

## Abstrakt

Puriny jsou součástí mnoha biologických procesů a jsou nezbytné pro udržování energetické homeostázy, regulaci metabolismu, syntézu DNA a RNA a slouží také jako kofaktory enzymatických reakcí. Důležitou roli v purinové syntéze hraje *de novo* purinová syntéza (DNPS), která je zvláště důležitá pro proliferující buňky. DNPS je komplexní dráha zahrnující šest enzymů, které tvoří multienzymový komplex, purinosom. Purinosom umožňuje pohyb purinových meziproductů prostřednictvím deseti sekvenčních reakcí. Správně fungující enzymy a purinosom zabezpečují rychlý pohyb nestabilních a potenciálně cytotoxických meziproductů až k finálnímu produktu IMP, výchozímu bodu pro syntézu AMP a GMP. Mutace v genech kódujících DNPS enzymy vedou ke vzniku dědičných vzácných onemocnění, které jsou doprovázeny zvýšenou koncentrací substrátů daného enzymu v tělních tekutinách a buňkách. Pro studium patofyziologie DNPS byl vyvinut modelový systém v HeLa buněčných liniích defektních v jednotlivých genech DNPS. Tyto buňky byly analyzovány na genové, transkripční, proteomické, metabolické a funkční úrovni. Byly potvrzeny homozygotní a složené heterozygotní mutace vedoucí k absenci proteinu, snížení enzymové aktivity, akumulaci substrátu enzymu, sníženému přepisu v *GART* a *PFAS* genech a ke sníženému formování purinosomu. Dynamika pohybu purinosomu a jeho hlavní stavební složky – GART - mCherry byla sledována ve svalech těla hlístice *Caenorhabditis elegans*. Dále byla testována schopnost izotopicky značených DNPS meziproductů vstoupit do buněk a zapojit se do DNPS a stejně tak jejich vliv na buněčnou viabilitu. Ribosidy měly silnější inhibiční účinek na buněčnou viabilitu v porovnání s ribotidy a metabolity z druhé poloviny DNPS nebyly v tomto experimentálním nastavení cytotoxické. Během výzkumu byla také objevena a popsána dvě vzácná onemocnění DNPS: PAICS deficit a PFAS deficit.

**Klíčová slova:** *de novo* purinová syntéza (DNPS), patofyziologie DNPS, dědičná vzácná onemocnění, DNPS onemocnění, purinosom