

Tato diplomová práce se věnuje poruchám koenzymu Q10, které vedou ke snížení jeho koncentrace ve tkáních pacientů (tzv. deficience CoQ10). Zavádí dvě molekulárně-genetické metody pro analýzy deficience CoQ10 - skriningovou metodu High Resolution Melting Analysis pro usnadnění vytřídění potenciálních pacientů s mutací v genech PDSS1, PDSS2, COQ2, COQ9, CABC1 a APTX, které kódují některé z enzymů účastnících se biosyntézy CoQ10, a metodu přímého sekvenování kódujících sekvencí těchto genů a jim přilehlých intronních oblastí.

Dále se snaží charakterizovat model deficience CoQ10 na in vitro kultivovaných lidských fibroblastech a linii HEK293. Deficience je v tomto případě navozena působením inhibitoru biosyntézy CoQ10 – kyseliny 4-aminobenzoové o koncentraci 1 mmol.dm⁻³ v médiu. Bylo zjištěno, že se po 4denním působení tohoto inhibitoru koncentrace CoQ10 u kultur fibroblastů a linie HEK293 snížila na 60 – 70 % kontroly, resp. 41 % kontroly v případě linie HEK293, přitom nedošlo ke změnám viability buněk ani morfologie mitochondriálních sítí. Zjistili jsme mírné zvýšení přítomnosti reaktivních forem kyslíku po kultivaci s inhibitorem, a to zejména superoxidových radikálů, ovšem ultrastruktura mitochondrií zřejmě zůstala nezměněna. V neposlední řadě se práce věnuje změnám aktivit komplexů dýchacího řetězce a exprese některých podjednotek těchto enzymů v modelových buňkách. Po působení inhibitoru byly naměřeny snížené hodnoty spřažených aktivit komplexů I-III a II-III. Na základě tohoto výsledku můžeme říci, že měření snížené aktivity komplexů I-III a II-III je jedním z možných ověření deficience CoQ10 u pacientů (mimo stanovení koncentrace CoQ10 ve svalu a fibroblastech). Naopak změny v expresi podjednotek OXPHOS na tomto modelu nejsou specifické. Nicméně vytvořený model je vhodný pro další studium deficience CoQ10.