

Celem projektu jest scharakteryzowanie MTA (m⁶A metylo-transferazy) *Arabidopsis thaliana* jako domniemanego regulatora biogenezy mikroRNA.

Arabidopsis thaliana, jako organizm modelowy, wykorzystywana jest w celu zrozumienia wielu biologicznych procesów, które wpływają na rozwój i wzrost roślin. Wyniki badań przeprowadzone na tym organizmie znajdują zastosowanie dla wielu innych gatunków roślin oraz przyczyniły się do poprawy właściwości roślin użytkowych. Niejednokrotnie uzyskane wyniki badań pomogły w zrozumieniu procesów biologicznych zachodzących u ludzi, a tym samym umocniły *Arabidopsis thaliana* jako organizm modelowy do badania podstawowych szlaków metabolicznych.

MikroRNA (miRNA) są krótkimi (~ 21 nukleotydów) cząsteczkami RNA, które specyficznie obniżają poziom ekspresji docelowych mRNA. Wieloletnie badania, wstępnie przeprowadzone u *Arabidopsis*, udowodniły, że mikroRNA są fundamentalnymi elementami regulacji ekspresji genów a ich deregulacja prowadzi do zaburzeń rozwojowych organizmu. Metylacja m⁶A jest ważną modyfikacją epigenetyczną, która wpływa na poziom ekspresji mRNA u roślin. Dodatkowo wiadomo, że w komórkach ludzkich modyfikacja ta wpływa pozytywnie na dojrzewanie prekursorów mikroRNA. **Jednakże obecnie nie wiemy na temat roli metylacji m⁶A w biogenezie mikroRNA roślin. Głównym celem projektu jest zrozumienie roli białka MTA oraz modyfikacji m⁶A w dojrzewaniu prekursorów mikroRNA roślin.**

W celu sprawdzenia wpływu białka MTA i modyfikacji m⁶A na biogenezę mikroRNA porównałem poziom ekspresji wszystkich dojrzałych cząsteczek mikroRNA między roślinami posiadającymi niski poziom ekspresji białka MTA (mutant *mta*) oraz roślinami typu dzikiego. Odkryłem, że poziom ekspresji 37 mikroRNA jest zmieniony w mutancie *mta*, obniżony dla 33 mikroRNA. Jednocześnie zaobserwowałem akumulację 30 pri-miRNA (spośród testowanych 60 pri-miRNA) w mutancie *mta*. Uzyskane wyniki pozwoliły na wytypowanie 14 genów mikroRNA, których prekursor akumulował się, a poziom dojrzałej cząsteczki mikroRNA był obniżony. Dodatkowo odkryłem, że białko MTA oddziałuje *in vivo* z białkiem TOUGH (TGH), białkiem wiążącym RNA i pełniącym ważną funkcję w biogenezie roślinnych mikroRNA. W celu szczegółowego zbadania wpływu modyfikacji m⁶A na biogenezę mikroRNA w ramach realizacji projektu wykonam następujące eksperymenty: m⁶A-IP-seq (ang. m⁶A Immunoprecipitation – sequencing) oraz RIP-seq (ang. RNA Immunoprecipitation-sequencing) w celu identyfikacji pri-miRNA/miRNA które posiadają modyfikację m⁶A. Dodatkowo zastosuję technikę ACMS (ang. Affinity Capture Mass Spectroscopy) w celu poznania partnerów białkowych oddziałujących z MTA. W celu globalnej identyfikacji *loci* związanych z białkiem MTA i TGH wykonam eksperymenty immunoprecypitacji chromatyny (ChIP-seq, ang. Chromatin Immunoprecipitation-sequencing). Wyniki otrzymane w ramach realizacji projektu pozwolą zrozumieć epigenetyczną kontrolę biogenezy mikroRNA poprzez metylację m⁶A w pri-miRNA/miRNA.