

Pomimo istnienia ściśle kontrolowanych mechanizmów podziału jądra komórkowego, powstawania gamet oraz zapłodnienia, które zapewniają zachowanie stałej i typowej dla danego gatunku liczby chromosomów, u roślin często dochodzi do zaburzeń w przebiegu tych procesów. Mogą one prowadzić do zwielokrotnienia podstawowego zestawu chromosomów (genomu) i utworzenia organizmu autopolioidalnego, czyli takiego, który posiada w jądrach komórek somatycznych więcej niż dwa takie same genomy. Alternatywnie, poliploid może powstać poprzez skrzyżowanie blisko spokrewnionych gatunków i późniejsze podwojenie materiału genetycznego, co zwiększa szanse na prawidłowe przeprowadzenie mejozy i uzyskanie płodnego potomstwa. Powstające w taki sposób nowe gatunki nazywane są allopoliploidami. Pomimo, że nowo powstałe poliploidy cechuje duża niestabilność genetyczna, wynikająca m. in. z aktywacji ruchomych elementów genetycznych, zaburzeń w przebiegu mejozy, translokacji chromosomowych oraz zmian w liczbie kopii i aktywności transkrypcyjnej genów, uważa się, że większość roślin przeszła w swojej historii ewolucyjnej przynajmniej jeden proces poliploidyzacji. Dzieje się tak dlatego, że poliploidalność, a zwłaszcza allopoliploidalność wiąże się z uzyskaniem ogromnej plastyczności genetycznej, która w określonych warunkach środowiskowo-klimatycznych może zapewniać przewagę selekcyjną, umożliwiającą zasiedlanie nowych nisz ekologicznych. Allopoliploidy są często spotykane wśród ważnych z ekonomicznego punktu widzenia gatunków roślin uprawnych - należą do nich np. pszenica, owies, bawełna, tytoń, rzepak i trzcina cukrowa. Z tych powodów są one przedmiotem intensywnych badań naukowych, mających na celu lepsze zrozumienie procesów genetycznych (obejmujących zmiany w sekwencji DNA) i epigenetycznych (obejmujących modyfikację DNA na drodze metylacji niektórych zasad azotowych oraz modyfikacje chemiczne białek histonowych, tworzących z DNA kompleks zwany chromatyną), stojących za ich sukcesem ewolucyjnym.

Badania większości gatunków allopoliploidalnych, szczególnie tych należących do rodziny traw, są jednak często bardzo utrudnione ze względu na typowe dla nich duże i zawierające dużo powtarzalnego DNA genomy jądrowe. Dlatego też w opisywanym projekcie wykorzystany zostanie gatunek modelowy – *Brachypodium hybridum*, który pomimo bycia allopoliploidem charakteryzuje się posiadaniem niewielkiego genomu jądrowego o dokładnie poznanej sekwencji DNA. Szacuje się, że powstał on ok. 0,5 – 1 miliona lat temu poprzez skrzyżowanie się dwóch gatunków diploidalnych, przypominających współczesne *B. distachyon* oraz *B. stacei*. Niedawno, w warunkach laboratoryjnych udało się skrzyżować te dwa domniemane gatunki rodzicielskie i w ten sposób niejako sztucznie odtworzyć *B. hybridum* (tzw. allopoliploid resyntetyzowany), co niesie niepowtarzalną szansę na prześledzenie zmian na poziomie genetycznym oraz epigenetycznym, towarzyszącym procesowi stabilizacji nowo powstałego gatunku.

Jednym z ważnych zadań podejmowanych w projekcie jest próba wyjaśnienia mechanizmów odpowiedzialnych za przestrzenną organizację jądra komórkowego u gatunku allopoliploidalnego. Badania będą prowadzone z wykorzystaniem metod cytomolekularnych, które pozwalają na wizualizację określonych domen chromosomowych (np. centromerowej i telomerowej) oraz całych genomów rodzicielskich w obrębie utrwalonych jąder komórkowych. Ponadto, zastosowanie najnowocześniejszej techniki edytowania genomu CRISPR-dCas9 umożliwi określenie położenia wybranych sekwencji DNA w jądrach żywych komórek. Interesującym będzie także porównanie rozmieszczenia domen centromerowej i telomerowej w jądrach komórkowych allopoliploida „starego ewolucyjnie” oraz jego „młodego”, resyntetyzowanego odpowiednika. Wartościowym uzupełnieniem badań będzie weryfikacja wpływu wybranych białek otoczki jądrowej na wzajemne rozmieszczenie centromerów oraz telomerów w jądrach komórkowych allopoliploida. W tym celu, przy pomocy metody edytowania genomu CRISPR-Cas9 lub CRISPR-Cpf1, uzyskane zostaną rośliny *B. hybridum* precyzyjnie zmutowane pod względem wybranych genów kodujących białka otoczki jądrowej.

Istotnym aspektem ewolucji gatunków allopoliploidalnych jest los zduplikowanych genów. Część kopii genów może podlegać procesowi inaktywacji na skutek zmian w sekwencji DNA (zmiany genetyczne). Inne natomiast mogą ulec odwracalnemu wyciszeniu na drodze epigenetycznej. Szczególnym przykładem wyciszenia genów jest występujące u wielu allopoliploidów zjawisko tzw. dominacji jąderkowej, w którym geny rybosomalnego RNA (rRNA), wywodzące się od jednego z przodków, ulegają dezaktywacji. Występowanie dominacji jąderkowej stwierdzono do tej pory u wielu linii roślin *B. hybridum*. Głównym celem kolejnego zadania badawczego jest określenie mechanizmów stojących u podstaw tego zjawiska u badanego allopoliploida oraz jego „sztucznego” odpowiednika. Aby tego dokonać, wykorzystane zostaną najnowocześniejsze techniki biologii molekularnej oraz sekwencjonowania nowej generacji. Działania te powinny odpowiedzieć na pytanie, czy geny rRNA wywodzące się z genomu *B. stacei* uległy nieodwracalnej, inaktywacji genetycznej, czy też ich sekwencje uległy jedynie wyciszeniu na drodze epigenetycznej.

Przyjęte w projekcie podejście badawcze powinno pozwolić na lepsze zrozumienie istotnych mechanizmów biologicznych, stojących u podstaw sukcesu ewolucyjnego poliploidów. Uzyskane wyniki powinny także znaleźć przełożenie na inne, ważne ekonomicznie gatunki allopoliploidalne.