

**T.C.**  
**AHI EVRAN ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BUĞDAYDA KAHVERENGİ PAS HASTALIĞINDA BAZAL SAVUNMADA  
ROL ALAN ADAY PAMP'LARIN PROTEOMİKS YAKLAŞIMI İLE  
İNCELENMESİ**

**Merve ÇETİNTÜRK**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**  
**KİMYA ANABİLİM DALI**

**KIRŞEHİR 2017**

**T.C.**  
**AHI EVRAN ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BUĞDAYDA KAHVERENGİ PAS HASTALIĞINDA BAZAL SAVUNMADA  
ROL ALAN ADAY PAMP'LARIN PROTEOMİKS YAKLAŞIMI İLE  
İNCELENMESİ**

**Merve ÇETİNTÜRK**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**  
**KİMYA ANABİLİM DALI**

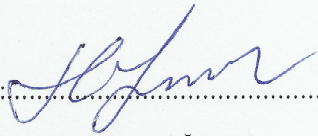
**DANIŞMAN**

Doç. Dr. Aslıhan GÜNEL

**KIRŞEHİR 2017**

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne;

Bu çalışma, jürimiz tarafından Kimya Bölümü Biyokimya Anabilim Dalında Yüksek Lisans Bitirme Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: .....(imza)

Prof. Dr. Hülya YAĞAR

Üye: .....(imza)

Doç. Dr. Aslıhan GÜNEL

Üye: .....(imza)

Yrd. Doç. Dr. Şaziye Betül SOPACI

Onay

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

...../...../2017

Prof. Dr. Levent KULA

Enstitü Müdürü

**TEZ BİLDİRİMİ**

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Merve ÇETİNTÜRK





**BUĞDAYDA KAHVERENGİ PAS HASTALIĞINDA BAZAL SAVUNMADA  
ROL ALAN ADAY PAMP'LARIN PROTEOMİKS YAKLAŞIMI İLE  
İNCELENMESİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

Merve ÇETİNTÜRK

Ahi Evran Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü

Temmuz 2017

**ÖZET**

Buğday, arpa, mısır gibi tahıllar ülkemiz ve dünya popülasyonu açısından bakıldığında önemli gıda maddeleridir. Bu tahılların yıllık üretimini çeşitli biyotik ve abiyotik stres koşulları, tarım arazilerinin amacına uygun kullanılmaması gibi nedenler etkilemektedir. Verimi etkileyen biyotik faktörler viral, bakteriyal veya fungal patojenlerdir. Hem dünyada hem de ülkemizde tahıllarda etkin olan fungal hastalıklar pas, başak yanıklığı ve külleme gibi hastalıklardır.

Bitki hastalıkları ve bu hastalıklara karşı oluşturulan immün cevapların ve mekanizmalarının aydınlatılmasında çeşitli omiks teknolojileri arasında proteomiks son yıllarda yararlanılan yaklaşımdır. Proteomiks yaklaşımla arpa, buğday gibi tahıllar ve bunların patojenle etkileşimlerini inceleyen çalışmalar literatürde yerini almıştır.

Bugüne kadar yapılan bitki proteomiks çalışmalarında ağırlıklı olarak model bitkiler olan arabidopsis, çeltik ve bu bitkilerin patojenlerle olan ilişkisi literatürde yer almıştır. Ancak model bitki olan arabidopsisin en önemli patojeni bakterilerdir. Bu bitkiye ait pas hastalıkları bilinmediğinden pas hastalıklarının bitkiyi tehdit etmesi durumunda bitkinin immün sistemi hakkında detaylı bir bilgi henüz yoktur.

Bu çalışmada buğdayda görülen kahverengi pas (*Puccinia triticina*) hastalığında patojenden salgılanan ve bitki bazal savunmasını uyaran protein yapılı aday PAMP moleküllerinin tanımlanması hedeflenmektedir.

2D-PAGE’de ayrıştırılan yüksek bolluktaki 201 protein spotu tripsin ile muamele edilerek LC-MS/MS analizi ile tanımlandı. Analiz sonucunda bitki mantar hastalıklarında PAMP’lar arasında yer alan “elongation factor” proteini tanımlanmıştır. PTTG\_06852 ve PTTG\_06073 proteinleri sırası ile mitokondri ve kloroplastı hedefleyen ve transit peptid içeren efektör adayları olarak tanımlanan 8 efektördendir. Tanımlanan proteinlerin % 35’i sitozol, % 29’u ise mitokondride bulunmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Buğday, kahverengi pas (*Puccinia triticina*), PAMPs (patojen assosiyasyon moleküler yapıları), 2D-PAGE, patojen tetiklenmiş immünite, PTI.

**EXAMINATION OF CANDIDATE PAMP'S ROLE PLAYING IN BASAL  
DEFENSE IN WHEAT BROWN RUST DISEASE WITH PROTEOMIC  
APPROACH**

(Master of Science Thesis)

Ahi Evran University, Enstitute of Science

July 2017

**ABSTRACT**

Wheat, barley and corn are crucial food for both Turkey and world population. The production of these cereal is affected by various biotic and abiotic stress conditions and miss-use of fields. Biotic factors affected the yield viral, bacterial or fungal pathogens. Vital fungal diseases for cereals are rust, headblight and mildew both in Turkey and in the world.

Proteomics among several “omics” technologies has been used recently to unveil mechanisms of plant diseases and immune responses against to these diseases. So far a number of proteomics studies are placed in literature on cereals like barley, wheat and their interaction with pathogens.

In plant proteomics researchs up to date, rice and arabidopsis are used as model plant and their response to their biotic enemies mostly Arabidopsis as a model is threatened by bacteria mainly. Since rust diseases threated Arabidopsis have not been known yet immune system behaviors against to these pathogens have not been known.

In this study, it is aimed to identify candidate molecular patterns that play role in pathogen triggered immunity by pathogen or elicitors released by pathogen in brown rust disease in wheat.

Surface proteins were resolved in 2D-PAGE and 194 high abundant protein spots were digested with tyripsin, tyriptic peptides of each spot were analysed and identified by LC-MS/MS. Totally 8 proteins were predicted as effector candidates. PTTG\_06852 and PTTG\_06073 proteins targeted to mitochondria and chloroplasts

respectively and having transit peptide effector candidates. 35% of identified proteins were localised in cytosol and 29% of them were localised in mitochondria.

Keywords: Barley, leafrust (*Puccinia triticina*), PAMPs (pathogen associated molecular patterns), 2D-PAGE, pathogen triggered immunity, PTI



Number of Pages: 170

Advisor of Thesis: Doç. Dr. Aslıhan GÜNEL

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmama başladığım ilk günden itibaren bilgi ve desteğini benden esirgemeyen, sadece eğitim olarak değil her konuda gelişmeme yardımcı olan danışman hocam Doç. Dr. Aslıhan GÜNEL'e,

Tez çalışmamın yürütülmesi için gerekli patojenin sağlanmasında ve kütle spektrometresi analizlerinin gerçekleştirilmesindeki destekleri için Dr. Christoph RAMPISTCH (Cereal Research Centre), ve Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü (TAGEM) personeline ve Prof. Dr. Talat YALÇIN'a (İzmir İleri Teknoloji Enstitüsü Kimya Bölümü), Biyoinformatik analizlerdeki desteğinden dolayı Prof. Dr. Mahinur AKKAYA'nın doktora öğrencisi Ahmet Çağlar ÖZKETEN'e,

Birlikte çalıştığım yol arkadaşlarım Biyokimya Araştırma Laboratuvarı öğrencileri olan Mahmut EMİR, M.Rifat TÜRK, Şükrü MERAL'e,

PYO-FEN.4001.12.023 kodlu 'Buğdayda Kahverengi Pas (LeafRust) Hastalığında Bazal Savunmada Rol Alan Aday PAMP'ların Proteomiks Yaklaşımı İle İncelenmesi' isimli proje kapsamındaki maddi desteğinden dolayı Ahi Evran Üniversitesi BAP Birimine,

Bu süreçte desteğini benden esirgemeyen ve her zaman yanımda olan sevgili eşim Serkan ÇETİNTÜRK'e ve kardeşim Melike GEÇERER'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Merve ÇETİNTÜRK

## İÇİNDEKİLER DİZİNİ

ONAY .....	ii
TEZ BİLDİRİMİ.....	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR .....	viii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ .....	ix
TABLolar DİZİNİ .....	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	xv
1. GİRİŞ .....	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI .....	3
2.1. Nekrotrofik, Biyotrofik ve Hemibiyotrofik Patojenler .....	3
2.2. Buğdayda Pas Hastalıkları.....	4
2.2.1. Sarı Pas ( <i>Puccinia striiformis</i> ).....	5
2.2.2. Kara Pas ( <i>Puccinia graminis tritici</i> ).....	5
2.2.2. Kahverengi Pas ( <i>Puccinia reconditae tritici</i> ).....	6
2.3. Konukçu-Patojen İlişkisi.....	9
2.3.1. Konukçu-Patojen İlişkisinde Gen İçin Gen Etkileşimi.....	9
2.3.2. Spesifik Dayanaklılık.....	10

2.3.3. Dayanıklılık Genleri .....	11
2.3.3.1. 1.Sınıf dayanıklılık genleri .....	11
2.3.3.2. 2.Sınıf dayanıklılık genleri .....	14
2.3.3.3. 3.Sınıf dayanıklılık genleri .....	14
2.4. Bitki İmmün Sistemi.....	15
2.5. Patojenle İlişkili MolekülerYapılar (PAMPs) .....	18
2.5.1. Bakteriyel PAMP'lar .....	18
2.5.1.1. Flagella kaynaklı PAMP'lar.....	18
2.5.1.2. Lipopolisakkarit yapılı PAMP'lar .....	19
2.5.1.3. Elongasyon faktör TU PAMP'ı .....	19
2.5.2. Fungal PAMP'lar .....	20
2.5.2.1. Hücre Duvarı Kaynaklı PAMP'lar .....	21
2.5.2.2. Protein Yapılı PAMP'lar .....	21
2.5.2.3. Sfingolipidler .....	22
3. MATERYAL VE METOD .....	23
3.1. Bitki Materyali ve Enfeksiyon .....	23
3.2. Üredosporların Çimlendirilmesi .....	25
3.3. Yüzey Protein Ekstraksiyonu .....	25
3.3.1. TCA/Aseton-Fenol/Metanol Yöntemi .....	26
3.3.2. Bradford Protein Tayin Yöntemi .....	27

3.4. 2D-PAGE .....	28
3.4.1. İzoelektrik Odaklama (IEF) .....	28
3.4.2. SDS-PAGE .....	30
3.5. Jel Görüntüleme .....	33
3.5.1. Kollaidal Coomassie Brilliant Blue ile Boyama .....	33
3.5.2. İmaj Analizi .....	33
3.6. <i>Tripsin</i> Enzimi İle Hidroliz .....	33
3.7. Protein Mw Değerlerinin Hesaplanması .....	35
3.7.1. İzo Elektrik Nokta (pI) Değerlerinin Hesaplanması.....	35
3.7.2. MW Standart Eğrisi ve MW Değerleri .....	36
3.8. Biyoinformatik Analizler .....	36
4. BULGULAR VE TARTIŞMA .....	38
KAYNAKLAR .....	68
EKLER .....	76
ÖZGEÇMİŞ .....	170



## TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 3.1. IEF koşulları .....	28
Tablo 3.2. Gradient jel kompozisyon .....	31
Tablo 4.1. Aday PAMP proteinleri .....	42
Tablo 4.2. Tanımlanan proteinlerin fonksiyonlarının tahmin edilebilmesi için SMART ve PFAM WEB tabanlı biyoinformatik analizleri ile gerçekleştirilen analiz sonuçları .....	59



## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Buğdayda sarı pas hastalığı .....	5
Şekil 2.2. Buğdayda kara pas hastalığı.....	6
Şekil 2.3. Ürediosporlar (a) ve teliosporlar (b) .....	7
Şekil 2.4. <i>Puccinia triticinana</i> nın yaşam döngüsü .....	8
Şekil 2.5. Buğdayda kahverengi pas hastalığı.....	9
Şekil 2.6. Konukçu-patojen ilişkisi .....	10
Şekil 2.7. Konukçu-patojenin birbirini tanınması .....	12
Şekil 2.8. Bitki dayanıklılık .....	13
Şekil 2.9. Konukçunun patojeni tanınması .....	14
Şekil 2.10. Bitki ve patojen arasındaki etkileşimi gösteren zigzag modeli .....	16
Şekil 3.1. Bitkiden toplanan pasın toz hali.....	23
Şekil 3.2. Bitkiye hastalığın enfekte edilmesi.....	24
Şekil 3.3. Agaroz jele ekilen pasların 24 saat sonunda tübül oluşumu .....	26
Şekil 3.4. Proteinlerin rehidrate edilmesi .....	30
Şekil 3.5. Gradyent jelin dökülmesi.....	32
Şekil 3.6. Amersham 2d protocol pI standart eğri grafiği .....	35
Şekil 3.7. Mw standart eğri grafiği .....	36
Şekil 4.1. Ahi Evran Üniversitesi Fen-Edebiyat Fak. Kimya Böl. Biyokimya ABD de <i>P. Triticina</i> race 1 ile enfekte Morocco yazlık varyetesi .....	38

Şekil 4.2. Kahverengi pas üredo sporlarının in vitro çimlendirilmesi sonrası ekstrakte edilen yüzey proteinlerinin 2D-PAGE profili .....	39
Şekil 4.3. Üç biyolojik replikadaki toplam 9 jelde ortak bulunan spotların jel üzerindeki lokasyonları ve numaralandırılması.....	40
Şekil 4.4. Üç Biyolojik Tekrar ve her bir tekrara ait teknik tekrarlarla birlikte jel imaj analizi .....	41
Şekil 4.5. İn vitro çimlendirilmiş Kahverengi pas üredo spor yüzey proteinlerinin yer aldığı biyolojik prosesler .....	57
Şekil 4.6. Aday PAMP proteinlerinin hücealtı lokalizasyon pasta grafiği .....	58
Şekil 4.7. Tanımlanan proteinlerin ışığında <i>P. triticina race-1</i> in aktif olan temel metabolik yolları .....	67

## SİMGELER VE KISALTMALAR

BSA.....	: Sığır serum albümin (Bovine serum albümine)
CBB.....	: Comassie Brilliant Blue R250
CC.....	: Coiledcoil
cm.....	: Santimetre
°C.....	: Derece santigrat
DTT.....	: Ditiyotreyitol
ETI.....	: Efektör tetiklenmiş immünite
g.....	: Gram
HR.....	: Hipersensitif cevap
IAA.....	: İyodo asetamid
L.....	: Litre
LC-MS/MS.....	: Sıvı Kromatografisi-Ardaşık Kütle Spektrometresi
LRR.....	: Leucine rich repeat (lözince zengin tekrar)
M.....	: Molar
MAMP.....	: Mikrop assosiye moleküler yapılar
Mg.....	: Miligram
mL.....	: Mililitre
mM.....	: Milimolar
µg.....	: Mikrogram

- $\mu$ L.....: Mikrolitre
- NBS.....: Nucleotide binding site (nükleotid bağlanma bölgesi)
- Nm.....: Nanometre
- PAMP.....: Patojen assosiye moleküler yapılar
- PMSF.....: Fenilmetilsülfonilflorür
- PRR.....: Pattern recognition receptor (pattern tanıma reseptörü)
- PTI.....: PAMP tetiklenmiş immünite
- PVPP.....: PolivinilPolipirolidon
- R.....: Bitki dayanıklılık geni
- SDS.....: Sodyum Dodesil Sülfat
- SDS-PAGE.....: Sodyum Dodesil Sülfat PoliAkrilamit Jel Elektroforezi
- TCA.....: Trikloro asetik asit
- TEMED.....: Tetra metil etilen diamin
- TFA.....: Trifloro asetik asit
- TIR.....: Toll/interlökin-1 reseptör
- TTSS.....: Tip III salgı sistemi

## 1. GİRİŞ

Türkiye, buğday üretiminde dünyada önemli bir yere sahip olup FAOSTAT 2012 verilerine göre 9. sırada yer almaktadır ([www.faostat.fao.org](http://www.faostat.fao.org)). Ancak zaman zaman üretim miktarı yanlış tarım politikaları, erozyon ve çeşitli hastalıklar nedeni ile azalmaktadır. Buğday bitkisi bakteri, virüs veya fungal patojenler ile enfekte olmaktadır. Tahıllarda görülen önemli hastalıklar fungal hastalıklardır ve en önemlileri arasında baş yanıklığı hastalığı, pas hastalıkları ve külleme sıralanabilir.

Pas hastalıkları kara pas (*Puccinia graminis tritici*), kahverengi pas (*Puccinia triticina*) ve sarı pas (*Puccinia striiformis*) olmak üzere 3 sınıfa ayrılmaktadır. Kahverengi pas hastalığı, çimlenmek için en ılıman koşulları gerektirdiğinden ülkemizde ve buğday yetiştiricisi ülkelerde en yaygın görülen pas hastalığıdır.

Şimdiye kadar bu hastalıkla mücadelede fungusit uygulamaları, kimyasal yollarla mücadele edilmekle birlikte bu yollar bir taraftan patojenin bu kimyasallara direnç geliştirmesi bir taraftan da toprak verimini önemli ölçüde düşürmek gibi zararlara neden olmaktadır.

Bu çalışmanın amacı dünyanın her yerinde kolayca yayılabilen bir mantar hastalığı olan buğday kahverengi pas hastalığında bitkinin oluşturduğu protein yapılı 'Pathogen associated molecular patterns (PAMP)' adaylarını belirlemektir. Bu bilginin ıslahçılar tarafından kullanılabilmesi durumunda ise hastalığa dayanıklı buğday hatları geliştirilebilecektir. Bu durum hâlihazırda kimyasal mücadelenin yapılması nedeni ile doğa ve insan sağlığına kimyasalların olumsuz etkilerini büyük ölçüde azaltacağı gibi ürün kayıplarının diğer önemli nedenlerinden olan kimyasalların toprağa verdiği zararın da önlenmesine olanak sağlayacaktır.

Bunlara ek olarak tüm dünyada kabul edilen en etkin ve ekonomik mücadele yöntemi, patojene dayanıklı yeni çeşitlerin geliştirilmesidir. Bu nedenle istenilen verim özelliklerine sahip dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesi amacıyla yapılan ıslah çalışmaları yıllardan beri sürdürülmektedir. Ancak buğday gibi poliploidi gösteren,

büyük ve karmaşık yapılı genoma sahip bitkilerde klasik ıslah çalışmaları ile yeni çeşit geliştirmek, uzun yıllar alan, pahalı ve yoğun emek gerektiren bir süreçtir. Bu süreçte genellikle dayanıklı genotipler, istenilen özellikleri taşıyan verimli/kaliteli ancak hassas genotiplerle melezlenmekte, F1 neslinden itibaren her yıl elde edilen yeni nesle ait yüzlerce birey verim özellikleri ve dayanıklılık ölçütlerine göre değerlendirilip seçilerek bir sonraki nesli oluşturmak üzere yetiştirilmektedir. Bu nedenle ıslah çalışmaları ile yeni bir dayanıklı çeşidin geliştirilmesi yaklaşık 13-14 yıl gibi uzun bir süreci kapsamaktadır. Oysa pas etmeni mantarlar, farklı nedenlerle ve değişik mutajenlerin etkisiyle sıklıkla mutasyona uğrayarak birkaç yıl gibi kısa bir sürede farklı virülens özelliğe sahip yeni ırklar oluşturabilmektedirler. Meydana gelen bu yeni ırklar, pas hastalığına dayanıklı olarak bilinen ya da uzun ıslah çalışmaları sonucunda geliştirilen yeni buğday genotiplerini hastalandırabilmekte hatta yeni pas epidemileri oluşturabilmektedirler.

Son yıllarda önemli gelişmeler gösteren biyoteknolojik yöntemler özellikle de moleküler teknikler, üretimi artırmak üzere tarımsal alanda yaygın biçimde kullanılmaktadır. Zirai alanda gerçekleştirilen moleküler çalışmaların önemli bir kısmı, çeşitli biyotik ve abiyotik stres etmenlerine karşı bitkinin sahip olduğu doğal dayanıklılık mekanizmalarının moleküler düzeyde aydınlatılması ve bu mekanizmalarda rol alan gen ve gen ürünlerinin belirlenmesi yönündedir. Bu çalışmaların ileriye dönük ortak hedefi; mekanizmaların aydınlatılması ile kısa sürede dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesi ve son derece verimli olan hassas genotiplerin dayanıklı hale getirilmesine olanak sağlayacak moleküler verilerin ortaya konmasıdır.

## 2.KAYNAK ARAŞTIRMASI

### 2.1. NEKROTROFİK, BİYOTROFİK VE HEMİBİYOTROFİK PATOJENLER

*Nekrotrofik patojenler*, obligat olmayan parazitler olarak adlandırılır. Birçok bitki patojeni mantar *nekrotrofik* olarak sınıflandırılır. Bunlar konukçusunun hücrelerini öldürür ve onlarla beslenir. Nekrotrofik mantarlar, hücredeki enzimleri hedef alan toksik maddeleri sentezleyerek hücrenin ölümüne yol açar ve ölü hücrenin içeriğini metabolize ederler. Bu mantarlar genellikle saprofitler ve yaşayan bir konukçu bulunmaması durumunda, sclerotia, spor ya da miseller olarak ölü bitki dokusu içerisinde yaşarlar. Fırsat bulduklarında ise, bu mantarlar parazite dönüşür ve bitkiyi öldürür ve ardından bu ölü bitki dokuları ile beslenirler. Nekrotrofiklerin ürettiği ikincil metabolitler, duyarlı konukçu hücreler için zehirlidir. Patojenlere ait toksik enzimler bitki dokularını indirgeyerek, öldürür ve bu ölü hücre bileşenleri onlar tarafından besin olarak kullanılır (Stone 2001).

*Biyotrofik patojenler*, bazen obligat parazitler olarak da adlandırılırlar. Bunlar ancak hassas konukçu üzerinde veya içinde yaşar ve ürerler. Biyotrofik patojenlerin çoğunluğu oldukça yüksek oranda özgün konukçuya gereksinim duyar. (Yani belirli bitki türlerinde etkindirler.) Bir biyotrof patojen ve konak arasındaki ilişki biyokimyasal ve yapısal olarak yüksek derecede özelleşmiş ve kompleks bir ilişkidir. Obligatlar konak hücre duvarına nüfuz ederek hücreler arası boşlukta kolonize olur ve konaktan besin teminini sağlamak ve konağın immün sistemini baskılamak üzere özelleşmiş olan hostorya (haustoria) olarak isimlendirilen membranlı yapı oluştururlar (Schulze-Lefert ve Panstruga 2003; Mendgen ve Hahn 2004). Bitki dokularını istila ederler, ancak onları öldürmezler veya aşamalı olarak yavaş yavaş öldürürler. Bu patojenler, konukçu hücrelerine gelişme dönemlerinin sonunda zarar verirler; pas ve külleme gibi hastalık patojenleri bu sınıftandır. Nekrotrofiklerden farklı olarak, biyotrofik mantarlar enfekte ettikleri hücrenin metabolizmasını, kendi gelişme ve üremelerini kolaylaştıracak şekilde değiştirirler.

*Hemibiyotrofik patojenler*, mikoparazitizmin erken döneminde konukçuya fazla zarar vermemektedirler. Ancak paratizmin ileri aşamalarında bitkiyi



öldürürler. Hemibiyotroflar besin temini konusunda hem biyotrof hem de nekrotrof yaşam stratejilerini sergilerler. Patojenin biyotrof ya da nekrotrof olarak geçirdiği süre patojene göre değişiklik sergilemektedir (Horbach vd. 2011). Patateste geç yanıklık hastalığına neden olan *Phytophthora infestans* gibi hemibiyotrofik mantarlar, bir süre biyotrofik olarak yaşamını sürdürdükten sonra aniden nekrotrofik rolüne geçer ve bitkinin ölümüne neden olurlar. Yine soya fasulyesinde antraknoz hastalığına neden olan *Colletotrichum lindemuthianum* hemibiyotrofik bir patojendir. Bu mantar, soya fasulyesinin hücre duvarı plazma sıvısı arasındaki bir bölgede yaşar ve belirli bir aşamada aniden nekrotrofik aşamaya geçer ve kolonize olduğu bütün hücreleri öldürür (<http://www.sessizbahce.org/toprakkokenlimantarhastaliklari/3/>).

## 2.2. BUĞDAYDA PAS HASTALIKLARI

Buğday ülkemizde ve Dünya’da en önemli besin kaynaklarından ve FAO verilerine göre ülkemiz dünya buğday üreticisi ülkeler arasında 9. sırada yer almaktadır (FAOSTAT 2012). Üretim miktarı; üretim yapılan toprakların erozyon, yanlış tarım politikaları ve çeşitli zararlıların neden olduğu hastalıklar dolayısı ile azalmaktadır. Ülkemizin iklim koşullarından dolayı pek çok tahıl hastalığı çeşitli şiddetlerde görülmektedir. Bu hastalıklar arasında en sık karşılaşılan ve önemli ürün kayıplarına neden olanlar külleme ve buğday başak yanıklığı hastalıklarıdır. Buğdayda yaşam koşullarının ve bitki üzerindeki semptomlarının farklılığı açısından üç çeşit pas hastalığı görülmektedir. Bunlar;

- 1) Sarı pas
- 2) Kahverengi pas
- 3) Kara pas

### 2.2.1. Sarı pas (*Puccinia striiformis*)

Hastalık, buğday tarlalarında ilkbaharda hava sıcaklığının 10-15 °C olduğu zaman görülmeye başlar. Yaprakların üst yüzeyinde makine dikişine benzer şekilde limon veya portakal renginde püstüller oluşur (Şekil 2.1). Bu püstüllerden oluşan milyonlarca yazlık spor rüzgârla çevreye dağılır.



Şekil 2.1. Buğdayda sarı pas hastalığı (<https://www.haberler.com/bugdayda-sari-pas-hastaligi-uyarisi-5978466-haberi/>)

### 2.2.2. Kara Pas (*Puccinia graminis tritici*)

Kara pas etmeni kışı hastalıklı bitki parçacıkları üzerinde teliospor formunda geçirir. İlkbaharda uygun koşullarda çimlenerek oluşturduğu sporlar ara konukçu olan berberis veya mahonia bitkilerinin yapraklarına ulaştığında çimlenerek enfekte eder. Yaprığın alt yüzeyinde meydana gelen esiosporlar rüzgârla tahıl, yaprak ve sapların üzerine taşınarak uygun koşullarda (5-18 °C sıcaklık , %100 civarında nem) çimlenerek yazlık sporlar meydana gelir (Şekil 2.2).



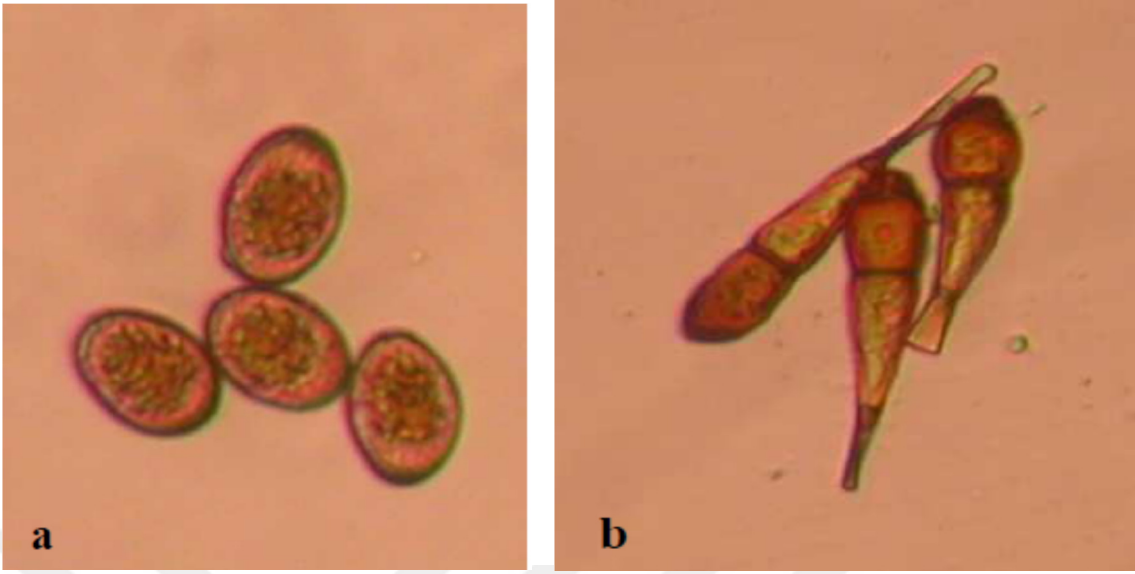
Şekil 2.2 Buğdayda kara pas hastalığı

### 2.2.3. Kahverengi Pas (*Puccinia reconditritrici*)

Yaprak ayası ve kımının üst yüzeyinde üst boğum arası ve kılçıklarda yuvarlağa yakın şekilde, kahverengi ürediospor (yazlık spor) kümelerinden oluşan püstüller halindedir. Bazen bu pasta bir esas püstül etrafında çepeçevre bir veya iki daire halinde daha küçük püstüller oluşur. Bu belirti özellikle kahverengi pasın tanımında önemlidir. İlk enfeksiyonlar rüzgâr yardımıyla uzaklardan da gelebilen ürediosporlarca meydana getirilir.

Yüksek nem ve 10-18 °C arası sıcaklıkta hastalık hızla gelişir ve her 10-14 günde yeni bir yazlık spor nesli oluşur. Bitkiler olgunlaştığında siyah renkli teliospor (kışlık spor) kümeleri oluşur. Kahverengi pas da diğerleri gibi verim ve kalite kayıplarına neden olur.

Kahverengi pasın bütün yaşam döngüsü boyunca 5 tip spor oluşmaktadır, bunlar; buğday bitkisi üzerinde gelişen ürediosporlar, telötoporlar (Şekil 2.3) ve basidiyosporlar ve alternatif konak üzerinde oluşan pycnidiosporlar ve aeciosporlardır.



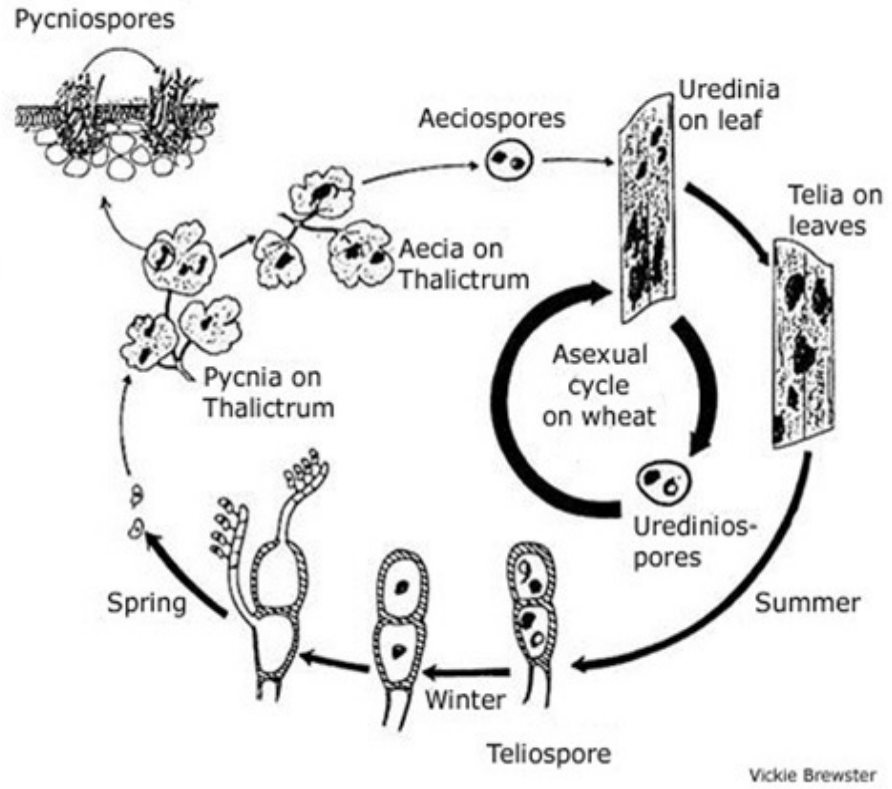
Şekil 2.3 Ürediosporlar (a) ve teliosporlar (b) ( Mert, 2010)

Yaşam döngüsü incelendiğinde ilk olarak spor yaprak üzerinde çimlenmelidir ve bunun için %100 neme ve 12-20 °C sıcaklığa ihtiyaç vardır.

1) Kışlayan telötosporlar, ilkbaharda çimlenerek basidiosporları oluştururlar. Bunlar rüzgârla konukçulara ulaşarak onları enfekte ederler.

2) Yapraklarda pycnia ve aecia evreleri oluşur. Esidilerde (aecia) oluşan esiosporlar rüzgârla dağılarak buğdayları enfekte ederler ve sonra oluşan üredosporlarla yeni enfeksiyonlara neden olurlar.

3) Spor çimlendikten sonra yaprak stomalarından girer ve enfeksiyon bütün yaprak yüzeyini kaplar (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. *Puccinia triticina* yaşam döngüsü (Vickie Brewster, Singh R.P. vd. 2002)

Enfeksiyonun ciddiyeti patojenin yayıldığı yaprak yüzeyinin genişliği ile ölçülür. Enfeksiyon şiddeti buğday çeşidi, patojenin patojenisitesine ve nem, sıcaklık gibi meteorolojik faktörlere bağlıdır ve yüzde kayıp oranı olarak hesaplanmaktadır.

Kahverengi pas hassas bitki hatlarını etkilemekte ve patojen virülensliğine bağlı olarak bütün yaprak yüzeyine yayılmaktadır, dirençli bitki de patojenle enfekte olabilir fakat dirençli organizmada patojen, hastalık gelişimini sağlayacak düzeyde ilerleyemez.



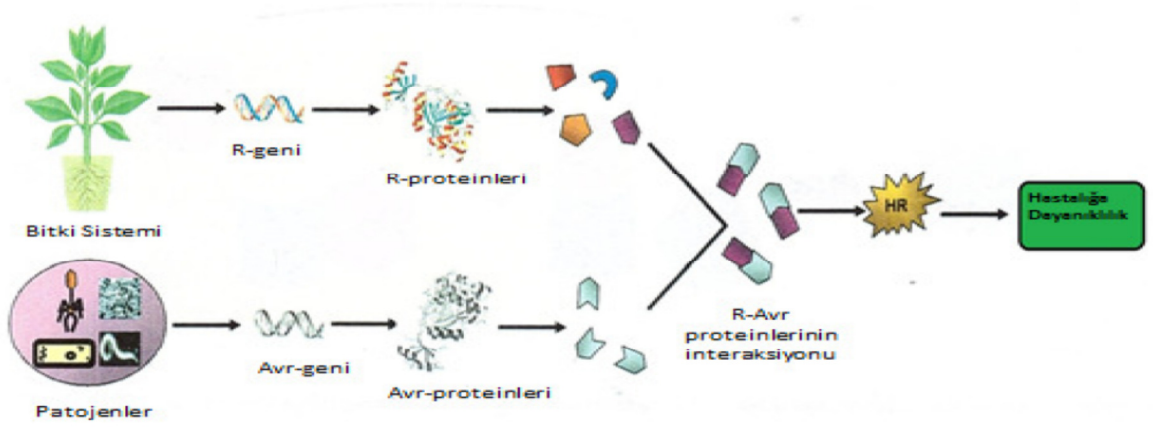
Şekil 2.5. Buğdayda kahverengi pas hastalığı (Ahi Evran Üniversitesi Biyokimya Labrotuarı, 2014)

### 2.3. KONUKÇU-PATOJEN İLİŞKİSİ

#### 2.3.1. Konukçu-Patojen İlişkisinde Gen İçin Gen Etkileşimi

Bir patojen, potansiyel bir konukçu ile karşı karşıya geldiğinde, konukçuyu başarılı bir şekilde kolonize eder ve hastalık oluşturabilirse, patojen virulent olarak ve konukçu da duyarlı olarak tanımlanır ve bu ilişkiye ‘uyumlu’ ilişki denir.

Eğer bir patojen potansiyel bir konukçuyla karşı karşıya geldiğinde, konukçunun savunma mekanizmasını hızlı bir şekilde uyarıp, gelişmesi engelleniyorsa ve hastalık gelişimi gözlenmiyorsa, patojene avirulent, konukçuya dayanıklı ve bu ilişkiye de ‘uyumsuz’ ilişki denir. Bir başka deyişle; bitki patojeninin sahip olduğu avirulent genleri elisitör proteinleri kodlar, bu elisitör proteinlere karşı bitkinin dayanıklılık genleri tarafından kodlanan reseptör proteinler varsa bitki patojenin varlığını anlayarak savunma mekanizmasını aktive eder. Bu bitkideki dayanıklılık geni ve patojenin avirulent geni arasındaki ilişkiye ‘gen için gen teorisi’ denir (Floor 1955).



Şekil 2.6. Konukçu-patojen ilişkisi (Gururani vd. 2012 )

### 2.3.2. Spesifik Dayanıklılık

Daha aktif ve daha etkili bir savunma sistemi ise, aşırı duyarlılıktır (hipersensitif reaksiyon, HR). Böyle bir dayanıklılık şekli belirli bir patojenin bazı ırklarına karşı ortaya çıkabilirken (ırka özgü dayanıklılık, dikey dayanıklılık, race-specific-resistance) patojenin tüm ırklarına karşı, (ırka özgü olmayan dayanıklılık, yatay dayanıklılık veya genel dayanıklılık, race-nonspecific-resistance) da olabilmektedir.

Genel dayanıklılık ile ırka özgü dayanıklılık arasındaki en önemli fark, genel dayanıklılığın ırka özgü dayanıklılığa oranla çok daha uzun ömürlü olmasıdır.

Bitki kendisini patojen saldırısından koruyabilmek için şu özelliklere sahip olmalıdır;

- 1) Bitki patojenin kendisini konukçu olarak tanınmasına fırsat vermemelidir.
- 2) Bitki patojenin içeri sızmasını önleyici silahlara sahip olmalıdır.
- 3) Bitki içeriye girmiş patojenlerin gelişmesini önleyebilecek donanıma sahip olmalıdır.

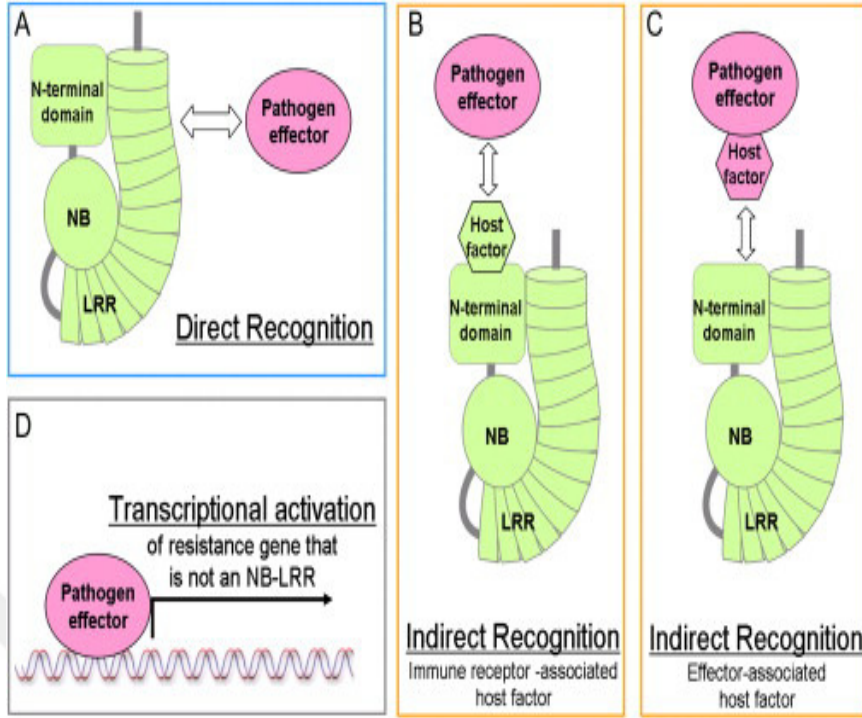
Bitki dayanıklılık (R) proteinlerinin oluşturdıkları protein yapıları araştırıldığında dayanıklılık proteinlerinin domain adı verilen özel alanlardan oluştuğu ve bu özel alanların biyokimyasal fonksiyonlarına bakılarak dayanıklılık genlerinin 3 sınıfta toplandığı görülmektedir.

### 2.3.3. Dayanıklılık Genleri

#### 2.3.3.1. 1.Sınıf dayanıklılık genleri

Nükleotidlerin bağlandığı yer (nucleotidebinding site: NBS) ve lösin aminoasidince zengin tekrarların bulunduğu (leucine rich repeats: LRR) protein motifleri içermektedir (Dangl vd. 2001). Bu NBS-LRR grubundaki dayanıklılık proteinleri farklı patojenlere karşı dayanıklılığı sağlar. Proteinlerin amino ucundaki (N-ucu) protein motifine bakılarak NBS-LRR grubu 2 alt gruba ayrılmaktadır. Birinci alt grupta N-ucunda stoplazmik sinyal domain olarak bilinen *drosophila* sineklerinin ve insan *interleukin-1* reseptör proteinlerine (TIR) benzetilen bir protein yeri bulunmaktadır ve bu yapıya da TIR-NBS-LRR tip dayanıklılık proteinleri denilmektedir (Lawrence vd. 1995). 2.alt grupta ise; NBS-LRR proteinlerinin N-ucuna sarmal şeklinde bir protein domain olarak (coiled coil: CC) yer almıştır ve bu yapıya da CC-NBS-LRR tip proteinler denir (Bent vd. 1994).

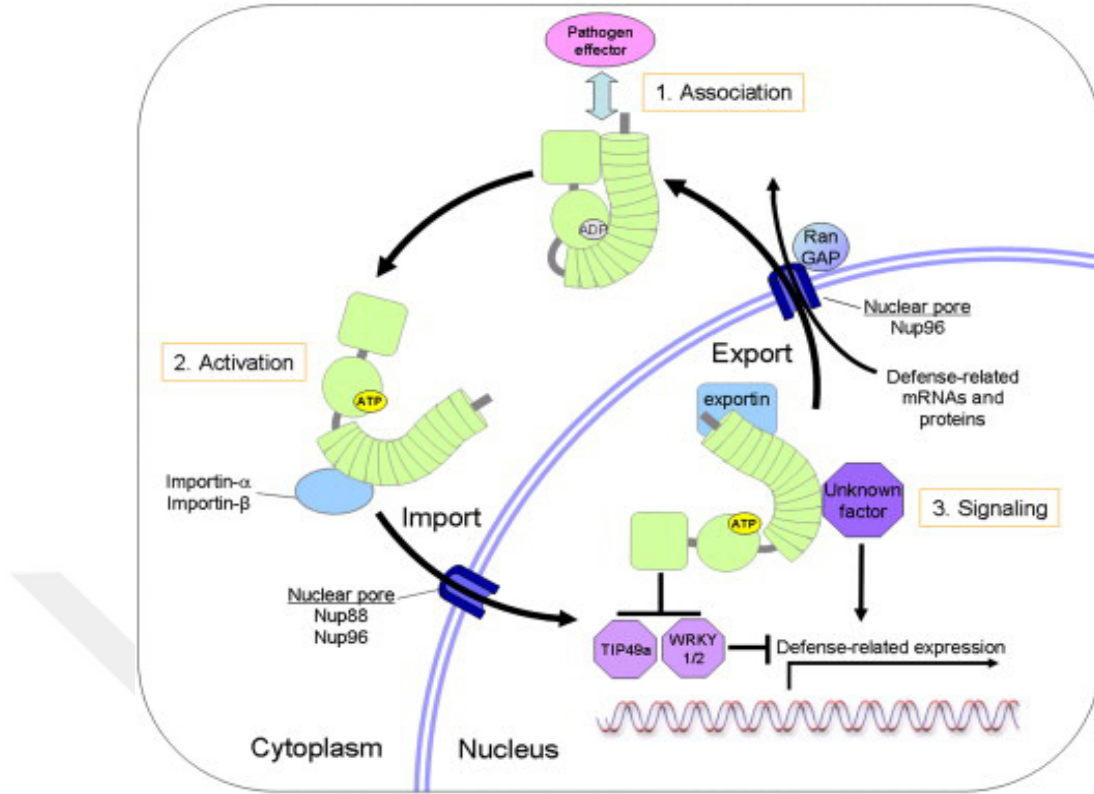




Şekil 2.7. Konukçu-patojenin birbirini tanınması (Caplan Jeffrey vd. 2008) (A) patojen efektör direkt olarak NB-LRR immün reseptörüne bağlandığında direkt tanıma gerçekleşir. (B) Alternatif olarak konukçudaki NB-LRR lar N-terminalindeki CC'ya da TIR domain faktörü tarafından indirekt olarak tanınır. (C) ya da patojen efektörü ilk konukçu faktöründeki N-terminaline bağlanır. (D) patojen transkripsiyon faktörünü taklit ederek non NB-LRR direnç proteinini indükleyerek üçüncü tip tanıma vuku bulur.

R protein sınıfı	Şekilsel domain yapısı	Öngörülen fonksiyonu	Örnek dayanıklılık proteini	Referans
NBS-LRR		Reseptör	N, L	Lawrence <i>et al.</i> , 1995, Whitman <i>et al.</i> , 1994
		Reseptör	RPM1, RPS2	Bent <i>et al.</i> , 1994, Grant <i>et al.</i> , 1995
eLRR		Reseptör	RRS1-R	Deslands <i>et al.</i> , 2002, Yamasaki <i>et al.</i> , 2005
		Reseptör	Cf9, RPP27	Jones <i>et al.</i> , 1994, Tor <i>et al.</i> , 2004
Tipik olmayan		Konukçuda hedef	Pto, PBS1	Song <i>et al.</i> , 1995, Sun <i>et al.</i> , 2004, Martin <i>et al.</i> , 1993, Swiderski and Innes, 2001
		Bilinmiyor	RPW8	Xiao <i>et al.</i> , 2001
		Bilinmiyor	Xa27	Gu <i>et al.</i> , 2005
		Döllenme	Xa13	Chu <i>et al.</i> , 2006
		Negatif regülatör	MLO	Buschges <i>et al.</i> , 1997

Şekil 2.8. Bitki dayanıklılık (Resistance: R) proteinlerinde görülen yaygın protein motif (domain) yapıları. (Özer ÇALIŞ) TIR: Tolland interleukin-1 reseptör,NBS: Nükleotidlerin bağlandığı domain (nucleotide binding site), eLRR: Hücre dışına uzanan leucine zengin tekrarlar (extracellular leucine rich repeats), CC: sarmal protein (coiledcoil) domain, W: WRKY domain, Kin: Serine-thyronine içeren kinase, TM: membran geçişini sağlayan heliks (transmembrane helix) domain.



Şekil 2.9. Konukçunun patojeni tanınması (Caplan vd. 2008 )

### 2.3.3.2. 2. Sınıf dayanıklılık genleri

Hücre yüzeyinde reseptör benzeri membran geçişini sağlayan heliks (receptor like transmembran) proteinleri ve reseptör benzeri kinaz (receptor like kinases) proteinleri içermektedir. Bu proteinlerin genel özelliği hücre dışına uzanan lösün zengin tekrarlardan (extra cellular-LRR: eLRR) oluşan protein domainlerinin bulunmasıdır (Tor vd. 2004).

### 2.3.3.3. 3. Sınıf dayanıklılık genleri

Son sınıf dayanıklılık proteinleri ise 1.ve 2. sınıf protein motiflerini ya da bir protein domaini içererek yapısal olarak ilk 2 sınıfa benzemektedir. Ancak proteinlerin yapısal bazı farklılıkları bu dayanıklılık proteinlerinin yeni protein yapısı kazanmasını sağlamaktadır. Yapısal olarak başka tipi olmayan birer örnekle

tanımlanan bu dayanıklılık proteinleri ilk 2 protein sınıfı ile kolayca mukayese edilebilir (Xiao vd. 2001).

Kinaz yapısındaki dayanıklılık genlerini saymazsak son sınıf içerisindeki farklı yapıda bulunan dayanıklılık proteinlerinin ve onları kodlayan dayanıklılık genlerinin farklı mekanizmalara sahip olduğu söylenebilir. Çünkü son sınıf içerisindeki RPW8 ve MLO genleri konukçuda ırklara spesifik olmayan geniş spektrumlu dayanıklılık oluşturmaktadır (Xiao vd. 2001).

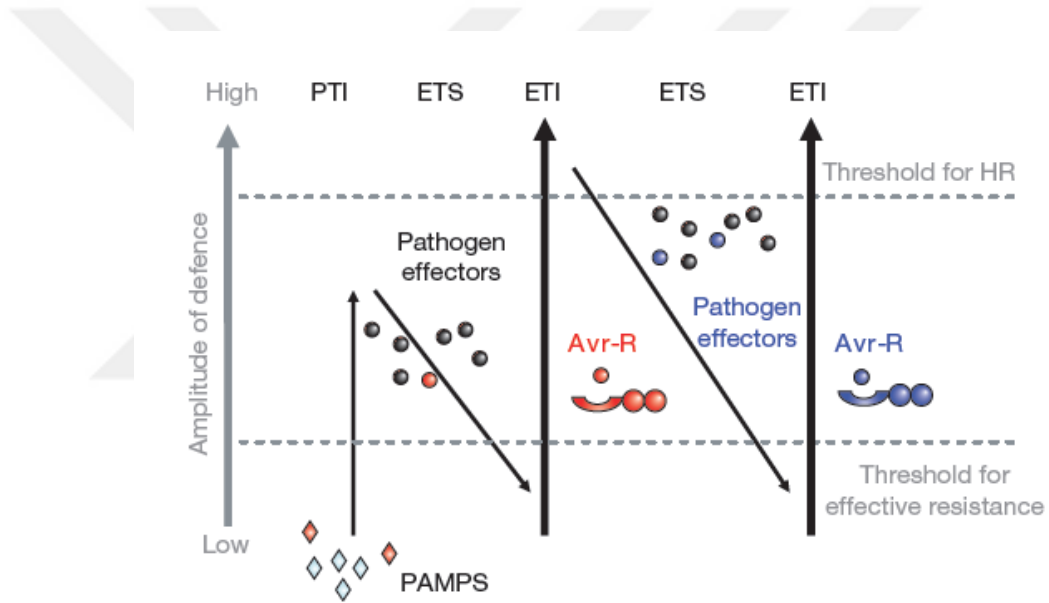
#### 2.4. BİTKİ İMMÜN SİSTEMİ

Bitkiler de tıpkı hayvanlar gibi potansiyel olarak kendinden olmayan böcek, mikrop vb.leri tespit ederek önleyen doğuştan gelen bağışıklık sistemine sahipken hayvanlar kalıtsal bağışıklığa ek olarak edinilmiş immüniteye de sahiptirler (Silipo vd. 2010; Zamioudis ve Peterse 2012). Bitkilerdeki bağışıklık sisteminin devreye girmesine neden olan patojenler tarafından salgılanan ve bitkide bulunmayan yapılar ‘patojen ile ilişkili moleküler yapılar (Pathogene associated molecular patterns-PAMPs)’ olarak adlandırılmaktadır (Aksoy vd. 2012). Patojenik bakterilerin sahip olduğu flagellin (flg22) ve lipopolisakkaritler (LPS), fungal patojenlerde kitin; bitkilerde bağışıklık sisteminin ortaya çıkmasına neden olan yapılara yani PAMPlara örnek olarak verilebilir. Patojen olmayan bakteri ve mantarlarda ise konakta bağışıklık sistemini harekete geçiren yapılara ‘mikropla ilişkili moleküler yapılar (Microbe Associated Molecular Patterns–MAMPs)’ denir (Aksoy vd. 2012; Newman vd. 2013). Bitkiler, hücre yüzeylerindeki reseptörler yardımıyla PAMPları veya MAMPları tanıyarak, patojene karşı sahip oldukları savunma sinyallerini harekete geçirirler (He vd. 2006; Zipfel 2008). PAMPları tanıyarak bitki savunma sistemini harekete geçiren bu reseptörlere, ‘PAMPları tanıyan reseptör’ yapılar (Pattern recognition receptor - PRR) denilmektedir. PAMPların eksik algılanması veya hiç algılanmaması durumunda bitkilerde hastalığa karşı hassasiyetin arttığı bildirilmiştir (Newman vd. 2013; Bent vd. 2007).

Bitkilerde bağışıklık sisteminin ilk evresi; PTI (PAMP-Triggered Immunity-PAMP-Tetiklenmiş İmmünite) tarafından PAMPların veya MAMPların hassas algılanmasıdır (Abramovitch vd. 2006; Jones vd. 2006). Mesela, plazma membranına

yerleşmiş LRRlar (leucine rich repeat- lösince zengin tekrarlar), FLS-2 olarak bilinen PRR ile bakteriyel flagellinleri algırlarlar (Zipfel 2004). Flagellin ve diğer MAMP savunucuları PTI olarak adlandırılırlar.

Başarılı patojenler, PTI yı engelleyici efektörler üretirler. Ancak bitkiler aksine; (efector triggered immunity-efektör tetiklenmiş immünite) ETI denilen ikinci evre müdafaayı düzenlemek amacıyla genellikle NBS-LRR (nucleotid binding site-nükleotidlerin bağlanma bölgesi/leucine rich repeat-lösince zengin tekrarlar) gibi reseptörler ile bazı efektörleri algırlarlar.



Şekil 2.11. Bitki ve patojen arasındaki etkileşimi gösteren zigzag modeli (Jones ve Dangl, 2006)

Jones ve Dangl (2006) tarafından ileri sürülmüş olan ve Şekil 2.6.'da gösterildiği gibi bitki bağışıklık sistemi 4 fazda incelenmektedir.

Birinci fazda patojen tarafından salgılanan ve MAMP veya PAMP olarak adlandırılan oldukça iyi korunmuş yapılar bitki tarafından tanındığı zaman bitkiler bazal savunmalarını harekete geçirirler. Bu şekilde oluşan immüniteye PTI da

denmektedir. Bakteriyel flagellinler, fungal kitin, Pep-13 ler bitki tarafından tanınan örnek MAMP molekülleridir. Bu moleküller bitkinin bunları tanımmasını sağlayan PRR olarak isimlendirilen reseptörleri tarafından algılanırlar, örneğin *flg22* flagellin molekülü membranda bulunan FLS2 olarak bilinen PRR tarafından tanınır. MAMP'ların PRR lar tarafından algılanması zayıf bir immünite sağlamakla beraber bu patojenin konakta ilerlemesini bloklar ( Jones vd. 2006; Bent vd. 2007).

İkinci fazda patojen bitkinin bazal savunmasını kırmak için bazı adaptasyonlar geçirdiğinden bazal savunma sistemi patojen ataklarına karşı çok etkin değildir. Patojen modifikasyonları çoğunlukla bitkiye spesifiktir. İkinci fazda patojenler ürettiği efektör proteinler ile MAMP-PRR etkileşimlerini inhibe ederek bitki savunma sistemini zayıflatırlar.

Üçüncü fazda ise bitkiye ait R (direnç) proteini patojene ait bir efektör proteini - ki bu avirülen (avr) proteini olarak da bilinir- tanır ve bununla etkileşime girer bu R-avr etkileşimi ilk olarak Flor vd. (1955) tarafından tanımlanmıştır. Bu etkileşim ile yüksek hassasiyet cevabı (hypersensitive response-HR) oluşabilir HR'da patojenin temas ettiği hücrelerin yanı sıra etrafını saran alanlarda da programlanmış hücre ölümleri meydana getirilerek patojenin ilerlemesi durdurulur.

Dördüncü fazda; patojenler efektör tetiklenmiş hassasiyet (effector triggered susceptibility-ETS) oluşumu ile PTI'yi yenebilirler. Bu olay patojenin bazı fonksiyonları kazanması, bitki hormonlarını veya hücre fonksiyonlarını taklit etmesi ya da bu fonksiyonları inhibe eden küçük moleküller üreterek bitki hücrelerini işgal etmesi ile gerçekleşir. Patojenin bitki hücrelerini taklit eden veya inhibe eden molekülleri salgılaması tip 3 salgılama sistemi (TTSS) denilen sistem ile gerçekleşmektedir ( Jones vd. 2006; Bent vd. 2007). Bu sistem bakteriyel patojenler tarafından çoğunlukla kullanılmaktadır, fungal patojenler için bilinen bir TTSS sistemi yoktur.

## 2.5. PATOJENLE İLİŞKİLİ MOLEKÜLER YAPILAR (PAMPs)

Bitkilerde hastalık etmenlerine karşı savunma sisteminin devreye girmesine neden olan patojenle ilgili yapılara PAMP denir. PAMPlar 2 çeşittir;

### 2.5.1. Bakteriyel PAMPlar

Günümüze kadar bitki-bakteriyel patojen ilişkisi ile alakalı pek çok araştırmalar yapılmıştır. Bu araştırmalarla bitki-patojen ilişkilerinde bitki *avr* genlerinin ürünlerinin moleküler aktivitesi tam olarak açığa kavuşturulamamıştır ancak bazı *avr* genlerinin bitkiye aktararak ürün miktarının artırılmasında ve dayanıklılık sağlanmasında etkili olmuştur (Leach ve White 1996; Ritter ve Dangl 1995).

#### 2.5.1.1. Flagella kaynaklı PAMPlar

Bakterilerdeki flagella yapıları bakterilerin hareketini sağlayan yapılardır ve hem hayvansal organizmalarda hem de bitkilerde bağışıklığı tetiklerler (Schuster ve Khan 1994). Bakteriyel flagellin yapısında 22 amino asitlik bir kısım PAMP olarak bilinmektedir ve *flg22* olarak adlandırılan PAMP molekülüdür (Naito vd. 2007; Boller ve Felix 2009 ). *flg22* Peptidi bir çok bitki türünde cevap oluşturur. Örneğin bu peptidin çeltikteki PAMP aktivitesi vardır ama zayıftır (Takai vd. 2008). Yine bakteri flagellasında bulunan *flg 15* epitopu domatestede kalıtsal immunitiyi tetiklerken arabidopsis bitkisinde herhangi bir cevap oluşturmaz (Robatzek vd. 2007).

#### 2.5.1.2. Lipopolisakkarit yapılı PAMPlar

Gram negatif bakterilerin hücre duvarlarında bulunan Lipopolisakkaritler (LPS) bakteriyel büyümede yaşamsal etkili ve bakterilerin hücre zarının yapısal özellikleri için önemli olan moleküllerdir (Silipo vd. 2010). Bitki yapılarında bulunmayan ve oldukça farklı kimyasal yapıları olan moleküller olarak bitkiler tarafından PAMP olarak algılanırlar (Molinaro vd. 2009 ). LPS amfilik makromoleküllerdir ve bu moleküller bir lipid kısmı ki burada Lipid A denen bir kısım ve hidrofilik kısım olan heteropolisakkarit içerirler. Yapıda Lipid A kısmı PAMP olarak davranmaktadır, arabidopsis bitkisinde ise bütün LPS olarak PAMP

aktivitesi sergilerler (Zeidler vd. 2004), burada LPS NO sentazı aktive ederek bitkideki savunma sistemi genlerinin indüklenmesine neden olur.

### 2.5.1.3. Elongasyon faktör TU PAMP'ı

Elongasyon faktör Thermo unstable (EF-Tu) bakterilerde en bol bulunan proteinlerdendir (Zipfel 2008). EF-Tu yapısında bulunan 18 amino asitlik *elf18* olarak isimlendirilen peptid PAMP olarak görev yapar. Arabidopsis ve hardalgiller ailesinden olan bitkiler bakteriyel EF-TU'yu PAMP olarak algırlar (Kunze vd. 2004). Tipik bir PAMP olarak bakteriyel EF-Tu bakterinin yaşamını idame ettirebilmesini sağlayan yaşamsal moleküllerdendir.

Flagella kaynaklı, LPS yapılı ve EF-TU PAMPlara ek olarak bakterilerde bulunan diğer PAMP yapıları *Pseudomonas aeruginosa* bakterisinde bulunan **Ramnlipidler**, (Varnier vd. 2009) ki bu yapılar asma bitkisinin yanı sıra buğday, tütün ve arabidopsiste de PAMP olarak aktiftir (Vatsa vd. 2010). Diğer taraftan Asma için bakteriyel PAMP olan ramnlipidler asmayı nekrotrofik mantarlardan olan *Botrytis cinerea* enfeksiyonundan korur (Varnier vd. 2009). Gram pozitif ve gram negatif bakterilerde peptidoglikan yapı komponentlerinden olan **Muropeptidler** (Gust vd. 2007), EF-Tu'nun tersine ısıya karşı kararlı ve glisin amino asidi açısından zengin olan bir protein olan **Harpin proteini** gibi proteinler de bakterilerde bugüne kadar tanımlanmış PAMP molekülleridir.

### 2.5.2. Fungal PAMPlar

Özellikle tahıllarda enfeksiyona ve en büyük verim kayıplarına neden olan patojenler fungal patojenlerdir. Funguslarda da diğer canlılar gibi konağın kendilerini tanımlarını sağlayan spesifikleşmiş pek çok yapı ve molekül bulunmaktadır. Günümüze kadar tanımlanmış olan fungal PAMP yapıları incelendiğinde hücre duvarından kaynaklanan şeker ve kolesterol yapılı PAMPlar, protein yapılı PAMP'lar, ve son yıllarda PAMP etkisi anlaşılan yapısında şeker artıkları ve sfingozin iskeletine sahip yağ yapılarının bulunduğu serebrozidler olarak isimlendirilen sfingolipidler PAMP molekülleri olarak çeşitli bitki funguslarında bulunmaktadır. Bu moleküller 2004 yılında bitkide savunma sistemini uyaran ve



patojen için yaşamsal olan “elisitör”ler olarak çeşitli *Fusarium oxysporium* türlerinde *Fusarium f. sp. lycopersici*, *Fusarium f. sp. melonis*, *Fusarium f. sp. cucumerinum*, *Fusarium f. sp. Lactucae*, ve *Sclerotinia cepivorum* patojeninde serebrozid sınıfı elisitörlerin olduğu 2004 yılında Umemura ve çalışma grubu tarafından bildirilmiştir.

#### 2.5.2.1. Hücre Duvarı Kaynaklı PAMPLar

Bitkiler hayvansal organizmadan farklı olarak ana malzemesini selülozun oluşturduğu çeşitli kısımlardan oluşmuş ve farklı fonksiyonları gerçekleştirmek üzere özelleşmiş farklı özelliklerdeki oligo ve polisakkaritlerden ibaret hücre duvarlarına sahiptirler. Selüloz polisakkariti  $\beta$ 1-4 glikosidik bağı ile bağlı glukoz birimlerinden oluşmuş polimerlerdir (Somerville 2006). Selüloz birimlerinden başka pektik polisakkaritler ve hemiselülozik polisakkaritler olmak üzere iki çeşit polisakkarit grubu da bitki hücre duvarlarında yer almaktadır bu polisakkaritlerden birinci gruba homogalakturonan ve ramnogalakturonanlar (Harholt vd. 2010), ikinci gruba ise ksiloglukanlar, glukomannanlar gibi polisakkaritler örnek olarak verilebilirler (Scheller ve Ulvskov 2010). Ayrıca bu yapıların bulunduğu konjuge proteinler hücre duvarlarının temel bileşenidirler. Bu hücre duvarının bitkiyi çeşitli böcek ve patojenlerden korur, su homeostazını sağlar, büyümesini sağlamak gibi işlevleri vardır. Hücre duvarlarının sayılan komponentlerini parçalayan mikro organizmalar bunu bünyelerinde salgıladıkları çeşitli enzimler ile gerçekleştirirler.

Aynı şekilde bitkilere spesifik fungal patojenler de tıpkı bitkiler gibi katı hücre duvarlarına sahiptirler ve fungusların hücre duvarları da bitki tarafınan düşman olarak algılanırlar. Fungus hücre duvarlarında ise bulunan temel polisakkarit sınıfı ise N-asetil glukozamin birimlerinin  $\beta$ 1-4 glikosidik bağı ile bağlanması ile oluşan ve kitin dediğimiz birimlerden ibaret kitooligosakkarit birimleridir ve bu birimler bitkilerde yoktur fakat bitkiler bu yapıları parçalayan kitinaz adı verilen enzimleri salgırlar (Eckardt 2008). Böylece oluşan kitin birimleri bitki immün sistemini uyaran PAMP olarak davranmaktadır. Çeltikte yanıklık hastalığına neden olan *Magnaporthe oryzae fungusunda bulunan N-asetilkitooheptaokitooligosakkaritine* karşı çeltik savunma sistemini uyarmaktadır (Yamaguchi vd. 2002). Sekiz kitin biriminden oluşan kitooktaoz çeşitli bitkilerde en çok savunma cevabının oluşmasına

neden olan kitin oligomeridir (Wan vd. 2008a, b). Karbohidrat yapılı PAMPlar sınıfından kitin ve kitin oligosakkaritlerinden başka yine fungus hücre duvarlarının komponenti olan ve bitkilerde bulunan beta glukanaaz enzimlerince oluşturulan beta glukana birimleri de hücre duvarı kaynaklı fungal PAMPlar sınıfındadırlar. Her bir beta glukana yapılı oligo ya da polisakkarit farklı bitkilerde farklı cevaplar oluşmasına neden olmaktadır, örneğin; *Magnaporthe oryzae* patojeninden kaynaklı tetraglukozil glukitol çeltik bitkisi tarafından PAMP olarak algılanırken soya fasulyesinde aktif değildir (Yamaguchi vd. 2000a, b).

Fungus hücre duvarları polisakkaritler, glukano proteinler gibi yapılara ek olarak kolesterol yapılarını da içermektedir ve sadece funguslara özgü olan kolesterol grubu ergosterollerdir. Bitkiler bu ergosterol yapılarını algılayarak (Kasparovsky vd. 2003, 2004; Laquitaine vd. 2006; Lochman ve Mikes 2006), ROS oluşumu, MAPkinazların aktive edilmesi (Lochman ve Mikes 2006), çeşitli oksidaz ve süper oksidazların aktivasyonu (Rossard vd. 2010) gibi PAMPların algılanması sonucu oluşan bir dizi olayın bitki hücresinde oluşmasına neden olduklarından PAMP olarak sınıflandırılmaktadırlar.

#### 2.5.2.2. Protein Yapılı PAMPlar

Bitkileri enfekte eden funguslar tarafından üretilen ve bitki de immün sistemin uyarılmasına neden olan protein yapılı PAMP'lar sınırlı sayıdadır. Bunlar arasında en çok çalışılan ve bilinenleri tütün ve domateste PAMP ların indüklediği savunma mekanizmasını harekete geçiren etilen tarafından indüklenmiş ksilenaz (EIX) proteini (Bailey vd.1990; Avni vd. 1994) proteini ve 24 kDa luk nekrozis ve etilen indüklenmiş protein (Nep 1) den bahsedilebilir. Bu protein ise *Fusarium oxysporum* f. sp. *Erythroxyli* nekrotrofik fungusunun kültür filtratlarında bulunmuştur. EIX tütün ve domateste *LRR-RLP* reseptörleri tarafından tanınarak cevap oluşmasına neden olurken (Ron ve Avni 2004), Nep 1 genel elisitör olarak davranır ve Ca<sup>2+</sup> sinyal sistemi, potasyum ve proton kanallarında değişiklik, etilen üretimi gibi (Jennings vd. 2001; Fellbrich vd. 2002; Keates vd. 2003; Bae vd. 2006) cevapların oluşmasına neden olur. *Fusarium oxysporum* f. sp. *Erythroxyli*'den başka funguslarda da Nep 1 benzeri (NLP) proteinler bulunmuştur;

*Botrytis cinerea* (Schouten vd. 2008; Arenas vd. 2010), *Magnaporthe grisea*, *Fusarium graminearum* ve *Mycosphaerella graminicola* (Motteram vd. 2009).

Protein yapılı PAMP'lar sınıfına LysM domaini içeren protein grubu da girmektedir. Çeşitli insan ve bitkileri enfekte eden patojenler tarafından salgılanan efektör yapılı PAMP lardır. Fakat bugüne kadar yapılan çalışmalarda puccinia grubu patojenlerde bulunmamışlardır (Jonge ve Thomma 2009).

### 2.5.2.3. Sfingolipidler

Sfingolipidler sfingozin yapısını temel alan serebrozid sınıfı lipid molekülleridir ve bir çok canlı sınıfı için yaşamsaldırlar, fungusların normal gelişimi içinde önemli moleküllerdir (Leverly vd.2002). Sfingolipidler hücre membran yapılarının bütünlüğünün korunması için önemli moleküllerdir ve A, B, C olmak üzere sınıflandırılırlar bu sınıflandırmada temel olan yapılarında bulunan şeker artıklarının farklılaşmasıdır. Oldukça geniş bir patojen sınıfında PAMP olarak davranırlar örneğin *Fusarium oxysporium* türleri; f. sp. *lycopersici*, f. sp. *melonis*, f. sp. *cucumerinum*, ve f. sp. *lactucae*, *Pythium graminicola*, *Glomerella cingulata*, ve *Sclerotinia cepivorum* sfingolipid elisitörlere sahiptirler (Umemura vd. 2004).

### 3. MATERYAL VE METOD

Çalışmada kullanılan buğday tohumları Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü (TAGEM)'den temin edilmiş olan Morocco yazlık varyetesidir.

Kahverengi pas etmeni olan *Puccinia triticina* race 1 suşu ise Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü'nün 423 sayılı ve Şubat 2013 tarihli izni ile Agriculture and Agrifood Canada (AAFC), Cereal Research Centre'dan Dr. Christof RAMPITSCH'den temin edilmiştir.



Şekil 3.1 Bitkiden toplanan pas üredio sporları (toz hali).

#### 3.1. BİTKİ MATERYALİ VE ENFEKSİYON

AAFC'den temin edilmiş olan *Puccinia triticina* (*P. triticina*) race 1 patojeninin devamlılığını sağlamak amacıyla uygun koşullar sağlanarak SHELLAB Diurnal marka iklimlendirme dolabında Morocco yazlık varyete buğday bitkisi yetiştirildi. Bu amaçla içerisinde torf toprak bulunan her bir saksıya 16 saat 20°C

gündüz, 8 saat 15°C gece koşulları ve ışık şiddetinin 30000 Lux olması sağlanarak buğday tohumları ekildi, ekimi takiben ve bu buğdaylar çimlenip boyları yaklaşık 1-2 cm olduklarında boylarının çok fazla uzamaları engellenerek enfeksiyon verimini arttırmak amacı ile her bir köke 2 mL olacak şekilde maleikhidrazid (Sigma) (0,25 g/L) verildi. Bitki boyları yaklaşık 6-7 cm iken yani ekildikten takriben 10-12 gün sonra uygun miktarda *P. triticina* sporları 40°C'ye ayarlanmış su banyosunda aktive edildikten sonra enfeksiyon için kullanılan kapsüllere aktararak mineral yağ ile süspansiyon edildi ve bu spor süspansiyonu bitki yapraklarının iç kısmına püskürtüldü. Enfeksiyon için uygun koşullar; gece-gündüz sıcaklıkları 20 °C ye ayarlanarak 24 saat boyunca belirli aralıklarla nem verilmesi sağlandı. Enfeksiyondan yaklaşık 10 gün sonra yapraklar üzerinde oluşan paslar pas toplama aparatı yardımı ile toplanarak tüplere aktarıldı ve neminin gitmesi için tüpün ağzı parafilm ile sarılarak silika jel bulunan kaplarda +4°C'de muhafaza edildi.



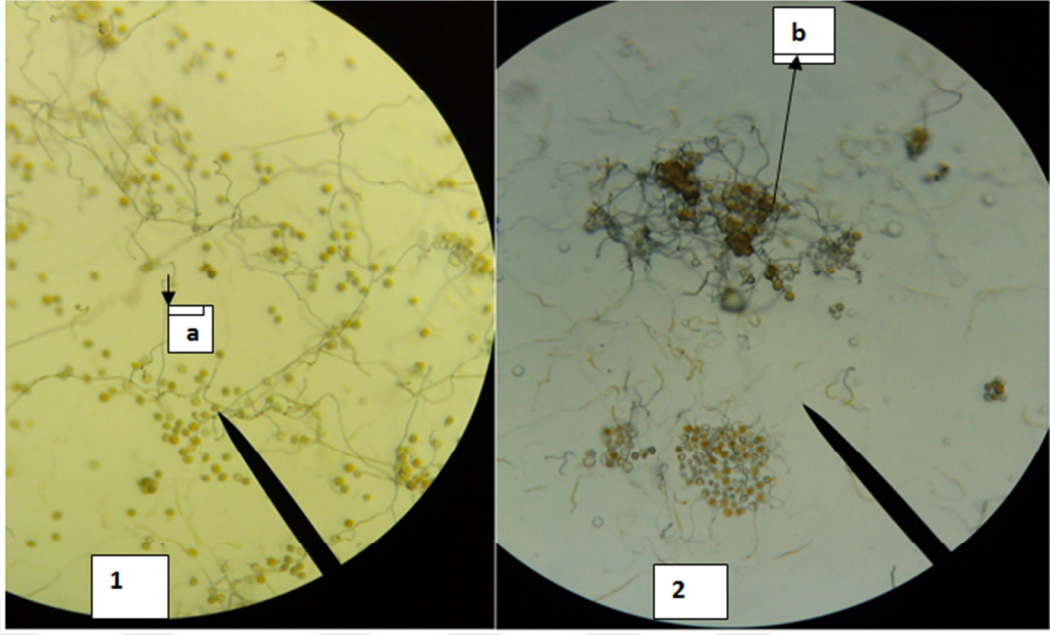
Şekil 3.2. Bitkiye hastalığın enfekte edilmesi. Kuru hava yardımı ile mineral yağ- pas süspansiyonu püskürtülerek enfekte edilmektedir.

### 3.2. ÜREDİOSPORLARIN ÇİMLENDİRİLMESİ

Yaklaşık olarak 80-90 cam petriye (R= 5 cm) %0,5 (W/V) agaroz hazırlanarak petri başına 2 ml olacak şekilde döküldü ve soğuduktan sonra her bir petriye yaklaşık 2-2,5 mg pas olacak şekilde ekilip 24 saat karanlıkta ve 20 °C sıcaklıkta çimlenmeye bırakıldı. Ertesi gün LEICA V500 marka mikroskop altında (40x) tübül oluşumu izlendi. Petrinin üst yüzeyinden bakıldığında az gibi görünen tübüller, petrinin alt yüzeyinden bakıldığında daha fazla olduğu görüldü. Buda, tübüllerin ortamda dikey olarak geliştiğini göstermektedir (James W. B. vd. 2010). Tübül oluşumu gözlenen petriyer yüzey proteinlerin ekstraksiyonunun gerçekleştirilmesi amacı ile seçildi.

### 3.3. YÜZEY PROTEİN EKSTRAKSİYONU

Germ tüpleri gözlemlenen petri içerikleri agaroz ile beraber total protein ekstraksiyonu için sıvı azot ile soğutulmuş havanlara alınıp izolasyon işlemi başatıldı. Total protein ekstraksiyonu için TCA/Aseton-Fenol/Metanol (Gonzalez-Fernandez vd. 2010) yöntemi kullanılarak gerçekleştirildi. Yöntem aşağıdaki gibidir.



Şekil 3.3. Agaroz jele ekilen pasların 24 saat sonunda tübül oluşumu 1) % 0,5lik agaroz ortamında mikroskopla petrinin üst yüzeyinden görüntü 2) % 0,5lik agaroz ortamında mikroskopla petrinin alt yüzeyinden görüntü a) % 0,5lik agaroz ortamında *p. Triticiniaüredo* sporları b) % 0,5lik agaroz ortamında germ tüpleri

### 3.3.1. TCA/Aseton-Fenol/Metanol Yöntemi

Yukarıda belirtildiği şekilde toplanan germ tüpleri tartılarak sıvı azot yardımı ile havanda yaklaşık 1 saat çok ince toz haline getirildi. Ezme esnasında havan içerisine 0.1g PVPP (Polivinil Polipirrolidon) (SİGMA) ve 0.1g Quartz kumu (MERCK) katıldı. Ezme işlemini takiben toplam ağırlığının 4 katı kadar (W/V) TCA/Aseton (% 10 TCA (Trikloro asetik asit) % 0,07 DTT (ditiyotreyitol) aseton) içeren tüp içerisine alındı. Daha sonra bu karışım vortekslenerek 15 dakika buz içerisinde sonikasyon işlemine tabi tutuldu. Sonikasyon sonrasında elde edilen örnek süspansiyonu -20 °C de 16-18 saat süreyle çökmeye bırakıldı. Ertesi gün örnek süspansiyonu santrifüj tüplerine alınarak 16000 xg'de 3 dakika +4°C'de santrifüjlendi (Thermo Fisher Scientific MR 23İ). Süpernatant atıldı ve proteini içeren pellet soğuk 0,1M amonyum asetat/metanol çözeltisi ile yıkanarak tekrar aynı koşullarda santrifüj işlemi gerçekleştirildi. Santrifüj işleminden sonra pellet % 0,07 (w/v) DTT içeren soğuk aseton ile yıkanarak aynı koşullarda bir kez daha santrifüjlendi. İşlem sonunda pellet kurumaya bırakıldı. Kuruyan pellet tartılarak sıvı

azot ile soğutulmuş steril havanda 0.1 g PVPP (Polivinil Polipirolidon) ve 0.1g Quartz kumu varlığında ince toz haline getirildi. İşlem sonunda protein ihtiva eden toz toplanarak üzerine 0,1gr/0,4-0,8mL olacak şekilde 1:1 SDS/Fenol (SDS tamponu; % 30 sükröz (w/v), % 2 SDS (w/v), 0.1M Tris-Cl pH 8.0 ve 1 mM fenilmetilsülfonilflorür (PMSF), pH 8.0; /fenol) konularak soğukta 5 dakika vortekslendi. Elde edilen süspansiyon santrifüj tüplerine aktarılarak 16000 xg'de 3 dakika +4°C'de santrifüjlendi. Süpernatantın üst kısmında oluşan fenolik faz temiz bir steril tüpte toplandı. Fenol ile yapılan ekstraksiyon işlemi tekrarlandı ve santrifüj işlemini müteakip elde edilen 2. fenol fazı ilki ile birleştirildi. Toplanan fenol fazlarının hacimce 3 katı kadar soğuk 0,1M amonyum asetat/metanol çözeltisi ilave edilip bir gece -20°C'de çökmeye bırakıldı. Ertesi gün -20°C'den çıkartılan örnekler 16000 xg'de 5 dakika +4°C'de santrifüjlendi. Süpernatant atıldı, pellet soğuk mutlak metanol ile yıkanıp tekrar aynı koşullarda santrifüjlendi. Santrifüj sonrasında % 0,07 (w/v) DTT içeren soğuk aseton ile yıkanarak aynı koşullarda bir kez daha santrifüjlendi. Santrifüj sonrasında pellet kurumaya bırakıldı. Kurutulan pellet çözünürleştirme tamponu (7 M üre, 2 M tiyöüre, % 4 (w/v) CHAPS, 12 µL/ mL destreak reaktifi ) ile çözünür hale getirildi. Çözünür hale gelen örnek yine 6 defa her seferinde 15 saniye olmak koşulu ile sonike edildi ve 30,000 xg'de 30 dakika +4°C'de santrifüjlendi. Protein içeren süpernatant temiz bir mikrotüpe alınarak hacminin 4 katı kadar soğuk % 100 aseton ile muamele edilerek -20°C'de bir gece çökmeye bırakıldı. Çökmeye bırakılan örnekler takip eden gün 30,000 xg'de +4°C'de 30 dakika santrifüjlendi. Santrifüj sonrasında süpernatant atıldı ve pellet temiz bir tüpe alınarak kurutuldu. Kuruduktan sonra destreak içeren çözünürleştirme tamponu (7 M üre, 2 M tiyöüre, % 4 (w/v) CHAPS, 12 µL destreak/1mL tampon) ile çözünür hale getirildi.

### 3.3.2. Bradford Protein Tayin Yöntemi

Çözünür hale gelen protein örneklerinin protein içeriği Bradford protein tayin metodu ile 0,1 mg/mL BSA (sığır serum albumin) stok standart olarak kullanılarak konsantrasyonları belirlenen protein örnekleri iki boyutlu poliakrilamid jel elektroforezinde (2D-PAGE) kullanılmak üzere alikotlanarak -20°C de saklandı.



### 3.4. 2D-PAGE

İki boyutlu jel elektroforezinde *P. triticina* race-1 uredosporlarına ait yüzey proteinleri birinci boyutta izoelektrik noktalarına göre ayrıldıktan sonra bu proteinler 2. boyutta SDS-PAGE sistemi kullanılarak moleküler ağırlıklarına göre ayrılmışlardır. Yönteme ait detaylı bilgi aşağıdaki gibidir.

#### 3.4.1. İzoelektrik Odaklama (IEF)

-20 °C'de depolanan protein örnekleri 505 µg /450 µL olacak şekilde % 1 (V/V) amfolit pH 3-10 içerecek şekilde hazırlandı. Örnek varlığında 24 cm pH 4-7 IPG stripler 12 saat oda sıcaklığında (20-23°C) rehidrasyona tabii tutuldu. Rehidrasyon işlemi müteakip IPGphor3GE Healthcare izoelektrik odaklama (IEF) sisteminde stripler IEF ünitesinde Tablo 1. de verilen koşullarda izoelektrik odaklamaya tabii tutuldu ve burada proteinlerin yüklerine göre ayrılması gerçekleştirildi.

Tablo 3.1. IEF koşulları

Step	U [V]	Süre	Vh
1	Step	100	00:30
2	Step	250	250
3	Grad	500	500
4	Grad	1000	1500
5	Grad	10000	22000

6	Step	10000	50000	Vh
7	Step	100	10:00	HH:mm

IEF sonunda cihazdan çıkartılan strip veya stripler 2 aşamada dengeleme çözeltisi (6 M üre, % 30 gliserin (w/v), % 2 Sodyum Dodesil Sülfat (w/v), 50 mM Tris-Cl pH 8.8) içerisine alınarak 2. boyuta hazır hale getirildi.

1. aşamada dengeleme çözeltisine % 1 (w/V) olacak şekilde DTT eklendi ve stripler bu çözelti içinde 200 rpm de 20 dakika *Nüve ST 402* çalkalayıcı inkübatörde inkübe edildi.

1. aşama gerçekleştirilirken dengeleme çözeltisine % 2,5 (w/v) iyodoasetamid (IAA) (Sigma) içerecek şekilde hazırlandı. 1. dengeleme çözeltisinden çıkarılan stripler 2. dengeleme çözeltisine alınarak karanlıkta yukarıda anlatıldığı gibi çalkalayıcı inkübatörde inkübe edildi.

Bu dengeleme işlemlerinin tamamlanması sonucunda strip veya stripler Sodyum Dodesil Sülfat PoliAkrilamit Jel Elektrofrezisi (SDS-PAGE) işlemi uygulamasına hazır hale getirildi.



Şekil 3.4. Proteinlerin rehidrate edilmesi (örnekli rehidrasyon) protein tayini yapıldıktan sonra strip başına  $505\mu\text{g}/450\mu\text{L}$  olacak şekilde hesaplanarak protein örneğinden alınıyor ve üzerine  $4,5\mu\text{L}$  pH 3-10 amfolit konularak  $450\mu\text{L}$  ye destreak ile tamamlanarak kuyucuklara konularak üzerlerine IPG stripler yerleştirilerek 12 saat rehidrasyon yapılır.

#### 3.4.2. SDS-PAGE

SDS-PAGE işleminde Gradient (%10-20) jeller kullanılarak en iyi sonuç alınmıştır Gradient jel kompozisyonu Tablo 3.2'deki gibidir.

Tablo3.2. Gradient jel kompozisyonu

	Hafif Çözelti (275 mL)	Ağır Çözelti (275 mL)
Akrilamit-Bisakrilamit	92 mL	183 mL
1,5 mM Tris-Cl pH 8,8	69 mL	69 mL
Distile su	110 mL	1,2 mL
% 20 Sodyum Dodesil Sülfat (SDS)	1,38 mL	1,38 mL
Gliserol	YOK	19 mL
% 10 Amonyum Persülfat (APS)	2,75 mL	1,4 mL
TEMED	47 µL	8 µL

Jel kasetleri hazırlama aparatı içerisine 25x20x0,15cm ebatlarındaki jel kasetleri yerleştirilerek sızıntıyı önleyecek şekilde hazırlandı. Tablo 3.2.'deki gibi hazırlanan hafif ve ağır jel çözeltileri gradient oluşturucunun ilgili silindirlerine yerleştirildi. Hafif çözeltinin bulunduğu silindire bir magnet konarak manyetik karıştırıcı üzerine yerleştirildi bir peristaltik pompa yardımı ile gradyent jel şekil 3.5.'deki gibi döküldü, jel yüzeyleri % 0,1 SDS ile sprey edildi. Polimerleşmenin tamamlanması için 3 saat oda sıcaklığında tutuldu. Polimerleşme tamamlandıktan sonra aparattan çıkartılan 6 adet distile su ile yıkandı jel yüzeyi kurulandıktan sonra

kullanıma hazır hale getirildi. Dengeleme çözeltilisinde dengelenen stripler alınarak her bir kasete 1 strip olacak şekilde dikkatlice jel yüzeylerinin herhangi bir yer ile temas etmemesine dikkat edilerek kasetlere yerleştirildi. Stripler yerleştirildikten sonra şırınga yardımı ile Agaroz jeli % 1 (w/v) agaroz SDS-PAGE yürütme tamponunda (250 mM Tris, 1,94 M glisin, % 1 SDS) çözülerek hazırlandı. Elektroforez işlemi için *EttanDALTsix* marka elektroforez ünitesi 1X Tris-Glisin-SDS (TGS) (4L) ile dolduruldu ve kasetler elektroforez ünitesine dikkatlice yerleştirildi. Elektroforez ünitesine yerleştirilen jel kasetleri üzerine 1 L 1X TGS konuldu. Elektroforez ünitesinin kapağı kapatıldı. *Elektrophoresis* marka güç kaynağı ve *MultiTemp* marka thermo circulator çalıştırıldı. *MultiTemp* standart olarak 10°C' de çalıştırıldı. Elektroforez işleminde ilk 1 saat 1,5 W/jel, sonraki aşama da ise yaklaşık 5 saat 20 W/jel olacak şekilde gerçekleştirildi.



Şekil 3.5 Gradyent jelin dökülmesi. Tablo 3.2. de verilen konsantrasyonda hazırlanan gradyent jelin dökülmesi

### 3.5. JEL GÖRÜNTÜLEME

#### 3.5.1. Kollaidal Coomassie Brilliant Blue ile Boyama

Elektroforez işlemi 6 saat sonra tamamlandığında kasetler elektroforez ünitesinden çıkartıldı ve jeller dikkatlice kasetlerden çıkartıldıktan sonra her bir jel üzerine 400 mL % 12,5 (w/v) Trikloro asetik asit (TCA) boşaltılarak jellerin 45 dakika *NÜVE ST 402* marka karıştırıcıda karışması sağlandı. Karışan her bir jel için 27 mL Coomassie Brilliant Blue R250 (CBB) boyama çözeltisi % 1 (w/v) (mutlak etanol içerisinde) eklenerek boyama işlemi gerçekleştirildi.

Boyama işlemi sonrasında jeller 16 saat çalkalamaya bırakıldı. 16 saat sonunda jellerin boyalı suyu boya çıkarma çözeltisi (400 mL distile su + 50 mL etil alkol) ile değiştirildi. Gün içerisinde birkaç defa tekrarlanan boya çıkarma çözeltisi ile jeli yıkama sonrasında protein spotları görünür hale getirildi. Jeldeki boyanın tamamından kurtulmak için 2 veya 3 gün çalkalanarak boya çıkarma çözeltisi değişimi gerçekleştirildi. Fazla boyadan arındırılan jeller *EPSON PERFECTİON V750 PRO* marka tarama cihazı ile taranarak dijital ortama aktarıldı.

#### 3.5.2. İmaj Analizi

Bütün biyolojik tekrarlar ve her bir biyolojik tekrara ait analitik tekrar jel görüntüleri dijital ortama aktarıldıktan sonra her biyolojik tekerrür jellerindeki spot sayıları ve 3 biyolojik tekrarın karşılaştırılması ile ortak spot sayıları ve ortak spotlar *DYMENTION 2* imaj analizi programı ile belirlendi. Daha sonra bu spotlar *tripsin* enzimi ile kesilmek üzere jel saklama poşetine konulup +4°C'ye kaldırıldı.

### 3.6. *TRİPSİN* ENZİMİ İLE HİDROLİZ

- 1) Her bir spot konulduğu 1,5mL'lik ependorf tüplerinde 11 mm boyutlarında küçük parçalara ayrıldı.
- 2) Tüplere 1:1 oranında 100 µL Amonyum bikarbonat ve Asetonitril konularak yarım saat vortekslenerek inkübe edildi.

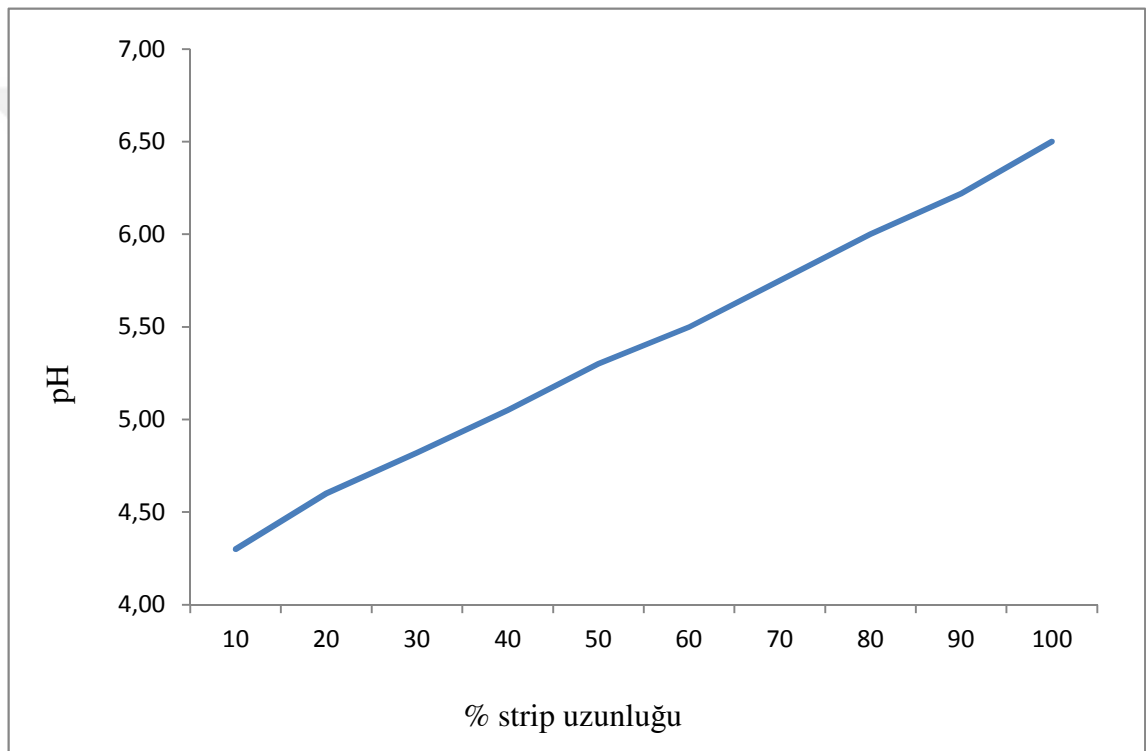
- 3) İnkübasyon sonunda süpernatant atıldı.
- 4) Tüpe 500 µL % 100 Asetonitril eklenerek jel parçacıkları küçülüp beyazlaşana dek vortekslendi.
- 5) Süpernatant atıldı.
- 6) Jel parçaları kurutuldu.
- 7) 100 mM amonyum bikarbonat içine 25 mM 50 µL DTT eklenerek 30 dakika 56°C'de inkübe edilerek redüksiyon gerçekleştirildi.
- 8) Oda sıcaklığında soğutulan tüplere 500 µL Asetonitril ilave edilerek 10 dakika inkübe edildi ve sonunda sıvı atıldı.
- 9) 55 mMiyodoasetamitten 50 µL eklenerek 20 dakika oda sıcaklığında karanlıkta inkübe edilerek alkilasyon gerçekleştirildi.
- 10) Süpernatant atıldı ve jel parçacıkları distile su ile yıkanarak fazla iyodoasetamid uzaklaştırıldı.
- 11) 50 µL tripsin (100 mM Amonyum bikarbonat içerisinde) eklenerek 24 saat 37 °C'de inkübe edildi.
- 12) Santrifüjlenerek elde edilen triptik peptidleri içeren sıvı temiz bir mikro tüpe aktarıldı.
- 13) Jel parçacıklarının bulunduğu tüplere 100 µL 1:1 oranında % 5 formik asit ve asetonitril içeren ekstraksiyon tamponu eklenerek 15 dakika 37°C'de çalkalayıcı inkübatörede inkübe edildi.
- 14) İnkübasyon sonrası santrifüj yapıldı elde edilen süpernatant triptik peptid karışımı ile birleştirildi.
- 15) Vakum santrifüjle triptik peptidin sahip olduğu solvent uçuruldu.
- 16) 25 µL % 0,1 TFA eklenerek 5 dakika vortekslendikten sonra sonike edildi ve 15 dakika santrifüjlendi.

17) LC-MS/MS analizleri için yurtdışına gönderildi.

### 3.7. PROTEİN M<sub>w</sub> DEĞERLERİNİN HESAPLANMASI

#### 3.7.1. Izo Elektrik Nokta (pI) Değerlerinin Hesaplanması

Amersham 2D protokol (Abramovitch vd. 2006) internetten bulunarak grafiği çıkarıldı ve denklemi bulundu. Şekil 3.6. da grafik verilmiştir.



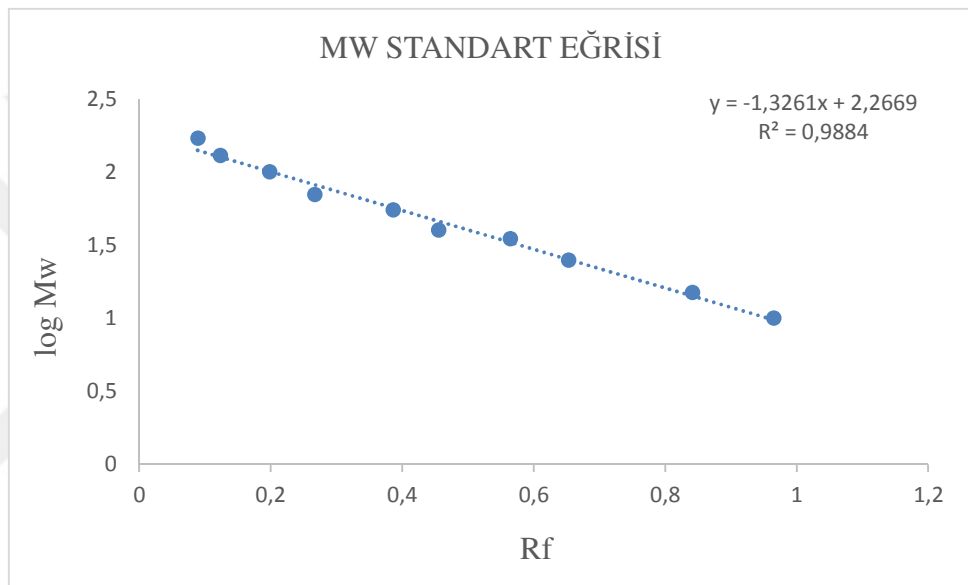
Şekil 3.6. Amersham 2D protokol pI standart eğri grafiği

Bu grafiğe göre; pI değerleri bulunarak ekler 6.2.1. de verildi.



### 3.7.2. Mw Standart Eğrisi ve Mw Değerleri

MW değerlerini hesaplamak amacıyla dökülen jelde *FERMENTAS* marka prestained protein ladder (6-200 kDa) kullanılarak bu standarttaki her bir proteinin sahip olduğu Rf değerine karşılık log Mw grafiği çizilerek Mw standart eğri denklemleri bulundu. Bu denkleme göre her bir proteinin MW değerleri hesaplanarak Ekler 6.2.2. de verildi.



Şekil 3.7. Mw standart eğri grafiği

### 3.8. BİYOİNFORMATİK ANALİZLER

Tanımlanan proteinlerin hücre altı lokalizasyon tahmini, sinyal peptidi içerip içermedikleri, domain analizleri ve transmembran domainleri içerip içermedikleri sırası ile;

a. WoLF PSORT (<http://www.genscript.com/wolf-psort.html>)(Horton vd. 2007) programını kullanarak ve organizma türü olarak fungi seçilerek FASTA formatında protein dizisi kullanılarak gerçekleştirildi.

b. Sinyal peptid içerikleri SignalP 4.1 programı (<http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/>) (Peterson vd. 2011) kullanılarak, ve N terminalde sinyal peptid bölgesi olup olmadığı ise Target P 1.1 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/TargetP/>) (Emanuelsson vd. 2000) ile tahmin edildi. Bu programların her ikisi de Hidden Markownikow temelli programlardır. Signal P de “ökaryot” seçeneği seçildi. Target P de ise “nonplant” canlı seçeneği seçilerek protein dizileri FASTA formatında programa aktarılarak tahminler gerçekleştirildi.

c. Domain Analizleri; hipotetik olarak tanımlanan proteinler için SMART (<http://smart.embl-heidelberg.de/>) (Letunic vd 2014) ve PFAM (<http://pfam.xfam.org/>) (Finn vd. 2016) analizleri ile gerçekleştirildi. PFAM programının ana sayfasında “sequence search” opsiyonunda FASTA formatında protein dizisi girildi.

d. Transmembran domain varlığı; Sinyal peptid içeren proteinler için gerçekleştirildi ve proteinin sinyal peptid dizisi çıkarılarak protein dizisi TMHMM 2.0 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/>) programına aktarılarak gerçekleştirildi.

#### 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Kahverengi pas hastalığı etmeni Kanada ırkı *P.triticina* race 1 bitkiye enfekte edildikten sonra 8-10 gün içerisinde oluşmakta ve takriben pas püstülleri bitkide oluştuğundan 8-10 gün sonrada bitki ölmektedir. Bu süre zarfında toplanan pas sporları steril cam tüplerde ağzı kapatılarak +4°C'de nemini uzaklaştırmak amacıyla silika jel içerisinde muhafaza edildi. Laboratuvarımızda gerçekleştirilmiş olan kahverengi pas enfeksiyonu sonucu Morocco buğday çeşidinin görüntüsü Şekil 4.1.'de verilmiştir.

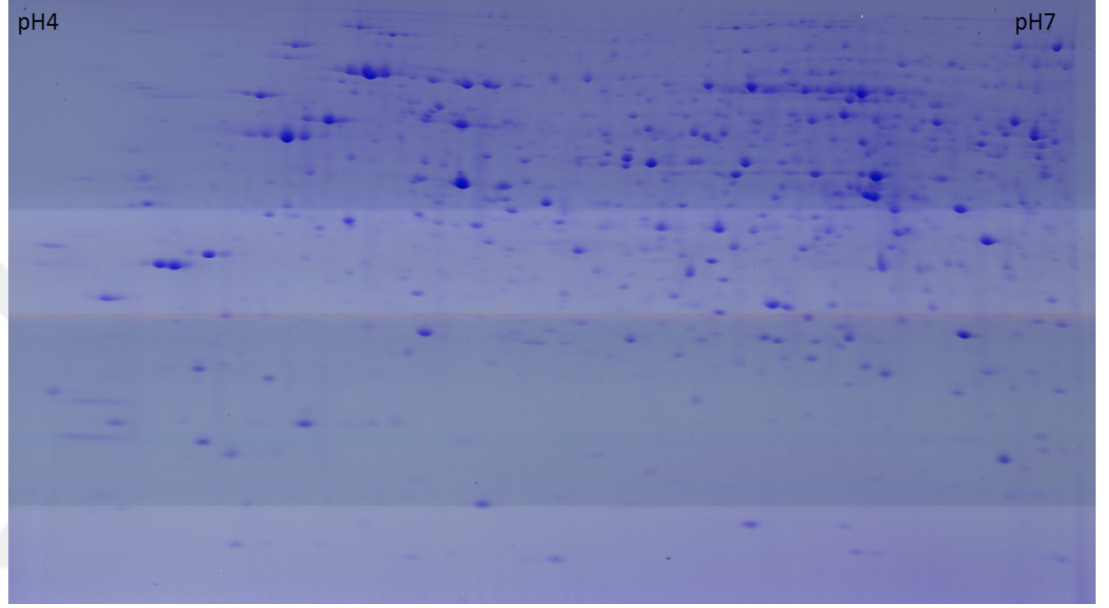


Şekil 4.1. Ahi Evran Üniversitesi Fen-Edebiyat Fak. Kimya Böl. Biyokimya ABD de *P. triticina* race 1 ile enfekte Morocco yazlık varyetesi

Yaklaşık 2 hafta silika jel içerisinde ve +4 °C'de nemi uzaklaştırılan pas sporları agaroz ortamına ekildi. Aksi takdirde nemli olan ortamda sporların germ tüpleri sayısında azalma görüldü. Mikroskop altında incelendiğinde germ

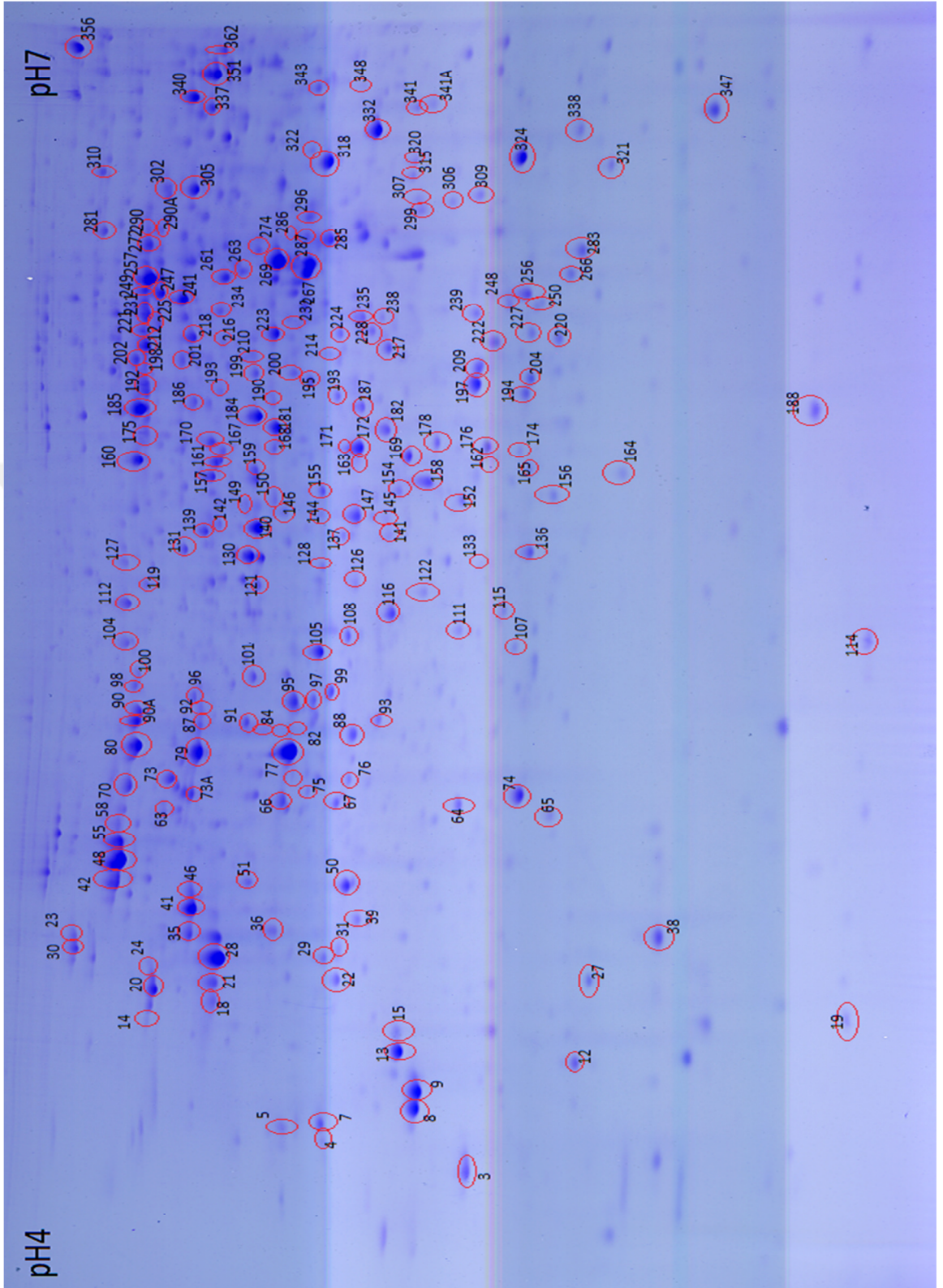
tüplerinin agaroz ortamında dikey olarak yerleşerek büyüdüğü gözlemlendi (James W. B. ve ark. 2010) , sonuç Şekil 3.3.'de sunulmuştur

Çimlenmiş kahverengi pas üredosporlarından ekstrakte edilen yüzey proteinleri için gerçekleştirilen 2D-PAGE görüntüsü Şekil 4.2.'de sunulmaktadır.



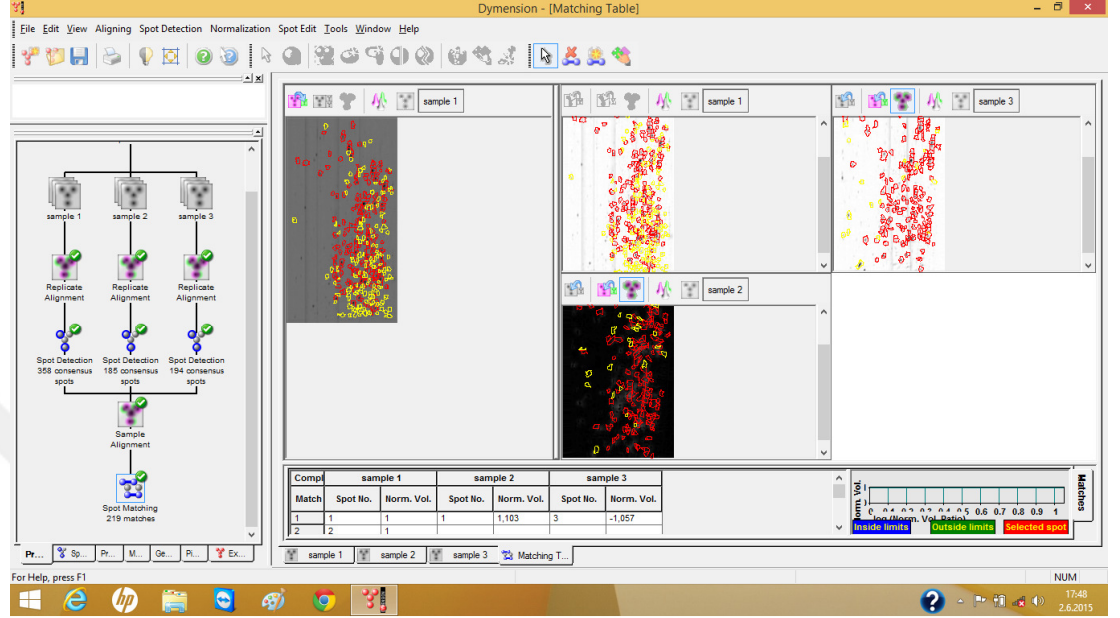
Şekil 4.2. Kahverengi pas üredo sporlarının in vitro çimlendirilmesi sonrası ekstrakte edilen yüzey proteinlerinin 2D-PAGE profili





Şekil 4.3. 3 biyolojik replikadaki toplam 9 jelde ortak bulunan spotların jel üzerindeki lokasyonları ve numaralandırılması

Toplamda 3 biyolojik tekrara ait olan 9 jel görüntüsü için gerçekleştirilmiş imaj analiz işlemi sonucu Şekil 4.3.'de verilmektedir.



Şekil 4.4. Üç Biyolojik Tekrar ve her bir tekrara ait teknik tekrarlarla birlikte jel imaj analizi

Dijitalizasyonu takiben 3 biyolojik tekrarın 2 tanesinde ortak olan spotlar içerisinde yüksek bollukta olanlar PAMP adayı olarak belirlendi.

Belirlenen 201 spotun nano- LC-MS/MS analizi ile protein tanımlanması Broad Institute tarafından yayınlanan Puccinia genom veri tabanı kullanılarak gerçekleştirildi. Yapılan analiz sonucunda tanımlanan 201 spota karşılık 168 adet protein tanımlandı. Spot 65 kontaminant olarak gözükmemektedir. Tanımlanan 168 proteinden 117 tanesi tek proteindir Tanımlanan proteinler Tablo 4.1. de sunulmaktadır. 8 tanesinin efektör protein olduğu düşünülmektedir.

Tablo 4.1. *Puccinia triticina* Aday PAMP Proteinleri

Spot No	Aksesyon	Adı	Teorik pI/MW
3	PTTG_03499	Hypothetical protein	4.45/24.82
7	PTTG_01669	Hypothetical protein	4.71/26.90
	PSTG_17414	Hypothetical protein	6.33/47.27
12	PTTG_09356	Translationally-controlled tumor protein	4.71/18.50
14	PTTG_06852	Hypothetical protein	4.90/46.71
15	PTTG_02090	Hypothetical protein	4.61/34.02
	PSTG_17414	Hypothetical protein	6.33/47.27
18	PTTG_01840 T0	ATP synthase subunit beta, mitochondrial	5.63/58.44
19	PTTG_05456	Hypothetical protein	5.17/13.16
20	PTTG_01827	Hypothetical protein	4.86/58.40
21	PTTG_01840	ATP synthase subunit beta, mitochondrial	5.63/58.44
22	PTTG_07476	Pyruvate dh e1 component	5.55/43.09

	PTTG_02217	Hypothetical protein	4.97/35.48
23	PTTG_06867	Heat shock 90-1	4.89/80.59
24	PTTG_01827	Hypothetical protein	4.86/58.40
27	PTTG_27503	Hypothetical protein	4.99/18.87
30	PTTG_06867	HSP 90-1	4.89/80.59
31	PTTG_02217	Hypothetical protein	4.97/35.48
	PTTG_07476	Pyruvate dh e1 component	5.55/43.09
35	PGTG_1220 4	Tubilin beta chain	4.82/50.15
38	PTTG_04893	Eukaryotic translation initiation factor 5a(elongation factor p)	5.14/17.31
39	PTTG_09144	Hypothetical protein)	5.41/57.84
41	PGTG_1220 4	Tubilin $\beta$ chain	4.82/50.15
42	PTTG_03478	HSP-70	5.09/70.90
46	PGTG_1220 4	Tubilin $\beta$ chain	4.82/50.15



	PTTG_05513	26S protease regulatory subunit 6a	5.09/51.99
48	PTTG_07281	Glucose regulated protein	5.16/72.28
50	PTTG_07437	Hypothetical Protein	5.55/78.72
51	PTTG_01758	Hypothetical Protein	5.06/31.69
	PTTG_03478	HSP-70	5.09/70.90
53	PTTG_07281	Glucose regulated protein	5.16/72.28
	PTTG_06867	HSP 90-1	4.89/80.59
55	PTTG_07281	Glucose regulated protein	5.16/72.28
58	PTTG_07281	Glucose regulated protein	5.16/72.28
	PTTG_26408	V-type ATPase, a subunit	5.91/76.81
63	PTTG_03478	HSP70	5.09/70.90
64	PTTG_03718	Hypothetical Protein	5.10/28.50
	PTTG_01641	Hypothetical prot.	5.14/31.97
65	<b>contaminant</b>		
66	PSTG_03501	Hypothetical Protein	5.31/41.78

67	PSTG_03501	Hypothetical Protein	5.31/41.78
70	PTTG_26408	V-type ATPase, a subunit	5.91/76.81
73	PTTG_05827	HSP60	5.64/61.84
73A	PTTG_01106	Tubiline $\alpha$ 1 chain	5.09/49.06
74	PTTG_03524	Hypothetical Protein	6.10/28.28
75	PTTG_06777	Thioredoxin reductase (nadph)	5.58/41.87
76	PTTG_09204	Hypothetical Protein	5.06/48.96
78	PTTG_09204	Hypothetical protein	5.06/48.96
79	PTTG_01106	Tubiline $\alpha$ 1 chain	5.09/49.06
	PTTG_03808	Protein phosphatase 2c	5.17/54.31
80	PTTG_01696	HSP SSB	5.34/68.34
82	PSTG_03501	Actin	5.31/41.78
	PTTG_01696	HSP SSB	5.34/68.34
84	PSTG_03501	Actin	5.31/41.78
87	PSTG_03501	Actin	5.31/41.79

88	PTTG_12630	Arginase	5.25/34.78
90	PSTG_12276	Hypothetical protein	5.17/54.31
91	PTTG_00226	26S protease regulatory subunit 6b	5.33/46.73
92	PTTG_09144	Hypothetical protein	5.41/57.84
93	PTTG_06345	Hypothetical protein	5.29/43.80
95	PTTG_09276	Hypothetical protein	5.77/80.76
96	PTTG_09144	Hypothetical protein	5.41/57.84
97	PTTG_08592	3-isopropyl malate dehydrogenase	5.39/39.88
	PGTG_1396 6	Hypothetical protein	6.97/48.13
98	PTTG_26408	V-type ATPase, a subunit	5.91/76.81
99	PSTG_14021	V-type proton ATPase catalytic subunit a isoform 2	5.44/68.91
100	PGTG_0593 5 (104 İLE AYNI)	HSP-SSB	5.34/68.95
101	PTTG_02219	Phosphomannose	5.44/48.00

104	PTTG_01076	Hsp-70 like protein	5.88/73.63
105	PSTG_04289	Hypothetical protein	6.62/49.00
	PTTG_09276	Hypothetical protein	5.77/80.76
108	PTTG_03022	Hypothetical protein	5.00/29.33
111	PTTG_09887	Hypothetical protein	5.64/29.99
	PSTG_02641	CMGC/CDK/CDC2 protein kinase	6.26/33.15
	PTTG_01991	Hypothetical protein	5.40/32.48
112	PTTG_01076	HSP-70	5.88/73.63
114	PTTG_09971	Hypothetical protein	5.86/14.07
115	PGTG_0025 2	Hypothetical protein	5.49/12.32
116	PTTG_03284	LSU ribosomal prot	5.25/33.28
	PSTG_01609	serine/threonine-protein phosphatase ppe1	5.43/34.92
119	PTTG_09796	Hypothetical protein	5.47/65.89

121	PTTG_04091	secretory pathway GDP dissociation inhibitor1	5.64/49.56
122	PTTG_09784	Hypothetical protein	5.95/69.87
	PTTG_03046	PEP carboxy kinase	6.34/64.32
	PTTG_06246	Hypothetical protein	5.87/30.68
126	PTTG_01458	PEP carboxy kinase	6.23/64.25
127	PTTG_01076	HSP-70 like prot	5.88/73.63
	PTTG_09276	Hypothetical protein	5.77/80.76
128	PTTG_09870	Hypothetical protein	5.72/41.37
130	PTTG_01076	HSP-70 like prot	5.88/73.63
131			
133	PTTG_02001	Hypothetical protein	8.30/59.21
	PTTG_07863	Hypothetical protein	8.30/20.75

136	PTTG_07672	Proteasome subunit alpha type-2	5.71/26.89
137	PTTG_07672	proteasome subunit alpha type-2	5.71/26.89
139	PTTG_08656	Hypothetical protein	5.63/41.41
	PTTG_08249	Hypothetical protein	5.62/56.64
140	PTTG_08249	Hypothetical protein	5.62/56.64
141	PTTG_07672	proteasome subunit alpha type-2	5.71/26.89
	PTTG_08249	Hypothetical protein	5.62/56.64
142	PTTG_07672	Proteasome subunit alpha type-2	5.71/26.89
144	PTTG_07672	Proteasome subunit alpha type-2	5.71/26.89
146	PTTG_00430	ENOLASE	5.97/47.38
147	PTTG_07672	PROTEASOME SUBUNIT ALPHA TYPE-2	5.71/26.89
149	PTTG_06888	(Haloacid dehalogenase-like hydrolase DOM.)	5.58/38.67
	PTTG_02620	Mitochondrial-processing peptidase subunit beta	6.03/52.87

150	PTTG_01903	Hypothetical protein	6.17/46.40
154	PTTG_01903	Hypothetical protein	6.17/46.40
158	PTTG_07672	Proteasome subunit alpha type-2	26.89/5.71
160	PTTG_09276	Hypothetical protein	5.77/80.76
161	PTTG_06273	Hypothetical protein	5.82/49.91
163	PTTG_07362	V-type proton ATPase subunit b	5.66/57.11
165	PTTG_01903	Hypothetical protein	6.17/46.40
167	PTTG_09553	Hypothetical protein	5.67/51.37
	PTTG_28577	Hypothetical protein	6.34/56.48
	PTTG_09276	Hypothetical protein	5.77/80.76
169	PTTG_03429	Hypothetical protein	6.39/37.37
170	PTTG_00372	Glutathione synthetase	5.77/58.90
171	PTTG_09731	Hypothetical protein	8.79/57.52
172	PTTG_05189	Fructose biphosphate aldolase class ii	6.83/46.24
174	PTTG_09731	Hypothetical protein	8.79/57.52

175	PTTG_09276	Hypothetical protein	5.77/80.76
176	PTTG_07572	Phospho mannomutase	5.84/29.12
178	PTTG_01458	PEP carboxy kinase	6.23/64.25
181	PTTG_03422	6-PHospho gluconate dehydrogenase	6.77/68.75
182	PTTG_04265	Hypothetical protein	7.78/36.47
184	PTTG_03422	6-phospho gluconate dehydrogenase	6.77/68.75
185	PTTG_09276	Hypothetical protein	5.77/80.76
186	PTTG_04566	Hypothetical protein	5.71/56.71
187	PTTG_08360	Pyruvate kinase	6.43/57.63
188	PTTG_01714	Fk506 binding prot	6.57/12.88
190	PTTG_09784	Hypothetical protein)	5.95/69.87
191	PTTG_00430	Enolase	5.98/47.25
192	PTTG_09276	Hypothetical protein	5.77/80.76



193	PSTG_11939	Hypothetical protein	6.77/267.70
	PGTG_21560	Hypothetical protein	8.69/78.72
194	PTTG_03025	Hypothetical protein	5.86/21.37
	PTTG_07306	2,3-bisphosphoglycerate-dependent phosphoglycerate mutase	5.88/23.82
195	PTTG_08248	Hypothetical protein	7.5945.24
197	PTTG_09038	Hypothetical protein	6.00/28.96
198	PTTG_09038	Hypothetical protein	6.00/28.96
199	PTTG_09038	Hypothetical protein	6.00/28.96
200	PTTG_03445	Hypothetical protein	6.20/22.59
201	PTTG_01903	Hypothetical protein	6.17/46.40
	PSTG_11939	Hypothetical protein	6.77/267.79
202	PTTG_09276	Hypothetical protein	5.77/80.76
204	PTTG_07306	2,3-bisphosphoglycerate-dependent phosphoglycerate mutase	5.88/23.82

209	PTTG_27324	Hypothetical protein	5.90/29.41
210	PTTG_01903	Hypothetical protein	6.17/46.40
212	PTTG_09276	Hypothetical protein	5.77/80.76
	PTTG_09784	Hypothetical protein	5.95/69.87
216	PTTG_29605	Hypothetical protein	7.23/58.85
218	PTTG_08360	Pyruvate kinase	6.43/57.63
220	PTTG_03445	Hypothetical protein	6.20/22.59
	PSTG_01145		5.70/37.88
221	PTTF_09276	Hypothetical protein	5.77/80.76
	PSTG_08642		6.10/125.69
222	PTTG_08360	Pyruvate kinase	6.43/57.63
223	PTTG_08360	Pyruvate kinase	6.43/57.63
225	PTTG_05785	Succinate dehydrogenase [ubiquinone] flavoprotein subunit, mitochondrial	6.67/70.79

227	PTTG_01458	PEP carboxykinase	6.23/64.25
231	PTTG_05785	Succinate dehydrogenase [ubiquinone] flavoprotein subunit, mitochondrial	6.67/70.79
234	PTTG_01458	PEP carboxykinase	6.23/64.25
257	PTTG_09784	Hypothetical protein	5.95/69.87
261	PTTG_00016	Hypothetical protein	6.25/58.93
	PTTG_12239	Hypothetical protein	7.10/97.98
263	PTTG_12239	Hypothetical protein	7.10/97.98
267	PTTG_05453	Glutamine synthetase	6.15/39.60
	PTTG_08909	CaMK protein kinase	6.03/40.32
269	PTTG_00430	Enolase	5.97/47.38
272	PTTG_09784	Hypothetical protein	5.95/69.87
274	PTTG_01684	Hypothetical protein	8.53/50.22
281	PTTG_03798	NADH dehydrogenase g-subunit	6.62/81.62
285	PTTG_06073	Hypothetical protein	8.05/47.74

286	PTTG_03821	Adenosyl homocystainase	5.97/47.06
	PTTG_04794	Elongation factor EF-Tu	8.53/52.40
287	PTTG_06073	Hypothetical protein	8.05/47.74
	PTTG_06742	Hypothetical protein	5.83/102.56
290	PTTG_05785	Succinate dehydrogenase	6.67/70.79
290A			
294	PTTG_01458	PEP carboxy kinase	6.23/64.25
296	PTTG_01458	PEP carboxy kinase	6.23/64.25
299	PTTG_04303	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase	6.54/26.53
305	PTTG_09276	Hypothetical protein)	5.77/80.76
306	PTTG_02168	Phosphogluco mutase	6.25/60.70
307	PTTG_02168	Phosphogluco mutase	6.25/60.70
309	PTTG_01152	Hypothetical protein	6.44/57.04
310	PTTG_29181	Hypothetical protein	6.23/83.85

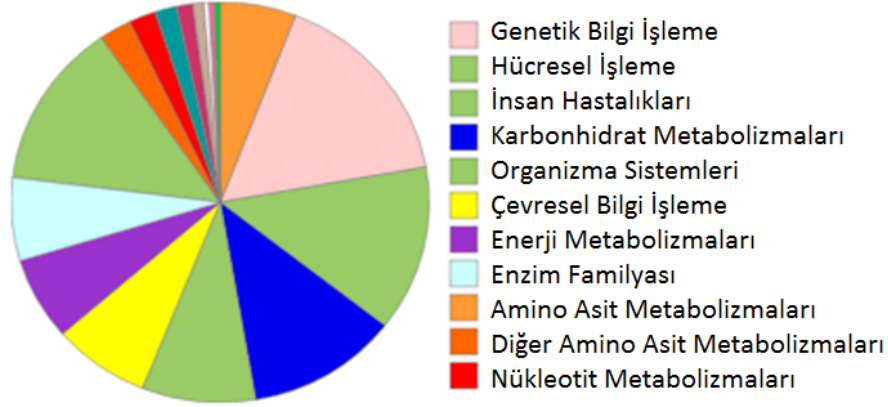
315	PTTG_02169	Hypothetical p̄rotein	6.30/32.84
318	PTTG_09428	Hypothetical p̄rotein	6.21/38.48
320	PTTG_00389	Guanine nucleotide-binding protein subunit beta-like protein	6.31/34.73
321	PTTG_05810	20S proteasome subunit beta	5.94/23.71
322	PTTG_01421	Hypothetical protein	6.39/44.49
332	PTTG_29878	Transaldolase	6.30/38.78
337	PTTG_01152	Hypothetical protein	6.44/57.04
338	PTTG_06268	Hypothetical protein	6.22/23.14
340	PTTG_06466	Isocitrate lyase	6.94/63.84
341	PTTG_06754	Catalase	6.26/59.54
347	PTTG_06754	Catalase	6.26/59.54
348	PGTG_1220 4	Tubulin β chain	4.83/50.14
351	PTTG_17649	UTP-glucose-1-phosphate uridylyl transferase	6.37/53.87
356	PGTG_1764	UTP-glucose-1-phosphate uridylyl	6.25/53.87

	9	transferase	
--	---	-------------	--

*Puccinia triticina* race 1'in *in vitro* germinasyonu sonucu germ tüplerinden elde edilen yüzey proeinlerinin Sinyal peptid içerip içermedikleri, sinyal peptid içerenlerin hedef organellerinin neresi olduğu yani N- terminal sinyal peptid içerip içermedikleri, transmembran domain içerikleri, görev aldıkları biyolojik prosesleri ve hücre altı lokalizasyonları Bölüm 3.8 de verilen biyoinformatik analizler ile gerçekleştirildi. Yapılan analizler sonucunda tanımlanan proteinlerin hücre altı lokalizasyonu Şekil 4.4 te verildiği şekilde dağılım göstermektedir.

117 proteinin BlastKOALA analizi ile gerçekleştirilen analiz sonucunda 94 protein için sonuç alınabilmiştir ve proteinlerin yer aldıkları biyolojik prosesleri gösterir pasta grafiği Şekil 4.5 de verilmektedir.

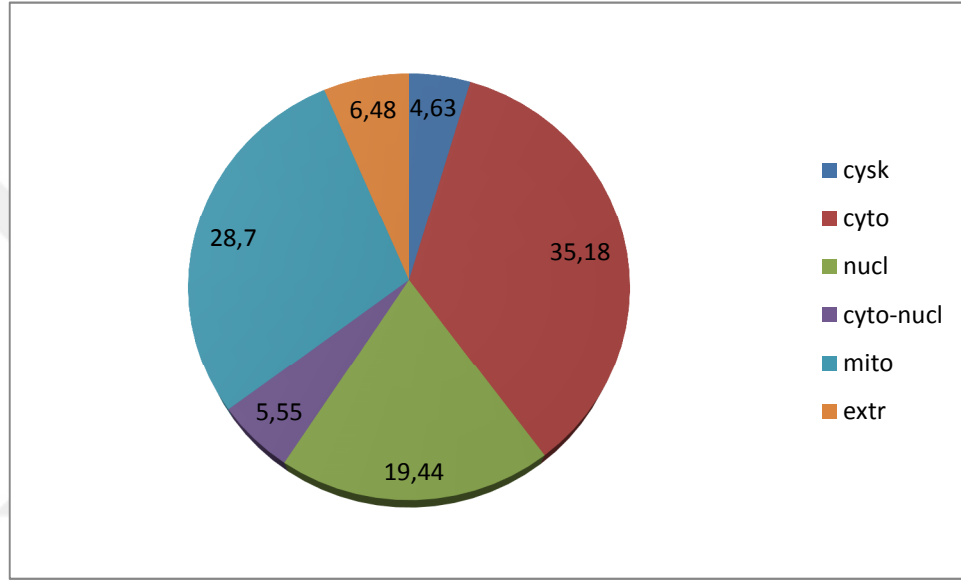
94 girdiler (80.3%) Açıklamalı



Şekil 4.5. *In vitro* çimlendirilmiş Kahverengi pas üredo spor yüzey proteinlerinin yer aldığı biyolojik prosesler (KEGG Fungal Database, BlastKoala option, Kanahisa vd.

2016)

117 proteinden WoLF PSORT analizi ile 108 tanesinin hücre içi lokalizasyonu tahmin edildi çünkü bu program protein dizisinin M (metiyonin) amino asidi ile başlamasını temel almaktadır ve proteinlerin lokalizasyon pasta grafiği şekil 4.5 da verilmiştir.



Şekil 4.6. Aday PAMP proteinlerinin hücre altı lokalizasyon pasta grafiği

Ayrıca tanımlanan proteinlerin çok büyük bir kısmı (yaklaşık %60) hipotetik protein olarak tanımlanmıştır. Bu proteinlerin fonksiyonlarının tahmin edilebilmesi için sahip oldukları domain analizleri SMART ve PFAM WEB tabanlı biyoinformatik analizleri ile gerçekleştirildi. Analiz sonuçları Tablo 4.2 de sunulmaktadır.

Tablo 4.2 *Puccinia triticina* germ tüpleri yüzey proteinleri için Domain analiz sonuçları

Spot No	Aksesyon No	Domain
3	PTTG_03499	EF1-BETA
7	PTTG_01669	RAN-BP1
	PSTG_17414	AMİNOTRANSFERASE 1 AND 2
14	PTTG_06852	EUKARYOTIC ASPARTYL PROTEASE
15	PTTG_02090	NUCLEOSOME ASSEMBLY PROTEIN
	PSTG_17414	AMINOTRANSFERASE 1 &2
19	PTTG_05456	PROFILIN
20	PTTG_01827	THİOREDOXIN
22	PTTG_02217	SGTA DIMER DOM AND TETRATRIPEPTIDE DOM
24	PTTG_01827	THİOREDOXIN
27	PTTG_27503	TROPOMYOSIN LIKE
31	PTTG_02217	SGTA DIMER DOM AND TETRATRIPEPTIDE DOM



39	PTTG_09144	PGM-PMM DOM
46	PTTG_05513	ATPase family associated with various cellular ACTIVITY
50	PTTG_07437	PEPTIDASE S9
51	PTTG_01758	RIBOSOMAL PROTEIN S2
64	PTTG_03718	CALPONIN HOMOLOGY DOM
	PTTG_01641	RNASE_PH
65	contaminant	
66	PSTG_03501	ACTIN
67	PSTG_03501	ACTIN
74	PTTG_03524	RHO protein GDP dissociation inhibitor
76	PTTG_09204	Inositol monophosphatase family
78	PTTG_09204	Inositol monophosphatase family
90	PSTG_12276	BİLİNEN BİR MOTİF VEYA DOMAIN BULUNMAMAKTA
92	PTTG_09144	PGM-PMM
93	PTTG_06345	RAD51
95	PTTG_09276	Putative stress-responsive nuclear envelope protein

96	PTTG_09144	PGM-PMM
97	PGTG_13966	ACYL CoA DH
105	PSTG_04289	ACYL COA DH
	PTTG_09276	Putative stress-responsive nuclear envelope protein
108	PTTG_03022	tRNA ANTICODON AND RPA-C
111	PTTG_09887	KR DOM ALKOL DEHİDROGENAZ KISA ZİNCİR DOM
	PTTG_01991	ENOYL REDUCTASE
114	PTTG_09971	DUF3759
115	PGTG_00252	DUF 3759
119	PTTG_09796	DAK 1 AND 2 DOM
122	PTTG_09784	transketolase
	PTTG_06246	Adh short
127	PTTG_09276	Putative stress-responsive nuclear envelope protein
128	PTTG_09870	NAD BINDING 3 AND HOMOSERINE DH

133	PTTG_02001	DHH AND DHHA2
	PTTG_07863	PUTATIVE PHOSPHATASE
139	PTTG_08656	ELF 2B-5/IF2B-IF5
	PTTG_08249	ALDEHYDE DH FAMILY
140	PTTG_08249	ALDEHYDE DH FAMILY
141	PTTG_08249	ALDEHYDE DH FAMILY
149	PTTG_06888	haloacid dehalogenase-like hydrolase
150	PTTG_01903	PEPTIDASE M16
154	PTTG_01903	PEPTIDASE M16
160	PTTG_09276	Putative stress-responsive nuclear envelope protein
161	PTTG_06273	RNA RECOGNITION MOTIFS REPEATS
165	PTTG_01903	PEPTIDASE M16
167	PTTG_09553	TIP49 C TERMINUS
	PTTG_28577	AMINO TRANSFERASE 1 VE 2

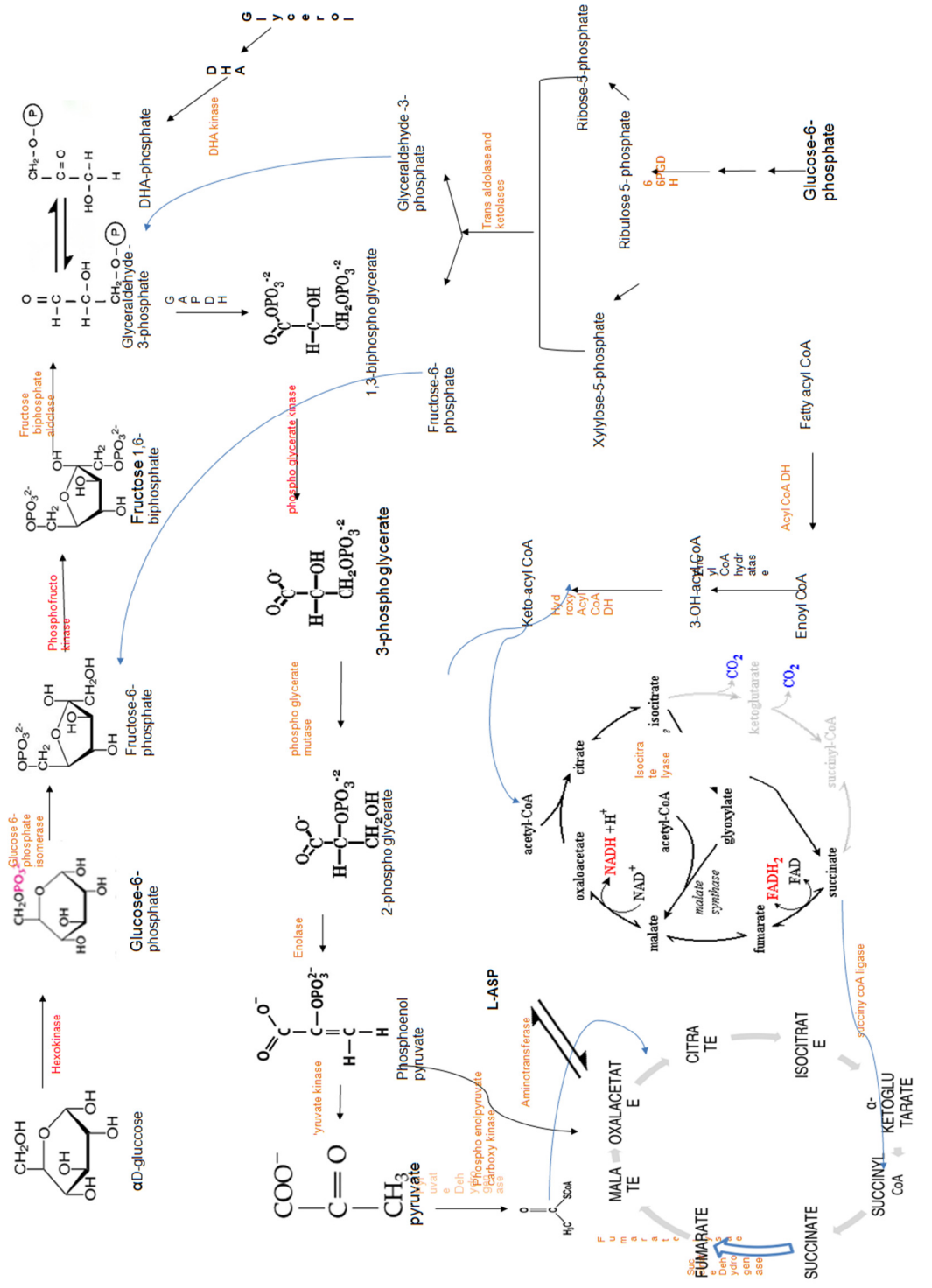
	PTTG_09276	Putative stress-responsive nuclear envelope protein
169	PTTG_03429	INORGANIC PYROPHOSPHATASE
171	PTTG_09731	BIOTIN REQUIRING ENZYME AND 2-OXO ACID DH
174	PTTG_09731	BIOTIN REQUIRING ENZYME AND 2-OXO ACID DH
175	PTTG_09276	Putative stress-responsive nuclear envelope protein
182	PTTG_04265	ELECTRON TRANSFER FLAVOPROTEIN
185	PTTG_09276	Putative stress-responsive nuclear envelope protein
186	PTTG_04566	UDPGP
190	PTTG_09784	Transketolase
192	PTTG_09276	Putative stress-responsive nuclear envelope protein
193	PSTG_11939	RAS-GEF DOM.
	PGTG_21560	DUF
194	PTTG_03025	PRIDOXAMINE 5' PHOSPHATE OXIDASE LIKE
195	PTTG_08248	ATP-GRASP AND COA LIGASE DOM
197	PTTG_09038	SHORT CHAIN DH

198	PTTG_09038	SHORT CHAIN DH
199	PTTG_09038	SHORT CHAIN DH
200	PTTG_03445	GLYCOLIPID TRANSFER PROTEIN
201	PTTG_01903	PEPTIDASE M16
	PSTG_11939	RAS-GEF DOM
202	PTTG_09276	Putative stress-responsive nuclear envelope protein
209	PTTG_27324	DUF4336
210	PTTG_01903	PEPTIDASE M16
212	PTTG_09276	Putative stress-responsive nuclear envelope protein
	PTTG_09784	TRANSKETOLASE
216	PTTG_29605	ENOYL COA HYDRATASE, ISOMERASE
220	PTTG_03445	GLYCOLIPID TRANSFER OROT
	PSTG_1145	
221	PTTF_09276	Putative stress-responsive nuclear envelope protein
	PSTG_08642	MULE TRANSPOSASAS

231	PTTG_05785	FAD BINDING 2 AND FUMARATE REDUCTASE FLAVO PROTEIN
257	PTTG_09784	Transketolase
261	PTTG_00016	PEPTIDASE INHIBITOR 19 AND PEPTIDASE S8 (SUBTILASE FAMILY)
	PTTG_12239	Proteasome, COP9, Initiation factor 3
263	PTTG_12239	Proteasome, COP9, Initiation factor 3
272	PTTG_09784	Transketolase
274	PTTG_01684	E1 DEHYDROGENASE
285	PTTG_06073	NUCLEOTIDYL TRANSFERASE, BACTERIAL TRANSFERASE HEXAPEPTIDE
287	PTTG_06073	NUCLEOTIDYL TRANSFERASE, BACTERIAL TRANSFERASE HEXAPEPTIDE
	PTTG_06742	DPPIV (DIPEPTIDYL PEPTIDASE IV)
305	PTTG_09276	Putative stress-responsive nuclear envelope protein
309	PTTG_01152	AMINO OXIDASE/NAD BINDING 8
310	PTTG_29181	SPERMINE SPERMIDINE SYNTHASE, SACCHAROPINE DH

315	PTTG_02169	SERINE AMINO PEPTIDASE S33
318	PTTG_09428	ALCOHOL DEHYDROGENASE GROES LIKE DOM, ZINC BINDING DEHYDROGENASE
337	PTTG_01152	AMINO OXIDASE/NAD BINDING 8
338	PTTG_06268	GLUTATHIONE S-TRANSFERASE

Ayrıca tanımlanan proteinler ışığında *P. triticina race-1* in aktif olan temel metabolik yolları Şekil 4.7 da verilmektedir.



Şekil 4.7. *P. triticina race-1*'in germ tüpleri yüzey proteinlerinde aktif olan temel metabolik yollar



## KAYNAKLAR

Abramovitch, R.B., Anderson, J.C., Martin, G.B. 2006. "Bacterial elicitation and evasion of plant innate immunity." *NatRevMol Cell Biol.* 7:601-602

Aksoy HM. ve Öz, A., 2012. "Bakteriyel Patojenlere Karşı bitkilerdeki dayanıklılık mekanizmaları". *Anadolu Tar. Bil. Der.* 27: 165-173

Arenas YC, Kalkman ERIC, Schouten A, Dieho M, Vredenburg P, Uwumukiza B, Ruiz MO, van Kan JAL, 2010. Functional analysis and mode of action of phytotoxic Nep1-like proteins of *Botrytis cinerea*. *Physiol Mol Plant Pathol* 74:376–386

Ausubel, F.M., 2005. "Are innate immune signaling pathways in plants and animals conserved?" *Nature Immunol.* 6, 973–979

Avni A., Bailey B.A., Mattoo A.K., Anderson J.D., 1994. Induction of ethylene biosynthesis in *Nicotiana tabacum* by a *Trichoderma viride* xylanase is correlated to the accumulation of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) synthase and ACC oxidase transcripts. *Plant Physiol* 106:1049–1055

Bailey B.A, Dean J.F.D., Anderson J.D., 1990. An ethylene biosynthesis-inducing endoxylanase elicits electrolyte leakage and necrosis in *Nicotiana tabacum* cv Xanthi leaves. *Plant Physiol* 94:1849–1854

Bae H, Kim MS, Sicher RC, Bae H-J, Bailey BA. 2006. Necrosis- and ethylene-inducing peptide from *Fusarium oxysporum* induces a complex cascade of transcripts associated with signal transduction and cell death in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 141:1056–1067

Bent AF. ve ark., 1994. "RPS2 of Arabidopsis :a leucinerich repeat class of plant disease resistance genes." *Science* 265:1856-1860

Bent AF, Mackey D, 2007. "Elicitors, effectors, and R genes: The new paradigm and a life time supply of questions." *Annu. Rev. Phytophthol.* 45: 399-436

- Boller T, Felix G, 2009. ‘A renaissance of elicitors: perception of microbe-associated molecular patterns and danger signals by pattern-recognition receptors.’ *Annu Rev Plant Biol* 60:379–406
- Caplan Jeffrey, Meenu Padmanabhan, Savithramma P. Dinesh-Kumar, 2008. ‘Plant NB-LRR Immune Receptors: From Recognition to Transcriptional Reprogramming.’ *Cell Host and Microbe* vol:3,3:126-135
- Dang JL, JonesJD, 2001. ‘Plan tpathogens and integrated defence responses to infection.’ *Nature* 411:826-833
- De Wit, P.J.G.M. ve Joosten, M. H. A. J., 1999. ‘Avirulence and resistance genes in the *Cladosporium fulvum*-tomato interaction.’ *Curr. Opin. Microbiol.* 2,368
- Eckardt NA., 2008. ‘Chitin signaling in plants: insights into the perception of fungal pathogens and rhizobacterial strains.’ *Plant Cell* 20:241–243
- Fellbrich G., Romanski A., Varet A., Blume B., Brunner F., Stefan Engelhardt S., Felix G., Kemmerling B., Krzymowska M., Nürnberger T., 2002. NPP1, a *Phytophthora*-associated trigger of plant defence in parsley and *Arabidopsis*. *Plant J* 32:375–390
- Finn RD, Cogill P, Eberhardt RY, Eddy S.R., Mistry J., Mitchell A.L., Potter S.C.,Punta M., Qureshi M., Sangrador-Vegas A., Salazar G.A., Tate J., Bateman A., 2016. ‘The Pfam protein families database: towards a more sustainable future.’
- Floor H H., 1955. ‘Host-parasite interaction in flaxrust: its genetics and other implications.’ *Phyto-pathology* 45, 680-685
- Floor H H., 1971. ‘Currentstatus of gene-for-gene concept.’ *Annual Reviews of Phytopatology* 9:275-296
- Gururani, M.A., Venkatesh, J., Upadhyaya, C., Nookaraju, A., Pandey, S.K., Park, S.W., 2012. ‘Plant disease resistance genes: Current status and future directions.’ *Physiological and Molecular Plant Pathology* 78, 51-65

Gust AA., Biswas R., Lenz HD., Rauhut T., Ranf S., Kemmerling B., Götz F., Glawischnig E., Lee J., Felix G., Nurnberger T., 2007. “Bacteria-derived peptidoglycans constitute pathogen-associated molecular patterns triggering innate immunity in *Arabidopsis*.” *J Biol Chem* 282:32338–32348

Harholt J., Suttangkakul A., Scheller HV., 2010. “Biosynthesis of pectins.” *Plant Physiol* 153: 384–395

He, P., Shan, L., Lin, N.C., Martin, G.B., Kemmerling, B., Nurnberger, T., Sheen J., 2006. “Specific bacterial suppressors of MAMP signaling upstream of MAPKKK *Arabidopsis* innate immunity.” *Cell* 12:563-575

Horton P., Park KJ, Obayashi T., Fujita N., Harada H., Adams-Collier CJ., Nakai K., 2007. Jul;35 (Web Server issue): W585-7. Epub

James W. B. ve ark., 2010. “Effect of light exposure on in vitro germination and germ tube growth of eight species of rust fungi.” *Mycologia* 102(5): 1134-1140

Jennings J.C., Apel-Birkhold P.C., Mock N.M., Baker C.J., Anderson J.D., Bailey B.A., 2001. Induction of defense responses in tobacco by the protein Nep1 from *Fusarium oxysporum*. *Plant Sci* 161:891–899

Jones JD, Dangl JL., 2006. “The plant immun system.” *Nature* 444:323-323

Jonge, R., Thomma B., P., H., J., 2009. “Fungal LysM effectors: extinguishers of host immunity?” *Trends in Microbiology*, Vol:17, 151-157

Kasparovsky T., Milat M-L., Humbert C., Blein J-P., Havel L., Mikes V., 2003. “Elicitation of tobacco cells with ergosterol activates a signal pathway including mobilization of internal calcium.” *Plant Physiol Biochem* 41:495–501

Keates SE, Kostman TA, Anderson JD, Bailey BA (2003) Altered gene expression in three plant species in response to treatment with Nep1, a fungal protein that causes necrosis. *Plant Physiol* 132:1610–1622

Kunze G., Zipfel C., Robatzek S., Niehaus K., Boller T., Felix G., 2004. “The N terminus of bacterial elongation factor Tu elicits innate immunity in *Arabidopsis* plants.” *Plant Cell* 16:3496–3507

Laquitaine L., Gomès E., François J., Marchive C., Pascal S., Hamdi S., Atanassova R., Delrot S., Coutos-Thévenot P., 2006. “Molecular Basis of Ergosterol-Induced Protection of Grape Against *Botrytis cinerea*: Induction of Type I LTP Promoter Activity, WRKY, and Stilbene Synthase Gene Expression” *Molecular Plant-Microbe Interactions* Volume 19, Number 10 Pages 1103-1112

Lawrence GJ. ve ark. ,1995. “The 16 gene for flax rust resistance is related to the *Arabidopsis* bacterial resistance gene RPS2 and the tobacco viral resistance gene N.” *Plant Cell* 7:1195-1206

Leach J.E. ve White F.F., 1996. “Bacterial avirulence genes.” *Annu. Rev. Phytopathol.* 34:153

Leverly SB, Momany M, Lindsey R, Toledo MS, Shayman JA, Fuller M, et al. Disruption of the glucosylceramide biosynthetic pathway in *Aspergillus nidulans* and *Aspergillus fumigatus* by inhibitors of UDP-Glc: ceramide glucosyltransferase strongly affects spore germination, cell cycle, and hyphal growth. *FEBS Lett.* 2002;525:59-64

Lohmann GV., Shimoda Y., Nielsen W., Jørgensen FG., Grossmann C., SandalN SK., Thirup S., Madsen LH., Tabata S., Sato S., Stougaard J., Radutoiu S., 2010. “Evolution and regulation of the *Lotus japonica* LysM receptor gene family.” *Mol Plant Microbe Interact* 23:510–521

Mendgen K., Hahn M., 2004. “Plant infection and the establishment of fungal biotrophy.” *Current Opinion in Plant Biology.* 78(1):356–364

Mert Z., 2010, “Türkiye’ de buğdayda kara pas (*Puccinia graminis f. sp. tritici*) ırkları/ patotiplerinin ve bunların bazılarına karşı dayanıklı materyalin belirlenmesi.”

Molinaro A., Newman M-A., Lanzetta R., Parrilli M., 2009. “The structures of lipopolysaccharides from plant-associated gram-negative bacteria.” *Eur J Org Chem* 34:5887–5896

Motteram J, Kűfner I, Deller S, Brunner F, Hammond-Kosack KE, Nurnberger T, Rudd JJ, 2009. Molecular characterization and functional analysis of *MgNLP* the sole NPP1 domain- containing protein from the fungal wheat leaf pathogen *Mycosphaerella graminicola*. *Mol Plant Microbe Interact* 22:790–799

Naito K., Ishiga Y., Toyoda K., Shiraishi T., Ichinose Y., 2007. N-terminal domain including conserved fl g22 is required for flagellin-induced hypersensitive cell death in *Arabidopsis thaliana*.” *J Gen Plant Pathol* 73:281–285

Newman, M.A., Sundelin T., Nielsen, J. T. ve Erbs, G., 2013. “MAMP (microbe associated molecular pattern) triggered immunity in plants.” *Frontiers in Plant Science* vol. 4, 139:1-14

Ritter C. ve Dangl J.L., 1995. “The *avrRpm1* gene of *Pseudomonas syringae* pv. *meculicola* is required for virulence on *Arabidopsis*.” *Mol. Plant-Microbe Interact.* 8, 444

Robatzek S., Bittel P., Chinchilla D., Kűchner P., Felix G., Shiu SH., Boller T., 2007. “Molecular identification and characterization of the tomato flagellin receptor *LeFLS2* an orthologue of *Arabidopsis* *FLS2* exhibiting characteristically different perception specificities.” *Plant Mol Biol* 64:539–547

Ron M., Avni A., 2004. The receptor for the fungal elicitor ethylene-inducing xylanase is a member of a resistance-like gene family in tomato. *Plant Cell* 16:1604–1615

Rossard S., Roblin G., Atanassova R., 2010. “Ergosterol triggers characteristic elicitation steps in *Beta vulgaris* leaf tissues.” *J Exp Bot* 61:1807–1816

Scheller HV, Ulvskov P, (2010). Hemicelluloses. *Annu Rev Plant Biol* 61: 263–289

Schouten A, van Baarlen P, van Kan JAL, 2008. Phytotoxic Nep1-like proteins from the necrotrophic fungus *Botrytis cinerea* associated with membranes and the nucleus of plant cells. *New Phytol* 177:493–505

Schulze-Lefert P., Panstruga R., 2003. “Establishment of biotrophy by parasitic fungi and reprogramming of host cells for disease resistance.” *Annual review of phytopathology* 41(1):641–667

Schuster SC., Khan S., 1994. “The bacterial flagellar motor.” *Annu Rev Biophys Biomol Struct* 23:509–539

Silipo A., Erbs G., Shinya T., Dow J.M., Parrilli M., Lanzetta R., Shibuya N., Newman M.A., Molinaro A., 2010. “Glyco-conjugates as elicitors or suppressors of plant innate immunity” *Glycobiology* (2010) 20 (4): 406-419.

Singh R.P., Huerta-Espino J., Roelfs A.P., 2002. “The wheat rusts.” *FAO Corporate Document Repository*

Somerville C., 2006. “Cellulose Synthesis in Higher Plants” *Annual Review of Cell and Developmental Biology* Vol. 22:53-78

Stone J.K., Necrotroph. In: Maloy O.C., Murray T.D., editors. *Encyclopedia of Plant Pathology*. 1. Vol. 2. Vol. 8. New York: Wiley; 2001. pp. 676–677

Takai R., Isogai A., Takayama S., Che F-S., 2008. “Analysis of flagellin perception mediated by fl g22 receptor OsFLS2 in rice.” *Mol Plant Microbe Interact* 21:1635–1642

Tor M., Brown D., Cooper A., Woods-Tor A., Sjolander K., et al., 2004. “Arabidopsis downy mildew resistance gene RPP27 encodes a receptor-like protein similar to CLVATA2 and tomato CF-9.” *PlantPhysiol* 135:1100-1112

Umemura K., Tanino S., Nagatsuka T., Koga J., Iwata M., Nagashima K., Amemiya Y., 2004. "Cerebroside elicitor confers resistance to Fusarium disease in various plant species." *Phytopathology* 94:813–818

Varnier AL., Sanchez L., Valsa P., Boudesocque L., Garcia-Brugger A., Rabenoelina F., Sorokin A., Renault J.H., Kauffmann S., Pugin A., Clement C., Baillieu F., Dorey S., 2009. "Bacterial rhamnolipids are novel MAMPs conferring resistance to *Botrytis cinerea* in grapevine." *Plant Cell Environ* 32:178–193

Vatsa P., Sanchez L., Clement C., Baillieu F., Dorey S., 2010. "Rhamnolipid Biosurfactants as New Players in Animal and Plant Defense against Microbes" *Int. J. Mol. Sci.* 2010, 11(12), 5095-5108

Wan J., Zhang X-C., Neece D., Ramonell K.M., Clough S., Kim S-Y., Stacey M.G., Stacey G., 2008a. "LysM receptor-like kinase plays a critical role in chitin signaling and fungal resistance in *Arabidopsis*." *Plant Cell* 20:471–481

Wan J., Zhang X-C., Stacey G., 2008b. "Chitin signaling and plant disease resistance." *Plant Signal Behav* 3:831–833

Xiao S., Ellwood S., Calis O., Patrick E., Li T., et al., 2001. "Broad-spectrum mildew resistance in *Arabidopsis* mediated by RPW8." *Science* 291:118-120

Yamaguchi T., Ito Y., Shibuya N., 2000b. "Oligosaccharide elicitors and their receptors for plant defense responses." *Trends Glycosci Glyotechnol* 12:113–120

Yamaguchi T., Maehara Y., Kodama O., Matsumura M., Shibuya N., 2002. "Two purified oligosaccharide elicitors N-acetylchitoheptaose and tetraglucosyl glucitol derived from *Magnaporthe grisea* cell walls synergistically activate biosynthesis of phytoalexin in suspension-cultured rice cells." *J Plant Physiol* 159:1147–1149

Yamaguchi T., Yamada A., Hong N., Ogawa T., Ishii T., Shibuya N., 2000a. "Differences in the recognition of glucan elicitor signals between rice and soybean:  $\beta$ -

glucan fragments from the rice blast disease fungus *Pyricularia oryzae* that elicit phytoalexin biosynthesis in suspensioncultured rice cells.” *Plant Cell* 12:817–826

Zamioudis C., Pieterse C.M.J., 2012. “Modulation of Host Immunity by Beneficial Microbes” *Molecular Plant-Microbe Interactions* Volume 25, Number 2 Pages 139-150

Zeidler D., Zähringer U., Gerber I., Hartung T., Bors W., Hutzler P., Durner J., 2004. “Innate immunity in *Arabidopsis thaliana* : lipopolysaccharides activate nitric oxide synthase NOS and induce defense genes.” *Proc Natl Acad Sci USA* 101:15811–15816

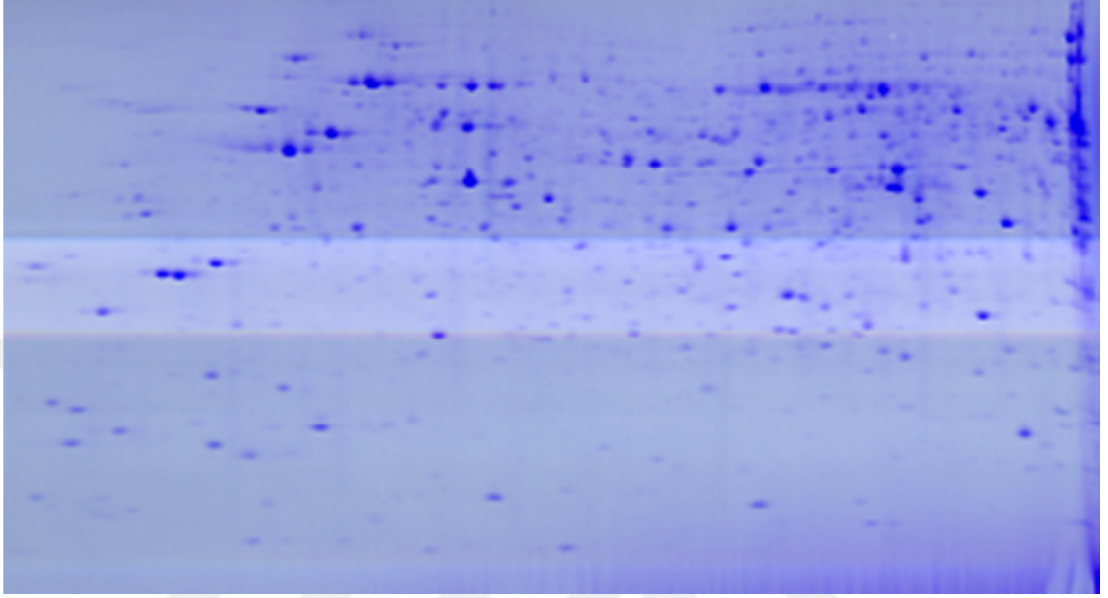
Zipfel C., Robatzek S., Navarro L., 2004. “Bacterial disease resistance in *Arabidopsis* through flagellin perception.” *Nature* 428:764-764

Zipfel, C., 2008. “Pattern-recognition receptors in plant innate immunity.” *Curr.Opin. Immunology*, 20, 10-16

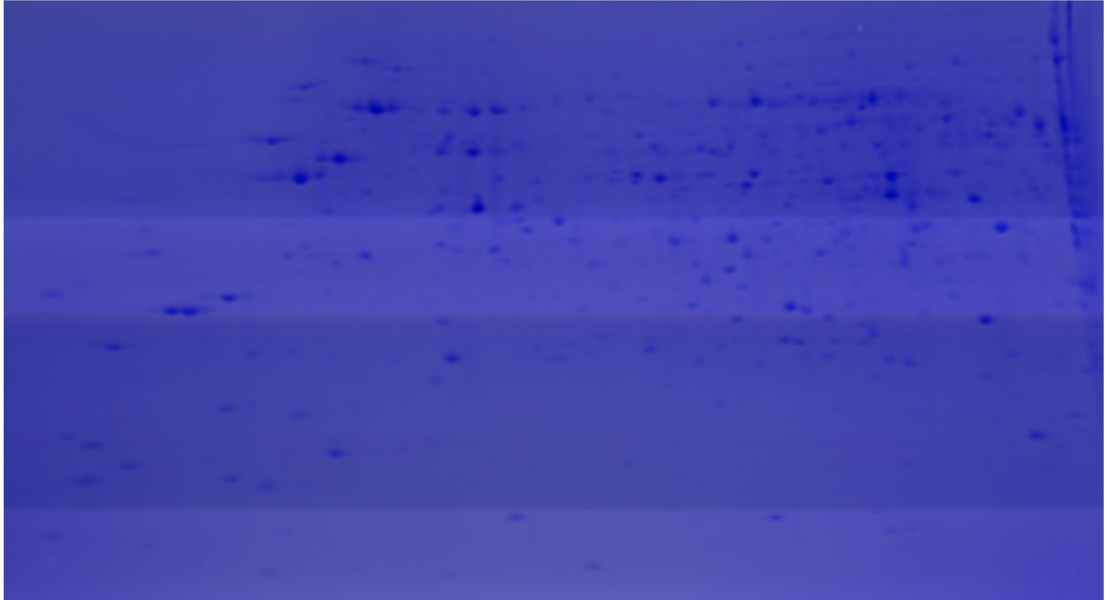


**EKLER**

Her bir biyolojik tekrardan elde edilen protein ve her biyolojik tekrara ait teknik tekrarların 2D-PAGE profilleri



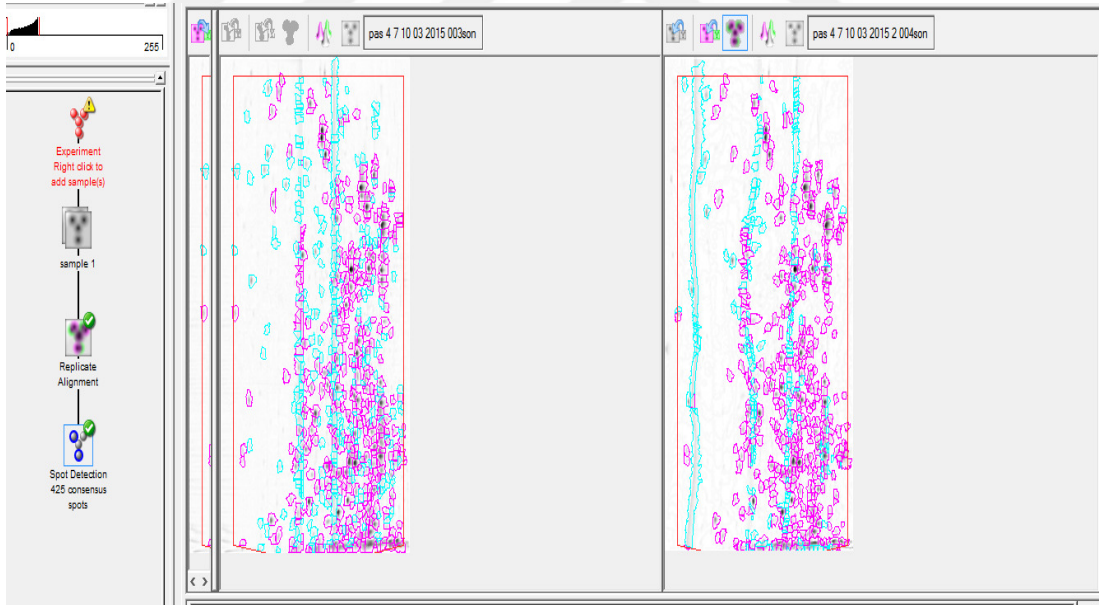
Ek 6.1.1.1. Biyolojik Replika 1. Jel görüntüsü ( pH 4-7 aralığı, %10-20 konsantrasyonlu gradyent jelde spotların görüntüsü)



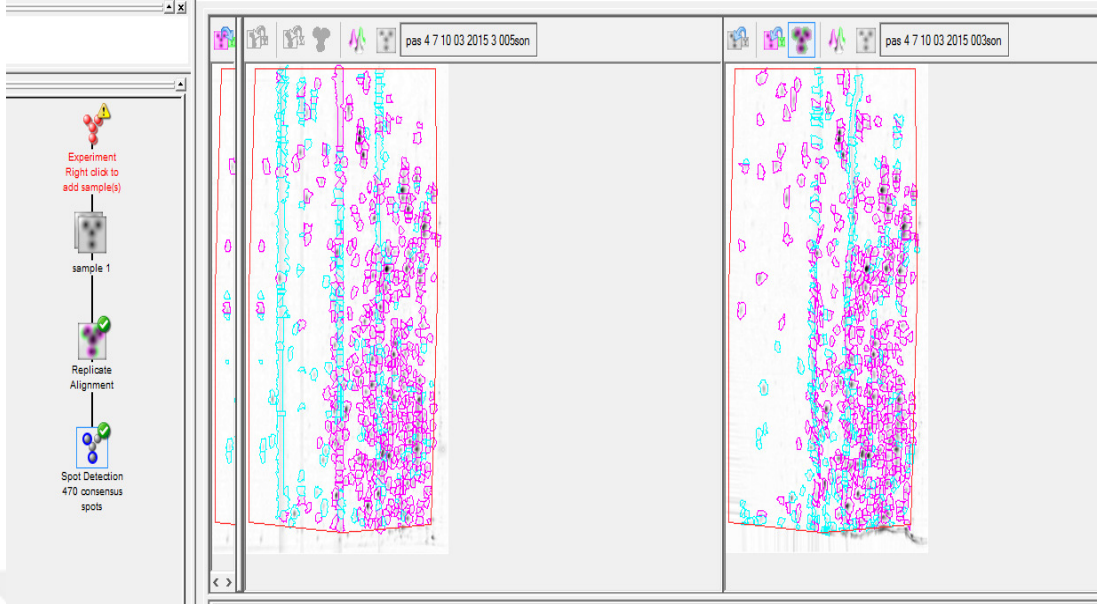
Ek 6.1.2 1. Biyolojik Replika 2. Jel görüntüsü



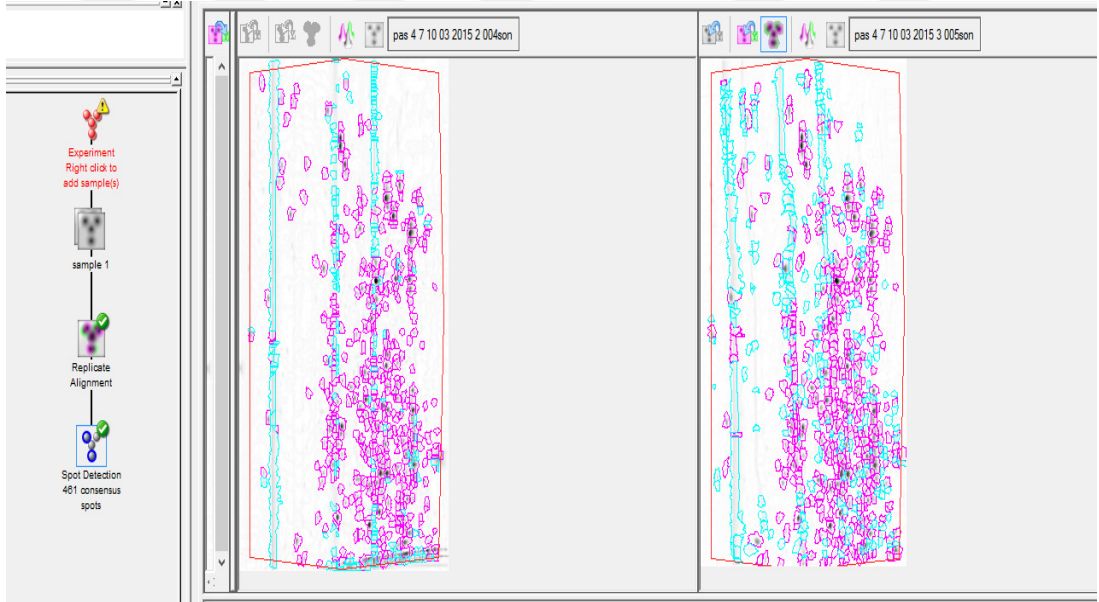
Ek 6.1.3 1. Biyolojik Replika 3. Jel görüntüsü



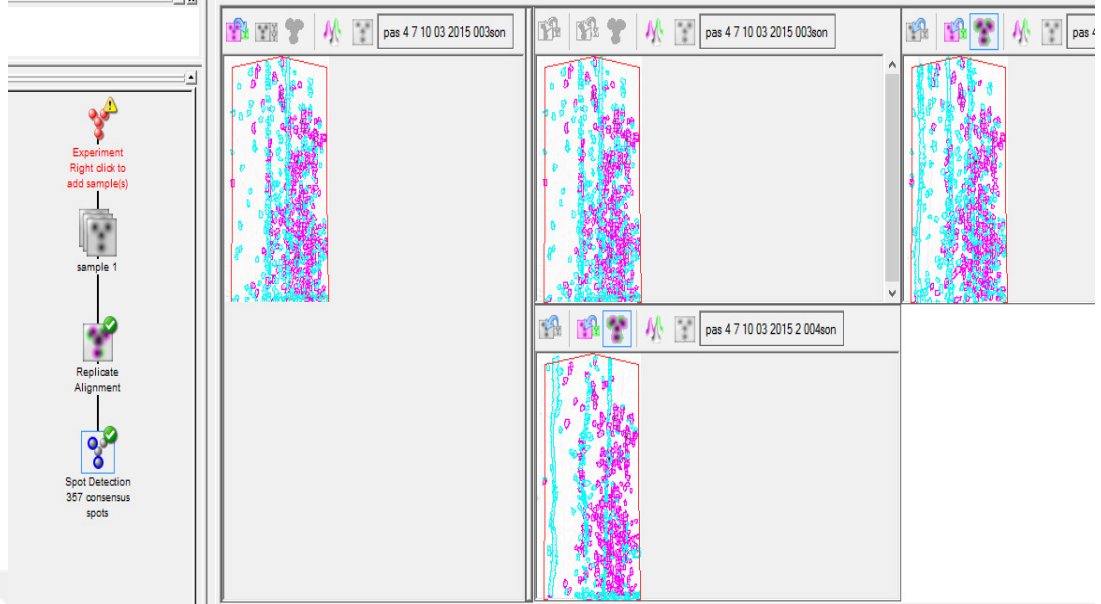
Ek 6.1.4 1. Biyolojik Replika 1. ve 2. Jellerinin ortak spotlarının karşılaştırılması



Ek 6.1.5 1. Biyolojik Replika 1. Ve 3. Jellerinin ortak spotlarının karşılaştırılması

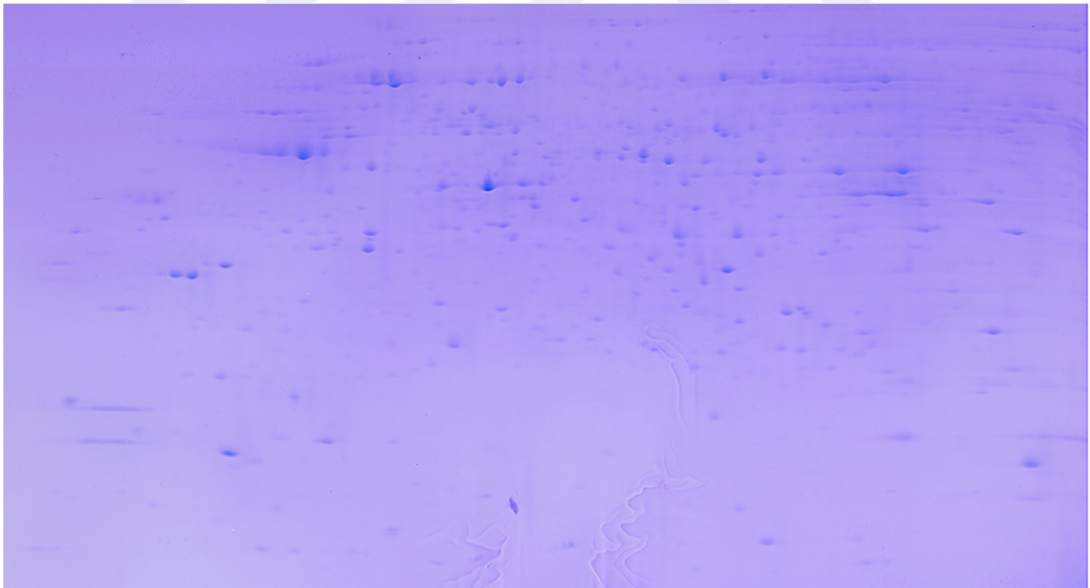


Ek 6.1.6 1. Biyolojik replika 2. Ve 3. Jellerinin ortak spotlarının karşılaştırılması



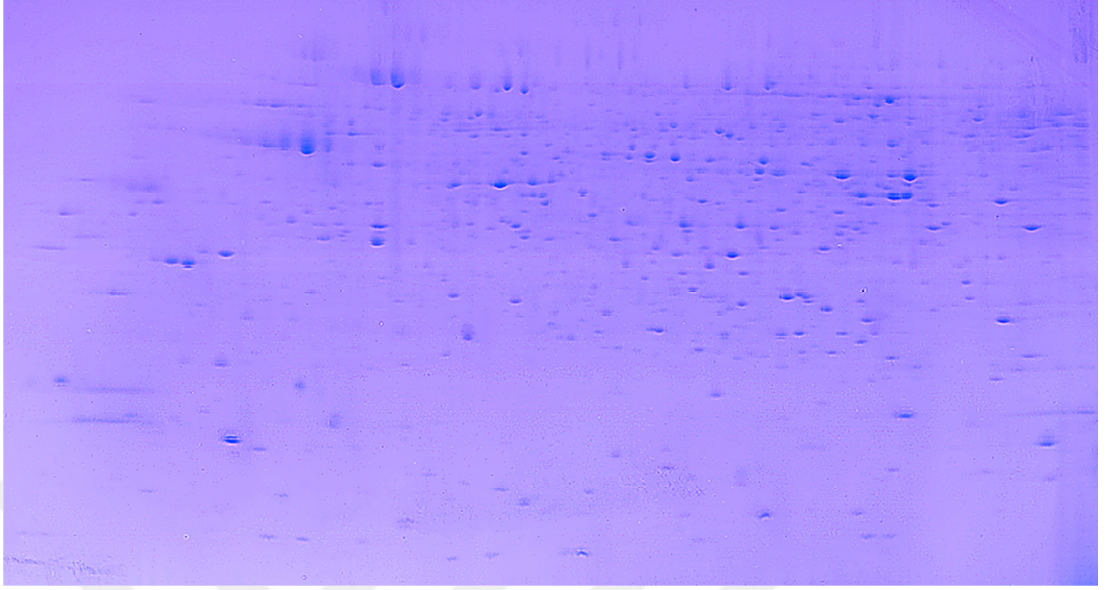
+

Ek 6.1.7 1. Biyolojik Replika 3 jelin ortak spotlarının karşılaştırılması

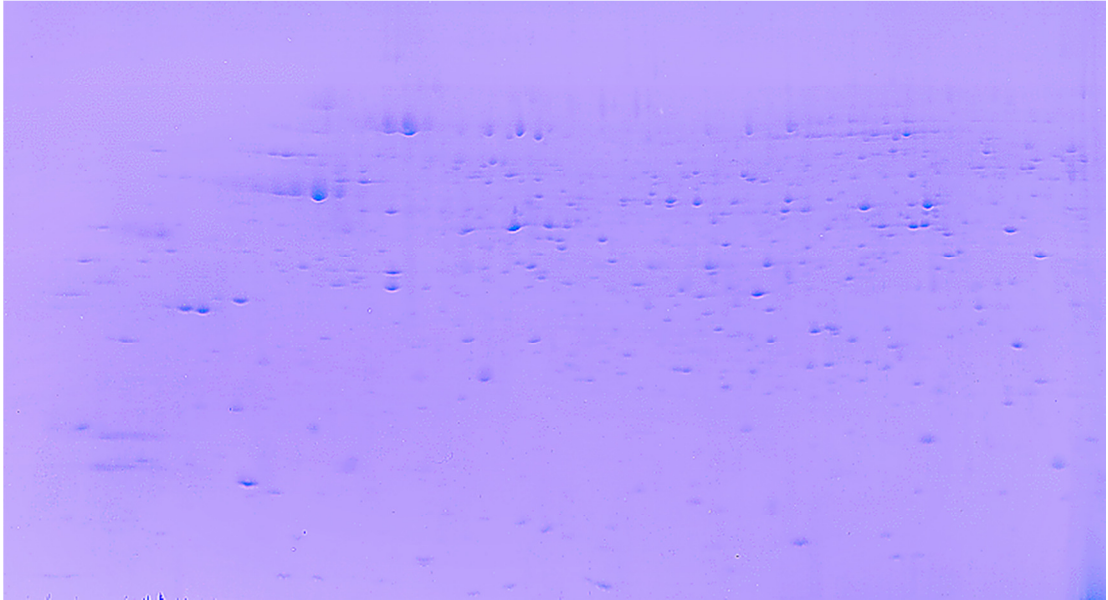


Ek 6.1.8 2. Biyolojik Replika 1. Jel görüntüsü

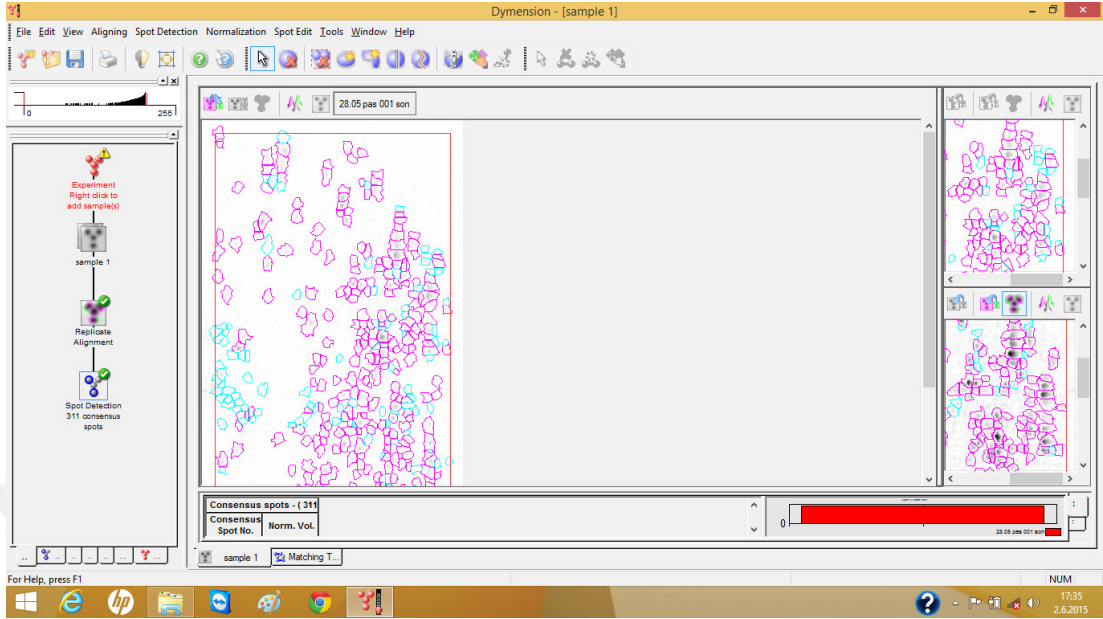




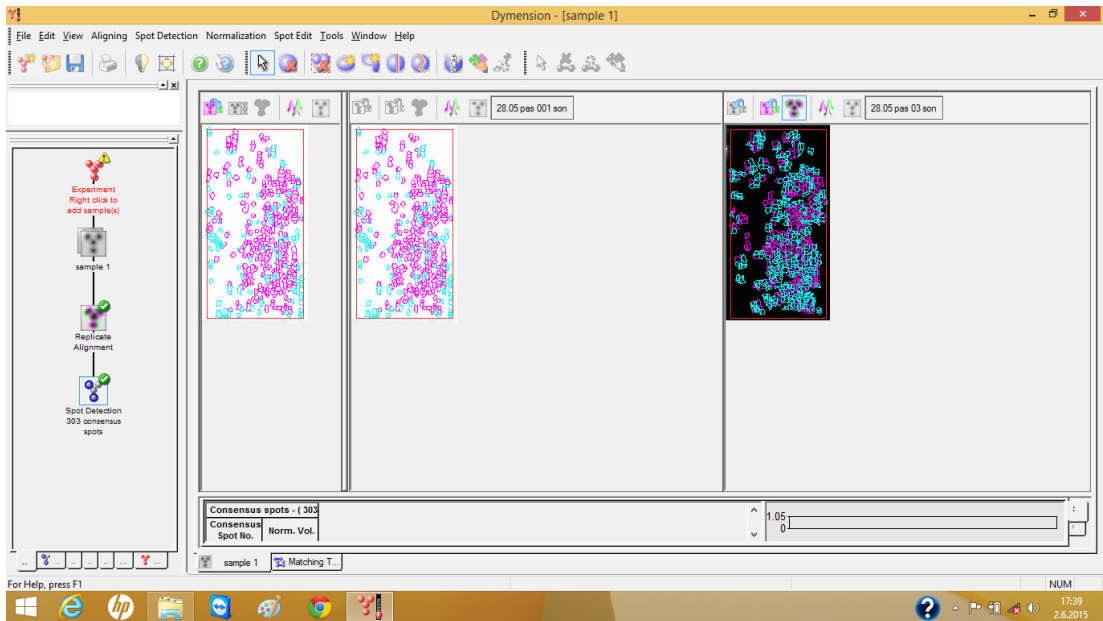
Ek 6.1.9 2. Biyolojik Replika 2. Jel görüntüsü



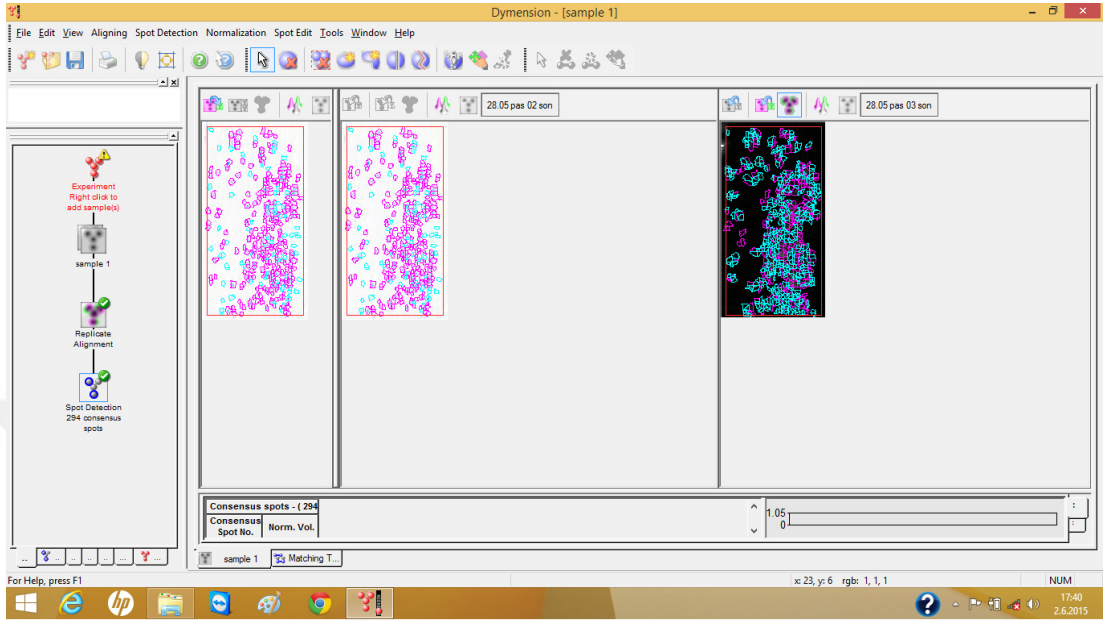
Ek 6.1.10 2. Biyolojik Replika 3. Jel görüntüsü



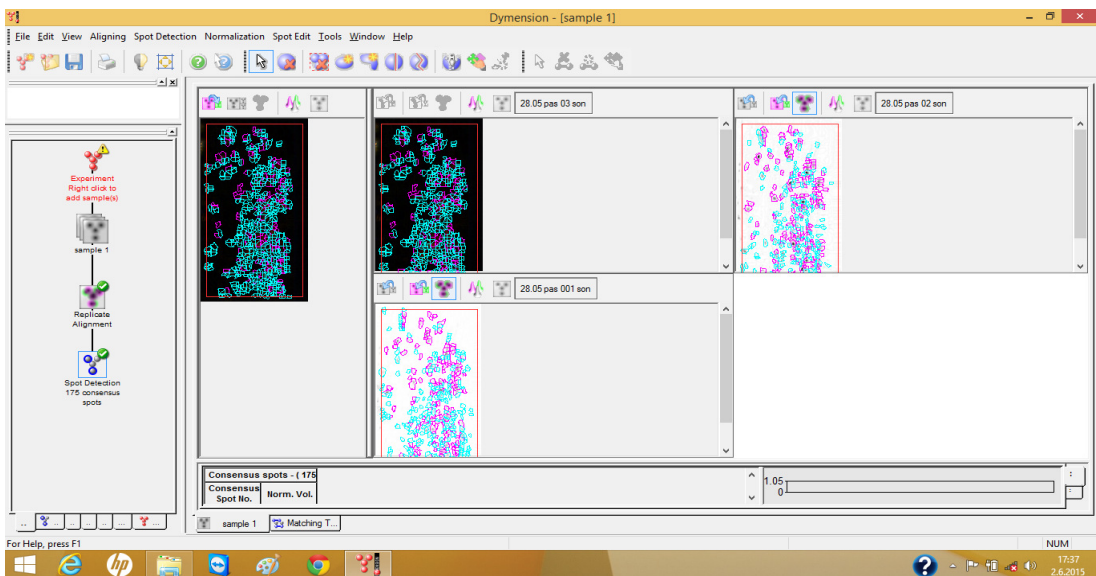
Ek 6.1.11 2. Biyolojik Replika 1. Ve 2. Jellerinin ortak spotlarının karşılaştırılması



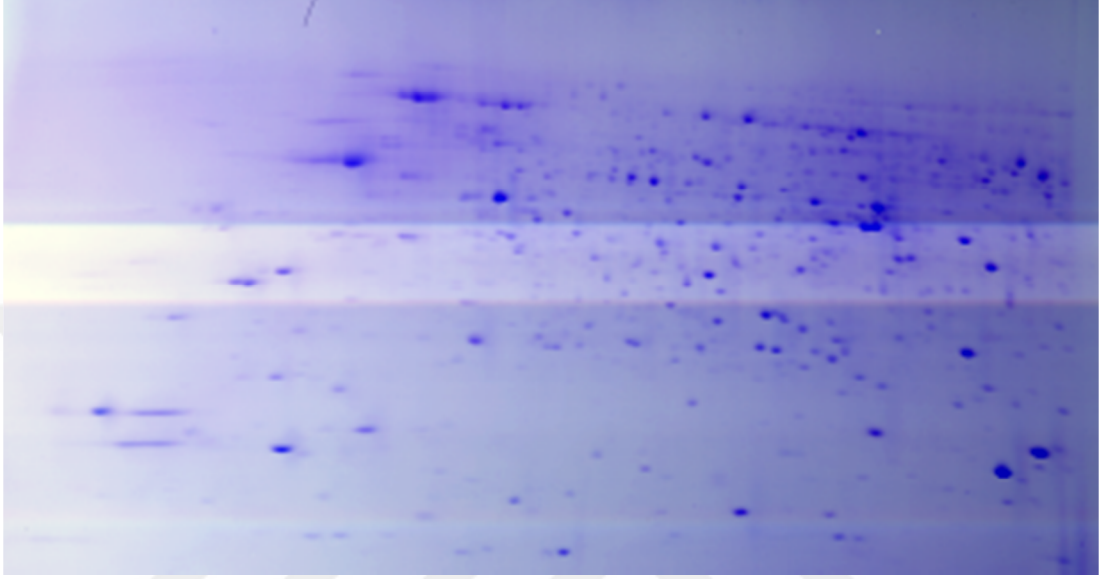
## Ek 6.1.12 2. Biyolojik Replika 1. Ve 3. Jellerinin ortak spotlarının karşılaştırılması



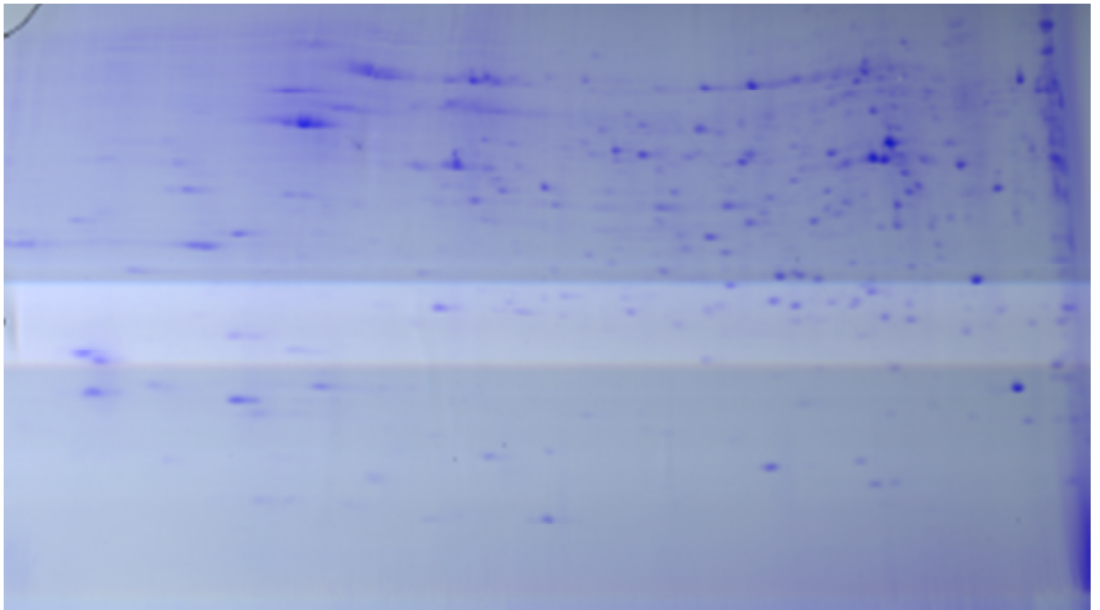
## Ek 6.1.13 2. Biyolojik Replika 2. Ve 3. Jellerinin ortak spotlarının karşılaştırılması



Ek 6.1.14 2. Biyolojik Replika 3 Jelin ortak spotlarının karşılaştırılması

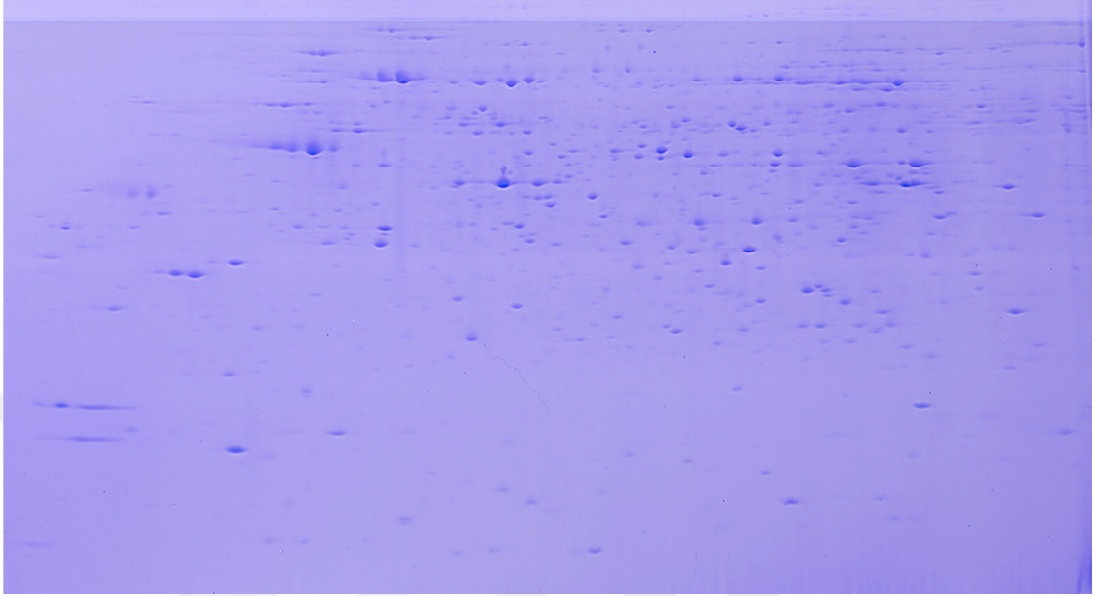


Ek 6.1.14 3. Biyolojik Replika 1. Jel görüntüsü

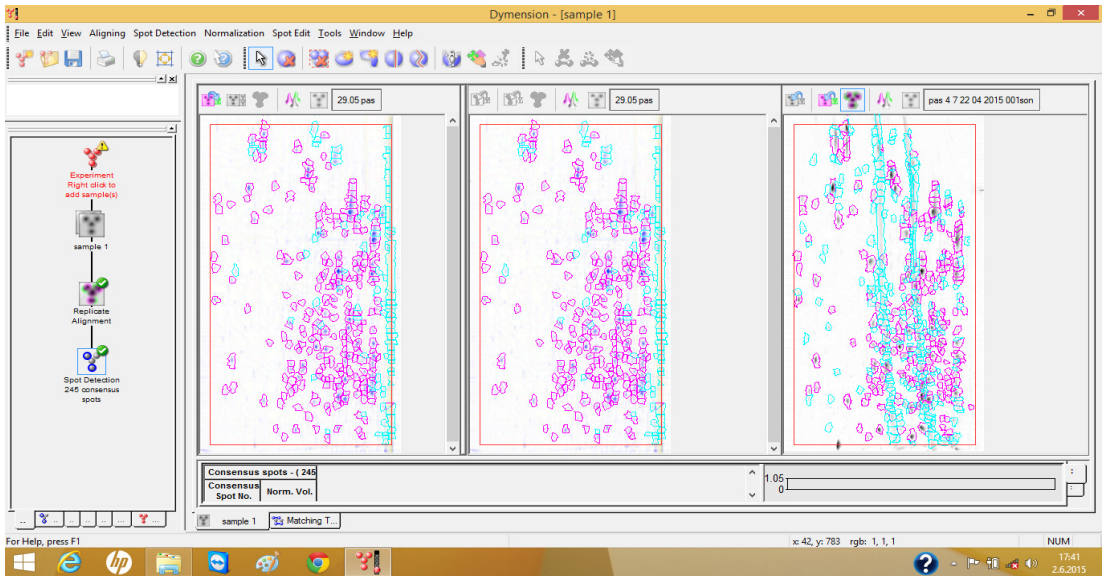




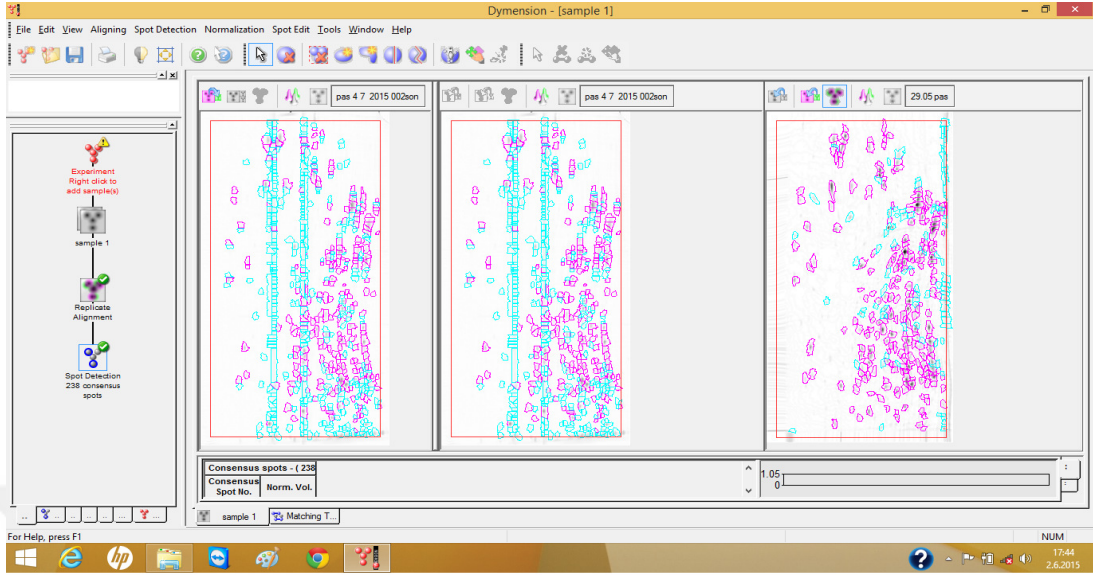
Ek 6.1.15 3. Biyolojik Replika 2. Jel görüntüsü



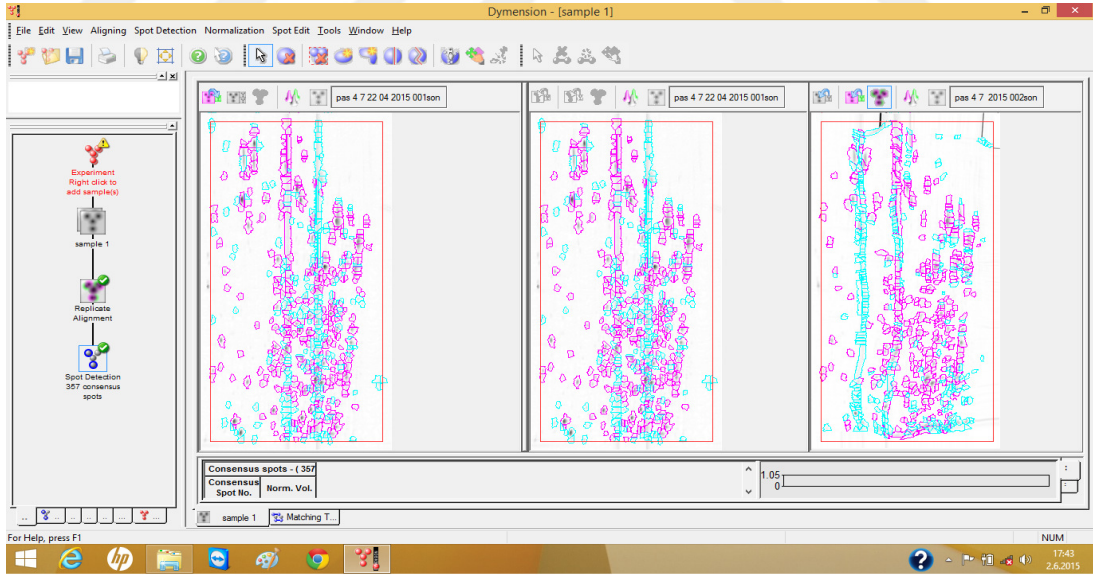
Ek 6.1.16 3. Biyolojik Replika 3. Jel görüntüsü



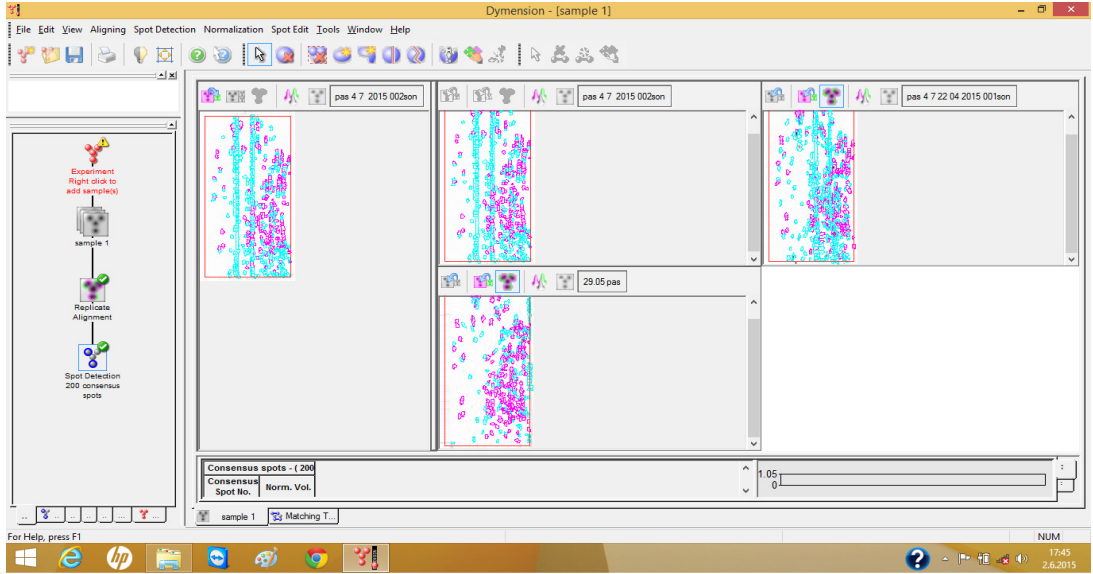
Ek 6.1.17 3. Biyolojik Replika 1. Ve 2. Jellerinin spotlarının karşılaştırılması



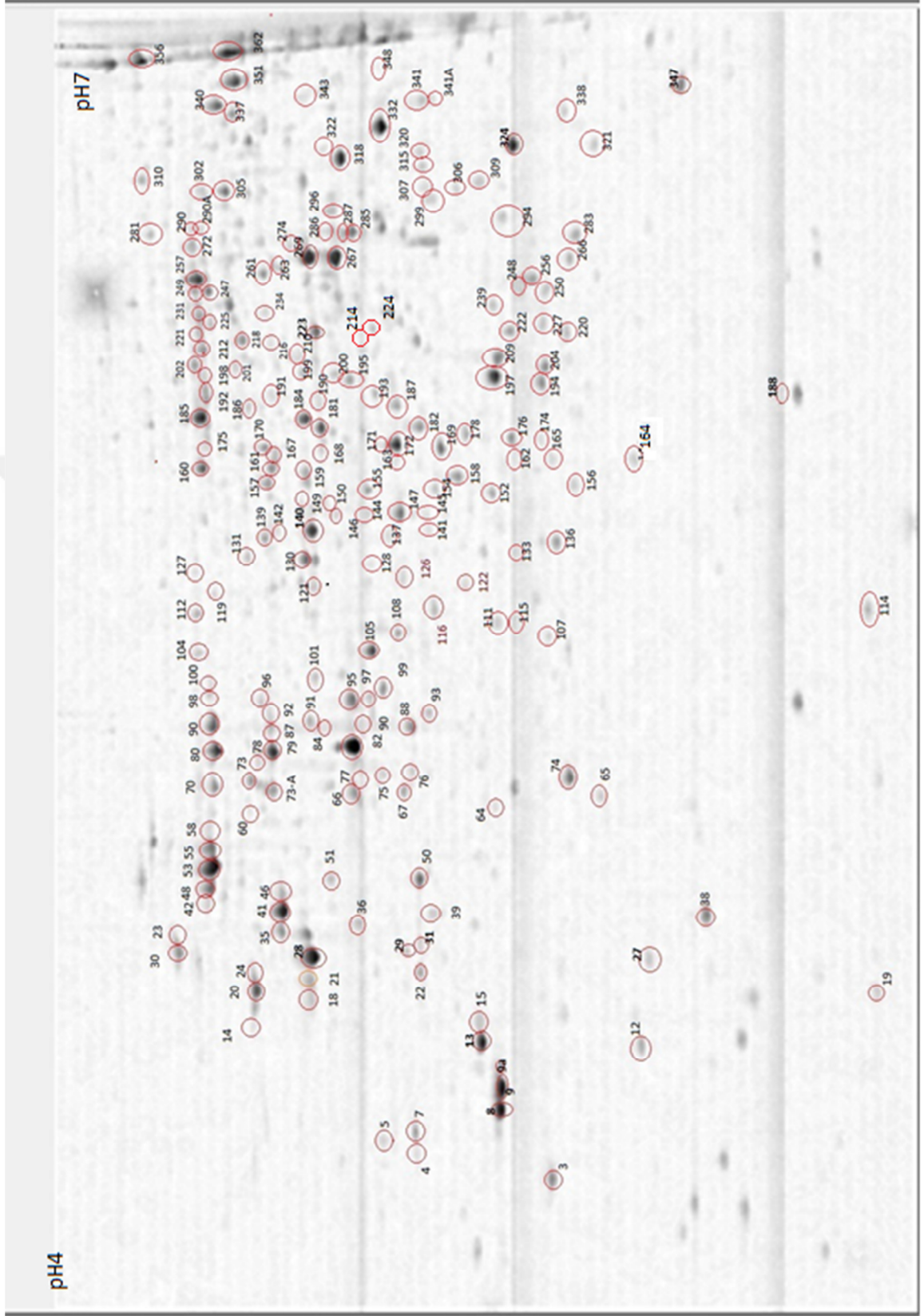
Ek 6.1.18 3. Biyolojik Replik 1. Ve 3. Jellerinin spotlarının karşılaştırılması



Ek 6.1.19 3. Biyolojik Replik 2. Ve 3. Jellerinin spotlarının karşılaştırılması



Ek 6.1.20 3. Biyolojik Replika 3 Jelin spotlarının karşılaştırılması



Ek 6.1.21 3 biyolojik replikadaki toplam 9 jelde ortak bulunan spotların lokasyonları ve numaralandırılması

Ek Tablo 6.2.1 Her bir spota ait pI değerleri

SPOT NO	%STRİP UZUNLUĐU	pI DEĐERİ (teorik)
3	10,47	4,326709302
4	12,40	4,373414729
5	13,57	4,401437984
7	14,34	4,420120155
8	16,28	4,466825581
9	17,83	4,504189922
12	20,93	4,578918605
13	21,32	4,58825969
9A	19,38	4,541554264
14	22,48	4,616282946
15	22,87	4,625624031
18	26,74	4,719034884
19	25,19	4,681670543
20	23,26	4,634965116
21	26,36	4,709693798
21	26,74	4,719034884
22	26,74	4,719034884
23	29,84	4,793763566

24	26,74	4,719034884
27	27,91	4,74705814
28	27,91	4,74705814
29	28,29	4,756399225
30	28,29	4,756399225
31	29,07	4,775081395
35	30,04	4,798434109
36	30,62	4,812445736
38	31,01	4,821786822
39	31,40	4,831127907
41	31,78	4,840468992
42	32,17	4,849810078
46	32,95	4,868492248
48	33,33	4,877833333
50	34,11	4,896515504
51	34,11	4,896515504
53	34,88	4,915197674
55	36,43	4,952562016
58	37,98	4,989926357
60	39,15	5,017949612

64	39,73	5,03196124
65	40,70	5,055313953
66	40,70	5,055313953
67	40,89	5,059984496
70	41,47	5,073996124
73	41,86	5,083337209
73A	41,28	5,069325581
74	42,25	5,092678295
75	42,25	5,092678295
76	42,64	5,10201938
77	41,86	5,083337209
78	43,41	5,12070155
79	44,19	5,139383721
80	44,19	5,139383721
82	44,96	5,158065891
84	46,12	5,186089147
87	45,54	5,172077519
88	46,12	5,186089147
90	46,51	5,195430233
91	46,51	5,195430233



92	47,29	5,214112403
93	47,29	5,214112403
95	48,45	5,242135659
96	48,45	5,242135659
97	48,45	5,242135659
98	48,45	5,242135659
99	49,22	5,260817829
100	49,61	5,270158915
101	50,00	5,2795
104	51,94	5,326205426
105	52,13	5,330875969
107	53,10	5,354228682
108	53,49	5,363569767
111	54,26	5,382251938
112	55,23	5,405604651
114	55,43	5,410275194
115	54,26	5,382251938
116	55,62	5,414945736
119	56,78	5,442968992
121	57,17	5,452310078



122	57,36	5,45698062
126	58,14	5,475662791
127	58,53	5,485003876
128	59,11	5,499015504
130	59,30	5,503686047
131	59,69	5,513027132
133	60,08	5,522368217
136	60,85	5,541050388
137	61,24	5,550391473
139	61,24	5,550391473
140	61,63	5,559732558
141	61,82	5,564403101
142	61,63	5,559732558
143	63,18	5,597096899
144	62,79	5,587755814
145	62,79	5,587755814
146	67,44	5,699848837
147	63,18	5,597096899
149	64,15	5,620449612
150	63,95	5,61577907

152	64,73	5,63446124
154	64,92	5,639131783
155	64,73	5,63446124
156	65,12	5,643802326
157	65,50	5,653143411
158	65,89	5,662484496
159	66,28	5,671825581
160	66,47	5,676496124
161	66,67	5,681166667
162	67,05	5,690507752
163	67,05	5,690507752
165	67,44	5,699848837
167	67,64	5,70451938
168	67,83	5,709189922
169	68,22	5,718531008
170	68,22	5,718531008
171	68,41	5,72320155
172	68,60	5,727872093
174	68,99	5,737213178
175	68,22	5,718531008

176	68,99	5,737213178
178	69,38	5,746554264
181	69,77	5,755895349
182	69,77	5,755895349
184	70,35	5,769906977
185	70,54	5,774577519
186	71,32	5,79325969
187	71,32	5,79325969
188	72,29	5,816612403
190	71,71	5,802600775
191	72,29	5,816612403
192	72,48	5,821282946
193	72,48	5,821282946
194	73,06	5,835294574
195	73,64	5,849306202
197	73,64	5,849306202
198	73,84	5,853976744
199	74,03	5,858647287
200	74,03	5,858647287
201	74,42	5,867988372

202	74,61	5,872658915
204	74,42	5,867988372
209	75,19	5,886670543
210	75,58	5,896011628
212	75,97	5,905352713
216	76,36	5,914693798
218	76,74	5,924034884
220	77,52	5,942717054
221	77,13	5,933375969
222	77,52	5,942717054
223	77,13	5,933375969
225	78,29	5,961399225
227	77,91	5,95205814
231	78,68	5,97074031
234	78,68	5,97074031
239	79,46	5,989422481
247	80,43	6,012775194
248	81,01	6,026786822
249	80,23	6,008104651
250	80,43	6,012775194

256	81,78	6,045468992
257	81,40	6,036127907
261	81,78	6,045468992
263	82,36	6,05948062
266	82,95	6,073492248
267	83,33	6,082833333
269	83,33	6,082833333
272	84,11	6,101515504
274	84,11	6,101515504
281	85,27	6,12953876
283	85,27	6,12953876
285	85,27	6,12953876
286	85,27	6,12953876
287	85,27	6,12953876
290	85,27	6,12953876
290A	85,47	6,134209302
294	86,43	6,157562016
296	86,82	6,166903101
299	87,60	6,185585271
302	88,37	6,204267442

305	88,37	6,204267442
306	88,76	6,213608527
307	88,76	6,213608527
309	89,15	6,222949612
310	89,15	6,222949612
315	90,31	6,250972868
318	91,09	6,269655039
320	91,67	6,283666667
321	91,86	6,288337209
322	92,25	6,297678295
324	92,25	6,297678295
332	93,41	6,32570155
337	94,57	6,353724806
338	94,77	6,358395349
340	94,96	6,363065891
341	93,80	6,335042636
341A	93,80	6,335042636
343	95,93	6,386418605
347	96,90	6,409771318
348	98,06	6,437794574

351	96,90	6,409771318
356	98,64	6,451806202
362	99,22	6,465817829

### 6.2.2 Her bir spota ait mW değerleri

SPOT NO	Rf	log mw	Mw (teorik)
3	0,543081094	1,546720161	35,21438933
4	0,391914191	1,747182591	55,87050422
5	0,358321546	1,791729797	61,90558005
7	0,391914191	1,747182591	55,87050422
8	0,484293965	1,624677773	42,13837395
9	0,484293965	1,624677773	42,13837395
12	0,638260255	1,420503076	26,33316597
13	0,464698256	1,650663643	44,7366689
9A	0,428306223	1,698923117	49,99460219
14	0,218352192	1,977343158	94,91681521
15	0,464698256	1,650663643	44,7366689
18	0,279938708	1,895673279	78,64539157
19	0,90140264	1,071549959	11,79098152

20	0,218352192	1,977343158	94,91681521
21	0,279938708	1,895673279	78,64539157
21	0,279938708	1,895673279	78,64539157
22	0,397512966	1,739758056	54,92348122
23	0,128771806	2,096135708	124,7773358
24	0,218352192	1,977343158	94,91681521
27	0,646658416	1,409366275	25,6664778
28	0,708244932	1,327696396	21,2665184
29	0,386315417	1,754607125	56,83385634
30	0,128771806	2,096135708	124,7773358
31	0,397512966	1,739758056	54,92348122
35	0,246346063	1,940220486	87,1405879
36	0,324728901	1,836277004	68,59255873
38	0,708244932	1,327696396	21,2665184
39	0,408710514	1,724908988	53,07732016
41	0,246346063	1,940220486	87,1405879
42	0,162364451	2,051588502	112,6129932
46	0,246346063	1,940220486	87,1405879
48	0,167963225	2,044163967	110,7041668
50	0,397512966	1,739758056	54,92348122



51	0,296735031	1,873399676	74,71360222
53	0,167963225	2,044163967	110,7041668
55	0,167963225	2,044163967	110,7041668
58	0,167963225	2,044163967	110,7041668
60	0,212753418	1,984767692	96,55342682
64	0,447901933	1,672937247	47,09092774
65	0,593470061	1,479899352	30,19251924
66	0,324728901	1,836277004	68,59255873
67	0,380716643	1,76203166	57,81381915
70	0,173561999	2,036739433	108,8276956
73	0,212753418	1,984767692	96,55342682
73A	0,235148515	1,955069554	90,17155403
74	0,559877416	1,524446558	33,45388489
75	0,352722772	1,799154332	62,97299251
76	0,386315417	1,754607125	56,83385634
77	0,33592645	1,821427935	66,28693447
78	0,218352192	1,977343158	94,91681521
79	0,235148515	1,955069554	90,17155403
80	0,173561999	2,036739433	108,8276956
82	0,324728901	1,836277004	68,59255873

84	0,291136256	1,88082421	76,00185813
87	0,235148515	1,955069554	90,17155403
88	0,386315417	1,754607125	56,83385634
90	0,33592645	1,821427935	66,28693447
91	0,279938708	1,895673279	78,64539157
92	0,229549741	1,962494089	91,72634505
93	0,408710514	1,724908988	53,07732016
95	0,319130127	1,843701538	69,77527201
96	0,223950967	1,969918623	93,3079447
97	0,341525224	1,814003401	65,16334963
98	0,167963225	2,044163967	110,7041668
99	0,358321546	1,791729797	61,90558005
100	0,167963225	2,044163967	110,7041668
101	0,285537482	1,888248745	77,31232692
104	0,156765677	2,059013036	114,5547327
105	0,341525224	1,814003401	65,16334963
107	0,509488449	1,591267368	39,01821235
108	0,375117869	1,769456194	58,81067906
111	0,481494578	1,62839004	42,50010863
112	0,156765677	2,059013036	114,5547327

114	0,890205092	1,086399028	12,20110115
115	0,503889675	1,598691902	39,69098734
116	0,414309288	1,717484453	52,17764253
119	0,179160773	2,029314899	106,9830312
121	0,285537482	1,888248745	77,31232692
122	0,447901933	1,672937247	47,09092774
126	0,380716643	1,76203166	57,81381915
127	0,151166902	2,066437571	116,5299528
128	0,347123998	1,806578866	64,05880992
130	0,26874116	1,910522348	81,38087367
131	0,207154644	1,992192227	98,21825785
133	0,503889675	1,598691902	39,69098734
136	0,548679868	1,539295627	34,61749412
137	0,363920321	1,784305263	60,85626058
139	0,229549741	1,962494089	91,72634505
140	0,279938708	1,895673279	78,64539157
141	0,414309288	1,717484453	52,17764253
142	0,240747289	1,94764502	88,64311722
143	0,408710514	1,724908988	53,07732016
144	0,33592645	1,821427935	66,28693447

145	0,307932579	1,858550607	72,20222931
146	0,33592645	1,821427935	66,28693447
147	0,375117869	1,769456194	58,81067906
149	0,26874116	1,910522348	81,38087367
150	0,296735031	1,873399676	74,71360222
152	0,475895804	1,635814574	43,23292052
154	0,414309288	1,717484453	52,17764253
155	0,341525224	1,814003401	65,16334963
156	0,56547619	1,517022024	32,88683079
157	0,229549741	1,962494089	91,72634505
158	0,436704385	1,687786315	48,7288672
159	0,26874116	1,910522348	81,38087367
160	0,156765677	2,059013036	114,5547327
161	0,235148515	1,955069554	90,17155403
162	0,498290901	1,606116437	40,37536271
163	0,369519095	1,776880728	59,82472741
165	0,543081094	1,546720161	35,21438933
167	0,240747289	1,94764502	88,64311722
168	0,291136256	1,88082421	76,00185813
169	0,419908062	1,710059919	51,29321472

170	0,229549741	1,962494089	91,72634505
171	0,358321546	1,791729797	61,90558005
172	0,369519095	1,776880728	59,82472741
174	0,531883545	1,56156923	36,43923327
175	0,162364451	2,051588502	112,6129932
176	0,498290901	1,606116437	40,37536271
178	0,447901933	1,672937247	47,09092774
181	0,291136256	1,88082421	76,00185813
182	0,397512966	1,739758056	54,92348122
184	0,26874116	1,910522348	81,38087367
185	0,156765677	2,059013036	114,5547327
186	0,212753418	1,984767692	96,55342682
187	0,375117869	1,769456194	58,81067906
188	0,811822254	1,190342509	15,50038586
190	0,285537482	1,888248745	77,31232692
191	0,235148515	1,955069554	90,17155403
192	0,162364451	2,051588502	112,6129932
193	0,347123998	1,806578866	64,05880992
194	0,531883545	1,56156923	36,43923327
195	0,319130127	1,843701538	69,77527201

197	0,481494578	1,62839004	42,50010863
198	0,162364451	2,051588502	112,6129932
199	0,26874116	1,910522348	81,38087367
200	0,302333805	1,865975141	73,44718266
201	0,195957096	2,007041295	101,6345329
202	0,145568128	2,073862105	118,5392309
204	0,53748232	1,554144696	35,82157656
209	0,481494578	1,62839004	42,50010863
210	0,263142386	1,917946882	82,78409061
212	0,162364451	2,051588502	112,6129932
216	0,235148515	1,955069554	90,17155403
218	0,20155587	1,999616761	99,91179487
220	0,559877416	1,524446558	33,45388489
221	0,156765677	2,059013036	114,5547327
222	0,498290901	1,606116437	40,37536271
223	0,285537482	1,888248745	77,31232692
225	0,167963225	2,044163967	110,7041668
227	0,531883545	1,56156923	36,43923327
231	0,156765677	2,059013036	114,5547327
234	0,229549741	1,962494089	91,72634505

239	0,475895804	1,635814574	43,23292052
247	0,167963225	2,044163967	110,7041668
248	0,503889675	1,598691902	39,69098734
249	0,151166902	2,066437571	116,5299528
250	0,531883545	1,56156923	36,43923327
256	0,520685997	1,576418299	37,70668033
257	0,151166902	2,066437571	116,5299528
261	0,223950967	1,969918623	93,3079447
263	0,240747289	1,94764502	88,64311722
266	0,559877416	1,524446558	33,45388489
267	0,307932579	1,858550607	72,20222931
269	0,274339934	1,903097814	80,00144171
272	0,145568128	2,073862105	118,5392309
274	0,257543612	1,925371417	84,21150263
281	0,100777935	2,13325838	135,9121806
283	0,56547619	1,517022024	32,88683079
285	0,319130127	1,843701538	69,77527201
286	0,291136256	1,88082421	76,00185813
287	0,313531353	1,851126073	70,97837833
290	0,145568128	2,073862105	118,5392309

290A	0,156765677	2,059013036	114,5547327
294	0,487093352	1,620965506	41,77971813
296	0,302333805	1,865975141	73,44718266
299	0,408710514	1,724908988	53,07732016
302	0,156765677	2,059013036	114,5547327
305	0,184759547	2,021890364	105,1696344
306	0,436704385	1,687786315	48,7288672
307	0,397512966	1,739758056	54,92348122
309	0,459099481	1,658088178	45,50804488
310	0,089580387	2,148107449	140,6395439
315	0,40311174	1,732333522	53,99251056
318	0,307932579	1,858550607	72,20222931
320	0,397512966	1,739758056	54,92348122
321	0,587871287	1,487323886	30,71311643
322	0,291136256	1,88082421	76,00185813
324	0,498290901	1,606116437	40,37536271
332	0,352722772	1,799154332	62,97299251
337	0,190358322	2,01446583	103,3869753
338	0,554278642	1,531871093	34,03071647
340	0,173561999	2,036739433	108,8276956



341	0,397512966	1,739758056	54,92348122
341A	0,414309288	1,717484453	52,17764253
343	0,26874116	1,910522348	81,38087367
347	0,683050448	1,361106801	22,96713383
348	0,352722772	1,799154332	62,97299251
351	0,195957096	2,007041295	101,6345329
356	0,095179161	2,140682915	138,2556584
362	0,184759547	2,021890364	105,1696344

Ek 6.2.3 Tanımlanan proteinlerin dizi bilgisi

Spot 3

>PTTG\_03499

MGFDFTGNDYSQLEQHVYDKSYIEGYAPSQADVIFLAIASCPDVKKYPQSA  
RWWAHIKSWESEHASLPGEKKELSSYGPAKGSTSAPAAAADGDDDDIDLF  
GSDDEEVDEAAEKLKATRLAEYAAKKANKPKTIAKSLVTLDVKPWDDTD  
MAELEKCVRSVEMDGLVWGLSKLVPVGYGVRKMQISLVVEDEKVSLLDLQ  
DKISEFEDYIQSSDIQAMQKL

Spot 7-1

>PTTG\_01669

MSQQDEQPVTSDVAPDHDPDYQPLVQLTAVETKTHEENEDVFFKLRAKLFR  
 FDKTASEWKERTGELKLLQDNTSNKIRLVMRRDKTLKVCANHFAPDMVL  
 APNVGSDRSWVYNTTADMSDEGVSAETLAIRFGNSENANAFKAKFEEAQKI  
 NAGLTKESSATTSTDPVGDESTSTKKEESGAGQTEAAKKDEDKKSEATESKP  
 EPAVVQSDATADAVADTTATETKKTEETDKAESKDDAQKE

Spot 7-2, 15-2

>PSTG\_04309

MVNKNGGQPEHFRLDKVIRPNILSLKPYRCARDDYDHGILLDANENSLGSAL  
 SPTGKVDQQAIPSSQQLSLEHGGLNIHSLSLHRYSPSPSQIPIKQNLCDYRNSIQS  
 NLPLDPSNVFLGVGSDEILDLLFRIACKPGDSGDVGDQVVVTPPTYGMYSV  
 CAKVNDVGIVNVPLNVENG VFTVDLES LDRQLSQQSSTRPIKLIILCSPGNPT  
 GTTIPLSMIEEILSNTKFKGILIVDEAYIDFAGNEKSAIKFVRQGWKNLIVTHTL  
 SKGFGLAGIRLGIA YGSADLIQVLNNTKAPYTISSPTSSLGYEATKPDQLKQT  
 EAHIQEINTTREW LQKELTKIPGMGKILGQTEANFILIQVMNFEKPTQVDSHR  
 AKSVYKYMAEDSQNGASPIVVRYRGDELGCQGCLRITVGSQIESQELLNKLA  
 KTLHLIC

Spot 12

>PTTG\_09356

MIIFTDAITGDELCSDAFKMLPVGALVEVNCENVTIKEGEVDIGANASAEEQT  
 EALEDGAKTVNNLVHTFRLQATSFDKKSYMTYLKGYMKAVKTHLAATNPE  
 RVEAFEKEAQEA AKKIIGNFKDYEFYVGESMNPEGMVALLNYREDGIQAYF  
 SFWNDGLKSMKV

Spot 14

>PTTG\_06852

MKTTSAVVAITALAAVASIPSATAGKHRMKLHKMPATSSASSQTILNNLQSQ  
 TAWVSQKYFGAEDAAGGQKFRYGHAFKAPKEGEDVSIQMIEEADLASAGH  
 EVPLSNYLNAQYFSEISLGTTPPQSFKVVLDTGSSNLWVPSTRCSSIACFLHSKY  
 DCEASETYQANGTEFKIRYGSLSLEGVISNDVLTIGDLTPDVFDAESTKEPG  
 LAFAFGKFDGIFGLGYDTISVLHTTTPPFYKMMMEKNMLDEPVFAFYLGSAEGN  
 KADPNGGEVVFGGVDEAHYEGEIFYAPVRRRGYWEVELKSVKFGKEEMKL  
 HNVGAAIDTGTSLIALPTDTAEIINAEIGATKSWSGQYTVDCSRIPDLPLTFN  
 FGGKEFTITGEDYILQVQGTCSAFTGLDMPPNIGELWIVGDVFLRKWYTVY  
 DWGRDAVGF AKAR

Spot 15-1

>PTTG\_02090

MSATDASAAAAEQFELVTFDSNLERESQLKEAYGEGQFDQVLKFDEELLKA  
 EWEAYNHKVKLLDPIYKRRSEFVKKIPGFWLQVLTNDPACHHHVDAIDRDA  
 LSHLEDLTIDHDPNDARSVTFHFHFAKGNPYFSDRILTKKFVVDLEDEPVAV  
 NGSGEKPNPLLAEMNKKYDLDRQVKSTPVPIQWASDEHNLVAKKPCMTLEE  
 LENQQGEIEIEEASGSFFNFFSYEEDRYQLHTHLLELHASKALDLYAGVVEAAN  
 ETFGFSDEDSDEEDGDPNQVVDLESESNDEPKKKKAKVSSA

Spot 18,21

>PTTG\_01840

MHRGTGLMRAIPRSATKARRANSALLNATR TLVSAAKPAVPAVAAKSSLPR  
 FTKNQVDQPRSYATEAKAQIGQIKTVIGAVVDVQFDGDNLPILNALEVQDF  
 GQRLVLEVAQHLGENTVRTIAMDGTEGLVRGQKVIDTGAPIQIPVGPECLGR  
 IMNVIGEPIDERGPIKTKTMMPIHAEPPEFIDQSTIPEVLVTGIKVVDLLAPYAR  
 GKGIGLLGGAGVGKTVFIQELINNVAKAHGGYSVFCGVGERTREGNDLYHE

MIETGVIQLNNDKSKAALVFGQMNEPPGARARVALTGLTLAEYFRDEEGQD  
 VLLFIDNIFRFTQAGSEVSALLGRIPSAVGYQPTLSTDMGGMQERITTRKGS  
 TSVQAVYVPADDLTDPAATTF AHL DATTVLSRGISELGIYPAVDPLDSKSRL  
 LDPRIVGPEHYNLATAVQKLLQDYKGLQDIIAILGMDELSEDDKLTVERARK  
 VQRFMSQPFAVAEVFTGLEGRLVPLKDTIESFKGILAGQHDLPESAFYMVG  
 AIDDVKAKADKLAEMKDN

Spot 19

>PTTG\_05456

MSWQTYVDTNLLGTGLFDNAAILGQAGGVWATSANFNVAPDEQSKLVNGF  
 EDNPTIQASGIILAGTKYLTIHADDRSIYGKKGGAGCVCVKTKQAVIVALYK  
 AGVQPGEATKCTESLADYLIASGF

Spot 20, 24

>PTTG\_01827

MRSFRILSTLLALASSIHADAGVSPGDAPDDVIELTSENFATVVTPAPLILVEF  
 MAPWCGHCKALMPEYKRAATLLKKEGIPVAKADCTEQSELCAQHEIQGYPT  
 LKIFTNGVASEYKGRPKADGIVSYMEKRAQPVVTVVTSANHTEFTKSGNVV  
 VIAYLDHSDKDSMDVFNRF AESKRDDYVFGVCYDPSSISEVSSLSKGSVLW  
 KKFDEGRNDFHGEKLTEENITKFVNTNSVPLFDELTPSNFALYSEIGLPLAYT  
 FIEANNPKRESLIKSLEPVAKDNKGHLNFVWIDATKFGDYAKSLNLPDSDWP  
 EFVIQDLSNQDKYPFEAKKEVNHDHIAEFVKSYSRSGKLEKSVKSQPIPTQKG  
 DGTYVLVAKAFEEVVYGNNNQKDVLEFYAPWCGHCKRLKPIWDNLARSF  
 SGSSDKVLIANFDATENDIPSTTGFTVQGYPTLKFKPAGSREFIDYDDERELD  
 AMIAFIEKNSVNKVKAVKVDLPEPVEGGEGDQVVF DSEESDPVPEDEKDK  
 AEHDEL

Spot 22-1, 31-2

>PTTG\_07476

MVSPSVLRPVSKTLTTARALKTVNAVRSQPRPITNSLAQLSQVAINSTPQAR  
 VMRSVSQLRSASSAGGEIQMTVRDALNTAMEEEMNLDEKVFIMGEEVAQY  
 NGAYKITKGLLDKFGKEKRVIDTPITEAGFAGIAVGAALAGLRPICFMTFNFA  
 MQAIDQIVNSGGKTFYMSGGSTPCPVVFRGPNGAAAGVAAQHSQDYCSWY  
 GQVPGLKVVSPWSSDCKGLLKAAVRDPNPVIVLENEIMYGQAFPMSEVAQ  
 SKDFLLPIGKAKVERVGKDVTVVAHSRMVGLSIEAAEALEKAEGVSVEVVN  
 LRSIRPLDIETIIESIKKTGRLVVVEGGFPMFGVGSEVVAQICESEAFDYLDAA  
 PERVTGADIPTPYALNLENLAFDPVPVIEKVIRRSLYKF

Spot 22-2, 31-1

>PTTG\_02217

MSAIDPKKKLVYAILEFLNDSIKDGTVRSDDQESMEVAMQCISESFSVEWSA  
 DSPNSALSVKPSSLLSIFEVFLKTQKKIASTSTDSSSQPTQSTSATNKSQEAELL  
 KAAGNQLVSQRDFSAAIAKYTEAIQLDPTNPVYYSNRAAAQSQLGAHDEAIE  
 DALKALEVDPTFAKAYSRLGHGYFSSCQYDKAVEAYEKGLELEPDNTTIRNS  
 LATAKSKAKSSSSLNNTGNPPGSSSSARGAMPGAGGPGGMPDLASLMNPNM  
 MAQMAQSLMANGGMERMMQNPMVQQMMNSLGGAGGGGMPDLSQLMN  
 DPAARELASSLMGGLGGGAPGAGPNNDKAKP

Spot 23, 30, 53-2

>PTTG\_06867

MSGQTETFGFQAEITQLLDLIINTFYSNKEIFLRELISNSSDALDKIRYASLTDP  
 SQLDSEKEFFVRITPDKENKTLTIQDSGIGMTKADLVNNLGTIAKSGTKAFME  
 ALSSGADISMIGQFGVGFYSAYLVADRVTVITKHNDDEQYIWESAAGGTFTI  
 TPDPDGATLGRGTRMILHLKEDQLEYLEEKRIKDIVKKHSEFISYPIQLVVTTE  
 EEKEVDDDEEEIKLEDDENKEAKIEELDESDKKKKTKKVTEKSTKQEELNK  
 TKPIWTRNVQDITQDEYASFYKSLTNDWEDHLAVKHFSVEGQLEFKAILFVP  
 KRAPFDLFESKKRNNIKLYVRRVFIMDDCEDLIPEYLNFBVKGIVDSEDLPLN

ISRETLQQNKILKVIRKNLVKKVMDMFSEIAEDKDNFNKFYEAFGKNLKLGI  
 HEDQQNRSKLAEFLRFNSTKSTDELTSFKDYITRMPEVQKNIYYLTGESLSAV  
 RDSPFLEVFKKKSFEVLLMVDPIDEYAVTQLKEFEGKKLVCVSKEGLELEES  
 DEEKKAHEEESKAYENLCKVMKENLGDKVEKVQVSNRINQSPCVLVTGQF  
 GWSSNMERIMKAQALRDSGMSSYMMSSKKTLEINPQNPIIRELKNKVQEDSS  
 DKTVRDLSVLLFETALLTSGFTLDAPQHFAERIHMRMVSGLSIDVQEEAEAST  
 SGTADAEVPPLEPTAASAMEEVD

Spot 27

>PTTG\_27503

MDKIKEKLATLRAEADAAMERAETAETAEAKFKKLELESTMKDQELVSLQHKV  
 STLETELEAAEKKISDAKVHKEEEESNKSTNENLNRKIALLESELDNAEKNLR  
 ETTDKLRQVDVKAEHFERQVQRIESERDSWEKKWEETQEKYIASKRELEEV  
 VQQMESL

Spot 35, 41, 46-1, 348

>PGTG\_12204

MREIVHLQTGQCGNQIGAKFWEVVSDEHGIATDGQYKGTDDLQLERISVYY  
 NEVATNKYVPRAVLIDLEPGTMDSVRSRGAFGSLFRPDNFVFGQSGAGNNWA  
 KGHYTEGAELVDSVLDVVRKEAEGCDCLQGFQITHSLGGGTGAGMGTLIS  
 KIREFPDRMMATFSVVPSPKVSDTVVEPYNATLSVHQLVENSDETFCIDNE  
 ALYDICFRTLKLATPTYGDLNHLVSIVMSGITTCLRFPGLNSDLRKLAVNM  
 VPFPRLHFFMVGFAPLTARGSQYRAITVPELTSQMFDKNNMMAASDPRHG  
 RYLTVAAAYFRGKVSMKEVEENMLSVQSKNSNYFVEWIPNNVQTAHCDIAPR  
 AHKMSVTFIGNSTAIQDLFKRVADQFTAMFRRKAFLHWYTGEGMDEMETFTE  
 AESNMQDLVAEYQQYQEAHLDDDEEVEEA YEDEAPPEE

Spot 38

>PTTG\_04893

MSDDEQHNQTFEAAGAGASLTYPMQCSALRKNQGHVVIKGRPCKIVDMSTSK  
 TGKHHGAKVHLVGIDIFTSKKYEDISPSTHNMDVPNVSRTEYQLVNIEDGFL  
 NLITTDGVSKDDVKVPEGEIGDDIQAQFDAGKDLYCTITASMGEEMCLAFKE  
 APKS

Spot 39, 92, 96

>PTTG\_09144

MDCKRIETAAARYPSPPGLKHTFGTAGFRANADTLDRVFFT VGLLAVLRSKT  
 LAGQTIGVMVTASHNPVQDNGIKLVDPQGEMLVSSWETHATTLANSSDLAS  
 SVEEIVSSEIDFKQPAKLIFGHDTRPSCARLITAFKDGVAALDPSAQIIDSGLK  
 TTPQLHYLVKCINDGGLYGTPTEEGYYKKLSDAFIALNAQTTTPYTLMVDCA  
 NGVGAPKLELMAPYLEGSALRLKLFSTDVDSSGKLNKDCGADYVKTTSAP  
 GGVTLPLARACSFDDADRVYVYTESKTFRLMDGDKIATLVASYIKELV  
 ELESFDLKEHLRIGVVQTA YANGNSTRYIKDQLGLAVTCTPTGVKHLHAA  
 QTFDIGTYFEANGHGT VVFSEDILKRLPGSSKLLSLAGLINQTVGDSMSDMLL  
 VETILNARGWGMAEWDGKYEELPNRLVKVLVSDRHAFVTEDAERVLVRPD  
 GMQRQIDQIVAGYPAGRSFVRPSGTEDCVRVYAEAASRQATDELAQVAGM  
 VFEFCGKGDKPKFI

Spot 42, 51-2, 63

>PTTG\_03478

MSNNNNSNGKAVGIDLGTYSVGVWQNDRVEIANDQGNRTTPSYVAFTD  
 SERLIGDAAKNQVAMNPHHTVFDKRLIGRKFEDAEVQSDMEHWPFKVVP  
 KGGKPVITVEYRGEQKEFTPEEISSMVLLKMKETA EAYLGTTVTNAVVTVPA  
 YFNDSQRQATKDAGLIAGLNVLRINEPTAAAIA YGLDKKTTGERNVLIFDLG  
 GGTFDVSLLTIEEGIFEVKATAGDTHLGGEDFDNRLVNHFVSEFKRKNKKDL  
 SGNARAVRRLRTACERAKRTLSSAAQTSIEIDSLFEGIDFYTSLTRARFEELCQ  
 DLFRKTMPEVVEKVL RDSKIDKANVHEIVLVGGSTRIPRVIKLVSDFFNGKEPN

KSINPDEAVAYGAAVQAAILSQDGTSEKTQDLLLLDVAPLSMGIETAGGVFTP  
 LIKRNTTVPTKKGEIFSTYADNQPGVLIQVYEGERARTKDNLLGKFELSGIP  
 PAPRGVPQIEVTFDQDANGILNVSAADKTTGKSNKITITNDKGRLSKEDIDRM  
 VNDAEKYKAEDEAVAARITSKNGLESYSYNLRNSIEGDLKDKLDADDKAKL  
 EKEINETISWLDASQEASKEEYDERQKALEAVANPIMMKVYGAAGGGMPG  
 GGMPGGPGGFPAGAPGPGADEPSVEEVD

Spot 46-2

>PTTG\_05513

MSDQPPPENQPSSSKPASDSNNPQPSSSTAKESTSEDVKMDAEPELDPEILKA  
 SPEEIMTRRLLENEIKIMRSENLTLSHEATMMLDKIKDNTDKIKNNKQLPFL  
 VANVVEILDIDPDVHESEEGAQVDLDSVRKKGKCAVIKTSTRQTIFLPLIGLVD  
 ADKLPKPGDLIGVKNKDSYLVLDTLPAEYDSRVKAMEVDERPTETYTDIGGLD  
 KQIEELVEAVVLPQQADKFKTLGKPPKGVLMYGPPGTGKTLLARACAAQ  
 TKACYMKLAGPSLVQMFIDGAKLVRDAFELAKEKAPAIIFIDELDAIGTKRF  
 DSEKSGDREVQRTMLELLNQLDGFSGDDRIKVIAATNRIDILDPALLRSGRLD  
 RKIEFPLPTEDARARIIEIHSRKMNVGKGVNFEELARSTDEFNAAQLRAVAVE  
 AGMIALREGANEIHHHEHFLSGILEVQSKKKNDQFYFA

Spot 48, 53-1, 55, 58-1

PTTG\_07281

MSPKSWAKPKWASLVMVGIALAMGVSADSNQADQNLGSGVIGIDLGTTYSC  
 VGVQERGRVEILTNDQGNRITPSYVAFNSEGERLIGDAAKNQAASNPTNTIY  
 DAKRLIGRKFNDADVQRDMKLYPFKVVKKGDKPVLQVEFKGEKRTFTPEEI  
 SAMVLGKMKETAEAAYLGKKVTHAVVTVPAYFNDAQRQATKDAGTIAGLN  
 VLRIVNEPTAAAIAAYGLDRTKGEHQIIVYDLGGGTFDVSLLSIDEGVFEVLAT  
 AGDTHLGGEDFDNRVIDYFIQLWKRKHNGEDITTNLRTMGKLRDVEKLR  
 TLSSQQSARIEIDFFNGKDLSETLTRAKFEELNIDLFRKTMKPVEQVLKDN  
 VKKDAIHVVVLVGGSTRIPKVQELLKDYFDGKEPSKGINPDEAVAFGAAVQ  
 GGILSGEEGNEDLVLIDVCPLTLGIETTGGVMTKLIDRNTVVPTKKSQIFSTAS  
 DNQPTVLIQVYEGERTMTKDNHQLGKFELSGIPPAPKGVQPVEVTFEVDANG



IMKVSAADKSGRVESITITNDKGRLSQDDIDRMVKEAAEFADQDEALKKKI  
 ESRNAFENFIYTIKNQLADKDGMMGGKLEADDKKTIQDEIKKAQEWMDINTT  
 TASAEEFDEQREALQAVISPITSKLYASGGGEEPLGPRDEL

Spot 50

>PTTG\_07437

MVNSHSTQALEPVSLVELPRPGPYIPNPSGQSAFSIIKTYNHARQCTVTSLATI  
 DLTHQDHSELVPHTTVLTDLAYAEA VWLDSSSILYLRPPGAEQAAPDLDP  
 STKLARKQLEKRLVELPDHTGKGIELWAIRIVGSDDKKSIRIGALPVP  
 FQHLSSSTAGVLGFSASVYPPYDTEAFNNLHKLERSFEEAADGSTGQTYDSLY  
 VRHWDEWIDQHGKEKRLFVIDLEQTEDHLWSIPDSQQPRSLFPTLSVPVGP  
 GSNSDFDLSSSSVVVTAKDPHVNPAAWHTRQNIYIMPLYPRSKILPQPLQLTTG  
 DQGATSNPVFSPSAKEANGSDKGKVAWLEMHCDCGYESDQNQVVVYDLESR  
 TRSYFAEGWDRSPSKIVWGKDDHEL YLLAEEHGRVKVFYLSLKSSKDPASL  
 TGEDSVSHAA YLGKASMGPEADQPTARLLL TMSSLA YGPTPHILTHHLPDHS  
 ATSTKIASAHNLGPMKLDEGEDFWFKGAEDRPVHGILIRPPGFVADQGQKW  
 PMMFLIHGGPQGAWDKAWSLRWNPNCFAAAGYITAMINPTGSTGYGQKFT  
 DSIKQDWGGKPYKDLVAGYEYLLKTYPEIDGSRTAALGASYGGYMNWLM  
 GHNEAPLGFKAFVSHDGIFNTVQTAYSTDELYFPEHDQGGTPVQAREHYEA  
 CNPMNHVSQWQSPCLVIHSRKDYRLCESEGLSVFNALQRRGIPSRFLYFPDE  
 NHWVTSPNSVRWYHEIFRFLGKWCPPGNVNT

Spot 51-1

>PTTG\_01758

MASARLPPALTPTEEDISLLLAQCHIGSKNCTKGMERYVYKRRPDGVNVIN  
 IGQTWEKLIMAARIITAIENPNDVCVISARPYGHRAVLKFAANTGAQAIAGRF  
 TPGNFTNYITRSFKEPRLIVVTDPRLDAQAIREASYVNIPVIALCDTDASLNFV  
 DVAIPTNNKKGKHSVGLIWWLLCREVLRLRGTVARSGDGAWGVMPDMFFFR  
 DAAEIEAEAADKAAKLLEEQQGAALGEARA VDWEVAGAGAGIAAAAATMP  
 SVEVDWTAPEATTDWAAADTGDAQWSAPAPAAEASGW

Spot 58-2, 70, 98

>PTTG\_26408

MVSEWLAHQEWSVHTALAPGQFEFNRHHRPSQTTTSILLHRPRSTPQDKP  
KTTTSSLLVASVRYKYMAGGMERAKKETIKIEAEERESKFGSVFSVSGPVV  
VAERMAGAAMYELVRVGHDELIGEIRIDGDRATIQQVYEETSGMTIGDPVLR  
TGKPLSVELGPGGLMSNIYDGIQRPLKSISELSNSIYIPRGINTQALDRSRQWEFT  
PTNYQVGDHLSGGDIYGTVYENSLVSAHKIMLPPRAMGTITHIAEKGTYSVD  
DVILETEFEGKKTHTMCQLWPVRAPRPVAEKLTAADYPLLTGQRVLDSLFP  
VQGGTTAIPGAFGCGKTVISQAVSKFSNSDIIYVGCGERGNEMAEVLMFPE  
LTMDFNVEEPIMKRITLVANTSNMPVAAREASIYTGITLSEYYRDMGMNIA  
MMADSTSRWAEALREISGRLAEMPADSGYPAYLGTKLASFYERAGKTKCLG  
NPERFGTVSIIGAVSPPGGDFSDPVTQTLNIVQVFWGLDKKLAQRKHFPSVN  
WNVSYSKYVSVLQPWYAKTEPEFVNFRSKAKDVLQKEDELAEIVQLVGKSA  
LGEQDKVTLQVARLIKDDYLQQNGMSSYDRYCPFYKTNAMLKNLMTYYTC  
AQKAVESNVGGKNLTWAKVRDATSEEWYRLSQMKFEDPKDQGEALLQRF  
NQLCDDIVKKFESLAD

Spot 64-1

>PTTG\_03718

MTSRAELLAWVNDLLQFSYTKIEQCGSGAAYAQIIDSİYQDVPLTRVKMNA  
NQEYEYLNFKVIQA AFKKHQIDKVPVPTALIKCKMQDNLEFLQWLKKYW  
DMHYPPGGNYDAVARRKGAPADPNPLIAAGAPPKTASNGAGRTGKALGMST  
GMGARATSRTGTTLGTQKEIENLTTQLEEFKLSMEGLEKERDFYFNKLRDIEI  
LIGARVDSKDAKVSDELENLQMQAILYSTEEGFVPEVDAGLVDEEETF

Spot 64-2

>PTTG\_01641

MVREAQPSILEREFLIQALKEGTRLDQRTLFEQRPLSLSFAENGDSVDCSLGN  
 TRVIAHVSASVTKPWSDRPFEGLFQVSSEINPIANFIYDTGRSSENEIQITRML  
 DKSLSRSGVIDKEALCILAGQTVWSIRLDLHFLNDEGNLLDCASIAAIAALQT  
 FQRPDVTLVGEEITHSLQERVPVPLTLHHTPICLTFGFFDLNGSSSKPSVVLDP  
 SYLEEQLSTGTITLALNPQKEICVANKSGGVPLSIDEIMNVVKVGSQKVKEVD  
 QLIKQLITKRKAAVDLTA VQDR

Spot 66, 67, 82-1, 84, 87

>PSTG\_03501

MEEVAALVLDNGSGMCKAGFAGDDAPRAVFPSICGRPRHQGVMMVGMGQ  
 KDSYVGDEAQSKRGILTLKYPIEHGIVTNWDDMEKIWHHTFYNELRVAPEE  
 HPVLLTEAPLNPKVNREKMTQIMFETFNAPAFYVAIQAVLSLYASGRTTGIV  
 LDSGDGVTHTVPIYEGYALPHAILRLDLAGRDLTDYLIKILMERGYSFSTTTAE  
 REIVRDIKEKLCYVGLDFEQEMQTASQSSALEKSYELPDGQVITIGNERFRCP  
 EALFQPSLLGLEASGIHETTYNSIMKCDLDIRKDLYGNVMSGGTTMYSGIS  
 DRMQKEITALAPSSMKVKIVAPPERKYSVWIGGSILASLSTFQQMWISKQEY  
 DESGPSIVHRKCF

Spot 73

>PTTG\_05827

MLRSRLASSSGLPSLRNQSQRTSLVAGQKRYASYKEIKFSNDGRAAMLAV  
 DILAKAVSVTLGPKGRNVIIQSFGGPKITKDGVTVAKSITLKDKFENLGARL  
 VQDVANKTNEIAGDGTTTATVLARAIYSEGVKNVAAGCNPMDLRRGSQAA  
 VDEVIKFLDQNKREITTSKEIAQVATISANGDAHIGQLISTAMEKVGKEGVIT  
 VKEGKTIEDEIEVTEGMRFRDRGYISPYFITDIKTQKAELEKPLILLSEKKISALQ  
 DILPSLEAAATQRRPLLIIAEDLDGEALAACILNKLARGQLQVA AVKAPGFGDN  
 RKSILGDLAILTGGTCFNDELDIKLEKATPDLLGSTGVSITKDDTILLNGEGQ  
 KDMISNRCEQIRAAITDPSTSDYDKTKLQERLAKLSGGVAVIKVGGHSEVEV

GEKKDRFDDALNATRAAVEEGIVPGGGTALLKASKALDGLKLANFDQQLG  
 VSIKSAIQKPTRTIVENAGEESSLVVGKVLHYSGDGQFHWGYDAAMSEYK  
 DLVASGIIDPLKVVKTALNDAAGVASLLTTSEACVVDAPEEKAASPMGGMG  
 GGMGGMGGGMGF

Spot 73A, 79-1

>PTTG\_01106

MREVISLHVGQAGCQLGNACWELYTIEHGLSPDGKITSPTARGDDGFSTFFS  
 ETGAGKYVPRSIYIDLEPNVVDEVRTGTYRSLFHPETLVTGKEDAANNYARG  
 HYTVGKELIDISMDRIRKLDNCTGLQGFFVFHFSFGGGTGSFGGALLLERLSA  
 DYGKKSLEFAVYPAPKMSSSVVEPYNSVLTTHTTLEHVDCSFMVDNEAIY  
 DICRKNLGVQSPGFTNLNRLIAQVVSSVTASLRFDGSLNVDLNEFQTNLVPFP  
 RIHFPLATYAPIISAIEKAFHESNSVAEMTMSCFEPNNQMVKCDPRQGKYMSC  
 ALLYRGDVVPRDANA AVATIKTKRTIQFVDWCPTGFKLGICNEAPACVPGSD  
 TAKVSRSLCMLSNTTAIAAAWSRLDHKFDLLYSKRAVHWYVGEEMEEGE  
 FSEAREDLAALEKDYEEVGLDGGDEEDVGEY

Spot 74

>PTTG\_03524

MRWLSQTLKFPRPPTRVPADPLLTQLPTNQTTPQASSPPHPQHPPAATLPPSP  
 EKMASTQHSVQPSVDDDDLKPSQTAGYNPGVAKTLEEYANLDAQDESLRK  
 WKESLGIVPGGATGKPTLSICLSLHSPELTKPIVMDLTDPELLQKYKKEPLTI  
 KEGAEYSVEIAFKVEGGVISGVKYLQIVKRAGVKLDKLESMIGSYGPSTDLH  
 VKRFVSEEAPSGMLARSGSYTARSVIDDDGHVWADFEWSFKIGKEW

Spot 75

>PTTG\_06777

MSGFAGRSRWRPKRAGEAWIAWLEPVKLPSTTIMAPTSTAEGSTNPNGKSH  
 NKVVIIGSGPAGHTAAIYLARANLEPLMFEGMLANGFAPGGQLTTTTDVENF  
 PGFPEGIRGPMMDLFRAQSIRFGTKILTETVSKIDLSNRPFKYWREGHESDEP

DTADSIITGASARRLNLPGEDTYWQSGISACAVCDGAVPIFRDKPLAVIGG  
 GDSACEEATYLTKEYASQVFLVRRDQLRASKVMAKRLMNHPKVTLWNTV  
 PVEAKGDGNLLNSLLVKDKTKTEERTIDINGLFYAIGHEPATALVRGQLKTD  
 EDGYICTKPGTSETSIPGVFAAGDVQDKKYRQAITSAGTGCIAALECERFLAE  
 EEAMDRDGEPPVPPQPGYLGTDKP

Spot 76, 78

>PTTG\_09204

MPVKALGEPYRDDGFGRSSAQRQFFCQVDFDVLETPHNATIGVDKDRPLG  
 RVIPAAVLATSRDLLIAPVWYVSGWCPRACGPDRHCPKVAADPPARTRPKAI  
 ELMSIDPGPDADDQSDPPATDFFQQFDLATLEMTSIPSYKVELDFAVELAHK  
 AGEIMLRASKDRAGGRGGTVNDKKNRIDLVTTETDQMVEKMOVSELLREKFP  
 DHKFIGEETFAADAKAELTNAPTWICDPVDGTTNFVHGFPSVCISIGWVVNKI  
 PTLGVIYNPFLSQLYTAVRGHGAFFNQETRLPLSYPDYLPKLSDALVGVE  
 WGSDRSKSTLEKKTNTFVKLAGDPKDVPGGVMCHSLRSMGSAALNYASVA  
 SGSLDLYWEIGCWAWDVCAGTVIAREAGCKCYGKGGKPFADGSGQDLM  
 GHFFVIRGIADHDGVPGSEIQDRLAKQFFDDIAEEWEA

Spot 79-2

>PTTG\_03808

MSQFSWTSAMQAISSPKLKLQLRSTAVSGDEGGEAEGVSSSFLSLDHLTS  
 AVDSDNSDKLNIQLFAPHFPTEIEMTSSSQNDSQRVQDSNDPADNQEHHGQP  
 EREGTPPPVQSPVATTHSTKDETTAATSRRQPTSPDAKSAQVTQLRAGEKRV  
 PGTTNQHPVGSAGQSFKVGVSSEDRNRKCRRTMEDSHSFLYSYGGVDGQG  
 YFAVFDGHAGKHAAEWCGQWFHEYLLHELINTPRTTPVPDLLNSTFHIVDT  
 KLSQVAAEVGTHSGCTAVTAFLRLEYQNGEPVGPVAGISEKAVSHVDPHDI  
 VDQPWKHEAIALSEARDSTQKAAEQRKSTLEESQQSKGAIKRTLYTANVGD  
 ARAVLCRGTKAVRLTYDHKGSDQQAQRITDAGGYVMNNRVNGVLA VTR  
 SLGDSSMKEFVVGSPYTTETTLAEDQFLIACDGLWDVCEQDAVNLILDV  
 KDPQEASRALLDHALSQFSTDNLSVMVVSRLRPVSFFDV

Spot 80

>PTTG\_01696

METRSAEQTPTVDGNVPGAEAEESTEFNGAIGIDLGTTYSCVGVWQNDRVEII  
 ANDQGNRTTPSYVAFTPEERLIGDAAKNQAAMNPRMTVFDKRLIGRRFDD  
 SDVKKDMVHWPFTVIEKDGNPFIQVDYLGETKTFSPQEISAMVLAKLKETA  
 TKLGKEVKKAVITVPA YFNDSQRLSTKDAGAIAGLDVLRINEPTAAAIA YGL  
 GEASDKKEKKERTVLIFDLGGGTFDVSLLSIAGGVFTVKATAGDTHLGGEDF  
 DNALLEHFKNEFKRKTCLDIDGDARALRRLRSACERAKRTLSSVTQTTVEVD  
 SLFQARFEEINATTFRSTLDPVDKVLKDAKIDKSKVEDIVLVGGSTRIPKIQSL  
 VSDFFGGRQLNKSINPDEAVAYGAAVQA AVL TGQTSEKTADLLLLDVAPLS  
 LGVAMQGDVFGVVVPRNTPIPTNKSRTFTTVEDNQSTVTFPVYEGERVTCKE  
 NRLLGEFELSGITPQPRGQAE LVCTFEVDANGLLKVSALDR TSGRRANITIN  
 SVGRLSSAEIDQMIKDAESFKQADKEFS AKHEAKQELESYISQVEATITSPEV  
 GMKIKRNNKAAVEAELAKALEKLEIEDSSADELKKCQLGLKRAMQKAMAG  
 TAR

Spot 88

>PTTG\_12630

MVSIQSEHPHKFLKKPRVAAVIPCPFSGGQPRAGVDHGPSHLIQDGLIKSIESV  
 GYSTVLDELNLSTILKEDDL DIGILKNPRLVSETNK TLMKIIDSHTANGEFVVT  
 IGGDHS LAIGTL SGT LNAFPEACVIWVDAHADINTPETTESGNMHGCPVSFLL  
 STLKAGTDLEPFQWIKPCLQPDRLVYIGLRDIDMGERKILKDN NIRCFTMHDI  
 DRHGIGKVVEMALESVNKDLKRPIHLSFDVDALDPSVAPSTGTPVRGGLTFR  
 EGHYICEAIYETGCLVALDLMEVNPTLMSTQADVIQTL SVGQSLIRSAMGEA  
 LI

Spot 90

>PSTG\_12276

MNHHDLNLQPIIQR TNQSATTRMIQLPPIATFINSNNINTPIDESDHQLYAAQA  
 IQGLRRLRDEMDLISTNLLSNNTRSPPPRHQQDLTSLIPQDPPIEFREHAQRR

RSNQRPLTSQADNNTTIEASGRLDNRKRKYDSSKGLSDSFGKQSQARDINEPT  
 TAELAAEAARESNVHNSLPAFYSPDNEESLKVETIIPVDTPNPMERRKIIDSSK  
 DGSIRWKDNQKTIYDRSKDGLVGEEIGEISFDYLILPKKPLPKPATNPQQQS  
 CPRHSNHNNNLRDSSTQHTGAASQETDRSRTMREALESFHDSRQHDPYSRPF  
 DLSSPLHRMNDRYGVRLFLGRTNRHSTIRGDSRYNETNTPAPTLPDENNRQPS  
 TTTTTNNTTTTTSTTTAVGATRAPRLSRSTSTSTGAGTTTGSVGRRLRR  
 PIRWFERPSARDLSGPSSRISSFLSNHPDASLLDHHHHHPHIYSSSYHQYRNHL  
 HDLNSHPSIPRAERIALDVESLYNDLDYNRSLHHPLDQFLFSSSSDSPDSSDTT  
 TSASASATTHPSVHRSGL

Spot 91

>PTTG\_00226

MEEIGIQIDKEATADPTLPSVLDEKAVLAAQLHSEDDVYMKFKKLQKHLEFL  
 ELQEEYIKDEQNLKRELLRAQEEVKRIQSVPLVIGQFLEPIDQFTGIVGSTTG  
 SNYVVRILSTIDRELLKPSSSVLHRHSNSLVDVLPPEADSSISMLGADEKPD  
 VTYNDIGGMDIQKQEIREAIELPLTHFDLYTQIGIDPPRGVLLYGPPGTGKTM  
 LVKAVANHTTASFIRVVGSEFVQKYLGEPRMVRDVFRLARENAPAIIFIDE  
 VDAIATKRFDAQTGADREVQRILLELLNQMDGFDQGSNVKVIMATNRADTL  
 DPALLRPGRLDRKIEFPLPSRREKRLIFQALASKMSLGNDVDLEDYVQRPKD  
 LSSAQISQVCQGAGLQAVRKNRYVILPVDFEESWKSVVKKGEDTHAFYR

Spot 93

>PTTG\_06345

MPSCITLLPLSTGLTNRSWLGVASKVVLSASEVLKTLSCGNKTVEYPCEVRE  
 NENILKEVIVGEMAEENSGTQDQQVEDEEEDSVLGPPTISALSEHGASDIK  
 KLTEAGNDTIEAIAIYQPRKALLSIKISEAKADKLLSICHQLVPLGFTTAAEIH  
 NRRSVMIHITGSKNLDTMLGGGIDTQSITFEFYGEFRTGKSQLCHHLAVSCQL  
 PANMGGGEGKCMFIDTEGTFRPERILAIERYGMDGEEVLNNIAVARAYNS  
 DHQSLLREASRLMTLSRFAILVDSATALYRTDYSGRGELADRQAHLAKFL  
 RGCLGLAEQFGVAVVVVTNQMSSPDSGPGGGGLGKAPIGGNIMAHSSTRL  
 QFRKGRETTRIVKLIDSPCLPEGETKMAIYQNGIGDPEEE

Spot 95, 105-2, 127-2, 160, 167-3, 175, 185, 192, 202, 212-1, 221-1, 305

>PTTG\_09276

MSPCFGALVLMLLAPRPAVALFDKKPSYNDWSDSKVEKWLTDDHHPNPGN  
 LDHALRELIQENYDSAYDHWSDADLQEYANKYSLPLQADKPREGIIDTIRR  
 SYHGAVDAWSDSDLKAWMDEHGFSPPGSTREQLVDIVKENYQDSTQYLS  
 DSASSAQVQLQDKTNSIFSLWTDSQLRDFLLEHGVVSPNSKREELVRAAKKY  
 LNAGTQSARNLASSATGAAADAGSAAKKAADASSATYEKVS KASHATGS  
 KVYDAGASVGEAASDTGNAAYNRVTQAGKAAGSAA YRKGASAADAAYD  
 KVSQASSTAGSAAYNAGSAAATEAVKDAPGVAYDYLSDKYDDAKDYVYSS  
 WSDNQLRDYLIAKGAIKSSTRFSRDDLLRAIKDTYNDAAQNA YETWSDTRIR  
 KWLADHGVVSSNASTREQLVNLISQYYYGAKDTTYETWNSNELRSWLERK  
 GIIKPGTQKKKDDYLSLVADNYYSARDKAYSSWNE SALSRLSWLESHGIARPPG  
 QARDDLLKAVQENFYGDTDKIWDAWSNAEIKAYLLKNKLA EKSHIQNMRR  
 DGLEKILNEKYYSIKENIIDGWSESQMRQWLIDNGFLKSDYQAKKEEIFDLFS  
 KKYSDFASKSSEYVSWSDNRVRGWLRMHGVEVPMSTNREELLQLMHENYV  
 ESKGKMRNILSSVTNAFSSSEQALEDTIKRLKEAVGAGGIKQDAAGYKDAIY  
 DNTAQAADRAKREL

Spot 97-1

>PTTG\_08592

MASTYKIVTLPGDGIGPEVIEQATRVLDVISESGKVKFEVEACDFGGIAIDNH  
 GNPLPPSTLQACQAADAILLGSVGGPKWVGKVRPEQGLLELRKTLGLYANI  
 RPALFPSESLVQLSPLKDSIASGTEIIVVRELIGGIYFGQRTEATSFEADGGEAS  
 VAKDECSYSVAEIQRIARVA AFLAMTTSPPM AVHSDKANVLATSRLWRKV  
 VTDLFAKEFPQLALDHHLVDSAAMLICSNPKKLN GIVLTENLFGDVLSDETS  
 VIPGSLGLLPSASLAGIPDRKSKCLGVYEP IHGSAPDIAGRGVANPVG TILSVA  
 LMLRYSLGLDREA EQIELAVRRVLDSPEAGGHGLRTADLKGQASTKQLGDA  
 VVSALKNILSP



Spot 97-2

>PGTG\_13966

MLTNPSRQVLLRTQQLLRSSKPTPRLSSRHPTSALQRAFSSHPIARSQDGEP  
 QPOTSLYTFTEDESMLKDLAQRFAEEVVAPKVREMDEKETMDPEIIGLFDNG  
 FMGIETSQEHGGSGASFTSAILVIEELAKVDPSVSLICDVHNTIANTTIRNYAS  
 KALLDKYMPDLSTSKVACFCLSEPASGSDAFALATRATKDSNGDYIINGSKM  
 WITNSKEAEIFVVFANLDPSKGYKGISCFLEKSMGVEIAKKEEKLGIKASST  
 CTLNFDNVKVPKENLIGQEGLGYKYAIEILNEGRIGIAAQMVGLAQQGAFDKA  
 VKYTYQRKQFGKPVGEFQGMQFQFADVHTEIEAARMLTYNAARLKEEGKP  
 FTEMAAMAKLFSSQVAQNASGSAIEWCGGVGFTRETGIEKYWRDSKIGAIY  
 EGSSNIQRQTLAKFIQKRLS

Spot 99

>PSTG\_14021

MAGGMERAKKETIKIESEERESKFGSVFSVSGPVVVAERMAGAAMYELVRV  
 GHEELIGEIRIDADRATIQVYEETSGMTIGDPVLRTGKPLSVELGPGLMSNIY  
 DGIQRPLKSISELSNSIYIPRGINTQALDRTRQWEFTPTNYQVGDHVS GGDIYG  
 HVYENSLVSAHKIMLPPRAMGTITHIAEKGTYSVDDVILETEFEGKKTTHTM  
 CQLWPVRAPRPVAEKLTAADFPLLTGQRVLDSLFPVQGGTTAIPGAFGCGKT  
 VISQAVSKFNSDIIIYVGCGERGNEMAIEVLMEFPELTMDFNNGVEEPIMKRTT  
 LVANTSNMPVAAREASIYTGITLSEYYRDMGMNIAMMADSTSRWAEALREI  
 SGRLAEMPADSGYPAYLGTKLASFYERAGKTKCLGNPERFGTVSIIGAVSPP  
 GGDFSDPVTFTQTLGIVQVFWGLDKKLAQRKHFPSVNWNLSYSKYMSVLQP  
 WYAKTEPEFVNFRSKAKDVLQKEDELAIEIVQLVGKSALGEGDKVTL DVARL  
 IKDDYLQQNGMSSYDRYCPFYKTNAMLKNLMTYYTCAQKAVESNVGGKN  
 LTWAKVREATSDEWYRLSQMKFEDPKDGEQALLKTFHQLCDDIVKKFESLA  
 D

Spot 82-2, 100

>PGTG\_05935

MSAEQTPTVDGNVPGAEAEESTEFNGAIGIDLGTTYSCVGVWQNDRVEIAND  
QGNRTTPSYVAFTAERLIGDAAKNQAAMNPRMTVFDAKRLIGRRFDDSDV  
KKDMVHWPFAVIEKDGNPFIQVDYLGETKTFSPQEISAMVLAKLKETAETKL  
GKEVKKAVITVPA YFNDSQRLSTKDAGAIAGLDVLRINEPTAAAIAYGLGE  
ASDKKEKKERTVLIFDLGGGTFDVSLLSIAGGVFTVKATAGDTHLGGEDFDN  
ALLEHFKNEFKRKTLDIDGDARALRRLRSACERAKRTLSSVTQTTVEVDSL  
FQGTDFSSAISRARFEEINAQTFRSTLDPVDKVLKDAKIDKSKVEDIVLVGGS  
TRIPKIQSLVSDFFGGRQLNKSINPDEAVAYGAAVQAAVLTGQTSEKTADLL  
LLDVAPLSLGVAMQGDVFGVVVPRNTPIPTNKSRTFTTVEDNQSTVTFPVYE  
GERVTCKENRLLGEFELSGITPQRGQAELVCTFEVDANGLLKVSALDRTSG  
RRANITITNSVGRLLSSAEIDQMIKDAESFKQADKEFSAKHEAKQELESYISQV  
EATITSPEVGMKIKRNNKAAVEAELAKALEKLEIEDSSADELKKCQLGLKRA  
MQKAMAGTAR

Spot 101

>PTTG\_02219

MAGPAPIVELIPVQVQSYDWGKLGKDGSKVAEYSKHLPNFCYDQDKPYAEL  
WMGTHSSLPSKLIDGKLLSDHLSSDPVQLLGKEISNQYGSRLPFLFKVLAIGK  
ALSIQAHPDRQLAIKLNKRPDVYKDDNHKPEMAIAITSFSGFCGFRPLNQIS  
QYLEKVPEFAAVIGQETSSRFLETIPSDASQPSITSSSTSSDQASVKKHQIVLKEL  
FGKLMNASTELVADQVRKLVKRLEGEGRDKPFGTDEELILRLNDQFPDDV  
GIFCTFVLNVVRLEPGQAAFLQADEPHAYLTGDIVECMASSDNVVRAGLTPK  
LRDVPTLTDMLTYSYGPSASQLMKPDLFKSCKHTTLYDPPIEEFSVLLTKLSS  
GEQDQHPPINGPSILIVTQSGTISVEGQEVTSKHEGQVYFIAAGMPVQISATQ  
SSFVSYRAFVEVTSQA

Spot 104, 112, 127-1, 130

>PTTG\_01076

MNSAARLSRAVQPLSFQSRTLSRTIPLASNCHFQQRWSSNGKVS GPVIGIDLG  
 TTNSCVSIMEGKSPRVIENTEGGRTPSVVAFTKDGEKLVGIPAKRQALVNY  
 ENTFFATKRLGRKFS DSEVQKDINQVPYKIVKHTNGDAWLEARGQKYS  
 PS QIGGYVVQKMKETAEGYLTKEVKHAVITVPAYFNDAQRQATKDAGAI  
 AKL DVLRVINEPTAAALAYGLDREESRLIAVYDLGGGTFDVSILEM  
 QKGVFEVKS TNGDTHLGGEDFDIVLVDHIISEFKKDTGIDLSKDR  
 MAIQRIREAAEKAKIELS STSQT DINLPFITADATGPKHIDIKL  
 GRAKFESLVSKLVTRTVEPCKKAIADAG VKKDEINDVLLVGGM  
 TRMPRVIETVKS LFGREPSKGVNPDEAVAVGASIQAGVLSGS  
 VTDVLLLDVTPLSLGIETLGGVFTRLINRNTTIPTKKSSVFSTA  
 ADGQ TAVDIKVFQGERELVRDNKLLGNFQLVGIPPAPKGIPQIE  
 VTFDINADGIVDVS AKDKATNKEQSIVIAASSGLSDKEIERMM  
 HEAEQHAETDKERRGVIEAANQ ADSVCADTEKAIKEFGDKVP  
 VEEKEEVMKLV AELRELAVKSQSGDESIAE DIKEAVSKTQNK  
 SLNLFK VYESRNKDEQAKNDS DSTPPPPESDEQKKKD

Spot 105

>PSTG\_04289

MTHQILLRTQHLLRSTS QSHPKNAHRLLSSSHPTTTAILHQP  
 YRAFSSHPIAH SQDGADIRPTSLYTFTEDESMLRDLAQRFAE  
 EVVAPKVREMDEKETMDPEII KGLFDNGFMGIETSQEHGG  
 SGASFTSAILVIEELAKVDPSVSLICDVHNTIANT TIRNYG  
 SKALLDKYMPDLSTSKVACFCLSEPGSGSDAFALATKATKDS  
 NGDY IINGSKMWITNSKEAEIFVVFANLDPSKGYKGISCF  
 LLEKSMGIEIAKKEEKLG IKASSTCTLNFDNIKVPKENLIG  
 QEGLGYKYAIEILNEGRIGIAAQMVGLAQG AFDKAVKYTY  
 QRKQFGKPVGEFQGMQFQFADVHTEIEAARMLTYNAARLK  
 EEGKPFTEMAAMAKLFSSQVAQNAAGNAIEWCGGVGFTRET  
 GIEKYWRDS KIGAIYEGSSNIQRQTLAKFIQKRLG

Spot 108

>PTTG\_03022

MTSYASRFADGEEYGGGGGFMQGSQNNNNTPPGGTRRVEQALRPVTIKQVL  
 DAEASNTDSSISIQDIDVTNVSFCGVVRDIVRHATNVVLQVEDGTGGIEVRK  
 WIDSSDGESEGFEAETGIQIRDWVRVIGSAKLFNKKSIAGLRLEKITDFNEIN  
 YRLLD AVRVTLAYERGSTGAGDKMNIDQSTNHVSHGKIVQPKNPNRTAKQ  
 NKIMEFFARTQPPDEGINIHEIARECHLDVKDVIDETAQLIHEGELFTTVDDDEH  
 LMTTTS

Spot 111-1

>PTTG\_09887

MNSSAEELQSGRLFDVRDLVVVVVTGGGTGIGQMMVRALVANGARKVYIVA  
 RRLDVLETTAKEAAAEPGQIVPVQADLSNKAGVEGLRKKLEADEPYIDILIN  
 NSAIGGPEFDGAVKTVAEIAASMWAAPEPEARTLLETNILGYFYVSAALLPL  
 LGKSPGHPQIINISSNASFGRQAMVGILYSCSKAAITHLTKILATHLASTNVRV  
 NAIAPGLFPSELTAGSSDVHNKSVLKDTMGLDIPEGRAGIDKEIAAAVLYLAS  
 KNQQYTSGSVILADGGVLNLMPSY

Spot 111-2

>PSTG\_02641

MENYNRLEKVGEGTYGVVYKAKDLRTGEIVALKKIRLEAEDEGVPSTAIRES  
 SLLKEMNDENIVRLLDICHAEAKLFLVFEFLDLDLKRYMDKVGDDGDMGPA  
 IVKKFSYQLCRGVCYCHGHRILHRDLKPQNLLIDKDGNLKLADDFGLARAFGI  
 PLRSYTHEIVTLWYRAPEVLLGSRHYSTGVDMWSVGCIAEMISRQPLFPGDS  
 EIDEIFRIFRLLGTPNETIWPQVQTLQDYKPGFPQWSAKDIGAHVQNSTSVSV  
 DLIKMLVYDPAKRASAKSSLKHSYFEGTETSS

Spot 111-3

>PTTG\_01991

MTPTAASKLTRNAGVAAALAHACGNQDLSDFRTVFDEFRLDGRVGLVTGA  
 NGGLGLESALALAEKGAKIWALDIVDPSIEFEACAVYAKALYQETASKAGE  
 DPGKERLVYRRVDVTDETALEKVCQEIVAIDGRLDICIAAAGILHAEKSCIDIT  
 SEEFQKVMANSTGVFNTATKAAAEMTALGTPGSVILIASMSG SITNRDHA  
 WIAYNASKSAVLQIGRSMACELGSHGIRVNTLSPGHIRTAMTAEYLDRNPEL  
 EKKWSSMNPLGRIGSPHELRGVISWLASDASTFCTGSDIIVSGGHHAW

Spot 114

>PTTG\_09971

MGFFHHESEEAKQYTDNFDFAPIREHKS KISHELISGAAAFEAAKAWEDHKK  
 ANGENHAKTAWLKLTAWTTSTEKERSEKPERELSLFQWPVDSIDNILAFR  
 ALSTTTATEARTGGIQVTR

Spot 115

>PGTG\_00252

MGFFNHHESEEAKQYSDFNFDFAPIREHKS KISHELISGAAAFEAAKSWEDHKK  
 RNGEPEDHAKAKEIAAGLAGAFVDRMVETHGLDYIDRERAKRDARERLEG  
 AIDSNGY

Spot 116-1

>PTTG\_03284

MGKTREFKEAYFNKLDLMAEFPSAFIVNVDNVGSNQM HQIRQALRGKGT  
 VLMGKNTMVRRAIRNILADNPQYERILPLVRGNIGFVFTSGDLKDVRNIITAN  
 KVAAPAKAGAFAPLDVYIPAGNTGMEPGKTSFFQALGIPTKIARGTIEIVSDM  
 KIVTAGSRVGASEATLLNLLKISPFTYGMTVVSIYDNGNVFSPSVLDIDEQTLI  
 DQFLSGIKTIAAISLAINYPTVASIPHSLVNSYKNLIAIALTTDYMFEQAQKAK  
 DYLENPDFAFAAAAAPAAAAAAAPAAAAAKEPEPEEEEEDEDMGLDLFG

Spot 116-2

>PSTG\_01609

MLNLDHAIDKLRSCHEHLPEADLKHLCEIVRSILVEEPNIQPVRSPVTVCGDIH  
 GQLWDMIEMFRVGGQPGLTNYILMGDFVDRGHFSLETFSLLLAYKARYPDR  
 VTLLRGNHESRSITQVYGFYDECQRKYGNANVWKACCGVFDCLNLAAIIDS  
 TILCVHGGLSPEIRTLDQIRVLSRAQEIPHSGAFCDLMWSDPDDVEGGSWSVS  
 PRGAGWLFGSAAVASEFNHINSLSLIARAHQLVQEGYKYMFPENNLTVWS  
 APNYCYRCGNVASVMCVGEHTLVDPEESFKIFSAVPNQSRIPDKSGTSQYF  
 L

Spot 119

>PTTG\_09796

MPGGKQFDCDPKLVIDSLEGLTYLNPQIEYDPTYQIISLKDLSKDRCHLICG  
 GSGHEPSHAGFVGSMLSAAVCGNIFASPNSQQVTNCLEKLQNSKGV LIV  
 KNYTGDV LNFGIAKERWIARRNTEGIKMVIVGDDVSVGKEQGKLAGRRGLA  
 GTVLVYKIAGALAAQGSSLSHVHAVAQFVADHSATIGVGFHDHCQIPGTQISK  
 EHD TIGSDEIEIGMGIHNEPGYKRQKITNLNQLISNLMPVLTSTTDKDRSFLPF  
 RTQGSSSKDNDVILLINNLG SISELEMGAIVKSTGTW LLEKSFQVKRVISGTF  
 MTS LDMSGFSISLVLLPPINEDVMIDIAGEPTLAISANMLLDLFDAPADCPGW  
 KSGYAGQPSFSKGEKTDTKAQVHETSGSEKKSTGETLTASDPELFIKAVQSA  
 CKALIAAEP EITKYDTIAGDGCQTLKNGAEGILEAISQEKIKGSNLVSDLL  
 QISEVVNRDMGGTSGGLYSIYFNALAVGIGKSKNTKKIDSQAWAEASDYAL  
 NTLYKYTRARSPSRTLIDPLSAFVLTF TLTPTEFDKAIEAAKESAENTIY LDAK  
 AGRASYVDRQKLQESQVPDAGAWGVWKLLEAIGQVIN

Spot 121

>PTTG\_04091

MDEEYDYVVLGTGLTECILSGLLSVDGKKVLHMDRNDYYGAESASLNTQL  
 YRKFRPGQEPPAALGRDRDWAIDLIPKFMMINGELTNILVHTDVTRYLEFKQ  
 VAGSYVLAAGKVAKVPASEVEAVTSPLMGIFEKRRAKKFM EWVANYNVSD

PSTHQGISLETTTMDQVYAKFSLEAATQDFIGHALALHSDESYKTRPAKETH  
 ERIMLYTKSLARYGKSPYIYPLYGLGELPQGFARLSAIYGGTYMLDKPIDEIIY  
 DSEGKVSQVRSVTETVKAKKVIQDPSYFSSNGEYVVEQKVVRSICLLKHP  
 VPNTDDSDSFQLVIPQAQVGRKHDIYIAAISSTHNVCADYVVAIVSTIVETS  
 TPELELDAAYKLGPIHDKFVTVSPYIAPAASGQQDNVITRSYDATSHFETVT  
 DDVKDVWRRAVGGEIALKKREAGDGGLEAQA

Spot 122-1, 190, 212-2, 257, 272

>PTTG\_09784

MSADKFIPIFVEKFHKVALDPSQPQLSADQKSKLLENISILRDAIVFFTATGAA  
 RGVSGHTGGPFDTVPEVCLLLALFASDPDGKKFDHTFWDEAGHRVATQYLV  
 AALEGHLPAEQLMMYREADSKLPGHPELGLTPGVKFSSGRLGHMWPLVNG  
 VAMANREKTIFCLGSDGSQQEGNDAEAARLAVAQNLNVKLLIDDNDVTIAG  
 HPSVYMKGYEVSKTLEGHGLKVFHAEGENIDSLWAGLCSVIQCQGAALIA  
 KRVMCPGIQGLEGSNHGHDVIPVPKAISYKDRPYGEAAKILNSLTSPASPY  
 LYIGSTKEKDACRVQFGKAVNMVLDKLSKEEAKEKVMVIDSDLEGSTGLKA  
 IRESHPEVFPVSGIMERGNFSAAGFGFEKGVGIFSTFSAFLEMCCSEITMAR  
 LNRCNVLCHFSHSGVDEMCDNTCHFGLNTFFADNGLEDGYPTRLYFPADVH  
 QMTAIVNKVFWDMGLRFVSTRSKVPNILKEGSQEHYFGGDYEFMPGKDEF  
 IRRGKLGTVICFGEIVHRALDAVDRLREEGFDVGLVKNSTLNVIDEEAMA  
 EYGRQKFVLLVESLNQKTGLGSKMGTWLLERGLTPRYGYLGTNKEGCGGLSA  
 QIFHQGLDPASIIRKVKVLAA

Spot122-2

>PTTG\_03046

MAHLLHGHAGSPLARTGSPLTRTGTPMAVYEESSSHVSSGMPHYHLVGKDL  
 KMFSEAGFDMDKIHKRNAPVAQLYEDAIRNEGAIISASGALINFSGKKTGRS  
 PKDKRIVYEETSKDHVWWGSVNIKMDEHTFEINRERAIDYLNRENVYVFD  
 GFAGWDPKYRIKVRVICARAYHALFMTNMLIRPTEADLEDFGEPDFTIYNAG  
 QFPANRFTSGMTSATSVEINFKRREMVILGTEYAGEMKKGIFSVMHYLQPVK  
 FGQLSLHSSANEGPNGDVSLFFGLSGTGKTTLSADPARMLIGDDEHVWSDN

GVFNIEGGCYAKCIGLSAEKEPDIYRAIRFGAILENVVYDGDSTRQPCYDDASI  
 TENTRCAYPIEFIPNAKIPCLSTAQPSNVVYLTCDAYGILPPVSLTRAQAQY  
 WFLMGYTSKTPGTEDGVTEPTPTFSTCFGQPFIHLHPSKYATMLAERMDKVQ  
 AKCWLINTGWVGGKFGVGSRCSLKYTRKLIDAIHDGSLAKAEFENFDVFNL  
 SIPKTLPEVPDVLNPAKAWKNTSTFETDRKKLATMFKDAFKKYEKEVSQD  
 VKDAGPQV

Spot122-3

>PTTG\_06246

MNAMSTLTAALPADGGAAPTPAAQQPRHRPGGVFSRFELTGKVAVISGGAR  
 GLGYEMARALCEAGLAGIAILDILQEFAESAIKELHADFGITASFYRVDVRS  
 DAVEEVINGVVRDFGSVDILLCSAGVSDNIAAEDYPADRFKRVDINLNGTF  
 FCAQSCAKHMISSGRGGSMIFIGSMSGRIVNYPQPQSAYNASKAGVIHLMKS  
 LAAEWAPHKIRCNSISPGYMNLLIEKFDPLLKKVWFERTPVGRMGHVSDLN  
 GAALYLASDASSFTTGTDLLIDGGYCTW

Spot 126, 178, 227, 234, 294, 296

>PTTG\_01458

MAHLLHAHAGSPLARTGSPLTRTGTPMAVYEESSSHVSGGMPHYHLVGKD  
 MKMFSEAGFDMDKIHKRNAPVAQLYEDAIRNEGAIISASGALINFSGKKTG  
 RSPKDKRIVYEETSKDHVWWGSVNIKMDDEHTFEINRERAIIDYLNNTRENVYVF  
 DGFAGWDPKYRIKVRVICARAYHALFMTNMLIRPTEADLEDFGEPDFTIYNA  
 GQFPANRFTSGMTSATSVEINFKRREMVILGTEYAGEMKKGIFSVMHYLQPV  
 KFGQLSLHSSANEGPNGDVSLFFGLSGTGKTTLSADPARMLIGDDEHVWSD  
 NGVFNIEGGCYAKCIGLSAEKEPDIYRAIRFGAILENVVYDGDSTRQPCYDDAS  
 ITENTRCAYPIEFIPNAKIPCLSTAQPSNVVYLTCDAYGILPPVSLTRAQAQY  
 WFLMGYTSKTPGTEDGVTEPTPTFSTCFGQPFIHLHPSKYATMLAERMDKVQ  
 AKCWLINTGWVGGKFGVGSRCSLKYTRKLIDAIHDGSLAKAEFENFDVFNL  
 SIPKSLPEVPDVLNPAKAWKNTASFEADRKKLATMFKDAFKKYEKEVSQD  
 VKDAGPQV



Spot 128

>PTTG\_09870

MAAKLPIHVAIVGVGLVGEQVVHQLMSARLRSCFRLCSLHTSRRHLQITDGL  
 ADKTASELIEQLKNDQSASQAYSGGVVEEVVSYLTEPSTLPRPLLVDCTSSQP  
 FADAYPRILASDRTHLVTPNKKAFSGYEQLYSEIEKTVQGNLNVFKEATVG  
 AGLPVISTLRELVVTDGDLTKVEGIFSGTMSYIFNQFSQTTQTSTSFSEVVAV  
 AKQLGYTEPNPADDLNGSDVARKLAILARNLSAPLSLPLGFESVPTRTLPEP  
 LVDVTDPAEFMATLPQFDAQYGKFRDEAFEKGEVMRYVGIIDLTDPSKPLV  
 KAGLERYPFATMKGSDNIISFHSKRYANSPLIVQGSAGAEVTAMGVV  
 GDMIKVAERLSGRNIN

Spot 133-1

>PTTG\_02001

MMLLQPFS AFLFIYSSTLLLATNRDQQIIFKHQDHSNSRDHLSIAQEGTGVL  
 SKWARESRSQFFSDITQNKANEWVIVMGNEAGDTSMAAAIAWAYHLSHL  
 KHNPQKAIALLQTVEDALDLRPENQLALEKSQMSSRHRDLLTIDELPIKPFEL  
 SHRLAGIVLVDHNPAPGWRRASLLSIIDHHVDQKLNLSADPRILEEAASCSS  
 LVADLLLQSEARGEHQVVSGEKYGIPDLDLILRAIFLSDALSSNKHYNV  
 DKRASYGLFRLSQWYAPPEGYNKHAWEKTNKQNMRLNFQASGRDTSLEE  
 NQRHKWEKRELKRLATNFWAEMSEARGQLQRLDVRDLLRRDWKANAVRT  
 ATIKYPYLTLGFASIPFNIEQQVQRTPEQTVPEWFAIERAFTSEIGADVSVVLT  
 KFKSEITGKAEREIMLVVAHGWGKRLTTEAATDLFLTLCKNIEEKFDGLQEW  
 TRPDHKPLLPRRKAWRMTVKGRPVGKRVLMPLVLKAASEWNWNSTAVAIY  
 GE

Spot 133-2

>PTTG\_07863

MKRAIKALSRTLEEGEESGAAETASELLILSNSNTMFIELVLRHHGLWARFD  
 GAVITNPARWDPENADRLLRRRVDAQESQHGCTLGCSANMCKAAKLIAYL

ERRGPSKLFDRYA YVGDGDNDYCPISRVLKFGDVALVRSRRELARQIEAKTA  
KGNALSCWVMLWEGAWVEVEQIFLNTLLKAP

Spot 136, 137, 141-1, 142, 144, 147, 158

>PTTG\_07672

MATGGGSYSFSLTTFSPSGKLVQIEHALAAVGGGTSSLGIKASNGVVIAATEKK  
TASILVDDSIIEKVAMICPNIGMVYSGMGPDYRVLVTRARKIAQAYWKIYGE  
YPTRLLTQEIATVMQEATQSGGVRPFGVSLLIAGWDEHRGSTLYQVDPSGS  
FWPWKASAIGKNMVNAKAFLEKRYNDELSLEDAIHTAILTLKEGFEGQMTE  
KTIEIGVIGSVGVGADTIQPGDRAEPVFRKLTEAEVKDFLAL

Spot 139-1

>PTTG\_08656

MAEELKNPPVEQAEPLFDATLKKKKKKKAVAFDELDSQLESTAEQPASIAT  
SKTEEPVSILKTTETEPSSKAPEPASTGDLEFSDLKRKKKKKKTVNLDLDEDEL  
NAIDEKDKPAGTTTAAEDAAAAEEFADLKKKKKTQKKAFDLEAFERELAEV  
EGGINKSEAKDGDPSGAEGDEPPEDGLFGQADDEAIGESEKSKAQAAAEKK  
AWLKEPDRDYTYDELLGRFYQALYLSHPSLSGGGAKKRYTLAPPSVHREGN  
KRSIWANVAEICKMHRQPEHVIQFLFAELGTSGSVDGNGNLVIKGRFQQKQ  
IENVLRRYIVEYVTCKTCKSPDTLLEKDNRLYFVTCESCGSKRSVSAIKTGFS  
AQIGKRKAQRTN

Spot 139-2, 140, 141-2

>PTTG\_08249

MASQKAAGNAKVAITSRDRSVQLCTGLFINNEFVEGHGETIVSINPADQSTL  
AVVHSASVEDIDQAVKAAARHAANTTWGTNTPAPERAAALMNKLADIMEARL  
EDLAVLETLDGKGITWARGDITESISAFRYYAGLAFSGTDGQVLEGCDATGI  
AFTRQEPLGVVAQIVPWNYPIMMMAWKVAPALAAGCAIVFKPAELTPLATL  
LFCEMVRDAGYPAGAFNCVNSYGPVGGHALACHMDIDKIAFTGSTNVGKQI  
AVQAASSNLKKGLELGGKSPNIVLPSANIEQTAAWCCLGIFENMGQSCTAA

SRILVHSSIIDQFLSSFVKKASSHKVGDPPDPETYSGPQISKAHLERIDGYVKS  
 GVSEGAKIVLGGNKVEKVKMFNAEGQWLEGGNFFEPTIFVDAKPWMKIVK  
 EEIFGPVAIVMKFETVEEAINMANDTEYGLAAGVHTEKQDEVVRVGAKLKA  
 GTVWINSYAFCPVNVPPGGYKSSGWGRELGKKGLEEYTITKSYQWNYAQK  
 LSWPFDLDGISKL

Spot 146, 191, 269

>PTTG\_00430

MAIKSIFARQIFDSRGNPTVEVDLTTEKGVFRAGVPSGASTGVHEAVELRDG  
 DKSQYLGKGVSKAVDHVNNVIAPKLISGLAVTDQKAVDDFLIKLDGTANK  
 GKLGANAILGVSMIAIAKAGAAEKGVPLYAHIAQLAGTKTPYVPLPCMNV  
 NGGSHAGNALAFQEFMILPTGATSFQHAMKIGTETYHALKSVIKTKYGIDAT  
 NVGDEGGFAPNVQGAEESEILTEAIKKAGYEGQVKIALDVASSEFYKDGKY  
 DLDFKNPKSDPSKWLTVGVELSELYIKMIKKYGIISIEDPFDQDDWEAWQHFT  
 KNAGIQIVGDDLTVTNPLRIKTAIDKKACNGLLLKVNQIGTITESIEAARLAQS  
 DGWGVMSVSHRSGETEDTTIADITVGLGVGQIKTGAPARSERVAKYNALLRIS  
 DEITQAGQSVVYAADKGLSVGTTAPALLKQ

Spot 149-1

>PTTG\_06888

MTTFNLCASYS AVNKAEFIVDAVLFDMGTLVDSIPAIESAWAAVAKKINKP  
 AAIEATHGRRVMDNLKDLYPNLRMSDAEMAPHCGFQQTSSQNSFFAG  
 TPDEKPRRKS NLSQTVTPDNVSARMAAMGIAPLSSNNSSSSIPQVEKRANTPA  
 EMLAKKKLAVLQSSVNQDVFEDGDDSDDDIQIDVSDLVDRSVRILPGVRKM  
 TDSLPA DRFAIATSAAVTHCHGALQRVGISLPKITVTADDPRLER GKPFDPFI  
 LAAKSLGFEPENCVVVEDSPFGIQAGVAAGGKTIAVSTSHSHDKISHCGATW  
 LIPTLELVQVEVLPDGLRIFIDATDKDIEQALS KCVRSKIEAKRV

Spot 149-2

>PTTG\_02620

MSASRFLLSKPSQALRTQATRRIAVPSTSVRSLATIAPSSTFPQTRISTLPNGLT  
 VATEPHPHSQTATVGIWIDSGSRADKHGGTAHFLEHLAFKGTQKRTQHSLEL  
 EIENLGAHLNAYTSREQTCYFARSFSHDVPKVVEIISDILQNSKLDEGAIERER  
 SVILREQEEVDKAHEEVVFDHLHAVAFQGEDLGKTILGPKQAIMSIQRPDV  
 EYIKSNYTADRMVLVGAGGLEHEALVELASKNLGSLPTSSSPIPLGGRGQIKP  
 TGFTGSEVRIRDDTMDTINLAIAVEGVGWNSPDLFPMLVMQSIFGNWDRSLG  
 SSPLMSSRLSHALSSNNLVNSFLSFSTYSYSDTGLWGIYMVSENLTNIDDLVYIT  
 LREWQRMSTAPTEIEVARAKSQLKASMLFSLDSSNNIADDIGRQLVTSGKRM  
 TPQEIQIAVEAVTPDTIRRVAQKYLWDKDIAVAALGRVEGLLEYNRIRANMS  
 SLTW

Spot 150,154, 165, 201-1, 210

>PTTG\_01903

MMLSLPSRSIARSARSYANQAAPSIATTQASTAQQVLSTPEDNKLTGSSISVFI  
 KAGSRYQPTHGLAHLKNSVFKSTQKRSALSLVRETELLGGVLTSSLSREHLI  
 LSAEFLKGNEGYFAEVLGDVLTSSKFTRHEFNEEALPGAEAEYKQAQEDPTV  
 VAIEQAHSALFRGGLGNSLYANPELMGTQDSMIEYARTKFGCAEEQAIVGTG  
 IEAERLGELVSQFFGVSSSTATSSSGVSAGQKSSYHGGGEARIARRAGPEDTLLV  
 AFKGAEASSSPAHTVLQHLLGSDPASVKWSAGSSPLSSLPVKAFLHAYSDIG  
 LFGLLVKAPANETQAIATQALGQLKQIANGNLVDAQSVARAANKAQFLVAS  
 NLENNLTRTELLGTQSLISPKSAPNQLADLYSSYSQVTPDQVIQAAKAVISSPP  
 TTVAVGNIDQLPYCDQLGL

Spot 161

>PTTG\_06273

MSADHPQPPSGSAANPASGYGPQGGGAQGYEAYAQQYAAQAQQQQQQAQA  
 QQQAQNQPSAFPVGTATTASTTQSAYGNNAAVPAVAGSGAPAAQPPNPYT  
 GNPEGKRAHLYVGNLSPRVTEYMLQEIFSVAQPVQGVKIIPDRNFQHGGLNY

GFVEYYEMRSAETALQTLGGRKIFDTEIRVNWAYQNSQSNVKEDLSTHYHV  
 FVGDLSPVNDVLAFAAFGLSDARVMWDMNSGKSRGYGFLAFRDKT  
 DAEQAIATMNGEWLGSRAIRVNWANQKNQGMMAATTGAVIAPGMGGGGGM  
 NRGGFGGATNYEAVVQQAPAYNTTVYTGNLVPYCTQADLIPLYQGGFYIVE  
 IRMQADRGFVFKMDTHENAAMAIVNLTGTPVHGRPLKCSWGKDRASADP  
 NSAPASGMPMAPVAGMYGMPQMYGMPQAGYPQYSGYPQYAAGPQGYGQ  
 PGYVVPQQAATAESTPAQP

Spot 163

>PTTG\_07362

MANDPRISQTEAFKINQAAVTRNFKPRIDYRTVSAVNGPLVVLDNVHFPSYN  
 EIVNLTLPDGTQRGGQVLEVSGKKAIVQVFEGTSGIDVRATHVEFSGSSMKL  
 PVSEDMLGRIENGSGQPIDKGPVFAEDYLDINGSPINPYSRIYPEEMIQTGIST  
 IDAMNSIARGQKIPIFSAAGLPHNEIAAQICRQAGLVKKGGVSPGQKPTKSV  
 HDDHEDNFSIVFAAMGVNMETARFFRQDFEENGSLDRVTFLNLANPTIER  
 IITPRLALTTAEYFAYQVEKHVLVILDMSSYADALREVSAAAREEVPGRRGY  
 PGYMYTDLSTIYERAGRVEGRNGSITQIPILTMPNDDITHPIPDLTGYITEGQIF  
 VDRLLYNKQIYPPINVLPSLSRLMKSAVGEGLTRKDHSDVSNQLYAKYAIGK  
 DAAAMKAVVGEEALSSEEKLALEFLDKFESTFVTQGNENRTIFDSLDAWS  
 LLRIFPREQLNRIPKKILDEWYSRRPANNTNQNNDPKP

Spot 164

>PGTG\_01136

MGGLLELVPAGVVTGKNLVKVLEYAKAHGFAIPAFNCTSSSTVIAALEGAR  
 DSKAPVMIQVSQGGAAFFAGKGVKNGNQEASIAGAVAAAMFVRSIAPTYGI  
 PVIMHSDHCAKLLPWFDGMLAANEEYKTHKEPLFSSHMLDLSEESKEENI  
 EICCKYFERMAKIDLWLEMEIGITGGEEDGVNNENVDNAALYTQPEDIWDV  
 YSAFSKISPMFSIAAFGNVHGVYKPGNVSLQPELLGKHQAYCKEKLKTDDP  
 RPLYLVFHGGSGSTKKEIATALENGVVKMNVDTDTQWAYMEGFRNYFDSK  
 KDYLKTQVGNPEGADLPNKKCYDPRVWVREGEKTMVKRVMEACQDLKNV  
 NVL

Spot 167-1

>PTTG\_09553

MRSNALKATSTGSRAARIAVHSHIHGLGLDEDGLGKEDGQGFIGQRGAREA  
 CGLVLDLIRTRRFSGRALLLAGGPGSGKTALALAMAQELGPKVPFCPMVGSE  
 VYSNEVKKTEVLMENFRRAIGLRVKETKEVYEGETELTPAETENPLSAYGK  
 TISHVVVSLKTAKGTKQLRLDPSIFDSIQQERVTVGDVIYIEANTGAVKRVGR  
 SDVFATEFDLEAEEYVPLPKGEVHKKKEIVQDVTLHDLDMANARPQGGQDI  
 MSVMGQIVKGRRTEVTDKLRREEINKVVDRYIAQGIAELVPGVLFIDEVHMLD  
 IESFTYLNRALESASPHVILATNRGMCTIRGTENELGSGSASSEGHAPHGIPV  
 DLLDRCMIVRTVPYNREERKTILSLRAKVEDLKVDEAALEKLADRAMETSL  
 RYALQLLTPSAILSTVSGQEGINLQDVGETDNLFMDAKSSARMLANYEGQYI  
 R

Spot 167-2

>PTTG\_28577

MVNRQQLSTTRRISTITPAAAPSYSASQKTSDRMISIKDLNPAIITAQYAVR  
 GRIPIKAEQLRATLQSNPNAKNELGFDISIINCINIGNPQQLGQKPITFYRQVACL  
 TEYPELIDKPEAQSLFPKDVIERARTLLDSIGSVGAYSHSMGVPVIRQHIAEFIE  
 KRDGVAADPETIFMTAGASAGVSNIMQLLLSAPTDGVMIPQYPLYTAALA  
 LNEARAVEYYLSEADDWAPNLEGLDVLKSAQSEGTRVRAMVVISPGNPVG  
 NCLSRQNMEAIVRFCYKHKILLLADEVYQTNIFEPDTRPFISFKA VVRSMERH  
 IAAGQALVSFHSISKGQTGECGRRGGYFELVNIPKDVQEQVYKLASIQLCPPL  
 AGQIGVDLQVKPPQPGDESYELYKSEVDAITQSLAARSATLANSFNQLDGLS  
 CRKAQGAMYLFPKLDLPPKAHQAAEKAGLPVDEFYCMELLNKTGICIVPGS  
 GFGQEPGTFHFRTTFLAPQVDHYVARFKEFHTSFLQTY

Spot 169

>PTTG\_03429

MSRPAGLENRLPMSQTQALRRLAQHAQFLAPATRTRLVSSHSANTMSSQNN  
 TTTRLIGAPNTLEHRVYLENNGAVISAFHDLPLFANEQRNVFNMIVEVPRWT

NAKMEISKSEPFNPILQDVKKNKLRFVRNCFPHHGWIWNYGAFPQTWEDPA  
 HTHPETKAKGDNDPLDVCEIGEAVGYVGQVKQVKVLGVMALLDEGETDW  
 KIIVVDVNDPLAPKLNDIEDVERHLPGLIRATNEWFRYKIPDGKPENQFAFSG  
 EAKHKNFATDVILECHEAWKRLMKDGYSGISLANTTVEGSQHRVGHADVPS  
 DSRQDPAPIDPSISKWFFISGHSV

Spot 170

>PTTG\_00372

MFVPRSPHINTFEKQTETMSTSQHLPAAWPPALSASTLADLQQAGAVYALA  
 NSLVFRLPSPAGVHAFHVPFTLLPSPFPRDQFEKAKRVQTAYNQLYLNIATSP  
 ALIREVLGTSIAKVDGFVGRLYELWEAAEKEAGEAGETQVGLGIFRNDLLH  
 QAGQEPSQPLVIKQVEFNTVSVSFGSLASKVSGLHRYIMGRLEGSPATMSG  
 RQQLPASPALQAISKALAMAHQHYVAVECPAAVPVILMVVKPNDNNIFD  
 QSLIEFELDAGAESVRMVRLSCHSVLEKTRVDGASKKLFLDAGGADGPTWV  
 EVSVVYYRSMYGPEDFVGEAEWRGRYELERSRAINCPSLAIQLAGCKKFQQ  
 VLTEPGFIERHSGILLADMTAAMWAEIGETWTEIYALES AEGMRIAREEPAGF  
 VLKPPQREGGNNIYGRDIPGFVAGLAASERESYILMRLIEPPRKVFNYLLRS  
 PPPTSTTPAAQLERTEVVSELGIYGCCLVAATRGSARQVLWNSQEGHVLRTK  
 DSFSGEGGVAIGISCLDSPLLF

Spot 171, 174

>PTTG\_09731

MSPRCSPIELLQISLSRSAATHHHHTTTTTTTMIRARPSQYQLRTLLRAHSPAA  
 YARSPALIAPPAAARPLSTRPAIHFHADLKSDCRLAHSIRSFHSTGCNPVETVK  
 VPQMAESISEGTLKQWLKKTGDYVKVDEEVATIETDKIDVSVNAPKAGKIVE  
 TMASEEDTVTVGQDLFKLEPGEGPSGEQEA PKASSTAPPDSELPAGAKDEKH  
 AKEAAQAAPDRTPPAKSDDAAQKSSHDRKRWSDVEVENKERTPRRAEPQ  
 VTESKLPQGRDFDVGKAVGETQASRPALFDRTERRVKMSRMRSRISERLKQS  
 QNTAASLTFNEIDMTSLMEMRKLYKDGVLKERGVKLGFM SAFARAACLA  
 LKEIPGANASIEGPGPGDQIVYRDYVDLSVAVATPKGLVTPVVRNAESLGFV  
 DIELEIARLGAKAKDNKLSLEDMAGGTFTISNGGVFGSLYGTPIINLPQSAVL

GMHAIKDTPVVRNGQIVIRPIMIVALTYDHRILDGREAVTFLVRIKEYIEDPRK  
MLLS

Spot 172

>PTTG\_05189

MYASSSWLSSISTAAAAAASLPATHQAAVNRKPPPLPIHPTSPPIHQPLKSTK  
KIPITFNRQQWVVCNSCLGVVTGKNLVKVLEYAKAHGFAIPAFNCTSSSTVI  
AALEGARESKAPVMIQVSQGGAAFFAGKGVKNGNQEASIAGAVAAAMFVR  
SIAPTYGIPVIMHSDHCAKKLLPWFDGMLKANEEYYKAHGEPLFSSHMLDLS  
EESKEENIEICCKYFERMAKIDLWLEMEIGITGGEEDGVNNENVDNAALYTQ  
PEDIWDVYSAFSKISPMFSIAAAFVGNVHGKPGNVSLQPELLGKHQAYCKE  
KLKTDDPRPLYLVFHGGSGSTKKEIATALENGVVKMNVDTDTQWAYMEGF  
RNYFEAKKDYLTQVGNPEGADLPNKKCYDPRVWVREGEKTMVKRVMEA  
CQDLKKNVNL

Spot 176

>PTTG\_07572

MATEFSSRPLATTLVLFVDVGTLPARRSASPEILKTLEDLRKKAVIGFVGGG  
DLVKIREQLEVTPNANALENFDYCFAENGLTAYQSGKVLESQSFIKHLGEDK  
YKCLVNFLREISELDIPIKRGTFIEFRNGMINVSPIGRNASVSERDEFEKYDK  
QTQVRAKLVEKLLKEFADYGLTFSIGGQISFDVFPTGWDKTYALRHVEKAG  
FKEIHFFGDKTYKGGNDHEIYEDPRTIGHPVTCPEDTIKLLKELFDI

Spot 181, 184

>PTTG\_03422

MDLQSNVISFRIPLTFKANSNLQLWSFLLKNLGEVILGLNILPPARLQTLGFI  
QSTFKQPLEFCVRGVNRTFRKGPREGHVSSSGEPQVNLGCHSFLPRDENFSAP  
GGANVMNRIGQLNHHLDHSSNPSNHNKKMSSPKGDIGLIGLAVMGCNLMN  
MNDKGFTVVAYNRTVSKVDEFLENQAKGSNVIGAHSVAELCENLKTPRRIIL  
LVKAGDAVDAFIQQLEPHLEKGDIIIDGGNSHFPDTNRRCKELEAKGLLFVGS



GVSGGEEGARYGPSLMPGGSDAAWPHIKEIFQKTAQSEGEPCCDWVGQGG  
 SGHYVKMVHNGIEYGDMQLICEAYDILKRGLGLSEGEIGDIFATWNKGVLD  
 SFLMEITRDILKFNDTDGTPLVTKILDKAGQKGTGKWTAINALDLGMPVTLI  
 GEAVFARCLSGIKEERVKASKLLGGPQIEAFKGDKKQFIDDLEQAMYASKLI  
 SYAQGFMLMREAAKEYGWTLNYP SIALMWRGGCIIRSVFLGEITKAFRAEPD  
 LQNLFFNDFFNQAIHKSQPGWRRIIAQTSLWGIPTPAFSTALAFFDGYRTANL  
 PASLLQAQRDYFGAHTFRILPEHASETYPEGQDVHV NWTGRGGTIASTTYAA

Spot 182

>PTTG\_04265

MLSSRLLGASLFRAAAAAPRKPIRLSSTLLFIEHRQGKINPATLSALHAAQQL  
 DKSQITGLITGSSKAPGFDQAVELSKKLPKLLVKDDESLTRYVAEPLAPLIA  
 SVVREKGM SHLVGGSSSVTKSVFPRVAGQLDVAQVSEVMKVVDERTFVRPI  
 YAGNAMVTVCSEAPVQVLTIRTASFEALKLDEESASVEVEMLEGPIETTTTT  
 QWEGEVLAKSARPELGS AKRIVSGGRGVKNKENFEQVLTPLADKLGSAIGA  
 SRAAVDSGFADNSLQVGQTGKVVSPELYIAV GISGAIQHLAGMKDSKTIVAI  
 NKDPEAPIFQVADVGLVADLFEAVPELTKKI

Spot 186

>PTTG\_04566

MPEPGEQLQPNTQAIAEKPSTADMEGSAKTQQEYEEAGQGHVFAFFDQLQT  
 EEKEELVNQLKSIDPQRVNQIFKQSTSKSGSGAEPIDKTDLEPPP KDSLESIIDL  
 SKPEIKRNVSEWESLGFKSMKEQKVGILLLAGGQGTRLGSNDPKGCYNIGLP  
 SQKSLFQIQAEKIIRLQDLVGGSSIIPWYIMTSGPTRKPTEDYFSKMNYFGLKK  
 ENVMFFEQGVLPALTPEGKMFLETPSKVCVAPDGNGLYAALRSSSSCSAG  
 RSVLHDLKHRGIEYIHAYCVDNCLVKVADPIFLGYCISKKTTCGVKVVLKSQ  
 PNESVGV LALKNKLWSVVEYSEMPESVASSRAENGELKFKSANIANHFYSL  
 KFLESIESFESKLAYHVAHKKIPHIDLKSKQLIKPSQPNGIKLELFIFDVFPFVD  
 SLSLLEVD RSEEFSP LKNAPNTGTDDPQTSRRDLLAQQKRWLEAAGCQFSAP  
 DLEVELSALVTYAGEGLESVKGKTISQSVYIKSKDDLEKL

Spot 187, 218, 222, 223

>PTTG\_08360

MSLLEASNKSQLEWLAGLQIPPRAPHQLNASNLRKTAIIGTIGPKTNSPEMIN  
 KLRAQGLNIVRMNFSHGSEYEHQSVIDNARAAEAAEPGRPLAIALDTKGPEI  
 RTGLMADGLDIKIKAGHRMRMSVDPAYAEKCDKVMYVDYTNLPKIISTD  
 KPIYVDDGILSFKVLEKDPNGSFIEVEAVNDGVLSSKKGVNLPGTDVDLPALS  
 QKDKDDLRFVKNVDMIFASFIRRAQDVRDIRETLGPDGQSIKIIVKIENLQ  
 GCANFDEILAETDGVMVARGDLGIEIPASQVFMAQKMMIAKCNLAGKPCIC  
 ATQMLESMTYNPRPTRAEVSDVANAVLDGADCVMLSGETAKGSYPELAVA  
 MMAETCFLAESSICYPPLFNELRMLQPKPTSTTETVAMAAVAAALEQNAGAI  
 IVMSTSGSTARLVSKYRPACPILTLTRNAQTARQIHLHRGCYPFYFASPRPTN  
 AAGWQADVDNRIKFGLSRALELGIVKQGDTVVAVQGWRSGSTHTNTMRVV  
 TVPLNPADLVLSPLV

Spot 188

>PTTG\_01714

MSSTQVQVETIKSGDGKNFPTKGDVKIHYVGTLESKDGKKFDSSRDRGRPF  
 ECKIGVGQVIKAWDQGVVQLSIGQEAYFKCPPEIAYGDEGCQDVIPPNSTLY  
 FKVELLEINGKSS

Spot 193-1, 201-2

>PSTG 11939

MEPSKAGLVPSGTSSPAKSPGSKRSPTPRISSQLPGGGALLYIPGGPMCNSSLD  
 YQLAQESPSALDPSSPSNLLRPPDYTQSISLSPASSPSKKHPSSTRNNVNSP  
 RNQPHQFSSPK

SRPGSSSRFSRQNAREADVLGKILGWRQSRTLRTTNSFKLSPNHPKQPYLRP  
 DHRHQQKHSPSEHRIKPTSPQELPEIFRPSIKHSSATPLNTLPSGKLLFGDHLHP  
 NDFQTGDHKSPPNSRPYYAQQSSDLTSSHTSSNFLSSVTQANSSQTSVNQL  
 HPSSPHSPSPKASQLASCSDGVPSHPHNQSHPGIKLPVLRPLKKSFSGQLN

QHYNLSHPSRDPPKPN SQPESYSRLPQLPEPSTPLAS PALLPEIFNKQPVALDR  
 PISLATPDDTELMSPA VFSQH PKPSHSLQH HQRFSLPAMHAILDANSSLSQMI  
 HLDHAYSDDSDHSVQPNGGLTKHPPMHG VASNESIR TAKPNTEFDSSKPLPR  
 FLPLTAHQSLPEGDHPTSSPDHNNSAASGRPLRFQNP RVFDL FVHNHRRDPT  
 DLLRRLSPELPGSSTPSETSSTQSHFQSLGASVNPSL NSSNFFGSIANVNSPLN  
 KDPRFVIWAESPSSAPRQQPLVNA YPASRKRSSATVETRHYSHHPASASTSHL  
 GIDHSTGRLTHAPSTS FGLSSPSGSNNPKRWSRSSRTPTSHHSHVETTSNPSPH  
 QSTDAHHLRDDNAHGRSREELPHTQPKVSPGIEHTPKLATDRILMAATIERW  
 VAELTTHIDSLGLVEFFFTYRAIMKPTQLAQLLASRFEWSIMFRSTSYAQHLL  
 DSNQESFVVDSSSEKGILGLDGRILIDHNGETLRRVAKVRTFVMIRHWLLH  
 HFEDDFLADLSLQTELHNWLENTIEKIKRVQRIITRLDEPAPPETDKSKYHAA  
 GTSTSFDDGDDL RILKNLRKVKELQSNYHQSFVDVVRDQQPASIREIDPSED  
 DDQKRSSLNRKLHKVDVRELFKESDGRDQQT SARRNRRSHTADLIDVPKSL  
 LKKNLGHGRAHSVNTLAQVSAANFGRSDLRLCELDQDLTNAPGVLHEEENS  
 PNPTPEVDPSKAEEKLILKLKQVFESDTRRHRADLYHKFIQKEADLDPSRFSV  
 NRTSHSLPMQQQRQLMISRMRTSDGAADMPKSHMATQARMSHSNHPSAPF  
 NQGGSTFLQHHSPFHRYFTSTMG TIGRFKRMINNRS GPHTVSGPGILSHHLIG  
 GNASGLDFSSPSLSRETGSHQDQPDTSEIGDLLCAKGLLERYLSFFEIEKDN  
 AMASYDEQHVKDSIQVQRNSLSTAVAPLETNSAFESLGAADQTVRSPVQYD  
 DCSESQLSLSSSLSNTTCTTQSM PSETEGDMNSEAPGGLDPVVVSVDVSGEQ  
 QLISKSTPDHDGHL LHGSMSETIKSEAHHLALAE GEMDILKKQLRQKFSHK  
 DMCPVLMRASLDGSFSGTVPEHSTSLMRHSEDS PRFNTFSISVSSPNGEKDLA  
 GRPTSVQLDDLDLFDSDSDSPVGVQKLRR LPGA VDLKQAI AFGRKSLFNKLG  
 GLLRSKNEERSKRFTETSSSIGTRRVPSIAGSMFRRSKLSHKPSIANSTSSIA  
 PSTQESSLTEQNEPDNGTPGVVANFVADGLESDDDEPGDVEAALRRLEGVID  
 ADREKEKAKKVELQMIKSMEASRRTRTF SHTTSDSRDSYSSQTDDIDELETC  
 SESADGDDVSEESDEDEGSEANNHDEDEE SEDGQEEEDGKQEEDEDDGNNEE  
 KTVEYGEVTISEHNRRSKSILLDRSTLDSPIAEGDEDDDTKFATTPNLSPNMR  
 GKTEHSGGTPDFSGTSSVSPKPPILSPSNHTPSSKPGIRFFTAHSGLSLDDL  
 GITNDHSEDHNKTLRGNRKRLATRSQQVMTRK GSLHKLFSATNNNPPKSKG  
 STLTSPPLLAAPSSPYNNSVAGKPSIMHSLPLPPLHRSFLLD CRTEILAQQFCLI  
 ERDLLRNITWQELLSKWQDDRSNTHHHGNTGNNGTIGHNGRASSRRKKG

GIGSTSVEDA VTCWETFMKQRAKEKMRMKGRIQSHQNLTAADNPSPSSPPT  
 TKKLDGTEINALIMRFNLTCNWVASELVLINLDERVALLGKFIRLAFKCYR  
 QNNFQTLTQIIHGLQTPYVERLKKTWSKLGIWESRMFRDLKEFTSHLSNFKSL  
 RNVQDSLNESSNLSSSSNNNQSSSTSTFNNSTSSSNANHPNTVGNATGVNG  
 SNVGTSSSASHFLHNNPDNLAGGGGSNSRTSHTYARASNSNACIPFLGLYL  
 RDLTVNDELPTYLDPTDPSIPVEIDYDTGKLTRLSNPKVFDHLPSLPPVFGPSSI  
 KKHQKEDNDHKKEEEGLEEQENSENDYGYYP LININKLR TYAKIILKII EFQN  
 RSIKNYTFETDSKWFLTCLKIKCLSSEQLKLLSRTCEP

Spot 193-2

>PGTG\_21560

MGCMGCIELSGDTAPGKGFPGPFLCRTDTASNCLHDCSTHDTVVMNQGYPPD  
 NPPPGQGSQHPQPHDPDSFRPLYNRVIGPHPSLAADWSQSTGIHPSEQPAAR  
 TIQVANSULTYGQTVRIHPAGAPAVVNHPNYPQADHYTNHNPVHPAPGTVGS  
 VQVVLLSDAYKGRPSLAHHTTTTQDYPAGSVTRLVSLGPALQGQPVIHPPAT  
 QLPPAVIPTPTPTGSSVVTTPVVNGGIRTCKPKRTAEEMRLADLVAAEKRAR  
 RFQNQADKAAEARQKQATNAANRMLKAQKAASATPRATWSEEQTIELLNY  
 VRMVKDDHSQVTGGFIPFGKYFVA YTGHEEAFPLLD SVLPATRLAKYRAVM  
 DKWKSMSSTGVDKRTPMPVHANLHARRRLACRPTRQRSLATHAVVLW  
 DGGTPKRICLWRAGLHTGLHSVDWRASPHANLLWRAGAHANPHLACGLAC  
 AMGAGVCLSMPPVDRSGAGGLSSALDAGNLSQEIWDLILDMHGDNPAATA  
 EGLTGSSADYETLLQEEVNSGASSGPGSSDIEAPDSL PATPATRNKRQTKYQR  
 LCAGLTPAELALDPDSSSDCDLPDELPLGAPGTTRTG VNVTPIPGVPPLTPVL  
 GTPASIPTGPPMGSKRKARALSSKQPVS RPPAEVPTIPRRRRGRTEEKTKEGDT  
 TGTGMLVMMHKAQESSASWAAEERRDAQVERARQDVIRAEERADRQRIED  
 RQAAERAAEIKRQDDI

Spot 194-1

>PTTG\_03025

MEADPYVQKASQDAPTQKAAEEVGNIVEHVKTAML TTRHNGGALNSRAM  
 APASKKGLVFEFVANNHSEKFEDLQNDPSCNVSFYDPSSTDWVSVSGQAKII

EDHEEIKKIWNSSLSAWFGNLGDGKHTGDYDDPRVAAIQVKPTEIRYWSAK  
SKMSQTMEDIAKAKITGNAAAPGVLRVINNELCQLADINGKHV

Spot 194-2, 204

>PTTG\_07306

MSSSNVVLVLRHGGQSEWNKQNLFTGFKNPPLTPDGEDEAKRAAMKLELG  
FVFDCAYTSALQRAQATLDLILGVVDQKSIPIEKDMALNERDYGDLSGLNKD  
DARAKWGGDQVHIWRRSYDVPPNGESLEMTAKRTLPHYNAHIKPKVLEG  
KTVLVAAHGNSLRSIIMQLEGLTGDEIVKKELDTAVPIIYELDSEGKVLKCTV  
VKVPPKED

Spot 195

>PTTG\_08248

MYRFPARPALAKSLNRAILGSKIQTRQLSIHEYMSMGLLNEYGIPTPISKA  
TPQEAHKIAESFGKPMVIKAQVLGGRGKGFEGKDGLKGGVQMVDTP  
ALQYAKQMIGHKLITKQTGAAGRICNAVMLAEKREPSHEYYVAILNDRSLN  
GPALVASAQQGMNIEEVA AKDPAAIHTFPIDFQKGLSKQQGVEIATKLG  
REAAADIFINLYRLFKDKDATQIEINPLAETKDGAILCMDAKLGF DENAEFRQ  
EKVFQLRDRSQEDPTEVEAAEYGLNLIKLDGNIGCLVNGAGLAMATMDVLK  
LNGGNPANFLDVGGGATAEAVKKA FELITSDKGVKSIFVNIFGGIMRCDVIA  
EGIIKATNELSLDIPLIVRLQGTKEKEAKKLKESKMKIFAFDGLDEAACKAVE  
AAA

Spot 197, 198, 199

>PTTG\_09038

MSIFRTESLKDATVLITGASGGIGAATAILFARAGANLIITARREAVLEEVKLA  
CEKANKESGVGHGGRVSALVLD MQEPQAIDSFLDRVPPELKKIDVLVNNAG  
LVYGRDQVGD LNFEVQVMINTNVLGLIRMTNVVVKGMKERAKGHIINIGSI  
AGREPYAGGSIYCATKHAVNAFSGALLRELVSTPLRVSEIQPMVETEF SVT

RFRGDRKLADAVYDGLQPLTAEDIAEEIVWCAARPPHVNVAELYVLPTAQA  
SATISHRQNS

Spot 200, 220-1

>PTTG\_03445

MSDSNTCYFDQIKRSFADVPVTDEGVDTLAFLEACEDLVKLFDFESKAFV  
VQNDLTGNIKIRKRYDACPEKSKTLESLVENEKAEKKKDATQGLLWLTRG  
LHFTCEGLQLTQKNPGEELSVSFTTAYQGTKDYHSFVVKPIFGLAMKACPY  
RADLFKKLGAKEKVDVELEKWLSALEKIVVRIQSFYEKGNYGKGL

Spot 209

>PTTG\_27324

MSDVVIREIVKGTILTFKPKRGLGITPIGGRSTAIKLSDSSVWLLASTPLTDET  
REKIDQLGQVKYIAVADMEHTGFTTQYTDAYPDAKVYGPGEAAKKGIN  
HEWTADKDHNPMEYDSQVLKDEIKAEYFDGFINKDIAFLHVPSKTLIEADLL  
FNLPAEQYSKSKESATNFTNWFATLKPSTLHQRVYNLAAVNKKSMAS  
AYKVDQWDFDRIIPCHGDVIETGGKAAWRAAYSLEYFDDIKNGKFPGLGGST  
SKEQ

Spot 214

>PTTG\_03594

MDRNFRVGPDISIIDVVGEGAYGVVCSAVHEPSKQKVAIKKITPFDHSMFCL  
RTLREIKLIRWFSHENIISILDIVKPPSLDEFTEVYLIQELMETDMHRVIRTQDL  
SDDHCQYFIYQTLRGLKALHSAAVLHRDLKPSNLLLNSNCDLKICDFGLARS  
AFMGEQEATGFMTEYVATRWRAPPEIMLTFKEYTKAIDVWSVGCILAEMLN  
GKPLFPGRDYHHQLTLILDILGTPSLDDFYAISSHRSRDYIRALPFKKKKPFAQ  
LYPNASALAILLEKCLTFNPKKRITCEEALRHPYLASYHDPDDEPDSPPLDP  
SFFHFDNGKEQLSREQLKELIFNEIM

Spot 216

>PTTG\_29605

MSSRLTAPALARRQLRLITANPAWTPARRAPPPAAAAASMSRRLAILSHHLA  
 PPPSSSRPAYSSRPSPTPQQPSVLTKTDGNLRS�TLNRPEALNALNMEMIQAI  
 AAELTKWENSEPAKMVILKGVGRAFCAGGDVVSLIKSVASEDSAQRKTPVD  
 FFRAEYTLDSFIAKMSTPVVCFLDGITMGGGMGLSMHTPFRIATEKTRVAMP  
 ETAIGLFPDVGASFFLPRLDGELGTYLGLTGTSLYGWGAFQAGIASHYVPSSS  
 LAALEDRLSALSADATHDRINDAINEFAADPEESSSSSPAFDLQGTKRQAIDH  
 CFGQNTVEKIVEQLEAVRDGHLFSEDPALKSWAEQTIDLILIRSPSSCKITLMA  
 LREGKKMSIDECFAMEMRMAATCCDVQTHPDFVTGVTHLLVNKQKSRPAW  
 SPSELSEVKLPEITAQYFSSQPASSTHVRLDSLSPTRIQSYHDYPYANYGLPS  
 EETIKNLVIGNVKGTSGHLAITAPELHEMVSQKWNHKGVAQKLDDILARR  
 TTRKGGQNEGFVLKWQY

Spot 220-2

>PSTG\_11145

MGNESDSSDDGRTSKSQITKLHCHNWSWDRDQFEDVVIKGFANLFNKEW  
 LKTNKKSIEDLKQMTSWAMVKLRATVKRELHPVILNHPKDLFAAVDALATA  
 CGEKLVIRLCDKLFALTSNVYTPGSSLAEHANQFMKKYTSKMSVKAIPHFM  
 YVSTGMAGALLRSLNQDESLTPLVQSLFDLNPLTFEKVYDRLLIEESRKDSA  
 IAESAYFSNQAKKLGKAPVNRSTFGSSNRGSSSSRGSHRGGNNSRGNFRGLT  
 PTRPNPNNSDNRSDAMSKQFSQLFRREMKNFIESGQADMMEENDDDEDYEEE  
 DDHDEDNYVDNPDDVLLGLSLVPIAPSEI

Spot 221-2

>PSTG\_08642

MASTPPNPPQAGIIVPQEVWAQMQQFMAAFGLPGPIVIPPAPAPIVTPLAQSS  
 VIGIGESLIMDIDDEEDLSPPPQDTHVDQLPEENDRQEKEDSLEDDLSVKS  
 PGDLVVRPALRPGVITNLCEYDYNTGEPLDPPPVGQFLSMADVVAFCQEWA  
 KHHGYTVSTGRSNANKNVYIRCGRSGDFRGQQLNPAGRQTATKKICCPFEV

KGS IPTSRKIMNKVWTL EIREPEHNHEPSYSPLAHAAHKRVTLEQVIAIQKLS  
 QSKIKPTQILIQLR TSNNETYATNKTISNVLQKQRLKDL DGRTPIQALLDILKE  
 SNW TYNVKVNSSGNILNLFFAHPGSIHLARIHHHVAL LDSISTAFTPPFEDQD  
 SYEWAVNNLKKFIWRPQRIPPVFTNRDSALRNALAEVFPDSQRNLCTWHL  
 TQNI VTNCKKYFGTDKNDADDDTDGRNDKKKHKKKQKKATDKEEDEST  
 NPWKAFLRVWGKVTNSKTPELYVTHLDELKAHLATRP AVLEYIETPMVPVK  
 ELFVVAWACQYPHLCNLNTSRVESGHAYLKR FIVNSTGDLLSVFKSLGLAV  
 DNQINH VHE SICRDTVKTLVNVPKSFVPLL GKISTFVIKECLQQFERLVNLDP  
 TEPCSHVTIGLGIPCAHRIELMEDDKFVAPKDFHLQWHLRYNPEFTRTEEE  
 EIDL DKELRIITMSL THERPTTADDLLAQMKGIAARTHKA VTIQVPEVKKNTK  
 GRPSTKAERLTSTKRQPSAFEIVEAKLKKEQLARKQALKAQKR NKS KRIKKN  
 EPTEPPKIYSEDEYSPGSDLDDDFD SLLDAGGAEELLSEASDEEAEEAEIQEEK  
 EESK KENKEESEQDNKENNHSEEE NEQS GEEDDKKHEKKIEIDSQTNDKKHE  
 KKIETDSQTNDTAANNEHEETIVQGGGV TLLTKGRYALQIPP NLQPYITQVF  
 DPTADGNCGFCC IARALGYKEDGW FQVRQELLKEATDHQAAYS KLQGGEE  
 TMESIKNLEVKSKKTRISGDKWLDKMAHGQMLANAYKRPVIFLLISDCNTF  
 LPLRAGPSEQCEPIYLLHVNGNHWILALVQGKDGVKPVP PPVLATRMTTKIA  
 KSWLSHIQKGIHLYAKATRF

Spot 224

> PTTG\_08772

MVLTASLCQPLVRSGFHCLDNNHLPLPNAKHSISVQSNMSDKALISLSNGVK  
 MPQIGLGTWLSKPNEVKNAVTHALKSGYRHIDCAKVYGNQGEVADGIEASG  
 VNREEIFITSKLWNTWHHPSKVAEGLED TLKELKTDYLDLYLIHFPVSFAWP  
 ESAKAADSELLFPLAEDGVHVKLDLQTSIVDTWKEMIKLLDTGKVKAIGVSN  
 FEIEHLEALNKATGVAPT VNQIERHPLCIQADLVKYCNSKNIHVTAYSPLGNN  
 LVGETKIVDYPEVKEVA AKLSKLSGETVDPAQVLI AWGAVGGISVIPKSVTP  
 TRIDSNFKQVKLSDEDFNKITELGKNKTVRYNVPV TYEPKWNVNVFNTEAE  
 KSCAHGIVLGV



Spot 225, 231, 290

>PTTG\_05785

MLRSTASSVLARVKPSPRLASRTFASSSSRARIISTQPVKASETSSKFANGKYP  
 VIDHEYDAIVIGAGGAGLRAAFGLAEAGLNTACITKLPTRSHTVAAQGGVN  
 AALGNMTEDDWRWHMYDTVKGSDWLGDQDAIHVMCKEAPQAVIELEHFG  
 VPFSRTKEGKIYQRAFGGQSLKYGKGGQAYRCAAAADRTGHAILHTLYGQS  
 LRHNTNFFVEFFALDLIMDDAGNCVGVTAYNQEDGTLHRFRAHQTVLATGG  
 YGRAYFSCSAHTCSGDGNAMVTRAGLPLQDLEFVQFHPTGIYGAGCLITEG  
 SRGEGGYLLNSQGERFMERYAPTAKDLASRDVVSRSMTIEIREGRGVGPKD  
 DHCYLQLSHLPPEVLHERLPGISETAAIFAGVDVTKEPIPVLPTVHYNMGGIP  
 TNYHGQVLTQDPKTGADKIVPGLYAAGEAACVSVHGANRLGANSLLDIVVF  
 GRACAKHISANMEPGKPHKTMPEMAGMKSIEDLDKLRNASGPKPTAQIRNE  
 MQRVMQNDAAVFRTQSSLEEGVKKIHKVVDSEKDVGVTDERSMIWNTDLVE  
 TLELRNLLTCAAQTMSSAEARKESRGAHAREDFPEREDDSWMKHTLSWHN  
 PESGEPVKLTYRDVISTTLDENECKSVPPFKRTY

Spot 261-1

>PTTG\_00016

MHRPSMLGFIASALAGSALAVPFNDPDSHLAPLITPTAPPVGGPLSHLSIQG  
 GRSPSDYLIKDSYVVVFKKGTHDDRSLQHKSJVHQLWKQDQQRLQSESY  
 GPADLFSGIKHHYDGMTSFKGYSIHVPEALISIIRSFPEDYIERDSRVWINDQ  
 YENPSTIPVAEKPSHPTSEPIDVEYGAPWGLARISHRHKLKFSTFNVYPFEDPA  
 GLGVDAVIDTGVNIEHEELEGRAKWGKTIPDDPKDLNGHGSHVAGTIAS  
 RTYGVAKNATIIVKVLGAGGSGTMSDVVAGVVWAAEAAATKARDEAAK  
 KDSKHKGSVANMSLGGGNSPSLDQAVNAAVDTGLHFAVAAGNDNRDACT  
 FSPAAAKKPITVGASTIQDERAYFSNHGKCVDFAPGLNIKSIWNTGSKSVNTI  
 SGTSMASPHIAGLAAFLSIYPEKLDLASLGVYEDEQDEFVASNGEAYDLGQ  
 YFSWNSVSSQGQLAFGKFKEAVGYSGSTQPKDAPQALSTRMLKKAMIKMST  
 SGVLSKLPGQTCNYLAYNNATVPRALTAADFRI

Spot 261-2, 263

>PTTG\_12239

MAEPTARKQEKDFTKEVDELVADVGLVKNNGGLQQGLEKLLGLEKQTRNA  
 SDLSSTSRLLEVVQIVFESKDIDGLCLHVHQLARKKHGQLRQATTTMVDRV  
 MSFLGELDQANKIKLIDSLREVTEGKIYLEVQRARLTKQLAQIREAEGAPGTA  
 NELMQELQVETFGSMERREKMDFILEQMRLLRRTQEDWEKLAIVSKKINSKW  
 LGAEENEDLKLRFYGLMISYGSKMSRHLDLCKYYRSIHECKSVEAEPQALA  
 ALRNAVYFVILAPYDHEQSDLLHRLAQEEEEELKKIEAVYDLVKCFTTPELMR  
 WPGIQELYGPVLRKSRVFGPAGTSGLVGDIAEDDPLAGDRRWEELHKRVVE  
 HNIRAVSRYYSRLTLERLSELLDLSPGGSERRLAQLVSSGTVCANVVPHPQPP  
 SHPRMLDPSAKLIFQGALATLPSPADPASPARRKAQPPAPLAAYAVLFLDGR  
 LECYPGDPFSVGSAAHEAAKPTHILQLNPHHRWVLQATQNSPASFPFTIARQPL  
 TLLGLDVEAMGTTNRTSLTNNTPSDSLKALKDRKHTPTLIDLQDPCPDLPL  
 HDHPHHAPGSARSSQLNSPASSSTSPHPTTIHPAQNTLTFAASSESARKQWIT  
 AFLSVFRLTSDLEASTSNPSLHVSPDRASAYQQHQQTPIRSTLSNSSFPNSNSN  
 AHHTSRIPLAPIQQPRSSSSASIATSHNFSADLLSPTHSPHAGLLSHKPSSPSPS  
 PHSHPHSVSASSHEMAVAVPAWIKAVRNADERKPGPDPELLSEKAGCYAS  
 REGSLDQQPGSARMAHSFSAPAPLAGPDRPAAAAAKPAPAPSIKSFGSAVVQ  
 NLKRAGSLSEWPDYASPAHSILQRMREPDPLSDSPRPASPDPSDGAAPHQKR  
 LWLLSA

Spot 267-1

>PTTG\_05453

MSVCPTTSAPGHLAKYMDLPQPENLIQAEYVWIDGTGGLRCKTTTMDLPKS  
 GQVTVADCKEWNFDGSSTAQASGTDSVFLRPAAVFKDPFRRGKNVLVLA  
 ECYNSDGTPNKTNFRYSCKKSMDDAAQHKPWFGIEQEYTLFDADGVHPYG  
 WPVGGFPGPQGPYYCGVGTGKVFARDIVEAHYKCCLYAGVTISGVNAEVM  
 PSQWEFQVGPCEGIDMGDHLTMARFLLYRVTEDWGIKVSFHPKPLAGDWN  
 GAGAHTNYSTVATRQPGGIKAIHEYIEKLGKRHNEHIAVYGADNDQRLTGR

HETGHIGNFSSGVAHRGASIRIPRHVEATGEGYLEDRRPASNIDPYQVTGIIVE  
TLLQ

Spot 267-2

>PTTG\_08909

MPAPQTVPCQYKTGRTLGGQTYAVVKEAVHISTGKYYACKVINKRLMEGR  
EHMVRNEINVLLKISAGHPNIVTLHDYFETLNNLYLVTDLCQGGELFDRICA  
KGQYYERDARHLVQVVLNAVEYLHSHGIVHRDLKPENLLFRGPEDDSLLI  
ADFGLSRVIDDSKFNALTTTCGTPGYMAPEIFKKS GHGKPVDIWAIGVITYFL  
LCGYTPFDKDDSAEIRAICDAAYKFEPAEYWKNVSNIARDFISKCLTVSPEE  
RLTSRTALEHPWFASEVEPGVIDPSSDKGETQNLLPHLKRQFDAQKTFRKAIA  
TVRASNRFRQSTGIPGSTNPEVDELMKVVEAGQADAAAESSETVNEVLAT

Spot 274

>PTTG\_01684

MAHLTTNAFTRRFLTATTRPTVKNLNTSSTRALSSLAAQHPQPRSLKAHSSG  
SPLSTFNSRLIQTAAADSSAVNPDKIPSNDGDKFNITLDADYYQTYKCDAPSLE  
LEMTKAELVQMYRWMVTMRRMEMAADALYKQKMIRGFCHLAIGQEAVS  
VGMESAIQPDDKVITAYRCHPFAVLRGGTIKGVIAELLGRKDGMSGKGGG  
MHIFTPTFFGGNGIVGAQVPVGAGIALAQKYLNQDDKHATFIMYGDGASNQ  
GQVFEAFNMAKLWNLPAVFCENNLYGMGTS AERSSSNTKYFTRGDQIPGL  
QANGMDVLSVHNACKYAKEWTTSGKGPLLEFITYRYGGHSMSPGTTYR  
SREEIQHMRSTNDPITGLRNRLLEWNVIKEADLKAIDKQAKAEVDVAVEEAK  
KSPEPDPATDMWTDIYYKGTAPKWMRGREKEEVHRYKPEECKDLI

Spot 281

>PTTG\_03798

MIRASSKPISILNRQPIARPSAILHPNHFSSTARQQAEIELEIDGKKVTVEQGS  
LIQACEKAGATIPRFCYHDR LAIAGNCRMCLVEVEKSPKPVASCAMPAMPGS  
KVFTNTPLVHKAREGVMEFLLANHPLDCPICDQGGECDLQDQSMRYGSDRS

RFKEYTGKRAVENKNLGPVKTVMTRCIQCTRCVRFANEVAGVDEFGTTGR  
 GNDMQIGTYIEKTLNSELSGNIIDLCPVGALTSKPYAFTARPWELKLTESIDV  
 MDGLGSNIRIDSRGLQVMRIQPRINEDVNEEWIHDKTRYAYDGLKTQRLTVP  
 LIKTDGKFQPATWAEALTAVAEGFKESGAKNNEIKAIAGALADTESLVALKD  
 LLNKLGSNTALENPSGDTSPAHGVDFRQNYAFNSTIVGADEADFVLLVGT  
 NPRHEAAVLNSRFRRSWLNKGLRVGLIGQKFDSVFEFDHLGADLRAVKEFV  
 SGNGKFAQSFKNAKKPMIIVGSAVNDHADGHEIFRSLAGFVEAHQAQFLTPE  
 WNGFNVLQRTASSTAAYDVGFVPTNSASQAQAKFIYLLNADDFDPSRIPKDA  
 FVVYQGHGDLGASYADVCLPGTAYTEKSATWVNTEGRSQLGRTAVSSPG  
 SSREDWKIVRAVSEVLNVALPYEDPIQLKNRMWEVCPSLIRYDELVPSSTAL  
 EAVQSIASTQAPSHRSKASLKTGALGLPIKDFYFTDPISRNSITMAQCSKAFSN  
 PDPNVSHSDKSGQPMAAFG

Spot 285, 287-1

>PTTG\_06073

MPPPHNPMLGCTYGFVWSLLLLKRTLHPHPARPPPPAPALPAHNITPFPPTHN  
 KKSLTGLALVSSPLYALPPLTMKAILVGGFGTRLRPLTLTLPKPLIEFCNKP  
 MIVHQIEALVAAGVDEIVLAVNYRPEVMVSVLKDTEEKYGIRITFSVETEPLD  
 TAGPLALAKDILGKDDSPFFVLNSDVTCTYPLKQLAAFHQAHGKEGTIMVTK  
 VDEPSKYGVVVQLPNSSAIDRFVEKPVFEVGNRINAGIYIFSPKVLERIEVKPT  
 SIEKETFPAMVRDQQLHCMDLEGFWMDIGQPKDFISGTCLYLSHLSALGDPN  
 VKDQAAHKWVVGGNVLDPSAVIDPSAMVGPNVVIGPRCVIGKGVRLQRC  
 VVMAGARVKDHSWVKSSIIGWNSTVGRWVRCDNTTVLGDDVNIKDELLEN  
 GAAVLPKHSISASITEPAIVM

Spot 286-1

>PTTG\_03821

MVYKVADVSLAAWGRKEIELAENEMPGLMYLRKKYGKSQPLKGARIAGCL  
 HMTIQTAVLIETLTALGAQVTWSSCNIFSTQDHAAAAIAATGVPVFAWKGET  
 EEEYLWCIEQTLAAFPDGKPLNMILDDGGDLTSLVHDKFPQYLDGIGGVSEE  
 TTTGVHHLKYLKHKQGLKVPAINVNDVTKSKFDNYYGCRESLVDGIKTRAT

DVMLAGKVAVVAGFGDVGKGCAQSLASYGARVVVTEIDPINALQAAMAG  
 YEVTTMEDVAHRANIFVTTTTCRDIIIVGKHFEAMPEDAIVCNIGHFDIEVDV  
 AWLKKTATSVSNIKPVDRYTMPSGRHIILLAEGRLVNLGCAHGHPSFVMS  
 SFANQTLAQIALWEDKNNTTYPLGVHMLPKALDEEVARAHLHALNVKLTN  
 MSEAQAEYLGINPAGPYKVDHYRY

Spot 286-2

>PTTG\_04794

MSSICRNTILKGIANKAVLPGSRTSSVLSSSRLGVQCRNISSTSSGLSCVQSRC  
 RSPRNPRSIPIHSVAIRSYAAEASKKFTRNKPHMNIGTIGHVDHGGKTTLTA  
 TKSLAALNSNNKFLDYSQIDKAPEEKARGITISTAHVEYETENRHYAHVDCP  
 GHADYIKNMITGAAQMDGAILLVSATDGQMPQTREHLLARQVGIQKLVVY  
 VNKVDQIDDPEMLELVEMEMRDLLTSYGFDGEQTPIIKGSALCALEGKNPEI  
 GVESIKQLMKATDEWLDQPVRDLDPFLMPVEDVFSIPGRGTVVVTGRVERG  
 TVTKGTELELIGLGMNQKVALTGIEMFKKELERGEAGDNMGALLRGLKREQ  
 IKRGMVLAAPGSIKAVTKFLASIYVLTKDEGGRYTPFMNNYRPQLFLRTSDV  
 TVSLTFPEEVKDRHEKQVFPGDNVEMVCELVHEVAIEPGSRFTIREGGKTVG  
 TGLVSRLF

Spot 287-2

>PTTG\_06742

MASSSYDSLQPGRDSLDDSELEAGEDDEDFIINQTLTLLFSNKPSPLLSPASHPL  
 QRNQQNSTIHARLSKILGKRNPSTRSIAICTLAGLAIGLLLWFSHPPSSNSNL  
 QTTSKPFNPKLFNQSPDGRSRISLNDALSGSFHVNRHAISWLDEAGDGVYSEI  
 TPAGIILKDLKNNSSKPLIRASELVDPQGRPIYPEAFTVSSDLRYILVSTNSQQQ  
 WRHSLRHYWIYDTLHRTVTSLRPDIPPHQPRISIALWSPTGHSIAYVLDNDI  
 YLLTSPDHVHSPLRITITGTPTIFNGICDWVYEEEEVFEASEALWWSPDSNKLV  
 WLSLDES DVPIYELRTYNPTEQVGQTMPYPDKTKMKYKPKPGFSNPIVSVHLF  
 DIEAHQRADGNNPVKDAVSQKLDSEFEDADRIVGELAWVSAHELIIRQTNR  
 IATREKTGYFDLSQLAASRAVSPSTYGKVVMDIDFVKFDGGWAEPGQFIKPII  
 TGKDFAPGYLDIRINHAGYRHIA YFSPPDSRSPIFLSDGNWEVDGKISAVDFE

KNLVYFVAANPSMERHLYSVKLPTKAELKKLESQSNIDLQGVTPVTPITTVG  
 GYYDVVSFSQMGGFYLLSYNGPSTPWQKLVKVADPSFETLIEDNSALNKTLSK  
 YALPTVHFTSIKNSIQQDMNIQEIRPYQMDLSGKTKYPVLFKVYGGPNSQTA  
 SKRFAIDWSHFLASSMEYLVVYVDGRGTGLKGREFRVGVNRNQLGKIEALDV  
 STAAQYYAGLEYVDPERIGIWGWSFGGYLTCKTVESHKDFSMALAVAPVT  
 DWRFYDSIYTERYMSTPALNPLGYQNSAVSRMEGFGNLSFSLAHGSADDNV  
 HFLNSASLLDRLTGAHIHGFQFRMFTDSDHSISTRDAYKELFGWMTDFLLRQ  
 WGHGLVSSLHLNQTINIDALLD

Spot 299

>PTTG\_04303

MKGK GKRN YFII QARFMSQTRCTTNFHSTLTL SYN SHILLPEETE KEADSLVA  
 TSRVYLDITRGGKPLGRVVIALFKRTPKTS ENFRVLAIGNTKSASGTPLAYKG  
 SSFHRIK NFM IQGGDFTKGDGTGGESIYGNKFPDENFLYKHEGPGTLSMAN  
 AGPDTNGSQFFLCTVTTSWLDGKHVVFVGKVVEGMDVVYDI ESSKTDSRDRP  
 LEKVVIADSGELEIEEQVDEEGNKVPLRVEL

Spot 306, 307

>PTTG\_02168

MSVQEVTTTAFNDQKPGTSGLRKRKRVKVF EQANYTENFIQAILDGMPPAGVK  
 DSTLVVGGDGRYYSPECIQKIIKLAAGNQVKHLIIGHK GILSTPAVSNLIRK RK  
 ADGGILLTASHNPGGPNADFGIKYNVSNGGPAPEGVTDKIYEITKTLKSYKMI  
 ELPEVDLSKLGPNLGPISIEIVDSVADYLVLLKSIFDFDSIKAYLHGNPPPLK  
 VLFDGMHGVTPYQAI FVETLGLSAESI QNCVSSPDFGGGHPDPNLTYAHE  
 LVARVDKENIGFGAASDGDGRNMIY GKDAFVTPSDSV AIADWAQEAIPYF  
 KSGIKGLARSMPTSGAIDLVAKAKKLEVF EVPTGWKFFGNLMDAGRLSICGE  
 ESFGTGS DHIREKDGLWAVVAWLSILAAAEKRG IKNGIKGV LQDHYKKYGR  
 SFFSRDYEEVDSVGASKMMSHIESAF GKDDFIGSSLSSETSSTSFKVKEAGN  
 FSYTDPIDKSVSKGQGLYVKFADGSRIVYRLSGTGSAGATIRIYVEKYSQNEQ  
 EYDQDTQVGLKPLIEVALKLSKLQQFTSREKPTVIT

Spot 309, 337

>PTTG\_01152

MASNPAMPSQVDVLIIGAGPTGLGAARRLHQLKNESYLVVDEQSQAGGLAS  
 TDVTDEGFLFDVGGHVIFSHYQYFDDMIHEALPQDSDWLTHQRISYVRSKNS  
 WVAYPYQNNISQLPIEYQVSCIDGLIDAAEERTRA V GKPKNFDEWIVRMMG  
 VGLADLFMRPYNFKVWGVPTTMMQCEWLGERSVAAPSLKLVVKNTLYKKE  
 AGNWGPNATFKFPAHGGTGAIWKA V SRCIPQDRFRFRRLVSVDGQKRVAS  
 FDDGSQVSYKNMISSVPLDLFCGLIDQEKQAPAPSLKTVADGLVFSTTHVVG  
 FGIRGLPTGAMKGSCWLYFPEDDCPFYRVTVFSNYSNNCPQKDAKTKTIQT  
 ADPSMGGQADLQTAKEGPYWSLMLEICQSKMRPVDEPNIIKDSLKGLINTQ  
 MIEPNAEIVSIYHRKFHHGYPTPSLERESQLKTVLPALKEKYSIWSRGRFGSY  
 RYEVANQDHSCMIGVEAVDNILFGAPEMTLNEPDWVNGRKNTERRLD

Spot 310

>PTTG\_29181

MATTLTHPAIKDGFREESALWPGQAMSLQVKKVLHVEKSKFQDVLVFEST  
 SHGNVLVLDGAIQCVENDEFSYQEMIAHLPLNSHPNPEHVLVIGGGDGGVLR  
 EVLKHPSVKTATLVDIDEAVPRVSKTFLPHMAAGFNDPRVTVHIGDGFQYLR  
 DQVGKFDVIITDSSDPNEGPAQTLFGMPYFELLKNALKPNGSIATQGECIWLH  
 LPLIHS LIKGAKDLFPQVEYAYTSIPTYPSGTIGFVVCSLDKDRNLKQPLRQVR  
 NTKYYNKS V HAAAFVLPEFARQAIEAAKANLDMPKSASASQSSAPGKKILL  
 LGSGFVAQPAADYLLRRPENQVTVASFNLWKAERFATELAREVKCISLDINN  
 AEALDKAVSEHDLVISLVPYTHHASVIKSAIKFKKNVVTTSYVSPAMRALDD  
 DAKKAGITVLNEIGLDPGIDHLYAVKMIDTVHRAGGKIIEFISYCCGLPAPECS  
 NNPLGYKFSWSSRGVLLALLNSAKLYSKGKLIEVEGQELMNHAQPYSISPAF  
 AFVAYPNRDSTPFREFYEIPEAQTVVRGTIRYQGFPAFIKTLVDIGFLSETPQA  
 YLKPESTLPWKEVTTRVLGADNSTEQCLITEIKRRTTFPSADDEVRI LAGLKW  
 IGIFSDDHAVPRGNILDTLCARLETMMQYEKGERDMVVLQHKFGIQWKDGG  
 TETRSTLIEYGAPFQTGTGPSAMARLVGVPCGIAVQLILDGKITKKGVLAPY  
 SLDIVEPLLVEVEKEGVMTMVDRIVS

Spot 315

>PTTG\_02169

MSSFTAQTGWEDGPGRCSSFFTKRWTPSGKEPIAKLIFFHGFMEHISRYDHFVS  
 RYAEAGIEVFVAFDQQRGFGETAARTKTQGQTSWAAGLKDADFFVAQEAAAPER  
 CHGRKVFLMGHSMGGGIAFA YTTTRSPPLEGLSLITGGLVLSSPLIAQTPGVAT  
 AGALIRLGSFVGAILPKLSLNVGVSAKDICRDPVIEQYSHDPLCAPIGTYKG  
 VGDMLLGGQQLLSDYKQYPSKLPLLA VHGTADNVTWHDATQQLVEKTM  
 AEDKKFKDFEGYYHEMHNEPGDDKFKQMDYIIQWITSHV

Spot 318

>PTTG\_09428

MAAAVAMPSKMTALYYEKARHFSVIQADLPSIDEHEVLLKVSMCGVCGTD  
 QHIHEGEFISKFPLIPGHEVIGTIVQAGSKVHSVIGDRVVCVGETCGKCFY  
 CQRGTTLFCESFEAHGVTLNNGGFAEYAKFHA AKVFPIKNLTDEQATLVEPAS  
 CAVHGLDKIRPKPGSECLLIGAGPTGLILAQLLKLNGAQRV VLAANKGMKM  
 DIARKIQA ADEYIDLDRNDAVSQWAQLKKNPHGFDVVVEATGVESIVDDSI  
 NYVRRGGTLLVYGVYD NAARVNWSPTKIFSDEINIIGSFSQTNCFPRAVAYL  
 DSGKIRTEGMVTDIFKIEEYQQALDKMASRQCLKIAVRPNQQ

Spot 320

>PTTG\_00389

MSELLFKGTLAGHTGWVTAIATSAENPDMILTASRDKTIIVWQLSREDGAY  
 GFPKRILRGHNHFVSDIVTSSDGQFALSSSWDKTLRLWDLNTGLTTRLFVGH  
 TKDVLSVSFSADNRQIVSGSRDRTIKLWNTLGECKFEIKDEGHTGWVSCVRF  
 SPNPMNPVIVSAGWDKVVKVVWELSKCKLRTNHHGHTGYLNTVTVSPDGSL  
 CGSGGKDGITMLWDLNEGKHLYSLEAGDIINALVFSPNRYWLCAATASCIKI  
 FDLESKSIVDEIKPDFTDIEGRNTKVPECTSLAWSPDGGTLFAGYTDNLVRVY  
 AVMG



Spot 321

>PTTG\_05810

MEHDLNRLKSGELNLGTSIMAVAFEGGVVIGADSRTTSGSYIANRVTDKL  
 THIHDRVYCCRSGSAADTQAVADYVHLYCQMYTAQHGHAPSVHTVGTIFE  
 QICYSNKDNLSAGIIVAGWDAQTKKGSVYNIPLGGGLFQQPWAIGGSGSTYI  
 YGYCDSNYRAGWTKEETIAFVKNALALAMSRDGSSGGTIRMAITEDKVER  
 VFIPGNQLPVFWEA

Spot 322

>PTTG\_01421

MGPIEVLSQPIQFKGGLNALNRTLKSAMTERLCTYDDVDLDARGKPTPEYEE  
 LYRVWSEGKIGTIILGNIPVHREYLEAKGNAIIDKDSPWDPVEAFKPVISAAK  
 AHGSLVIGQLTHAGRQTPFQVNPNPVSASETQSPPSFGMNFGKARALSVDEI  
 QDVVDRFAYGAEVLYKAGADGAQLHGAHGILLSQFLSPRVNKRTDQYGGG  
 FENRSRIVFEIIDA VKKRVPDPKFIKSYNSHDFIEGGFTKEDSQVMAKKLEA  
 AGVELIELSGGTIYELLPFEEKKESTLKREGFFLEFADRIRPHLSGASVLA VTG  
 GFRTLDMASAVSSKDRTCDVIGLARPLVFEPHFVADLLAGKTKKAKVLAF  
 DSM LLPVAYHVLQLIGHKQPIPNLQDEKSAKEVIELVTAK

Spot 332

>PTTG\_29878

QVLLYNCSPTSHTSLEIAESIIPAKMTTSLDHLKQHTTVVCDTGD FESIAQYKP  
 QDATNPSLILAAVKKPAYAKLVDVAVQYGKAQGGSLDNQVDATVDRLLV  
 EFGKEILALIPGRVSTEVDARFSFDKEATKRKALHLIELYKTVGIDKDRVLIKI  
 ASSWEGIQAAARELEKDHNIHCNLTLLFGFGQAVACAEAGVT LISPFVGRILD  
 WYKAKKPDASYDGAADPGVQSVQKIYRYKQEGYKTIVMGASFRNIGEIEQ  
 LVGCDFLTISPALLDQLHKSDKKIEQKLSAAQATTGEKLPKVS YVNDEAAFR  
 WALFSEEMAWDKLHEGIRKFAEDAETLKAMLKEKLQK

Spot 338

>PTTG\_06268

MPSYKLTYFDVKASRGESIRLAFHSGGIPFTDERLTMEQFGERKESCPFGQVP  
 ILTVDDKTVIPQEGAILRYIGRMTGAYSDDKEKALKQDVMIEFGDDLISAAS  
 VFFAMDHAGKEMLKNSIDERIPKMFYLDKHLNQGTTYSAGNDLSVADF  
 KLYAALTLFKSGLMLQGLSTDIVDNYTHVAKLYQAIEKHEKIASWKKSQAN

Spot 340

>PTTG\_06466

MIESTRRLAMPLHRLSRSASKPQTIRPIMTGAHADSLAQLTRSIQEWFDSPRF  
 ANTQRSYSAELIATKRGSLPVHQDSYANLQARKLRKLLAEAQQTHQPVLTM  
 GALDPVQQSQMAHHLPIVYVSGWAASSTFVPGTHEVGPDLADYPYHTVPTA  
 VQRLVKAQQLHERKEWDAHASEPDMGRPSVEYLKPIVADGDNGHGGLSTV  
 MKLAKAFGEAGVAGVHFEDQLVGGKKCGHQAGKVLVPTCEHLSRLRAAR  
 MQWDIMSLETLIGRTDAESAKLISDHDPRDHRFILGIQTGPPHHQKIALAE  
 EIIRAEERGASGDEINEIEKRWTESVELITFDQAVERAFAQYNIPSSKYSEYK  
 EVEAQELSHRESSILARKMIADGTNGKETLEQIGWNAQLARTREGYYRFKGC  
 LQAAINRALKFCPVSDLVWIETKEPNLLKAQSIATQIRRHFPSQSLVYNLSPSF  
 NWSHHGFSPEDLKAFVWELSRFGFNLQLISLAGLHSTATMTAQLAKRFKED  
 GMLGYVESIQAVEKEIGCDVLKHQKWSGSEYIDRILSAVSAGSSATAATGAD  
 STEKTF

Spot 341, 347

>PTTG\_06754

MPSKVDESSDDAVYTTSGGNPYPEPYEAQRLGANGPLLLQDYHHIDLLQHF  
 HRERIPERVVHAKGSGALGYLEVTHDISDICCALKFNKVGKAPVVARFSTV  
 GGERGSPDTARDPRGFSVKIKTEEGIWDWVFNNTPVFFLRDPVKFPHFIHTQ  
 KRYPQSNLSHGDDADMFWDYLSQNPESIHQVMILFGDRGVPDGYRGMNGY  
 SGHTFKFVNASGSFKYVQIHCLADQKRGDFLTQEESSVKMAGESPDHSTKDLF  
 NAIERKEFPSWTCYVQEMSAEQAENFRYNILDLTKVWPHKEFPLRPFKAFVL

NENAINYHAQIEQVAFSPSHLPPGVEPSADPVLQSRLFSYNDAHIYRLGINYT  
 QLPVNQSISPVANFQRDGPMLGDNQGSRPNYKSTIRPMKYPQRPYQFPGDH  
 EVFIGQAVADLSTVTELDPEPARALWSKVFDGAKERFVKNVSGHLGNVSL  
 DRIKKDQVAIFLAVDKDLGTRVAKAIGLKDIPYKPEPAAQATKFTPNLKSS  
 GQMIFGNTVPV

Spot 351-1

>PTTG\_03356

MAGKLSTDYPAWKELQALHDQKASAEVL SKLFASDPDRFKKFSTRFESPN  
 TETSIFLDYSKNLIDQQVWDKLELAHQAGVSKARDDMFAGQHINTSEERA  
 VLHVALRDTSNQGYGANEEGVGEVRSVLDHVRAFSEAVRSGSHKGYTNKPI  
 DTLVNIGIGGSDLGPVMVTEALSFYARTGPTITPYFCSNIDGSHLAEILRKCDP  
 ETTLFIVASKTFTTQETLTNANSKEWFLSFAKDKAHVAKHFVALSTNTDAV  
 TAFGIDKANMFKFWDWVGGRYSLWSAIGLSIALYIGYENFEKMLQGAHAM  
 DRHFKAAPLKENLPVILALLGIWYNNFYGAQTHALLPYDQYLHKFADYFQQ  
 GDMESNGKYITKDGRRVTYQTGPPIWGQAGTNGQHAFYQLIHQGTKLIPCDF  
 LAPVETLNPIGGGRHHEILLSNFFAQPEALAFGKDEAAVKQELGPAASNESLA  
 KSKVFEGNKPTNSIMFQKLTPGTLGGLLALYEHKIFVQGAIWGINSFDQMGV  
 ELGKVLAKNILAQLGSPADVKGHDSSTEGLIKFFQSHRK

Spot 351-2

>PTTG\_04108

MTSLPESKPDDPPLLSVWADMIIIGLVVLFWGSSRFRASSEGARGGTRVKFAS  
 AGVVDCRVFALFQSLQLGGHSICSDPRRAMSNFIRFNSIFFRSRLIPVPLRSRR  
 TLASSFPPPYPMSTSSSKQPPTKINASSISPKITNQQPQPSVDSSGHDPDQHSRA  
 ATQHSPLSRLPSPSRDGVHARFMSSTSIQQAYRSEFDTFGELKVPADKYYYGA  
 QTQRSLQNFDIGGEQERMPPALIEAFAYVKKSAIVNMTYGLDPKIGQAICQ  
 AADEVISGKLSDFHPLVVFQTGSGTQTNMNVNEVISNRAIEILGGEEKGSKKPV  
 HPNDHVNMSQSSNDTFPTAMHVAAVFQITRNLIPALESIRAIGAKRVEFDSII  
 KIGRTHLQDATPLTLGQEFSGYEQQLINGLARVKASLPRLSMLAQQGGTAVGT  
 GLNTKSGFAEIAIAKEITQQTGIPFETAPNKFEALASHDAIVETSGALNVLAVS

AMKIANDIRFLGSGPRCGLGELSLPENEPGSSIMPGKVNPTQCEALTMVAAQ  
VMGNHTTISIAGSNGHFELNVFKPVLIKNLLQSIRLLGDGFRSFETNCVVGIEA  
NKARIEQLLNESLMLATILNSRLGYDNVAKCAKKAHKEGTTLKEATLSLGLL  
DGAEFDKIVRPELMLGPDHKPKSG

Spot 356

>PGTG\_17649

MPDFKSATTGVAAMRNELSRLAEEVSDANYRKAFAEMQGFLLFSRYL  
QEKARNTPLQWDRIAPPAADQVVSYSTLPETSDHSILDKLAVLKLNGGLGTT  
MGCVGPKSAIEVRDGMTFLDLSVRQIEHLNSAHKVNVPFILMNSFNTDDDTA  
RIIQKYANHNIEIMTFNQSRYPVNRRESLLPAPRTATGDKSAWYPPGHGDLY  
DAITNSGLLDKLLAAGKEYIFVSNSDNLGAVLDTKIMQHMIDSQAEFIMEVT  
DKTKADVKGGLTINYDGNIRLLEIAQVPNDHVEDFKSVRKFKIFNTNNLWV  
NLRALKRVMESDGMELDIIVNKNVAENGEAVIQLETAAGAAIQHFRNAHG  
VNVPRSRFLPVKSCSDLLLVTSDLYQLEHGRLVMNEARMFQSTPVVKLGDH  
FKKVAA YQSRFKNIPSMLELDHLTVSGDVKFGRKVTLRGTVIIVANEGSKIEI  
PDGTILDNKLLTGNL SIIDH

6.3. *puccinia triticina* aday PAMP proteinlerinin sinyal peptidleri

Spot No	Aksesyon No	Adı	Domain	Sinyal Peptidi
3	PTTG_03499	Hypothetical protein	EF1-BETA	·
7,15	PTTG_01669	Hypothetical protein	RAN-BP1	·
	PSTG_17414	Hypothetical protein	AMINOTRANSFERASE 1 AND 2	·
12	PTTG_09356	Translationally-controlled tumor protein		·
14	PTTG_06852	Hypothetical protein	EUKARYOTIC ASPARTYL PROTEASE	✓
15	PTTG_02090	Hypothetical protein	NUCLEOSOME ASSEMBLY PROTEIN	·
18,21	PTTG_01840	ATP synthase subunit beta, mitochondrial		·
19	PTTG_05456	Hypothetical protein	PROFILIN	·
20,24	PTTG_01827	Hypothetical protein	THIOREDOXIN	✓
22,31	PTTG_07476	Pyruvate dh e1 component l		·
	PTTG_02217	Hypothetical protein	SGTA DIMER DOM AND TETRATRICOPEPTIDE DOM	·
23,30,53	PTTG_06867	Heat shock 90-1		·

27	PTTG_27503	Hypothetical protein	TROPOMYOSIN LIKE	.
35,41,46, 348	PGTG_12204	Tubulin beta chain		.
38	PTTG_04893	Eukaryotic translation initiation factor 5a(elongation factor p)		.
39,92,96	PTTG_09144	Hypothetical protein	PGM-PMM	.
42,51,63	PTTG_03478	HSP-70		.
46	PTTG_05513	26S protease regulatory subunit 6a	ATPase family associated with various cellular ACTIVITY	.
28,48,53, 55,58,70, 98	PTTG_07281	Glucose regulated protein		✓
50	PTTG_07437	Hypothetical protein	PEPTIDASE S9	.
51	PTTG_01758	Hypothetical protein	RIBOSOMAL PROTEIN S2	.
28,70,98	PTTG_26408	V-type ATPase, a subunit		.
64	PTTG_03718	Hypothetical protein	CALPONIN HOMOLOGY DOM	.
	PTTG_01641	Hypothetical protein	RNASE_PH	.
65	kontaminant			.

66,67,82, 84,87	PSTG_03501	Hypothetical protein	ACTIN	.
73	PTTG_05827	HSP60		.
73A,79	PTTG_01106	Tubulin 1 Zinciri		.
74	PTTG_03524	Hypothetical protein	RHO protein GDP dissociation inhibitor	.
75	PTTG_06777	Tiyoredoksin Redüktaz (NADPH)		.
76,78	PTTG_09204	Hypothetical protein	Inositol monophosphatase family	.
80,82	PTTG_01696	HSP SSB		.
88	PTTG_12630	Arginase		.
90	PSTG_12276	Hypothetical protein	BİLİNEN BİR MOTİF VEYA DOMAIN BULUNMAMAKTA	.
91	PTTG_00226	26S protease regulatory subunit 6b		.
93	PTTG_06345	Hypothetical protein	RAD51	.
5,105,127, ,160, 167,175,1 85,192, 202,212,2 21,305	PTTG_09276	Hypothetical protein	Putative stress-responsive nuclear envelope protein	✓

97	PTTG_08592	3-isopropyl malate dehydrogenase		.
	PGTG_13966	Hypothetical protein	ACYL CoA DH	.
99	PSTG_14021	V-type proton ATPase catalytic subunit a isoform 2		.
100	PGTG_05935 (104 İLE AYNI)	HSP SSB		.
101	PTTG_02219	Phosphomannose		.
104,112,1 27,130	PTTG_01076	Hsp-70 like protein		.
105	PSTG_04289	Hypothetical protein	ACYL COA DH	✓
108	PTTG_03022	Hypothetical protein	tRNA ANTİCODON AND RPA-C	.
111	PTTG_09887	Hypothetical protein	R DOM ALKOL DEHİDROGENAZ KISA ZİNCİR DOM	.
	PSTG_02641	CMGC/CDK/CDC2 protein kinase		.
	PTTG_01991	Hypothetical protein	ENOYL REDUCTASE	.
114	PTTG_09971	Hypothetical protein	DUF3759	.
115	PGTG_00252	Hypothetical protein	DUF3759	.



116	PTTG_03284	LSU ribosomal prot		·
	PSTG_01609	Serine/threonine-protein phosphatase ppe1		·
119	PTTG_09796	Hypothetical protein	DAK 1 AND 2 DOM	·
121	PTTG_04091	Secretory pathway GDP dissociation inhibitor1		·
122,190,2 12, 257,272	PTTG_09784	Hypothetical protein	transketolase	·
122	PTTG_03046	PEP carboxy kinase		·
	PTTG_06246	Hypothetical protein	Adh short	·
126,178,2 27,234,29 4,296	PTTG_01458	PEP carboxy kinase		·
128	PTTG_09870	Hypothetical protein	NAD BINDING 3 AND HOMOSERINE DH	·
133	PTTG_02001	Hypothetical protein	DHH AND DHHA2	✓
	PTTG_07863		PUTATIVE PHOSPHATASE	✓
136,137,1 41,142,14 4,147,158	PTTG_07672	proteasome subunit alpha type-2		·

139,140,141	PTTG_08656	Hypothetical protein	ELF 2B-5/IF2B-IF5	·
	PTTG_08249	Hypothetical protein	ALDEHYDE DH FAMILY	·
146,191,269	PTTG_00430	ENOLASE		·
149	PTTG_06888	Hypothetical protein	haloacid dehalogenase-like hydrolase	·
	PTTG_02620	Mitochondrial-processing peptidase subunit beta		·
150,154,165,201,210	PTTG_01903	Hypothetical protein	PEPTIDASE M16	·
161	PTTG_06273	Hypothetical protein	RNA RECOGNITION MOTIFS REPEATS	·
163	PTTG_07362	V-type proton ATPase subunit b		·
167	PTTG_09553	Hypothetical protein	TIP49 C TERMINUS	·
	PTTG_28577	Hypothetical protein	AMINO TRANSFERASE 1 VE 2	·
169	PTTG_03429	Hypothetical protein	INORGANIC PYROPHOSPHATASE	·
170	PTTG_00372	Glutathione synthetase		·
171,174,	PTTG_09731	Hypothetical protein	BIOTIN REQUIRING ENZYME AND 2-OXO ACID DH	·

172	PTTG_05189	Fructose biphosphate aldolase class ii		.
176	PTTG_07572	Phospho mannomutase		.
181,184	PTTG_03422	6-PHospho gluconate dehydrogenase		.
182	PTTG_04265	Hypothetical protein	ELECTRON TRANSFER FLAVOPROTEIN	.
186	PTTG_04566	Hypothetical protein	UDPGP	.
187,218,222,223	PTTG_08360	Pyruvate kinase		.
188	PTTG_01714	Fk506 binding prot		.
193,201	PSTG_11939	Hypothetical protein	RAS-GEF DOM.	✓
	PGTG_21560	Hypothetical protein	DUF	✓
194,204	PTTG_03025	Hypothetical protein	PRIDOXAMINE 5' PHOSPHATE OXIDASE LIKE	.
	PTTG_07306	2,3-bisphosphoglycerate-dependent phosphoglycerate mutase		.
195	PTTG_08248	Hypothetical protein	ATP-GRASP AND COA LIGASE DOM	.
197	PTTG_09038	Hypothetical protein	SHORT CHAIN DH	.

200,22	PTTG_03445	Hypothetical protein	GLYCOLIPID TRANSFER PROTEIN	·
209	PTTG_27324	Hypothetical protein	DUF4336	·
216	PTTG_29605	Hypothetical protein	ENOYL COA HYDRATASE,ISOMERASE	·
220	PSTG_01145	Hypothetical protein	GLYCOLIPID TRANSFER OROT	·
221	PSTG_08642	Hypothetical protein	MULE TRANSPOSASAS	·
225,231,290	PTTG_05785	Succinate dehydrogenase [ubiquinone] flavoprotein subunit, mitochondrial		·
261,263	PTTG_00016	Hypothetical protein	PEPTIDASE INHIBITOR 19 AND PEPTIDASE S8 (SUBTILASE FAMILY)	✓
	PTTG_12239	Hypothetical protein	Proteasome, COP9, Initiation factor 3	✓
267	PTTG_05453	Glutamine synthetase		·
	PTTG_08909	CaMK protein kinase		·
274	PTTG_01684	Hypothetical protein	E1 DEHYDROGENASE	·
281	PTTG_03798	NADH dehydrogenase g-subunit		·
285,287	PTTG_06073	Hypothetical protein	NUCLEOTIDYL TRANSFERASE, BACTERIAL TRANSFERASE HEXAPEPTIDE	✓
286	PTTG_03821	Adenosyl homocystainase		·

	PTTG_04794	Elongation factor EF-Tu		.
287	PTTG_06742	Hypothetical protein	DPPIV (DIPEPTIDYL PEPTIDASE IV)	.
299	PTTG_04303	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase		.
306,307	PTTG_02168	Phosphogluco mutase		.
		Mutase		.
309,337	PTTG_01152	Hypothetical protein	AMINO OXIDASE/NAD BINDING 8	.
310	PTTG_29181	Hypothetical protein	SPERMINE SPERMIDINE SYNTHASE, SACCHAROPINE DH	.
315	PTTG_02169	Hypothetical protein	SERINE AMINO PEPTIDASE S33	.
318	PTTG_09428	Hypothetical protein	ALCOHOL DEHYDROGENASE GROES LIKE DOM, ZINC BINDING DEHYDROGENASE	.
320	PTTG_00389	Guanine nucleotide-binding protein subunit beta-like protein		.
321	PTTG_05810	20S proteasome subunit beta		.
322	PTTG_01421	Hypothetical protein		.
332	PTTG_29878	Transaldolase		.
338	PTTG_06268	Hypothetical protein	GLUTATHIONE S-TRANSFERASE	.

340	PTTG_06466	Isocitrate lyase	.
341,347	PTTG_06754	Catalase	.
351	PTTG_17649	UTP-glucose-1-phosphate uridylyl transferase	.
356	PGTG_17649	UTP-glucose-1-phosphate uridylyl transferase	.

	Hipotetik Protein
	Efektör Protein
	Hem Hipotetik Hem Efektör Protein

## ÖZGEÇMİŞ

1984 Bursa doğumluyum. İlk orta ve lise öğrenimimi Bursa'da tamamladım. 2008'de Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü'nden mezun oldum. 4yıl kadar Bursa'da tekstil sektöründe özel şirkette labratuar sorumlusu olarak çalıştım. 2011-2012 öğretim yılında Ahi Evran Üniversitesi'nden Pedagojik Formasyon eğitimi aldım ve akabinde Biyokimya Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimime başladım. Yüksek lisans tez projesi tamamlandıktan sonra Bursa'da özel sektördeki işime geri döndüm. Ve halen aynı sektörde çalışmaktayım.

