

Abstrakt:

Komplexy oxidační fosforylace (OXPHOS) vytváří v rámci vnitřní mitochondriální membrány vyšší strukturní a funkční celky, tzv. superkomplexy, které umožňují cílené směrování substrátu z jednoho komplexu na druhý. I ATP synthasa je schopna organizovat se do komplexnějších struktur. V savčích mitochondriích se běžně vyskytuje v dimerní podobě, existují důkazy o její trimerizaci a dokonce i tetramerním uspořádání. Ukazuje se, že dochází i k vzájemnému propojení komponent mitochondriálního fosforylačního aparátu tvořeného ATP synthasou katalyzující fosforylaci ADP na ATP, přenašečem adeninových nukleotidů (ANT) zabezpečujícím výměnu nasyntetizovaného ATP za ADP přes vnitřní mitochondriální membránu a fosfátovým translokátorem (PiC), který umožňuje import anorganického fosfátu (P_i) do matrix mitochondrie. Tyto komponenty by mohly vytvářet superkomplex, tzv. ATP synthasom, který by zvyšoval efektivitu jednotlivých procesů vedoucích k tvorbě ATP.

V této práci byly nejprve sledovány obsahy složek fosforylačního aparátu v souvislosti s rozdílným obsahem ATP synthasy v mitochondriích izolovaných celkem z devíti tkání potkana. Proteiny z izolovaných mitochondrií byly separovány pomocí elektroforéz za denaturujících podmínek (SDS-PAGE) a jejich množství byla analyzována specifickými protilátkami. Podle předpokladů byly obsahy všech tří komponent fosforylačního aparátu i cytochrom *c* oxidasy, reflektující vysoký obsah OXPHOS komplexů, nejvyšší v srdečních a svalových mitochondriích, tedy ve tkáních s vysokými energetickými nároky. Obsahy přenašečů ANT a PiC byly vysoké i v hnědém tuku (HT), a to i přes to, že v HT je obsah ATP synthasy redukován. Je tedy zřejmé, že obsahy přenašečů nejsou závislé na obsahu ATP synthasy, a to jak ve tkáních, tak i u studovaných buněčných kultur lišících se dědičnými poruchami ATP synthasy (mutace v jaderném genu *TMEM70* kódujícím asemblační faktor ATP synthasy, *ATP5E* kódujícím podjednotku $F_1\epsilon$ a v mitochondriálním genu *ATP6* kódujícím podjednotku F_0a). U určitých typů defektů ATP synthasy byl dokonce nalezen zvýšený obsah přenašečů ANT a PiC ve srovnání s kontrolními buňkami.

Vzájemné vztahy mezi komponentami fosforylačního aparátu byly studovány solubilizací mitochondrií jemnými detergenty. Nativními elektroforézami byly potvrzeny vzájemné interakce složek fosforylačního aparátu a existence ATP synthasomu, jehož proteinové složení bylo studováno s využitím dvourozměrných elektroforéz. I výsledky z hmotnostní spektrometrie potvrdily vzájemnou kolokalizaci z nativních elektroforéz a asociaci ATP synthasy, ANT a PiC v rámci ATP synthasomu. Z dosažených výsledků je

však patrné, že se jedná jen o asociaci části obsahu ATP synthasy s částí obsahů přenašečů, jejichž většina se nachází mimo ATP synthasom, zřejmě v dimerických formách.

Klíčová slova: ATP synthasa, ATP synthasom, ANT, hnědá tuková tkáň, elektroforéza, OXPHOS, PiC, solubilizace, superkomplexy, TMEM70