

Organizmy żywe wykształciły białka, które umożliwiają odczyt, kopiowanie i naprawę materiału genetycznego. Te białka, w tym endonukleaza FEN1, odgrywają kluczową rolę w replikacji i naprawie DNA w komórkach eukariotycznych. FEN1 to białko jądrowe obecne w komórkach drożdży, zwierząt i roślin. Letalny efekt braku FEN1 u zwierząt i roślin stanowi istotny dowód na kluczowe znaczenie tego białka dla eukariontów. Precyzyjna regulacja funkcji FEN1 jest niezbędna dla niezakłóconego działania zarówno komórek zwierzęcych, jak i roślinnych. Badania nad FEN1 człowieka i drożdży wskazują, że fosforylacja jest jedną z modyfikacji potranslacyjnych regulujących funkcje tego białka. Pomimo kluczowej roli FEN1, ograniczona wiedza na temat regulacji jego funkcjonowania w roślinach jest zaskakująca. W naszych aktualnych badaniach próbujemy wypełnić tę lukę. Nasze wcześniejsze badania doprowadziły do identyfikacji pierwszej kinazy jądrowej *Arabidopsis*, enzymu odpowiedzialnego za transfer grupy fosforanowej do konkretnego substratu, która reguluje aktywność FEN1. Ponadto wydaje się, że inne jądrowe kinazy i czynniki mogą również uczestniczyć w regulacji statusu fosforylacji FEN1. Pomimo dotychczas prowadzonych badań jesteśmy wciąż na początku drogi prowadzącej do rozumienia roli fosforylacji w regulacji funkcjonowania FEN1 w komórkach roślinnych. Wiadomo, że dodanie grupy fosforanowej do reszty aminokwasowej białka może zmieniać wiele jego właściwości, w tym funkcję, aktywność, stabilność, interakcje z partnerami czy też lokalizację wewnątrzkomórkową. Które z tych mechanizmów są aktywne w przypadku FEN1 u roślin pozostaje otwartym pytaniem. Celem tego projektu jest poszerzenie naszej wiedzy na temat: (i) jądrowych kinaz roślinnych zaangażowanych w modulację funkcji FEN1 u roślin, (ii) czynników jądrowych zaangażowanych w regulację fosforylacji FEN1 u roślin, oraz (iii) efektów fosforylacji FEN1 w kontekście replikacji DNA i odpowiedzi komórek roślinnych na stres replikacyjny. Wśród wielu technik eksperymentalnych, które planujemy wykorzystać w trakcie tego projektu, znajduje się kriomikroskopia elektronowa. Technika ta umożliwia obrazowanie białek z wysoką rozdzielczością. W naszych badaniach, kriomikroskopia elektronowa zostanie zastosowana do badania struktury kompleksów tworzonych przez FEN1 i jego wybranych partnerów. Oprócz badań *in vitro*, planujemy również zbadać efekty funkcjonowania zmodyfikowanych wersji FEN1 w roślinach. W tym celu określone wersje FEN1 zostaną wprowadzone do mutantów *Arabidopsis*, które nie posiadają tego białka. Następnie porównane zostaną fenotyp i odpowiedź na stres replikacyjny tych roślin oraz roślin typu dzikiego. Wyniki tego projektu przyczynią się do rozwoju wiedzy, zwłaszcza na temat roli fosforylacji roślinnego białka FEN1 w metabolizmie DNA. Uzyskana wiedza pogłębi również nasze zrozumienie mechanizmów regulujących reakcję roślin na stres replikacji DNA.