

Auksyny są jedną z kluczowych grup hormonów roślinnych, które są odpowiedzialne za regulację procesów rozwojowych u roślin i ich dostosowanie do zmieniających się warunków środowiskowych. Uczestniczą one między innymi w wydłużaniu komórek, różnicowaniu tkanek, inicjacji organów, reakcjach tropicznych czy interakcjach roślin z innymi organizmami. Ich działanie jest zależne od komórkowego stężenia i musi być precyzyjnie, czasowo i przestrzennie, kontrolowane, aby umożliwić roślinom prawidłową reakcję na bodźce środowiskowe i utrzymanie homeostazy hormonalnej. Jednym z mechanizmów regulujących poziom aktywnej auksyny w komórkach jest jej odwracalna inaktywacja poprzez wiązanie dodatkowych grup funkcyjnych i tworzenie nieaktywnych koniugatów. Jedną z mniej znanych, ale potencjalnie ważnych form zmodyfikowanej w sposób odwracalny auksyny jest meIAA - ester metylowy kwasu indolo-3-octowego (IAA), głównej naturalnej formy tego hormonu. W przeciwieństwie do dobrze znanych koniugatów auksyn, takich jak związane z aminokwasami lub utlenione formy IAA, meIAA pozostaje stosunkowo słabo zbadany. Choć jego obecność została potwierdzona u wielu gatunków roślin, jego funkcja biologiczna wciąż pozostaje niewyjaśniona. Zakłada się, że meIAA odgrywa rolę „magazynu” auksyny w formie nieaktywnej, która w odpowiedzi na sygnał wewnętrzny lub zewnętrzny może ulec hydrolizie do aktywnego IAA. Jednak obserwacje fenotypowe roślin z upośledzoną syntezą lub degradacją meIAA, a także wyniki badań eksperymentalnych (między innymi z egzogennym traktowaniem roślin meIAA) sugerują, że metabolit ten pełni bardziej złożoną funkcję. Istnieją przesłanki sugerujące, że meIAA może być czynnikiem sygnalizacyjnym, działającym niezależnie od konwersji do IAA, a także, że może być formą transportową IAA, ułatwiającą jej dystrybucję zarówno lokalną jak i długodystansową w obrębie całej rośliny. Celem proponowanego projektu jest więc kompleksowe zbadanie biologicznej funkcji meIAA w rozwoju roślin, poprzez analizy modelowego gatunku - *Arabidopsis thaliana*. Główne pytania badawcze dotyczą tego, czy meIAA pełni jedynie funkcję magazynową, czy też posiada własną aktywność biologiczną oraz czy uczestniczy w transporcie auksyn w obrębie rośliny i czy ulega hydrolizie w miejscu docelowym. W tym celu wykorzystane zostaną techniki biologii molekularnej, genetyki funkcjonalnej oraz obrazowania mikroskopowego.

Badania będą prowadzone z wykorzystaniem różnych linii *Arabidopsis* - zarówno mutantów (pozbawionych zdolności do syntezy lub hydrolizy meIAA), jak i roślin z nadekspresją enzymów zaangażowanych w metabolizm tego związku. Dodatkowo, linie te zostaną skrzyżowane z roślinami transgenicznymi zawierającymi biosensory fluorescencyjne sygnalizacji auksynowej, co umożliwi monitorowanie aktywności auksyny w czasie rzeczywistym. Dzięki zastosowaniu trzech różnych biosensorów, możliwe będzie monitorowanie kolejnych etapów szlaku sygnałowego auksyny - od obecności wolnego IAA w komórce, poprzez aktywację receptorów hormonu, aż do efektywnej odpowiedzi transkrypcyjnej. Eksperymenty obejmą również analizę ekspresji genów kodujących enzymy syntetyzujące i degradujące meIAA oraz lokalizację enzymów na poziomie tkankowym, na różnych etapach rozwoju roślin. Planowane są również badania fenotypowe - ocena wzrostu korzeni i hipokotyli, odpowiedzi grawitropowej oraz liczby i rozmieszczenia korzeni przybyszowych - przy traktowaniu roślin egzogennym meIAA i IAA. Zbadane zostanie również, w jaki sposób meIAA wpływa na rozmieszczenie transporterów auksyny i czy wpływa tym samym na regulację jej transportu w roślinie. Ponadto, aby zbadać potencjalną rolę meIAA jako transportowej formy IAA, badane linie mutantów (*mes17*, *iamt1*) i linia z nadekspresją 35S::IAMT1 będą hodowane na pożywkach z zastosowaniem chemicznego inhibitora polarnego transportu auksyn - NPA. Na koniec, oddziaływanie meIAA ze szlakami sygnalizacyjnymi auksyn zostanie zbadane poprzez analizę wpływu tego koniugatu na fenotypy roślin z mutacjami lub nadekspresją znanych receptorów auksyn i elementów jej różnych szlaków sygnałowych. Eksperymenty te pomogą ustalić, czy meIAA działa poprzez te same receptory co IAA, czy też musi zostać przekształcony do wolnej auksyny aby mieć działanie biologiczne lub działa poprzez odrębne szlaki sygnałowe.

Wyniki projektu przyczynią się do odpowiedzi na fundamentalne pytania dotyczące mechanizmów regulacji hormonalnej u roślin. Wyjaśnienie funkcji meIAA umożliwi lepsze zrozumienie, w jaki sposób rośliny zarządzają lokalną dostępnością aktywnej auksyny i jak utrzymują równowagę między jej syntezą, transportem i dezaktywacją. Badania te mają również potencjalne znaczenie aplikacyjne. Lepsze zrozumienie szlaków metabolizmu i sygnalizacji auksyn może w przyszłości umożliwić opracowanie nowych strategii poprawy produkcji roślinnej, zwłaszcza w odniesieniu do zachodzących zmian klimatycznych.