

استفاده از تجزیه و تحلیل بیوانفورماتیکی برای شناسایی اهداف بالقوه پروتئینی در پاتوژن به منظور کنترل این پاتوژن *Pseudomonas syringae*

کامران سمیعی^{۱*}، سید محسن شهرابی^۲

۱. گروه مهندسی کشاورزی، واحد کنگاور، دانشگاه آزاد اسلامی، کنگاور، ایران

۲. باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد خرمآباد، خرمآباد، ایران

چکیده

سابقه و هدف: شناسایی اهداف اختصاصی در هر پاتوژن برای جلوگیری از اثرهای سوءصرف سوم شیمیایی ضروری است. در مطالعه حاضر، با استفاده از یک روش بیوانفورماتیکی مبتنی بر همولوژی، پروتئوم پاتوژن *P. syringae* با پروتئوم گیاه گوجه‌فرنگی و دیگر محصول‌های کشاورزی میزبان آن مقایسه و تعدادی پروتئین به عنوان اهداف بالقوه برای مبارزه در پاتوژن انتخاب شدند.

مواد و روش‌ها: پروتئوم پاتوژن با گیاهان میزبان مقایسه و پروتئین‌های غیر مشابه انتخاب شدند. این پروتئین‌ها با پروتئوم انسان و سایر موجودات غیرهندست مقایسه و پروتئین‌های غیر مشابه انتخاب و اهداف بالقوه تحت آنالیزهای کیفی مختلفی قرار گرفتند.

یافته‌ها: نتایج آنالیزها، ۹۵ پروتئین را به عنوان اهداف منحصر بفرد مشخص کرد. از مجموع پروتئین‌ها، ۵۹ پروتئین در سیتوپلاسم، ۱۵ پروتئین در غشاء داخلی، ۱۷ پروتئین در فضای پری‌پلاسمیک، ۳ پروتئین در غشاء خارجی و ۱ پروتئین در خارج از سلول پاتوژن *P. syringae* تجمع پیدا می‌کردند.

نتیجه‌گیری: پروتئین‌های مشخص شده در این مطالعه، اهدافی بسیار مؤثر برای مبارزه بوده و هدف قرار دادن چنین پروتئین‌هایی می‌تواند به طور مؤثری باعث کنترل پاتوژن *P. syringae* شود. همچنین طراحی و تولید مواد شیمیایی علیه این پروتئین‌های هدف، در کنار کنترل مؤثر این پاتوژن، می‌تواند طیف وسیعی از پاتوژن‌ها را کنترل کرده و از اثرهای مضر بر انسان، موجودات غیرهندست و محیط زیست جلوگیری کند.

واژه‌های کلیدی: بیوانفورماتیک، گوجه‌فرنگی، پاتوژن *P. syringae* پروتئین‌های هدف

مقدمه

سواحل غربی آمریکای جنوبی است. گوجه‌فرنگی و محصول‌های تبدیلی آن یکی از مهم‌ترین تولیدهای صنایع تبدیلی در جهان هستند به طوری که سالانه ۳۰ الی ۳۵ میلیون تن گوجه‌فرنگی تازه در کارخانجات فراهم می‌گردد. ایران از جنبه فرآوری گوجه‌فرنگی پس از کشورهای آمریکا، ایتالیا، چین، ترکیه در رتبه پنجم قرار دارد. بیماری‌های گیاهی یکی از مهم‌ترین عوامل محدود کننده کشت محصول‌های کشاورزی از جمله گوجه‌فرنگی هستند و سالانه خسارت قابل توجهی را به این محصول‌ها وارد می‌کنند. از مهم‌ترین بیماری‌های باکتریایی گوجه‌فرنگی می‌توان به لکه باکتریایی یا خال‌زدگی *P. syringae* p.v *tomato* پژمردگی باکتریایی *Clavibacter* شانکر *P. solanacearum* باکتریایی *Xanthomonas campestris* و لکه باکتریایی *michiganensis* اشاره کرد (۱).

گوجه‌فرنگی گیاهی از خانواده Solanaceae و از جنس *Solanum* و *S. lycopersicum* است. گوجه‌فرنگی به طور ذاتی گیاهی علفی و چندساله است که در تمام نقاط جهان اغلب به صورت یکساله کشت می‌شود. گوجه‌فرنگی یکی از محصول‌های ارزشمند سبزی و صیفی در خاورمیانه به شمار می‌آید که پس از سیب‌زمینی از نظر اقتصادی در مقام دوم جهان قرار دارد. موطن اصلی گوجه‌فرنگی آمریکای مرکزی و جنوبی و به احتمال زیاد

نویسنده مسئول:

گروه مهندسی کشاورزی، واحد کنگاور، دانشگاه آزاد اسلامی، کنگاور، ایران.

پست الکترونیکی: kamransamiei@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۲/۲۴

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۲/۰۹

بین بردن آن است. با این روش علاوه بر کنترل مؤثر پاتوژن می‌توان از اثرهای سوء و زیان‌آور احتمالی مبارزه با پاتوژن بر روی انسان، موجودات غیرهدف و محیط‌بست تا حد زیادی جلوگیری کرد (۱،۲۹). یکی از بهترین، سریع‌ترین و کم هزینه‌ترین روش‌های شناسایی اهداف در موجودات مختلف، روش‌های بیوانفورماتیکی هستند. بیوانفورماتیک شاخه‌ای از علم زیست‌شناسی است که به ذخیره، تجزیه و تحلیل و تفسیر اطلاعات آزمایشگاهی می‌بردازد (۱۰،۲۲). بیوانفورماتیک علم نوینی است که در آن با استفاده از کامپیوتر، نرم‌افزارهای کامپیوترا و بانک‌های اطلاعاتی سعی می‌گردد تا به مسائل بیولوژیکی به خصوص در زمینه‌های سلولی و مولکولی پاسخ داده شود (۱۸). در این علم با به کارگیری کامپیوتر سعی می‌گردد تا تحقیق‌های وسیع‌تری در خصوص پروتئین‌ها و زن‌ها به عمل آید. بیوانفورماتیک توسط علومی مانند زیست‌شناسی محاسبه‌ای، ریاضی، بیومتری، تکامل مولکولی، ژنومیکس، پروتئومیکس و زیست‌شناسی سلولی و مولکولی توسعه یافته است. وجه مشترکی که تمام این علوم در بیوانفورماتیک استفاده از کامپیوتر و برنامه‌های کامپیوترا است. در این مطالعه با استفاده از ابزار BLASTp و ماتریس BLOSUM62 و همچنین پایگاه‌های VFDB، NCBI و KEGG، پروتئوم پاتوژن *P.syringae*، پروتئوم *P. syringae*, *NC-007005.1* قابل دسترسی است (Buell et al., 2003).

مطالعه‌ای، پروتئوم گیاه گوجه‌فرنگی آلوده شده با پاتوژن *P. syringae* بررسی شد و نتایج ۴۷۷ را مشخص کرد که در پاسخ به آلدگی نقش داشتند (۲۱). در پژوهش دیگری، با استفاده از دو روش محاسبه‌های، پروتئوم پاتوژن *P. syringae* و پروتئوم گیاه آرابیدوپسیس با هم مقایسه و برهم‌کنش‌های بین آن‌ها بررسی شد. نتایج وجود ۷۹۰ هزار برهم‌کنش را بین دو پروتئوم نشان داد (۲۴).

مواد و روش‌ها

نمای کلی مراحل آنالیز در این مطالعه در شکل ۱ نشان داده شده است. آنالیز شامل ۳ مرحله هم‌ریفی و چندین مرحله آنالیز کیفی است (شکل ۱). ابتدا، چند دسته از اطلاعات از منابع مختلف شامل مقالات، کتب و پایگاه‌ها استخراج و جمع‌آوری شد. اطلاعات مربوط به پاتوژن *P. syringae* شامل اندازه ژنوم، تعداد زن‌ها، تعداد پروتئین‌ها، فاکتورهای بیماری‌زاوی و اطلاعات مسیرهای بیوشیمیایی پاتوژن از پایگاه‌های VFDB، NCBI و KEGG دریافت و دسته‌بندی شد. همچنین اطلاعات مربوط به میزان‌های مختلف پاتوژن *P. syringae* شامل جنس‌های گیاهی *Solanum*, *Dysoxylum*, *Triticum*, *Beta*, *Aesculus*, *Actinidia*, *Acer*, *Prunus*, *Pisum*, *Phaseolus*, *Malus*, *Panicum*, *Hordeum*

پاتوژن *P. syringae* یک باکتری میله‌ای شکل، گرم منفی و تازکدار از خانواده *Pseudomonadaceae* است. این پاتوژن دارای پاتووارهای زیادی بوده و در طیف وسیعی از گیاهان ایجاد بیماری می‌کند. این پاتوژن برای اولین بار در گیاه یاس بنفش یا *Syringa vulgaris* جداسازی شده و بهمین علت نام گرفته است. پاتووارهای مختلف این پاتوژن به گیاهانی از *Actinidiaceae*, *Sapindaceae*, *Rosaceae*, *Meliaceae*, *Poaceae*, *Amaranthaceae*, *Oleaceae* و *Fabaceae* حمله و ایجاد بیماری می‌کند. این پاتوژن بیماری‌های مختلفی مانند لکه برگی، شانکر، آتشک و سوختگی را در گیاهان میزبان خود ایجاد می‌کند. با توجه به طیف وسیع میزانی و شدت ایجاد بیماری، پاتوژن *P. syringae* یکی از مهم‌ترین باکتری‌های بیماری‌زاوی گیاهی مطرح بوده و سالیانه خسارت قابل توجهی را در سراسر دنیا به محصول‌های مختلف کشاورزی وارد می‌کند (۳۱، ۹، ۱).

ژنوم کامل پاتوژن *P. syringae* در سال ۲۰۰۳ توالی‌یابی و مستندسازی شد. پاتوژن *P. syringae* دارای ژنومی به طول ۶۰،۹۳۶۹۸ جفت باز و فاقد پلاسمید است. این ژنوم دارای محتوای ۵۰،۸۹ GC حدود ۵۹ درصد بوده و ۵۲۲۰ زن دارد. این تعداد زن، ۴۷ کد کرده و ۴۷ زن کاذب دارند. ژنوم پاتوژن *P. syringae* با شماره NC-007005.1 قابل دسترسی است (Buell et al., 2003).

مطالعه‌ای، پروتئوم گیاه گوجه‌فرنگی آلوده شده با پاتوژن *P. syringae* بررسی شد و نتایج ۴۷۷ را مشخص کرد که در پاسخ به آلدگی نقش داشتند (۲۱). در پژوهش دیگری، با استفاده از دو روش محاسبه‌های، پروتئوم پاتوژن *P. syringae* و پروتئوم گیاه آرابیدوپسیس با هم مقایسه و برهم‌کنش‌های بین آن‌ها بررسی شد. نتایج وجود ۷۹۰ هزار برهم‌کنش را بین دو پروتئوم نشان داد (۲۴).

طبق یک تخمین محافظه‌کارانه، بیماری‌ها، حشرات و علف‌های هرز در سطح جهانی سالانه بین ۳۱ تا ۴۲ درصد محصول‌های کشاورزی را نابود یا از تولید آن‌ها جلوگیری می‌کنند. با توجه به این میزان خسارت مبارزه با بیماری‌ها به منظور حفظ امنیت غذایی و رونق اقتصادی امری اجتناب‌ناپذیر به نظر می‌رسد. از بین روش‌های مبارزه با بیماری‌های گیاهی دو روش مهندسی ژنتیک و استفاده از مواد شیمیایی غیر مضر برای انسان، موجودات غیرهدف و محیط زیست روش‌های مؤثرتری به نظر می‌رسند. هر دوی این روش‌ها نیازمند شناسایی و تعیین اهداف مؤثر در پاتوژن، به منظور جلوگیری از مکانیسم‌های آلدگی، رشد و تولید مثل و همچنین از

Phaseolus, Malus, Panicum, Hordeum, Dysoxylum, Prunus, Pisum و Glycine، پروتئوم انسان و فلور میکروبی دستگاه گوارش، پروتئوم پاتوژن های باکتریایی گیاهی و پروتئوم مهدهداران، بندپایان و نرمتنان چهار پایگاه داده اختصاصی در برنامه BLASTp NCBI ایجاد شد. این پایگاه های داده اختصاصی بر اساس کدنویسی اختصاصی و برای محدود کردن هم ردیفی های بعدی و کاهش زمان هم ردیفی ها ایجاد شدند (۲).

و *Glycine*، اطلاعات مربوط به فلور میکروبی دستگاه گوارش انسان، اطلاعات سایر پاتوژن های باکتریایی گیاهی نیز از پایگاه های متنی شامل Google scholar, PMC, Pubmed برویت و دسته بندی شد (۷, ۱۳, ۲۰).

در مرحله بعد، پروتئوم پاتوژن *P.syringae* (شامل ۵۰۸۹) و پروتئین از پایگاه NCBI دریافت شد. سپس، از پروتئوم میزبان های مختلف پاتوژن *P.syringae* شامل جنس های گیاهی *Triticum, Beta, Aesculus, Actinidia, Acer, Solanum*



شکل ۱- نمای کلی مراحل آنالیز

این مرحله از آنالیز برای جلوگیری از اثرهای ناخواسته هدف گیری پروتئین های پاتوژن بر انسان و سایر موجودات غیر هدف انجام می شود. کد پایگاه های داده سفارشی پروتئوم میزبان های گیاهی و پروتئوم انسان، فلور میکروبی دستگاه گوارش، مهدهداران، بندپایان و نرمتنان در جداول ۱ و ۲ نشان داده شده است.

در مرحله بعد، توالی پروتئینی اهداف اولیه، از پایگاه NCBI دریافت شد. توالی های مورد نظر پس از دسته بندی، با ارزش مورد انتظار ۱/۰۰۰۰۱ علیه پروتئین های موجود در پایگاه DEG10.0 تحت هم ردیفی قرار گرفتند. پروتئین هایی از پروتئوم پاتوژن که در ارزش مورد انتظار ۱/۰۰۰۰۱ با پروتئین های موجود در پایگاه DEG10.0 مشابه بودند به عنوان اهداف بالقوه نهایی در پاتوژن *P.syringae* انتخاب و بقیه پروتئین های حذف شدند. اهداف بالقوه نهایی پاتوژن *P.syringae* برای بررسی های کیفی بیشتر به مراحل بعدی منتقل شدند. ژن های ضروری، ژن هایی هستند که برای بقاء میکرو اگانیسم حیاتی بوده و بدون وجود آن ها میکرو اگانیسم قادر به ادامه حیات، رشد و نمو، هموستازی و تولید مثل نخواهد بود. پایگاه DEG10.0 مجموعه ای از ژن های ضروری در میکرو اگانیسم های باکتریایی مختلف است (۱۶).

پروتئوم پاتوژن *P. syringae* با ارزش مورد انتظار ۱/۰۰۰۰۱ علیه پایگاه داده اختصاصی میزبان های مختلف پاتوژن تحت هم ردیفی قرار گرفت. پروتئین های مشابه با پروتئین های موجود در پایگاه داده اختصاصی میزبان های حذف شده و بقیه پروتئین های که هیچ شباهتی با پروتئین های موجود در این پایگاه داده اختصاصی نداشتند وارد مرحله بعدی هم ردیفی شدند. پروتئین های حاصل از مرحله قبل با ارزش مورد انتظار ۱/۰۰۰۰۱ علیه پایگاه داده اختصاصی انسان و فلور میکروبی دستگاه گوارش هم ردیف شدند و پروتئین های مشابه با پروتئین های موجود در پایگاه داده اختصاصی انسان و فلور میکروبی دستگاه گوارش حذف شده و بقیه پروتئین های که هیچ شباهتی با پروتئین های موجود در این پایگاه داده اختصاصی نداشتند وارد مرحله بعدی هم ردیفی شدند. در مرحله آخر، پروتئین های باقیمانده از مرحله قبل با ارزش مورد انتظار ۱/۰۰۰۰۱ علیه پایگاه داده اختصاصی مهدهداران، بندپایان و نرمتنان مورد هم ردیفی قرار گرفته و پروتئین های مشابه با پروتئین های موجود در پایگاه داده اختصاصی مهدهداران، بندپایان و نرمتنان حذف شده و بقیه پروتئین های که هیچ شباهتی با پروتئین های موجود در این پایگاه داده اختصاصی نداشتند به عنوان اهداف اولیه در پاتوژن *P.syringae* انتخاب و وارد مراحل بعدی آنالیز شدند.

جدول ۱- کد پایگاه داده سفارشی میزبان های گیاهی

txid49274 [ORGN] OR txid4022 [ORGN] OR txid3624 [ORGN] OR txid43363 [ORGN] OR txid3554 [ORGN] OR txid4564 [ORGN] OR txid155633 [ORGN] OR txid4512 [ORGN] OR txid4539 [ORGN] OR txid3749 [ORGN] OR txid3883 [ORGN] OR txid3887 [ORGN] OR txid3754 [ORGN] OR txid3846 [ORGN]

طیف وسیع و جستجوی مسیرهای متابولیکی تشکیل شده است. در جستجوی محل تجمع سلولی، با استفاده از ابزارهایی مانند

آنالیز کیفی اهداف بالقوه، از چهار جستجوی مختلف شامل جستجوی محل تجمع سلولی، جستجوی عملکردی، جستجوی

پاتوژن باکتریایی گیاهی مهم (مانند *Erwinia Agrobacterium* و *Pectobacterium* و *Ralstonia P.seudomonas*) مورد هم-ردیفی قرار گرفتند. اهداف مشترک با بیش از ۴ پاتوژن به عنوان اهداف طیف وسیع مشخص شدند. در جستجوی مسیرهای متابولیکی، اهداف پروتئینی در پایگاه KEGG بررسی شدند و مسیرهای متابولیکی که این اهداف در آنها نقش دارند مشخص شدند (۱۳).

PSORT CELLO و CELLO محل تجمع اهداف شناسایی شده مشخص شد (۱۹,۳۲). محل های تجمع پروتئین در سلول باکتری های گرم منفی شامل سیتوپلاسم، غشاء داخلی، ناحیه پری پلاسمیک، غشاء خارجی و خارج سلول است. در جستجوی عملکردی، عملکرد اهداف پروتئینی با عملکرد ناشناخته با استفاده از ابزارهایی مانند CDD و InterProScan, Pfam در جستجوی طیف وسیع، اهداف نهایی با ارزش موردنظر در جستجوی طیف وسیع، اهداف نهایی با ارزش موردنظر ۰۰۱٪ علیه پایگاه داده اختصاصی مت Shankle از پروتئوم ۲۷ جنس

جدول ۲- کد پایگاه داده سفارشی انسان، فلور میکروبی دستگاه گوارش، مهردادران، بدبایان و نرمتنان

txid9606 [ORGN] OR txid411466 [ORGN] OR txid349741 [ORGN] OR txid445970 [ORGN] OR txid445971 [ORGN] OR txid411490 [ORGN] OR txid445972 [ORGN] OR txid411467 [ORGN] OR txid537012 [ORGN] OR txid470145 [ORGN] OR txid483217 [ORGN] OR txid483216 [ORGN] OR txid483215 [ORGN] OR txid471870 [ORGN] OR txid411476 [ORGN] OR txid483218 [ORGN] OR txid484018 [ORGN] OR txid449673 [ORGN] OR txid411479 [ORGN] OR txid367928 [ORGN] OR txid411481 [ORGN] OR txid518635 [ORGN] OR txid500634 [ORGN] OR txid518634 [ORGN] OR txid473819 [ORGN] OR txid205913 [ORGN] OR txid206672 [ORGN] OR txid1682 [ORGN] OR txid498739 [ORGN] OR txid511680 [ORGN] OR txid451640 [ORGN] OR txid518636 [ORGN] OR txid445973 [ORGN] OR txid411902 [ORGN] OR txid500633 [ORGN] OR txid428125 [ORGN] OR txid537013 [ORGN] OR txid500632 [ORGN] OR txid445974 [ORGN] OR txid411468 [ORGN] OR txid411489 [ORGN] OR txid411486 [ORGN] OR txid411484 [ORGN] OR txid428126 [ORGN] OR txid471871 [ORGN] OR txid411472 [ORGN] OR txid411903 [ORGN] OR txid521003 [ORGN] OR txid445975 [ORGN] OR txid470146 [ORGN] OR txid411474 [ORGN] OR txid411461 [ORGN] OR txid411462 [ORGN] OR txid479437 [ORGN] OR txid500639 [ORGN] OR txid428127 [ORGN] OR txid411469 [ORGN] OR txid428128 [ORGN] OR txid411463 [ORGN] OR txid411483 [ORGN] OR txid411485 [ORGN] OR txid362948 [ORGN] OR txid420247 [ORGN] OR txid521001 [ORGN] OR txid521002 [ORGN] OR txid483214 [ORGN] OR txid500635 [ORGN] OR txid387661 [ORGN] OR txid411477 [ORGN] OR txid411465 [ORGN] OR txid243265 [ORGN] OR txid537011 [ORGN] OR txid520999 [ORGN] OR txid521000 [ORGN] OR txid500637 [ORGN] OR txid451638 [ORGN].

انتخاب کرد و به مرحله بعد انتقال داد. به علت عدم تشابه بین ۳۴۷۷ پروتئین از پاتوژن با پروتئوم میزبانها، هدف قرار دادن این پروتئینها در پاتوژن هیچ گونه اثر مضری بر میزبانها نخواهد گذاشت. با این وجود در میان این ۳۴۷۷ پروتئین ممکن است پروتئین های وجود داشته باشند که دارای مشابهت با پروتئین های انسان و موجودات غیرهند داشند (۱۴,۳۰).

برای پیدا کردن این پروتئین ها و حذف اثرهای ناخواسته هدف-گیری آنها روی انسان و موجودات غیرهند چند مرحله دیگر از هم ردیفی انجام گرفت. ۳۴۷۷ پروتئین مرحله قبل با ارزش موردنظر ۰۰۱٪ علیه پروتئوم انسان و فلور میکروبی دستگاه گوارش هم ردیف شدند. از ۳۴۷۷ پروتئین ورودی به هم ردیفی ۲۱۷۷ پروتئین به علت مشابهت قابل توجه به پروتئوم انسان و فلور میکروبی دستگاه گوارش حذف و ۱۳۰۰ پروتئین باقی مانده هیچ شباهتی با پروتئوم انسان و فلور میکروبی دستگاه گوارش نشان ندادند و برای مرحله بعدی آنالیز انتخاب شدند. تا این مرحله ۱۳۰۰ پروتئین از پاتوژن هیچ شباهتی به پروتئوم میزبانها، انسان و فلور میکروبی دستگاه گوارش نشان ندادند. هدف گیری این ۱۳۰۰ پروتئین با اطمینان بالایی هیچ اثر مضری بر میزبانها، انسان و فلور میکروبی دستگاه گوارش آن نخواهد داشت. با این وجود در میان این ۱۳۰۰ پروتئین ممکن است پروتئین های مشابه با پروتئین های میزبان حذف شدند، بنابراین با اطمینان بالایی می توان بقیه پروتئین ها را به عنوان اهداف اولیه برای مبارزه با پروتئین های موجودات غیرهند وجود داشته باشند (۱۴,۳۰).

نتایج

ژنوم *P.syringae* ۵۲۲۰ ژن داشته و ۵۰۸۹ پروتئین تولید می کند. از ۵۰۸۹ پروتئین پاتوژن *P.syringae* تعداد ۲۵۳۶ پروتئین توسط رشته مثبت و ۲۵۵۳ پروتئین توسط رشته منفی کد می شوند. طول پروتئین های موجود در پاتوژن *P.syringae* از ۲۴ تا ۱۳۵۳۷ اسید آمینه متغیر بوده و تعداد عمدۀ پروتئین ها در محدوده ۱۰۰ تا ۵۰۰ اسید آمینه قرار دارند. همچنین این پاتوژن دارای ۲۵۹ مسیر متابولیکی و غیر متابولیکی برای فرآیندهای حیاتی مختلف است. مسیرهای متابولیک شامل متابولیسم انرژی، کربوهیدرات ها، لیپیدها، نوکلئوتیدها، آمینواسیدها، سایر آمینوها، گلیکانها، ویتامین ها، کوفاکتورها و متابولیت های ثانویه هستند. مسیرهای غیر متابولیکی شامل مسیرهای پردازش اطلاعات ژنتیکی، پردازش اطلاعات محیطی و پردازش سلولی هستند. تمامی مسیرهای متابولیکی و غیر متابولیکی اصلی یاد شده دارای مسیرهای فرعی و مسیرهای زیر مجموعه ای هستند (۲۳,۲۷). از ۵۰۸۹ پروتئین ورودی، ۱۶۱۲ پروتئین پاتوژن دارای مشابهت قبل توجهی با پروتئوم میزبانها بودند که از آنالیز حذف شدند و ۳۴۷۷ پروتئین هیچ مشابهتی با پروتئوم میزبانها نشان ندادند و برای مرحله بعدی آنالیز انتخاب شدند. در این مرحله پروتئین های مشابه با پروتئین های میزبان حذف شدند، بنابراین با اطمینان بالایی می توان بقیه پروتئین ها را به عنوان اهداف اولیه برای مبارزه

تجمع سیتوپلاسمی هستند، برخی در غشاء داخلی مجتمع می‌شوند و برخی در فضای پریپلاسمیک تجمع دارند. غشاء خارجی و خارج سلول هم محل های تجمع برخی از اهداف هستند. به طور کلی از ۹۵ هدف شناسایی شده، ۵۹ هدف در سیتوپلاسم، ۱۵ هدف در غشاء داخلی، ۱۷ هدف در فضای پریپلاسمیک، ۳ هدف در غشاء خارجی و ۱ هدف در خارج سلول پاتوژن *P.syringae* تجمع پیدا می‌کنند (شکل ۲). تعیین محل استقرار پروتئین هدف یکی از مهمترین مراحل در مبارزه با پاتوژن است. اهداف موجود در سیتوپلاسم و بخش های داخلی سلول پاتوژن اهداف مناسبی برای مبارزه شیمیایی هستند، در حالی که اهداف موجود در غشاء برای طراحی پلنتی بادی ها و تولید گیاهان تاریخت مقاوم بیان کننده این پلنتی بادی ها مناسب هستند. با توجه به نتایج آنالیز محل تجمع سلولی، بیشتر اهداف شناسایی شده به علت تجمع سیتوپلاسمی برای مبارزه شیمیایی مناسب هستند. عوامل شیمیایی طراحی شده علیه اهداف سیتوپلاسمی باید به سلول وارد شوند تا بتوانند هدف مورد نظر را نابود کنند. در حالی که آنتیبادی های تولید و ترشح شده توسط گیاهان تاریخت می‌توانند در فضای بین سلولی گیاه با اهداف موجود در بخش های خارجی سلول پاتوژن برهمنکش کرده و پاتوژن را غیرفعال کنند یا از بین ببرند. برخی از پروتئین های هدف شناسایی شده دارای عملکرد ناشناخته هستند، بنابراین، با استفاده از ابزارهایی مانند Pfam و CDD عملکرد آن ها مشخص شد. بیست و یک پروتئین هدف دارای دامنه DUF بودند و عملکرد آن ها هم-چنان ناشناخته باقی ماند. سایر دامنه های عملکردی شناسایی شده Zinc- or iron-chelating, Lipopolysaccharide kinase, Cupin, Winged helix-turn helix domain, Sigma-factor, ATPgrasp, ATPase, TarH domain MacB-like periplasmic core, FtsX-like permease, TonB, Lipopolysaccharide-assembly domain, GAF domain و ZapA، Membrane protein دامنه های عملکردی مختلف در این پروتئین ها نشان دهنده فعالیت این پروتئین ها در فرآیندهای مختلف سلولی است. پروتئین هایی که عملکرد آن ها در این آنالیز مشخص شد دارای نقش های مختلفی در فرآیندهای متابولیسم کربوهیدرات ها، انرژی، چربی، نوکلئوتیدها، آمینواسیدها، سایر آمین ها، گلیکان ها، ویتامین ها، کوفاکتورها و متابولیت های ثانویه و متابولیت های ثانویه و دیگر فرآیندهای سلولی بودند. دو هدف پروتئینی در سیستم دو جزئی باکتریایی دخیل هستند. با استفاده از سیستم دو جزئی، پاتوژن به محرک های محیطی پاسخ داده و بر اساس آن

برای حذف اثرهای ناخواسته هدف گیری این پروتئین های مشابه بر موجودات غیرهدف، مرحله دیگری از هم ردیفی انجام شد و در آن ۱۳۰۰ پروتئین مرحله قبل با ارزش مورد انتظار ۰/۰۱ علیه پروتئوم موجودات غیرهدف شامل مهره داران، بندپایان و نرم تنان هم ردیف شدند. از ۱۳۰۰ پروتئین هم ردیف شده ۲۲۳ پروتئین داری مشابهت زیادی با پروتئوم موجودات غیرهدف بودند و حذف شدند. ۱۰۷۷ پروتئین باقیمانده پروتئین باقیمانده هیچ شباهتی با پروتئوم موجودات غیرهدف نداشتند و برای مرحله بعدی آنالیز پروتئوم موجودات غیرهدف نداشتند. تا این مرحله ۱۰۷۷ پروتئین در پاتوژن شناسایی شده که هیچ شباهتی به پروتئوم میزبان ها، انسان، فلور میکروبی دستگاه گوارش و موجودات غیرهدفی مانند مهره داران، بندپایان و نرم تنان ندارند و هدف گیری آن ها هیچ اثر مضری روی این موجودات نخواهد داشت. با این حال، هدف گیری هر پروتئینی نمی‌تواند به طور مؤثری پاتوژن را کنترل کند، زیرا بسیاری از پروتئین ها برای پاتوژن ضروری نبوده و پاتوژن بدون آن ها نیز قابلیت زنده ماندن، رشد و تکثیر را خواهد داشت. برای کنترل مؤثر پاتوژن، باید پروتئین های حیاتی که ارگانیسم بدون آن ها توانایی زنده ماندن، رشد و تکثیر را از دست خواهد داد را هدف قرار داده شود. به این نوع پروتئین های حیاتی، پروتئین های ضروری گویند و ژن های کد کننده چنین پروتئین هایی را ژن های ضروری می‌نامند. بنابراین در مرحله آخر، ۱۰۷۷ پروتئین هدف با ارزش مورد انتظار ۱۰/۰۰۰ علیه پایگاه ژن های ضروری باکتریایی مورد هم ردیفی قرار گرفتند. از ۱۰۷۷ پروتئین مورد بررسی، ۹۸۲ پروتئین ضروری بودند و از آنالیز حذف شدند و ۹۵ پروتئین که مشابهت بالایی با پروتئین های موجود در پایگاه ژن های ضروری نشان دادند، به عنوان اهداف بالقوه نهایی در پاتوژن *P.syringae* انتخاب شدند (جدول ۳ و ۴).

از ۹۵ هدف شناسایی شده، ۵۳ هدف توسط رشته مشبت و ۴۲ هدف توسط رشته منفی کد می‌شوند. همچنین عمدۀ اهداف شناسایی شده در محدوده طولی بین ۱ تا ۵۰۰ اسید آمینه ای قرار گرفته و روندی مشابه با تمام پروتئین های موجود در پاتوژن *P.syringae* دارند. ۹۵ هدف شناسایی شده دارای نقش های مختلفی در سلول پاتوژن *P.syringae* هستند. برخی اهداف در متابولیسم کربوهیدرات، انرژی، چربی، نوکلئوتیدها، آمینواسیدها، سایر آمین ها، گلیکان ها، ویتامین ها و کوفاکتورها و متابولیت های ثانویه دخالت دارند. برخی اهداف دارای نقش هایی در پردازش اطلاعات ژنتیکی و محیطی هستند و برخی در فرآیندهای سلولی نقش دارند. اهداف شناسایی شده در قسمت های مختلفی از سلول پاتوژن *P.syringae* تجمع پیدا می‌کنند. برخی اهداف دارای محل

پروتئینی دارای نقش تنظیم‌کنندگی در بیان ژن هستند و بیان گروههای خاصی از ژن‌ها را تنظیم می‌کنند. هدف‌گیری پروتئین‌های تنظیمی ممکن است باعث مختل کردن بیان تعداد زیادی از ژن‌هایی شود که بهوسیله آن پروتئین خاص تنظیم می‌شوند. سه هدف پروتئینی در تقسیم سلولی پاتوژن دخیل هستند و هدف قرار دادن آن‌ها ممکن است باعث اختلال در تولید مثل سلول باکتری شده و بهطور مؤثری باعث کنترل پاتوژن شود.

شرایط درونی سلول خود را تنظیم می‌کند. این سیستم همچنان در بیماری زایی پاتوژن نقش دارد و به علت عدم وجود آن در یوکاریوت‌ها و انسان هدف مناسبی برای مبارزه است (۶). دوازده هدف پروتئینی دارای نقش در انتقال مواد به داخل و خارج سلول پاتوژن هستند و به عنوان پمپ، کanal و ناقل عمل می‌کنند. هدف‌گیری چنین پروتئین‌هایی باعث اختلال در نقل و انتقال مواد در سلول پاتوژن شده و باعث از بین رفتن آن خواهد شد. پنج هدف

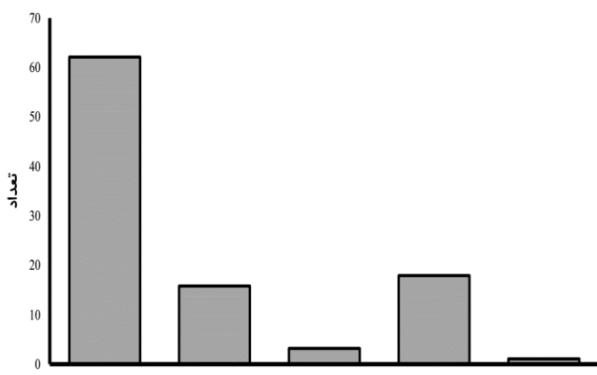
جدول ۳- تعداد پروتئین‌های ورودی، خروجی و حذف شده در هر مرحله آنالیز

نوع آنالیز	تعداد ورودی	تعداد حذف شده	تعداد خروجی
هم‌ردیغی با پایگاه داده اختصاصی میزان‌ها	۵۰۸۹	۱۶۱۲	۳۴۷۷
هم‌ردیغی با پایگاه داده اختصاصی انسان و فلور میکروبی دستگاه گوارش	۳۴۷۷	۲۴۰۰	۱۳۰۰
هم‌ردیغی با پایگاه داده اختصاصی مهره‌داران، بندپایان و نرم تنان	۱۳۰۰	۲۲۳	۱۰۷۷
آنالیز ضروری بودن	۱۰۷۷	۹۸۲	۹۵

در حالی که هدف‌گیری همزمان چند مسیر احتمال ایجاد مقاومت در پاتوژن را تا حد زیادی کاهش می‌دهد. پروتئین‌هایی که در چند مسیر متابولیکی مختلف نقش دارند اهداف مناسب‌تری برای مبارزه هستند زیرا هدف‌گیری چنین پروتئین‌هایی باعث ایجاد اختلال در چند مسیر متابولیکی سلول شده و بهطور مؤثرتری باعث از بین رفتن پاتوژن خواهد شد (۱۱،۲۶).

یکی از مهم‌ترین و سودمندترین ویژگی‌های یک هدف برای مبارزه، طیف وسیع بودن آن است به این معنی که این هدف در طیف وسیعی از دیگر پاتوژن‌ها با شباهت بالا موجود بوده و محافظت شده باشد. از ۹۵ هدف شناسایی شده ۲۲ هدف طیف وسیع و ۷۳ هدف اختصاصی پاتوژن *P.syringae* بودند. مزیت پروتئین‌های طیف وسیع این است که با هدف‌گیری آن‌ها می‌توان طیف وسیعی از پاتوژن‌ها را هدف قرار داد و از حمله و صدمه آن‌ها به گیاه جلوگیری کرد. همچنان هدف‌گیری چنین اهدافی باعث کاهش قابل توجهی در وقت و هزینه مبارزه با دیگر پاتوژن‌ها خواهد شد. از طرفی در مبارزه شیمیایی می‌توان با سم تولید شده علیه این اهداف طیف وسیع، پاتوژن‌های مختلفی را از بین برد بدون اینکه نیاز به تولید سم اختصاصی برای هر پاتوژن باشد.

جستجو در پایگاه KEGG نشان داد که اهداف پیش‌بینی شده در مسیرهای متابولیکی حیاتی مختلفی از جمله متابولیسم کربوهیدرات‌ها، متابولیسم انرژی، متابولیسم اسیدهای آمینه دخیل هستند. از طرف دیگر برخی اهداف در مسیرهای تنظیمی به عنوان فاکتورهای تنظیمی بیان ژن نقش دارند و برخی در سیستم‌های نقل و انتقال مواد به درون و بیرون سلول نقش اساسی ایفا می‌کنند (۱۳).



شکل ۲- محل تجمع اهداف بالقوه پیش‌بینی شده

در آنالیز طیف وسیع ۲۲ مورد از اهداف شناسایی شده در دسته‌بندی طیف وسیع قرار گرفتند و ۷۳ مورد باقی‌مانده به عنوان اهداف اختصاصی پاتوژن *P.syringae* در نظر گرفته شدند (شکل ۳).

از ۹۵ پروتئین هدف شناسایی شده تنها یک پروتئین در بیش از یک مسیر متابولیکی نقش داشت. در سلول، برخی پروتئین‌ها تنها در یک مسیر متابولیکی نقش دارند و برخی دیگر در بیش از یک مسیر متابولیکی نقش بازی می‌کنند. هدف قرار دادن یک مسیر متابولیکی خاص باعث ایجاد سریع مقاومت در پاتوژن‌ها خواهد شد

غیرهدفی مانند انسان خواهد شد. کمابیش تمام موادشیمیایی و آنتیبیوتیک هایی که برای مبارزه با بیماری های باکتریایی گیاهی به کار می روند دارای اهدافی در پاتوژن هستند که شباهت بالایی با میزبان، انسان و سایر موجودات غیرهدف دارد.

در پژوهش حاضر از روشی استفاده شد که در آن با چند مرحله هرمدیفی متوالی اهداف پروتئینی به دست آمد که هیچ شباهتی با میزبان و موجودات غیرهدف نداشتند (۲۸، ۲۷، ۲۵، ۱۵، ۵). در مرحله اول پروتئین هایی انتخاب شدند که هیچ شباهتی با پروتئین های میزبان های گیاهی نداشتند. تا این مرحله میزبان ها از اثرهای ناخواسته هدف گیری در امان می مانند اما دیگر موجودات غیرهدف مانند انسان همچنان در معرض اثرهای مضر ناخواسته هدف گیری هستند. در مرحله بعدی، پروتئین هایی باقی ماندند که هدف گیری آن ها هیچ اثر جانبی مضری بر میزبان ها، انسان، فلور میکروبی دستگاه گوارش، مهره داران، بندپایان و نرم تنان نخواهد داشت. اما هدف گیری این پروتئین ها ممکن است اثر قابل توجهی بر پاتوژن نداشته باشد، که به علت ضروری و حیاتی نبودن چنین پروتئین هایی است. برای حل این مشکل، آنالیز ضروری بودن انجام و تنها ۹۵ پروتئین ضروری و حیاتی تشخیص داده شدند. این ۹۵ پروتئین اهداف نهایی را تشکیل داده و مورد آنالیز های تکمیلی قرار گرفتند. آنالیز های تکمیلی محل تجمع، عملکرد پروتئین های با عملکرد ناشناخته و مسیرهای متابولیکی که پروتئین در آن ها دخیل هستند را مشخص کرد. علاوه بر این پروتئین های گیاهی دیگر حضور علاوه بر پاتوژن *P.syringae* پاتوژن های گیاهی دیگر حضور داشتند را معین نمود. در نهایت این ۹۵ پروتئین، اهدافی به طور کامل اختصاصی و مشترک در بسیاری از پاتوژن های گیاهی بوده که در فرآیندهای بسیار حیاتی سلول نقش دارند و برای بقاء پاتوژن ضروری هستند. این پروتئین ها در بخش های مختلفی از سلول تجمع دارند که باعث آزادی عمل در انتخاب نوع سوم شیمیائی می شود. این اهداف در مسیرهای متابولیکی حیاتی پاتوژن نقش داشته و هدف گیری آن ها باعث مختل شدن این مسیرهای و از بین رفتن پاتوژن می شود. این اهداف در محل های مختلفی مانند سیتوپلاسم، غشاء داخلی، غشاء خارجی، پری پلاسم و خارج سلول تجمع پیدا می کنند. اهداف موجود در پری پلاسم، غشاء خارجی، غشاء داخلی و خارج سلول برای هدف گیری توسط مولکول هایی مانند پلنتی بادی ها مناسب هستند و می توان گیاهان تاریختی با بیان آنتی بادی های اختصاصی علیه این اهداف تولید کرد. چنین گیاهانی می توانند به طور مؤثری در مقابل پاتوژن های تولید کننده این اهداف مقاوم باشند. اهداف موجود در سیتوپلاسم برای هدف گیری توسط عوامل ضد میکروبی مناسب هستند. عوامل



شکل ۳- نتایج آنالیز طیف وسیع

بحث و نتیجه گیری

بیماری های گیاهی همواره در طول تاریخ تهدید مهمی علیه محصول های کشاورزی تولیدی انسان ها بوده و کوچک ترین غفلت بشر از حضور آن ها در مقاطعی باعث از بین رفتن تا صد درصد محصول شده است. لذا کنترل این عوامل خسارت زا اجتناب ناپذیر است. بیماری های باکتریایی یکی از مهم ترین عوامل ایجاد خسارت بر محصول های کشاورزی هستند. مبارزه با بیماری های باکتریایی به طور معمول پیچیده تر است و در مبارزه با این عوامل بیماری زا کمابیش از چندین روش مبارزه به صورت تلفیقی استفاده می شود. با این وجود، مبارزه شیمیایی هنوز قوی ترین و مؤثر ترین روش مبارزه است. طی یک صد سال گذشته، کنترل بیماری ها و سایر آفات گیاهی به طور فزاینده ای به استعمال مواد شیمیایی سمی وابسته بوده است. کنترل بیماری های گیاهی استعمال این مواد سمی را نه تنها بر روی گیاه و محصول های گیاهی مورد مصرف ما، بلکه در داخل خاک جایی که بسیاری از میکرو ارگانیسم های بیماری زا زندگی کرده و به ریشه گیاه حمله می کنند، نیز ضروری ساخته است. ثابت شده که بسیاری از این مواد شیمیایی برای میکرو ارگانیسم های غیر هدف، حیوانات و حتی برای انسان نیز ممکن است سمی باشند. دشوار است که بتوان هزینه هایی بلند مدت و کوتاه مدت آلودگی محیط زیست بر سلامت و بهزیستی انسان را که بر اثر تلاش ما برای کنترل بیماری های گیاهی و سایر آفات به وجود می آید، تخمین زد.

مهمن ترین مشکل مواد شیمیایی مانند آنتی بیوتیک ها و سایر سوم شیمیایی که برای کنترل بیماری های باکتریایی در مقیاس وسیع استفاده می شوند، وجود مولکول های هدف این مواد شیمیایی در موجودات غیر هدف است. مولکول های هدف این مواد شیمیایی در پاتوژن که به طور عمومی مولکول های پروتئینی هستند، در اغلب موارد دارای همولوگ های بسیار مشابه در میزبان پاتوژن و موجودات غیر هدف هستند. هدف گیری این اهداف توسط مواد شیمیایی متداول باعث آسیب ناخواسته به میزبان و موجودات

غیرهندف و همچنین محیطزیست خواهد شد و سلامت آنها را به خطر خواهد انداخت.

باتوجه به گسترش روز افزون اطلاعات و داده های بیولوژیک و پیشرفت نرم افزارها و روش های محاسبه ای استفاده از روش های بیوانفورماتیکی می تواند به طور مؤثری زمان و هزینه های مطالعه های آزمایشگاهی را کاهش دهد.

سپاسگزاری

مقاله حاضر بخشی از نتایج طرح پژوهشی است که بودجه آن از طرف دانشگاه آزاد اسلامی واحد کنگاور تأمین شده است که بدین ترتیب تشکر و قدردانی می گردد.

ضد میکروبی که علیه این اهداف تولید می شوند، با توجه به عدم مشابهت این پروتئین ها با پروتئین های موجودات غیرهندف، ترکیب هایی کامل اختصاصی بوده و علاوه بر کنترل مؤثر پاتوژن برای محیطزیست و موجودات غیرهندف نیز اثر مضری ندارند. اهداف شناسایی شده به دو گروه طیف وسیع و اختصاصی تقسیم می شوند. اهداف طیف وسیع موارد مناسب تری برای هدف گیری هستند. از آنجایی که اهداف طیف وسیع پاتوژن های بیشتری را هدف گیری می کنند، اهداف مؤثر تری برای مبارزه به نظر می رسند و با هدف گیری آنها با یکبار صرف هزینه می توان گیاه را نسبت به طیف وسیعی از پاتوژن ها مقاوم کرد. همچنین سmomی که علیه این اهداف تولید می شوند طیف وسیعی از پاتوژن ها را از بین می برند. از طرفی دیگر، سmomی که علیه اهداف بالقوه تولید می شوند، سmomی بی خطر برای انسان، موجودات غیرهندف و محیطزیست هستند زیرا پروتئین هدف آنها تنها در پاتوژن های ویژه وجود دارد.

با استفاده از روش های بیوانفورماتیکی مبتنی بر همولوژی می توان فرآیند تولید گیاهان تاریخت مقاوم به بیماری ها و آفات و هم چنین فرآیندهای تولید سmom شیمیایی را به طور قابل توجهی کوتاه کرد و هزینه های آن را کاهش داد. با استفاده از این روش ها همچنین می توان اینمی سmom تجاري تولید شده را بررسی و ارزیابی کرد. مهم ترین مزیت استفاده از روش های بیوانفورماتیکی و محاسبه ای، پیش بینی اهدافی در پاتوژن هاست که برای بقاء پاتوژن ها ضروری بوده و در عین حال هیچ شbahتی با میزبان و موجودات غیرهندف ندارند و هدف قرار دادن آنها اثر سوء بر میزبان و سایر موجودات غیرهندف نخواهد داشت. در صورتی که سایر اهداف که با روش های غیر بیوانفورماتیکی انتخاب می شوند ممکن است برای بقاء پاتوژن ضروری نبوده و از طرفی دارای توالی مشابه در میزبان و موجودات غیرهندف باشند. هدف گیری چنین پروتئین هایی باعث اثراهای مضر بر میزبان، انسان و موجودات

منابع

- Agrios, G.N., Plant pathology, 2005. Elsevier Academic Press Burlington, MA.
- Altschul, S.F., et al., Basic local alignment search tool. Journal of molecular biology, 1990. 215: p. 403-410.
- Anishetty, S., et al., Potential drug targets in *Mycobacterium tuberculosis* through metabolic pathway analysis. Computational biology and chemistry, 2005. 29: p. 368-378.
- Buell, C.R., et al., The complete genome sequence of the *Arabidopsis* and tomato pathogen *P. syringae* pv. *tomato* DC3000. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2003. 100: p. 10181-10186.
- Butt, A.M., et al., Correction: Comparative Genomics Analysis of *Mycobacterium ulcerans* for the Identification of Putative Essential Genes and Therapeutic Candidates. PloS one, 2013. 8.
- Capra, E.J. and Laub, M.T. The Evolution of Two-Component Signal Transduction Systems. Annual review of microbiology, 2012. p. 66: 325.
- Chen, L., et al., update: toward the genetic diversity and molecular evolution of bacterial virulence factors. Nucleic acids research, 2012. gkr989.
- Finn, R.D., et al., Pfam: the protein families database. Nucleic acids research, 2012. gkt1223.
- Hirano, S.S. and Upper, C.D., Population biology and epidemiology of *Pseudomonas syringae*. Annual review of phytopathology, 1990. 28: 155-177.
- Horner, D.S., et al., Bioinformatics approaches for genomics and post genomics applications of next-generation sequencing. Briefings in bioinformatics, 2009. 11: p. 181-197.
- Huthmacher, C., et al., Antimalarial drug targets in *Plasmodium falciparum* predicted by stage-specific metabolic network analysis. BMC systems biology, 2010. 4: 1.
- Jones, P., et al., InterProScan 5: genome-scale protein function classification. Bioinformatics, 2014. 30: p. 1236-1240.
- Kanehisa, M. and Goto, S., KEGG: kyoto encyclopedia of genes and genomes. Nucleic acids research, 2000. 28: p. 27-30.
- Koch, L., Microbiome: Shaping the gut microbiome. Nature Reviews Microbiology, 2005. p. 13: 4-4.
- Lewis, K., Platforms for antibiotic discovery. Nature reviews Drug discovery, 2013. 12: p. 371-387.
- Luo, H., et al., DEG 10, an update of the database of essential genes that includes both protein-coding genes and noncoding genomic elements. Nucleic acids research, 2014. 42: D574-D580.
- Marchler-Bauer, A., et al., CDD: NCBI's conserved domain database. Nucleic acids research, 2014. gku1221.
- Mochida, K. and Shinozaki, K., Genomics and bioinformatics resources for crop improvement. Plant and Cell Physiology, 2010. 51: p. 497-523.
- Nancy, Y.Y., et al., PSORTb 3.0: improved protein subcellular localization prediction with refined localization subcategories and predictive capabilities for all prokaryotes. Bioinformatics, 2010. 26: p. 1608-1615.
- NCBI, R.C., Database resources of the National Center for Biotechnology Information. Nucleic acids research, 2015. 43: D6.
- Parker, J., et al., Quantitative proteomics of tomato defense against *P. syringae* infection. Proteomics, 2013. p. 13: 1934-1946.
- Pevsner, J., Bioinformatics and functional genomics, 2015. John Wiley & Sons.
- Raman, K., et al., targetTB: a target identification pipeline for *Mycobacterium tuberculosis* through an interactome, reactome and genome-scale structural analysis. BMC systems biology, 2008. 2: 1.
- Sahu, S.S., et al., Predicting genome-scale *Arabidopsis-P. syringae* interactome using domain and interolog-based approaches. BMC bioinformatics, 2014. 15: S13.
- Sakharkar, K.R., et al., A novel genomics approach for the identification of drug targets in pathogens, with special reference to *Pseudomonas aeruginosa*. In silico biology, 2004. 4: p. 355-360.
- Sarkar, M., et al., In silico quest for putative drug targets in *Helicobacter pylori* HPAg1: molecular modeling of candidate enzymes from lipopolysaccharide biosynthesis pathway. Journal of molecular modeling, 2012. p. 18: 1855-1866.
- Shanmugham, B. and Pan, A., Identification and characterization of potential therapeutic candidates in emerging human pathogen *Mycobacterium abscessus*: a novel hierarchical in silico approach, 2013. PloS one, 8.

28. Shanmugham, B. and Pan, A., Identification and characterization of potential therapeutic candidates in emerging human pathogen *Mycobacterium abscessus*: a novel hierarchical in silico approach, 2012. *PloS one*, 8: e59126.
29. Strange, R.N. and Scott, P.R., Plant disease: a threat to global food security. *Phytopathology*, 2005. 4: 3.
30. Walter, J. and Ley, R., The human gut microbiome: ecology and recent evolutionary changes. *Annual review of microbiology*, 2011. 65: 411-429.
31. Yaish, M.W., et al., Genetic mapping of quantitative resistance to race 5 of *P. syringae* pv. *phaseolicola* in common bean. *Euphytica*, 2006. 152: p. 397-404.
32. Yu, C.-S., et al., CELLO2GO: a web server for protein subcellular localization prediction with functional gene ontology annotation. 2014.