

Mitochondrie se původně vyvinuly z alfa-proteobakteriálního předka a nyní fungují v eukaryotických buňkách jako hlavní zdroj energie, tedy ATP. Jsou to semiautonomní organely s vlastní DNA, která nese genetickou informaci pro 13 proteinů oxidativní fosforylace, 22 transferových RNA a dvě ribosomální RNA. Za normálních podmínek tvoří mitochondrie síť tubulů, které mohou mezi sebou rovnovážně fúzovat a zase se rozpadat. Mitochondriální poruchy jsou velm heterogenní skupinou nemocí, které je obtížné jak diagnostikovat, tak léčit. To je dáno především složitostí mitochondriální genetiky, která musí kombinovat produkty dvou genomů, složitostí mitochondriální architektury a stále ještě nedostatečnou úroveň dnešního poznání.

V této práci byly zavedeny metody vizualizace mitochondriální sítě, nukleoidů, mitochondriální DNA (mtDNA) různých typů mtRNA a metody pro kvantifikaci mtRNA a mtDNA. Tyto metody byly použity k detekci kvality mitochondriálních nukleových kyselin. Měřili jsme úroveň rozpadu mitochondriální sítě, distribuci nukleoidů a množství mtDNA po inhibici respirace rotenonem nebo po degradaci elektrické složky proton-motivní síly valinomycinem. Na základě našich experimentů jsme vytvořili modely pro indukci dezintegrace mitochondriální sítě. Mitochondrie v kontrolních buňkách měly převážně tubulární charakter s nukleoidy v rozestupech $1,1 \pm 0,2 \mu\text{m}$. Tuto situaci jsme definovali jako nukleoidový kód. Indukovaný rozpad mitochondriálního retikula vedl k rozdělení mitochondrií do různě velkých částí, jež téměř všechny obsahovaly mtDNA. Pouze některé fragmenty měly po jednom nukleoidu a mitochondrie bez nukleoidů nebyly téměř pozorovány. Tyto poznatky potvrzují, že rozpad mitochondriálního retikula probíhá kolem nukleoidů a je tedy nukleoid-centrický. Jako model mitochondriální patologie jsme využili potkany Goto Kakizaki, kteří mají diabetes druhého typu. Objevili jsme významný pokles množství mtDNA v srdečním svalu, játrech a hlavně v pankreatických beta buňkách diabetických potkanů kmene Goto Kakizaki v závislosti na stárnutí. Dále jsme zjistili, že Langerhansovy ostrůvky tohoto potkaního kmene vykazují v porovnání s potkany kmene Wistar slabší odpověď na množství glukózy v médiu. Potvrdili jsme tak úlohu mitochondrií při vzniku a průběhu diabetu druhého typu. Dále jsme vyvinuli metody pro monitorování mitochondriálních nukleových kyselin pro fixované a živé buňky. Zavedení metodiky pro *in situ* a *in vivo* fluorescenční hybridizaci zobrazilo distribuci vybraných mitochondriálních kódujících a nekódujících RNA v rakovinných buňkách HepG2, HeLa a Hek. Také jsme dokázali modifikaci 5S rRNA importovat do mitochondrií krátké RNA sekvence. Obě zavedené techniky mají potenciál být využity v diagnostice poškozené či mutované mitochondriální RNA. V budoucnosti mohou být využity pro posílání delších RNA sekvencí do mitochondrií, aby kompenzovali mutace v mtDNA nebo naopak inhibovali jejich translaci.

Závěrem, bylo vyvinuto a zavedeno několik různých technik pro pozorování odlišných forem mitochondriálních nukleových kyselin, které mohou být potenciálně využívány v klinické diagnostice mitochondriálních poruch.