

ABSTRAKT

Cytochrom *c* oxidáza (COX) je koncovým enzymovým komplexem dýchacího řetězce a vyskytuje se ve vnitřní mitochondriální membráně jako monomer, dimer a ve formě respiračních superkomplexů. Asemblační proces COX je komplikovaný, vysoce regulovaný a závisí na mnoha pomocných proteinech. Mutace COX podjednotek, kódovaných mitochondriální nebo jadernou DNA, nebo mutace v genech pro COX asemblační proteiny jsou častou příčinou závažných mitochondriálních onemocnění. SURF1 protein je zapojen do počátečních fází tvorby COX, ale jeho přesná funkce není objasněna. Mutace lidského *SURF1* genu vedou k těžkému defektu COX a fatálnímu neurodegenerativnímu onemocnění, Leigh syndromu. Knockout *SURF1* genu u myši způsobuje také izolovaný COX defekt, ale méně výrazný a bez postižení CNS. Cílem práce byla detailní analýza narušené COX biogeneze vyvolané mutací nebo knockoutem *SURF1* genu, od tvorby COX monomeru a vestavění COX do superkomplexů až po ovlivnění ostatních OXPHOS komplexů izolovaným defektem COX. Mutace *SURF1* genu ve fibroblastech pacientů vedly k výrazné akumulaci asemblačního intermediátu COX a defektu tvorby funkčního COX monomeru, který se preferenčně vázal do I-III₂-IV₁ superkomplexu. COX deficiencie následně vedla ke zvýšení obsahu OXPHOS komplexů I, III a V. U *SURF1*^{-/-} myši byl COX defekt výrazně tkáňově specifický. Největší pokles COX byl ve fibroblastech, ale mnohem menší než ve fibroblastech *SURF1* pacientů. COX monomer byl u *SURF1*^{-/-} myši také stabilnější, integroval se mnohem méně do superkomplexů a COX asemblační intermediáty se rychleji odbourávaly ve srovnání s fibroblasty *SURF1* pacientů.

Studium dalšího defektu biogeneze COX na podkladě unikátní 9205delTA mtDNA mikrolece *ATP6/COX3* genu bylo zaměřeno na výrazně rozdílnou manifestaci defektu u pacientů. Ukázalo, že příčinou je heteroplasmie mtDNA mutace a prahový efekt se strmým nástupem patologických změn při více než 90% podílu mutované mtDNA.

Poslední část práce byla zaměřena na možné interakce COX v respiračních superkomplexech s FAD-dependentními dehydrogenázami. Jak v případě sukcinát dehydrogenázy, tak glycerol-3-fosfát dehydrogenázy, jsme detekovali vysokomolekulární nativní formy dehydrogenáz, které však byly spíše oligomerní a bez přítomnosti COX.

Klíčová slova: Cytochrom *c* oxidáza, Leigh syndrom, *SURF1* gen, SURF1 protein, *SURF1*^{-/-} myši knockout, respirační superkomplexy, 9205delTA mikrolece