

Lizosomalne choroby spichrzeniowe

Wykonali:

Monika Baran

Jakub Chwojko

Przedmiotem pracy jest
choroba Wolmana zaliczana
do lizosomalnych chorób
spichrzeniowych, której
podłożem jest mutacja w genie
kodującym białko lizosomalnej
kwaśnej lipazy u człowieka ^[1]

Lizosomalne choroby spichrzeniowe

● ● ● ●

Mają podłoże we wrodzonych defektach metabolicznych, których przyczyną jest brak lub niewystarczająca aktywność różnych enzymów.

Defekty te dotyczą zaburzeń procesów zachodzących w lizosomach, w wyniku których dochodzi do odkładania się produktów bądź substratów przemian metabolicznych w narządach organizmu.

Choroby te zwykle ujawniają się w niedługim czasie po urodzeniu. Bezpośrednią przyczyną odkładania się metabolitów jest brak odpowiednich enzymów uczestniczących w przemianach enzymatycznych.^{[1][2]}

Choroba Wolmana

Przyczyna:

To genetyczna choroba spichrzeniowa z grupy lipidoz, spowodowana niedoborem esterazy cholesterolowej. Objawia się pierwotną niedoczynnością kory nadnerczy, której objawy można zaobserwować już w dzieciństwie. Jest to choroba dziedziczna autosomalnie, recesywnie.

Objawy:

To zaburzenia wielonarządowe m.in. duże zwapnienia w obu nadnerczach, hepatosplenomegalia spowodowane zaburzeniami przemian cholesterolu. Ponadto mogą występować tłuszczowe stolce, małopłytkowość oraz neurodegeneracja.

Głęboki niedobór aktywności lizosomalnej kwaśnej lipazy prowadzi do masywnego gromadzenia się trójglicerydów oraz estrów cholesterolu w większości tkanek szczególnie w wątrobie i śledzionie i prawie zawsze prowadzi do zgonu jeszcze w okresie niemowlęcym.^{[3][4]}

Sposób leczenia:

Dotychczas możliwe było tylko leczenie paliatywne np. transfuzje krwi w łagodzeniu niedokrwistości, wyrównywanie niedoczynności nadnerczy. Choroba Wolmana zawsze prowadzi do zgonu, nie ma skutecznych metod jej leczenia.^[5]

Bioinformatyczne bazy danych

W znalezieniu odpowiedniego leku na daną chorobę trzeba zagłębić się jaka jest przyczyna występowania objawów. Z reguły są to mutacje w sekwencji genomowej prowadzące do zmian w sekwencji aminokwasowej.



Do wyszukania potrzebnych informacji możemy skorzystać z różnych baz danych, m.in.:

Sekwencje białek:

- NCBI
- PIR
- UniProt
- RefSeq
- GenPept

Struktury białek:

- PDB
- MMDB
- SCOP
- CATH
- PubChem

Sekwencje RNA:

- GenBank
- RefSeq

Sekwencje DNA oraz pełnych genomów:

- DDBJ – DNA Data Bank of Japan
- EMBL Nucleotide Sequence Database
- GenBank

GenBank

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>

Jest to baza obejmująca informacje o sekwencjach DNA w postaci plików tekstowych, będąca częścią International Nucleotide Sequence Database Collaboration.^[6]

Przykładowe wyszukiwanie:

Taraxacum officinale chloroplast, complete genome

151,324 bp, circular DNA

```
>KU361241.1 Taraxacum officinale chloroplast, complete genome
CTTTGGGCGAACGACGGGAATTGAACCCGCGCATGGTGGATTCACAATCCACTGCCTTGATCCACTTGGC
TACATCCGCCCCTCTAGTATTTTCTAGTATTTCTATATTTTCCATTAACATGAAAAAAGAGCATAATA
TTTCTTTCTTATTTCTCTTATTTCTGAAATCAAAGTAAAGTAATAAATAAGAAAAATTATCATTTTTATC
```

UniProt

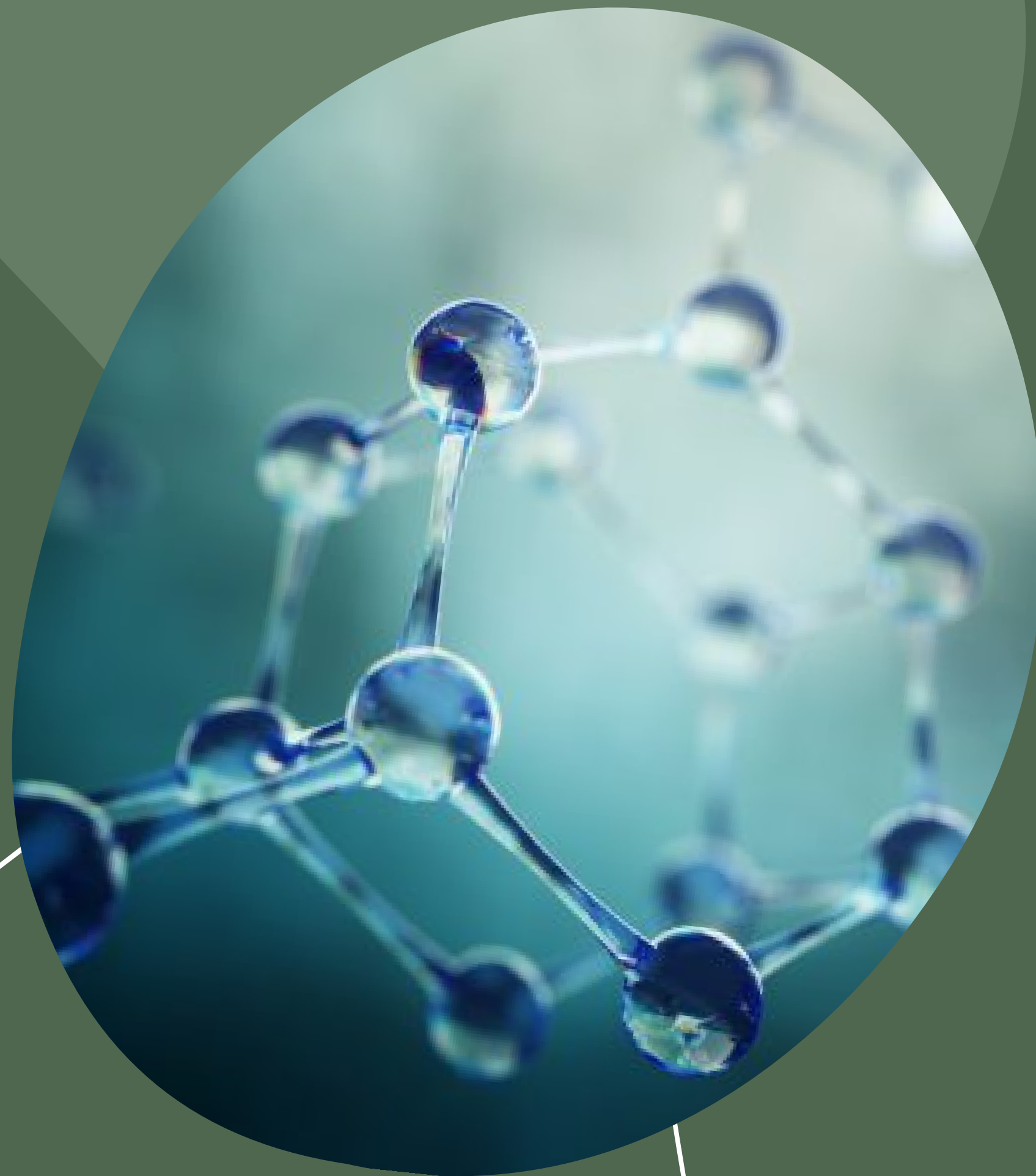
<https://www.uniprot.org/>

Obecnie największa baza zawierająca informacje o sekwencjach białkowych oraz dodatkowe informacje o biologicznej funkcji analizowanej cząsteczki.^[6]

Przykładowe wyszukiwanie:
Serum amyloid A-1 protein, SAA

```
>sp|P0DJI8|SAA1_HUMAN OS=Homo sapiens OX=9606 GN=SAA1 PE=1 SV=1  
MKLLTGLVFC SLVLGVSSRSFFSFLGEAFDGARDMWRAYS DMREANYIGSDKYFHARGNY  
DAAKRGPGGVWAAEAI SDARENIQRFFGHGAEDSLADQAANEWGRSGKDPNHFRPAGLPE  
KY
```


Identyfikacja
białek
spokrewnionych



Bezpośrednią przyczyną choroby Wolmana jest głęboki niedobór aktywności lizosomalnej kwaśnej lipazy, czego przyczyną jest mutacją genu **LIPA** na chromosomie 10q22 (200 AA).^[5]

Sekwencja referencyjna- lizosomalnej kwaśnej lipazy:

Identyfikator GenBank: M74775.1:^[7]

```
>M74775.1 Human lysosomal acid lipase/cholesteryl esterase mRNA, complete cds
ACTGCGACTCGAGACAGCGGCCCGGCAGGACAGCTCCAGAATGAAAATGCGGTTCTTGGGGTTGGTGGTC
TGTTTGGTTCTCTGGCCCCTGCATTCTGAGGGGTCTGGAGGGAACTGACAGCTGTGGATCCTGAAACAA
ACATGAATGTGAGTGAAATTATCTTACTGGGGATTCCCTAGTGAGGAATACCTAGTTGAGACAGAAGA
TGGATATATTCTGTGCCTTAACCGAATTCCATCATGGGAGGAAGAACCATTCTGACAAAGGTCCCAAACCA
GTTGTCTTCCTGCAACATGGCTTGCTGGCAGATTCTAGTAACTGGGTCACAAACCTTGCCAACAGCAGCC
TGGGCTTCATTCTTGCTGATGCTGGTTTTGACGTGTGGATGGGCAACAGCAGAGGAAATACCTGGTCTCG
GAAACATAAGACACTCTCAGTTTCTCAGGATGAATTCTGGGCTTTCAGTTATGATGAGATGGCAAAATAT
GACCTACCAGCTTCCATTAACCTCATTCTGAATAAACTGGCCAAGAACAAGTGTATTATGTGGGTCATT
CTCAAGGCACCACTATAGGTTTTATAGCATTTTCACAGATCCCTGAGCTGGCTAAAAGGATTAATATGTT
TTTTGCCCTGGGTCCTGTGGCTTCCGTCGCCTTCTGTACTAGCCCTATGGCCAAATTAGGACGATTACCA
GATCATCTCATTAAAGGACTTATTTGGAGACAAAGAATTTCTTCCCCAGAGTGCGTTTTTGAAGTGGCTGG
GTACCCACGTTTGCACCTCATGTCATACTGAAGGAGCTCTGTGGAAATCTCTGTTTTCTTCTGTGTGGATT
ACCAACTTGGTGTTCATGAGAGCATTCCGGAATGGGAGCATCTTGACTTCATTTGGGGCCTGGATGCCC
CTTGGAGGCTTTATAATAAAATTATTAATCTAATGAGGAAATATCAGTGAAAGCTGGACTTGAGCTGTGT
ACCACCAAGTCAATGATTATGTCATGTGAAAATGTGTTTGCTTCATTTCTGTAAAACACTTGTTTTTCTT
TCCCAGGTCTTTTGTTTTTTTTATATCCAAGAAAATGATAACTTTGAAGATGCCCAGTTCACCTAGTTTC
AATTAGAAACATACTAGCTATTTTTTCTTTAATTAGGGCTGGAATAGGAAGCCAGTGTCTCAACCATAGT
ATTGTCTCTTTAAGTCTTTTAAATATCACTGATGTGTAATAAGGTCATTATATCCATTCTGTTTTTAAAA
TTTAAATATATTGACTTTTTTGCCCTTCATAGGACAAAGTAATATATGTGTTGGAATTTTAAATTTGTGT
TGTCATTGGTAAATCTGTCACTGACTTAAGCGAGGTATAAAAAGTACGCAGTTTTTCATGTCCCTTGCCTTAA
AGAGCTCTCTAGTCTAACGGTCTTGTAGTTAGAGATCTAAATGACATTTTATCATGTTTTCTGCAGCAG
GTGCATAGTCAAATCCAGAAATATCACAGCTGTGCCAGTAATAAGGATGCTAACAATTAATTTTATCAAA
CCTAACTGTGACAGCTGTGATTTGACACGTTTTAATTGCTCAGGTTAAATGAAATAGTTTTCCGGCGTCT
TCAAAAACAAATTGCACTGATAAAAACAAAACAAAAGTATGTTTTAAATGCTTTGAAGACTGATACTC
AACCATCTATATTCATGAGCTCTCAATTTTCATGGCAGGCCATAGTTCTACTTATCTGAGAAGCAAATCCC
TGTGGAGACTATAACCACTATTTTTTCTGAGATTAATGTACTCTTGGAGCCCGCTACTGTCGTTATTGATC
ACATCTGTGTGAAGCCAAAGCCCCGTGGTTGCCCATGAGAAGTGTCCCTTGTTCAATTTTCACCCAAATGAA
GTGTGAACGTGATGTTTTCGGATGCAAACTCAGCTCAGGGATTCATTTTGTGTCTTAGTTTTATATGCAT
CCTTATTTTTAATACACCTGCTTCACGTCCCTATGTTGGGAAGTCCATATTTGTCTGCTTTTCTTGCAGC
ATCATTTCTTACAATACTGTCCGGTGGACAAAATGACAATTGATATGTTTTTCTGATATAAATTACTTTA
GCTGCACTAACAGTACAATGCTTGTAAATGGTTAATATAGGCAGGGCGAATACTACTTTGTAACTTTTAA
AGTCTTAAACTTTTTCAATAAAATTTGAGTGAGACTTATAGGCC
```

Lizosomalna kwaśna lipaza^[8]

(EC 3.1.1.13)

Funkcja molekularna: Katalizuje deacylację lipidów rdzenia triacyloglicerylu i estru cholesterylu endocytozowanych lipoprotein o niskiej gęstości w celu wytworzenia wolnych kwasów tłuszczowych i cholesterolu.^[9]

Długość sekwencji aminokwasowej: 399

Masa (da): 45419

Punkt izoelektryczny: 6.42

Struktury eksperymentalne:

Q5T073 - Lipaza A, typu kwasu lizosomalnego^[10]

Q5T770 - Lipaza A, typu kwasu lizosomalnego^[11]

A0A0A0MT32 - Lipaza A, typu kwasu lizosomalnego^[12]

Domeny i miejsca aktywne:

Domena: 80-380,

Miejsca aktywne : 174, 374

Optymalne pH : 4.5-5

zawartość (%) aminokwasów: obojętnych (329), kwaśnych (33) oraz zasadowych (37);

zawartość (liczba) aminokwasów: alifatycznych (329) i aromatycznych (70);

zawartość (%) aminokwasów polarnych (48,8) i niepolarnych (51,2)

Sekwencja aminokwasowa:

Identyfikator UniProt: P38571^[8]

```
>sp|P38571|LICH_HUMAN Lysosomal acid lipase/cholesteryl ester  
hydrolase OS=Homo sapiens OX=9606 GN=LIPA PE=1 SV=2  
MKMRFLGLVVCLVLWTLHSEGS GGKLTAVDPETNMNVSEIISYWGFPSEEYLVETEDGYI  
LCLNRI PHGRKNHSDKGP KP VVFLQHGLLADSSNWVTNLANS SLGFILADAGFDVW MGNS  
RGNTWSRKHK T LSVSQDEFWAFSYDEMAKYDLPASINFILNKTGQEQVYYVGH S QGTTIG  
FIAFSQIPELAKRIKMFFALGPVASVAFCTSPMAKLGRLPDHLIKDLFGDKEFLPQSAFL  
KWLGTHVCTHVILKELCGNLCFLLCGFNERNLNMSRVDVYTTTHSPAGTSVQNMLHWSQAV  
KFQKFQAFDWGSSAKNYFHYNQSY PPTYNVKDMLVPTAVWSSGGHDWLADVVDVNILLTQI  
TNLVFHESIPEWEHLDFIWGLDAPWRLYNKIINLMRKYQ
```

Mutacja genu LIPA na chromosomie 10q22 u człowieka (*Homo Sapiens*)

```
>sp|P38571|LICH_HUMAN Lysosomal acid lipase/cholesteryl ester  
hydrolase OS=Homo sapiens OX=9606 GN=LIPA PE=1 SV=2  
MKMRFLGLVVCLVLWTLHSEGSGGKLTAVDPETNMNVSEIISYWGFPSEEYLVETEDGYI  
LCLNRI PHGRKNHSDKGP KP VVFLQHGLLADSSNWVTNLANS SLGFILADAGFDVWMGNS  
RGNTWSRKHKTLSVSQDEFWAFSYDEMAKYDLPASINFILNKTGQEQVYYVGHSQGTTIG  
FIAFSQIPELAKRIKMFFAPGPVASVAFCTSPMAKLGRLPDHLIKDLFGDKEFLPQSAFL  
KWLGTHVCTHVILKELCGNLCFLLCGFNERNLNMSRVDVYTTTHSPAGTSVQNMLHWSQAV  
KFQKFQAFDWGSSAKNYFHYNQSY PPTYNVKDMLVPTAVWSGGHDWLADVVDVNI LLTQI  
TNLVFHESIPEWEHLDFIWGLDAPWRLYNKIINLMRKYQ
```


Wyszukiwanie białek spokrewnionych

Z wykorzystaniem algorytmu BLAST pozyskano 4 sekwencje białek odpowiadających strukturalnie analizowanemu organizmowi, z pochodzenia o różnym stopniu pokrewieństwa, w celu dalszej analizy analogii budowy funkcjonalnej oraz potencjalnego wykorzystania terapeutycznego w chorobie Wolmana.

Kryteria wyboru kandydatów do enzymatycznej terapii zastępczej



1. Występowanie w organizmach analizowanych białek.
2. Występowanie homologii w sekwencji aminokwasowej białek

Wybrano 2 organizmy o dużym pokrewieństwie do organizmu wyjściowego, przynależących do rodziny ssaków oraz 2 organizmy niespokrewnione, przynależące do rodziny ptaków.

Poziom podobieństwa strukturalnego do 80%.

Sekwencja lizosomalnej kwaśnej lipazy makaka długoogoniastego (*Macaca fascicularis*)

Identyfikator UniProt : Q4R4S5 ^[13]

```
>sp|Q4R4S5|LICH_MACFA Lysosomal acid lipase/cholesteryl ester  
hydrolase OS=Macaca fascicularis OX=9541 GN=LIPA PE=2 SV=1  
MKMRFLGLVVCLVLWTLHSEASGGKLTAVNPETNMNVSEIISYWGFPSEEYLVETEDGYI  
LCLNRI PHGRKNHSDKGPKPVVFLQHGLLADSSNWVTNLANSSLGFI LADAGFDVWVGNS  
RGNTWSRKHKTL SVSQDEFWAFSYDEMAKYDLPASINFILNKTGQEQVYYVGH SQGTTIG  
FIAFSQIPELAKRIKMFFALAPVVSVD FCTSPMAKLGRLPDLLIKDLFGDKEFLPQSAFL  
KWLGTHVCTHVILKELCGNLCFLLCGFNERNLNMSRVDVYTTTHSPAGTSVQNMLHWSQAV  
KFQKFQAFDWGSSAKNYFHYNQSY PPTYNVKDMLVPTAVWSSGGHDWLADVVDINILLTQI  
TNLVFHESIPEWEHLDFIWGLDAPWRLYNKI INLMKKYQ
```

Informacje:

Domena: 80-380

Masa (da): 45480.18

Miejsca aktywne: 174, 374

Punkt izoelektryczny: 6.39

Sekwencja lizosomalnej kwaśnej lipazy u świni (*Sus scrofa domesticus*)

Identyfikator UniProt: A0A0B8RZF0^[14]

```
>tr|A0A0B8RZF0|A0A0B8RZF0_PIG Lipase OS=Sus scrofa domesticus  
OX=9825 GN=LIPA PE=3 SV=1  
MGMWLLGLVVCLVFGPLHSEASRGKPAPVDPEINMNVSEIISHWGYPSEEHFVVTADGYI  
LCLNRI PHGRKNHSDKGPVFLQHGLLADSSNWVNLPKNSLGFILADAGFDVWVGNS  
RGNTWSRKHKTLISQEEYWAFSYDEMANYPDLPASINFILNKTGQEQVYYVGHSQGTTIG  
FIAFSRIPELAKKVKMFFALAPVVSQFATSPLVKLGQIPDHLIKDLFGVKEFLPQSAFL  
KWLSTHVCAHVILKELCGNIVFVLCGFNERNLNMSRVAVYTAHSPAGTSVQDMLHWSQVV  
KFKKFQAFDWGSSAKNYFHYNQSHPPLYNVKDMLVRTAIWSGGRDWLADVQDVSVLLTQI  
PNLVYHKHIHKWEHLDFIWGLDAPQQLYDEMINLMRKYQ
```

Informacje:

Masa (da): 45347.23

Miejsca aktywne: 174, 345, 374

Punkt izoelektryczny: 7.75

Sekwencja hydrolazy LICH u Gąszczaka krzykliwego (*Atrichornis clamosus*)

Informacje: Masa (da): 45347.23
Miejsca aktywne: 174, 345, 374
Punkt izoelektryczny: 7.75

```
>NXY26727.1 LICH hydrolase, partial [Atrichornis clamosus]
RMRGLEVA AFL LQSIACSGAFGAGRRNVDPETNMNISEIITFRGYPSEEYEVTTEDGYILSINRI PYGRK
GHEGSKGPRPAVFLQHGLLADASNWITNLDYNSLGFMLADAGFDVWLGNSRGNTWSRKHKHFTVKQEEFW
VFSFDEMAKYDIPASVDFILEKTGQE QVFYIGHSQGTTMAFVAFSTLPQLAKKIKMFFALAPVATVKFAT
SPLAKLGVFPD LLLKDMFGKKQFLPQNSLLKWLATHVCTHRILDDLCGNIFFLLCGFNERNLNMSRVDVY
STHCPAGTSVQNM IHWSQAVRTGELKAYDWGSKAANMAHYNQSTPPFYKIKEMTVPTAAWTGGHDWLADP
KDVAMLLTQITNLVYHKNIPEWEHLDFIWGLDAPYRMYNEIINMIRKYL
```

Identyfikator GenBank:
NXY26727.1^[15]

Sekwencja lizosomalnej kwaśnej lipazy Orła przedniego (*Aquila chrysaetos*)

Identyfikator GenBank : XP_029886656.1^[16]

```
>XP_029886656.1 putative lysosomal acid lipase/cholesteryl  
ester hydrolase [Aquila chrysaetos chrysaetos]  
MRGLVVA AFL LQSVAGSGAFAGSGAFAGGRRNVD PETNMNISQIITFRGYPSEEYEVTTEDGY  
ILSVNRIPYGRKGHEKSKGPRPAVFLQHGLLADASNWITNLDYNSLGFMLADAGYDVWLGNSR  
GNTWSRKHTHFTVKQEEFWVFSFDEMAKYDIPASVDFILKTTGQEQVFYIGHSQGTTMAFIAF  
STLPQLAKKIKMFFALAPVATVKFATSPLAKLGVFPDLLLKDMFGKKQFLPQNSLLKWLATHV  
CTHRILDDLCGNIFFLLCGFNERNLNMSRVDVYSTHCPAGTSVQNMIHWSQAVKTGELKAYDW  
GSKAANMAHYNQSTPPFYKIKEMTVPTAVWTGGQDWLADPKDVAMLLTQITNLVYHKNIPEWE  
HLDFIWGLDAPYRMYNEIINMIRKYL
```

Informacje:

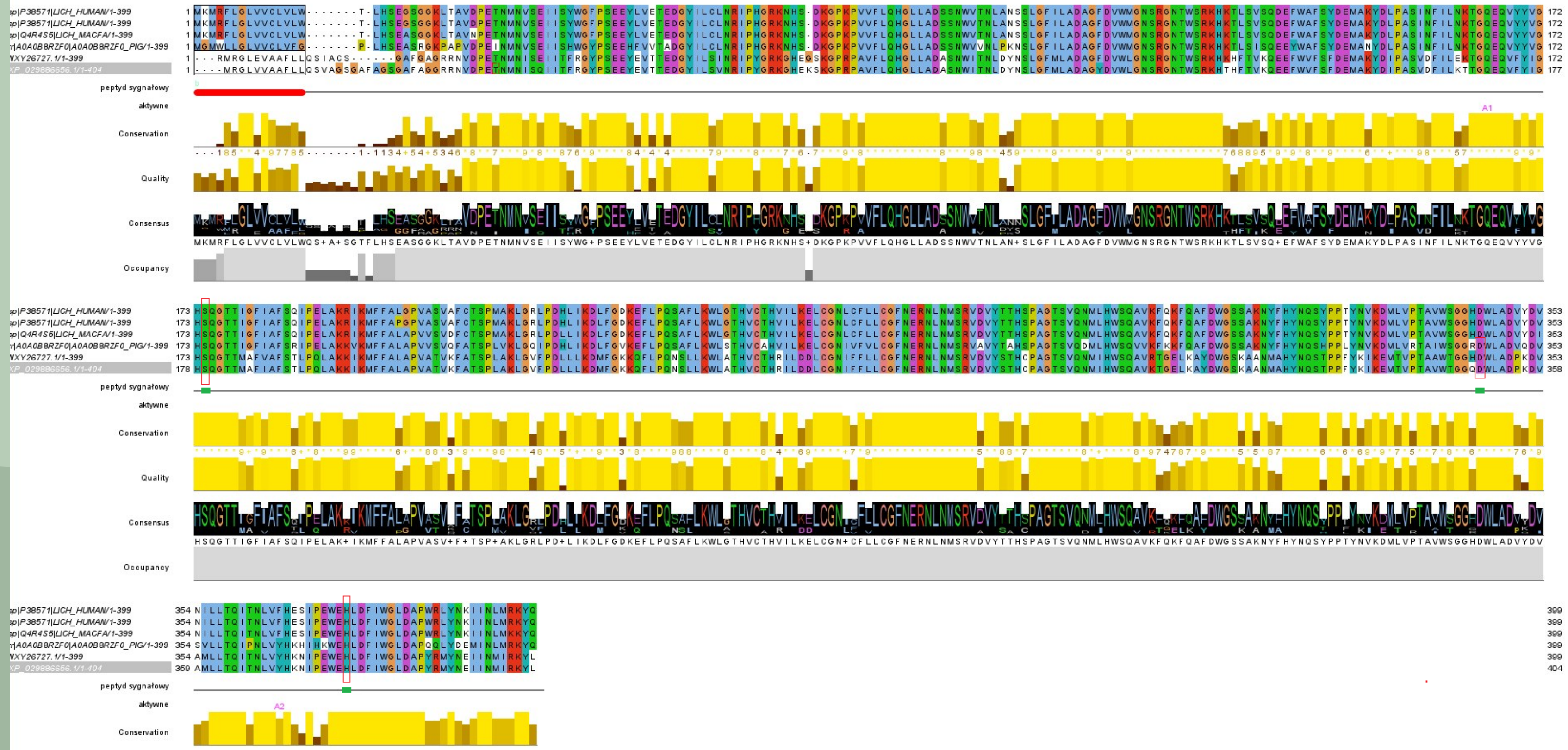
Masa (da): 45347.23

Miejsca aktywne: 174, 345, 374

Punkt izoelektryczny: 7.75

Uzyskaną kolekcję 6 sekwencji poddano analizie w programie JalWiev pod kątem wzajemnego dopasowania sekwencyjnego.

Zaobserwowano, że wszystkie wybrane homologii wykazują znaczne podobieństwo strukturalne do wyjściowej sekwencji. Każdy z homologów wykazuje fragmenty sekwencji o dużej konserwatywności z jedynie niewielkimi mutacjami, nie obejmującymi aminokwasów miejsca aktywnego.



Rys. 1. Dopasowanie sekwencji białka referencyjnego (lizosomalnej kwaśnej lipazy ludzkiej), sekwencji z mutacją oraz jej 4 homologów. Czerwonymi prostokątami zaznaczono miejsca aktywne enzymów, oraz peptyd sygnałowy (początkowy fragment o długości 15 aminokwasów).

Wyniki porównania dopasowania w programie JalView zebrano w tabeli poniżej:

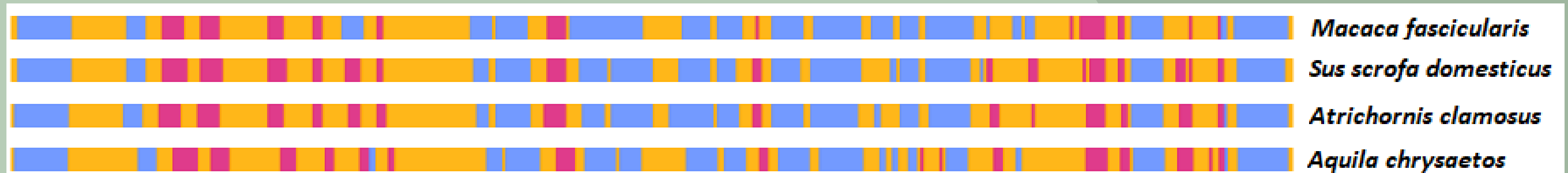
Tabela 1. Porównanie dopasowania sekwencji analizowanych białek

| | Sekwencja referencyjna | Sekwencja z mutacją | Homolog 1 <i>Macaca fascicularis</i> | Homolog 2 <i>Sus scrofa domesticus</i> | Homolog 3 <i>Atrichornis clamosus</i> | Homolog 4 <i>Aquila chrysaetos</i> |
|--------------------------|------------------------|---------------------|---|---|--|---------------------------------------|
| Q174- miejsce aktywne | x | x | x | x | x | x |
| F374- Miejsce aktywne | x | x | x | x | x | x |
| F345- miejsce aktywne | - | - | - | x | x | x |
| Peptyd sygnalowy | x | x | x | x | - | - |

Analiza strukturalna

Na podstawie otrzymanych sekwencji aminokwasowych dokonano przewidywania struktur drugorzędowych oraz stopnia dopasowania białek z użyciem programu Predictprotein

Rys.2. Porównanie dopasowania struktur drugorzędowych homologów do struktury białka referencyjnego.

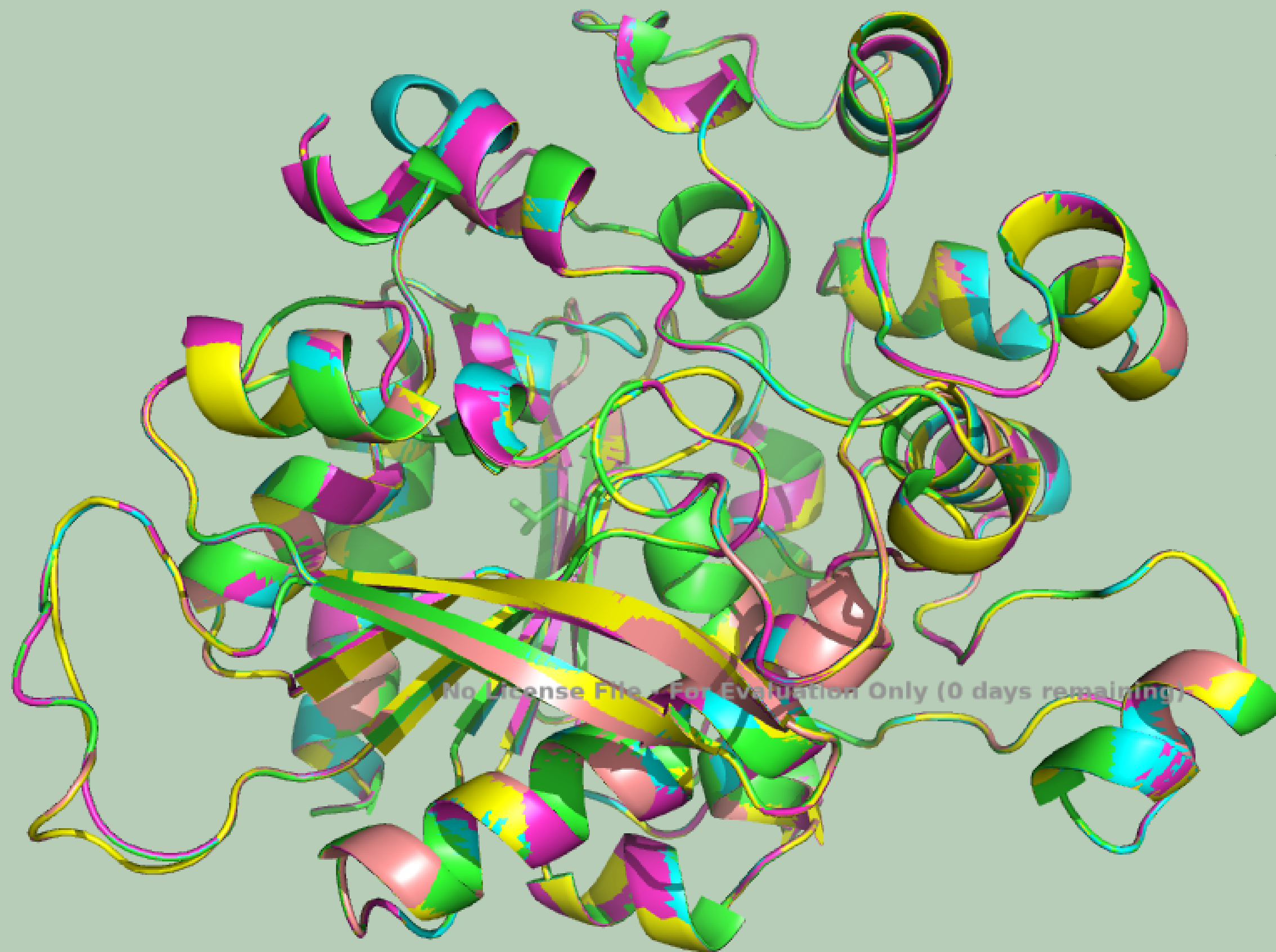


Analiza dopasowania struktur wskazuje, że wszystkie białka wykazują bardzo duże podobieństwo strukturalne. Fakt ten potwierdza również 100% pokrycie się miejsc występowania aminokwasów miejsca aktywnego oraz domen funkcjonalnych tych białek.

Spośród analizowanych, największe odchylenia w dopasowaniu zaobserwowano dla gatunków niespokrewnionych tj. Orła przedniego (*Aquila chrysaetos*) i Gąszczaka krzykliwego (*Atrichornis clamosus*).

Modelowanie przestrzenne

Modelowania struktur 3D analizowanych białek dokonano z użyciem portalu SWISS-MODEL generując modele na podstawie których następnie dokonano analizy podobieństwa struktur nakładając je wzajemnie przestrzennie na siebie w programie Pymol.



Rys.3. Porównanie struktur przestrzennych białek referencyjnego oraz jego homologów w programie Pymol poprzez wzajemne nałożenie struktur.

Rys.4. Struktura przestrzenna białka referencyjnego lizosomalnej kwaśnej lipazy ludzkiej z zaznaczonym na czerwono miejscem mutacji.



No License File - For Evaluation Only (0 days remaining)

Podsumowanie:

Ocena wizualna wskazuje, że wszystkie z analizowanych organizmów wykazują bardzo duże podobieństwo strukturalne. Analiza wyników modelowania oraz uzyskanych wartości RMSD wskazuje, że najwyższym podobieństwem strukturalnym charakteryzują się organizmy spokrewnione z organizmem wyjściowym tj. homolog 1 (*Macaca fascicularis*) oraz 2 (*Sus scrofa domesticus*).

| | Sekwencja referencyjna | Homolog 1 <i>Macaca fascicularis</i> | Homolog 2 <i>Sus scrofa domesticus</i> | Homolog 3 <i>Atrichornis clamosus</i> | Homolog 4 <i>Aquila chrysaetos</i> |
|----------------------|------------------------|---|---|--|---------------------------------------|
| Miejsce aktywne | 174, 374 | 174, 374 | 174, 374, 374 | 174, 374, 345 | 174, 374, 345 |
| Punkt izoelektryczny | 6,42 | 6,39 | 7,75 | 7,33 | 8,19 |
| RMSD | - | 0,014 | 0,019 | 0,028 | 0,036 |

Tabela 2. Zestawienie parametrów porównania dla analizowanych białek.

Ponadto, wyniki analizy wskazują, że wszystkie homologii posiadają duże prawdopodobieństwo dopasowania funkcjonalnego. Każdy z wybranych organizmów wykazuje konserwatywność w kluczowych fragmentach sekwencji aminokwasowej i tym samym strukturze drugorzędowej. U każdego z organizmu obserwuje się te same pozycje aminokwasów miejsca aktywnego Q174 oraz F374 oraz brak znacznych i niekorzystnych mutacji w obrębie genu, co stanowi korzyść dla potencjalnego zastosowania tych organizmów w enzymatycznej terapii zastępczej.

Homologii 2, 3 i 4 posiadają w obrębie miejsca aktywnego dodatkowy aminokwas w pozycji F345, co może wpływać na siłę wiązania substratu oraz wyższą stabilizację stanu przejściowego reakcji. Może to również wiązać się z wyższą wybiórczością substratową dla katalizowanej przez białko reakcji.

Najwyższe dopasowanie struktur 3D uzyskał homolog 1 (*Macaca fascicularis*), o najwyższym stopniu pokrewieństwa z człowiekiem. Białko produkowane przez makaka długoogoniastego wykazuje najbardziej zbliżoną wartość punktu izoelektrycznego co białko referencyjne oraz jego sekwencja aminokwasowa poprzedzona jest również sekwencją peptydu sygnałowego.

Analizując powyższe argumenty, to białko syntetyzowane przez *Macaca fascicularis* wykazuje najwyższe prawdopodobieństwo w skuteczności w zastosowaniu w Enzymatycznej Terapii Zastępczej.

Źródła:

1. <https://chorobyrzadkie.pl/choroby-rzadkie/>
2. [https://www.fundacjasaventica.pl/baza-wiedzy/choroby-spichrzeniowe-lizosomalne#:~:text=Lizosomalne%20choroby%20spichrzeniowe%20\(inaczej%20choroby,g%C5%82%C3%B3wnie%20hydrolaz%20rzadziej%20peptydaz\).](https://www.fundacjasaventica.pl/baza-wiedzy/choroby-spichrzeniowe-lizosomalne#:~:text=Lizosomalne%20choroby%20spichrzeniowe%20(inaczej%20choroby,g%C5%82%C3%B3wnie%20hydrolaz%20rzadziej%20peptydaz).)
3. <https://chorobyrzadkie.pl/choroba-wolmana/>
4. https://pl.wikipedia.org/wiki/Choroba_Wolmana
5. <https://www.spirulina.pl/choroby/choroba-wolmana.html>
6. Gruca A. 2010. Bioinformatyczne bazy danych. Warszawa: Wydawnictwo PJJWSTK s.17-75
7. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/M74775.1?report=fasta>
8. <https://www.uniprot.org/uniprotkb/P38571/entry#structure>
9. <https://swiatlekarza.pl/prof-anna-tylki-szymanska-niedobor-kwasnej-lipazy-lizosomalnej-dwie-rozne-postaci-jednej-choroby/>
10. <https://www.uniprot.org/uniprotkb/Q5T073/entry>
11. <https://www.uniprot.org/uniprotkb/Q5T770/entry>
12. <https://www.uniprot.org/uniprotkb/A0A0A0MT32/entry>
13. <https://www.uniprot.org/uniprotkb/Q4R4S5/entry>
14. <https://www.uniprot.org/uniprotkb/A0A0B8RZF0/entry>
15. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/NXY26727.1/>
16. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/XP_029886656.1

Link do sway.office:

<https://sway.office.com/0o6VzNzlGnkDlvCP>