

„Regulacja aktywności systemów rozpraszających energię, oksydazy alternatywnej i białka rozprzęgającego, w mitochondriach ameby *Acanthamoeba castellanii*”

Andrzej Woyda – Płoszczyca

Stypendysta projektu pt. „Wsparcie stypendialne dla doktorantów na kierunkach uznanych za strategiczne z punktu widzenia rozwoju Wielkopolski”, Poddziałanie 8.2.2 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

W pracy doktorskiej, na przykładzie izolowanych mitochondriów ameby *Acanthamoeba castellanii*, opisano potranslacyjną regulację aktywności oksydazy alternatywnej (AOX) oraz białka rozprzęgającego (UCP). AOX i UCP należą do systemów rozpraszających energię, ponieważ obniżają wydajność fosforylacji oksydacyjnej w mitochondriach. Fosforylacja oksydacyjna to złożony proces prowadzący do intensywnej syntezy ATP, związku chemicznego będącego nośnikiem energii we wszystkich znanych organizmach. Dodatkowo regulację aktywności AOX zbadano w izolowanych mitochondriach śluzowca *Dictyostelium discoideum* oraz drożdży *Candida maltosa*. Zarówno aktywność AOX mikroorganizmów eukariotycznych (pierwotniaków i grzybów), jak i aktywność UCP wszystkich eukariontów, jest pod kontrolą nukleotydów purynowych (PNs). Ogólnie mówiąc, PNs są aktywatorami AOX oraz inhibitorami UCP. Stopień aktywacji czy też hamowania systemów rozpraszających energię zależy od stopnia ufosforylowania nukleotydu, a także od rodzaju zasady azotowej (adeniny lub guaniny) wchodzącej w skład nukleotydu.

Mechanizmy regulacji AOX i UCP, które ustalono w trakcie realizacji pracy doktorskiej przedstawiają się następująco:

W przypadku AOX po raz pierwszy wykazano, że:

1. ATP jest allosterycznym inhibitorem AOX u trzech różnych mikroorganizmów eukariotycznych, tj. u *A. castellanii*, *D. discoideum* i *C. maltosa*.
2. AOX *A. castellanii* (AcAOX) wykazuje różne powinowactwo do PNs (oprócz ATP) jako stymulatorów (GMP>GDP>GTP>AMP>ADP).

3. Nukleotydy purynowe (ATP i GMP) w izolowanych mitochondriach *A. castellanii*, *D. discoideum* i *C. maltosa* oddziałują z AOX na zasadzie wzajemnego wykluczania się ligandów (ang. *mutual exclusion*).

W przypadku UCP po raz pierwszy wykazano, że:

1. UCP *A. castellanii* (AcUCP) wykazuje różne powinowactwo do PNs jako inhibitorów (GTP>ATP>GDP>ADP>>GMP>ADP).
2. Zredukowana forma koenzymu Q (ubichinol) funkcjonuje jako negatywny regulator hamowania aktywności AcUCP przez GTP. Ubichinol oraz GTP oddziałują z AcUCP na zasadzie kompetycji.
3. Anionorodnik nadadtlenkowy ($O_2^{\cdot-}$) nie wpływa bezpośrednio na aktywność AcUCP.
4. W izolowanych fosforylujących i niefosforylujących mitochondriach *A. castellanii* 4-hydrokso-2-nonenal (HNE), produkt końcowy procesu peroksydacji lipidów błonowych, stymuluje przeciek protonów wrażliwy na GTP, a więc aktywność AcUCP.

Wyniki te znacznie poszerzają obecną wiedzę o mechanizmach regulacji aktywności AOX i UCP w mitochondriach jednokomórkowych eukariontów oraz przybliżają wyjaśnienie funkcji fizjologicznej tych białek u innych organizmów.