

## **Modyfikacja RNA N<sup>6</sup>-metyloadenozyny (m<sup>6</sup>A) jako przypuszczalny przełącznik metaboliczny między przeżyciem a śmiercią komórek w indukowanym starzeniu liścia jęczmienia**

Jednym z głównych wyzwań dzisiejszego świata jest rozwój upraw dających wysokie plony i wartości odżywcze. Podstawowe znaczenie dla produkcji roślinnej ma produkcja zbóż, na którą przeznaczone jest 60% gruntów ornych na świecie. Poprawę efektywności plonowania zbóż można osiągnąć poprzez regulację procesu starzenia, zarówno w kierunku jego opóźniania jak i przyspieszania. Opóźnienie starzenia liści wydłuża okres ich intensywnej fotosyntezy co przekłada się na wyższą zawartość skrobi w ziarnach. Przyspieszenie starzenia skutkuje natomiast większą ilością azotu w masie zielonej co jest cechą pożądaną paszy dla zwierząt.

W ostatnich latach, w wielu pracach naukowych pojawiły się próby opisanie i scharakteryzowania epitranskryptomu, czyli zjawiska pojawiania się odwracalnych modyfikacji RNA, stanowiących dynamiczną, dodatkową warstwę regulacji ekspresji genów. Do najczęściej badanych modyfikacji należy N<sup>6</sup>-metyloadenozyna, pojawiająca się wskutek działania kompleksu enzymu metylotransferazy, a usuwana za pomocą enzymów demetylujących. N<sup>6</sup>-metyloadenozyna bierze udział w regulacji takich procesów jak: transkrypcja, alternatywny splicing, alternatywna poliadenylacja, eksport jądrowy, stabilizacja i degradacja mRNA. Udowodniono związek podwyższonego poziomu modyfikacji m<sup>6</sup>A z procesami starzeniowymi w mózgu myszy, jednak znaczenie modyfikacji m<sup>6</sup>A podczas starzenia liści, pozostaje zagadnieniem nierozpoznanym.

DILS - nasz model badawczy, to indukowana ciemnością seria transformacji na poziomie cytologicznym, biochemicznym i molekularnym. Selektywnej, starzeniowo zależnej remobilizacji makrocząsteczek w tym procesie towarzyszą mechanizmy autofagii. Skutki procesów degradacyjnych DILS są odwracalne nawet przy zaawansowanej autofagii. Efektywność regulacji procesów starzenia jest objawem witalności starzejących się komórek, które na każdym etapie muszą posiadać zdolność do utrzymania homeostazy. W modelu zdefiniowaliśmy krytyczny etap decydujący, w którym możliwe jest odwrócenie starzenia liści i zapobiegnięcie śmierci komórki, nieznanym jest jednak mechanizm jego kontroli.

Przeprowadziliśmy badania, których wstępne wyniki sugerują, że podczas DILS dochodzi do wzrostu poziomu ekspresji enzymów metylaz m<sup>6</sup>A („writers”), czyli odpowiedzialnych za pojawianie się modyfikacji m<sup>6</sup>A. Wykazaliśmy też obecność tej modyfikacji za pomocą odpowiedniego przeciwciała, w materiale wyizolowanym z liści jęczmienia roślin poddanych DILS.

Wnioski z badań przyczyniły się do sformułowania hipotezy badawczej, że **potranskrypcyjna modyfikacja m<sup>6</sup>A może stanowić dotychczas nieodkryty przełącznik metaboliczny między zdolnością komórki do przeżycia a programowaną śmiercią komórki.**

Celem projektu jest zbadanie epigenetycznej regulacji starzenia liścia i zostanie osiągnięty dzięki następującym zadaniom badawczym:

1. Analiza zmian poziomu ekspresji wybranych genów kodujących metylotransferazy m<sup>6</sup>A RNA, demetylazy m<sup>6</sup>A RNA i białka rozpoznające m<sup>6</sup>A RNA w odpowiedzi na DILS za pomocą metody qPCR
2. Identyfikacja genów regulowanych poprzez modyfikację m<sup>6</sup>A mRNA w odpowiedzi na DILS z użyciem innowacyjnej, wysokoprzepustowej metody MeRIP-seq.
3. Ilościowa ocena poziomu modyfikacji m<sup>6</sup>A w różnych frakcjach RNA wyizolowanego z roślin poddanych DILS, za pomocą analizy kolorymetrycznej.
4. Analiza poziomu modyfikacji m<sup>6</sup>A w różnych rodzajach RNA wyizolowanego z roślin poddanych DILS, za pomocą techniki immuno-northern blot

Badania będą przeprowadzane na młodych siewkach jęczmienia, w których proces starzenia liścia będzie indukowany. W świetle obecnych badań nad poprawą wydajności i jakości plonu, pogłębienie wiedzy nad regulatorami procesu starzenia indukowanego stresem, a także leżący u jego podstaw mechanizm molekularny, wydaje się mieć charakter priorytetowy. Efektem projektu będzie nowa wiedza dotycząca epigenetycznej i epitranskrypcyjnej regulacji procesu starzenia umożliwiająca opracowanie przyjaznych dla środowiska technologii, poprawiających wydajność upraw zbóż.