

ABSTRAKT

ATP syntáza je klíčový enzym buněčného metabolismu a defekty ATP syntázy patří k nejzávažnějším mitochondriálním onemocněním postihujícím dětskou populaci. Cílem této práce bylo identifikovat genetické defekty a popsat patogenní mechanismy narušení biosyntézy ATP syntázy, které vedou k izolované deficienci tohoto enzymu a projevují se jako mitochondriální encefalomyopatie s nástupem v novorozeneckém věku. Studie skupiny 25 pacientů vedla k identifikaci dvou jaderných genů zodpovědných za deficienci ATP syntázy.

První postižený gen byl *TMEM70* kódující neznámý mitochondriální protein. Tento protein byl popsán jako nový asemblační faktor ATP syntázy, první specifický pro vyšší eukaryota. Jeho velikost je 21 kDa, nachází se ve vnitřní mitochondriální membráně a není přítomný v tkáních pacientů. Mutace v *TMEM70* genu byla nalezena u 23 pacientů a ukázala se být nejčastější příčinou deficience ATP syntázy. Studie na buněčných kulturách ukázaly, že defekt enzymu vede ke kompenzačně-adaptačnímu zvýšení komplexů IV a III respiračního řetězce způsobenému posttranskripční regulací jejich biosyntézy.

Druhým postiženým genem byl *ATP5E*, který kóduje malou strukturní epsilon podjednotku ATP syntázy. Záměna konzervovaného Tyr12 za Cys způsobuje významný pokles obsahu ATP syntázy, ale zároveň akumulaci hydrofobní podjednotky c. Tento fenotyp byl také vyvolán snížením exprese *ATP5E* genu pomocí RNA interference v HEK293 buněčné linii a ukazuje na regulační roli podjednotky epsilon v biogenezi enzymu. Podjednotka epsilon pravděpodobně ovlivňuje asemblaci a stabilitu katalytické F₁ části enzymu a inkorporaci hydrofobních podjednotek c do F₁-c oligomeru. Mutace v *ATP5E* genu byla nalezena jen u jednoho pacienta a představuje první mutaci v jaderném strukturním genu ATP syntázy.

Tato dizertační práce byla vypracována na oddělení Bioenergetiky ve Fyziologickém ústavu Akademie věd České republiky, v.v.i. ve spolupráci s Klinikou dětského a dorostového lékařství a Ústavem dědičných metabolických poruch 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy.

Klíčová slova: mitochondrie, oxidativní fosforylace, ATP syntáza, mitochondriální onemocnění, mitochondriální biogeneze, asemblační faktor TMEM70.