

# ABSTRAKT

## Molekulární patologie akutní intermitentní porfyrie

**Autor: Matouš Hrdinka**

Akutní intermitentní porfyrie (AIP) je autozomálně dominantní dědičné onemocnění způsobené částečným chyběním porfobilinogen deaminázy (PBGD), třetího enzymu v biosyntetické dráze hemu. AIP se projevuje život ohrožujícími akutními neurologickými atakami, které mohou být vyvolány řadou vnějších faktorů, jako jsou léky nebo alkohol.

Cílem této studie bylo popsat molekulární podstatu AIP u českých a slovenských pacientů. Mutace v genu pro PBGD byly identifikovány pomocí metody PCR, denaturační gradientové elektroforézy (DGGE), sekvenace a restriční analýzy (RFLP). Celkem byla vyšetřena DNA 35 pacientů a asymptomatických osob z 8 rodin. Bylo identifikováno 7 různých mutací, z nichž byly 3 nové doposud nepopsané. Zvláštním případem byl pacient se dvěma mutacemi, R173Q a Q204K, lokalizovanými v jedné alele 10. exonu genu pro PBGD. Abychom dále charakterizovali nalezené mutace, gen pro lidskou PBGD byl vložen do pGEX-4T-1 vektoru pro bakteriální expresi a mutace byly připraveny místně specifickou mutagenezí. Nemutovaná a mutovaná forma PBGD zřizovaná s GST proteinem byly poté exprimovány v *E. coli* a purifikovány afinitní chromatografií. Byly stanoveny podmínky pro měření enzymatické aktivity PBGD a byla určena specifická aktivita, termostabilita a pH optimum mutovaných a nemutovaného proteinu. Mutace R173Q měla zásadní vliv na funkci PBGD. Protein s mutací Q204K měl vysokou zbytkovou aktivitu, ale jeho termostabilita byla snížena o 75%. pH optima mutovaných i nemutovaného proteinu byla stejná.

**Shrnutí:** Celkem byly u AIP pacientů identifikovány 3 nové mutace. Popsali jsme neobvyklý případ AIP způsobený dvěma mutacemi v 10. exonu genu pro PBGD a charakterizovali tyto mutace na molekulární a enzymatické úrovni. Význam této práce spočívá v zavedení přesné detekce asymptomatických osob v rodinách s výskytem AIP a je přínosem pro objasnění molekulární heterogenity tohoto onemocnění.