

Medycyna nieustannie zmagają się z problemami w leczeniu nowotworów, cukrzycy, otyłości, czy też chorób o podłożu kardiologicznym i neurologicznym. Od lat na świecie ciągle poszukiwane i rozwijane są nowe i efektywne terapie, które mogłyby pomóc w zwalczaniu tych licznych, ciężkich i często śmiertelnych chorób. Nieustannie tworzone są nowe leki na drodze syntezy chemicznej, ale także pozyskiwane są one z wyciągów roślinnych. Te ostatnie cieszą się rosnącą popularnością, szczególnie że możliwe jest pozyskiwanie bioaktywnych związków syntezowanych przez materiał roślinny w bioreaktorach, gdzie łatwo można kontrolować parametry prowadzonych kultur komórkowych i tkankowych. Wykazano także, że stymulując komórki elicytorami różnego typu (np. związkami chemicznymi lub aplikując stres biotyczny) można efektywnie zwiększyć produkcję metabolitów wtórnych o znaczeniu farmaceutycznym. Czarnuszka damasceńska (*Nigella damascena*) jest jednym z gatunków roślin o udowodnionym działaniu terapeutycznym, i która od dawna jest wykorzystywana w medycynie tradycyjnej, szczególnie ze względu na działanie przeciwbólowe, przeciwobrzękowe i przeciwgorączkowe. Rośliny tego gatunku zawierają β -elemen, który ma działanie antynowotworowe, a przy tym nie powoduje żadnych efektów ubocznych, zmniejsza też skutki chemioterapii, ma działanie przeciwdrobnoustrojowe i zapobiega krzepnięciu krwi. Drugim bardzo ważnym związkiem olejku eterycznego *N. damascena* jest alkaloid damascenina, który wykazuje właściwości przeciwgorączkowe, przeciwzapalne i przeciwbólowe. Jednakże wiedza na temat ścieżek biosyntezy tych związków, a także w jaki sposób mogą one być regulowane u tego gatunku jest znikoma. Dlatego głównym celem proponowanych badań jest identyfikacja mechanizmów genetycznych biorących udział w biosyntezie i akumulacji biologicznie czynnych metabolitów czarnuszki damasceńskiej, ze szczególnym uwzględnieniem β -elementu i damasceniny pod wpływem traktowania elicytorami w kulturach komórkowych i tkankowych *in vitro*.

Realizacja projektu będzie polegać na indukcji i stabilizacji kultur komórkowych i kalusa *in vitro*, które zostaną poddane działaniu elicytorów chemicznych. Traktowanie jasmonianem metylu, kwasem salicylowym, chitozanem czy nanocząsteczkami cynku i tytanu powinno wywołać zmiany składu chemicznego i tym samym uzyskane zostaną linie komórkowe o unikalnym składzie lub zawartości związków bioaktywnych, co zostanie zweryfikowane na podstawie wyników analiz biochemicznych. Z wytypowanych, unikalnych materiałów zostanie wyizolowane całkowite RNA i poddane wysokoprzepustowemu sekwencjonowaniu następnej generacji, a uzyskane odczyty transkryptomu zostaną poddane analizie bioinformatycznej. W efekcie zostaną wskazane geny, których ekspresja ulega zmianie pod wpływem traktowania komórek elicytorami. Geny te potencjalnie będą miały istotny udział w powstawaniu biologicznie aktywnych związków. Weryfikacja czy faktycznie są one związane z biosyntezą wybranych związków o znaczeniu farmakologicznym zostanie przeprowadzona dzięki wygenerowaniu mutacji uniemożliwiających tworzenie funkcjonalnych enzymów lub poprzez aktywację ekspresji genów.

Na podstawie otrzymanych wyników wskazane zostaną potencjalne mechanizmy genetyczne regulujące biosyntezę i akumulację ważnych związków leczniczych u czarnuszki damasceńskiej, co ma ogromne znaczenie dla pozyskiwania tych związków z materiału roślinnego utrzymywanego w warunkach kontrolowanych *in vitro* lub w bioreaktorach. W badaniach zostaną wykorzystane nowoczesne techniki badawcze, takie jak wysokoprzepustowa analiza transkryptomów czy zaawansowana analiza bioinformatyczna wymagająca zastosowania komputerów wysokiej mocy obliczeniowej. Z kolei w celu otrzymania mutantów wykorzystana zostanie najnowsza metoda pozwalająca na precyzyjną edycję genomów, tzw. technologia CRISPR/Cas, za opracowanie której została przyznana Nagroda Nobla w 2020 roku.