

### [Akceptuję](#)

W ramach naszej witryny stosujemy pliki cookies w celu świadczenia państwu usług na najwyższym poziomie, w tym w sposób dostosowany do indywidualnych potrzeb. Korzystanie z witryny bez zmiany ustawień dotyczących cookies oznacza, że będą one zamieszczone w Państwa urządzeniu końcowym. Możecie Państwo dokonać w każdym czasie zmiany ustawień dotyczących cookies. Więcej szczegółów w naszej [Polityce Prywatności](#)

[Portal](#) [Informacje](#) [Katalog firm](#) [Praca](#) [Szkolenia](#) [Wydarzenia](#) [Porównania międzylaboratoryjne](#)  
[Kontakt](#)



**[Laboratoria](#)**  
**[.net](#)**  
**[Innowacje](#)**  
**[Nauka](#)**  
**[Technologie](#)**

[Logowanie](#) [Rejestracja](#) [pl](#)

Newsletter

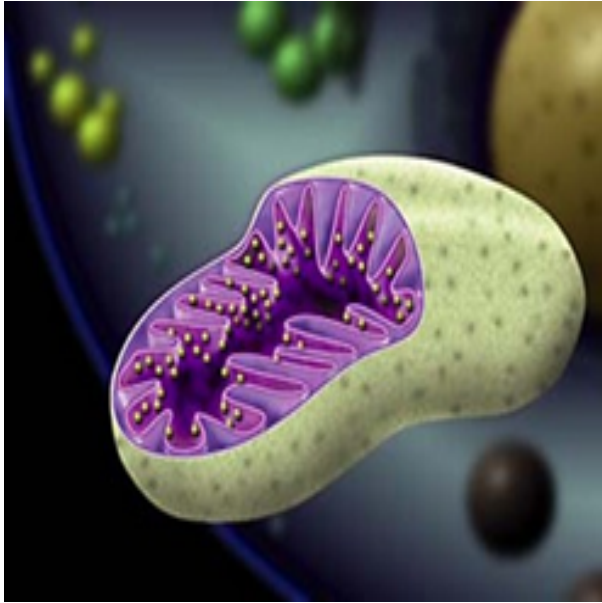
zapisz się



- [Nowe technologie](#)
- [Felieton](#)
- [Tygodnik "Nature"](#)
- [Edukacja](#)
- [Artykuły](#)
- [Przemysł](#)

[Strona główna](#) > [Artykuły](#)

## Mitochondrialna terapia genowa - przełom w leczeniu wielu chorób



## Wstęp

Mitochondria to półautonomiczne organella komórek eukariotycznych, których główną funkcją jest produkcja ATP, niezbędnego do prawidłowego funkcjonowania komórek. Posiadają one własny genom, a także aparat biosyntezy białek. Mutacje w genomie mitochondrialnym (mt-DNA) lub genomie jądrowym (nDNA), kodującym białka specyficzne dla mitochondriów, są przyczyną powstawania chorób mitochondrialnych, zwanych mitochondriopatiami. Choroby mitochondrialne dotyczą tkanek o największym zapotrzebowaniu na energię. Mutacje mt-DNA mogą służyć jako biomarkery tych chorób oraz jako czynniki predykcyjne przebiegu choroby. Mitochondrialna terapia genowa daje możliwość komplementacji zmutowanych mt-DNA oraz produktów jego ekspresji przyczyniając się do wyleczenia lub zmniejszenia nasilenia objawów chorobowych [1].

## Budowa i funkcje mitochondrium

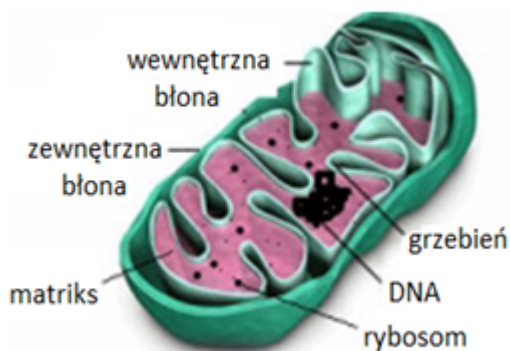
Mitochondria są otoczone dwoma błonami, zbudowanymi z dwuwarstwy lipidowej (Rys.1). Zewnętrzna błona mitochondrialna w większości zbudowana jest z fosfolipidów i białek. Zawiera ona białka transbłonowe, tzw. poriny, które tworzą hydrofilowe kanały umożliwiające dyfuzję cząsteczek o masie 5-10 kDa. Powierzchnia zewnętrznej błony mitochondrialnej jest gładka, w przeciwieństwie do błony wewnętrznej, która jest silnie pofałdowana w liczne grzebienie mitochondrialne. Liczba tych uwypukleń jest związana z nasileniem procesu fosforylacji oksydacyjnej. Skład wewnętrznej błony mitochondrialnej różni się od składu błony zewnętrznej, większą zawartością białek i obecnością fosfolipidokardiolipiny. We wnętrzu tej błony znajdują się białkowe czynniki sprzęgające F<sub>0</sub>F<sub>1</sub>, które posiadają aktywność syntetazy ATP. Białka te stanowią około 15% wszystkich białek wewnętrznej błony mitochondrialnej. Pomiędzy wewnętrzną i zewnętrzną błoną mitochondrialną znajduje się przestrzeń międzybłonowa [2].

Zewnętrzna błona mitochondrialna przepuszcza większość jonów i rozpuszczalnych w wodzie substancji o dostatecznie niskiej masie. Natomiast błona wewnętrzna jest przepuszczalna, na drodze osmozy, jedynie dla tlenu, dwutlenku węgla, amoniaku, wody oraz substancji hydrofobowych. Jest natomiast nieprzepuszczalna dla cukrów, większości aminokwasów, fosforanów nukleozydów, koenzymu A i jego estrów. Transport tych substancji przez wewnętrzną błonę mitochondrialną jest możliwy dzięki specyficznym substratowo białkom błonowym (translokazy lub permeazy), które w warunkach korzystnego gradientu stężeń działają na zasadzie transportu biernego lub transportu aktywnego. Przepuszczalność błon mitochondrialnych decyduje o transporcie aktywnych substancji

do wnętrza mitochondriów [2].

Wnętrze mitochondrium wypełnia matriks, w którym znajdują się białka, głównie enzymy cyklu kwasów trójkarboksylowych,  $\beta$ -oksydacji kwasów tłuszczowych, katabolizmu aminokwasów oraz enzymy biorące udział w syntezie mt-DNA, mt-RNA i białek. W macierzy mitochondrialnej zlokalizowane są również mitochondrialne DNA, rybosomy, tRNA i rRNA [3].

Ludzki genom mitochondrialny zawiera 4-10 cząsteczek kolistego DNA o długości około 16 kbp. Mitochondrialny DNA zawiera 37 genów kodujących: 2 cząsteczki rRNA, 22 tRNA oraz 13 polipeptydów. Wszystkie polipeptydy kodowane przez mt-DNA są podjednostkami kompleksów enzymów systemu fosforylacji oksydacyjnej. Pozostałe białka mitochondrialne są kodowane w genomie jądrowym, syntetyzowane na cytoplazmatycznych rybosomach i importowane do odpowiedniego subkompartentu mitochondrium. Geny mitochondrialne ludzi nie zawierają intronów i z wyjątkiem jednego systemu regulatorowego, sekwencje międzygenowe są nieobecne lub są ograniczone do kilku zasad. W każdej komórce występują setki kopii mtDNA (poliplazmia) i w prawidłowych komórkach są one identyczne (homoplazmia), gdyż pochodzą tylko od jednego z rodziców, są przekazywane wyłącznie w linii żeńskiej. Heteroplazmia powstaje na skutek mutacji. Wówczas w komórce występuje więcej niż jeden rodzaj mtDNA. W mitochondrialnym DNA znajduje się tzw. obszar hiperzmienny. Jest to niekodujący fragment genomu mitochondrialnego, który różni się między ludźmi i jest wykorzystywany do badań genetycznych [3].



Rys.1. Schemat budowy mitochondrium [18].

Podstawową funkcją mitochondriów jest dostarczanie komórce energii w postaci ATP, produkowanego w procesie fosforylacji oksydacyjnej. Pozostałe funkcje mitochondriów związane są z metabolizmem nukleotydów, aminokwasów, lipidów, z procesem homeostazy jonowej oraz z udziałem tych organelli w procesie apoptozy. Lokalizacja mitochondriów w komórce nie jest stała. W wyniku ruchów cytoplazmy lub dzięki związaniu się z elementami cytoszkieletu, mitochondria mogą przemieszczać się w kierunku miejsca o zwiększonym zapotrzebowaniu na energię. Również liczba mitochondriów w komórkach nie jest stała, mieści się w zakresie od kilku do kilku tysięcy w komórce, i zależy od zapotrzebowania komórki na energię. Organy, takie jak wątroba, mózg, mięsień sercowy czy mięśnie szkieletowe, wykazujące dużą aktywność metaboliczną tlenu, zawierają znacznie większą ilość mitochondriów niż pozostałe, z tego też powodu najbardziej ze wszystkich organów są podatne na mutacje genomu mitochondrialnego [2].

### **Choroby mitochondrialne**

Mutacje w genomie mitochondrialnym oraz jądrowym, który koduje około tysiąca białek mitochondrialnych, mogą być przyczyną zaburzeń prawidłowego funkcjonowania mitochondriów. Częstotliwość powstawania mutacji w obrębie mitochondrialnego DNA jest wielokrotnie większa niż w jądrowym DNA. Prawdopodobnie jest to związane z obecnością reaktywnych form tlenu (ROS)

produkowanych przez mitochondrialny system oksydacyjnej fosforylacji oraz brakiem systemów naprawczych i ochronnego działania histonów. Mutacje rejonów kodujących w mt-DNA powodują zmiany w sekwencjach białek łańcucha oddechowego oraz mitochondrialnych rRNA i tRNA. Natomiast mutacje rejonu niekodującego mogą wpływać na zaburzenia w procesie replikacji i transkrypcji mt-DNA. Zwiększoną akumulację mutacji mitochondrialnego DNA obserwuje się w starzejących się tkankach oraz w wielu stanach chorobowych, takich jak schorzenia neurologiczne, metaboliczne, w stanach przednowotworowych oraz w niektórych nowotworach. Stan chorobowy zależy od ilościowego stosunku prawidłowych mt-DNA do zmutowanych, przy czym ujawnia się dopiero po przekroczeniu pewnej wartości progowej [4].

Choroby mitochondrialne są trudne do zdiagnozowania, a ich leczenie jest objawowe. Najczęściej dotyczą one tkanek o największym zapotrzebowaniu energetycznym, tkanki mięśniowej i nerwowej. Chorobom mitochondrialnym towarzyszą zaburzenia fosforylacji oksydacyjnej i kompleksów łańcucha oddechowego, brak aktywności niektórych enzymów oraz zmiana ultrastruktury mitochondriów. Choroby mitochondrialne mogą być powodowane przez zaburzenia jednogenowe oraz wieloczynnikowe [5].

Za występowanie zaburzeń jednogenowych odpowiada konkretna mutacja w obrębie pojedynczego genu, która jest odpowiedzialna za dysfunkcję łańcucha oddechowego. Mutacja ta stanowi czynnik wysokiego ryzyka rozwoju choroby. Do tego typu chorób mitochondrialnych, w których stwierdzono bezpośredni związek dysfunkcji mitochondriów z mutacjami mt-DNA można zaliczyć m.in.:

- Zespół Kearnsa-Sayre'a (KSS), powodowany jest przez delecję w mt-DNA, objawami choroby są postępująca oftalmoplegia zewnętrzna, zwyrodnienie barwnikowe siatkówki, ataksja, podwyższony poziom białka w płynie mózgowo-rdzeniowym oraz zaburzenia przewodzenia w mięśniu sercowym.
- Zespół MERRF, powodowany jest przez mutacje w genach kodujących mitochondrialne tRNA, objawy choroby to padaczka miokloniczna z występowaniem czerwonych poszarpanych włókien w mięśniach.
- Zespół MELAS, powodowany jest przez mutacje w genach mitochondrialnych tRNA, objawami są miopatia z encefalopatią, drgawki, epizody udaropodobne i bóle głowy.
- Dziedziczna neuropatia nerwu wzrokowego Lebera (LHON), jest spowodowana różnymi mutacjami mt-DNA, objawy choroby to zanik nerwu wzrokowego powodujący bezbolesną utratę wzroku.
- Zespół NARP, powodowany jest przez punktową mutacją genu kodującego syntazę ATP, objawami choroby są neurogenna miopatia z ataksją i zwyrodnieniem barwnikowym siatkówki.

Zaburzenia wieloczynnikowe spowodowane są przez jednoczesny wpływ przyczyn genetycznych i środowiskowych. Mutacje w mt-DNA nie są wystarczające do wystąpienia choroby. Natomiast odpowiadają one za genetyczną skłonność do wystąpienia danego schorzenia, które ujawnia się, gdy dodatkowo zadziałają jeszcze określone czynniki środowiskowe i przekroczony zostanie próg podatności. Do tego typu chorób mitochondrialnych, w których mutacje w mt-DNA mogą być czynnikami ryzyka, można zaliczyć:

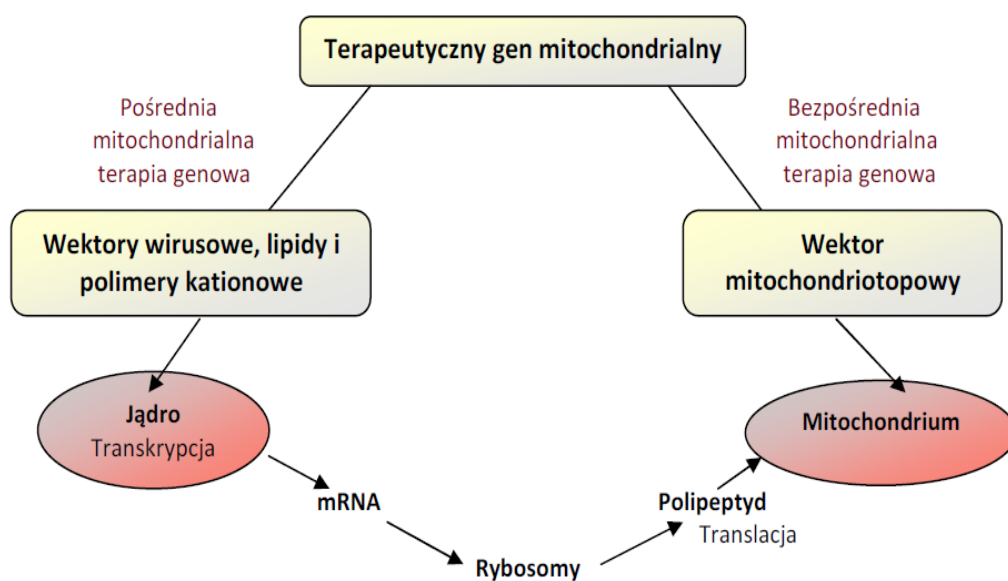
- Choroby nowotworowe, tj. rak piersi, rak gruczołu krokowego, rak jelita grubego, rak żołądka, rak przełyku, rak jajnika, rak tarczycy oraz białaczki.
- Choroby metaboliczne, tj. cukrzyca.
- Choroby neurodegeneracyjne, m.in. choroba Alzheimera i choroba Parkinsona.
- Choroby układu krążenia.

Cechą wspólną wymienionych chorób wieloczynnikowych jest ich związek z procesem starzenia, co

może być wynikiem akumulacji mutacji w mt-DNA. Istnieje także możliwość, że choroby te mogą nie wynikać z uszkodzenia mitochondriów, ale ich rozwój prowadzi do takich zmian w funkcjonowaniu mitochondriów, że stają się one markerem choroby [5].

Mitochondrialna terapia genowa Mitochondrialna terapia genowa polega na naprawie zmutowanego mt-DNA lub produktów jego ekspresji. Można wyróżnić dwie strategie mitochondrialnej terapii genowej: pośrednią i bezpośrednią. Pośrednia mitochondrialna terapia genowa (zwana także ekspresją allotopową) występuje wówczas, gdy terapeutyczny gen, a w warunkach fizjologicznych składnik mt-DNA, jest przenoszony, z wykorzystaniem wirusowych lub nie wirusowych wektorów, do jądra komórkowego. W jądrze ulega on transkrypcji przez enzymy jądrowe, a następnie jest transportowany do wnętrza mitochondrium przez mitochondrialne peptydy sygnałowe, które uruchamiają fizjologiczny mechanizm importu białek (Rys.2). Pośrednia mitochondrialna terapia genowa posiada wiele trudnych do pokonania problemów, które mogą dyskwalifikować tę strategię jako potencjalne rozwiązanie terapeutyczne. Są to między innymi:

- różnica kodowania mt-DNA w porównaniu z kodem uniwersalnym,
- silna hydrofobowość białek łańcucha oddechowego, która nie jest spotykana w białkach cytozolowych, co stwarza problem transportu polipeptydów do mitochondriów,
- większość mutacji mt-DNA zachodzi w obszarze kodującym mt-tRNA.



Rys.2. Schemat pośredniej i bezpośredniej strategii mitochondrialnej terapii genowej.

Bezpośrednia mitochondrialna terapia genowa umożliwia korygowanie mutacji bezpośrednio w mt-DNA (Rys.2). Istnieją dwie podstawowe strategie postępowania, stosowane w bezpośredniej mitochondrialnej terapii genowej, polegające na:

- transporcie prawidłowych mt-DNA do mitochondriów i ich replikacji,
- działaniu na zmutowany mt-DNA poprzez jego naprawę, zahamowanie replikacji lub degradację.

Pomimo tego, że obie strategie wykorzystują różne geny terapeutyczne, dają ten sam rezultat, polegający na zmniejszeniu objawów chorobowych na skutek zwiększenia się proporcji prawidłowych mt-DNA w stosunku do zmutowanych mt-DNA [6].

## **Systemy umożliwiające transport kwasów nukleinowych z cytoplazmy do mitochondriów**

Istotnym zagadnieniem mitochondrialnej terapii genowej jest transport DNA do komórki, a następnie do wnętrza mitochondriów. Istotne jest, aby DNA uwalniane było w bezpośredniej bliskości mitochondrium, w kontakcie z zewnętrzną i/lub wewnętrzną błoną mitochondrialną, gdzie po uwolnieniu będzie mogło zostać przeniesione do macierzy mitochondrialnej [7].

Dotychczas do transportu kwasów nukleinowych do mitochondriów używano systemów transferu genów przez błonę komórkową na drodze endocytozy czy endocytozy receptorowej. Jednak zastosowanie tego systemu powodowało degradację transportowanych biomolekuł w lizosomach lub endosomach. Obecnie prowadzone są badania nad zastosowaniem peptydów CCPs do transportu molekuł, takich jak DNA, białka czy peptydy, bezpośrednio do cytozolu. Peptydy CCPs są to krótkie, dodatnio naładowane sekwencje 10-30-aminokwasowe, transportowane przez błonę komórkową komórek ssaczych, co umożliwia ich wykorzystanie w terapii genowej [6,7]. Badane są również peptydy HIV-TAT i HSV-VP22. Są to strukturalnie podobne peptydy, zawierające mniej niż 20 aminokwasów w sekwencji, w tym znaczne ilości argininy i lizyny. Sekwencje te określa się jako PTD. Peptydy PTD, szczególnie TAT, są wydajnymi nośnikami peptydów, oligonukleotydów, białek i liposomów. Okazały się one również efektywnym nośnikiem peptydów do mitochondriów [8].

Systemy transportu makromolekuł do mitochondriów wykorzystują dwie zasadnicze cechy tych organelli: fizjologiczny import mitochondrialnych białek oraz wysoki potencjał błon mitochondrialnych. Wyższy niż w innych organellach wewnątrz komórki potencjał błon mitochondrialnych umożliwia gromadzenie się dodatnio naładowanych lipofilowych kationów w mitochondriach. Podstawowymi rodzajami transportu makromolekuł do mitochondriów są:

- transport z wykorzystaniem endogennych kompleksów translokacyjnych, umożliwiających naturalny import mitochondrialnych białek cytozolowych,
- bezpośredni transport koniugatów DNA - cząsteczka wykazująca tropizm mitochondrialny - przez błonę mitochondrialną,
- transport z wykorzystaniem mitochondriotopowych liposomów (DQAsomy).

Możliwe jest także wprowadzenie pDNA do mitochondriów przy zastosowaniu metod fizycznych, takich jak: mikroiniekcja, „strzelby biolistyczne” oraz elektroporacja. Jednak zastosowanie tych metod jest ograniczone do izolowanych mitochondriów [6,9].

### **• Transport z wykorzystaniem endogennych kompleksów translokacyjnych, umożliwiających naturalny import mitochondrialnych białek cytozolowych**

Białka transportowane do mitochondriów są syntetyzowane jako preproteiny na cytozolowych rybosomach. Zawierają one N-kończącą mitochondrialną sekwencję liderową (MLS) o długości 3–60 aminokwasów i odpowiedniej strukturze pierwszorzędowej, w skład której wchodzi kilka aminokwasów hydrofobowych i kilka aminokwasów dodatnio naładowanych. Sekwencja ta jest rozpoznawana przez receptory na powierzchni zewnętrznej błony mitochondrialnej, co uruchamia mechanizm transportu białek. Receptory dostarczają preproteiny do kompleksu translokazy zewnętrznej błony mitochondrialnej (TOM), który transportuje części białek budujących zewnętrzną błonę mitochondrialną oraz białek występujących w przestrzeni międzybłonowej mitochondriów. W celu transportowania pozostałych białek, TOM współpracuje z innymi translokazami [6,10].

Translokazą odpowiedzialną za transport większości białek matriksu i białek budujących wewnętrzną

błonę mitochondrialną jest kompleks TIM 23. Kompleks ten może rozpoznawać różnego rodzaju sekwencje kierujące, jednak w większości przypadków rozpoznaje on odpowiednią, obdarzoną ładunkiem dodatnim, N-terminalną sekwencję aminokwasową. Sekwencja ta jest następnie usuwana proteolitycznie przez odpowiednią matriksową peptydazę. Natomiast importowane białko jest wiązane i uwalniane przez białko mtHsp70. Kompleks TIM 23 korzysta z dwóch źródeł energii: potencjału błonowego i ATP w procesach transportu i wbu-dowywania białek w błonę mitochondrialną [6,10].

Mitochondrialne sekwencje liderowe (MLS) służą jako nośnik do transportu białek do wnętrza mitochondriów poprzez wytworzenie wiązania kowalencyjnego MLS - białko mitochondrialne lub MLS - białko niemitchondrialne. Prowadzone są badania nad łączeniem izolowanych mitochondriów i koniugatów mitochondrialnych peptydów liderowych (MLS) z kwasami nukleinowymi w postaci oligodeoksyrybonukleotydów, DNA lub PNA. Wykazano, że koniugaty te są zdolne do przechodzenia przez zewnętrzną i wewnętrzną błonę mitochondrialną z wykorzystaniem białek transbłonowych. Świadczy to o możliwości zastosowania mitochondrialnego importu białek z cytozolu do mitochondriów do transferu genów. Dzięki temu istnieje możliwość korekty zmutowanych mt-DNA w wyniku wprowadzenia dokładnej kopii genów prawidłowego mt-DNA [11].

Prowadzono także badania nad wykorzystaniem systemu PTD-MLS do transportu egzonukleazy III (Exo III) do matriksu mitochondrialnego. MLS połączono kowalencyjnie z N-końcem białka Exo III, zaś TAT z C-końcem tego białka, otrzymując białko fuzyjne MLS-ExoIII-TAT. Fuzja ta miała na celu stworzenie koniugatu, w którym występuje obok siebie TAT - molekularny nośnik przez błonę komórkową - oraz MLS - nośnik przez błony mitochondrialne. Zastosowanie systemu PTD-MLS umożliwia także transport innych bioaktywnych molekuł, takich jak DNA czy oligodeoksyrybonukleotydy, co może mieć zastosowanie w mitochondrialnej terapii genowej [12].

Zastosowanie endonukleaz restrykcyjnych, specyficznych dla komórek zmutowanych w obszarze mt-DNA, pozwoliło na selektywną degradację zmutowanych mt-DNA. Zaobserwowano, że u pacjentów chorych na NARP mutacja T8399G generuje specyficzne miejsce restrykcyjne dla enzymu PstI, które nie występuje w zdrowych mt-DNA. Skonstruowanie koniugatów DNA (gen PstI) - MLS (mitochondrialną sekwencją liderową) i ich transport do mitochondriów oraz ekspresja genów w ludzkich komórkach wywołała eliminację mutantów mt-DNA [13].

- **Bezpośredni transport koniugatów DNA - cząsteczka wykazująca tropizm mitochondrialny - przez błonę mitochondrialną**

Transport pDNA przez błony mitochondrialne jest nie możliwy ze względu na wysoką barierę energetyczną oraz nukleotropizm. Prowadzone są badania nad utworzeniem koniugatów transportowanej molekule z cząsteczką o tropizmie mitochondrialnym. Cząsteczki mitochondriotropowe, określane jako zdelokalizowane kationy (DLCs), są amfifilowe oraz zawierają sprzężony układ elektronów  $\pi$ , który umożliwia delokalizację ładunku dodatniego. Do tego typu związków należą m.in. rodamina 123, chlorek dekaliniowy oraz kationowe sole arylofosfoniowe. Utworzenie koniugatów mitochondriotropowych cząsteczek z DNA umożliwia ich przeniesienie przez błonę komórkową i transport w kierunku mitochondriów [6,14].

Do transportu koniugatów peptyd - kwas nukleinowy (PNA) do mitochondriów wykorzystano kation tryfenylofosfoniowy (TPP). W celu uzyskania selektywnego hamowania replikacji zmutowanych DNA w stosunku do zdrowych, zastosowano 11-nukleotydowe sekwencje oligomerów komplementarnych do nici zmutowanych mitochondrialnych mRNA lub DNA. W przypadku heteroplazmii taka mitochondrialna terapia antysensowa mogłaby w sposób selektywny wspierać replikację zdrowego

mt-DNA w stosunku do zmutowanego mt-DNA. Umożliwiłoby to zwiększenie ilości zdrowego mt-DNA w komórce do poziomu zapobiegającego wystąpieniu symptomów klinicznych choroby mitochondrialnej [15].

#### • **Transport z wykorzystaniem mitochondriotopowych liposomów (DQAsomy)**

DQAsomy są to pierwsze wektory specyficzne dla mitochondriów. Chlorek dekaliniowy wykazuje zarówno tropizm mitochondrialny, jak i tendencję do tworzenia miceli w warunkach wodnych. Ulega on szybkiej dyfuzji przez obie błony mitochondrialne i akumuluje się wewnątrz mitochondriów na skutek elektrostatycznego przyciągania przez mitochondria. DQAsomy wykazują podobieństwo do klasycznych kationowych liposomów. Podobnie jak kationowe liposomy, DQAsomy kompleksują DNA, chronią DNA przed enzymatyczną degradacją przez nukleazy, a ich cytotoksyczność jest porównywalna z wektorami kationowymi dostępnymi w handlu. Przeprowadzono liczne badania potwierdzające użyteczność DQAsomów i ich kompleksów z DNA jako nośników DNA w mitochondrialnej terapii genowej. Badania uwalniania się DNA z kompleksów DNA-DQAsomy na żywych komórkach wykazały endosomolityczną aktywność DQAsomów oraz ich skłonność do uwalniania DNA dopiero w kontakcie z błoną mitochondrialną bogatą w kardiolipinę. DQAsomy okazały się efektywnymi mitochondriotopowymi nośnikami koniugatów DNA-peptydowa sekwencja liderowa (MLS). Po uwolnieniu z DQAsomów, połączenia DNA-MLS wykorzystują natywny transport białek, aby dotrzeć do wnętrza mitochondriów [6,16].

#### **Transport cytozolowych tRNA do dysfunkcyjnych mitochondriów - zmutowanych w obszarze genów kodujących mt-tRNA**

Ponad 60% mutacji mitochondrialnego DNA dotyczy sekwencji kodujących mitochondrialne tRNA. Mutacje w genach mt-tRNA mogą powodować m.in. terminację transkrypcji, obniżenie stabilności cząsteczek mt-tRNA, brak rozpoznania mt-tRNA przez odpowiednią aminoacylo-tRNA syntetazę. Zaburzenia te skutkują nieprawidłowościami w przebiegu procesu translacji białek łańcucha oddechowego, co jest przyczyną niektórych chorób mitochondrialnych. Przeprowadzone badania wykazały, że istnieje możliwość importu in vitro tRNA do ludzkich mitochondriów, co umożliwia komplementację „wadliwych” mt-tRNA [6,17].

W zależności od typu organizmu i rodzaju RNA wyróżnia się cztery rodzaje transportu tych biomolekuł przez błony mitochondrialne:

- transport razem z preproteina przez odpowiednie kanały białkowe błon mitochondrialnych,
- transport z wykorzystaniem specyficznych wobec RNA receptorów znajdujących się w wewnętrznej i zewnętrznej błonie mitochondrialnej,
- transport razem z preproteina, z wykorzystaniem receptora RNA,
- transport przez inne kanały lub transport pasywny [6,17].

#### **Podsumowanie:**

W ostatnich latach prowadzone są liczne badania nad ekspresją informacji genetycznej w mitochondriach oraz mutagenizacją mitochondrialnego DNA. Mutacje w mt-DNA mogą indukować nieuleczalne choroby jednogenowe, jak również sprzyjać rozwojowi chorób wieloczynnikowych. Naprawa lub usunięcie zmutowanego mt-DNA lub jego komplementacja są jedynym sposobem na wyleczenie pacjentów lub zmniejszenie objawów chorobowych w przypadku pacjentów z chorobą wieloczynnikową. Mitochondrialna terapia genowa oparta na technologii mitochondriotopowych



nośników DNA/RNA umożliwia kierowanie funkcjami mitochondriów i powinna przynieść wiele korzyści terapeutycznych. Wiąże się duże nadzieje z rozwojem mitochondrialnej terapii genowej. Jednakże dotychczasowe badania prowadzone są jedynie na izolowanych mitochondriach, a bardzo rzadko na modelach zwierzęcych. Dlatego możliwość zastosowania mitochondrialnej terapii genowej w badaniach klinicznych wymaga prowadzenia dalszych badań.

**Słowa kluczowe:** choroby mitochondrialne, mitochondrialny DNA, mitochondrialne tRNA, mitochondrialna terapia genowa, endogenne kompleksy translokacyjne, koniugaty DNA, DQAsomy.

### **Literatura:**

1. Paliwa R., Rai S., Vaidya B., Mahor S., Gupta P. N., Rawat A., Vyas S. P. Cell-selective mitochondria targeting: Progress in mitochondrial medicine, *Curr. Drug Deliv.* 2007. 4, 211-224.
2. Muchopadhyay A., Weiner H. Delivery of drugs and macromolecules to mitochondria. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2007. 59, 729-738.
3. Taanman J. W. The mitochondrial genome: structure, transcription, translation and replication. *Biochim. Biophys. Acta.* 1999. 1410, 103-123.
4. Yamada Y., Harasima H. Mitochondrial drug delivery systems for macromolecule and their therapeutic application to mitochondrial diseases. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2008. 60, 1439-1462.
5. Taylor R. W., Turnbull D. M. Mitochondrial DNA mutations in human diseases. *Nat. Rev. Genet.* 2005. 6, 389-402.
6. Leszczyńska G., Leonczak P., Radzimierski A. Strategie mitochondrialnej terapii genowej. *Na pograniczu chemii i biologii.* 2010. Tom XXIV, 33-61.
7. Fabre J. W., Collins L. Synthetic peptides as non-viral DNA vectors. *Curr. Gene Ther.* 2006. 6, 459-480.
8. Del Gaizo V., MacKenzie J. A., Payne R. M. Targeting proteins to mitochondria using TAT. *Mol. Genet. Metab.* 2003. 80, 170-180.
9. Muratovska A., Lightowers R. N., Taylor R. W., Wilce J. A., Murphy M. P. Targeting large molecules to mitochondria, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2001. 49, 189-198.
10. Mokranjac D., Neupert W. Protein import into mitochondria. *Biochem. Soc. Trans.* 2005. 33, 1019-1023.
11. Flierl A., Jackson C., Cottrell B., Murdock D., Seibel P., Wallace D.C. Targeted delivery of DNA to the mitochondria compartment via import sequence conjugated peptide nucleic acid. *Mol. Ther.* 2003. 7, 550-557.
12. Shokolenco I. N., Alexeyev M. F., LeDoux S. P., Wilson G. L. TAT-mediated protein transduction and targeted delivery of fusion proteins into mitochondria of breast cancer cells. *DNA Repair.* 2005. 4, 511-518.
13. Srivastava S., Moraes C. T. Manipulating mitochondrial DNA heteroplasmy by a mitochondrially targeted restriction endonuclease. *Hum. Mol. Genet.* 2001. 10, 3093-3099.
14. Weissig V., Torchilin V. P. Cationic liposomes with delocalized charge center as mitochondria-specific DNA delivery systems. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2001. 49, 127-149.
15. Muratovska A., Lightowers R. N., Taylor R. W., Turnbull D. M., Smith R. A. J., Wilce J.A., Martin S.W., Murphy M.P. Targeting peptide nucleic acid (PNA) oligomers to mitochondria within cells by conjugation to lipophilic cations: implications for mitochondrial DNA replication, expression and disease. *Nucleic Acids Res.* 2001. 29, 1852-1863.
16. D'Souza G. G. M., Rammohan R., Cheng S. M., Torchilin V. P., Weissig V. DQA-some-mediated delivery of plasmid DNA toward mitochondria in living cells. *J. Control. Rel.* 2003. 92, 189-197.
17. Entelisa N. S., Kolesnikova O. A., Martin R. P., Tarassov I. A. RNA delivery into mitochondria. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2001. 49, 199-215.

18. <http://www.biologia.net.pl/cytologia/mitochondrium.html>

19. <http://ciber-genetica.blogspot.com/p/portal.html>

<http://laboratoria.net/artukul/17508.html>

**Informacje dnia:** [Drżące nanorurki](#) [Naukowcy znaleźli sposób na recykling betonu](#) [ADHD zdiagnozowano u co dziewiątego dziecka w USA](#) [Testy na obecność HPV](#) [Do środowiska trafiło ponad 1 mld komarów GMO](#) [Może to owady uratują nas przed zwałami plastiku](#) [Drżące nanorurki](#) [Naukowcy znaleźli sposób na recykling betonu](#) [ADHD zdiagnozowano u co dziewiątego dziecka w USA](#) [Testy na obecność HPV](#) [Do środowiska trafiło ponad 1 mld komarów GMO](#) [Może to owady uratują nas przed zwałami plastiku](#) [Drżące nanorurki](#) [Naukowcy znaleźli sposób na recykling betonu](#) [ADHD zdiagnozowano u co dziewiątego dziecka w USA](#) [Testy na obecność HPV](#) [Do środowiska trafiło ponad 1 mld komarów GMO](#) [Może to owady uratują nas przed zwałami plastiku](#)

## **Partnerzy**