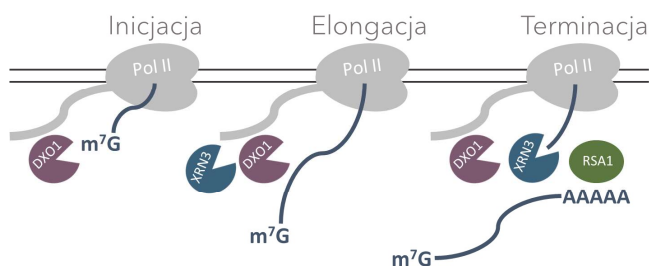


Sprawne i odpowiednio regulowane mechanizmy ekspresji genów leżą u podstaw prawidłowego funkcjonowania każdej żywej komórki, a wszelkie zaburzenia tych procesów prowadzą do występowania szeregu zaburzeń, w tym chorób nowotworowych u ludzi. Transkrypcja jest szczególnie ważnym elementem regulującym ekspresję genów, ponieważ prowadzi do wytworzenia cząsteczek RNA na bazie informacji genetycznej zawartej w DNA. To właśnie na matrycy informacyjnego mRNA syntetyzowane są wszystkie białka w komórce, zarówno budujące samą komórkę, jak i enzymy i czynniki, które przeprowadzają procesy, utrzymujące komórkę przy życiu. Synteza mRNA kodujących białka, a także wielu niekodujących RNA o ważnych funkcjach komórkowych, przeprowadzana jest przez polimerazę RNA II, której aktywność jest regulowana przez szereg białek pomocniczych. Nowopowstające cząsteczki RNA ulegają też modyfikacjom i obróbce, które są kluczowe dla ich funkcji. Ta złożona regulacja zapewnia dostosowanie transkrypcji do bieżących potrzeb komórki, a także umożliwia dynamiczne zmiany ekspresji genów w odpowiedzi na warunki zewnętrzne.

Od dawna wiadomo, że komórki organizują wiele swoich reakcji biochemicznych w przedziałach komórkowych, pełniących określone funkcje. Są to nie tylko dobrze znane przedziały ograniczone błoną komórkową, takie jak organelle komórkowe, m.in. jądro komórkowe, mitochondria, chloroplasty, ale również przestrzenie nieobłonięte, które nie są oddzielone od wnętrza komórki żadną fizyczną barierą. Niedawne badania wykazały, że wiele z tych nieobłonowych przedziałów powstaje w wyniku rozdziału faz na drodze mechanizmu, który określa się mianem separacji faz ciecz-ciecz (ang. *liquid-liquid phase separation*, LLPS). Zjawisko LLPS umożliwia organizację czynników biorących udział w poszczególnych procesach komórkowych w skupiska, tzw. kondensaty. Fizyczna bliskość czynników wchodzących w skład takiego kondensatu umożliwia sprawne i odpowiednio kontrolowane przeprowadzenie wielu reakcji biochemicznych czy procesów. Wiadomo też, że skład kompleksu transkrypcyjnego polimerazy RNA II zmienia się dynamicznie na różnych etapach transkrypcji, co również jest wspomagane przez LLPS.

Eksperymenty zaplanowane w projekcie mają na celu zbadanie mechanizmów regulujących prawidłowe działanie procesu transkrypcji w modelowym organizmie roślinnym *Arabidopsis thaliana*, ze szczególnym naciskiem na określenie roli procesu LLPS. Do przeprowadzenia badań wytypowaliśmy białko XRN3 zaangażowane w transkrypcję, a także powiązane z nim funkcjonalnie DXO1 i RSA1, które posiadają udokumentowane lub przewidywane właściwości formowania kondensatów. Posiadamy mutanty *Arabidopsis* pozbawione ekspresji lub z obniżonym poziomem wymienionych białek i planujemy zbadać te linie z zastosowaniem zintegrowanych technik sekwencjonowania nowej generacji (m. in. BRB-Seq, CHIP-Seq, RIP-Seq, NET-Seq), które pozwolą na określenie globalnego wpływu badanych białek na transkrypcję, a także na strukturę produkowanych cząsteczek RNA. Zbadamy również mechanistyczne podstawy transkrypcyjnej funkcji XRN3, DXO1 i RSA1 poprzez analizy *in vitro* i *in vivo* tworzenia kondensatów na drodze LLPS. Planujemy również opisać wpływ warunków zewnętrznych na transkrypcyjną funkcję badanych białek i formowanie kondensatów, a także zidentyfikować modyfikacje post-translacyjne mogące pośredniczyć w tej reakcji.

Otrzymane wyniki pozwolą szczegółowo opisać funkcje białek XRN3, DXO1 i RSA1 w regulacji transkrypcji i określić rolę zjawiska LLPS w tym procesie, a tym samym znacząco poszerzą obecny stan wiedzy na temat najbardziej podstawowych zjawisk leżących u podłoża funkcjonowania żywych komórek.



- Badanie udziału XRN3, DXO1 i RSA1 w transkrypcji
- Identyfikacja czynników oddziałujących z XRN3, DXO1 and RSA1
- Wpływ zjawiska LLPS na regulację transkrypcji
- Udział modyfikacji post-translacyjnych XRN3, DXO1 and RSA1
- Kondensaty transkrypcyjne w odpowiedzi rośliny na stres