

Rośliny, podobnie jak zwierzęta, mają zdolność do generowania potencjałów czynnościowych, AP w odpowiedzi na zmienne czynniki środowiska. Potencjały czynnościowe to krótkotrwałe zmiany potencjału elektrycznego komórki, które wywołane lokalnie mogą się rozprzestrzeniać na całe rośliny lub znaczne ich części. Umożliwia to roślinom kodowanie i transmisję informacji o zmianach zachodzących w środowisku, prowadzących do szybkich odpowiedzi. Celem niniejszego projektu jest porównanie mechanizmu APs u przedstawicieli glonów słodkowodnych – ramienic, które są obiektem badań zespołu litewskiego i wątrobowców, u których zjawiska bioelektryczne bada od lat zespół polski. Ważnym aspektem tych badań będzie próba odpowiedzi na pytanie: jak zmienił się system odpowiedzi na bodźce u roślin przy przejściu ze środowiska wodnego do lądowego. W toku ewolucji nastąpiło to około 470 mln lat temu w środkowym Ordowiku. Roślinami, które jako pierwsze opanowały lądy były wątrobowce, natomiast ramienice uważane są za ich bezpośrednich poprzedników. Szczególna uwaga zostanie poświęcona roli jonów wapnia w postawianiu APs. To bowiem te jony, po pojawieniu się w znacznych ilościach w cytoplazmie uruchamiają kaskady zdarzeń prowadzące do odpowiedzi fizjologicznych, takich jak zmiany tempa oddychania i fotosyntezy, zatrzymanie ruchu cytoplazmy, a u roślin owadożernych zamykanie pułapek i trawienie ofiar. Nie zostało dotychczas jednoznacznie stwierdzone czy wzrost stężenia jonów Ca^{2+} w cytoplazmie w trakcie AP wynika napływu tych jonów ze środowiska zewnętrznego, czy z wewnątrzkomórkowych zasobów, a szczególnie z wakuoli - największego kompartymentu komórkowego. Za napływ jonów Ca^{2+} z wakuoli do cytozolu mogą odpowiadać kanały jonowe zlokalizowane w tonoplazmie typu SV/TPC. Oba zespoły posiadają doświadczenie w badaniu aktywności kanałów jonowych w wakuolach roślin za pomocą techniki patch-clamp (P-C). Pozwala ona na zarejestrowanie strumieni jonowych przepływających przez pojedyncze białko – kanał jonowy. Za opracowanie tej metody Erwin Neher i Bert Sakmann otrzymali w 1991 roku nagrodę Nobla. Planowane jest zbadanie techniką P-C kanałów typu SV w wakuolach wątrobowca *Marchantia polymorpha* oraz w komórkach węzłowych glonu *Nitellopsis obtusa*. Kanały typu SV występują powszechnie u roślin, zwierząt (w endomembranach) a nawet u bakterii. Nie zarejestrowano ich aktywności, jak dotąd, tylko w olbrzymich międzywęzłowych komórkach ramienic. Wynika to zapewne ze sposobu izolacji tonoplastu w formie otoczki kropeł cytoplazmy wyizolowanych z tych olbrzymich komórek. Jednym z zadań obecnego projektu będzie podjęcie próby izolacji wakuol ze względnie małych komórek węzłowych i przeprowadzenie badań aktywności kanałów techniką P-C. Do badań zostaną też włączone mutanty *M. polymorpha* z wyłączonym genem kodującym kanał typu SV/TPC. Zbadane zostanie, jak odcięcie tej potencjalnej drogi napływu Ca^{2+} do cytoplazmy wpłynie na generowanie i rozprzestrzenianie się AP.

Ostatnio przeprowadzone badania na komórkach ludzkich wykazały, że odpowiedniki kanałów jonowych typu SV/TPC: TPC1 i TPC2 w endolizosomach są odpowiedzialne m.in. za rozprzestrzenianie się wirusa Ebola, uczestniczą w powstawaniu naczyń zasilających w krew guzy nowotworowe, jak również pełnią rolę w powstawaniu fal Ca^{2+} w ischemii serca.

Ważnym zadaniem w proponowanym projekcie będzie zbadanie wpływu leków skierowanych przeciwko ludzkim kanałom TPC1 i TPC2 na kanały roślinne. Badania ludzkich kanałów TPC1 i TPC2 napotykać znaczne trudności techniczne ze względu na problem z izolowaniem czystych błon endolizosomów. W przypadku pozytywnych rezultatów proponowanych badań, stworzony będzie tani system testowania tych, jakże ważnych, leków na modelu roślinnym. Komplementarne umiejętności i doświadczenia zespołów polskiego i litewskiego będą pomocne w realizacji wyżej wymienionych naukowych celów.