دراسة حاسوب للتنبؤ بالأهداف الدوائية للبكتريا *Helicobacter pylori*

زينب هاتف عباس الركابي

معهد الهندسة الوراثية والتقنيات الإحيائية للدراسات العليا، جامعة بغداد، العراق

الإستلام 2010/8/16 القبول 2010/11/25

الخلاصة

تم إجراء دراسة على الحاسوب *In Silico* للبحث عن الأهداف الحيوية التي يمكن أن تصلح أن تكون أهدافاً دوائية في بكتريا *Helicobacter pylori*. تم جمع تواليات الجينات الأساسية (البروتينات الأساسية) للبكتريا ومضيفها الإنسان (*Homo sapiens*) من قاعدة المعلومات للجينات الأساسية (http://tubic.tju.edu.cn/deg). أُخضعت نواتج الجينات الأساسية للبكتريا والإنسان لعمليات الإصطفاف بإستعمال BLASTP2.2.23+ http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PAGE_TYPE=BlastSearch&PROG_DEF=blastn&BLAST_PROG_DEF=megaBlast&BLAST_SPEC=blast2seq لتحديد. البروتينات الأساسية غير المتشابهة للبكتريا مع بروتينات المضيف لتمثل أهدافاً دوائية وبإستعمال مؤشرات مختلفة من إذ المصفوفات "PAM70,BLOSUM62" وبقيم توقع مختلفة المستويات E-value "0.05,0.01,0.001". أسفرت مجمل النتائج على إن هناك 55 جين من جينات البكتريا الأساسية "323" غير متشابهة مع جينات الإنسان الأساسية "118". أُخضعت البروتينات غير المتشابه لبرامج تحديد الموقع مثل PSORTb v.3.0 (http://www.psort.org/psortb/index.html) و TMHMM (http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/)، وكانت النتائج 22% (12 بروتين) هي بروتينات غشائية و 24% (13 بروتين) بروتينات غير محددة الموقع، أما الباقي 54% (30 بروتين) فكانت من البروتينات السايتوبلازمية. يتوقع أن تكون البروتينات الغشائية أهدافاً جيدة سواء لإنتاج اللقاحات الوقائية أو المضادات الحيوية التي تعمل على الأغشية. تهدف الدراسة محاولة إيجاد أهدافاً جديدة للأدوية نظراً لكون البكتريا أصبحت مقاومة للمضادات والأدوية المستعملة في الوقت الحاضر.

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

IN SILICO STUDY FOR PREDICTION OF DRUG TARGETS IN *HELICOBACTER PYLORI*

Zainb H. A. Al- Rikabi

Institute of Genetic Engineering and Biotechnology for Post Graduate Studies, University of Baghdad

Received 16/8/2010 Accepted 25/11/2010

ABSTRACT

***In Silico* Study, was conducted to search and predict essential biotargets which might be as drug targets in *Helicobacter pylori*. Gene sequences (Protein sequences) of the bacterium and its host (*Homo sapiens*) were retrieved from the Database for Essential Genes (DEG) (http://tubic.tju.edu.cn/deg/).**

The retrieved sequences were subjected to alignment process using BLASTP 2.2.23+(http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PAGE_TYPE=BlastSearch&PROG_DEF=blastn&BLAST_PROG_DEF=megaBlast&BLAST_SPEC=blast2seq) with different bioinformatic parameters and different matrices such as PAM70,BLOSUM62 at different levels of E-values "0.001, 0.01, 0.05" to estimate the essential bacterial genes that non-homologous with the human. Results showed that 55 genes out of 323 essential bacterial genes have no homology with human essential genes (118). The products of these genes (55 genes) were subjected to programs to estimate the cellular location such as PSORTb v.3.0 (http://www.psort.org/psortb/index.html) and TMHMM (http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/). The two programs showed that 22% of non-homologous genes (12 protein) were associated with cell membrane, 24% (13 protein) had unknown location, and the rest 54% (30 protein) were found in the cytoplasm. It could be predicted that the membrane proteins might be good targets for vaccine development and as well for antibiotics affected the cell membrane.

Key words: *Helicobacter pylori*, Drug Targets, Bioinformatic.

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

المقدمة

تصيب بكتريا *Helicobacter pylori* أكثر من نصف سكان العالم وتسبب إضطربات الجهاز الهضمي (1). والبكتريا لا تشبة المُمرضات الأُخرى إذ إنها تعيش في رقم هيدروجيني منخفض (pH) يصل الى 2(2). وللبكتريا تراكيب سطحية معقدة مسؤولة عن التداخل بينها وبين المضيف(3) وهذه التراكيب والبروتينات الخارجية تعاني من تغايرات كبيرة لها دور في الأمراضية (4). ونظراً لأهمية البكتريا فقد أكمل تحديد توالي جينومها Genome Sequence لبعض سلالاتها المهمة منذ نهايات القرن المنصرم(5). وأظهرت الدراسات إلى إن هذه البكتريا تحوي على الأنواع الأكثر تغايراً وتمتلك أكثر من آلية للتطور، فضلاً عن طرق إنتقال الصفات الأفقي فهي تمتلك جزر Genomic islands لها القابلية على الإستئصال الذاتي والإنتقال أُفقياً بطريقة الإقتران Conjugation مما يزيد من تغيرها المستمر وضراوتها(6). وقد أصبحت معظم هذه السلالات مقاومة للمضادات الحيوية والعوامل المساعدة لها المستعملة في العلاج وأصبح من الصعوبة التخلص منها(7) وظاهرة المقاومة للمضادات والأدوية المستعملة هي مشكلة عالمية عامة لذلك أستوجب إستعمال توجهات جديدة ومنها تحديد الجينات الأساسية للممرض ومقارنة ذلك بالجينات الأساسية للمضيف(8) ثم إستنتاج غير المتشابه منها بإستعمال الحاسوب *In silico* ضمن ما يسمى بطريقة الطرح الجينومي Substraction genomic approach، وقد أُستعملت الطريقة بداية مع *Pseudomonas aeruginosa* (9) ومن ثم أُستعملت مع عدد من المُمرضات الخطرة مثل *Neisseria gonorrhoeae* (10)، *Burkholderia pseudomallei* (11) وبكتريا *N.meningitides serogroup B* (12)، وبكتريا التدرن *Mycobacterium tuberculosis* (13)، وبكتريا *Salmonella typhi* (14). وإستعمال طريقة الطرح الجينومي إما أن تكون مباشرة وذلك بإستخلاص تواليات الجينومات من قواعد المعلومات والتي يكون قد تم تصنيفها على إنها من الجينات الأساسية(8) أو بطريقة غير مباشرة وذلك بأجراء مسح عام على كل قواعد المعلومات "Databases" المتوفرة وإستبعاد بروتينات الممرضات التي لها نسبة تشابه أكبر من 35% ثم إستعمال المتبقي في الدراسات(15). وبعد إيجاد الجينات الأساسية والبروتينات التي تشفر لها، يحدد موقعها في الخلية لتحديد طريقة التعامل معها، فبروتينات الجينات الأساسية تتوزع على مسارات أيضية مختلفة وكذلك مواقع خلوية مختلفة(1) فالبروتينات الغشائية وخاصة الخارجية تكون أهدافاً جيدة لإنتاج اللقاحات الوقائية Vaccines ضدها (16,15).

وقد أُختيرت في هذه دراسة بكتريا *H.pylori 26695* نظراً لكون جينومها محدد التوالي والذي يحوي على 1667867 زوج قاعدة ومعدل G+C 39% ويحوي الجينوم على 1590 جين مشفر(17)، لدراسة الأهداف التي يمكن أن تمثل ستراتجيات جديدة ضد هذه البكتريا الخطرة.

تهدف الدراسة محاولة إيجاد أهدافاً جديدة للأدوية نظراً لكون البكتريا أصبحت مقاومة للمضادات والأدوية المستعملة في الوقت الحاضر.

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

المواد وطرائق العمل

تم الحصول على تواليات الجينات الأساسية للبكتريا *H.pylori 26695* من قاعدة معلومات الجينات الأساسية Database of Essential Genes (Taxid85962/NCBI) (http://tubic.tju.edu.cn/deg/).وهي تشمل على 323 جين بأرقام تسجيل Accession Number خاصة بالقاعدة DEG10080001 – DEG10080323.

وكذلك تم الحصول على تواليات الجينات الأساسية للإنسان *Homo sapiens* من القاعدة نفسها وعددها 118 جين أساسي وبأرقام تسجيل DEG20060001– DEG20060118 والقاعدة قد تم تحديثها في آيار2009(8). أستعمل برنامج BLASTP 2.2.23+ http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PAGE_TYPE=BlastSearch&PROG_DEF=blastn &BLAST_PROG_DEF=megaBlast&BLAST_SPEC=blast2seq لإجراء عمليات الإصطفاف Alignments للبروتينات الأساسية (وليس توالي النيوكلوتيدات) بأستخدام صيغة FASTA، مثل بروتين من البروتينات الأساسية للبكتريا (323 بروتين) مقابل بروتينات المضيف (الإنسان) البالغ عددها 118، وقد أُجريت عمليات الإصطفاف بإستعمال مصفوفات "PAM70 ,BLOSUM62" وبقيم E-value بثلاث مستويات هي "0.001, 0.01, 0.05" "أي تم إجراء حوالي 228684 عملية إصطفاف".

بعد التوصل الى بروتينات البكتريا التي ليس لها مشابهات مع بروتينات الإنسان، تم إخضاعها لبرامج تحديد مواقعها، البرنامج الأول PSORTb لتحديد الموقع (18)، وتم إستعمال آخر إصدار من البرنامج (Version 3) الذي يمثل الإصدار الأحدث لعام 2010 والأكفأ من ضمن مجموعة برامج PSORT (http://www.psort.org/psortb/index.html). وتم التأكد من مواقع البروتينات بإستعمال برامج TMHMM (http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/) الخاص بالتنبؤ بالبروتينات المرتبطة بالأغشية والبروتينات التي تستعرض الأغشية (19).

النتائج والمناقشة

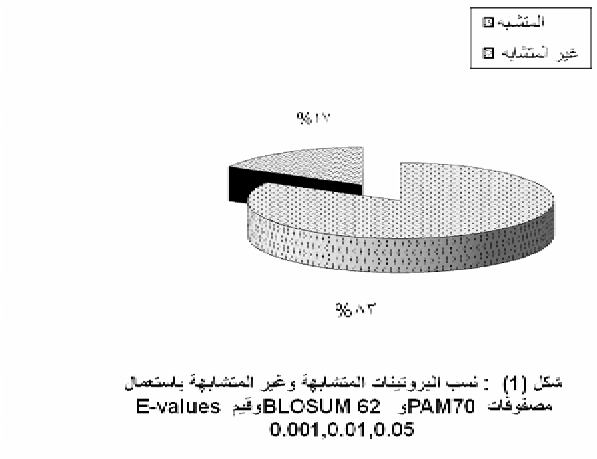
كان عدد الجينات الأساسية في القاعدة DEG للبكتريا *H.pylori* 323 وهي تمثل الجينوم المركزي Core genome المحتوية على الجينات الأساسية والتي من المتوقع أن تتكرر في سلالات البكتريا المختلفة، أما باقي الجينات في البكتريا والتي تمثل الجينات غير الأساسية وتنتج من طرح الجينوم المركزي من الجينوم العام Pan genome والتي يمكن أن تختلف بالنسبة للبكتريا من 4 - 50 % (5)، من جهة ثانية فقد كانت الجينات الأساسية للانسان 118 جين وهذا العدد يكون قليل جداً مقابل ما مسجل من عدد الجينات في الجينوم البشري والذي يتراوح بين 20000 - 25000، ولكن العدد القليل يمكن أن يعوض بما يسمى بإقتصاد الجينومGenome economy، إذ إن الجين الواحد يمكن أن ينتج عدداً من البروتينات بالإعتماد على الخياطة البديلة للجين Alternative splicing (18).

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

لذلك عمد في الدراسة الحالية إستعمال الجينات الأساسية من كلا الطرفين البكتريا والمضيف لإختصار الطريق، وقد أُخذت البروتينات الصغيرة (الأقل من 100 حامض أميني) والتي تهمل عادة في مثل هذه الدراسات (16،14)، نظراً لاهمية البروتينات الصغيرة خاصة في النواحي التنظمية . كما إن إستعمال توالي البروتينات يكون أفضل لعمليات المقارنة وذلك لان البروتينات أكثر ثباتاً لوجود ظاهرة إنحراف الشفرات Codon degeneracy كما إنه في بعض الأحيان لا يمكن عمل الإصطفاف بإستعمال تواليات النيوكلوتيدات إذ يمكن أن تجعل عملية الإصطفاف بدون معنى بايولوجي(18).

أستعمل برنامج BLASTP 2.2.23+ لغرض اجراء عملية الإصطفاف لمتواليتين بدلاً من إستعمال برنامج BLAST الاخرى التي تستعمل تواليات قواعد المعلومات للـ Subject Sequence للبحث فيها عن تواليات الاستعلام Query Sequence. وقد استعمل البرنامج بأكثر من نوع المصفوفات وهي BLOSUM62 الذي يعد الافضل للإستعمال في النواحي البايولوجية وقيم من E-value مختلفة "0.05,0.01,0.001" (20)، فضلاً عن إستعمال مصفوفة PAM70 وهي الاخرى ملائمة لصف البروتينات وبقيم E-value "0.05,0.01,0.001" (21) وذلك ما يوصى به لغرض التأكد من صحة التشابه(18).

وأشارت النتائج الى إن إستعمال المصفوفات المذكورة وبقيم E-values المذكورة متطابقة بين المصفوفتيين إذ كان الإختلاف بسيطاً ويتراوح بين 0.9 - 5%. وكانت النتيجة إن هناك 55 جين أساسي من *H. pylori* لا تشابه جينات الإنسان، و 268 جين هي متشابه مع جينات الإنسان (83%) وكما موضح في الشكل(1) وذلك لأن الجينات الأساسية تعد الأساس في الحياة فلا ضير أن تكون متشابه في الخلايا الحية(22).



شكل (1) : نسب البروتينات المتشابهة وغير المتشابهة باستعمال مصفوفات PAM70 و BLOSUM 62 وقيم E-values 0.001,0.01,0.05

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

يلغي برنامج البلاست BLASTP 2.2.23+ المستعمل أي تشابه أقل من 23% وهذه في العادة تكون ضمن مجموعة الجينات الأساسية للخلايا Housekeeping genes.

ظهرت بعض البروتينات التي تشابهت بنسبة 100%، وقد إختلفت نتائج هذه الدراسة عن دراسة أُخرى(16) نظراً للإختلاف في عدة نواحي منها إن الدراسة السابقة أُهملت نواتج الجينات التي هي أقل من 100 حامض أميني، فضلاً عن أنها أجرت عمليات المسح عن التشابه مع قواعد البروتينات الكبيرة المتمثلة بـ Swiss-Prot Database، ولكن من هذه الدراسة وإن كانت عملية المسح طويلة إلا إنها ربما تمثل الوضع الأفضل وذلك بالذهاب إلى مجال الجينات الأساسية والتي تمثل الحل الأمثل(8).

أما مواقع البروتينات التي تعد الأهداف الملائمة التي نتجت من هذه الدراسة فقد أُخضعت البروتينات إلى أكثر من برنامج وهو الموصى به(18) وذلك بإستعمال برنامج PSORT والذي تكون معطياته نصية وإظهار قيم Score لكل موقع من المواقع المتوقعة لكل بروتين كما في النمإذج "3,2,1".

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

PSORTb Results

```
SeqID: DEG10080184
Analysis Report:
 CMSVM-          Unknown            [No details]
 CytoSVM-        Unknown            [No details]
 ECSVM-          Unknown            [No details]
 ModHMM-         Unknown            [1 internal helix found]
 Motif-          Unknown            [No motifs found]
 OMPMotif-       Unknown            [No motifs found]
 OMSVM-          Unknown            [No details]
 PPSVM-          Unknown            [No details]
 Profile-        Unknown     [No matches to profiles found]
 SCL-BLAST-      Unknown     [No matches against database]
 SCL-BLASTe-     Unknown     [No matches against database]
 Signal-         Unknown     [No signal peptide detected]
Localization Scores:
 Cytoplasmic          2.00
 CytoplasmicMembrane  2.00
 Periplasmic          2.00
 OuterMembrane        2.00
 Extracellular        2.00
Final Prediction:     Unknown
```

نموذج (1): بروتين غير معروف الموقع (DEG10080184) (240 حامض أميني)

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

PSORTb Results

```
SeqID: DEG10080062
 Analysis Report:
  CMSVM-          CytoplasmicMembrane  [No details]
  CytoSVM-        Unknown              [No details]
  ECSVM-          Unknown              [No details]
  ModHMM-         CytoplasmicMembrane  [14 internal helices found]
  Motif-          Unknown              [No motifs found]
  OMPMotif-       Unknown              [No motifs found]
  OMSVM-          Unknown              [No details]
  PPSVM-          Unknown              [No details]
  Profile-        Unknown          [No matches to profiles found]
  SCL-BLAST-      Unknown          [No matches against database]
  SCL-BLASTe-     Unknown          [No matches against database]
  Signal-         Unknown          [No signal peptide detected]
 Localization Scores:
  Cytoplasmic           0.00
  CytoplasmicMembrane  10.00
  Periplasmic           0.00
  OuterMembrane         0.00
  Extracellular         0.00
 Final Prediction:
  CytoplasmicMembrane  10.00
```

نموذج (2): بروتين سايتوبلازمي (DEG10080062) (936 حامض أميني)

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

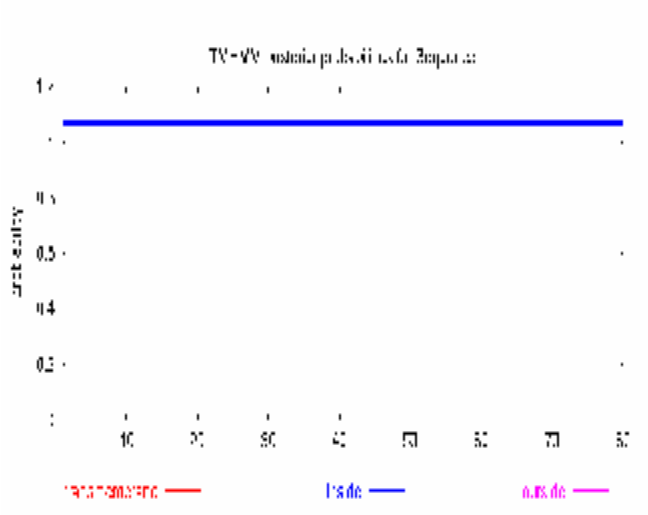
PSORTb Results

```
SeqID: DEG10080224
 Analysis Report:
  CMSVM-          Unknown       [No details]
  CytoSVM-        Unknown       [No details]
  ECSVM-          Unknown       [No details]
  ModHMM-         Unknown       [1 internal helix found]
  Motif-          Unknown       [No motifs found]
  OMPMotif-       Unknown       [No motifs found]
  OMSVM-          OuterMembrane [No details]
  PPSVM-          Unknown       [No details]
  Profile-        Unknown       [No matches to profiles found]
  SCL-BLAST-    OuterMembrane [matched 2507089: LPS-assembly protein
                               precursor]
  SCL-BLASTe-     Unknown       [No matches against database]
  Signal-         Unknown       [No signal peptide detected]
 Localization Scores:
  Cytoplasmic              0.00
  CytoplasmicMembrane      0.00
  Periplasmic              0.00
  OuterMembrane           10.00
  Extracellular            0.00
 Final Prediction:
  OuterMembrane           10.00
```

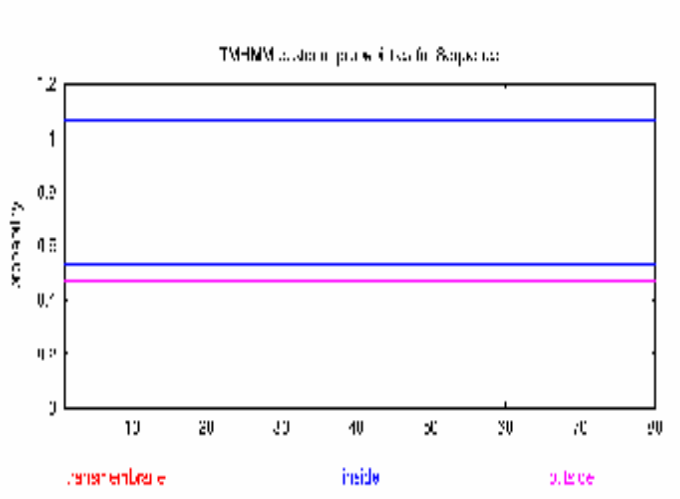
نموذج (3): بروتين خارج الخلايا (DEG10080224) (844 حامض أميني)

أخضعت البروتينات إلى برنامج آخر مصمم لمعرفة البروتينات المتعلقة بالأغشية TMHMM .
Transmembranous Hidden Markov Model والذي تكون معطياته(Outputs) بأكثر من صيغة والأشكال(2/أ- و) تعرض بعض البروتينات.

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

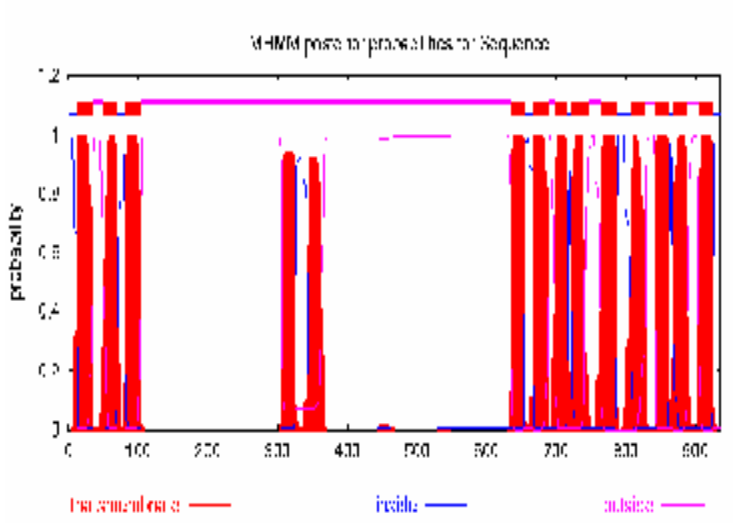


شكل (2/أ): نموذج لبروتين(620 حامض أميني) يقع في السايتوبلازم DEG10080013

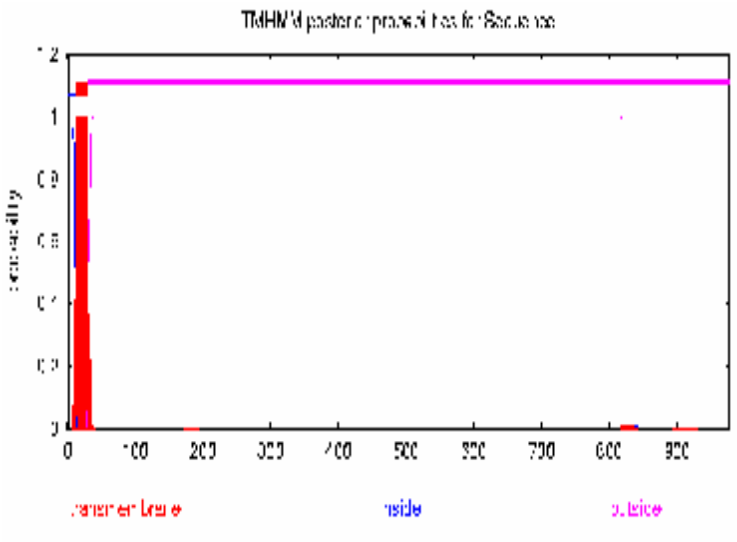


شكل (2/ب): نموذج لبروتين(80 حامض أميني) غير معروف الموقع DEG10080041

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

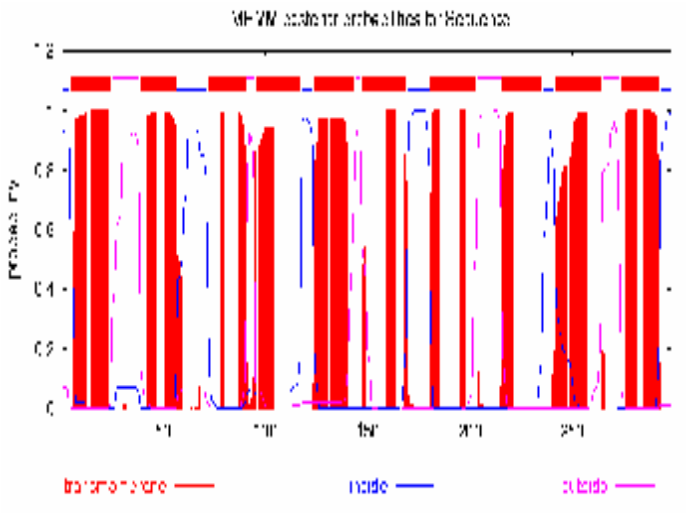


شكل (2/جـ): نموذج لبروتين (936 حامض أميني) غشائي DEG10080062

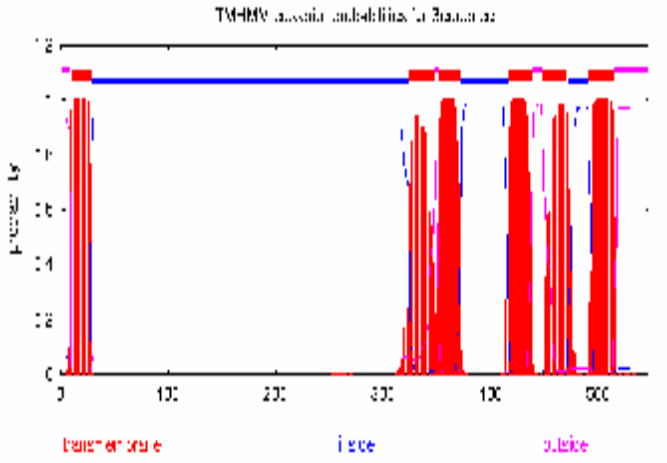


شكل (2/د): نموذج لبروتين (977 حامض أميني) يرتبط بالغشاء (DEG10080093)

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com



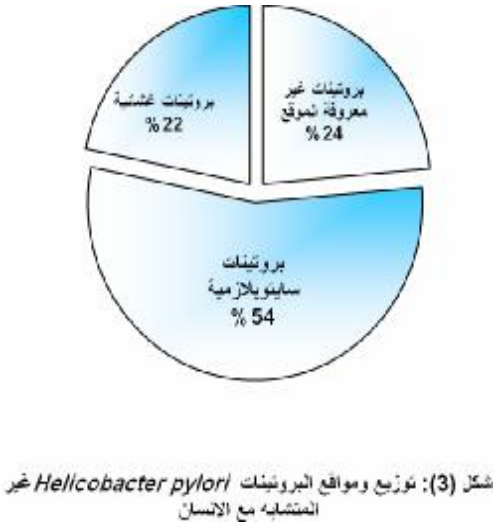
شكل (2/هـ): نموذج لبروتين(298 حامض أميني) يستعرض الغشاء بشكل كامل (DEG10080230)



شكل (2/و): نموذج لبروتين(547 حامض أميني) يستعرض الغشاء ولكن بمواقع مختلفة (DEG10080290)

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

وبالنتيجة كانت حصيلة توزيع البروتينات غير المتشابهة(55 بروتين) موضحة في الشكل(3).



شكل (3): توزيع ومواقع البروتينات *Helicobacter pylori* غير المتشابه مع الانسان

أما الجدول(1): فيوضح تفاصيل نواتج الجينات غير المتشابه والملاحظ إن هناك 12 بروتين له علاقة بالأغشية، منها البروتين DEG10080052 الذي يقع في القسمة المحيطية Periplasm والبروتينات DEG10080093, DEG10080244, DEG10080124 التي تقع في الغشاء الخارجي للبكتريا Outer membrame. وتحديد مواقع مثل هذه البروتينات يكون له أهمية كبيرة عندما تكون غشائية فالبعض يعمل في نقل الإشارات، وأُخرى تعمل في عمليات النقل عبر الأغشية وأُخرى في تحولات الطاقة (17) وبذلك تكون أهداف سهلة الوصول سواء من ناحية إنتاج اللقاحات الوقائية أو من ناحية تطوير المضادات حيوية تستهدف الأغشية (23).

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

جدول (1): وصف لنواتج الجينات غير المتشابهة من بكتريا *H.pylori* مع جينات المضيف (الإنسان *Homo sapiens*) (بأرقام تسجيلها في القاعدة مع عدد الحوامض الأمينية aa وكذلك إسم الجين)

الغشائية	السايتوبلازمية	غير معروفة الموقع
DEG10080047(rfaC/waaC), 340 aa, lip polysaccharide heptosyltransferase-1 (rfaC)	DEG10080012(HP0095) ,176 aa, hypothetical protein	DEG10080003(HP0024) 30 aa, hypothetical protein
DEG10080052(dppA), 549 aa dipeptide ABC transporter, periplasmic dipeptide-binding protein (dppA)	DEG10080013(dnaK), 620 aa molecular chaperone DnaK	DEG10080041(HP0268) 80 aa, hypothetical protein
DEG10080054(dppD), 287 aa dipeptide ABC transporter, ATP-binding protein (dppD)	DEG10080044(addB), 430 aa ATP-dependent nuclease (addB)	DEG10080046(HP0277) 84 aa, ferredoxin
DEG10080062(ycf5), 936 aa, cytochrome c biogenesis protein (ycf5)	DEG10080064(HP0388)*243 aa, hypothetical protein	DEG10080060 (HP0359) 21 aa, hypothetical protein
DEG10080093(HP0586) , 977 aa, hypothetical protein	DEG10080070(HP0418) ,335 aa, hypothetical protein	DEG10080068 (HP0408) 162 aa, hypothetical protein
DEG10080124(HP0746), 419 aa, hypothetical protein	DEG10080076(HP0466), 255 aa, hypothetical protein	DEG10080145 (HP0849) 96 aa, hypothetical protein
DEG10080223(hetA), 578 aa, multidrug resistance protein (hetA)	DEG10080082(dnaN), 374 aa DNA polymerase III subunit beta	DEG10080164 (HP0959) * 243 aa, hypothetical protein
DEG10080224(HP1216),* 660 aa, conserved hypothetical secreted protein	DEG10080083(HP0505), 154 aa, hypothetical protein	DEG10080183 (HP1056) 284 aa, hypothetical protein
DEG10080230(HP1234),* 298 aa, hypothetical protein	DEG10080097(oorC), 186 aa, 2-oxoglutarate-acceptor oxidoreductase subunit OorC	DEG10080184 (HP1057) 240 aa, hypothetical protein
DEG10080247(HP1289), 161 aa, hypothetical protein	DEG10080099(bioF), 154 aa, 8-amino-7-oxononanoate synthase (bioF)	DEG10080199 (HP1093) 28 aa, hypothetical protein
DEG10080290 (HP1450), 547 aa, putative inner membrane protein translocase component YidC	DEG10080108(HP0656) , 383 aa, hypothetical protein	DEG10080213(HP1150) 115 aa, hypothetical protein
DEG10080323(HP1580), 220 aa, hypothetical protein	DEG10080122(prsA), 318 aa ribose-phosphate pyrophosphokinase	DEG10080302(HP1504)* 238 aa, hypothetical protein
	DEG10080123 (HP0745), 327 aa,	DEG10080310(HP1536)

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

	hypothetical protein	18 aa, hypothetical protein
	DEG10080127 (HP0750), 400 aa, hypothetical protein	
	DEG10080162 (HP0956), 242 aa, hypothetical protein	
	DEG10080171(dapA), 300 aa, dihydrodipicolinate synthase	
	DEG10080177(rpsO), 90 aa, 30S ribosomal protein S15	
	DEG10080179, (lpxC), 295 aa, UDP-3-O-[3-hydroxymyristoyl] N-acetyl glucosamine deacetylase	
	DEG10080196, (tly/hlyA) 235 aa, hemolysin (tly)	
	DEG10080222 ,(nusG), 176 aa, transcription ant termination protein NusG	
	DEG10080233,(maf), * 190 aa, Maf-like protein	
	DEG10080237,(HP1247), 340 aa, DNA polymerase III subunit delta	
	DEG10080243,(nuoF) * 328 aa, hypothetical protein	
	DEG10080256,(rplE), 181 aa, 50S ribosomal protein L5	
	DEG10080258, (rplN), 122 aa, 50S ribosomal protein L14	
	DEG10080261, (rplV), 122 aa, 50S ribosomal protein L22	
	DEG10080273, (lpxA), 270 aa, UDP-N-acetyl glucosamine acyltransferase	
	DEG10080295 ,(serS), 415 aa, seryl-tRNA synthetase	
	DEG10080303,(ribG/ribD),344 aa, riboflavin biosynthesis protein (ribG)	
	DEG10080307,(recG) , 623 aa, DNA recombinase (recG)	

* بروتينات إفتراضية (**Conserved hypothetical**)

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

REFERENCES

1- Thiele, I.; Vo, T.; Price, N. and Palsson, B.(2005). Expanded metabolic reconstruction of *Helicobacter pylori* (iTT 341 GSM/GPR): an *In Silico* genome scale characterization of single and double – deletion mutants. *J. Bacterial*, 187: 5818 – 5830.

2- Matin, A.; Zychlinsky, E.; keyhan, M. and Sachs, C.(1996). Capacity of *Helicobacter pylori* to generate ionic gradients at pH in similar to that of bacteria which grow under strongly acidic conditions. *Inf. Immun*., 64: 1434- 1436.

3- Logan, R. (1996). Adherence of *Helicobacter pylori* Aliment. Pharmacol. Ther. 10 Suppl. 1: 3-15.

4- Yamaoka, Y.; Ojo, O.; Fujimoto, S.; Odenbreit, S.; Haas, R.; Gutierrez, O.; Reddy, R.; Arnqvist, A. and Graham, D.(2006). *Helicobacter pylori* outer membrane proteins and gastroduodenal disease. *Gut*, *55:* 775-781.

5- Ussery, D.; Wassenaar, T. and Borini, S.(2009). Computing for Comparation Microbial Genomics. Springer – Verlag, London, UK.

6- Fischer, W.; Windhager, L.; Rohrer, S.; Zeiller, M.; Karnholz, A.; Hoffmann, R.; Zimmer R. and Haas R.(2010). Strain – specific gene of *Helicobacter pylori:* genome evolution driven by a novel type IV secretion system and genomic island transfer. Nuc. Acids Res., 38: 6089-6101.

7- Hunt, R. and Tytgat, G.(2000). *Helicobacter pylori Basic* Mechanisms to Clinical Cure 2000. Kluwer Academic Publishers. Boston, London.

8- Zhang, R. and Lin, Y.(2009). DEG 5.0, a database of essential genes in both prokaryotes and eukaryotes. Nuc. *Acids Res.*, 37: D455 – D458.

9- Sakharkar, K.; Sakharkar, M. and Chow, V.(2004). A novel genomics approach for the identification of drug targets in pathogens, with special reference to *Pseudomonas aeruginosa*. *In Silico Biol.*, 4 (3) 355-360.

10- Barh, D. and Kumar, A.(2009). *In Silico* identification of candidate drug and vaccine targets from various pathways in *Neisseria gonorrhoeae. In Silico Biol*., *9*: 225-231.

11- Chong, C.; Lim, B.; Nathan, S. and Mohamed, R.(2006). *In Silico* analysis of *Burkholderia pseudomallei* genome sequence for potential drug targets. *In Silico Biol*., 6: 341 - 346.

12- Sarangi, A.; Aggarwal, R.; Rahman. Q. and Trivedi, N.(2009). Subtractive genomic approach for *In Silico* identification and characterization of novel drug targets in *Neisseria meningitides serogroup. B. J. Comp. Sci. Sust. Biol*., *2*: 255 – 258.

13- Singh, N.; Selvam, S. and Chakravarthy, P.(2006). T-iDT: Tool for identification of drug target in bacteria and validation by *Mycobacterium tuberculosis. In Silico Biol*., *6:*485-493.

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

14- Rathi, B.; Sarangi, A. and Trivedi, N.(2009).Genome substraction for novel target definition in *Salmonella typhi*. *Bioinformatics*, 4*:* 143-150.

15- Barh, D.; Kumar, A. and Misra, A.(2009).Genomic Target Database (GTD):A database of potential targets in human pathogenic bacteria. *Bioinformatics*, 4: 50-51.
16- Dutta, A.; Singh, S.; Ghosh, P.; Mukherjee R.; Mitter S. and Bandyopadhyay D. (2006).*In Silico* identification of potential therapeutic targets in the human pathogen *Helicobacter Pylori*. *In Silico Biol*., 6: 43-47.
17- Tomb, J.; White, O.; Kerlavage, A. *et al.*(1997). The Complete genome sequence of the gastric pathogen *Helicobacter pylori. Nature*, 388*:* 539 – 547.
18- Xiong, J.(2006).Essential Bioinformatics. Combridge Univ. Press. UK.
19- Moller, S.; Coning, M. and Apweiler, R.(2001). Evaluation of methods for the prediction of membrame spanning regions. *Bioinformatics*, 17: 646-653.
20- Henikoff, S. and Henikoff, J.(1992). Amino acid substitution matrices from protein blocks. Proc. Natl. *Acad. Sci*., 89: 10915-10919.
21- Feng, D.; Johnson, M. and Doolittle, R.(1984). Aligning amino acid sequences: Comparison of Commonly used method. *J. Mol. Evd*., 21:112-125.
22- Mushegian, A. and Koonin, E.(1996). A minimal gene set for cellular life derived by comparison of complete bacterial genomes. Proc. Natl. *Acad. Sci*., 93: 10268 – 10273.
23- Galperin, M. and Koonin, E.(1999). Searching for Drug targets in Microbial Genomes. Curr. Opin. *Biotechnol.*,10: 571-578.

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com