

Żelazo ma kluczowe znaczenie dla metabolizmu i fizjologii zarówno komórek jak i całych organizmów, dlatego jest pierwiastkiem niezbędnym do ich prawidłowego rozwoju i funkcjonowania. Niedobory tego pierwiastka w diecie prowadzą do poważnych zaburzeń chorobowych takich jak anemia u ludzi i zwierząt czy chlorozy powodujące spadek aktywności fotosyntetycznej u roślin. Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) ocenia, że ok. 30% światowej populacji cierpi na anemię spowodowaną niedoborem żelaza. Niedobór żelaza jest powszechny w krajach o niskim dochodzie ekonomicznym, gdzie dieta ludzi opiera się głównie na roślinach uprawianych na glebach, w których żelazo występuje w formie niedostępnej dla roślin. Ze względu na złe warunki ekonomiczne i brak dostępu do różnorodnych zasobów żywności, problem ten jest trudno rozwiązać poprzez proste uzupełnianie diety w jedzenie bogate w żelazo. W odróżnieniu od suplementacji, biofortyfikacja roślin uprawnych za pomocą inżynierii genetycznej jest szybkim i tanim sposobem mogącym znacząco poprawić stan odżywienia ludzi cierpiących na niedobory żelaza. Rośliny uprawne wzbogacone w żelazo można otrzymać przez usprawnienie zdolności roślin do mobilizacji żelaza z gleby i akumulacji tego pierwiastka w biodostępnych formach. Identyfikacja i szczegółowa charakterystyka molekularna genów biorących udział w pobieraniu i akumulacji żelaza u roślin, mogą znacznie pogłębić naszą wiedzę o mechanizmach mających wpływ na biodostępność żelaza z pokarmów pochodzenia roślinnego. Ostatnie badania na drożdżach wskazują, że dystrybucja żelaza w komórkach może być regulowana przez bardzo złożone szlaki sygnałowe, w których uczestniczą białka transportujące żelazo przez błony komórkowe, błony mitochondriów, plastydów i wakuoli, jak również białka magazynujące i chelatujące żelazo. Jednakże nadal brakuje szczegółowych informacji na temat lokalizacji, mechanizmów regulacji i właściwości molekularnych białek zaangażowanych w wewnątrzkomórkowy transport żelaza w komórkach roślinnych. W związku z tym, celem niniejszego projektu jest szczegółowa molekularna i funkcjonalna charakterystyka genów kodujących mitoferryne (Mitochondrial Iron Transporter, MIT1) oraz białko podobne do mitoferryn (MFL-Mitoferrin-like) u modelowej rośliny dwuliściennej *Arabidopsis thaliana*. W genomie *A. thaliana* zidentyfikowano trzy geny kodujące białka AtMIT1, AtMIT2 i AtMFL1, wykazujące homologię z drożdżowymi oraz zwierzęcymi permeazami transportującymi żelazo do mitochondriów. Opierając się na dostępnych wynikach badań i wstępnej analizie sekwencji tych białek przypuszczamy, że białka *Arabidopsis* lokalizują się w mitochondriach (AtMIT1 i AtMIT2) oraz w chloroplastach (AtMFL1) i transportują do wnętrza tych organelli jony  $Fe^{2+}$ , które wykorzystywane jest w kluczowych procesach metabolicznych, takich jak fotosynteza, oddychanie komórkowe, czy synteza klastrów żelazowo-siarkowych i hemu – grup prostetycznych niezbędnych do funkcjonowania wielu komórkowych białek. W związku z tym, że już niewielki nadmiar wolnych jonów żelaza w mitochondriach może prowadzić do stresu oksydacyjnego, sugerujemy, że jony  $Fe^{2+}$  importowane do macierzy mitochondrialnej za pośrednictwem białek AtMIT są natychmiast przenoszone na frataksynę, białkowy chaperon żelaza, która następnie dostarcza je do białek docelowych, m.in do białek rusztowania molekularnego syntetyzujących klastry Fe-S. Wykazano, że frataksyna wchodzi w bezpośrednie interakcje z białkami zaangażowanymi w biosyntezę klastrów Fe-S w mitochondriach. W związku z tym zakładamy, że transfer  $Fe^{2+}$  pomiędzy białkami AtMIT a frataksyną również może się odbywać poprzez bezpośrednią interakcję frataksyny z permeazami żelazowymi w mitochondriach. Ponieważ frataksyna obecna jest także w chloroplastach komórek roślinnych, zakładamy, że podobny mechanizm importu i przekazywania żelaza do białek docelowych może występować także w chloroplastach (interakcja AtMFL-frataksyna). Z uwagi na fakt iż mitoferryne i białka podobne do mitoferryn są małymi białkami o masie molekularnej od 28 do 34 kDa, przypuszczamy, że mogą one tworzyć homo-oligomery lub hetero-oligomery. Aby zweryfikować te hipotezy zamierzamy określić lokalizację subkomórkową białek *Arabidopsis*, zidentyfikować substraty tych białek, wyjaśnić molekularne mechanizmy ich regulacji, zidentyfikować reszty aminokwasowe i peptydy niezbędne do ich lokalizacji i aktywności, oraz zbadać możliwość tworzenia przez te białka wielkocząsteczkowych kompleksów. Zakładamy, że uzyskane przez nas wyniki znacznie pogłębią dotychczasową wiedzę o molekularnych mechanizmach regulacji komórkowej homeostazy żelaza u roślin i w przyszłości będą użyteczne w opracowaniu strategii mających na celu wydajne wzbogacenie produktów pochodzenia roślinnego w biodostępne żelazo.