

Mgr Aleksandra Chojnacka

Charakterystyka genów z rodziny *MIR444* w jęczmieniu zwyczajnym (*Hordeum vulgare*) i ich potencjału kodującego

Słowa kluczowe: jęczmień, pri-miRNA, mikro RNA, ORF, miPEP

Streszczenie

MikroRNA (miRNA) są krótkimi jednoniciowymi cząsteczkami RNA, regulującymi poziom ekspresji innych genów. Geny *MIR444* zidentyfikowano jedynie u roślin jednoliściennych i ich charakterystyczną cechą jest obecność intronu, który rozdziela dwie połowy struktury prekursora mikroRNA. Sekwencja mikroRNA* znajduje się w jednym egzonie, natomiast mikroRNA zlokalizowana jest w kolejnym egzonie.

W jęczmieniu zidentyfikowano trzy geny *MIR444* o złożonej budowie egzonowo-intronowej. Ich transkrypty, pri-miRNA444, podlegają alternatywnemu splicingowi generując izoformy, które można podzielić na funkcjonalne (mikroRNA jest produkowany) i niefunkcjonalne (mikroRNA nie jest produkowany). Z wykorzystaniem analizy bioinformatycznej i techniki profilowania polisomów wykazano, że zidentyfikowane izoformy pri-miR444 posiadają otwarte ramki odczytu, które mogą kodować peptydy o długościach 119 (PEP444a), 51 (miPEP444b) oraz 168 (PEP444c) aminokwasów. Przy użyciu specyficznych przeciwciał potwierdzono obecność PEP444a w pędach jęczmienia w warunkach stresu nadmiaru azotu oraz PEP444c w pędach i korzeniach, zarówno w warunkach kontrolnych jak i w stresie nadmiaru azotu. Wykazano, że mutacje wprowadzone w rejonie sekwencji kodującej PEP444a mają najprawdopodobniej efekt letalny. Mutacje w sekwencji kodującej PEP444c wprowadziły przedwczesny kodon stop. U roślin transgenicznych *pep444c* ze zmienioną sekwencją aminokwasową PEP444c zaobserwowano obniżony poziom mikroRNA444c w korzeniach, co wskazuje na istotną rolę PEP444c w regulacji poziomu ekspresji genu *MIR444c*.