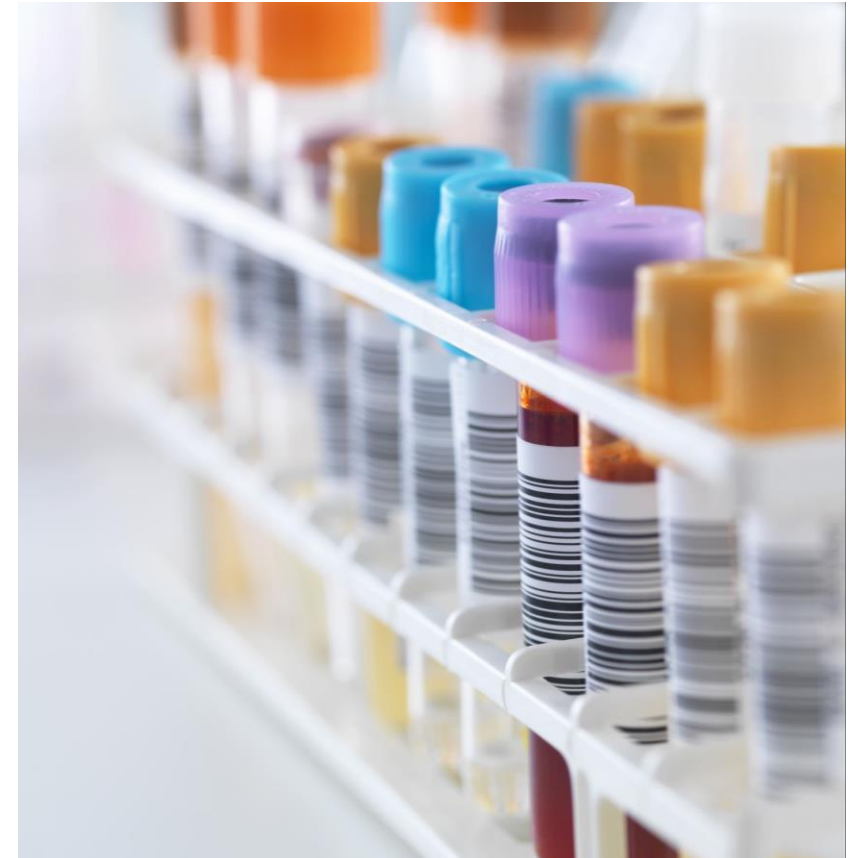


Inżynieria białek terapeutycznych

Emilia Mazur
Marlena Miłek

Choroby rzadkie

- Choroby rzadkie to bardzo rzadko występujące schorzenia uwarunkowane najczęściej genetycznie, o przewlekłym i często ciężkim przebiegu, w około połowie ujawniają się w wieku dziecięcym. Ze względu na rzadkość występowania, trudności w rozpoznawaniu i brak świadomości społecznej, wiedza o tych chorobach była dotychczas niewielka.
- Dotychczas wykryto ponad sześć tysięcy rzadkich chorób, a nowe choroby są regularnie opisywane w literaturze medycznej. Cierpi na nie od 6% do 8% populacji. W ślad za definicją chorób rzadkich zalecaną w Unii Europejskiej schorzenie uznaje się w Polsce za chorobę rzadką, jeśli dotyka ona nie więcej niż 5 na 10.000 osób.



Lizosomalne choroby spichrzeniowe

- **Lizosomalne choroby spichrzeniowe** to grupa ponad 70 rzadkich dziedzicznych zaburzeń metabolicznych, które wynikają z defektów funkcji lizosomów. Lizosomy to worki enzymatyczne w komórkach, które trawia duże cząsteczki i przekazują fragmenty do innych części komórki w celu recyklingu. Proces ten wymaga kilku kluczowych enzymów. Jeśli jeden z tych enzymów jest uszkodzony w wyniku mutacji, duże cząsteczki gromadzą się w komórce, ostatecznie ją zabijając.
- Zaburzenia spichrzenia lizosomalnego są spowodowane dysfunkcją lizosomów, zwykle wynikającą z niedoboru pojedynczego enzymu niezbędnego do metabolizmu lipidów, glikoprotein lub tzw. mukopolisacharydów. Większość tych chorób jest dziedziczona autosomalnie recesywnie, np. choroba Niemann-Picka typu C, ale kilka z nich jest dziedziczonych recesywnie sprzężonych z chromosomem X, np. choroba Fabry'ego i zespół Huntera (MPS II).
- Lizosom jest powszechnie nazywany centrum recyklingu komórki, ponieważ przetwarza niechciany materiał w substancje, które komórka może wykorzystać. Lizosomy rozkładają tę niechcianą materię za pomocą enzymów, wysoce wyspecjalizowanych białek niezbędnych do przeżycia. Zaburzenia lizosomalne zwykle powstają, gdy dany enzym występuje w zbyt małej ilości lub w ogóle go nie ma. Kiedy tak się dzieje, w komórce gromadzą się substancje. Innymi słowy, gdy lizosom nie funkcjonuje normalnie, w komórce gromadzą się nadmiarowe produkty przeznaczone do rozkładu i recyklingu.
- Podobnie jak inne choroby genetyczne, jednostki dziedziczą lizosomalne choroby spichrzeniowe od swoich rodziców. Chociaż każde zaburzenie wynika z różnych mutacji genów, które przekładają się na niedobór aktywności enzymatycznej, wszystkie mają wspólną cechę biochemiczną – wszystkie zaburzenia lizosomalne wynikają z nieprawidłowego gromadzenia się substancji wewnątrz lizosomu.
- Lizosomalne choroby spichrzeniowe dotyczą głównie dzieci i często umierają w młodym wieku, wiele z nich w ciągu kilku miesięcy lub lat od urodzenia

Enzymatyczna terapia zastępcza



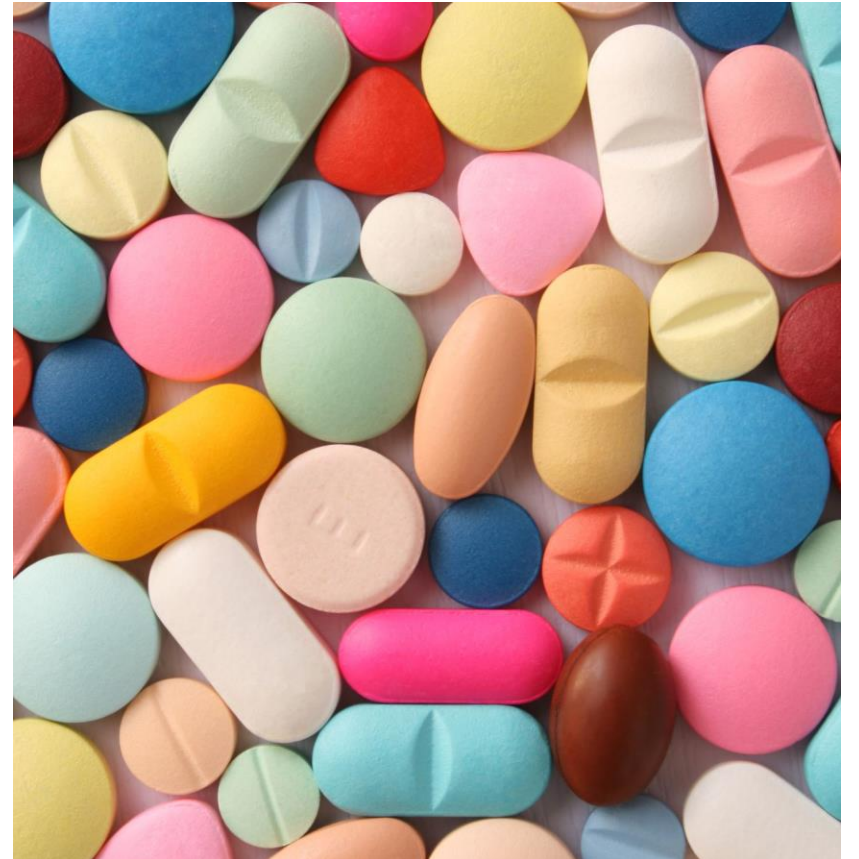
Enzymatyczna terapia zastępcza polega na wprowadzaniu do organizmu pacjenta brakującego enzymu poprzez jego podanie dożylne. Leczenie trwa tak długo, jak długo w komórkach istnieje zapotrzebowanie na sprawnie funkcjonujący enzym, a więc przez całe życie chorego. Każdy z potrzebnych enzymów jest produkowany przez inną firmę biotechnologiczną metodą tzw. projektowania leków (drug designing).



ERT jest obecnie dostępna dla niektórych lizosomalnych chorób spichrzeniowych: choroby Gauchera, choroby Fabry'ego, MPS I, MPS II (zespół Huntera), MPS VI i choroby Pompego. ERT nie koryguje defektu genetycznego będącego źródłem choroby, ale jedynie zwiększa stężenie enzymu, którego brakuje pacjentowi. ERT stosuje się również w leczeniu pacjentów z ciężkim złożonym niedoborem odporności (SCID) wynikającym z niedoboru deaminazy adenozynowej (ADA-SCID).

Leki stosowane w chorobach spichrzeniowych

- Leki stosowane w terapii chorób rzadkich, do których należą lizosomalne choroby spichrzeniowe znajdują się na tzw. liście leków sierocych. Nadawanie statusu leku sierociego odbywa się w Europejskiej Agencji Leków i jest związane ze szczególnym zastosowaniem danego leku przed programem badań klinicznych. Status ten jest zarezerwowany dla leków, które są stosowane w leczeniu bardzo rzadkich chorób, gdzie pełny program badań klinicznych nie zawsze jest możliwy ze względu na ograniczoną populację chorych na daną chorobę, więc badania tych leków nie zawsze mogą spełnić rygory stosowane wobec pozostałych leków.



Choroba Pompego

Czym jest choroba Pompego?

Choroba Pompego jest rzadką chorobą genetyczną, której przyczyną jest mutacja w genie 'GAA', który koduje informacje o produkcji oraz funkcji enzymu kwaśnej alfa-glukozydazy (GAA). Rolą tego enzymu jest rozkład cukrów złożonych (glikogenu) do cukrów prostych, które stanowią łatwo przyswajalne paliwo dla mięśni. Niedobór lub upośledzenie funkcji enzymu GAA utrudnia przemianę glikogenu w glukozę, a w konsekwencji odkładanie się glikogenu w mięśniach szkieletowych, mięśniach gładkich, a także innych tkankach, powodując ich uszkodzenie. Skutkuje to przede wszystkim problemami z poruszaniem się oraz oddychaniem.

Jakie są objawy choroby Pompego?

W klasycznej postaci dziecięcej choroby Pompego pierwsze objawy mogą pojawić się już nawet w 3. miesiącu życia, najczęściej jako przerost mięśnia sercowego oraz osłabienie mięśni szkieletowych. Niestety bez odpowiedniego leczenia przewidywana długość życia chorych w tej grupie wiekowej to około 2 lata. Poza postacią niemowlęcą, w chorobie Pompego wyróżnia się postać "dziecięcą" i "dorosłą", lub wg. innego podziału postać o wczesnych i późnych objawach. W pozostałych postaciach choroby Pompego (poza niemowlęcą) problemy kardiologiczne (przerost serca) występują dość rzadko, a głównym objawem są trudności w poruszaniu się oraz zmniejszenie czynności oddechowej.

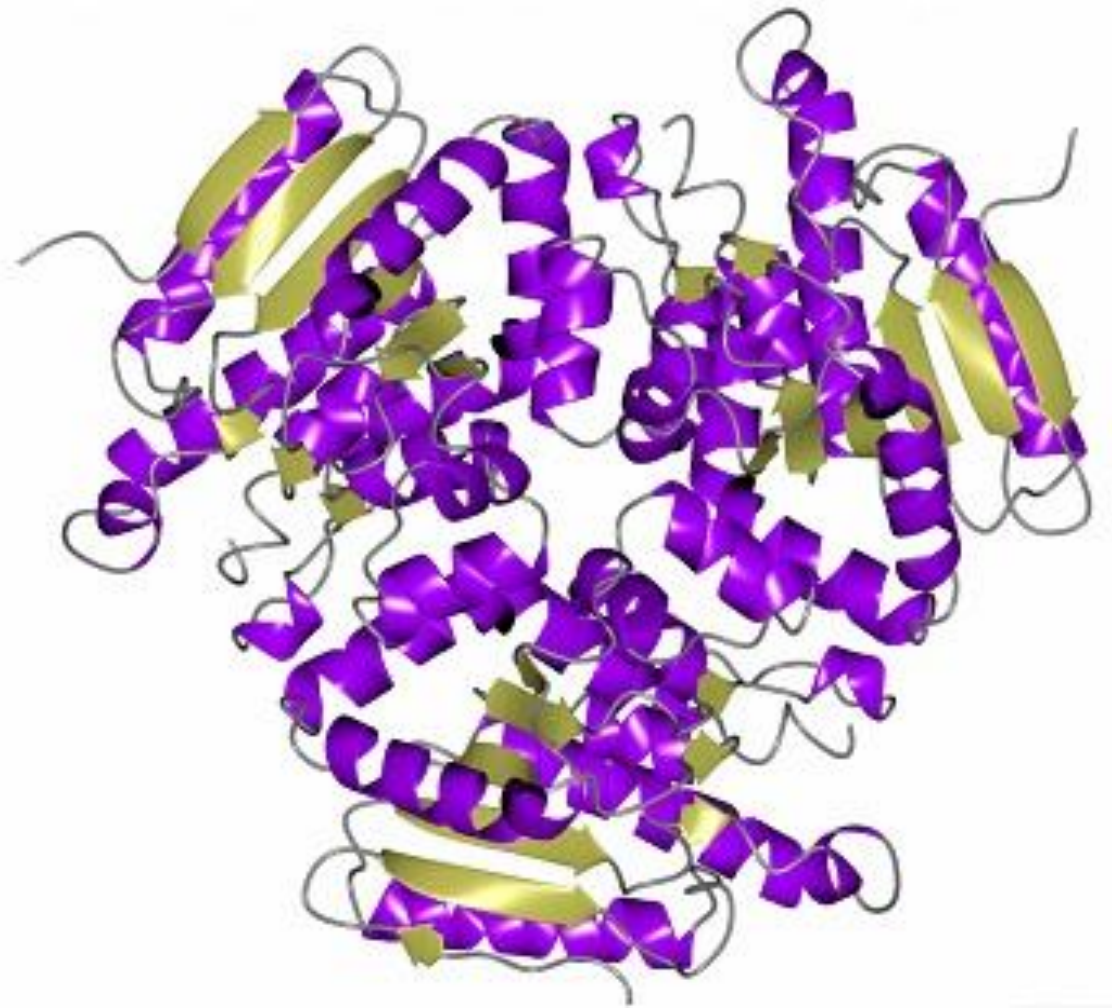
Jak diagnozuje się chorobę Pompego?

Podstawowa diagnostyka obejmuje tzw. test suchej kropli krwi, który pozwala na zbadanie aktywności kwaśnej alfa-glukozydazy, a następnie badanie genetyczne określające mutację odpowiedzialną za chorobę u danego pacjenta.

Jak leczyć chorobę Pompego?

Obecnie chorobę Pompego można leczyć Enzymatyczną Terapią Zastępczą (ETZ), która polega na dożylnym podaniu brakującego enzymu w odstępach dwóch tygodni. Leczenie to jest refundowane w programie lekowym. Jak w przypadku większości chorób istotne jest wdrożenie leczenia odpowiednio wcześnie, aby zatrzymać lub spowolnić postęp choroby dając pacjentom szansę na aktywne życie. Oprócz ETZ istotne są także terapie wspomagające takie jak rehabilitacja, wspomaganie oddychania, wsparcie logopedy czy ortodenty.

Identyfikacja białek spokrewnionych



Białko P07686 · HEXB_HUMAN

Baza danych uniprot:

Długość 556

Masa (Da) 63137

Nazwa polecana: Podjednostka beta-heksozominidazy beta

Alternatywna nazwa: Podjednostka beta-N-acetyloheksozominidazy beta (podjednostka B heksozominidazy)

Białko protoonkogenu 7 raka szyjki macicy (HCC-7)

Podjednostka: beta N-acetylo-beta-glukozaminidazy

Lokalizacja subkomórkowa: Lizozym, pęcherzyk

cytoplazmatyczny, pęcherzyk wydzielniczy

```
>sp|P07686|HEXB_HUMAN Beta-hexosaminidase subunit beta OS=Homo sapiens OX=9606 GN=HEXB PE=1 SV=4
MELCGLGLPRPPMLLALLLATLLAAMLALLTQVALVVQVAEAAAPSVSAKPGPALWPLP
LLVKMTPNLLHLAPENFYISHSPNSTAGPSCITLLEAFRRYHGYIFGFYKWHHEPAEFQA
KTQVQQLLVSITLQSECDAPFNISSESYTLVKEPVAVLKANRVWALRGLETFSQLVY
QDSYGTFTINESTIIDSPRFSHRGILIDTSRHYLPVKIILKTLDAFNFNVLHWHIVD
DQSFYQSIITFPELSNKGSYSLSHVYTPNDVRMVEYARLRGIRVLPEDTPGHTLSWGK
GQKDLLTPCYSRQNKLDSEFGPINPTLNTTYSFLTTFKEISEVFPDQFIHLGGDEVEFKC
WESNPKIQDFMRQKGFQDFKKLESFYIQVLDIATINKGSIVWQEVFDDKAKLAPGTI
VEVWKDSAYPEELSRVTASGFPVILSAPWYLDLISYGQDWRKYKVEPLDFGGTQKQKQL
FIGGEACLNGEYVDATNLTPRLWPRASAVGERLWSSKQVDRMDDAYDRLTRHRCRMVERG
IAAQPLYAGYCNHENM
```



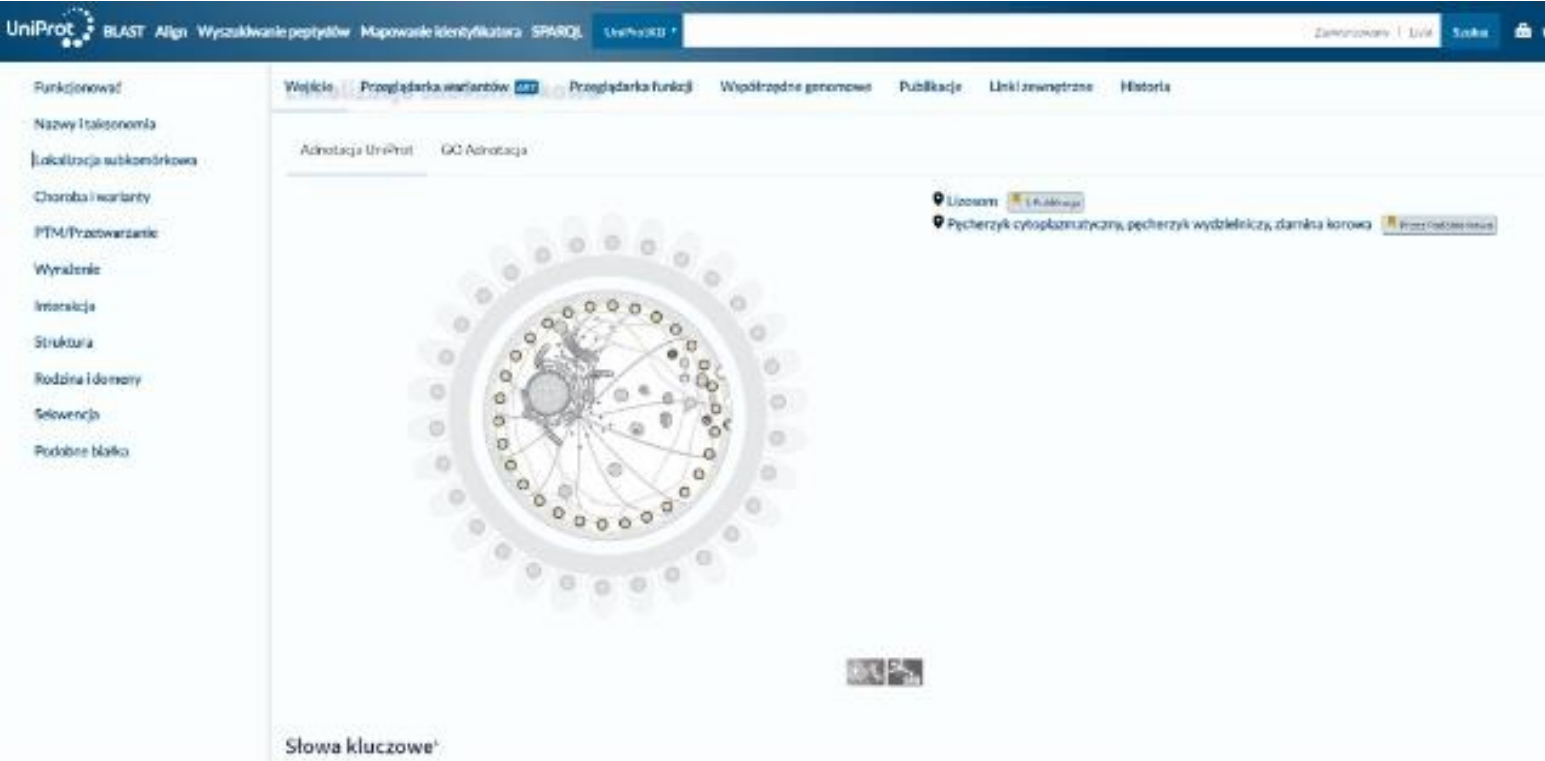

Funkcjonalność

Białko to hydrolizuje nieredukujący koniec N-acetylo-D-heksozaminę i/lub siarczanowaną N-acetylo-D-heksozaminę glikokoniugatów, takich jak ugrupowania oligosacharydowe z białek i obojętnych glikolipidów lub z niektórych mukopolisacharydów

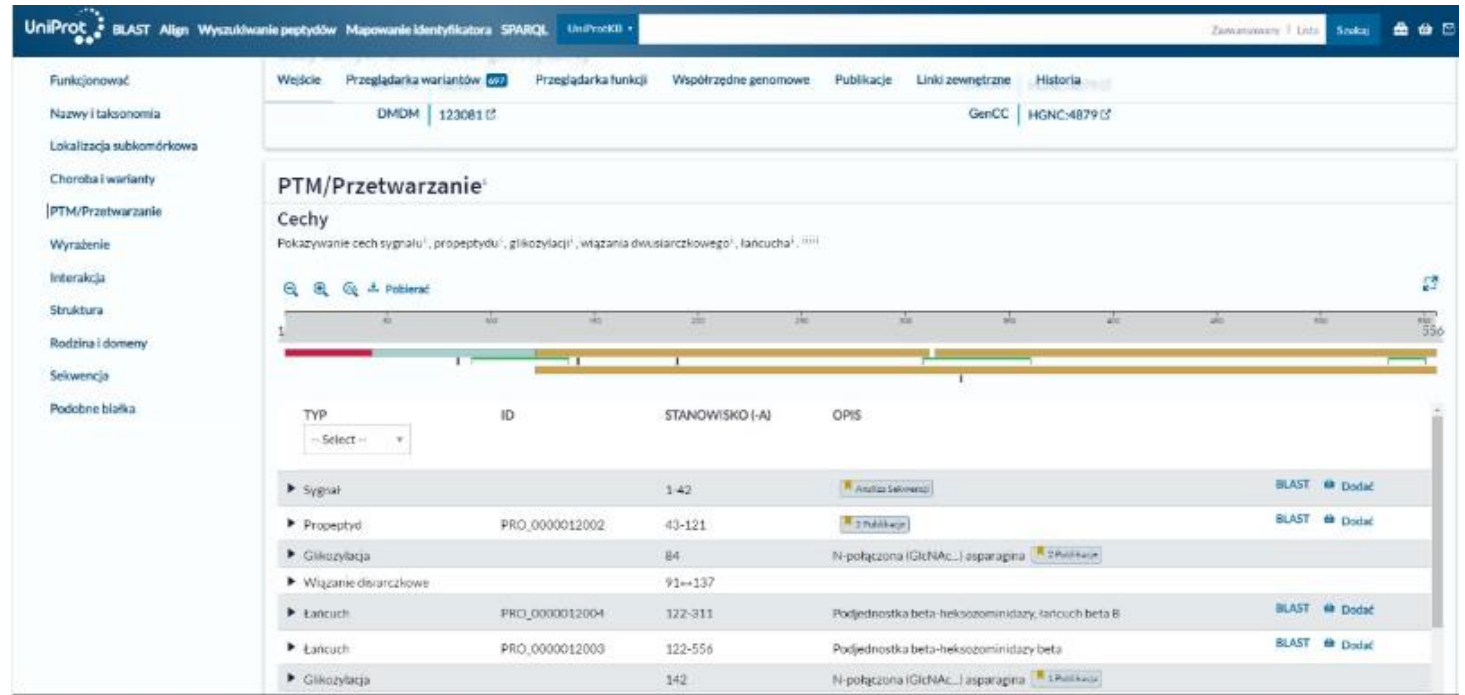
Choroba i warianty

- Wywołuje : **GM2-gangliozydoza 2**
- Autosomalna recesywna lizosomalna choroba spichrzeniowa charakteryzująca się nagromadzeniem gangliozydów GM2 w komórkach neuronowych. Klinicznie nie do odróżnienia od gangliozydozy GM2 typu 1, objawiającej się reakcjami zaskoczenia, wczesną ślepotą, postępującym pogorszeniem motorycznym i psychicznym, makrocefalią i wiśniowymi plamami na płamce żółtej. Wyróżniamy 8 wariantów.

Lokalizacja subkomórkowa



Modyfikacje potranslacyjne



Interakcje

- **Podjednostka**
- Istnieją 3 formy beta-heksozominidazy: heksozominidaza A jest heterodimerem składającym się z jednej podjednostki alfa i jednej podjednostki beta (łańcuch A i B); heksozominidaza B jest homodimerem dwóch podjednostek beta (dwóch łańcuchów A i B); heksozominidaza S jest homodimerem dwóch podjednostek alfa (przez podobieństwo). Skład dimeru (izozym A w porównaniu z izozymem S) ma znaczący wpływ na specyficzność substratową miejsca aktywnego podjednostki alfa
- **Interakcje binarne**
- P07686 ma binarne interakcje z 28 białkami

Struktura

UniProt BLAST Align Wyszukiwanie peptydów Mapowanie identyfikatora SPARQL UniProtKB

Zarejestrowany | Login | Szukaj | Pomoc

Funkcjonować
Nazwy i taksonomia
Lokalizacja subkomórkowa
Choroba i warianty
PTM/Przetwarzanie
Wyrażenie
Interakcja
Struktura
Rodzina i domeny
Sekwencja
Podobne białka

Węjście Przeglądarka wariantów **WPB** Przeglądarka funkcji Współrzędne genomowe Publikacje Linki zewnętrzne Historia

Struktura



ŹRÓDŁO IDENFIKATOR METODA REZOLUCJA ŁAŃCUCH POZYCJE SPINKI DO MANKIETÓW

WPB	1NCU	Röntgen	2.40 Å	A/B	50-556	PDBe . RCSB-PDB . PDBj . PDBsum	Skończenie
WPB	1TERAZ	Röntgen	2.20 Å	A/B	50-556	PDBe . RCSB-PDB . PDBj . PDBsum	Skończenie
WPB	1NPD	Röntgen	2.50 Å	A/B	50-556	PDBe . RCSB-PDB . PDBj . PDBsum	Skończenie
WPB	1NPD	Röntgen	2.50 Å	A/B	50-556	PDBe . RCSB-PDB . PDBj . PDBsum	Skończenie

Sekwencja

UniProt

BLAST Align Wyszukiwanie peptydów Mapowanie identyfikatora SPARQL UniProtKB

Zamówienia Lista Szukaj Pomoc

Funkcjonować

Nazwy i taksonomia

Lokalizacja subkomórkowa

Choroba i warianty

PTM/Przetwarzanie

Wyrażenie

Interakcja

Struktura

Rodzina i domeny

Sekwencja

Podobne białka

Węjtce Przeglądarka wariantów **seq** Przeglądarka funkcji Współrzędne genomowe Publikacje Linki zewnętrzne Historia

Sekwencja

Stan sekwencji Kompletny

Przetwarzanie sekwencji Wyświetlana sekwencja jest dalej przetwarzana do dojrzałej formy

Zobacz też: sekwencja w UniProt lub klustry sekwencji w UniRef

Narzędzia Pobierz Dodaj Atakcja Kopia sekwencji

Długość: 556 Masa (Da): 63137

Ostatnio zaktualizowany: 29.02.2022, wersja 4 Suma kontrolna: 2267BF1453EA50EF

MELIGGLPR PPIILLALL TLLAAILL TQVALVQVA EAAAPSVSA KPGPALWLP LLVKITPKL HLAPEIFYIS HSPNISTAGPS CTLLLEAFRR YNGYIFGYE WHEPAEFQA KTQUCQLLS ITLQSECDQF

PHISSDESYT LLVKEPVAVL KAMRVGALK GLETFSQLVY QDSYGTFTIR ESTIISPRF SZRGILIDTY RHYLPWKIL KTLDAFAFK FNVLNHEVD DQSPFYQGIT FPELSMGGSY SLSHVYTPMD VGVVIEYARL

RGIRVLPEDF TPGHTLSNGK GQKDLLTFCY SRQMKLSFG PINPTLNTTY SFLTTFKEL SEVFPQDFIH LGODEVEFKC HESNPKIQDF WRQNGFQDF EKLESFYQK WLDZATYIK GSEVQGEVFD DNKLAPGTI

VEVAKDSAYR TELSVTASG FVVLGAPNY LDLSVSGDW RKYYKUTPD PGGTQKQQL FTSGEACLVG EYVDATNLP ALAPRASVG ERLKSKDVR DMDDVDRLT RWRDMVRG TAAQPLVAGV CHVTM

Mapowane obliczeniowo potencjalne sekwencje izoform

Do tego wpisu przypisano 5 potencjalnych izoform

Align Dodaj Pokaż wszystkie

Węjtce	Nazwa wpisu	Imię genu	Długość
☐ D6REQ8	D6REQ8_HUMAN	HEXB	35
☐ H0YAB3	H0YAB3_HUMAN	HEXB	170

Użyto macierzy PAM30,
ponieważ znajduje
spokrewnione białka w
określonym przedziale (30-80%)
najmniej spokrewnione białko
wynosi 60,9%



Podobne białka zgodność

Białka <80%

- A0A8C9A3S3
- A0A2K6FF79
- A0A671EX58
- A0A8B7A0T7
- H0WZK7
- A0A8B7R693
- A0A250YJK5
- A0A8C4MG72
- G3TL28
- A0A6J2KXI1

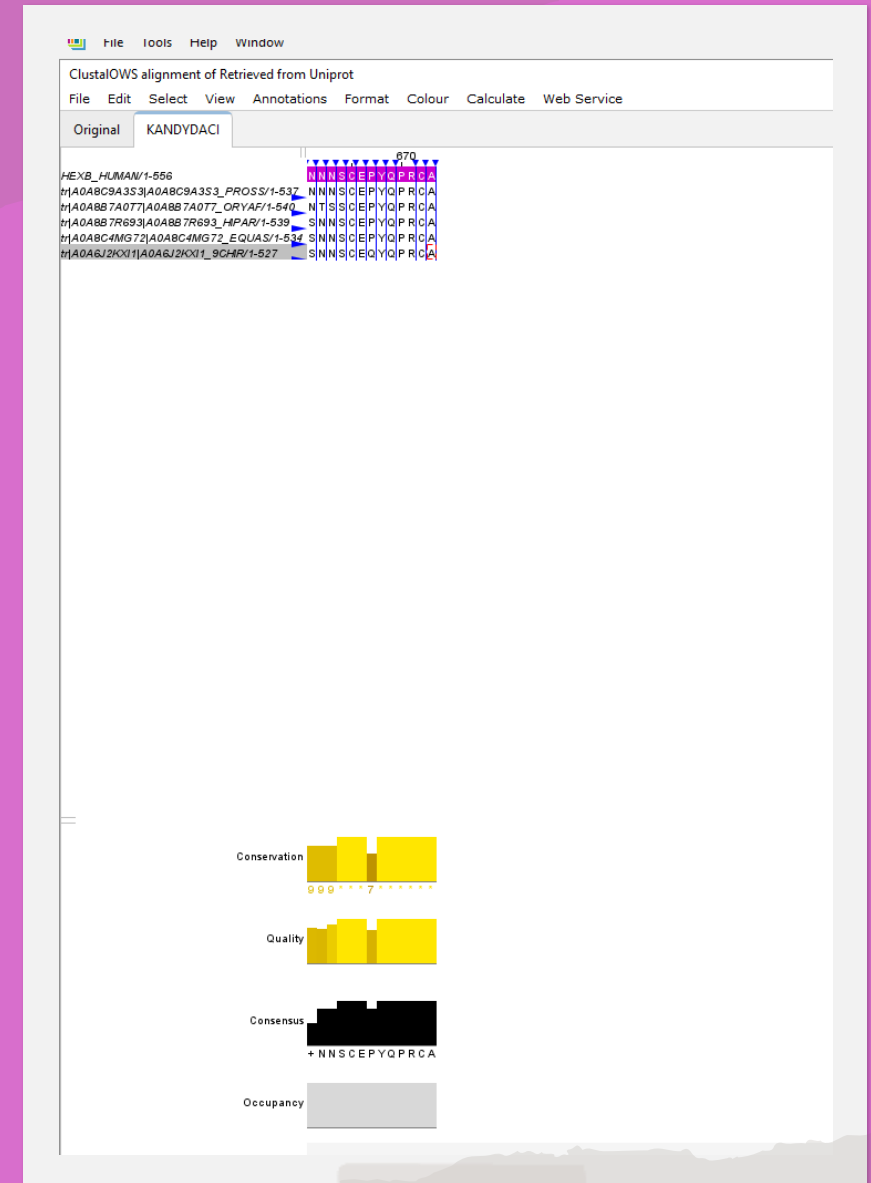
Białka<70%

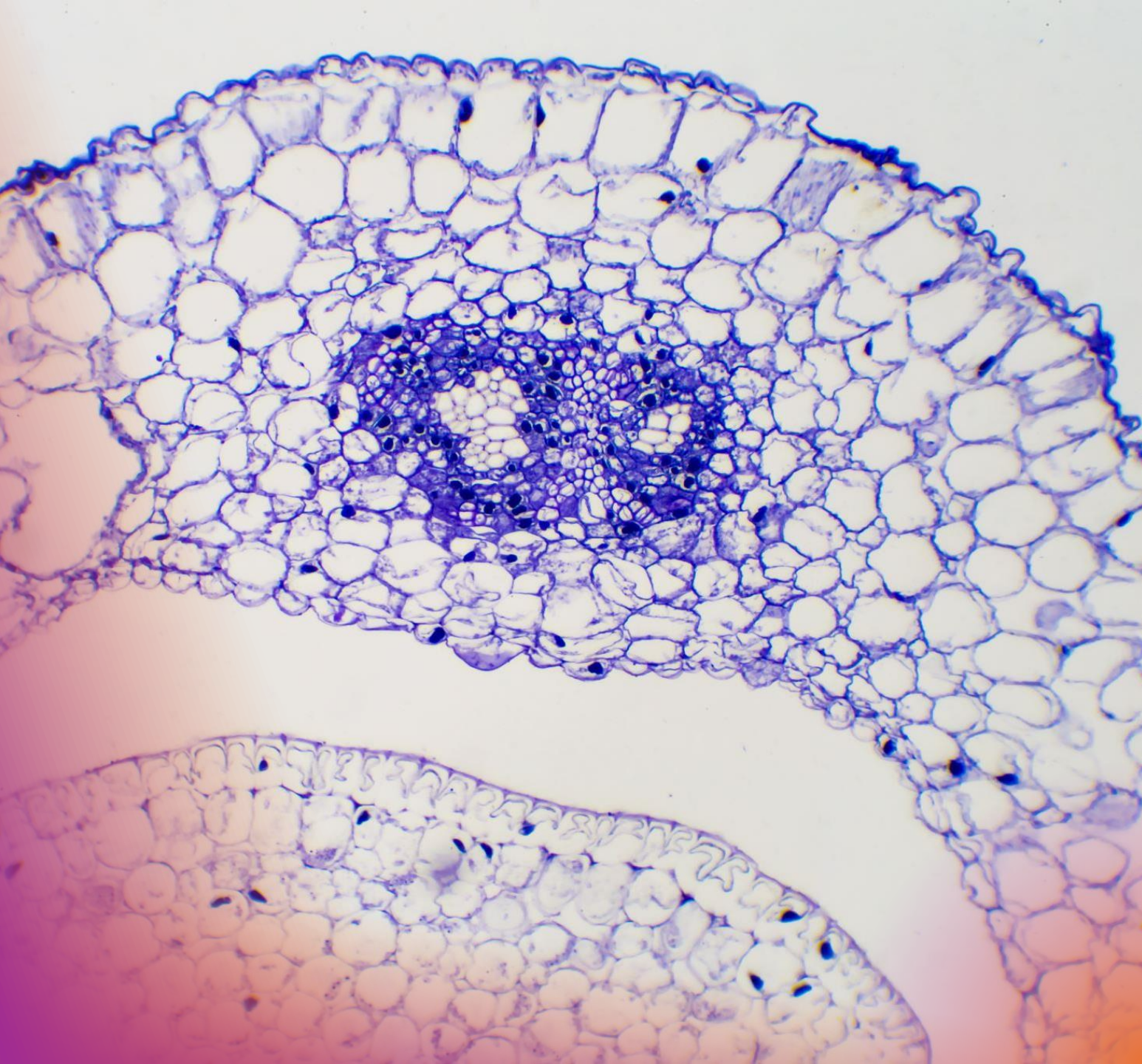
- A0A2U3X260
- A0A8U0N4T7
- A0A2Y9SCC4
- G1L108
- A0A2Y9JLC6
- A0A452FEW5
- W5P3C6
- A0A455BIW9
- A0A2Y9S952
- A0A2Y9S947

Białka <65%

- A0A452DWR2
- A0A286ZYC3
- A0A1S2ZFG4
- A0A6P5LBL7
- F6S6D6
- A0A8B9FYY9
- A0A7L0M739
- A0A2I0U9D6
- A0A8B9B828
- A0A670JSW9

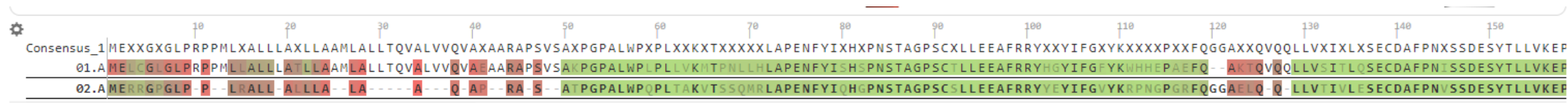
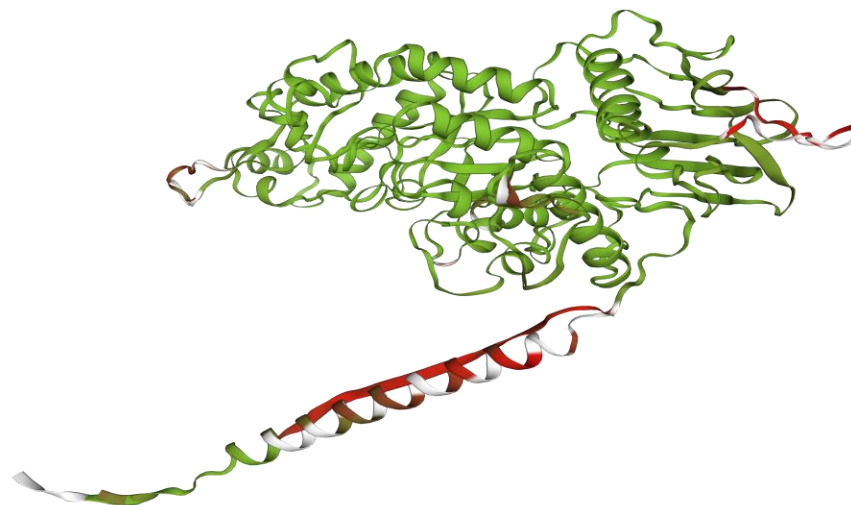
Wybrano 5 sekwencji :
1 najbardziej dopasowana
1 najmniej i 3 zapasowe



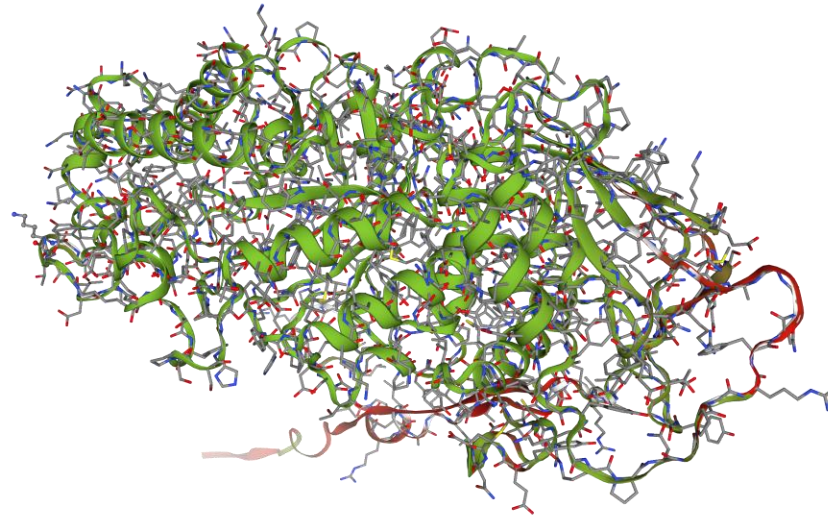


Nałożono na siebie struktury
białek za pomocą SWISS-
MODEL, czerwone
pasma reprezentują
sekwencje
niezgodne a szare sekwencje
które nie występują
w jednym z białek

Dopasowanie białka referencyjnego (P07686) i białka (A0A8C9A3S3)



Dopasowanie białka referencyjnego (P07686) i białka (A0A8B7A0T7)

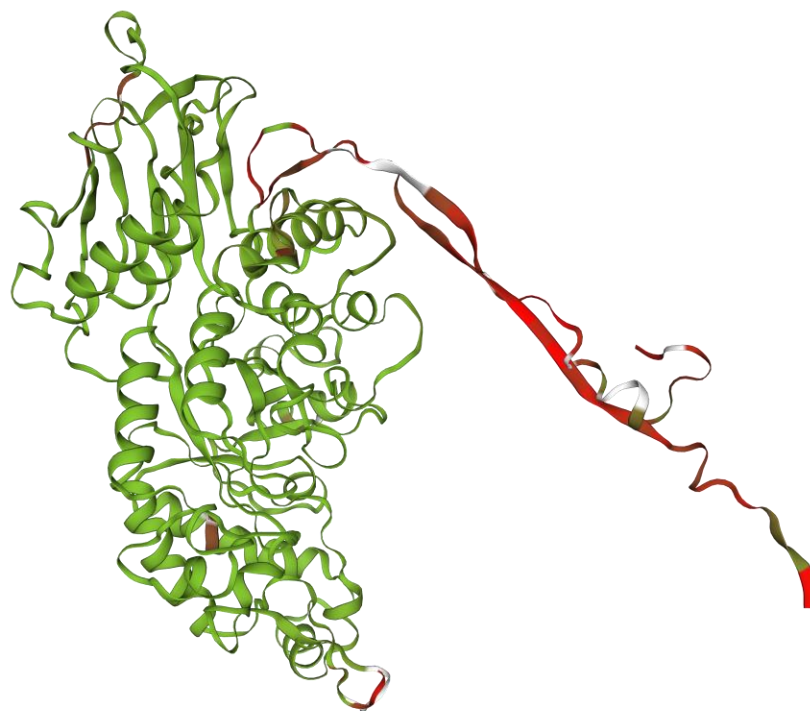


Dopasowanie białka referencyjnego (P07686) i białka (A0A8B7R693)



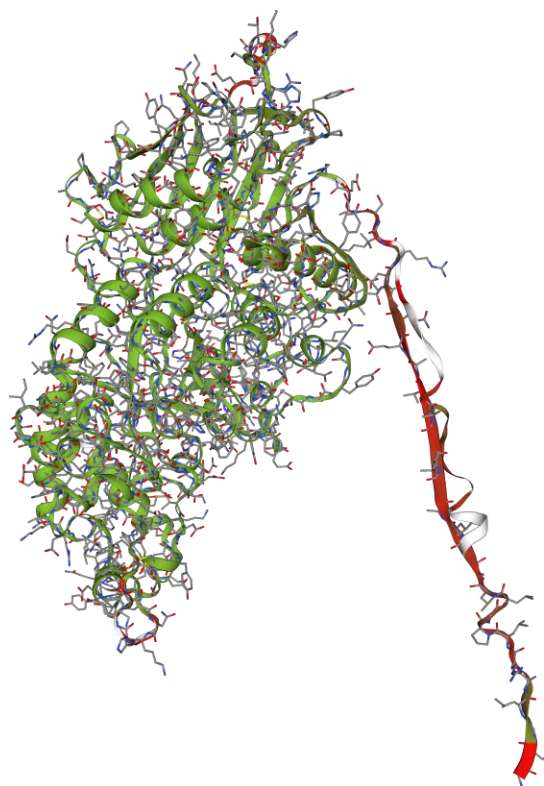
Consensus_1	XXXXXXQSPRXPXLXALRLTMLXXLLAXMLAALLGTQVAXVVQXXEAXRAPSVSAXXGXALWPXPLXAKVXXXXXXLXLLXXNFYXXHXPXSXAGPSCXXLXEAFRRYXXYIFGXKXXXXGXAXXHTEPXXXQGXXXXQVQQLLVXXXLXSECDXFPXX
01.A	GLGLA---RIPGLA-----L-LAA-LA-L---VAE---QGG---R---VSAERGLALWPPLS---VQIAPRLRLSPDNFYFGHDPSKAGPSCSLLEAFRRYVDYIFGFYKHHHGSAKSHTEP-E-----Q---LLVSIVLDSECDTFPN
04.A	MPHCPQSPRRPR--ALRLTMLPGLLAL--LAALLGTQ-A-----AC-AP---A---LWPLPLF---VQMTPRQLLSQQNFYIDHGPNSTAGPSCSILQEAFRRYYEYIFGFYKRHDGPARFHT-----GTEL-Q-Q---LLVTIVLDSECDAFPTI

Dopasowanie białka referencyjnego (P07686) i białka(A0A8C4MG72)

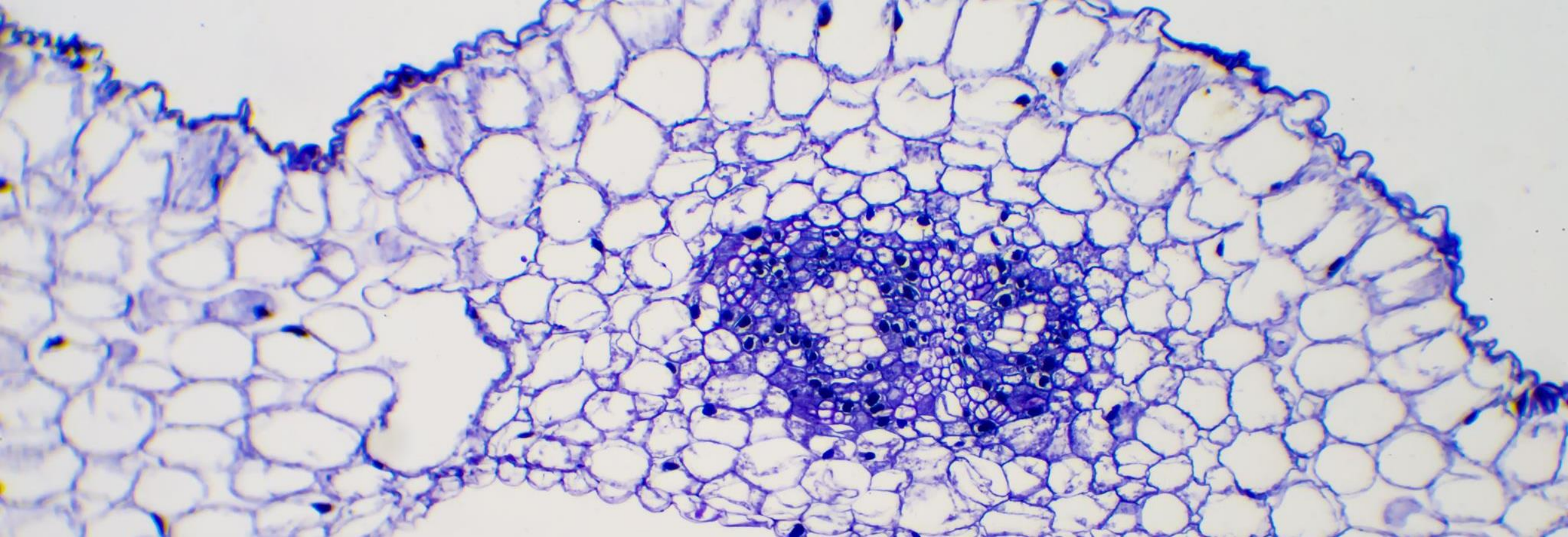


Consensus_1	XXXXXQSPRXXXLXALRLTMLXXLLAXMLAALLGTQVAXVVQXXEAXRSSAPSVSXXXGXALWPXPLXAKVXXXXXXLXLXXXNFXXXHXXSXAGPSCXXLXEAFRRYXXYIFGXYKXXGXHHXXPXXXQGXQVQQLLVXXXLXSXCXFP
01.A	GLGLA---RLPGLLA-----A-L-AA-LA-L---VAE---QGP---R-----VSAERGLALWPMPLS--VQIAPRLRLSPDNFYFGHDPSSKAGPSCSLLTEAFRRYDYIFGFYKWHHGS AKSHTEP-EL---K-Q---LLVSVVLDSECDTFP
05.A	---Q---RGLGL---RL--L--LLA--L-L-----A-V-QV---RSSA-S-SYV-G--LWPLPLS--VEMSPRLRLSPDNFYFGHDPSSKAGPSCSLLTEAFRRYDYIFGFYKWHHGS AKSHTEP-EL---K-Q---LLVSVVLDSECDTFP

Dopasowanie białka referencyjnego (P07686) i białka(A0A6J2KXI1)



Consensus_1	XXXXXQSPRXXLXALRGLTMLXXLLAXMLAALXXXQVPNAXVVQXXEAXRSSAXSVSXXXGXALWPXPLXAKVXXXXXXXXLXXXXNFXXXXXXSXAGPSCXXLXEAFRRYXXYIFGXXXXXXGXXXXHXXPXXXXXXXXXXQVQQLLVXXXXLSXCX
01.A	GLGLA---RLPGLLA-----A-L-AA-LA-L---V-AE-QGP---R-----VSAERGLALWPMPLS--VQIAPRLLRLSPDNFYFGHDPSSKAGPSCSLLTEAFRRYYDYIFGFYKWHHGSAKSHTEP-EL---K-Q---LLVSVDSECI
06.A	-----L---RGL--L-A-L-A-LA-LQSEQMPNAF-----A---AQ-----GPAIWPPLS--VQHTSRLLYLSPENFHTAHHPSSKAGPSCALLQEAFFRRYYDYIFGHHKIQ-----H-P-A-SHVKT-L-Q-Q-LLVLVLDSECI



Wygenerowano struktury drugorzędowe białek za pomocą programu PredictProtein i porównano ich sekwencje.

PREDICTPROTEIN

PO7686-23 czerwonych helis16 niebieskich harmonijek



A0A8B7A0T7- 23 czerwonych helis 9 niebieskich harmonijek



A0A8C4MG72- 31 czerwonych helis13 niebieskich harmonijek



A0A8C9A3S3- 22 czerwonych helis13 niebieskich harmonijek



A0A8B7R693- 24 czerwonych helis14 niebieskich harmonijek



A0A6J2KXI1-23 czerwonych helis15 niebieskich harmonijek



Po przeanalizowaniu powyższych
wyników można stwierdzić, iż
sekwencją najbardziej zgodną z
sekwencją białka referencyjnego
jest A0A6J2KXI1 natomiast sekwencją
najmniej zgodną z białkiem
referencyjnym jest A0A8C4MG72



bibliografia

- <https://www.gov.pl/web/zdrowie/choroby-rzadkie>
- https://en.wikipedia.org/wiki/Lysosomal_storage_disease
- <https://www.mp.pl/neurologia/choroby-rzadkie/choroba-pompego/leczenie/213205,enzymatyczna-terapia-zastepcza>
- <https://www.uniprot.org/>