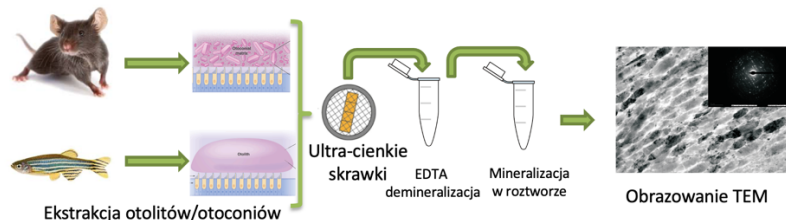


Model *in vitro* bazujący na natywnej macierzy organicznej do badania roli makrocząsteczek w mineralizacji i regeneracji otolitów i otokoniów ucha wewnętrznego.

Otolity i otokonia są biominerałami znajdującymi się w uchu wewnętrznym kręgowców odpowiedzialnymi za odczuwanie równowagi i orientacji w przestrzeni. Zwyródnienie lub przemieszczenie otokonii jest powszechnym zaburzeniem równowagi związanym z wiekiem, zwanym łagodnym położeniowym zawrotem głowy (ang. *benign paroxysmal positional vertigo* – BPPV). Ponadto powszechnie stosowane leki, takie jak antybiotyki aminoglikozydowe, mogą prowadzić do uszkodzenia struktury i funkcji otokoniów. Problemy z układem przedsionkowym, takie jak BPPV, notuje się u około 9% osób w wieku 65 lat lub starszych, ponadto upadki związane z zaburzeniami równowagi stanowią ponad połowę przypadkowych zgonów wśród osób starszych. Pomimo znaczenia klinicznego zebrano stosunkowo niewiele wiadomości na temat mechanizmów kontrolujących i utrzymujących krystalizację otokoniów.

Celem projektu jest zrozumienie molekularnych mechanizmów kontrolujących biomineralizację otolitów i otokoniów ucha wewnętrznego, aby opracować nowatorskie metody regeneracji tych biominerałów.

Motywacja do podjęcia badań: Większość badań nad mineralizacją otolitów/otokoniów opiera się na nadmiernie uproszczonych testach mineralizacji *in vitro*, gdzie brak natywnego kontekstu makrocząsteczkowego. W ramach tego projektu zostanie opracowany nowatorski model *in vitro* oparty na natywnej macierzy organicznej (ang. *native organic matrix*, NOM). Umożliwi to zbadanie izolowanych czynników molekularnych, przy zachowaniu natywnego kontekstu, a jednocześnie zmniejszeniu złożoności systemu związanej z badaniami *in vivo*. W modelu NOM zastosowane zostaną ultracienkie skrawki otolitów/otokoniów, które umożliwią analizę ultrastruktury kryształów i macierzy organicznej za pomocą transmisyjnej mikroskopii elektronowej (TEM). Skrawki zostaną ponownie zmineralizowane *in vitro* w celu przetestowania różnych czynników kontrolujących ich powstawanie (patrz rysunek poniżej).



Opis badań: W tym projekcie zostanie przeprowadzona kompleksowa analiza macierzy organicznej otokoniów i otolitów, aby zidentyfikować główne modyfikacje potranslacyjne i porównać ich skład. Otokonia i otolity zbudowane są z macierzy organicznej (1-10%) i kryształów węgla wapnia. Macierz organiczna (białka, sacharydy) kontroluje wielkość, kształt i morfologię kryształu. Większość białek otolitów/otokoniów jest w znacznym stopniu modyfikowana potranslacyjnie. Głównymi modyfikacjami są fosforylacja, glikozylacja i przyłączanie glikozaminoglikanów (GAG), ale ich rola w mineralizacji jest niejasna, pomimo ich znaczącej ilości.

Model NOM zostanie wykorzystany do zbadania roli modyfikacji potranslacyjnych, roli wysoce kwaśnych, inherentnie nieuporządkowanych białek (ang. *intrinsically disordered proteins*, IDPs) oraz testowania ototoksyczności antybiotyków w mineralizacji otolitów i otokoniów.

Na podstawie wyników eksperymentów otrzymanych w tym projekcie zostaną zaproponowane makrocząsteczki mogące służyć do regeneracji otokoniów. Stawiamy hipotezę, że GAG i kwaśne IDP modulowane przez fosforylację mogą sprzyjać zarodkowaniu i mogą być stosowane w strategiach regeneracji. Wypreparowane całe otokonia myszy poddane częściowemu rozpuszczeniu zostaną poddane remineralizacji w obecności GAG i kwaśne IDP o zdolnościach do promowania krystalizacji, aby sprawdzić, czy mogą indukować regenerację otokoniów *in vitro*.

Spodziewane efekty: Długoterminowym efektem tego projektu będzie opracowanie strategii leczenia dysfunkcji układu przedsionkowego człowieka oraz strategii ochronnych przed ototoksycznością antybiotyków. Bezpośrednim rezultatem tego projektu będzie lepsze poznanie kluczowych czynników molekularnych, wpływających na mineralizację otolitów/otokoniów w organizmach modelowych oraz zaproponowanie nowych strategii regeneracji otokoniów.