

شناسایی آرگونات جدید در ژنوم توت‌فرنگی جنگلی (*Fragaria vesca*)

Identification of new argonaute gene in forest strawberry (*Fragaria vesca*)

محمدحسن شمس‌فرد^۱، خالد میرزایی^۱، بهمن بهرام‌نژاد^{۱*}

۱- به ترتیب دانشجویان کارشناسی‌ارشد و استادیار، دانشگاه کردستان

Shamsi Fard MH¹, Mirzaei K¹, Bahramnejad B^{*1}

1. MSc Students, Assistant Professor, University of Kurdistan, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: b.bahramnejad@uok.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۹۱/۷/۲۳ - تاریخ پذیرش: ۹۲/۷/۳۰)

چکیده

یکی از مهمترین پروتئین‌هایی که در بحث خاموشی ژن و ایجاد مولکول‌های RNA کوچک نقش فعال و بسزایی دارد، پروتئین‌های آرگونات هستند که فعالیت برشی اندونکلوئیتیکی برای بسیاری از آنها ثابت شده است. هدف از این تحقیق مطالعه بیوانفورماتیکی پروتئین‌های آرگونات موجود در گیاه توت‌فرنگی جنگلی با استفاده از روش‌های بیوانفورماتیکی است. توالی‌های نوکلئوتیدی ژن‌های آرگونات گیاه توت‌فرنگی جنگلی با استفاده از توالی‌های پروتئین‌های آرگونات آرکیدوپسیس، بوسیله BLAST از پایگاه اطلاعاتی مورد نظر دریافت شد، سپس هم‌ردیفی توالی‌ها، تصاویر سه بعدی، دامنه‌ها و درخت فیلوژنی این پروتئین‌ها مشخص شد و در انتها خصوصیات بیشتری از این پروتئین‌ها مورد بررسی قرار گرفت. این تحقیق نشان داد که توت‌فرنگی جنگلی دارای ۱۳ پروتئین آرگونات می‌باشد. این پروتئین‌ها در سه دسته مجزا قرار می‌گیرند. طول آنها بین ۸۴۵ اسید آمینه تا ۱۹۵۶ اسید آمینه متغیر بود. میانگین طول همه پروتئین‌های آرگونات در توت‌فرنگی جنگلی ۱۰۷۶ اسید آمینه است و میانگین وزن آن‌ها در توت‌فرنگی جنگلی ۱۲۰ کیلو دالتون است. این پروتئین‌ها دارای سه دامنه اصلی به نام‌های PAZ، MID و PIWI به صورت حفظ شده می‌باشند که پروتئین آرگونات شماره ۶ توت‌فرنگی جنگلی علاوه بر سه دامنه اصلی ذکر شده دامنه دیگری به نام GT₁-Sucrose-synthase را دارد. وجود این دامنه در پروتئین‌های آرگونات یک گیاه برای اولین بار گزارش می‌شود و تا به حال در سایر گیاهان و جانوران گزارش نشده است. نتایج این تحقیق نشان داد که پروتئین‌های آرگونات توت‌فرنگی جنگلی مانند آرگونات‌های آرکیدوپسیس در سه گروه مجزا قرار می‌گیرند که این موضوع نشان‌دهنده حفظ‌شدگی پروتئین‌های آرگونات در گیاهان متفاوت می‌باشد.

واژه‌های کلیدی

بیوانفورماتیک
پروتئین‌های آرگونات
توت‌فرنگی جنگلی
ژنوم

مقدمه

از میان تمام پروتئین‌های گیاهی، برخی از پروتئین‌ها به دلیل عملکردهای خاص شناسایی شده، بیشتر مورد توجه محققین قرار می‌گیرند. یکی از این گروه پروتئین‌ها، پروتئین‌های آرگونوات^۱ می‌باشند. خانواده پروتئین‌های آرگونوات ابتدا در گیاهان شناسایی شد ولی تقریباً در تمام یوکاریوت‌ها وجود دارند (Pare et al. 2011). اعضای این خانواده پروتئینی نقش‌های کلیدی در مسیر خاموش کردن ژن‌ها توسط siRNA ایفا می‌کنند (Traci et al. 2008; Joon song et al. 2006; Hock et al. 2005). این پروتئین‌های ۱۰۰ کیلو دالتونی (Garcia silva et al. 2010) بیشتر در سیتوپلاسم فعالیت می‌کنند اما گزارش‌هایی مبنی بر فعالیت آنها در هسته نیز منتشر شده است (Noto et al. 2010). پروتئین‌های مربوط به خانواده آرگونوات در ابتدا به عنوان پروتئین‌های PAZ شناخته می‌شدند ولی در ادامه برای متمایز کردن پروتئین‌های آرگونوات از پروتئین‌های دایسر (Dicer) به پروتئین‌های PPD^۲ تغییر نام دادند، در نهایت برای رفع ابهامات بین این پروتئین‌ها و پروتئین‌های برشی دیگر، واژه AGO برای نام‌گذاری این پروتئین‌ها انتخاب شد (Tolia et al. 2007; Hutvagner et al. 2008). پروتئین‌های آرگونوات به عنوان جزئی جدایی‌ناپذیر از تمام مولکول‌های RNA کوچک^۳ شناخته شده‌ای می‌باشند که در هدایت مسیرهای تنظیمی و نظارتی مهم موجود در سلول نقش دارند (Parker et al. 2006; Peters et al. 2007; Vaucheret et al. 2008). این پروتئین‌ها دارای یک دومین^۴ متصل شونده به RNA، به نام PAZ (PIWI/ Argonaut/Zwille) و یک دومین شبیه به RNase H، به نام PIWI هستند که فعالیت برشی اندونوکلویتیک^۵ دارند (Tahmasebi et al. 2010). کریستاله کردن کامل ساختار پروتئین‌های آرگونوات موجودات بزرگ هنوز به صورت کامل انجام نشده است. تنها دومین‌ها و ساختار کامل آرگونوات‌های مربوط به آرکنتی به وسیله کریستالوگرافی اشعه ایکس و اسپکتروسکوپی مغناطیسی رزونانس مولکولی از لحاظ

ساختار مورد مطالعه قرار گرفته شده است. نتایج آزمایشات انجام شده روی باکتری‌ها و جانوران نقش این دومین‌ها را مشخص کرده است. مولکول‌های RNA کوچک به همراه پروتئین‌های آرگونوات در تنظیم بیان ژن در سطوح مختلف نقش دارند که این سطوح عبارتند از سرکوبی ترجمه (در جانوران) و برش یا شکافتن RNA (در همه یوکاریوت‌ها) که در برخی از موارد تنظیم بیان ژن از طریق متیلاسیون DNA و کروماتینی شدن صورت می‌گیرد. تمام پروتئین‌های AGO دارای سه دومین PAZ، MID و PIWI می‌باشند و براساس روابط فیلوژنتیکی و ظرفیت آنها در اتصال مولکول‌های RNA کوچک به سه گروه اصلی تقسیم می‌شوند. اعضا گروه اول شامل آن دسته از پروتئین‌هایی هستند که به میکرو RNA ها^۶ و مولکول‌های RNA کوچک مداخله‌گر^۷ متصل می‌شوند و به پروتئین‌های AGO معروف هستند. گروه دوم پروتئین‌های PIWI هستند که با مولکول‌های RNA متصل شونده با دومین PIWI ((PIWI-interacting RNAs (piRNAs) برهم‌کنش دارند. اعضا گروه سه فقط در خزندگان توصیف شده‌اند و به siRNAs ها متصل می‌شوند (Yigit et al. 2006). تعداد و تنوع پروتئین‌های آرگونوات در بین موجودات مختلف بسیار متفاوت است به طور مثال در مخمر *Schizosaccharomyces pombe* یک پروتئین AGO و در نماتد *Caenorhabditis elegans* ۲۷ پروتئین گزارش شده است. همچنین در آرابیدوپسیس و برنج به ترتیب ۱۰ و ۱۸ عدد یافت شده است. اکثر پروتئین‌های آرگونوات موجود در گیاهان از نوع AGO می‌باشند. در بین گیاهانی که پروتئین‌های آرگونوات موجود در آنها مورد بررسی قرار گرفته آرابیدوپسیس^۸ می‌باشد. این گیاه به عنوان گیاه مدل دوطپه‌ای‌ها، دارای ۱۰ پروتئین آرگونوات در سه کلاس فیلوژنتیکی می‌باشد (Morel et al. 2002; Mallory et al 2009).

توت‌فرنگی جنگلی^۹ دارای سطح پلوئیدی $2n = 2x = 14$ می‌باشند در اکثر کشورهای اروپایی و آسیایی کشت می‌شود و در گستره دمایی مختلف قابلیت رشد دارد. همچنین به طور گسترده این گیاه

¹ Argonaute proteins² PAZ PIWI domain³ Small RNAs⁴ Domain⁵ Endonucleolytic⁶ MicroRNA⁷ Small interfering RNAs⁸ *Arabidopsis thaliana*⁹ *Fragaria vesca*

رسم ساختار سه‌بعدی

ساختار سه‌بعدی پروتئین‌های Fv-AGO1، Fv-AGO5 و Fv-AGO10 که از سه کلاس مختلف فیلوژنی می‌باشد به کمک نرم‌افزارهای PHYRE2 (Kelley et al. 2009) و YASARA رسم شد.

نتایج و بحث

ژنوم توت‌فرنگی جنگلی در سال ۲۰۰۹ به طور کامل تعیین توالی شد (Shulaev et al. 2011)، اما هنوز وظایف و کارکرد ژن‌های موجود در ژنوم آن مشخص نشده است و اطلاعات مربوط به ژنوم این گیاه به صورت اطلاعات اولیه می‌باشد. توت‌فرنگی جنگلی دارای ژنوم نسبتاً کوچکی است (حدود ۲۴۰ Mb) و حدود ۳۴۸۰۹ ژن در ژنوم آن وجود دارد (Shulaev et al. 2011). این تحقیق نشان داد که توت‌فرنگی جنگلی دارای ۱۳ پروتئین آرگونوات می‌باشد که E-value آنها بین صفر تا ۴/۲۶-۱۲۶ درصد تشابه بین توالی‌های پروتئین‌های آرگونوات آراییدوپسیس با توالی‌های توت‌فرنگی جنگلی بین ۷۷-۳۳ درصد می‌باشد. پروتئین‌های آرگونوات توت‌فرنگی جنگلی ویژگی‌های کلی پروتئین‌های آرگونوات مانند دومین‌های اصلی و قرار گرفتن در سه کلاس فیلوژنتیکی را دارا می‌باشند. با توجه به این که مطالعات زیادی روی آرگونوات‌ها در گیاه آراییدوپسیس انجام و این گیاه به عنوان یک گیاه مدل شناخته شده لذا گروه‌بندی این پروتئین‌ها در آراییدوپسیس با توت‌فرنگی جنگلی مقایسه شد. رسم دندروگرام‌های مجزا برای توالی‌های توت‌فرنگی جنگلی و آراییدوپسیس نیز نشان داد که این پروتئین‌ها در سه کلاس مجزا قرار می‌گیرند که از توت‌فرنگی جنگلی AGOهای ۳، ۴، ۵، ۶ و ۱۱ در دسته اول، AGOهای یک و دو در دسته دوم و AGOهای ۷، ۸، ۹، ۱۰، ۱۲ و ۱۳ در دسته سوم قرار گرفته‌اند. در آراییدوپسیس AGOهای یک، ۵ و ۱۰ در دسته اول، AGOهای ۷، ۲ و ۳ در دسته دوم و AGOهای ۴، ۶، ۸ و ۹ در دسته سوم قرار گرفته‌اند (شکل ۱). دندروگرام حاصل از ترکیب توالی‌های دو گیاه، قرارگرفتن پروتئین‌های ذکر شده را در دسته‌های مشخص شده تایید کرد (شکل ۲). علت اینکه این توالی‌ها در سه دسته مختلف قرار می‌گیرند وجود ویژگی حفاظت شده در دومین‌ها می‌باشد.

به عنوان یک سیستم ژنومیکی مرجع برای خانواده رزاسه^۱ می‌باشد (Shulaev et al. 2011) ژنوم این گیاه به تازگی تعیین توالی شده است (Shulaev et al. 2009). تاکنون مطالعه‌ای بر روی پروتئین‌های آرگونوات توت‌فرنگی جنگلی انجام نشده است و هدف از این تحقیق بررسی بیوانفورماتیکی این پروتئین‌ها در توت‌فرنگی جنگلی و مقایسه آن با آرگونوات‌های آراییدوپسیس می‌باشد.

مواد و روش‌ها

جستجوی توالی پروتئین‌های آرگونوات

توالی‌های اسیدآمینه‌ی مربوط به پروتئین‌های آرگونوات گیاه آراییدوپسیس با جستجوی پروتئین آرگونوات آراییدوپسیس از قسمت پروتئین سایت NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov) دریافت شد. برای دریافت توالی‌های توت‌فرنگی جنگلی از قسمت blastP پایگاه اطلاعاتی ژنوم توت‌فرنگی جنگلی (<https://blastp.strawberry.plantandfood.co.nz/cgi-bin/nph-blast.cgi?Jform=0>) استفاده شد. با بلاست توالی‌های آرگونوات آراییدوپسیس علیه ژنوم توت‌فرنگی توالی‌ها انتخاب شدند.

همردیفی و مشخص کردن مناطق حفظ شده

همردیفی^۲ توالی‌های پروتئین‌های آرگونوات بدست آمده از آراییدوپسیس و توت‌فرنگی جنگلی با استفاده از نرم‌افزار ClustalW (Thompson et al. 1994) انجام شد.

رسم فیلوژنی

نتایج همردیفی حاصل از نرم‌افزار ClustalW به نرم‌افزار MEGA4 (Tamura et al. 2007) داده شد و با روش نزدیکترین همسایگی و با بوت استرپ ۱۰۰ رابطه فیلوژنی مربوط به توالی‌های توت‌فرنگی جنگلی و آراییدوپسیس رسم شد.

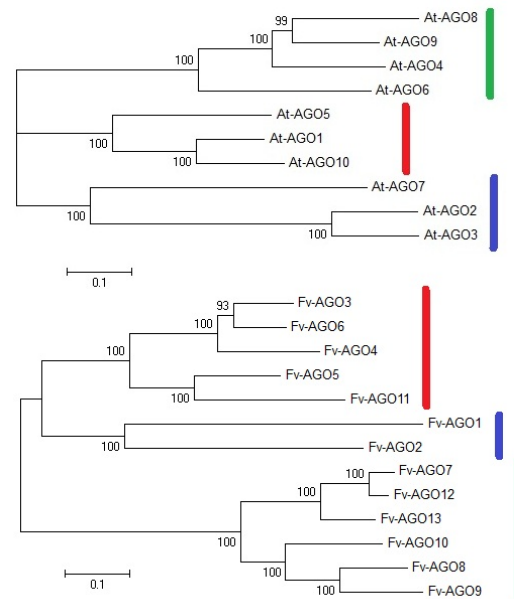
رسم دومین‌های حفاظت شده

دومین‌های حفاظت شده پروتئین‌های آرگونوات گیاه توت‌فرنگی جنگلی با استفاده از تست CDD^۳ مربوط به سایت NCBI همچنین با تجزیه و تحلیل مناطق حفظ شده روی توالی‌ها، با نرم‌افزار BioEdit، مشخص و رسم شد.

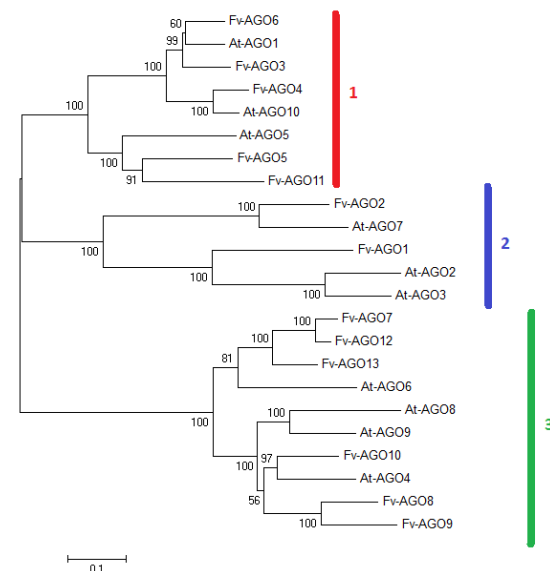
^۱ Rosaceae

^۲ Alignment

^۳ Conserved domain database



شکل ۱- دندروگرام‌های مربوط به پروتئین‌های آرگونات در گیاه آرابیدوپسیس *A.thaliana* و توت‌فرنگی جنگلی *F.vesca* به صورت مجزا



شکل ۲- دندروگرام مربوط به توالی‌های توت‌فرنگی جنگلی *F.vesca* و آرابیدوپسیس *A.thaliana* با استفاده از روش Neighbor joining.

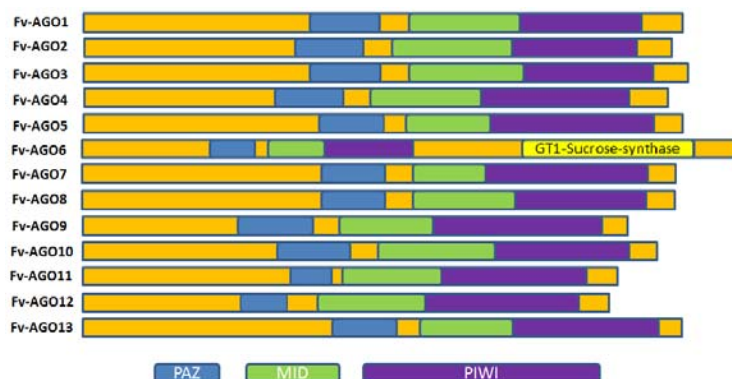
دلیل دیگر قرارگیری این پروتئین‌ها در سه دسته را می‌توان به تفرق و تفکیک شدن گیاهان از یک منشا مشترک ربط داد. این پروتئین‌ها در طول تکامل و تفرق گونه‌های مختلف گیاهی این پروتئین‌ها به صورت حفاظت شده باقی مانده‌اند. مطالعات بیوشیمیایی پروتئین‌های آرگونات در برخی از موجودات نشان داده که هرکدام از پروتئین‌های AGO وظیفه خاصی دارند که در بعضی از گیاهان مانند آرابیدوپسیس وظیفه مولکولی آنها مشخص

با توجه به نتایج توالی‌های هم‌ردیف شده‌ای که در یک دسته قرار می‌گیرند می‌توان به وجود توالی‌های حفاظت‌شده از نظر ترتیب و نوع اسیدهای آمینه تشکیل دهنده این توالی‌ها مربوط می‌باشد پی‌برد که در آن توالی‌هایی که در یک دسته قرار می‌گیرند از ترکیب و ترتیب مشابه‌تری نسبت به سایر توالی‌ها برخوردار هستند که می‌تواند دلیلی برای تقسیم شدن این توالی‌ها به سه دسته مجزا باشد.

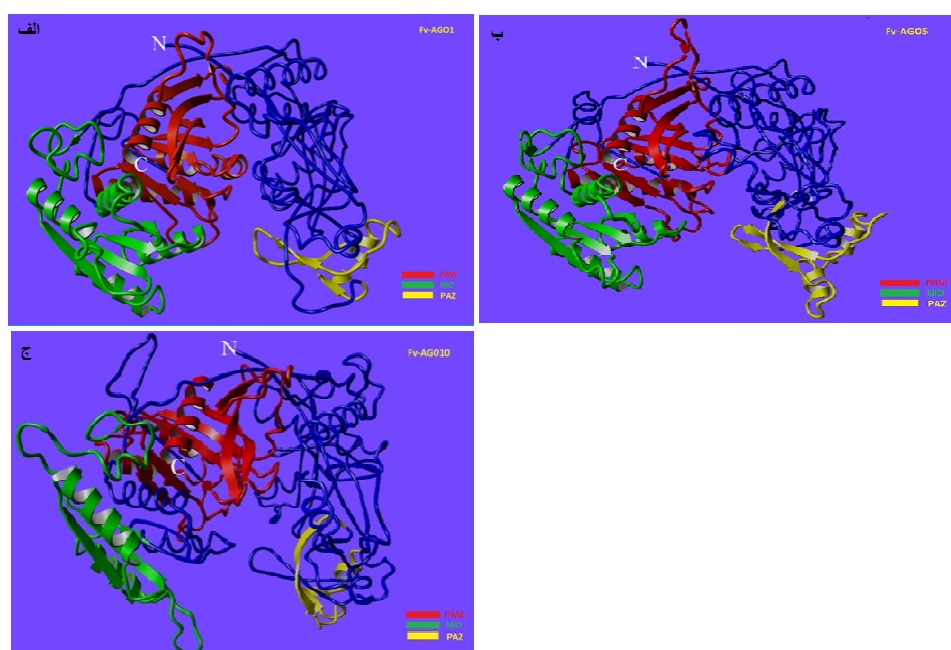
شده است، به عنوان مثال آرگونات‌های شماره ۴ و ۶ آرآبیدوپسیس وظیفه خاموشی هتروکروماتینی را به عهده دارند (Hutvagner et al. 2008).

بررسی‌های صورت گرفته روی دومین‌های حفاظت شده این پروتئین‌ها نشان داد که پروتئین‌های آرگونات موجود در توت‌فرنگی جنگلی دارای سه دومین اصلی به نام‌های PAZ، MID و PIWI می‌باشند که دومین PIWI به عنوان بزرگترین و دومین PAZ به عنوان کوچکترین دومین حفظ شده در این پروتئین‌ها می‌باشد. تحقیقات نشان داده که دومین MID به انتهای فسفات ۵' از مولکول‌های RNA کوچک متصل می‌شود و نقش نگهدارنده مولکول‌های RNA کوچک را بازی می‌کند و به علاوه این دومین در برهمکنش‌های بین پروتئین-پروتئین نیز دخالت دارد و به عنوان یک عضو ضروری در این برهمکنش‌ها به کار می‌رود. مطالعه دومین‌های PAZ نشان داده که این دومین حاوی یک جایگاه اتصال مجزا و نگهدارنده برای دو نوکلئوتید انتهایی ۳' از RNAهای کوچک حاصل از برش RNase III می‌باشند. دومین PIWI ساختاری شبیه به آنزیم RNase H با فعالیت اندونوکلئازی دارد که جایگاه فعال این دومین حاوی موتیف‌های Asp-His (Parker et al. 2006; Peters et al. 2007; Vaucheret et al. 2008) است. در پروتئین آرگونات شماره ۶ توت‌فرنگی جنگلی علاوه بر سه دومین اصلی ذکر شده دومین دیگری به نام GT₁-Sucrose-synthase نیز موجود می‌باشد که وجه تمایز این پروتئین با سایر پروتئین‌های آرگونات توت‌فرنگی جنگلی و آرآبیدوپسیس می‌باشد (شکل ۳). این دومین به عنوان عضوی از خانواده GT₁ از گلیکوزیل ترانسفرازها محسوب می‌شود. گلیکوزیل ترانسفرازها وظیفه انتقال قند از مولکول‌های فعال‌دهنده به مولکول‌های اختصاصی پذیرنده از طریق ایجاد باندهای گلیکوزیدی را بر عهده دارند. مولکول‌های پذیرنده می‌توانند چربی، پروتئین، ترکیبات هتروسیکلیک و یا سایر کربوهیدرات‌ها باشند. سوکرز فسفات سینتاز موجود در این خانواده مختص گیاهان و باکتری‌های فتوسنتز کننده می‌باشد. این آنزیم وظیفه سنتز سوکرز ۶ فسفات از فروکتوز ۶ فسفات و یوریدین ۵' دی فسفات گلوکز را به عهده دارد که مرحله تنظیمی کلیدی در متابولیسم سوکرز محسوب می‌شود. فعالیت این آنزیم

به وسیله فسفوریلاسیون تنظیم می‌شود و غلظت متابولیت‌های مختلف و نور نیز روی آن تاثیرگذار است. این دومین با شماره شناسایی cd03800 در سایت NCBI موجود می‌باشد. G مخفف گلیکوزیل و T مخفف ترانسفراز می‌باشد. این دومین به عنوان عضوی از خانواده گلیکوزیل ترانسفرازها محسوب می‌شود که حدود ۴۴ عضو یا زیر مجموعه دارد (Verma et al. 2008). دلیل وجود این دومین در یکی از پروتئین‌های آرگونات توت‌فرنگی جنگلی موضوعی است که نیازمند تحقیق و بررسی بیشتر روی این دومین و پروتئین مربوطه می‌باشد. نتیجه بلاست پروتئین آرگونات شماره ۶ توت‌فرنگی جنگلی (که حاوی دومین GT₁-Sucrose-synthase می‌باشد) با برخی از گیاهان دیگر از قبیل آرآبیدوپسیس، ذرت و سویا و همچنین بررسی پروتئین‌های آرگونات سایر گیاهان نشان داد که این دومین فقط در پروتئین آرگونات شماره ۶ توت‌فرنگی جنگلی می‌باشد و در پروتئین‌های آرگونات سایر گیاهان مشاهده نشد. برای بررسی بیشتر پروتئین آرگونات شماره ۶ توت‌فرنگی جنگلی EST database و همچنین protein database این گیاه از طریق سایت <http://www.rosaceae.org> بررسی شد و از صحت توالی دریافتی و همچنین وجود دومین متمایز در این پروتئین اطمینان حاصل شد. تصاویر سه بعدی بدست آمده از سه پروتئین آرگونات توت‌فرنگی جنگلی که هر کدام در یکی از سه دسته مجزا قرار گرفته‌اند نشان داد که محل قرار گرفتن دومین‌ها از لحاظ ساختار فضایی در یک جایگاه مشابه می‌باشد و تفاوت آنها در میزان توسعه‌یافتگی و تعداد صفحات بتا و پیچ‌های آلفا در ساختار فضایی آنها می‌باشد. دومین‌ها در ساختار سه بعدی رسم شده و در مناطق سطحی پروتئین قرار گرفته‌اند. همانطور که ساختار سه بعدی و نحوه قرارگیری دومین‌ها در ساختار سه بعدی نشان می‌دهد دو دومین PAZ و MID در دو طرف توالی RNA کوچک را گرفته و دومین PIWI که کار برش را انجام می‌دهد و فعالیت اندونوکلئازی دارد باعث برش توالی‌های مورد نظر می‌شود (شکل ۴). بررسی سایر خصوصیات این پروتئین‌ها که شامل طول، وزن، محتوای ریشه‌ها نشان داد که طول این پروتئین‌ها در توت‌فرنگی جنگلی بین ۸۴۵ (Fv-AGO12) اسیدآمین تا ۱۹۵۶ (Fv-AGO6) اسیدآمین می‌باشد که میانگین طول این پروتئین‌ها در توت‌فرنگی



شکل ۳- دومین‌های مربوط به پروتئین‌های آرگونات در توت‌فرنگی جنگلی *F. vesca* با استفاده از نرم‌افزار CDD



شکل ۴- تصویر سه بعدی Fv-AGO1 (الف)، Fv-AGO5 (ب) و Fv-AGO10 (ج) که با استفاده از نرم‌افزارهای PHYRE₂ و Yasasra رسم شده است. مناطق زرد رنگ مربوط به دومین PAZ، مناطق قرمز رنگ مربوط به دومین PIWI و مناطق سبز رنگ مربوط به دومین MID می‌باشد. مناطق انتهایی N و C نیز مشخص شده است.

پروتئین‌های آرگونات آرابیدوپسیس ۷۸/۴۲ می‌باشد که نشان دهنده مقاومت حرارتی بالای پروتئین‌های آرگونات توت‌فرنگی وحشی نسبت به آرگونات پروتئین‌های آرابیدوپسیس می‌باشد. میانگین محتوای ریشه‌های هیدروفوبیک و هیدروفیلیک، میانگین محتوای بار ریشه‌های منفی و مثبت و میانگین تعداد صفحات آلفا و بتا به ترتیب ۰/۲۷، ۰/۱، ۰/۱۲، ۳۰ و ۴۰ می‌باشد (جدول ۱). با توجه به این حقیقت که پروتئین‌های AGO برای اولین بار ۱۴ سال پیش در گیاهان شناسایی شدند ولی فقط بعضی از پروتئین‌های AGO خانواده آرابیدوپسیس به صورت عمیق و دقیق

جنگلی ۱۰۷۶ اسیدآمینه است که از میانگین طول پروتئین‌های آرگونات در آرابیدوپسیس با طول ۹۷۸ اسیدآمینه بیشتر است. وزن آنها بین ۹۴/۶۷۹ کیلو دالتون (Fv-AGO12) تا ۲۱۸/۱۵۶ کیلو دالتون (Fv-AGO6) است که میانگین وزن این پروتئین‌ها در توت‌فرنگی جنگلی ۱۲۰ کیلو دالتون است و از میانگین وزن پروتئین‌های آرابیدوپسیس با وزن ۱۰۹ کیلو دالتون بیشتر است. میانگین نقطه ایزوالکتریک در پروتئین‌های آرگونات توت‌فرنگی جنگلی ۰/۴۷ می‌باشد. همچنین میانگین شاخص آلیفاتیک پروتئین‌های آرگونات توت‌فرنگی جنگلی برابر ۸۰/۷۶ و در

جدول ۱- سایر ویژگی‌های پروتئین‌های آرگونوات در گیاه توت‌فرنگی جنگلی *F. Vesca* و آرابیدوپسیس *A. thaliana* طول بر حسب اسیدآمینه و وزن بر حسب کیلوالتون.

تعداد مارپیج الفا و صفحات بتا	محتوای بار ریشه‌ها		محتوای ریشه‌های		شاخص	نقطه	وزن	طول	ID ژن	نام
			هیدروفوبیک و هیدروفیلیک	الیفاتیک						
بتا	الفا	مثبت	منفی	هیدروفوبیک	هیدروفیلیک					
36	29	0.128	0.102	0.27	0.483	74.516	9.44	117.875	1063	Fv-AGO 1
33	38	0.132	0.101	0.273	0.458	80.442	9.39	115.705	1019	Fv-AGO 2
29	33	0.122	0.094	0.272	0.477	74.092	9.42	120.438	1090	Fv-AGO 3
39	32	0.133	0.098	0.271	0.473	80.933	9.46	112.714	1007	Fv-AGO 4
37	30	0.145	0.093	0.271	0.466	77.551	9.95	119.767	1070	Fv-AGO 5
65	62	0.119	0.104	0.265	0.489	77.515	9.03	218.156	1956	Fv-AGO 6
50	24	0.128	0.099	0.27	0.485	87.005	9.46	118.687	1065	Fv-AGO 7
46	28	0.125	0.103	0.286	0.467	81.437	9.32	120.329	1079	Fv-AGO 8
36	26	0.135	0.095	0.273	0.476	80.518	9.63	100.229	888	Fv-AGO 9
40	22	0.122	0.111	0.272	0.475	83.159	8.92	108.259	975	Fv-AGO 10
31	26	0.127	0.101	0.274	0.468	80.551	9.43	94.968	853	Fv-AGO 11
39	19	0.127	0.115	0.254	0.483	86.331	8.89	94.679	845	Fv-AGO 12
50	24	0.13	0.103	0.265	0.483	85.917	9.41	120.083	1080	Fv-AGO 13
33	30	0.124	0.094	0.279	0.477	74.494	9.48	116.19	1048	At-AGO 1
45	22	0.148	0.113	0.242	0.477	70.227	9.65	113.422	1014	At-AGO 2
51	25	0.135	0.11	0.243	0.49	70.461	9.51	129.183	1194	At-AGO 3
42	26	0.123	0.104	0.275	0.476	80.271	9.25	102.839	924	At-AGO 4
38	26	0.136	0.1	0.287	0.454	78.857	9.63	111.087	997	At-AGO 5
46	15	0.124	0.11	0.264	0.475	84.681	8.92	98.68	878	At-AGO 6
31	33	0.133	0.1	0.278	0.449	81.98	9.43	113.395	990	At-AGO 7
35	20	0.118	0.096	0.293	0.462	82.435	9.18	95.506	850	At-AGO 8
37	23	0.124	0.099	0.277	0.479	80.692	9.35	100.523	896	At-AGO 9
38	31	0.135	0.098	0.277	0.465	80.192	9.51	110.866	988	At-AGO 10

منابع

- Garcia Silva MR, Tosar JP, Frugier M, Cayota A (2010) Cloning, characterization and subcellular localization of a *rypanosoma cruzi* argonaute protein defining a new subfamily distinctive of trypanosomatids. *Gene* 466:26-35.
- Hock J, Meister G (2008) The Argonaute protein family. *Genome Biology* 9:210-218.
- Hutvagner G, Simard MJ (2008) Argonaute proteins: key players in RNA silencing. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 9:22-32.
- Joon Song J, Leemor Joshua T (2006) Argonaute and RNA-getting into the groove. *Current Opinion in Structural Biology* 16:5-11.
- Kelley LA, Sternberg MJ (2009) Protein structure prediction on the web: a case study using the phyre server. *Nature Protocols* 4:363- 371.
- Mallory A, Hinze A, Tucker M, Bouche N, Gascioli V, Elmayer T, Lauressergues D, Jauvion V, Vaucheret H, Laux T (2009) Redundant and specific roles of the argonaute proteins AGO1 and ZLL in development and small RNA directed gene silencing. *PLoS Genetics* 5:1-12.

مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و وظایف نیمی از اعضای خانواده پروتئین‌های AGO هنوز ناشناخته است. بنابراین بسیاری از پرسش‌های بنیادی در مورد وظایف این خانواده ژنی بزرگ در گیاهان هنوز بدون پاسخ مانده است که این موضوع می‌تواند زمینه تحقیقاتی جذابی برای بیشتر پژوهشگران باشد. نتیجه این مطالعه به طور کلی نشان داد که توت‌فرنگی جنگلی نیز مانند بیشتر موجودات زنده دارای پروتئین‌های آرگونوات می‌باشد که از نظر ویژگی‌های کلی با پروتئین‌های آرگونوات سایر گیاهان تشابه زیادی دارند اما نکته بارز و اساسی پروتئین‌های آرگونوات توت‌فرنگی جنگلی، وجود پروتئین آرگونوات تمایز یافته جدیدی در ژنوم آن می‌باشد که می‌تواند موضوع جذابی برای تحقیقات بعدی در زمینه پروتئین‌های آرگونوات توت‌فرنگی جنگلی باشد.

- Morel JB, Eroda C, Neroze F (2002) Fertile hypomorphic argonaute (AGO1) mutants impaired in post-transcriptional gene silencing and virus resistance. *Plant Cell* 14:629-639.
- Noto T, Kurt HM, Kataoka K, Aronica L, Desoza L, Siu KW, Pearleman R, Grovesky MA, Mochizoki K (2010) The Tetrahymena argonaute-binding protein Giw1p directs a mature argonaute-siRNA complex to the nucleus. *Cell* 140:692-703.
- Pare JM, Orozco JL, Hobman TC (2011) MicroRNA-binding is required for recruitment of human argonaute 2 to stress granules and P-bodies. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 414:259-264.
- Parker JS, Barford D (2006) Argonaute: a scaffold for the function of short regulatory RNAs. *Trends in Biochemical Sciences* 31:622-630.
- Peters L, Meister M (2007) Argonaute proteins: mediators of RNA silencing. *Molecular Cell* 26:611-623.
- Shulaev V, Sargent DJ, Crowhurst RN, Mokler TC, Folkertes O, Delcher AL, Veileux R, Folta KM (2011) The genome of woodland strawberry (*Fragaria vesca*). *Nature Genetics* 43:109-117.
- Tahmasebi A, Zangane M (2010) Interaction of RNA silencing in plants with plant viruses. *Genetics in the Third Millennium* 3:2095-2105 (in farsi).
- Tamura K, Dudley J, Nei M, Kumar S (2007) MEGA4: Molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular Biology and Evolution* 24:1596-1599.
- Thompson JD, Higgins DG, Gibson TJ (1994) Clustal W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignments through sequence weighting, position specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research* 22:4673-4680.
- Tolia NH, Joshua TL (2007) Slicer and the argonautes. *Nature Chemical Biology* 3:36-43.
- Traci M, Hall T (2005) Structure and function of argonaute proteins. *Structure* 13:1403-1408.
- Vaucheret H (2008) Plant argonautes. *Trends in Plant Science* 7:350-358.
- Verma AK (2011) Plant functional analysis of sucrose phosphate synthase (SPS) and sucrose synthase (SS) in sugarcane (*Saccharum*) cultivars. *Plant Biology* 2:325-332.
- Yigit E, Batista PJ, Bei Y, Pang KM, Chen CC, Tolia NH, Joshua TL, Mitani S, Simard MJ, Mello CC (2006) Analysis of the *Caenorhabditis elegans* argonaute family reveals that distinct argonautes act sequentially during RNAi. *Cell* 127:747-757.