

Od lat wiadomo, że mitochondria, centra energetyczne komórki, posiadają nie tylko swoje własne DNA, ale również odrębny od jądrowego system ekspresji genów. Obejmuje on wiele etapów, jednym z nich jest synteza białek (translacja) przeprowadzana przez specjalne kompleksy zwane rybosomami. Składają się one z dwóch podjednostek: małej i dużej, które zawierają białka i rybosomalne RNA (rRNA). W trakcie badań translacji mitochondrialnej u mutantu *rps10 Arabidopsis*, którego rybosomy nie formowały się prawidłowo z powodu niedoboru białka S10 (jedno z białek małej podjednostki rybosomalnej), zaobserwowaliśmy intrygujące zmiany na etapie potranskrypcyjnym. Obejmowały one między innymi drastyczny wzrost ilości transkryptów z obszarów nieposiadających żadnych genów oraz problemy z prawidłowym powstawaniem transkryptu 18S rRNA. Dane literaturowe ujawniły, że podobne zmiany były wcześniej obserwowane u mutantu *Arabidopsis* z deficytem kluczowego enzymu w metabolizmie mitochondrialnego RNA, egzonukleazy 3'→5', mtPNPazy (fosforylaza polinukleotydowej). Główną rolą tego enzymu jest degradacja produktów ubocznych powstających podczas dojrzewania RNA i wadliwych transkryptów. Celem tego projektu jest odkrycie, w jaki sposób zmniejszony poziom rybosomalnego białka S10 wpływa na funkcjonalność mtPNPazy, a tym samym na niektóre aspekty metabolizmu RNA w mitochondriach *Arabidopsis*. Badania wstępne do projektu wskazują, że poziom transkryptu i białka mtPNPazy wzrasta w mutantach *rps10*. Do zaburzeń natomiast dochodzi w czasie tworzenia kompleksów mtPNPazy. Efekt zmniejszonej ilości białka S10 na tworzenie kompleksów przez mtPNPazę może być wywołany zmienionym oddziaływaniem pomiędzy mityribosomem i enzymem lub powiązany z niepoznaną jeszcze, pozarybosomalną funkcją białka S10. W naszych przewidywaniach pierwsza opcja jest bardziej prawdopodobna, ale obie będą testowane. W celu zrozumienia, w jaki sposób niedobór białka S10 prowadzi do zaburzonej homeostazy kompleksów mtPNPazy będziemy monitorować wielkość, skład i integralność kompleksów/asocjacji tworzonych przez mtPNPazę i/lub białko S10 za pomocą różnych metod biochemicznych, biologii molekularnej i komórkowej. Planujemy również zastosować globalne podejście eksperymentalne (ang. *complexome profiling*), które umożliwi wykrycie różnic w tworzeniu kompleksów związanych z metabolizmem RNA między *rps10* a typem dzikim. Równoległe z badaniami kompleksów będziemy określać poziom znanych substratów PNPazy w *rps10*, jak również pokusimy się o sprawdzenie, czy inne zaburzenia biogenezy mityribosomu, niezwiązane z niedoborem S10, mają wpływ na funkcjonalność mtPNPazy. Dodatkowym celem tego projektu jest identyfikacja mechanizmu, który prowadzi do tworzenia monocistronowych transkryptów z jednostek dwucistronowych w mitochondriach *rps10*. Dwa niewykluczające się wzajemnie mechanizmy będą testowane. W jednym ważną rolę odgrywa mtPNPaza, a w drugim RNA polimeraza. Chcielibyśmy podkreślić, że metabolizm RNA w mitochondriach roślin nie jest podobny do metabolizmu RNA w mitochondriach zwierząt i drożdży. W przeciwieństwie do badań mitochondriów zwierzęcych i drożdżowych, wiedza na temat powiązań między aparatem translacyjnym a obróbką potranskrypcyjną w mitochondriach roślin jest wyjątkowo uboga, co czyni ten projekt innowacyjnym. Nasze badania mogą doprowadzić do odkrycia funkcji białka S10 poza rybosomem i/lub pozwolą na zrozumienie funkcji regulacyjnej rybosomów, kwestionując ciągle powszechny dogmat, że rybosom nie ma wpływu na inne etapy ekspresji genów niż translacja.