

II.OBJECTIUS

L'objectiu principal d'aquesta tesi és aprofundir en l'estudi estructural de la rodopsina per tal d'assolir un coneixement més profund de la relació estructura-funció de la proteïna i del mecanisme que causa malalties dependents de mutacions com la retinosi pigmentària i la ceguesa nocturna congènita. S'estableixen, així 2 objectius principals:

1-Estudiar l'efecte de determinats factors externs, com ions metàl·lics, l'entorn lipídic i la temperatura en l'estabilitat de la rodopsina i del seu cromòfor.

2-Elucidar com afecten a l'estabilitat i la conformació de la rodopsina mutacions puntuals associades a la ceguesa nocturna congènita i la retinosi pigmentària; i a la xarxa electrostàtica present entre la part citoplasmàtica de les hèlices 3 i 6.

Per assolir aquests objectius generals es plantegen una sèrie d'objectius específics.

1-Determinar l'efecte del zenc en l'estabilitat de la conformació activa i inactiva de rodopsina nativa.

2- Estudiar l'efecte de la temperatura en l'11-*cis*-retinal unit a rodopsina.

3-Determinar l'efecte de l'entorn lipídic en l'estabilitat de la rodopsina i de diferents intermediaris de fotoactivació variant la concentració del detergent dodecil maltòsid, utilitzat en la purificació de la rodopsina.

4-Construir i expressar els mutants de la ceguesa nocturna congènita, T94I, i de la retinosi pigmentària, L46R i analitzar espectroscòpicament el seu efecte en l'estabilitat de la rodopsina.

5-Construir, expressar i analitzar espectroscòpicament l'efecte en rodopsina dels mutants senzills, dobles i triples en les posicions 134, 247 i 251 que juguen un paper en la xarxa electrostàtica existent entre la part citoplasmàtica de les hèlices 3 i 6, i elucidar la seva importància en l'estructura i estabilitat de la rodopsina.