

Streszczenie

Etylen jest hormonem roślinnym, który uczestniczy w kontroli wzrostu i rozwoju roślin. Hormon ten kontroluje również reakcje roślin na wiele czynników środowiskowych. Biosynteza etylenu złożona jest z dwóch relatywnie prostych reakcji enzymatycznych, z których najważniejszą reakcją jest przekształcenie S-adenozylometioniny w kwas 1-aminocyklopropano-1-karboksylowy przez syntazy ACC (ACS). Syntazy ACC zostały podzielone na trzy typy ze względu na obecność lub brak C-końcowej domeny. W przedstawionej pracy skupiono się na syntazie ACC typu III, ACS7 u *Arabidopsis thaliana*. ACS7 charakteryzuje się brakiem C-końcowej domeny zawierającej miejsca fosforylacji dla kinaz MAPK oraz CDPK. Istotne znaczenie w regulacji biosyntezy etylenu mają modyfikacje potranslacyjne syntaz ACC. Odwracalna fosforylacja oraz degradacja proteasomalna ściśle kontrolują stabilność enzymów ACS.

Celem badań przeprowadzonych w ramach niniejszej pracy jest poznanie mechanizmu regulującego stabilność białka ACS7. Przeprowadzone analizy mikroskopowe wykazały, że ACS7 oddziałuje z fosfatazą białkową 2C z grupy A - ABI1, ale także z innymi fosfatazami 2C z tej grupy - ABI2 i HAB1. Wykazano również, że do interakcji między syntazą ACS7 a fosfatazami białkowymi (PP2C) dochodzi głównie w cytoplazmie oraz w jądrze komórkowym. W celu zbadania miejsc oddziaływania analizowanych PP2C z ACS7 przygotowano fragmenty delecyjne syntazy ACS7. Wykorzystując technikę mBiFC wykazano, że wszystkie formy delecyjne oddziałują z testowanymi PP2C. W następnym etapie prowadzonych badań opracowano model strukturalny ABI1-ACS7, na podstawie którego wytypowano potencjalne aminokwasy biorące udział w jego formowaniu. Uzyskane wyniki zweryfikowano metodą BiFC-FRET-FLIM. Stwierdzono, że reszty aminokwasowe ABI1 W300 oraz I298 są istotne dla oddziaływania z ACS7. Dalsze badania z wykorzystaniem pozakomórkowego systemu degradacji *in vitro* wykazały, że analizowane PP2C są zaangażowane w regulację stabilności ACS7. W kolejnych etapach prac zidentyfikowano potencjalne reszty serynowe: S48 oraz S85, które mogą być defosforylowane przez fosfatazę białkową ABI1. Ponieważ, nie jest poznany dokładny mechanizm degradacji proteasomalnej ACS7, skupiono się na identyfikacji potencjalnych miejsc ubikwitynacji. Na podstawie uzyskanych wyników badań

prezentowanych w niniejszej pracy wykazano, że lizyny 238 oraz 384 w sekwencji ACS7 wpływają na stabilność syntazy i mogą stanowić sygnał do degradacji.

Wyniki uzyskane w ramach przedstawionej pracy skupiają się na poznaniu molekularnych mechanizmów proteasomalnej degradacji jednego z kluczowych enzymów biosyntezy etylenu - ACS7. Poznanie mechanizmów kontrolujących poziom etylenu umożliwi zrozumienie tak szerokiego udziału etylenu w rozwoju i dojrzewaniu roślin.

Słowa Klucze

Syntaza ACC, ACS7, fosfatazy białkowe PP2C, ABI1, ubikwitynacja, degradacja proteasomalna