

## **Cel projektu**

Wszystkie żywe organizmy są narażone na warunki stresowe, które wpływają na ich wzrost, rozwój i przeżycie. Rośliny, jako organizmy osiadłe, są szczególnie podatne na niekorzystne warunki środowiskowe. Aby przetrwać, rośliny wypracowały zaawansowane mechanizmy adaptacyjne i ścieżki regulatorowe, które pozwalają im radzić sobie z zagrożeniami takimi jak susza, skrajne temperatury lub zanieczyszczenia gleby. Wysoka temperatura jest jednym z głównych czynników stresowych działających na rośliny. Często prowadzi ona do obniżonych plonów i znacznych strat ekonomicznych. Z tego powodu badania nad molekularnymi mechanizmami odpowiedzi na stres cieplny są bardzo istotne.

Niedawno odkryliśmy, że wysoka temperatura powoduje akumulację poliprenoli u rośliny modelowej *Arabidopsis thaliana*. Poliprenole są związkami lipidowymi, obecnymi we wszystkich żywych organizmach. U *Arabidopsis* są one syntetyzowane przez enzym *cis*-prenylotransferazę 7 (CPT7) z cząsteczek difosforanu izopentenylu (IPP), które z kolei są dostarczane przez ścieżki MVA i MEP. Nasze badania wykazały, że brak enzymu CPT7 w roślinie, i w konsekwencji brak poliprenoli, negatywnie wpływa na funkcje chloroplastów – organelli odpowiedzialnych za asymilację dwutlenku węgla. Uważamy, że poliprenole działają jako „tarcza” chroniąca chloroplasty przed niekorzystnym wpływem wysokiej temperatury. Na chwilę obecną posiadamy znaczną wiedzę na temat biologicznej roli genu *CPT7*. Niestety, nie wiemy w jaki sposób jest regulowana jego ekspresja, a także ekspresja genów ze ścieżek MEP i MVA. Niedawno odkryliśmy, że czynniki transkrypcyjne szoku cieplnego z rodziny HSFA1, działające jako kluczowe regulatory odpowiedzi na stres cieplny, są niezbędne do prawidłowego działania genu *CPT7*. Podobnie, białko remodelujące chromatynę BRM, będące kluczowym regulatorem aktywności genów u *Arabidopsis*, wydaje się być zaangażowane w regulację *CPT7* oraz niektórych genów ze ścieżek MEP i MVA. Uważamy, że czynniki HSFA1 i białko BRM współpracują jako regulatory produkcji poliprenoli. Zadaniem tego projektu jest zbadanie tej hipotezy.

## **Plan badań**

Planujemy sprawdzić, czy czynniki HSFA1 i białko BRM współdziałają w procesie biosyntezy poliprenoli stosując szeroki zakres technik molekularnych i genetycznych:

1. Zmierzymy poziom transkryptów genów z ścieżek MEP i MVA w roślinach, które nie produkują białek HSFA1. Analiza ta powie nam, czy czynniki HSFA1 są niezbędne do ich regulacji. Następnie zbadamy, czy ta regulacja odbywa się w sposób bezpośredni poprzez wiązanie się czynników HSFA1 do genów z obydwu ścieżek oraz do genu *CPT7*.
2. W analogiczny sposób sprawdzimy czy białko BRM jest niezbędne do prawidłowej regulacji genów ze ścieżek MEP i MVA oraz genu *CPT7*. Osiągniemy to poprzez pomiar poziomu ich transkryptów w roślinach nie produkujących białka BRM. Ponownie, sprawdzimy czy ta regulacja ma charakter bezpośredni.
3. Chcemy zbadać współdziałanie białek HSFA1 i BRM. Najpierw sprawdzimy, czy powyższe białka tworzą pojedynczy kompleks białkowy. Następnie zbadamy, co dzieje się z produkcją poliprenoli w roślinach, które nie posiadają ani czynników HSFA1 ani białka BRM. Równolegle zastosujemy zaawansowane techniki wysokoprzepustowe aby sprawdzić jak brak powyższych białek wpływa na zdolność *Arabidopsis* do prawidłowego regulowania genów w odpowiedzi na stres cieplny. Na koniec sprawdzimy czy białka HSFA1 i BRM potrzebują siebie nawzajem do regulacji genu *CPT7* oraz genów ze ścieżek MEP i MVA.

## **Oczekiwany wpływ realizacji projektu**

Ukończenie powyższych zadań po raz pierwszy dostarczy danych na temat regulacji genu *CPT7* oraz genów ze ścieżek MEP i MVA. Pozwoli nam także zrozumieć w jaki sposób dochodzi do akumulacji poliprenoli w warunkach wysokiej temperatury. Ponieważ ścieżki MEP i MVA dostarczają substratów do produkcji nie tylko poliprenoli ale też innych ważnych związków, uzyskane wyniki uzupełnią luki w naszej wiedzy na temat metabolizmu u roślin. Badania nad współpracą czynników HSFA1 i BRM pozwolą nam lepiej zrozumieć w jaki sposób działają te białka. Realizacja tego projektu uzupełni naszą wiedzę na temat mechanizmów adaptacji do niekorzystnych warunków środowiskowych i rozszerzy ogólną wiedzę o biologii roślin. Uzyskane wyniki będą prezentowane na międzynarodowych konferencjach i zostaną opublikowane w wiodących, międzynarodowych pismach naukowych.