

Cel projektu

Celem projektu jest identyfikacja substratów kinaz białkowych SnRK2 nieaktywowanych przez kwas abscysynowy (ABA) (SnRK2 grupy I) w korzeniach modelowej rośliny *Arabidopsis thaliana*, ze szczególnym uwzględnieniem białek uczestniczących w metabolizmie RNA. Ponadto zbadany zostanie wpływ fosforylacji na funkcje tych białek.

Opis badań

Identyfikacja potencjalnych substratów wyżej wymienionych kinaz zostanie przeprowadzona przy użyciu różnicowej analizy fosfoproteomicznej, w której modelem doświadczalnym będą korzenie *A. thaliana* poddane stresowi zasolenia. Porównane zostaną zmiany w fosfoproteomie korzeni roślin typu dzikiego (*Col-0*) i mutanta wszystkich czterech kinaz SnRK2 niezależnych od ABA (*snrk2.1/4/5/10*) w odpowiedzi na stres solny. Spośród zidentyfikowanych różnicowo fosforylowanych białek do dalszych badań zostanie wybranych kilka najciekawszych potencjalnych substratów, które są zaangażowane w metabolizm RNA. Ponieważ fosforylacja konkretnych aminokwasów odgrywa unikalną rolę dla struktury i funkcji białka, planuję precyzyjnie zlokalizować miejsca fosforylacji substratów i zweryfikować je metodami *in vitro* i *in planta*. Ponadto zostanie zbadany wpływ fosforylacji na funkcje zidentyfikowanych substratów kinaz SnRK2 zarówno na poziomie molekularnym, jak i fizjologicznym. W trakcie trwania projektu zostaną wygenerowane linie roślin edytowanych przy użyciu metody CRISPR/Cas9, które umożliwią badanie odpowiedzi na sól w roślinach z mutacjami w wybranych substratach kinaz SnRK2 grupy I.

Uzasadnienie podjęcia tematyki badawczej

W czasie swojego cyklu życiowego rośliny wielokrotnie muszą stawić czoła dużej różnorodności czynników stresowych, zarówno biotycznych, jak i abiotycznych. Aby przetrwać, wyewoluowały one szereg precyzyjnych mechanizmów biochemicznych, które umożliwiają im percepcję sygnałów pochodzących ze środowiska i reagowanie na nie. Spośród wszystkich niekorzystnych warunków środowiskowych, ograniczenie dostępności wody spowodowane suszą lub zasoleniem gleby jest jednym z największych problemów, z którymi muszą się zmierzyć rośliny. Problem ten ma również duży wpływ na przemysł rolny, ponieważ większość roślin, w tym rośliny uprawne, jest wrażliwa na nadmiar soli w glebie. Postępujące, stopniowe zasolenie gleby zagraża wydajności upraw i przyczynia się do zmniejszenia powierzchni gleb nadających się pod uprawy. Fosforylacja jest jedną z najczęstszych modyfikacji potranslacyjnych, wpływającą na wiele właściwości białek. Zmiany fosforylacji mogą wpływać na stabilność białka, jego lokalizację czy powinowactwo do substratów lub innych białek. Badanie roli fosforylacji zależnej od kinaz SnRK podrodziny 2 (SnRK2) w metabolizmie RNA jest stosunkowo nowym kierunkiem badań. Wspomniane kinazy białkowe są aktywowane w odpowiedzi na różnorodne bodźce środowiskowe, wywołując odpowiedź na stres poprzez fosforylację swoich substratów. Wśród substratów kinaz SnRK2 identyfikowane są białka biorące udział w metabolizmie RNA, takie jak białka wiążące RNA lub czynniki splicingowe. Wskazuje to na udział tych kinaz w regulacji metabolizmu RNA. Wiedza na temat substratów kinaz grupy I w przeciwieństwie do aktywowanych przez ABA kinaz SnRK2 grupy III jest wciąż ograniczona i dlatego warto ją poszerzać.

Spodziewane efekty

Badania przewidziane w tym projekcie pozwolą na poznanie większej ilości substratów kinaz SnRK2 grupy I a także poszerzyć wiedzę na temat mechanizmu przekazywania sygnału w komórkach roślinnych w odpowiedzi na stres solny. Ponieważ kinazy SnRK2 niezależne od ABA są szybko aktywowane w odpowiedzi na stres zasolenia, mogą one odgrywać kluczową rolę w kształtowaniu odpowiedzi na stres na wielu poziomach ekspresji genów poprzez wpływ na elementy szlaków potranskrypcyjnej, jak i transkrypcyjnej regulacji ekspresji genów. Zrozumienie mechanizmów odpowiedzi roślin na stres zasolenia pozwoli w dalszej perspektywie uzyskiwać rośliny, które będą lepiej radziły sobie z ograniczoną dostępnością wody, co jest szczególnie ważne w kontekście wyzwań z jakimi musi zmierzyć się rolnictwo w czasach zmian klimatycznych.