

SID



ابزارهای
پژوهش



سرویس ترجمه
تخصصی



کارگاه های
آموزشی



بلاگ
مرکز اطلاعات علمی



سامانه ویراستاری
STES



فیلم های
آموزشی

کارگاه های آموزشی مرکز اطلاعات علمی



آموزش مهارت های کاربردی در تدوین و چاپ مقالات ISI

آموزش مهارت های کاربردی
در تدوین و چاپ مقالات ISI



روش تحقیق کمی

روش تحقیق کمی



آموزش نرم افزار Word برای پژوهشگران

آموزش نرم افزار Word
برای پژوهشگران

استثنا در کدون آغاز گر ژن ها

دکتر عبدالحسن کاظمی: دانشیار قارچ شناسی پزشکی ملکولی دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز: نویسنده رابط
E-mail: kazemi@adineh.net

دکتر جفری رابسون: دانشیار مولکولار بیولوژی - گروه Plant, Microbe, Environment - دانشکده علوم حیاتی - دانشگاه منچستر
دکتر دیوید دینیک: استاد بیماری های عفونی و فوق تخصص میکوزهای ریوی - گروه Plant, Microbe, Environment - دانشکده علوم حیاتی - دانشگاه منچستر

دریافت: ۸۵/۶/۲۶، پذیرش: ۸۶/۵/۲۹

چکیده

زمینه و اهداف: کدون یا تریپلت آغاز کننده، اولین رمز ژنتیکی قابل ترجمه در طول ژن است که رونویسی mRNA از این کدون شروع می شود. این کدون در پروکاریوتها و یوکاریوتها با توالی ATG در رشته DNA مشخص می شود که در هنگام رونویسی کدون های نوکلئوتیدی به صورت AUG در mRNA ظاهر شود و توسط tRNA، rRNA و سایر اجزای ماشین سنتز پروتئین به اسید آمینه متیونین ترجمه می شود که همیشه اولین اسید آمینه واقع در ابتدای زنجیره پپتیدی می باشد ولی استثناء نادری در مورد این قاعده همگانی در توالی نوکلئوتیدی ژن فسفولیپاز B2 (*afplb2*) اسپرژیلوس فومیگاتوس مشاهده گردید. وجود چنین استثنائی در کدون آغاز گر ژن های یوکاریوتی حائز اهمیت بوده و ضرورت توجه به وجود موارد استثنائی در قاعده همگانی مربوط به کدون آغاز گر را خاطر نشان می سازد.

روش بررسی: متعاقب ادخال طول کامل ژن *afplb2* در پلاسמיד *pGEMT-Easy vector* و کلون نمودن آن در *E. coli Top 10 F'* سکوانس طول کامل این ژن با سیستم اتوماتیک ABI تعیین گردید و با شناسایی سکوانس های راهنما نظیر بسته CAAT، TATA، و ناحیه غنی از CT در ناحیه ژن و همچنین استفاده از نرم افزار کامپیوتری GPG islands موقعیت استقرار کدون آغاز گر تشخیص داده شد.

یافته ها: سکوانسینگ ژن فسفولیپاز B2 (*afplb2*) اسپرژیلوس فومیگاتوس یک کدون آغاز گر غیر معمول با توالی GTG را نشان داد که کنترل سه باره صحت قرائت سکوانس ژن *afplb2* احتمال وجود هرگونه خطایی را در این مورد متفی نمود و بدین ترتیب وجود یک کدون آغاز گر و غیر معمول در ژن *afplb2* تایید شد. کنترل ترجمه کل توالی نوکلئوتیدی های طول ژن *afplb2* به اسیدهای آمینه نیز، بر صحت احتساب GTG به عنوان کدون آغاز گر صحه گذاشت.

نتیجه گیری: وجود کدون آغازگری به غیر از ATG در ناحیه ما بعد پروموتور ژن، بویژه در یوکاریوت ها استثنائی است که پیش از یافته فعلی، تنها دو مورد از آن در ژنهای یوکاریوتی سلسله قارچها گزارش شده است. این استثناء می تواند ناشی از یک جهش نقطه ای باشد که موجب جایگزینی یک پورین یعنی گوانین به جای یک پورین دیگر یعنی آدنین گشته و موجب تبدیل کدون آغازگر GTG به جای ATG شده است.

کلید واژه ها: کدون آغازگر، استثناء، ژن فسفولیپاز B2، اسپرژیلوس فومیگاتوس

مقدمه

دادن اسید آمینه متیونین در ابتدای زنجیره پپتیدی می گردد زیرا در جدول رمز ژنتیکی، کدون AUG، کدونی است که با آنتی کدون tRNA ویژه متیونین پیوند هیدروژنی برقرار کرده و بدین ترتیب این اسید آمینه بعنوان آغازگر سنتز زنجیره پپتیدی در جایگاه پپتیدی tRNA قرار می گیرد و سایر آمینه ها در مراحل بعدی با پیوندهای پپتیدی بدنبال متیونین آغازگر قرار می گیرند. رمز ژنتیکی در همه

ساختار ژن ها در سلولهای پروکاریوت و یوکاریوت دارای اجزاء و بخش های مشخصی است که کدون یا تریپلت آغاز کننده یکی از این اجزا می باشد (۱ و ۲) و بلافاصله بعد از پروموتور ژن قرار می گیرد. این کدون با توالی AUG در mRNA از سه نوکلئوتید ATG در جهت 5'→3' از DNA کروموزومی، رونویسی شده و موجب شروع سنتز پروتئین مربوط به ژن با قرار

آتی این نوشتار به صورتی تفصیلی بدان ها اشاره خواهد شد. علاوه بر سکوانس های مشروحه بالا، وجود قطعات غنی از اسیدهای نوکلئیک CT در ناحیه ما قبل کدون آغازگر نیز برای تشخیص موقعیت احتمالی این کدون مفید می باشد (۸ و ۹ و ۱۰ و ۱۱) و یک شاخص مهم دیگر برای تشخیص موقعیت کدون آغازگر در طول سکوانس ژن، وجود سکوانس TCAAAA و یا سکوانس های مشابهی نظیر TCACAA، TCAAA و یا CCAAA درست قبل از کدون آغازگر در ژنهای جنس اسپرژیلوس می باشد که این سکوانس و یا سکوانس هایی مشابه در ناحیه ما قبل کدون آغازگر، در ژنهای شناسایی شده جنس اسپرژیلوس شناسایی شده است (۱۰ و ۱۲ و ۱۳ و ۱۴ و ۱۵ و ۱۶). و البته هم اکنون نرم افزارهای کامپیوتری پر قدرتی مانند GPG islands برای تشخیص منطقه شروع خوانده شدن ژن (ORF) نیز مورد استفاده اند.

وجود استننا در کدون آغازگر ATG و مشاهده مواردی استننا در کدون آغازگر از جایگزینی کدون GTG و احیاناً TTTG به جای کدون آغازگر ATG در ژن های پروکاریوتی و میتوکندریایی گزارش شده است که این تغییرات دارای اثرات مهمی در تقلیل میزان بیان ژن و در نتیجه تقلیل میزان پروتئین حاصل از بیان ژن بوده است ولی جایگزینی این نوع از کدون آغازگر در ژن های یوکاریوتی و موارد شناسایی آن بسیار نادر می باشد که تا کنون تنها در دو مورد توسط Moon و Gutierrez (۱۸ و ۱۷) گزارش شده و نوشتار حاضر به توضیح شناسایی مورد تازه ای از چنین استثنایی در یک ژن یوکاریوتی قارچی می پردازد.

مواد و روش ها

برای انجام PCR اولیه، پرایمرهای لازم برای تکثیر یک قطعه تخمینی از DNA ژنومی به طول ۵۵۰ bp با استفاده از ردیف های نوکلئوتیدی محفوظ برای ژنفسفولپایز B در کاندیدا آلیکانس، C. نفرمانس، C. ساکارومایسس سرویسسه و پنسیلیوم کرایزوترنوم طراحی شد. توالی پرایمرهای طراحی شده شامل موارد زیر بود.

Forward primer: 5' (GAY GGI GGI GAR GAY AAY CAR AA) 3'
Reverse primer: 5' (AYI GTI CCR TTC CAR CAR TA) 3'

تکثیر قطعه مورد نظر از DNA ژنومی با شرایط ۳ دقیقه در ۹۴° C و ۹۰ ثانیه در ۷۲° C برای ۲۹ سیکل و نهایتاً یک دقیقه در ۹۴° C و یک دقیقه در ۴۸° C و هفت دقیقه در ۷۲° C برای یک سیکل در ترموسایکلر با موفقیت انجام گردید و محصول PCR در ژل آگارز الکتروفورز تهیه شده با بافر TBE و با استفاده از اتیدیوم بروماید رنگ آمیزی و باند DNA به طول ۵۵۰ bp رویت گردید.

برای انجام کلونینگ و تعیین توالی نوکلئوتیدی محصول PCR، مقدار ۵۰ ul از محصول PCR در ژل الکتروفورز تهیه شده با بافر TAE آنالیز گردیده و پس از برش باند مورد نظر از روی ژل در زیر تابش نور ماورای بنفش، قطعه حاصله از ژل با استفاده از کیت

موجودات زنده (به جز در DNA میتوکندری) حالت همگانی داشته و جدول رمز ژنتیکی نشاندهنده ثابت و عمومیت این رمزها و ترجمه ثابت کدون های ویژه به اسیدهای آمینه ثابت و مشخص می باشد (۳ و ۴). عمومیت شروع سنتز زنجیر پپتیدی با کدون AUG ویژه اسید آمینه متیونین (در میتوکندری ها این رمز AUA می باشد) آنچنان رایج است که همه متون آموزشی بر نکته فوق تصریح کرده و در پروژه های پژوهشی نیز، ذهنیت و تعلیم آموزشی، پیش فرض وجود توالی ATG در رشته DNA ژنومی و به تبع آن وجود AUG را در ابتدای بخش ترجمه پذیر و بیان شدنی ژن مسلم می شمارد (۱ و ۲ و ۵ و ۶ و ۷). در پروکاریوتها، یک آمینواسیل tRNA (AA-tRNA) دارای مشتق فورمیل (-CHO) متیونین بنام فورمیل متیونین tRNA (F-Met-tRNA) و در یوکاریوتها نوع ویژه ای از Met-tRNA اولین مرحله ساخت پروتئین را شروع می کند زیرا در سنتز پروتئین، رشد زنجیر پپتیدی همیشه از گروه NH₂ آزاد انتهایی به سمت COOH- می باشد و نقش فورمیل متیونین tRNA، تأمین سنتز پروتئین در این جهت می باشد. در F-Met-tRNA، گروه NH₂- بوسیله یک گروه فورمیل مسدود شده و فقط COOH- برای واکنش با NH₂- دومین اسید آمینه باقی می ماند و البته ریبوزومها قادر هستند که بین کدون AUG واقع در قسمت های میانی mRNA و کدون AUG واقع در قسمت ابتدایی mRNA تفاوت قایل شوند زیرا هنگام واقع شدن این کدون در ابتدای mRNA یا RNA پیامبر F-met و هنگام وجود آن در وسط mRNA متیونین معمولی در زنجیر پپتیدی قرار می گیرد. این امر به دلیل وجود دو tRNA متفاوت برای پاسخدهی به کدون AUG می باشد که جدول رمز ژنتیکی نیز بر این موضوع تصریح کرده و در هنگام سنتز پروتئین نیز F-Met-tRNA آغاز کننده، پاسخدهی به کدون AUG آغازگر را انجام می دهد. در پروکاریوت ها متیونین پس از اتصال به این tRNA آغاز کننده، فورمیل می گردد ولی در یوکاریوتها، متیونین آغازگر زنجیر پپتیدی، فورمیل نمی شود و در نهایت نیز معمولاً متیونین ابتدایی از پلی پپتید کامل شده جدا می شود. در سلولهای یوکاریوت معمولاً کدون آغازگر در قسمتی از طول نوکلئوتید های تشکیل دهنده ژن واقع شده است که در قسمت های قبل از آن یعنی بالا دست ژن، پروموتور ژن بصورت منطقه ای غنی از AT واقع شده است که معمولاً در حدود ۳۰ bp و احیاناً در فواصل متفاوت دیگر قبل از ژن آغازگر قرار دارد. علاوه بر این منطقه غنی از AT، یک یا چند قطعه غنی از TA دیگری بنام بسته TATA¹ و یا سکوانسی مشابه عموماً در حدود ۲۷۰ bp- تا ۱۱۰- و احیاناً در فواصل متفاوت دیگر قبل از کدون آغازگر قابل مشاهده اند و همچنین مزید بر سکوانس های فوق الذکر، یک یا چند قطعه CAAT و یا دارای سکوانس مشابه نیز معمولاً در فاصله ۱۲۰ bp- تا ۶۰- و احیاناً در فواصل متفاوت دیگر قبل از کدون آغازگر وجود دارند که به تشخیص کدون مربوط به متیونین آغازگر از سایر متیونین های واقع در قسمت های میانی mRNA کمک می نمایند که در مباحث

طراحی شده از طول هر قطعه و همچنین حذف ردیف های همپوشان مشابه در هر کدام از قطعات، سکوانس های مربوط به قطعات مختلف با رعایت جهت 3'→5' بصورت دستی و یا با استفاده از نرم افزارهای بیوانفورماتیکی مانند (Contig Assembly programe, CAP) به آدرس <http://WWW.sequence.neurobio.upr.clu.edu/cop.cgi> با همدیگر تلفیق شدند. تشابه سکوانس حاصل با سکوانس ژن فسفولیپاز سایر میکروارگانیسم ها و یا موجودات پرسولوی دیگر و در نتیجه شناسایی آن بعنوان ژن فسفولیپاز در اسپرئیلوس فومیگاتوس با مقایسه این سکوانس با سکوانس های فسفولیپاز موجود در Gene bank انجام گرفت. این مقایسه با استفاده از نرم افزار کامپیوتری موسوم به بلاست در سایت (National Center For Biotechnology information, NCBI) <http://WWW.ncbi.nlm.nih.gov/> و یا نرم افزارهای مرکز بیوانفورماتیک دانشگاه توکیو به آدرس <http://blast.genome.ad.jp/> و با ارائه توالی ژن به فرم فاستا به نرم افزار کامپیوتری انجام گردید.

یافته ها

متعاقب تعیین توالی نوکلئوتیدهای ژن کامل *plb2* در *A. فومیگاتوس* (*afplb2*) و احراز حتمیت تعلق این ژن به گروه ژنهای کد کننده فسفولیپاز B با عنایت به نتایج حاصل از معرفی ژن به نرم افزار کامپیوتری بلاست (۳۹٪-۶۲٪ تشابه با ژنهای فسفولیپاز سایر میکروارگانیسم ها در سطح اسیدنوکلیک)، در کمال شگفتی کدون آغازگر ATG در موقعیت قابل پیش بینی از طول ژن مشاهده نگردید و بجای آن توالی GTG از اسیدهای نوکلئیک مشاهده شد. برای حل این مشکل و شناسایی کدون آغازگر در موقعیت پیش بینی شده از طول ژن، همه احتمالات ممکن مد نظر قرار گرفت ولی با بررسی جمیع احتمالات ممکن برای رفع اشکال محتمل در قرائت اسیدهای نوکلئیک طول ژن بوسیله سیستم قرائت نوکلئوتیدها، صحت قرائت توالی نوکلئوتیدها در منطقه وجود کدون آغازگر تایید گردید و بدنبال آن جستجوی منابع اطلاعات ژنومی و بانکهای ژنی نیز نشان داد که جایگزینی توالی غیرمعمول GTG به جای ATG بعنوان کدون آغازگر در دو پژوهش جداگانه در مورد دو ژن فارچی متفاوت نیز شناسایی شده است (۱۷ و ۱۸) و یافته اخیر در واقع سومین مورد از این استثناء ژنتیکی در این گروه از یوکاریوت ها محسوب می شود. متعاقب قرائت توالی نوکلئوتیدهای ژن *afplb2* و عدم مشاهده کدون ATG بعنوان کدون آغازگر در موقعیت پیش بینی شده، همه احتمالات ممکن برای تصحیح خطا و یا خطاهای محتمل مورد توجه قرار گرفت. در طول ژن در نزدیکترین منطقه نسبت به موقعیت پیش بینی شده برای کدون آغازگر، دو توالی ATG متداول برای کدون آغازگر وجود دارد که یکی از آنها ۳۸bp بعد از کدون GTG و یکی دیگر در موقعیت ۷۹bp- (قبل از کدون

QIAquick gel extraction kit استخراج و تلخیص شد. در مرحله بعدی باند ۵۵۰ bp استخراج شده به وکتور pGEMT[®]-Easy vector پیوند زده شده و سپس به سلول میزبان (*E. coli Top 10 F'*) منتقل گردید. کلنی های آبی - سفید حاصل از رشد *E. coli Top 10 F'* در محیط کشت LB حاوی ۵- برومو - ۴ - کلرو - ۳ - ایندول - بتا - دی - گالاکتوپیرانوزید (X-gal) و ایزوپروپیل - بتا - دی - تیوگالاکتوپیرانوزید (IPTG) غربالگری شده و پس از انتخاب تعدادی ۱۲-۶ کلنی سفید حاوی وکتور ترانسفورم شده، کلنی های حاصله در محیط (Luria-Burta, LB) مایع کشت داده شده و متعاقب آن وکتور حاوی قطعه PCR از مجموعه باکتریهای تک به تک محیط های LB مایع با انجام لیز سلولی و مراحل بعدی آن جدا گردید. برش قطعه PCR از ناحیه (Multi Cloning Sit, MCS) وکتور با استفاده از اندونوکلاز محدودالتر *Eco RI* انجام گردیده و پس از تاثیر دو ساعته آنزیم فوق در ۳۷° C بر روی وکتور، محصول حاصله در ژل آگاروز حاوی بافر TAE آنالیز گشته و باند مورد نظر مجدداً با برش از ژل و انجام مراحل مربوط به تلخیص قطعه DNA از ژل، بصورت خالص بدست آمد. برای انجام مراحل مربوط به تعیین توالی باند هدف، PCR مجدد با استفاده از پرایمر M13 در ترموسایکلر و با شرایط ۹۶° C بمدت چهار دقیقه برای یک سیکل، ۹۶° C به مدت ۳۰ ثانیه، ۵۰° C به مدت ۱۵ ثانیه، ۶۰° C به مدت چهار دقیقه برای ۲۵ سیکل انجام گردید و تعیین توالی نوکلئوتیدها در محصول PCR اولیه با استفاده از تکنیک ABI اتوماتیک انجام گردید. برای کلونینگ و تعیین توالی طول کامل ژن *plb2* تکنیک PCR برگشتی (Inverse PCR, I PCR) انتخاب و برای این منظور DNA ژنومی هضم شده با اندونوکلاز محدودالتر برای انجام مراحل بعدی جستجوی توالی نوکلئوتیدها مورد استفاده قرار گرفت. برای انجام این روش قطعات خطی از DNA ژنومی هضم شده ابتدا تحت تاثیر آنزیم DNA لیگاز به یک قطعه DNA حلقوی تبدیل شده و سپس با طراحی پرایمرهای اختصاصی جهت انجام IPCR، تکثیر DNA حلقوی حاوی طول بیشتری از ژن *plb2* در ترموسایکلر با شرایط ۳ دقیقه در ۹۴° C برای یک سیکل، یک دقیقه در ۹۴° C، یک دقیقه در ۶۵° C و سه دقیقه در ۷۰° C برای ۱۰ سیکل، یک دقیقه در ۹۴° C، یک دقیقه در ۶۵° C، سه دقیقه + پنج ثانیه اضافی به ازای انجام هر سیکل در ۷۰° C برای ۲۴ سیکل، یک دقیقه در ۹۴° C، یک دقیقه در ۶۵° C و هفت دقیقه در ۷۰° C یک سیکل انجام گردید. توالی نوکلئوتیدها در فرآورده حاصل از IPCR با انجام مجدد مراحل توضیح داده شده برای کلونینگ و توالی یابی DNA ژنومی با استفاده از سیستم ABI prism 377 DNA sequencer و تکنیک پیمودن طول قطعات با پرایمر تعیین گردید. تعیین توالی نوکلئوتیدی قطعات DNA در فرآورده حاصل از PCR و IPCR با ارسال آنها به شرکت MWG در آلمان صورت پذیرفت و سپس، با حذف ردیف های مربوط به پرایمرهای

معمول برای آنزیم های دارای فعالیت لیپازی (GLSG (G/S) و همچنین فسفولیپازی (SGGGXR(M/L)) در طول این سکوانس بصورتی کاملاً محافظه کارانه حفظ شده بود (شکل ۲).
 سکوانس اسیدآمینه ای شکل دو در بردارنده قطعه سکوانس GLSG (G/S,S=CG) ما بین شماره های ۱۶۶-۱۶۰ در طول سکوانس اسیدآمینه ای می باشد که این قطعه بصورت محفوظ در همه آنزیم های دارای قدرت هضم چربی ها وجود دارد (پر رنگ دارای خط زیرین). همچنین در طول سکوانس اسیدآمینه ای فوق، قطعه کاتالیک فسفولیپازی با توالی اسیدهای آمینه SGGGXRA(M/L,S=CG, R=AG) (مورب، پر رنگ دارای و خط زیرین) ما بین شماره های ۱۲۶-۱۱۹ مستقر است که انتظار علمی مربوط به ساختمان فسفولیپازی این آنزیم را همراه با توالی اسیدهای آمینه شماره ۱۶۶-۱۶۰ برآورده می سازد.

GTG) قرار دارد. ولی تلاش برای ترجمه توالی اسیدهای نوکلئیک طول ژن به اسیدهای آمینه بر اساس هر دو ATG نشان داد که شروع ترجمه از این دو ATG به توالی ممتد از اسیدهای آمینه منجر نمی شود و همه ترجمه های محتمل (ترجمه در جهت 3'→5' سکوانس نوکلئوتیدی حاصله بر مبنای شروع ترجمه از A یا T یا G و هم چنین ترجمه رشته مکمل سکوانس با رعایت جهت 3'→5') برای ترجمه توالی نوکلئوتیدها به اسیدهای آمینه، منجر به ترجمه ای مقطع و گسیخته از اسیدهای آمینه می گردد که احتمال تشکیل زنجیره پپتیدی را منتفی می نماید و حال آنکه شروع ترجمه سکوانس نوکلئوتیدی از GTG منجر به حصول یک زنجیره کامل و ممتد از اسیدهای آمینه می گردید که مقایسه توالی اسیدهای آمینه این زنجیره با سکوانس اسیدهای آمینه آنزیم فسفولیپاز B سایر میکروارگانیسم، همسانی بسیار زیادی را نشان می داد (شکل یک) و علاوه بر آن، سکوانس های اسیدآمینه ای

| | | |
|-------------------|---|--|
| A.fumigatus PLB2 | 1 | --VSNFASFHSLSYSTCAEYHLSALANGALLATAPVNRALPNAPDG-YTPQGETCPSKRP |
| C.albicans LLPL1 | 1 | -----MILHHLIILLIINYCVATSPNTNGYAPGVPSCPSQ- |
| C.albicans LLPL2 | 1 | -----MLVQSIILFLVGCVLKSKSPNTLYTPGYVQCPEGK- |
| A.ORYZAE LLPL2 | 1 | MKPTTAAIALAGLLSGVTAAPGPHGERIERIDRTVLERALPNAPDG-YVPSNVSCPANRP |
| P.CHRYSOGENUM PLB | 1 | -----DITFAGVQALPNAPDG-YVPTSVSASPASRP |
| A.niger LLPL1 | 1 | --MKFNALLTTLAALGYIQGGAAVPTTVDLTYADISPRALDNAPDG-YTPSNVSCPANRP |
| A.ORYZAE LLPL1 | 1 | --MKVALLTLAAGLANAASIAVT-----PRAFNPADK-YAPANVSCPSTRP |
| A.niger LLPL2 | 1 | MKLPLFAAAAAGLANAASLPVERAEAEVASVAADLIVRALPNAPDG-YTPSNVTCPSTRP |
| N.crassa PLB | 1 | -----MFSVSVTSQQLAVRALPDSPSGGYAPAVVDCPKTKP |
| C.neoformans PLB | 1 | -----MSIIITAFALSLLATTAFAVPPETPRIELQAEERGLGDQSYAPVQWDCPSNVT |
| consensus | 1 |*.....* |

| | | |
|-------------------|----|---|
| A.fumigatus PLB2 | 58 | SIRNATA-LSSAETSWLKARRNNTKDALKAFLSRVDLGSFNGSDYIANHSANASALPNIG |
| C.albicans LLPL1 | 36 | LIRSGSQGINPNEQSYINARYPIAKQALSKFLHNAQLQNFVDVDSFLAHS-----NPTIG |
| C.albicans LLPL2 | 36 | LTRSSLDGINSNEKAYIDRYANAKSELSRFLHNAKMVDFDVGFLNS-----NPTIG |
| A.ORYZAE LLPL2 | 60 | TVRSASSGLSNETSWLKTREKTSAMKDFFNHVTIKDFDAVQYLDNHSNNTSNLPNIG |
| P.CHRYSOGENUM PLB | 31 | TVRSAAK-LSTNETSWLEVRRKQTSALKDFGHVKVGDYDVGAYLDKHSNSSLNPNIG |
| A.niger LLPL1 | 58 | TIRSAST-LSSNETAVVRRKQTVSAMKDLFGHINMSSFDAYSINSHSNININPNIG |
| A.ORYZAE LLPL1 | 45 | SIRSAAA-LSTSEKDWLQVRRNETLEPKMDLLGRLLNLSFDASGYIDRHKNNASNIPNVA |
| A.niger LLPL2 | 60 | SIRDASG-ISTNETEWLKVRRNATLTPMKNLLSRLNLTGFDTTSYINEHSSNISINIPNIA |
| N.crassa PLB | 37 | TLRKAVD-LSNEEKWLSIRRKNTIQPMRDLLKRANITGFDSETFMNEANNISQLPNVA |
| C.neoformans PLB | 53 | WIRNATTGLTGERAYTEAREKLVQPAIEQMAARGLETP-----PRTPVIG |
| consensus | 61 | ..*....*.....*.....* |

| | | |
|-------------------|-----|--|
| A.fumigatus PLB2 | 117 | IAVSGGGYRALMNGGALQAFDNRTTNSHSGQLGGILQSATYLSGLSGGSWLVGSIYMN |
| C.albicans LLPL1 | 90 | LAFSGGGYRAMLTGAGEISSLDSRT--KTNTPVLAGILQASSYIAGLSGGSWLVGSLASN |
| C.albicans LLPL2 | 89 | LAFSGGGYRAMLAGAGELLALDSR---ATNPSVLSGILQSSYIVGLSGGSWLVGSLASN |
| A.ORYZAE LLPL2 | 120 | IAVSGGGYRALMNGAGAKAFDSRTENSTATGQLGGLLQSATYLAGLSGGSWLVGSIYIN |
| P.CHRYSOGENUM PLB | 90 | IAVSGGGWRALMNGAGAVKAFDSRTDNATATGHLGGLLQSATYISGLSGGSWLLGSIYIN |
| A.niger LLPL1 | 117 | IAVSGGGYRALTNAGALKAFDSRTENSHNGQLGGLLQSATYLSGLSGGSWLVGSIYIN |
| A.ORYZAE LLPL1 | 104 | IAVSGGGYRALTNAGALVAFDSRTENSTARGQLGGLLQSATYLSGLSGGSWLVGSIYIN |
| A.niger LLPL2 | 119 | IAASGGGYRALTNAGALKAFDSRSDNATNSGQLGGLLQAAATYVSGLSGGSWLVGSMFVN |
| N.crassa PLB | 96 | IAISGGGYRALMNGAGFVAADNRIQNTTGAGGIGGLLQSSYLAGLSGGGSWLVGSLFSN |
| C.neoformans PLB | 100 | VALAGGGYRAMLTGLGGIMGMNES--TEASQSETGGWLDGVSYSGLSGGSWATGSMFMSN |
| consensus | 121 |*.....*.....*.....* |

| | | |
|-------------------|-----|---|
| A.fumigatus PLB2 | 177 | NFSDVSSLQDN--GSVWQFQDSIFSGPTQSTTWDIGTVEEYSQQLLGAVDGKSNAGYEVSI |
| C.albicans LLPL1 | 148 | NLNSVDDMLSQ--GLWELTHSFLSYG---IEHPKQVEEWVNVGNQVASKRNANFNVSLS |
| C.albicans LLPL2 | 146 | DLIPVDQLLRE--DKLWDIQNSLVAYY---GVNIVRNTAMWGNINLQVQTKQLAGFTVSI |
| A.ORYZAE LLPL2 | 180 | NFTTISALQTHEGAVVWFQNSIFEGPDGDSIQILDSATYKHYVDQVQDKKAGYETSII |
| P.CHRYSOGENUM PLB | 150 | NFTTVDKLQTHEAGSVWFQNSIEGPDAGGIQLLDSAGYKDLADAVDQKKKAGFDTTL |
| A.niger LLPL1 | 177 | NFTTVSNLQTYKEGEVWQFQNSITKGPKTNGLQAWDTAKYRRDLAKVVAGKKDAGFNSTF |
| A.ORYZAE LLPL1 | 164 | NFTTIGDLQAS--DKVWDFKNSILEGPDVKHFQLINTAAAYWKDLYDAVKDKRNAGFNSTL |
| A.niger LLPL2 | 179 | NFSSIGELQAS--EKVWFDFKSLLEGPFDHIIQIVSTVEYWKDITEVDGKANAGFNSTF |
| N.crassa PLB | 156 | NFSSIETLSE--NKVWDFENSIFGPKKEAGLSTVNRIQYWEVAKEVAKKKDAGFETSII |
| C.neoformans PLB | 159 | GGQLPTTLLLEN----LWNIDSNLVFPDD-----GKLSFYTNLYTETNAKSDLGFPVQI |
| consensus | 181 |* |

| | | |
|-------------------|-----|--|
| A.fumigatus PLB2 | 235 | TDYWGRSLSYQLINASE--G-GVGYTWSSIALSKDFQ-AGTMPMPLVIADGRAPGELVVP |
| C.albicans LLPL1 | 203 | TDIYGRLLSYPLLTNTEDE-E-GDAYLWSDVTSASNFO-SHQMPPFLLISDGRAPDTTIIIN |
| C.albicans LLPL2 | 201 | TDVYGRALSHQLLNTEFND-Q-GASFLWSDVTEETTSFO--NNEMPYPILAAALGREPNTVLMN |
| A.ORYZAE LLPL2 | 240 | TDYWGRALSYQLINATD--G-GPSYTWSSIALTDFK-QADMPMPLLVADGRYPDELVVS |
| P.CHRYSOGENUM PLB | 210 | TDIYGRALSYQMFNASN--G-GLSYTWSSIALTDFEQ-DGDYPMPFVADGRNPGELVIG |
| A.niger LLPL1 | 237 | TDYWGRALSYQLINATD--G-GPGYTWSSIALTQGFK-NGNMPMPLLVADGRNPGETLIG |

| | | | |
|-------------------|-----|--------------------|---|
| A.ORYZAE LLPL1 | 222 | TDYWGRALSYQFINATD | DDG--GPSYTWSSIALGDDFK--KGMMPMILVADGRNPGEILIG |
| A.niger LLPL2 | 237 | TDYWGRALSYQLVNASDD | DKG--GPDYTWSSIALMDDFK--NGQYPMPVVADGRNPGEIIVE |
| N.crassa PLB | 214 | TDYWGRALSYQLIGADM | G---GPAYTFSSIAQTDNFQ--KAETFPFIVADGRAPGDTIIS |
| C.neoformans PLB | 208 | TDIWGLAIGSHVLP | PEPYQLSNTPNLTFSSLPSVVAALGNASLPMPPIVAEAEREAGELVIA |
| consensus | 241 | ***** | ***** |
| A.fumigatus PLB2 | 291 | ANTTVFEFNPWEFGS | WDK----SLSAFVSLLEFLGSNFSKGLTATGEKCVRGFDNAGFIM |
| C.albicans LLPL1 | 260 | LNSTVIELTPYEF | GSWDP----SLNEFVDTRYLGTCLDNGRPTG--KCYNGFDNAGFFM |
| C.albicans LLPL2 | 258 | FNSTVFELTPYEV | GSWDP----SLRSFVDTKYIGTRLDDGAPVSK--RCVNGFDNAGFFM |
| A.ORYZAE LLPL2 | 296 | SNATVYEFNPWEF | GTFDP----TVYGFVPLEYVGSKFDGGSIPDNETCVRGFDNAGFVM |
| P.CHRYSOGENUM PLB | 266 | SNSTVYEFNPWEF | GTFDP----TIFGFVPLEYLGSKFEGGSLPSNESCIIRGFDSDAGFVI |
| A.niger LLPL1 | 293 | SNSTVYEFNPWEF | GSFDP----SIFGFAPLEYLGSYFENGEVPSRSRSCVRGFDNAGFVM |
| A.ORYZAE LLPL1 | 280 | SNSTVYEFNPWEF | GSFDP----SVYGFAPLEYLGSNEFENGLPKGESCVRGFDNAGFVM |
| A.niger LLPL2 | 295 | TNATVYEVNPWEF | GSFDP----SVYAFAPLOYLGSRFENGSIIPDNGTCVSGFDNAGFIM |
| N.crassa PLB | 270 | LNATNYEFNPF | TGSWDP----TVYGFAPTKYLGANF--SNGVIPSQGGKCVEGLDQAGFVM |
| C.neoformans PLB | 268 | ENATVWEFTPYE | FGSWAFGSQYKSPGAFPTPIEYLGTSVDDGSPNG--TCWKGFDQLS FVM |
| consensus | 301 | ***** | ***** |
| A.fumigatus PLB2 | 346 | GTSSSLFNQAFLO | MNNTDAPSVVKDAISAILGKIGSE--NNDIAVYKPNPFYRYASQSK- |
| C.albicans LLPL1 | 313 | GTSSALFNQAVLS | ITEANIPSLFKLIDIDDILVDPIIK--SNIDVSAYNPNPFKSSGNSNTA |
| C.albicans LLPL2 | 312 | GTSSSLFNIVLQ | LNMMPIPFKLELISKFTLDPVEK--LNIDIAQYNPNPFHKSNNSDTK |
| A.ORYZAE LLPL2 | 351 | GTSSSLFNQFFLQ | VNSTSLPDLFKTAFSDILAKIGEE--DEDIAVYAPNPFYNWAPVSSP |
| P.CHRYSOGENUM PLB | 321 | GTSSSLFNQFLQ | INTSLPSLTKIDVNGILFDLDS--QNDIASYDPNPFYKYNEHSSP |
| A.niger LLPL1 | 348 | GTSSSLFNQFLL | KLNNTDIPSTLTKVIASILEELGDR--NDDIAIYSPNPFYKYRNATVS |
| A.ORYZAE LLPL1 | 335 | GTSSSLFNQFLL | RNGTDIPNFKLKAIAADVLEHLGEN--DEDIAVYAPNPFYKYRNSTAA |
| A.niger LLPL2 | 350 | GSSSTLFNQFL | LQNSTSIPTILKDAFTDILEDLGER--NDDIAVYSPNPFSGYRDSSED |
| N.crassa PLB | 325 | GTSSSTLFNQFL | LANISSYDGVARRAHRSRDFCQGNRRQEDDVSQIIPNPFLDWNNRTP |
| C.neoformans PLB | 326 | GTSATLFGAGF | LELNGTDSG--LLTNLITAFADLGED--QADISRIP--NSFSNYNSGENP |
| consensus | 361 | ***** | ***** |
| A.fumigatus PLB2 | 403 | YTSPPSLTLVDG | GEDLQNIPLDPLLQPQRHVDVILAVDSSADTTTRWPNGTSLVATYERN |
| C.albicans LLPL1 | 372 | ISQSKNLYLVDG | GEDGQNIPI SPLH--RNVSAIFAFDNSNDVLN--WPDGTSLVKTYERQ |
| C.albicans LLPL2 | 371 | IAQSRITLYLAD | GGEDGQNVPLPLLIH--RKVSAIFAFDQADKNN--WPDGSALIKTFERQ |
| A.ORYZAE LLPL2 | 409 | AAHQQLDMVDG | GEDLQNIPLHPLIQPERHVDVIFAVDSSADTTYSWPNGTALVATYERS |
| P.CHRYSOGENUM PLB | 379 | YAAQKLLD | VVDGGEDGQNVPLHPLIQPERHVDVIFAVDSSADTYFSPNGTSLVATYERS |
| A.niger LLPL1 | 406 | YEKTPDLNV | VVDGGEDKQNLPLHPLIQPARNVVDVIFAVDSSASTSDNWPNGSPLVATYERS |
| A.ORYZAE LLPL1 | 393 | YSSTPELD | VVDGGEDGQNVPLHPLIQPTHNVVDVIFAVDSSADTDHSWPNGSSLIYTYERS |
| A.niger LLPL2 | 408 | YATAKDL | VVDGGEDGENIPLHPLIQPERAVDVIFAIDSSADTYFSPNGTSLVATYERS |
| N.crassa PLB | 385 | NADTLELD | LVDGGEDLQNIPLNPLTQPVRADVIFAIDSSADVTN--WPNGTALRATYERT |
| C.neoformans PLB | 382 | IYNLTYITL | VDAGETNQNIPLPLLVPTRDVAIVAFDSSYDSYIWPNGTALRTTYERA |
| consensus | 421 | ***** | ***** |
| A.fumigatus PLB2 | 463 | VDSQ--RNSSLP | FPSVDPDQNTFVNGLNLRPTFFGCNSSNATG-----APLVVYIPNA |
| C.albicans LLPL1 | 429 | FSSQ---NGI | AFFYPVDQYTFRNLNLTSKPTFFGCDAKNLTSLTNDIYDVPVLIYLANR |
| C.albicans LLPL2 | 428 | FSSQ---GDG | AFFYPVDQYTFRNTNLTSKPTFFGCDAQNLTSLTENIYDVPVLIYLANR |
| A.ORYZAE LLPL2 | 469 | LNSTG--IANG | SFPAIPDQNTFVNGLNTRPTFFGCNSTNTGTP-----TPLVVYLPNY |
| P.CHRYSOGENUM PLB | 439 | LNSSG--IANG | TAFPAVPDQNTFVNGLNTRPTFFGCDSNQTGP-----SPLVVYIPNA |
| A.niger LLPL1 | 466 | LNSTG--IANG | TAFPSIPDKSTFINLGLNTRPTFFGCNSNITGH-----APLVVYLPNY |
| A.ORYZAE LLPL1 | 453 | LNTTG--IANG | SFPAVPDVNTFNLNGLNKRPTFFGCNSNSTSTP-----TPLIVYLPNA |
| A.niger LLPL2 | 468 | LEPS---IANG | TAFPAVPDQNTFVNGLNLRPTFFGCNDPKNISGT-----APLVIYLPNS |
| N.crassa PLB | 444 | FGSI---SNG | LTFPSIPDQNTFVNGLNLRPTFFGCNDVKNFTLNAN--QKVPPLIVYIPNA |
| C.neoformans PLB | 442 | KILAEHENTR | VLMPEVPSMNGFVNGGYSRPTFFGCNDTTPV-----IITYIPSY |
| consensus | 481 | ***** | ***** |
| A.fumigatus PLB2 | 515 | PYIYPSNVSTF | DLQYNTSERNAIENGVDVATLGNQTVDS--NWPACLACAILSRSFERT |
| C.albicans LLPL1 | 486 | PFTYWSNTST | FKLTYDDNERQGMISNGFEIATRSSGLDD--EWAACVGCIIIRREQERQ |
| C.albicans LLPL2 | 485 | PFTYFSNIST | FKLKYSDTERQGMISNGYDVASRLNGKLDN--EWAACVGCIIIRREQERL |
| A.ORYZAE LLPL2 | 522 | PYVSYSNWST | FQPSYEISERDDTIRNGYDVVTMGNSTRD--GNWTCVGCAILSRSFERT |
| P.CHRYSOGENUM PLB | 492 | PYSYHSNIST | FQLSTDDAERDNIILNGYEVATMANSTLD--DNWTACVACAILSRSFERT |
| A.niger LLPL1 | 519 | PYTTLNKNST | FQLKYELERDENITNGWNVVTMGNGSRKSYEDDWTACVACAILSRSFERT |
| A.ORYZAE LLPL1 | 506 | PYTAESNTST | FQLAYKQQRDDIILNGYNVVTQGNASAD--ANWPCVGCAILQRSTERT |
| A.niger LLPL2 | 520 | PYTYDSNFST | FKLTYSDERDSVITNGWNVVTRGNGTVD--DNFPSCVACAILQALHYRT |
| N.crassa PLB | 500 | PYTALSNVST | FDPSTMSQRNDIIGNGWNSATQNGTLDS--EWPTCVACAVI SRSLDRL |
| C.neoformans PLB | 492 | PWSFAANTST | YQLSYENNEANEMLLNGMRSLLNHSVPT---WPTCFACALTDRSFMYT |
| consensus | 541 | ***** | ***** |
| A.fumigatus PLB2 | 573 | NTTVPKTCST | CFKTYCWNGTINATTPGDYYP TL-----KLH----- |
| C.albicans LLPL1 | 544 | GIEQTEQC | KRCFENYCWDTIYKGEPLGENFSD-----DGLTNSATEYNSN |
| C.albicans LLPL2 | 543 | GIEQTEQC | KCFENYCWDTIYKGEPLGDNFSD-----EGLTNSAAYNSN |
| A.ORYZAE LLPL2 | 580 | NTQVPDACT | QCFQRYCWDGTTNSTNPADYEPVT-----LLEDSAGSALSPA |
| P.CHRYSOGENUM PLB | 550 | GTTLPDICS | QCFDRYCWNGTVNSTRPESYDPAF-----YLADNSMASVSLP |
| A.niger LLPL1 | 579 | NTQVPDMCS | QCFDRYCWDGTRNSTTPAAYEPKV-----LMSAGVIRGISMS |
| A.ORYZAE LLPL1 | 564 | NTKLPDIC | NTCFKNYCWDGTTNSTTPAYEP EL-----LMEASTSGASKDQ |
| A.niger LLPL2 | 578 | NTSLPDICT | TCFNDYCWNGTNSTTPGAYEPSV-----LIATSGAIKSVLD |
| N.crassa PLB | 558 | GRQTPAACK | TCFERYCWNGTVNSKDTGVYMEF-----KIADAHALDSGAV |
| C.neoformans PLB | 548 | SENRSITCQE | CFDTCWAGDDNTEPANIEPVIINSVPPWLIANNLSIGMADAPGSNESTA |
| consensus | 601 | ***** | ***** |

| | | |
|-------------------|-----|----------------------------|
| A.fumigatus PLB2 | | ----- |
| C.albicans LLPL1 | 590 | NVAGFNDGGTSLKKA----- |
| C.albicans LLPL2 | 589 | NVAGINDGGIALVKRDDLSN----- |
| A.ORYZAE LLPL2 | 626 | VITTIIVATSAAALFTLL----- |
| P.CHRYSOGENUM PLB | 596 | TMLSTVVAAGLAMLLV----- |
| A.niger LLPL1 | 625 | RLVLGLFPVVVGWMM----- |
| A.ORYZAE LLPL1 | 610 | LNRTAAVIAFAVMFFMTI----- |
| A.niger LLPL2 | 624 | YSVLALAMGVAAFML----- |
| N.crassa PLB | 604 | AIGKMVNVWSSVVVGVAATLLL---- |
| C.neoformans PLB | 608 | GTASSGAAKMGVGMVALTAGLGLML |
| consensus | 661 | |

شکل ۱: نمایش تشابه سکوانس اسید آمینه ای ژن فسفولیپاز B2 آسپرژیلوس فومیگاتوس (*afplb2*) با ژن فسفولیپاز سایر میکروارگانیسم ها

```

1 VSNFASFHSLYSSTCAEYHLSALANGALLATAPVNRALPNAPDGYTPQGE
51 TCPSKRPSIRNATALSSAETSWLKARRNNTKDALKAFLSRVDLGSFNGSD
101 YIANHSANASALPNIGIAVSGGGYRALMNGGGALQAFDNRTTNSTHSGQL
151 GGILQSATYLSGLSGGSWLVGSLYMNNFSDVSSLQDNGSVWQFQDSIFSG
201 PTQSTTWDIGTVEYYSQLLGAVDGKSNAGYEVSTITDYWGRSLSYQLINAS
251 EGGVGYTWSSIALSKDFQAGTMPMLPLVIADGRAPGEILVPANTTVFEFNP
301 WEFGSWDKSLSAFVLSLEFLGSNFSKGTLATGEKCVRGFDNAGFIMGTSSS
351 LFNQAFLOMNNTDAPSVVKDAISAAILGKIGSENNDIAVYKPNPFYRYASQ
401 SKYTSSPSLTLVDGGEDLQNIPLDPLLPQRHVVDVILAVDSSADTTTRWP
451 NGTSLVATYRNVDSQRNSSLPFSPVDPQNTFVNLGLNRRPTFFGCNSSN
501 ATGAPLVVYIPNAPYIYPSNVSTFDLQYNTSERNAI IENGYDVATLGNGT
551 VDSNWPACLAAILRSRFRFERTNTTVPKTCSTCFKTYCWNGTINATTPGDY
601 YPTLKLH
    
```

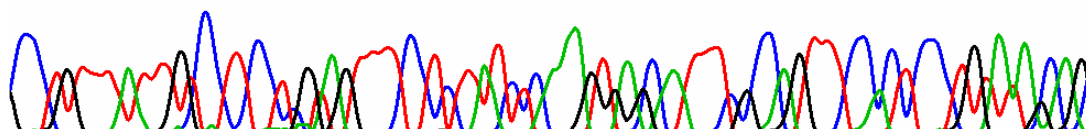
شکل ۲: ترجمه توالی اسیدهای نوکلئیک ژن *afplb2* به اسید آمینه بعد از حذف ۵۹ bp از اسیدهای نوکلئیک مربوط به ایترون موجود در طول ژن. سکوانس های قرمز، مناطق محفوظ در مسیر تکاملی و دارای تشابه زیاد با قسمتهای دارای فعالیت کاتالیتیکی در فسفولیپازهای یوکاریوتها را نشان می دهد.

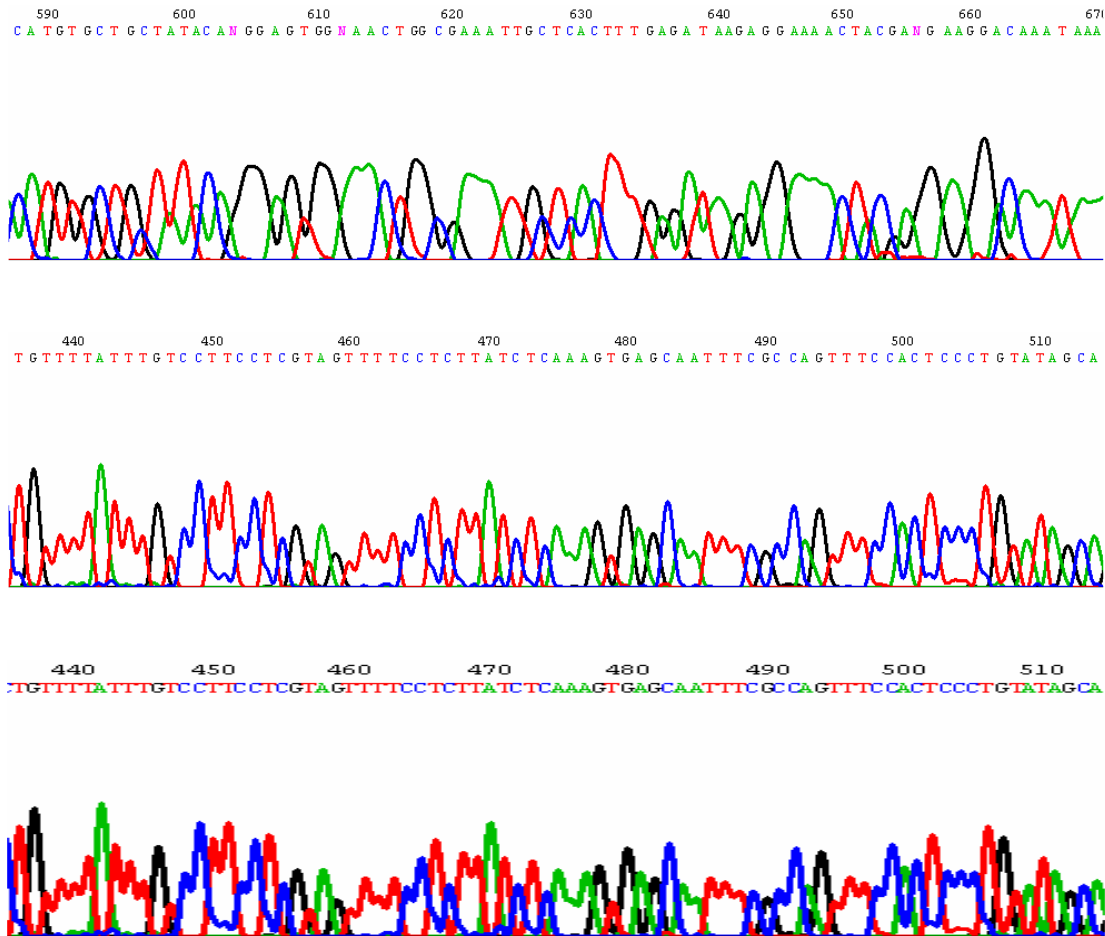
باشد ولی بررسی منحنی های مربوط به قرائت توالی نوکلئوتیدها بوسیله سیستم ABI اتوماتیک وضوح منحنی ها در منطقه استقرار کدون آغازگر نشان داده و در نتیجه احتمال خطای کاذب را منتفی نمود. برای بررسی وقوع خطای واقعی در قرائت نوکلئوتیدهای طول ژن، سکوانس نوکلئوتیدهای هر دو رشته DNA ژن *afplb2* علیرغم هزینه سنگین آن، دو بار دیگر بصورت مستقل از هم با تکنیک پیمودن طول ژن با پرایمر قرائت شد ولی نتایج هر دو قرائت مستقل باز هم نشاندهنده صحت قرائت اولیه و در نتیجه درستی سکوانس GTG بعنوان کدون آغازگر بجای ATG بود (شکل ۳).

وجود خطا در قرائت توالی نوکلئوتیدهای طول ژن نیز موضوعی محتمل بود که مورد توجه قرار گرفت. این خطا می توانست ناشی از خطای واقعی در قرائت نوکلئوتید و یا خطایی کاذب ناشی از:

- ۱- عدم وضوح منحنی مربوط به اولین نوکلئوتید کدون آغازگر و در نتیجه احتساب G به جای A
- ۲- تداخل منحنی مربوط به اولین نوکلئوتید کدون آغازگر با منحنی نوکلئوتیدهای بعدی و در نتیجه بروز اشتباه در قرائت توالی نوکلئوتیدها.

260 270 280 290 300 310 320 330
CCNTGTTTTATTTGTCCTTCTCTGTAATTTTTCTCTTAACTCTCAAAGTGAGCAAATTTCCG CCAAGTTNCCACTCCNTGTATAAGAGC





شکل ۳: منحنی های قرائت مکرر توالی نوکلئوتیدی ژن *afplb2* با استفاده از سیستم ABI prism 377 DNA sequencer برای هر دو رشته DNA در منطقه کدون آغازگر

بحث

یوکاریوت ها می باشد. این استثناء ژنتیکی در واقع از یک جهش نقطه ای در ساختار ژن و جایگزینی یک پورین یعنی گوانین به جای پورین دیگر یعنی آدنین می باشد که نتیجه آن جایگزینی کدون اسید آمینه والین بجای متیونین در ابتدای زنجیره پپتیدی خواهد بود ولی باید توجه کرد که استقرار این کدون در ابتدای توالی نوکلئوتیدی، باز هم موجب قرار گرفتن فرمیل متیونین در ابتدای زنجیره پپتیدی می گردد یعنی این کدون علیرغم احتساب در جدول رمز ژنتیکی به عنوان کدون اسید آمینه والین، در صورت قرار گرفتن در ابتدای زنجیره فرمیل متیونین را در ابتدای زنجیره پپتیدی قرار می دهد در حالیکه در درون ژن والین را مستقر می سازد. وجود استثنا در کدون آغازگر ATG و مشاهده مواردی استثنایی از جایگزینی کدون GTG (۱۹) و احیاناً TTT (۲۰) در پروکاریوتها و یا ژنوم میتوکندری گزارش شده است (۲۱) ولی موارد شناسایی و گزارش جایگزینی این نوع از کدون آغازگر در ژن های یوکاریوتی بسیار اندک بوده و احتمالاً دارای مفهوم تکاملی در رابطه با خویشاوندی تکاملی و منشا و مسیر انتقال ژن

تایید سه باره صحت توالی GTG در موقعیت پیش بینی شده برای کدون آغازگر و همچنین کنترل صحت این توالی بوسیله توالی نوکلئوتیدهای رشته مکمل در همان ناحیه برای ژن *afplb2* موجب گرایش به یافتن سابقه وجود استثنایی مشابه در کدون آغازگر ژنهایی گردید که توالی نوکلئوتیدی شناسایی شده آنها در دسترس می باشد، زیرا عدم وجود چنین سابقه ای، صعوبت پذیرش صحت سکوانس شناسایی شده برای ژن *afplb2* و همچنین صحت کدون آغازگر را فراهم می آورد. این جستجو منجر به شناسایی دو مورد از گزارش وجود کدون آغازگر با توالی GTG در ژنهای قارچی گردید که یک مورد آن مربوط به ژن سنتز کننده گلیسرآلدئید - ۳ - فسفات دهیدروژناز قارچ کپکی *فیتوفنورا ایفتنس* از خانواده اوومیسیت ها و مورد دوم آن مربوط به ژن سنتز کننده آلفا - آمینو آدیپیل - سیستئین ایل - والین قارچ کپکی *سفالوسپوریوم آکرمونیوم* از خانواده اسکومیت ها می باشد (۱۷) و بنابر این شناسایی وجود GTG بعنوان کدون آغازگر، سومین مورد از شناسایی این استثناء ژنتیکی در این گروه از

به جای کدون آغازگر ATG در ژن های یوکاریوتی و موارد شناسایی آن بسیار نادر می باشد هر چند که موارد قابل توجهی از آن در ژن های پروکاریوتی و میتوکندریایی گزارش شده است و این نوع از تغییرات هم با توجه به ندرت وقوع آن در ژن های یوکاریوتی و هم با توجه به اثرات مهم آن در تقلیل میزان بیان ژن و در نتیجه تقلیل میزان پروتئین حاصل از بیان ژن دارای اهمیت حیاتی فراوان در چرخه حیاتی سلول می باشد زیرا میزان تولید پروتئین ها با توجه به فعالیت آن ها به عنوان مولکول های عملکردی در سلول اثرات عمیقی در تنظیم چرخه ها، رشد، تقسیم، ویروالانس و... سلول اعمال می نمایند.

References

- Kinghorn JR. In Gene Structure in Eukaryotic Microbes. Oxford press. U.K. 1995; P: 93-139.
- Yang L, Chen J, Chang CC, Yang XY, Wang ZZ, Chang TY, et al. A stable upstream stem-loop structure enhances selection of the first 5'-ORF-AUG as a main start codon for translation initiation of human ACAT1 mRNA. *Acta Biochim Biophys Sin* 2004; **36** (4): 259-68.
- Schroder B, Nickodemus R, Jurgens T, Bodemer W. Upstream AUGs modulate prion protein translation in vitro. *Acta Virol* 2002; **46**(3): 159-67.
- Kozak M. Pushing the limits of the scanning mechanism for initiation of translation. *Gene* 2002; **16**; 299(1-2): 1-34.
- Peri S, Pandey A. A reassessment of the translation initiation codon in vertebrates. *Trends Genet.* 2001; **17**(12): 685-7.
- Xiong W, Hsieh CC, Kurtz AJ, Rabek JP, Papaconstantinou J. Regulation of CCAAT/enhancer-binding protein-beta isoform synthesis by alternative translational initiation at multiple AUG start sites. *Nucleic Acids Res.* 2001; **15**; **29**(14): 3087-98.
- Liu J, Prolla G, Rostagno A, Chiarle R, Feiner H, Inghirami G. Initiation of translation from a downstream in-frame AUG codon on BRCA1 can generate the novel isoform protein DeltaBRCA1(17aa). *Oncogene* 2000; **19**(23): 2767-73.
- Nussinov R. The eukaryotic CCAAT and TATA boxes, DNA spacer flexibility and looping. *J Theor Biol* 1992; **155**(2): 243-70.
- Nussinov R. DNA sequences at and between the GC and TATA boxes: potential DNA looping and spatial juxtapositioning of the protein factors. *J Biomol Struct Dyn* 1992 ; **9**(6): 1213-37.
- Nussinov R. DNA spatial considerations in the arrangement of G/C and A/T blocks. *Comput Biol Med* 1992; **22**(1-2): 97-112.
- Radford A, Parish JH. The genome and genes of *Neurospora crassa*. *Fungal Genet Biol* 1997; **21**(3): 258-66.
- Gouka RJ, Stam H, Fellingner AJ, Muijsenberg RJ, van de Wijngaard A, Punt PJ, et al. Kinetics of mRNA and protein synthesis of genes controlled by the 1,4-beta-endoxylanase A promoter in controlled fermentations of *Aspergillus awamori*. *Appl Environ Microbiol* 1996; **62**(10): 3646-9.
- Hamer JE, Timberlake WE. Functional organization of the *Aspergillus nidulans* trpC promoter. *Mol Cell Biol* 1987; **7**(7):2352-9.
- Unkles SE, Campbell EI, Punt PJ, Hawker KL, Contreras R, Hawkins AR, et al. The *Aspergillus niger niaD* gene encoding nitrate reductase: upstream nucleotide and amino acid sequence comparisons. *Gene* 1992; **15**; **111**(2): 149-55.
- Kulmburg P, Mathieu M, Dowzer C, Kelly J, Felenbok B. Specific binding sites in the *alcR* and *alcA* promoters of the ethanol regulon for the CREA repressor mediating carbon catabolite repression in *Aspergillus nidulans*. *Mol Microbiol* 1993; **7**(6): 847-57.
- Nussinov R. Some guidelines for identification of recognition sequences: regulatory sequences frequently contain (T)GTG/CAC(A), TGA/TCA and (T)CTC/GAG(A). *Biochim Biophys Acta.* 1986; **26**; **866**(2-3): 93-108.
- Moon RP, Uncles SE, Duncan JM, Hawker AR, Kinghorn JR. sequence of *Phytophthora infestans* glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase-encoding gene (*gpdA*). *Plant Molecular Biology* 1992; **18**: 1209-11.
- Gutierrez S, Diez B, Montenegro, E, Martin JF. Characterization of the *Cephalosporium acremonium pcbAB* gene encoding alpha-aminoacyl-cysteine-valine synthetase, a large multidomain peptide synthetase: linkage to the *pcbC* gene as a cluster of early cephalosporin biosynthetic genes and evidence of multiple

- functional domains. *J Bacteriol* 1991; **173**(7): 2354-65.
19. Yeh CM, Chang HK, Hsieh HM, Yoda K, Yamasaki M, Tsai YC. Improved translational efficiency of subtilisin YaB gene with different initiation codons in *Bacillus subtilis* and alkalophilic Bacillus YaB. *J Appl Microbiol*. 1997; **83**(6): 758-63.
 20. Coderre PE, Earhart CF. The entD gene of the *Escherichia coli* K12 enterobactin gene cluster. *J Gen Microbiol*. 1989; **135**(11): 3043-55.
 21. Sakamoto W, Tan SH, Murata M, Motoyoshi F. An unusual mitochondrial atp9-rpl16 cotranscript found in the maternal distorted leaf mutant of *Arabidopsis thaliana*: implication of GUG as an initiation codon in plant mitochondria. *Plant Cell Physiol*. 1997; **38**(8): 975-9.
 22. Katsura asano, Chihiro hams, Shin-ichi Inoue, Hiroko Moriwaki, Kiyoshi Mizobuchi. The plasmid ColIb-P9 antisense Inc RNA controls expression of the *RepZ* replication protein and its positive regulator *repY* with different mechanisms. *J Biol Chem* 1999; **274**(25): 17924-33.

SID



ابزارهای
پژوهش



سرویس ترجمه
تخصصی



کارگاه های
آموزشی



بلاگ
مرکز اطلاعات علمی



سامانه ویراستاری
STES



فیلم های
آموزشی

کارگاه های آموزشی مرکز اطلاعات علمی



تازه های آموزش
آموزش مهارت های کاربردی در تدوین و چاپ مقالات ISI

آموزش مهارت های کاربردی
در تدوین و چاپ مقالات ISI



تازه های آموزش
روش تحقیق کمی

روش تحقیق کمی



تازه های آموزش
آموزش نرم افزار Word برای پژوهشگران

آموزش نرم افزار Word
برای پژوهشگران