

Analiza roli białek ARGONAUTE w po-transkrypcyjnej regulacji ekspresji genów w kielkujących nasionach *Arabidopsis thaliana*

Wytwarzanie nasion jest uznane za najbardziej skomplikowaną, ale i najskuteczniejszą metodę rozmnażania płciowego u roślin naczyniowych, pozwalającą tym organizmom rozmnażać się niezależnie od wody. Organy te odgrywają kluczową rolę w cyklu życiowym roślin, gdyż przechowują informację genetyczną niezbędną do przetrwania następnego pokolenia, rozprzestrzeniania i zasiedlania nowych ekosystemów. Nasiona wykazują gatunkowo-specyficzne różnice w ich strukturze i składzie związków zapasowych. Zarodek dojrzałych nasion większości gatunków roślin wyższych, w tym *Arabidopsis thaliana* (jednej z najczęściej stosowanych w naukach biologicznych roślin modelowych) jest otoczony dwiema warstwami okrywającymi: żywymi komórkami bielma i martwą łupiną nasienną. W momencie, gdy suche nasiona znajdują się w korzystnych warunkach i mają dostęp do wody, wówczas rozpoczyna się proces kiełkowania. Niemniej jednak, życiu nasion towarzyszy również stan spoczynku zdefiniowany, jako niezdolność zdrowych nasion do kiełkowania nawet w sprzyjających warunkach. Fenomen ten występując w naturze ma charakter ważnej cechy adaptacyjnej, gdyż zwiększa szanse przeżycia następnego pokolenia poprzez optymalizację kiełkowania w czasie, zapewniając nasionom warunki środowiskowe i porę roku dogodnie dla przebiegu tego procesu.

Głównym celem współczesnej biologii nasion jest rozwikłanie zagadek dotyczących skomplikowanej sieci procesów biochemicznych i komórkowych prowadzących do biosyntezy i/lub degradacji określonych składników komórkowych, niezbędnych dla regulacji spoczynku i kiełkowania nasion. Do tej pory, wiele badań potwierdziło, że obok bodźców środowiskowych, takich jak światło, także czynniki wewnętrzne - hormony roślinne (np. gibereliny - GA i kwas abscysynowy - ABA) odgrywają kluczową rolę w modulowaniu procesów zachodzących w nasionach. Co ciekawe, coraz więcej dowodów uzyskanych w badaniach dotyczących transdukcji sygnału w komórkach roślinnych wskazuje na to, że reaktywne formy tlenu (ang. reactive oxygen species, ROS) dotychczas uznawane głównie za produkty uboczne metabolizmu tlenowego, wykazujące niezwykle szkodliwy wpływ na organizmy żywe, mają również istotne, pozytywne znaczenie dla prawidłowego funkcjonowania komórek roślinnych. Przełomowe badania przeprowadzone przez dr Krystynę Oracz, wykazały, że ustępowanie spoczynku nasion jest skorelowane ze wzrostem poziomu ROS i utlenianiem specyficznych białek. Jednakże, aby ROS mogły pełnić pozytywną funkcję, to ich poziom musi być nieustannie kontrolowany przez aktywnie funkcjonujący system antyoksydacyjny, składający się z cząsteczkowych przeciwutleniaczy (np.: karotenoidy, witaminę C i E, etc.), jak również enzymów antyoksydacyjnych, takich jak: katalaza (CAT), dysmutaza ponadtlenkowa (SOD), itp.

Nasiona posiadają liczne wyspecjalizowane receptory i białkowe regulatory pozwalające na detekcję różnych zmian w otaczającym środowisku. Zarówno czynniki środowiskowe, jak i endogenne wytwarzane przez nasiona uruchamiają kaskadę oddziaływań między-białkowych, angażując różnego rodzaju enzymy, regulatory oraz czynniki transkrypcyjne i prowadząc w efekcie do zmian profilu ekspresji wielu genów. Wiadomym jest, że zarówno proces transkrypcji, jak i translacji są wymagane do wykiełkowania nasion i umożliwienia wzrostu siewki. Należy jednak pamiętać, iż ilość transkryptu genu nie zawsze koreluje z syntezą białka. Powszechne mechanizmy działające we wszystkich organizmach eukariotycznych, takie jak po-transkrypcyjna regulacja ekspresji genów, są niezbędne do selekcji transkryptów, wykorzystywanych następnie w syntezie białek w cyklu rozwojowym roślin, w tym także procesów zachodzących w nasionach, lub w odpowiedzi na bodźce środowiskowe (np. światło czy temperatura). Pomimo tego, że wiadomo iż wiele białek regulatorowych (np. ARGONAUTE, AGO) uczestniczy w modulacji kluczowych procesów komórkowych poprzez modulowanie poziomu określonych transkryptów, to wiedza o ich funkcji w fizjologii nasion jest niezwykle ograniczona. Dlatego głównym wyzwaniem niniejszego projektu i być może jednym z najbardziej ekscytujących aspektów przyszłych badań przeprowadzonych w zespole badawczym - *SeedExplorerGroup* (www.seedexplorer.eu), kierowanym przez dr Krystynę Oracz, będzie scharakteryzowanie biologicznej funkcji białek AGO w regulacji światło-zależnego kiełkowania nasion *Arabidopsis thaliana*. Poszukując odpowiedzi na postawione pytania dotyczące biologicznej funkcji AGO w po-transkrypcyjnej regulacji ekspresji genów w stymulowanym przez światło kiełkowaniu spoczynkowych nasion *A. thaliana*, zostaną wykonane liczne eksperymenty z zastosowaniem różnorodnych metod badawczych, takich jak np.: testy kiełkowania, ilościowa analiza ekspresji genów w czasie rzeczywistym, pomiary aktywności białek, obserwacje mikroskopowe, analizy cytometryczne, wysoko przepustowe analizy transkryptomiczne Microarray i wiele innych. Uzyskane dane pozwolą zaproponować nowe przykłady elementów szlaków sygnałowych uczestniczących w regulacji procesów zachodzących w nasionach, ujawniając nowe molekularne poziomy kontroli kiełkowania nasion przez spoczynek. Dokładne poznanie tego rodzaju mechanizmów regulatorowych będzie miało istotny wkład w rozwój badań z zakresu transdukcji sygnałów komórkowych i biologii rozwoju roślin. Wyniki powstałe w wyniku realizacji projektu będą mogły być wykorzystane także w celu poprawy zdolności kiełkowania i wytworzenia nasion wykazujących zwiększoną tolerancję na zmienne i nieprzewidywalne warunki środowiska.