

بررسی بیوانفورماتیکی ژن آسیل کریر پروتئین (*ACP*) در یوکاریوت‌ها و پروکاریوت‌هامعصومه فلاح زیارانی^۱، مسعود توحیدفر^{۲*}، زهرا امین‌فر^۳

۱. دانشجوی دکتری بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده مهندسی انرژی و فناوری‌های نوین، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران
 ۲. دانشیار، گروه بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده علوم زیستی و زیست‌فناوری دانشگاه شهید بهشتی؛ پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران
 ۳. دانشجوی دکتری اصلاح نباتات، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران
 (تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۲/۱ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۶/۳/۳۰)

Bioinformatic analysis of Acyl Carrier Protein (*ACP*) in eukaryotes and prokaryotesMasoumeh Fallah Ziarani¹, Masoud Tohidfar^{2*}, Zahra Aminfar³

1. Ph.D. student of Plant Biotechnology, Department of Plant Biotechnology, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran
 2. Associate Professor, Department of Plant Biotechnology & Life Science, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran; Biotechnology Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran, Karaj, Iran.
 3. Ph.D. Student of Plant Breeding, Department of Agronomy and Plant Breeding, University of Guilan, Rasht, Iran
 (Received: Feb. 19, 2017 - Accepted: Jun. 20, 2017)

Abstract

The biosynthesis pathway of fatty acids is one of the important pathways in the body of most organisms that an enzyme Acyl Carrier Protein (*ACP*) plays an important role in it. The purpose of this study is phylogenetic and in silico analysis of gene *ACP*. More analysis indicate that *ACP* gene has 4 exons, 3 introns and 2 mRNA in prokaryotes and 13 exons, 12 introns and 9 mRNA in eukaryotes. This protein has target mitochondrial in plant eukaryotes and non-mitochondrial target in prokaryotes and it is not also included of secreted proteins. The results of multiple alignments by T-Coffee server showed that the *ACP* genes between bacterial species are more protected than plant species. Phylogenetic analysis of *ACP* proteins in prokaryotes is revealed that except for a cluster, in other case Gram-positive bacteria are in one cluster and gram-negative bacteria are in another cluster. In eukaryotes, different plant species are scattered in different clusters. These results indicated that clustering in eukaryotes are not relate to species. In addition, the study of *ACP* proteins in eukaryotes and prokaryotes revealed that both eukaryotes and prokaryotes are placed together in some clusters that is due to the similarities of sequences in species. Comparison of the secondary structure of the protein in eukaryotes and prokaryotes showed that the number of alpha and beta sheets in prokaryotes are more than of eukaryotes. Three-dimensional modeling of this protein was done by homology modeling using Swiss Model database in wheat (as representative of eukaryotic) and bacteria *Clostridioides difficile* 630 (as represented prokaryotes). The best templates were extracted with high similarity from PDB database. To validation of modeled structure and stereochemical analysis, Ramachandran plot was drawn and dihedral angles were calculated. Structural quality evaluation results showed that the proposed models are good quality and stability. The study of protein structure may help to understand protein function and the details of its structure can be useful in studies of the active site of the protein and docking .

چکیده

مسیر بیوسنتز اسید چرب یکی از مسیرهای مهم در بدن اکثر موجودات (پروکاریوت‌ها و یوکاریوت‌ها) است که آنزیم Acyl Carrier Protein (*ACP*) نقش مهمی در مسیر بیوسنتز اسید چرب دارد. هدف از این مطالعه آنالیز *in silico* و فیلوژنتیکی ژن *ACP* است. با آنالیزهای بیشتر مشخص شد که ژن *ACP* در پروکاریوت‌ها دارای ۴ اگزون و ۳ اینترون و ۲ mRNA و در یوکاریوت‌ها دارای ۱۳ اگزون، ۱۲ اینترون و ۹ mRNA است. این پروتئین در یوکاریوت‌های گیاهی دارای هدف‌گیری میتوکندریایی و در پروکاریوت به مناطقی غیر از میتوکندری هدف‌گیری می‌شود و جزو پروتئین‌های ترشحی نیز نمی‌باشد. نتایج هم‌ردیفی چندگانه با استفاده از T-coffee نشان داد که ژن *ACP* در بین گونه‌های باکتریایی محافظت شده‌تر از گونه‌های گیاهی می‌باشد. آنالیز فیلوژنتیکی پروتئین *ACP* در پروکاریوت‌ها مشخص کرد که به جز یک خوشه، در بقیه موارد باکتری‌های گرم مثبت در یک خوشه و باکتری‌های گرم منفی در خوشه‌ی دیگر قرار گرفتند. در یوکاریوت‌ها گونه‌های مختلف گیاهی به طور پراکنده در خوشه‌های مختلف قرار می‌گیرند و نتایج کلاستر بندی در یوکاریوت‌ها ربطی به گونه‌ی موجود ندارد. بعلاوه در بررسی هم‌زمان پروتئین *ACP* در یوکاریوت‌ها و پروکاریوت‌ها مشخص شد که یوکاریوت‌ها و پروکاریوت‌ها در بعضی خوشه‌ها کنار هم‌دیگر قرار می‌گیرند که ناشی از شباهت توالی این پروتئین در این گونه‌ها می‌باشد. مقایسه ساختار ثانویه پروتئین در یوکاریوت‌ها و پروکاریوت‌ها نشان داد که تعداد صفحات آلفا و بتا در پروکاریوت‌ها در مقایسه با یوکاریوت‌ها بیشتر است. مدل‌سازی سه بعدی این پروتئین در گندم (به عنوان نماینده یوکاریوت‌ها) و باکتری *Clostridioides difficile* 630 (به عنوان نماینده پروکاریوت‌ها) به روش همولوژی مدلینگ و با استفاده از پایگاه داده Swiss Model پس از انتخاب الگوی مناسب با میزان شباهت بالا که از پایگاه داده PDB استخراج شدند، انجام گرفت. جهت اعتبارسنجی ساختاری مدل ترسیم شده سه بعدی و آنالیز استرئوشیمیایی، نمودار رامانچاندرا ترسیم و زوایای دی‌هیدرال محاسبه شدند. نتایج ارزیابی کیفیت ساختاری نشان داد که مدل‌های پیشنهادی دارای کیفیت و پایداری مناسبی می‌باشند. مطالعه ساختار پروتئین می‌تواند به درک عملکرد پروتئین کمک کند و بررسی جزئیات ساختار آن می‌تواند در مطالعات جایگاه فعال پروتئین و داکینگ سودمند باشد.

Keywords: phylogenetic analysis, *ACP* gene, alignment, eukaryote, prokaryot.

واژه‌های کلیدی: تجزیه فیلوژنتیکی، ژن *ACP* هم‌ردیفی، یوکاریوت، پروکاریوت.

مقدمه

آسیل کریر پروتئین (*ACP*) ژنی است که در پروکاریوت‌ها و یوکاریوت‌ها وجود دارد (Kiyohito, 2016; Hongkai, 2016). این پروتئین در مسیر بیوسنتز اسید چرب درگیر است. وظایف مولکولی پروتئین *ACP* شامل اتصال فسفوپانتئین به سایت‌های آسیل‌باندینگ در مولکول‌های اسید چرب (جایگاه اختصاصی اتصال آسیل) می‌باشد که این سایت‌ها در فرایند بیوسنتز اسید چرب، بیوسنتز لیپیدها، متابولیسم اسید چرب و لیپیدها نیز نقش دارند. این پروتئین همچنین در پاسخ به داروها نیز نقش مهمی ایفا می‌کند (Mandal, 2000; Rawlings & Cronan, 1992). به دلیل نقش‌های مهمی که در قسمت بالا ذکر شد این ژن به منظور مطالعه انتخاب گردید. تغییرات پس از ترجمه پروتئین *ACP* شامل انتقال فسفوپانتئین از کوآنزیم A به سرین متصل به *ACP* است، که این تغییرات برای فعالیت پروتئین *ACP* ضروری هستند. تعداد این دومین‌ها در پروکاریوت‌ها نسبت به یوکاریوت‌ها متفاوت است (Huang, 2000; Kremer, 2001). این آنزیم در باکتری *Escheria coli* باعث فعال‌سازی prohaemolysin (پیش ماده غیرسمی برای تولید همولیزین) به سم بالغ همولیزین به‌وسیله آسیل کریر پروتئین می‌شود. همولیزین ماده‌ای سمی است که به وسیله اشرفیاکولای به غشای سلول‌های پستانداران متصل شده و باعث اختلال در فعالیت سلول‌های پستانداران می‌شود. همولیزین ابتدا به صورت پیش‌ماده پروهمولیزین، سنتز شده که غیرسمی است. برای فعال‌سازی پروهمولیزین و تبدیل آن به همولیزین، *ACP* نیاز می‌باشد (Williams, 2006). با توجه به نقش‌های مهمی که آنزیم *ACP* در مسیرهای بیوسنتز و متابولیسم اسید چرب و همچنین مسیرهای دیگر دارد ویژگی‌هایی مانند روابط تکاملی، ساختمان ژن و نقش پروتئین *ACP* به‌طور کافی بررسی نشده است، با این حال، این روابط برای درک ویژگی پروتئین *ACP* نیز ضروری هستند. هدف از این تحقیق، بررسی *in silico*

ژن *ACP* در یوکاریوت (گندم) و مقایسه آن با پروکاریوت (*Clostridioides difficile* 630) است. علاوه بر آن تجزیه و تحلیل فیلوژنتیک آن‌ها و مشخص کردن عملکرد، ساختمان دوم و سوم پروتئین، تغییرات پس از ترجمه، هدف‌گیری و بررسی آنالیزهای بیوانفورماتیکی در راستای تعیین مشخصات این پروتئین‌ها از اهداف دیگر این تحقیق است.

مواد و روش‌ها

توالی‌های mRNA و پروتئین ژن *ACP* از یوکاریوت‌ها و پروکاریوت‌ها که در بانک ژن در دسترس بودند، از دیتا بانک NCBI دریافت شد. سپس برنامه T-Coffee^۲ برای هم‌ردیفی چندگانه توالی‌ها به کار رفت و برای رسم درخت فیلوژنتیکی از نرم‌افزار MEGA 5 استفاده شد. با استفاده از بانک swissprot مشخصات پروتئین بررسی شد. به منظور بررسی ساختار دوم و سوم پروتئین *ACP* یک نماینده از یوکاریوت‌ها (گندم) و یک نماینده از پروکاریوت‌ها (*Clostridioides difficile* 630) انتخاب شد. نماینده پروکاریوت‌ها از نظر تکاملی در گروه باکتری‌های گرم مثبت قرار دارد. این باکتری به این علت انتخاب گردید که علت اصلی عفونت‌های رودهای در بیمارستان است و از این نظر اهمیت زیادی در تحقیقات دارد. نماینده یوکاریوت‌ها گیاه گندم است. گندم چون گیاه زراعی مهمی است و تقریباً در همه نقاط جهان کشت می‌شود به عنوان نماینده یوکاریوت‌ها انتخاب شد.

برای بررسی هدف‌گیری پروتئین از بانک TargetP استفاده شد. دومین‌های محافظت شده ژن *ACP* در پروکاریوت‌ها و یوکاریوت‌های مورد مطالعه در این تحقیق به‌وسیله Interproscan بررسی شد. همچنین محتوی GC با استفاده از Genscan web server به‌دست آمد. خصوصیات فیزیکوشیمیایی شامل

1. www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank

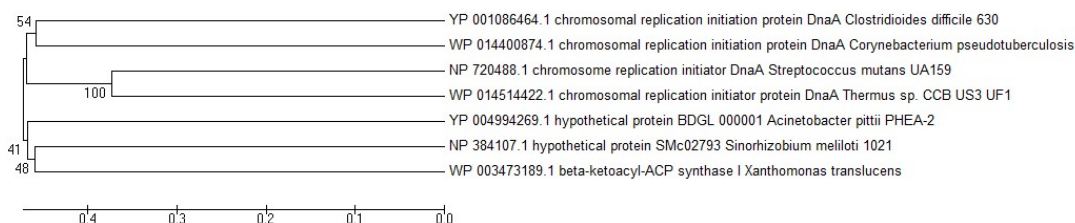
2. <http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/tcoffee/>

نتایج و بحث

با آنالیز هدف‌گیری و تعیین تعداد آگزون و اینترون مشخص شد که ژن *ACP* در پروکاریوت‌ها شامل *mRNA* ۴، آگزون و ۳ اینترون و در یوکاریوت‌ها شامل ۹ *mRNA*، ۱۳ آگزون و ۱۲ اینترون است. نتایج T-Coffee و هم‌ردیفی توالی‌های پروتئین با استفاده از نرم‌افزار MEGA 5 مشخص کرد که ژن *ACP* در طول تکامل در یوکاریوت‌ها و پروکاریوت‌ها محافظت شده نیست. در هم‌ردیفی توالی‌های *ACP* بین یوکاریوت‌ها و پروکاریوت‌ها و به طور هم‌زمان بین آن‌ها با استفاده از T-Coffee مشخص گردید در قسمت N ترمینال در ۴ اسید آمینه اول همه نمونه‌ها محافظت شده بود و در هم‌ردیفی توالی‌های پروتئین در ۶ نمونه از ۱۱ نمونه تقریباً ۵۲ اسید آمینه در طول تکامل محافظت شده بودند که از دلایل آن می‌توان درصد GC در این توالی‌ها اشاره کرد (Guex & Peitsch, 1997). نتایج نشان داد ژن *ACP* در پروکاریوت‌های مورد بررسی محافظت شده‌تر از یوکاریوت‌های مورد بررسی می‌باشد. آنالیز فیلوژنتیکی نشان داد که ژن *ACP* در پروکاریوت‌ها در گونه‌های مورد بررسی در سه خوشه قرار گرفت. به استثنای خوشه دوم، باکتری‌های گرم مثبت در یک خوشه و گرم منفی نیز در خوشه جداگانه قرار گرفتند. اما در خوشه دوم باکتری گرم مثبت و منفی با هم در یک گروه قرار گرفته‌اند که شامل *Streptococcus mutans* UA159 (gram+) و *Thermos sp. CCB us3 UF1* (gram-) بود. بر اساس نتایج کلاستر بندی مشخص شد که *Streptococcus mutans* UA159 (gram+) و *Thermos sp. CCB us3 UF1* (gram-) نسبت به بقیه گونه‌ها اخیراً اشتقاق پیدا کرده‌اند. ولی پنج گونه دیگر زمان اشتقاقشان تقریباً برابر بوده و قبل‌تر از زمان اشتقاق این دو گونه بوده است (شکل ۱).

تعداد آمینو اسید پروتئین، وزن مولکولی، نقطه ایزوالکتریک، درصد چربی و درصد آبگریزی در این پروکاریوت‌ها و یوکاریوت‌های مورد بررسی در این مطالعه با پروتپارام سرور صورت گرفت. الگوی جانیشینی، مدل جایگزینی و D-Tajima توالی پروتئین *ACP* نیز تعیین گردید. برای پیش‌بینی ساختار ثانویه پروتئین‌ها از نرم‌افزار PSIPRED و سرور GoRI استفاده شد. به منظور تعیین مدل ساختاری این پروتئین در گندم و باکتری *Clostridioides difficile* 630 ابتدا توالی آمینو اسیدی آن‌ها به ترتیب با کد شناسایی ACR23330.1 و YP_001086464.1 از پایگاه داده NCBI به فرمت FASTA ذخیره شد. سپس با استفاده از ابزار BLASTP و PSIBLAST در پایگاه داده PDB جستجو انجام گرفت تا از این طریق الگوی مناسبی جهت انجام مشابهت مدلینگ به دست آید.

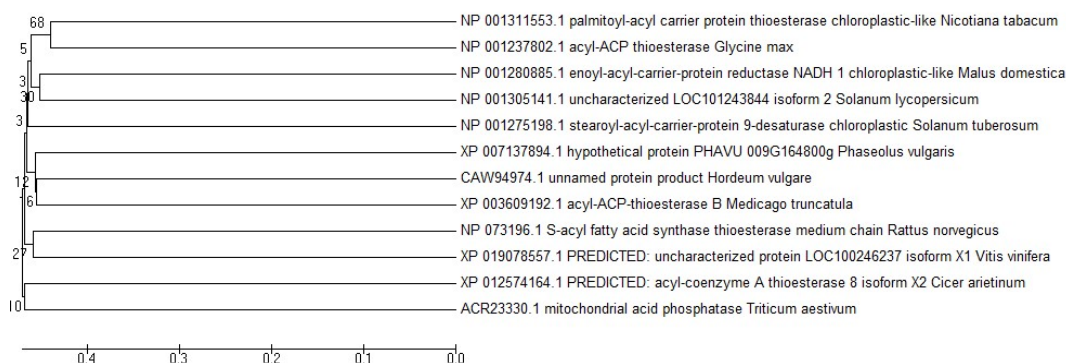
در انتخاب الگو معیارهایی نظیر وضوح پایین‌تر از ۳ آنگستروم مربوط به کریستالوگرافی اشعه X، R-value پایین‌تر از ۰/۳، شباهت بالای ۳۵ درصد الگو با توالی مورد مطالعه و E-value پائین اعمال گردید تا اعتبار و اطمینان‌پذیری مدل افزایش یابد. بعد از هم‌ردیفی توالی الگو با توالی مورد مطالعه، مدل‌سازی به روش مدلینگ و با استفاده از پایگاه اطلاعاتی Swiss Model انجام شد (Brown, 2005). همچنین ساختار مدل‌سازی شده با برنامه SPDB viewer (Ferguson, 2011) مورد بهینه‌سازی انرژی (Energy minimization) قرار گرفت. در نهایت به منظور ارزیابی کیفیت پارامترهای ساختاری مدل ساخته شده و ترسیم نمودار رامچاندران از سرور Rampage (Schwede, 2003) استفاده شد. سوپرایمپوز دو ساختار مدل شده نیز با استفاده از نرم‌افزار chimera 1.11.2 (Ali, 2014) انجام گرفت.



شکل ۱. درخت فیلوژنتیکی بر اساس توالی پروتئین ژن *ACP* مربوط به ۷ گونه از پروکاریوت‌ها با استفاده از روش کلاستر بندی UPGMA

گیاهی به‌طور پراکنده در خوشه‌های مختلف قرار گرفته‌اند. به طوری که که زمان اشتقاق گونه‌های مورد بررسی تقریباً در یک زمان بوده است. نتایج کلاستر بندی مشخص کرد که ژن *ACP* در یوکاریوت‌ها ربطی به گونه موجود ندارد و همانطور که در خوشه بندی مشخص شد تمام گیاهان دو لپه علفی در یک خوشه قرار نمی‌گیرند. در صورتی که در مورد پروکاریوت‌ها تقسیم بندی تا حدودی به خصوصیات باکتری‌ها مربوط می‌شود و همان طور که در کلاستر بندی پروکاریوت‌ها مشخص شد به جز خوشه دوم که یک باکتری گرم منفی و یک باکتری گرم مثبت در یک خوشه قرار گرفته‌اند، در بقیه خوشه‌ها تمام باکتری‌های گرم منفی در یک خوشه و تمام باکتری‌های گرم مثبت با هم در خوشه دیگر جای گرفتند (شکل ۲).

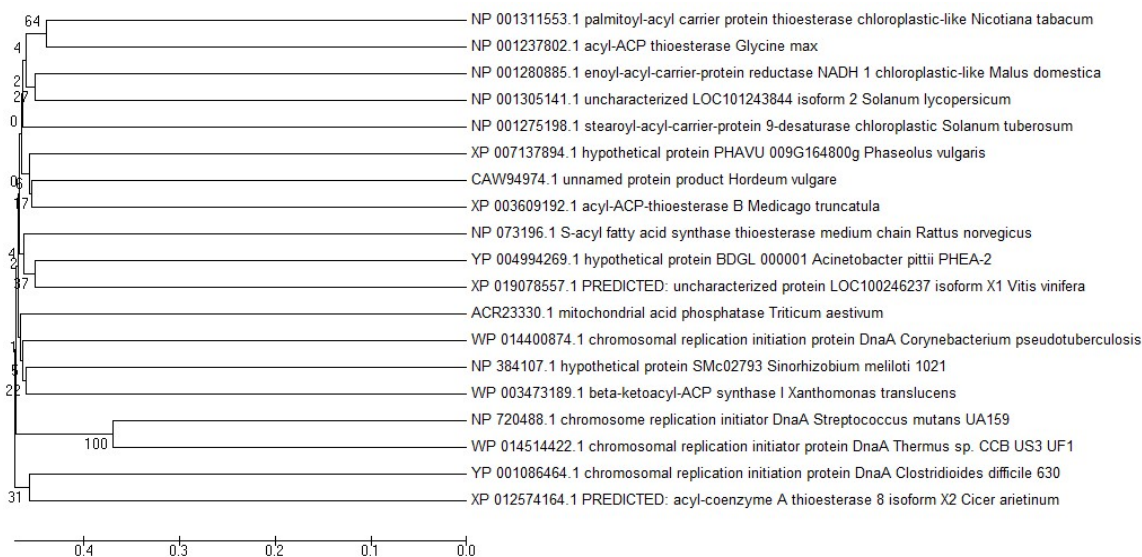
در جدول ماتریس تشابه مربوط به ژن *ACP* در ۷ گونه پروکاریوت مشخص شد که کمترین ضریب عدم تشابه مربوط به *Thermus sp.* CCB us3 UF1 و *Streptococcus mutans* UA159 با عدد ۰/۴۷ می‌باشد و این دو گونه شبیه‌ترین به هم هستند و بیشترین ضریب عدم تشابه مربوط به ۴ گونه با عدد ۰/۹۶۳ می‌باشند که دورترین گونه‌ها نسبت به هم می‌باشند و شامل گونه‌های *Thermus sp.* CCB us3 UF1 و *Clostridioides difficile* 630 و *Xanthomonas translucens* و *Clostridioides difficile* 630 می‌باشد. آنالیز فیلوژنتیکی یوکاریوت‌ها نشان داد که ژن *ACP* را می‌توان به ۴ گروه مختلف از جمله بریوفیت‌ها، گونه شبدر زرد (*Medicago truncatula*)، تک‌لپه و دولپه‌ها گروه بندی کرد. دولپه‌ها خود به دو زیر گروه گیاهان چوبی و علفی تقسیم شدند. نتایج نشان داد که گونه‌های مختلف



شکل ۲. درخت فیلوژنتیکی بر اساس توالی پروتئین ژن *ACP* مربوط به ۱۲ گونه از یوکاریوت‌ها با استفاده از روش کلاستر بندی UPGMA

قرار گرفتند که بر اساس این نتایج احتمالاً ژن *ACP* در این سه شباهت بالایی به همدیگر دارد. *Ruttus norvegicus* از پستانداران، باکتری گرم منفی *Vitis vinifera* و *Acinetobacter pittii* PHEA-2 از گیاهان دولپه چوبی نیز در یک خوشه قرار گرفتند که نشان می‌دهد ژن *ACP* علی‌رغم اینکه در سه جنس مختلف هستند از نظر توالی شباهت بالا و عملکرد مشابهی به همدیگر دارد. در خوشه دیگر نیز باکتری گرم مثبت *Clostridioides difficile* 630 و *Corynebacterium Cicer arietinum* (gram +) *pseudoyuberculosis* از گیاهان تک‌لپه علفی قرار گرفته‌اند که نشان‌دهنده شباهت بالای ژن *ACP* در آن‌ها می‌باشد. در دیگر خوشه‌ها پروکاریوت‌ها و یوکاریوت‌ها در خوشه‌های جداگانه قرار گرفتند. به‌علاوه، نتیجه کلاستربندی مشخص کرد که *Thermos sp. CCB us3 UF1* (gram -) و *Streptococcus mutans UA159* (gram +) اخیراً از جد مشترک اشتقاق پیدا کرده‌اند (شکل ۳).

در ماتریس تشابه در مقایسه بین گونه‌های یوکاریوت کمترین عدم تشابه مربوط به عدد ۰/۸۷۸ می‌باشد که مربوط به *Glycin max* و *Nicotiana tabacum* است که این دو شبیه‌ترین نسبت به هم هستند، یکی از دلایل شبیه بودن این دو گونه می‌تواند نزدیک بودن درصد GC آن‌ها باشد. به‌علاوه بیشترین عدد ماتریس تشابه مربوط به ۲ گونه *Phaseolus vulgaris* و *Nicotiana tabacum* است که این ۲ گونه بیشترین فاصله را از هم و کمترین تشابه را با هم دارند و عدد عدم تشابه آنها ۰/۹۷ می‌باشد که یکی از دلایل متفاوت بودن این دو گونه می‌تواند متفاوت بودن درصد GC آن‌ها باشد. نتایج کلاستربندی همزمان ژن *ACP* در یوکاریوت‌ها و پروکاریوت‌ها نشان داد که این‌ها در هشت خوشه قرار گرفتند. به‌طوری‌که *Triticum aestivum* (گندم) از گیاهان تک‌لپه علفی و دو باکتری گرم منفی *Sinorhizobium meliloti* 1021 و *Xanthomonas translucens* در یک خوشه



شکل ۳. درخت فیلوژنتیکی بر اساس توالی پروتئین ژن *ACP* مربوط به ۷ گونه از پروکاریوت‌ها و ۱۲ گونه از یوکاریوت‌ها با

استفاده از روش کلاستربندی UPGM

به دلیل عدم وجود اندامک‌های مشخص داخل سلولی در پروکاریوت‌ها پروتئین *ACP* در باکتری *Clostridioides difficile* 630 هدف‌گیری مشخصی ندارد، اما به دلیل وجود اندامک‌های مشخص در یوکاریوت‌ها این پروتئین در گندم دارای هدف‌گیری میتوکندریایی می‌باشد.

درصد GC (درصد گوانین و سیتوزین در توالی مورد بررسی) نشان داد که در یوکاریوت‌های مورد بررسی بیشترین درصد GC مربوط به *Triticum aestivum* با ۴۷/۲۹ درصد و کمترین درصد GC مربوط به *Mulus domestica* (apple) با ۳۴/۴۸ درصد می‌باشد. در صورتی که در پروکاریوت‌های کمترین درصد GC مربوط به *Clostridioides difficile* 630 با ۲۹/۸ درصد و بیشترین درصد G+C مربوط به *Thermus Sp. CCB-US3-UF1* با ۶/۶۸ درصد می‌باشد. آنالیز محتوی GC مشخص کرد که ژن‌هایی با محتوی GC بالا پایداری بیشتری در برابر حرارت نسبت به ژن‌هایی با محتوی GC کمتر دارند (Lovell, 2013). نتایج نشان داد که درصد GC در ژن *ACP* در پروکاریوت‌ها بیشتر از یوکاریوت‌هاست. در نتیجه این ژن در پروکاریوت‌ها پایدارتر از یوکاریوت‌هاست. مقایسه بین پروتئین *ACP* در یوکاریوت‌ها و پروکاریوت‌ها نشان داد که تعداد آمینواسید این پروتئین در هر دو تقریباً برابر است. رابطه با وزن مولکولی، دامنه وزن مولکولی پروتئین مورد مطالعه بین یوکاریوت‌ها و پروکاریوت‌ها مشخص کرد که دامنه وزن مولکولی در پروکاریوت‌ها بسیار متنوع بوده و در دامنه وسیعی قرار دارد، در صورتی که در یوکاریوت‌ها این تنوع دامنه کمتر است. مشخص شد که مقدار دامنه ایزوالکتریک در یوکاریوت‌ها بیشتر است. شاخص آلیفاتیک بالا در یوکاریوت‌ها و پروکاریوت‌ها نشان داد که ساختار پروتئین مورد مطالعه در هر دو در یک

در ماتریس تشابه در مقایسه بین گونه‌های یوکاریوت و پروکاریوت کمترین عدم تشابه مربوط به عدد ۰/۷۳۸ بود که مربوط به *Thermos sp. CCB* و *streptococcus mutans* us3 UF1 (gram -) و UA159 (gram +) است که این دو گونه از نظر توالی پروتئین *ACP* شبیه‌ترین نسبت به بقیه گونه‌های مورد مطالعه هستند و بیشترین عدد ماتریس تشابه مربوط به ۲ گونه *Nicotiana tabacum* و *Phaseolus vulgaris* است که هر دو از گیاهان دولپه علفی می‌باشند که این ۲ گونه بیشترین فاصله را از هم و کمترین تشابه را از نظر توالی پروتئین *ACP* با هم دارند و عدد عدم تشابه آنها ۰/۹۷ می‌باشد. دومین‌های پروتئین *ACP* موجود در باکتری *Clostridioides difficile* 630 جزء خانواده‌ی *dnaA superfamily* است و این دومین ساختار پایه‌ای برای شناسایی ناحیه تکثیر بوسیله پروتئین *DnaA* می‌باشد. دومین‌های پروتئین *ACP* گندم جزء خانواده *Metallophose_C Superfamily* بوده و این دومین در پایانه C پروتئین‌های اسیدفسفاتاز قرار داشته و *Iron/zinc purple acid phosphatase-like protein C* دومین‌های پروتئین‌های مورد مطالعه در گندم و باکتری *Clostridioides difficile* 630 از نظر عملکرد متفاوت می‌باشد و این اختلاف می‌تواند به دلیل تفاوت در خانواده‌هایی که دومین به آن تعلق داشته و عملکرد متفاوت این دومین‌ها باشد. آنالیز هدف‌گیری نشان داد که پروتئین *ACP* در باکتری *Clostridioides difficile* 630 که طول آن ۴۳۹ اسید آمینه می‌باشد جزو پروتئین‌های ترشحی و میتوکندریایی نمی‌باشد و به قسمت‌های دیگر می‌رود که مکان آن دقیقاً مشخص نیست. برعکس در یوکاریوت گندم طول آن ۴۷۷ اسید آمینه و میتوکندریایی است. در رابطه با هدف‌گیری پروتئین

انتخاب مدل جایگزینی^۵؛ بهترین مدل جایگزینی در یوکاریوت‌ها برای آنالیز فیلوژنی، مدل WAG + I و در پروکاریوت‌ها مدل WAG + G است. آنالیز تنوع ژنتیکی در یوکاریوت‌ها نشان داد که حدود ۹۹ درصد از طول توالی ژن ACP جهش‌های نوع جایگزینی رخ داده که در این میان حدود ۳۲ درصد از طول توالی ژن دارای چندشکلی‌های آگاهی‌بخش می‌باشد. تنوع نوکلوتیدی در جمعیت مورد مطالعه در حدود ۹۳ درصد می‌باشد. نتایج نشان داد D تاجیما که به منظور بررسی اثر فشار انتخاب بر روی یک ژن به کار برده می‌شود، در یوکاریوت‌های مورد بررسی ۱/۵۷ و در پروکاریوت‌ها ۵/۳۹ است. با استفاده از تاجیما D که برای آزمون تئوری خنثی به کار برده می‌شود مشخص شد ژن‌هایی که تنوع فراوانی آلی آن‌ها بالا است تاجیما D مثبت (بزرگتر از صفر) دارند و با انتخاب متعادل در جمعیت همراه هستند (جدول ۲).

جدول ۲. نتیجه تست تاجیما برای ژن ACP در

پروکاریوت‌های مورد بررسی

m	S	P _s	θ	Π	D
۷	۲۶۵	۰/۹۹۶۲۴۱	۰/۴۰۶۶۲۹	۰/۷۷۹۹۸۶	۵/۳۹۷۱۳۲

بررسی ساختار دوم پروتئین ACP باکتری *Clostridioides difficile* 630 نشان داد که این پروتئین حاوی ۸۸ رشته β و ۲۱ مارپیچ α می‌باشد (شکل ۴). بر عکس ساختار دوم پروتئین ACP گندم (*Triticum aestivum*) حاوی ۹ رشته مارپیچ α و ۲۱ رشته مارپیچ β می‌باشد (شکل ۴).

مدل‌سازی ساختار سه بعدی بر اساس انتخاب یک الگوی با شباهت بالا با پروتئین هدف با استفاده از پایگاه اطلاعاتی Swiss Model انجام گرفت (شکل ۵).

دامنه گسترده از دما پایدار می‌باشد. نتایج نشان داد شاخص ناپایداری در یوکاریوت‌ها و پروکاریوت‌ها در پروتئین ACP در هر دو گروه در گستره‌ای از پروتئین‌های پایدار تا ناپایدار قرار دارد. متوسط GRAVY (خاصیت آبگریزی پروتئین) کل محاسبه شده برای پروتئین‌ها از تقسیم مجموع هیدروپاتی محاسبه شده برای تمام اسیدهای آمینه در پروتئین بر تعداد کل اسیدهای آمینه آن پروتئین به دست می‌آید. در بررسی GRAVY پروتئین این نتیجه مشخص شد که پروتئین ACP در پروکاریوت‌ها و یوکاریوت‌ها در دامنه متفاوتی از نظر آبگریزی قرار دارد.

آزمون فرضیه خنثی^۴ نشان داد که ژن ACP در یوکاریوت‌ها هر چند مشابهت بالایی با همه گونه‌های یوکاریوت مورد بررسی دارد ولی در گونه‌های *Rattus norvegicus*، *Malus domestica* و *Phaseolus vulgaris* الگوی جانشینی بسیار متفاوتی دارند که نشان می‌دهد در طول تکامل این گونه‌ها از یکدیگر جدا شده‌اند (جدول ۱).

جدول ۱. نتیجه تست تاجیما برای ژن ACP در

یوکاریوت‌های مورد بررسی

m	S	P _s	θ	Π	D
۱۲	۲۶۲	۰/۹۹۶۱۹۵	۰/۳۲۹۸۸۰	۰/۹۳۱۰۴۰	۸/۵۷۸۳۲۸

علاوه بر این در پروکاریوت‌های مورد بررسی نیز ژن ACP همولوژی بالایی با همه گونه‌های مورد بررسی دارد، اما الگوی جانشینی آن با گونه‌های *Thermus sp.* CCB US3 UF1 *Corynebacterium* *Acinetobacter pittii* *Xanthomonase* و *pseudotuberculosis translucens* متفاوت است، در نتیجه این گونه‌ها در طول تکامل از یکدیگر جدا شده‌اند. بر اساس آنالیز

Thermotoga maritima کریستالوگرافی شده‌اند. میزان یکسانی الگوی 4dsy.1.A با پروتئین هدف ۶۰٪ و میزان شباهت آن ۴۹٪ می‌باشد و همین طور میزان یکسانی الگوی 2z4s.1.A با پروتئین هدف ۲۸/۳۶٪ و میزان شباهت آن ۳۹٪ می‌باشد (جدول ۳).

الگوهای منتخب برای مدل‌سازی پروتئین ACP در گندم (4dsy.1.A) و باکتری *Clostridioides difficile* 630 دارای ۴۲۶ و ۴۴۰ اسید آمینه می‌باشند و به ترتیب در سال ۲۰۱۲ با قدرت تفکیک ۲/۳ آنگستروم از *Phaseolus vulgaris* و سال ۲۰۰۸ با قدرت تفکیک ۳/۰ آنگستروم از

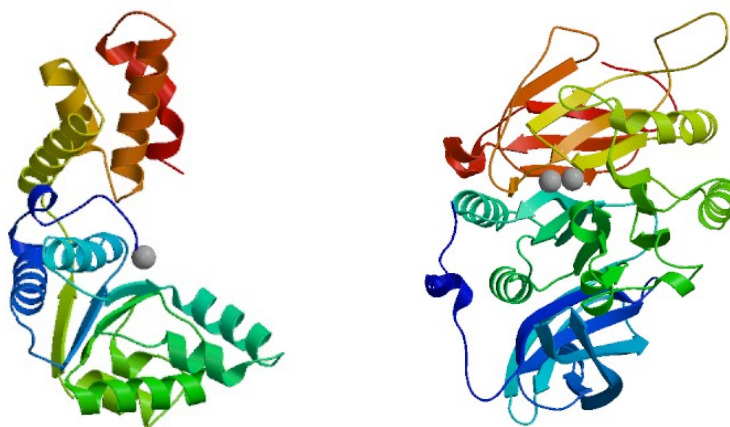
GOR4 :

Alpha helix (Hh) :	194 is	44.19%
3 ₁₀ helix (Gg) :	0 is	0.00%
Pi helix (Ii) :	0 is	0.00%
Beta bridge (Bb) :	0 is	0.00%
Extended strand (Ee) :	61 is	13.90%
Beta turn (Tt) :	0 is	0.00%
Bend region (Ss) :	0 is	0.00%
Random coil (Cc) :	184 is	41.91%
Ambiguous states (?) :	0 is	0.00%
Other states :	0 is	0.00%

GOR4 :

Alpha helix (Hh) :	96 is	20.13%
3 ₁₀ helix (Gg) :	0 is	0.00%
Pi helix (Ii) :	0 is	0.00%
Beta bridge (Bb) :	0 is	0.00%
Extended strand (Ee) :	122 is	25.58%
Beta turn (Tt) :	0 is	0.00%
Bend region (Ss) :	0 is	0.00%
Random coil (Cc) :	259 is	54.30%
Ambiguous states (?) :	0 is	0.00%
Other states :	0 is	0.00%

شکل ۴. آنالیز ساختار دوبعدی پروتئین ACP در گندم (سمت راست) و باکتری *Clostridioides difficile* 630 (سمت چپ) با نرم افزار GORIV



شکل ۵. ساختار مدل‌سازی شده ACP گندم (سمت راست) و ACP باکتری *Clostridioides difficile* 630 (سمت چپ) در Swiss Model

جدول ۳. میزان همسانی اسید آمینه‌های پروتئین هدف با الگو

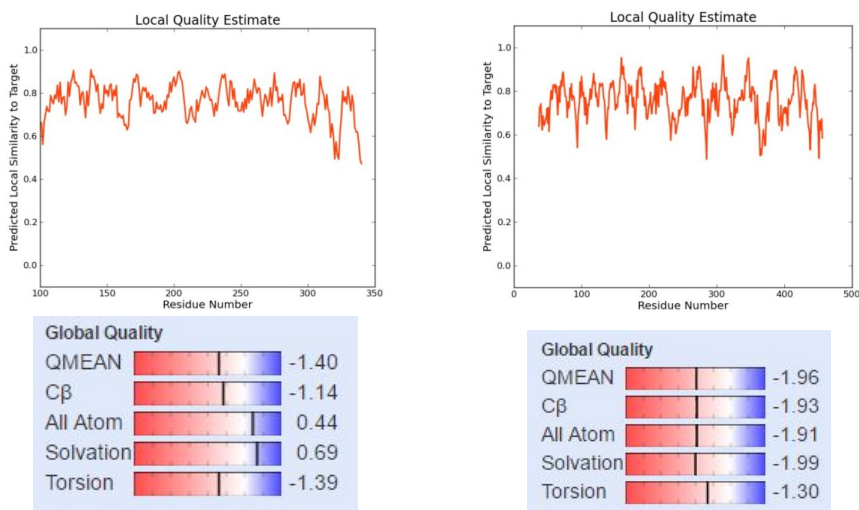
Template	Seq Identity	Oligo-state	Found by	Method	Resolution	Seq Similarity	Range	Coverage	Description
4dsy.1.A	۶۰٪	monomer	BLAST	X-ray	۲/۳Å	۰/۴۹	۳۷-۴۵۶	۰/۸۸	Purple acid phosphatase
2z4s.1.A	۲۸/۳۶٪	monomer	BLAST	X-ray	۳/۰Å	۰/۳۹	۱۰۱-۳۴۰	۰/۹۸	Magnesium ion

اما باید خاطر نشان کرد که با توجه به اهمیت این پروتئین در مسیر بیوسنتز اسید چرب در پروکاریوت و یوکاریوت و دارا بودن جایگاه اختصاصی اتصال

با توجه به میزان شباهت پایین الگوی 2z4s.1.A با پروتئین هدف این احتمال وجود دارد که مدل‌سازی به صورت ضعیف‌تری انجام شده باشد

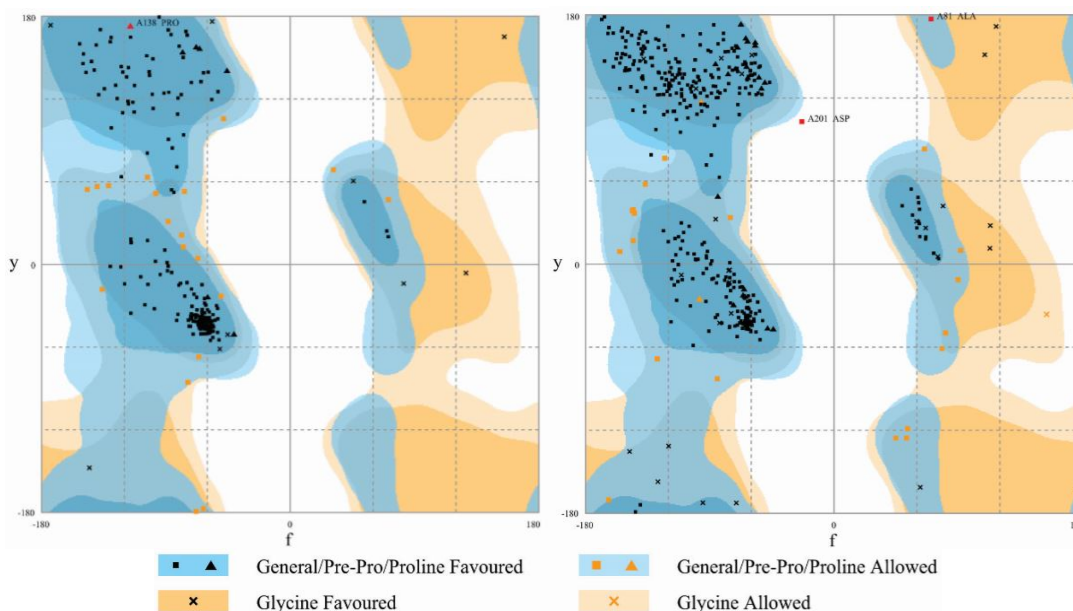
حسابی مرکب QMEAN4، تمامی اتم‌ها، کربن بتا، حالیت و زوایای چرخشی در شکل ۶ نشان داده شده است. ارزیابی کیفیت ساختار مدل شده پس از بهینه سازی انرژی به وسیله نمودار رامچاندران^۳ با استفاده از ابزار Rampage صورت گرفت. نمودار رامچاندران یک روش بسیار پرکاربرد جهت پلات زوایای چرخشی پروتئین و ارزیابی کیفیت استرئوشیمیایی ساختار مدل سازی شده می‌باشد. نمودار رامچاندران با محاسبه درصد اسیدآمین‌های قرار گرفته در نواحی مطلوب، مجاز و یا غیرمجاز کیفیت مدل ورودی را تعیین می‌نماید. چنانچه در شکل ۷ دیده می‌شود ۹۴/۳٪، ۵/۳٪ و ۰/۵٪ اسید آمینه برای ساختار مدل شده در گندم و ۹۱/۶٪، ۸/۰٪ و ۰/۴٪ اسیدآمین‌ها برای ساختار مدل شده در باکتری به ترتیب در مناطق مطلوب، مجاز و غیر مجاز قرار دارند و این بدان معنی است که هر دو مدل کیفیت بالایی دارند. در نهایت برای مقایسه دو ساختار مدل شده در یوکاریوت و پروکاریوت، سوپرایمپوز دو ساختار با نرم افزار Chimera انجام گرفت و RMSD^۴ آن ۱/۳۶۴ گزارش شد (شکل ۸).

آسیل، اولین گام در انجام مطالعات بعدی جهت مطالعه جایگاه اتصال و یا لیگندهای مهاری و یا فعال‌کننده، قطعاً مدل‌سازی این پروتئین می‌باشد. ساختار سه بعدی پروتئین‌های مدل‌سازی شده در شکل ۵ نشان داده شده است. ارزیابی مدل‌های پیشنهاد شده در Swiss Model بر اساس پارامترهای GMQE^۱ و QMEAN4 می‌باشد. تابع QMEAN4 یک تابع حسابی مرکب برای ارزیابی کیفیت global (کل ساختار) و local (هر اسید آمینه) ساختار مدل‌سازی شده می‌باشد. نمودار کیفیت local برای هر اسیدآمین‌ها در مدل (محور X) شباهت مورد انتظار به ساختار بومی^۲ (محور Y) را نشان می‌دهد. به طور معمول، اسیدآمین‌هایی که اسکور زیر ۰/۶ را نشان بدهند، از کیفیت پایینی برخوردارند. تابع QMEAN4 شامل چهار توصیف ساختاری پتانسیل زاویه چرخش، پتانسیل فاصله اتم‌ها، اثر متقابل کربن بتا و پتانسیل حلال پوشی می‌باشد. GMQE یک ارزیابی کیفی است که خصوصیات همترازی مدل-الگو را ترکیب می‌کند. نمودارهای ارزیابی کیفی موضعی ساختار و میزان Z-score در مورد تابع



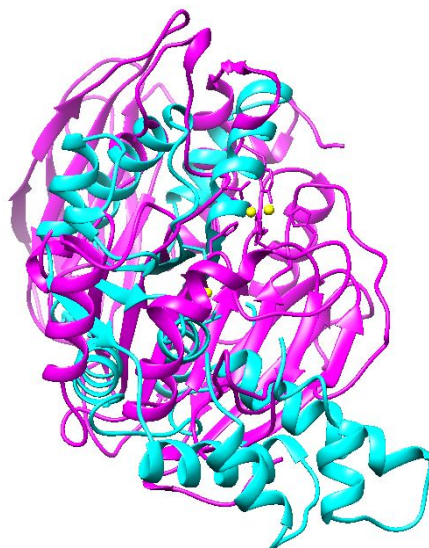
شکل ۶ نمودارهای ارزیابی کیفی موضعی ساختار و نمودار Z-score

1. Global Model Quality Estimation
2. Native structure
3. <http://mordred.bioc.com.ac.uk/~rapper/rampage.php>
4. Root Mean Square Deviation



شکل ۷. نمودار رامانچاندرا ساختار *ACP* مدل سازی شده در گندم (سمت راست) و باکتری (سمت چپ). نواحی آبی رنگ به معنی قرارگیری ایده آل اسیدهای آمینه، نواحی کرم رنگ به معنی نواحی مجاز، و نواحی زرد کم رنگ نواحی غیر مجاز می‌باشند.

منبع انگلیسی یا فارسی در رابطه با بررسی بیوانفورماتیکی این موضوع منتشر نشده است. تعداد بالای mRNA در یوکاریوت‌ها به دلیل ویرایش متناوب mRNA به منظور تولید پروتئین‌های متنوع می‌باشد. بیشتر بودن تعداد آگزون‌ها و اینترون‌ها در یوکاریوت‌ها نشان‌دهنده طول بیشتر ژن *ACP* در یوکاریوت‌ها نسبت به پروکاریوت‌ها می‌باشد. نتایج نشان داد که در یوکاریوت‌ها تعداد دومین‌ها بیشتر و طول آنها نیز بزرگ‌تر می‌باشد. به علاوه موقعیت آنها در پروکاریوت‌ها و یوکاریوت‌ها با هم متفاوت می‌باشد. بررسی خواص فیزیکوشیمیایی پروتئین *ACP* در پروکاریوت‌ها و یوکاریوت‌ها آشکار کرد که این دو پروتئین از نظر وزن مولکولی با هم متفاوت هستند، اما از نظر تعداد اسید آمینه، نقطه ایزوالکتریک، شاخص آلفاتیک، شاخص ناپایداری و حالیت پروتئین دارای خصوصیت مشترکی هستند. این نتایج نشان‌دهنده شباهت بالای توالی ژن *ACP* در یوکاریوت‌ها و پروکاریوت‌ها است. تعیین خصوصیات فیزیکوشیمیایی پروتئین‌ها می‌تواند برای



شکل ۸. سوپراپوز دو ساختار مدل شده در یوکاریوت و پروکاریوت با نرم‌افزار Chimera (RMSD=1.364). ساختار سه بعدی پروتئین مدل سازی شده در گندم به رنگ صورتی و باکتری به رنگ آبی نمایش داده شده است.

به دلیل اهمیت ژن *ACP* در بیوسنتز اسید چرب در این تحقیق به بررسی بیوانفورماتیکی این ژن پرداخته شد. با بررسی جامعی که صورت گرفت، تا کنون هیچ

بالایی می‌باشند. پروتئین‌هایی با شاخص آلیفاتیک بسیار بالا (بالتر از ۱۰۰) ممکن است در دامنه دمایی بسیار بالایی از خود ثبات نشان دهند. در بررسی حاضر شاخص آلیفاتیک پروتئین ACP در یوکاریوت‌ها و پروکاریوت‌ها پایداری نسبتاً بالایی را در برابر حرارت نشان دادند، در نتیجه این پروتئین در دماهای بالا قادر به حفظ ساختار سوم و عملکرد خود می‌باشد. متوسط هیدروپاتی کل (GRAVY) نشان‌دهنده شاخص آبگریزی پروتئین می‌باشد. در صورتی که GRAVY محاسبه شده برای یک پروتئین منفی باشد، بدین معنی است که آن پروتئین غیر قطبی است و در صورت مثبت بودن آن قطبی محسوب می‌شود. پروتئین ACP در یوکاریوت‌های مورد بررسی دارای GRAVY مثبت می‌باشند و در نتیجه از دسته پروتئین‌های قطبی می‌باشند. اما پروتئین ACP در پروکاریوت‌های مورد بررسی در دامنه‌ای از مثبت تا منفی از نظر GRAVY قرار دارد و هم شامل پروتئین‌های قطبی و هم غیرقطبی می‌باشد. حالیت پروتئین‌های قطبی بیشتر از حالیت پروتئین‌های غیرقطبی در مواد حلال می‌باشد. در برابر حلال‌های ویژه هر پروتئین، پروتئین‌های غیر قطبی در وسط و پروتئین‌های قطبی در قسمت بیرونی تجمع پیدا می‌کنند. از پروتئین‌های غیر قطبی می‌توان به‌عنوان اهدافی برای انتقال دارو به نقطه مورد نظر استفاده کرد، با افزودن سیگنال خاص به پروتئین برای انتقال به قسمت مورد نظر و قرار دادن ماده هدف (دارو) در پروتئین این طراحی صورت می‌گیرد.

تنوع در محتوای گوانین (G) و سیتوزین (C) مشاهده شده در بین گونه‌ها یکی از موضوعات مورد توجه در تکامل بیوانفورماتیکی است. چگونگی ارزش GC با محاسبه محتوای GC کل ژنوم در موجودات مورد مطالعه می‌باشد. نتایج نشان داد درصد GC کل ژنوم در پروکاریوت‌ها دامنه گسترده‌تری از یوکاریوت‌ها دارد و در یوکاریوت‌های مورد بررسی

شناخت بهتر پروتئین‌ها و شناسایی آنها بسیار سودمند باشد. با توجه به وزن مولکولی پروتئین ACP در یوکاریوت‌ها و پروکاریوت‌های مورد بررسی می‌توان مشاهده کرد که این پروتئین‌ها دارای وزن مولکولی کم تا زیاد می‌باشند و تفاوت چندانی با هم ندارند. در نقطه ایزوالکتریک یک آمینواسید و یا پروتئین بار خود را از دست می‌دهد و بنابراین در میدان الکتریکی با جریان مستقیم قادر به حرکت نمی‌باشد. اطلاع از نقطه ایزوالکتریک یک پروتئین می‌تواند برای انتخاب و بهینه‌سازی روش‌های مورد استفاده برای خالص‌سازی پروتئین اعم از کروماتوگرافی تبادل یونی و الکتروفورز ایزوالکتریک فوکوسینگ بسیار مفید باشد. به‌علاوه پروتئین‌هایی که در محدوده pH ایزوالکتریک قرار دارند و مجموع بار مثبت و منفی رشته پپتیدی با یکدیگر برابر بوده، پپتید توانایی نگهداری آب را ندارد و ناگزیر رسوب می‌کند. شاخص ناپایداری پروتئین‌ها بیانگر میزان پایداری آنها در لوله آزمایش در برابر حرارت می‌باشد و این به نوع اسیدآمین‌های موجود بستگی دارد. شاخص ناپایداری محاسبه شده برای پروتئین‌های مورد بررسی نشان می‌دهند که پروتئین‌هایی که شاخص ناپایداری آنها کوچک‌تر از ۴۰ باشند با ثبات و در غیر اینصورت بی‌ثبات خواهند بود. بنابراین بر اساس این تخمین می‌توان گفت در مقایسه پروکاریوت‌ها و یوکاریوت‌های مورد بررسی پروتئین ACP آن‌ها در دامنه‌ای از ناپایداری تا پایداری قرار دارد. پروتئین‌های پایدار در شرایط تنش مثل تنش حرارتی می‌توانند ساختار سوم خود و در نتیجه عملکردشان را در شرایط تنش حفظ کنند (Pettersen, 2004).

شاخص آلیفاتیک در واقع عبارت است از حجم نسبی پروتئین که با زنجیره‌های آلیفاتیک اشغال شده‌اند (A, V, I, L) و به عنوان یک فاکتور مثبت در افزایش ثبات حرارتی پروتئین‌های گلوبول مانند محسوب می‌شود و به همین دلیل در باکتری‌های مقاوم به گرما، پروتئین‌ها دارای شاخص آلیفاتیک

می‌کند و گونه‌های یوکاریوت مورد بررسی در درخت فیلوژنی در جایگاه مناسبی به لحاظ تاکسونومی قرار نگرفته‌اند و تقریباً تمام پروکاریوت‌های مورد بررسی در درخت فیلوژنی به غیر از *Thermos sp. CCB* (*Streptococcus mutans* us3 UF1 (gram -) UA159 (gram +) در جایگاه مناسبی به لحاظ تاکسونومی قرار گرفته است. تست فرضیه خنثی اختلاف مشاهده شده برای یک جفت توالی که با الگوی جایگزینی مشابه تکامل یافته‌اند، را اندازه‌گیری می‌کند. اساس این کار مقایسه فرکانس نوکلئوتید یا آمینواسید در توالی جفتی و تعداد تفاوت مشاهده شده بین توالی‌ها است. در زیست‌شناسی مدل جایگزینی پروسه‌ای را توصیف می‌کند که در آن تغییر یک صفت را در یک پروسه زمانی بر اثر فشار انتخاب نشان می‌دهد. این مدل در تفسیر درخت تکاملی در فیلوژنتیک و شاخه‌بندی و شبیه‌سازی توالی با تست روش‌ها و الگوریتم‌های دیگر کاربرد دارد. یکی از آزمون‌هایی که برای بررسی اثر فشار انتخاب بر روی یک ژن به کار برده می‌شود تاجیما D است. این آزمون بر اساس مقایسه تنوع نوکلئوتیدی حاصل از فراوانی آلی جایگاه‌های چندشکلی است (Carlson *et al.*, 2005). با استفاده از تاجیما D که برای آزمون تئوری خنثی به کار برده می‌شود، مشخص شد ژن‌هایی که تنوع فراوانی آلی آن‌ها بالا است، تاجیما D مثبت (بزرگتر از صفر) دارند و با انتخاب متعادل در جمعیت همراه هستند، در حالی که، ژن‌هایی که تنوع فراوانی آلی آنها پایین است D تاجیما منفی دارند و با فشار انتخابی همراه هستند که یک واریانت سودمند را در جمعیت جایگزین سایر واریانت‌ها کرده است. ژن‌هایی که به تازگی در معرض انتخاب قرار گرفته‌اند و آلل سودمند هنوز آلل اصلی در جمعیت نشده است، به سادگی با استفاده از تاجیما D قابل مطالعه نیستند (Hamblin *et al.*, 2002). نشان داد مثبت بودن تاجیما D ژن *ACP* در بررسی تکامل یوکاریوت‌ها و پروکاریوت‌ها بیانگر آن است

این تنوع کمتر بوده است. Ferguson *et al.* (2011) اعلام کردند که تنوع در محتوای درصد GC در یوکاریوت‌ها کمتر می‌باشد (Cao, 2011)، این مطلب داده‌های به دست آمده در این تحقیق را تایید می‌کند. علاوه بر این، آنالیز محتوای درصد GC به وسیله سرور ProtParam مشخص کرد که ژن‌هایی با درصد GC بالاتر در مقایسه با ژن‌هایی با درصد GC کمتر پایدارتر می‌باشند. این ممکن است ناشی از این حقیقت باشد که جفت‌های GC توسط سه باند هیدروژنی به هم متصل می‌شوند، اما جفت-های AT بوسیله دو باند هیدروژنی باند می‌شوند، باندهای هیدروژنی به پایداری بیشتر محصولات ژن کمک می‌کنند و تعداد باندهای هیدروژنی بیشتر نتیجه‌اش پایداری بیشتر پروتئین می‌باشد. نتایج نشان داد با توجه به بیشتر بودن درصد GC پروتئین *ACP* در باکتری‌های مورد مطالعه در مقایسه با یوکاریوت‌های مورد بررسی، پروکاریوت‌ها بهتر قادر به حفظ ساختار فضایی پروتئین *ACP* در دماهای بالاتر می‌باشند (Burge & Karlin, 1997).

درخت فیلوژنی براساس توالی پروتئین *ACP* بین گونه‌های مختلف یوکاریوت و پروکاریوت به منظور بررسی روابط تکاملی مشخص کرد که در بررسی گونه‌های یوکاریوتی زمان اشتقاق گونه‌ها تقریباً برابر بوده است و تمام گیاهان دولپه علفی یا تمام گیاهان تک‌لپه علفی یا همه گیاهان چوبی با هم در یک گروه قرار نمی‌گیرند به طوری که در خوشه‌بندی مشخص شد که گیاه دولپه علفی و گیاه دولپه چوبی در یک گروه قرار گرفتند. بررسی پروتئین *ACP* بین گونه‌های پروکاریوت مورد بررسی مشخص کرد که برعکس یوکاریوت‌های مورد بررسی به جز یک مورد تقریباً تمام پروکاریوت‌های مورد بررسی در درخت فیلوژنی در جایگاه مناسبی به لحاظ تاکسونومی قرار گرفته است. در بررسی همزمان توالی پروتئین *ACP* در یوکاریوت‌ها و پروکاریوت‌ها مشخص گردید که به جز در یک خوشه نتایج بالا نیز در اینجا صدق

حلالیت کمتری دارد. انعطاف‌پذیری کمتر باعث پایداری بیشتر پروتئین می‌شود، در نتیجه می‌توان گفت که پایداری پروتئین ACP در پروکاریوت‌ها بیشتر از یوکاریوت‌ها می‌باشد. در روش مشابهت مدلینگ یا مدل‌سازی مقایسه‌ای، ساختمان پروتئین بر اساس مشابهت توالی با ساختمان‌های شناخته شده با روش‌های تجربی پیش‌بینی می‌شود. در واقع این روش بر این اصل استوار است که اگر دو پروتئین مشابهت توالی بالایی داشته باشند، احتمالاً ساختمان سه بعدی بسیار مشابهی دارند. ساختار سه بعدی پروتئین منبع مهم اطلاعاتی برای درک بهتر عملکرد پروتئین و اینترکشن آن با اجزای دیگر (لیگاند‌ها، پروتئین و ...) می‌باشد. به علت سختی و پرهزینه بودن فرآیند کریستالوگرافی به‌خصوص در مورد پروتئین‌های مهمی مانند ACP که نقش‌های حیاتی در مسیرهای شناخته شده دارند، پیش‌گویی ساختار آن از طریق ابزار *In silico* به منزله میان‌بری برای مطالعات بعدی و بررسی جزئیات ساختاری آن خواهد بود. به‌عبارت دیگر طراحی یک لیگاند مؤثر برای فعال‌سازی یا مهار پروتئین در یک مسیر خاص، با شبیه‌سازی ساختار سوم آن پروتئین مقرون به صرفه بوده و روند مطالعات را تسریع می‌کند. با توجه به نتایج ارزیابی کیفی مدل‌های ایجاد شده، می‌توان با ضریب اطمینان بالایی از این مدل‌ها در آنالیزها و طراحی‌های بعدی استفاده نمود. برای مقایسه دو ساختار مدل شده در پروکاریوت و یوکاریوت سوپرایمپوز ساختاری بر اساس توپولوژی پروتئین (جهت‌گیری رشته‌ها و هلیکس‌ها) انجام شد. RMSD نسبتاً پایین گزارش شده نشان‌دهنده این است که دو ساختار از نظر کلی به هم شبیه‌اند ولی در مناطق خاصی در ساختار، تفاوت‌هایی بین دو پروتئین وجود دارد که باید با جزئیات بیشتری مطالعه شوند. نتایج این مقاله می‌تواند در مطالعه رفتار و کنش پروتئین ACP در مسیر بیوسنتز اسیدهای چرب بسیار کمک‌کننده باشد و به فهم چگونگی نحوه میان

که هر دو جمعیت تحت تأثیر انتخاب متعادل قرار دارند و تنوع آلی در هر دو بالا می‌باشد و فشار انتخابی بر روی آن‌ها مؤثر نبوده است.

معمول‌ترین مکان برای ماریپیچ آلفا سطح هسته‌های پروتئین است که یک رابط را برای تعامل با محیط آبی بیرون ایجاد می‌کند. قسمت داخلی ماریپیچ تمایل به داشتن آمینواسیدهای آب‌گریز و قسمت بیرون تمایل به داشتن آمینواسیدهای آب‌دوست دارد؛ بنابراین در طول ماریپیچ از هر چهار آمینواسید، سه آمینواسید آب‌گریز خواهند بود. سایر آمینواسیدهای موجود در هسته پروتئین و یا داخل غشای سلولی خاصیت آب‌گریزی دارند. به طور کلی ماریپیچ‌های قرار گرفته در سطح، تعداد کم‌تری آمینواسید آب‌گریز دارند. از این ویژگی می‌توان در پیش‌بینی ساختار پروتئین‌ها کمک گرفت. برای مثال نواحی با مقادیر بیشتر از آلانین، گلوتامین اسید، لوسین و متیونین و مقادیر کمتر از پرولین، گلیسین، تیروزین و سرین تمایل به تشکیل ماریپیچ آلفا دارند. ساختار صفحه‌های بتا، ساختار دوم بسیار کشیده و چین‌دار می‌باشد. یکی از تفاوت‌های مهم صفحه‌های بتا با ماریپیچ آلفا این است که اسیدآمینو‌هایی که معمولاً در ساختار اول زنجیره پروتئینی با فاصله زیاد از هم قرار گرفته‌اند، برای تشکیل این ساختار در مجاورت یکدیگر قرار می‌گیرند، بنابراین صفحه‌های بتا تمایل به سختی داشته و انعطاف‌پذیری ناچیزی دارند. پیوندهای هیدروژنی بین‌رشته‌ای که میان گروه‌های CO یک رشته بتا و NH رشته بتای مجاور ایجاد می‌شوند، به صفحات بتا پایداری می‌بخشند و باعث می‌شوند که این صفحات ظاهری زیگزاگ داشته باشند. بررسی ساختار دوم پروتئین ACP باکتری *Clostridioides difficile* 630 نشان داد که ساختار دوم پروتئین ACP گندم و این باکتری با هم متفاوت می‌باشد. زنجیره α و بتای این پروتئین در مقایسه با گندم بسیار بیشتر است و این پروتئین در پروکاریوت‌ها دارای انعطاف کمتر بوده و

سلول‌های پروکاریوت و یوکاریوت باشد (Misumi *et al.*, 2011; Labadorf *et al.*, 2010).

کنش این پروتئین با سایر پروتئین‌ها کمک کرده و زمینه‌ساز روشن شدن نحوه فعالیت آن در هر دو

REFERENCES

- Ali S, Morteza R, Mansour E (2014) Designing predictive models to determine the structure of the acyl carrier protein enzyme. Journal of qom university of medical sciences. 13-20.
- Brown AK, Sridharan S, Kremer L, Lindenberg S, Dover LG, Sacchettini JC, Besra GS (2005) Probing the mechanism of the Mycobacterium tuberculosis beta-ketoacyl-acyl carrier protein synthase III mtFabH: factors influencing catalysis and substrate specificity. J. Biol. Chem. 18: 54-63.
- Burge C. Karlin S (1997) Prediction of complete gene structures in human genomic DNA. J Mol. Biol. 268: 78- 94.
- Cao H (2011) Structure-function analysis of diacyl-glycerol acyltransferase sequences from 70 organism. BMC Research Notes. 4: 249-279.
- Carlson CS, Thomas DJ, Eberle MA, Swanson JE, Livingston RJ, Rieder MJ, Nickerson DA (2005) Genomic regions exhibiting positive selection identified from dense genotype data. Genome Research. 13: 120-131.
- Ferguson AA, Jiang N, Pack M (2011) Recycling and reshaping genes through GC-biased acquisition. Mobile Genetic Elements. 15: 2134- 2141.
- Guex N, Peitsch MC (1997) SWISS-MODEL and the Swiss-Pdb Viewer: an environment for comparative protein modeling. Electrophoresis. 18(15): 2714-2723.
- Hamblin MT, Thompson EE, Rienzo D (2002) Complex signatures of natural selection at the Duffy blood group locus. A. The American Journal of Human Genetics. 25: 1605-1612.
- Hongkai Bi, Lei Zhu JJ, John EC (2016) A biotin biosynthesis gene restricted to helicobacter. Science reports. 10.1038: 35-49.
- Huang G, Zhang L, Birch RG (2000) Characterization of the acyl carrier protein gene and the fab gene locus in *Xanthomonas albilineans*. FEMS. Microbiol. Lett. 19: 35-49.
- Kiyohito Y, Mikako H, Ryuji H, Takumi A, Hidetoshi O, Yoshitaka O, Tadashi N, Satoru S, Akio U, Naoki M (2016) Bacterial long- chain polyunsaturated fatty acid: their biosynthetic genes, and practical use. Marine drugs. 10.3390: 277-281.
- Kremer L, Nampoothiri KM, Lesjean S, Dover LG, Graham S, Betts J, Brennan PJ, Minnikin DE, Loch C (2001) Biochemical characterization of acyl carrier protein (ACPM) and malonyl-CoA: ACPM transacylase (mtFabD), two major components of Mycobacterium tuberculosis fatty acid synthase II. Besra, G.S. J. Biol. Chem. 7: 101-115.
- Labadorf A, Link A, Rogers MF (2010) Genome-wide analysis of alternative splicing in chlamydomonas reinhardtii. BMC Genomics. 11: 114- 124.
- Lovell SC, Davis IW, Arendall WB, de Bakker PI, Word JM, Prisant MG, Richardson DC (2003) Structure validation by C α geometry: ϕ , ψ and C β deviation. Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics. 50(3): 437-450.
- Mandal MN, Santha IM, Lodha ML, Mehta SL (2000) Cloning of acyl-acyl carrier protein (ACP) thioesterase gene from *Brassica juncea*. Biochem. Soc. Trans. 7: 89-98.
- Misumi C, Yoshida Y, Nishida K (2011) Genome analyses and its significance in four unicellular algae and Thalassiosira pseudonana. J. Plant. Res. 121: 3-17.
- Pettersen EF, Goddard TD, Huang CC, Couch GS, Greenblatt DM, Meng EC, Ferrin TE (2004). UCSF Chimera-a

- visualization system for exploratory research and analysis. *Journal of Computational Chemistry*. 25(13): 1605-1612.
- Rawlings M, Cronan JE (1992) The gene encoding *Escherichia coli* acyl carrier protein lies within a cluster of fatty acid biosynthetic genes. *J. Biol. Chem.* 21: 78-90.
- Schwede T, Kopp J, Guex N, Peitsch MC (2003) SWISS-MODEL: an automated protein homology-modeling server. *Nucleic Acids Research*. 31: 3381-3385.
- Williams AH, Immormino RM, Gewirth DT, Raetz CR (2006) Structure of UDP-N-acetylglucosamine acyltransferase with a bound antibacterial pentadecapeptide. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 12: 188-199.