

Katarzyna Knop

“Biogeneza wybranych mikroRNA związanych z odpowiedzią rośliny na stesy abiotyczne”

STRESZCZENIE

MikroRNA (miRNA) to krótkie cząsteczki RNA, powszechnie występujące w organizmach eukariotycznych, regulujące ekspresję wielu genów na poziomie potranskrypcyjnym. Za dojrzewanie roślinnych miRNA odpowiedzialna jest złożona maszyneria białkowa, zwana kompleksem mikroprocesora. Cząsteczki miRNA kodowane są przez geny *MIR* charakteryzujące się złożoną budową. Wykazano między innymi, że mogą one zawierać introny, których splicing stymuluje dojrzewanie miRNA. Co ciekawe, u *A. thaliana*, 29 cząsteczek miRNA położonych jest w intronach tzw. genów gospodarzy kodujących funkcjonalne białka lub niekodujące RNA. Wiedza dotycząca mechanizmu powstawania intronowych miRNA u roślin nadal jest niewystarczająca.

Celem pierwszej części prezentowanej pracy doktorskiej było poznanie mechanizmu dojrzewania intronowych miRNA u *Arabidopsis*. W wybranych warunkach stresu abiotycznego zaobserwowano, że podniesiony poziom intronowej cząsteczki miR402 korelował z obniżoną wydajnością wycinania intronu goszczącego miRNA oraz z częstszym wyborem alternatywnego, proksymalnego miejsca poliadenylacji. Ponadto, inaktywacja konstytutywnego miejsca 5' splicingowego intronu zawierającego pre-miR402, która spowodowała zahamowanie splicingu tego intronu, skutkowałą podwyższeniem akumulacji miR402 oraz częstszym wyborem proksymalnego miejsca poliA. Co ważne, przeprowadzone eksperymenty ujawniły, że lokalizacja pre-miRNA w stosunku do najbliższego aktywnego miejsca 5' splicingowego ma kluczowe znaczenie dla wydajności dojrzewania miR402. Efekt ten był stymulujący lub hamujący, gdy pre-miR402 położony był odpowiednio powyżej lub poniżej aktywnego miejsca 5' splicingowego. Dalsze eksperymenty udowodniły, że oddziaływania pomiędzy maszyną biogenezy miRNA a splicingową odgrywają ważną rolę w regulacji dojrzewania miRNA u roślin, także podczas odpowiedzi rośliny na czynniki stresowe.

Głównym celem drugiej części niniejszej pracy doktorskiej była analiza biogenezy cząsteczek miR319b i miR319b.2 u *A. thaliana*. Obie cząsteczki zlokalizowane są w obrębie jednej struktury typu „*spinka do włosów*” pre-miR319b, aczkolwiek posiadają inną sekwencję nukleotydową oraz regulują inne docelowe mRNA. Analizy przeprowadzone w liniach transgenicznych zawierających zmodyfikowane wersje pre-miR319b wykazały, że modyfikacje sekwencji miR319b/miR319b* skutkowały obniżeniem poziomu pri-miR319b i dojrzałego miR319b.2. Ponadto, analizy poziomu docelowych mRNA wykazały, że modyfikacje te, oprócz zmiany poziomu mRNA *TCP4*, *TCP10* i *TCP24* (regulowanych przez miR319b) spowodowały także zmianę poziomu mRNA *TBL10* oraz izoformy splicingowej *RAP2.12* (kontrolowanych przez miR319b.2). Podobną regulację zaobserwowano w przypadku modyfikacji wprowadzonych w obrębie miR319b.2/miR319b.2*. Przedstawione wyniki wykazały, że dojrzewanie cząsteczek miR319b i miR319b.2 może być wzajemnie powiązane oraz że obie cząsteczki mogą współkontrolować poziom swoich docelowych mRNA. Do pełnego zrozumienia mechanizmu biogenezy miR319b i miR319b.2 i ich roli w regulacji wzrostu i rozwoju roślin niezbędne jest przeprowadzenie dodatkowych eksperymentów.

Słowa kluczowe:

Arabidopsis thaliana, ekspresja genów, mikroRNA, biogeneza miRNA, splicing, poliadenylacja, stres abiotyczny, potranskrypcyjna regulacja poziomu pri-miRNA