

1. STRESZCZENIE

Problem badawczy: Ekspresja genów kodujących białka w komórkach eukariotycznych jest procesem ściśle kontrolowanym na każdym z etapów, począwszy od zmian w strukturze chromatyny i interakcji między sekwencjami typu *cis*-DNA, a działaniem czynników *trans*, które są wymagane do aktywacji lub wyciszenia genów. Oprócz konstytutywnej ekspresji genów, transkrypcja określonych genów może być indukowana w odpowiedzi na etap cyklu komórkowego, jak również na bodźce, w tym stres, czy indukcję hormonalną. Regulacja ekspresji genów może wystąpić już podczas trwania procesu transkrypcji, a także procesów kotranskrypcyjnych, takich jak: 5' czapeczkowanie, splicing, czy poliadenylacja.

Badania przeprowadzone w ostatnich latach dotyczą również ważnej roli regulacji procesu ekspresji w okresie potranskrypcyjnym, związanej z takimi procesami jak transport czy degradacja pre-mRNA i mRNA. Jednym z nowo odkrytych procesów regulacji potranskrypcyjnej jest retencja mRNA na terenie jądra komórkowego. Retencja mRNA koordynuje tempo eksportu mRNA na teren cytoplazmy w zależności od obecnego stanu metabolicznego i zapotrzebowania komórki. Retencji mogą ulegać zarówno w pełni dojrzałe mRNA, jak i pre-mRNA z zachowaną sekwencją intronową do czasu, aż splicing zostanie w pełni ukończony. Wydaje się, że mechanizm kontroli tempa translacji, poprzez zatrzymywanie mRNA na terenie jądra, jest kluczowy w komórkach charakteryzujących się pulsacyjną aktywnością transkrypcyjną. Taka koordynacja pozwala na translację białek, zgodnie z bieżącym zapotrzebowaniem komórki, pomimo obniżenia jej aktywności transkrypcyjnej. Dotychczasowe badania nie wskazują jednak jaki mechanizm odpowiedzialny jest za retencję transkryptów u roślin wyższych.

Cel pracy: Celem niniejszej pracy było zbadanie procesu retencji mRNA na terenie jądra komórkowego podczas profazy pierwszego podziału meiotycznego w mikrosporocytach modrzewia. Jest to nowy mało poznany mechanizm potranskrypcyjnej regulacji ekspresji genów, który może związany być z: (1) przygotowaniem komórki do szybkiego uruchomienia wzmożonej aktywności metabolicznej, (2) czasowym wyciszeniem genomu, podczas którego niezbędna jest translacja określonych transkryptów kodujących białka metabolizmu podstawowego, które ulegają ekspresji we wcześniejszym okresie aktywności transkrypcyjnej.

Wyniki: Wykazano, iż w mikrosporocytach modrzewia europejskiego dochodzi do regulacji ekspresji genów, poprzez zatrzymanie na terenie jądra komórkowego mRNA, które prawdopodobnie niezbędne jest podczas kolejnych etapów rozwoju mikrosporocytów.

Zidentyfikowano transkrypty, które eksportowane są na teren cytoplazmy i potencjalnie ulegają translacji. Analiza mikroskopowa wykazała, że mRNA wykazują różny czas retencji na terenie jądra komórkowego. Wykazano, że niektóre z transkryptów gromadzone były w ciałach jądrowych, takich jak ciała Cajala, czy jąderko. Okazało się, iż mRNA, które najdłużej ulegają retencji na terenie jądra komórkowego przechowywane są w formie niedojrzałej, z zachowaną sekwencją intronową. Na podstawie otrzymanych wyników wraz z dostępnymi doniesieniami literaturowymi zaproponowano, iż retencja na terenie nukleoplazmy oraz domen jądrowych mRNA oraz pre-mRNA z zachowaną sekwencją intronową stanowi nowy mechanizm potranskrypcyjnej regulacji ekspresji genów w komórkach roślin wyższych o pulsacyjnej aktywności transkrypcyjnej.

Magda Rudzka

10.01.2020