



# Förlamade hundar hjälper oss att förstå sjukdom hos människa

Text: Britt-Marie Lidesten

Nationellt resurscentrum för biologi och bioteknik

Sjukdomen canine degenerative myelopathy drabbar flera hundraser som exempelvis Pembroke Welsh corgi.

Foto: Sannse vid City of Birmingham Championship Dog Show, 2003. Wikimedia Commona

*Amyotrofisk lateralskleros (ALS) är en mycket allvarlig sjukdom hos människa som det än så länge inte finns något botemedel mot. Sjukdomen beror på att det finns nedärva eller spontana förändringar i DNA som skadar en viktig gen. Nu har man upptäckt att liknande DNA-skador också kan finnas hos hundar som därmed får liknande symtom som människor. Sjukdomen hos hundar kallas Canine degenerative myelopathy.*

1. Hur visar sig sjukdomen ALS hos människor.

Följ den generella instruktionen, och ladda provfilerna som ligger i mappen **prover - SOD1**. Ladda följade filer från denna mapp (om du håller in controll på tangentborde kan du markera flera filer samtidigt). Öppna endast en av de tre översta filerna (frisk hund) och de tre nedersta (sjuka hundar) om datorna kapacitet inte räcker till för att hantera alla filerna.

**frisk\_01.fq.bam**

**frisk\_02.fq.bam**

**frisk\_03.fq.bam**

**sjuk\_01.fq.bam**

**sjuk\_02.fq.bam**

**sjuk\_03.fq.bam**

I den här övningen ska vi titta närmare på ett område i hundens genom som misstänks ha att göra med den ALS-liknande sjukdomen hos hundar. För att zooma in till det området, skriv in adressen nedan i sökfältet högst upp i programmet och tryck på **Go**.

**chr31:26,530,062-26,554,133**

2. På vilken kromosom finns det intressanta området?

Nu har du zoomat in på den regionen som ligger mellan baspar 26 530 062 och 26 554 133, alltså en sträcka på 24 071 baspar.

Vi söker en förändring av DNA-sekvensen hos de hundar som har sjukdomen i jämförelse med de friska hundarna. I det här fallet kan det antingen vara en dubblering av en del av DNA-sekvensen och/eller en förändring av en enstaka bas.

## Dubblering (eller flerdubbling) av en DNA-sekvens:

För att se hur mycket DNA som sekvenserats från de olika platserna längs genomets visar programmet en så kallad *coverage graph*. Ju högre nivå grafen har desto mer DNA har sekvenserats från just den platsen i genomets. (För ytterligare förklaring, se den separata intro-

Övningen har utarbetats av forskare vid SciLifeLab, Uppsala, i samarbete med Nationellt resurscentrum för biologi och bioteknik och Biotopia

Övning under Bioresursdagarna 2014



duktionen till alla övningarna.)

3. Ibland inträffar en mutation som innebär en dubbling (eller flerdubbling) av en DNA-sekvens. Det syns i så fall på coverage graphen genom att den på ett avsnitt blir betydligt högre i förhållande till omgivande DNA-sekvens. Kan du se någon sådan förhöjning av coverage graphen hos de sjuka hundarna i jämförelse med de friska?

### Förändring av få baser

De färgade strecken man ser här och var i coverage graphen är positioner där de hundar vi har sekvenserat skiljer sig från referensgenomet. Det är inte konstigt att vi har dessa skillnader eftersom alla individer är lite olika, men när förändringarna hamnar på fel plats kan det gå illa.

4. Sök efter en förändring av en enstaka bas som finns hos de sjuka hundarna, men saknas hos de friska. Vilken förändring har inträffat hos alla sjuka hundar och på vilken position finns den? (Se även fråga 7.)

### Påverkan på proteinnivå

5. Vissa former av sjukdomen ärvs från föräldrarna och den vanligaste formen beror på en skada i *SOD1*-genen. Vilket enzym bildas normalt av genen och vilken funktion har detta enzym?

6. Beskriv översiktligt sekundär- och tertiärstruktur för SOD1-enzymet.

7. Punktmutationen som inträffat medför att en aminosyra bytts ut i det bildade proteinet. När aminosyrasekvensen kartläggs i det protein som bildats av den muterade genen och jämförs med normalt protein finner man att det förändrade proteinet har lysin i stället för glutaminsyra.

Titta i en tabell för översättning av batripletter till aminosyror.

- Hur kan proteinets laddning förändras beroende på att denna aminosyra bytts ut?
- Vilken bas har bytts ut i den normala DNA-sekvensen och vilken bas ersätter denna i den muterade genen? (Du bör alltså komma fram till samma svar som i uppgift 4 ovan.)

### Jämför hundar och människor

Eftersom Canine degenerative myelopathy hos hundar i stort överensstämmer med ALS hos människor är det intressant att jämföra hundar och människor.

8. Gå in på [www.ensembl.org](http://www.ensembl.org)

- Skriv in genen i sökrutan överst (Search All species for *SOD1*).
- Välj första träffen: *SOD1* (Human Gene)
- Välj länken överst [Chromosome 21: 31,659,622-31,668,931](#) forward strand..
- Klicka på länken *Synteny* till vänster. Här ser du en figur som visar var olika delar av den mänskliga kromosomen (i mitten), återfinns hos musens kromosomer, (till vänster och höger om den mänskliga kromosomen). *SOD1*-genen markeras med rött.
- På vilken kromosom hos människan finns denna gen?
- Kolla på några fler djurarter genom att ändra art till höger. Finns samma gen hos fler djur?

9. Knockout-möss, med samma skada på den aktuella genen som ALS-patienter har, används i forskning om sjukdomen. Men hundar är mera lika människor och en hund som har samma sjukdom som människor kan fungera som en modell för att förstå mer om sjukdomen och testa ut läkemedel.

- Vilka etiska frågor blir aktuella om hundar med ALS-liknande sjukdom ska användas i

forskning kring sjukdomen? Hur kan man tänka kring dessa etiska frågor?

## Till läraren

Canine degenerative myelopathy drabbar flera hundraser som exempelvis Pembroke Welsh corgi, Boxer, Rhodesian ridgeback och Chesapeake Bay retriever. De flesta hundar är åtminstone åtta år innan sjukdomen bryter ut. Sjukdomen överensstämmer i stort med ALS hos människa. ALS och Canine degenerative myelopathy kan bero på många olika fel i DNA.

- 5-10 % av ALS nedärvs, övriga fall beror på spontana förändringar i DNA.
- Cirka 20 % av ALS som nedärvs beror på mutationer i *SOD1*.
- Mer än 120 olika mutationer i *SOD1* har identifierats hos ALS-patienter.

Orsaken till att de genetiska förändringarna ger upphov till sjukdomen är inte klarlagd, men det kan bero på att formen av det muterade SOD1-proteinet (superoxide dismutas) ger en förändring av enzymets biologiska aktivitet och (eller) att intracellulära klumpar av SOD1 bildas.

I det här fallet tittar vi på en punktmutation som inträffat i position **chr31:26,542,098** där G bytts ut mot A, en s.k. missense-mutation. Hundar med Canine degenerative myelopathy är i allmänhet homozygota för mutationen som ligger i exon 2 av *SOD1*.

Precis som när vi skriver text så kan en enda bokstav ibland ändra hela betydelsen av meningen, till exempel meningen "You may now eat the cake" jämfört med "You may not eat the cake". DNA bildar inte meningar på samma sätt som vi gör, det är mer som en receptbok (ett genom) med en massa recept (gener) i sig. Om något ändras i ett recept (gen) så händer det ibland att maträtten (proteinet) blir annorlunda. Det farliga med att ändra något i ett protein är att det kan förlora sin funktion ändringen blir på fel ställe. Precis som med lego så finns det en del områden i proteinet som det inte spelar någon roll om man byter ut något. Kanske för att man byter ut det till en väldigt snarlik bit, eller om det är på en del av proteinet där det inte spelar någon roll för dess funktion.

SOD1-enzymet är en homodimer som omvandlar superoxidradikaler till väteperoxid och molekylärt syre. Den aktiva ytan i vardera subenheten innehåller 1 kopparjon och 1 zinkjon inom en tunnformig bildning av 8 antiparallella beta-flak.

Mutationen i *SOD1*-genen påverkar en aminosyra i en del av enzymet som stabiliserar de två uppsättningarna av beta-flak. Flera av mutationerna som leder till ALS minskar den negativa nettoladdningen hos det bildade proteinet. Former av SOD1 med minskad nettoladdning aggregerar beroende på att molekylerna inte stöts ifrån varandra med lika stor kraft som hos normala molekyler eller beroende på ökad interaktion till negativt laddade membranytor. Glutamat finns normalt i position 40 i hundens SOD1, men hos de sjuka hundarna är den utbytt ut mot lysin.

## Referenser

Socialstyrelsen, ovanliga diagnoser: [http://www.socialstyrelsen.se/ovanligadiagnoser/amyotrofisklateralskleros#anchor\\_4](http://www.socialstyrelsen.se/ovanligadiagnoser/amyotrofisklateralskleros#anchor_4)

ALS association: <http://www.alsa.org/research/about-als-research/sod1.html>

Hundar med ALS filmade

<http://www.pnas.org/content/suppl/2009/02/02/0812297106.DCSupplemental/0812297106SI.pdf#nameddest=SM1>

---

Övningen har utarbetats av forskare vid SciLifeLab, Uppsala, i samarbete med Nationellt resurscentrum för biologi och bioteknik och Biotopia

Övning under Bioresursdagarna 2014

