

Streszczenie pracy doktorskiej – Rafał Hołubowicz

Domena C1q otoliny-1 człowieka i danio przegowanego – relacje struktura-funkcja

Otolina-1 jest białkiem podobnym do kolagenu ulegającym ekspresji wyłącznie w uchu wewnętrznym kręgowców. Dostarcza ona organicznego rusztowania rybnich otolitów i otokoniów kręgowców lądowych, które są biominerałami zawierającymi węglan wapnia zaangażowanymi w odczuwanie przyspieszenia liniowego. W pracy, po raz pierwszy opracowano procedury ekspresji i oczyszczania domeny C1q otoliny-1 danio przegowanego i człowieka. Pozwoliło to na zbadanie struktury i własności tych białek. Zaobserwowano znaczące różnice między białkami rybnymi a ssaczymi. Wyniki eksperymentów ultrawirusowego i małokątowego rozpraszania rentgenowskiego wykazały, że domena C1q otoliny-1 tworzy trimery w roztworze zawierającym jony wapnia. W roztworze wolnym od jonów wapnia domena C1q występuje w równowadze między monomerem, a trimerym o wysokiej szybkości asocjacji i dysocjacji. Zaobserwowano również silny wpływ jonów wapnia na strukturę drugorzędową i stabilność domeny C1q. Białko ludzkie było szczególnie wrażliwe na obecność jonów wapnia. Zawarte w pracy obserwacje wskazują, że domena C1q może wspomagać tworzenie trimerów przez otolinę-1. Wpływ jonów wapnia na strukturę i stabilność domeny C1q wskazuje na ważną rolę tych jonów dla poprawnego tworzenia macierzy organicznej otolitów i otokoniów. Przeprowadzono ponadto wstępne badania aktywności biomineralizacyjnej oraz oddziaływań domeny C1q z białkiem Starmaker. Destabilizacja macierzy organicznej, która mogłaby być spowodowana przez zmiany w składzie endolimfy wywołane starzeniem, lekami ototoksycznymi lub chorobami, może ułatwiać rozpuszczanie otokoniów, ich uwalnianie z membrany otokonialnej i być przyczyną łagodnych napadów zawrotów głowy (BPPV).

Rafał Hołubowicz

C1q domain of otolin-1 from human and zebrafish– structure-function relationship

Otolin-1 is a collagen-like protein expressed exclusively in the inner ear of vertebrates. It provides an organic scaffold for fish otoliths and otoconia of land vertebrates, which are calcium carbonate biominerals involved in sensing of linear acceleration. In this study, for the first time, the expression and purification procedures of C1q domain of otolin-1 from human and zebrafish were developed. This allowed to examine the structure and properties of the proteins. The results of sedimentation velocity analytical ultracentrifugation and small angle X-ray scattering indicated that the C1q domain of otolin-1 forms trimers in solution in the presence of calcium ions. In the absence of calcium ions, C1q domain exists in a monomer-trimer equilibrium with high association and dissociation rates. It was also observed that calcium ions strongly influenced the secondary structure and stability of the proteins. The human variant was particularly sensitive to the calcium ions. Observations collected in this work indicate that C1q domain may facilitate formation of otolin-1 trimers. Influence of calcium ions on the structure and stability of C1q domain indicates the importance of the C1q domain for the assembly of the organic matrix of otoliths and otoconia. Biomineralization activity and interactions of C1q domain with Starmaker protein were preliminarily explored. Destabilisation of the organic matrix, which could be induced by changes in endolymph composition caused by aging, ototoxic drugs or disease, may facilitate dissolution of otoconia, their release from the otoconial membrane and contribute to benign paroxysmal positional vertigo (BPPV).