مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی - مولکولی
دوره هشتم شماره سی و یکم - تابستان ۱۳۹۷

NCMBJ
Research Article
مقاله تحقیقی

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

کامران سمیعی*[۱] ، سید محسن سهرابی[۲]

۱. گروه مهندسی کشاورزی، واحد کنگاور، دانشگاه آزاد اسلامی، کنگاور، ایران
۲. باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد خرم‌آباد، خرم‌آباد، ایران

Downloaded from ncmbjpiau.ir at 8:25 +0330 on Saturday October 20th 2018

چکیده

سابقه و هدف: شناسایی اهداف اختصاصی در هر پاتوژن برای جلوگیری از اثرهای سوءمصرف سموم 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 به‌عنوان اهداف بالقوه برای مبارزه در پاتوژن انتخاب شدند.

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

یافته‌ها: نتایج آنالیزها، ۹۵ پروتئین را به‌عنوان 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 به‌طور 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 غیرهدف و محیط زیست جلوگیری کند.

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

مقدمه

گوجه‌فرنگی گیاهی از خانواده Solanaceae و از جنس *Solanum* و گونه اهلی آن *S. lycopersicum* است. گوجه‌فرنگی به‌طور ذاتی گیاهی علفی و چندساله است که در تمام نقاط جهان اغلب به‌صورت 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 به‌احتمال زیاد سواحل غربی آمریکای جنوبی است. گوجه‌فرنگی و محصول‌های تبدیلی آن یکی از مهم‌ترین تولیدهای صنایع تبدیلی در جهان هستند به‌طوری‌که 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 محدودکننده 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 *P.solanacearum*، شانکر باکتریایی *Clavibacter michiganensis* و لکه باکتریایی *Xanthomonas* campestris pv. *vesicatoria* اشاره کرد (۱).

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

Downloaded from ncmbjpiau.ir at 8:25 +0330 on Saturday October 20th 2018

پاتوژن *P.syringae* یک باکتری میله‌ای شکل، گرم منفی و تاژک‌دار 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 به‌همین علت *P. syringae* نام گرفته است. پاتووارهای مختلف این پاتوژن به گیاهانی از خانواده‌های *Sapindaceae*، *Actinidiaceae*، *Amaranthaceae*، *Poaceae*، *Meliaceae*، *Rosaceae*، *Fabaceae* و *Oleaceae* حمله و ایجاد بیماری می‌کنند. این پاتوژن بیماری‌های مختلفی مانند لکه برگی، شانکر، آتشک و سوختگی را در گیاهان میزبان خود ایجاد می‌کند. با توجه به طیف وسیع میزبانی و شدت ایجاد بیماری، پاتوژن *P.syringae* به‌عنوان یکی از مهم‌ترین باکتری‌های بیماری‌زای 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 به‌طول ۶۰۹۳۶۹۸ جفت باز و فاقد پلاسمید است. این ژنوم دارای محتوای GC حدود ۵۹ درصد بوده و ۵۲۲۰ ژن دارد. این *تعداد* ژن، ۵۰۸۹ پروتئین، ۱۶ RNA ریبوزومی، ۶۴ tRNA و ۳ نوع دیگر RNA را کد کرده و ۴۷ ژن کاذب دارند. ژنوم پاتوژن *P.syringae* با شماره NC-007005.1 قابل دسترسی است (Buell *et al.*, 2003). در مطالعه‌ای، پروتئوم گیاه گوجه‌فرنگی آلوده شده با پاتوژن *P.syringae* بررسی شد و نتایج ۴۷۷ را مشخص کرد که در پاسخ به آلودگی نقش داشتند (۲۱). در پژوهش دیگری، با استفاده از دو روش محاسبه‌ای، 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 به‌منظور حفظ امنیت غذایی و رونق اقتصادی امری اجتناب‌ناپذیر به‌نظر 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 به‌نظر می‌رسند. هر دوی این روش‌ها نیازمند شناسایی و تعیین اهداف مؤثر در پاتوژن، به‌منظور جلوگیری از مکانیسم‌های آلودگی، رشد و تولیدمثل و هم‌چنین از بین بردن آن است. با این روش علاوه‌بر کنترل مؤثر پاتوژن می‌توان از اثرهای سوء و زیان‌آور احتمالی مبارزه با پاتوژن بر روی انسان، موجودات غیرهدف و محیط‌زیست تا حدزیادی 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 می‌پردازد (۱۰،۲۲). بیوانفورماتیک علم نوینی است که در آن با استفاده از کامپیوتر، نرم‌افزارهای کامپیوتری و بانک‌های اطلاعاتی سعی می‌گردد تا به مسائل بیولوژیکی به‌خصوص در زمینه‌های سلولی و مولکولی پاسخ داده شود (۱۸). در این علم با به‌کارگیری کامپیوتر سعی می‌گردد تا تحقیق‌های وسیع‌تری در خصوص پروتئین‌ها و ژن‌ها به‌عمل 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 کامپیوتری است. در این مطالعه با استفاده از ابزار BLASTp و ماتریس BLOSUM62 و هم‌چنین پایگاه‌های VFDB، NCBI و KEGG، پروتئوم پاتوژن *P.syringae* با پروتئوم گیاهان میزبان، انسان و فلور میکروبی دستگاه گوارش و دیگر موجودات مانند مهره‌داران، بندپایان و نرم‌تنان مقایسه شد و در نهایت تعدادی پروتئین به‌عنوان اهداف منحصر به‌فرد برای مبارزه با پاتوژن *P.syringae* انتخاب شدند. اهداف انتخابی توسط ابزارهای DEG، CELLO، PSORT، Pfam، InterProScan و CDD مورد بررسی بیش‌تر قرار گرفتند (۳،۲۷).

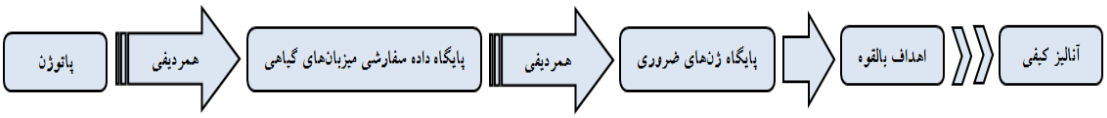
مواد و روش‌ها

نمای کلی مراحل آنالیز در این مطالعه در شکل ۱ نشان داده شده است. آنالیز شامل ۳ مرحله هم‌ردیفی 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 ژن‌ها، تعداد پروتئین‌ها، فاکتورهای بیماری‌زایی و اطلاعات مسیرهای بیوشیمیایی پاتوژن از پایگاه‌های VFDB، NCBI و KEGG دریافت و دسته‌بندی شد. هم‌چنین اطلاعات مربوط به میزبان‌های مختلف پاتوژن *P.syringae* شامل جنس‌های گیاهی *Solanum*، *Acer*، *Actinidia*، *Aesculus*، *Beta*، *Triticum*، *Dysoxylum*، *Hordeum*، *Panicum*، *Malus*، *Phaseolus*، *Pisum*، *Prunus*

Downloaded from ncmbjpiau.ir at 8:25 +0330 on Saturday October 20th 2018

و *Glycine*، اطلاعات مربوط به فلور میکروبی دستگاه گوارش انسان، اطلاعات سایر پاتوژن‌های باکتریایی گیاهی نیز از پایگاه‌های متنی شامل Pubmed، PMC، Google scholar دریافت 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 میزبان‌های مختلف پاتوژن *P.syringae* شامل جنس‌های گیاهی Solanum، Acer، Actinidia، Aesculus، Beta، Triticum، Dysoxylum، Hordeum، Panicum، Malus، Phaseolus، Pisum، Prunus و Glycine، پروتئوم انسان و فلور میکروبی دستگاه گوارش، پروتئوم پاتوژن‌های باکتریایی گیاهی و پروتئوم مهره‌داران، بندپایان و نرم‌تنان چهار پایگاه داده اختصاصی در برنامه BLASTp پایگاه NCBI ایجاد شد. این پایگاه‌های داده اختصاصی بر اساس کدنویسی اختصاصی و برای محدود کردن هم‌ردیفی‌های بعدی و کاهش زمان هم‌ردیفی‌ها ایجاد شدند (۲).



شکل ۱- نمای کلی مراحل آنالیز

پروتئوم پاتوژن *P. syringae* با ارزش مورد انتظار ۰/۰۰۱ علیه پایگاه داده اختصاصی میزبان‌های مختلف پاتوژن تحت هم‌ردیفی قرار گرفت. پروتئین‌های مشابه با پروتئین‌های موجود در پایگاه داده اختصاصی میزبان‌ها حذف شده و بقیه پروتئین‌ها که هیچ شباهتی با پروتئین‌های موجود در این پایگاه داده اختصاصی نداشتند وارد مرحله بعدی هم‌ردیفی شدند. پروتئین‌های حاصل از مرحله قبل با ارزش مورد انتظار ۰/۰۰۱ علیه پایگاه داده اختصاصی انسان و فلور میکروبی دستگاه گوارش هم‌ردیف شدند و پروتئین‌های مشابه با پروتئین‌های موجود در پایگاه داده اختصاصی انسان و فلور میکروبی دستگاه گوارش حذف شده و بقیه پروتئین‌ها که هیچ شباهتی با پروتئین‌های موجود در این پایگاه داده اختصاصی نداشتند وارد مرحله بعدی هم‌ردیفی شدند. در مرحله آخر، پروتئین‌های باقی‌مانده از مرحله قبل با ارزش مورد انتظار ۰/۰۰۱ علیه پایگاه داده اختصاصی مهره‌داران، بندپایان و نرم‌تنان مورد هم‌ردیفی قرار گرفته و پروتئین‌های مشابه با پروتئین‌های موجود در پایگاه داده اختصاصی مهره‌داران، بندپایان و نرم‌تنان حذف شده و بقیه پروتئین‌ها که هیچ شباهتی با پروتئین‌های موجود در این پایگاه داده اختصاصی نداشتند به‌عنوان اهداف اولیه در پاتوژن *P.syringae* انتخاب و وارد مراحل بعدی آنالیز شدند.

این مرحله از آنالیز برای جلوگیری از اثرهای ناخواسته هدف‌گیری پروتئین‌های پاتوژن بر انسان و سایر موجودات غیرهدف انجام می‌شود. کد پایگاه‌های داده سفارشی پروتئوم میزبان‌های گیاهی و پروتئوم انسان، فلور میکروبی دستگاه گوارش، مهره‌داران، بندپایان و نرم‌تنان در جداول ۱ و ۲ نشان داده شده است.

در مرحله بعد، توالی پروتئینی اهداف اولیه، از پایگاه NCBI دریافت شد. توالی‌های مورد نظر پس از دسته‌بندی، با ارزش مورد انتظار ۰/۰۰۰۱ علیه پروتئین‌های موجود در پایگاه DEG10.0 تحت هم‌ردیفی قرار گرفتند. پروتئین‌هایی از پروتئوم پاتوژن که در ارزش مورد انتظار ۰/۰۰۰۱ با پروتئین‌های موجود در پایگاه DEG10.0 مشابه بودند به‌عنوان اهداف بالقوه نهایی در پاتوژن *P.syringae* انتخاب و بقیه پروتئین‌ها حذف شدند. اهداف بالقوه نهایی پاتوژن *P.syringae* برای بررسی‌های کیفی بیش‌تر به مراحل بعدی منتقل شدند. ژن‌های ضروری، ژن‌هایی هستند که برای بقاء میکروارگانیسم حیاتی بوده و بدون وجود آن‌ها میکروارگانیسم قادر به ادامه حیات، رشد و نمو، هموستازی و تولیدمثل نخواهد بود. پایگاه DEG10.0 مجموعه‌ای از ژن‌های ضروری در میکروارگانیسم‌های باکتریایی مختلف است (۱۶).

جدول ۱- کد پایگاه داده سفارشی میزبان‌های 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]

آنالیز کیفی اهداف بالقوه، از چهار جستجوی مختلف شامل جستجوی محل تجمع سلولی، جستجوی عملکردی، جستجوی طیف وسیع و جستجوی مسیرهای متابولیکی تشکیل شده است. در جستجوی محل تجمع سلولی، با استفاده از ابزارهایی مانند

Downloaded from ncmbjpiau.ir at 8:25 +0330 on Saturday October 20th 2018

CELLO و PSORT محل تجمع اهداف شناسایی شده مشخص شد (۱۹،۳۲). محل‌های تجمع پروتئین در سلول باکتری‌های 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 Pfam، InterProScan و CDD شناسایی و مشخص شد (۸،۱۷). در جستجوی طیف وسیع، اهداف نهایی با ارزش مورد انتظار ۰/۰۰۱ علیه پایگاه داده اختصاصی متشکل از پروتئوم ۲۷ جنس پاتوژن باکتریایی گیاهی مهم (مانند *Agrobacterium*، *Erwinia* ، *P.seudomonas*، *Ralstonia* و *Pectobacterium*) مورد هم-ردیفی قرار گرفتند. اهداف مشترک با بیش از ۴ پاتوژن به‌عنوان 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).

جدول ۲- کد پایگاه داده سفارشی انسان، فلور میکروبی دستگاه گوارش، مهره‌داران، بندپایان 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].

نتایج

ژنوم *P.syringae* ۵۲۲۰ ژن داشته و ۵۰۸۹ پروتئین تولید می‌کند. از ۵۰۸۹ پروتئین پاتوژن *P.syringae* تعداد ۲۵۳۶ پروتئین توسط رشته مثبت و ۲۵۵۳ پروتئین توسط رشته منفی کد می‌شوند. طول پروتئین‌های موجود در پاتوژن *P syringae* از ۲۴ تا ۱۳۵۳۷ اسیدآمینه متغیر بوده و تعداد عمده پروتئین‌ها در محدوده ۱۰۰ تا ۵۰۰ اسیدآمینه قرار دارند. هم‌چنین این پاتوژن دارای ۲۵۹ مسیر متابولیکی و غیرمتابولیکی برای فرآیندهای حیاتی مختلف است. مسیرهای متابولیکی شامل متابولیسم انرژی، کربوهیدرات‌ها، لیپیدها، نوکلئوتیدها، آمینواسیدها، سایر آمینوها، گلیکان‌ها، ویتامین‌ها، کوفاکتورها و متابولیت‌های ثانویه هستند. مسیرهای غیرمتابولیکی 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 مجموعه‌ای هستند (۲۳،۲۷).

از ۵۰۸۹ پروتئین ورودی، ۱۶۱۲ پروتئین پاتوژن دارای مشابهت قابل 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 پروتئین‌های مشابه با پروتئین‌های میزبان حذف شدند، بنابراین با اطمینان بالایی می‌توان بقیه پروتئین‌ها را به‌عنوان اهداف اولیه برای مبارزه انتخاب کرد و به مرحله بعد انتقال داد. به‌علت عدم تشابه بین ۳۴۷۷ پروتئین از پاتوژن با پروتئوم میزبان‌ها، هدف قرار دادن این پروتئین‌ها در پاتوژن هیچ‌گونه اثر مضری بر میزبان‌ها نخواهد گذاشت. با این وجود در میان این ۳۴۷۷ پروتئین ممکن است پروتئین‌های وجود داشته باشندکه دارای مشابهت با پروتئین‌های انسان و موجودات غیرهدف باشند (۳۰،۱۴).

برای پیدا کردن این پروتئین‌ها و حذف اثرهای ناخواسته هدف-گیری آن‌ها روی انسان و موجودات غیرهدف چند مرحله دیگر از هم‌ردیفی انجام گرفت. ۳۴۷۷ پروتئین مرحله قبل با ارزش مورد انتظار ۰/۰۰۱ علیه پروتئوم انسان و فلور میکروبی دستگاه گوارش هم‌ردیف شدند. از ۳۴۷۷ پروتئین ورودی به هم‌ردیفی ۲۱۷۷ پروتئین به‌علت مشابهت قابل توجه به پروتئوم انسان و فلور میکروبی دستگاه گوارش حذف و ۱۳۰۰ پروتئین باقی‌مانده 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. هدف‌گیری 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 پروتئین‌هایی مشابه با پروتئین‌های موجودات غیرهدف وجود داشته باشند (۱۴،۳۰).

Downloaded from ncmbjpiau.ir at 8:25 +0330 on Saturday October 20th 2018

برای حذف اثرهای ناخواسته هدف‌گیری این پروتئین‌های مشابه بر موجودات غیرهدف، مرحله دیگری از هم‌ردیفی انجام شد و در آن ۱۳۰۰ پروتئین مرحله قبل با ارزش مورد انتظار ۰/۰۰۱ علیه پروتئوم موجودات غیرهدف شامل مهره‌داران، بندپایان و نرم‌تنان هم‌ردیف شدند. از ۱۳۰۰ پروتئین هم‌ردیف 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 انتخاب شدند. تا این مرحله ۱۰۷۷ پروتئین در پاتوژن شناسایی شده که هیچ شباهتی به پروتئوم میزبان‌ها، انسان، فلور میکروبی دستگاه گوارش و موجودات غیرهدفی مانند مهره‌داران، بندپایان و نرم‌تنان ندارند و هدف‌گیری آن‌ها هیچ اثر مضری روی این موجودات نخواهد داشت. با این حال، هدف‌گیری هر پروتئینی نمی‌تواند به‌طور مؤثری پاتوژن را کنترل کند، زیرا بسیاری از پروتئین‌ها برای پاتوژن ضروری نبوده و پاتوژن بدون آن‌ها نیز قابلیت زنده ماندن، رشد و تکثیر را خواهد داشت. برای کنترل مؤثر پاتوژن، باید پروتئین‌های حیاتی که ارگانیسم بدون آن‌ها توانایی زنده ماندن، رشد و تکثیر را از دست خواهد داد را هدف قرار داده شود. به این نوع پروتئین‌های حیاتی، پروتئین‌های ضروری گویند و ژن‌های کدکننده چنین پروتئین‌هایی را ژن‌های ضروری می‌نامند. بنابراین در مرحله آخر، ۱۰۷۷ پروتئین هدف با ارزش مورد انتظار ۰/۰۰۰۱ علیه پایگاه ژن‌های ضروری باکتریایی مورد هم‌ردیفی قرارگرفتند. از ۱۰۷۷ پروتئین مورد بررسی، ۹۸۲ پروتئین ضروری نبودند و از آنالیز حذف شدند و ۹۵ پروتئین که مشابهت بالایی با پروتئین‌های موجود در پایگاه ژن‌های ضروری نشان دادند، به‌عنوان اهداف بالقوه نهایی در پاتوژن *P.syringae* انتخاب شدند (جدول ۳ و ۴).

از ۹۵ هدف شناسایی شده، ۵۳ هدف توسط رشته مثبت و ۴۲ هدف توسط رشته منفی کد می‌شوند. هم‌چنین عمده اهداف شناسایی شده در محدوده طولی بین ۱ تا ۵۰۰ اسیدآمینه‌ای قرار گرفته و روندی مشابه با تمام پروتئین‌های موجود در پاتوژن *P.syringae* دارند. ۹۵ هدف شناسایی شده دارای نقش‌های مختلفی در سلول پاتوژن *P.syringae* هستند. برخی اهداف در متابولیسم کربوهیدرات، انرژی، چربی، نوکلئوتیدها، آمینواسیدها، سایر آمین‌ها، گلیکان‌ها، ویتامین‌ها و کوفاکتورها و متابولیت‌های ثانویه دخالت دارند. برخی اهداف دارای نقش‌هایی در پردازش اطلاعات ژنتیکی و محیطی هستند و برخی در فرآیندهای سلولی نقش دارند. اهداف شناسایی شده در قسمت‌های مختلفی از سلول پاتوژن *P.syringae* تجمع پیدا می‌کنند. برخی اهداف دارای محل تجمع سیتوپلاسمی هستند، برخی در غشاء داخلی مجتمع می‌شوند و برخی در فضای پری‌پلاسمیک تجمع دارند. غشاء خارجی و خارج سلول هم محل‌های تجمع برخی از اهداف هستند. به‌طورکلی 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 بخش‌های داخلی سلول پاتوژن اهداف مناسبی برای مبارزه شیمیایی هستند، درحالی‌که اهداف موجود در غشاء برای طراحی پلنتی بادی‌ها و تولید گیاهان تراریخت مقاوم بیان کننده این پلنتی بادی‌ها مناسب هستند. با توجه به نتایج آنالیز محل تجمع سلولی، بیش‌تر اهداف شناسایی شده به‌علت 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. درحالی‌که آنتی‌بادی‌های تولید و ترشح شده توسط گیاهان تراریخت می‌توانند در فضای بین سلولی گیاه با اهداف موجود در بخش‌های خارجی سلول پاتوژن برهم‌کنش کرده و پاتوژن را غیرفعال کنند یا از بین ببرند. برخی از پروتئین‌های هدف شناسایی شده دارای عملکرد ناشناخته هستند، بنابراین، با استفاده از ابزارهایی مانند Pfam و CDD عملکرد آن‌ها مشخص شد. بیست‌و یک پروتئین هدف دارای دامنه DUF بودند و عملکرد آن‌ها هم‌چنان ناشناخته باقی‌ماند. سایر دامنه‌های عملکردی شناسایی شده Lipopolysaccharide kinase، Zinc- or iron-chelating domain، Winged helix-turn helix، Cupin، TarH domain، ATPase، ATPgrasp، Sigma-factor، FtsX-like permease، MacB-like periplasmic core domain، Lipopolysaccharide-assembly، TonB، Membrane protein، ZapA و GAF domain هستند. وجود دامنه‌های عملکردی مختلف در این پروتئین‌ها نشان‌دهنده فعالیت این پروتئین‌ها در فرآیندهای مختلف سلولی است. پروتئین‌هایی که عملکرد آن‌ها در این آنالیز مشخص شد دارای نقش‌های مختلفی در فرآیندهای متابولیسم کربوهیدرات‌ها، انرژی، چربی، نوکلئوتیدها، آمینواسیدها، سایر آمین‌ها، گلیکان‌ها، ویتامین‌ها، کوفاکتورها و متابولیت‌های ثانویه و پردازش اطلاعات ژنتیکی، محیطی و دیگر فرآیندهای سلولی بودند. دو هدف پروتئینی در سیستم دو جزئی باکتریایی دخیل هستند. با استفاده از سیستم دو جزئی، پاتوژن به محرک‌های محیطی پاسخ داده و بر اساس آن

Downloaded from ncmbjpiau.ir at 8:25 +0330 on Saturday October 20th 2018

شرایط درونی سلول خود را تنظیم می‌کند. این سیستم هم‌چنین در بیماری زایی پاتوژن نقش دارد و به‌علت 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 به‌عنوان پمپ، کانال و ناقل عمل می‌کنند. هدف-گیری چنین پروتئین‌هایی باعث اختلال در نقل و انتقال مواد در سلول پاتوژن شده و باعث از بین رفتن آن خواهد شد. پنج هدف 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.

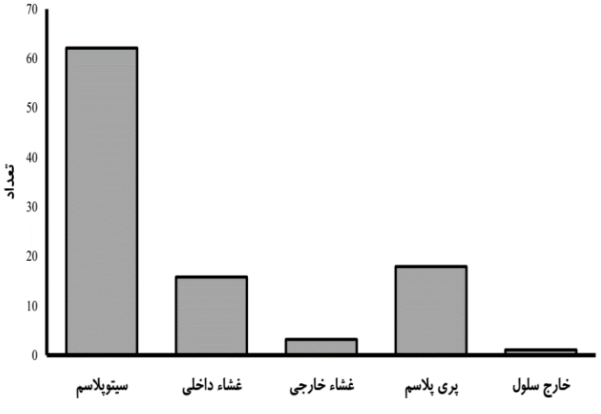
جدول ۳- تعداد پروتئین‌های ورودی، خروجی و حذف شده در هر مرحله آنالیز

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

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 هدف 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. هم‌چنین 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 به‌عنوان فاکتورهای تنظیمی بیان ژن نقش دارند و برخی در سیستم‌های نقل و انتقال مواد به درون و بیرون سلول نقش اساسی ایفا می‌کنند (۱۳).

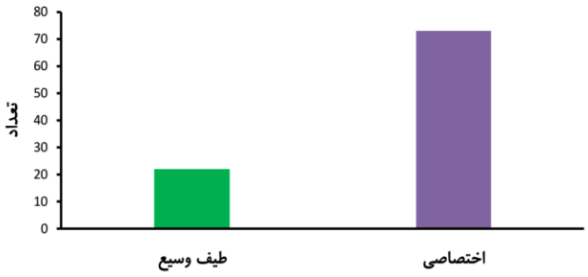
از ۹۵ پروتئین هدف شناسایی شده تنها یک پروتئین در بیش از یک مسیر متابولیکی نقش داشت. در سلول، برخی پروتئین‌ها تنها در یک مسیر متابولیکی نقش دارند و برخی دیگر در بیش از یک مسیر متابولیکی نقش بازی می‌کنند. هدف قرار دادن یک مسیر متابولیکی خاص باعث ایجاد سریع مقاومت در پاتوژن‌ها خواهد شد درحالی‌که هدف‌گیری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



شکل ۲- محل تجمع اهداف بالقوه پیش بینی شده

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

Downloaded from ncmbjpiau.ir at 8:25 +0330 on Saturday October 20th 2018



شکل ۳- نتایج آنالیز طیف وسیع

بحث و نتیجه‌گیری

بیماری‌های گیاهی همواره در طول تاریخ تهدید مهمی علیه محصول‌های کشاورزی تولیدی انسان‌ها بوده و کوچک‌ترین غفلت بشر از حضور آن‌ها در مقاطعی باعث از بین رفتن تا صد درصد محصول شده است. لذا کنترل این عوامل خسارت‌زا اجتناب ناپذیر است. بیماری‌های باکتریایی یکی از مهم‌ترین عوامل ایجاد خسارت بر محصول‌های کشاورزی هستند. مبارزه با بیماری‌های باکتریایی به‌طورمعمول پیچیده‌تر است و در مبارزه با این عوامل بیماری‌زا کمابیش از چندین روش مبارزه به‌صورت تلفیقی استفاده می‌شود. با این وجود، مبارزه شیمیایی هنوز قوی‌ترین و مؤثرترین روش مبارزه است. طی یک‌صد سال گذشته، کنترل بیماری‌ها و سایر آفات گیاهی به‌طور فزاینده‌ای به‌استعمال مواد شیمیایی سمی وابسته بوده است. کنترل بیماری‌های گیاهی استعمال این مواد سمی را نه تنها بر روی گیاه و محصول‌های گیاهی مورد مصرف ما، بلکه در داخل خاک جایی‌که بسیاری از میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا زندگی کرده و به ریشه گیاه حمله می‌کنند، نیز ضروری ساخته است. ثابت شده که بسیاری از این مواد شیمیایی برای میکروارگانیسم‌های غیر هدف، حیوانات و حتی برای انسان نیز ممکن است سمی باشند. دشوار است که بتوان هزینه‌های بلند مدت و کوتاه مدت آلودگی محیط‌زیست بر سلامت و بهزیستی انسان را که بر اثر تلاش ما برای کنترل بیماری‌های گیاهی و سایر آفات به وجود می‌آید، تخمین زد.

مهم‌ترین مشکل مواد شیمیایی مانند آنتی‌بیوتیک‌ها و سایر سموم شیمیایی که برای کنترل بیماری‌های باکتریایی در مقیاس وسیع استفاده می‌شوند، وجود مولکول‌های هدف مشابه با میزبان و سایر موجودات غیرهدف است. مولکول‌های هدف این مواد شیمیایی در پاتوژن که به‌طورعمومی مولکول‌های پروتئینی هستند، در اغلب موارد دارای همولوگ‌های بسیار مشابهی در میزبان پاتوژن و موجودات غیرهدف هستند. هدف‌گیری این اهداف توسط مواد شیمیایی متداول باعث آسیب ناخواسته به میزبان و موجودات غیرهدفی مانند انسان خواهد شد. کمابیش تمام موادشیمیایی و آنتی‌بیوتیک‌هایی که برای مبارزه با بیماری‌های باکتریایی گیاهی به‌کار می‌روند 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 هم‌ردیفی متوالی اهداف پروتئینی به‌دست آمد که هیچ شباهتی با میزبان و موجوادات غیرهدف نداشتند (۵،۱۵،۲۵،۲۷،۲۸). در مرحله اول پروتئین‌هایی انتخاب شدند که هیچ شباهتی با پروتئین‌های میزبان‌های گیاهی نداشتند. تا این مرحله میزبان‌ها از اثرهای ناخواسته هدف‌گیری در امان می‌مانند اما دیگر موجودات غیرهدف مانند انسان هم‌چنان در معرض اثرهای مضر ناخواسته هدف‌گیری هستند. در مرحله بعدی، پروتئین‌هایی باقی ماندند که هدف‌گیری آن‌ها هیچ اثر جانبی مضری بر میزبان‌ها، انسان، فلور میکروبی دستگاه گوارش، مهره‌داران، بندپایان و نرم‌تنان نخواهد داشت. اما هدف‌گیری این پروتئین‌ها ممکن است اثر قابل توجهی بر پاتوژن نداشته باشد، که به‌علت ضروری و حیاتی نبودن چنین پروتئین‌هایی 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 آنالیزهای تکمیلی قرار گرفتند. آنالیزهای تکمیلی محل تجمع، عملکرد پروتئین‌های با عملکرد ناشناخته و مسیرهای متابولیکی که پروتئین در آن‌ها دخیل هستند را مشخص کرد. علاوه‌براین پروتئین‌های هدفی که علاوه‌بر پاتوژن *P.syringae* پاتوژن‌های گیاهی دیگر حضور داشتند را معین نمود. در نهایت این ۹۵ پروتئین، اهدافی به‌طورکامل اختصاصی و مشترک در بسیاری از پاتوژن‌های گیاهی بوده که در فرآیندهای بسیار حیاتی سلول نقش دارند و برای بقاء پاتوژن ضروری هستند. این پروتئین‌ها در بخش‌های مختلفی از سلول تجمع دارند که باعث آزادی عمل در انتخاب نوع سموم شیمیائی می‌شود. این اهداف در مسیرهای متابولیکی حیاتی پاتوژن نقش داشته و هدف‌گیری آن‌ها باعث مختل شدن این مسیرها و از بین رفتن پاتوژن می‌شود. این اهداف در محل‌های مختلفی مانند سیتوپلاسم، غشاء داخلی، غشاء خارجی، پری‌پلاسم و خارج سلول تجمع پیدا می‌کنند. اهداف موجود در پری‌پلاسم، غشاء خارجی، غشاء داخلی و خارج سلول برای هدف‌گیری توسط مولکول‌هایی مانند پلنتی‌بادی‌ها مناسب هستند و می‌توان گیاهان تراریختی با بیان آنتی بادی‌های اختصاصی علیه این اهداف تولید کرد. چنین گیاهانی می‌توانند به‌طور مؤثری در مقابل پاتوژن‌های تولیدکننده این اهداف مقاوم باشند. اهداف موجود در سیتوپلاسم برای هدف‌گیری توسط عوامل ضدمیکروبی مناسب هستند. عوامل

Downloaded from ncmbjpiau.ir at 8:25 +0330 on Saturday October 20th 2018

ضدمیکروبی که علیه این اهداف تولید می‌شوند، با توجه به عدم مشابهت این پروتئین‌ها با پروتئین‌های موجودات غیرهدف، ترکیب‌هایی کامل اختصاصی بوده و علاوه‌بر کنترل مؤثر پاتوژن برای محیط‌زیست و موجودات غیرهدف نیز اثر مضری ندارند. اهداف شناسایی شده به دو گروه طیف وسیع و اختصاصی تقسیم می‌شوند. اهداف طیف وسیع موارد مناسب‌تری برای هدف‌گیری هستند. از آنجای‌که اهداف طیف وسیع پاتوژن‌های بیش‌تری را هدف‌گیری می‌کنند، اهداف مؤثرتری برای مبارزه به‌نظر می‌رسند و با هدف‌گیری آن‌ها با یک‌بار صرف هزینه می‌توان گیاه را نسبت به طیف وسیعی از پاتوژن‌ها مقاوم کرد. هم‌چنین سمومی که علیه این اهداف تولید می‌شوند طیف وسیعی از پاتوژن‌ها را از بین می‌برند. از طرفی دیگر، سمومی که علیه اهداف بالقوه تولید می‌شوند، سمومی بی‌خطر برای انسان، موجودات غیرهدف و محیط‌زیست هستند زیرا پروتئین هدف آن‌ها تنها در پاتوژن‌های ویژه وجود دارد.

با استفاده از روش‌های بیوانفورماتیکی مبتنی بر همولوژی می‌توان فرآیند تولید گیاهان تراریخت مقاوم به بیماری‌ها و آفات و هم-چنین فرآیندهای تولید سموم شیمیایی را به‌طور قابل توجهی کوتاه کرد و هزینه‌های آن را کاهش داد. با استفاده از این روش‌ها هم‌چنین می‌توان ایمنی سموم تجاری تولید شده را بررسی و ارزیابی کرد. مهم‌ترین مزیت استفاده از روش‌های بیوانفورماتیکی و محاسبه‌ای، پیش‌بینی اهدافی در پاتوژن‌هاست که برای بقاء پاتوژن‌ها ضروری بوده و در عین حال هیچ شباهتی با میزبان و موجودات غیرهدف ندارند و هدف قرار دادن آن‌ها اثر سوء بر میزبان و سایر موجودات غیرهدف نخواهد داشت. در صورتی‌که سایر اهداف که با روش‌های غیر بیوانفورماتیکی انتخاب می‌شوند ممکن است برای بقاء پاتوژن ضروری نبوده و از طرفی دارای توالی مشابه در میزبان و موجودات غیرهدف باشند. هدف‌گیری چنین پروتئین‌هایی باعث اثرهای مضر بر میزبان، انسان و موجودات غیرهدف و هم‌چنین محیط‌زیست خواهد شد و سلامت آن‌ها را به خطر خواهد انداخت.

باتوجه‌به گسترش روز افزون اطلاعات و داده‌های بیولوژیک و پیشرفت نرم‌افزارها و روش‌های محاسبه‌ای استفاده از روش‌های بیوانفورماتیکی می‌تواند به‌طور مؤثری زمان و هزینه‌های 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 می‌گردد.

Downloaded from ncmbjpiau.ir at 8:25 +0330 on Saturday October 20th 2018

منابع

1. Agrios, G.N., Plant pathology, 2005. Elsevier Academic Press Burlington, MA.
2. Altschul, S.F., et al., Basic local alignment search tool. Journal of molecular biology, 1990. 215: p. 403-410.
3. Anishetty, S., et al., Potential drug targets in Mycobacterium tuberculosis through metabolic pathway analysis. Computational biology and chemistry, 2005. 29: p. 368-378.
4. 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.
5. 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.
6. Capra, E.J. and Laub, M.T. The Evolution of Two-Component Signal Transduction Systems. Annual review of microbiology, 2012. p. 66: 325.
7. Chen, L., et al., update: toward the genetic diversity and molecular evolution of bacterial virulence factors. Nucleic acids research, 2012. gkr989.
8. Finn, R.D., et al., Pfam: the protein families database. Nucleic acids researc, 2012. gkt1223.
9. Hirano, S.S. and Upper, C.D., Population biology and epidemiology of Pseudomonas syringae. Annual review of phytopathology, 1990. 28: 155-177.
10. Horner, D.S., et.,. Bioinformatics approaches for genomics and post genomics applications of next-generation sequencing. Briefings in bioinformatics, 2009. 11: p. 181-197.
11. Huthmacher, C., et al., Antimalarial drug targets in Plasmodium falciparum predicted by stage-specific metabolic network analysis. BMC systems biology, 2010. 4: 1.
12. Jones, P., et al., InterProScan 5: genome-scale protein function classification. Bioinformatics, 2014. 30: p. 1236-1240.
13. Kanehisa, M. and Goto, S., KEGG: kyoto encyclopedia of genes and genomes. Nucleic acids research, 2000. 28: p. 27-30.
14. Koch, L., Microbiome: Shaping the gut microbiome. Nature Reviews Microbiology, 2005. p. 13: 4-4.
15. Lewis, K,. Platforms for antibiotic discovery. Nature reviews Drug discovery, 2013. 12: p. 371-387.
16. 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.
17. Marchler-Bauer, A., et al,. CDD: NCBI's conserved domain database. Nucleic acids research, 2014. gku1221.
18. Mochida, K. and Shinozaki, K,. Genomics and bioinformatics resources for crop improvement. Plant and Cell Physiology, 2010. 51: p. 497-523.
19. 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.
20. NCBI, R.C,. Database resources of the National Center for Biotechnology Information. Nucleic acids research, 2015. 43: D6.
21. Parker, J., et,. Quantitative proteomics of tomato defense against P. syringae infection. Proteomics, 2013. p. 13: 1934-1946.
22. Pevsner, J,. Bioinformatics and functional genomics, 2015. John Wiley & Sons.
23. 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.
24. Sahu, S.S., et al,. Predicting genome-scale Arabidopsis-P. syringae interactome using domain and interolog-based approaches. BMC bioinformatics, 2014. 15: S13.
25. 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.
26. 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.
27. 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 ۵ 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.

Downloaded from ncmbjpiau.ir at 8:25 +0330 on Saturday October 20th 2018