

ABSTRAKT

Komplexy oxidativní fosforylace (OXPHOS) se ve vnitřní mitochondriální membráně sdružují ve vyšší strukturní a funkční celky, tzv. superkomplexy. Jejich význam spočívá v cíleném směřování substrátů z jednoho komplexu na druhý. V případě ATP syntázy byly popsány její dimery i vyšší oligomery a také ATP syntazom, v rámci něž dochází k seskupení ATP syntázy s přenašečem adeninových nukleotidů (ANT), zajišťujícím výměnu syntetizovaného ATP za cytosolické ADP, a fosfátovým přenašečem (PiC), umožňujícím import fosfátu do matrix mitochondrie. I když je existence tohoto superkomplexu obecně přijímána, experimentální důkazy nejsou dostatečné.

V rámci této práce byly detailně zkoumány strukturní interakce ATP syntázy, ANT a PiC. Jejich vzájemné vztahy byly sledovány nejprve na úrovni exprese jednotlivých komponent ATP syntazomu, ať již za fyziologických podmínek v různých tkáních potkana, nebo na modelu deficiencí ATP syntázy v buňkách pacientů s různými genetickými defekty ATP syntázy. Konkrétně se jednalo o mutace v jaderných genech *ATP5E* a *TMEM70*, které kódují podjednotku ϵ , respektive pomocný faktor v biogenezi ATP syntázy *TMEM70*, a o mikrodeleci na rozhraní genů *MT-ATP6* a *MT-COX3*, která negativně ovlivňuje mitochondriální translaci podjednotek *a* ATP syntázy a Cox3 cytochrom *c* oxidázy.

Funkční a strukturní charakterizace buněčných linií s defekty ATP syntázy ukázala, že jaderné mutace v genech *TMEM70* a *ATP5E* (první jaderný gen kódující podjednotku ATP syntázy, v němž byla objevena mutace) mají za následek snížené množství jinak plně funkční ATP syntázy, kdežto v případě mitochondriální mutace v *MT-ATP6* je přítomno normální množství neúplné ATP syntázy, u níž chybějící podjednotka *a* vede k její nefunkčnosti. Patologický fenotyp této mutace se projeví až při překročení 90% heteroplazmie mutované mtDNA. U všech zkoumaných defektů bylo pozorováno kompenzační zvýšení přenašečů ANT a PiC, které je pravděpodobně způsobeno zatím neznámým adaptivním posttranskripčním mechanismem. Za fyziologických podmínek se ovšem zdá, že ATP syntáza, ANT a PiC jsou společně regulovány na úrovni transkripce.

Strukturní analýzy ukázaly přítomnost ATP syntazomu v mitochondriích izolovaných ze srdce potkana. Většina ATP syntázy, ANT a PiC ale vzájemně neasociuje, což ještě více podtrhuje otázku funkčního významu ATP syntazomu. Analýzy odhalily také interakci ATP syntázy se sukcinát dehydrogenázou. Seskupení těchto dvou komplexů už dříve byla přisouzena funkce tzv. mitochondriálního ATP-senzitivního K^+ kanálu.