

Ścieżki przekazu sygnału świetlnego sterującego ruchami chloroplastów *Arabidopsis thaliana* i ich funkcjonowanie w różnych warunkach środowiskowych

Streszczenie pracy doktorskiej

JUSTYNA ŁABUZ

Kierunkowe przemieszczenia chloroplastów w komórkach wyższych roślin lądowych indukowane są światłem niebieskim. Fotoreceptorami kontrolującymi to zjawisko są fototropiny. W genomie *Arabidopsis thaliana* odkryto dwie fototropiny, *PHOT1* i *PHOT2*. Pod wpływem słabego światła niebieskiego chloroplasty ustawiają się pod ścianami komórkowymi leżącymi prostopadle do kierunku jego padania. Jest to reakcja akumulacji chloroplastów kontrolowana przez fototropinę 1 i 2. Silne światło niebieskie powoduje przemieszczenie się chloroplastów do ścian leżących równolegle do kierunku jego padania. Za to zjawisko, zwane reakcją ucieczki, odpowiada jedynie fototropina 2. Ścieżka przekazu sygnału od tych fotoreceptorów do aktomiozynowego układu efektorowego jest wciąż słabo poznana. Pierwszym celem niniejszej pracy jest zrozumienie początkowej fazy tego szlaku poprzez zbadanie jak wybrane czynniki środowiskowe (światło i temperatura) modyfikują układ fotoreceptorowy. W drugiej części pracy podjęto próbę określenia funkcji wtórnych przekaźników: jonów wapniowych i fosfatydyloinozytoli w kontroli ruchu chloroplastów.

Wpływ światła na ekspresję fototropiny 1 i fototropiny 2 w czasie rozwoju i starzenia się *Arabidopsis* zanalizowano na poziomie mRNA. Wykazano, że za wyjątkiem jednotygodniowych siewek, w czasie rozwoju roślin światło nieznacznie obniża poziom transkryptu fototropiny 1. W przypadku fototropiny 2 obserwuje się wzrost ilości mRNA w badanym okresie rozwoju. Sposób regulacji poziomu obu transkryptów nie ulega zmianie podczas indukowanego starzenia się liści. Wyniki te wskazują na istotną rolę światła w regulacji ekspresji fototropin oraz znaczenie tego zjawiska dla funkcjonowania tych fotoreceptorów. Zostały opublikowane w pracy Łabuz J*, Sztatelman O*¹, Banaś AK, Gabryś H. 2012. The expression of phototropins in *Arabidopsis* leaves: developmental and light regulation. *Journal of Experimental Botany* 63, 1763-1771. Wykazano również różnice w

¹ * autorzy równorzędni

poziomach ekspresji fototropiny1 i fototropiny2 pod wpływem temperatury na poziomie mRNA i białka. W wyższych temperaturach (37°C) poziom obu białek ulegają dwukrotnemu obniżeniu w porównaniu do temperatury 23°C czyli standardowych warunków hodowli. W niskich temperaturach (4°C) drastycznie spada ilość białka fototropiny1, natomiast poziom białka fototropiny2 nieznacznie wzrasta. Obserwowany wpływ niskich temperatur na ekspresję fototropin koreluje z zmianą przebiegu reakcji ruchowych chloroplastów. Wykazano, że w 4°C reakcja ucieczki chloroplastów jest silnie stymulowana przy natężeniach światła niewysycających w standardowej temperaturze pomiaru. Oba wyniki wskazują na dominującą rolę fototropiny2 w procesach zachodzących w obniżonych temperaturach.

W części pracy poświęconej charakterystyce dalszych etapów przekazu sygnału zbadano wpływ inhibitorów szlaku sygnałowego fosfatydyloinozytoli: wortmaniny i LY294002 na ruchy chloroplastów w *Arabidopsis thaliana*. W oparciu o obserwowane zmiany parametrów reakcji ruchowych zaproponowano rolę kinaz-3 i -4 fosfatydyloinozytoli (PI3K i PI4K) w kontroli procesu akumulacji chloroplastów. Natomiast reakcja ucieczki chloroplastów jest regulowana poprzez zależne od szlaku fosfatydyloinozytoli, zmiany w stężeniu jonów wapnia w komórkach roślinnych. Dlatego w ostatniej części rozprawy podjęto próbę określenia zmian rozmieszczenia jonów wapniowych w komórkach mezofilu *Arabidopsis* dzikiego typu i mutantach fototropinowych naświetlanych światłem niebieskim i czerwonym (stosowanym jako kontrola). Jony wapnia precypitowano piroantymonianem potasu, a ich lokalizację badano za pomocą Transmisyjnego Mikroskopu Elektronowego (TEM) z przystawką do mikroanalizy rentgenowskiej. W ciemności obserwowano sferyczne struktury precypitatów wapnia z piroantymonianem, obecne na styku apoplast-symplast. Po naświetlaniu silnym światłem niebieskim przez 3 minuty dominuje wypływ wapnia do apoplastu – precypitaty są o wiele większe, o kilkuwarstwowej strukturze, w kształcie czasz. Ponadto na chloroplastach tworzą się sferyczne struktury zorientowane w kierunku wakuoli. Precypitaty obserwowane pod wpływem światła czerwonego w *Arabidopsis* WT i w mutantach fototropinowych są mniejsze i nie tworzą wielowarstwowych struktur. Stwierdzono również silne anomalie homeostazy jonów wapniowych w podwójnym mutancie fototropinowym.

Uzyskane wyniki rzucają nowe światło na przebieg transdukcji sygnału świetlnego kontrolującego kierunkowe przemieszczenia chloroplastów w liściach wyższych roślin lądowych.