

Štúdium mutácií v génoch kódujúcich peroxizómové proteíny

Jana Konkol'ová^{1,2}, Robert Petrovič¹

¹Ústav lekárskej biológie, genetiky a klinickej genetiky LFUK a UNB, Oddelenie molekulovej a biochemickej genetiky, Mickiewiczova 13, 813 69, Bratislava, ²Univerzita Komenského v Bratislave, Prírodovedecká fakulta, Katedra genetiky, Mlynská dolina, 842 15, Bratislava
konkolovajanka@gmail.com

Peroxisómy sú malé, oválne jednou membránou ohraničené dynamické organely s priemerom 0,2–1 µm, ktoré sú všeobecne prítomné u väčšiny prokaryotických a eukaryotických buniek [1]. U ľudí sa peroxisómy nenachádzajú v erytrocytoch a spermáciách, ale sú prítomné vo veľkom množstve v hepatocytoch a v proximálnych tubulárnych epitelových bunkách obličiek. Najväčšie enzymatické zastúpenie peroxisómov pozostáva z katalázy a superoxididizmutázy, ktoré sa podieľajú na degradácii reaktívnych foriem kyslíka a detoxifikácii peroxidu vodíka. Z hľadiska bunkovej patológie sú dôležité procesy α a β -oxidácie karboxylových kyselín za prítomnosti kyslíka a syntéza plazmalogénov [2]. Peroxisómy sú považované za autonómne organely rozmnožujúce sa rastom a delením podobne ako mitochondrie a chloroplasty, ale na rozdiel od nich neobsahujú endogénnu DNA. Všetky ich proteíny sú kódované jadrovými génmi, syntetizované v cytoplazme a posttranslačne importované do peroxisómálnej matrix alebo sú cieleňé na peroxisómovú membránu za pomoci peroxisómálnych membránových proteínov – *peroxínov*. Tie fungujú ako importné receptory, membránové a transportné proteíny a sú kódované 16 *PEX* génmi [3]. Mutácie v týchto génoch zapríčiňujú u pacientov závažné dedičné metabolické poruchy. Podľa rozsahu poškodenia metabolických funkcií sa peroxisómové ochorenia delia na ochorenia s generalizovanou stratou peroxisómových funkcií (napr. Zellwegerov syndróm) a deficienciu jednotlivých peroxisómových enzýmov (najčastejšia - X-viazaná adrenoleukodystrofia) [4, 5].

Zavedením rýchlych skriningových metód ako HRM, restričné štiepenie a sekvenovanie, na detekciu frekventovaných mutácií v génoch *PEX* a v géne *ABCD1*, ďalej izolovaním, kultivovaním, pasážovaním a uchovávaním leukocytov potrebných na analýzu peroxisómových proteínov pomocou Western blotu, sme si kladli za cieľ nájsť efektívnejšie a menej finančne náročné metódy na zistenie príčiny vzniku peroxisómových ochorení.

Podarilo sa nám u vyšetrovaného pacienta zistiť mutáciu korelujúcu s Zellwegerovým syndrómom. Konkrétne išlo o inzerciu tymínu v géne *PEX1*, a to v homozygotnom stave. U rodičov sme potvrdili prenášačstvo – mutáciu v heterozygotnom stave.

Ďalej sa nám podarilo izolovať z leukocytov peroxisómy, ktoré sme následne analyzovali Western blotom avšak sa nám nepodarilo úspešne vizualizovať proteín *ABCD1*, ktorého nefunkčnosť koreluje s X-viazanou adrenoleukodystrofiou.

[1] De Duve, C., *Sci Am.*, **1983**, 248, 74–84.

[2] Reddy, J. K. a Lalwani, N. D., *CRC Crit. Rev. Toxicol.*, **1983**, 12, 1–58.

[3] Lazarow, P. B. a Fujiki, Y., *Annu. Rev. Cell Biol.*, **1985**, 1, 489–530.

[4] Maxwell, M. A., Nelson, P.V., CHin, S.J., et al. *Hum. Genet. Metab.*, **1999**, 83, 252.

[5] Höftberger R., Kunze M., Weinhofer I., et al. *Neurobiol Dis.*, **2007**, 2, 165–174.