

Rośliny są stale narażane na działanie wielu czynników stresowych, w tym czynników uszkadzających DNA. Większość gleb uprawnych w Europie i Ameryce Północnej ma niskie pH, podobnie jak gleby w wielu krajach Ameryki Południowej, centralnej Afryki, czy południowoschodniej Azji. W glebach o niskim pH, aluminium (Al), najpopularniejszy metal w skorupie ziemskiej, występuje w postaci fitotoksycznych jonów Al^{3+} powodujących m.in. hamowanie podziałów komórkowych i elongacji komórek w korzeniu. Jęczmień jest jednym z najbardziej wrażliwych na aluminium zbóż. Dotychczasowe prace, w tym te prowadzone przez nas w ramach konsorcjum ERA-CAPS, wykazują, że aluminium jest czynnikiem genotoksycznym, wywołującym uszkodzenia DNA. W ramach niniejszego projektu chcemy badać nowy mechanizm molekularny tolerancji roślin na czynniki genotoksyczne. Wstępne badania prowadzone przez niemieckiego partnera na *Arabidopsis* wskazują na potencjalny udział jednego z czynników transkrypcyjnych NAC oraz kompleksu DREAM w odpowiedzi na uszkodzenia DNA. Nowo zidentyfikowany NAC jest targetem białka SOG1 – czynnika transkrypcyjnego, który jest głównym regulatorem zaangażowanym w ścieżkę DDR (DNA Damage Response). Natomiast kompleks DREAM jest najlepiej scharakteryzowany u człowieka, gdzie jego funkcją jest represja genów cyklu komórkowego podczas wchodzenia komórki w stan spoczynku (G_0). Nasza hipoteza badawcza zakłada, że u roślin nowo zidentyfikowany NAC wraz z komponentami DREAM tworzą aktywowany przez uszkodzenia DNA kompleks, który reguluje ekspresję genów zaangażowanych we wzrost i podział komórek, w celu zatrzymania tych procesów.

Praca w ramach przedstawianego projektu prowadzona będzie na dwóch gatunkach roślin: *Arabidopsis thaliana*, modelowej roślinie dwuliściennej i jęczmieniu (*Hordeum vulgare*), użytkowej roślinie jednoliściennej, której genom został niedawno zsekwencjonowany. Badania naukowe obejmują cztery główne zagadnienia. W ramach zadania WP1 planujemy zidentyfikować ortologa nowo zidentyfikowanego czynnika NAC u jęczmienia na podstawie analiz transkryptomu mutantu *sog1* (uzyskanego przez nas we wcześniejszych badaniach) i jego formy wyjściowej po traktowaniu czynnikami uszkadzającymi DNA – aluminium i cisplatyną. Następnie wykorzystamy strategię TILLING w celu zidentyfikowania mutantów jęczmienia niosących zmiany w tym ortologu i w jego ewentualnych paralogach. Mutanty te zostaną poddane testom oceniającym wpływ czynników genotoksycznych na rozwój ich systemu korzeniowego oraz analizom histo- i cytologicznym. W ramach kolejnego zadania, WP2, postaramy się ocenić, czy istnieją u roślin specyficzne komponenty kompleksu DREAM biorące udział w odpowiedzi na uszkodzenia DNA. W tym celu zostaną wyprowadzone mutanty *Arabidopsis* i jęczmieniach w genach kodujących wybrane czynniki kompleksu DREAM. Analizy odpowiedzi mutantów na czynniki genotoksyczne pomogą w wybraniu genów specyficznie odpowiadających na uszkodzenia DNA. Celem zadania WP3 będzie ocena składu kompleksu DREAM oraz genów docelowych ulegających represji w odpowiedzi na uszkodzenia DNA. W ramach tego zadania postaramy się odpowiedzieć na pytanie, czy badany NAC jest częścią kompleksu DREAM, czy niezależnie od tego kompleksu bierze udział w odpowiedzi na uszkodzenia DNA. Planujemy również zidentyfikować geny przez niego regulowane u *Arabidopsis* (ChiP-seq) i jęczmienia (RNA-seq). Analiza porównawcza wyników otrzymanych dla tych dwóch gatunków pozwoli na ocenę stopnia konserwowania tych elementów regulatorowych pomiędzy roślinami jedno- i dwuliściennymi. Ostatnie zadanie WP4 obejmuje ocenę czasowo-przestrzennej odpowiedzi na uszkodzenia DNA w korzeniu.

Jeśli nasza hipoteza, zakładająca wpływ badanych czynników na represję genów promujących wzrost i podziały komórkowe w odpowiedzi na uszkodzenia DNA jest prawidłowa, mutacje w analizowanym genie NAC oraz w genach kodujących komponenty kompleksu DREAM mogą prowadzić do zwiększonej tolerancji na czynniki genotoksyczne, co może mieć dodatkowo przełożenia aplikacyjne. Potencjalnie, mutanty jęczmienia niosące zmiany w analizowanych genach mogą charakteryzować się lepszym wzrostem na zawierających genotoksyczne jony Al^{3+} kwaśnych glebach, które stanowią coraz większy areał gleb uprawnych na świecie.