



Examination of nucleotide and amino acid sequences of enhancin enzyme in baculoviruses

Maryam Rashki¹, Mojtaba Mortazavi²

¹Associate professor, Department of Biodiversity, Institute of Science and High Technology and Environmental Sciences, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, Iran. ²Associate Professor, Department of Biotechnology, Institute of Science and High Technology and Environmental Sciences, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, Iran.

Abstract

Background & Objectives: A number of gene groups are conserved in some entomopathogenic baculoviruses, and one of these groups is the *enhancin*. In the present research, the nucleotide and protein sequence of enhancin and the phylogenetic relationships between them were investigated along with codon analysis of nucleotide sequences and motifs using computer databases.

Materials & Methods: Sixty-seven nucleotide and amino acid sequences related to *enhancin* gene were extracted from GenBank and used to draw a phylogenetic tree based on the maximum likelihood method. Nucleotide sequences related to nine selected genes were selected and extracted from the Sequence Manipulation Suite database to check the frequency of codons. MOTIF Search site was used to find motifs in amino acid sequences.

Results: The tree drawn based on nucleotide and amino acid sequences showed two and three main groups, respectively. The sequences of *Agrotis segetum granulovirus*, *Operophtera brumata nucleopolyhedrovirus*, and *Choristoneura fumiferana multiple nucleopolyhedrovirus* were each in their own separate group. In all nine selected nucleotide sequences, the most abundant codons included ATG and TGG that were associated with methionine and tryptophan, respectively. In the amino acid sequences, the conserved sequence HEXXH was identified. Unconserved sequences corresponding to HAISF, HCMAE, QTLGD, HQXXH and HVXXH were found in some sequences.

Conclusion: Since the production and secretion of enhancin enzyme as much as possible can be used to increase the insecticidal activity of baculoviruses and be used commercially for pest control, bioinformatics studies to predict the nucleotide and amino acid characteristics of the mentioned proteins in this field, especially with the production of recombinant baculoviruses, can be helpful.

Keywords: Baculovirus, codon, enhancin, peritrophic membrane, software.

Received: 3 June 2023

Revised: 7 October 2023

Accepted: 1 November 2023

Correspondence to: Maryam Rashki

Tel: +98 3433776611

E-mail: ma_rashkigh@yahoo.com

Journal of Microbial World 2023, 16 (3): 219 - 231

DOI:10.30495/jmw.2023.1981569.2055



Copyright © 2019, This article is published in Journal of Microbial World as an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License. Non-commercial, unrestricted use, distribution, and reproduction of this article is permitted in any medium, provided the original work is properly cited.



بررسی توالی‌های نوکلئوتیدی و اسیدآمینهای آنزیم انهناسین در باکولوویروس‌ها

مریم راشکی^{۱*}، مجتبی مرتضوی^۲

^۱دانشیار، گروه تنوع زیستی، پژوهشکده علوم محیطی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان، ایران. ^۲دانشیار، گروه بیوتکنولوژی، پژوهشکده علوم محیطی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان، ایران.

چکیده

سابقه و هدف: یکی از گروه‌های ژنی مهم که در برخی از باکولوویروس‌های بیمارگر حشرات حفاظت شده‌اند، ژن‌های *انهناسین* هستند. در تحقیق حاضر، توالی‌های نوکلئوتیدی و پروتئینی *انهناسین* و روابط فیلوژنتیک میان آن‌ها همراه با تجزیه و تحلیل کدونی توالی‌های نوکلئوتیدی و نواحی حفاظت‌شده با استفاده از پایگاه‌های محاسباتی بررسی شد.

مواد و روش‌ها: شصت و هفت توالی نوکلئوتیدی و اسیدآمینهای مربوط به ژن *انهناسین* از بانک ژن استخراج و برای رسم درخت فیلوژنتیکی بر مبنای روش حداکثر احتمال استفاده شد. توالی‌های نوکلئوتیدی مربوط به نه ژن منتخب برای بررسی فراوانی کدون‌ها انتخاب و از پایگاه سکونس مانیبولیشن سوئیت استخراج شدند. برای مشاهده نواحی حفاظت‌شده در توالی‌های اسیدآمینهای از سایت موتیف‌سرچ استفاده شد.

یافته‌ها: درخت رسم‌شده بر اساس توالی‌های نوکلئوتیدی و اسیدآمینهای، به ترتیب دو و سه گروه اصلی را به نمایش گذاشت. توالی‌های *آگروتیس سگتوم‌گرانولوویروس*، *اپروفترا بروماتا نوکلئوپلی‌هدروویروس* و *کورریستونورا فومیفراننا مالتیپل نوکلئوپلی‌هدروویروس* هر کدام در گروه مجزای خود قرارداشتند. در تمام نه توالی نوکلئوتیدی منتخب، کدون‌های فراوان‌تر شامل ATG و TGG بودند که به ترتیب مربوط به اسیدآمین‌های متیونین و تریپتوفان هستند. در توالی‌های اسیدآمینهای، توالی حفاظت‌شده HEXXH مشخص شد. توالی‌های حفاظت نشده متناظر HAI5F، HCMAE، QTLGD، HQXXH و HVXXH در برخی مشاهده شدند.

نتیجه‌گیری: نتایج از آنجا که تولید و ترشح هر چه بیشتر آنزیم *انهناسین* می‌تواند برای افزایش فعالیت حشره‌کشی باکولوویروس‌ها استفاده شود و به صورت تجاری برای کنترل آفات به کار رود، مطالعات بیوانفورماتیک برای پیش‌بینی ویژگی‌های نوکلئوتیدی و اسیدآمینهای پروتئین‌های مذکور در این زمینه به‌ویژه با تولید باکولوویروس‌های نو ترکیب می‌تواند بسیار راه‌گشا باشد.

واژگان کلیدی: *انهناسین*، باکولوویروس، پرده دور غذا، کدون، نرم‌افزار.

پذیرش مقاله: ۱۴۰۲/۸/۱۰

ویرایش مقاله: ۱۴۰۲/۷/۱۵

دریافت مقاله: ۱۴۰۲/۳/۱۳

مقدمه

نوکلئوپلی‌هدروویروس‌ها و گرانولوویروس‌ها تقسیم‌بندی می‌شوند. هر دو گروه حاوی ژنوم دی‌ان‌ای (DNA) دو رشته‌ای حلقوی از تقریباً ۸۰ تا ۱۸۰ کیلو باز هستند که داخل نوکلئوکسپیداها متراکم شده‌اند و پیش‌بینی می‌شود که حدود ۹۰ تا ۱۸۰ ژن را رمزگذاری کنند (۱).

باکولوویروس‌ها خانواده‌ای از ویروس‌های بیمارگر حشرات را تشکیل می‌دهند و به دو گروه یا جنس اصلی شامل

(* آدرس برای مکاتبه: گروه تنوع زیستی، پژوهشکده علوم محیطی، کرمان، ایران.
تلفن: ۰۳۴۳۳۷۶۶۱۱ پست الکترونیک: ma_rashkigh@yahoo.com



می‌کند. آنالیز توالی ژنوم نوکلئوپلی‌هدروویروس‌ها و گرانولوویروس‌ها نشان داد که این ویروس‌ها حاوی همولوگ‌های ژنی بسیاری هستند که در تمام باکولوویروس‌ها حفاظت شده است (۷). تعدادی از گروه‌های ژنی در برخی و نه در تمام نوکلئوپلی‌هدروویروس‌ها و گرانولوویروس‌ها حفاظت شده‌اند. یکی از این گروه‌ها، ژن‌های معین نام دارند که شامل ژن‌های *انهانسین* هستند (۸). این ژن‌ها برای تکثیر دی‌ان‌ای ضروری نیستند اما یک برتری انتخابی برای یک ویروس فراهم می‌کنند (۹).

مطالعات نشان داده است که برخی از کدون‌ها در بیان ژن‌ها، با فراوانی بیشتری در بیان پروتئین‌های سلولی استفاده می‌شوند ولی از تعداد دیگری از کدون‌ها تقریباً استفاده‌ای نمی‌شود (۱۰). در تحقیق حاضر، بررسی توالی‌های نوکلئوتیدی و پروتئینی *انهانسین* و روابط فیلوژنتیک میان آن‌ها همراه با تجزیه و تحلیل کدونی توالی‌های نوکلئوتیدی با استفاده از پایگاه‌های محاسباتی انجام شد.

مواد و روش‌ها

الف) تجزیه و تحلیل روابط فیلوژنتیک توالی‌های نوکلئوتیدی ژن‌های اینهانسین در باکولوویروس‌ها: ۶۷ توالی دی‌ان‌ای مربوط به ژن *انهانسین* از بانک ژن جستجو و پس از مرتب‌سازی استخراج شدند. برای همترازی توالی‌های نوکلئوتیدی از برنامه بلاست (BLAST) استفاده شد ([http:// www.ncbi.nlm.com](http://www.ncbi.nlm.com)). سپس، برای بررسی روابط فیلوژنتیکی از برنامه آی‌کیوتری (IQtree v.1.6.12) (۱۱) استفاده و رسم درخت فیلوژنتیکی بر مبنای روش حداکثر احتمال انجام شد (۱۲). درخت ایجاد شده با استفاده از نرم‌افزار مگا۷ (MEGA7) به تصویر کشیده شد (۱۳).

ب) تجزیه و تحلیل کدونی توالی‌های نوکلئوتیدی ژن‌های اینهانسین در باکولوویروس‌ها: توالی‌های نوکلئوتیدی مربوط به ژن *انهانسین* از بانک ژن برای بررسی تعداد، کسر و فراوانی کدون‌های متعلق به هر اسیدآمینه انتخاب و مورد بررسی قرار گرفت و کدون‌های استفاده شده با استفاده از پایگاه سکوننس

نوکلئوکسپیدهای میله‌ای شکل پوشش‌دار، ویریون نام دارند. ویریون‌ها داخل اجسام دربرگیرنده احاطه می‌شوند (به اندازه ۲-۱۵ میکرومتر) که به طور عمده حاوی پروتئین هستند. با این‌که بیش از ۶۰۰ جدایه باکولوویروس از گونه‌های مختلف حشرات گزارش شده است، ۹۰ درصد این ویروس‌ها دارای میزبان بالپولکدار هستند (۲). نوکلئوپلی‌هدروویروس‌ها به دو دسته نوکلئوپلی‌هدروویروس‌های چندتایی دارای چندین ویریون در هر پوشش و نوکلئوپلی‌هدروویروس‌های تکی دارای تنها یک ویریون در هر پوشش، تقسیم می‌شوند. ویریون‌های نوکلئوپلی‌هدروویروس تنها در هسته سلول‌های حساس تکثیر می‌شوند و اندازه اجسام دربرگیرنده آن‌ها بین یک و پانزده میکرومتر متغیر است (۳).

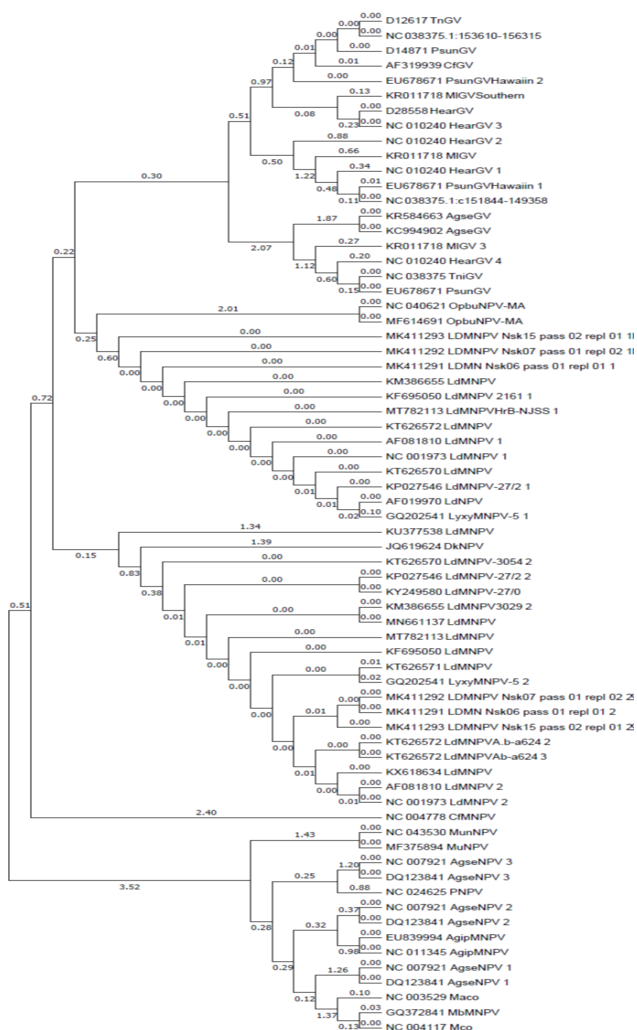
باکولوویروس‌ها بیشترین عوامل کنترل بیولوژیک ویروسی مطالعه شده و کاربردی هستند. بیش از ۷۰۰ گونه از حشرات به طور طبیعی به این ویروس‌ها آلوده و ۹۰ درصد آن‌ها از حشرات راسته بال‌پولکداران جداسازی شده‌اند. مطالعه ویروس‌های حشرات بخاطر آلوده کردن و کشتن حشرات آفت زراعی و جنگلی مهم است (۴). یکی از پروتئین‌های باکولوویروس *انهانسین* (enhancin) نام دارد که باعث تجزیه پروتئین‌های موجود درغشاء دور غذا در معده حشرات با نام موسین و افزایش نفوذپذیری باکولوویروس‌ها می‌شود. این پروتئاز در بطن اجسام دربرگیرنده باکولوویروس‌ها وجود دارد و با ایجاد آلودگی در میزبان و همچنین، با پوشش ویریون‌های مشتق شده از ماتریس دربرگیرنده آلفاباکولوویروس‌ها مرتبط هستند (۵). پروتئین آدی وی ۶۶ (ODV-66) جزء اصلی پوشش ویریون‌های مشتق شده از ماتریس دربرگیرنده هستند و نقش مهمی در تخریب پرده دور غذا در حشرات میزبان دارد (۶) و در نتیجه باعث تسهیل دسترسی باکولوویروس‌ها به سلول‌های اپیتلیوم معده میزبان می‌شود.

بررسی ژنوم، اساس فهم کامل ویژگی‌های آنزیم *انهانسین* و استراتژی اولیه برای بررسی رفتار فنوتیپیک آن را تشکیل می‌دهد. این ویژگی‌ها شامل فاکتورهای اصلی بیمارگری و زهرآگینی است و مکانیسم بیمارگری ویروس را تعیین

(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/msaviewer/>) در آخر، با استفاده از برنامه کلاستال امگا (Clustal Omega) توالی پروتئینی حفاظت شده کاملاً مشخص شد ([./https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo](https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo)).

یافته‌ها

الف) تجزیه و تحلیل روابط فیلوژنتیک توالی‌های نوکلئوتیدی ژن‌های اینهانسین در باکولوویروس‌ها: برای تعیین روابط باکولوویروس‌های مورد مطالعه و به دست آوردن اطلاعات در مورد تغییرات ژنتیکی رخ داده میان آن‌ها، درخت فیلوژنتیکی بر اساس ۶۷ توالی نوکلئوتیدی رسم شد (شکل ۱).



شکل ۱: درخت رسم شده برای بررسی روابط فیلوژنتیک توالی‌های نوکلئوتیدی ژن اینهانسین بر اساس روش حداکثر احتمالات توسط برنامه آئی کیوتری.

مانیپولیشن سوئیت (Sequence Manipulation Suite) ([https://www.bioinformatics.org/sms2/](https://www.bioinformatics.org/sms2/codon_usage.html)) استخراج شدند (۱۴).

ج) رسم و تجزیه و تحلیل روابط فیلوژنتیک توالی‌های اسید آمینه‌ای آنزیم اینهانسین در باکولوویروس‌ها: با استفاده از نرم‌افزار آئی کیوتری (۱۵) درختی با بیشترین احتمال ساخته شد تا روابط فیلوژنتیک میان توالی‌های هم‌تراز شده باکولوویروس‌ها تعیین شوند. برای بررسی روابط فیلوژنتیکی در این پژوهش از برنامه‌های آئی کیوتری و اسپلیت‌تری (SplitsTree v.4.16.1) (۱۱) به ترتیب برای رسم درخت فیلوژنتیکی بر مبنای روش حداکثر احتمال و شبکه فیلوژنتیکی بر مبنای روش نیبورجینینگ (Neighbor-joining) استفاده شد. درخت ایجاد شده با استفاده از نرم‌افزار فیگ‌تری (Figtree v.1.4.4) (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>) به تصویر کشیده شد.

د) بررسی هم‌ترازی و نواحی حفاظت شده در توالی‌های اسید آمینه‌ای آنزیم اینهانسین در باکولوویروس‌ها: ابتدا با مراجعه به بانک ژن، ۶۷ توالی اسیدآمینه‌ای مربوط به آنزیم اینهانسین در باکولوویروس‌های نوکلئوپلی‌هدروویروس و گرانولوویروس جستجو و پس از مرتب‌سازی استخراج شدند. برای شناسایی توالی‌های اسید آمینه‌ای از برنامه بلاست استفاده شد (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). توالی‌های اسید آمینه‌ای از برنامه مفت (MAFFT v.7) روش ال-آی‌ان‌اس (L-INS) استفاده شد (۱۶). توالی‌های هم‌مردیف سازی شده با برنامه مسکوئیت (Mesquite.v.3.04) (۱۷) تصحیح و بازبینی شدند.

برای مشاهده نواحی حفاظت شده در توالی‌های اسید آمینه‌ای آنزیم اینهانسین مورد بررسی، از سایت موتیف سرچ (MOTIF Search) استفاده شد و سپس توالی‌های حفاظت شده با جزئیات بیشتر با برنامه وب‌لوگو (Weblogo.v.3) بررسی شدند (۱۸). همچنین، ساختار هم‌ترازی‌ها شامل فاصله‌ها، طول توالی‌ها و ترتیب آن‌ها با استفاده از نمایشگر ساختار هم‌ترازی‌های چندگانه نمایش داده شدند

نوکلئوتیدی مورد بررسی، کدون‌های فراوان‌تر شامل ATG و TGG بودند که به ترتیب مربوط به اسیدآمینه‌های متیونین و تریپتوفان هستند.

باکولوویروس گونه لیمانتیریا دیسپار مالتیپل نوکلئوپلی‌هدروویروس دارای دو توالی نوکلئوتیدی کدکننده آنزیم انهناسین است که در یکی فراوانی کدون GAC (مربوط به اسیدآمینه اسپارتیک) و در دیگری GCG (مربوط به اسیدآمینه آلانین) بیشتر بود. در گونه آگروتیس سگتوم نوکلئوپلی‌هدروویروس با داشتن سه توالی نوکلئوتیدی کدکننده آنزیم انهناسین، فراوان‌ترین کدون شامل GAC، AAC و AAC (مربوط به اسیدآمینه اسپاراژین) به تفکیک در هر توالی بود. در گونه هلیکوپریا آرمیثرا گرانولوویروس (دارای چهار توالی نوکلئوتیدی کدکننده آنزیم انهناسین)، تنها در یک توالی کدون TAC (مربوط به اسیدآمینه تیروزین) بیشترین فراوانی را داشت. در حالی که، در سه توالی دیگر این گونه به تفکیک، کدون AAC فراوان‌تر بود.

ج) تجزیه و تحلیل روابط فیلوژنتیک توالی‌های اسید آمینه‌ای آنزیم انهناسین در باکولوویروس‌ها: تجزیه و تحلیل فیلوژنتیک توالی‌های اسید آمینه‌ای باکولوویروس‌هایی که تاکنون شناسایی شده‌اند، در شکل‌های ۲ و ۳ آورده شده است. درخت رسم شده نشان داد که کلیه ویروس‌های مورد مطالعه شامل نوکلئوپلی‌هدروویروس‌ها و گرانولوویروس‌ها، در سه خوشه مشخص قرار می‌گیرند.

در شکل ۲، گروهی که با رنگ آبی مشخص شده است شامل انهناسین‌های لیمانتیریا دیسپار مالتیپل نوکلئوپلی‌هدروویروس VEF1 (LdMNPV_VEF1) و لیمانتیریا دیسپار مالتیپل نوکلئوپلی‌هدروویروس VEF2 (LdMNPV_VEF2) و تمام انهناسین‌های گرانولوویروس، بجز آگروتیس سگتوم گرانولوویروس، یک گروه را به رنگ سبز هستند که شامل گرانولوویروس VEF1 (GV_VEF1)، گرانولوویروس VEF2 (GV_VEF2)، گرانولوویروس VEF3 (GV_VEF3) و گرانولوویروس VEF4 (GV_VEF4) بود.

درخت رسم شده دو گروه اصلی را به نمایش گذاشت. گروه اول از سه زیرگروه تشکیل شد. زیرگروه اول شامل دی ۱۲۶۱۷ تریکوپلوزیا نی گرانولوویروس (D12617 TnGV) تا ای یو ۶۷۸۶۷۱ سودالتیا یونی‌پونکتا گرانولوویروس (EU678671 PsunGV) با فاصله کم به زیرگروه دوم از انسی ۰۴۰۶۲۱/پروفترا بروماتا نوکلئوپلی‌هدروویروس (NC_040621 OpbuNPV) تا جی کیو ۲۰۲۵۴۱ لیمانتیریا زابلینا مالتیپل نوکلئوپلی‌هدروویروس ۱-۵ (GQ202541 LyxyMNPV-5_1) نزدیک بود. زیرگروه سوم حاوی توالی‌های کی یو ۳۷۷۵۳۸ لیمانتیریا دیسپار مالتیپل نوکلئوپلی‌هدروویروس (KU377538 LdMNPV) تا انسی ۰۰۱۹۷۳ لیمانتیریا دیسپار مالتیپل نوکلئوپلی‌هدروویروس ۲ (NC_001973 LdMNPV_2) بود. توالی انسی ۰۰۴۷۷۸ کوریستونورا فومیفیرانا مالتیپل نوکلئوپلی‌هدروویروس (NC_004778 CfMNPV) نیز با فاصله زیاد از زیرگروه سوم به تنهایی قرار گرفت و به گروه دوم نزدیک‌تر بود. گروه دوم شامل انسی ۰۴۳۵۳۰ میتیما یونیپونکتا نوکلئوپلی‌هدروویروس (NC_043530 MunNPV) تا انسی ۰۰۴۱۱۷ مامسترا کانفیگوراتا نوکلئوپلی‌هدروویروس (NC_004117 Mco NPV) بود که با فاصله زیاد از گرانولوویروس‌ها قرار داشت.

ب) تجزیه و تحلیل کدونی توالی‌های نوکلئوتیدی ژن‌های انهناسین در باکولوویروس‌ها: با توجه به روابط فیلوژنتیکی میان توالی‌های نوکلئوتیدی و اسیدآمینه‌ای ویروس‌های باکولوویروس مورد بررسی در این تحقیق، سه گونه باکولوویروس با نام‌های لیمانتیریا دیسپار ام ان پی وی (کد دسترسی انسی ۰۰۱۹۷۳)، آگروتیس سگتوم نوکلئوپلی‌هدروویروس (کد دسترسی انسی ۰۰۷۹۲۱) و هلیکوپریا آرمیثرا گرانولوویروس (کد دسترسی انسی ۰۱۰۲۴۰) (جدول ۱) در مجموع حاوی نه توالی نوکلئوتیدی کدکننده آنزیم انهناسین انتخاب و ویژگی‌های نوکلئوتیدی مانند تعداد و فراوانی ۶۱ کدون برای هر اسیدآمینه مشخص شد.

نتایج تجزیه و تحلیل فراوانی کدونی نشان داد که برخی کدون‌ها دارای فراوانی بیشتر در برخی ژن‌ها بودند. در تمام نه توالی

دنیای میکروپها، سال شانزدهم شماره سوم پاییز ۱۴۰۲. بررسی توالی‌های نوکلئوتیدی و اسیدآمینه‌ای آنزیم اینهانسین در باکولوویروس‌ها. مریم راشکی و همکاران.

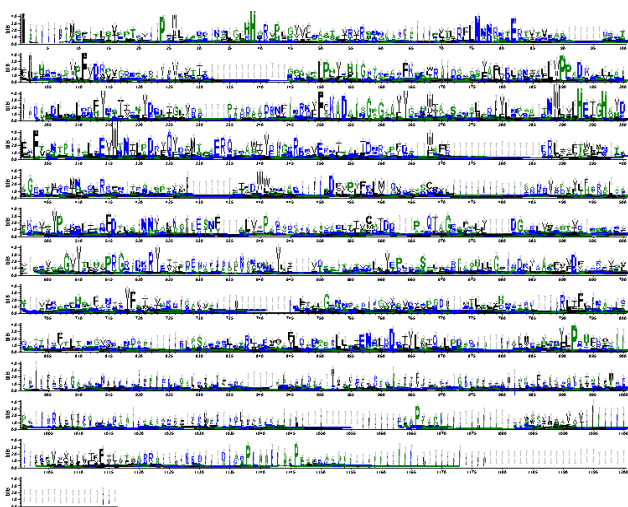
جدول ۱: ویژگی‌های ترکیب نوکلئوتیدی آنزیم اینهانسین در ویروس هلیکوپریا آرمیژرا گرانولوویروس (ان‌سی ۰۱۰۲۴۰).

توالی سی ۱۴۱۲۲۶-۱۴۳۶۹۷					سی ۱۴۳۸۵۲-۱۴۶۴۴۹ توالی					توالی ۱۴۹۱۸۱-۱۴۶۴۷۳					توالی سی ۱۵۸۰۱۵-۱۶۰۵۸۵				
کسر ۱۰۰۰ / تعداد کدون اسید آمینه					کسر ۱۰۰۰ / تعداد کدون					کسر ۱۰۰۰ / تعداد کدون					کسر ۱۰۰۰ / تعداد کدون				
Ala	GCG	7.00	8.50	0.15	GCG	18.00	20.79	0.31	GCG	13.00	14.40	0.28	GCG	10.00	11.67	0.24			
Ala	GCA	11.00	13.35	0.23	GCA	8.00	9.24	0.14	GCA	9.00	9.97	0.20	GCA	9.00	10.50	0.22			
Ala	GCT	14.00	16.99	0.29	GCT	19.00	21.94	0.32	GCT	13.00	14.40	0.28	GCT	7.00	8.17	0.17			
Ala	GCC	16.00	19.42	0.33	GCC	14.00	16.17	0.24	GCC	11.00	12.18	0.24	GCC	15.00	17.50	0.37			
Cys	TGT	2.00	2.43	0.25	TGT	2.00	2.31	0.40	TGT	4.00	4.43	0.50	TGT	3.00	3.50	0.38			
Cys	TGC	6.00	7.28	0.75	TGC	3.00	3.46	0.60	TGC	4.00	4.43	0.50	TGC	5.00	5.83	0.63			
Asp	GAT	29.00	35.19	0.52	GAT	21.00	24.25	0.40	GAT	22.00	24.36	0.39	GAT	17.00	19.84	0.38			
Asp	GAC	27.00	32.77	0.48	GAC	32.00	36.95	0.60	GAC	34.00	37.65	0.61	GAC	28.00	32.67	0.62			
Glu	GAG	10.00	12.14	0.24	GAG	12.00	13.86	0.44	GAG	19.00	21.04	0.41	GAG	19.00	22.17	0.51			
Glu	GAA	31.00	37.62	0.76	GAA	15.00	17.32	0.56	GAA	27.00	29.90	0.59	GAA	18.00	21.00	0.49			
Phe	TTT	26.00	31.55	0.81	TTT	23.00	26.56	0.52	TTT	31.00	34.33	0.58	TTT	26.00	30.34	0.62			
Phe	TTC	6.00	7.28	0.19	TTC	21.00	24.25	0.48	TTC	22.00	24.36	0.42	TTC	16.00	18.67	0.38			
Gly	GGG	0.00	0.00	0.00	GGG	8.00	9.24	0.19	GGG	3.00	3.32	0.07	GGG	4.00	4.67	0.09			
Gly	GGA	9.00	10.92	0.29	GGA	7.00	8.08	0.17	GGA	6.00	6.64	0.14	GGA	9.00	10.50	0.21			
Gly	GGT	11.00	13.35	0.35	GGT	10.00	11.55	0.24	GGT	21.00	23.26	0.50	GGT	15.00	17.50	0.35			
Gly	GGC	11.00	13.35	0.35	GGC	17.00	19.63	0.40	GGC	12.00	13.29	0.29	GGC	15.00	17.50	0.35			
His	CAT	10.00	12.14	0.38	CAT	6.00	6.93	0.38	CAT	9.00	9.97	0.31	CAT	14.00	16.34	0.48			
His	CAC	16.00	19.42	0.62	CAC	10.00	11.55	0.63	CAC	20.00	22.15	0.69	CAC	15.00	17.50	0.52			
Ile	ATA	22.00	26.70	0.35	ATA	26.00	30.02	0.42	ATA	25.00	27.69	0.43	ATA	14.00	16.34	0.29			
Ile	ATT	21.00	25.49	0.34	ATT	25.00	28.87	0.40	ATT	21.00	23.26	0.36	ATT	20.00	23.34	0.42			
Ile	ATC	19.00	23.06	0.31	ATC	11.00	12.70	0.18	ATC	12.00	13.29	0.21	ATC	14.00	16.34	0.29			
Lys	AAG	6.00	7.28	0.21	AAG	4.00	4.62	0.17	AAG	8.00	8.86	0.29	AAG	5.00	5.83	0.22			
Lys	AAA	23.00	27.91	0.79	AAA	19.00	21.94	0.83	AAA	20.00	22.15	0.71	AAA	18.00	21.00	0.78			
Leu	TTG	27.00	32.77	0.30	TTG	21.00	24.25	0.26	TTG	25.00	27.69	0.29	TTG	24.00	28.00	0.28			
Leu	TTA	21.00	25.49	0.23	TTA	24.00	27.71	0.30	TTA	20.00	22.15	0.23	TTA	15.00	17.50	0.17			
Leu	CTG	9.00	10.92	0.10	CTG	12.00	13.86	0.15	CTG	18.00	19.93	0.21	CTG	12.00	14.00	0.14			
Leu	CTA	16.00	19.42	0.18	CTA	9.00	10.39	0.11	CTA	10.00	11.07	0.12	CTA	20.00	23.34	0.23			
Leu	CTT	7.00	8.50	0.08	CTT	7.00	8.08	0.09	CTT	4.00	4.43	0.05	CTT	6.00	7.00	0.07			
Leu	CTC	10.00	12.14	0.11	CTC	8.00	9.24	0.10	CTC	9.00	9.97	0.10	CTC	10.00	11.67	0.11			
Met	ATG	17.00	20.63	1.00	ATG	21.00	24.25	1.00	ATG	16.00	17.72	1.00	ATG	19.00	22.17	1.00			
Asn	AAT	25.00	30.34	0.46	AAT	36.00	41.57	0.44	AAT	24.00	26.58	0.35	AAT	19.00	22.17	0.35			
Asn	AAC	29.00	35.19	0.54	AAC	45.00	51.96	0.56	AAC	44.00	48.73	0.65	AAC	35.00	40.84	0.65			
Pro	CCG	7.00	8.50	0.23	CCG	12.00	13.86	0.28	CCG	20.00	22.15	0.39	CCG	10.00	11.67	0.29			
Pro	CCA	7.00	8.50	0.23	CCA	12.00	13.86	0.28	CCA	9.00	9.97	0.18	CCA	11.00	12.84	0.31			
Pro	CCT	9.00	10.92	0.30	CCT	6.00	6.93	0.14	CCT	8.00	8.86	0.16	CCT	5.00	5.83	0.14			
Pro	CCC	7.00	8.50	0.23	CCC	13.00	15.01	0.30	CCC	14.00	15.50	0.27	CCC	9.00	10.50	0.26			
Gln	CAG	6.00	7.28	0.19	CAG	9.00	10.39	0.23	CAG	12.00	13.29	0.35	CAG	15.00	17.50	0.41			
Gln	CAA	25.00	30.34	0.81	CAA	31.00	35.80	0.78	CAA	22.00	24.36	0.65	CAA	22.00	25.67	0.59			
Arg	AGG	1.00	1.21	0.03	AGG	6.00	6.93	0.13	AGG	6.00	6.64	0.12	AGG	6.00	7.00	0.14			
Arg	AGA	6.00	7.28	0.19	AGA	14.00	16.17	0.31	AGA	9.00	9.97	0.18	AGA	8.00	9.33	0.18			
Arg	CGG	2.00	2.43	0.06	CGG	3.00	3.46	0.07	CGG	4.00	4.43	0.08	CGG	6.00	7.00	0.14			
Arg	CGA	9.00	10.92	0.29	CGA	7.00	8.08	0.16	CGA	7.00	7.75	0.14	CGA	8.00	9.33	0.18			
Arg	CGT	8.00	9.71	0.26	CGT	5.00	5.77	0.11	CGT	6.00	6.64	0.12	CGT	7.00	8.17	0.16			
Arg	CGC	5.00	6.07	0.16	CGC	10.00	11.55	0.22	CGC	19.00	21.04	0.37	CGC	9.00	10.50	0.20			
Ser	AGT	10.00	12.14	0.21	AGT	16.00	18.48	0.33	AGT	7.00	7.75	0.17	AGT	18.00	21.00	0.29			
Ser	AGC	15.00	18.20	0.31	AGC	5.00	5.77	0.10	AGC	10.00	11.07	0.25	AGC	16.00	18.67	0.25			
Ser	TCG	5.00	6.07	0.10	TCG	3.00	3.46	0.06	TCG	14.00	15.50	0.35	TCG	8.00	9.33	0.13			
Ser	TCA	4.00	4.85	0.08	TCA	4.00	4.62	0.08	TCA	6.00	6.64	0.15	TCA	6.00	7.00	0.10			
Ser	TCT	8.00	9.71	0.17	TCT	7.00	8.08	0.15	TCT	2.00	2.21	0.05	TCT	6.00	7.00	0.10			
Ser	TCC	6.00	7.28	0.13	TCC	13.00	15.01	0.27	TCC	1.00	1.11	0.03	TCC	9.00	10.50	0.14			
Thr	ACG	15.00	18.20	0.23	ACG	13.00	15.01	0.28	ACG	16.00	17.72	0.29	ACG	18.00	21.00	0.28			
Thr	ACA	22.00	26.70	0.33	ACA	12.00	13.86	0.26	ACA	11.00	12.18	0.20	ACA	16.00	18.67	0.25			
Thr	ACT	20.00	24.27	0.30	ACT	9.00	10.39	0.20	ACT	12.00	13.29	0.22	ACT	14.00	16.34	0.22			
Thr	ACC	9.00	10.92	0.14	ACC	12.00	13.86	0.26	ACC	16.00	17.72	0.29	ACC	17.00	19.84	0.26			
Val	GTG	22.00	26.70	0.34	GTG	24.00	27.71	0.38	GTG	37.00	40.97	0.55	GTG	32.00	37.34	0.42			
Val	GTA	13.00	15.78	0.20	GTA	9.00	10.39	0.14	GTA	12.00	13.29	0.18	GTA	15.00	17.50	0.21			
Val	GTT	17.00	20.63	0.26	GTT	15.00	17.32	0.23	GTT	10.00	11.07	0.15	GTT	16.00	18.67	0.29			
Val	GTC	13.00	15.78	0.20	GTC	16.00	18.48	0.25	GTC	8.00	8.86	0.12	GTC	14.00	16.34	0.18			
Trp	TGG	7.00	8.50	1.00	TGG	10.00	11.55	1.00	TGG	14.00	15.50	1.00	TGG	13.00	15.17	1.00			
Tyr	TAT	21.00	25.49	0.41	TAT	17.00	19.63	0.31	TAT	25.00	27.69	0.46	TAT	22.00	25.67	0.48			
Tyr	TAC	30.00	36.41	0.59	TAC	38.00	43.88	0.69	TAC	29.00	32.12	0.54	TAC	24.00	28.00	0.52			
End	TGA	0.00	0.00	0.00	TGA	0.00	0.00	0.00	TGA	0.00	0.00	0.00	TGA	1.00	1.17	1.00			
End	TAG	0.00	0.00	0.00	TAG	0.00	0.00	0.00	TAG	1.00	1.11	1.00	TAG	0.00	0.00	0.00			
End	TAA	1.00	1.21	1.00	TAA	1.00	1.15	1.00	TAA	0.00	0.00	0.00	TAA	0.00	0.00	0.00			

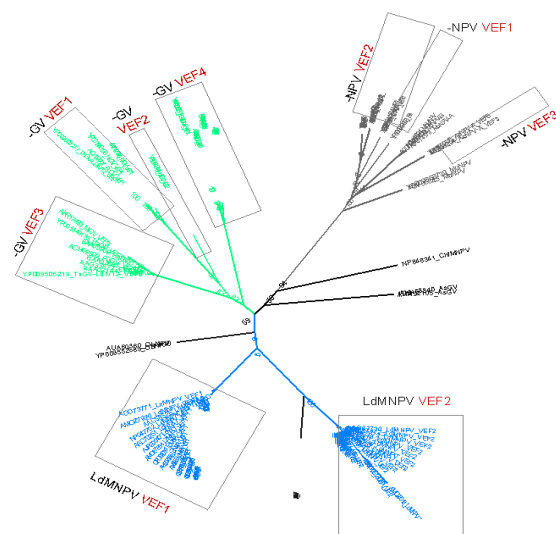
دنیای میکروب‌ها، سال شانزدهم شماره سوم پاییز ۱۴۰۲. بررسی توالی‌های نوکلئوتیدی و اسیدآمینهای آنزیم اینهانسین در باکولوویروس‌ها. مریم راشکی و همکاران.

رنگ، خود به زیرگروه‌های نوکلئوپلی‌هدروویروس VEF1 (NPV_VEF1)، نوکلئوپلی‌هدروویروس VEF2 (NPV_VEF2)، نوکلئوپلی‌هدروویروس VEF3 (NPV_VEF3)، مامسترا براسیکه مالتیپل نوکلئوپلی‌هدروویروس (MbmNPV) تا مامسترا کانفیگوراتا نوکلئوپلی‌هدروویروس A (McNPV-A) و میتیما یونپونکتا نوکلئوپلی‌هدروویروس (MuNPV) تقسیم شد. علاوه بر آگروتیس سگتوم (ObNPV) و کوریستونورا فومیسفرانا مالتیپل نوکلئوپلی‌هدروویروس (ChfMNPV) نیز هر کدام در گروه مجزای خود قرار داشتند.

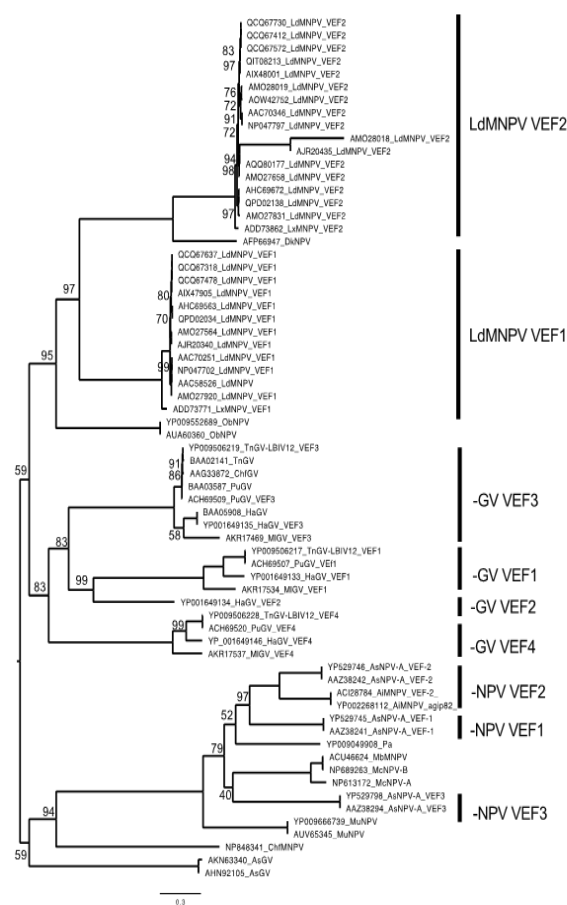
د) بررسی همترازی و نواحی حفاظت‌شده در توالی‌های اسید آمینه‌ای آنزیم اینهانسین در باکولوویروس‌ها: نتایج همترازی ۶۷ توالی اسید آمینه‌ای آنزیم اینهانسین در شکل ۴ نشان داد که قسمت دوم (احاطه‌شده در کادر قرمز رنگ) بسیار متغیرتر از قسمت اول است و قسمت اول حاوی توالی‌های حفاظت‌شده بسیار بیشتری از اسید آمینه‌های آنزیم اینهانسین است. همچنین، این تفاوت در قالب فاصله‌های ایجاد شده در شکل ۵ قابل مشاهده است. توالی حفاظت‌شده HEXXH در جدول ۲ به رنگ سبز و توالی متناظر غیر حفاظت‌شده در تعداد کمی اینهانسین به رنگ آبی نشان داده شده‌اند.



شکل ۴: الگوی حفاظت‌شده ۶۷ توالی اسید آمینه پروتین اینهانسین با استفاده از وب‌لوگو ۳.



شکل ۲: درخت فیلوژنتیک روت‌نشده (unrooted) بر اساس روش حداکثر احتمالات با استفاده از برنامه کیتوری برای ۶۷ توالی اسید آمینه‌ای باکولوویروس‌ها.

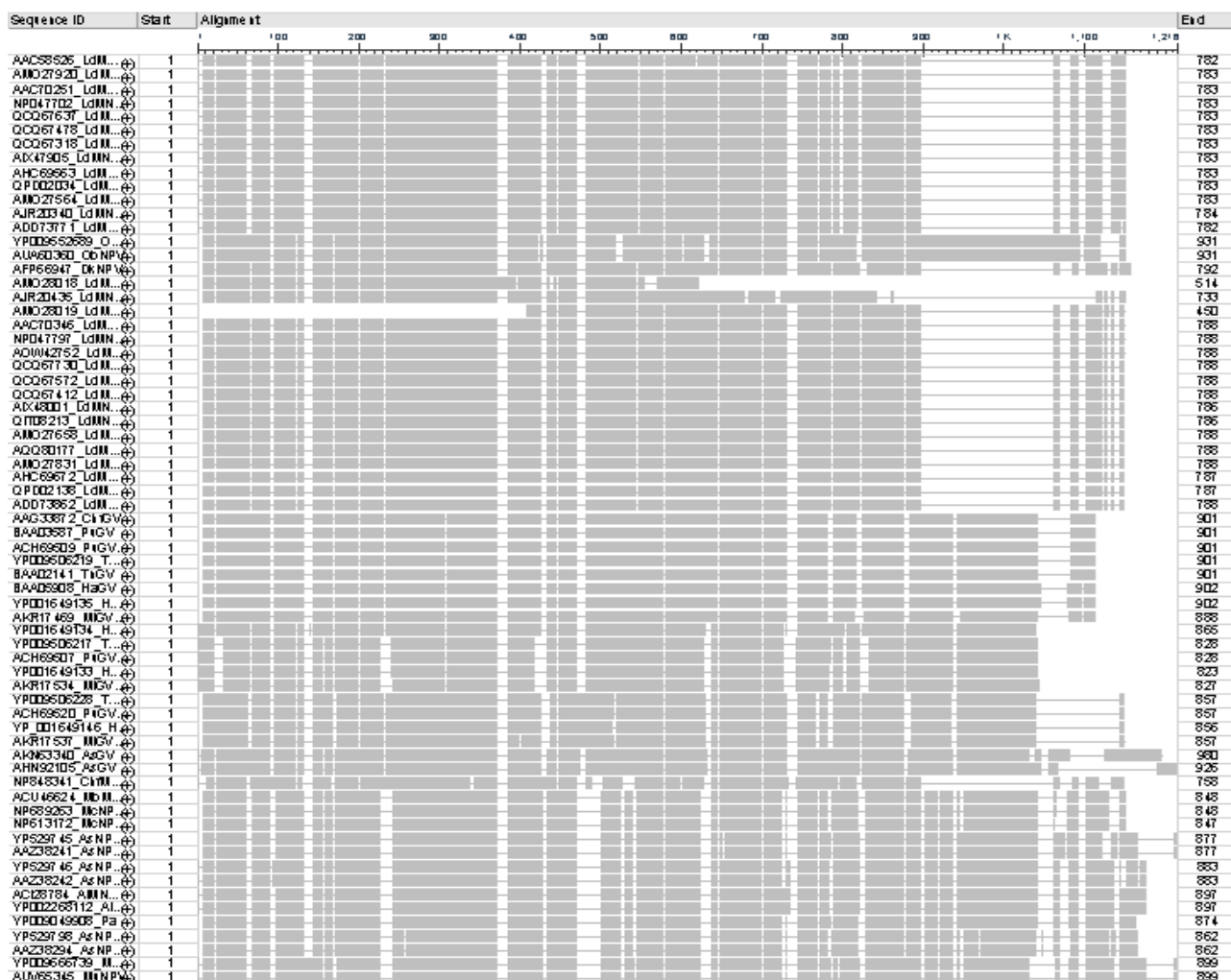


شکل ۳: درخت فیلوژنتیک روت‌شده (rooted) اساس روش حداکثر احتمالات برای ۶۷ توالی اسید آمینه‌ای اینهانسین در باکولوویروس‌ها (تنها عدد بوتسترپ‌های زیر ۱۰۰ نزدیک گره‌ها نمایش داده شده است).

جدول ۲: نتایج بررسی همترازی و نواحی حفاظت‌شده در ۶۷ توالی اسید آمینه‌ای آنزیم اینهانسین در باکولوویروس‌ها.

کد دسترسی توالی اسید آمینه	توالی حاوی نواحی حفاظت‌شده (HEXXH) (سبز)/حفاظت‌نشده متناظر (آبی)
YP_529798.1	NVLSLQRMFFNFTRNFTLLHAIISFLYNCYFENS-KSV
AAZ38294.1	NVLSLQRMFFNFTRNFTLLHAIISFLYNCYFENS-KSV
AKR17537.1	DAYYNSNWLAMCRDLDGNFLIPTLPNSNWLVLHMAEAYNYGFTKYHT--
ACH69520.1	AYYSSNWLAMSQSDLGKFLPEPSF-TNWLVLQTLGDAYNYGFTRYDT--
YP_009506228.1	AYYSSNWLAMSQSDLGKFLPEPSF-TNWLVLQTLGDAYNYGFTRYDT--
YP_001649146	AYYSSNWLAMSQSDLSYFLVPSY-TNWLVLQTLGDAYNYGFTREHT--
AKR17534.1	NCDDTLG-PFLQTTITNWPVLHQIGHGYDHTFANH-T--
YP_001649133	IANSADTLG-PFLLSTITNWPALHQIGHGYDLNFTNH-T--
38ACH69507.1	-----YIANSANTLG-PFLLSTITNWPALHQIGHGYDHHFTNN-T--
38YP_009506217.1	-----YIANSANTLG-PFLLSTITNWPALHQIGHGYDHHFTNN-T--
53YP_009666739.1	-----ISGPGGGYYAQFFMGESYSSIKAFYLTFEASNFGCLHEIGHSDTYFTRS-HQI
53AUV65345.1	-----ISGPGGGYYAQFFMGESYSSIKAFYLTFEASNFGCLHEIGHSDTYFTRS-HQI
42ACI28784.1	-----FMGASSQSMARFFLNLTPLNWGLLHEIGHSDLVFTRNTSQL
42YP_002268112.1	-----FMGASSQSMARFFLNLTPLNWGLLHEIGHSDLVFTRNTSQL
40YP_529745.1	-----GESSASMRSFYLRPTPLNWGLLHEISHSLDIYFRHNSEQV
40AAZ38241.1	-----GESSASMRSFYLRPTPLNWGLLHEISHSLDIYFRHNSEQV
44YP_529746.1	-----TWYMGESYETMKSFYLTPTSLNWGLLHEIAHSFDAHFTSNYIHA
44AAZ38242.1	-----TWYMGESYETMKSFYLTPTSLNWGLLHEIAHSFDAHFTSNYIHA
39YP_009049908.1	-----QSNSTMSRFFLTQVSNWGLLHEIAHSFDAHFTSRHTTQV
40NP_613172.1	-----GESNPSMRRFYLTPTSKFNWGLLHEIAHSFDAYFTWNYAHA
39ACU46624.1	-----ESSPSMRRFYLTPTSKFNWGLLHEIAHSFDAHFTSNYIHA
40NP_689263.1	-----AESSPSMRRFYLTPTSKFNWGLLHEIAHSFDAHFTSNYIHA
57AKN63340.1	MFFKQDLGSGAAYYGPFWIGVTTQSFDF-LFYNVVSIISNWIHLVHMGHAYDFEFANS-KS-
57AHN92105.1	MFFKQDLGSGAAYYGPFWIGVTTQSFDF-LFYNVVSIISNWIHLVHMGHAYDFEFANS-KS-
49AFP66947.1	-----GAGVAFYSRYWGMFSDNTLG-SYIRPQADPWLLHEIGHGHEFAFVGT-AP-
53AMO27831.1	---ADAGS-GAAAFYGRHWIGASANTLL-RYLNVDADPWLLHEIGHGHEFAFVGT-AP-
53AHC69672.1	---ADAGS-GAAAFYGRHWIGASANTLL-RYLNVDADPWLLHEIGHGHEFAFVGT-AP-
53QPD02138.1	---ADAGS-GAAAFYGRHWIGASANTLL-RYLNVDADPWLLHEIGHGHEFAFVGT-AP-
54ADD73862.1	---ADAGSGAGIAFYGQHWIGASANTLL-RYLNVDADPWLLHEIGHGHEFAFVGT-AP-
54AOW42752.1	---ADAGRGAGTAFYGGQHWIGASANTLL-RYLNVDADPWLLHEIGHGHEFAFVGT-AP-
54AMO28018.1	---ADAGSGAGIAFYGQHWIGASANTLL-RYLNVDADPWLLHEIGHGHEFAFVGT-AP-
54AMO27658.1	---ADAGSGAGIAFYGQHWIGASANTLL-RYLNVDADPWLLHEIGHGHEFAFVGT-AP-
54AIX48001.1	---ADAGSGAGIAFYGQHWIGASANTLL-RYLNVDADPWLLHEIGHGHEFAFVGT-AP-
54AJR20435.1	---ADAGSGAGIAFYGQHWIGASANTLL-RYLNVDADPWLLHEIGHGHEFAFVGT-AP-
54AAC70346.1	---ADAGSGAGIAFYGQHWIGASANTLL-RYLNVDADPWLLHEIGHGHEFAFVGT-AP-
54AQQ80177.1	---ADAGSGAGIAFYGQHWIGASANTLL-RYLNVDADPWLLHEIGHGHEFAFVGT-AP-
54NP_047797.1	---ADAGSGAGIAFYGQHWIGASANTLL-RYLNVDADPWLLHEIGHGHEFAFVGT-AP-
54QCQ67730.1	---ADAGSGAGIAFYGQHWIGASANTLL-RYLNVDADPWLLHEIGHGHEFAFVGT-AP-
54QCQ67572.1	---ADAGSGAGIAFYGQHWIGASANTLL-RYLNVDADPWLLHEIGHGHEFAFVGT-AP-
55QCQ67412.1	---KADAGSGAGIAFYGQHWIGASANTLL-RYLNVDADPWLLHEIGHGHEFAFVGT-AP-
54QIT08213.1	---KADAGSGAGIAFYGQHWIGASANTLL-RYLNVDADPWLLHEIGHGHEFAFVGT-AP-
51NP_848341.1	-----GSGAAYNNLTMGQSNSSVEHFYLRPLTNWGLLHEIAHAYDFHFVRS-GPV
56YP_00164913	FFAKADAGGPGAAYYGGSWTANSQSVLG-NYLQVRPGNWLVFHEIGHAYDLVFTQG-T--
53AKR17469.1	---KADAGGPGGSYYGPFWTASASASLD-DYIKVSPTNWMVLHELGHAYDFVFTVN-T--
53BAA05908.1	---KADAGGPGGAYYGAFWTPASTNLG-EYLRVSPNTNMMVHELGHAYDFVFTVN-T--
53YP_00164913	---KADAGGPGGAYYGAFWTPASTNLG-EYLRVSPNTNMMVHELGHAYDFVFTVN-T--
53BAA03587.1	---KADAGGPGGAYYGAFWTPASSNLG-DYLRI SPTNMMVHELGHAYDFVFTVN-T--
53ACH69509.1	---KADAGGPGGAYYGAFWTPASSNLG-DYLRI SPTNMMVHELGHAYDFVFTVN-T--
53BAA02141.1	---KADAGGPGGAYYGAFWTPASSNLG-DYLRI SPTNMMVHELGHAYDFVFTVN-T--
53YP_009506219.1	---KADAGGPGGAYYGAFWTPASSNLG-DYLRI SPTNMMVHELGHAYDFVFTVN-T--
51YP_009552689.1	-----TNGPGIAYYGLSHIGISLPSMA-RALDITPTNWLMLHEIGHSYDFLFVSN-YP-
51AUA60360.1	-----TNGPGIAYYGLSHIGISLPSMA-RALDITPTNWLMLHEIGHSYDFLFVSN-YP-
52ADD73771.1	-----DSNGVGAAYYDRNWTQAQTNVMSMS-RYLQPRATNWLVLHEIGHAYDFQFVSN-TP-
52AAC58526.1	-----DSNGVGAAYYDRNWTQAQTNVMSMS-RYLQPRATNWLVLHEIGHAYDFQFVSN-TP-
52AMO27920.1	-----DSNGVGAAYYDRNWTQAQTNVMSMS-RYLQPRATNWLVLHEIGHAYDFQFVSN-TP-
52AAC70251.1	-----DSNGVGAAYYDRNWTQAQTNVMSMS-RYLQPRATNWLVLHEIGHAYDFQFVSN-TP-
52NP_047702.1	-----DSNGVGAAYYDRNWTQAQTNVMSMS-RYLQPRATNWLVLHEIGHAYDFQFVSN-TP-
52AHC69563.1	-----DSNGAGAAYYDRNWTQAQTNVMSMT-RYLQPRATNWLVLHEIGHAYDFQFAGN-TP-
52QPD02034.1	-----DSNGAGAAYYDRNWTQAQTNVMSMT-RYLQPRATNWLVLHEIGHAYDFQFAGN-TP-
52QCQ67637.1	-----DSNGVGAAYYDRNWTQAQTNVMSMS-RYLQPRATNWLVLHEIGHAYDFQFAGN-TP-
52QCQ67478.1	-----DSNGVGAAYYDRNWTQAQTNVMSMS-RYLQPRATNWLVLHEIGHAYDFQFAGN-TP-
52QCQ67318.1	-----DSNGVGAAYYDRNWTQAQTNVMSMS-RYLQPRATNWLVLHEIGHAYDFQFAGN-TP-
52AIX47905.1	-----DSNGVGAAYYDRNWTQAQTNVMSMS-RYLQPRATNWLVLHEIGHAYDFQFAGN-TP-
52AMO27564.1	-----DSNGVGAAYYDRNWTQAQTNVMSMT-RYLQPRATNWLVLHEIGHAYDFQFAGN-TP-
52AJR20340.2	-----DSNGVGAAYYDRNWTQAQTNVMSMT-RYLQPRATNWLVLHEIGHAYDFQFAGN-TP-

دنیای میکروب‌ها، سال شانزدهم شماره سوم پاییز ۱۴۰۲. بررسی توالی‌های نوکلئوتیدی و اسیدآمینه‌ای آنزیم اینهانسین در باکولوویروس‌ها. مریم راشکی و همکاران.



شکل ۵: نمایش ساختار همترازی چندگانه ۶۷ توالی اسیدآمینه‌ای باکولوویروس‌ها شامل فاصله‌ها، طول توالی و ترتیب آن‌ها.

بحث

حاضر، برای بررسی روابط فیلوژنتیک از تمامی توالی‌های نوکلئوتیدی ژن اینهانسین باکولوویروس‌های ثبت شده در بانک ژن استفاده شد. شصت و هشت توالی نوکلئوتیدی بررسی و نتایج نشان داد که دو زیرگروه از نوکلئوپلی‌هدروویروس‌ها (اکثراً متعلق به گونه *لیماتریا دیسپار*) از لحاظ فیلوژنی به زیرگروه گرانولوویروس‌ها به خصوص گونه‌های *تریکوپلوزیانی گرانولوویروس* و *آگروتیس سگتوم گرانولوویروس* نزدیک‌تر بودند و با آن‌ها در یک گروه قرار گرفتند. درحالی‌که، گروه باقی‌مانده از نوکلئوپلی‌هدروویروس‌ها (اکثراً متعلق به جنس *آگروتیس*) کلاً در یک گروه مجزا جای گرفت. همان‌گونه که مشاهده می‌شود تعدادی از نوکلئوپلی‌هدروویروس‌ها و گرانولوویروس‌ها حاوی ژن‌های چندگانه *اینهانسین* هستند.

ویروس‌های خانواده باکولوویریده به چهار جنس تقسیم‌بندی می‌شوند: آلفاباکولوویروس (نوکلئوپلی‌هدروویروس‌های ویژه بالپولکداران)، بتایاکولوویروس‌ها (گرانولوویروس‌های ویژه بالپولکداران)، گاماباکولوویروس (نوکلئوپلی‌هدروویروس‌های ویژه بال‌غشائیان) و دلتاباکولوویروس‌ها (نوکلئوپلی‌هدروویروس‌های ویژه دوبالان) (۱۹). اینهانسین، پروتین آلفا و بتاباکولوویروس‌ها است که باعث تجزیه پروتین‌های گلیکوزیله‌شده در غشاء اطراف غذا و افزایش نفوذپذیری غشاء نسبت به باکولوویروس‌ها می‌شود (۲۰). اولین ژن کدکننده آنزیم اینهانسین در ویروس گونه *تریکوپلوزیانی گرانولوویروس* شناسایی و توالی‌یابی شد (۲۱). در تحقیق

قرارگرفتن آن‌ها در شاخه‌های متفاوت مانند آگروتیس سگتوم گرانولوویروس، اپروفترا بروماتا نوکلئوپلی‌هدروویروس و کوریستونورا فومیفرا مالتیپل نوکلئوپلی‌هدروویروس، نشان از سطح بالای ناهمگنی در آنزیم انهنسین دارد که پیش‌تر دلیل آن ایجاد ژن‌های مربوطه از منابع مستقل ذکر شده است (۸).

به دلیل نقش مهمی که کدون‌های استفاده‌شده در توالی‌های نوکلئوتیدی در زمینه ساختار نهایی آنزیم مربوطه دارند، در این تحقیق فراوانی این کدون‌ها بررسی شد و ارتباط کدون‌های فراوان‌تر با اسیدآمینه‌های متیونین و تریپتوفان، آسپارتیک، آلانین و آسپاراژین به دست آمد. تریپتوفان محافظت قابل توجهی از باکولوویروس‌ها در برابر غیرفعال شدن توسط اشعه ماوراء بنفش خورشید ایجاد می‌کند (۲۵). منطقه ۳۲ جفت باز در پایین دست کدون ATG کدکننده متیونین نیز در بسیاری از ناقل‌های انتقال باکولوویروس گنجانده شده است (۲۶). به‌طور کلی، کدون‌ها توسط تی‌آران‌های (tRNA) با فراوانی بالا خوانده می‌شوند و برای اطمینان از صحت ترجمه با سرعت مطلوب ترجمه می‌شوند. از سوی دیگر، کدون‌های کمیاب توسط تی‌آران‌های بافراوانی پایین ترجمه می‌شوند و این فرکانس متفاوت باعث تغییر در سرعت ترجمه می‌شود (۲۷).

در بررسی همترازی و نواحی حفاظت‌شده در توالی‌های اسید آمینه‌ای آنزیم انهنسین در باکولوویروس‌ها، توالی حفاظت‌شدهٔ HEXXH مشخص شد. سایر توالی‌های حفاظت نشده متناظر شامل HAISF، HCMAE، QTLGD، HQXXH و HVXXH نیز در برخی توالی‌های اسید آمینه‌ای آنزیم انهنسین مشاهده شدند. الگوی مهم HEXXH، برای گروه‌بندی یک پروتین در ابرخانواده متالوپروتئاز کافی است؛ به‌طوری‌که، بیشتر انهنسین‌ها باکولوویروس‌ها دارای این دامنه متالوپروتئاز حفاظت‌شده متصل شونده به عنصر روی هستند (۸). چندین باقیمانده اسید آسپارتیک و گلوتامیک بین ۲۰ تا ۱۲۰ اسیدآمینه از توالی HEXXH وجود دارد که در انهنسین‌های باکولوویروس وجود دارد، که هر یک می‌تواند به‌عنوان لیگاند سوم اتصال به عنصر روی در پروتین‌های انهنسین عمل کند (۸). از ۱۲ توالی حفاظت نشده متناظر بررسی شده در ۶۷ توالی انهنسین، تنها دو

به‌طوری‌که، ویروس هلیکوپریا آرمیژرا گرانولوویروس دارای چهار یعنی بیشترین ژن کدکننده پروتین انهنسین بود. البته لازم به ذکر است که این ژن، علاوه بر باکولوویروس‌ها در ژنوم سایر میکروارگانیسم‌ها مانند باکتری‌ها نیز شناسایی شده است (۲۲).

ژنوم باکولوویروس‌ها دستخوش میزان بالایی از جهش شده است که نتیجه آن از دست دادن و تکثیر دوتایی ژن، نوآرایی همولوگ (homologous recombination) و انتقال ژن از ژنوم سایر ویروس‌ها، باکتری‌ها و یوکاریوت‌ها است (۸). تجزیه و تحلیل توالی ژنوم نوکلئوپلی‌هدروویروس‌ها و گرانولوویروس‌ها نشان داد که این ویروس‌ها حاوی ۲۹ ژن پایه هستند که در تمام باکولوویروس‌های توالی‌یابی شده حفظ شده‌اند (۷). با توجه به درخت فیلوژنتیکی رسم‌شده و وجود شباهت بالا میان توالی‌های نوکلئوتیدی ژن انهنسین، به نظر می‌رسد نواحی حفاظت‌شده بسیاری در ژنوم این ۶۸ توالی وجود داشته باشد که نقش مهمی در عملکرد باکولوویروس‌ها خواهند داشت. البته، بررسی ژنتیکی ویروس‌های بیمارگر حشرات بسیار پیچیده و سخت است؛ زیرا بسیاری از ژنوم ویروس‌ها ممکن است به بزرگی ۳۰۰ کیلوباز باشند (۷).

بررسی ژنوم آگروتیس سگتوم نوکلئوپلی‌هدروویروس نشان داد که به‌طور غیر معمول دارای سه ژن انهنسین است. ژنوم لیمانتیریا دیسپار مالتیپل نوکلئوپلی‌هدروویروس دو ژن انهنسین دارد که هر دو برای زهرآگینی مطلوب علیه لاروهای شب‌پره لیمانتیریا دیسپار ضروری هستند (۲۳). درحالی‌که، گونه آگروتیس ایپیلون مالتیپل نوکلئوپلی‌هدروویروس تنها یک از سه ژن انهنسین را در مقایسه با آگروتیس سگتوم نوکلئوپلی‌هدروویروس نگه داشته است که البته با این وجود، میزان بیمارگری آن علیه لاروهای آگروتیس ایپیلون و آگروتیس سگتوم بسیار بیشتر است (۲۴). درخت رسم شده بر اساس هر دو توالی نوکلئوتیدی و اسیدآمینه‌ای نشان داد که توالی‌های دو باکولوویروس فوق نسبت به سایر توالی‌های موجود در گروه خودشان، شباهت زیادی با یکدیگر دارند. با این‌حال، تفاوت‌های مشاهده‌شده در توالی‌های اسیدآمینه‌ای و

تشکر و قدردانی

این پژوهش در قالب طرح پژوهشی شماره ۱۰۰/۳۱۳۶/ص/۷ با استفاده از اعتبارات پژوهشی پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته کرمان، ایران انجام شده است.

تعارض منافع

وجود ندارد.

مورد متعلق به نوکلئوپلی‌هدروویروس‌ها بودند و مابقی در گرانولوویروس‌ها یافت شدند که برخی حاوی یک باقیمانده گلوتامین یا والین به جای اسید گلوتامیک در ناحیه حفاظت‌شده HEXXH (HQXXH/HVXXH) بودند که مشابه یافته‌های اسلاویسک بود که تنها با ۲۶ توالی اسید آمینه‌ای آنزیم انهنسین بررسی شده بود (۸).

نتیجه‌گیری

تکامل باکولوویروس‌ها مکانیسم‌هایی را برای غلبه بر سد غشای دور غذا به آن‌ها اعطا کرده است، زیرا تخریب و افزایش نفوذپذیری غشای دور غذا در لارو حشرات آلوده به باکولوویروس گزارش شده است. پروتئین‌های باکولوویروس معروف به انهنسین، تجزیه پروتئین‌های گلیکوزیده غشای دور غذا به نام موسین را ارتقا می‌دهند، بطوری‌که، با افزایش نفوذپذیری غشای دور غذا به عفونت باکولوویروس کمک می‌کند (۲۸).

برنامه‌های متعددی برای تشویق استفاده از ویروس‌های بیمارگر حشرات در سراسر جهان توسعه یافته است و ویروس‌های متعددی در چندین کشور مانند آرژانتین، استرالیا، کانادا، کلمبیا، آلمان، هند، ژاپن، پرو، آفریقای جنوبی و ایالات متحده آمریکا ثبت شده است (۲۹). از آنجا که تولید و ترشح هر چه بیشتر آنزیم انهنسین می‌تواند برای افزایش فعالیت حشره‌کشی باکولوویروس‌ها استفاده شوند و به صورت تجاری برای کنترل آفات به کار روند، مطالعات بیوانفورماتیک برای بررسی و پیش‌بینی ویژگی‌های نوکلئوتیدی و اسیدآمین‌های پروتئین‌های مذکور در این زمینه به‌ویژه با تولید باکولوویروس‌های نو ترکیب می‌تواند بسیار راه‌گشا باشد.

ملاحظات اخلاقی

نویسندگان تمام ملاحظات اخلاقی شامل عدم سرقت ادبی، انتشار دوگانه، تحریف داده‌ها و داده‌سازی را در این مقاله رعایت کرده‌اند.

References

1. van Oers MM, Vlak JM. Baculovirus Genomics. *Curr Drug Targets*. 2007; 8: 1051-1068.
2. Vlak JM. The biology of baculovirus in vivo and in cultured insect cells. In: Vlak JM, Schlaeger EJ, Bernard AR, editors. *Baculovirus and recombinant protein production processes*. Editiones Roche. Interlakend, Switzerland;1992: 2-10.
3. Tinsley TW, Kelly, DC. Taxonomy and nomenclature of insect pathogenic viruses. In: Maramorosh K, Sherman KE, editors. *Viral insecticides for biological control*. Academic Press. Orlando, Florida; 1985: 3-25.
4. Del Rincon MC, Ibarra JE. Entomopathogenic viruses. In: Rosas N, editor. *Biological Control of Insect Pests*. 1st ed. USA. Studium Press LLC; 2011: 29-64.
5. Wang M, Hu Z. Cross-talking between baculoviruses and host insects towards a successful infection. *Phil Trans R Soc B*. 2019; 374: 20180324.
6. Sugiura N, Ikeda M, Shioiri T, Yoshimura M, Kobayashi M, Watanabe H. Chondroitinase from baculovirus *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus and chondroitin sulfate from silkworm *Bombyx mori*. *Glycobiology*; 2013; 23: 1520–1530.
7. Herniou EA, Jehle JA. Baculovirus phylogeny and evolution. *Curr Drug Targets*. 2007; 8:1043-1050.
8. Slavicek JM. Baculovirus enhancins and their role in viral pathogenicity. In: Adoga, Moses, editors. *Molecular virology*. Rijeka, Croatia: InTech; 2012: 147-155.
9. Miller LK. Introduction to the Baculoviruses. In: Miller LK, editor. *The Baculoviruses*. New York, Plenum; 1997: 1-6.
10. Dix DB, Thompson RC. Codon choice and gene expression: synonymous codons differ in translational accuracy. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1989; 86: 6888-92.
11. Huson DH, Bryant D. Application of phylogenetic networks in evolutionary studies. *Mol Biol Evol*. 2006; 23(2): 254-267.
12. Saitou N, Nei M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol Biol Evol*. 1987; 4(4):406-25.
13. Kumar S, Stecher G, Tamura K. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Mol Biol Evol*. 2016; 33(7): 1870-1874.
14. Stothard P. The sequence manipulation suite: JavaScript programs for analyzing and formatting protein and DNA sequences. *Biotechniques*. 2000; 28(6): 1102-1104.
15. Nguyen LT, Schmidt HA, Von Haeseler A, Minh BQ. IQ-TREE, A fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies. *Mol Biol Evol*. 2015; 32: 268-274.

16. Katoh K, Standley DM. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Mol Biol Evol.* 2013; 30: 772-780.
17. Maddison W, Maddison D. Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Version 3.10. 2015; Available from: <http://mesquiteproject>.
18. Crooks GE, Hon G, Chandonia JM, Brenner SE. WebLogo: a sequence logo generator. *Genome Res.* 2004; 14(6): 1188-1190.
19. Jehle JA, Lange M, Wang H, Zhihong H, Wang Y, Hauschild R. Molecular identification and phylogenetic analysis of baculoviruses from Lepidoptera. *Virology.* 2006; 346: 180-193.
20. Wang P, Granados RR. An intestinal mucin is the target substrate for abaculovirus enhancin. *Proc Natl Acad Sci. USA.* 1997; 94:6977-6982.
21. Hashimoto Y, Corsaro BG, Granados RR. Location and nucleotide sequence of the gene encoding the viral enhancing factor of the *Trichoplusia ni* granulosis virus. *J Gen Virol.* 1991; 72:2645-2651.
22. Read TD, Peterson SN, Tourasse N, Baillie LW, Paulsen IT, et al. The genome sequence of *Bacillus anthracis* Ames and comparison to closely related bacteria. *Nature.* 2003; 423:81–86.
23. Popham HJ, Bischoff DS, Slavicek JM. Both *Lymantria dispar* Nucleopolyhedrovirus Enhancin Genes Contribute to Viral Potency. *J Virol.* 2001; 75: 8639–8648.
24. Harrison RL. Genomic sequence analysis of the Illinois strain of the *Agrotis ipsilon* multiple nucleopolyhedrovirus. *Virus Genes.* 2009; 38:155–170.
25. Ignoffo CM, Garcia C. Aromatic/Heterocyclic amino acids and the simulated sunlight-ultraviolet inactivation of the *Heliothis/Helicoverpa* baculovirus. *Environ Entomol.* 1995; 24(2): 480-482.
26. Bannach C, Buck DR, Bobby G, Graves LP, Li S, Chambers AC, Gan E, Arinto-Garcia R, Possee RD, King L A. Optimizing recombinant baculovirus vector design for protein production in insect cells. *Processes.* 2021; 9(12): 2118.
27. Novoa EM, de Pouplana RL. Speeding with control: codon usage, tRNAs, and ribosomes. *Trends Genet.* 2012; 28(11): 574-581.
28. Sosa-Gomez DR, Morgado FS, Correa RF T, Sila L A, Ardisson-Araju DMP, Rodrigues BMP, Oliveira EE, Aguiar RWS, Ribeiro BM. Entomopathogenic viruses in the Neotropics: current status and recently discovered species. 2020. *Neotrop Entomol.* <https://doi.org/10.1007/s13744-020-00770-1>.
29. Kumar KK, Sridhar J, Murali-Baskaran RK, Senthil-Nathan S, Kaushal P, Dara SK, Arthurs S. Microbial biopesticides for insect pest management in India: current status and future prospects. *J Invertebr Pathol.* 2019; 165:74–81.