

Warszawa, 26/09/2025

Autor rozprawy doktorskiej: ...Luca Gessa..

Promotor: **prof. dr hab. inż.** / **prof. dr hab. Maciej Wojtkowski** /
dr hab., profesor instytutu / **dr hab.**

*Drugi promotor (*ewentualnie, tylko w przewodach doktorskich):

.....

Promotor pomocnicy:**Humberto Fernandes**

Temat rozprawy doktorskiej: ... **Structural characterization and conformational changes of RBP3**

Streszczenie

Wzrok, prawdopodobnie najważniejszy zmysł w ludzkim życiu to niezwykle złożony proces, który wymaga ścisłej koordynacji wszystkich tkanek, komórek i biocząsteczek oka. Siatkówka, która jest położona w tylnej części oka, to obszar, w którym bodziec świetlny jest przekształcany w impulsy elektryczne, które mózg może interpretować. Szlak biochemiczny, odpowiedzialny za ten kluczowy proces zachodzący w fotoreceptorach, znany jest jako kaskada fototransdukcji. Proces ten zachodzi, gdy foton uderza w chromofor 11-cis retinalu związany z rodopsyną, powodując przekształcenie 11-cis retinalu w retinal all-trans, co ostatecznie prowadzi do aktywacji enzymu PDE6, hiperpolaryzacji i wydłużenia fotoreceptorów. Aby utrzymać funkcję widzenia, ten szlak biochemiczny wymaga stałego uzupełniania chromoforu. Funkcja ta jest zapewniana przez cykl wzrokowy retinoidów, który zachodzi pomiędzy nabłonkiem barwnikowym siatkówki a fotoreceptorami, poprzez macierz międzyfotoreceptorową (ang. Interphotoreceptor Matrix). W macierzy międzyfotoreceptorowej znajduje się białko znane jako RBP3, które bierze udział w transporcie 11-cis retinalu i innych cząsteczek retinoidów pomiędzy fotoreceptorami a nabłonkiem barwnikowym siatkówki. U ssaków białko RBP3 składa się z pojedynczego łańcucha peptydowego o długości około 1300 aminokwasów. Ponieważ gen RBP3 uległ czterokrotnej replikacji, w obrębie pojedynczego łańcucha peptydowego możliwe jest zidentyfikowanie czterech homologicznych powtórzeń znanych jako moduły. Każdy z modułów reprezentuje jednostkę funkcjonalną zdolną do wiązania retinoidów. Pomimo ważnej roli ochronnej białka RBP3 w fizjologii siatkówki, jak

również zdolności do wiązania retinoidów, właściwa charakterystyka strukturalna RBP3 pozostaje nieuchwytna.

Celem pracy jest przedstawienie struktury białka RBP3 o wysokiej rozdzielczości, umożliwiającej określenie mechanizmu, dzięki któremu białko RBP3 jest w stanie utrzymać zdrową siatkówkę. Aby osiągnąć ten cel, zastosowano dwie strategie. W pierwszej kolejności pełnej długości białko RBP3 zostało zbadane za pomocą CryoEM, w celu uzyskania struktury o wysokiej rozdzielczości dla całej architektury białka. Wysoka elastyczność białka RBP3 pozwala na jego zmiany konformacyjne, a rozpraszanie promieni rentgenowskich pod małymi kątami zostało wykorzystane do określenia związku między wiązaniem ligandu a zmianami konformacyjnymi w roztworze. Ze względu na dużą masę molekularną oraz elastyczność RBP3 nie zostały podjęte próby jego krystalizacji. Zastosowano też drugie podejście, które polegało na produkcji rekombinowanych, skróconych wersji białka (. jego poszczególnych modułów) do krystalizacji w kompleksie z ligandem w celu identyfikacji miejsc wiązania retinoidu.