

Otolina-1 – białko biomineralizacji ludzkich otokoniów i rybich otolitów

Biomineralizacja jest procesem podlegającym ścisłej kontroli fizjologicznej, w wyniku którego organizmy żywe wytwarzają struktury mineralne pełniące różnorodne funkcje. Interesującymi strukturami biomineralnymi występującymi wśród kręgowców są otolity i otokonia – zbudowane z biogenicznego węglanu wapnia sensory grawitacji i przyspieszenia liniowego, zlokalizowane w uchu wewnętrznym. Otolity i otokonia posiadają poniżej 10% macierzy organicznej, której składniki białkowe odgrywają kluczową rolę w ich postawaniu. Jednym ze składników macierzy organicznej ludzkich otokoniów i rybich otolitów jest otolina-1 - białko podobne, chociaż krótsze, do kolagenu należące do nadrodziny białek C1q. Otolina-1 jest otokoniną specyficzną dla ucha wewnętrznego, której rola biologiczna została nakreślona m.in. w badaniach nad *Danio rerio*, słodkowodnej ryby będącej organizmem modelowym m.in. chorób ucha człowieka. Molekularne podstawy działania poszczególnych składników macierzy organicznej otolitów i otokoniów są niezbędne do poznania mechanizmów ich mineralizacji oraz chorób związanych z uchem wewnętrznym, takich jak łagodne położeniowe zawroty głowy.

Celem pracy doktorskiej było dokonanie analizy porównawczej otoliny-1 z *Danio rerio* oraz *Homo sapiens*, skupiając się na badaniach nad właściwościami molekularnymi białek w obecności naturalnego liganda – jonów wapnia, oraz poznania ich roli w eksperymentach bioinspirowanej mineralizacji węglanu wapnia *in vitro*. Część pracy skupiała się na analizie proteomu otolitów *Cyprinus carpio* oraz kopalnych otolitów *Gadiculus argenteus*. Opracowanie metody nadekspresji i oczyszczania rekombinowanej otoliny-1 pozwoliły na przeprowadzenie analizy strukturalno-funkcjonalnej białek. Pomimo wysokiego podobieństwa sekwencji aminokwasowych i struktury drugorzędowej otoliny-1 z *Danio rerio* i *Homo sapiens*, przekładających się na ogólne własności badanych białek, szczegóły relacji struktura-funkcja mogą być kluczowe dla zrozumienia ich roli w mineralizacji otolitów oraz otokoniów. Wykazano, że obecność jonów wapnia stabilizuje termicznie otolinę-1 oraz wpływa na tworzone przez nią oligomery. Przeprowadzone analizy wskazują, że niższe stężenia jonów wapnia wywierają silny wpływ na otolinę-1 z *Homo sapiens*, w odróżnieniu od otoliny-1 z *Danio rerio* modulowanej wyższymi stężeniami jonów wapnia. W pracy zaprezentowano częściowy, niskorozdzielczy obraz 3D otoliny-1 z *Danio rerio* uzyskany z użyciem mikroskopii krioelektronowej. W wyniku eksperymentów bioinspirowanej mineralizacji węglanu wapnia w obecności otoliny-1 zaproponowano rolę białka związaną z nukleacją oraz selektywną inhibicją budowania ścian kryształów z jednoczesnym indukowaniem powstawania kolejnych płaszczyzn mineralizacji. Zjawisko to jest szczególnie widoczne dla homologa z *Danio rerio*. W wyniku badań proteomicznych otolitów *Cyprinus carpio* zidentyfikowano białka będące potencjalnymi izoformami otoliny-1. Z kolei analiza proteomu kopalnych otolitów *Gadiculus argenteus* wykazała obecność dwóch białek lub ich fragmentów zachowanych w otolitech datowanych na epokę pliocenu.