## Strukturalne podstawy specyficzności rozpoznawania DNA przez roślinne czynniki transkrypcyjne WRKY

Rośliny są nieustannie narażone na działanie różnych abiotycznych (np.: ekstremalnych temperatur, zasolenia, suszy, promieniowania UV, zranienia, metali ciężkich) lub biotycznych czynników stresowych, głównie patogenów. Aby przeciwdziałać negatywnym skutkom stresu, rośliny wykształciły szereg mechanizmów obronnych, wymagających precyzyjnego przeprogramowania wielu genów. Regulacja ekspresji genów jest osiągana poprzez działanie czynników transkrypcyjnych, które są białkami decydującymi o tym, które geny są "włączane" (ulegają ekspresji) lub "wyłączane" w danym momencie w komórce. Czynniki transkrypcyjne są aktywowane po otrzymaniu sygnałów stresowych, działając jako przełączniki molekularne regulujące ekspresję genów docelowych poprzez oddziaływanie z promotorami genów.

Białka WRKY są jedną z największych rodzin czynników transkrypcyjnych u roślin i odgrywają kluczową rolę w wielu kaskadach sygnałowych i sieciach regulacyjnych, w szczególności odpowiedzialnych za reakcje obronne na stresy środowiskowe i atak patogenów. Charakterystyczną cechą białek WRKY jest ich domena wiążąca DNA, znana jako domena WRKY. Jest to region o długości około 60 reszt aminokwasowych, który zawiera wysoce konserwatywny motyw sekwencyjny WRKYGQK. Podczas gdy sekwencja w obrębie domeny wiążącej DNA wykazuje wysoką identyczność, czynniki transkrypcyjne WRKY wykazują niskie ogólne podobieństwo sekwencyjne poza tą domeną, co jest powiązane z ich funkcjonalną różnorodnością. Pomimo istotnej roli białek WRKY w obronie roślin, molekularne podstawy rozpoznawania DNA przez te czynniki transkrypcyjne pozostają nie do końca poznane. Struktury zdeponowane do tej pory w białkowej bazie danych (Protein Data Bank) oferują jedynie wgląd w strukturę domeny wiążącej DNA kilku przedstawicieli rodziny WRKY, podczas gdy pośrednie dowody sugerują, że regiony poza domeną WRKY silnie przyczyniają się do selektywności wiązania DNA.

Aby wypełnić tę lukę badawczą, nasz projekt koncentruje się na strukturalnej i funkcjonalnej charakterystyce czynników transkrypcyjnych WRKY pełnej długości, pochodzących z *Arabidopsis thaliana*. Stosując najnowocześniejsze techniki, takie jak kriogeniczna mikroskopia elektronowa (cryo-EM) i krystalografia, a także różne testy wiązania DNA, chcemy zrozumieć skomplikowane interakcje czynników transkrypcyjnych WRKY z DNA i innymi partnerami białkowymi. Zastosowanie kilku metod biofizycznych dostarczy wskazówek na temat tego, jak silnie białka te wiążą się z DNA i jak wpływają na ekspresję genów.

Badanie strukturalne i funkcjonalne białek WRKY ma znaczenie nie tylko dla fundamentalnego zrozumienia fizjologii roślin, ale także dla praktycznych zastosowań w rolnictwie. Wiedzę uzyskaną dzięki tym badaniom będzie można wykorzystać do opracowania odmian roślin odpornych na różne czynniki środowiskowe, od patogenów po niekorzystne warunki, takie jak zimno, susza lub wysokie zasolenie. Co więcej, nasze obserwacje mogą przyczynić się do udoskonalenia procesu hodowli roślin i ukierunkowania strategii inżynierii genetycznej. Identyfikacja specyficznych markerów związanych z odpornością na stres może zrewolucjonizować hodowlę roślin, oferując zrównoważone rozwiązania zwiększające odporność upraw. Wreszcie struktury pełnowymiarowych czynników transkrypcyjnych WRKY pozwolą udoskonalić algorytmy przewidywania struktury białek, a w przyszłości umożliwią oprogramowaniu budowanie bardziej wiarygodnych modeli kompleksów białko-DNA. Dlatego nasz projekt, koncentrujący się na odkryciu właściwości strukturalnych i funkcjonalnych białek WRKY, pozwoli rozwinąć zarówno nauki podstawowe, jak i stosowane, z potencjałem zrewolucjonizowania strategii ochrony roślin i rozwoju biologii strukturalnej.