

Wyjątkowość roślin jako organizmów samowystarczalnych i osiadłych, wynika z wykształcenia u nich złożonych systemów reagowania na zmieniające się warunki środowiska. Niska temperatura, susza, wysokie zasolenie lub wysoka zawartość metali w glebie to typowe warunki stresowe, które niekorzystnie wpływają na wzrost i rozwój roślin oraz produktywność upraw. W porównaniu do innych organizmów eukariotycznych, genomy roślin mają zdolność do szybkiej ewolucji, która zwiększa ich plastyczność reagowania na stres i przystosowania się do nowych warunków. Dużą rolę odegrały tu procesy całogenomowej duplikacji (WGD) i intensywnej diploidyzacji, w wyniku których wiele genów reprezentowana jest przez większą liczbę wariantów (zwanymi paralogami). Geny te pomimo wysokiej homologii sekwencji, wskutek stopniowego nagromadzenia się mutacji nabyły nowe funkcje (modele sub- i neofuncjonalizmu), a ich produkty białkowe są odpowiedzialne za zmiany funkcjonalne u ich bezpośrednich partnerów białkowych. Pomimo dowodów wskazujących na zależność między pojawieniem się nowych cech adaptacyjnych a WGD, mechanizmy ich powstania są nadal słabo poznane.

Rzepak (*Brassica napus* L.) jako roślina ozima jest szczególnie narażony na suszę w dwóch okresach podczas rozwoju. Pierwszy okres to kielkowanie nasion i wzrost korzeni wczesną jesienią. W drugim okresie bezśnieżna zima odpowiada za suszę glebową wczesną wiosną, co przyczynia się do skrócenia okresu kwitnienia rzepaku, słabszego rozwoju samych roślin i mniejszej zdolności do regeneracji uszkodzeń wyrządzonych przez patogeny. Dlatego wyzwaniem dla współczesnej biologii i hodowli jest zrozumienie zmian w transkryptomie i proteomie zachodzących na różnych etapach rozwoju rzepaku, gdy rośliny są narażone na stres. Rzepak jest rośliną allopoliploidalną, powstałą na drodze hybrydyzacji pomiędzy diploidalnymi gatunkami *B. rapa* (dawca genomu A) i *B. oleracea* (dawca genomu C), których genomy przeszły w przeszłości trzy rundy duplikacji. Ze względu na swoje pochodzenie, jest on doskonałym modelem do badania mechanizmów funkcjonalnej dywergencji duplikatów prowadzącej do plastycznej odpowiedzi na stres.

Celem projektu jest scharakteryzowanie dynamiki zmian proteomu i różnic w sieciach białkowych związanych z dwoma białkami przynęty ABI1 (fosfataza białkowa 2C) w warunkach suszy i stresu solnego u rzepaku. Badania te powinny pozwolić poznać nowe elementy regulujące reakcje roślin na stres i zwiększające ich tolerancję na niekorzystne warunki środowiskowe. Wiadomo, że funkcje wielu białek zależą od określonych fizycznych interakcji z innymi białkami, które wspólnie kontrolują procesy komórkowe i relacje między genotypem a fenotypem. Dlatego ustalenie interakcji między wieloma białkami z centralną rolą białka paralogu BnaABI1 jest ważne dla zrozumienia zmiennego stanu fizjologicznego roślin pod wpływem różnych bodźców środowiskowych. W ramach projektu porównamy składy kompleksów białkowych związanych z dwoma izoformami BnaABI1 w warunkach stresu suszy i zasolenia. Fosfataza białkowa ABI1 jest centralnym białkiem regulatorowym (ang. hub protein), które kontroluje różne ścieżki sygnałowe indukowane stresem u roślin. W naszych badaniach wykazaliśmy, że pomimo zachowanej podstawowej aktywności fosfatazowej, 6 paralogów genu *ABI1* u rzepaku uległo dywergencji funkcjonalnej w kierunku specyficznej aktywności w stresie dehydratacyjnym. Porównanie obu kompleksów białkowych kontrolowanych przez BnaABI1 pozwoli opracować pierwszą mapę interakcji ABI1 u rzepaku. Znajomość całkowitej liczby oddziaływań białkowych zależnych od bodźców zewnątrzkomórkowych jest niezbędna do lepszego zrozumienia sieci sygnalizacyjnych i zmiany stanu komórek pod wpływem stresu w organizmach żywych.

Aby osiągnąć cele projektu, początkowo przeprowadzimy analizę zmian proteomu rzepaku pod wpływem stresu suszy i zasolenia. Wykorzystamy tu podejście proteomiki różnicowej w oparciu o metodę iTRAQ. Następnie, określimy zmiany w sieci oddziaływań białko-białko związane z izoformami BnaA01ABI1 i BnaC07ABI1 jako rdzeń. Zastosujemy tu podejście oparte na technologii chromatografii powinowactwa sprzężonej z spektrometrią mas (AP-MS). Obejmuje ona 5 etapów: przygotowanie kaset ekspresyjnych dla obu izoform ze znacznikiem His, przejściową ekspresję zrekombinowanych białek w protoplastach lub roślinach *B. napus*, oczyszczanie, identyfikację białek przez MS i analizę kompleksów białkowych. Wybrane oddziaływania pomiędzy daną izoformą BnaABI1 a docelowym białkiem będą weryfikowane przy zastosowaniu metod Y2H, BiFC i pull down. Określimy również rolę BnaABI1 w regulacji funkcji ich partnerów białkowych.