

Mitochondria to półautonomiczne organelle komórkowe, które zawierają własny genom, nazywany mitochondrialnym DNA (mtDNA) oraz „maszynę” umożliwiającą syntezę białek. Najważniejszą rolą mitochondriów jest produkcja energii metabolicznej w postaci cząsteczek ATP, wytwarzanych podczas fosforylacji oksydacyjnej. Syntezie ATP towarzyszy powstawanie tzw. reaktywnych form tlenu (ROS - *Reactive Oxygen Species*); cząsteczek, które przyczyniają się do uszkodzeń i mutacji mtDNA. Powszechnie wiadomo, że organizmy rozmnażające się bezpłciowo wykazują tendencję do gromadzenia mutacji z pokolenia na pokolenie, co prowadzi do zaburzeń w informacji genetycznej. Zjawisko to, zwane zapadką Müllera, niekorzystnie wpływa na żywotność pojedynczych komórek i w konsekwencji całych organizmów. Ponieważ u przeważającej większości zwierząt, mitochondria dziedziczone są „bepłciowo” i pochodzą wyłącznie z żeńskich komórek rozrodczych, ich informacja genetyczna (mtDNA) musi być chroniona w szczególny sposób. Mechanizm takiej ochrony nie został w pełni wyjaśniony. Dotychczas uzyskane dane sugerują, że mechanizm ten obejmuje dwa procesy: (1) selektywną eliminację mitochondriów wadliwych (zawierających zmutowany mtDNA) oraz (2) transfer do następnego pokolenia tylko prawidłowego (pozbawionego mutacji) mtDNA. Wyniki badań wskazują ponadto, że selektywna eliminacja uszkodzonych mitochondriów w dojrzewających oocytach związana jest z tzw. ciałem Balbianiego. Ciało Balbianiego to nieobłoniony kompleks organelli, takich jak mitochondria, siateczka śródplazmatyczna czy akumulacje materiału nuage (ang. *nuage material*). Pomimo, iż ciało Balbianiego opisano w oocytach wielu grup zwierząt (krocionogów, pajęczaków, owadów, płazów i ssaków), to jego powstawanie, strukturę i ostateczne losy dokładnie zbadano tylko u nielicznych gatunków modelowych np. u żaby szponiastej, *Xenopus laevis*. W rezultacie, dokładne relacje pomiędzy poszczególnymi elementami budującymi ciało Balbianiego, procesy jego formowania i rozpadu oraz, co najważniejsze, funkcje są wciąż niedostatecznie poznane i niejasne. Nieoczekiwanie, badania molekularne ostatnich lat wykazały, iż proces powstawania ciała Balbianiego *Xenopus* rozpoczyna się od samoagregacji białek amyloidowych zawierających domenę prionopodobną. Co więcej, proces ten przypomina samoagregację białek amyloidowych w komórkach nerwowych osób cierpiących na chorobę Alzheimera. W tym kontekście proces stopniowego rozpraszania ciała Balbianiego, który w oocytach wszystkich przebadanych gatunków przebiega w warunkach fizjologicznych, jest szczególnie interesujący.

Celem niniejszego projektu jest wyjaśnienie mechanizmów kontrolujących procesy formowania i rozpraszania (dezintegracji) ciała Balbianiego oraz selekcji mitochondriów. Ponadto, zaproponowane badania pozwolą określić, jaką rolę w powyższych procesach odgrywają wybrane organelle komórkowe (lizosomy, nuage), elementy cytoszkieletu oraz białka kontrolujące dynamikę mitochondrialną. W ramach pierwszej części projektu zbadam czy morfogeneza ciała Balbianiego owadów przebiega według schematu opisanego u *Xenopus*. Analizy drugiej części mają na celu weryfikację hipotezy, czy nuage jest czynnikiem inicjującym namnażanie mitochondriów. W trzecim etapie, aby określić rolę cytoszkieletu podczas powstawania i rozpraszania ciała Balbianiego, przeanalizuję rozmieszczenie mikrofilamentów i mikrotubul w oocytach podczas kolejnych stadiów oogenezy. Dodatkowo, zbadam efekt działania toksyn zaburzających organizację cytoszkieletu na formowanie ciała Balbianiego i fuzję/podział jego mitochondriów. W ostatnim etapie przeanalizuję rolę lizosomów i białek zaangażowanych w dynamikę mitochondrialną (mitofuzyn, dynamin) w funkcjonowaniu ciała Balbianiego i namnażaniu mitochondriów. Spodziewam się, że moje badania dostarczą również odpowiedzi na dwa intrygujące i bardziej ogólne pytania: (1) Czy funkcje ciała Balbianiego mają charakter uniwersalny, czy są specyficzne tylko dla określonych linii ewolucyjnych? (2) Która z funkcji ciała Balbianiego jest pierwotna, a które funkcje pojawiły się w czasie ewolucji wtórnie?

W projekcie wykorzystane zostaną standardowe oraz najnowsze metody mikroskopii świetlnej, elektronowej i konfokalnej. Organizację i funkcje ciała Balbianiego analizować będę przy użyciu różnorodnych metod cytochemicznych i immunocytochemicznych z zastosowaniem specyficznych markerów molekularnych. Model badawczy stanowić będzie przedstawiciel prostoskrzydłych (Orthoptera) nadrzewek południowy, *Meconema meridionale*. Gatunek ten nie jest zagrożony ani chroniony a jego zbiór nie wymaga specjalistycznych pozwoleń.