

Funkcjonowanie genów jest regulowane na wielu poziomach, zależy między innymi od przestrzennego uporządkowania chromatyny w jądrach komórkowych. Chromosomy zajmują w jądrach określone terytoria, ich części formują sekcje obejmujące rejony aktywne transkrypcyjnie (euchromatynowe, A) i nieaktywne (heterochromatynowe, B). Na niższym poziomie organizacji można wyróżnić zasocjowane topologicznie domeny oraz pętle genowe. Właściwa struktura tych domen warunkuje prawidłową ekspresję genów, funkcjonowanie komórek i całych organizmów. Informacje dotyczące struktury 3D chromatyny pochodzą przede wszystkim z badań na zwierzętach i człowieku. Wiadomo, że za utrzymanie struktury domen odpowiadają białka CTCF. Nie występują one jednak u roślin, nie wskazano również jak dotąd białek roślinnych, które mogłyby pełnić analogiczną funkcję. Wiadomo jednak, że również u roślin chromatyna jest przestrzennie zorganizowana. Wiedza dotycząca takiej organizacji ogranicza się jedynie do roślin modelowych, w literaturze wskazuje się zatem na konieczność badania gatunków niemodelowych, w tym ważnych rolniczo.

Ruchome elementy genetyczne, popularnie określane mianem „skaczących genów” to segmenty DNA zdolne do samodzielnej zmiany swojej chromosomowej lokalizacji w procesie określanym jako ‘transpozycja’. Mogą one ulec mobilizacji w określonych warunkach, powodując powstanie nowej zmienności genetycznej. Każda taka zmiana (mutacja) może mieć znaczenie dla funkcjonowania genomu gospodarza. Zakłada się, że większość zdarzeń transpozycyjnych jest neutralna lub niekorzystna, są jednak liczne doniesienia o zmianach wywołanych transpozycją, które wywarły korzystny efekt, np. związany z lepszą adaptacją do warunków stresowych, a także warunkowały wykształcenie cech umożliwiających udomowienie ważnych gospodarczo gatunków roślin lub podnoszących ich wartość agronomiczną. Ponieważ ruchome elementy genetyczne tworzą rodziny zawierające wiele podobnych kopii zlokalizowanych w różnych miejscach w genomie gospodarza, są one określane mianem rozproszonego powtarzalnego DNA. Oznacza to, że jeśli pewne rodziny mogą wpływać na przestrzenną konformację chromatyny, będą to robiły w skali całego genomu. Istnieją doniesienia mówiące o wzbogaceniu określonych struktur przestrzennych w pewne grupy ruchomych elementów genetycznych. U roślin wykazano, że między innymi tzw. miniaturowe ruchome elementy genetyczne (ang. *miniature inverted-repeat transposable elements*; MITEs) mogą częściej występować w rejonach granicznych domen, jednak ich znaczenie dla tworzenia takich domen oraz interakcji z zaangażowanymi w ten proces białkami pozostaje nierozpoznane.

Przedmiotem badań w niniejszym projekcie będzie organizacja 3D genomu marchwi, warzywa o dużym znaczeniu ekonomicznym. Organizacja 3D tego genomu zostanie opisana przy użyciu techniki Hi-C pozwalającej na wysokowydajne sekwencjonowanie rejonów DNA wchodzących ze sobą w fizyczną interakcję wynikającą z ich przestrzennej bliskości. Sporządzona mapa Hi-C pozwoli na wyodrębnienie topologicznie zasocjowanych domen i rejonów obejmujących ich granice, a następnie identyfikację kopii MITE zlokalizowanych w tych rejonach. Opracowanie takich map dla różnych linii marchwi, cechujących się odmienną dystrybucją kopii MITE w genomach, umożliwi weryfikację hipotezy o globalnym znaczeniu tych elementów dla struktury 3D chromatyny jądrowej. Równolegle prowadzona będzie identyfikacja białek, które są zdolne do wiązania się z motywami DNA charakterystycznymi dla rodzin MITE wzbogaconych w okolicach granic domen. W tym celu wykorzystany zostanie system drożdżowy, w którym gen warunkujący odporność na antybiotyk (umożliwiający przeżycie komórek drożdży na pożywce z antybiotykiem) będzie pod kontrolą elementu MITE. W ten sposób jedynie komórki drożdży, w których dojdzie do związania się określonego białka z sekwencją DNA zlokalizowaną wewnątrz MITE, będą cechowały się odpornością na antybiotyk, co umożliwi identyfikację genu marchwi kodującego białko wiążące się z MITE. Ponieważ MITE są z reguły bogate w nukleotydy A/T, białka wiążące się z takimi sekwencjami będą w obszarze szczególnego zainteresowania.

Wynikiem realizacji projektu będzie poznanie struktury 3D genomu marchwi, identyfikacja białek wiążących się z MITE oraz ocena globalnego wpływu lokalizacji kopii MITE w genomie na przestrzenną konformację chromatyny.