รายงาน หัวข้อ NCBI database and BLAST

จัดทำโดย นายพุทธิพน สวัสดี รหัสนักศึกษา 665020084-2

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของวิชา Practical Skills in Biology สาขาชีววิทยาสำหรับครู คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

Bmp2 gene (Bone Morphogenetic Protein 2)

ที่มาและความสำคัญ

ยีน Bmp2 (Bone Morphogenetic Protein 2) เป็นยีนที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมการเจริญเติบโต การเปลี่ยนแปลงของเซลล์ และการพัฒนาเนื้อเยื่อต่าง ๆ โดยเฉพาะการพัฒนาโครงสร้างกระดูกและกระดูก อ่อน (Chen et al., 2004) โดยบทบาทสำคัญของ Bmp2 คือความสามารถในการกระตุ้นให้เซลล์ต้นกำเนิด ชนิด mesenchymal stem cells เปลี่ยนไปเป็นเซลล์สร้างกระดูก (osteoblasts) และกระดูกอ่อน (chondrocytes) ซึ่งเป็นกระบวนการที่สำคัญทั้งในช่วงพัฒนาการของตัวอ่อนและการซ่อมแซมเนื้อเยื่อใน ผู้ใหญ่ (Chen et al., 2004) ซึ่งในทางคลินิก Bmp2 ถูกนำมาใช้เป็นโปรตีนสังเคราะห์ (recombinant human BMP2 – rhBMP2) เพื่อรักษาภาวะกระดูกหักที่ไม่สามารถเชื่อมติดเองได้ โดยใช้ร่วมกับวัสดุปลูก กระดูกในผู้ป่วยที่มีบาดแผลกระดูกหักรุนแรงหรือกรณีผ่าตัดกระดูกสันหลัง ซึ่งแสดงผลการรักษาที่ดีขึ้นเมื่อ เทียบกับวิธีแบบดั้งเดิม (Govender et al., 2002)

จำนวนลำดับเบสทั้งหมดของยีนนี้ : 3545 bp

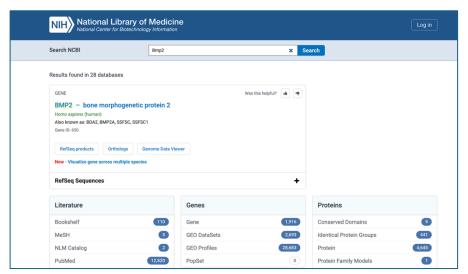
จำนวนลำดับกรดอะมิโนของยีนนี้ : 396

ขั้นตอนการดำเนินงาน

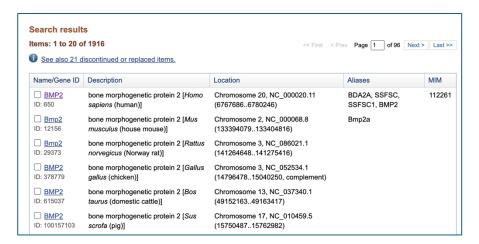
1. พิมพ์ชื่อยืนที่ต้องการศึกษา ในการค้นหา All Databases และกด Search



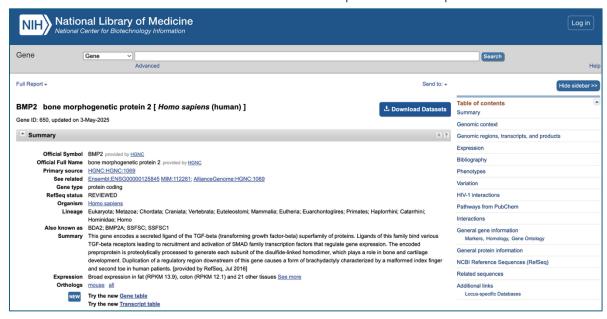
2. เลือกหัวข้อ Gene



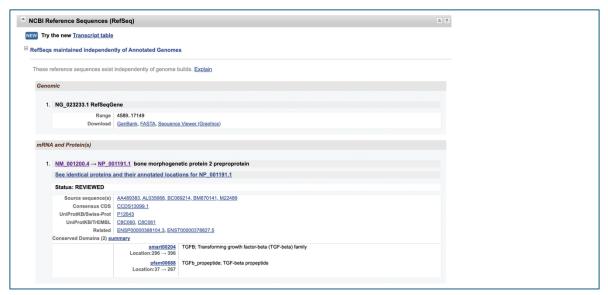
3. เลือกยีนในสิ่งมีชีวิตที่สนใจ ที่ต้องการศึกษา



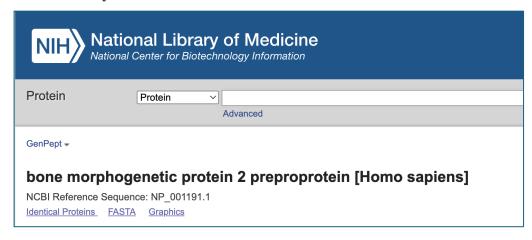
4. เมื่อได้ยืนที่สนใจแล้ว กดเลือกหัวข้อ NCBI Reference Sequences (RefSeq) บริเวณแถบทางขวามือ



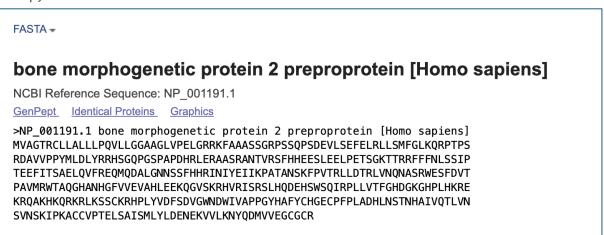
5. คลิ๊กที่ NP 001191.1 เพื่อค้นหาลำดับกรดอะมิโนของยีนที่สนใจในสิ่งมีชีวิตที่สนใจ



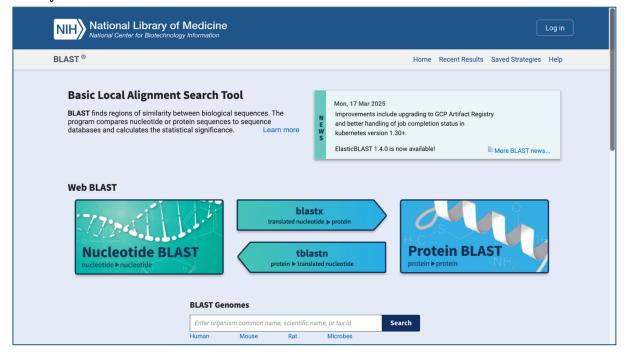
6. คลิ๊กที่ FASTA เพื่อดูลำดับกรดอะมิโนของยีนที่สนใจในสิ่งมีชีวิตที่สนใจ



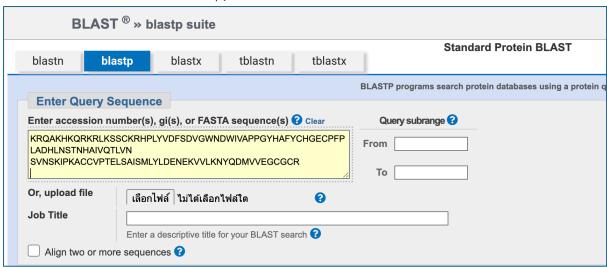
7. copy ลำดับกรดอะมิโนของยืนที่สนใจในสิ่งมีชีวิตที่สนใจ



8. เข้าสู่ BLAST แล้วเลือก Protein BLAST



9. วางลำดับกรดอะมิโนที่ได้ทำการ copy ไว้



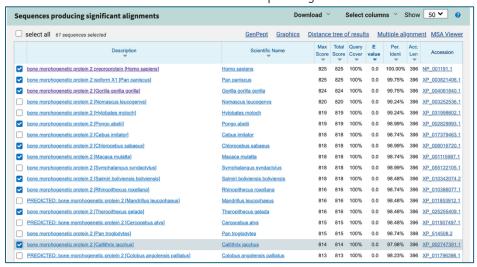
10. เลือก Database = refseq_protein และพิมพ์ชื่อกลุ่มสิ่งมีชีวิตที่สนใจต้องการศึกษา และเลือก Exclude ทั้งหมดยกเว้น Models (XM/XP)

Choose Search Set		
Database	Standard databases (nr etc.): ○ Experimental databases	
	Reference proteins (refseq_protein)	
Organism Optional	Mammalia (taxid:40674) exclude Add organism	
.,	Enter organism common name, binomial, or tax id. Only 20 top taxa will be shown ?	
Exclude Optional	☐ Models (XM/XP) ✓ Non-redundant RefSeq proteins (WP) ✓ Uncultured/environmental sample sequences	

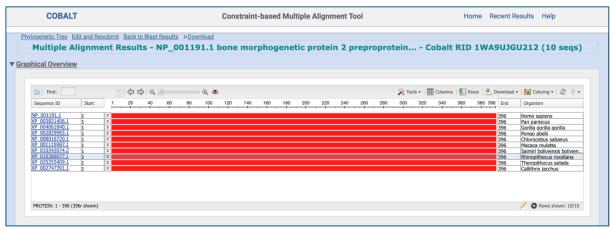
11. กำหนด Max target sequences = 50 จากนั้นกด BLAST

— Algorithm parameters		
General Parameters		
Max target sequences	Select the maximum number of aligned sequences to display ?	
Short queries	✓ Automatically adjust parameters for short input sequences ?	
Expect threshold	0.05	
Word size	5 🗸 🔞	
Max matches in a query range	0	
Scoring Parameters		
Matrix	BLOSUM62 ▼ ②	
Gap Costs	Existence: 11 Extension: 1 🗸	
Compositional adjustments	Conditional compositional score matrix adjustment ♥	
Filters and Masking		
Filter	Low complexity regions ?	
Mask	Mask for lookup table only	
	Mask lower case letters ?	
BLAST	Search database nr using Blastp (protein-protein BLAST) Show results in a new window	

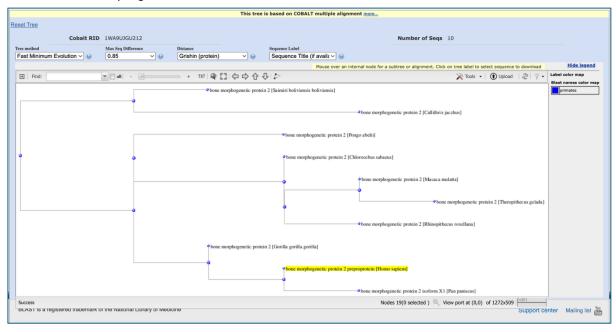
12. เลือกศึกษายีนที่สนใจในสิ่งมีชีวิตที่สนใจ จากนั้นกด Multiple alignment



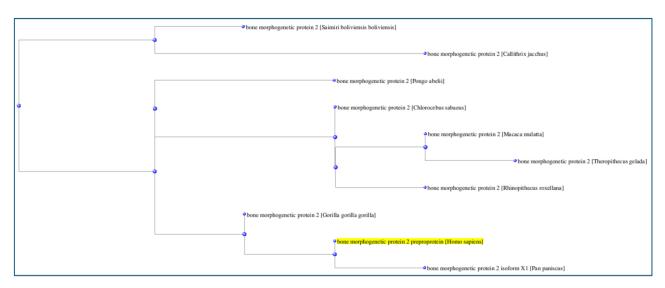
13. กดไปที่ Phylogenetic Tree



14. ผลการสร้าง Phylogenetic Tree



ผลการทดลอง



การสร้าง Phylogenetic Tree จากผลของ blastp

จากผลการวิเคราะห์พบว่า *BMP2* ของมนุษย์ (*Homo sapiens*) อยู่ใกล้กับลิงโบโนโบ (*Pan paniscus*) มากที่สุด นอกจากนี้กลุ่มลิงต่าง ๆ เช่น Gorilla, Rhinopithecus, และ Macaca ยังถูกจัดให้อยู่ใน กลุ่มเดียวกัน แสดงถึงการมีลำดับกรดอะมิโนของโปรตีน *BMP2* ที่คล้ายคลึงกันและบ่งบอกถึงบรรพบุรุษร่วมที่ ใกล้ชิดกัน ขณะที่สายพันธุ์ลิงใหม่บางชนิดอย่าง Saimiri boliviensis ถูกแยกออกไปอยู่ในกิ่งที่แสดงถึงความ แตกต่างของลำดับกรดอะมิโนที่มากกว่า

ภาคผนวก

NCBI accession number

- NP 001191.1

ลำดับกรดอะมิโนของยีนที่สนใจ

>NP_001191.1 bone morphogenetic protein 2 preproprotein [Homo sapiens] MVAGTRCLLALLLPQVLLGGAAGLVPELGRRKFAAASSGRPSSQPSDEVLSEFELRLLSMFGLKQRPTPS RDAVVPPYMLDLYRRHSGQPGSPAPDHRLERAASRANTVRSFHHEESLEELPETSGKTTRRFFFNLSSIP TEEFITSAELQVFREQMQDALGNNSSFHHRINIYEIIKPATANSKFPVTRLLDTRLVNQNASRWESFDVT PAVMRWTAQGHANHGFVVEVAHLEEKQGVSKRHVRISRSLHQDEHSWSQIRPLLVTFGHDGKGHPLHKRE KRQAKHKQRKRLKSSCKRHPLYVDFSDVGWNDWIVAPPGYHAFYCHGECPFPLADHLNSTNHAIVQTLVN SVNSKIPKACCVPTELSAISMLYLDENEKVVLKNYQDMVVEGCGCR