

Tytuł rozprawy doktorskiej: „Dynamika składu molekularnego ciał Cajala jako centrów regulacyjnych retencji mRNA”.

Problem badawczy: Ekspresja genów w komórkach eukariotycznych jest wynikiem złożonej sieci procesów, które wykraczają daleko poza samą inicjację transkrypcji. Chociaż transkrypcja stanowi punkt wyjścia, to ostateczny poziom i moment syntezy białka zależą od wielu mechanizmów działających również na poziomie post-transkrypcyjnym. Dzięki nim komórka może elastycznie zarządzać pulą transkryptów, tworząc mechanizmy buforujące, które pozwalają reagować na zmienne warunki i dynamiczne potrzeby fizjologiczne. Można do nich zaliczyć: regulację eksportu RNA, translacji mRNA, degradację pre-mRNA i mRNA czy kontrolę aktywności samego białka. Jednym z takich mechanizmów jest również jądrowa retencja poli(A)RNA, która pełni funkcję regulacyjną, opóźniając moment wykorzystania gotowych transkryptów.

Badania prowadzone na mikrosporocytach modrzewia europejskiego (*Larix decidua* Mill.) wskazują, że retencja mRNA ma charakter globalny i jest ściśle powiązana z obecnością ciał Cajala (*ang.* *Cajal bodies*, CB). Jest to pierwsza przesłanka sugerująca udział tych struktur jądrowych w kontroli losów transkryptów u roślin. Jak wykazały wstępne analizy, wiele z gromadzonych w CB mRNA posiada zachowane sekwencje intronowe, co wskazuje, że retencja intronów może stanowić kluczowy element tego mechanizmu regulacyjnego. Szczególnie istotne wydaje się to w komórkach, w których transkrypcja przebiega w sposób pulsacyjny – zatrzymywanie transkryptów w jądrze umożliwia przesunięcie w czasie ich translacji i dostosowanie syntezy białek do aktualnych potrzeb metabolicznych, nawet wtedy, gdy aktywność transkrypcyjna chwilowo słabnie. Dokładny mechanizm jądrowej retencji z udziałem ciał Cajala pozostaje niepoznany, jednak jego wyjaśnienie stanowi istotne wyzwanie badawcze. Pogłębienie wiedzy w tym zakresie może rzucić nowe światło na rolę tych struktur w regulacji ekspresji genów u roślin, a także dostarczyć kluczowych informacji dla zrozumienia procesów warunkujących prawidłowy przebieg podziałów mejotycznych i rozwój gametofitu.

Cel pracy: Celem niniejszej pracy było zidentyfikowanie transkryptów wykazujących retencję intronów oraz zbadanie składu molekularnego ciał Cajala na poszczególnych

etapach cyklu syntezy i eksportu poli(A)RNA. Uzyskane wyniki stanowią pierwszy opis udziału tych domen w jądrowej retencji RNA u roślin. Zaobserwowana akumulacja w obrębie CB transkryptów zawierających retencyjne introny wskazuje na związek pomiędzy obecnością takich intronów a lokalizacją pre-mRNA w ciałach Cajala. Podkreśla to znaczącą rolę CB w post-transkrypcyjnej regulacji ekspresji genów, co może mieć kluczowe znaczenie dla prawidłowego przebiegu podziału komórkowego i powstania dojrzałej, funkcjonalnej mikrospory.

Wyniki: Wykazano, że w mikrosporocytach modrzewia, charakteryzujących się pulsacyjną aktywnością transkrypcyjną, poszczególne mRNA różnią się dynamiką eksportu. Zróżnicowanie to może pełnić rolę precyzyjnego mechanizmu kontroli czasu syntezy kodowanych białek, umożliwiając efektywne zarządzanie pulą transkryptów w odpowiedzi na zmiany w ekspresji genów. Analizy bioinformatyczne, potwierdzone obserwacjami mikroskopowymi, wykazały, że większość transkryptów akumulowanych w CB zawiera retencyjne introny, które są ostatecznie usuwane w procesie splicingu. Wśród tych transkryptów znajdują się również mRNA kodujące białka maszynery transkrypcyjnej i splicingowej, których retencja może modulować dojrzewanie innych transkryptów i sprzyjać ich czasowej akumulacji w jądrze. Z kolei analiza zmian składu molekularnego ciał Cajala w trakcie cyklu wykazała, że ich funkcja ewoluuje w czasie. Na początku cyklu CB gromadzą dojrzałe kompleksy U snRNP, które w pierwszej kolejności są wykorzystywane w procesie ko-transkrypcyjnego splicingu. Natomiast pod koniec cyklu stają się przede wszystkim miejscem akumulacji snRNA przygotowywanych do eksportu z jądra do cytoplazmy. Zgromadzone w ten sposób snRNA stanowią rezerwuar, który zostaje wykorzystany na początku kolejnego cyklu, podczas następnego pulsu aktywności transkrypcyjnej.

Majewska Karolina