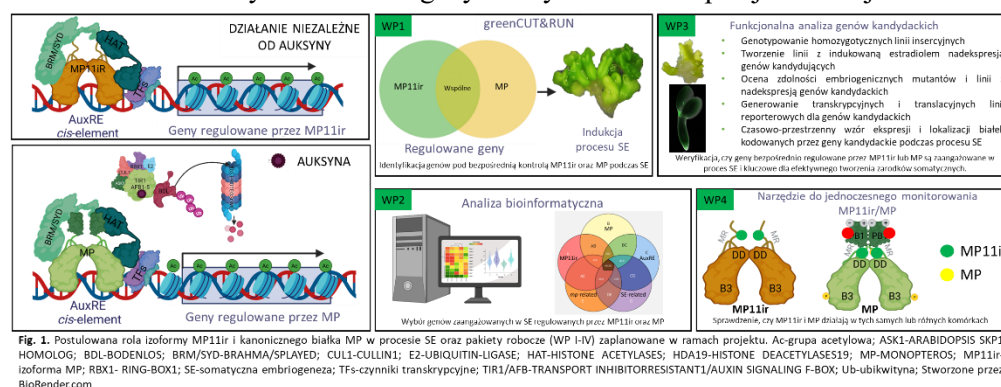


Cele projektu. Projekt ma na celu poszerzenie wiedzy na temat sygnalizacji auksyny w komórkach roślinnych. Ponieważ auksyna kontroluje każdy aspekt rozwoju roślin *in vivo* i *in vitro*, odkrycie w jaki sposób auksyna reguluje ekspresję genów jest kluczowe dla dalszego rozwoju biotechnologii i genetyki transkrypcyjnej. Nasze badania koncentrują się na odkrywaniu zależności regulacyjnych między czynnikiem transkrypcyjnym kodowanym przez gen *MONOPTEROS* (MP), a kontrolowanymi przez niego genami podczas zależnego od auksyn procesu embriogenezy somatycznej (SE).

Powody podjęcia tego tematu badawczego. Dlaczego koncentrujemy badania na genie *MP*? Rola *MP* w SE jest niekwestionowalna, ulega on wysokiej ekspresji podczas SE, jest aktywny w regionach eksplantatu, z których powstają zarodki somatyczne, a mutant *mp* nie jest zdolny do procesu SE. Przy niskim poziomie auksyn białko MP oddziałuje przez domenę PB1 z BODENLOS (BDL), który rekrutuje białka odpowiedzialne za kondensację chromatyny i blokowanie ekspresji genów odpowiedzi na auksynę. W obecności auksyn, BDL ulega degradacji, MP jest uwalniany, tworząc kompleks z białkami remodelującymi chromatynę, co prowadzi do odblokowania chromatyny i transkrypcji genów odpowiedzi na auksynę (Fig.1). Ten mechanizm działania MP obowiązywał do 2021 roku, kiedy odkryto izoformę MP11ir. MP11ir jest skróconą wersją białka MP, która nie zawiera domeny PB1. Izoforma MP11ir jest niewrażliwa na represję przez BDL, inne Aux/IAA lub samą siebie. Wstępne badania zespołu doprowadziły do identyfikacji MP11ir podczas procesu SE. Potwierdziliśmy pozytywną korelację między poziomem transkryptu kodującego MP11ir, a zdolnością do procesu SE. Do przywrócenia mutantowi *mpS319* fenotypu kontrolnego, niezbędne są zarówno izoforma MP11ir, jak i kanoniczne białko MP. Dodatkowo, MP11ir i MP mogą działać w różnych komórkach. Udowodniliśmy, że MP11ir i MP regulują poziom endogennej auksyny, co nie zostało jak dotąd udokumentowane. Stawiamy hipotezę, że różne geny mogą znajdować się pod kontrolą MP11ir oraz MP. Potrzebne są jednak globalne analizy, aby zrozumieć funkcję białek MP11ir i MP. Dlaczego chcemy badać proces somatycznej embriogenezy? Ze względu na rosnącą populację ludzką, postępujące zmiany klimatu prowadzące do zmniejszonego plonowania i rosnące zanieczyszczenie, znaczenie rozmnażania roślin przy użyciu technik *in vitro*, w tym procesu SE, rośnie. Jednak wiele roślin nadal nie może być rozmnażanych w kulturze *in vitro*. Dlatego konieczne jest dokładne zbadanie mechanizmu działania auksyny, głównego induktora tranzykcji embriogenicznej, w celu poprawy wydajności regeneracji roślin opornych w kulturach *in vitro*.

Opis badań. Natura działania genu *MP* jest złożona w kontekście istniejących izoform tj. MP11ir i MP. Proponowane badania pozwolą na identyfikację mechanizmu działania niedawno odkrytej izoformy MP11ir oraz kanonicznego białka MP podczas procesu SE (Fig.1). Wstępne analizy wskazują, że działania MP11ir i MP różnią się na poziomie molekularnym. Stworzymy molekularną sieć zależności dla MP11ir oraz MP, przez identyfikację genów znajdujących się pod ich bezpośrednią kontrolą podczas SE, przy użyciu techniki greenCUT&RUN. Analiza bioinformatyczna wskaże geny kandydackie o ekspresji zależnej od MP11ir lub MP, które jednocześnie



(WP2), oszacujemy zdolność embriogenną mutantów i transgenicznych linii z indukowalną nadekspresją kandydackich genów (WP3), a przy użyciu linii reporterowych zbadamy lokalizację ekspresji genów i białek kandydackich genów podczas SE. Opracujemy również narzędzie molekularne do jednoczesnego monitorowania MP11ir oraz MP w komórkach roślinnych (WP4). W ten sposób będziemy mogli dowiedzieć się, czy MP11ir i MP działają w tych samych, czy różnych komórkach podczas indukcji procesu SE.

Główne efekty badań. Projekt doprowadzi do identyfikacji genów bezpośrednio regulowanych przez MP11ir oraz MP oraz szczegółowej charakterystyki wybranych, nowych genów o kluczowej roli w przemianach embriogenicznych. Genów, które w przyszłości mogą przyczynić się do przezwyciężenia oporności na regenerację roślin w kulturach *in vitro*. Proponowana analiza poszerzy wiedzę na temat znaczenia alternatywnego splicingu i roli izoform w rozwoju roślin, ponieważ wgląd w molekularny mechanizm działania izoform u roślin jest szcążkowy.

ulegają różnej ekspresji podczas procesu SE. Zintegrujemy otrzymane, z już istniejącymi danymi transkryptomycznymi i ChIP-seq związanymi z SE. Aby potwierdzić zaangażowanie w proces SE wytypowanych genów kandydackich (WP1), przeanalizujemy ich profile ekspresji,