

Szent István Egyetem - Állatorvos-tudományi Kar

# Dystrophin és Utrophin

## Egy komparatív vizsgálat

2008/2009 tanév II. félév  
kurzusvezető: Dr. Kabai Péter

Szigetszentmiklós. 2009. május 11.

Készítette: Váradi Mihály  
IV. évfolyam, zoológia szak

## Bevezetés

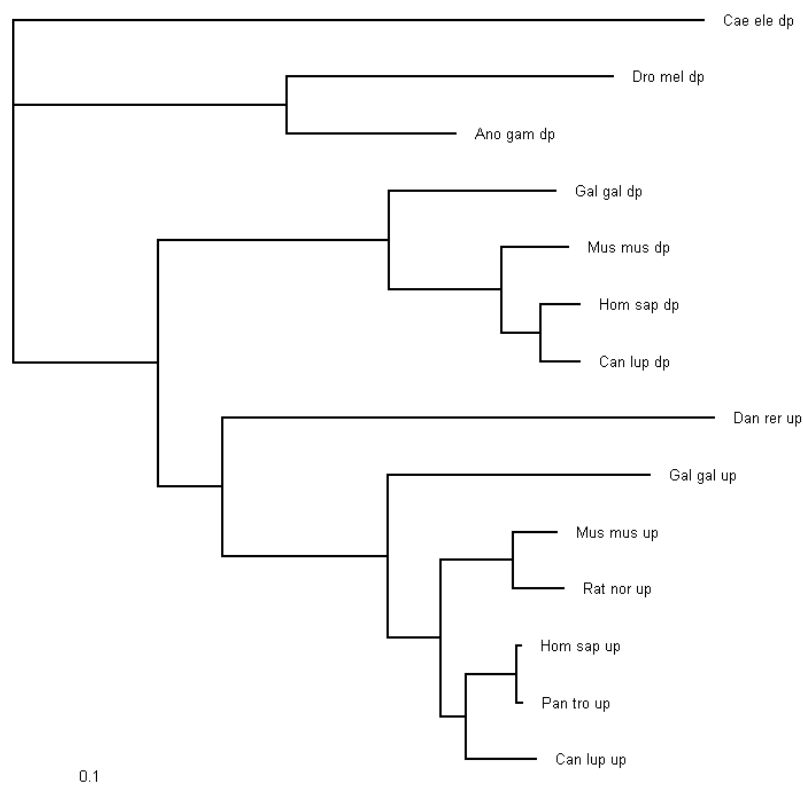
Az emberben eddig ismert legnagyobb gén, a DMD (Duchenne Molecular Dystrophy) gén termékei a dystrophin fehérjecsald tagjai (Koenig et al., 1988). A gén maga az X kromoszómán található, a különböző molekulatömegű termékek alternatív promoterek, és alternatív splicing eredményei. Az utrophin fehérjecsald tagjai a tudomány jelenlegi állása szerint a DMD gén duplikációjával, majd a duplikálódott szakasz egy másik kromoszómára vándorlásával jöttek létre, feltehetően a gerincesek megjelenésének idején. Ezt látszik alátámasztani az a tény, hogy eleddig nem találtak utrophinra emlékeztető fehérjét gerinctelenekben, míg gerincesekben igen.

Az alábbi komparatív elemzés a dystrophin (Dp) és az utrophin (Up) hasonlóságát, és közös evolúciós eredetét igyekszik megvizsgálni.

---

## Módszerek, programok

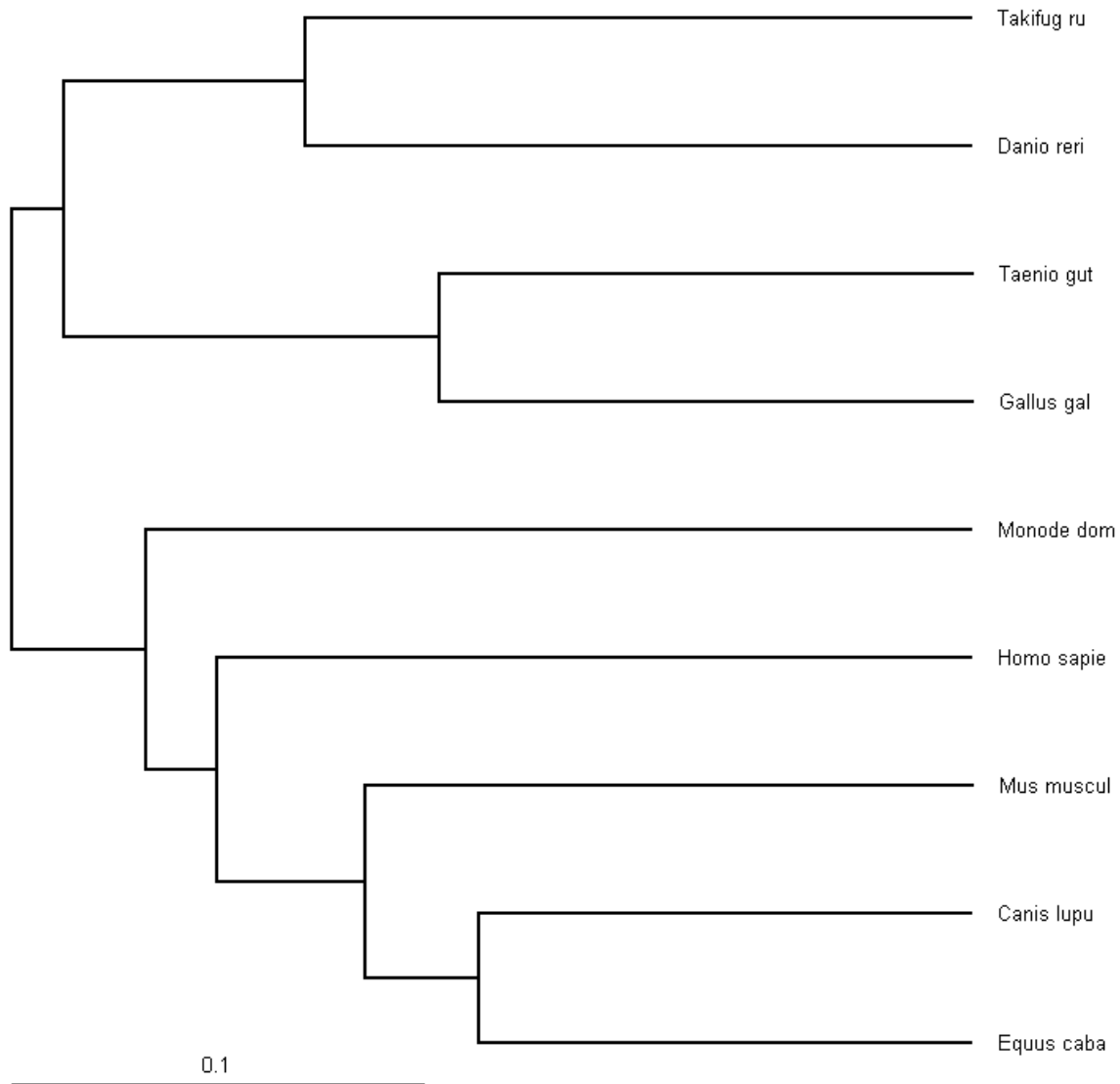
Az NCBI internetes adatbázisából protein szekvenciákat kerestem, utrophint és dystrophint, mely szekvenciákon ClustalX2 program segítségével elvégeztem az alignmentet, és a kapott adatsort a Phylip csomag Proml programjának segítségével felhasználtam egy protein-törzsfa rekonstruálásához, melynek célja elsősorban nem a fa létrehozása volt, jóllehet az is alátámasztani látszik a közös eredetet (Ábra 1.), hanem a jelenlegi fajok aminosav-sorrendje alapján a rekonstruálható legősibb szekvencia megkeresése.



(Ábra 1.)

A kapott szekvenciát arra használtam, hogy az NCBI Blast változatai közül először a BlastP (protein szekvencia alapján keres protein szekvencia adatbázisban), majd, mivel a BlastP túl kevés fajt eredményezett (lévén az adatbázisban kevés fajról van Dp és Up protein szekvencia), így a TblastN (protein szekvencia alapján keres nukleotid szekvencia adatbázisban) futtatása következett.

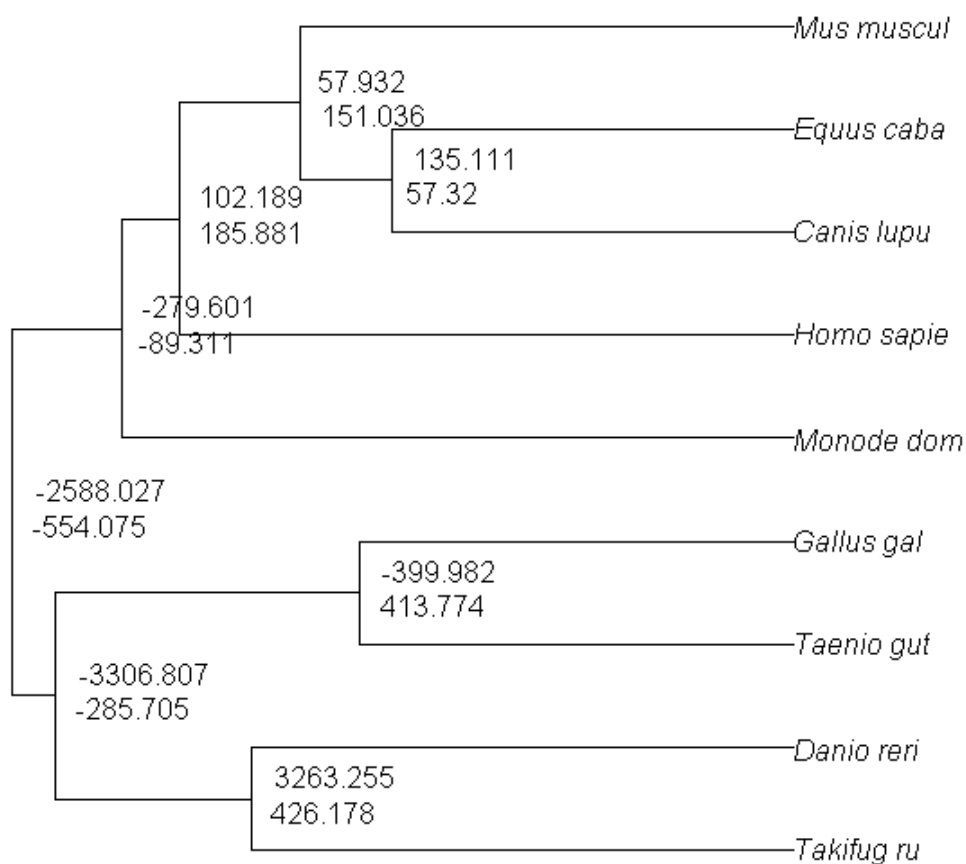
A TblastN eredményeit, az ún.Score (Bits) értékeket használtam fel a statisztikai elemzéshez. Az elemzéshez szükség volt egy törzsfára a felhasznált fajokról, olyanra, ami nem Dp vagy Up alapján készült. Nukleotid szekvenciák alapján, cytochrome-B-t kódoló mitochondriális DNS szakaszokat választottam, és ezek alapján elkészült egy törzsfá (Ábra 2.) a Phylip csomag Dnamlk programja segítségével.



(Ábra 2.)

A komparatív elemzés statisztikai eszköze az R statisztikai program Ape csomagjának segítségével, független kontrasztok (Ábra 3.) módszerének használatával történt.

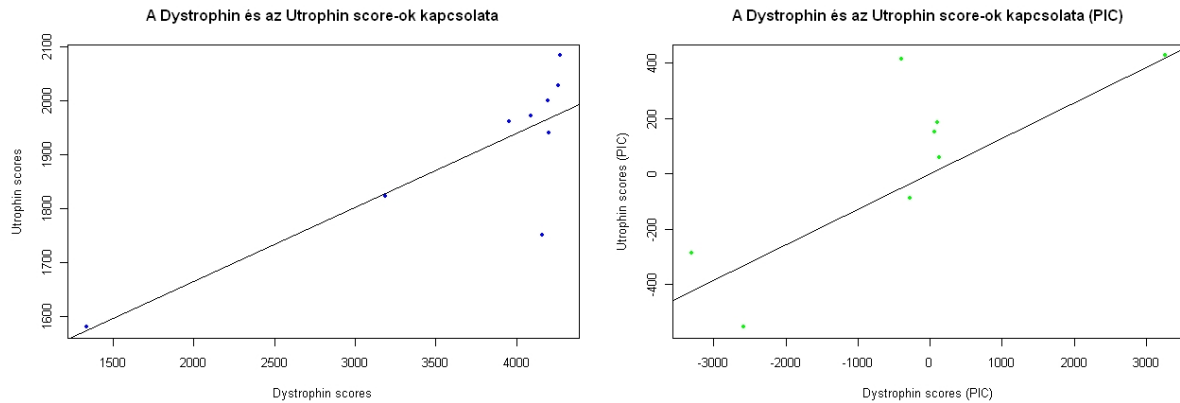
### Blast Score-ok



(Ábra 3.)

Az elemzés során a dystrophin és az utrophin TblastN alapján kapott hasonlósági értékeit hasonlítottam össze. A feltételezés az volt, hogy amennyiben közös az eredetük, és a funkciójuk hasonlósága miatt várhatóan a szelekciós nyomás is hasonló lehet rajtuk, ezért a fajokban a két fehérje közel azonos sebességgel változott a jözös őstől, tehát a Dp változásának üteme az Up változási ütemével összemérhető.

Leíró statisztikát készítettem, melyhez előbb a transzformálatlan adatokat használtam fel, majd a független kontrasztok létrehozása utáni adatokat. (Ábra 4.)



(Ábra 4.)

A leíró statisztika után négy modellt alkottam ( $m1\_pic \leftarrow \text{lm}(pic.Y \sim pic.X - 1)$ ;  $m2\_pic = \text{lm}(pic.X \sim pic.Y - 1)$ ;  $m1 \leftarrow \text{lm}(Y \sim X)$ ;  $m2 \leftarrow \text{lm}(X \sim Y)$ ), majd ezeket teszteltem F-próbával. Ennek eredménye a hagyományos modellek ( $X \sim Y$ ,  $Y \sim X$ ) esetén szignifikáns összefüggést mutatott ki (p-value: 0.005302, Adjusted R-squared: 0.6501), a független kontrasztokat felhasználó modellek ( $pic.Y \sim pic.X$ ,  $pic.X \sim pic.Y$ ) szintén, jóllehet alacsonyabb p-érték mellett (p-value: 0.01702, 0.5206)

### Eredmények, diszkusszió

A statisztikai elemzés azt mutatja, hogy a két hasonlósági érték között valóban szignifikáns a kapcsolat erőssége, az egyik árul el információt a másikra vonatkozóan, és ez alátámaszthatja a hipotézist a közös eredetükre vonatkozóan, illetve a Dp és Up szekvenciát alapján készített törzsfá is ebbe az irányba mutat.

Pontosabb eredményeket akkor lehetne elérni, ha több fajjal lehetne elvégezni az elemzést, de ezt egyelőre az adatbázis nem teszi lehetővé.

A két fehérje lehetséges közös eredetének, és a következményes hasonlóságnak fontos gyakorlati haszna lehet a gyógyászatban, így például a Duchenne-féle izomdystrophia gyógyításában, illetve tovább, elsősorban dystrophin hiányából fakadó betegségek kezelésében.