

mgr inż. Anna Sokołowska,

mgr inż. Maciej Rugała,

dr Krystyna Oracz✉

Katedra Fizjologii Roślin, Instytut Biologii,
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w
Warszawie,

https://doi.org/10.18388/pb.2021_450

✉ autor korespondujący: krystyna_oracz@sggw.edu.pl

Słowa kluczowe: białka ARGONAUT, biologia komórki, ekspresja genów, rozwój roślin, wyciszanie genów

Wykaz stosowanych skrótów: AGO – białka ARGONAUT; PTGS – ang. *post-transcriptional gene silencing*, potranskrypcyjne wyciszanie genu; RISC – ang. *RNA-induced silencing complex*, kompleks wyciszający RNA; SAM – ang. *shoot apical meristem*, merystem wierzchołkowy pędu; sRNA – ang. *small RNA*, małe RNA; TGS – ang. *transcriptional gene silencing*, transkrypcyjne wyciszanie genu; WUS – ang. *WUSCHEL*, czynnik transkrypcyjny odpowiedzialny za utrzymanie komórek macierzystych w stanie niezróżnicowanym

Podziękowania: Badania prowadzone przez autorów niniejszej pracy przeglądowej są finansowane ze środków na naukę przyznanych przez Narodowe Centrum Nauki na realizację projektu badawczego OPUS12 nr 2016/23/B/NZ3/03147.

STRESZCZENIE

Białka ARGONAUT (AGO) są integralnymi elementami regulatorowych szlaków znajdujących się pod kontrolą małych RNA (ang. *small RNA*, sRNA), o fundamentalnym znaczeniu dla właściwego funkcjonowania komórek eukariotycznych. AGO, jako wysoce wyspecjalizowane platformy wiążące specyficzne sRNA, koordynują wyciszanie genów poprzez interakcję z innymi czynnikami białkowymi (tworząc tzw. kompleks RISC, ang. *RNA-induced silencing complex*), przyczyniając się do endonukleolitycznego cięcia docelowego mRNA i/lub wpływając na proces translacji. Coraz więcej dowodów potwierdza również udział białek AGO w kilku innych procesach komórkowych, takich jak np.: regulacja transkrypcji, sekwestracja, zależna od RNA metylacja DNA, naprawa uszkodzeń DNA, synteza siRNA niezależna od białek DCL (ang. *DICER-like*), czy też kotranskrypcyjna regulacja ekspresji genów MIRNA i splicingu intronów. Poszczególne gatunki roślin charakteryzują się obecnością różnej liczby białek AGO, w wielu przypadkach o nieznannej jeszcze regulatorowej i/lub biologicznej funkcji. Niniejszy artykuł przeglądowny obejmuje aktualną wiedzę na temat funkcji roślinnych AGO w biologii komórki i rozwoju roślin.

BUDOWA, RÓŻNORODNOŚĆ I MECHANIZMY DZIAŁANIA ROŚLINNYCH AGO

Badania genetyczne dotyczące *locus* genu regulującego rozwój liści *Arabidopsis thaliana* przyczyniły się do odkrycia AGO1, członka-założyciela rodziny białek ARGONAUT (AGO) [1]. Swą nazwę rodzina AGO zawdzięcza podobieństwu fenotypu mutantu *ago1 A. thaliana*, który ma rurkowate, wygięte liście, do ośmiornicy żeglarka argo (*Argonauta argo*).

Cząsteczki eukariotycznych AGO są wysoce konserwowane ewolucyjnie i charakteryzują się obecnością w swej strukturze czterech funkcjonalnych fragmentów, takich jak: odcinek N-końcowy (DUF1785) i domeny – PAZ (ang. *PIWI-ARGONAUTE-ZWILLE*), MID (ang. *MIDDLE*), PIWI (ang. *P-ELEMENT INDUCED WIMPY TESTIS*) [2,3]. Domena PAZ zakotwicza koniec 3' związanego sRNA i połączona jest ze zmiennym regionem N-końcowym, który może ułatwiać rozdzielanie dupleksu sRNA:docelowe mRNA poprzez rozcięcie wzdłuż struktury dupleksu. Natomiast domena C-końcowa składająca się z MID i PIWI, zakotwicza koniec 5' związanego sRNA. Wszystkie ww. domeny uczestniczą w prawidłowym pozycjonowaniu sekwencji sRNA względem docelowego RNA [4]. Pomimo wysokiego poziomu konserwatywności białka AGO mogą wykazywać zmienność wynikającą ze zróżnicowanej lokalizacji i liczby ww. domen w poszczególnych cząsteczkach, np.: u lnu (*Linum usitatissimum*) LuAGO1 zawiera dwie domeny PAZ, jedną MID i jedną PIWI, u poziomki (*Fragaria vesca*) FvAGO7 zawiera dodatkowe domeny PIWI, a MdAGO4 u jabłoni (*Malus domestica*) zawiera dwa zestawy domen PAZ, MID i PIWI, które powtarzają się w bezpośrednim tandemie, a przed tymi domenami znajduje się γ -tionina [5]. W cząsteczkach AGO potwierdzono także obecność innych domen, jak np. w MdAGO13 u *M. domestica* poza PIWI, MID i ZWILLE zidentyfikowano również dwie dodatkowe domeny: 1) sekwencję występującą w białkach inaktywujących rybosomy (ang. *RIBOSOME-INACTIVATING PROTEINS*, RIPs) i 2) DYW (nazwa pochodzi od specyficznego trójpeptydu kończącego sekwencję domeny) obecną w strukturze deaminaz kwasów nukleinowych. Białka RIPs wykazują aktywność N-glikozyazy rRNA i inaktywują podjednostki rybosomalne 60S przez rozszczepienie wiązania glikozydowego, co w konsekwencji uwalnia specyficzną zasadę adeninową ze szkieletu cukrowo-fosforanowego 28S rRNA. U roślin funkcja RIPs związana jest z obroną przeciwwirusową, przeciwbakteryjną i przeciwgrzybiczą. Natomiast rodzina deaminaz zawierająca domenę DYW, zaangażowana jest w proces dojrzewania transkryptów chloroplastowego i mitochondrialnego RNA. W przypadku FvAGO1 u *F. vesca*, przed domeną PAZ wykazano obecność domeny α -kryształin (ang. *alpha-crystallin domain*), charakterystycznej dla małych białek szoku cieplnego (ang. *small HEAT SHOCK PROTEINS*, sHsp lub α -Hsp).

Tabela 1. Liczba zidentyfikowanych genów AGO u różnych gatunków roślin.

Nazwa gatunku rośliny	Liczba zidentyfikowanych genów AGO	Literatura
<i>Micromonas pusilla</i> (algi)	1	
<i>Volvox carteri</i> (algi)	1	Zhang i wsp. 2015
<i>Coccomyxa subellipsoidea</i> (algi)	2	
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> (algi)	3	
<i>Physcomitrella patens</i> (mech)	6	Fang i wsp., 2016
<i>Cucumis sativus</i> (ogórek siewny)	7	Qin i wsp., 2018
<i>Medicago truncatula</i> (lucerna)	9	
<i>Ricinus communis</i> (rącznik pospolity)	9	Mirzaei i wsp., 2014
<i>Salvia miltiorrhiza</i> (szałwia czerwono korzeniowa)	9	Gan i wsp., 2015
<i>Arabidopsis lyrata</i> (rzeżusznik skalny)	10	Mirzaei i wsp., 2014
<i>Arabidopsis thaliana</i> (rzodkiewnik pospolity)	10	Fang i wsp., 2016
<i>Nicotiana attenuata</i> (tytoń)	11	Pradhan i wsp., 2017
<i>Prunus persica</i> (brzoskwinia zwyczajna)	11	
<i>Solanum tuberosum</i> (ziemniak zwyczajny)	11	Mirzaei i wsp., 2014
<i>Theobroma cacao</i> (kakaowiec właściwy)	11	
<i>Capsicum annuum</i> (papryka roczna)	12	Qin i wsp., 2018
<i>Fragaria vesca</i> (poziomka pospolita)	12	
<i>Brassica rapa</i> (kapusta właściwa)	13	Mirzaei i wsp., 2014
<i>Manihot esculenta</i> (maniok jadalny)	13	
<i>Vitis vinifera</i> (winorośl właściwa)	13	Gan i wsp., 2015
<i>Eucalyptus grandis</i> (eukaliptus wielki)	14	
<i>Phaseolus vulgaris</i> (fasola zwykła)	14	Mirzaei i wsp., 2014
<i>Sorghum moench</i> (sorgo dwubarwne)	14	Gan i wsp., 2015
<i>Citrus clementina</i> (klementynka)	15	
<i>Malus domestica</i> (jabłko domowa)	15	Mirzaei i wsp., 2014
<i>Populus trichocarpa</i> (topola kalifornijska)	15	
<i>Solanum lycopersicum</i> (pomidor zwyczajny)	15	Gan i wsp., 2015
<i>Zea mays</i> (kukurydza zwyczajna)	17	Fang i wsp., 2016 Ma i Zhang, 2018
<i>Linum usitatissimum</i> (len zwyczajny)	18	Mirzaei i wsp., 2014
<i>Oryza sativa</i> (ryż siewny)	19	Fang i wsp., 2016 Ma i Zhang, 2018
<i>Setaria italica</i> (proso włoskie)	19	
<i>Glycine max</i> (soja warzywna)	21	Gan i wsp., 2015

Białka zawierające domenę α -krystalin pełnią funkcję czaperonową (opiekuńczą), zapobiegając agregacji białek podczas stresu np. podwyższonej lub niskiej temperatury [5].

Analiza funkcjonalnych domen eukariotycznych AGO wyłoniła trzy podrodziny: AGO, PIWI i WAGO (ang. WORM-SPECIFIC ARGONAUTE) [6]. Białka PIWI i oddziałujące z nimi sRNA (tzw. piRNA) występują głównie w liniach komórek zarodkowych zwierząt. WAGO zidentyfikowano u wolnożyjącego, niepaszytniczego nicienia *Caenorhabditis elegans*. Z kolei genomy roślinne kodują wiele białek AGO, wszystkie należące do podrodziny AGO. W toku ewolucji rodzina genów AGO rozwijała się ulegając m.in. wielokrotnym duplikacjom i/lub utratom. U jednokomórkowych i/lub wielokomórkowych zielonych alg (np. *Micromonas pusilla*, *Volvox carteri*, *Coccomyxa subellipsoidea*, *Chlamydomonas reinhardtii*) zidentyfikowano ≤ 3 geny AGO. Rodzina AGO powiększyła się do 6 członków u mchów (np. *Physcomitrella patens*), a następnie do dziesięciu i/lub większej liczby członków u roślin kwitnących (np. 7 u ogórka (*Cucumis sativus*), 9 u lucerny (*Medicago truncatula*), 10 u rzodkiewnika pospolitego (*A. thaliana*), 19 u ryżu (*Oryza sativa*) oraz prosa (*Setaria italica*), 21 u soi (*Glycine max*) [5,7-

10]. W Tabeli 1 przedstawiono liczbę zidentyfikowanych genów AGO u wybranych gatunków roślin.

Analizy filogenetyczne wykazały, że u roślin okrytonasiennych, w tym *A. thaliana* AGO tworzą trzy kłady, podczas gdy u mszaków, widłaków, paproci i nagonasiennych występuje dodatkowy kład białek podobnych do AGO (ang. AGO-like). Z kolei u zielonych alg, AGO tworzą odrębną gałąź. Warto zaznaczyć, że spośród 10 genów AGO (od *AGO1* do *AGO10*) zidentyfikowanych u *A. thaliana*, *AGO8* jest pseudogenem. Dziewięć funkcjonalnych białek AGO u tego gatunku jest pogrupowanych w trzy kłady: *AGO1/5/10*, *AGO2/3/7* i *AGO4/6/9* [11,12]. Do kładu *AGO1/5/10* *A. thaliana* przynależy również białko *AGO18*, które wyewoluowało u *O. sativa* i *Z. mays* [7].

Badania z wykorzystaniem immunoprecypitacji białek AGO, a następnie pirosekwencjonowania związanych z nimi sRNA ujawniły, że poszczególne białka AGO oddziałują z licznymi sRNA, które różnią się sekwencją, co w konsekwencji wpływa na różnorodność regulatorowych i biologicznych funkcji pełnionych przez te AGO [4]. Wykazano, że u *A. thaliana* w przypadku *AGO1*, *AGO2*, *AGO4*,

AGO5, AGO6, AGO7 i AGO9 podobieństwo nukleotydów na końcu 5' oraz długość sekwencji sRNA mają wpływ na sortowanie sRNA przez ww. AGO, np. większość sRNA wiązanych przez AGO1 jest długości 21-22 nukleotydów i ma uracyl (U) na końcu 5', podczas gdy sRNA oddziałujące z AGO2 są długości 21 nukleotydów i mają adeninę (A) na końcu 5', AGO4, AGO6 oraz AGO9 preferują wiązać sRNA o długości 24 nukleotydów i z A na początku końca 5', AGO5 selektywnie wiąże się z sRNA o długości 24 nukleotydów i z cytozyną (C) na początku końca 5'. Potwierdzono również, że długość sRNA oddziałującego ze specyficznym AGO, decyduje o sposobie hamowania ekspresji genów, tj.: 1) z udziałem 21-22 nukleotydowych sRNA w cytoplazmie za pomocą PTGS (ang. *posttranscriptional gene silencing*, potranskrypcyjne wyciszanie genu) lub 2) z udziałem 24 nukleotydowych sRNA na skutek ukierunkowanej przebudowy chromatyny w jądrze komórkowym poprzez TGS (ang. *transcriptional gene silencing*, transkrypcyjne wyciszanie genu) [4,11].

Rola roślinnych AGO w PTGS i TGS jest dobrze poznana. Natomiast ostatnie badania dostarczyły nowych informacji na temat mechanizmów działania AGO oraz ujawniły ich kolejne biologiczne funkcje. Dotychczas wykazano, że roślinne AGO mogą brać udział w [2,3,7,13,14]:

- *endonukleolitycznym rozszczepieniu docelowego mRNA* – AGO jako komponent kompleksu RISC, dzięki aktywności podobnej do RNAzy H wykrytej w domenie PIWI może ciąć cząsteczki wybranego mRNA charakteryzującego się wysoką komplementarnością sekwencji do sRNA. Uważa się, że to zlokalizowana w PIWI katalityczna tetradą Asp-Glu-Asp-His/Asp jest odpowiedzialna za tę aktywność AGO. W ten sposób funkcjonuje kilku przedstawicieli AGO *A. thaliana* np. AGO1, AGO2, AGO4, AGO7, AGO10;
- *represji translacji* – takie działanie potwierdzono u *A. thaliana* w przypadku AGO1, AGO7 oraz AGO10. Wykazano, że zależna od AGO1-miRNA represja translacji u *A. thaliana* ma miejsce w retikulum endoplazmatycznym i wymaga udziału białka AMP1 (ang. *ALTERED MERISTEM PROGRAM 1*) zdolnego do odłączania docelowego mRNA od polisomów. Co ciekawe, mechanizm leżący u podstaw wyboru między rozszczepieniem mRNA a hamowaniem translacji przez AGO-miRNA w RISC nadal nie jest w pełni poznany. Dotychczasowe dowody sugerują, że subkomórkowa kompartmentalizacja ww. kompleksu może odgrywać rolę w takim wyborze. Zaobserwowano bowiem, że składniki wymagane do represji translacji, są zbędne do kierowanego przez sRNA rozszczepiania docelowego mRNA, co zwiększa prawdopodobieństwo, że te dwa procesy zachodzą w różnych przedziałach komórkowych;
- *rozkładzie docelowego mRNA (?)* – mechanizmie spotykanym w komórkach zwierzęcych, natomiast w roślinnych wymaga jeszcze szczegółowego zbadania;
- *metylacji DNA zależnej od RNA* – która reguluje ekspresję genów, blokuje ruch transpozonów, co w konsekwencji sprzyja utrzymaniu integralności genomu. W roślinach

kanoniczna metylacja DNA zachodzi głównie za pośrednictwem kompleksów AGO4-siRNA funkcjonujących w szlakach metylacji DNA zależnej od RNA (ang. *RNA-dependent DNA methylation*, RdDM). Szlaki te są inicjowane przez syntezę dsRNA (ang. *double-stranded RNA*) w wyniku skoordynowanego działania IV polimerazy RNA (ang. *RNA polymerase IV*, Pol IV) oraz zależnej od RNA polimerazy 2 (ang. *RNA-dependent RNA polymerase 2*). Udział w RNA-zależnej metylacji DNA wykazano u *A. thaliana* również w przypadku AGO3 oraz AGO6. Ponadto, AGO6 może w tym procesie współdziałać z AGO4 i/lub funkcjonować niezależnie od AGO4;

- *sekwestracji* – potwierdzono, że AGO10 u *A. thaliana* i AGO18 u *O. sativa* funkcjonują jako „przynęty” odpowiednio dla *miR165/166* i *miR168*, które wyłapując je znoszą ich działanie poprzez sekwestrację. Co więcej, AGO18 może również sekwestrować *miR528* z AGO1, hamując cięcie transkryptów AO (ang. *L-ascorbate oxidase*, oksydaza L-askorbinianowa);
- *naprawie DNA* (ang. *repair of double-strand break DNA*, DSB repair) – wykazano, że 21-nukleotydowe diRNA (ang. *DSB-induced small RNAs*, małe RNA indukowane przez DSB), odgrywają zasadniczą rolę w naprawie DSB u *A. thaliana*. diRNA są wytwarzane w pobliżu miejsc DSB w sposób zależny od Pol IV. Dotychczas potwierdzono, że diRNA są rekrutowane przez AGO2 i AGO9, jednakże ten mechanizm działania nie jest jeszcze dobrze poznany;
- *syntezie siRNA niezależnej od DCL* – udowodniono, że u *A. thaliana* AGO4 uczestniczy w alternatywnym szlaku biogenezy siRNA poprzez wiązanie prekursorowych transkryptów, które są następnie poddawane 3'-5' egzonenukleolitycznemu przycinaniu w celu uzyskania dojrzalej formy siRNA;
- *kotranskrypcyjnej (potranskrypcyjnej) regulacji ekspresji genów MIRNA* – dowiedziono, że kompleksy miRNA-AGO1 oddziałując z chromatyną w loci *MIR161* i *MIR173*, powodują rozłożenie kompleksu transkrypcyjnego i uwolnienie krótkich, niepoliadenylowanych transkryptów;
- *splicingu intronów* – wykazano, że roślinne białka AGO (AGO1 i AGO4 u *A. thaliana* oraz AGO18 u *O. sativa*) są zaangażowane w splicing intronów poprzez bezpośrednie i/lub pośrednie oddziaływanie pomiędzy AGO a jego docelowym intronem. Mając na uwadze, że w mutantach *ago1* i/lub *ago4* *A. thaliana* zaobserwowano zarówno wzrost jak i spadek liczby określonych intronów, zaproponowano, że białka AGO mogą być pozytywnymi jak i negatywnymi regulatorami wycinania intronów. Potwierdzono również, że tego rodzaju regulacja intronów z udziałem AGO odbywała się w sposób zależny od organu rośliny, w którym miała miejsce.

BIOLOGICZNE FUNKCJE ROŚLINNYCH AGO

Zwiększanie się liczby członków rodziny AGO wraz ze wzrostem złożoności organizmów roślinnych wskazuje na funkcjonalną dywersyfikację tych białek, przypuszczalnie

odzwierciedlając tym samym rozwijające się w toku ewolucji kolejne regulatorowe szlaki kierowane przez sRNA, o istotnym znaczeniu dla życia roślin. Zastosowanie nowoczesnych technik badawczych pozwoliło ujawnić nie tylko wzorce ekspresji AGO i ich lokalizacje subkomórkowe, tkankowe i/lub organowe podczas cyklu rozwojowego roślin, ale także określić ich biologiczne funkcje. Znaczenie białek AGO w trakcie rozwoju roślin stało się oczywiste już w momencie scharakteryzowania pierwszych mutantów *ago1 A. thaliana* wykazujących istotne plejotropowe wady rozwojowe, takie jak np.: karłowatość i sterylność [2]. Przykłady biologicznych funkcji jakie pełnią AGO w rozwoju roślin zostały przedstawione na streszczeniu graficznym i omówione w kolejnych podrozdziałach niniejszego artykułu.

ROLA AGO PODCZAS EMBRIOGENEZY I POWSTAWANIA NASION

Najnowsze badania z zakresu rozwoju roślin ujawniły, że przedstawiciele rodziny białek AGO są zaangażowani w regulację procesu embriogenezy, umożliwiając roślinie określenie planu budowy ciała i wzorców różnicowania się tkanek. Analizy lokalizacji AGO w komórkach rozwijającego się zarodka *A. thaliana*, wykazały, że w stadium sercowatym: AGO2, AGO3 i AGO8 nie były obecne, białko AGO10 zlokalizowano w doosiowej części liścieni oraz w prokambium (tkance prowadzącej), natomiast: AGO1, AGO4 i AGO6 występowały we wszystkich jego komórkach, ze szczególnym uwzględnieniem rejonu embrionalnego merystemu wierzchołkowego pędu (ang. *shoot apical meristem*, SAM), który jest ośrodkiem morfogenezy roślin i centrum rozwojowym większości nadziemnych części roślin [15,16]. Badania nad zmianami zachodzącymi w embrionalnym SAM, ujawniły, że u *O. sativa* gen *SHL4/SHO2* (ang. *SHOOTLESS 4/SHOOT ORGANIZATION 2*) koduje ortolog AGO7 występujący u *A. thaliana*. Wykazano, że mutacje tego genu wpływają na rozwój liści poprzez szlak ta-siRNA (ang. *trans-acting siRNA*, jedne z sRNA) regulujący krytyczny etap tworzenia SAM podczas embriogenezy u *O. sativa*. Badania nad poznaniem funkcji genu *SHL4* wykazały, że jego ektopowa ekspresja (ekspresja genu w miejscu odmiennym od fizjologicznego) skutkowałą zmniejszoną akumulacją *miR166* i częściową adaksjalizacją liści (zwróceniem doosiowym), wspierając rolę szlaku ta-siRNA w utrzymaniu polarności liści, podobnie jak to wcześniej opisano u kukurydzy [17]. W innych badaniach, analizy zarodków typu dzikiego i mutantów *ago1 A. thaliana* będących w stadium torpedy ujawniły ich zróżnicowane fenotypy. Jak wykazano, na tym etapie rozwoju liścienie zarodków *ago1* nie były zdolne do zmiany kierunku wzrostu od skierowanego na zewnątrz do wzrostu skierowanego w górę, w wyniku czego odchylały się pod kątem 45° od osi zarodka, a nie były ustawione pionowo [16].

Dowiedziano, że w regulację zależnego od WUS (ang. *WUSCHEL*, czynnik transkrypcyjny odpowiedzialny za utrzymanie komórek macierzystych w stanie niezróżnicowanym) rozwoju SAM podczas embriogenezy *A. thaliana* zaangażowane są białka AGO1 oraz AGO10 (inna nazwa AGO10 to ang. *ZWILLE* (ZLL) lub *PINHEAD* (PNH)) [18]. Wykazano, że podczas embriogenezy zależna od AGO10 transdukcja sygnału indukowanego w zawiązku naczynio-

wym merystemu pędu utrzymuje komórki macierzyste w stanie niezróżnicowanym poprzez wzmocnienie interakcji sygnału przesyłanego przez WUS z centrum organizacyjnego do komórek macierzystych. O ile wcześniejsze analizy podwójnych mutantów *ago1 ago10 A. thaliana* ujawniły funkcjonalne redundancje pomiędzy tymi dwoma AGO w niektórych aspektach rozwoju, to późniejsze analizy pozwoliły określić funkcje specyficzne dla AGO10. W przeciwieństwie do AGO1 wszechobecnie ekspresjonowanego w tkankach roślinnych, AGO10 został zidentyfikowany w tkance prowadzącej, zawiązkach adaksjalnej powierzchni liści i merystemie [7]. Wzór ekspresji AGO10 jest zgodny z jego rolą w kontroli rozwoju SAM i rozwoju liści u *A. thaliana*. Badania z wykorzystaniem mutantów *A. thaliana* genu AGO10 potwierdziły, że charakteryzują się one nieprawidłowym rozwojem SAM. Co więcej, zaobserwowano, że AGO10 reguluje rozwój SAM poprzez sekwestrację *miR165/miR166* z AGO1 [2]. W komórkach macierzystych *A. thaliana* na etapie embrionalnym zidentyfikowano również obecność transkryptów AGO5, AGO7 oraz AGO9 [16]. Jednak ich funkcje nie zostały jeszcze poznane. Natomiast w SAM u *O. sativa* potwierdzono ekspresję *OsAGO13* [19].

Udział AGO1 w regulacji procesu embriogenezy udokumentowano również u roślin nagonasiennych. U świerku (*Picea glauca*) oraz araukarii (*Araucaria angustifolia*) odpowiednio gen *PgAGO* i domniemany *AaAGO1* wykazywały podwyższoną ekspresję m.in. na wczesnych etapach rozwoju zygotycznego [20]. Jako, że ekspresja *PgAGO* ogranicza się do komórek merystematycznych zarówno korzeni, jak i pędu, zasugerowano, że białko kodowane przez ten gen jest wymagane do prawidłowego rozwoju zarodka gdyż reguluje specyfikację tożsamości macierzystej tych komórek. Natomiast, podobieństwo sekwencji białek AGO1 i AGO10 *A. thaliana* do białek AGO1 u innych gatunków roślin w tym *AaAGO*, pozwoliło zasugerować, że podobne mechanizmy mogą regulować SAM we wczesnym rozwoju zygotycznym i początkowym rozwoju siewek m.in. u *A. angustifolia* [20].

Na początkowych etapach powstawania nasion *A. thaliana* wykryto ekspresję 8 z 10 genów kodujących AGO [16]. Wyjątek stanowiły AGO2 i AGO8, których obecności nie potwierdzono. AGO1 wykryto w zewnętrznej i wewnętrznej stronie integumentu (integument – osłonka, która po zapłodnieniu zalążka, podczas dojrzewania nasiona zmienia się w łupinę nasienną) sporofitu jak również w zarodku. Natomiast nie potwierdzono jego obecności w bielmie. AGO5 zlokalizowano w zarodku i wewnętrznej stronie integumentu, natomiast nie występował w bielmie. Obecność AGO10 potwierdzono na wczesnych etapach rozwoju zarodka, nie obserwowano w bielmie. Akumulacja AGO3 ograniczała się do części chalazalnej okrywy nasiennej. AGO7 zidentyfikowano we wszystkich typach komórek tworzących się nasion z wyjątkiem bielma. AGO4 i AGO6 występowały na wczesnych etapach rozwoju zarodka, nie było ich w bielmie. Wynik ten zgadza się ze znaną redundancją funkcji AGO4 i AGO6 podczas metylacji DNA i TGS w niektórych loci genetycznych [16]. W innych badaniach z wykorzystaniem nasion *M. truncatula* obecność białek AGO1 i AGO4 wykryto w jądrach komórkowych, co wspiera hipotezę, że mogą one brać udział w regulacji rozwoju nasion poprzez wyciszanie genów i metylację DNA zależną

od RNA [21]. Analizy prowadzone na wczesnych etapach powstawania nasion *A. thaliana* ujawniły obecność AGO9 w zarodku i bielmie, z wyjątkiem integumentu. Co ciekawe, AGO9 był obecny w komórkach bielma od pierwszego podziału jądrowego bielma, aż do stadium 4-komórkowego zarodka, dowodząc tego, że AGO9 jest jedynym z AGO u *A. thaliana*, którego obecność jest skorelowana z rozwojem bielma. Wyniki te wskazują na silną asymetrię pomiędzy profilami ekspresji AGO w komórkach bielma i zarodka.

W przypadku *O. sativa* na wczesnych etapach rozwoju nasion potwierdzono ekspresję *OsAGO14* [19]. Ponadto w przypadku transformantów *O. sativa ssp. Japonica* charakteryzujących się nadekspresją *OsAGO17* zaobserwowano, że wytwarzały one nasiona cięższe i większych rozmiarów niż nasiona roślin typu dzikiego [22]. W oparciu o uzyskane wyniki autorzy zaproponowali, że białko *OsAGO17* jako komponent kompleksu RISC wraz z *OsmiR397b*, poprzez obniżenie ekspresji genu lakazy *OsLAC* (ang. *LAKKASE*, gen kodujący oksydazę wielomiedziową utleniającą różne substraty fenolowe, np. odgrywa rolę w tworzeniu ligniny), prowadził do zwiększenia wielkości i masy nasion. Obserwacje cytologiczne wykazały również, że wpływ *OsAGO17-OsmiR397b* na *OsLAC* skutkuje intensyfikacją wzrostu elonacyjnego komórek w wytwarzanych nasionach. W innych badaniach wykazano, że mutacje w genie *AGO5* u *G. max* prowadzą do wytwarzania nasion o siodełkowatym wzorze wybarwienia, a efekt ten jest związany z przestrzenną dystrybucją siRNA regulujących ekspresję genu *CHS* (ang. *CHALCONE SYNTHASE*) kodującego syntazę chalkonową uczestniczącą w szlaku syntezy flawonoidów [23].

ROLA AGO W KIEŁKOWANIU I ROZWOJU SIEWKI

Przejście od wzrostu embrionalnego do kiełkowania jest pierwszym krytycznym etapem umożliwiającym wzrost i rozwój siewki a następnie rośliny zdolnej do wytworzenia nowego pokolenia nasion [24]. Badania wykazały, że przemiany, które temu towarzyszą wymagają zaangażowania m.in. wyspecjalizowanych białek AGO. W zarodkach kiełkujących ziarniaków pszenicy (*Triticum aestivum*) zidentyfikowano wysoki poziom transkryptów *TaAGO1b* i *TaAGO4*, podczas gdy w bielmie tylko w przypadku *TaAGO4* ekspresja była znacząco niższa w stosunku do tej obserwowanej w zarodku. Co więcej, w bielmie ziarniaków, ekspresja *TaAGO4* ulegała znacznemu obniżeniu podczas kiełkowania, a zmiany te były skorelowane z podwyższoną aktywnością enzymów rozkładających skrobię zgromadzoną w bielmie [25]. Nie wykluczone więc, że funkcja AGO4 w ziarniakach ma związek z wyciszaniem genów odpowiedzialnych za degradację materiałów zapasowych (np. kodujących amylazę), co w konsekwencji umożliwia ich zmagazynowanie w komórkach bielma na etapie wytwarzania nasion. Natomiast, w liściach siewek *T. aestivum* (będących w stadium 2–3 liści) wykazano, że ekspresja *TaAGO4* była znacząco wyższa niż *TaAGO1b*, wskazując na zróżnicowane funkcje pełnione przez te geny w regulacji procesów zachodzących podczas wzrostu i rozwoju siewki [25].

W regulację stanu niezróżnicowania komórek SAM podczas rozwoju siewki zaangażowany jest też gen *AGO10*. Wykazano, że siewki mutantów *ago10 A. thaliana*, charak-

teryzowały się specyficznym fenotypem tzw. „główki szpilki” (ang. *pinhead*) [26]. Objawiało się to tym, że w miejscu SAM u *ago10 A. thaliana* w odróżnieniu od osobników typu dzikiego, występowały zróżnicowane komórki a nawet całe organy. Badacze udowodnili, że odpowiedzialny jest za to mechanizm sekwestracji *miR166/165* przez *AGO10*, do którego to konkretne sRNA ma większe powinowactwo niż do *AGO1* mające aktywność rybonukleazy. W wyniku tego *miR166/165* nie może oddziaływać z *AGO1*, co w konsekwencji uniemożliwia wyciszenie ekspresji genu kodującego czynnik transkrypcyjny HD-ZIP III (ang. *class III HOMEODOMAIN-LEUCINE ZIPPER*) uczestniczącego w regulacji przemian zachodzących w SAM [26]. Natomiast w przypadku siewek mutantów *ago1-1 A. thaliana* z zerowym allelem *AGO1* (ang. *null mutant*) zaobserwowano, że wytwarzają one nieliczne, palczaste, wąskie liście, a blisko 10 % z nich nie wytwarza funkcjonalnego SAM [27]. W przeciwieństwie do *ago1-1*, hipomorficzny (częściowo funkcjonalny) allel *ago1-27*, który wytwarza białko *AGO1* o zmniejszonej aktywności rozszczepiania mRNA, wykazuje bardziej subtelne defekty rozwojowe [27].

Biologiczna funkcja AGO-miRNA podczas rozwoju siewki może mieć również związek z zależnym od genów *MAD* (ang. *miRNA ACTION DEFICIENT*) modulowaniem składu i funkcjonowania błon biologicznych i/lub syntezy hormonów roślinnych (np. giberelin, brasinosteroidów) [28]. Gen *MAD3* koduje 3-hydroksy-3-metyloglutarylo-CoA reduktazę 1 (ang. *3-HYDROXY-3-METHYLGUTARYL CoA REDUCTASE 1*, HMG1), która pełni rolę w początkowym etapie szlaku biosyntezy izoprenoidów. Z kolei *MAD4* koduje izomerazę sterolową C-8 (ang. *C-8 STEROL ISOMERASE*, *HYDRA1*, *HYD1*) działającą w dolnej części ww. szlaku. Wiele pochodnych izoprenoidów jako komponenty błon komórkowych pełni istotną rolę strukturalną i/lub sygnałową (np. sterole mają wpływ m.in. na organizację mikrodomen bogatych w sterole/sfingolipidy oraz transport/lokalizację białek błonowych). Zaobserwowano, że mutanty *A. thaliana* z hipomorficznym, zmutowanym allelem *AGO1* jaki i mutanty z wyciszonym genem *MAD3* wykazują upośledzenie asocjacji błonowej białka *AGO1*. Co więcej, wykazano, że w mutancie *mad3 A. thaliana* jest upośledzony mechanizm wyciszania genów zależny od *miR171*. Dziewięćdziesiąt procent homozygotycznych siewek mutantów insercyjnych *hmg1-1 A. thaliana* rozwijało się normalnie, ale 10 % wykazywało defekty morfologiczne typowe dla *mad3*, takie jak: zahamowanie wzrostu i wąskie, nieprawidłowo rozwinięte liście. Z kolei mutanty *mad4* tego samego gatunku wykazywały mocno obniżoną żywotność, miały małe, zdeformowane, ciemne liście, charakteryzowały się zahamowanym rozwojem korzenia, co wskazuje na plejotropowe działanie genu *MAD4* [28]. Jako, że biosynteza wielu hormonów roślinnych wymaga etapów syntezy pirofosforanu izopentenu i/lub steroli zależnych od aktywności *HYD1* (*MAD4*) to nie wykluczone też, że oddziaływanie *AGO1*-miRNA reguluje rozwój siewek pośrednio poprzez wpływ na metabolizm hormonów roślinnych. Niemniej jednak błonowa lokalizacja *AGO1* i jej częściowa zależność od aktywności *HMG1* (*MAD3*) sugerują, że zaburzona funkcja błony komórkowej leży u podstaw przynajmniej części fenotypów mutantów *mad3* i *mad4* zależnych od miRNA.

ROLA AGO W ORGANOGENEZIE ROŚLIN

WYTWARZANIE LIŚCI, PĄKÓW BOCZNYCH, PĘDU, KORZENI

Wzrost i różnicowanie komórek mające miejsce podczas kolejnych etapów rozwoju osobniczego roślin (ontogeneza) umożliwiają wytworzenie organów (organogeneza). W inicjowaniu organogenezy i w kontroli jej przebiegu dużą rolę odgrywają białka regulatorowe, o wyspecjalizowanych funkcjach, jak np. AGO. Udowodniono, że w koordynacji następujących po sobie faz rozwoju roślin *A. thaliana* uczestniczy m.in. białko AGO7 [29]. Mutanty genu *AGO7*, *zip* *A. thaliana* charakteryzują się przedwczesnym powstawaniem organów wegetatywnych dojrzałej rośliny i brakiem odpowiednio przyspieszonego, zsynchronizowanego wytwarzania generatywnych i/lub zdolności kwitnienia bez względu na warunki fotoperiodu dnia długiego czy krótkiego. Choć w większości przypadków dorosłe rośliny *zip* i typu dzikiego nie różniły się liczbą liści, a czas ich kwitnienia był podobny, to u *zip* znacznie szybciej pojawiały się cechy liści, które są zwykle związane z indukcją kwitnienia, np. w szczególności kilka ostatnich liści rozet w mutantach *zip* miało silnie ząbkowaną podstawę i specyficznie ukształtowany wierzchołek, przypominający kopułę. Mutacja w genie *AGO7* powoduje, że zawiązki liści rozet przedwześnie przyjmują cechy liści charakterystycznych dla fazy kwitnienia (reprodukcyjnej), nie powodując analogicznych zmian w SAM. Oznacza to, że zawiązki liści i pędu mogą niezależnie reagować na indukcję fazy reprodukcyjnej i wymagają zaangażowania innego zestawu białek regulatorowych [29].

Liście *A. thaliana* mają dwustronną symetrię, a ich osie doosiowo-odosiowe, proksymalno-dystalne i środkowo-boczne są ustalane już we wczesnych stadiach organogenezy liści. Wykazano, że biegunowość liści jest regulowana m.in. przez białko AGO10, które genetycznie hamuje *miR-NA165/166* [26,30]. Zaobserwowano, że w liściach mutantów *pnh/zll ago10 A. thaliana* poziom *miR-NA165/166* jest znacznie podwyższony, prowadząc do obniżenia ekspresji czynników transkrypcyjnych *HD-ZIP III*, będących targetami *miR-NA165/166*. Redukcja transkryptów *HD-ZIP III* w mutancie *pnh/zll* przyczynia się do powstawania licznych anomalii rozwojowych liści. Co więcej, nieprawidłowe fenotypy *pnh/zll* mogą być częściowo odwrócone przez zwiększenie poziomu transkryptów *HD-ZIP III* i/lub obniżenie poziomu *miR-NA165/166* m.in. w liściu [30]. Mechanizm regulacji polarności liści jest jeszcze bardziej złożony, gdyż inne badania potwierdziły także udział AGO1 i AGO7 w tym procesie [31-35]. Wyjaśnienie tego zagadnienia wymaga jednak przeprowadzenia bardziej kompleksowych, dodatkowych eksperymentów.

Analizy z wykorzystaniem mutantów *ago1*, *hyl1* (ang. *hypostatic leaves 1*), *dcl1* (ang. *dicer-like 1*) i *hen1* (ang. *hua enhancer 1*) *A. thaliana* wykazały u tych roślin wady w budowie miejsca, w którym znajduje się przejście ogonków liściowych do blaszki liściowej [36]. Obserwacje wskazują na perturbacje w specyfikacji i/lub utrzymaniu tożsamości ogonków liściowych oraz że geny te i szlak miRNA są ważne dla proksymalno-dystalnego kształtowania wzoru liści [36].

Wykazano, że słabo zaznaczona granica pomiędzy ogonkiem a blaszką obserwowana w liściach hipomorficznych mutantów *ago1 A. thaliana* jest skorelowana z obniżonym poziomem transkryptów *BOP2* (ang. *BLADE ON PETIOLE 2*) w liściach *ago1-52*. Białko *BOP2* należy do rodziny białek NPR1 (ang. *NON-EXPRESSOR OF PR 1*), które zawierają charakterystyczne sekwencje cystein oraz domeny BTP/POZ służące do oddziaływań z innymi białkami. Zmiana w ekspresji *BOP2* w pewnym stopniu przyczynia się do utraty tożsamości proksymalnej (ogonkowej) obserwowanej u mutantów *ago1-52 A. thaliana*. Jako, że *BOP2* funkcjonuje i ulega ekspresji w regionie proliferacyjnym zlokalizowanym pomiędzy blaszką i ogonkiem liściowym, to fenotyp mutantów *ago1-52* obserwowany na granicy ogonek-blaszka może być również tłumaczony występowaniem nieprawidłowo zróżnicowanego regionu proliferacyjnego. U tych samych mutantów zaobserwowano także zwiększoną w porównaniu z typem dzikim liczbę aparatów szparkowych w części adaksjalnej (doosiowej) liści, co wskazuje na rolę AGO1 również w rozwoju tych struktur. Wytlumaczeniem tego fenotypu jest fakt, że PTGS zależne od AGO1 reguluje poziom transkryptów genu odpowiedzialnego za rozwój aparatów szparkowych, takiego jak *AGL16* (ang. *AGAMOUS-like 16*), którego zwiększoną ekspresję stwierdzono w domenach blaszek i ogonków liściowych mutantów *ago1-52* [36,37]. Charakterystyka fenotypu mutantów *ago1-52* charakteryzujących się wyższą gęstością żyłek i liczbą bifurkacji (rozgałęzień) na jednostkę powierzchni liścia ujawniła rolę białka AGO1, jako negatywnego regulatora różnicowania się nowych elementów unerwienia blaszki liściowej. Zaproponowano, że wpływ mutacji w genie *AGO1* na wzór jaki tworzą nerwy w blaszce liściowej może wynikać z wady formowania wzoru odosiowo-adaksjalnego [36].

W badaniach nad regulacją rozwoju liści u *O. sativa* wykazano, że gen *OsPNH1*, który jest blisko spokrewniony z *OsAGO1*, uczestniczy w kontroli rozwoju naczyń w tych organach [38]. Wykazano, że *OsPNH1* ulega silnej ekspresji wokół wegetatywnego wierzchołka pędu w pro-naczyniowym regionie zawiązków liściowych. Zaobserwowano również, że supresja ekspresji *OsPNH1* przez antysensowny transkrypt przyczynia się do perturbacji w rozwoju unerwienia liści i nieuporządkowanego rozmieszczenia przestrzennego tkanek naczyniowych w zawiązkach liści. Co więcej, defekty wynikające z nieprawidłowego rozwoju naczyń występują wyłącznie w liściach, a nie w korzeniach czy łodydze. Wyniki te wskazują, że *OsPNH1* może być czynnikiem odpowiedzialnym za regulację specyficznej sygnalizacji rozwojowej w komórkach odpowiadających za powstawanie liści [38]. W innych badaniach wykazano, że wyciszenie homologów *AGO1* (*AGO1a, b, c, d*) u *O. sativa* powoduje podwyższoną akumulację targetów miRNA i powstawanie upośledzonych fenotypów rozwojowych [39]. Słabe linie mutantów, które utraciły funkcje pełnione przez homologi *AGO1* wykazują łagodną karłowatość z wąskimi i pofałdowanymi liśćmi. Natomiast silne linie utraty funkcji *AGO1* cechują plejotropowe fenotypy rozwojowe, w tym ostra karłowatość i poskręcane pędy, a ich rozwój jest hamowany w stadium młodych siewek [39]. Istnieją dowody także na to, że rozwój liści *O. sativa* może być modulowany jeszcze przez innego przedstawiciela rodziny AGO – gen *OsAGO7*. Obserwacje fenotypu transformanta charakte-

ryzującego się nadekspresją *OsAGO7*, ujawniły, że ma on pozwijane ku górze blaszki liściowe, wzmacniające pokrój wyprostowanych, szpiczastych liści [40].

W przypadku komórek macierzystych merystemu pąka boczno (pachowego) (ang. *axillary meristem*, AM), powstających z komórek merystematycznych zlokalizowanych u podstawy doosowej strony liścia, wykazano, że ich podziały i różnicowanie są regulowane czasowo-przestrzennie przez białko AGO10 [41]. Zaobserwowano, że mutanty *ago10 A. thaliana* charakteryzują się defektami w inicjacji AM. Dowiedziono, że AGO10, który sekwestruje *miR165/166*, promuje rozwój AM poprzez regulację ekspresji genu *REV* (ang. *REVOLUTA*) będącego targetem dla *miR165/166*. Co więcej, udowodniono, że ekspresja *AGO10* jest czasowo-przestrzennie kontrolowana przez światło oraz hormony roślinne (np. auksyny i brasionosteroidy), dzięki czemu inicjacja AM ma miejsce tylko w bocznych pąkach o określonym wieku. Potwierdzono, że w mechanizm kontroli ekspresji *AGO10* zaangażowane są białka, takie jak: ARF5 (ang. *AUXIN RESPONSE FACTOR 5*) o stymulującym działaniu w starszych pąkach bocznych liści oraz BZR1 (ang. *BRASSINAZOLE-RESISTANT 1*) i PIF4 (ang. *PHYTOCHROME-INTERACTING FACTOR 4*) bezpośrednio hamujące jego ekspresję w młodych pąkach [41].

Prawidłowo ukształtowane korzenie pełnią kluczową rolę w życiu rośliny, jako że zakotwiczą ją w podłożu, pobierają wodę ze składnikami mineralnymi oraz magazynują zapasy składników pokarmowych. Wzrost i rozwój systemu korzeniowego kontrolowany jest zarówno przez fitohormony i czynniki środowiskowe, jak i złożony system procesów molekularnych z udziałem wyspecjalizowanych białek regulatorowych np. AGO. Wykazano, że AGO1 reguluje kształtowanie tkanki podstawowej korzenia u *A. thaliana* niezależnie od szlaku angażującego białka SHR/SCR (ang. *SHORT-ROOT/SCARECROW*) [42]. Specyficzne dla roślin czynniki transkrypcyjne typu GRAS (ang. *GRAS-type*), takie jak: SHR i SCR są wymagane do asymetrycznego podziału komórek, które oddzielają warstwy komórek tkanki podstawowej: endodermis i kory, jak również do specyfikacji komórek endodermalnych. Choć u mutantów *ago1 A. thaliana* charakteryzujących się obecnością wielu zmutowanych alleli *AGO1*, nie uległa zmianie ekspresja genów *SHR* i *SCR*, to mimo wszystko obserwuje się dodatkowe warstwy komórek tkanki podstawowej korzenia pozbawione koncentrycznej organizacji. Analiza podwójnych mutantów *ago1 scr A. thaliana* wykazała za to, że jednoczesna utrata dwóch szlaków powoduje drastyczne zaburzenie organizacji komórkowej i tożsamości tkanki podstawowej korzenia w porównaniu z pojedynczymi mutantami. Mając to na uwadze zaproponowano, że wysoce symetryczne wzorce tkanki podstawowej korzenia są utrzymywane za pomocą dwóch niezależnych ścieżek, w tym jednej wykorzystującej regulację potranskrypcyjną za pośrednictwem białka AGO1 oraz drugiej angażującej czynniki transkrypcyjne SHR/SCR [42].

WYTWARZANIE KWIATU I KWITNIENIE

Przejście roślin z fazy wegetatywnej do generatywnej jest wynikiem wielu skomplikowanych, wieloetapowych reakcji. W dynamicznie zmieniających się warunkach śro-

dowiska, podczas wytwarzania kwiatu i kwitnienia roślina musi przejść różnorodne zmiany morfologiczno-fizjologiczne. Zarówno czas jak i przebieg tych procesów regulowane są przez różne czynniki środowiskowe (np. światło, temperatura) oraz endogenne (np. hormony, reaktywne formy tlenu), indukujące kaskady reakcji wymagające zaangażowania wyspecjalizowanych białkowych regulatorów. Przykładem takiego białka jest AGO1, które pełni ważną rolę podczas rozwoju reprodukcyjnego, kontrolując m.in. architekturę kwiatostanów [43]. U mutantów *A. thaliana moss-ago1-103* oraz *ago1-26* (dwa hipomorficzne allele *ago1* z mutacją w domenie PIWI) zaobserwowano, że pierwsza faza powstawania kwiatostanu (ang. *first inflorescence phase*) jest wydłużona i charakteryzuje się wzrostem liczby kwiatów o zaindukowanym w tym samym czasie kwitnieniu (ang. *coflorescence*, współkwitnienie). Co więcej, ww. mutanty *ago1 A. thaliana* wykazują nieprawidłową architekturę kwiatostanu, w tym brak wydłużonych międzywęzli między kwiatami, co prowadzi do formowania kwiatostanów o zwartym pokroju, zwiększonej liczbie cofniętych kwiatostanów i zmniejszonej liczbie kwiatów. Wykazano, że fenotyp tych mutantów *ago1 A. thaliana* spowodowany jest brakiem ekspresji genu *TFL1* (ang. *TERMINAL FLOWER 1*) kodującego białko wiążące fosfatydyloetanolaminę. Hamowanie powstawania kwiatostanów w podwójnych mutantach *ago1 tfl1 A. thaliana* wskazuje na to, że proces ten wymaga aktywności *TFL1* i potwierdza, że rola AGO1 w regulacji architektury kwiatostanów opiera się na jego aktywności, jako represora ekspresji *TFL1*. Ekspresja *TFL1* jest kontrolowana przez PIGS, a transkrypt *TFL1* jest celem degradacji sterowanej przez miRNA i/lub zatrzymania translacji, w czym pośredniczy AGO1. A więc AGO1 pozytywnie reguluje wydłużanie międzywęzli i liczbę kwiatów, ale negatywnie reguluje liczbę jednocześnie zakwitających kwiatów (współkwitnienie) [43].

W przypadku *Z. mays* wykazano, że mutanty *ago18b* tego gatunku wytwarzają kwiatostany męskie (typ: wiecha złożona) charakteryzujące się większą liczbą kłosek, co przyczynia się do powstawania dłuższego kłosa centralnego, przy jednocześnie nie zmienionej liczbie rozgałęzień i gęstości kłosek [44]. Postuluje się, że białko AGO18b jest negatywnym regulatorem rozwoju kwiatostanów, w przeciwieństwie do biologicznej funkcji AGO1a. Wykazano bowiem, że ekspresja *AGO1a* w kwiatostanach męskich jest niska i stopniowo zmniejsza się w trakcie rozwoju tych organów, co sprzyja terminacji aktywności merystemu w trakcie rozwoju kwiatostanu. Natomiast gen *AGO18b* jest silnie ekspresjonowany w merystemie kwiatostanowym i merystemach pachowych niedojrzałego kwiatostanu męskiego kukurydzy, a jego ekspresja stopniowo wzrasta podczas rozwoju wiechy. Ponadto, AGO18b działa jako negatywny regulator liczby kłosek na osi kwiatostanowej, a podwyższony poziom ekspresji *AGO18b* przyczynia się do determinacji kierunku różnicowania komórek merystematycznych. Zaproponowano, że w celu utrzymania homeostazy komórkowej AGO1a i AGO18b współpracują ze sobą, zapewniając równowagę między nieokreślonymi i zdeterminowanymi losami komórek merystematycznych w rozwijającym się kwiatostanie męskim. Wykazano również, że mechanizm działania białka AGO18b w regulacji powstawania kwiatostanu może mieć związek z jego współdziałaniem z *miR166*,

wpływając w ten sposób na poziom czynników transkrypcyjnych *HD-ZIP III* [44].

Wiadomym jest, że SAM wytwarza zawiązki liści podczas wzrostu wegetatywnego, a po przejściu do fazy kwitnienia wytwarza merystemy kwiatowe na swoich bokach. W przeciwieństwie do SAM merystemy kwiatowe są genetycznie zaprogramowane, tak aby zakończyć swoją aktywność po uformowaniu zawiązków żeńskich organów rozrodczych. Wygaśnięcie kwiatowych komórek macierzystych jest precyzyjnie regulowane w czasie, tak aby mogło się zbiec z formowaniem żeńskich organów rozrodczych, zapewniając tym samym pomyślną reprodukcję roślin. Wykorzystując jako model doświadczalny kwiatowe komórki macierzyste *A. thaliana* udowodniono, że AGO1 i współdziałające z nim *miR172* i *miR165/166*, regulują w czasie zmiany zachodzące w kwiatowych komórkach macierzystych poprzez hamowanie ekspresji *AP2* (ang. *APETALA 2*) i *HD ZIP* typu III [45]. Zarówno obniżenie ekspresji *HD-ZIP III* poprzez nadekspresję *miR165/166*, jak i nieprawidłowa ekspresja genów *HD-ZIP III* przez uczynienie ich odpornymi na działanie *miR165/166* prowadzą do przedłużonej aktywności kwiatowych komórek macierzystych, co wskazuje, że ekspresja genów *HD-ZIP III* musi być precyzyjnie kontrolowana, tak aby osiągnąć wyciszenie kwiatowych komórek macierzystych. Istnieją dowody na to, że aktywność samego AGO1 nie jest wystarczająca do utrzymania prawidłowego przebiegu procesów mających miejsce w kwiatowych komórkach macierzystych i wymaga także aktywności AGO10. Wykazano, że białko AGO10, podobnie jak AGO1 może oddziaływać z *miR172* i *miR165/166 in vivo* i wykazywać aktywność tnącą mRNA *in vitro*. Co ciekawe, pomimo wspólnych funkcji biologicznych i podobnych aktywności biochemicznych, AGO1 i AGO10 wywierają różny wpływ na *miR165/166 in vivo*. Potwierdzono, że AGO10 wraz z *miR172* uczestniczą zarówno w specyfikacji tożsamości pręcików, jak i determinacji kwiatów, dlatego wzmacnia funkcję AGO1 w regulacji ekspresji *AP2*. Natomiast, AGO1 oraz AGO10 wywierają przeciwstawny wpływ na akumulację *miR165/166* i ekspresję genów *HD-ZIP III*. AGO10, sekwestruje *miR165/166*, aby nie zostało ono włączone do kieszeni AGO1, który to kompleks wyciszałby geny *HD ZIP III* [26]. Zwiększony poziom *miR165/166* i zmniejszona ekspresja *HD-ZIP III* w mutantach *ago10 A. thaliana* sugerują, że AGO10 promuje ekspresję genów *HD-ZIP III* poprzez redukcję poziomu *miR165/166*. Pomimo przeciwstawnego wpływu na ekspresję *HD-ZIP III*, zarówno AGO1 jak i AGO10 promują wyciszenie kwiatowych komórek macierzystych [45].

W niedawno opublikowanych badaniach udowodniono, że w regulacji czasu kwitnienia *A. thaliana* uczestniczy białko AGO5 [46]. Zaobserwowano, że mutanty *ago5 A. thaliana* wykazują fenotyp wczesnego kwitnienia i wytwarzają mniej kwiatów niż osobniki typu dzikiego. Co ciekawe u tych mutantów nie ulega zmianie budowa kwiatów, ani liczba nasion wytwarzanych w łuszczyńce w porównaniu z typem dzikim. Mechanizm regulacji czasu kwitnienia leży u podstaw interakcji AGO5 z *miR156*, która prowadzi do obniżenia akumulacji transkryptów czynników transkrypcyjnych *SPL* (ang. *SQUAMOSA PROMOTER-BINDING PROTEIN-like*). Wcześniejsze badania wykazały, że wśród targetów *miR156* zidentyfikowano mRNA kodujące: *SPL3*,

SPL4 i *SPL5* – regulujące tożsamość merystemu kwiatowego oraz kodujące: *SPL2*, *SPL9*, *SPL10*, *SPL11* i *SPL15* – kontrolujące dojrzewanie pędów i indukcję kwitnienia [47-49]. Co ciekawe, zaobserwowano, że w zależności od rodzaju tkanki *miR156* może oddziaływać z różnymi przedstawicielami białek AGO, regulując inne procesy, np. kompleks *miR156-AGO5* w merystemie kwiatowym wpływa na kwitnienie, a *miR156-AGO1* w liściach moduluje ich morfologię [39,46,50,51].

Regulacja rozwoju generatywnego *O. sativa indica* wymaga zaangażowania białka AGO17 [52]. Porównanie poziomu transkryptów *AGO17* pomiędzy ryżem dzikim, a uprawnym ujawniło, że różnice we wzroście reprodukcyjnym, a w szczególności w plonie mogą częściowo wynikać z innych profili ekspresji tego genu. Transgeniczne linie roślin *O. sativa* z nadekspresją *AGO17* charakteryzują się intensywniejszym wzrostem, wcześniejszym kwitnieniem, zwiększoną długością wiechy i przyspieszonym tempem zawiązywania nasion, skutkującymi wytworzeniem większej ilości plonu. Natomiast w liniach z wyciszonym genem *AGO17* cechy te są osłabione. Wiadomym jest, że *OsAGO17* może oddziaływać z miRNA i innymi sRNA znanymi z interakcji z AGO1 i/lub innymi członkami kładu AGO1/5/10, wpływając na skład puli sRNA i/lub regulując mRNA ich specyficznych genów docelowych, szczególnie w tkankach generatywnych ryżu, kontrolując w ten sposób ważne agronomiczne cechy. Wśród sRNA o odmiennym profilu ekspresji określonym w mutantach o obniżonym *vs* podwyższonym poziomie transkryptów *OsAGO17* zidentyfikowano m.in.: *miR159*, *miR167* i *miR397b*. Targetami kompleksów tych miRNA z *OsAGO17* są transkrypty genów związanych z rozwojem roślin, takie jak odpowiednio: *GAMYB* (ang. *GAMYB-like*), *ARF6* (ang. *AUXIN RESPONSE FACTOR 6*) i *LAC10* (ang. *LACCASE-10-like*) [52].

Coraz większa liczba dowodów potwierdza udział przedstawicieli AGO w regulacji procesów zachodzących w trakcie rozwoju organów generatywnych także u innych niż ww. modelowych gatunków. U *M. domestica* geny *MdAGO1-like*, *MdAGO6-like* i *MdAGO9-like* wykazują najwyższą ekspresję w kwiatach, a *MdAGO3like* w owocach. U *S. lycopersicum* gen *SlAGO7* jest szczególnie wysoko ekspresjonowany w kwiatach, a *SlAGO5* i *SlAGO6a* wykazują silniejszą ekspresję w kwiatach i owocach, niż w innych organach [53]. U papryki (*Cap-sicum annuum* L.) również zaobserwowano podwyższony poziom transkryptów *CaAGO1a* oraz *CaAGO1b* w kwiatach, w porównaniu z innymi organami. Podwyższony poziom ekspresji w kwiatach *Brassica napus* wykazuje również gen *BnAGO1a* [8]. Badania ekspresji genów odpowiedzialnych za wyciszenie RNA u winorośli (*Vitis vinifera*) wykazały, że spośród grupy AGO liczącej 13 genów, zaledwie dwa z nich: *VvAGO6* i *VvAGO10b*, nie są ekspresjonowane w tkankach kwiatu. Analizy wskazują, że pozostałe jedenaście genów wykryto w tkance tego typu, co sugeruje, że mogą pełnić istotną rolę w kontroli organogenezy narządów generatywnych oraz w gametangio-, a następnie w gametogenezie [54].

PODSUMOWANIE I PERSPEKTYWY

Od czasu odkrycia AGO1 u *A. thaliana*, członka-założyciela rodziny roślinnych białek AGO dokonano wielu odkryć

pozwalających scharakteryzować niektóre z ich wielu regulatorowych i biologicznych funkcji. Pomimo to, wiele pytań wciąż pozostaje bez odpowiedzi. Choć wiadomo, że mechanizm działania poszczególnych AGO może odbywać się na różne sposoby, to nadal nie jest zrozumiałe, jak są one regulowane i/lub koordynowane. Do pełnienia swoich funkcji AGO prawdopodobnie potrzebują współdziałających kofaktorów. Dotychczas potwierdzono interakcje AGO z niewieloma białkami, a zidentyfikowanie nowych pozostaje dużym wyzwaniem. Niezwykle ekscytujące będzie również zbadanie, czy i w jaki sposób AGO mogą działać w sposób niezależny od kanonicznych szlaków kontrolowanych przez sRNA. W przyszłych badaniach warto skupić się także na analizie biologicznych funkcji AGO nie tylko w życiu roślin modelowych tj. *A. thaliana* i *O. sativa*, ale także w innych gatunkach, w tym i użytkowych. Zastosowanie różnorodnych modeli badawczych jest potrzebne, aby pogłębić naszą wiedzę na temat konserwatywności i zróżnicowania funkcji AGO, jak również może ujawnić nowe role tej niezwykle ciekawej rodziny białek.

PIŚMIENNICTWO

- Bohmer K (1998) AGO1 defines a novel locus of Arabidopsis controlling leaf development. *EMBO J* 17: 170–180, doi: 10.1093/emboj/17.1.170
- Carbonell A (2017) Plant ARGONAUTES: features, functions, and unknowns. *Met Mol Biol* 1640: 1–21, doi: 10.1007/978-1-4939-7165-7_1
- Bajczyk M, Bhat SS, Szewc L, Szweykowska-Kulinska Z, Jarmolowski A, Dolata J (2019) Novel nuclear functions of Arabidopsis ARGONAUTE1: beyond RNA interference. *Plant Physiol* 179: 1030–1039, doi: 10.1104/pp.18.01351
- Mallory A, Vaucheret H (2010) Form, function, and regulation of ARGONAUTE proteins. *Plant Cell* 22: 3879–3889, doi: 10.1105/tpc.110.080671
- Mirzaei K, Bahramnejad B, Shamsifard MH, Zamani W (2014) In silico identification, phylogenetic and bioinformatic analysis of ARGONAUTE genes in plants. *Int J Genom e967461*, doi: 10.1155/2014/967461
- Jin S, Zhan J, Zhou Y (2021) Argonaute proteins: structures and their endonuclease activity. *Mol Biol Rep* 48: 4837–4849, doi: 10.1007/s11033-021-06476-w
- Fang X, Qi Y (2016) RNAi in plants: an Argonaute-centered view. *Plant Cell* 28: 272–285, doi: 10.1105/tpc.15.00920
- Qin L, Mo N, Muhammad T, Liang Y (2018) Genome-wide analysis of DCL, AGO, and RDR gene families in pepper (*Capsicum annuum* L.). *Int J Mol Sci* 19: 1038, doi: 10.3390/ijms19041038
- Gan D, Liang D, Wu J, Zhan M, Yang F, Xu W, Zhu S, Shi J (2016) Genome-wide identification of the Dicer-Like, Argonaute, and RNA-dependent RNA polymerase gene families in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *J Plant Growth Regul* 35: 135–150, doi: 10.1007/s00344-015-9514-9
- Pradhan M, Pandey P, Gase K, Sharaff M, Singh RK, Sethi A, Baldwin IT, Pandey SP (2017) Argonaute 8 (AGO8) mediates the elicitation of direct defenses against herbivory. *Plant Physiol* 175: 927–946, doi: 10.1104/pp.17.00702
- Ma Z, Zhang X (2018) Actions of plant Argonautes: predictable or unpredictable? *Curr Opin Plant Biol* 45: 59–67, doi: 10.1016/j.pbi.2018.05.007
- You C, Cui J, Wang H, Qi X, Kuo L-Y, Ma H, Gao L, Mo B, Chen X (2017) Conservation and divergence of small RNA pathways and microRNAs in land plants. *Genome Biol* 18: 158, doi: 10.1186/s13059-017-1291-2
- Dolata J, Bajczyk M, Bielewicz D, Niedojadlo K, Niedojadlo J, Pietrykowska H, Walczak W, Szweykowska-Kulinska Z, Jarmolowski A (2016) Salt stress reveals a new role for ARGONAUTE1 in miRNA biogenesis at the transcriptional and posttranscriptional levels. *Plant Physiol* 172: 297–312, doi: 10.1104/pp.16.00830
- Meng Y, Ma X, Li J, Ito H, Oracz K, Cai J, Shao C (2022) The novel activity of Argonautes in intron splicing: a transcriptome-wide survey in plants. *J Plant Physiol* 270: 153632, doi: 10.1016/j.jplph.2022.153632
- Gutzat R, Rembart K, Nussbaumer T, Pisupati R, Hofmann F, Bradamante G, Daubel N, Gaidora A, Lettner N, Donà M, et al. (2018) Arabidopsis shoot stem cells display dynamic transcription and DNA methylation patterns. *EMBO J* 39:e103667
- Jullien PE, Schröder JA, Bonnet DMV, Pumplun N, Voinnet O (2022) Asymmetric expression of Argonautes in reproductive tissues. *Plant Physiol* 188: 38–43, doi: 10.1093/plphys/kiab474
- Nagasaki H, Itoh J, Hayashi K, Hibara K, Satoh-Nagasawa N, Nosaka M, Mukouhata M, Ashikari M, Kitano H, Matsuoka M, et al. (2007) The small interfering RNA production pathway is required for shoot meristem initiation in rice. *PNAS* 104: 14867–14871, doi: 10.1073/pnas.0704339104
- Tucker MR, Hinze A, Tucker EJ, Takada S, Jürgens G, Laux T (2008) Vascular signalling mediated by ZWILLE potentiates WUSCHEL function during shoot meristem stem cell development in the Arabidopsis embryo. *Development* 135: 2839–2843, doi: 10.1242/dev.023648
- Kapoor M, Arora R, Lama T, Nijhawan A, Khurana JP, Tyagi AK, Kapoor S (2008) Genome-wide identification, organization and phylogenetic analysis of Dicer-like, Argonaute and RNAdependent RNA polymerase gene families and their expression analysis during reproductive development and stress in rice. *BMC Genom* 9: 451, doi: 10.1186/1471-2164-9-451
- Schlögl PS, Santos ALW dos, Vieira L do N, Floh EIS, Guerra MP (2012) Cloning and expression of embryogenesis-regulating genes in *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze (Brazilian Pine). *Genet Mol Biol* 35: 172–181, doi: 10.1590/S1415-47572012005000005
- Repetto O, Rogniaux H, Firnhaber C, Zuber H, Küster H, Larré C, Thompson R, Gallardo K (2008) Exploring the nuclear proteome of *Medicago truncatula* at the switch towards seed filling. *Plant J* 56: 398–410, doi: 10.1111/j.1365-313X.2008.03610.x
- Zhong J, He W, Peng Z, Zhang H, Li F, Yao J (2020) A putative AGO protein, OsAGO17, positively regulates grain size and grain weight through OsmiR397b in rice. *Plant Biotechnol J* 18: 916–928, doi: 10.1111/pbi.13256
- Cho YB, Jones SI, Vodkin LO (2017) Mutations in Argonaute5 illuminate epistatic interactions of the K1 and I loci leading to saddle seed color patterns in Glycine Max. *Plant Cell* 29, 708–725, doi: 10.1105/tpc.17.00162
- Oracz K, Karpiński S (2016) Phytohormones signaling pathways and ROS involvement in seed germination. *Front Plant Sci* 7: doi: 10.3389/fpls.2016.00864
- Meng F, Jia H, Ling N, Xue Y, Liu H, Wang K, Yin J, Li Y (2013) Cloning and characterization of two Argonaute genes in wheat (*Triticum aestivum* L.). *BMC Plant Biol* 13: 18, doi: 10.1186/14712229-13-18
- Zhu H, Hu F, Wang R, Zhou X, Sze S-H, Liou LW, Barefoot A, Dickman M, Zhang X (2011) Arabidopsis Argonaute10 specifically sequesters MiR166/165 to regulate shoot apical meristem development. *Cell* 145: 242–256, doi: 10.1016/j.cell.2011.03.024
- Mallory AC, Hinze A, Tucker MR, Bouché N, Gascioli V, Elmayan T, Laussergues D, Jauvion V, Vaucheret H, Laux T (2009) Redundant and specific roles of the ARGONAUTE proteins AGO1 and ZLL in development and small RNA-directed gene silencing. *PLoS Genet* 5: e1000646, doi: 10.1371/journal.pgen.1000646
- Brodersen P, Sakvarelidze-Achard L, Schaller H, Khafif M, Schott G, Bendahmane A, Voinnet O (2012) Isoprenoid biosynthesis is required for miRNA function and affects membrane association of ARGONAUTE 1 in Arabidopsis. *PNAS* 109: 1778–1783, doi: 10.1073/pnas.1112500109
- Hunter C, Sun H, Poethig RS (2003) The Arabidopsis heterochronic gene ZIPPY is an ARGONAUTE family member. *Curr Biol* 13: 1734–1739, doi: 10.1016/j.cub.2003.09.004
- Liu Q, Yao X, Pi L, Wang H, Cui X, Huang H (2009) The ARGONAUTE10 gene modulates shoot apical meristem maintenance and establishment of leaf polarity by repressing miR165/166 in Arabidopsis. *Plant J* 58: 27–40, doi: 10.1111/j.1365-313X.2008.03757.x

31. Kidner CA, Martienssen RA (2004) Spatially restricted microRNA directs leaf polarity through ARGONAUTE1. *Nature* 428: 81–84, doi: 10.1038/nature02366
32. Fahlgren N, Montgomery TA, Howell MD, Allen E, Dvora SK, Alexander AL, Carrington JC (2006) Regulation of AUXIN RESPONSE FACTOR3 by TAS3 ta-siRNA affects developmental timing and patterning in Arabidopsis. *Curr Biol* 16: 939–944, doi: 10.1016/j.cub.2006.03.065
33. Hunter C, Willmann MR, Wu G, Yoshikawa M, de la Luz Gutiérrez-Nava M, Poethig SR (2006) Trans-acting siRNA-mediated repression of ETTIN and ARF4 regulates heteroblasty in Arabidopsis. *Development* 133: 2973–2981, doi: 10.1242/dev.02491
34. Xu L, Yang L, Pi L, Liu Q, Ling Q, Wang H, Poethig RS, Huang H (2006) Genetic interaction between the AS1-AS2 and RDR6-SGS3-AGO7 pathways for leaf morphogenesis. *Plant Cell Physiol* 47: 853–863, doi: 10.1093/pcp/pcj057
35. Yang L, Huang W, Wang H, Cai R, Xu Y, Huang H (2006) Characterizations of a hypomorphic Argonaute1 mutant reveal novel AGO1 functions in Arabidopsis lateral organ development. *Plant Mol Biol* 61: 63–78, doi: 10.1007/s11103-005-5992-7
36. Jover-Gil S, Candela H, Robles P, Aguilera V, Barrero JM, Micol JL, Ponce MR (2012) The microRNA pathway genes AGO1, HEN1 and HYL1 participate in leaf proximal–distal, venation and stomatal patterning in Arabidopsis. *Plant Cell Physiol* 53: 1322–1333, doi: 10.1093/pcp/pcs077
37. Kutter C, Schöb H, Stadler M, Meins F, Si-Ammour A (2007) MicroRNA-mediated regulation of stomatal development in Arabidopsis. *Plant Cell* 19: 2417–2429, doi: 10.1105/tpc.107.050377
38. Nishimura A, Ito M, Kamiya N, Sato Y, Matsuoka M (2002) OsPNH1 regulates leaf development and maintenance of the shoot apical meristem in rice. *Plant J* 30: 189–201, doi: 10.1046/j.1365313X.2002.01279.x
39. Wu L, Zhang Q, Zhou H, Ni F, Wu X, Qi Y (2009) Rice microRNA effector complexes and targets. *Plant Cell* 21: 3421–3435, doi: 10.1105/tpc.109.070938
40. Shi Z, Wang J, Wan X, Shen G, Wang X, Zhang J (2007) Over-expression of rice OsAGO7 gene induces upward curling of the leaf blade that enhanced erect-leaf habit. *Planta* 226: 99–108, doi: 10.1007/s00425-006-0472-0
41. Zhang C, Fan L, Le BH, Ye P, Mo B, Chen X (2022) Regulation of ARGONAUTE10 expression enables temporal and spatial precision in axillary meristem initiation in Arabidopsis. *Dev Cell* 55: 603–616.e5, doi: 10.1016/j.devcel.2020.10.01.
42. Miyashima S, Hashimoto T, Nakajima K (2009) ARGONAUTE1 acts in Arabidopsis root radial pattern formation independently of the SHR/SCR pathway. *Plant Cell Physiol* 50: 626–634, doi: 10.1093/pcp/pcp020
43. Fernández-Nohales P, Domenech MJ, Martínez de Alba AE, Micol JL, Ponce MR, Madueño F (2014) AGO1 controls Arabidopsis inflorescence architecture possibly by regulating TFL1 expression. *Ann Bot* 114: 1471–1481, doi: 10.1093/aob/mcu132
44. Sun W, Xiang X, Zhai L, Zhang D, Cao Z, Liu L, Zhang Z (2018) AGO18b negatively regulates determinacy of spikelet meristems on the tassel central spike in maize. *J Int Plant Biol* 60: 65–78, doi: 10.1111/jipb.12596
45. Ji L, Liu X, Yan J, Wang W, Yumul RE, Kim YJ, Dinh TT, Liu J, Cui X, Zheng B, et al. (2011) ARGONAUTE10 and ARGONAUTE1 regulate the termination of floral stem cells through two microRNAs in Arabidopsis. *PLOS Genet* 7: e1001358, doi: 10.1371/journal.pgen.1001358
46. Roussin-Léveillé C, Silva-Martins G, Moffett P (2020) ARGONAUTE5 represses agedependent induction of flowering through physical and functional interaction with miR156 in Arabidopsis. *Plant Cell Physiol* 61: 957–966, doi: 10.1093/pcp/pcaa022
47. Schwarz S, Grande AV, Bujdoso N, Saedler H, Huijser P (2008) The microRNA regulated SBPBox Genes SPL9 and SPL15 control shoot maturation in Arabidopsis. *Plant Mol. Biol* 67: 183–195, doi: 10.1007/s11103-008-9310-z
48. Wang J-W, Czech B, Weigel D (2009) MiR156-regulated SPL transcription factors define an endogenous flowering pathway in Arabidopsis thaliana. *Cell* 138: 738–749, doi: 10.1016/j.cell.2009.06.014
49. Xu M, Hu T, Zhao J, Park M-Y, Earley KW, Wu G, Yang L, Poethig RS (2016) Developmental functions of miR156-regulated SQUAMOSA PROMOTER BINDING PROTEIN-LIKE (SPL) genes in Arabidopsis thaliana. *PLoS Genet* 12: e1006263, doi: 10.1371/journal.pgen.1006263
50. Ebhardt HA, Fedynak A, Fahlman RP (2010) Naturally occurring variations in sequence length creates microRNA isoforms that differ in Argonaute effector complex specificity. *Silence* 1: 12, doi: 10.1186/1758-907X-1-12
51. He J, Xu M, Willmann MR, McCormick K, Hu T, Yang L, Starker CG, Voytas DF, Meyers BC, Poethig RS (2018) Threshold-dependent repression of SPL gene expression by miR156/ miR157 controls vegetative phase change in *Arabidopsis thaliana*. *PLOS Genet* 14: e1007337, doi: 10.1371/journal.pgen.1007337
52. Pachamuthu K, Swetha C, Basu D, Das S, Singh I, Sundar VH, Sujith TN, Shivaprasad PV (2021) Rice-specific Argonaute 17 controls reproductive growth and yield-associated phenotypes. *Plant Mol Biol* 105: 99–114, doi: 10.1007/s11103-020-01071-2
53. Xu R, Liu C, Li N, Zhang S (2016) Global identification and expression analysis of stressresponsive genes of the Argonaute family in apple. *Mol Genet Genom* 291: 2015–2030, doi: 10.1007/s00438-016-1236-6
54. Zhao H, Zhao K, Wang J, Chen X, Chen Z, Cai R, Xiang Y (2015) Comprehensive analysis of dicer-like, Argonaute, and RNA-dependent RNA polymerase gene families in grapevine (*Vitis vinifera*). *J Plant Growth Regul* 34: 108–121, doi: 10.1007/s00344-014-9448-7

ARGONAUTE proteins in cell biology and plant development

Anna Sokołowska, Maciej Rugała, Krystyna Oracz✉

Department of Plant Physiology, Institute of Biology, Warsaw University of Life Sciences - SGGW, Warsaw

✉corresponding author: krystyna_oracz@sggw.edu.pl

Keywords: ARGONAUTE proteins, cell biology, genes expression, genes silencing, plant development

SUMMARY

ARGONAUTE (AGO) proteins are integral parts of regulatory pathways under the control of small RNA (sRNA) that are fundamental for the proper functioning of eukaryotic cells. AGOs, as highly specialized platforms binding specific sRNA, coordinate gene silencing through interaction with other protein factors (forming the RNA-induced silencing complex, RISC), contributing to endonucleolytic cleavage of the target mRNA and/or influencing the translation process. The increasing number of evidence confirms the participation of AGO proteins in several other cellular processes, such as i.e.: transcription regulation, sequestration, RNA-dependent methylation of DNA, repair of DNA damages, synthesis of siRNA independent of DCL (DICER-like) proteins, or co-transcriptional regulation of *MIRNA* genes expression and intron splicing. Particular plant species are characterized by the presence of a different number of AGO proteins, in many cases of yet unknown regulatory and/or biological function. This review article covers the current knowledge about the functions of AGOs in cell biology and plant development.

