

MikroRNA (miRNA) to klasa małych niekodujących RNA, które regulują ekspresję genów u eukariontów. MiRNA są kluczowymi regulatorami rozwoju roślin, a także odpowiedzi na stesy biotyczne i abiotyczne. U roślin całkowite zablokowanie biogenezy miRNA jest śmiertelne. Znaczne zaburzenie biogenezy miRNA prowadzi natomiast do silnych defektów o charakterze plejotropowym. Pierwotny prekursor miRNA (pri-miRNA) posiada dwuniciowy fragment o strukturze spinki do włosów, w której osadzone są sekwencje miRNA. W pierwszym etapie biogenezy miRNA z pri-miRNA wycinane są struktury spinki do włosów, tworząc krótsze prekursory zwane pre-miRNA. W drugim etapie z pre-miRNA wycinane są małe cząsteczki zwane miRNA. Te krótkie miRNA pełnią swoje funkcje jako negatywne regulatory ekspresji genów. **W niniejszym projekcie zbadamy rolę trzech helikaz typu DEAD-box w formowaniu struktury pętli spinki do włosów i ich wpływie na wydajność powstawania miRNA.**

Projekt ten podzielony jest na 8 zadań, w których planujemy zweryfikować powyższą hipotezę z wykorzystaniem podejścia genetycznego i molekularnego: planujemy przygotować mutanty *Arabidopsis thaliana* badanych helikaz oraz rośliny transgeniczne z nadekspresją badanych helikaz. Następnie, w uzyskanych roślinach będziemy sprawdzać globalne zmiany w poziomie dojrzałych cząsteczek miRNA, a także zmiany w poziomie pri-miRNA metodami wysokoprzepustowymi. Ponadto, za pomocą specjalnego sekwencjonowania (DMS-MaPseq) planujemy zbadać drugorzędową strukturę RNA prekursora miRNA, oraz w jaki sposób na strukturę drugorzędową RNA wpływają badane helikazy typu DEAD-box.

Istnieje kilka doniesień naukowych, które wykazały, że helikazy DEAD-box wpływają na biogenezę miRNA. Jednak, do tej pory nie ma publikacji opisujących, w jaki sposób helikazy DEAD-box i ich aktywność wpływają na biogenezę miRNA. W tym projekcie chcielibyśmy po raz pierwszy zbadać, czy helikazy typu DEAD-box mogą zmieniać drugorzędową strukturę pri-miRNA i wpływać na powstawanie dojrzałych cząsteczek miRNA.