

Abstrakt

Transportér GLUT9, kódovaný genem *SLC2A9*, je jedním z klíčových proteinů zajišťujících přenos kyseliny močové přes membránu epitelálních buněk proximálního tubulu člověka. Tento protein se u člověka exprimuje přirozeně ve dvou sestřihových variantách: dlouhé (GLUT9L) a krátké (GLUT9S), které se vzájemně liší sekvencí N-konce. Každá z těchto izoform je lokalizována na jiný pól epitelální buňky, přičemž se předpokládá, že řídicí sekvence pro lokalizaci proteinu je přítomná právě ve vzájemně rozdílné N-koncové doméně. U proteinu byly také zjištěny četné alelické varianty měnící jeho transportní schopnosti. Tato diplomová práce se zabývá ověřením vlivu nově objevené alelické varianty představující záměnu valinu na pozici 114 za leucin (V114L, u krátké izoformy odpovídající alelická varianta V85L) na schopnost přenášet kyselinu močovou. Zároveň se práce snaží ověřit vliv mutací v motivech, které by mohly být zodpovědné za lokalizaci proteinu, na jeho umístění v buňce a rovněž tak na transport kyseliny močové. Testovány byly dva dileucinové motivy 12LGL14 a 33LL34 a tyrosinový motiv 84YIKA87. Funkční studie s ¹⁴C radioaktivně značeným urátem prokázaly signifikantní snížení transportní funkce u alelické varianty V114L/V85L u obou izoform proteinu ve směru efluxu. Byly také testovány vytipované lokalizační motivy LL, LGL a YIKA, u kterých byl zjištěn vliv na přenos urátu a byl u nich pozorován slabší membránový signál a shlukování signálu uvnitř cytoplazmy buněk oproti divokým variantám proteinu. V poslední řadě byl testován vliv přítomnosti glukózy v inkubačním pufu na směr přenosu urátu u jednotlivých izoform a byl naznačen význam přítomnosti extracelulární glukózy pro přenos urátu z buněk do vnějšího prostředí, respektive ve směru efluxu.

Klíčová slova

Kyselina močová, urátové transportéry, GLUT9, *in vitro* transportní studie, HEK293A