

Tytuł projektu: „Męsko-specyficzne mikroRNA *Marchantia polymorpha*: kluczowe regulatory spermatogenezy i wydajności rozmnażania płciowego”

Celem projektu jest określenie roli mikroRNA (miRNA) specyficznych dla męskich organów rozrodczych wątrobowca *Marchantia polymorpha* w regulacji spermatogenezy i rozmnażania płciowego. MiRNA to krótkie (zwykle o długości 18-21 nukleotydów), niekodujące RNA (tzn. takie, które nie kodują białka), pełniące funkcje regulatorowe w organizmach eukariotycznych. Ich rola polega na kontrolowaniu poziomu docelowego mRNA (ang. messenger RNA). MiRNA regulują swoje docelowe mRNA na dwa sposoby: albo biorą udział w rozcięciu cząsteczki mRNA, w konsekwencji powodując jego degradację, albo blokują proces translacji, czyli proces syntezy białek. Znaczenie tych cząsteczek podkreśla fakt, że w tym roku Viktor Ambros i Gary Ruvkun otrzymali Nagrodę Nobla w dziedzinie fizjologii lub medycyny za odkrycie miRNA oraz opisanie ich kluczowej roli w regulacji ekspresji genów. Dlaczego do naszych badań wybraliśmy *Marchantia*? *Marchantia* należy do gromady wątrobowców i jest jedną z najstarszych roślin lądowych, zamieszkujących Ziemię od ponad 400 milionów lat. Ze względu na swoje pradawne pochodzenie *Marchantia* pełni rolę „żywego laboratorium” do badania ewolucji roślinnych procesów metabolicznych i rozwojowych na poziomie molekularnym. Dodatkowo posiada mały genom i jest łatwa do modyfikacji genetycznej. Co więcej, *Marchantia* jest rośliną rozdzielнопłciową, co oznacza, że wytwarza oddzielne rośliny męskie i żeńskie. Rośliny męskie produkują ruchliwe plemniki o wydłużonym kształcie, posiadające 2 wici (Fig. 1A). Spermatogeneza, czyli proces dojrzewania plemników, zachodzi w specjalnych organach zwanych plemniostanami (Fig. 1B), zagłębionymi w plemniostanach (Fig. 1C).

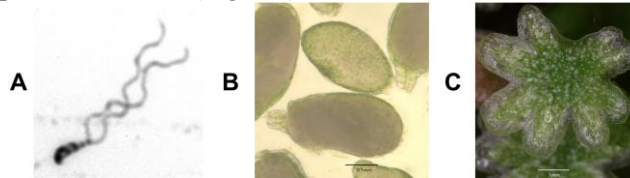


Fig. 1. Dojrzały plemnik z dwiema wtkami (A); plemniki wyizolowane z plemniostanu (B); dojrzały plemniostan (C)

Mikrotranskryptom (czyli zbiór wszystkich miRNA) *Marchantia* składa się z siedmiu ewolucyjnie zakonserwowanych rodzin miRNA (czyli takich, które występują u wszystkich roślin lądowych) oraz ponad dwustu rodzin miRNA specyficznych dla wątrobowców. Dotychczas znane były tylko dwie rodziny miRNA, które występują wyłącznie w męskich organach płciowych *Marchantia*: MpmiR11889 oraz MpmiR11887. Badania przedstawione w moim projekcie koncentrują się na trzech głównych zagadnieniach naukowych: analizie specyficznych modułów regulacyjnych miRNA-mRNA, takich jak MpmiR11887-MpATX1 (1), oraz charakterystyce nowych, wcześniej nieznanych męsko-specyficznych miRNA (w tym miRNA kodowanych na męskim chromosomie płciowym) i ich docelowych mRNA (2). Warto podkreślić, że po raz pierwszy w roślinach, potwierdziliśmy obecność genów kodujących cząsteczki miRNA na męskim chromosomie płciowym. Badania wstępne pozwoliły ustalić, że docelowym mRNA dla MpmiR11887 jest najprawdopodobniej MpATX1, kodujący enzym metylotransferazę histonową, biorącą udział w upakowaniu chromatyny. Roślinne mutanty *Marchantia*, nie produkujące MpmiR11887 mają większe plemniostany w porównaniu do roślin typu dzikiego. W niniejszym projekcie chcemy dokładnie zbadać morfologię plemników w tych roślinach oraz w roślinach z nadekspresją lub/i brakiem ekspresji białka MpATX1. Sprawdzimy ponadto, czy zaburzony poziom MpATX1 wpływa na wydajność rozmnażania płciowego. Dodatkowo, sekwencjonowanie transkryptomu (RNA-seq) oraz ilościowa analiza proteomu pozwoli ustalić, czy i jakie inne geny i białka mają zaburzony poziom ekspresji w badanych mutantach *Marchantia*. Podobne analizy przeprowadzimy dla nowo odkrytych męsko-specyficznych miRNA i ich docelowych mRNA. Ostatnim krokiem w moim projekcie (3) będzie zintegrowanie otrzymanych wyników w celu odkrycia szerszej sieci interakcji miRNA-mRNA, które biorą udział w kontroli spermatogenezy i sukcesu reprodukcyjnego *Marchantia*. Nasze dotychczasowe badania wykazały, że mRNA kontrolowane przez męsko-specyficzne miRNA (MpmiR11889 i MpmiR11887) są zachowawcze ewolucyjnie i występują zarówno u roślin wyższych jak i kręgowców (w tym u człowieka). Wyniki te sugerują, że nasze badania mogą przyczynić się do identyfikacji nowych czynników genetycznych o dotychczas nieznannej roli w procesie rozwoju gamet męskich, zarówno u roślin wyższych, jak i u kręgowców. Projekt poszerzy naszą wiedzę o procesie spermatogenezy i rozmnażaniu płciowym roślin kontrolowanych przez miRNA, a wyniki będą stanowić punkt wyjścia dla przyszłych badań nad ewolucją molekularnych mechanizmów kształtujących strategie reprodukcyjne roślin lądowych.