

Kaskady kinaz MAP są jednym z głównych szlaków sygnalizacyjnych uruchamianych w warunkach stresu biotycznego i abiotycznego. Pomimo, że kinazy MAPKKK tworzą największą grupę kinaz MAP u *Arabidopsis thaliana*, do tej pory zaledwie kilku jej przedstawicieli powiązano z konkretnymi biologicznymi procesami lub kaskadami sygnałowymi. Kwas abscysynowy (ABA) jest jednym z kluczowych hormonów roślinnych. Jego funkcja jest związana z wieloma ważnymi procesami rozwojowymi i fizjologicznymi roślin, w tym z adaptacją do stresów abiotycznych, i biotycznych. Ważnymi elementami sygnalizacji ABA są kinazy i fosfatazy białkowe. Fosfatazy białkowe typu 2C grupy A, a szczególnie fosfataza białkowa ABI1 (ang. ABA-Insensitive 1), są kluczowymi efektorami sygnalizacji kwasu abscysynowego. ABI1 jest negatywnym regulatorem sygnalizacji ABA i stanowi jeden z podstawowych elementów koreceptora ABA. Niemniej jednak, niewiele wiadomo o roli kinaz MAP, a w szczególności MAPKKK w tejście sygnalizacyjnej. Wyniki dotychczas przeprowadzonych badań wskazują, że MAPKKK18 jest kinazą aktywowaną przez ABA. Ponadto, wykazano zmiany poziomu transkryptu dla MAPKKK18 w roślinach bezdechowych nokautami w genie ABI1. Dlatego też postanowiliśmy zbadać, czy MAPKKK18 oddziałuje z fosfatazą białkową ABI1. Na podstawie wyników wykonanych w tym celu wdrożonego systemu dwuhybrydowego, a także w tym celu metod pull-down i BIFC stwierdzono, że fosfataza białkowa ABI1 oddziałuje z MAPKKK18. W związku z wcześniejszymi badaniami naszej grupy, dokumentujemy również, że defosforylacja syntazy ACC typu I (ACS6) oraz defosforylacja syntazy ACC typu III (ACS7) przez ABI1 kieruje wspomniane białka do degradacji przez proteasom 26S, analizowano także czy ABI1 również reguluje stabilność MAPKKK18. W tym celu przeprowadzono analizę pozakomórkowej degradacji MAPKKK18 metodą *in vitro*. Otrzymane wyniki dokumentują, że stabilność białka MAPKKK18 jest regulowana zarówno przez ABI1, jak i proteasom 26S. Jednakże, dokładny mechanizm degradacji MAPKKK18 wymaga wyjaśnienia.

Prezentowany projekt koncentruje się na poznaniu molekularnych mechanizmów przekazywania zewnątrzkomórkowych sygnałów z udziałem efektorów ABA. Integralną częścią tych mechanizmów jest degradacja białek przez proteasom 26S. Efektory ABA, w tym kinazy indukowane przez ABA, jak również inne białka podlegają degradacji przez UPS. Dlatego też analiza szczegółowych mechanizmów degradacji regulatorów sygnalizacji ABA jest zatem niezwykle ważna dla poznania sposobów regulacji tejście sygnalizacji hormonalnej. Najnowsze dane literaturowe wskazują na niezmiernie istotną rolę ABI1 w kierowaniu białek do degradacji przez proteasom 26S. Dlatego w ramach niniejszego projektu będziemy analizować dwa niezwykle istotne molekularne aspekty degradacji MAPKKK18. Jednym z nich jest poznanie mechanizmu degradacji MAPKKK18, a w szczególności poznanie ligazy Ub E3 specyficznie modyfikującej MAPKKK18, a także reszt lizyny bezdechowych miejscem poliubikwitynacji MAPKKK18. Badania prowadzone w ramach niniejszego projektu dostarczą nowatorskich i oryginalnych wyników, które przyczynią się do zrozumienia mechanizmu usuwania poszczególnych efektorów ABA z komórki. Innym przewidywanym rezultatem tych badań jest poszerzenie wiedzy na temat kompleksów białkowych, molekularnych podstaw oddziaływań między białkowymi oraz sieci oddziaływań między białkami. Ponieważ wiadomo, że kluczowe elementy systemów biologicznych są reprezentowane przez złożone, specyficzne lub niespecyficzne oddziaływania między cząsteczkami, informacje uzyskane podczas realizacji tego projektu, umożliwią lepsze zrozumienie funkcjonowania organizmów roślinnych.