

Abstrakt

V mitochondriích, takzvaných ‘buněčných elektrárnách’, probíhá integrální metabolická dráha oxidační fosforylace, jež v buňkách zajišťuje produkci většiny energie. Savčí cytochrom *c* oxidáza, neboli *cIV*, je nezbytnou terminální oxidázou pro funkci systému oxidační fosforylace, ale také pro regulaci celého procesu k zajištění energie za daných podmínek. *cIV* je proteinový komplex sestavený z podjednotek kódovaných jaderným i mitochondriálním genomem, proto jeho biogeneze představuje komplikovaný proces vyžadující koordinaci mnoha dějů nezbytných k sestavení plně funkčního enzymu. Mimo to, sestavení *cIV* z jednotlivých isoform jaderně-kódovaných podjednotek umožňuje funkční nastavení enzymu v závislosti na daných podmínkách. Navzdory dokladům o důležitosti správného sestavení *cIV* za fyziologických i patologických podmínek, úloha jaderně-kódovaných podjednotek není stále zcela objasněna.

V této práci byly nejprve studovány isoformy podjednotky COX4, které vykazují expresi závislou na tkáni a koncentraci kyslíku. Pro tento účel byly využity HEK293 buněčné modely s výhradní expresí samotných isoform COX4I1 nebo COX4I2. Zajímavým výsledkem bylo zjištění, že COX4I2 izozym vykazoval nižší afinitu ke kyslíku, což může hrát významnou roli v regulaci aktivity *cIV* za hypoxie a v mechanismu detekce koncentrace kyslíku při fyziologických procesech.

Dále byla prozkoumána úloha podjednotek COX4 a COX6B v procesu sestavování *cIV*. Pro podjednotku COX4 byla potvrzena role v iniciaci celého procesu, zatímco studium COX6B podjednotky přineslo neočekávané výsledky. Bylo ukázáno, že podjednotka COX6B nehraje roli pouze v pozdních fázích sestavování, jak se dříve předpokládalo, ale rovněž ve stabilizaci časných intermediátů. To bylo prokázáno úplnou deficiencí kompletního *cIV* při zachování MT-CO1 modulu. Další získané výsledky podporují hypotézu o nestandardním sestavování podjednotek *cIV* přímo do respirazómu, jež stále představuje velmi neprobádaný proces.

Nakonec buněčné modely s deficitem COX4 a COX6B podjednotek posloužily jako ideální modely ke studiu fenoménu vzájemné závislosti mezi *cIV* a komplexem I, jakožto i signalizace zajišťující celý proces. Deficience *cIV* vedla ke snížení komplexu I, pravděpodobně v důsledku útlumu mitochondriální syntézy proteinů. Funkční nahrazení *cIV* alternativní oxidázou

vedlo ke zlepšení fenotypu, což ukázalo že fenomén vzájemné závislosti je vyvolán změnou funkcí systému oxidační fosforylace, nikoli chybějící strukturní interakcí v důsledku deficitu cIV. V buňkách s deficitem cIV byla vyvolána mitochondriální integrovaná odpověď na stres, která představuje pravděpodobnou signální dráhu zajišťující vzájemnou závislost komplexů oxidační fosforylace.

Závěrem, tato práce prozkoumala roli podjednotek COX4 a COX6B cytochrom *c* oxidázy na několika úrovních regulace jak samotné cytochrom *c* oxidázy, tak celého systému oxidační fosforylace.

Klíčová slova

oxidační fosforylace, cytochrom *c* oxidáza, COX4, COX6B, isoformy, asemblace, superkomplexy, vzájemná závislost, integrovaná odpověď na stres