Iraqi Journal of Biotechnology, 2014, Vol. 13, No.2 , 1-17

دراسة للبروتينات الافتراضية الناقلة للاشارات في البكتريا *Helicobacter pylori*

زهرة محمود الخفاجي[1] ، مريم بشير محمود [2]

[1] معهد الهندسة الوراثية والتقنيات الاحيائية للدراسات العليا ، جامعة بغداد

[2] قسم الشؤون المالية ، علوم حاسبات، جامعة بغداد

الإستلام:2 أيلول 2013 / القبول: 1 كانون الاول 2013

الخلاصة : اجري مسح للبروتينات الافتراضية للبكتريا *Helicobacter pylori* السلالة 26695 وكان عددها 714 (41.58 %) من بروتينات / جينات البكتريا المدرجة في قاعدة البيانات MBDG . مسحت البروتينات لتحديد ضراوتها وكان 82.2 % هي بروتينات ضراوة . استعمل ProtFunc Server لتحديد مجاميع البروتينات الوظيفية وفقا لتصنيف Gene Ontology ، اختيرت البروتينات العاملة في نقل الإشارات من البروتينات الافتراضية نظرا لأهميتها وهي (HP0085، HP0079، PS235، HP0203، HP0155 ، HP0249،HP0583، HP0856، ST515، HP1527، PS1632، HP1163، PS1350، HP1085، HP1436). درست إمكانية حدوث التحويرات بعد الترجمة مثل الفسفرة التي لم تظهر نتائج واضحة لعدة أسباب ، درس ايضا إضافة السكريات N-Glycosylation و O-Glycosylation وكانت الحالة الأولى أكثر تكرارا . تم تحديد التراكيب الثنائية والثلاثية للبروتينات وإيجاد البروتينات الأقرب التي لها تراكيب محددة بالأشعة السينية والرنين النووي المغناطيسي . أظهرت نتائج التداخل مع مكونات الخلية ان هناك تداخلا كبيرا لمعظم البروتينات المدروسة .

Study of Signal Transduction Hypothetical Proteins of *Helicobacter pylori*

Zahra M. Al-Khafaji [1] , Marium B. Mahmood [2]

[1] Institute of Genetic Engineering and Biotechnology for Postgraduate Studies, University of Baghdad
[2] Financial Affairs Dept., Computer Science, University of Baghdad

Received: September 2, 2013/ Accepted: December 1, 2013

Abstract: Hypothetical proteins of Helicobacter pylori strain 26695 were screened using MBGD database. There were about 714 (41.58 %) hypothetical proteins, 82.2 % were virulent proteins. Hypothetical proteins were categorized according to Gene Ontology grouping using ProtFunc server. Proteins in signal transduction group were selected for studying their characters. Post-translation modifications (PTMs) such as phosphorylation gave unclear results, Glycosylation such as N-linked Glycosylation was more frequent than O-linked Glycosylation among proteins. Secondary and tertiary structures were determined and pbd homologous (assigned with X-ray and NMR techniques) were assigned. Most proteins showed high interaction with cellular proteins and components.

Key words: *Helicobacter pylori*, Hypothetical proteins , Virulence , RaptorX , PTMs, STRING database.

المقدمة

تسبب بكتريا *Helicobacter pylori* عدة أمراض في الجهاز الهضمي، والأمراض التي تولدها معقدة وتعتمد على التداخل بين مكونات البكتريا والمضيف والذي يؤدي الى عدم إعطاء مخرجات متشابهة عند الإصابة ، فضلا عن ان البكتريا ذات تباين كبير من حيث النمط المظهري والجيني وذات قابلية عالية للتطبع واستعمار اشد البيئات تطرفا وهي المعدة (1)، فكل ممرض ينشا في بيئة معينة يطور الجينات والإمكانيات التي يحتاجها (2) .

ويحوي جنس البكتريا على أكثر من 36 نوع ثانوي Subspecies (1). تتراوح أحجام جينوماتها (مادتها الوراثية) من 1.55-1.82 ميكا قاعدة كما هو مذكور في مركز المعلومات العالمي NCBI .

ان كثرة عمليات تحديد تواليات الجينومات Genome Sequencing في الآونة الأخيرة رافقها كثرة تواليات البروتينات غير معروفة الوظيفة وقد تصل الى نصف عدد البروتينات في الخلايا بدائية النواة وأكثر من ذلك في الحيوانات والنباتات. وعلى العموم فان التعامل مع البروتينات كان وما يزال متخلفا عن التطورات التي حصلت للتعامل مع DNA (مثل تحديد التواليات) ، و من الأفضل أن يكون تحديد التواليات مقرونا بتفسيرها ، ولحد الآن (2013) هناك حوالي 30 % من الجينات في الجينومات التي اكتمل تحديد تواليها غير معروفة الوظيفة وهي نسبة مشابهة لما حصل عام 1995 عندما تم تحديد تواليات البكتريا *Haemophilus influenzae* Rd (3) .

ولذا يلاحظ في حالات ليست بالقليلة انه لا يتوفر من المعلومات سوى توالي البروتينات او الجينات التي يزود بها من قبل Structural Genomic Centers، وعليه زاد الاهتمام بتحديد وظائف البروتينات الافتراضية (Hypothetical Proteins) ، والصعوبات التي ساهمت في ذلك ان الجينات حديثة الاكتشاف ربما لم يتم وصفها في الأحياء مسبقا ، كما ان بعض البروتينات المعروفة الوظيفة والتي تقارن بها البروتينات الجديدة تظهر أكثر من وظيفة او ربما بعض الغرابة في تفاعلاتها (1، 3) .

لذلك كانت وسائل المعلوماتية الحيوية (Bioinformatics Tools) ضرورية للمساعدة في حدس (Prediction) وظائف البروتينات الافتراضية غير معروفة الوظيفة ، وتتخذ هذه عدة توجهات في الحدس منها إجراء الاصطفافات (Alignments) العامة لمعرفة ما يشابهها في الأحياء المعروفة ، او إيجاد التراكيب الثلاثية (3D Structures) للبروتينات الذي يكون مهما جدا في حدس الوظيفة وذلك بالمقارنة مع بروتينات معلومة الوظيفة (1 ، 3) ، وقد تم استعمال مثل هذه التوجهات وكانت نتائجها مطابقة للواقع التجريبي الى حد كبير (1) .

ونظرا لما تظهره بكتريا H. pylori من تعقيدات في إصاباتها فهي تمثل موضوعا" دراسيا" ملائم لهذه التوجهات (3) . وهدفت الدراسة الحالية الى التعريف بعدد البروتينات الافتراضية لهذه البكتريا مع التأكيد على مجموعة من البروتينات العاملة في نقل الإشارات (Signal Transduction) لان هذه المجموعة من البروتينات ربما ألقت الضوء على الظواهر المعقدة لهذه البكتريا .

المواد وطرق العمل

- استعملت قاعدة البيانات

http://mbgd.genome.ad.jp/htbin/MBGD_gene_list.pl?spec=heo MBGD

و NCBI /http://www.ncbi.nlm.nih.gov لغرض الحصول على تواليات البروتينات العادية والافتراضية وعددها .

- استعمل البرنامج Virulent Perd
http://203.92.44.117/virulent
لتحديد بروتينات الضراوة.

وكذلك استعمل البرنامج Vaxijen v.2.0-
http://www.ddg-pharmfac.net/vaxijen/VaxiJen/VaxiJen.html
لتحديد مستضدية (Antigenicity) البروتينات

- استعمل NetPhosBac 1.0 Server
http://www.cbs.dtu.dk/services/NetPhosBac-1.0
لدراسة فسفرة البروتينات البكترية

- استعمل كل من NetNGlyc 1.0 Server
http://www.cbs.dtu.dk/services/NetNGlyc

و DictyOGlyc 1.0
http://www.cbs.dtu.dk/services/DictyOGlyc
لدراسة إضافة السكريات للبروتينات بعد الترجمة

- استعمل البرنامج PSI- BLAST
http://www.ebi.ac.uk/Tools/sss/psiblast/
للبحث عن مشابهات البروتينات وأغراض أخرى .

- استعملRaptorX
http://raptorx.uchicago.edu
لتحديد التراكيب الثنائية والثلاثية للبروتينات

- Prot Fun 2.2 Server

http://www.cbs.dtu.dk/services/ProtFun
استعمل لتحديد المجموعة الوظيفية التي ينتمي اليها بروتين الاستعلام Query

- Mega 5 Package استعملت لصف التواليات
- قاعدة البيانات STRING

http://string-db.org/newstring_cgi/show_input_page.pl
استعملت للبحث عن ارتباط البروتينات مع مكونات الخلية الأخرى .

- قاعدة البيانات pdb و pdbsum استعملت للمقارنات .

النتائج والمناقشة

بالرغم من الدراسات العديدة التي أجريت على البكتريا *H. pylori* الا ان هناك ما يزال أكثر من ثلث منتجات أطرها المفتوحة (ORFs) غير معروفة الوظيفة والتي تدرج تحت قائمة البروتينات الافتراضية او البروتينات غير المعروفة (Unknown Proteins) أي التي لم يتم توصيف وظيفتها وتكون مهمة في فهم أمراضيتها ، لذا فالفرصة متاحة بعد العصر الجينومي (Post-Genomic era) لمعرفة آلية أمراضية هذه البكتريا.

في هذه الدراسة استعملت *H. pylori* السلالة 26695 المسجل جينومها في NCBI بالرقم NC_000915.1 ولها التعريف التصنيفي Taxonomy ID 85962 وهي معزولة من التهاب مزمن Chronic Gastritis في بريطانيا ، وتستعمل كسلالة مرجعية في الدراسات . ووفقا لقاعدة البيانات MBGD تحوي على 1717 من اطر القراءة المفتوحة ، البعض منها خاص بـ RNA وفيها 1573 بروتين منها حوالي 1300 غير معروفة الوظيفة (1) .

تشير نتائج دراسة القاعدة MBGD الى ان هناك 714 بروتين افتراضي (41.58 %) وهذا يتفق مع حال الاحياء الأخرى التي تشير الى ان 30-40 % من الجينات الموجودة في الجينومات التي تم تحديد تواليتها هي غير معروفة الوظيفة ، وهذا موجود في البكتريا وتكون النسب أعلى في الاركيا (Archaea) وحقيقية النواة (4) . ومن البروتينات الافتراضية لبكتريا *H. pylori* وجد ان 587 (82.2 %) هي بروتينات ضراوة ، وهذا متوقع اذ ان الضراوة عملية

معقدة تعتمد على التداخل بين البكتريا والمضيف ويكون الكشف عن الضراوة مهما في الكشف عن أمراضية البكتريا فضلا عن انها يمكن ان تكون أهدافا" دوائية (5) ، وفضلا عن ذلك تم إخضاع البروتينات لبرنامج تحديد المستضدية Antigenicity وتوزعت بين محفزة للمناعة وأخرى غير محفزة للمناعة، والتغاير في هذه الصفة دليل على دور البروتين في الامراضية او تجنب دفاعات المضيف التي قد تكون بشكل مباشر او غير مباشر (2) ، وهذا متوقع اذ ان البكتريا تسبب العديد من أمراض الجهاز الهضمي (6 ،7).

ونظرا لأهمية البكتريا عنيت العديد من الجهات بدراستها وتسجيل البيانات حولها ، فمثلا حوت قاعدة البيانات pdb لحد شباط 2012 على 79356 من التراكيب ، وهناك 0.35 % (279 بروتين) خاصة بالبكتريا H. pylori ومنها 28 بروتين التي حدد لها التركيب الثلاثي ولها pdb format الا إنها لا تزال غير معروفة الوظيفة. ولكن الدراسات مستمرة لمعرفة وظائف هذه البروتينات ، فهنالك مجموعة من البروتينات الافتراضية تم إخضاعها للدراسات الحاسوبية (In Silico Studies) وللتجارب العملية وأعطت نتائج حقيقية مطابقة لما تم توقعه من الحالة الأولى ، وكانت كلها من الإنزيمات (8) . ان التنبؤ بالوظائف يكون سهلا فيما اذا كان هنالك شبيها Homologous معروف الوظيفة . وتوجد عدة إستراتجيات منها صف التواليات Sequence Alignment وكذلك يمكن التنبؤ بالوظيفة من استعمال تركيب البروتين كما في البرنامج ProFunc (9) .

تم إخضاع تواليات البروتينات الخاصة ببكتريا *H. pylori* (1717 بروتين) لتحديد فيما اذا كانت من بروتينات الضراوة ، وكذلك إخضاعها لبرنامج ProtFunc لتحديد المجموعة الوظيفية التي تنتمي اليها، اذ يقسم البرنامج التواليات الى مجاميع وظيفية ويخصص جزءا للإنزيمات وأقسامها والاهم هو استعمال تصنيف Gene Ontology Category (9) ، وتوجه GO يفرض الآن على انه الطريقة القياسية لمعرفة وظائف البروتينات Standard for Proteome Annotation and Function of Proteins (9 ، 10) . ومن المجاميع الناتجة تم اختيار الجينات / البروتينات العاملة في نقل الإشارات ، اذ تشكل هذه المجموعة القدر الأكبر في التأثير في ظاهرة تعقيد مخرجات الإصابة ببكتريا H. pylori (11) ، والبروتينات المنتخبة مدرجة في الجدول الآتي (جدول 1).

جدول 1 : البروتينات الافتراضية العاملة في نقل الإشارات في بكتريا *H. pylori*

gi No.	رمز الجين	نقل الإشارات	
		الاحتمالية	قيم Odds*
15644715	HP0085	0.374	**1.747**
15644709	HP0079	0.251	**1.171**
PS235	PS235	0.338	**1.579**
15644832	HP0203	0.244	**1.139**
15644784	HP0155	0.319	**1.491**
15644877	HP0249	0.301	**1.405**
15645208	HP0583	0.273	**1.278**
15645475	HP0856	0.298	**1.393**
ST515	ST515	0.428	**2.002**
15646135	HP1527	0.269	**1.258**
PS1632	PS1632	0.445	**2.080**
15645777	HP1163	0.257	**1.203**
PS1350	PS1350	0.263	**1.228**
15645699	HP1085	0.215	**1.005**
15646045	HP1436	0.223	**1.044**

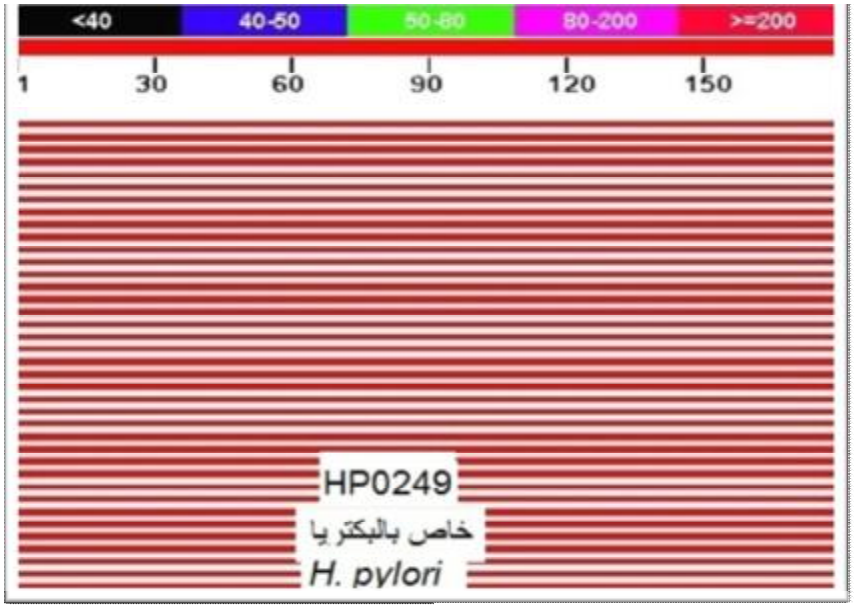
* قيمة إحصائية تستعمل في البرنامج للترجيح

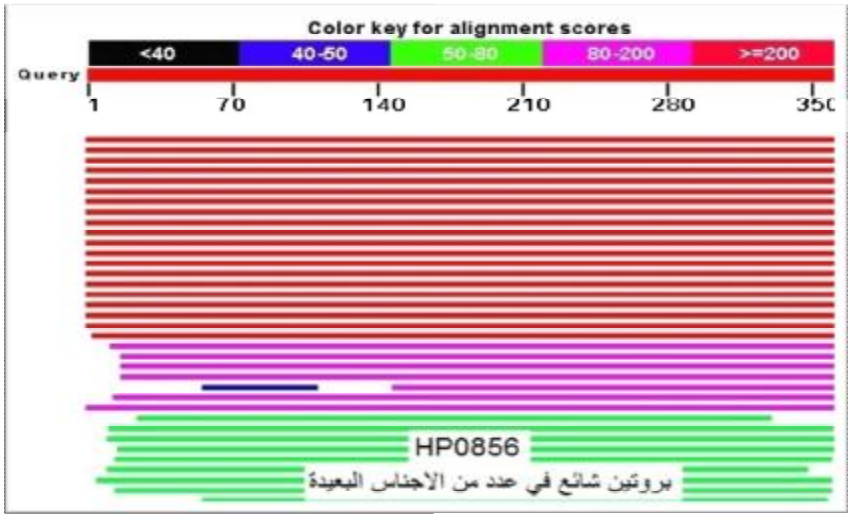
وقد تم دراسة البروتينات من عدة نواحي ، ففي البداية تم التحري فيما اذا كانت هناك علاقة بينها او يمكن ان تتجمع في عناقيد Clusters اعتمادا على تواليا تها لذلك صفت باستعمال برنامج Clustalw او MUSCLE (ضمن Mega 5 package) ولكن لم يكن هناك اي تطابق يمكن ان يستغل لرسم الأشجار بالرغم من تشابه البعض من حيث الموقع او المجموعة الوظيفية. وتم التحري عن هذه البروتينات ايضا فيما اذا كانت ثابتة وشائعة في الأحياء Conserved أي التي توجد في عدة أجناس لا علاقة بينها (4) ، ويكون ذلك بإجراء عمليات اصطفاف باستعمال برنامج BLASTp ولكن هذا البرنامج لا يعطي نتائج جيدة في هذا المجال عندما تكون أصول التواليات بعيدة لذا استعيض عنه بالبرنامج PSI-BLAST (12) ، ويوضح جدول 2 نتائج البحث باستعمال البرنامج والشكل 1 يوضح عملية الاصطفاف للبروتينات الثابتة والشائعة والأخرى غير الثابتة والشائعة .

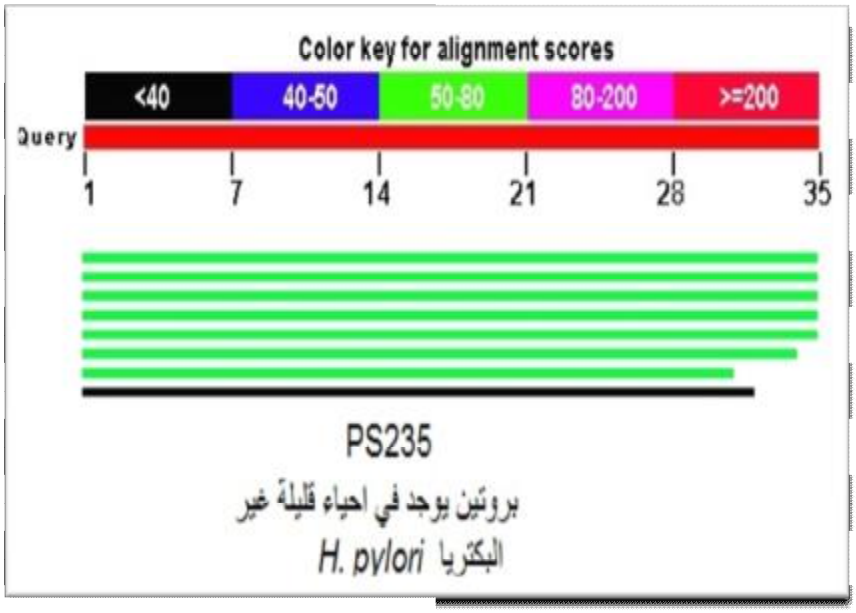
جدول 2 : نتائج PSI-BLAST للبحث عن مدى انتشار البروتينات المختارة للدراسة

نتيجة PSI-BLAST	رمز الجين	gi No.
Non- conserved	HP0085	15644715
Non- conserved	HP0079	15644709
Non- conserved	PS235	PS235
Non- conserved	HP0203	15644832
Non- conserved	HP0155	15644784
Non- conserved	HP0249	15644877
Non- conserved	HP0583	15645208
± Conserved	HP0856	15645475
Non- conserved	ST515	ST515
Non- conserved	HP1527	15646135
Non- conserved	PS1632	PS1632
± Conserved	HP1163	15645777
Conserved	PS1350	PS1350
Non- conserved	HP1085	15645699
Non- conserved	HP1436	15646045

Color key for alignment scores







شكل 1 : عمليات الاصطفاف باستعمال PSI-BLAST لبروتينات خاصة ببكتريا *H. pylori* وأخرى موجودة في أجناس أخرى

وتشير النتائج الى ان اغلب البروتينات هي Non-conserved وخاصة بالبكتريا *H. pylori* التي شكلت 12 من 15 بروتين (80 %) ، اما البروتين PS1350 فهو شائع الانتشار في عدد من الأحياء، والبروتينات HP0856 و HP1163 وجدت في عدد قليل من الأحياء البعيدة نوعا ما عن *H. pylori* (4) . وتشير الدراسات الى ان اطر القراءة المفتوحة الشائعة في الأحياء تصل الى حوالي 25 % (13) ، واختلاف النتائج هناك قد يعود الى قلة عدد البروتينات المدروسة ، والأفضل قبول هذه النتائج بالنسبة للبكتريا *H. pylori* لانها لا تشبه عددا" كبيرا" من الأحياء حيث تقطن بيئة قاسية وتحتاج الخلايا الى مواجهتها بوسائل لا تكون لها أهمية في الأحياء الأخرى التي تعيش في بيئات معتدلة . وتستغل نتائج برنامج PSI-BLAST في التعرف على العوائل التي تنتمي اليها البروتينات الخاضعة للاصطفاف وكذلك يمكن تسجيل فيما اذا كان البروتين حاويا على دومينات (Domains) موجودة في قواعد البيانات التي يمسحها البرنامج ، كما موضح في الجدول 3.

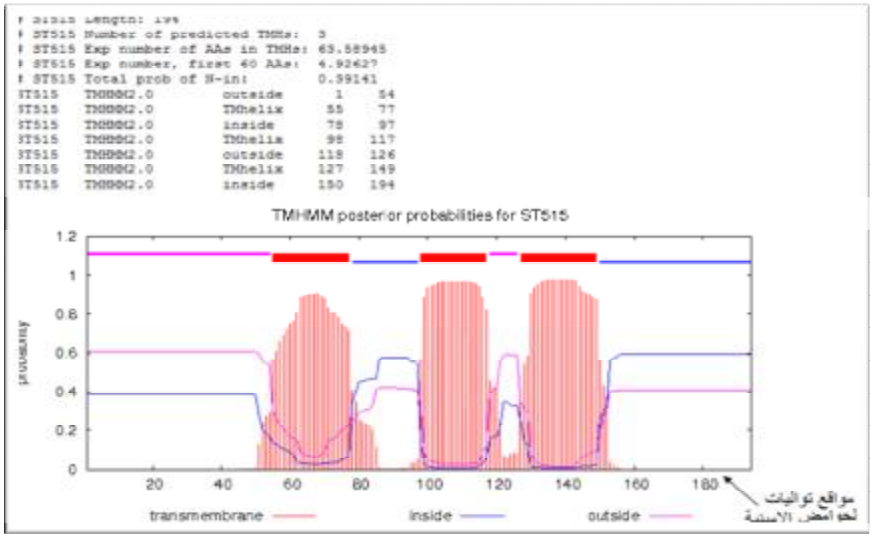
جدول 3 : العوائل والدومينات المسجلة من نتائج PSI-BLAST لبروتينات الدراسة

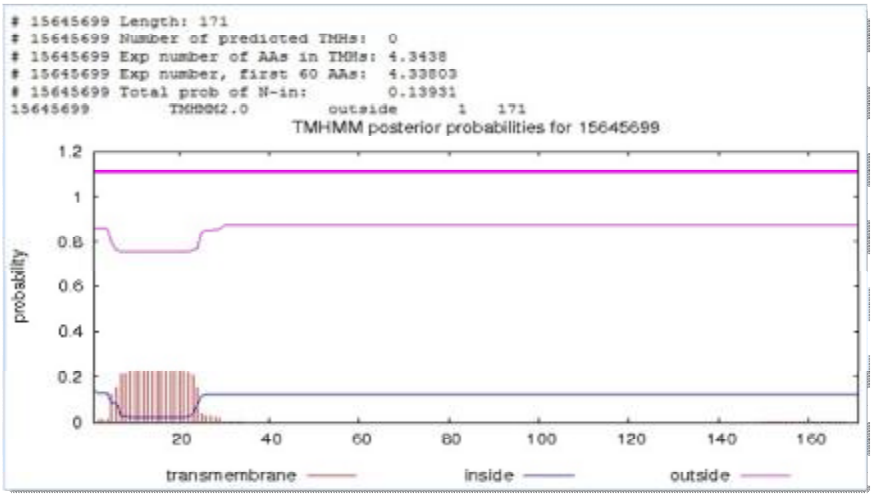
Domain	Super family	رمز الجين	gi No.
-	-	HP0085	15644715
COG5651 multidomain	HP_OMP	HP0079	15644709
-	-	PS235	PS235
-	-	HP0203	15644832
-	-	HP0155	15644784
DUF2393 multidomain	-	HP0249	15644877
-	-	HP0583	15645208
-	-	HP0856	15645475
-	COG3597	ST515	ST515
-	-	HP1527	15646135
-	-	PS1632	PS1632
	CcoS	HP1163	15645777
-	-	PS1350	PS1350
-	-	HP1085	15645699
-	-	HP1436	15646045

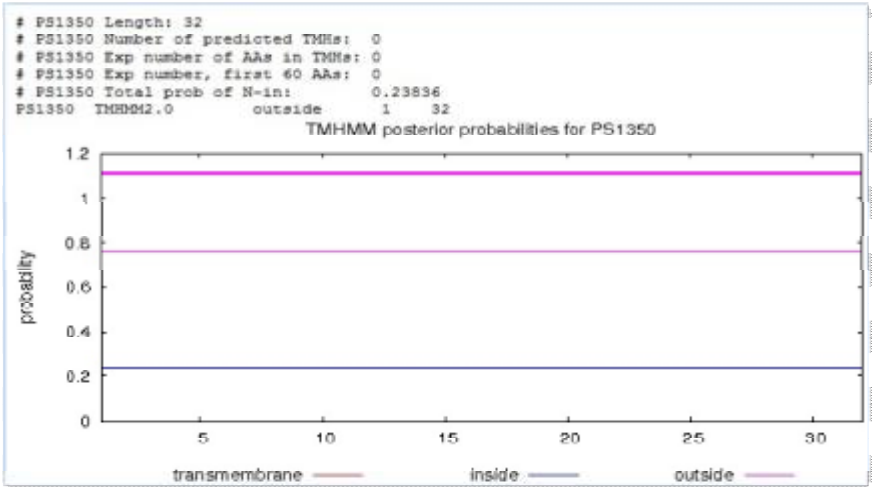
ونظرا لكون البروتينات تعمل في نقل الإشارات فمن المتوقع ان تقع على الحدود الخارجية للخلايا ، لذلك تم تحديد مواقعها ، والجدول 4 والشكل 2 يوضح نتائج تحديد مواقع البروتينات .

جدول 4 : ملخص مواقع البروتينات المدروسة

الموقع الخلوي	رمز الجين	gi No.
Cell inner membrane	HP0085	15644715
Cytoplasm. Extracellular	HP0079	15644709
Tansmembrane	PS235	PS235
Extracellular	HP0203	15644832
Cell inner membrane	HP0155	15644784
Cell inner membrane	HP0249	15644877
+ - Extracellular	HP0583	15645208
Cell inner membrane + -	HP0856	15645475
Cell inner membrane	ST515	ST515
Extracellular	HP1527	15646135
Tansmembrane + -	PS1632	PS1632
Cell inner membrane	HP1163	15645777
Extracellular	PS1350	PS1350
Cell inner membrane + -	HP1085	15645699
Cell inner membrane. Cytoplasm. Extracellular	HP1436	15646045

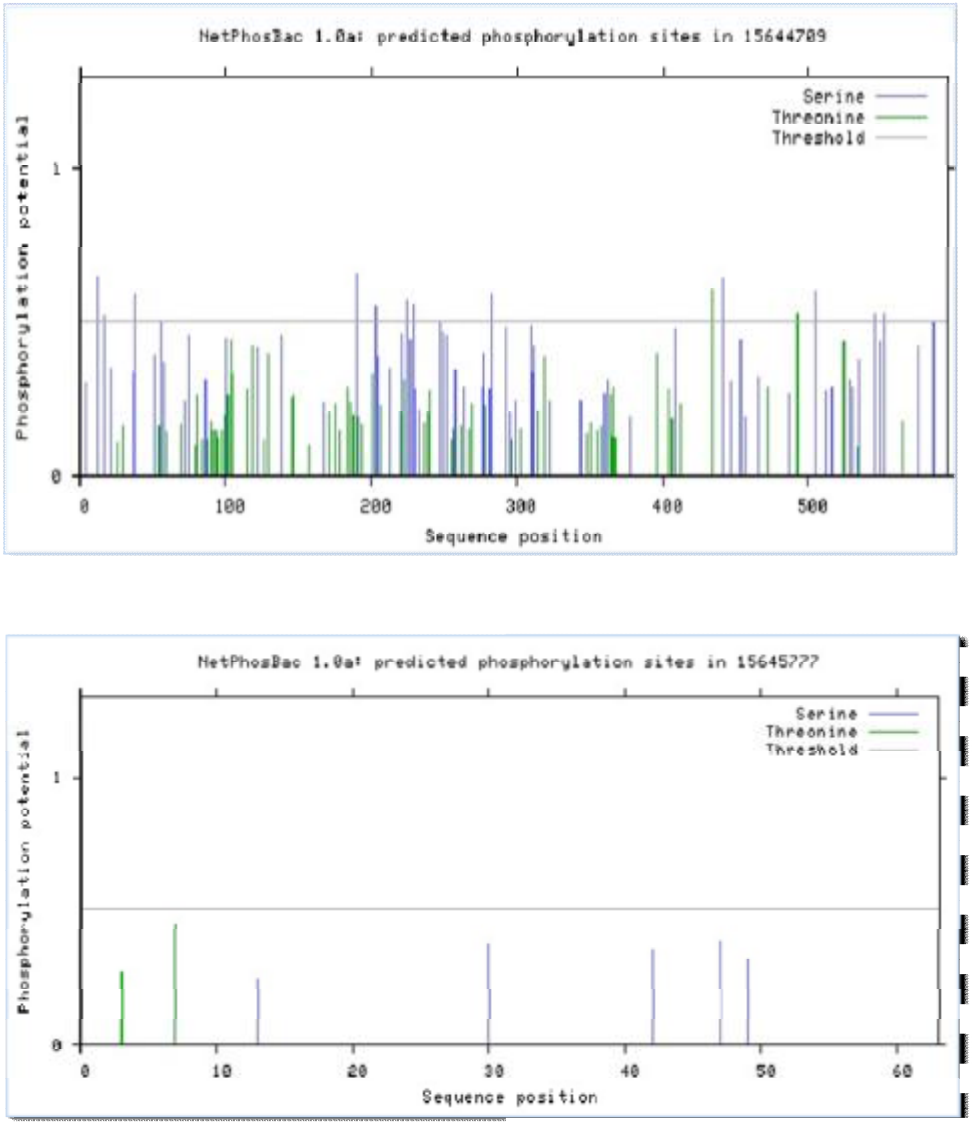






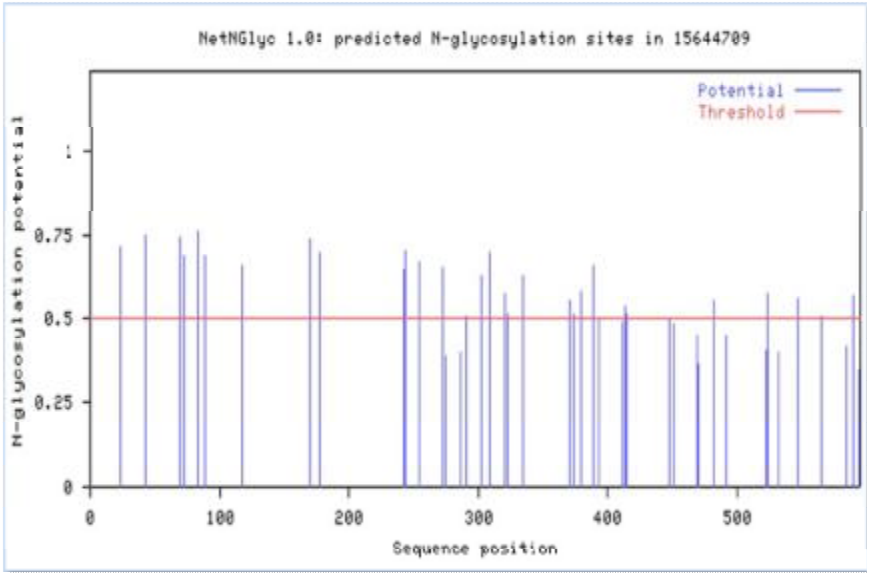
شكل 2 : تمثيل للمواقع الخلوية لبعض البروتينات

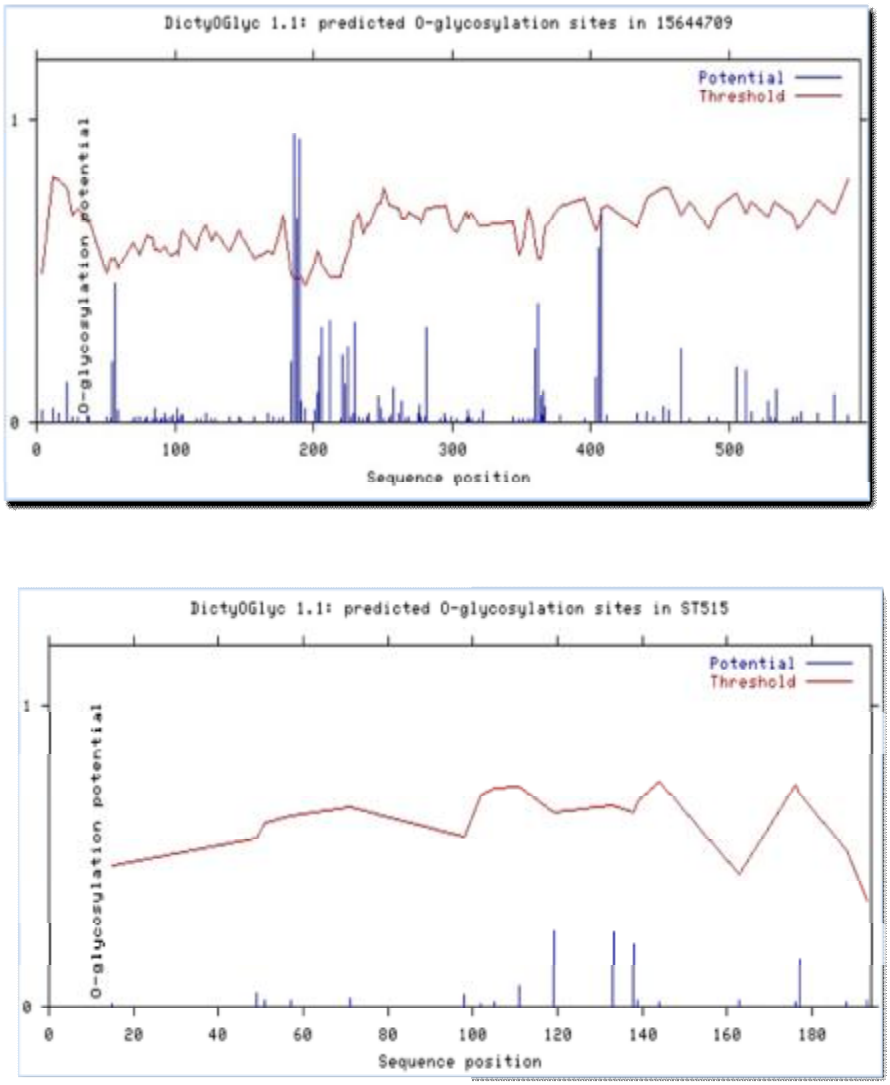
ويلاحظ ان البروتينات اما ان تستعرض الأغشية وقد يبرز جزءا منها الى الداخل او الخارج او انها توجد في الغشاء من جهة الداخل، او انها تكون بروتينات خارجية ربما في Periplasm (14). ومن المعروف ان البروتينات تخضع لتحويرات بعد الترجمة تساعد في تحديد عمليات طويها Folding وكذلك تساعدها في أداء وظائفها ، ومن هذه التحويرات الفسفرة ، لذلك تم إخضاع البروتينات الى برنامج خاص لتحديد فسفرة البروتينات البكتيرية وبعض النتائج موضحة في الشكل 3.



شكل 3 : فسفرة بعض البروتينات

وتبين النتائج ان عملية الفسفرة في عموم البروتينات قليلة وذلك لان البرنامج مصمم لتحديد الفسفرة لكل من السيرين والثريونين . ولكن المعروف ان فسفرة البروتينات وازالتها تشارك في نقل الإشارات وهي تحصل لثمالات Residues السيرين-الثريونين والهستدين والاسبارتات ، وفي البكتريا تقوم الكاينزات Kinases بفسفرة الهستدين والاسبارتات ضمن الأنظمة الثنائية TCSs (Two-Component Systems) . ان فسفرة كل من S-T و Y تسيطر على انتساخ (Transcription) لبعض عوامل الضراوة (2) ، والبرامج المستعملة للتعامل مع فسفرة البروتينات البكترية مصممة للكشف عن فسفرة السيرين والثريونين لذلك لم تكن النتائج واضحة ، كما ان احتمال وجود آليات فسفرة لثمالات أخرى موجودة في البكتريا ، فمثلا في البكتريا ***Bacillus subtilis*** فان الإنزيمات تضيف الفوسفات الى الارجينين بدلا من التايروسين (2) . فضلا عن ذلك يحتمل ان توجد آليات أخرى تتعرض لها بروتينات نقل الإشارة مثل إضافة مجموعة الاستيل Acetylation الموجودة في الخلايا حقيقية النواة (2) .اما التحويرات الأخرى هي إضافة السكريات Glycosylationسواء N-Glycosylation او O- Glycosylation، وهي عملية يكون تكرارها عاليا في اللاصقات Adhesines والبروتينات الحاوية السكريات شائعة في البكتريا ، وأكثرها في البروتينات السطحية او البروتينات التي تفرز الى خارج الخلايا التي تساعد في تداخل البكتريا مع البيئة المحيطة والتي يمكن ان تشارك في الضراوة (15) . أخضعت البروتينات لبرامج خاصة بهذه المهامة كما موضح في الشكل4.

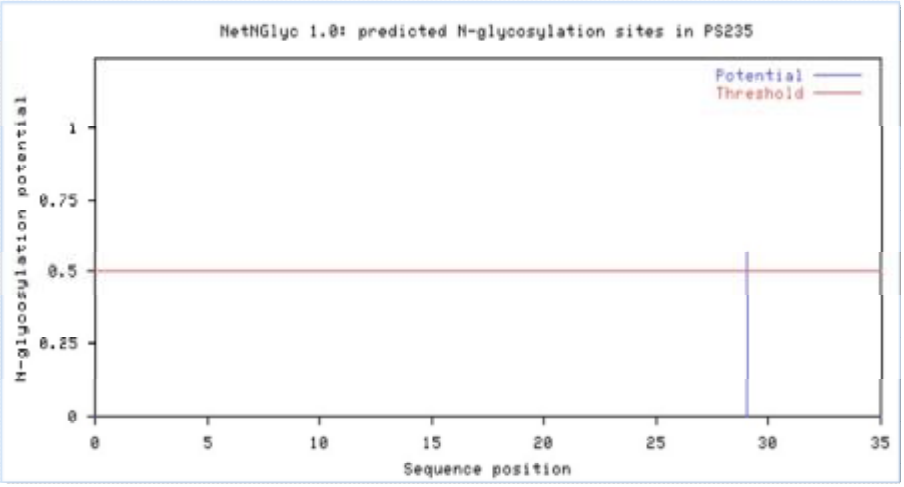


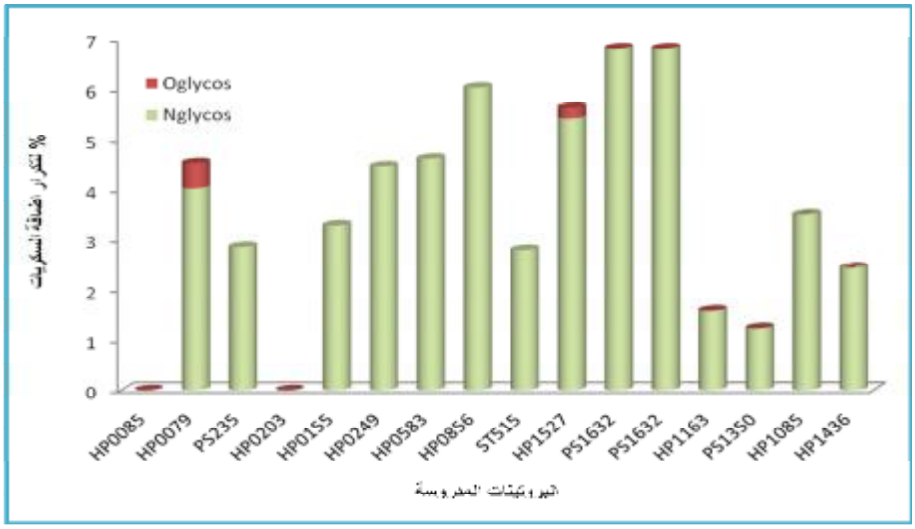


شكل 4 : إضافة السكريات N-Glycosylation و O-Glycosylation لبعض البروتينات

ان عملية إضافة السكريات عملية إنزيمية تضيف السكريات الى البروتينات ضمن التحويرات بعد الترجمة ويعتقد انها من اعقد العمليات ، فهي تساعد في طوي البروتينات وتزيد من ثبوت البروتين.

N- Glycosylation يحدث في التوالي N-X- S/T (X أي حامض أميني) ، ولكن البروتينات يمكن ان تحوي التوالي الثلاثي ولكن لا يتم إضافة السكريات لها (15) ، وبصورة عامة تكون عملية إضافة السكريات من النوع N - Glycosylation وهو الأكثر تكرارا في البروتينات البكترية وهذا ما يتفق مع نتائج هذه الدراسة (الشكل5).



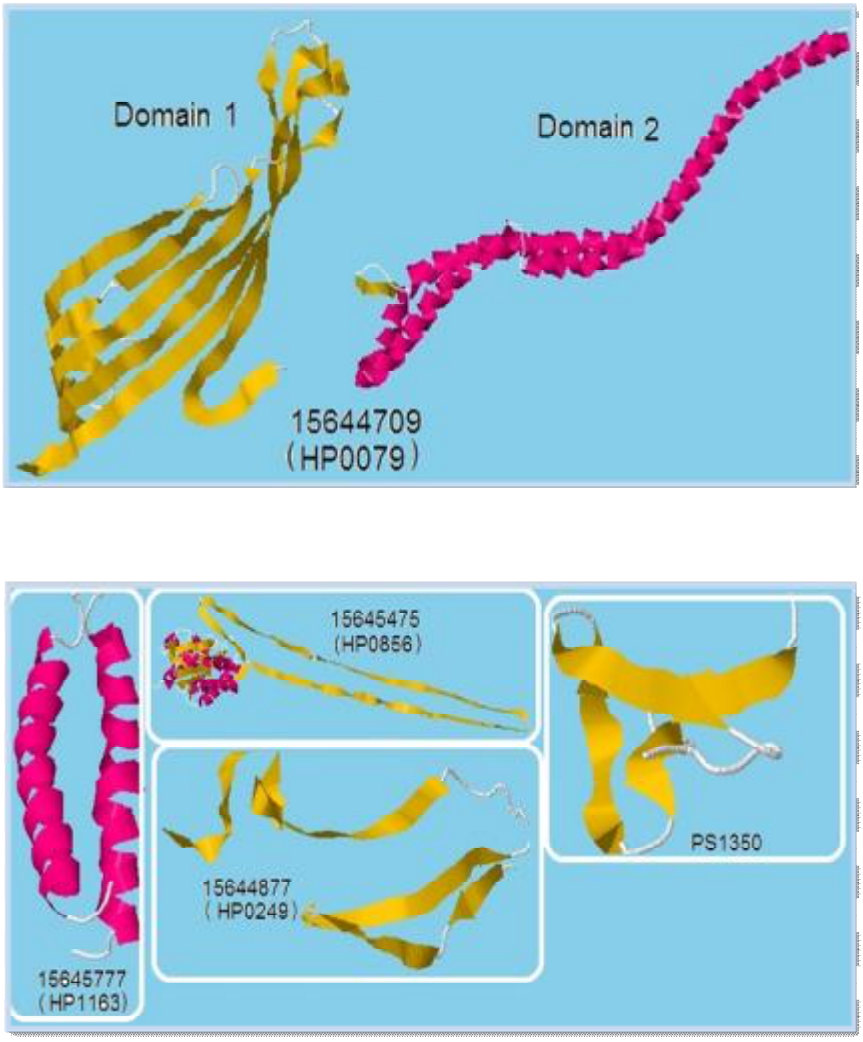


شكل 5 : N-Glycosylation أكثر شيوعا من O-Glycosylation في بروتينات الدراسة

ان عملية إضافة السكريات لبروتينات *H. pylori* واردة في البروتينات الخارجية مثل الاسواط التي يحصل لها O-Glycosylation وترتبط السكريات الى السيرين او الثريونين او التايروسين.

وبصورة عامة ولغرض تحديد الوظائف بشكل دقيق لابد من توفر صيغ pdb للبروتينات وبالتالي التركيب الثلاثي 3D Structure الذي يعتمد على الطوي العام Global Folding للبروتين خاصة وان انفراج Divergence وابتعاد التراكيب يكون اقل وأبطأ من حالة التواليات وبذا تكون مقارنة التواليات اقل حساسية وهي الطريقة التي يطلق عليها Similarity Free (1) . وعند عدم توفر التراكيب المحددة باستعمال الأشعة السينية X-Ray Crystallography او استعمال الرنين النووي

المغناطيسي NMR يتم استخدام البروتينات القريبة لمثل هذه الأغراض . وقد استعمل RaptorX (16) في هذه الدراسة للتوصل الى التراكيب الثلاثية وإيجاد اقرب البروتينات التي تشارك البروتين المدروس 40-50 % من التماثل (Sequence Identity) ، وقد أمكن الحصول على التراكيب الثنائية والثلاثية الموضح بعضها في الشكل 6 .



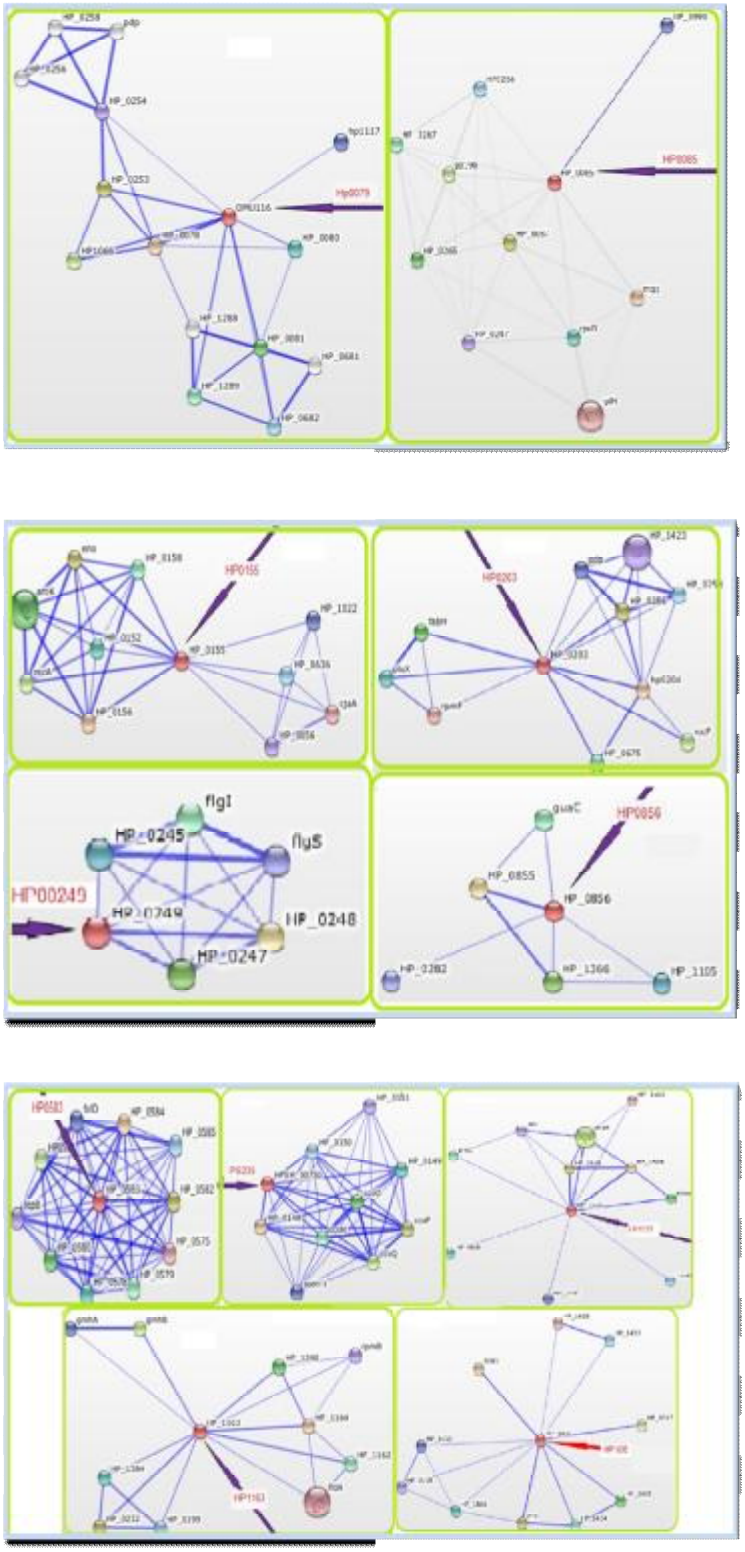
شكل 6 : تراكيب بعض البروتينات المجسمة 3D Structure

وتظهر النتائج ان البروتينات HP0079 (15644709) ، HP0583 (15645208) ، HP0249 (15644877) لها أكثر من دومين تم تحديد تركيبه . اما الجدول 5 فيشير الى pdb ID للبروتينات القريبة التماثل من بروتينات الدراسة بنسبة 40 % او أكثر باستعمال قاعدة البيانات pdbsum وذلك لتقليل الفائض Redundancy وهو النهج الشائع في الدراسات (17) .

جدول 5 : دلائل pdb ID الأقرب للبروتينات المدروسة

Domain	Super family	رمز الجين	gi No.
-	-	HP0085	15644715
COG5651 multidomain	HP_OMP	HP0079	15644709
-	-	PS235	PS235
-	-	HP0203	15644832
-	-	HP0155	15644784
DUF2393 multidomain	-	HP0249	15644877
-	-	HP0583	15645208
-	-	HP0856	15645475
-	COG3597	ST515	ST515
-	-	HP1527	15646135
-	-	PS1632	PS1632
	CcoS	HP1163	15645777
-	-	PS1350	PS1350
-	-	HP1085	15645699
-	-	HP1436	15646045

ولدراسة علاقة بروتينات الدراسة مع مكونات الخلية الأخرى، تم استعمال قاعدة البيانات STRING والعلاقات موضحة في الشكل7 . والنتائج الظاهرة ان البروتينات الافتراضية تكون مهمة في البايولوجي ، والتحدث عن الأحياء حتى المستعملة كموديلات دراسية مثل *Escherichia coli* و B. *subtilis* يبقى محض تمني على الأقل في الوقت الحاضر وذلك لان معرفة البروتينات الافتراضية يساعد في توضيح العديد من المجالات . كما ان البروتينات الافتراضية تكون أهدافا دوائية (13) ولكن يجب ملاحظة ان البروتينات الثابتة المنتشرة في الأحياء هي لأغلب البروتينات ما عدا البروتينات PS1632 PS 1350, STS515, التي لم يكن بالإمكان تحديد تداخلاتها لانها غير موجودة ضمن بيانات القاعدة. المرضية والنافعة يجب ان تستعمل بحذر، وفي حالة البروتينات المستعملة في هذه الدراسة فان اغلبها خاص بالبكتريا *H. pylori* لذلك ستكون الأدوية المصممة متخصصة خاصة وان البروتينات الافتراضية خاصة ذات صفة الضراوة يمكن ان تغلق ربما بجزيئات صغيرة على عكس معظم المضادات الحيوية كبيرة الحجم المحبة للماء (18).



شكل 7 : علاقة البروتينات مع مكونات الخلية الأخرى

References

1. Park, S., Sung Son , W. and Lee , B . (2012). Structural Analysis of Hypothetical Proteins from *Helicobacter pylori*: An Approach to Estimate Functions of Unknown or Hypothetical Proteins . *International Journal of Molecular Science* , 13: 7109-7137 .
2. Mijakovic , I . (2010) . Protein Phosphorylation in Bacteria . *Microbe* , 5 : 21-25 .
3. Ho Sui , S ., Fedynak , A., Hsiao , W ., William , W., Langille, M. and Brinkman , F . (2009) . The Association of Virulence Factors with Genomic Islands . *PLoS ONE* , 4 : e8094 .
4. Galperin , M . and Koonin , E .(2004) . Conserved hypothetical' proteins: prioritization of targets for experimental study . *Nucleic Acids Research* , 32 : 5452–5463
5. Muley, S. , Bastikar,V. Bothe, S. , Meshram , A. and Roy , N. (2011) . Virulence prediction model (virprob) using amino acid and dipeptide composition for human pathogens . *Journal of Biophysics and Structural Biology* , 3: 24-29 .
6. Kusters, J ., van Vliet, A. and Kuipers , E. (2006) . Pathogenesis of *Helicobacter pylori* Infection . Clinical Microbiology Reviews , 19 : 449–490 .
7. Kate , V., Ananthakrishnan , N. and Tovey , F. (2013) . Is *Helicobacter pylori* Infection the Primary Cause of Duodenal Ulceration or a Secondary Factor? A Review of the Evidence . *Gastroenterology Research and Practice* : Article ID 425840 .
8. Choi, H., Juarez, S., Ciordia, S., Fernandez , M. , Bargiela , R. , Albar, R. (2013). Biochemical Characterization of Hypothetical Proteins from *Helicobacter pylori* . *PLoS ONE* , 8: e66605.
9. Rinaldi , A. (2009) . Science wikinomics. Mass networking through the web creates new forms of scientific collaboration . EMBO Report , 10: 439-443 .
10. Leonelli , S., Diehl , A., Christie K., Harris, M and Lomax , J. (2011) . How the gene ontology evolves . *BMC Bioinformatics*, 12:325 – 331 .
11. Gatta , L., Vakil, N., Vaira, D., Scarpignato , C. (2013) . Global eradication rates for Helicobacter pylori infection: systematic review and meta-analysis of sequential therapy . *British Medical Journal*, (Published 7 August 2013) .
12. Altschul , S., Madden ,T., Schäffer, A. , Zhang, J., Zhang , Z., Miller , W. and Lipman , D. (1997) . Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Research* , 25 : 3389-3402.
13. Garbom,S., Forsberg, A., Wolf-Watz , H. and Kihlberg, B. (2004). Identification of novel virulence-associated genes via genome analysis of hypothetical . *Infection and Immunity* , 72 : 1333-1340 .
14. Scott, D. , Weeks, D. , Melchers, K, and Sachs, G.(1998). The life and death of *Helicobacter pylori* . Gut , 43(suppl 1):S56–S60 .
15. 15 . Tabish, S., Raza, A., Nasir, A., Zafar, S. and Bokhari , H. (2011) . Analysis of glycosylation motifs and glycosyltransferases in Bacteria and Archaea. *Bioinformation* 6: 191-195 .
16. Peng , J. and Xu , J. (2012). RaptorX: exploiting structure information for protein alignment by statistical inference . RaptorX: exploiting structure information for protein alignment by statistical inference . *Proteins*, 79 : 161–171.
17. Garg, A. and Gupta , D. (2008) . VirulentPred: a SVM based prediction method for virulent proteins in bacterial pathogens . *BMC Bioinformatics*, 9:62-73 .
18. 18 . Keyser , P., Elofsson , M., and Rosell, H. (2008). Virulence blockers as alternatives to antibiotics : type III secretion inhibitors against Gram-negative bacteria . *Journal of Internal Medicine* , 264 : 17-29 .