

Received: 2005.07.05
Accepted: 2005.09.20
Published: 2005.10.17

Rodzina genów deaminazy AMP*

Family of AMP-deaminase genes

Magdalena Szydłowska

Katedra i Zakład Biochemii Akademii Medycznej w Gdańsku

Streszczenie

Deaminaza AMP (AMP-aminohydrolaza – EC3.5.4.6, AMPD) jest enzymem cytoplazmatycznym, katalizującym hydrolityczną reakcję deaminacji kwasu adenylowego (AMP) do kwasu inozynowego (IMP). Obecnie wiadomo, że deaminazę AMP u człowieka i szczura koduje rodzina trzech niezależnych genów, z których dwa wytwarzają przynajmniej trzy mRNA w procesie alternatywnego składowania jednego z pierwotnych transkryptów. Geny te odpowiadają za syntezę trzech izozymów: mięśniowego (A – u szczura, M – u człowieka), wątrobowego (B – u szczura, L – u człowieka) i erytrocytarnego (C – u szczura, E – u człowieka). Analiza struktury genów kodujących deaminazę AMP zdaje się wskazywać na to, że w trakcie filogenezy podlegały one zmianom ewolucyjnym, polegającym między innymi na fuzji genów pierwotnych. W pracy przedstawiono zebraną i dotychczas w Polsce niepublikowaną, szczegółową wiedzę na temat budowy genów kodujących izozymy deaminazy AMP oraz podstawowe informacje na temat następstw mutacji w tych genach.

Słowa kluczowe:

deaminaza AMP • izozymy • defekty molekularne

Summary

AMP-deaminase (AMP-aminohydrolase, EC 3.5.4.6), a highly regulated oligomeric enzyme catalyzing the irreversible deamination of adenylic acid (5'-AMP), is located at a branch point of adenylate nucleotide catabolism. It plays an important role in the stabilization of adenylate energy charge (AEC) and the regulation of the purine nucleotide pool in several types of animal tissue. Tissue- and stage-specific isoforms of AMP-deaminase were described in mammals. In humans, three isozymes of AMP-deaminase, i.e. M (muscle), L (liver), and E (erythrocyte), exhibiting different physical, catalytic, and regulatory properties, were identified. AMP-deaminase activity is encoded by a multigene family in which two genes produce at least three mRNAs through alternative splicing of one of the primary transcripts. In this study we present all found and so far unpublished detailed knowledge about AMP-deaminase gene structures. We also present basic information on the effects of these gene mutations.

Key words:

AMP-deaminase • isozymes • molecular defects

Full-text PDF: http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol_59/8276.pdf

Word count: 2587

Tables: –

Figures: 2

References: 54

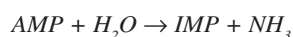
* Praca powstała dzięki wsparciu finansowemu Akademii Medycznej w Gdańsku w ramach grantu W-104.

Adres autorki: dr Magdalena Szydłowska, Katedra i Zakład Biochemii AM, Dębinki 1, 80-211 Gdańsk;
e-mail: mgazda@amg.gda.pl

Wykaz skrótów: **3'UTR** – rejon na końcu 3'mRNA niepodlegający translacji; **AMP** – adenozylo-5'-monofosforan; **AMPD** – deaminaza AMP; **AP2** – czynnik aktywujący 2; **ATP** – adenozylo-5'-trifosforan; **cAMP** – cykliczny 3', 5'-adenozylo-5'-trifosforan; **cdNA** – komplementarny DNA; **CTF** – czynnik transkrypcyjny wiążący sekwencję CCCAAT; **GTP** – guanozylo-5'-trifosforan; **HPRG** – glikoproteina bogata w histydynę i prolinę; **MEF-2** – czynnik jądrowy miocytów typu 2; **MyoD** – czynnik determinujący miogenezę; **NF-1** – jądrowy czynnik transkrypcyjny typu 1; **NOS** – syntaza tlenu azotu; **PuF** – czynnik transkrypcyjny wiążący puryny; **Sp1** – czynnik stymulujący 1

WPROWADZENIE

Deaminaza AMP (AMP-aminohydrolaza – EC3.5.4.6, AMPD) jest enzymem cytoplazmatycznym, katalizującym hydrolytyczną reakcję deaminacji kwasu adenylowego (AMP) do kwasu inozynowego (IMP):



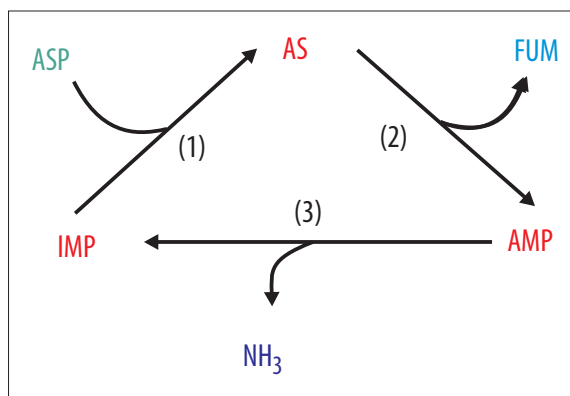
Deaminaza AMP występuje powszechnie w tkankach zwierzęcych [17], a także roślin [3] i grzybów [34]. W mięśni szkieletowych ssaków aktywność deaminazy AMP jest szczególnie duża i przekracza wielokrotnie aktywność znajdującą w pozostałych tkankach [24]. Deaminaza AMP, oprócz syntetazy adenylobursztynianowej oraz liazy adenylobursztynianowej, jest jednym z trzech enzymów cyklu nukleotydów purynowych (ryc. 1) mięśnia szkieletowego. Aktywność enzymów tego cyklu wykazano niemal we wszystkich tkankach ludzkich.

BUDOWA I WŁAŚCIWOŚCI ENZYMU

W roku 1987 wyznaczono po raz pierwszy sekwencję komplementarnego DNA (cdNA-2,5 kb) genu kodującego deaminazę AMP w mięśni szkieletowym szczura [43]. Niedługo potem podobną sekwencję wyznaczono dla genu kodującego AMPD w mięśni szkieletowym człowieka [44]. Obecnie wiadomo [44], że deaminazę AMP u człowieka i szczura koduje rodzina trzech niezależnych genów, które odpowiadają za syntezę trzech izozymów: mięśniowego (A – u szczura, M – u człowieka), wątrobowego (B – u szczura, L – u człowieka) i erytrocytarnego (C – u szczura, E – u człowieka). Analiza struktury genów kodujących deaminazę AMP zdaje się wskazywać na to, że w trakcie filogenezy podlegały one zmianom ewolucyjnym, polegającym między innymi na fuzji genów pierwotnych [33].

BUDOWA GENU *AMPD1*

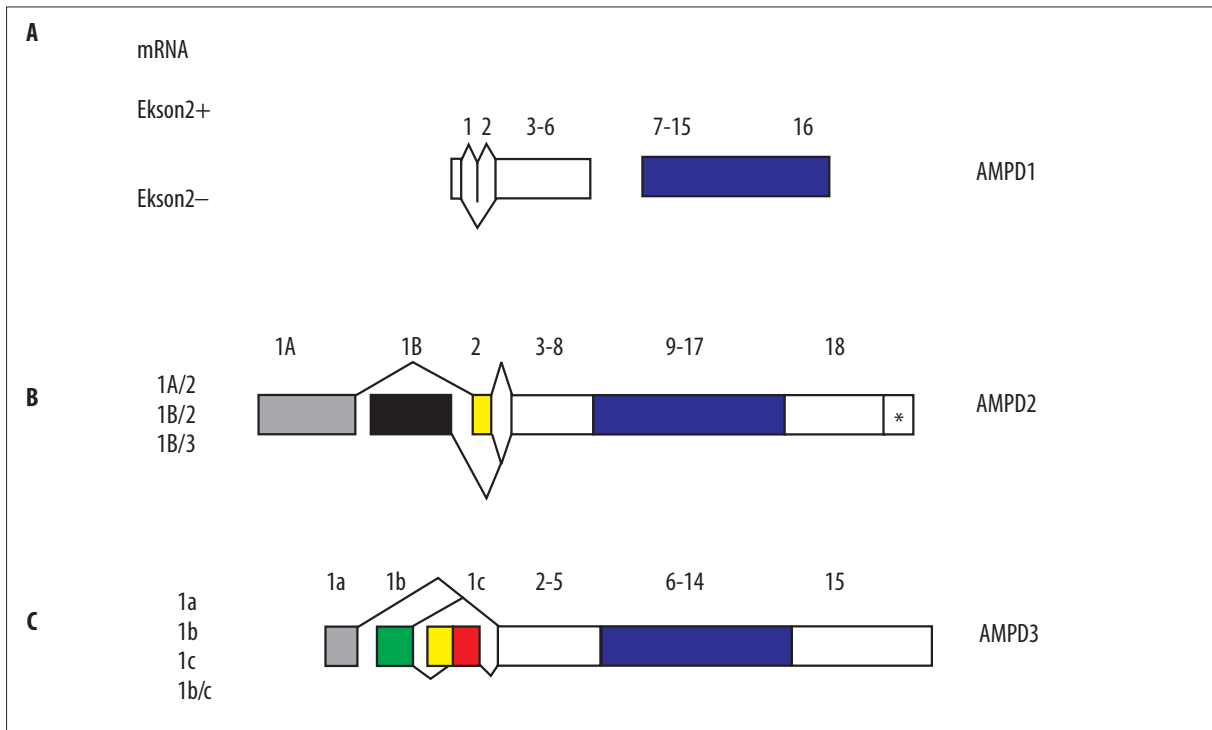
Izozym mięśniowy deaminazy AMP (*AMPD1*), jest kodowany przez gen *AMPD1*, zlokalizowany na ramieniu krótkim chromosomu 1 [44]. U człowieka i szczura ekspresja tego genu zachodzi niemal wyłącznie w mięśniach szkieletowych. U szczura niewielkie ilości transkryptu *ampd1* znaleziono także w płucach, jelicie i nerkach [1,33]. Wielkość oraz budowa genu *AMPD1* są podobne u szczura (21 kb) i u człowieka (23 kb) [22]. Ekspresja genu *AMPD1* jest regulowana na poziomie transkrypcji [33] oraz posttranskrypcyjnie [28,29,31] i zależy od rodzaju oraz stopnia dojrzałości tkanki. Na matrycy *AMPD1*, w wyniku alternatywnego składania, u człowieka i szczura powstają dwa transkryp-



Ryc. 1. Cykl nukleotydów purynowych; AS – adenylobursztynian; ASP – asparaginian; FUM – fumaran; (1) – syntetaza adenylobursztynianowa, (2) – liaza adenylobursztynianowa, (3) – deaminaza AMP

ty pochodne, różniące się obecnością lub brakiem liczącego 12 par zasad minieksonu 2 (ryc. 2a). Fragment genu, zawarty w minieksonie 2, koduje peptyd odpowiadający za allosteryczną odpowiedź enzymu na zmiany wewnątrzkomórkowych stężeń ATP. Jego usunięcie nie zmieniając aktywności katalitycznej enzymu, znosi allosteryczną regulację [7,28,30] oraz wpływa na posttranslacyjne modyfikacje enzymu [47] (w tym także na wiązanie się enzymu z ciężkim łańcuchem miozyny [12]). Za ekspresję ludzkiego genu *AMPD1* odpowiada (niezawierający sekwencji TATA) promotor, umiejscowiony w obrębie intronu pierwszego. W tkankowo swoistej regulacji ekspresji *AMPD1* bierze również udział, licząca około 200 par zasad sekwencja, umiejscowiona w pobliżu końca 5' genu. W rejonie tym znajduje się większość elementów regulatorowych kontrolujących ekspresję genu. Ten ewolucyjnie zachowany rejon *AMPD1* zawiera domeny, z których jedna (zlokalizowana w rejonach: -71/-74 – u szczura i -73/-80 – u człowieka) zawiera sekwencję podobną do CAAT, zaś druga (zlokalizowana w rejonie -30 u człowieka i u szczura) sekwencje ATAAT(C/A) (podobną do TATA) oraz GGGGGC (podobną do miejsc GC wiążących Sp1). Inicjacja transkrypcji genu *AMPD1* u człowieka i szczura rozpoczyna się w odległości 301 par zasad od końca 5' genu. Duże (64%) podobieństwo struktury szczurzego i ludzkiego genu *AMPD1* [44], w obszarach kodujących koniec karboksylowy genu jest jeszcze większe i przekracza 90%.

Badania promotora genu kodującego mięśniową AMPD dowiodły, że do prawidłowej ekspresji *AMPD1* jest konieczna obecność sekwencji umiejscowionych w rejonach -100/-79 oraz -60/-41 genu [32]. Pierwsza z nich zawiera



Ryc. 2a–c. Molekularna różnorodność rodziny genów kodujących deaminazę AMP. W wyniku alternatywnego składania końca 5' genów oraz zaprogramowanego włączania się różnych promotorów, każdy z rodziny genów wytwarza kilka transkryptów alternatywnych. Odcinki nukleotydowe oznaczające poszczególne eksony są oznaczone kolorami: granatowy oznacza eksony kodujące koniec karboksylowy AMPD; biały eksony kodujące koniec aminokwasowy AMPD lub eksony kodujące rejony C-końca, otoczone przez niepodlegający translacji region 3'. Eksony końca 5' podlegające alternatywnemu składaniu oznaczono pozostałymi kolorami. Cyfry oznaczają numery poszczególnych eksonów. Gwiazdką oznaczono końcowy fragment eksonu 18 *AMPD2* podlegający alternatywnemu składaniu (wg [42], zmodyfikowano)

rdzeń A/T, podobny do tego, znajdowanego w swoistym dla miocytu, wzmacniającym transkrypcję elemencie odpowiedzi na czynnik jądrowy (MEF-2) [5]. Druga natomiast przypomina sekwencję znajdującą w ludzkim i mysim genie sercowej α -aktyny, rozpoznawaną przez czynniki transkrypcyjne CTF/NF-1 oraz Sp1 [32]. Regulacja ekspresji *AMPD1* jest przedmiotem intensywnych badań, które po rozpoznaniu innych możliwych oddziaływań elementów promotora, pozwolą lepiej zrozumieć specyfikę tego procesu na różnych etapach dojrzewania komórki mięśniowej u kręgowców.

BUDOWA GENU *AMPD2*

U człowieka gen *AMPD2*, kodujący izozym wątrobowy deaminazy AMP (*AMPD2*), jest umiejscowiony w chromosomie 1 (p13.3), w sąsiedztwie genu *AMPD1* [20,44]. Jego ekspresja jest najsilniejsza w ludzkiej wątrobie i w mózgu [33], lecz zaobserwować można ją także w ludzkiej śledzionie [44], łożysku, płucach, nerce i w trzustce [1], a także w limfoblastach T oraz płytkach krwi [35]. Gen *AMPD2* liczy około 14 tysięcy par zasad i jest najmniejszym z genów kodujących deaminazę AMP [25]. cDNA ludzkiego genu *AMPD2* jest w 91% homologiczny z cDNA genu szczurzego, a w 67% homologiczny z cDNA ludzkiego genu *AMPD1* [1].

Gen *AMPD2* zawiera 18 eksonów o długości 69–1106 par zasad, z których dwa eksony alternatywne (1A i 1B), są usytuowane na końcu 5' genu. Ekson 18 jest największy

i zawiera koniec 3' otwartej ramki odczytu oraz region 3' UTR [48]. Relatywnie krótkie (od 86 do 6000 par zasad) introny, są wycinane w sposób mniej dokładny aniżeli można to zaobserwować w przypadku genów *AMPD1* i *AMPD3*. Nukleotydami znajduwanymi w miejscach połączenia intronów z eksonami są przeważnie pary GT lub AG [48].

Na matrycy genu *AMPD2* powstają u człowieka trzy, podobnej wielkości transkrypty (1A-2, 1B-2, 1B-3), różniące się między sobą obecnością lub brakiem eksonów 1A, 1B oraz 2 [48] (ryc. 2b). Za ekspresję ludzkiego genu *AMPD2* odpowiadają dwa promotory tandemowe, umiejscowione w obrębie eksonów 1A i 1B, niezawierające sekwencji TATA oraz CAAT. Aktywność promotora znajdującego się w eksonie 1B jest największa w mózgu, a aktywność promotora znajdującego się w eksonie 1A jest największa w wątrobie. Cechą strukturalną, charakterystyczną genu *AMPD2* jest przestrzenna bliskość jego dwóch promotorów. Koniec 3' eksonu 1A oraz miejsce inicjacji transkrypcji w eksonie 1B, umiejscowione na końcu 5' oddziela jedynie około 300 par zasad [48]. Dane doświadczalne sugerują, że takie usytuowanie promotorów tandemowych pozwala na łatwiejszą kontrolę ekspresji *AMPD2* w warunkach *in vivo*. W komórkach mających geny o podobnej strukturze (np. gen ludzkiej neuronalnej *NOS*), obserwuje się zwykle jednoczesną ekspresję kilku alternatywnych transkryptów [48]. Analizując sekwencje promotorów genu *AMPD2* wykryto w ich obrębie miejsca o dużej liczbie par GC (ekson 1A – 86%, ekson 1B – 68%). Taki wygląd promotora jest

typowy dla wielu promotorów konstytutywnych i przypomina w tym względzie rejon regulatorowy (wariantu 1a) genu *AMPD3* [20]. Usunięcie z genu *AMPD2* rejonu -245/-202 obniża aktywność promotora o około 50%. Rejon ten zawiera sekwencję palindromiczną (GGGTGGG), będącą miejscem wiązania czynnika transkrypcyjnego PuF w promotorze ludzkiego genu *c-myc*. Udział czynnika PuF sugerowano również w regulacji ekspresji genu kodującego wątrobową deaminazę AMP u człowieka [25].

BUDOWA GENU *AMPD3*

U człowieka, izozym erytrocytarny deaminazy AMP jest kodowany przez gen *AMPD3*, umiejscowiony w chromosomie 11p13. Poza krwinkami, ekspresja genu *AMPD3* zachodzi również w ludzkim sercu, nerce oraz śledzionie [44], jednakże największa jest obserwowana w mięśniach szkieletowych [21]. Opublikowane wyniki badań pozwalają stwierdzić, że ekspresja genu *AMPD3* u człowieka może być regulowana na poziomie transkrypcji, translacji, a także posttranskrypcyjnie. Na matrycy *AMPD3*, w wyniku alternatywnego składowania eksonów powstają u człowieka cztery transkrypty wtórne, różniące się między sobą długością eksonu pierwszego [22] (ryc. 2c). Dotąd zidentyfikowano następujące alternatywne transkrypty (warianty) genu *AMPD3*: wariant 1a o długości 3915 par zasad, wariant 1b o długości 3879 par zasad, wariant 1b-1c o długości 4076 par zasad oraz wariant 1c o długości 4018 par zasad. Wszystkie z wymienionych transkryptów mają wspólną ramkę odczytu o długości 2301 par zasad oraz rejon 3' UTR o długości 1245 par zasad [22]. Wzajemne proporcje alternatywnych transkryptów przedstawiają się odmiennie w rozmaitych komórkach i tkankach ludzkich. Najwięcej wariantu 1b transkryptu stwierdza się w mięśniu szkieletowym. Poza nim w tkance tej obecne są również niewielkie ilości wariantów 1b-1c oraz 1c. Za ekspresję ludzkiego genu *AMPD3* odpowiada zespół trzech, umiejscowionych w różnych rejonach genu (zależnie od wariantu transkryptu) promotorów tandemowych. W tkankach ludzkich inicjacja transkrypcji zachodzi na końcu 5' jednego z możliwych wariantów (1a, 1b i 1c) eksonu 1 [20].

Ekson 1a nie zawiera sekwencji TATA i CAAT, transkrypcja rozpoczyna się w wielu miejscach jednocześnie na przestrzeni 24 par zasad, a aktywność promotorowa jest obserwowana w rejonie -2800/+36 [20]. Swoistą tkankowo regulację genu *AMPD3*, w wyniku której powstaje wariant 1a transkryptu, determinuje licząca około 150 par zasad sekwencja, położona przy końcu 5' genu. W rejonie tym jest umiejscowiona także większość elementów regulatorowych modulujących ekspresję genu *AMPD3*. Analizując sekwencję promotora 1a *AMPD3* odkryto w nim miejsca zawierające dużą liczbę par zasad GC. Miejsca te, zwane GC-box, są rozpoznawane przez szeroko rozpowszechnione czynniki transkrypcyjne z rodziny Sp, biorące udział w regulacji transkrypcji innych genów, np. syntazy kwasów tłuszczowych czy cyklin D1 i A1 [13]. W rejonie promotora genu *AMPD3* zidentyfikowano także sekwencję E-box, rozpoznawaną przez białka mające domenę: helisa – pętla – helisa (bHLH) [6,37], a także sekwencję wiążącą czynnik AP-2. Promotor 1a należy do promotorów konstytutywnych [20]. Geny *AMPD3* ludzki i szczurzy wykazują niemal 90% homologię, co sugeruje podobny

mechanizm regulacji ich ekspresji. Podobieństwo sekwencji aminokwasowych izozymu erytrocytarnego deaminazy AMP ludzkiego i szczurzego jest jeszcze większe i wynosi prawie 93% [19].

Ekson 1b, o długości 66 par zasad, jest umiejscowiony blisko 4000 par zasad powyżej eksonu 1a i podobnie jak tamten nie ma powyżej miejsca inicjacji transkrypcji sekwencji TATA oraz CAAT. W rejonie sąsiadującym z miejscem inicjacji transkrypcji jest umiejscowiona większość elementów regulatorowych determinująca syntezę wariantu transkryptu 1b. Aktywność promotorową genu obserwuje się w rejonie -3500/+311. Promotor 1b nie jest swoisty dla jednego rodzaju komórek i jego regulacja jest uzależniona od rodzaju tkanki. Analizując sekwencję promotora 1b genu *AMPD3*, odkryto w nim miejsca rozpoznawane przez białka wiążące się z DNA np. sekwencję E-box (rozpoznawaną przez swoistą dla mięśnia szkieletowego rodzinę białek MyoD), a także sekwencję wiążącą czynnik AP-1 [20].

Podobnie jak dwa poprzednie, również ekson 1c wykazuje aktywność promotorową. Aktywność ta jest umiejscowiona 600 par zasad od końca 5' tego eksonu. Ekson 1c zawiera wiele miejsc regulatorowych, takich jak np. sekwencje GAGGCTGGG i CCAAT, wiążące czynniki transkrypcyjne Sp1 i CTF, czy też sekwencję TATA (ATAAAAT). Co ciekawe, żadnej z wymienionych wyżej sekwencji nie znaleziono w eksonach 1a i 1b. Można to wytłumaczyć tym, że inicjacja transkrypcji z udziałem promotora 1c jest szczególnie precyzyjna [20]. Unikatową cechą eksonu 1c jest także to, że nukleotydy +271 i +272 są wykorzystywane jako naturalne, wewnętrzne miejsca łączenia produktów alternatywnego składowania.

STRUKTURA IZOFORM DEAMINAZY AMP

Obecnie wiadomo, że wszystkie izoformy deaminazy AMP, znajdujące w tkankach zwierzęcych i ludzkich, mają strukturę podobną i są zbudowane z czterech, identycznych (np. mięsień szczura: 4×72 kDa) lub prawie identycznych (np. mięsień królika: 2×79 i 2×73 kDa) łańcuchów polipeptydowych [44], zawierających domenę katalityczną usytuowaną na końcu karboksylowym. Domena ta stanowi najbardziej zachowany ewolucyjnie fragment enzymu [27,44]. Na końcu aminowym łańcuchów polipeptydowych deaminazy AMP jest umiejscowiona domena regulatorowa determinująca właściwości regulacyjne enzymu [21]. Delecja fragmentu białka zawierającego tę domenę nie wpływa znacząco na aktywność enzymu [8], lecz powoduje utratę jego wrażliwości na oddziaływanie rozmaitych efektorów, m.in. ATP [26] i bisfosforanu 4,5 fosfatydilinozytolu [45]. Fragment N-końcowy peptydu uczestniczy również w interakcjach typu białko-białko (np. deaminaza AMP – miozyna) [23,24], spełniając przez to ważną rolę w wewnątrzkomórkowej lokalizacji enzymu. Wiele różnych zespołów naukowych na świecie zajmuje się badaniami nad wciąż nie do końca poznaną strukturą poszczególnych izozymów deaminazy AMP, a ostatnie prace doświadczalne dotyczą enzymu wyizolowanego z ludzkiej wątroby [46].

Deaminaza AMP z mięśnia szkieletowego człowieka ma masę cząsteczkową (potwierdzoną doświadczalnie) 4×72 kDa, zaś podjednostkowa masa molekularna wyliczona



na podstawie sekwencji nukleotydowej jest nieznacznie większa i wynosi 86 kDa [42]. W badaniach nad deaminazą AMP z mięśnia szkieletowego królika [36] i człowieka [40] wykazano, że jedna z podjednostek enzymu jest białkiem o sekwencji aminokwasowej podobnej do glikoproteiny osocza bogatej w histydyne i prolinę (HPRG) o masie 70 kDa. Podobieństwo sekwencji aminokwasowych izoform mięśniowej i wątrobowej deaminazy AMP u człowieka wynosi 62% i dotyczy w głównej mierze fragmentów peptydowych, zawierających aminokwasy 232–736 (w przypadku AMPD1), oraz 228–732 (w przypadku AMPD2). Fragmenty te zawierają ewolucyjnie zachowane motywy SLSTDDP [4].

Aktywne izoformy wątrobowe AMPD, w postaci białek: 1A/2, 1B/2 i 1B/3 o podobnym składzie aminokwasowym końca karboksylowego, a różniące się wydłużeniem końca aminowego (odpowiednio o 47, 128 i 53 aminokwasy), są znajdowane w różnych tkankach zwierzęcych. Koniec karboksylowy tych białek zawiera motyw SLSTDDP, stanowiący katalityczne centrum enzymu oraz motyw EPLMEEY, będący miejscem wiązania jednego z jego efektorów allosterycznych (ATP) [4,8]. Każde ze wspomnianych białek jest tetramerem zbudowanym z podjednostek o masie cząsteczkowej wynoszącej odpowiednio 4×92, 4×101 lub 4×93 kDa [1]. Ostatnie badania sugerują, że różnorodność N-końcowych fragmentów izoform deaminazy AMP (1A/2, 1B/2 i 1B/3) determinuje ich swoistość tkankową [10]. Komputerowa analiza wydłużenia końca aminowego kodowanego przez ekson 1B-2, wykazała w nim obecność wielu miejsc możliwych modyfikacji postranslacyjnych. Dotąd zidentyfikowano trzy miejsca możliwej fosforylacji (dwa dla białkowej kinazy C i jedno dla kinazy białkowej zależnej od cAMP), jedno miejsce możliwej glikozylacji (przyłączenia reszty glikozaminoglikanu) [47] oraz jedno miejsce wiązania kompleksu wapń/kalmodulina [18]. Modyfikacje postranslacyjne dotyczyć mogą również izoform kodowanych przez dwa pozostałe transkrypty wtórne.

Obydwie znajdowane w komórkach krwi ludzkiej postaci molekularne (E1 i E2) izozymu erytrocytarnego są postranskrypcyjnie zmodyfikowanymi produktami jednego genu [14]. Podjednostkowa masa molekularna izoformy erytrocytarnej wyliczona na podstawie sekwencji nukleotydowej genu kodującego wynosi 89 kDa, a wyznaczona doświadczalnie około 80 kDa [42]. Złożoność budowy genu *AMPD3* (końca 5') nie wpływa znacząco na pierwszorzędową strukturę zsyntetyzowanego izozymu. Jak dotąd wiadomo, że tylko eksony 1a i 1c są nośnikami informacji genetycznej, tym samym translacja zapoczątkowana przez kodon inicjujący w eksonie 1a lub 1c, powoduje przyłączenie do (liczącego 767 aminokwasów) aminowego końca polipeptydu dodatkowych 7–9 aminokwasów [22]. W przypadku, gdy translacja zapoczątkowana jest w eksonie 1b, sekwencja na końcu 5' jej nie podlega. Niedawno wykazano chromatograficzne, kinetyczne i immunologiczne podobieństwo ludzkiej i szczurzej *AMPD3* [19].

DEFEKTY MOLEKULARNE DEAMINAZY AMP

Pierwsze przypadki niedoboru mięśniowej deaminazy AMP u człowieka opisano w roku 1978. Enzymopatia, będąca następstwem takiego niedoboru, występować może w dwojakiej postaci: pierwotnej (wrodzonej) i wtórnej (nabytej) [14]. Wrodzony niedobór mięśniowej deaminazy AMP charakteryzuje się autosomalnym typem dziedziczenia i dotyczy wyłącznie mięśnia szkieletowego. Jest on uwarunkowany defektem genetycznym [31], powodującym w mięśniu szkieletowym homozygot całkowitą niemal utratę aktywności enzymatycznej. U osób z niedoborem AMPD wykazano obecność mutacji punktowych w obrębie eksonów 2 (C34T) i 3 (C143T) [9,38,39,41]. Postaci wtórne enzymopatii wynikają z uszkodzeń tkanki mięśniowej, towarzyszących nieswoistym schorzeniom układu nerwowo-mięśniowego. Niedobór mięśniowej deaminazy AMP ujawnia się najczęściej we wczesnym wieku młodzieńczym, a osoby nim dotknięte uskarżają się często na łatwą męczliwość oraz powysiłkowe bóle i skurcze mięśni [14,15]. W roku 2003 wykazano, że mutacja C34T genu *AMPD1* powoduje również spadek aktywności deaminazy AMP w mięśniu sercowym [16].

Wrodzony niedobór erytrocytarnej deaminazy AMP, który wykryto po raz pierwszy w populacji japońskiej w roku 1984, występuje również w populacji europejskiej [14]. Enzymopatia jest dziedziczona w sposób autosomalny, recesywny, a przebiegając całkowicie bezobjawowo (także w przypadku homozygot) charakteryzuje się podwyższonym (nawet do 50%) stężeniem ATP w komórkach dotkniętych defektem. Przyczyną defektu jest pojedyncza mutacja punktowa (C1717T), powodująca podstawienie argininy przez cysteinę, prowadząca do syntezy stabilnego, lecz pozbawionego aktywności enzymatycznej białka [50,52]. Ostatnie badania wykazały, że inaktywacja izozymu erytrocytarnego może być także następstwem innych mutacji w genie *AMPD3* [51,53,54].

W roku 1979 zasugerowano, że zwiększone wytwarzanie kwasu moczowego obserwowane u pacjentów z rodzinną hiperurikemią może wynikać z mutacji genu, kodującego izozym wątrobowy deaminazy AMP [11]. Mutacja taka, powodując delecję sekwencji regulatorowych (wzmacniających transkrypcję), mogłaby zmniejszać wrażliwość deaminazy AMP na działanie jej fizjologicznych inhibitorów (ortofosforanu i GTP) [49]. Dowodów doświadczalnych potwierdzających taką hipotezę jednak dotąd nieopublikowano. Jedynie u około 10% pacjentów z hiperurikemią, zwiększone stężenie kwasu moczowego w surowicy jest następstwem enzymopatii, związanej z metabolizmem puryn. W zdecydowanej większości przypadków pierwotną przyczyną hiperurikemii są zaburzenia funkcji kanalików nerkowych [2].

Podsumowując, występowanie wielu wariantów genów AMPD oraz mutacji w tych genach jest związane z przebiegiem ludzkich enzymopatii. O ile bardzo ważny jest wpływ zmutowanych alleli na zaburzenia metabolizmu puryn, o tyle wciąż nie jest wyjaśniona rola występowania tak wielu wariantów genetycznych genów kodujących deaminazę AMP.

- [1] Bausch-Jurken M.T., Mahnke-Zizelman D.K., Morisaki T., Sabina R.L.: Molecular cloning of AMP deaminase isoform L. Sequence and bacterial expression of human *AMPD2* cDNA. *J. Biol. Chem.*, 1992; 267: 22407–22413
- [2] Becker M.A., Roessler B.J.: Hyperuricemia and Gout. W: The metabolic and molecular bases of inherited disease. Red.: Scriver Ch.R., Beaudet A.L., Sly W.S., Valle D. International Edition, 1995; 1655–1673
- [3] Chae S.C., Fuller D., Loomis W.F.: Altered cell-type proportioning in Dictyostelium lacking adenosine monophosphate deaminase. *Dev. Biol.*, 2002; 241: 183–194
- [4] Chang Z.Y., Nygaard P., Chinault A.C., Kellems R.E.: Deduced amino acid sequence of Escherichia coli adenosine deaminase reveals evolutionarily conserved amino acid residues: implications for catalytic function. *Biochemistry*, 1991; 30: 2273–2280
- [5] Cserjesi P., Olson E.N.: Myogenin induces the myocyte-specific enhancer binding factor MEF-2 independently of other muscle-specific gene products. *Mol. Cell. Biol.*, 1991; 11: 4854–4862
- [6] Desprez P.Y., Sumida T., Coppe J.P.: Helix-loop-helix proteins in mammary gland development and breast cancer. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia*, 2003; 8: 225–239
- [7] Genetta T., Morisaki H., Morisaki T., Holmes E.W.: A novel bipartite intronic splicing enhancer promotes the inclusion of a mini-exon in the AMP deaminase 1 gene. *J. Biol. Chem.*, 2001; 276: 25589–25597
- [8] Gross M., Morisaki H., Morisaki T., Holmes E.W.: Identification of functional domains in AMPD1 by mutational analysis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1994; 205: 1010–1017
- [9] Gross M., Rotzer E., Kolle P., Mortier W., Reichmann H., Goebel H.H., Lochmuller H., Pongratz D., Mahnke-Zizelman D.K., Sabina R.L.: A G468-T AMPD1 mutant allele contributes to the high incidence of myoadenylate deaminase deficiency in the Caucasian population. *Neuromuscul. Disord.*; 2002; 12: 558–565
- [10] Haas A.L., Sabina R.L.: N-terminal extensions of the human *AMPD2* polypeptide influence ATP regulation of isoform L. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2003; 305: 421–427
- [11] Hers H.G., Van den Bergh G.: Enzyme defect in primary gout. *Lancet*. 1979; 1: 585–586
- [12] Hisatome I., Morisaki T., Kamma H., Sugama T., Morisaki H., Ohtahara A., Holmes E.W.: Control of AMP deaminase 1 binding to myosin heavy chain. *Am. J. Physiol.*, 1998; 275: C870–C881
- [13] Kaczynski J., Cook T., Urrutia R.: Sp1- and Kruppel-like transcription factors. *Genome Biol.*, 2003; 4: 206
- [14] Kaletha K., Gross M.: Wrodzony niedobór deaminazy AMP – podłoże molekularne. *Post. Biochem.*, 1995; 41: 183–187
- [15] Kaletha K., Nowak G., Adrych K., Makarewicz W.: Niedobór mięsnej AMP-deaminazy. *Post. Biochem.*, 1991; 37: 58–62
- [16] Kalsi K.K., Yuen A.H., Rybakowska I.M., Johnson P.H., Slominska E., Birks E.J., Kaletha K., Yacoub M.H., Smolenski R.T.: Decreased cardiac activity of AMP deaminase in subjects with the AMPD1 mutation-A potential mechanism of protection in heart failure. *Cardiovasc. Res.*, 2003; 59: 678–684
- [17] Lazou A.: Adenylate metabolizing enzymes in invertebrate tissues. *Comp. Biochem. Physiol. B*, 1989; 92: 175–180
- [18] Mahnke D.K., Sabina R.L.: Calcium activates erythrocyte AMP deaminase [isoform E (*AMPD3*)] through a protein-protein interaction between calmodulin and the N-terminal domain of the *AMPD3* polypeptide. *Biochemistry*, 2005; 44: 5551–5559
- [19] Mahnke-Zizelman D.K., D'cunha J., Wojnar J.M., Brogley M.A., Sabina R.L.: Regulation of rat AMP deaminase 3 (isoform C) by development and skeletal muscle fibre type. *Biochem. J.*, 1997; 326: 521–529
- [20] Mahnke-Zizelman D.K., Eddy R., Shows T.B., Sabina R.L.: Characterization of the human *AMPD3* gene reveals that 5' exon usage is subject to transcriptional control by three tandem promoters and alternative splicing. *Biochim. Biophys. Acta*, 1996; 1306: 75–92
- [21] Mahnke-Zizelman D.K., Sabina R.L.: N-terminal sequence and distal histidine residues are responsible for pH-regulated cytoplasmic membrane binding of human AMP deaminase isoform E. *J. Biol. Chem.*, 2002; 277: 42654–42662
- [22] Mahnke-Zizelman D.K., Sabina R.L.: Cloning of human AMP deaminase isoform E cDNAs. Evidence for a third AMPD gene exhibiting alternatively spliced 5'-exons. *J. Biol. Chem.*, 1992; 267: 20866–20877
- [23] Mahnke-Zizelman D.K., Sabina R.L.: Localization of N-terminal sequences in human AMP deaminase isoforms that influence contractile protein binding. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2001; 285: 489–495
- [24] Mahnke-Zizelman D.K., Tullson P.C., Sabina R.L.: Novel aspects of tetramer assembly and N-terminal domain structure and function are revealed by recombinant expression of human AMP deaminase isoforms. *J. Biol. Chem.*, 1998; 273: 35118–35125
- [25] Mahnke-Zizelman D.K., Van den Bergh F., Bausch-Jurken M.T., Eddy R., Sait S., Shows T.B., Sabina R.L.: Cloning, sequence and characterization of the human *AMPD2* gene: evidence for transcriptional regulation by two closely spaced promoters. *Biochim. Biophys. Acta*, 1996; 1308: 122–132
- [26] Martini D., Montali U., Ranieri-Raggi M., Sabbatini A.R., Thorpe S.J., Moir A.J., Raggi A.: A calpain-like proteolytic activity produces the limited cleavage at the N-terminal regulatory domain of rabbit skeletal muscle AMP deaminase: evidence of a protective molecular mechanism. *Biochim. Biophys. Acta*, 2004; 1702: 191–198
- [27] Merkle D.J., Schramm V.L.: Catalytic and regulatory site composition of yeast AMP deaminase by comparative binding and rate studies. Resolution of the cooperative mechanism. *J. Biol. Chem.*, 1990; 265: 4420–4426
- [28] Mineo I., Clarke P.R., Sabina R.L., Holmes E.W.: A novel pathway for alternative splicing: identification of an RNA intermediate that generates an alternative 5' splice donor site not present in the primary transcript of *AMPD1*. *Mol. Cell. Biol.*, 1990; 10: 5271–5278
- [29] Mineo I., Holmes E.W.: Exon recognition and nucleocytoplasmic partitioning determine *AMPD1* alternative transcript production. *Mol. Cell. Biol.*, 1991; 11: 5356–5363
- [30] Morisaki H., Morisaki T., Kariko K., Genetta T., Holmes E.W.: Positive and negative elements mediate control of alternative splicing in the AMPD1 gene. *Gene*, 2000; 246: 365–372
- [31] Morisaki T., Gross M., Morisaki H., Pongratz D., Zollner N., Holmes E.W.: Molecular basis of AMP deaminase deficiency in skeletal muscle. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1992; 89: 6457–6461
- [32] Morisaki T., Holmes E.W.: Functionally distinct elements are required for expression of the *AMPD1* gene in myocytes. *Mol. Cell. Biol.*, 1993; 13: 5854–5860
- [33] Morisaki T., Sabina R.L., Holmes E.W.: Adenylate deaminase. A multigene family in humans and rats. *J. Biol. Chem.*, 1990; 265: 11482–11486
- [34] Murakami K., Onoda Y., Kimura J., Yoshino M.: Protection by histidine against oxidative inactivation of AMP deaminase in yeast. *Biochem. Mol. Biol. Int.*, 1997; 42: 1063–1069
- [35] Ogasawara N., Goto H., Yamada Y., Watanabe T.: Distribution of AMP deaminase isozymes in various human blood cells. *Int. J. Biochem.*, 1984; 16: 269–273
- [36] Ranieri-Raggi M., Montali U., Ronca F., Sabbatini A., Brown P.E., Moir A.J., Raggi A.: Association of purified skeletal-muscle AMP deaminase with a histidine-proline-rich-glycoprotein-like molecule. *Biochem. J.*, 1997; 326: 641–648
- [37] Robinson K.A., Lopes J.M.: Survey and summary: Saccharomyces cerevisiae basic helix-loop-helix proteins regulate diverse biological processes. *Nucleic Acids Res.*, 2000; 28: 1499–1505
- [38] Rubio J.C., Martin M.A., Del Hoyo P., Bautista J., Campos Y., Segura D., Navarro C., Ricoy J.R., Cabello A., Arenas J.: Molecular analysis of Spanish patients with AMP deaminase deficiency. *Muscle Nerve*, 2000; 23: 1175–1178
- [39] Rubio J.C., Martin M.A., Rabadan M., Gomez-Gallego F., San Juan A.F., Alonso J.M., Chicharro J.L., Perez M., Arenas J., Lucia A.: Frequency of the C34T mutation of the *AMPD1* gene in world-class endurance athletes: does this mutation impair performance? *J. Appl. Physiol.*, 2005; 98: 2108–2112
- [40] Sabbatini A.R., Ranieri-Raggi M., Pollina L., Viacava P., Ashby J.R., Moir A.J., Raggi A.: Presence in human skeletal muscle of an AMP deaminase-associated protein that reacts with an antibody to human plasma histidine-proline-rich glycoprotein. *J. Histochem. Cytochem.*, 1999; 47: 255–260
- [41] Sabina R.L., Fishbein W.N., Pezeshkpour G., Clarke P.R., Holmes E.W.: Molecular analysis of the myoadenylate deaminase deficiencies. *Neurology*, 1992; 42: 170–179
- [42] Sabina R.L., Mahnke-Zizelman D.K.: Towards an understanding of the functional significance of N-terminal domain divergence in human AMP deaminase isoforms. *Pharmacol. Ther.*, 2000; 87: 279–283



- [43] Sabina R.L., Marquetant R., Desai N.M., Kaletha K., Holmes E.W.: Cloning and sequence of rat myoadenylate deaminase cDNA. Evidence for tissue-specific and developmental regulation. *J. Biol. Chem.*, 1987; 262: 12397–12400
- [44] Sabina R.L., Morisaki T., Clarke P., Eddy R., Shows T.B., Morton C.C., Holmes E.W.: Characterization of the human and rat myoadenylate deaminase genes. *J. Biol. Chem.*, 1990; 265: 9423–9433
- [45] Sims B., Mahnke-Zizelman D.K., Profit A.A., Prestwich G.D., Sabina R.L., Theibert A.B.: Regulation of AMP deaminase by phosphoinositides. *J. Biol. Chem.*, 1999; 274: 25701–25707
- [46] Szydłowska M., Chodorowski Z., Rybakowska I., Nagel-Starczynowska G., Kaletha K.: Full-size form of human liver AMP-deaminase? *Mol. Cell. Biochem.*, 2004; 266:133–137
- [47] Tovmasian E.K., Hairapetian R.L., Bykova E.V., Severin S.E., Jr., Haroutunian A.V.: Phosphorylation of the skeletal muscle AMP-deaminase by protein kinase C. *FEBS Lett.*, 1990; 259: 321–323
- [48] Van den Bergh F., Sabina R.L.: Characterization of human AMP deaminase 2 (AMPD2) gene expression reveals alternative transcripts encoding variable N-terminal extensions of isoform L. *Biochem. J.*, 1995; 312: 401–410
- [49] Van den Berghe G., Hers H.G.: Abnormal AMP deaminase in primary gout. *Lancet*, 1980; 2: 1090
- [50] Yamada Y., Goto H., Murase T., Ogasawara N.: Molecular basis for human erythrocyte AMP deaminase deficiency: screening for the major point mutation and identification of other mutations. *Hum. Mol. Genet.*, 1994; 3: 2243–2245
- [51] Yamada Y., Goto H., Ogasawara N.: Erythrocyte amp deaminase deficiency in Japanese: a compound heterozygote responsible for the complete deficiency. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2000; 486: 71-74
- [52] Yamada Y., Goto H., Ogasawara N.: A point mutation responsible for human erythrocyte AMP deaminase deficiency. *Hum. Mol. Genet.*, 1994; 3: 331–334
- [53] Yamada Y., Goto H., Wakamatsu N., Ogasawara N.: A rare case of complete human erythrocyte AMP deaminase deficiency due to two novel missense mutations in *AMPD3*. *Hum. Mutat.*, 2001; 17: 78
- [54] Yamada Y., Makarewicz W., Goto H., Nomura N., Kitoh H., Ogasawara N.: Gene mutations responsible for human erythrocyte AMP deaminase deficiency in Poles. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 1998; 431: 347–350