

RNA kodujące białka (mRNA) ulegają w przeważającej większości ko-transkrypcyjnym procesom dojrzewania m.in.: czapeczkowaniu końca 5', splicingowi oraz poliadenylacji końca 3', co umożliwia ich efektywny i szybki transport do cytoplazmy, gdzie informacja w nich zawarta zostanie odczytana w procesie translacji. Zazwyczaj czas jaki upływa od syntezy transkryptu pre-mRNA do powstania białka w cytoplazmie jest krótki i trwa kilka lub kilkanaście minut. Jeszcze do niedawna sądzono, że na ekspresję danego genu wpływa głównie poziom syntezy transkryptu, jego stabilność (półokres trwania mRNA na terenie cytoplazmy) i czas występowania w komórce produktu finalnego – białka. Pomimo to nieliczne badania wykazały, że w wielu typach komórek obserwuje się, że znaczna część poliadenylowanych transkryptów zostaje zatrzymana na terenie jądra i nie jest wykrywana na terenie cytoplazmy nie ulegając tym samym natychmiastowej translacji po syntezie. Ponieważ pre-mRNA jest poddawane modyfikacjom jeszcze w trakcie trwania syntezy RNA (ko-transkrypcyjnie), w pełni dojrzałe mRNA może powstać w stosunkowo krótkim czasie. Zatem ten długi okres retencji jądrowej sugeruje, że jądro pełni dodatkową wcześniej pomijaną rolę. Badania dotyczące jądrowej retencji mRNA wskazują, że ma ona znaczący wpływ na poziom ekspresji genów, poprzez regulację eksportu i opóźnienie translacji co pozwala na syntezę określonych białek w ściśle kontrolowanym czasie i warunkach.

Regulację ekspresji genów poprzez jądrową retencję mRNA wykazano m.in. w komórkach wydzielniczych, w komórkach generatywnych i różnicujących się czy też w komórkach poddanych stresowi. Okazało się jednak, że transkrypty te mogą być zatrzymane w różnej formie zarówno dojrzałego mRNA jak i pre-mRNA. Niektóre typy mRNA mogą dodatkowo posiadać sekwencje regulujące transport z jądra do cytoplazmy obecne w regionach mRNA nie ulegających translacji – 5' UTR i 3' UTR. Przypuszcza się też, że na terenie jądra występują czynniki retencji jądrowej, które wchodząc w kompleks z mRNA blokują możliwość przyłączenia czynników eksportowych. Sugeruje się, że duży wpływ na retencję mRNA mogą mieć czynniki splicingowe tworzące wczesny kompleks spliceosomu.

Jeszcze mniej wiadomo na temat przestrzennej organizacji tego procesu w jądrze. Jak dotąd jedynymi opisanymi domenami, związanymi z akumulacją poliadenylowanych transkryptów są jądrowe speckles. Jednak zakumulowane na terenie tych struktur transkrypty nie wydają się być eksportowane do cytoplazmy. W mikrosporocytach modrzewia podczas diplotenu profazy pierwszej podziału mejotycznego zaobserwowaliśmy kumulację mRNA na terenie jądra w ciałach jądrowych – tzw. ciałach Cajala (CB). Jest to pierwsze takie doniesienie, nie opisywane wcześniej w komórkach eukariotycznych. Domeny te „zatrzymują” poliadenylowane transkrypty przez bardzo długi okres. CB są strukturami konserwowanymi ewolucyjnie, występującymi zarówno w komórkach zwierzęcych jak i roślinnych. Są one zaangażowane w wiele procesów związanych z metabolizmem różnych typów RNA m.in.: z dojrzewaniem i montażem snRNP, rekrutacją i montażem systemu dojrzewania rybosomalnego RNA, dojrzewaniem tRNA i mRNA histonów, syntezą telomerów czy systemem miRNA i siRNA. CB są strukturami samoorganizującymi, powstającymi na lokalne potrzeby wzmożonego metabolizmu określonych typów RNA. Montaż podjednostek spliceosomalnych jest możliwy na terenie nukleoplazmy jednak wykazano, że proces odbywa się z ponad 30-krotnie większą wydajnością na terenie CB. Komórki o niskim metabolizmie np. fibroblasty nie posiadają CB. Zablockowanie koiliny – białka markerowego tych ciał – w komórkach o wysokim metabolizmie tj. komórki generatywne czy embrionalne, powoduje rozpad CB i prowadzi do śmierci tych komórek.

Niezwykle interesujące zatem wydaje się obserwacja retencji mRNA w tych dynamicznych strukturach, niezbędnych w procesach modyfikacji różnych typów RNA.

W projekcie tym chcemy wyjaśnić:

- (1) jakie transkrypty ulegają retencji w CB,**
- (2) jaki mechanizm/lub mechanizmy są odpowiedzialne za retencję mRNA na terenie CB,**
- (3) zbadać, ekspresja których genów regulowana jest poprzez jądrową retencję mRNA.**

Do realizacji tych celów posłużą nam: laserowa mikrodysekcja, analiza transkryptomu mikrosporocytów modrzewia (analiza funkcji i sekwencji transkryptów), analiza proteomiczna białek obecnych w cytoplazmie mikrosporocytów, techniki bioobrazowania *in situ* i *in vivo* na poziomie pojedynczych cząsteczek RNA, oraz technika PLA.

Sądzymy, iż retencji mogą ulegać zarówno transkrypty genów związanych z podziałem mejotycznym jak i transkrypty genów metabolizmu podstawowego. Poznanie tego zjawiska znacząco poszerzy dotychczasową wiedzę na temat procesów **po-transkrypcyjnej regulacji genów, roli ciał Cajala w metabolizmie RNA i mechanizmów zaangażowanych w dojrzewanie komórek linii generatywnej u roślin**. Wzbogacą one aktualną wiedzę z zakresu biologii komórki, jak i biologii rozwoju.