

### **Popularno-naukowe streszczenie**

Cząsteczki mikroRNA (miRNA) są kluczowymi regulatorami wyrażania się genów, w roślinach biorą udział w kontroli ważnych procesów rozwojowych, a także w odpowiedzi rośliny na stresy środowiskowe. MikroRNA są negatywnymi regulatorami wyrażania się genów i zwane są często „siłami szybkiego reagowania” komórki w odpowiedzi na pojawiające się bodźce wewnętrzne i zewnętrzne.

Członkowie rodziny mikroRNA444 występują tylko u roślin jednoliściennych, a ich ekspresja i funkcje są słabo poznane. W ryżu wiadomo, że miR444 kieruje rozcięciem mRNA czynnika transkrypcyjnego MADS-box 57 (represora transkrypcji) i przez to pośrednio kontroluje poziom białka DWARF14 będącego z kolei negatywnym regulatorem krzewienia. Nasze wstępne wyniki prowadzone w celu scharakteryzowania rodziny MIR444 w jęczmieniu doprowadziły do odkrycia trzech genów *MIR444* nazwanych roboczo *MIR444.1*, *MIR444.2* i *MIR444.3*. **Celem projektu jest wyjaśnienie roli miRNA tej rodziny w regulacji procesów życiowych w jęczmieniu.** Odkryliśmy, że miR444.1 jako jedyny członek tej rodziny ulega indukcji w stresie wysokiej temperatury, a równocześnie 2-3 tygodniowa roślina przestaje się krzewić. **Jako cel postanowiliśmy wyjaśnić jakie białka i jakie cząsteczki RNA odpowiadają za kontrolę krzewienia jęczmienia w odpowiedzi na wysoką temperaturę otoczenia.** W tym celu skonstruowaliśmy szereg roślin transgenicznych jęczmienia, w których unieczynniliśmy gen MADS box 57 lub poddaliśmy zwiększonej produkcji kodowane przez niego białko. Na podstawie wstępnych badań uważamy, że MADS box57 jest zaangażowany w kontrolę krzewienia jęczmienia pod wpływem wysokiej temperatury otoczenia. Zbadamy jak w tych roślinach będzie przebiegać krzewienie i jak będzie w nich wyglądać ekspresja innych genów. Pozwoli nam to skonstruować obraz odpowiedzi rośliny na stres wysokiej temperatury zależnej od aktywności czynnika transkrypcyjnego MADS box57.

Natomiast jaki gen kontroluje na poziomie mRNA drugi członek rodziny MIR444 - miR444.2 pozostaje tajemnicą. Przeprowadzając odpowiednie doświadczenia (analiza wyników sekwencjonowania RNA tzw. degradomów metodami wysokoprzepustowymi) mamy nadzieję zidentyfikować gen kontrolowany przez miR444.2 i jaka jest funkcja regulacyjna badanej cząsteczki miRNA.

Z kolei trzeci z rodziny MiR444 – mikroRNA444.3 kontroluje inny czynnik transkrypcyjny z tej samej rodziny co MADS box57. Jednak w tym przypadku funkcja tego czynnika transkrypcyjnego pozostaje zupełnie nieznaną. Konstruuując analogicznie rośliny transgeniczne jak opisane powyżej odpowiemy na pytanie jaka jest funkcja tego białka i jaka jest rola miR444.3 w kontroli poziomu tego białka.

**Zamierzamy zbadać sposób regulacji wyrażania się genów z rodziny *MIR444* z uwagi na ich skomplikowaną budowę egzonowo-intronową i z tego powodu możliwość regulacji poziomu dojrzałych cząsteczek miRNA na poziomie pierwotnych transkryptów w zależności od warunków wzrostu.**

Najciekawszą obserwacją jest ta, że w genach wszystkich przedstawicieli rodziny MIR444 mikroRNA i mikroRNA\* znajdują się w sąsiednich egzonach oddzielonych od siebie długim intronem. Badania nad regulacją poziomu dojrzałych cząsteczek miRNA444 poprzez wybiórcze usuwanie intronów będziemy prowadzić z zastosowaniem technik RT-qPCR, RT-PCR i sekwencjonowania krótkich RNA w warunkach kontrolnych i wybranych stresów abiotycznych.

Wyniki naszych badań przyczynią się do lepszego zrozumienia procesów rozwojowych ważnej rośliny uprawnej jaką jest jęczmień i zostaną opublikowane w prestiżowych czasopismach naukowych. Będą też mieć potencjalny charakter aplikacyjny z uwagi na wyjaśnienie przyczyn zahamowania krzewienia tej rośliny w stresie wysokiej temperatury. Jest duża szansa na zaproponowanie nowych strategii hodowli tej rośliny przy wykorzystaniu technologii biologii molekularnej by minimalizować straty w plonowaniu jakie wynikają z zahamowania krzewienia w wysokiej temperaturze.