

Stresy środowiskowe są jednym z najważniejszych czynników mających wpływ na wzrost i rozwój roślin. Poznanie mechanizmów regulujących odpowiedź roślin na stresy środowiskowe może przyczynić się do stworzenia odmian roślin odpornych na niekorzystne warunki zewnętrzne i tym samym mieć ogromny wpływ na rolnictwo. Nowe badania mogą dostarczyć nowych strategii umożliwiających ulepszenie ważnych ekonomicznie roślin. Obszarem badań, którego potencjał nie został jeszcze w pełni wykorzystany w rolnictwie jest epigenetyka. Jednym z najważniejszych zjawisk epigenetycznych jest metylacja DNA, a ostatnie badania pokazują, że może ona być ważnym mechanizmem nabywania tolerancji na niekorzystne warunki środowiskowe.

W ostatnich latach zjawisko metylacji DNA jest szeroko badane. Ciągłe jednak zbyt mało wiemy o mechanizmach, które umożliwiają powstawanie nowych i specyficznych zmian metylacyjnych w konkretnych miejscach w genomie. Obecnie przyjmuje się, że za indukcję zmian w metylomie odpowiedzialne są małe RNA, które mogą indukować zachodzenie metylacji DNA w specyficznych loci za pomocą mechanizmu zwanego RNA-zależną metylacją DNA (ang. RNA-directed DNA methylation - RdDM). Dzięki podjętym w ostatnich latach badaniom na roślinie modelowej *Arabidopsis thaliana*, znacząco zwiększył się poziom wiedzy na temat procesu RNA-zależnej metylacji DNA. Wciąż jednak mało jest danych na temat roli tego procesu w odpowiedzi na stresy abiotyczne. Celem prezentowanego projektu jest analiza dynamiki zmian metylomu *Arabidopsis thaliana* pod wpływem stresu cieplnego oraz zbadanie czy zmiany te są ściśle związane z ekspresją małych RNA. Nasza hipoteza badawcza zakłada, że znaczna część zmian powstających w metylomie pod wpływem stresu jest indukowana za pomocą małych RNA na drodze RdDM.

W celu analizy zależności pomiędzy ekspresją małych RNA oraz metylacją DNA w warunkach stresu przeprowadzony zostanie eksperyment stresu cieplnego na modelowym gatunku roślin *Arabidopsis thaliana*, podczas którego mierzony będzie poziom metylacji DNA oraz ekspresji małych RNA w siedmiu punktach czasowych obejmujących trzy kluczowe etapy: w warunkach kontrolnych, w trakcie stresu oraz po ustąpieniu stresu. DNA oraz RNA zostaną pobrane z liści analizowanych roślin a następnie poddane sekwencjonowaniu z wykorzystaniem platformy Illumina HiSeq 1500. Dane zostaną przeanalizowane za pomocą dostępnego oprogramowania oraz własnych skryptów i programów przygotowanych na potrzeby realizacji projektu.

Podejście zaproponowane przez nas pozwoli odpowiedzieć na pytania o to, jak regulowana jest odpowiedź epigenetyczna pod wpływem warunków stresowych. Analizy uwzględniające wiele punktów czasowych pozwolą poznać dynamikę zmian i określić szybkość odpowiedzi roślin na niekorzystne czynniki. Jednoczesne analizy metylomu i poziomu ekspresji małych RNA pozwolą znaleźć zależności pomiędzy wzrostem ekspresji konkretnych cząsteczek RNA a pojawianiem się metylacji DNA w miejscach w genomie do nich komplementarnych. Wyniki uzyskane w ramach prezentowanego projektu przyczynią się do lepszego zrozumienia odpowiedzi roślin na warunki stresowe oraz pełniejszego poznania mechanizmu RNA-zależnej metylacji DNA, a także wniosą duży wkład w rozwój tej dziedziny badań.