

Transportery ABCG w dystrybucji fenylopropanoidów u *Medicago truncatula* uniwersalność vs. specjalizacja.

Medicago truncatula to nie tylko roślina modelowa o szczególnym znaczeniu w badaniach nad symbiozą bobowatych z rhizobiami ale także doskonały gatunek do badań nad metabolizmem wtórnym. W tym kontekście szczególne zainteresowanie budzą fenylopropanoidy. To grupa molekuł o bardzo szerokim spektrum aktywności biologicznej. Ich użyteczność to często kwestia znalezienia się we właściwym miejscu i we właściwym czasie. Jest to ściśle kontrolowane nie tylko na poziomie biosyntezy, ale także przez różne systemy dystrybucji. Te ostatnie obejmują między innymi transportery błonowe, które uczestniczą w obiegu zarówno prekursorów, jak i produktów końcowych. Identyfikacja transporterów/mechanizmów transportu stojących za dedykowaną translokacją pozwala nam uzupełnić wiedzę na temat przestrzenno-czasowej produkcji fenylopropanoidów w różnych warunkach, ale także ułatwia bardziej precyzyjną inżynierię metaboliczną tych związków w roślinach w celu poprawy cech agronomicznych lub wartości odżywczej.

W dystrybucji fenylopropanoidów zaangażowane są m.in. białka ABC. Tworzą one dużą rodzinę białek, liczącą ponad 1000 członków, działających we wszystkich żywych komórkach, od bakterii po człowieka. Postuluje się, że geny roślinnych transporterów ABC uległy zwielokrotnieniu i funkcjonalnej dywersyfikacji/specjalizacji. Szczególnie reprezentowaną i najliczniejszą grupę transporterów ABC u roślin stanowi podrodzina ABCG. Roślinne ABCG są powiązane z dystrybucją m.in. metabolitów wtórnych w tym fenylopropanoidów, transportem hormonów i detoksykacją komórek. Zostały one również opisane jako zaangażowane w dedykowaną reakcję na stresy biotyczne.

Transportery ABCG są szczególnie liczne u bobowatych. Nasze laboratorium zidentyfikowało 30 tzw. pełnych ABCG u *Medicago truncatula*. To dwa razy tyle, ile np. u *Arabidopsis*. Przeprowadzone badania filogenetyczne ujawniły, że ABCG *Medicago* tworzą ekspansywne i jednocześnie charakterystyczne dla bobowatych grupy. Transportery w ich obrębie wykazują wysoki stopień identyczności, są funkcjonalne i obecne w różnych scenariuszach w tym także dystrybucji fenylopropanoidów. Celem tego projektu jest dostarczenie biochemicznych i strukturalnych informacji na temat potencjalnej funkcjonalnej adaptacji członków tych grup do indywidualnych potrzeb/transportu u *Medicago*. Chcielibyśmy wykorzystać już zdobytą wiedzę o transporterach ABCG *Medicago*, a także specjalną/dedykowaną rolę niektórych fenopropanoidów u bobowatych. Nasza hipoteza jest taka, że prawie identyczne transportery ABCG *Medicago* są nie tylko funkcjonalne, ale także wyspecjalizowane a specjalizacja jest wynikiem bardzo subtelnych zmian sekwencyjnych/strukturalnych w kluczowych miejscach tych białek. Wykorzystując szerokie spektrum metod (od modelowania *in silico* poprzez biologię molekularną, analizę funkcji, biochemię transportu) chcemy określić zależności łączące dany transporter z daną(y) molekuła(ami) i jednocześnie zrozumieć/zaproponować znaczenie takiej adaptacji w zakresie dystrybucji endogennych metabolitów w różnych scenariuszach. Takie dane mogą ułatwić bardziej precyzyjną inżynierię metaboliczną fenylopropanoidów w roślinach często zależnych od określonego rozkładu czasoprzestrzennego molekuł.

Należy jednocześnie podkreślić, że mechanizmy/determinanty molekularne, które wpływają na transport realizowany przez białka ABCG, nie są w pełni poznane. Mimo, że transportery ABC(G) odgrywają istotne role w roślinach, to nierzadko klasyczne podejście w ich badaniach funkcjonalnych kończy się zaobserwowaniem fenotypu bez identyfikacji molekuł transportowanych. Często te ostatnie są nadal przedmiotem dyskusji lub pozostają nieznanne. Powodem jest m.in. to, że tylko w ograniczonej liczbie badań wykorzystuje się podejście bioinformatyczne do ich identyfikacji. Wierzymy, że realizacja zaproponowanych w tym projekcie analiz bioinformatycznych (modelowanie *in silico*, dynamika molekularna), wraz z charakterystyką funkcjonalną (ekspresja, lokalizacja), a zwłaszcza eksperymentami transportu poświęconymi tej filogenetycznie wyselekcjonowanej grupie transporterów/charakterystycznej dla bobowatych, pomoże nam także odpowiedzieć na jeszcze jedno kluczowe/przewrotne pytanie: czy jesteśmy w stanie i w jakim zakresie przewidzieć *in silico* możliwy związek białko/transportowana molekuła? Odpowiedź na nie będzie wartościowa dla społeczności zajmującej się badaniem białek ABC(G).