

## Povzetek

Skeletna mišica je natančno regulirana enota številnih manjših gradnikov, ki z medsebojnim sodelovanjem omogočajo njeno primarno funkcijo - gibanje. Sestavljena je iz ponavljajočih izotropnih in anizotropnih pasov, kar ji daje prečnoprogast videz. Pri tem najkrajša ponavljajoča enota, imenovana sarkomera, z aktinom in miozinom ter ostalimi proteini tvori sarkomerni citoskelet. Sarkomera je na obeh koncih omejena z Z-diski, ki služijo kot pretvorniki nastale natezne sile.

Eno izmed komponent Z-diska predstavljajo aktin-vezavni proteini iz družine miotilin/miopaladin/paladin. V doktorski disertaciji smo se osredotočili na protein miotilin in s strukturnega vidika opisali njegove lastnosti v nevezani in vezani obliki pri interakciji z aktinom. Domene Ig miotilina, po napovedi edini strukturiran del molekule, so odgovorne za vezavo na aktin. Z metodo ozkokotnega sipanja rentgenske svetlobe (SAXS) in simulacijami molekularne dinamike smo pokazali, da so domene Ig v prosti obliki pretežno v pol-iztegnjeni orientaciji, vendar kažejo mero konformacijske fleksibilnosti. Ta je pomembna pri izbiri ustrezne orientacije ob vezavi na aktin po principu inducirane prilaganja.

S komplementarnimi metodami strukturne biologije in biokemije smo potrdili interakcijo med miotilinom ter G- in F-aktinom *in vitro* ter določili vezavni mesti na obeh strukturnih partnerjih. Določili smo konstante disociacije za različne skrajšane oblike miotilina tako z G-, kot tudi z F-obliko aktina in pokazali, da je afiniteta vezave miotilina na F-aktin ( $9.2 \pm 1.0 \mu\text{M}$ ) večja kot na G-aktin ( $89 \pm 10 \mu\text{M}$ ), ključno mesto interakcije pa predstavlja domena Ig2. Z mutiranimi oblikami miotilina smo uspeli afiniteto interakcije zmanjšati za 70 % in tako potrdili predhodno določeno mesto vezave. Na osnovi eksperimentalnih podatkov smo z molekularnim umeščanjem naredili model kompleksa miotilin : F-aktin, pri čemer se domeni Ig vežeta na subdomeni 1 aktinskega dimera, kar vodi v stabilizacijo obeh partnerjev.

V sledečih eksperimentih smo uspeli pokazati, da domene Ig miotilina vplivajo tudi na dinamiko aktina, saj povečajo stopnjo polimerizacije in znižajo nivo depolimerizacije aktinskega filameta, kar izhaja iz načina vezave in posledične stabilizacije.

S študijami na celičnih linijah C2C12 in A7r5 smo potrdili interakcijo in vezavno mesto *in vivo*, FRAP eksperimenti pa so pokazali, da je dinamičnost mutantov večja v primerjavi z divjim tipom. Pridobljeni rezultati ponujajo prvi strukturni vpogled v interakcijske značilnosti miotilina in natančen opis vezave domen Ig na aktinski filament. Poleg tega so temelj za nadaljevanje raziskav, ki vključujejo vlogo miotilina pri preoblikovanju tkiva po poškodbi in posledično razumevanja mehanizmov delovanja celotne sarkomere.

**Ključne besede:** skeletna mišica, Z-disk, miotilin, aktin, domene Ig, SAXS, FRAP.