

Huntingtonova choroba je autozomálně dominantně dědičné neurodegenerativní onemocnění způsobené mutací v genu pro protein huntingtin. Jedním z komplexů, se kterými huntingtin interaguje, je ubiquitin-proteazomový systém, který je zodpovědný také za degradaci proteinu β -catenin. β -catenin je důležitá signální molekula a její vyvážená degradace je nezbytná pro správné fungování Wnt signální dráhy. V přítomnosti mutovaného huntingtinu je degradace β -catenin narušena, ten se akumuluje v buňce a působí toxicky. Cílem mé diplomové práce bylo zjistit, zda u liběchovských miniprasat, zvířecího modelu Huntingtonovy choroby, jejichž genom obsahuje N-koncovou část lidského mutovaného huntingtinu, dochází k hromadění β -catenin vlivem přítomnosti mutovaného huntingtinu. S využitím imunoblotu a specifických protilátek jsme zjistili, že u transgenních zvířat dochází k nárůstu hladiny mutovaného huntingtinu s věkem. Na rozdíl od endogenní formy nedochází k poklesu mutovaného huntingtinu ve striatu, což je kupodivu doprovázeno poklesem fosforylovaného β -catenin. Naše výsledky však prokázaly hromadění β -catenin v průběhu ontogeneze, a to v mezenchymových kmenových buňkách izolovaných z nejstarších transgenních zvířat. Zajímavé změny jsme navíc odhalili u některých transgenních miniprasat, kde dochází k výraznému poklesu hladiny nefosforylovaného β -catenin. Fosforylovaná forma β -catenin se podle našeho předpokladu vyskytuje převážně v cytoplazmě, zatímco hladina nefosforylovaného signálního β -catenin narůstá v jádře transgenních buněk, kde může ovlivňovat transkripci některých genů. Pomocí proteomického přístupu se nám podařilo identifikovat proteiny buněčného cytoskeletu, jejichž fosforylace je výrazně zesílena u transgenních buněk. Klíčovou úlohu zde sehrává zejména fosforylace profilinu a vimentinu, které jsou nezbytné pro zahájení tvorby agregátů mutovaného huntingtinu.