

ABSTRAKT

Udržení mitochondriální proteinové homeostázy je nezbytnou podmínkou pro průběh klíčových buněčných procesů a udržení buněčné integrity. Je zajištěna mnoha specifickými mitochondriálními proteázami s možnými chaperonovými funkcemi aktivních v různých mitochondriálních subkompartmentech.

V první části této disertační práce jsme se zaměřili na charakterizaci funkčního překrývání a spolupráce proteolytických podjednotek AFG3L2 a YME1L mitochondriálních komplexů m-a i-AAA lokalizovaných ve vnitřní mitochondriální membráně. Dvojitě utišená buněčná linie AFG3L2/YME1L vykazovala výraznou změnu ve zpracování isoform OPA1, výrazné zvýšení proteázy OMA1 a snížení proteinu SPG7. Naše výsledky ukazují spolupráci a částečně i nadbytečné funkční překrývání proteáz AFG3L2 a YME1L v udržení mitochondriální proteinové homeostázy, a dále podtrhují jejich důležitost pro mitochondriální a buněčné funkce a integritu.

Cílem druhé části bylo charakterizovat buněčnou funkci proteinu LACE1 v mitochondriální proteinové homeostáze. Protein LACE1 je lidský homolog kvasinkové ATPázy Afg1. Z našich výsledků vyplývá, že LACE1 je mitochondriální integrální membránový protein, který existuje jako součást tří komplexů o přibližné molekulové hmotnosti 140, 400 a 500 kDa a zprostředkovává degradaci jaderně kódovaných podjednotek COX4, COX5A a COX6A komplexu IV. Použitím afinitní purifikace proteinu LACE1-FLAG jsme zjistili, že protein přímo interaguje s podjednotkami COX4 a COX5A komplexu IV, proteázou YME1L a proteinem p53. Pomocí ektopické exprese mutantních variant K142A v oblasti Walker A a E214Q v oblasti Walker B jsme prokázali, že intaktní ATPázová doména je nezbytná pro degradaci jaderně kódovaných podjednotek komplexu IV. Dále jsme zjistili, že protein LACE1 vykazuje významnou proapoptotickou aktivitu, která je závislá na proteinu p53 a je nezbytná pro jeho translokaci do mitochondrií indukovanou mitomycinem c. Naše výsledky ukazují, že protein LACE1 má nezastupitelnou úlohu v proteolýze proteinů podjednotek oxidativního fosforylačního systému, zprostředkovává mitochondriální translokaci p53 a jím indukovanou apoptózu nezávislou na jeho transkripci.

Klíčová slova: apoptóza, dýchací řetězec, komplex IV, mitochondrie, oxidativní fosforylace, proteáza AFG3L2, proteáza YME1L, protein LACE1, tumor-supresorový protein p53, translokace