

Popularnonaukowe streszczenie projektu

Przez wiele lat proces transkrypcji oraz dojrzewania RNA rozpatrywane były niezależnie. Badania kilkunastu ostatnich lat pokazują jednak, że synteza prekursorowych RNA i ich obróbka to procesy silnie ze sobą powiązane, które należy rozpatrywać i badać wspólnie. Pośród procesów, których mechanizm działania i końcowy efekt jest zależny od struktury chromatyny i tempa transkrypcji przez polimerazę RNA II wymienia się alternatywne składanie RNA- czyli splicing alternatywny, natomiast ostatnie badania wskazują, iż biogeneza małych RNA również zachodzi ko-transkrypcyjnie. Oba te mechanizmy stanowią bardzo ważny element w procesie dojrzewania RNA. Małe RNA są jednym z głównych negatywnych regulatorów ekspresji genów u roślin i odpowiadają m.in. za kształt liści, rozwój korzeni oraz kwitnienie, jak również uczestniczą w odpowiedzi na praktyczne wszystkie stropy, z jakimi mają do czynienia organizmy roślinne. Splicing alternatywny zwiększa potencjał kodujący genomu, ponieważ ta sama cząsteczka pre-mRNA może być źródłem kilku różnych dojrzałych mRNA, które mogą powstać na skutek wyboru alternatywnych miejsc splicingowych. U człowieka około 95% genów zawierających introny podlega alternatywnemu splicingowi. W przypadku *Arabidopsis thaliana* wartość ta oscyluje w granicach 60%. Ponad 75% alternatywnych zdarzeń splicingowych ma miejsce w obrębie sekwencji kodującej genu, co daje potencjalną możliwość generowania białek o zmienionej strukturze i funkcji.

Nasze dotychczasowe badania wykazały istotną rolę białka AGO1 w regulacji transkrypcji dwóch genów: *MIR161* oraz *MIR173* w odpowiedzi na stres podwyższonego stężenia NaCl. W warunkach stresowych AGO1 lokalizuje się na tych genach i prowadzi do przedwczesnej terminacji transkrypcji przez RNA Polimerazę II, a co za tym idzie, do obniżonego poziomu obu: pri-miRNA161 oraz pri-miRNA173. Dalsze analizy wykazały, że proces ten jest najprawdopodobniej zależny od obecności małych RNA i powiązany ze stopniem ufosforylowania domeny CTD RNA Polimerazy II. Ponad to posiadane przez nas dane sugerują, że białko AGO1, poza rolą w szlaku małych RNA, pełni również funkcję w regulacji splicingu alternatywnego

Dokładny mechanizm działania AGO1 w jądrze komórkowym *A. thaliana* biogenezę miRNA nadal pozostaje nieopisany. Nie jest również znany mechanizm współdziałania AGO1 i RNA Polimerazy II, ani jego wpływ na strukturę chromatyny i wybór alternatywnych miejsc splicingowych. Podstawowym celem tego projektu jest więc charakterystyka działania AGO1 w kontekście stresu podwyższonego zasolenia. W tym celu wykorzystane będą zarówno techniki pozwalające na szczegółowe zbadanie efektu działania AGO1 jak i wysokoprzepustowe analizy umożliwiające zobrazowanie całogenomowej lokalizacji AGO1 oraz korelujących ze nią zmian w rozmieszczeniu RNA Polimerazy II na poszczególnych genach.