

W obliczu znaczącego zagrożenia negatywnymi zmianami klimatu, braki wody i stres osmotyczny będą najprawdopodobniej krytycznymi czynnikami wpływającymi negatywnie na funkcjonowanie komórek roślinnych w nadchodzących dekadach. Adaptacja do tych niekorzystnych warunków będzie determinantem przetrwania wielu gatunków. To kluczowe dla nauk biologicznych aby wiedzieć możliwie jak najwięcej o procesach nabywania i utrzymywania tolerancji na stres i adaptacji. Co zaskakujące, pomimo ogromnej ilości doniesień o odpowiedzi komórki roślinnej na warunki stresu abiotycznego, molekularny mechanizm adaptacyjny pozwalający komórkom roślinnym funkcjonować lata w niekorzystnych warunkach i adaptować się do nich jest nieomalże nieznany, jako że w ogromnej większości jest jedynie przewidywany z wyników badań nad stresowanymi roślinami. Jednocześnie, nasze ostatnie, jeszcze nieopublikowane wyniki analiz transkryptomu adaptowanych komórek BY2 pokazały, że molekularny status komórek roślinnych adaptowanych do warunków jonowego- i nie-jonowego stresu był zaskakująco podobny do kontroli. Te komórki po prostu 'nauczyły się żyć' w niekorzystnym środowisku. Zaplanowane przez nas eksperymenty zweryfikują występowanie stanu 'nowej molekularnej homeostazy' i odkryją, jak jest on uzyskiwany. Liczne obserwacje fenotypowe wykazują, że rośliny rosnące w warunkach chronicznego stresu są mniejsze. Postuluje się, że to obniżenie rozmiaru/masy jest 'kosztem' życia w warunkach stresowych płaconym aby zapobiec zamarciu. Jesteśmy bardzo zainteresowani tą ceną. Podczas naszego projektu planujemy analizować poziom kosztochłonnych procesów obrotu białek jako markera molekularnej stabilności komórki ale także czynnika uważanego za bezpośrednio związanego z regulacją wielkości komórki. W naszej opinii, najbardziej interesującym pytaniem jest: Jak koordynacja pomiędzy statusem molekularnym – zarządzaniem energią – regulacją rozmiaru komórki różni się pomiędzy adaptowanymi, stresowanymi i 'kontrolnymi' komórkami roślinnymi? Taka wiedza pozwoli nam dowiedzieć się, co jest naprawdę kluczowe dla udanej adaptacji. Danych łączących regulację rozmiaru komórki z kosztami energetycznymi związanymi z tzw. 'obciążeniem białkiem' brakuje nie tylko dla adaptowanych, ale generalnie dla stresowanych roślin, co czyni naszą propozycję wysoce innowacyjną. Otrzymane podczas naszego projektu dane będą unikalne, ale będą stanowiły także bazę (i będą testowane podczas) przyszłych badań na poziomie organizmalnym, np. już rozpoczętych w ID PAN analiz nad adaptowanym potomstwem wegetatywnym topoli (*Populus* spp). Posiadamy unikalny układ eksperymentalny zawieszin komórek tytoniu BY2 stopniowo adaptowanych do jonowego- i niejonowego osmotycznego stresu w latach 2005-2006. Linie komórkowe są unikalne ze względu na ich jednorodną strukturę genetyczną (powstały z jednej zlewki zawiesziny), w pełni kontrolowane warunki wzrostu oraz setki pokoleń komórek żyjących w warunkach stresu tak silnego, że letalnego dla niezaadaptowanych komórek. Będą one naszym 'poligonem doświadczalnym' procesów adaptacji. Będziemy analizować cztery linie BY2 adaptowane od 15 lat do różnych warunków osmotycznego stresu (stres NaCl, KCl, mannitolu i sorbitolu) i kontrole. Zamierzamy także przeprowadzić stopniową adaptację komórek BY2 do zwiększających się warunków stresu (od 0mM do 450 mM sorbitolu/mannitolu i do 190 mM NaCl/KCl) oraz stopniowo redukować stężenie czynnika osmotycznego w adaptowanych liniach (z 450 mM mannitolu/sorbitolu do 0 mM i z 190 mM NaCl/KCl do 0 mM). Ten eksperyment (niezbędny dla rozróżnienia zmian związanych z nagłym i chronicznym stresem) pozwoli nam odpowiedzieć na kolejne fascynujące pytanie: Czy powrót do warunków kontrolnych jest odczuwany przez adaptowane rośliny podobnie jak stres i czy taka re-adaptacja będzie związana ze stopniową zmianą rozmiaru komórki, organizacji sub-komórkowej i metabolizmu komórkowego? Planujemy wysokoprzepustowe analizy na poziomie transkryptomu, proteomu i metabolomu ale także intensywne analizy mikroskopowe, w tym analizy 3D super-struktur mitochondriów czy też liczby rybosomów. Będziemy także dokładnie badać stres oksydacyjny i odpowiedź na rodniki oraz także status energetyczny adaptowanych do stresu, re-adaptowanych do warunków kontrolnych i kontrolnych (przetrzymywanych cały czas w kontrolnych warunkach) komórek BY2. Według naszej roboczej hipotezy, 'stabilność molekularna' będzie rosła w

czasie do osiągnięcia stanu nowej równowagi (jak?/kiedy?). Natomiast produkcja energii będzie silnie skorelowana z 'obciążeniem białkami', poziomem stresu oksydacyjnego oraz rozmiarami komórki w trybie 'trade-off' (jak?).