازی بار در دینامیک مولکولی مورد مقایسه قرار گرفته و در نهایت بهترین پپتید جایگزین با توجه به نمودارهای شعاع چرخشی که مهم ترین عامل تعیین کننده در کارآمدی سیستم‌ها در شرایط درون تنی و همچنین نشان دهنده‌ی امکان اتصال پایدار پپتید نوترکیب لاکتوفرین با پروتئین سطحی ویروس است؛ از میان شش پپتید مورد مطالعه، انتخاب گردید.

**یافته‌ها:** نتایج حاصل از این پژوهش نشان می‌دهد پپتید لاکتوفرین به خوبی با پروتئین‌های سطحی روتاویروس اتصال برقرار کرده و به این وسیله می‌تواند مانع ورود ویروس به درون سلول‌ها گردد. با این حال از میان شش پپتید مورد بررسی، پپتید 12A-36F+BC در دو سیستم vp4 و vp7 علی‌رغم داشتن بیشترین انرژی آزاد پیوند شدن لیگاند-پروتئین در بین مدل‌های مورد بررسی در مرحله داکینگ و مثبت‌ترین بار الکتریکی پیش از خنثی‌سازی بار در دینامیک مولکولی، به دلیل باز شدن پیچ و تاب پروتئین و از دست دادن ساختار عملکردی آن و تغییرات زیاد شعاع چرخشی آنها در طول زمان شبیه سازی به نظر می‌رسد در شرایط بدن اتصال کارآمدی نداشته باشند؛ از این رو با توجه به نمودارهای شعاع چرخشی از مطالعه حاضر انتظار می‌رود سیستم پروتئین سطحی vp4 و پپتید نوترکیب clf36-1 دارای بهترین اتصال باشد.

**نتیجه‌گیری:** نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد پپتید 1-clf36 از میان شش پپتید مورد بررسی طی زمان شبیه‌سازی پایدار و دارای اتصال کارآمد و مناسب با پروتئین سطحی vp4 بوده، ضمن اینکه طی زمان شبیه‌سازی ساختار خود را حفظ کرده و از این طریق می‌تواند مانع ورود ویروس به درون سلول‌ها شده و جایگزین مناسبی برای داروهای ضد ویروسی باشد. با این حال انجام آزمایشات در شرایط درون تنی به منظور اثبات اثربخشی این پپتید ضروری می‌نماید.

**واژه‌های کلیدی:** اسهال گوساله‌ها، روتاویروس گاوی، شبیه‌سازی دینامیک مولکولی، لاکتوفرامپین-لاکتوفرین شتری

### مقدمه

طبق آخرین آمار رسمی وزارت جهاد کشاورزی، تعداد ۱۸۸۳۰ واحد صنعتی گاو داری با ظرفیت ۲۰۴۸۵۶۳ راس گاو شیرده در کشور مشغول فعالیت هستند. طی سال‌های ۱۳۸۳ تا ۱۳۸۷ تولید شیر داری یک روند رو به رشد بوده است (۱۵). با وجود روند افزایشی تولید شیر در کشور اما هنوز سرانه مصرف شیر از حد استاندارد جهانی پایین‌تر است. سرانه مصرف شیر در کشور برای هر نفر برابر با ۹۵ کیلوگرم می‌باشد، در حالی که سرانه مصرف شیر در جهان برابر با ۱۶۹ کیلوگرم و در اروپا برابر با ۳۵۰ کیلوگرم در سال است (۱۶ و ۱۷). در طی سال‌های اخیر، پروتئین‌های طبیعی با وزن مولکولی کم، از حیوانات استخراج شدند که فعالیت‌های ضد میکروبی و ضد ویروسی قوی از خود نشان دادند که اصطلاحاً به آن‌ها پپتیدهای ضد میکروبی گفته می‌شود. محققین این پپتیدهای ضد میکروبی را آنتی بیوتیک طبیعی می‌نامند و اظهار دارند که این پپتیدهای ضد میکروبی می‌توانند جایگزین آنتی بیوتیک‌های شیمیایی شوند (۱۹).

اسهال<sup>۱</sup> یک بیماری رایج میان گوساله‌ها بوده و یکی از علل اصلی زیان اقتصادی پرورش دهندگان گاو است. در سال ۲۰۰۷ سیستم ملی نظارت بر سلامت حیوانات<sup>۲</sup> برای گاوهای شیری ایالت متحده

امریکا گزارش کرد که ۵۷ درصد از تلفات گوساله‌ها به علت اسهال بوده و اغلب موارد در گوساله‌های کمتر از یکماه رخ داده است. اخیراً نرخ مرگ و میر مشابه (۵۳/۴ درصد) در کره (۵ و ۱۲) و (۵۸ درصد) ایران برای گوساله‌های شیری به علت اسهال گزارش شده است (۱۲). همچنین در سال ۲۰۰۶ زیان اقتصادی ناشی از مرگ گوساله‌ها در نروژ با تولید ۲۸۰۰۰۰ رأس گوساله در سال، تقریباً ۱۰ میلیون دلار آمریکا تخمین زده شد (۵).

اسهال گوساله به هر دوی عوامل عفونی و غیرعفونی مربوط می‌شود. چندین پاتوژن روده‌ای (به عنوان مثال ویروس‌ها، باکتری‌ها و پروتوزوا) در توسعه این بیماری دخیل هستند. عفونت هم‌زمان توسط چند گونه بیماری‌زا<sup>۳</sup> اغلب در اسهال گوساله‌ها دیده می‌شود؛ اگر چه یک تک پاتوژن اولیه می‌تواند در بعضی موارد علت اسهال باشد. جلوگیری از شیوع هر یک از عوامل پاتوژن و بیماری‌زا می‌تواند بر اساس مکان جغرافیایی گاو‌داری‌ها، مدیریت و سایر گله متفاوت باشد. با وجودی که صنعت گاو شیری با پیشرفت‌های بزرگی در مدیریت گله، امکانات و مراقبت‌های حیوانی، خوراک دهی و تغذیه همراه بوده است، باین حال اسهال گوساله با توجه به ماهیت چند عاملی بیماری همچنان مشکل‌ساز است (۵).

1- Calf diarrhea

2- National Animal Health Monitoring System

3- Co-infection

آنتی‌بادی‌های شیر و آغوز علیه روتاویروس گاوی میتواند از طریق واکسیناسیون گاوها در طول دوره‌ی خشکی (سیستم ایمنی غیرفعال) افزایش یابد. این در حالی است که اثربخشی این واکسن‌ها برای پیش‌گیری از اسهال ناشی از روتاویروس گاوی نامشخص است (۱۲) و این امر نشان‌دهنده‌ی لزوم وجود داروی ضدویروسی موثر جهت درمان این بیماری می‌باشد.

لاکتوفرین یک گلیکوپروتئین با وزن مولکولی معادل ۸۰ کیلو دالتون<sup>۳</sup> (۱۴) از خانواده‌ی ترانسفرین است که در سال ۱۹۳۹ در شیر گاو شناسایی (۳) و (۱۸) و در سال ۱۹۶۰ از شیر انسان و گاو جدا و خالص‌سازی شد. لاکتوفرین قادر به اتصال برگشت‌پذیر به آهن می‌باشد و نقش مهمی در تنظیم سیستم ایمنی بدن و مقابله در برابر باکتری‌ها، قارچ‌ها و ویروس‌ها دارد (۳، ۲۲ و ۱۳). این گلیکوپروتئین در اشک، بزاق، صفرا، مایع دستگاه گوارش، ترشحات رونشیال، مایع واژینال، منی، ادرار و به میزان زیادی در شیر یافت می‌شود (۱۳).

لاکتوفرین شیر شتر ۱۰ برابر بیشتر از شیر گاو بوده (۲۷) و علاوه بر توانایی اتصال به آهن و آزادسازی آن به طور همزمان، قادر به اتصال به انواع مختلف سلول و گونه‌هایی با بار منفی مانند DNA، هپارین و دیگر گلیکوزآمینوگلیکان و لیپوپلی ساکاریدها می‌باشد. لاکتوفرین شیر شتر دارای یک ترکیب ضدباکتری، ضدقارچی، ضدویروس، آنتی‌اکسید، تعلیق‌کننده سیستم ایمنی و پاسخ التهاب و یک عامل رشد و جذب آهن می‌باشد (۲۵).

لاکتوفرین یک ضدویروس قوی است که می‌تواند همانند سازی را در بسیاری از ویروس‌ها مهار کند. فعالیت ضدویروسی لاکتوفرین انسانی برای اولین بار

روتاویروس گاوی<sup>۱</sup> یکی از عوامل اصلی ابتلا به اسهال در گوساله‌هاست. این ویروس متعلق به جنس Rotavirus و خانواده Reoviridae است. روتاویروس شامل ۱۱ قطعه RNA دورشته‌ای (۱۶-۲۱ kb) بوده و در دامنه‌ی وسیعی از pH با تغییرپذیری گرما پایدار است. هفت زیرگروه (A تا G) از روتاویروس‌ها بر اساس شباهت ژنتیکی و آنتی‌ژنی پروتئین کپسید میانی vp6 وجود دارد. گروه روتاویروس‌های A عامل اصلی عفونت در حیوانات خانگی می‌باشد و اکثر روتاویروس‌های گاوی متعلق به این گروه هستند (۹۵ درصد)؛ اگر چه روتاویروس‌های گروه B و C نیز در شرایط مزرعه‌ای شناسایی شده‌اند. روتاویروس‌های گروه A می‌توانند به تیپ‌های P یا G بر اساس شباهت‌های ژنتیکی و آنتی‌ژنی vp4 (پروتئین حساس به پروتئاز) و vp7 (گلیکوپروتئین) که کپسید خارجی را تشکیل می‌دهند و سبب تولید آنتی‌بادی و تحریک سیستم ایمنی می‌شوند؛ طبقه بندی شوند. تیپ G و ۲۷ تیپ P در حیوانات اهلی گزارش شده است. روتا ویروس‌های گاوی، تیپ‌های G1، G6، G8 یا G10 هستند. تیپ G6 و G10 متداول ترین تیپ‌ها در گاوها هستند (۵، ۶، ۹ و ۱۲).

روتاویروس گاوی معمولاً در سن یک تا دو هفتگی سبب اسهال در گوساله‌ها می‌شود (۵ و ۱۲). اسهال گوساله‌ها ناشی از روتاویروس گاوی گروه A سبب زیان اقتصادی چشمگیر در صنعت گاوهای شیری و گوشتی به علت افزایش میزان مرگ و میر، هزینه‌های درمان و کاهش نرخ رشد (۶ و ۱۲)، تأخیر در رشد گوساله‌ها و افزایش سن اولین زایمان<sup>۲</sup> می‌گردد (۱۲). اصول اساسی پیشگیری از التهاب معده و روده‌ی باریک ویروسی، افزایش سیستم ایمنی میزبان و کاهش بار ویروسی در محیط است.

1- Bovine rotavirus

2- Age at first calving

3- Dalton (Da)

دینامیک مولکولی، برهمکنش میان شش پپتید نوترکیب لاکتوفرین شتری (1-clf36، 2-clf36، 12A-Arm، AF، A\_Scanning، 36F+BC) با پروتئین‌های سطحی ویروس روتاویروس گاوی (vp4 و vp7) بررسی و عملکرد پپتیدهای مختلف با پروتئین‌های هدف به منظور امکان جایگزینی بهترین پپتید با داروهای ضدویروسی مورد مقایسه قرار گرفت.

**جمع‌آوری داده‌ها:** توالی آمینواسیدی دو پروتئین سطحی روتا ویروس (vp4 و vp7) از پایگاه داده NCBI دریافت و ذخیره شد. همچنین توالی اسید آمینه‌ای تمامی پپتیدهای نوترکیب مورد بررسی، جمع‌آوری گردید.

**پیش‌بینی ساختار سه بعدی پروتئین و پپتید:** ساختار سه بعدی دو پروتئین سطحی روتا ویروس گاوی (vp4 و vp7) از پایگاه داده NCBI دریافت و در قالب فایل PDB ذخیره گردید. همچنین ساختار سه بعدی پپتیدهای نوترکیب لاکتوفرین شتری با استفاده از روش بندکشی شده و با استفاده از سرور I-TASSER پیش‌بینی و بهترین ساختار سه بعدی انتخاب و مورد استفاده قرار گرفت.

**انجام داکینگ مولکولی:** به منظور بررسی میانکنش پروتئین‌های سطحی روتاویروس و پپتیدهای نوترکیب و شبیه‌سازی این اثرات متقابل در شرایط درون بدن از نرم افزار آنالیز ClusPro2.0 (<https://cluspro.bu.edu>) استفاده شد. پس از آن بهترین مدل حاصل از داکینگ مولکولی بر مبنای بیشترین انرژی آزاد پیوند شدن لیگاند-پروتئین (منفی ترین انرژی مرکزی) و طول پیوندهای ایجاد شده بین لیگاند و پروتئین سطحی برای انجام دینامیک مولکولی مورد استفاده قرار گرفت.

**انجام دینامیک مولکولی:** شبیه‌سازی دینامیک مولکولی با استفاده از نرم افزار GROMACS (version 4.07) انجام شد. برای خنثی سازی سیستم

در موش‌های پلی‌سیتمی<sup>۱</sup> آلوده به ویروس friend virus complex نشان داده شد (۱۳). در حقیقت لاکتوفرین با اتصال به هیپارین سولفات پروتئوگلیکالین مانع ورود ویروس به سلول میزبان می‌شود. این عملکرد برای ویروس‌های روتاویروس، آدنوویروس<sup>۲</sup>، انتروویروس<sup>۳</sup>، هانتاویروس<sup>۴</sup> و برخی دیگر از ویروس‌ها قابل مشاهده است. لاکتوفرین علاوه بر اتصال به سلول هدف یا ذرات ویروسی، با تنظیم سیستم ایمنی، ایجاد پاسخ می‌کند (۱۴ و ۱۳) و می‌تواند جایگزین مناسبی برای داروهای ضدویروسی باشد. clf36 یک پپتید نوترکیب لاکتوفرین شتری است که در آزمایشگاه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد تولید و تحت شماره 96045 در تاریخ ۹۷/۰۴/۰۵ ثبت اختراع و ورژن‌های دیگر آن با مهندسی پروتئین ... تولید شده است.

با توجه به نتایج پژوهش‌های مختلف انجام شده بر روی گاو (۱۰، ۲۰، ۱۶، ۱۷، ۷، ۸، ۲۱ و ۲) و آمار و اطلاعات موجود می‌توان دریافت که این دام‌ها باید از جنبه‌های گوناگون مورد مطالعه قرار گیرند. لذا، هدف از این پژوهش بررسی اثر ضدویروسی شش پپتید نوترکیب لاکتوفرامپین-لاکتوفریسین شتری بر روتاویروس گاوی می‌باشد. از توالی شش پپتید نوترکیب لاکتوفرین شتری که در دانشگاه فردوسی مشهد تولید شده اند جهت انجام پژوهش حاضر استفاده گردید (DOI: 10.1007/s10989-019-10012-7, DOI: 10.1186/s12864-020-6458-7, DOI: 10.1016/j.micpath.2018.06.012)

### مواد و روش‌ها

در این مطالعه با استفاده از شبیه‌سازی داکینگ و

- 1- Polycythemia
- 2- Adenovirus
- 3- Enterovirus
- 4- Hantavirus

سیستم بهینه شد. حداکثر گام لازم جهت رسیدن به حداقل رساندن انرژی سیستم ۵۰۰۰۰۰ مرحله قرار داده شد. پس از به حداقل رساندن انرژی، دمای سیستم‌ها بهینه و پایداری هر یک از سیستم‌ها در دمای ۳۱۰ درجه کلون، طی ۵۰۰۰۰۰ گام و در مدت زمان ۱۰۰ پیکوثانیه مورد بررسی قرار گرفت. پس از انجام مراحل بیان شده، در نهایت شبیه سازی دینامیک مولکولی طی ۵۰۰۰۰۰ مرحله و مدت زمان ۱۰۰ پیکوثانیه در نظر گرفته و از مدل آب SPC216 ویژه Force Field گرومکس صورت پذیرفت.

و ایجاد تعادل بار، پنج یون سدیم و سیزده یون کلر به جای مولکول‌های آب به ترتیب به سیستم‌های پروتئین سطحی vp4 و پپتید نوترکیب clf36-1 و پروتئین سطحی vp7 و پپتید نوترکیب clf361 اضافه گردید. همچنین سه یون سدیم و پانزده یون کلر به ترتیب برای خشی سازی سیستم‌های پروتئین سطحی vp4 و پپتید نوترکیب clf36-2 و پروتئین سطحی vp7 و پپتید نوترکیب clf36-2 جایگزین مولکول آب شد. نوع و تعداد یون جایگزین شده با مولکول آب برای بقیه سیستم‌ها در جدول ۱ آورده شده است. پس از این مرحله انرژی سیستم به حداقل رسانده و دمای

جدول ۱- تعداد یون‌های مورد استفاده برای خشی سازی سیستم

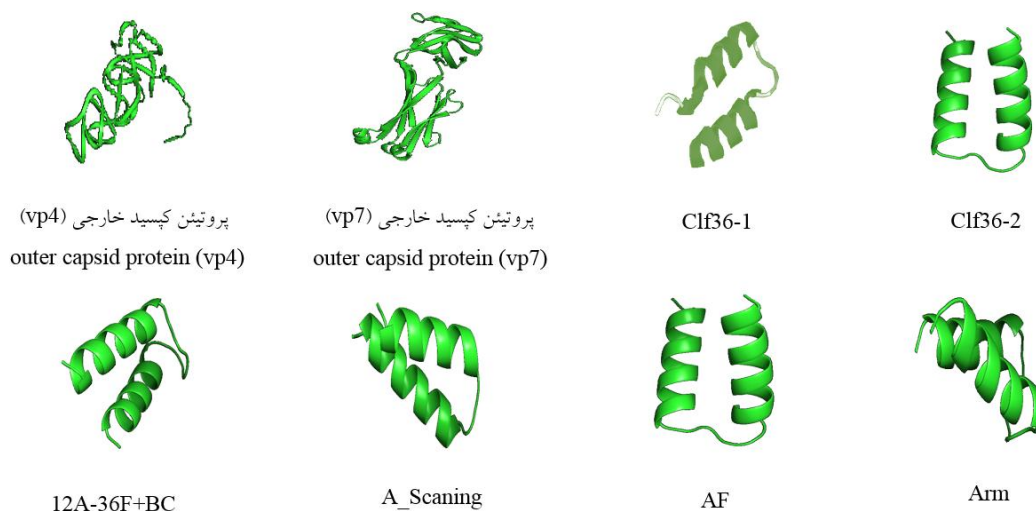
Table 1- Number of ions intended to neutralize the system

تعداد یون اضافه شده Number of ions added	یون مورد استفاده Used ions	سیستم مورد بررسی Selected system
5	سدیم (Sodium)	پروتئین سطحی vp4 و پپتید نوترکیب clf36-1 (Surface protein vp4 and recombinant peptide clf36-1)
13	کلر (Chlorine)	پروتئین سطحی vp7 و پپتید نوترکیب clf36-1 (Surface protein vp7 and recombinant peptide clf36-1)
3	سدیم (Sodium)	پروتئین سطحی vp4 و پپتید نوترکیب clf36-2 (Surface protein vp4 and recombinant peptide clf36-2)
15	کلر (Chlorine)	پروتئین سطحی vp7 و پپتید نوترکیب clf36-2 (Surface protein vp7 and recombinant peptide clf36-2)
2	سدیم (Sodium)	پروتئین سطحی vp4 و پپتید نوترکیب 12A-36F+BC (surface protein vp4 and recombinant peptide 12A-36F + BC)
16	کلر (Chlorine)	پروتئین سطحی vp7 و پپتید نوترکیب 12A-36F+BC (surface protein vp7 and recombinant peptide 12A-36F + BC)
3	سدیم (Sodium)	پروتئین سطحی vp4 و پپتید نوترکیب A_Scanning (surface protein vp4 and recombinant peptide A_Scanning)
15	کلر (Chlorine)	پروتئین سطحی vp7 و پپتید نوترکیب A_Scanning (surface protein vp7 and recombinant peptide A_Scanning)
3	سدیم (Sodium)	پروتئین سطحی vp4 و پپتید نوترکیب AF (surface protein vp4 and recombinant peptide AF)
15	کلر (Chlorine)	پروتئین سطحی vp7 و پپتید نوترکیب AF (surface protein vp7 and recombinant peptide AF)
3	سدیم (Sodium)	پروتئین سطحی vp4 و پپتید نوترکیب Arm (surface protein vp4 and recombinant peptide Arm)
15	کلر Chlorine	پروتئین سطحی vp7 و پپتید نوترکیب Arm (surface protein vp7 and recombinant peptide Arm)

### نتایج و بحث

پیش‌بینی و پس از آن بهترین مدل انتخاب گردید. ساختار سه بعدی پروتئین‌های سطحی ویروس (vp4، vp7) و ساختار سه بعدی شش پپتید نوترکیب clf36 در شکل ۱ نشان داده شده است. همان‌طور که در شکل نشان داده شده است پیش‌بینی مناسب و صحیح ساختار سه بعدی پپتیدها سبب ایجاد برهمکنش مناسب پپتید با پروتئین‌های کپسید خارجی ویروس شده و در نهایت منجر به مهار فعالیت ویروس خواهد شد.

پیش‌بینی ساختار سه بعدی: ساختار سه بعدی پروتئین‌های کپسید خارجی روتاویروس گاوی (vp4 و vp7) از پایگاه داده آنالاین NCBI به آدرس (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) به صورت فایل PDB به ترتیب با شماره دسترسی mmdb\_3IYU و mmdb\_3FMG و رزولوشن ۳/۸ و ۳/۴ آنگستروم ذخیره گردید. ساختار سه بعدی شش پپتید نوترکیب I-TASSER با استفاده از نرم‌افزار آنالاین



شکل ۱- ساختار سه بعدی پروتئین‌های سطحی ویروس (vp4، vp7) و شش پپتید نوترکیب clf36

Figure 1- Three-dimensional structure of virus surface proteins (vp4, vp7) and six recombinant peptides clf36

شدن مربوط به بهترین مدل انتخاب شده در هر داکینگ در جدول ۲ نشان داده شده است. در بین شش پپتید مورد بررسی بیشترین انرژی آزاد اتصال بین پپتید نوترکیب 12A-36F+BC و پروتئین‌های سطحی vp4 و vp7 وجود دارد.

موقعیت فضایی برهمکنش بهترین مدل به همراه طول پیوند بین پپتید و پروتئین‌های سطحی به ترتیب در شکل‌های ۲ و ۳ قابل مشاهده است. طول تمامی پیوندهای موجود در مدل‌های انتخابی کمتر از ۳ آنگستروم بود. همان‌طور که در شکل ۳ مشاهده

بررسی برهمکنش (داکینگ) پروتئین‌های سطحی ویروس و پپتیدهای نوترکیب لاکتوفرامپین- لاکتوفریسین شتری: عملکرد شش پپتید نوترکیب لاکتوفریسین شتری (Clf36-1، Clf36-2، 12A-36F+BC، A\_Scanning، AF، Arm) در مقابله با ویروس روتاویروس گاوی با استفاده از نرم‌افزار آنالاین ClusPro2.0 مورد بررسی قرار گرفت. به این ترتیب در بین مدل‌های پیشنهاد شده توسط نرم‌افزار، مدل با بیشترین انرژی آزاد پیوند شدن لیگاند-پروتئین (منفی) ترین انرژی مرکزی انتخاب گردید. انرژی آزاد پیوند

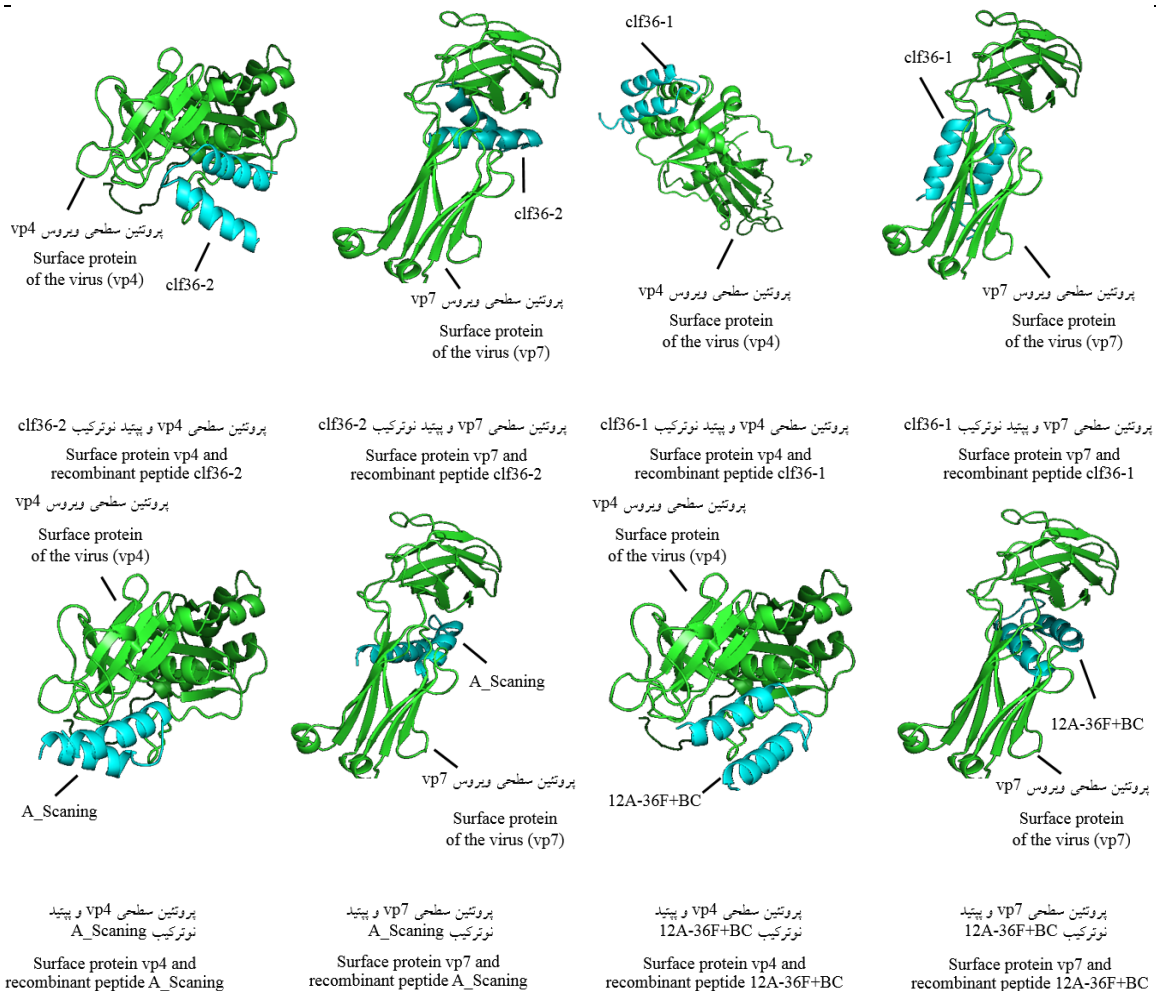
می‌باشد. تا کنون فعالیت ضد ویروسی لاکتوفیرین علیه طیف گسترده‌ای از ویروس‌ها به اثبات رسیده است. لاکتوفیرین علاوه بر فعالیت‌های ضد ویروسی، دارای اثرات باکتریواستاتیک، تعدیل کننده سیستم ایمنی، ضدتومور، تنظیم کننده رشد سلول، مهار کننده آنژیوژنز و ضد درد نیز می‌باشد (۲۳).

می‌شود بین شش پپتید نو ترکیب لاکتوفیرین شتری، پپتیدهای AF و clf36-2 دارای بیشترین تعداد پیوند با پروتئین سطحی vp4 هستند. همچنین بیشترین تعداد پیوند بین پپتید نو ترکیب 12A-36F+BC و Arm و پروتئین سطحی vp7 ایجاد شده است. این نتایج تایید کننده خاصیت ضد ویروسی این پپتید

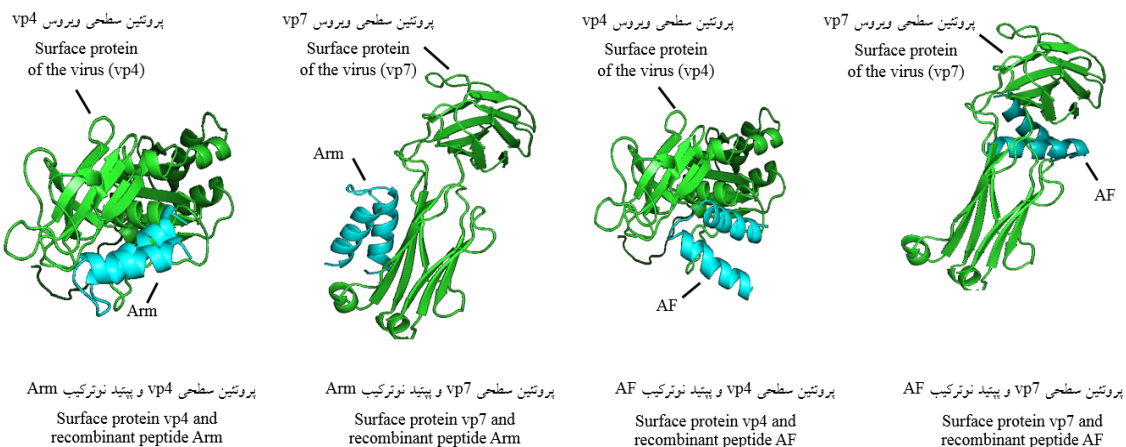
جدول ۲- انرژی آزاد پیوند در بهترین مدل انتخابی پس از انجام داکینگ مولکولی

Table 2- bond-dissociation energy of the best selected model after molecular docking

Weighted score (centre)		
پروتئین کپسید خارجی vp7 Outer capcid protein vp4	پروتئین کپسید خارجی vp4 Outer capcid protein vp4	پپتیدهای نو ترکیب لاکتوفیرین شتری Recombinant camel lactoferrin peptides
-752.3	-853.4	Clf36-1
-683.8	-832.7	Clf36-2
-774.5	-887.0	12A-36F+BC
-605.8	-800.3	A_Scanning
-683.8	-832.7	AF
-554.4	-861.2	Arm

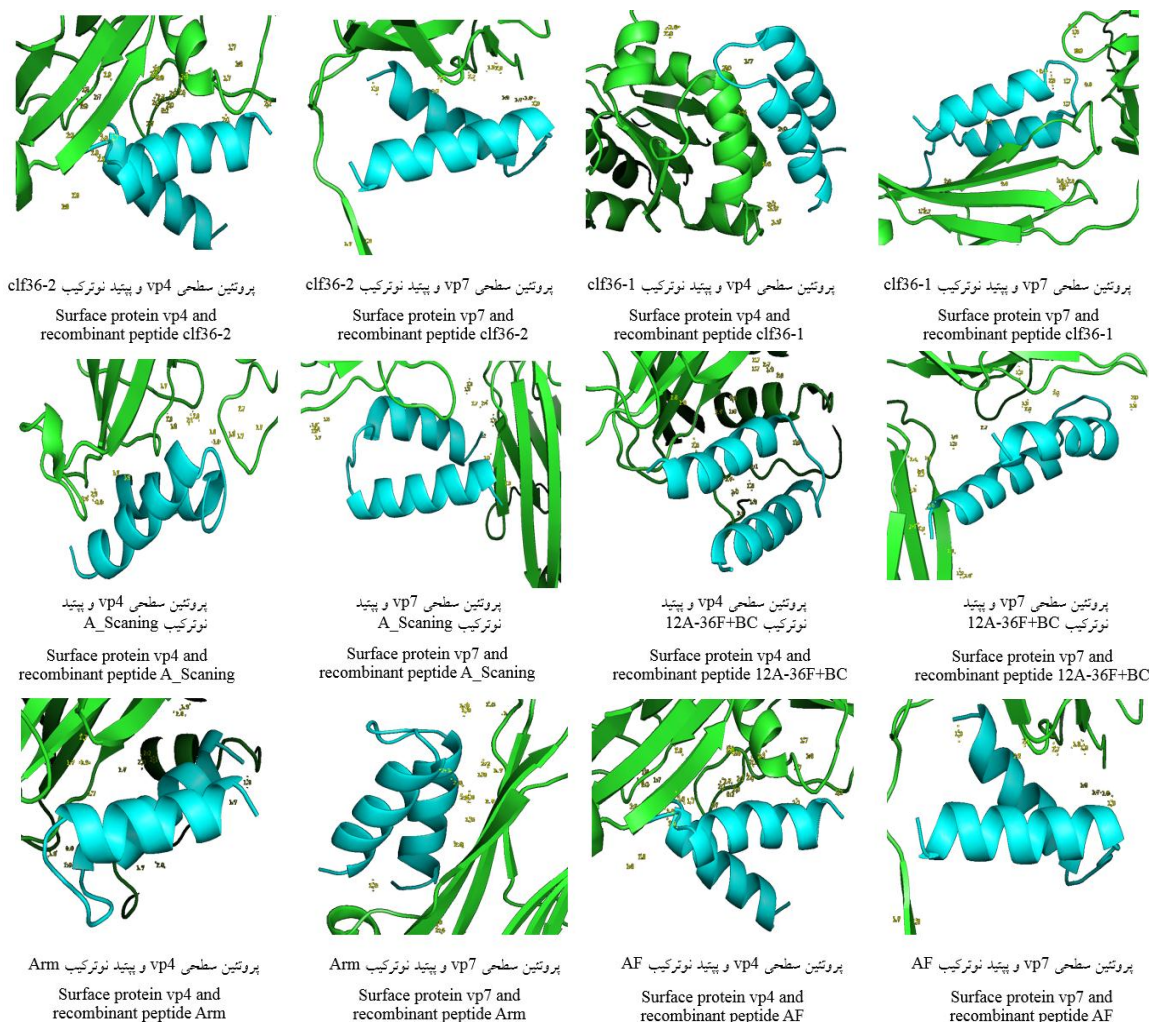






شکل ۲- شکل فضایی برهمکنش پپتیدهای نو ترکیب clf36 و پروتئین‌های سطحی ویروس روتاویروس گاوی.

Figure 2- Spatial position of the interaction among recombinant clf36 peptides and bovine rotavirus surface proteins



شکل ۳- طول پیوندهای تشکیل شده بین پپتیدهای نو ترکیب clf36 و پروتئین‌های سطحی ویروس روتاویروس گاوی.

Figure 3- Length of binds between recombinant peptides clf36 and rotavirus bovine surface proteins



بررسی دینامیک مولکولی: مجموعه پروتئین‌های سطحی ویروس روتا ویروس گاوی و پپتیدهای نوترکیب لاکتوفرین شتری به منظور رسیدن به کنفورماسیون پایدار در محیط آبی در مجاورت مولکول‌های آب قرار داده شد. سپس هر یک از سیستم‌ها از نظر بار الکتریکی با افزودن تعداد مشخص یون سدیم و کلر (جدول ۱) بسته به سیستم مورد بررسی، خنثی گردید. از آنجا که مثبت‌تر بودن بار الکتریکی سیستم (پیش از خنثی کردن بار) نشان دهنده‌ی خاصیت آنتی وایرال بیشتر پپتید مورد بررسی خواهد بود؛ در این مرحله با توجه به اطلاعات موجود در جدول ۱ میتوان انتظار داشت که در میان پپتیدهای نوترکیب، بیشترین فعالیت ضد ویروسی را پپتید نوترکیب 12A-36F+BC با داشتن بار الکتریکی ۲- و ۱۶+ به ترتیب برای پروتئین‌های سطحی vp4 و vp7 دارا باشد (بار الکتریکی تمامی سیستم‌های مربوط به پروتئین سطحی vp4 منفی بود؛ بنابراین کمترین بار منفی در این سیستم‌ها نشان دهنده‌ی فعالیت ضد ویروسی قوی‌تر خواهد بود). نتایج به دست آمده از این مطالعه، با نتایج سایر مطالعات همخوانی دارد. محققین نشان داده‌اند که لاکتوفرین یک منبع غنی از پپتیدهای زیست فعال ضد میکروبی کاتیونی و آب‌گریز<sup>۱</sup> است (۲۶ و ۱۱). هرچند که چگونگی عملکرد ضد میکروبی این پپتیدهای فعال به روشنی مشخص نشده است؛ اما تعدادی از مطالعات بر این موضوع دلالت دارند که پپتیدها، فعالیت خود را از طریق اتصال به پروتئین‌های سطحی ویروس‌ها و باکتری‌ها و یا پروتئین‌های میکروبی اعمال می‌کنند (۲۴). نتایج به دست آمده از این مطالعه نیز، با این نتایج همراستا است.

بررسی دینامیک مولکولی: مجموعه پروتئین‌های سطحی ویروس روتا ویروس گاوی و پپتیدهای نوترکیب لاکتوفرین شتری به منظور رسیدن به کنفورماسیون پایدار در محیط آبی در مجاورت مولکول‌های آب قرار داده شد. سپس هر یک از سیستم‌ها از نظر بار الکتریکی با افزودن تعداد مشخص یون سدیم و کلر (جدول ۱) بسته به سیستم مورد بررسی، خنثی گردید. از آنجا که مثبت‌تر بودن بار الکتریکی سیستم (پیش از خنثی کردن بار) نشان دهنده‌ی خاصیت آنتی وایرال بیشتر پپتید مورد بررسی خواهد بود؛ در این مرحله با توجه به اطلاعات موجود در جدول ۱ میتوان انتظار داشت که در میان پپتیدهای نوترکیب، بیشترین فعالیت ضد ویروسی را پپتید نوترکیب 12A-36F+BC با داشتن بار الکتریکی ۲- و ۱۶+ به ترتیب برای پروتئین‌های سطحی vp4 و vp7 دارا باشد (بار الکتریکی تمامی سیستم‌های مربوط به پروتئین سطحی vp4 منفی بود؛ بنابراین کمترین بار منفی در این سیستم‌ها نشان دهنده‌ی فعالیت ضد ویروسی قوی‌تر خواهد بود). نتایج به دست آمده از این مطالعه، با نتایج سایر مطالعات همخوانی دارد. محققین نشان داده‌اند که لاکتوفرین یک منبع غنی از پپتیدهای زیست فعال ضد میکروبی کاتیونی و آب‌گریز<sup>۱</sup> است (۲۶ و ۱۱). هرچند که چگونگی عملکرد ضد میکروبی این پپتیدهای فعال به روشنی مشخص نشده است؛ اما تعدادی از مطالعات بر این موضوع دلالت دارند که پپتیدها، فعالیت خود را از طریق اتصال به پروتئین‌های سطحی ویروس‌ها و باکتری‌ها و یا پروتئین‌های میکروبی اعمال می‌کنند (۲۴). نتایج به دست آمده از این مطالعه نیز، با این نتایج همراستا است.

صحيح شبیه سازی تغییرات انرژی پتانسیل است. در ابتدای شبیه سازی، به دلیل بهینه نبودن سیستم‌ها، انرژی پتانسیل زیاد است؛ اما با گذر زمان سیستم به میزان بهینه انرژی پتانسیل خود نزدیک شده و انرژی پتانسیل مرتباً کاهش یافته و همانطور که در شکل ۴ قابل مشاهده است در زمان‌های ۳۰۰ تا ۹۰۰ پیکوثانیه انرژی پتانسیل برای تمام سیستم‌ها همگرا گردیده است. پس از به حداقل رساندن انرژی، دمای سیستم‌ها بهینه و پایداری هر یک از سیستم‌ها در دمای ۳۱۰ کلوین در مدت زمان ۱۰۰ پیکوثانیه مورد بررسی قرار گرفت. همان‌طور که در شکل ۵ مشاهده می‌شود نوسانات تمامی سیستم‌ها در مدت زمان مورد بررسی در یک راستا می‌باشد و این امر نشان دهنده این است که تمامی سیستم‌ها در دمای مورد بررسی (۳۱۰ کلوین) در مدت زمان ۱۰۰ پیکوثانیه نسبتاً پایدار بوده و پروتئین و پپتیدهای مورد بررسی در این شرایط ساختار خود را حفظ کرده‌اند.

سپس جهت بررسی پایداری ساختارهای شبیه سازی شده (با استفاده از دینامیک مولکولی) از کمیت انحراف معیار جذر میانگین مربعات<sup>۲</sup> استفاده گردید. در شکل ۶ نمودارهای مربوط به تمامی سیستم‌ها براساس خروجی انحراف معیار جذر میانگین مربعات برای اسکلت پروتئین نشان داده شده است. شیب نمودار انحراف معیار جذر میانگین مربعات نشان دهنده‌ی پایدار بودن مدل در مدت زمان شبیه سازی (۱۰۰ پیکوثانیه) می‌باشد. هر چه شیب نمودار انحراف معیار جذر میانگین مربعات به صفر نزدیکتر باشد مدل پایدارتر خواهد بود. این در حالی است که افزایش تدریجی شیب نمودار و یا نوسانات زیاد آن حاکی از ناپایداری مدل مورد بررسی است. در مدل‌های مورد بررسی در این مطالعه هیچ ناپایداری در طول زمان شبیه سازی مشاهده نشد.

در نهایت میزان شعاع چرخشی<sup>۱</sup> سیستم‌ها مورد بررسی قرار گرفت. نمودارهای مربوط به شعاع چرخشی در شکل ۷ آورده شده است. شعاع چرخشی یک پروتئین، نشان دهنده‌ی فشردگی آن پروتئین است. اگر یک پروتئین به طور پایدار تاخورد<sup>۲</sup> باشد و ساختار عملکردی خود را حفظ نماید؛ احتمالاً میزان نسبتاً ثابت شعاع چرخشی را حفظ می‌کند. این در حالی است که اگر پیچ و تاب پروتئین باز شود میزان شعاع چرخشی آن در طول زمان تغییر خواهد کرد.

همانطور که در شکل ۷ قابل مشاهده است؛ تمامی سیستم‌های مربوط به پروتئین سطحی vp7 در طول زمان دارای تغییرات زیاد شعاع چرخشی است که این میزان تغییرات نشان دهنده‌ی باز شدن پیچ و تاب این پروتئین و در نتیجه اتصال ناکارآمد این پروتئین و پپتیدهای نو ترکیب لاکتوفرین شتری می‌باشد. همچنین از میان سیستم‌های مربوط به پروتئین سطحی vp4، این پروتئین تنها در سیستم clf36-1، تاخورد بوده و بهترین شرایط اتصال را با پپتید clf36-1 داراست.

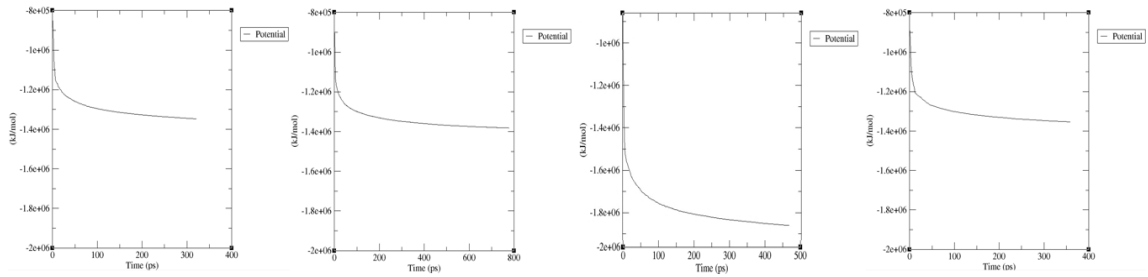
از نظر دینامیک مولکولی، هرچه موقعیت اتصال پپتیدها با پروتئین‌های سطحی ویروس، با انرژی اتصال بیشتری صورت گرفته باشد، از طریق هدف قرار دادن فرآیندهای کلیدی از جمله اختلال در اتصال ویروس به سلول میزبان و اختلال در تعاملات الکترواستاتیک، باعث تحریک سلول میزبان و ایجاد پاسخ ایمنی می‌شود و خاصیت ضد ویروسی این پپتیدها را افزایش خواهد داد (۴).

این نتیجه‌گیری با نتایج سایر محققین تطابق دارد به گونه‌ای که سایر محققین نیز نشان داده اند که پپتیدهای مشتق شده از لاکتوفرین دارای بار الکتریکی مثبت‌تر و خاصیت ضد ویروسی قوی‌تری در مقایسه با لاکتوفرین می‌باشند و خاصیت‌های آب‌گریزی، کاتیونی و ساختار مارپیچ این پپتیدها از جمله ویژگی‌های مهم تعیین کننده فعالیت ضد میکروبی آنها می‌باشد (۲۶ و ۱۱).

امروزه از نرم‌افزارها و محاسبات ریاضی، به عنوان بخش ضروری و جدایی ناپذیر در علوم زیستی، پزشکی و دارویی یاد می‌شود. امروزه بیشتر پژوهش‌های موفق، دقت، سرعت و صحت خود را مدیون استفاده از علوم محاسباتی هستند. پیش‌بینی می‌شود که در دهه‌های آینده، شاهد پیشرفت سریع‌تر و دقیق‌تری در علوم زیستی و پزشکی، خواهیم بود و این به منزله‌ی رشد چشمگیر استفاده از محاسبات در شبیه‌سازی‌های مولکولی خواهد بود. دینامیک مولکولی، یک روش برای شبیه‌سازی کامپیوتری با استفاده از سیستم‌های پیچیده و در سطح اتمی است. در شبیه‌سازی دینامیک مولکولی، نیروهایی که اتم‌ها به هم وارد می‌کنند با استفاده از یک مدل میدان نیرو تخمین زده می‌شود و سپس حرکت اتم‌ها بر اساس قوانین فیزیک کلاسیک نیوتونی شبیه‌سازی می‌شود (۱).. در نتیجه می‌توان گفت که نتایج به دست آمده از این مطالعه، دارای اعتبار بالایی می‌باشد.

1- Radius of gyration (Rg)

2- fold

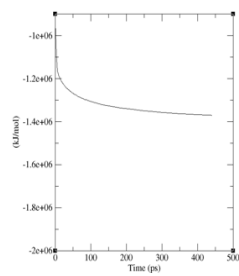
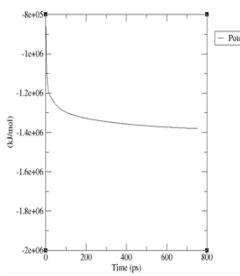
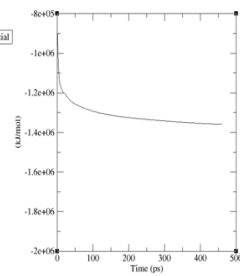
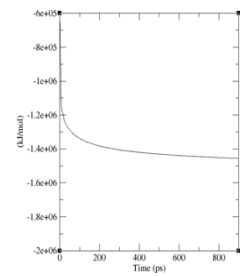


پروتئین سطحی vp4 و پپتید نو ترکیب clf36-2  
Surface protein vp4 and recombinant peptide clf36-2

پروتئین سطحی vp7 و پپتید نو ترکیب clf36-2  
Surface protein vp7 and recombinant peptide clf36-2

پروتئین سطحی vp4 و پپتید نو ترکیب clf36-1  
Surface protein vp4 and recombinant peptide clf36-1

پروتئین سطحی vp7 و پپتید نو ترکیب clf36-1  
Surface protein vp7 and recombinant peptide clf36-1

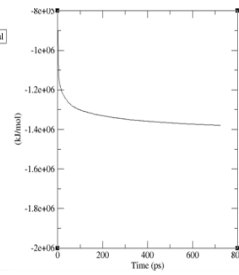
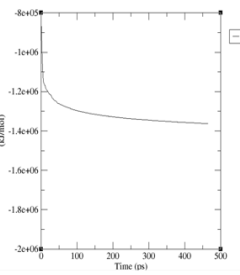
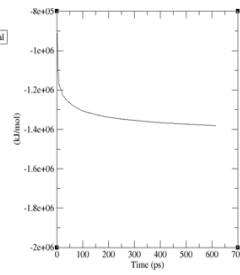
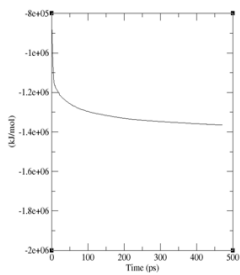


پروتئین سطحی vp4 و پپتید نو ترکیب A\_Scanning  
Surface protein vp4 and recombinant peptide A\_Scanning

پروتئین سطحی vp7 و پپتید نو ترکیب A\_Scanning  
Surface protein vp7 and recombinant peptide A\_Scanning

پروتئین سطحی vp4 و پپتید نو ترکیب 12A-36F+BC  
Surface protein vp4 and recombinant peptide 12A-36F+BC

پروتئین سطحی vp7 و پپتید نو ترکیب 12A-36F+BC  
Surface protein vp7 and recombinant peptide 12A-36F+BC



پروتئین سطحی vp4 و پپتید نو ترکیب Arm  
Surface protein vp4 and recombinant peptide Arm

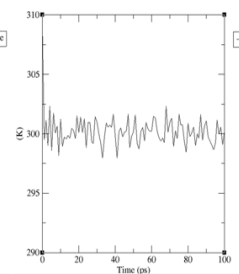
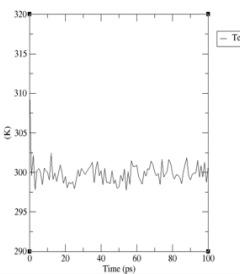
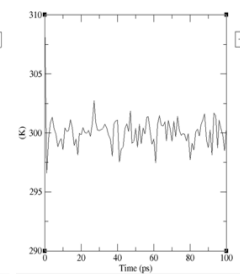
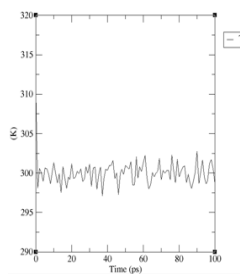
پروتئین سطحی vp7 و پپتید نو ترکیب Arm  
Surface protein vp7 and recombinant peptide Arm

پروتئین سطحی vp4 و پپتید نو ترکیب AF  
Surface protein vp4 and recombinant peptide AF

پروتئین سطحی vp7 و پپتید نو ترکیب AF  
Surface protein vp7 and recombinant peptide AF

شکل ۴- نمودار انرژی مربوط به پپتیدهای نو ترکیب در سیستم‌های مورد بررسی

Figure 4- Energy diagram for all the investigated systems

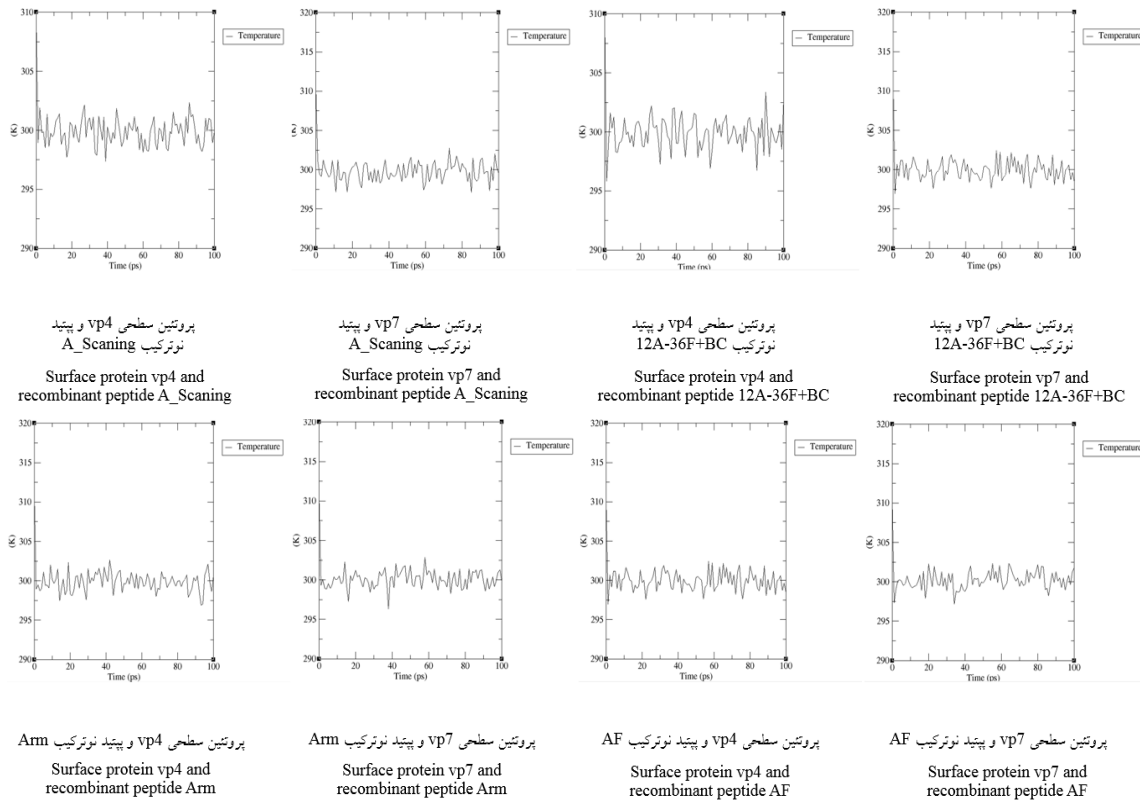


پروتئین سطحی vp4 و پپتید نو ترکیب clf36-2  
Surface protein vp4 and recombinant peptide clf36-2

پروتئین سطحی vp7 و پپتید نو ترکیب clf36-2  
Surface protein vp7 and recombinant peptide clf36-2

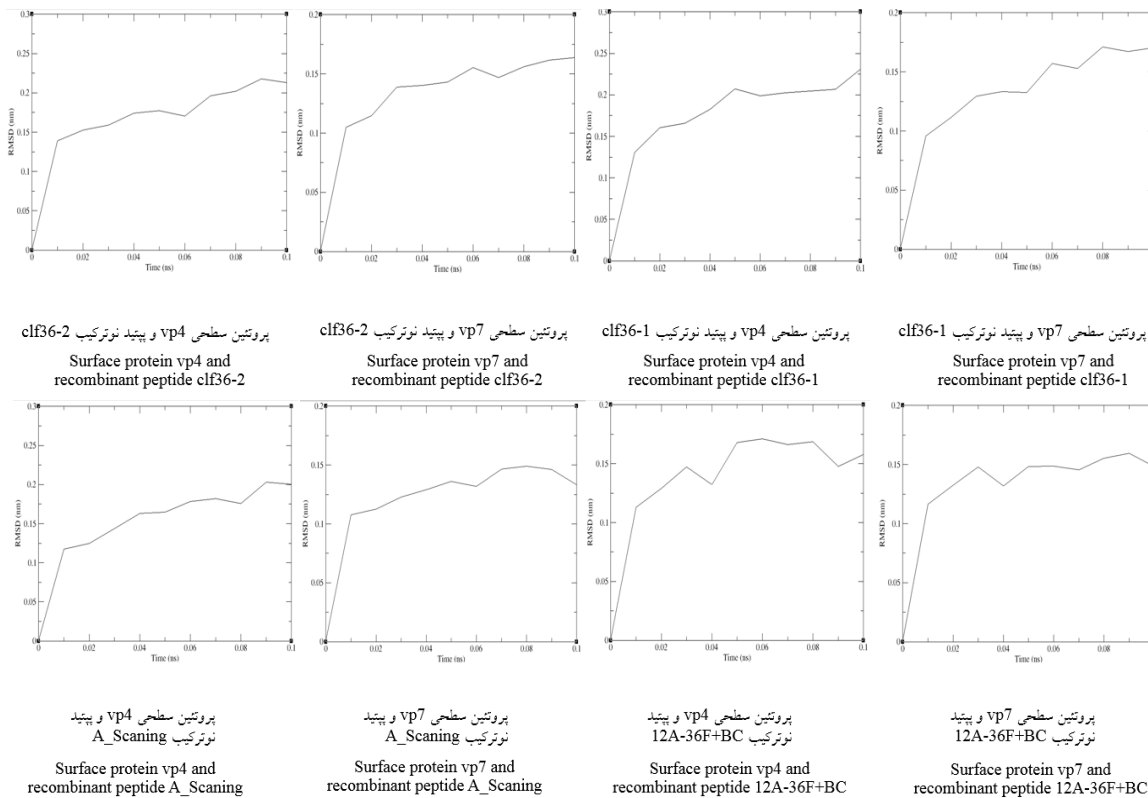
پروتئین سطحی vp4 و پپتید نو ترکیب clf36-1  
Surface protein vp4 and recombinant peptide clf36-1

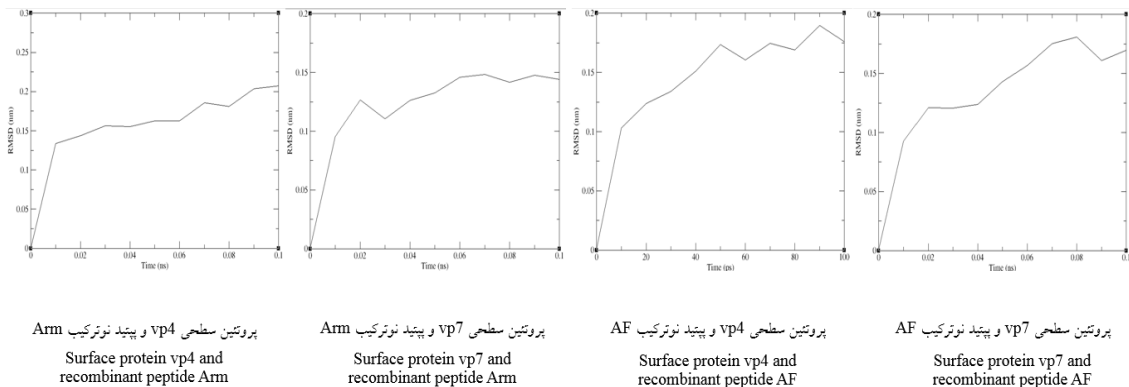
پروتئین سطحی vp7 و پپتید نو ترکیب clf36-1  
Surface protein vp7 and recombinant peptide clf36-1



شکل 5- نمودار دمای مربوط به سیستم‌های مورد بررسی

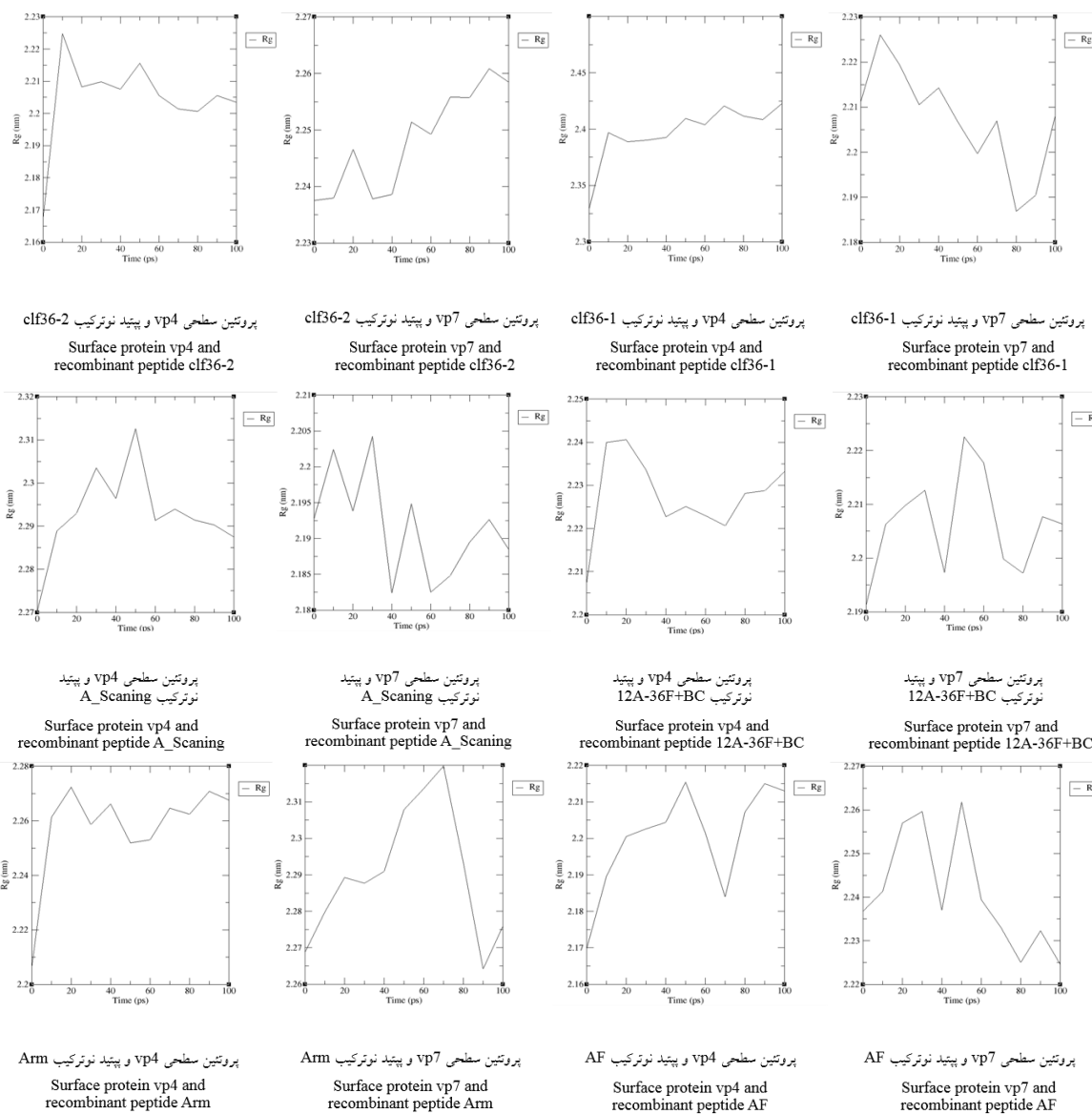
Figure 5- Temperature diagram of the investigated systems





شکل ۶- نمودار انحراف معیار جذر میانگین مربعات برای تمامی سیستم‌های مورد مطالعه

Figure 6- RMSD diagram for all selected systems



شکل ۷- نمودار شعاع چرخشی در شبیه سازی

Figure 7- Radius of gyration values in simulation

### نتیجه گیری

درون تنی و همچنین نشان دهنده‌ی امکان اتصال پایدار پپتید نوترکیب لاکتوفیرین با پروتئین سطحی ویروس، بدون تغییر شکل در مدت زمان اتصال است؛ این دو سیستم در شرایط بدن اتصال کارآمدی نخواهند داشت؛ از این رو با توجه به نمودارهای شعاع چرخشی از مطالعه حاضر انتظار می‌رود سیستم پروتئین سطحی vp4 و پپتید نوترکیب clf36-1 دارای بهترین اتصال بوده و پپتید clf36-1 از میان شش پپتید نوترکیب مورد بررسی، بهترین جایگزین برای داروهای ضد ویروسی روتاویروس گاوی خواهد بود. با این حال انجام آزمایشات در شرایط درون تنی به منظور اثبات اثربخشی این پپتید ضروری می‌نماید.

دو سیستم vp4 و vp7 و پپتید نوترکیب 12A-36F+BC با داشتن بیشترین انرژی آزاد پیوند شدن لیگاند-پروتئین در بین مدل‌های مورد بررسی در مرحله داکینگ و مثبت‌ترین بار الکتریکی پیش از ختشی سازی بار در دینامیک مولکولی به نظر می‌رسید نسبت به دیگر سیستم‌ها دارای تمایل بیشتری در پیوند شدن لیگاند-پروتئین و در نهایت دارای عملکرد بهتری در مهار ویروس باشند. با این حال به دلیل باز شدن پیچ و تاب پروتئین و از دست دادن ساختار عملکردی آن در این دو سیستم و تغییرات زیاد شعاع چرخشی آنها در طول زمان شبیه سازی که مهم ترین عامل تعیین کننده در کارآمدی سیستم‌ها در شرایط

### منابع

- Allen, M.P. 2004. Introduction to molecular dynamics simulation, in: N. Attig, K. Binder, H. Grubmuller, K. Kremer (Eds.), Computational Soft Matter: From Synthetic Polymers to Proteins, Lecture Notes, Vol. NIC Series, vol. 23, John von Neumann Institute for Computing, Juelich, Germany. Pp: 1-28.
- Barazandeh, A., Mohammadabadi, M.R., Ghaderi, M. and Nezamabadipour, H. 2016. Predicting CpG Islands and their relationship with genomic feature in cattle by Hidden Markov Model Algorithm. Iranian Journal of Applied Animal Science. 6: 571-579.
- Berlutti, F., Pantanella, F., Natalizi, T., Frioni, A., Paesano, R., Polimeni, A. and Valenti, P. 2011. Antiviral properties of lactoferrin—A Natural Immunity Molecule. *Molecules*. 16: 6992-7018.
- Brogden, K.A. 2005. Antimicrobial peptides: Pore formers or metabolic inhibitors in bacteria. *Nature Reviews Microbiology*. 3: 238-250.
- Cho, Y. and Yoon, K.J. 2014. An overview of calf diarrhea - infectious etiology, diagnosis, and Intervention. *Journal of Veterinary Science*. 15: 1-17.
- Collins, P.J., Mulherin, E., Cashman, O., Lennon, G., Gunn, L., O'Shea, H. and Fanning, S. 2014. Detection and characterisation of bovine rotavirus in Ireland from 2006-2008. *Irish Veterinary Journal*. 67: 13-16.
- Ebrahimi, Z., Mohammadabadi, M.R., Esmailizadeh, A.K., Khezri, A. and Najmi Noori, A. 2015. Association of PIT1 gene with milk fat percentage in Holstein cattle. *Iranian Journal of Applied Animal Science*. 5: 575-582.
- Ebrahimi, Z., Mohammadabadi, M.R., Esmailizadeh, A.K. and Khezri, A. 2015. Association of PIT1 gene and milk protein percentage in Holstein cattle. *Journal of Livestock Science and Technologies*. 3: 41-49.
- Falcone, E., Tarantino, M., Ditrani, L., Cordioli, P., Lavazza, A. and Tollis, M. 1999. Determination of bovine rotavirus G and P serotypes in Italy by PCR. *Journal of Clinical Microbiology*. 37: 3879-3882.
- Ghasemi, M., Baghizadeh, A. and Abadi, M.R.M. 2010. Determination of genetic polymorphism in Kerman Holstein and Jersey cattle population using ISSR markers. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*. 4: 5758-5760.

11. Gifford, J.L., Hunter H.N. and Vogel H.J. 2005. Lactoferricin: a lactoferrin-derived peptide with antimicrobial, antiviral, antitumor and immunological properties. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 62(22): 2588-2598.
12. Gomez, D.E. and Weese, J.S. 2017. Viral enteritis in calves. *The Canadian veterinary journal*. 58: 1267-1274.
13. González-Chávez, S.A., Arévalo-Gallegos, S. and Rascón-Cruz, Q. 2009. Lactoferrin: structure, function and applications. *International Journal of antimicrobial Agents*. 33(4): 301-308.
14. Khan, J.A., Kumar, P., Paramasiviam, M., Yadav, R.S., Sahani, M.S., Sharma, S., Srinivasan, A. and Singh, T.P. 2001. Camel lactoferrin, a transferrin-cum-lactoferrin: Crystal structure of camel apolactoferrin at 2.6 a resolution and structural basis of its dual role. *Journal of Molecular Biology*. 309: 751-761.
15. Kharrati Koopaei, H., Mohammadabadi, M.R., Ansari Mehyari, S., Esmailzadeh, A.K., Tarang, A. and Nikbakhti, M. 2011. Genetic variation of DGAT1 gene and its association with milk production in Iranian Holstein cattle breed population. *Iranian Journal of Animal Science Research*. 3(2): 185-192.
16. Kharrati Koopaei, H., Mohammad Abadi, M.R., Ansari Mahyari, S., Tarang, A.R., Potki, P. and Esmailzadeh, A.K. 2012a. Effect of DGAT1 variants on milk composition traits in Iranian Holstein cattle population. *Animal Science Papers and Reports* 30(3): 231-240.
17. Kharrati Koopaei, H., Mohammadabadi, M.R., Tarang, A., Kharrati koopaei, M. and Esmailzadeh Koshkoiyeh, A. 2012b. Study of the association between the allelic variations in DGAT1 gene with mastitis in Iranian Holstein cattle. *Modern Genetics Journal*. 7(1): 101-104.
18. Levay, P.F. and Viljoen, M. 1995. Lactoferrin: a general review: *Haematologica*. 80: 252-267.
19. MacDonald, R.S., Thornton, W.H. and Marshall, R.T. 1994. A cell culture model to identify biologically active peptides generated by bacterial hydrolysis of casein. *Journal of Dairy Science*. 77(5): 1167-75.
20. Mohammad Abadi, M.R. and Mohammadi, A. 2010. Study of beta-lactoglobulin genotypes in native and Holstein cattle of Kerman province. *Journal of Animal Productions*. 12(2): 61-67.
21. Pasandideh, M., Mohammadabadi, M.R., Esmailzadeh, A.K. and Tarang, A. 2015. Association of bovine PPARGC1A and OPN genes with milk production and composition in Holstein cattle. *Czech Journal of Animal Science*. 60: 97-104.
22. Raei, M., Rajabzadeh, G., Zibaei, S., Jafari, S.M. and Sani, A.M. 2015. Nano-encapsulation of isolated lactoferrin from camel milk by calcium alginate and evaluation of its release. *International Journal of Biological Macromolecules*. 79: 669-673.
23. Redwan, E.M., EL-Fakharany, E.M., Uversky, V.N. and Linjawi, M.H. 2014. Screening the anti-infectivity potentials of native N- and C-lobes derived from the camel lactoferrin against hepatitis C virus. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 14(1): 219-234.
24. Sinha, M., Kaushik, S., Kaur, P., Sharma, S. and Singh, T.P. 2013. Antimicrobial Lactoferrin Peptides: The Hidden Players in the Protective Function of a Multifunctional Protein. *International Journal of Peptides*. 2013: 1-12.
25. Stefan, R., Ackermann, M., Farah, Z. and Pohan, Z. 1999. Sequence analysis of camel lactoferrin. *International Dairy Journal*. 9: 481-486.
26. Tomita, M., Takase, M., Bellamy, W. and Shimakura, S. 1994. A review: the active peptide of lactoferrin. *Acta Paediatrica Japonica*. 36(5): 585-591.
27. Yagil, R. 1985. The desert camel: comparative physiological adaptation. *Comparative Animal Nutrition*. Vol 5 Basel: Karger Ag.





Gorgan University of Agricultural  
Sciences and Natural Resources

*J. of Ruminant Research, Vol. 8(1), 2020*

<http://ejrr.gau.ac.ir>

**M. Shahamiri<sup>1</sup>, \*M. Tahmoorespur<sup>2</sup>, M. Azghandi<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Ph.D. Student and <sup>2</sup>Professor, Dept. of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

Received: 09/17/2019; Accepted: 04/16/2020

### **Abstract**

**Background and objectives:** Bovine diarrhea is a common disease among calves that causes significant economic losses in dairy and meat industry because of increased mortality, treatment costs, reduced growth rates and increasing age at first calving. Bovine rotavirus is one of the main causes of diarrhea in calves at the age of one to two weeks. Both vp4 and vp7 proteins form the outer capsid of the virus, stimulating the immune system and antibodies production. Camel lactoferrampine-Lactoferrin is a potent antiviral that binds to heparin proteoglycine sulfate, prevents virus entry into the host cell and can replace antiviral drugs. The aim of this study was to investigate the possibility of replacement of camel lactoferrin peptide with antiviral drugs.

**Materials and methods:** In this study, the possibility of replacing six recombinant camel lactoferrin peptides named clf36-1, clf36-2, 12A-36F + BC, A Scanning, AF, Arm with antiviral drugs and efficient binding of these peptides to Surface proteins of bovine rotavirus (vp4 and vp7) was investigated by molecular dynamics simulation using GROMACS software. Furthermore, they were compared due to their bond-dissociation energy in docking step and amount of electric charge before neutralizing the electric charge of systems in molecular dynamics. Finally, the best substituted peptide was selected according to Radius of gyration diagram which is the main determinative factor in system efficiency *in vivo*. Also, it indicates the possibility of stable binding of recombinant lactoferrin peptide to the virus' surface protein.

**Results:** The results of this study indicated that the lactoferrin peptide binds well with the superficial proteins of rotavirus and can thus prevent the virus from entering the cells. However, among the six peptides examined, the 12A-36F + BC peptide in both vp4 and vp7 systems seems to be inefficient *in vivo* in spite of the highest bond-dissociation energy and the most positive electric charge before Neutralizing the electric charge of systems in molecular dynamics. As being unfold and Radius of gyration fluctuation during the simulation. Hence this study expects that recombinant peptide clf36-1 and vp4 system will bind well according to the Radius of gyration diagram.

**Conclusions:** The results of this study showed that the clf36-1 peptide was stable and efficiently bound to vp4 surface protein among the six investigated peptides while retaining its structure during the simulation and in this way it can prevent the virus from entering the cells. So it can be an appropriate alternative to antiviral drugs. However, further *in vivo* experiments are needed to prove the efficacy of this peptide.

**Keywords:** Bovine diarrhea, Bovine rotavirus, Camel lactoferrampine-Lactoferrin, Molecular dynamics simulation

---

\*Corresponding author; [m\\_tahmoorespur@yahoo.com](mailto:m_tahmoorespur@yahoo.com)