

Celem rozprawy doktorskiej jest scharakteryzowanie białka MTA (m⁶A metylo-transferazy) *Arabidopsis thaliana* jako potencjalnego 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 tej roślinie 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 prowadzone na *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 wiadomo 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 60 mikroRNA jest zmieniony w mutancie *mta*, w tym obniżony w przypadku 51 mikroRNA. Jednocześnie zaobserwowałem, że poziom ekspresji dla 85 pri-miRNA jest zmieniony w mutancie *mta* w porównaniu do roślin typu dzikiego. Spośród istotnie zmienionych pri-miRNA poziom ekspresji dla 56 (~66%) był wyższy w mutancie *mta*. Uzyskane wyniki pozwoliły na wytypowanie 20 genów mikroRNA, których prekursor akumulował się, a poziom dojrzałej cząsteczki mikroRNA był obniżony. Następnie w celu identyfikacji pri-miRNA, które posiadają modyfikacje m⁶A wykonałem wysoko przepustowy eksperyment typu m⁶A-IP-seq (ang. m⁶A Immunoprecipitation sequencing). Analiza wyników sekwencjonowania wykazała, że wszystkie zidentyfikowane pri-miRNA (11) posiadają modyfikacje m⁶A. Dodatkowo w ramach rozprawy doktorskiej odkryłem, że białko MTA oddziałuje *in vivo* z białkiem TOUGH (TGH), białkiem wiążącym RNA i pełniącym ważną funkcję w biogenezie roślinnych mikroRNA.

W celu dogłębnego zbadania wpływu modyfikacji m⁶A na biogenezę mikroRNA wykonam następujące eksperymenty: RIP-seq (ang. RNA Immunoprecipitation-sequencing) oraz iCLIP (ang. Individual-nucleotide resolution UV crosslinking and immunoprecipitation) w celu identyfikacji miejsca wiązania MTA do modyfikowanych cząsteczek RNA. 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).

Otrzymane wyniki w ramach realizacji rozprawy doktorskiej wyjaśnią rolę białka MTA w biogenezie mikroRNA oraz poszerzą naszą wiedzę na temat kontroli epigenetycznej ekspresji mikroRNA poprzez metylację m⁶A RNA. Realizacja tego projektu w ramach rozprawy doktorskiej umożliwi dokładne poznanie szlaku biogenezy mikroRNA, a przez to regulacji rozwoju roślin, co jest kluczowe dla społeczeństwa i naszej cywilizacji.