Iranian Journal of Cancer Care (IJCA) Original Article

Vol. 2 No. 3 Autumn 2023

Analysis of Predicted Single Nucleotide Mutations in Functional Hot Spots of Aconitate Decarboxylase Enzyme in Inflammatory and Metabolic Processes of Cancer and Various Diseases Using Bioinformatics Tools

Saeed Pirmoradi [1*], Mohammad Darvish Khadem[1]

1- Ph.D. in Biochemistry, Department of Biochemistry, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

Corresponding Author: Saeed Pirmoradi, PhD in Biochemistry, Department of Biochemistry, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.
Email: pirmoradi150@gmail.com

Received: 4 Sep 2022 Accepted: 28 Oct 2022

Abstracte

Introduction: Inhibition of inflammatory processes in various diseases can have effective therapeutic applications. The effective function of cis-aconitate decarboxylase (CAD) enzyme, a product of IRG1 gene, in the inflammatory processes of various diseases has been recently proven in clinical studies. In humans, the enzyme (CAD) catalyzes cis-aconitic acid to itaconic acid.

Methods: In this work, with the help of bioinformatics tools, functional hotspots were identified and their position in ACOD1 structure was investigated. Then, the effects of all mutation modes at these points were investigated and more dangerous mutations were selected. Interactions of selected mutant enzymes with other proteins were evaluated and visualized.

Results: This article is a meta-analytical process, during the analysis of different mutations in the functional hot spots of ACOD1 enzyme, it was found that 9 mutations (A247C, A248T, A101C, L156P, A244P, N248C, N248F, E150Y, E150W) in the seven predicted hot spots have the most They had destructive effects in terms of functionality and reduced stability and interaction of ACOD1 enzyme with other proteins.

Conclusions: From the bioinformatic analysis of the results of the predicted SNPs of the functional hot spots of the human ACOD1 gene, finally, among all the studied mutations, 9 mutations were obtained that had more destructive effects on the ACOD1 enzyme function. which researchers can use to investigate their role and effectiveness in clinical processes and as diagnostic markers in cancer diseases related to inflammation or as possible drug targets. This insilico study provides a possible path to clarify the study of molecular mechanisms involved in inflammatory processes caused by IRG1 gene mutation and its protein product (ACOD1).

Keywords: Hotspots, Bioinformatics, Mutations, Aconite Decarboxylase.

[Downloaded from ijca.ir on 2026-11-16]

نشریه مراقبت سرطان
مقاله پژوهشی

دوره ۲، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۲

تحلیل اثر جهشهای تک نوکلئوتیدی پیشگویی شده نقاط داغ عملکردی انزیم اکونیتات دکربوکسیلاز درمسیرهای التهابی و متابولیسمی سرطانهای مختلف با استفاده از ابزارهای بیوانفورماتیکی

سعید پیرمرادی[1*]، محمد درویش خادم[1]

۱- دکتری بیوشیمی، گروه بیوشیمی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

نویسنده مسئول: سعید پیرمرادی، دکتری بیوشیمی، گروه اموزشی بیوشیمی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.
ایمیل: pirmoradi150@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۶/۱۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۸/۶

چکیده

مقدمه: مهار فرایندهای التهابی در بیماریهای مختلف مانند سرطان کاربردهای درمانی موثری میتواند داشته باشند. عملکرد موثر انزیم سیس اکونیتات دکربوکسیلاز (CAD) محصول ژن IRG1 ، در فرایندهای التهابی سرطانها مختلف جدیدا طی تحقیقاتی بالینی اثبات شده است. در انسان آنزیم (CAD) کاتالیز سیس آکونیتیک اسید به ایتاکونیک اسید را بر عهده دارد.

روش کار: در این کار با کمک ابزارهای بیوانفورماتیکی به شناسایی نقاط داغ عملکردی و بررسی جایگاه ان در ساختار ACOD1 پرداخته شد سپس به بررسی اثرات تمام حالات جهش در این نقاط پرداخته و جهش های خطرناکتر انتخاب شدند و پایداری ACOD1 در اثر جهش های بدست امده بررسی شدند و برهم کنشهای انزیم دارای جهشهای انتخاب شده با دیگر پروتئینها ارزیابی و مصورسازی شد.

یافته ها: این مقاله یک فرایند فراتحلیلی است که طی انالیز جهشهای مختلف در نقاط داغ عملکردی انزیم ACOD1 مشخص شد که ۹ جهش (A247C,A248T,A101C,L156P,A244P,N248C,N248F,E150Y,E150W) در هفت نقطه داغ پیش بینی شده دارای بیشترین اثار مخرب از لحاظ عملکردی و کاهش پایداری و برهمکنشی انزیم ACOD1 با دیگر پروتئینها را داشتند.

نتیجه گیری: از تجزیه و تحلیل بیوانفورماتیکی پیامدهایSNPهای پیش گویی شده نقاط داغ عملکردی ژن ACOD1 انسانی در نهایتا از بین تمام جهشهای مورد مطالعه ۹ جهش بدست امد که اثار مخربتری بر عملکرد انزیم ACOD1 داشتند که محققان می توانند از بررسی نقش و عملکرد اثرگذاری انها در فرایندهای بالینی و نیز به عنوان نشانگرهای تشخیصی در بیماریهای سرطان وابسته به التهاب ویا به عنوان اهداف دارویی احتمالی استفاده کنند. این مطالعه insilico یک مسیر احتمالی برای روشن تر شدن مطالعه مکانیسمهای مولکولی درگیر در فرایندهای التهابی ناشی از جهش ژن IRG1 و محصول پروتیینی آن (ACOD1) را ارائه می دهد.

کلید واژه ها: نقاط داغ، بیوانفورماتیک، جهش، اکونیتات دکربوکسیلاز.

مقدمه

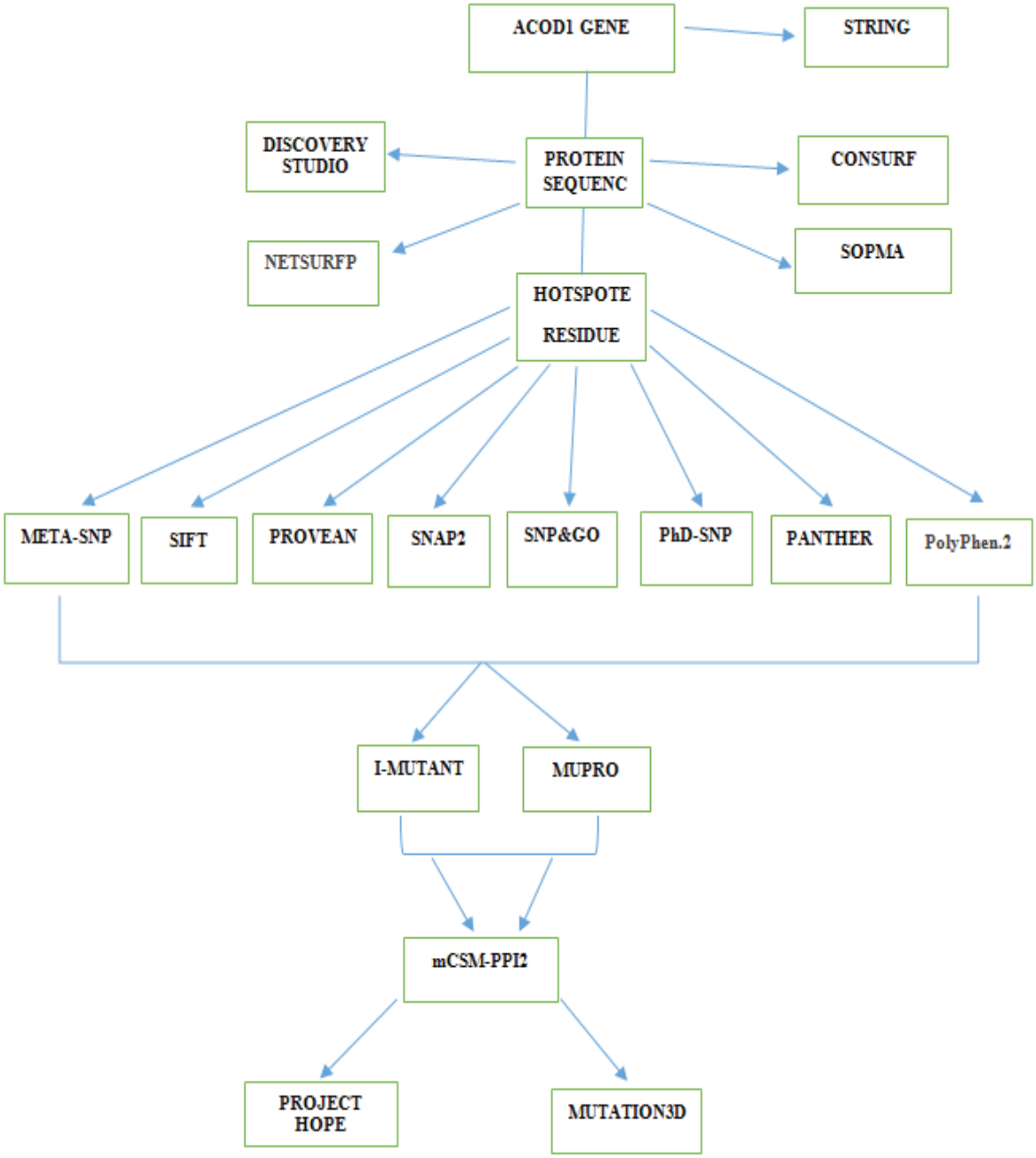
امروزه با توجه به پیشرفت تکنولوژی، غربالگری اولیه بیماریزایی مکان های جهش بر اساس تجزیه و تحلیل محاسباتی با استفاده از ابزارهای بیوانفورماتیک به شکلی گسترده توسط دانشمندان مورد استفاده قرار گرفته است (۱،۲). چندشکلی تک نوکلئوتیدی (SNP) از شایع ترین نوع عوامل تنوع ژنتیکی هستند (۳) زیرا منجر به تغییر در ساختار تاخوردگیها وعدم ثبات عملکرد پروتئین و اختلال در انها می شوند (۴،۵). تغییرات ناشی از پلی مورفیسم ژن IRG1 که در انسان آنزیم سیس آکونیتات دکربوکسیلاز (CAD) سنتز میکند کاتالیز سیس آکونیتیک اسید به

[Downloaded from ijca.ir on 2026-11-16]

ایتاکونیک اسید را در طول چرخه کربس بر عهده دارد و اخلال در عملکرد این ترکیب می تواند سرمنشاء بسیاری از مشکلات ناشی از اختلال در فرایند التهاب در بیماریهای مختلف از جمله انواع مختلف سرطان وابسته به التهاب باشد (۶،۷). این ژن تحت شرایط التهابی در ماکروفاژ و میکروگلیاها به شدت بیان می شود و نقش مهمی را در تنظیم مهار پاسخهای التهابی دارد .این ترکیب با تحریک بیان پروتئین TNFAIP3 ناشی از فاکتور نکروز تومور و از طریق گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) در ماکروفاژهای تحریک‌شده با LPS به‌عنوان یک تنظیم‌کننده منفی پاسخ‌های التهابی ذاتی و با واسطه گیرنده‌های Toll مانند (TLRs)، عمل می‌کند و در پاسخهای ایمنی ذاتی ضد میکروبی سلول های ایمنی نقش دارد و با تولید اسید ایتاکونیک با واسطه ACOD1 به فعالیت ضد میکروبی ماکروفاژها کمک می کند (۶،۷). همچنین در پاسخ ضد ویروسی به دنبال عفونت توسط فلاوی ویروس در نورون‌ها نقش دارد. تولید ایتاکونات با واسطه ACOD1 فعالیت سوکسینات دهیدروژناز را مهار می‌کند و یک حالت متابولیکی در نورون‌ها ایجاد می‌کند که تکثیر ژنوم‌های ویروسی را سرکوب می‌کند. به طور کلی در مطالعات صورت گرفته نقش ضد التهابی آنزیم IRG1 نشان داده شده که افزایش بیان این آنزیم، سبب کاهش معنی دار تولید IL-۶، TNFα و INF β- در ماکروفاژهای تحریک شده با LPS می شود (۸،۹) و ناک اوت کردن این ژن نیز سبب بدتر شدن پاسخ التهابی درماکروفاژهای مغز استخوان (BMDM) موش تحریک شده با LPS و سلول های میلوئید عفونی شده با مایکوباکتریوم توبرکلوزیس می شود (۱۰،۱۱) . IRG1 در شرایط پیش التهابی مانند عفونت های باکتریایی و بیماری های التهابی مختلف مانند آسیب طناب نخاعی در پستانداران به میزان زیادی بیان می شود. محصول این پروتئین، ایتاکونات می باشد که به عنوان یک متابولیت ضدالتهابی، موجب کاهش تولید سیتوکین هایی مانند IL-1β و IL-6 و در نتیجه سبب کاهش پاسخ های التهابی از طریق مکانیسم های مختلفی شامل مهار تولید گونه های فعال اکسیژن (ROS) ایجاد شده توسط سوکسینات دهیدروژناز (SDH)، فعال کردن پروتئین تنظیم کننده اصلی آنتی اکسیدانی NRF2 و همچنین القا کردن فاکتور رونویسی ضدالتهابی فاکتور رونویسی فعال کننده ۳ (ATF3) می باشد .همچنین بر اساس نتایج حاصل از برخی مطالعات مختلف، مشاهده شده است که فعالیت آنزیم IRG1 در پاتوژنز و یا گسترش بیماری های عفونت تنفسی RSV در کودکان (۱۲)، رشد، تهاجم و تومورزایی سلول های گلیوما(۱۳)، تومور تخمدان (۱۴) و افزایش تومورهای پریتونئال (۱۵) نقش قابل توجهی دارد. از طرف دیگر فعل و انفعالات متقابل بین پروتئین ها و بین پپتیدها، اسیدهای نوکلئیک یا لیگاندها نقشی حیاتی در هر فرآیند بیولوژیکی دارند. درک دقیق مکانیسم این فرآیندها مستلزم شناسایی آمینواسیدهای مهم عملکردی است که مسئول این فعل و انفعالات هستند. بدین خاطر از طریق برخی سرورهای بیوانفورماتیکی میتوان برای طراحی خودکار جهش ها و کتابخانه های هوشمند جهت مهندسی عملکرد پروتئین و پایداری ساختارهای پروتئینی استفاده کرد تا از این طریق و با شناسایی نقاط داغ جهش زایی در این پروتیین ها و بر اساس ادغام اطلاعات ساختاری، عملکردی و تکاملی به دست آمده از طریق این سری پایگاه داده بیوانفورماتیک و ابزارهای محاسباتی به پیشگویی و شناسایی جهشهای مضر موثر بر ساختار و عملکرد پروتیینهای مختلف در این نقاط داغ پرداخت. در این کار مطالعاتی پس از شناسایی نقاط داغ پروتیین مورد بررسی با کمک ابزارهای بیوانفورماتیکی مختلف پیش گویی کننده جهش های پاتوژنیک مختلف در این نقاط شد و بررسی پایداری پروتیین بعد از اعمال جهشهای مختلف در نهایت به شناسایی خطرناکترین جهشها در نقاط داغ بدست امده و اثرات انها در ساختار پروتیین بررسی شد. هدف اصلی این است تا بتوان به جهشهای اصلی و کلیدی این انزیم که نقش مهمتری در بیماریهای مختلف دارند پی برد که از طریق شناسایی انها راه های درمانی جدیدی که بواسطه اثار جهش های بدست امده ارایه داد و نیز تغییرات مهم ساختاری پروتیین مذکور ناشی از جهش های پیشگویی شده و مستعد جهش را که در شکل گیری برخی بیماریها نقش دارند را جهت بررسی های تحقیقاتی اینده محققان و نقش انها در شکل گیری برخی بیماریها معرفی کرد (جدول۱).

[Downloaded from ijca.ir on 2026-11-16]

روش کار



نمودار ۱: نمودار نحوه و مراحل اجرای کار تحقیقاتی

تهیه توالی پروتیینی انزیم سیس اکونیتات دکربوکسیلاز اطلاعات و دیتاهای مربوط به انزیم سیس اکونیتات دکربوکسیلاز بر اساس کد دسترسی از طریق پایگاه داده (UniProt) A6NK06 و (RCSB) 6R6U بازیابی شد (۱۶).

بررسی شبکه برهم کنشی ژن سیس اکونیتات دکربوکسیلاز SRTING پایگاه داده برای تشخیص عملکرد پروتئین با پیش‌بینی ادغام چندین منبع ژنومیک و پروتئومیکس برای استنتاج در مورد عملکرد پروتئین‌های ناشناخته است. ورودی ژن مربوط به ACOD1 بود، در حالی که خروجی تصویری بود که تعامل شبکه بیولوژیکی بین ACOD1 و ژن های مرتبط با آن را نشان می دهد (۱۷).

پیدا کردن جایگاه فعال انزیم سیس اکونیتات دکربوکسیلاز و تعیین امینواسیدهای جایگاه فعال در این مرحله از نرم افزار دیسکاوری استودیوکه نرم افزاری کاربردی جهت

[Downloaded from ijca.ir on 2026-11-16]

بررسی و پیدا کردن جایگاه فعال انزیم و مشخص کردن رزیدوهای فعال و درگیر در جایگاه فعال این انزیم با لیگاند متصل به جایگاه فعال می باشد استفاده شد.

تهیه ساختار دوم انزیم و تعیین دسترس پذیری حلال امینواسیدهای ان و جایگاه ساختاری انها جهت پیدا کردن و بررسی ساختار دوم پروتیین مورد نظر از لحاظ نوع ساختار و عملکرد ان ونیز محتوای امینواسیدهای ان از سرور NetSurfP2.0 و sopma استفاده شد. SOPMA از طریق الگوریتم شبکه عصبی استفاده میکند و توان تشخیص ۸۲٫۲٪ از باقیمانده ها را دارد. NetSurfP-2.0 ساختار ثانویه پروتئین و قابلیت دسترسی به حلال نسبی سرور ودسترسی سطحی، ساختار ثانویه، بی نظمی و زوایای دووجهی فی/ پسی اسیدهای آمینه را در یک توالی اسید آمینه پیش بینی می کند (۱۸).

تهیه ساختار انزیم و تعیین سطحی یا درونی و عملکردی یا ساختاری بودن امینواسیدهای ان در این مرحله برای شناسایی محتوای امینواسیدی از لحاظ درونی یا بیرونی بودن وعملکردی یا ساختاری بودن انها از سرو consurf استفاده گردید. ConSurf برای ارزیابی حفظ تکاملی اسیدهای آمینه با پیش‌بینی امتیاز حفاظت از طریق الگوریتمی متمایز استفاده شد. اسیدهای آمینه با امتیازهای بین ۷ و ۹ آمینو اسیدهای محافظه کار تکاملی بودند. ورودی توالی پروتئین در قالب FASTA بود، در حالی که خروجی تصویری بود که اسید آمینه حفظ شده را در بین گونه ها نشان می دهد که موقعیت خود را با الگوریتم خاصی مشخص می کند (۱۹).

تهیه نقاط داغ عملکردی انزیم

نقاط داغ عملکردی مکانهایی از پروتیین هستند که در برهمکنشها و فعالیتهای پروتیین بیشترین نقش را ایفا می کنند. HotSpot Wizard3 یک وب سرور برای طراحی خودکار جهش ها و کتابخانه های هوشمند برای مهندسی عملکرد پروتئین و پایداری و حاشیه نویسی ساختارهای پروتئین است. همچنین قادر به شناسایی نقاط داغ جهش زایی بر اساس ادغام اطلاعات ساختاری، عملکردی و تکاملی به دست آمده از چندین پایگاه داده بیوانفورماتیک و ابزارهای محاسباتی است.(۲۰)

بررسی شبیه سازی اثرات تمام حالات جهش در نقاط داغ انزیم توسط ابزارهای مختلف بیوانفورماتیکی برای پیش‌بینی و مطالعه دقیق بیماری‌زایی SNP های ACOD1، از هشت ابزار آنالیز بیوانفورماتیکی با الگوریتمهای مختلف استفاده شد. SIFT, PolyPhen-2, PROVEAN, SNAP2, PHD-SNP PANTHER ، SNPs&GO, استفاده شد. SIFT برای تشخیص اثر هر جایگزینی اسید آمینه بر عملکرد پروتئین ACOD1 استفاده شد. SNP، SIFT های آسیب‌رسان را بر اساس میزان باقی‌مانده‌های اسید آمینه حفظ‌شده در توالی‌های هم‌تراز با توالی‌های نزدیک، که از طریق PSI-BLAST جمع‌آوری شده‌اند، پیش‌بینی می‌کند. نمرات SIFT از ۰ تا ۱ متغیر است و نمرات ۰.۰۵ ≥ توسط الگوریتم پیش‌بینی می‌شود که جایگزین‌های اسید آمینه مضر باشد، در حالی که امتیازات ۰٫۰۵< قابل تحمل در نظر گرفته می‌شود (۲۱). از سرور PolyPhen-2 (Polymorphism Phenotyping v2) برای بررسی اثرات بالقوه هر جایگزین اسید آمینه بر خواص ساختاری و عملکردی پروتئین ACOD1 با استفاده از رویکردهای فیزیکی و مقایسه‌ای استفاده شد (۲۲). PROVEAN یک ابزار آنلاین کاربردی آموزش دیده که عملکردش به امتیاز مبتنی بر تراز بستگی دارد. پس از انکه توالی پروتئین همراه با جهش اسید آمینه بدون تغییر تنظیمات پیش فرض در ان درج شد پیش‌بینی می‌شود که جهش‌ها دارای اثرات خنثی یا مضر بر اساس امتیاز همترازی آنها به ترتیب بیشتر یا کمتر از ۲٫۵- را دارند یا خیر (۲۳). SNAP2 یک ابزار کاربردی آموزش دیده است که مبتنی بر شبکه عصبی است. با در نظر گرفتن ویژگی های مختلف، بین بیماری و جهش های خوش خیم با دقت ۸۳٪ تفاوت قائل می شود (۲۴). SNPs&GO یک ماشین بردار پشتیبان (SVM) است که بر اساس این روش برای پیش‌بینی دقیق جهش‌های مرتبط با بیماری از توالی پروتئین عمل میکند. امتیاز احتمال بالاتر از ۰٫۵ اثر جهش مرتبط با بیماری را بر عملکرد پروتئین نشان می دهد. SNPs&GO ابزار دیگری به نام PHD-SNP دارد که نتایج را به جهش مضر یا خنثی طبقه بندی می کند (۲۵). الگوریتم PANTHER بر اساس کتابخانه ای از مدل های پنهان مارکوف به دست آمده از ترازهای توالی چندگانه خانواده های پروتئینی مختلف (HMM) است (۲۶). PANTHER اثر nsSNV ها را در دو مرحله پیش بینی می کند. روش اول ابتدا، پروتئین آسیب‌دیده با تمام HMM های موجود در کتابخانه مقایسه می‌شود تا HMM خانواده پروتئین query را پیدا کند (۲۷). سپس این HMM برای محاسبه احتمال اختلال nsSNV در

[Downloaded from ijca.ir on 2026-11-16]

عملکـرد پروتئیـن آسـیب‌دیده اسـتفاده می‌شـود. توجـه داشـته باشـید کـه وقتـی PANTHER نتوانـد پروتئیـن آسـیب دیـده را بـه یکـی از خانواده‌هـای موجـود در کتابخانـه خـود نقشـه‌برداری کنـد، هیـچ خروجـی برگردانـده نمی‌شـود.Meta-SNP یـک طبقه‌بندی‌کننـده باینـری تصادفـی مبتنـی بـر جنـگل بـرای تمایـز بیـن SNV هـای غیـر متـرادف مرتبـط بـا بیمـاری و چنـد شـکلی هـا مـی باشـد (۲۸). ابـزار Meta-SNP بـرای بهبـود تشـخیص انـواع جهـش هـای مضرخروجـی هـای ،PANTHER PhD-SNP، SIFT و SNAP را ترکیـب مـی کنـد. Meta-SNP یـک پیـاده سـازی کتابخانـه تصادفـی جنگلـی WEKA (۲۹) بـا ۱۰۰ درخـت اسـت کـه در SV-2009 بـا اسـتفاده از اعتبارسـنجی متقابـل ۲۰ برابـری آمـوزش داده شـده اسـت. پیش‌بینی‌کننـده احتمـال مرتبـط بـودن یـک nsSNV معیـن را بـه بیمـاری نشـان می‌دهـد، کـه در آن امتیـازات ۰٫۵< نشـان می‌دهـد کـه نـوع ورودی داده شـده بیمـاری‌زا اسـت.

تعییـن پایـداری انزیـم پـس از اعمـال جهشـها در نقـاط داغ انزیـم

پایـداری پروتئیـن عامـل اصلـی تاثیرگـذار بـر عملکـرد و فعالیـت مولکـول هـای بیولوژیکـی اسـت. انـرژی آزاد بـاز شـدن پروتئیـن بـرای پایـداری پروتئیـن حیاتـی اسـت. از ایـن رو تأثیـر جهـش بـر پایـداری پروتئیـن را مـی تـوان بـا مطالعـه تأثیـر جهـش بـر انـرژی آزاد دقیقاً تعییـن کـرد. سـرور I-Mutant 3.0 یـک ابـزار مبتنـی بـر SVM اسـت کـه پیش‌بینـی می‌کنـد کـه آیـا جهـش SNPs سـاختار پروتئیـن را بـا محاسـبه تغییـر انـرژی آزاد و از طریـق پیش‌بینی‌هـای جفـت بـا ابـزار FOLD-X مبتنـی بـر انـرژی، منجـر بـه تثبیـت یـا بی‌ثباتـی مـی شـود (۳۰). Mupro یـک ابـزار تجزیـه و تحلیـل سـاختاری آنلایـن بـرای محاسـبه تغییـرات پایـداری پروتئیـن بـر روی SNP هـای دلخـواه اسـت (۳۱).

تصویر سازی جایگاه جهشهای برتر در نقاط داغ انزیم

جهـت نمایـش سـاختار و جایـگاه جهشـهای اثرگـذار نقـاط داغ از ابزارهـای بیوانفورماتیکـی MUTATION3D , PYMOL و ROJECT HOPE اسـتفاده شـد.

جدول۱: جدول حاوی تمام نرم افزارها و سرورهای مورد استفاده همراه با توضیح مختصری از عملکرد انها میباشد

سرور/نرم افزار	آدرس	نحوه عملکرد
UNIPORT	https://www.uniprot./org	یک منبع پیشرو و با کیفیت بالا و جامع و رایگان و در دسترس توالی پروتئین و اطلاعات عملکردی در جهان است.
RCSB	https://www.rcsb./org	یک مرکز داده در ایالات متحده برای بانک جهانی داده های پروتئین (PDB) بایگانی داده های ساختار سه بعدی مولکول های بیولوژیکی بزرگ(پروتئین ها، DNA و RNA) ضروری، برای تحقیق و آموزش در زمینه زیست شناسی بنیادی، سلامت، انرژی و بیوتکنولوژی است.
STRING	/https://string-db.org	پایگاه داده برای تشخیص عملکرد پروتئین با پیش‌بینی ادغام چندین منبع ژنومیک و پروتئومیکس برای استنتاج در مورد عملکرد پروتئین‌های ناشناخته است.
DISCOVERY STUDIO	SOFTWARE	علوم پیشگویی و مدل سازی و شبیه سازی در علوم زندگی است. BIOVIA Discovery Studio شامل برنامه شبیه سازی بسیار کارآمد مکانیک مولکولی CHARMm است. با بیش از ۳۰ سال بررسی دقیق تحقیقات دانشگاهی, CHARMm با تمرکز اصلی بر پروتئین های مطالعه, پپتید, لیگاندهای مولکول های کوچک, اسیدهای نوکلئیک, لیپید ها و کربوهیدرات ها ایجاد شده است.
PAYMOL	SOFTWARE	نرم‌افزار پایمول (PyMOL) یک شبیه‌ساز مولکولی است و از سال ۲۰۰۶ به محققان امکان دستکاری و بررسی مولکول‌های زیستی را در فضای کامپیوتری فراهم کرده است
CONSURF	https://consurf.tau.ac.il/consurf_index.php	الگوی تکاملی اسیدهای آمینه/نوکلئیک ماکرومولکول را تجزیه و تحلیل می‌کند تا مناطقی را که برای ساختار و/یا عملکرد مهم هستند، آشکار کند. با شروع از یک دنباله یا ساختار پرس و جو، سرور به طور خودکار همولوگ ها را جمع آوری می کند، هم ترازی چند توالی آنها را استنباط می کند و یک درخت فیلوژنتیک را بازسازی می کند که روابط تکاملی آنها را منعکس می کند.
SOPMA	https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=/NPSA/npsa_sopma.html	این روش‌ها مبتنی بر روش همولوگ لوین و همکاران هستند. در محاسباتSOPMA اطلاعات یک هم‌ترازی از توالی‌های متعلق به یک خانواده را در نظر گرفته میشود.

[Downloaded from ijca.ir on 2026-11-16]

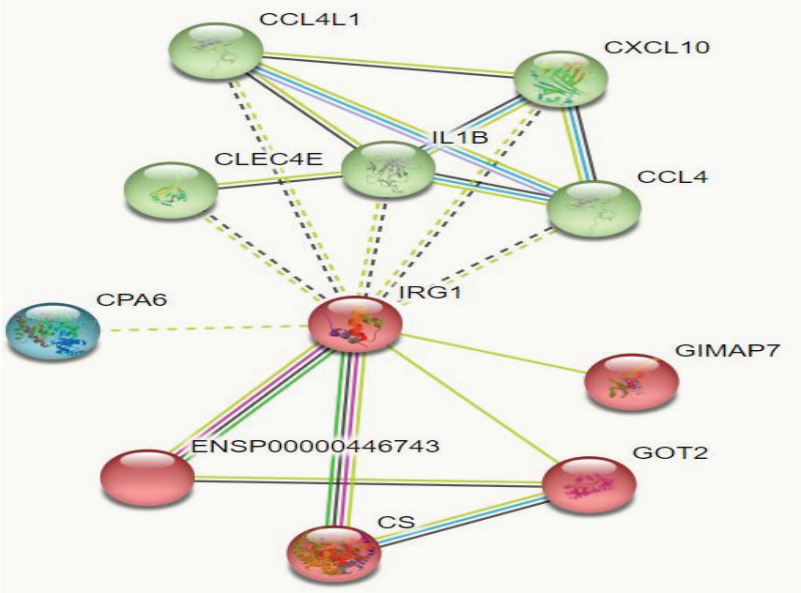
NETSURFP	https://services.healthtech.dtu.dk/service.php?NetSurfP-3.0	سرور دسترسی سطح، ساختار ثانویه، بی نظمی و زوایای دو وجهی فی/پسی اسیدهای آمینه را در یک توالی اسید آمینه پیش بینی می کند.
HotSpot Wizard۳	https://loschmidt.chemi.muni.cz//hotspotwizard	یک وب سرور است که برای شناسایی خودکار نقاط مهم در طراحی پروتئین استفاده می شود
META-SNP	https://snps.biofold.org/meta-snp/pages/methods.html	یک طبقه‌بندی تصادفی مبتنی بر جنگل برای تمایز بین SNVهای غیرمترادف مرتبط با بیماری و چند شکلیها را ارائه می دهد.
SIFT	http://sift.bii.a-star.edu.sg	پیش بینی می کند که آیا یک جایگزین اسید آمینه بر عملکرد پروتئین بر اساس همسانی توالی و خواص فیزیکی اسیدهای آمینه تأثیر می گذارد یا خیر.
PROVEAN	http://provean.jcvi.org/index.php	یک ابزار نرم افزاری است که پیش بینی اثر جایگزینی اسید آمینه بر عملکرد بیولوژیکی پروتئین را انجام می دهد
SNAP2	https://rostlab.org/./services/snap۲web	یک ابزار کاربردی آموزش دیده است که مبتنی بر شبکه عصبی است. با در نظر گرفتن ویژگی های مختلف، بین بیماری و جهش های خوش خیم با دقت ۸۳٪ تفاوت قائل می شود
SNP&GO	http://snps-and-go.biocomp.unibo.it//snps-and-go	پیش‌بینی جهش‌های مرتبط با بیماری‌های انسانی در پروتئین‌ها با تعین اثر عملکردی
PHD-SNP	https://snps.biofold.org/phd-snp/phd-snp.html	ابزارمبتنی بر یک طبقه بندی کننده مبتنی بر SVM است که جهت بررسی اثر جهش در ساختارپروتیین ها در بیماریهای مختلف استفاده می شود.
PANTHER	/http://pantherdb.org	عملکردش بر اساس کتابخانه ای از مدل های پنهان مارکوف به دست آمده از ترازهای توالی چندگانه خانواده های پروتئینی مختلف (HMM) است.
POLYPHEN۲	http://genetics.bwh./harvard.edu/pph	شامل مجموعه‌ای از برنامه‌های یادگیری ماشین برای پیش‌بینی اینکه چگونه جهش اسید آمینه تک‌محلی بر پایداری پروتئین تأثیر می‌گذارد میباشد.
I-MUTANT	http://folding.uib.es/i-mutant/i-mutant۲.۰.html	پیش‌بینی می‌کند که آیا جهش SNPs ساختار پروتئین را با محاسبه تغییر انرژی آزاد و از طریق پیش‌بینی‌های جفت با ابزار FOLD-X مبتنی بر انرژی، منجر به تثبیت یا بی‌ثباتی می شود.
MUPRO	https://mupro.pro-/teomics.ics.uci.edu	
mCSM-PPI2	http://biosig.unimelb.edu.au/./mcsm_ppi۲	یک وب سرور است که یک برای پیش بینی اثرات جهش های نادرست در میل پروتئین-پروتئین عمل می کند. و از یک رویکرد مبتنی بر نمودار بهینه‌سازی شده برای ارزیابی بهتر مکانیسم مولکولی جهش، با مدل‌سازی اثرات تغییرات بر روی شبکه تعامل غیرکووالانسی بین باقی‌مانده با استفاده از هسته‌های گراف، اطلاعات تکاملی، معیارهای شبکه پیچیده و اصطلاحات پرانرژی استفاده می‌کند.
PROJECT HOPE	http://www.cmbi.)(/ru.nl/hope	تجزیه و تحلیل اثرات ساختاری جهش مورد نظر توسط وب سایت Project HOPE را انجام میدهد. پروژه HOPE با همکاری سرورهای پیش بینی UniProt و DAS، پروتئین جهش یافته را در یک ساختار سه بعدی قابل مشاهده نشان می دهد .
MUTATION۳D	http://mutation۳d./org	یک ابزار پیش‌بینی و تجسم عملکردی جهت مطالعه آرایش فضایی جایگزین‌های اسید آمینه بر روی مدل‌ها و ساختارهای پروتئینی است. و برای شناسایی خوشه های جایگزین اسیدهای آمینه ناشی از جهش های سرطان سوماتیک در بسیاری از بیماران به منظور شناسایی نقاط حساس عملکردی استفاده می شود.

یافته ها

نتایج بررسی شبکه برهمکنشی ژن سیس اکونیتات دکربوکسیلاز برهمکنشهای مختلف پروتیین ACOD1 بیانگر داشتن نقش برخی از امینواسیدهای این پروتیین بعنوان نقاط داغ عملکردی در برقراری ارتباط با دیگر پروتیینهای مسیرهای مختلف متابولیکی و سیگنالینگ درون سلولی میباشد. بدین خاطر به دلیل اهمیت بالای این نقاط داغ عملکردی در ساختار پروتیین ACOD1 مطالعه و شناسایی جهشهای خطرناک در این نقاط در شکل گیری بیماریهای مختلف بسیار ضروری میباشد. در شبکه برهمکنشی زیر

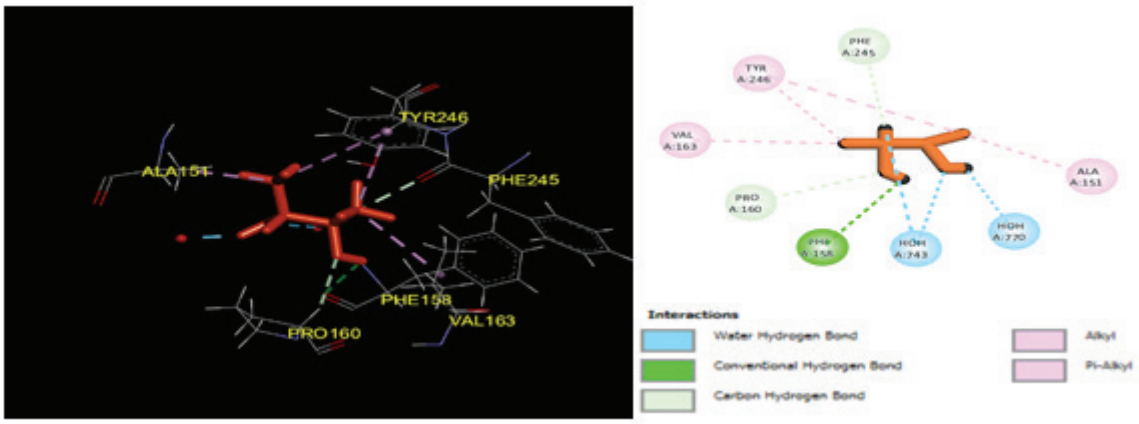
[Downloaded from ijca.ir on 2026-11-16]

تعـدادی از پروتییـن هـای مرتبـط بـا پروتییـن ACOD1 مشـخص شـده اسـت (تصویـر۱).



تصویر۱: نمایش شبکه برهمکنش ژن IRG1 (ACOD1) با دیگر پروتیینها توسط STRING

نتایـج پیـدا کـردن جایـگاه فعـال انزیـم سـیس اکونیتـات دکربوکسـیلاز و تعییـن امینواسـیدهای جایـگاه فعـال بـا کمـک نـرم افـزار دیسـکاوری اسـتودیو جایـگاه فعـال انزیـم ACOD1 مشـخص شـد و امینواسـیدهای درگیـر در ان تعییـن شـدند کـه در بیـن انهـا یکـی از امینواسـیدهای مهـم جایـگاه فعـال بنـام ALA151 جـزء نقـاط داغ فعـال انزیـم نیـز بـه شـمار مـی ایـد ایـن امینواسـید کـه هـم در جایـگاه فعـال و هم یکـی از نقـاط داغ عملکـردی انزیـم بشـمار مـی ایـد در بخـش سـاختاری و درونی و در یکـی از بخشـهای COIL قـرار دارد کـه جهـش در ان توسـط ابزاهـای مختلـف بیوانفورماتیکـی پیـش بینـی شـد و مشـخص گردیـد کـه جهـش در ایـن جایـگاه خطرنـاک و باعـث کاهـش پایـداری انزیـم مـی شـود (تصویـر۲).



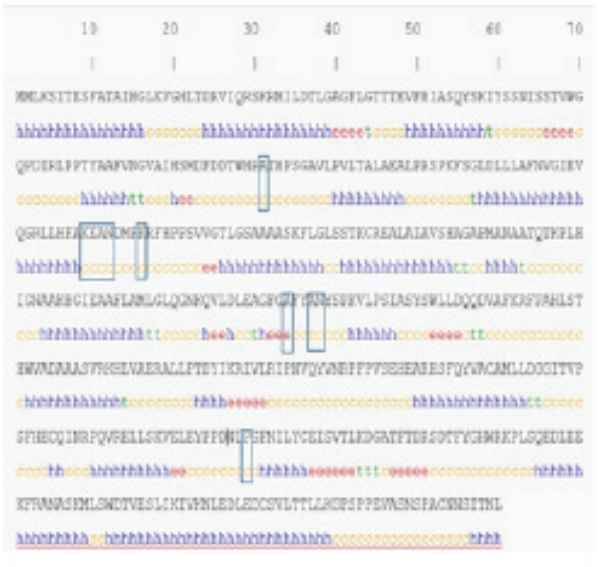
تصویر۲: ساختار دوبعدی و سه بعدی جایگاه فعال انزیم و نمایش امینواسیدهای و پیوندهای درگیر در جایگاه فعال انزیم ACOD1

نتایـج تهیـه سـاختار دوم انزیـم و تعییـن دسـترس پذیـری حـلال امینواسـیدهای ان و جایـگاه سـاختاری انهـا بـا کمـک سـرورهای Netsurfp-2.0 و SOPMA سـاختار دوم توالی انزیم ACOD1 از لحـاظ سـطح دسترسـی و نـوع حالـت سـاختار دوم مـورد انالیـز قـرار گرفـت کـه بـر ایـن اسـاس اکثریـت امینواسـیدهای نقـاط داغ عملکـردی بجـز امینواسـید ALA244 کـه در بخش helixe واقـع بـود بقیـه در بخشـهای coil از سـاختار دوم قـرار داشـتند کـه ایـن بیانگـر اهمیـت ایـن نـوع از حالتهـای سـاختارهای دوم در فعالیـت و عملکـرد ایـن انزیـم را مـی رسـاند و اینکـه چـون اکثریـت نقـاط داغ در بخشـهای سـطحی انزیـم واقـع بودنـد بدیـن خاطـر سـطح دسترسـی بـه حـلال مناسـبی داشـتند بجـز ALA101, ALA244, ALA151 کـه چـون در موقعیـت

[Downloaded from ijca.ir on 2026-11-16]

درونـی سـاختار انزیـم واقـع بودنـد بنابرایـن سـطح دسترسـی پائیـن تـری نسـبت بـه بقیـه داشـتند (تصویـر۳).

Hotspot residue	Relative surface accessibility (RSA)	secondary structure(3S)	Position HOTfunctional residue
ALA101	22%	COIL	buried & structural residue
LYZ149	44%	COIL	exposed residue
GLU150	48%	COIL	exposed & functional residue
ALA151	37%	COIL	buried & structural residue
ASN152	59%	COIL	exposed residue
LYZ166	46%	COIL	exposed residue
ALA244	26%	HELIX	buried residue
ALA247	33%	COIL	exposed residue
ASN248	78%	COIL	exposed residue
PRO379	51%	COIL	exposed residue



نتایـج تهیـه سـاختار انزیـم و تعییـن سـطحی یـا درونـی و عملکـردی یـا سـاختاری بـودن امینواسـیدهای ان نتایـج حاصل از سـرور consurf نشـان داد کـه بیشـترین نقـاط داغ عملکـردی در سـطح خارجـی انزیـم ACOD1 بودنـد کـه برخـی از انهـا دارای نقـش سـاختاری (ALA151, ALA101) و برخـی دارای نقـش فعـال عملکـردی (GLU150) بودنـد کـه امینواسـید ALA151 یکـی از امینواسـیدهای جایـگاه فعـال انزیـم ACOD1 نیز بشـمار مـی ایـد و در بیـن امینواسـیدهای موجـود در جایـگاه داغ فعـال انزیـم فقـط امینواسـیدهای الانیـن در بخـش درونـی انزیـم بودنـد ولـی بقیـه در بخـش سـطحی ان قـرار داشـتند (تصویـر۴).



تصویر۴: نمایش ساختار انزیم ACOD۱ و تعیین سطحی یا درونی و عملکردی یا ساختاری بودن امینواسیدهای ان

[Downloaded from ijca.ir on 2026-11-16]

نتایج تهیه نقاط داغ عملکردی انزیم

نتایج حاصل از سرور HOTSPOT بیانگر این بود که همگی نقاط داغ عملکردی در داخل تونلهای انزیم قرار داشتند و همگی خاصیت جهش پذیری ذاشتند اما بجز GLU150 , ALA247, PRO379 , ASN248 بقیه در درون پاکت کاتالیکی انزیم قرار داشتند (جدول۲).

جدول۲: نقاط داغ عملکردی انزیم ACOD1

POSITION RESIDUE	MUTABLE	IN TUNNEL	HOTSPOT	IN CATALYTIC POCKET
ALA101	√	√	√	√
LYS149	√	√	√	√
GLU150	√	√	√	×
ALA151	√	√	√	√
ASN152	√	√	√	√
LYS156	√	√	√	√
ALA244	√	√	√	√
ALA247	√	√	√	×
ASN248	√	√	√	×
PRO379	√	√	√	×

نتایج بررسی شبیه سازی اثرات تمام حالات جهش در نقاط داغ انزیم توسط ابزارهای مختلف بیوانفورماتیکی

پس از بدست اوردن نقاط داغ عملکردی انزیم ACOD1 با کمک هشت نرم افزار انالیز کننده اثر جهش در عملکرد انزیم به انالیز اثر نوزده حالت جهش مختلف در هر نقطه داغ عملکردی انزیم ACOD1 پرداخته شد و از بین ۱۹۰ حالت مختلف جهش در ده نقطه داغ عملکردی انزیم حدود ۲۹ حالت از انها که بیشترین امتیاز را از لحاظ اثر گذار بودن توسط هشت سرور مختلف را داشتند و بعنوان جهشهای خطرناک در ۱۰ نقطه داغ عملکردی انزیم ACOD1 انتخاب شدند (جدول۳).

جدول۳: نتایج بررسی شبیه سازی اثرات تمام حالات جهش در نقاط داغ انزیم توسط ابزارهای مختلف بیوانفورماتیکی

PREDICTION OF SNPs PATHOGENICITY									
POSITION RESIDUE MUTATION	PANTHER	PhD-SNP	SIFT	SNAP2	Meta-SNP	PROVEN	Poly-Phen.2	SN-Ps&GO	TOTAL SCORE
A247C	1	1	1	1	1	0	0	0	5
A247F	1	1	1	1	1	0	0	0	5
A247W	1	1	1	1	1	1	1	0	7
A151W	1	1	1	1	1	1	1	0	7
A101C	1	1	0	1	1	1	1	1	7
A101D	1	1	0	1	1	1	1	1	7
A101H	1	1	0	1	1	1	1	0	6
A101W	1	1	0	1	1	1	1	1	7
A247Y	0	1	1	1	1	0	0	0	4
E150W	1	0	1	1	1	1	1	0	5
E150Y	1	0	1	1	1	1	1	0	5
A151C	1	0	1	1	1	1	1	0	5
A151D	1	1	0	1	1	1	1	1	7
A151K	1	1	0	1	1	1	1	0	6
K156P	1	1	0	1	1	1	1	1	7
A244D	1	1	0	1	1	1	1	1	7
A244E	1	1	0	1	1	1	1	1	7

[Downloaded from ijca.ir on 2026-11-16]

A244F	1	1	0	1	1	1	1	1	7
A244K	1	1	0	1	1	1	1	1	7
A244H	1	1	0	1	1	1	1	1	7
A244L	1	1	0	1	1	1	1	1	7
A244N	1	1	0	1	1	1	1	1	7
A244P	1	1	0	1	1	1	1	1	7
N248C	0	1	1	1	1	1	1	0	6
N248F	1	0	1	1	1	1	1	0	6
N248W	1	0	1	1	1	1	1	0	6
N248Y	1	0	1	1	1	0	1	0	5
P379W	1	0	1	1	1	1	1	0	6
A244W	0	1	1	1	1	1	1	0	6

نتایج تعیین پایداری انزیم پس از اعمال جهشها در نقاط داغ انزیم

.نتایج حاصل از انالیز میزان اثر جهش در نقاط داغ عملکردی انزیم ACOD1 توسط دو سرور مختلف نشان داد که در بیست و نه حالت انتخاب شده جهش با امتیاز بالا از هشت سرور مختلف در ۲۵ مورد از انها هر دو سرور تعیین میزان اثر جهش بر پایداری انزیم ACOD1 نشان دادند که این جهشها باعث کاهش پایداری انزیم شدند و در یک مورد (ALA151) هر دو سرور نشان دادند جهش مذکور باعث افزایش پایداری انزیم ACOD1 می شود و در دو حالت دیگر (A244L,N248C) سرور I-MUTANT کاهش و MUPRO افزایش و در یک حالت (E150Y) سرور I-MUTANT افزایش و MUPRO کاهش پایداری در انزیم را نشان دادند (جدول۴).

جدول٤: تعیین پایداری انزیم پس از اعمال جهشها در نقاط داغ انزیم

POSITION RESIDUE MUTATION	I-MUTANT.2	MUPRO
A247C	Decrease	Increase
A247F	Decrease	Decrease
A247W	Decrease	Decrease
A151W	Decrease	Decrease
A101C	Decrease	Decrease
A101D	Decrease	Decrease
A101H	Decrease	Decrease
A101W	Decrease	Decrease
A247Y	Decrease	Decrease
E150W	Decrease	Decrease
E150Y	Increase	Decrease
A151C	Increase	Increase
A151D	Decrease	Decrease
A151K	Decrease	Decrease
K156P	Decrease	Decrease
A244D	Decrease	Decrease
A244E	Decrease	Decrease
A244F	Decrease	Decrease
A244K	Decrease	Decrease
A244H	Decrease	Decrease
A244L	Decrease	Increase
A244N	Decrease	Decrease

[Downloaded from ijca.ir on 2026-11-16]

A244P	Decrease	Decrease
N248C	Decrease	Increase
N248F	Decrease	Decrease
N248W	Decrease	Decrease
N248Y	Decrease	Increase
P379W	Decrease	Decrease
A244W	Decrease	Decrease

نتایج بررسی اثر جهش بر برهمکنش های پروتئینی

نتایج حاصل از سرور Mcsm_ppi2 تعیین کرد که از بین ۲۹ جهش اثرگذار در نقاط داغ عملکردی انزیم ACOD1 تعداد ۹ عدد از انها باعث کاهش عملکردی برهمکنش پروتئین ACOD1 با دیگر پروتیین ها و ۲۰ عدد دیگر از انها باعث افزایش برهمکنش پروتئین ACOD1 با دیگر پروتئین ها می شود (جدول۵).

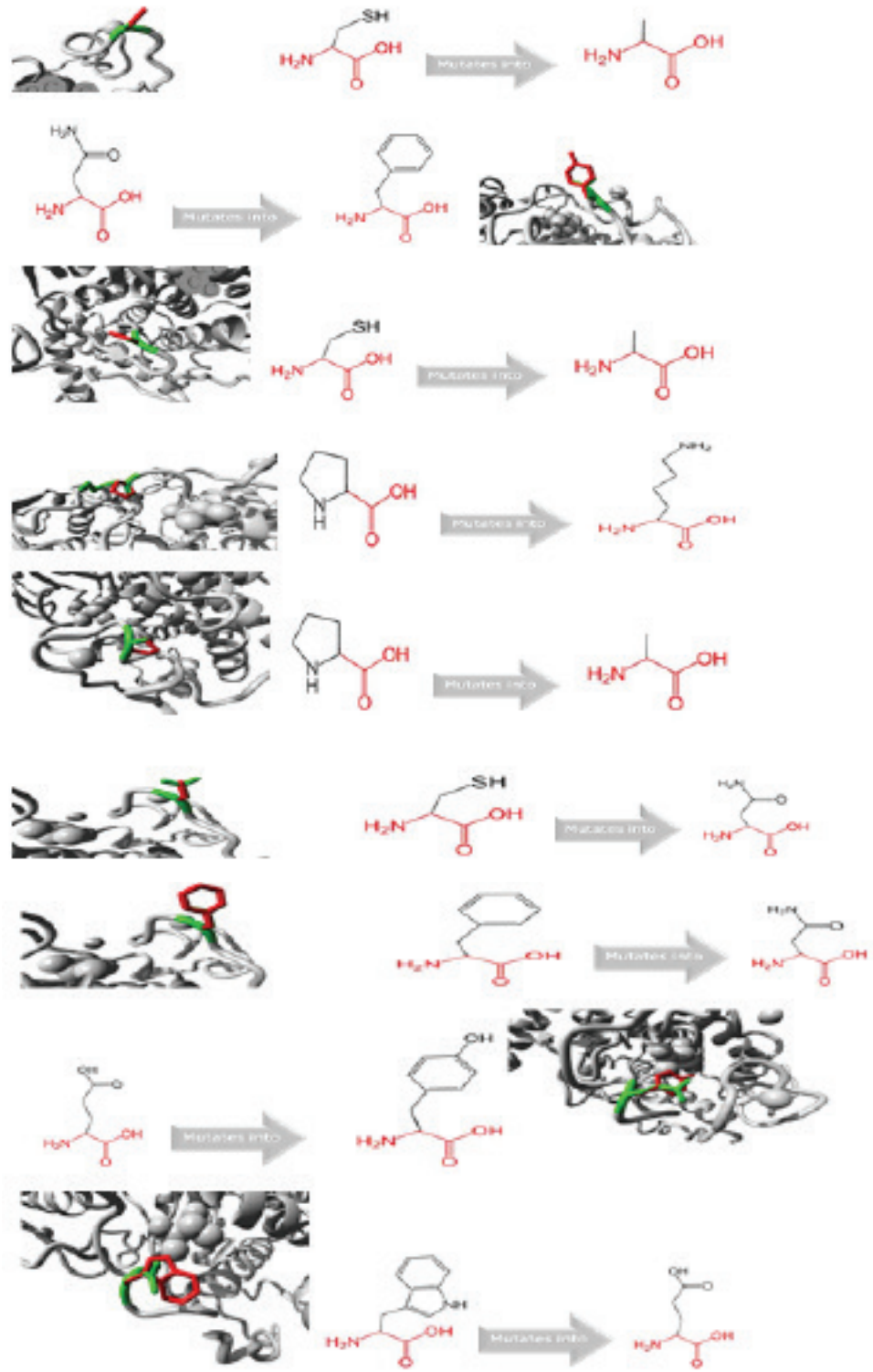
جدول ۵: بررسی اثر جهش بر برهمکنش های پروتئینی انزیم ACOD1

chain	wild-type	res-number	mutant	distance-to-interface	mcsm-ppi2-prediction	affinity
A	ALA	101	TRP	14.825	1.24	Increasing
A	ALA	247	CYS	7.488	-0.121	Decreasing
A	ALA	244	HIS	3.626	0.377	Increasing
A	ASN	248	TYR	9.091	-0.017	Decreasing
A	ALA	247	PHE	7.488	0.161	Increasing
A	ALA	244	LEU	3.626	0.323	Increasing
A	ALA	244	GLU	3.626	0.499	Increasing
A	ASN	248	TRP	9.091	0.032	Increasing
A	ALA	244	ASN	3.626	0.309	Increasing
A	ALA	151	TRP	14.935	0.913	Increasing
A	ALA	101	CYS	14.825	-0.096	Decreasing
A	ALA	244	TRP	3.626	0.592	Increasing
A	ALA	151	LYS	14.935	0.171	Increasing
A	ALA	101	HIS	14.825	0.795	Increasing
A	ALA	151	ASP	14.935	0.423	Increasing
A	LYS	156	PRO	3.635	-1.593	Decreasing
A	ALA	244	PRO	3.626	-0.202	Decreasing
A	PRO	379	TRP	14.315	0.279	Increasing
A	ALA	244	PHE	3.626	0.414	Increasing
A	ALA	247	TRP	7.488	0.448	Increasing
A	ALA	151	CYS	14.935	0.054	Increasing
A	ALA	101	ASP	14.825	0.265	Increasing
A	ASN	248	CYS	9.091	-0.248	Decreasing
A	ALA	247	TYR	7.488	0.083	Increasing
A	ALA	244	LYS	3.626	0.337	Increasing
A	ASN	248	PHE	9.091	-0.027	Decreasing
A	GLU	150	TYR	10.35	-0.132	Decreasing
A	GLU	150	TRP	10.35	-0.067	Decreasing
A	ALA	244	ASP	3.626	0.513	Increasing

[Downloaded from ijca.ir on 2026-11-16]

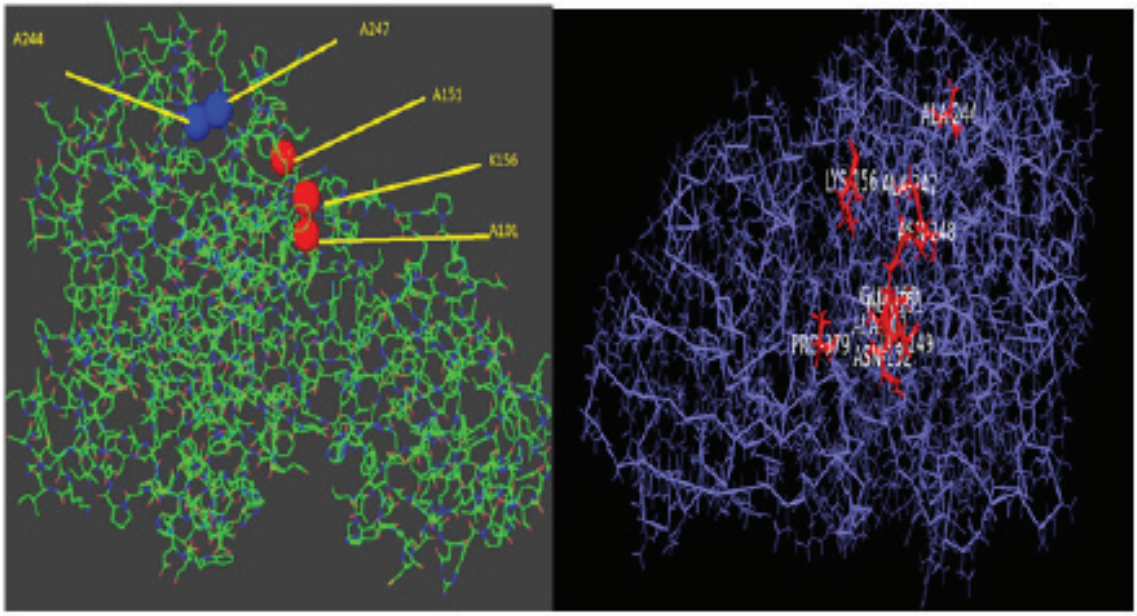
نتایـج تصویـر سـازی جایـگاه جهـش هـای برتـر در نقـاط داغ انزیـم

نتایـج حاصـل از سـرور HOPE (http://www.cmbi.ru.nl/hope) کـه نـوع جهـش و جایـگاه انـرا در سـاختار انـزی بـه تصویر کشـانده اسـت.همچنین توسـط سـرور MUTATION3D نیـز نقـاط داغ عملکـردی دچـار جهـش شـده را در سـه خوشـه مجـزا دسـته بنـدی و مصورسـازی کـرد (تصویـر۵).



A

[Downloaded from ijca.ir on 2026-11-16]



تصویر ۵::Aتعیین جایگاه اثر ۹ جهش پرخطر موجود در نقاط داغ عملکردی انزیم ACOD1. B : تعیین جایگاه خوشه های اصلی جهشهای بدست امده در نقاط داغ عملکردی انزیم ACOD1..C :مصور سازی جایگاه برخی جهش های پرخطر در نقاط داغ عملکردی انزیم

بحث

در دهه اخیر با کمک روشهای نوین بیوانفورماتیکی به بررسی چگونگی نحوه برهمکنش های مختلف پروتئین ها با همدیگر پرداخته می شوند تا از این طریق به نقاط داغ عملکردی و رزیدوهای درگیر در برهمکنش با انها دست یابند. تا با بررسی و پیش بینی حالات مختلف جهش در انها و ارزیابی تغییرات ناشی ازاین جهشها در عملکرد بسیاری از مسیرهای سیگنالینگ مرتبط با واکنشهای مهم و کلیدی بیوشیمیایی و متابولیکی بدن انسان، بتوانند علت بسیاری از اختلالات و بیماریهای مرتبط با این سری تغییرات را پیشگویی کنند. بدین خاطرشناسایی نقاط داغ فعال برهمکنش های پروتئین/پروتئین و پیش گویی انواع مختلف جهشهای موثر و بررسی اثار زیان بار ناشی از انها با کمک نرم افزارهای بیوانفورماتیکی میتواند در ارائه راهکارهای درمانی سریعتر و جدید به محققین کمک کند تا عملکرد دقیق تری در ارائه روش های درمانی هدفمندتر و موثرتری ارئه دهند. معمولا SNPهای ایجاد کننده بیماریها، اغلب در مناطق حفاظت شده تکاملی ایجاد می شوند بدین خاطر نقش مهمی در سطوح ساختاری و عملکردی پروتئینها دارند (۳۲،۳۳). در مطالعه حاضر نتایج کار مطالعاتی و تحلیلی در مجموع منجر به شناسایی ۱۰ نقطه داغ عملکردی در ساختار انزیم ACOD1 شد که تا کنون از واریانتهای مختلف از این نقاط پیش بینی شده سه نقطه (A101,A151,A152) از انها بعنوان موثر در بیماریزایی در بیماریهای مختلف طی مطالعات بالینی گزارش شده است که این بیانگر تشخیص درست نتایج این مطالعه و اهمیت عملکردی این نقاط داغ عملکردی در پاتوژنز بیماری هایی مانند سرطان می باشد (۳۴). جهش های خاموش ممکن است توالی های درگیر در پیوندها را تغییر دهند و منجر به تولید رونوشتهای غیر طبیعی شوند. خطر نادیده گرفتن چنین جهش هایی در پایداری پروتئین ها برای فعالیت، عملکرد و تنظیم زیستی مولکول های آن ها بسیار مهم است زیرا هر گونه تا شدن نادرست ویا کاهش پایداری پیامدهای مضر و خطرناکی را بدنبال دارد (۳۵،۳۶). بدین خاطر در این کار با استفاده از هشت ابزار بیوانفورماتیک مکمل مختلف با الگوریتمهای مختلف برای بررسی جهش در تمام حالات جهشی ممکن ۱۰ نقطه داغ عملکردی پیش گویی شده (حدود ۱۹۰ حالت) انجام شد که بیانگر بررسی وسعت ابعاد مسئله از جهات گوناگون با ابزارهای مختلف بیوانفورماتیکی با متدهای انالیزی متفاوت میباشد (تصویر ۲). از بین ۱۹۰ عدد SNP ارزیابی شده به لحاظ پیامدهای ساختاری و پایداری در انزیم مورد مطالعه حدود ۲۹ عدد SNP انتخاب شد که بر اساس نتایج این هشت ابزار محاسباتی نسبت به بقیه از بین این ۱۹۰ جهش خطرناکتر بودنشان تایید شد. سپس از انها جهت بررسی اثرشان بر پایداری ساختاری و عملکردی پروتیین توسط ابزار I-Mutant 3.0 و MUPro

[Downloaded from ijca.ir on 2026-11-16]

استفاده شد که نتایج تجزیه و تحلیلهای حاصل ازین دو ابزار نشان داد که در ۲۵ عدد SNP ها پایداری پروتئین را توسط هر دو ابزار کاهش یافت و در یک مورد توسط هر دو ابزار افزایش پایداری مشاهده شد و در سه حالت دیگر یکی از ابزارها افزایش و دیگری کاهش را نشان دادند (جدول۴) بطور کلی در مطالعات مختلف مشخص شده است که موارد کاهش دهنده پایداری می‌توانند فعل و انفعالات اسید آمینه را بی‌ثبات کنند و تا حدی باعث انحراف عملکردی پروتئین شوند. بدین خاطر تحقیقات بیشتری را در مورد nsSNP هایی که منجر به بی ثباتی پروتئین می شوند و انجام مطالعه ای در مورد دینامیک مولکولی به منظور بررسی تأثیر جهش ها بر پایداری ساختار پروتئین را توصیه می کنیم (۳۸،۳۷) .nsSNP های پرخطرتر از بقیه که توسط هشت ابزار بیوانفورماتیکی بیشترین امتیاز را اوردند A248 W,A151W,A101C,A101D,A101H,A247Y,A151D,K1 56P,A244D,A244E,A244F,A244K,A244H,A244L,A2 44,A244P به‌عنوان مکان‌های مهم اتصال پروتیین مورد بررسی با دیگر پروتیینها پیش‌بینی شده‌اند و همگی به عنوان نواحی بسیار محافظت شده توسط سرور ConSurf مورد تایید قرار گرفتند (۳۹). علاوه بر این، تجزیه و تحلیلها مشخص کردند که هم جهش‌های روی سطوح پروتیین و هم جهش‌هایی که به طور کامل یا جزئی در ساختار پروتیین مدفون شده‌اند هر دو آسیب‌رسان هستند (۴۰). بنابراین این نوع جهشها ممکن است باعث از بین رفتن فعل و انفعالات آبگریز در درون و نیز اختلال در برقراری برهمکنشها با دیگر فاکتورها در سطوح بیرونی پروتئین شوند پس نیاز است مورد بررسی بیشتری قرار گیرند. طبق نتایج ConSurf، و SOPMA همه nsSNP در موقعیت‌های بسیار حفاظت‌شده قرار دارند و ۱۰۰٪ درصد مکان‌های جهشها در مارپیچ‌های آلفا و coil ها (تصویرهای ۵-۷) قرار دارند و در چرخشهای β وجود ندارند که همگی اینها میتوانند با تغییر ساختار پروتئین بر عملکرد پروتئین ACOD1 تأثیر بگذارند (۴۱). از طرف دیگر پروتیین ACOD1 بخاطر اینکه نقش موثری در کاهش فرایند بسیاری از بیماریها دارد و این کار بخاطر برهمکنش هایش با دیگر پروتئینها انجام میدهد بدین خاطر کاهش این برهمکنشها ممکن است در پیشرفت التهاب نقش داشته باشد پس هر گونه جهشی که از جهشهای بدست امده منجر به کاهش برهمکنشهای ACOD1 شود میتواند جهشی مضر در بیماریهای مرتبط با التهابات باشد که در این مطالعه با کمک سرور _Mcsm ppi2 تمام ۲۹ جهش بدست امده را مورد بررسی قرار دادیم که در بین انها ۹ جهش (A247C,A248T,A101C,L156P, A244P,N248C,N248F,E150Y,E150W) علاوه بر کاهش پایداری پروتئین در کاهش برهمکنشهای موثر ACOD1 نیز نقش داشتند بدین خاطر میتوان در مطالعات بالینی این سری جهشها را نسبت به دیگر جهشهای ارزیابی شده در ACOD1 مورد ارزیابی های ویژه ای قرارداد زیرا نسبت به بقیه اثرات کاهشی و مخربتری از انها بر عملکرد ACOD1 طی انالیزهای ابزارهای بیوانفورماتیکی مختلف بدست امده است. با این حال، هر چه عوامل بیشتری در نظر گرفته شوند، پیش‌بینی دقیق‌تر خواهد بود (۴۲). اما در نهایت این انجام مطالعات آزمایشگاهی بالینی است که برای حمایت از این یافته ها توصیه می شود. نتایج حاصل از طریق دیتا بیسهای مختلف نتایج مطالعه حاضر را که با رویکرد in silico بدست امده بود با رویکردهای بالینی مقایسه شدند که در منطقه A151,A101,A152، SNP, مضر بودند و نتیجه مطالعه حاضر با نتایج بالینی بدست امده مطابقت داشت. در حالی که بقیه SNP های مضرتری که نسبت به بقیه جهشها خطرناکتر تشخیص داده شده بودن تا کنون مطالعه بالینی مرتبطی با انها پیدا نشد که البته یک دلیل اصلی این میتواند این باشد که پروتیین مورد بررسی ترکیبی است که جدیدا محققان بر روی ان در حال انجام مطالعات مختلف هستند و هنوز دیتای کاملی از ان در دسترس نمی باشد. ولی با این حال خیلی از جهشهای پیش بینی شده در نقاط داغ عملکردی در نزدیک همان نواحی بودند که در برخی مطالعات بالینی بعنوان مکان خطرناک تشخیص داده شده بودند و این بیانگر حساسیت رزیدوهای ان نواحی از انزیم مربوطه به جهشها می باشد. اگرچه تمایز nsSNP های مضر از طریق مطالعات بالینی مطلوبتر است، اما دستیابی به آزمایش های مکرر روی همه جهشها زمان و هزینه زیادی می برد. بدین خاطر استفاده رویکردهای مختلف ارزیابی شبیه سازی کامپیوتری قبل از مطالعات بالینی درجه خاصی از قابلیت اطمینان را برای پیش بینی تهدید جهشها به ما می دهد.

نتیجه گیری

در تجزیه و تحلیل سیلیکونی از پیامدهای عملکردی و ساختاری SNP های پیش گویی شده در نقاط داغ عملکردی

[Downloaded from ijca.ir on 2026-11-16]

در ژن ACOD1 انسانی، ۹ جهش (A247C,A248T,A101 C,L156P,A244P,N248C,N248F,E150Y,E150W) بدست آمد که نسبت به دیگر جهشهای بدست آمده ممکن است در شکل گیری فرایندهای التهابی در بیماریهایی مانند انواع سرطان مختلف نقش موثرتری داشته باشند.و بطور کلی از بین ده نقطه داغ عملکردی تا کنون سه مورد از این نقاط (A101,A151,A152) در بیماریهای مختلف و طی ارزیابیهای بالینی تایید شده اند و پیش بینی ما را تایید کرده اند و اینها می توانند به عنوان نشانگرهای تشخیصی در بیماریهای وابسته به التهاب و یا به عنوان یک اهداف دارویی احتمالی استفاده شوند. این مطالعه in silico یک پلت فرم نظری برای مکانیسم مولکولی درگیر در فرایندهای التهابی در بیماریهای مختلف ناشی از جهش ژن ACOD1 را ارائه می دهد.

سپاسگزاری

نویسندگان از زحمات اساتید دانشگاه شهید چمران برای همکاری حمایتی قدردانی می کنند.

تضاد منافع

نویسندگان اعلام می کنند که هیچ تضاد منافعی در خصوص پژوهش حاضر وجود ندارد.

References

1. Tenenbaum JD. Translational bioinformatics: past, present, and future. Dev Reprod 1.Biol Feb 2016;14:31-41. https://doi.org/10.1016/j.gpb.2016.01.003
2. Gefel D, Maslovsky I, Hillel J. Application of single nucleotide polymorphisms (SNPs) for the detection of genes involved in the control of complex diseases.Harefuah May 2008;147:449-54. 476. https://doi.org/10.3389/fpubh.2017.00358
3. Chen X, Sullivan PF. Single nucleotide polymorphism genotyping: biochemistry, protocol, cost and throughput. The pharmacogenomics journal. 2003 Jan;3(2):77-96. https://doi.org/10.1038/sj.tpj.6500167
4. Thusberg J, Olatubosun A, Vihinen M. Performance of mutation pathogenicity prediction methods on missense variants. Human mutation. 2011 Apr;32(4):358-68. https://doi.org/10.1002/humu.21445
5. Hecht M, Bromberg Y, Rost B. News from the protein mutability landscape. J Mol Biol Nov 1, 2013;425:3937-48. https://doi.org/10.1016/j.jmb.2013.07.028
6. Hooftman A, Angiari S, Hester S, Corcoran SE, Runtsch MC, Ling C, Ruzek MC, Slivka PF, McGettrick AF, Banahan K, Hughes MM. The immunomodulatory metabolite itaconate modifies NLRP3 and inhibits inflammasome activation. Cell metabolism. 2020 Sep 1;32(3):468-78. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2020.07.016
7. Cordes, T., & Metallo, C. M. (2021). Exploring the evolutionary roots and physiological function of itaconate. Current Opinion in Biotechnology, 68, 144-150. https://doi.org/10.1016/j.copbio.2020.11.005
8. Li Y, Chen X, Zhang H, Xiao J, Yang C, Chen W, Wei Z, Chen X, Liu J. 4-Octyl itaconate alleviates lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice by inhibiting oxidative stress and inflammation. Drug design, development and therapy. 2020;14:5547. https://doi.org/10.2147/DDDT.S280922
9. Jamal Uddin M, Joe Y, Kim SK, et al. IRG1 induced by heme oxygenase-1/carbon monoxide inhibits LPS-mediated sepsis and pro-inflammatory cytokine production. Cell Mol Immunol 2016; 13: 170-179. https://doi.org/10.1038/cmi.2015.02
10. Chen M, Sun H, Boot M, Shao L, Chang SJ, Wang W, Lam TT, Lara-Tejero M, Rego EH, Galán JE. Itaconate is an effector of a Rab GTPase cell-autonomous host defense pathway against Salmonella. Science. 2020 Jul 24;369(6502):450-5. https://doi.org/10.1126/science.aaz1333
11. Nair S, Huynh JP, Lampropoulou V, et al. Irg1 expression in myeloid cells prevents immunopathology during M. tuberculosis infection. J Exp Med 2018; 215: 1035-1045. https://doi.org/10.1084/jem.20180118
12. Ni L, Xiao J, Zhang D, Shao Z, Huang C, Wang S, Wu Y, Tian N, Sun L, Wu A, Zhou Y. Immune-responsive gene 1/itaconate activates nuclear factor erythroid 2-related factor 2 in microglia to protect against spinal cord injury in mice. Cell death & disease. 2022 Feb 10;13(2):1-6. https://doi.org/10.1038/s41419-022-04592-4
13. Pan, J., Zhao, X., Lin, C., Xu, H., Yin, Z., Liu, T., & Zhang, S. (2014). Immune

[Downloaded from ijca.ir on 2026-11-16]

responsive gene 1, a novel oncogene, increases the growth and tumorigenicity of glioma. Oncology reports, 32(5), 1957-1966. https://doi.org/10.3892/or.2014.3474

14. McNeal, S. R., Bitterman, P., Bahr, J. M., Edassery, S. L., Abramowicz, J. S., Basu, S., & Barua, A. (2016). Association of immunosuppression with DR6 expression during the development and progression of spontaneous ovarian cancer in Laying Hen model. Journal of immunology research, 2016. https://doi.org/10.1155/2018/2590910
15. Weiss, J. M., Davies, L. C., Karwan, M., Ileva, L., Ozaki, M. K., Cheng, R. Y., ... & McVicar, D. W. (2018). Itaconic acid mediates crosstalk between macrophage metabolism and peritoneal tumors. The Journal of clinical investigation, 128(9), 3794-3805. https://doi.org/10.1172/JCI99169
16. Kopanos C, Tsiolkas V, Kouris A, Chapple CE, Aguilera MA, Meyer R, Massouras A. VarSome: the human genomic variant search engine. Bioinformatics. 2019 Jun 6;35(11):1978. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty897
17. Warde-Farley D, Donaldson SL, Comes O, Zuberi K, Badrawi R, Chao P, et al. The GeneMANIA prediction server: biological network integration for gene prioritization and predicting gene function. Nucleic Acids Res Jul 2010;38:W214-20 . https://doi.org/10.1093/nar/gkq537
18. Geourjon C, Deleage G. SOPMA: significant improvements in protein secondary structure prediction by consensus prediction from multiple alignments. Comput Appl Biosci Dec 1995;11:681-4. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/11.6.681
19. Ashkenazy H, Abadi S, Martz E, Chay O, Mayrose I, Pupko T, et al. ConSurf 2016:an improved methodology to estimate and visualize evolutionary conservation in macromolecules. Nucleic Acids Res Jul 8, 2016;44:W344-50. https://doi.org/10.1093/nar/gkw408
20. Sumbalova, L., Stourac, J., Martinek, T., Bednar, D., Damborsky, J., 2018: HotSpot Wizard 3.0: Web Server for Automated Design of Mutations and Smart Libraries based on Sequence Input Information. Nucleic Acids Research 46 (W1): W356-W362.https://doi.org/10.1093/nar/gky417 https://doi.org/10.1093/nar/gky417
21. Sim NL, Kumar P, Hu J, Henikoff S, Schneider G, Ng PC. SIFT web server: predicting effects of amino acid substitutions on proteins. Nucleic Acids Res Jul2012;40:W452-7. https://doi.org/10.1093/nar/gks539
22. Capriotti E, Altman RB. Improving the prediction of disease-related variants using protein three-dimensional structure. BMC Bioinf 2011;12(Suppl 4). S3. https://doi.org/10.1186/1471-2105-12-S4-S3
23. Choi Y, Sims GE, Murphy S, Miller JR, Chan AP. Predicting the functional effect of amino acid substitutions and indels. PloS One 2012;7:e46688. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0046688
24. Hecht M, Bromberg Y, Rost B. Better prediction of functional effects for sequence variants. BMC Genom 2015;16(Suppl 8): S1. https://doi.org/10.1186/1471-2164-16-S8-S1
25. Calabrese R, Capriotti E, Fariselli P, Martelli PL, Casadio R. Functional annotations improve the predictive score of human disease-related mutations in proteins. Hum Mutat Aug 2009;30:1237-44. https://doi.org/10.1002/humu.21047
26. Capriotti E, Calabrese R, Casadio R. Predicting the insurgence of human genetic diseases associated with single point protein mutations with support vector machines and evolutionary information. Bioinformatics Nov 15 2006;22:2729-34. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btl423
27. P. D. Thomas, A. Kejariwal, N. Guo, et al., “Applications for protein sequence-function evolution data: mRNA/protein expression analysis and coding SNP scoring tools,” Nucleic Acids Research, vol. 34, pp. W645-W650, 2006. https://doi.org/10.1016/j.ejmhg.2017.02.001
28. Pei J, Grishin NV. AL2CO: calculation of positional conservation in a protein sequence alignment. Bioinformatics. 2001;14(8):700-712. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/17.8.700
29. Ahmed Z, Zeeshan S. Applying WEKA towards machine learning with genetic algorithm and back-propagation neural networks. Journal of Data Mining in Genomics & Proteomics. 2014 Jan 1;5(2):1. https://doi.org/10.4172/2153-0602.1000157
30. Capriotti E, Fariselli P, Casadio R. I-Mutant 2.0: predicting stability changes upon mutation from the protein sequence or structure. Nucleic Acids Res Jul 1, 2005;33:W306-10.

[Downloaded from ijca.ir on 2026-11-16]

https://doi.org/10.1093/nar/gki375

31. Cheng J, Randall A, Baldi P. Prediction of protein stability changes for single-site mutations using support vector machines. Proteins Mar 1, 2006;62:1125-32. https://doi.org/10.1002/prot.20810
32. Khan IA, Mort M, Buckland PR, O'Donovan MC, Cooper DN, Chuzhanova NA. In silico discrimination of single nucleotide polymorphisms and pathological mutations in human gene promoter regions using local DNA sequence context and regularity. Silico Biol 2006;6:23-34. https://doi.org/10.1016/j.imu.2020.100447
33. Qu HQ, Lawrence SG, Guo F, Majewski J, Polychronakos C. Strand bias in complementary single-nucleotide polymorphisms of transcribed human sequences: evidence for functional effects of synonymous polymorphisms. BMC Genom Aug 172006;7:213. https://doi.org/10.1186/1471-2164-7-213
34. Chen F, Lukat P, Iqbal AA, Saile K, Kaever V, van den Heuvel J, Blankenfeldt W, Büssow K, Pessler F. Crystal structure of cis-aconitate decarboxylase reveals the impact of naturally occurring human mutations on itaconate synthesis. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2019 Oct 8;116(41):20644-54. https://doi.org/10.1073/pnas.1908770116
35. Ferrer-Costa C, Orozco M, de la Cruz X. Characterization of disease-associated single amino acid polymorphisms in terms of sequence and structure properties 1. J Mol Biol 02/01 2002;315:771-86. https://doi.org/10.1006/jmbi.2001.5255
36. Bross P, Andresen B, Corydon T, Gregersen N. Protein misfolding and degradation in genetic disease. 2011.
37. Vihinen M. Relationship of protein flexibility to thermostability. Protein Eng Des Sel 1987;1:477-80. https://doi.org/10.1093/protein/1.6.477
38. Gromiha M, Oobatake M, Kono H, Uedaira H, Sarai A. Role of structural and sequence information in the prediction of protein stability changes: comparison between buried and partially buried mutations. Protein Eng 08/01 1999;12:549-55. https://doi.org/10.1093/protein/12.7.549
39. Parker A. Genomics in early infantile epileptic encephalopathies - trials and tribulations. Developmental medicine and child neurology, vol. 58; 2015. p. 9-14. https://doi.org/10.1016/j.spen.2016.06.002
40. Xu S, Xu JP. Present status and expectation of aristaless-related homeobox (ARX) in the endocrine pancreas. Int J Dev Biol 2019;63:579-87. https://doi.org/10.1387/ijdb.190242sx
41. B. Ostrander, R. Butterfield, B. Pedersen, A. Farrell, R. Layer, A. Ward, et al.,"Whole-genome analysis for effective clinical diagnosis and gene discovery in early infantile epileptic encephalopathy," npj Genomic Medicine, vol. 3, 12/21 2018. https://doi.org/10.3390/jpm10040281
42. Hooftman A, O'Neill LA. The immunomodulatory potential of the metabolite itaconate. Trends in immunology. 2019 Aug 1;40(8):687-98. https://doi.org/10.1016/j.it.2019.05.007

[Downloaded from ijca.ir on 2026-11-16]