

W każdej komórce roślinnej nieustannie powstają tysiące cząsteczek mRNA, które przenoszą informację genetyczną z DNA do rybosomów odpowiedzialnych za syntezę białek. Znacznie mniej uwagi poświęcono natomiast ostatniemu etapowi ich życia: temu, jak, kiedy i gdzie komórka aktywnie usuwa mRNA, które przestaje być potrzebne. Od sprawności tego etapu „sprzątania” zależy, czy program ekspresji genów zostanie rzeczywiście wyłączony, czy też w komórce będzie nadal krążyć nadmiar nieaktualnych mRNA, utrudniający precyzyjne sterowanie ekspresją genów..

W mikrosporocytach (mejocytach) modrzewia europejskiego (*Larix decidua*) nasze wcześniejsze badania pokazały, że jądro nie jest wyłącznie miejscem transkrypcji, lecz również regulowanym magazynem mRNA. W ciałkach Cajala gromadzą się duże pule transkryptów, które mogą zostać synchronicznie uwolnione i wyeksportowane z jądra w precyzyjnie określonym momencie mejozy. Po tej fali eksportu i towarzyszącym jej „wybuchu” translacji obserwujemy zaprogramowany spadek poziomu wielu mRNA w cytoplazmie. Wyniki te wskazują, że końcowa degradacja mRNA jest ściśle kontrolowanym etapem cyklu życia transkryptu. W uproszczeniu: ciałałka Cajala organizują fazę jądrowego magazynowania, natomiast cytoplazmatyczne ciałałka P są głównymi kandydatami do pełnienia funkcji „recyklingu” i ostatecznego usuwania mRNA.

Głównym celem proponowanego projektu jest wyjaśnienie roli ciałek P jako wyspecjalizowanych miejsc selektywnej degradacji i ponownego wykorzystania mRNA w mikrosporocytach modrzewia. Ciałałka P to niewielkie, pozbawione błony kondensaty zbudowane z białek i RNA, w których koncentrują się enzymy odpowiedzialne za rozkład mRNA. Wciąż jednak nie wiemy, które transkrypty są do nich kierowane w pierwszej kolejności, jakie cechy mRNA sprzyjają ich rekrutacji oraz czy sprawne działanie ciałek P jest warunkiem prawidłowego przebiegu mejozy i powstania żywotnych ziaren pyłku. Odpowiedź na te pytania jest kluczowa, jeśli chcemy zrozumieć nie tylko to, jak roślina włącza program ekspresji genów, lecz także jak potrafi go precyzyjnie wyłączyć.

Mikrosporocyty modrzewia są pod tym względem wyjątkowym modelem. U tego gatunku mejoza trwa kilka miesięcy, a same komórki i ich jądra są bardzo duże. Dzięki temu można z wysoką rozdzielczością czasową śledzić kolejne etapy rozwoju oraz z dużą dokładnością przestrzenną obserwować pojedyncze kondensaty w komórkach. W praktyce pozwala to prześledzić pełną trajektorię pojedynczej cząsteczki mRNA – od pulsacyjnej syntezy i magazynowania w jądrze, przez eksport i fazę intensywnej translacji, aż po kontrolowaną degradację w cytoplazmie – w jednym spójnym systemie. W standardowych modelach roślinnych taki poziom integracji jest w zasadzie nieosiągalny.

W projekcie łączymy zaawansowaną mikroskopię, analizy RNA i podejście biofizyczne. Z wykorzystaniem superrozdzielczej mikroskopii STED, detekcji FLIM i analiz FRAP określimy, kiedy w trakcie mejozy pojawiają się ciałałka P, jak zmieniają się ich liczba, położenie i rozmiar oraz czy zachowują się jak aktywne, płynne krople czy raczej bardziej „usztynwione” struktury. Dzięki temu powiążemy skład molekularny ciałek P z ich właściwościami fizycznymi, co jest jednym z kluczowych zagadnień współczesnej biologii kondensatów fazowo rozdzielonych.

Łącząc mikrodyssekcję laserową z sekwencjonowaniem RNA i wielokrotną hybrydyzacją in situ (MERFISH), zidentyfikujemy transkrypty preferencyjnie rekrutowane do ciałek P i zbudujemy trójwymiarowe mapy ich rozmieszczenia w komórce. Doświadczenia z metabolicznym znakowaniem nowo syntetyzowanego RNA pozwolą wyznaczyć tempo degradacji wybranych mRNA na kolejnych etapach rozwoju. Dzięki temu uzyskamy pierwszy tak szczegółowy obraz tego, jak ciałałka P wybierają i degradują wybrane transkrypty oraz jak ta precyzyjna kontrola stabilności mRNA warunkuje prawidłowy przebieg mejozy.