

**Ekspresja genów regulowana jest przez procesy epigenetyczne**, wśród których acetylacja histonów ma znaczącą rolę. Wysoki poziom acetylacji histonów jest związany z aktywnością transkrypcyjną genów, podczas gdy deacetylacja skutkuje zahamowaniem transkrypcji. Acetylacja reszt lizyn histonów H3 oraz H4 jest katalizowana przez białka o funkcji acetylaz (**HAT**) oraz deacetylaz (**HDAC**), a ich antagonistyczne działanie wpływa na kondensację/rozluźnianie struktury chromatyny, co wpływa na ekspresję genów. **Uznaje się, że procesy epigenetyczne, w tym acetylacja histonów, kontrolują potencjał regeneracyjny tkanek roślinnych w kulturze *in vitro*, jednak dane eksperymentalne potwierdzające tę hipotezę są nieliczne.** Celem weryfikacji hipotezy o roli acetylacji histonów w regeneracji roślin w kulturze *in vitro* przeprowadzone będą badania z użyciem **modelowej** dla genomiki rośliny, *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh (rzodkiewnik pospolity) oraz rośliny użytkowej, *Hordeum vulgare* (L.) (jęczmień). Badania będą ukierunkowane na opisanie zmian w acetylacji histonów, które wpływają na poziom transkrypcji genów podczas procesu somatycznej embriogenezy (SE) indukowanego w kulturze *in vitro* *Arabidopsis*. Proces SE u *Arabidopsis* stanowi model do badań nad zjawiskiem plastyczności rozwojowej somatycznych komórek roślin i indukowany jest egzogenną auksyną. Badania przeprowadzone przez Zespół Wnioskodawcy wykazały, że indukcja SE u *Arabidopsis* następuje także na pożywce bezauksynowej zawierającej inhibitor deacetylaz, trichostatynę A (TSA). Embriogeniczny efekt działania TSA wskazuje na zaangażowanie procesów związanych z acetylacją i deacetylacją histonów w kontrolę SE. W zgodzie z tą hipotezą wykazaliśmy, że TSA stymuluje aktywność genów kluczowych dla SE i powoduje akumulację w komórkach eksplantatu auksyny, która pełni rolę induktora procesu SE.

Badania nad rolą acetylacji histonów w indukcji SE u *Arabidopsis* skupiać się będą na:  
**(1) identyfikacji genów zaangażowanych w SE o ekspresji zależnej od acetylacji histonów;**  
**(2) stwierdzeniu, czy obserwowana w indukcji SE aktywacja genów po działaniu syntetyczną auksyną 2,4-D, związana jest z acetylacją histonów;** **(3) określeniu zmian w poziomach acetylacji histonów H3 i H4 wpływających na aktywność genów kodujących kluczowe dla SE czynniki transkrypcyjne;**  
**(4) wskazaniu genów acetylaz i deacetylaz uczestniczących w SE oraz analizie aktywności podczas SE kodowanych przez nie enzymów, HAT i HDAC.** W badaniach wykorzystany będzie również jęczmień, u którego zdolność do regeneracji *in vitro* roślin jest silnie zależna od genotypu. Celem tej części projektu będzie zbadanie, czy traktowanie TSA poprawi efektywność regeneracji genotypów jęczmienia uznanych za odporne w kulturze *in vitro*. Dodatkowo badania będą zmierzać do identyfikacji w genomie jęczmienia homologów genów uczestniczących w TSA-zależnej indukcji SE u *Arabidopsis*

W badaniach wykorzystana zostanie tkanka pozyskana z kultur *in vitro* *Arabidopsis* oraz jęczmienia. Dla realizacji celów projektu wykorzystane będą nowoczesne techniki genomiki funkcjonalnej, w tym RNA-seq, ChIP-qPCR, test ELISA, analiza immunohistochemiczna oraz bioinformatyczna. Technika RNA-seq będzie zastosowana do porównania transkryptomów eksplantatów *Arabidopsis* podlegających indukcji embriogenicznej przez traktowanie kultury inhibitorem deacetylaz *versus* auksyną. Wyniki analizy RNA-seq pozwolą zidentyfikować geny zaangażowane w proces SE u *Arabidopsis* o ekspresji kontrolowanej przez acetylację histonów oraz posłużą do wskazania genów *HAT* i *HDAC* kontrolujących stan acetylacji histonów podczas tego procesu. Testem ELISA określony będzie poziom aktywności w SE kodowanych przez te geny enzymów *HAT* i *HDAC*. Ponadto, analizy bioinformatyczne pozwolą na zidentyfikowanie u jęczmienia homologów genów *Arabidopsis* wytypowanych na podstawie wyników RNA-seq, a w reakcji RT-qPCR określony zostanie profil ekspresji tych genów w kulturze jęczmienia. Badania zmierzać będą także do określenia czasowo-przestrzennych zmian w poziomie acetylacji histonów w kulturze embriogenicznej *Arabidopsis*, które zostaną określone na poziomie tkanki (detekcja immunohistochemiczna) oraz genów (ChIP-qPCR). Do analizy ChIP-qPCR wybrane będą geny kodujące czynniki transkrypcyjne o dobrze poznanej roli w SE, których ekspresja, jak zaobserwowaliśmy w badaniach pilotażowych, wzrasta na skutek traktowania eksplantatów przez TSA.

**Przeprowadzone w ramach projektu badania dostarczą nowych dla nauki informacji o roli acetylacji histonów w zmianie programu rozwojowego somatycznych komórek roślinnych. Wyniki badań będą mieć również znaczenie aplikacyjne, gdyż sterowanie procesami epigenetycznymi w kulturze *in vitro* może być wykorzystane do poprawy zdolności regeneracyjnych roślin ważnych użytkowo roślin, w tym jęczmienia.**