

شناسایی آرگونات جدید در ژنوم توت فرنگی جنگلی (*Fragaria vesca*)

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

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

۱- به ترتیب دانشجویان کارشناسی ارشد 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 اندونکلئولیتیکی برای بسیاری از آنها ثابت شده است. هدف از این تحقیق مطالعه بیوانفورماتیکی پروتئین‌های آرگونات موجود در گیاه توت فرنگی جنگلی با استفاده از روش‌های بیوانفورماتیکی است. توالی‌های نوکلئوتیدی ژن‌های آرگونات گیاه توت فرنگی جنگلی با استفاده از توالی‌های پروتئین‌های آرگونات آراییدوپسیس، بوسیله BLAST از پایگاه اطلاعاتی مورد نظر دریافت شد، سپس همراهی با توالی‌ها، تصاویر سه بعدی، دامنه‌ها و درخت فیلوزنی این پروتئین‌ها مشخص شد و در انها خصوصیات بیشتری از این پروتئین‌ها مورد بررسی قرار گرفت. این تحقیق نشان داد که توت فرنگی 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 توت فرنگی جنگلی ۱۰۷۶ اسید آمینه است و میانگین وزن آن‌ها در توت فرنگی جنگلی ۱۲۰ کیلو دالتون است. این پروتئین‌ها دارای سه دامنه اصلی به نام‌های PIWI و MID و PAZ به صورت حفظ شده می‌باشند که پروتئین آرگونات شماره ۶ توت فرنگی 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 توت فرنگی جنگلی مانند آرگونات‌های آراییدوپسیس در سه گروه مجزا قرار می‌گیرند که این موضوع نشان‌دهنده حفظ شدگی پروتئین‌های آرگونات در گیاهان متفاوت می‌باشد.

واژه‌های کلیدی

بیوانفورماتیک
پروتئین‌های آرگونات
توت فرنگی جنگلی
ژنوم

مقدمه

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 آرگونات 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 پروتئین‌هایAGO دارای سه دومین PAZ، MID و PIWI می‌باشند و براساس روابط فیلوزنیکی 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^۶ و مولکول‌های RNA کوچک مداخله گر^۷ متصل می‌شوند و به پروتئین‌هایAGO معروف هستند. گروه دوم پروتئین‌های PIWI هستند که با مولکول‌های RNA متصل شونده (PIWI-interacting RNAs (piRNAs)) با دومین PIWI برهم‌کنش دارند. اعضا گروه سه فقط در خزندگان توصیف شده‌اند و به siRNAs^۸ ها متصل می‌شوند (Yigit et al. 2006). تعداد و تنوع پروتئین‌های آرگونات در بین موجودات مختلف Schizosaccharomyces pombe یک پروتئینAGO و در نماتد Caenorhabditis elegans^۹ و در آرابیدوپسیس^{۱۰} به ترتیب ۱۰ و ۱۸ عدد یافت شده است. اکثر پروتئین‌های آرگونات موجود در گیاهان از نوعAGO می‌باشند. در بین گیاهانی که پروتئین‌های آرگونات موجود در آنها مورد بررسی قرار گرفته آرابیدوپسیس^{۱۱} می‌باشد. این گیاه به عنوان گیاه مدل دولپه‌ای‌ها، دارای ۱۰ پروتئین آرگونات در سه کلاس فیلوزنیکی می‌باشد (Morel et al. 2002; Mallory et al 2009).

توت فرنگی جنگلی^۹ دارای سطح پلوئیدی $2n = 2x = 14$ ^{۱۲} می‌باشد در اکثر کشورهای اروپایی و آسیایی کشت می‌شود و در گستره دمایی مختلف قابلیت رشد دارد. همچنین به طور گسترده این گیاه

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 آرگونات^۱ می‌باشند. خانواده پروتئین‌های آرگونات 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^۲ ایفا می‌کنند (Traci et al. 2005; Joon song et al. 2006; Hock et al. 2008) 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 PAZ مربوط به خانواده آرگونات در ابتدا به عنوان پروتئین‌های شناخته می‌شدند ولی در ادامه برای تمایز کردن پروتئین‌های آرگونات از پروتئین‌های دایسر (Dicer) به پروتئین‌های PPD^۳ تغییر نام دادند، در نهایت برای رفع ابهامات بین این پروتئین‌ها و پروتئین‌های برشی دیگر، واژهAGO برای نام‌گذاری این (Tolia et al. 2007; Hutvagner et al. 2008) پروتئین‌ها انتخاب شد. تمام مولکول‌های RNA کوچک^۴ شناخته شده‌ای می‌باشند که در هدایت مسیرهای تنظیمی و ناظری مهم موجود در سلول نقش (Parker et al. 2006; Peters et al. 2007; Vaucheret et al. 2008) این پروتئین‌ها دارای یک دومین^۵ متصل شونده به RNA، به نام (PIWI/ Argonaut/Zwille)^۶ و یک دومین PAZ (PIWI/ Argonaut/Zwille) شبیه به H RNase^۷، به نام PIWI هستند که فعالیت برشی آن دونوکلئولیتیکی^۸ دارند (Tahmasebi et al. 2010). کریستاله کردن کامل ساختار پروتئین‌های آرگونات موجودات بزرگ هنوز به صورت کامل انجام نشده است. تنها دومین‌ها و ساختار کامل آرگونات‌های مربوط به آرکتی به وسیله کریستالوگرافی اشعه ایکس و اسپکتروسکوپی مغناطیسی رزونانس مولکولی از لحاظ

¹ Argonaute proteins² PAZ PIWI domain³ Small RNAs⁴ Domain⁵ Endonucleolytic⁶ MicroRNA⁷ Small interfering RNAs⁸ Arabidopsis thaliana⁹ Fragaria vesca

رسم ساختار سه بعدی Fv-AGO1 و Fv-AGO5 که از سه کلاس مختلف فیلوژنی می باشد به کمک نرم افزارهای YASARA (Kelley et al. 2009) و PHYRE2 (Shulaev et al. 2011) رسم شد.

نتایج و بحث

ژنوم توت فرنگی جنگلی در سال ۲۰۰۹ به طور کامل تعیین توالی شد (Shulaev et al. 2011)، اما هنوز وظایف و کارکرد ژن های موجود در ژنوم آن مشخص نشده است و اطلاعات مربوط به ژنوم این گیاه به صورت اطلاعات اولیه می باشد. توت فرنگی جنگلی دارای ژنوم نسبتا کوچکی است (حدود ۴۴۰ Mb) و حدود ۳۴۸۰۹ ژن در ژنوم آن وجود دارد (Shulaev et al. 2011). این تحقیق نشان داد که توت فرنگی جنگلی دارای ۱۳ پروتئین آرگونات می باشد که E-value آنها بین صفر تا ۱۲۶ و درصد تشابه بین توالی های پروتئین های آرگونات آراییدوپسیس با توالی های توت فرنگی جنگلی بین ۷۷-۳۳ درصد می باشد. پروتئین های آرگونات توت فرنگی جنگلی ویژگی های کلی پروتئین های آرگونات مانند دومین های اصلی و قرار گرفتن در سه کلاس فیلوژنیکی را دارا می باشند. با توجه به این که مطالعات زیادی روی آرگونات ها در گیاه آراییدوپسیس انجام و این گیاه به عنوان یک گیاه مدل شناخته شده لذا گروه بندی این پروتئین ها در آراییدوپسیس با توت فرنگی جنگلی مقایسه شد. رسم دندروگرام های مجزا برای توالی های توت فرنگی جنگلی و آراییدوپسیس نیز نشان داد که این پروتئین ها در سه کلاس مجزا قرار می گیرند که از توت فرنگی جنگلیAGO های ۳، ۴، ۵، ۶ و ۱۱ در دسته اول،AGO های ۷، ۸، ۹ و ۱۰ در دسته دوم وAGO های ۱۲، ۱۰، ۹، ۸ و ۱ در دسته سوم قرار گرفته اند. در آراییدوپسیسAGO های ۱۳ در دسته سوم قرار گرفته اند. در آراییدوپسیسAGO های ۱، ۵ و ۱۰ در دسته اول،AGO های ۲، ۷ و ۳ در دسته دوم وAGO های ۴، ۶ و ۹ در دسته سوم قرار گرفته اند (شکل ۱). دندروگرام حاصل از ترکیب توالی های دو گیاه، قرار گرفتن پروتئین های ذکر شده را در دسته های مشخص شده تایید کرد (شکل ۲). علت اینکه این توالی ها در سه دسته مختلف قرار می گیرند وجود ویژگی حفاظت شده در دومین ها می باشد.

به عنوان یک سیستم ژنومیکی مرجع برای خانواده رزاسه^۱ می باشد (Shulaev et al. 2011) ژنوم این گیاه به تازگی تعیین توالی شده است (Shulaev et al. 2009). تاکنون مطالعه ای بر روی پروتئین های آرگونات توت فرنگی جنگلی انجام نشده است و هدف از این تحقیق بررسی بیوانفورماتیکی این پروتئین ها در توت فرنگی جنگلی و مقایسه آن با آرگونات های آراییدوپسیس می باشد.

مواد و روش ها

جستجوی توالی پروتئین های آرگونات توالی های آرگونات آراییدوپسیس با جستجوی پروتئین آرگونات آراییدوپسیس از قسمت پروتئین سایت NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov) دریافت شد. برای دریافت توالی های توت فرنگی جنگلی از قسمت blastP پایگاه اطلاعاتی ژنوم توت فرنگی جنگلی (https://strawberry.plantandfood.co.nz/cgi-bin/nph-blast.cgi?Jform=0) استفاده شد. با بلاست توالی های آرگونات آراییدوپسیس عليه ژنوم توت فرنگی توالی ها انتخاب شدند. هم رדיافی و مشخص کردن مناطق حفظ شده هم رديافی^۲ توالی های پروتئین های آرگونات بدست آمده از آراییدوپسیس و توت فرنگی جنگلی با استفاده از نرم افزار ClustalW (Thompson et al. 1994) انجام شد.

رسم فیلوژنی

نتایج هم رديافی حاصل از نرم افزار ClustalW به نرم افزار MEGA4 (Tamura et al. 2007) داده شد و با روش نزدیکترین همسایگی و با بوت استرپ ۱۰۰ رابطه فیلوژنی مربوط به توالی های توت فرنگی جنگلی و آراییدوپسیس رسم شد.

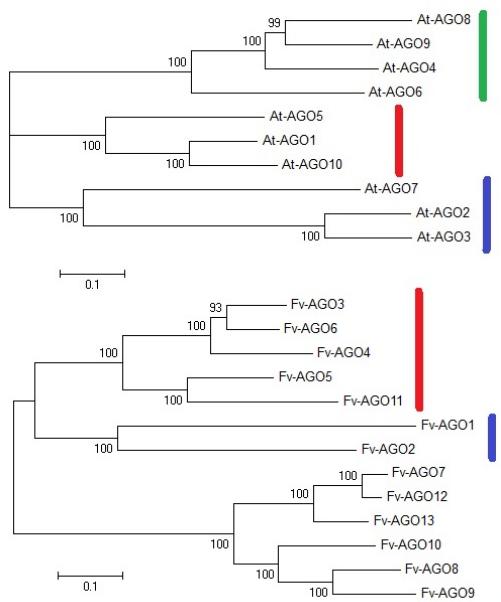
رسم دومین های حفاظت شده

دومین های حفاظت شده پروتئین های آرگونات گیاه توت فرنگی جنگلی با استفاده از تست^۳ CDD مربوط به سایت NCBI و همچنین با تجزیه و تحلیل مناطق حفظ شده روی توالی ها، با نرم افزار BioEdit، مشخص و رسم شد.

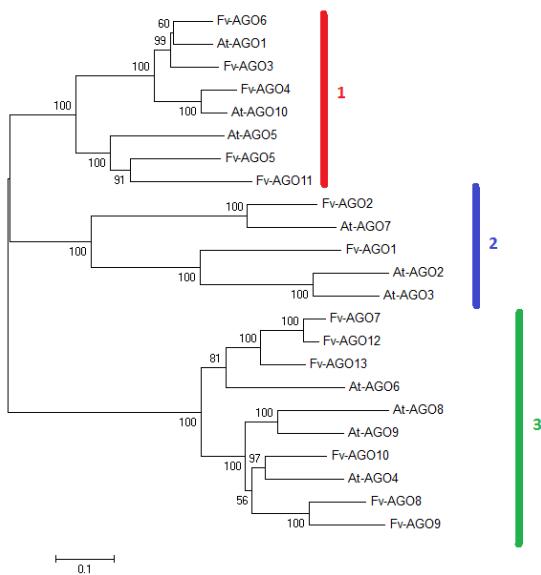
¹ Rosaceae

² Alignment

³ Conserved domain database



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



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

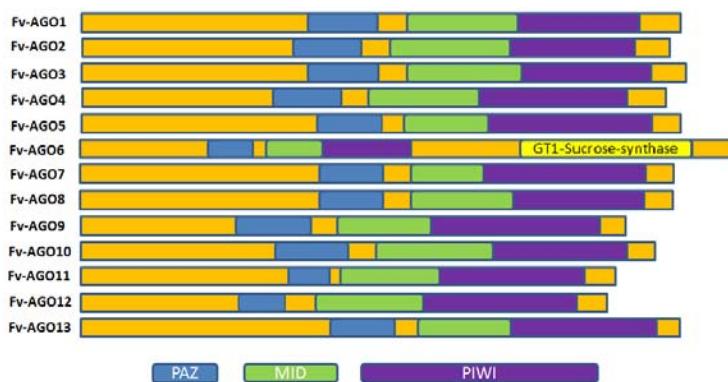
دلیل دیگر قرارگیری این پروتئین‌ها در سه دسته را می‌توان به تفرق و تفکیک شدن گیاهان از یک منشا مشترک ربط داد. این پروتئین‌ها در طول تکامل و تفرق گونه‌های مختلف گیاهی این پروتئین‌ها به صورت حفاظت شده باقی مانده‌اند. مطالعات بیوشیمیایی پروتئین‌های آرگونات در برخی از موجودات نشان داده که هرکدام از پروتئین‌های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

با توجه به نتایج توالی‌های هم‌دیف شده‌ای که در یک دسته قرار می‌گیرند می‌توان به وجود توالی‌های حفاظت شده 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 ترتیب و ترتیب مشابه‌تری نسبت به سایر توالی‌ها برخوردار هستند که می‌تواند دلیلی برای تقسیم شدن این توالی‌ها به سه دسته مجزا باشد.

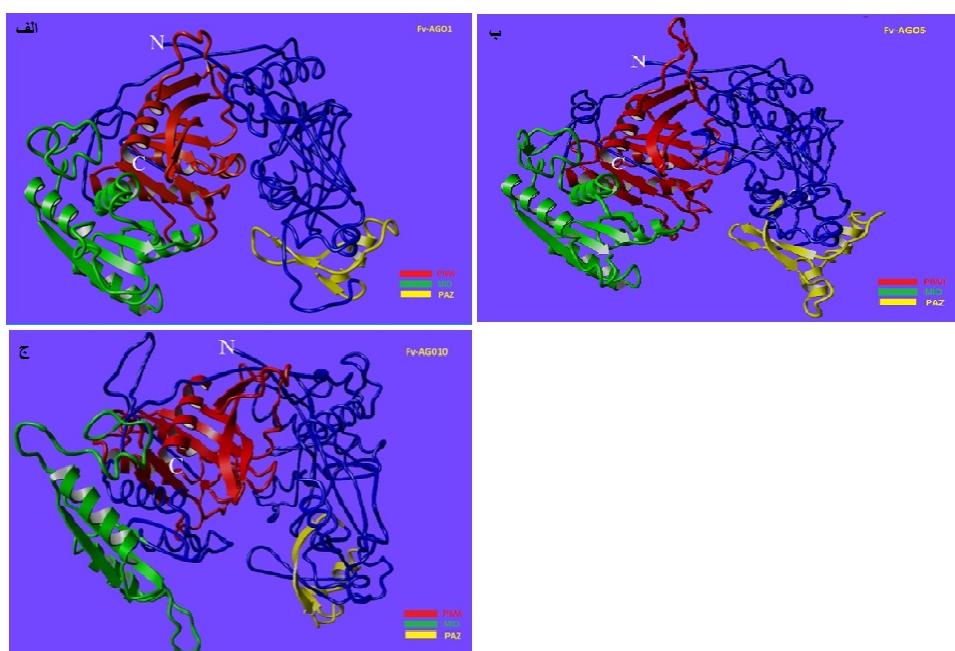
به وسیله فسفوریالاسیون تنظیم می‌شود و غلظت متابولیت‌های مختلف و نور نیز روی آن تاثیرگذار است. این دومین با شماره شناسایی ۰۳۸۰۰ در سایت NCBI موجود می‌باشد. G مخفف گلیکوزیل و T مخفف ترانسفراز می‌باشد. این دومین به عنوان عضوی از خانواده گلیکوزیل ترانسفرازها محسوب می‌شود که حدود ۴۴ عضو یا زیر مجموعه دارد (Verma et al. 2008). دلیل وجود این دومین در یکی از پروتئین‌های آرگونات توت فرنگی جنگلی موضوعی است که نیازمند تحقیق و بررسی بیشتر روی این دومین و پروتئین مربوطه می‌باشد. نتیجه بلاست پروتئین آرگونات شماره ۶ توت فرنگی جنگلی (که حاوی دومین GT₁-Sucrose-synthase می‌باشد) با برخی از گیاهان دیگر از قبیل آراییدوپسیس، ذرت و سویا و همچنین بررسی پروتئین‌های آرگونات سایر گیاهان نشان داد که این دومین فقط در پروتئین آرگونات شماره ۶ توت فرنگی جنگلی می‌باشد و در پروتئین‌های آرگونات سایر گیاهان مشاهده نشد. برای بررسی بیشتر پروتئین آرگونات شماره ۶ توت فرنگی جنگلی می‌باشد و در EST database و همچنین http://www.protein database این گیاه از طریق سایت rosaceae.org بررسی شد و از صحت توالی دریافتی و همچنین وجود دومین تمایز در این پروتئین اطمینان حاصل شد. تصاویر سه بعدی بدست آمده از سه پروتئین آرگونات توت فرنگی 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 توسعه یافتنگی 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 دو دومین 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 توت فرنگی جنگلی بین ۸۴۵ (Fv-AGO12) و ۱۹۵۶ (Fv-AGO6) اسید‌آmine می‌باشد که میانگین طول این پروتئین‌ها در توت فرنگی

شده است، به عنوان مثال آرگونات‌های شماره ۴ و ۶ آراییدوپسیس 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 PAZ و PIWI MID 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 انتهای^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–Asp (DDH) (Parker et al. 2006; Peters et al. 2007; Asp–His است Asp–His Vaucheret et al. 2008). در پروتئین آرگونات شماره ۶ توت فرنگی 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 توت فرنگی جنگلی و آراییدوپسیس 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 سیتاز موجود در این خانواده مختص گیاهان و باکتری‌های فتوستتر کننده می‌باشد. این آنزیم وظیفه ستر 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



شکل ۳- دومین های مربوط به پروتئین های آرگونات در توت فرنگی جنگلی *F.vesca* با استفاده از نرم افزار CDD



شکل ۴- تصویر سه بعدی Fv-AGO1 (ب) Fv-AGO5 (ج) Fv-AGO10 (الف) که با استفاده از نرم افزارهای 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 می باشد. مناطق انتهایی N و C نیز مشخص شده است.

پروتئین های آرگونات آرابیدوپسیس ۷۸/۴۲ می باشد که نشان دهنده مقاومت حرارتی بالای پروتئین های آرگونات توت فرنگی وحشی نسبت به آرگونات پروتئین های آرابیدوپسیس می باشد. میانگین محتوای ریشه های هیدروفوریک و هیدروفیلیک، میانگین محتوای بار ریشه های منفی و مثبت و میانگین تعداد صفحات آلفا و بتا به ترتیب ۰/۲۷، ۰/۱۲، ۰/۱ و ۰/۲۷ می باشد (جدول ۱). با توجه به این حقیقت که پروتئین های AGO برای اولین بار ۱۴ سال پیش در گیاهان شناسایی شدند ولی فقط بعضی از پروتئین های AGO خانواده آرابیدوپسیس به صورت عمیق و دقیق

جنگلی ۱۰۷۶ اسید آمینه است که از میانگین طول پروتئین های آرگونات در آرابیدوپسیس با طول ۹۷۸ اسید آمینه بیشتر است. وزن آنها بین ۹۴/۶۷۹ کیلو دالتون (Fv-AGO12) تا ۲۱۸/۱۵۶ کیلو دالتون (Fv-AGO6) است که میانگین وزن این پروتئین ها در توت فرنگی جنگلی ۱۲۰ کیلو دالتون است و از میانگین وزن پروتئین های آرابیدوپسیس با وزن ۱۰۹ کیلو دالتون بیشتر است. میانگین نقطه ایزو الکتریک در پروتئین های آرگونات توت فرنگی جنگلی ۰/۴۷ می باشد. همچنین میانگین شاخص آلفا تیک پروتئین های آرگونات توت فرنگی جنگلی برابر ۸۰/۷۶ و در

جدول ۱- سایر ویژگی‌های پروتئین‌های آرگونات در گیاه توت فرنگی جنگلی *A.thaliana* و آراییدوپسیس *F.Vesca* طول بر حسب اسید‌آمینه و وزن بر حسب کیلو‌دانن.

نام	نام ID	طول	وزن	نقطه	شاخص	محتوای ریشه‌های هیدروفوبیک و هیدروفیلیک	محتوای بار ریشه‌ها هیدروفوبیک	تعداد مارپیچ الفا و صفحات بتا		الفما	بنا
								ایزوکاتریک	الیفاتیک	منفی	ثبت
Fv-AGO 1	gene20067	1063	117.875	9.44	74.516	0.483	0.27	0.102	0.128	29	36
Fv-AGO 2	gene04683	1019	115.705	9.39	80.442	0.458	0.273	0.101	0.132	38	33
Fv-AGO 3	gene09291	1090	120.438	9.42	74.092	0.477	0.272	0.094	0.122	33	29
Fv-AGO 4	gene28930	1007	112.714	9.46	80.933	0.473	0.271	0.098	0.133	32	39
Fv-AGO 5	gene14490	1070	119.767	9.95	77.551	0.466	0.271	0.093	0.145	30	37
Fv-AGO 6	gene09290	1956	218.156	9.03	77.515	0.489	0.265	0.104	0.119	62	65
Fv-AGO 7	gene01157	1065	118.687	9.46	87.005	0.485	0.27	0.099	0.128	24	50
Fv-AGO 8	gene00394	1079	120.329	9.32	81.437	0.467	0.286	0.103	0.125	28	46
Fv-AGO 9	gene06591	888	100.229	9.63	80.518	0.476	0.273	0.095	0.135	26	36
Fv-AGO 10	gene07657	975	108.259	8.92	83.159	0.475	0.272	0.111	0.122	22	40
Fv-AGO 11	gene14489	853	94.968	9.43	80.551	0.468	0.274	0.101	0.127	26	31
Fv-AGO 12	gene16926	845	94.679	8.89	86.331	0.483	0.254	0.115	0.127	19	39
Fv-AGO 13	gene16928	1080	120.083	9.41	85.917	0.483	0.265	0.103	0.13	24	50
At-AGO 1	NP_175274.1	1048	116.19	9.48	74.494	0.477	0.279	0.094	0.124	30	33
At-AGO 2	NP_174413.2	1014	113.422	9.65	70.227	0.477	0.242	0.113	0.148	22	45
At-AGO 3	NP_174414.1	1194	129.183	9.51	70.461	0.49	0.243	0.11	0.135	25	51
At-AGO 4	NP_565633.1	924	102.839	9.25	80.271	0.476	0.275	0.104	0.123	26	42
At-AGO 5	NP_850110.1	997	111.087	9.63	78.857	0.454	0.287	0.1	0.136	26	38
At-AGO 6	NP_180853.2	878	98.68	8.92	84.681	0.475	0.264	0.11	0.124	15	46
At-AGO 7	NP_177103.1	990	113.395	9.43	81.98	0.449	0.278	0.1	0.133	33	31
At-AGO 8	NP_197602.2	850	95.506	9.18	82.435	0.462	0.293	0.096	0.118	20	35
At-AGO 9	NP_197613.2	896	100.523	9.35	80.692	0.479	0.277	0.099	0.124	23	37
At-AGO 10	NP_199194.1	988	110.866	9.51	80.192	0.465	0.277	0.098	0.135	31	38

منابع

- Garcia Silva MR, Tosar JP, Frugier M, Cayota A (2010) Cloning, characterization and subcellular localization of a trypanosoma 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, Elmayan 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 ثانی 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 توت فرنگی جنگلی نیز مانند بیشتر موجودات زنده دارای پروتئین‌های آرگونات می‌باشد که از نظر ویژگی‌های کلی با پروتئین‌های آرگونات سایر گیاهان مشابه زیادی دارند اما نکته بارز و اساسی پروتئین‌های آرگونات توت فرنگی جنگلی، وجود پروتئین آرگونات تمایز یافته جدیدی در ژنوم آن می‌باشد که می‌تواند موضوع جذابی برای تحقیقات بعدی در زمینه پروتئین‌های آرگونات توت فرنگی 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, Mochizuki 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, Folkertse 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.