

## Tlenek azotu jako epigenetyczny mediator odporności ziemniaka typu ETI

W świetle ponoszonych corocznie gigantycznych strat finansowych na całym świecie, spowodowanych epidemią zarazy w uprawach ziemniaka, wszelkie próby wyjaśnienia mechanizmu kontroli genów odporności rośliny-gospodarza względem *Phytophthora infestans* są uzasadnione. Przedstawiony projekt ma charakter nowatorski, a badania mają ustalić, czy i na ile, tlenek azotu (NO) pozostaje w kooperacji funkcjonalnej z *R*-genami odpowiedzi obronnej ziemniaka oraz czy ten dialog wprowadza okresowe zmiany w statusie metylacji chromatyny, w sekwencjach promotorowych tych genów.

Przy braku zagrożenia ze strony patogenów, bardzo ważna jest precyzyjna regulacja ekspresji *R*-genów w roślinie, w celu unikania autoimmunnych odpowiedzi i kosztów energetycznych. Różne małe niekodujące miRNA wyciszają wiele *R*-genów, utrzymując chromatynę w stanie skondensowanym, z wysokim poziomem metylacji i nieaktywną transkrypcyjnie. Z kolei dla wzmocnienia odporności w warunkach stresu biotycznego, konieczna jest wczesna i szybka nadekspresja *R*-genów. Z nielicznych dostępnych danych wynika, że rozpoznanie agresora wpływa na biogenezę miRNAs, co inicjuje proces hypometylacji genomu gospodarza, hamuje wyciszanie *R*-genów i wzmacnia odporność rośliny.

Biologiczna reaktywność NO przejawia się głównie w zmianach redoks aktywności białek poprzez S-nitrozylację lub nitrowanie tyrozyny. Stąd też jednym z głównych zadań tego projektu, jest poznanie bezpośrednich targetów, modyfikowanych przez NO oraz nadtlenoazotyn (ONOO<sup>-</sup>), mających związek z regulacją epigenetyczną. Planuje się przeprowadzić identyfikację S-nitrozylowanej i/lub nitrowanej hydrolazy S-adenozyl-L-homocysteinowej, która pełni rolę donora grup metylowych i dokonać analizy funkcjonalnej tych modyfikacji w relacji do rearanżowanej chromatyny. Ponadto zamierzamy zidentyfikować nitrowany i poddany oksydacji przez nadtlenoazotyn mRNA i udokumentować patofizjologiczne konsekwencje tej modyfikacji o charakterze metylacji DNA kierowanej przez RNA (RdDM). Jak dotąd, odnotowano bardzo nieliczne dane na temat wpływu NO na metylację histonów i DNA głównie u ssaków, podczas gdy u roślin brakuje tego typu dociekań naukowych.

W naszym projekcie chcemy znaleźć i udokumentować związek funkcjonalny pomiędzy NO, a znacznikami epigenetycznymi chromatyny, które ułatwiają dostęp czynnikom transkrypcji w sekwencjach promotorowych *R*-genów (*R3a* oraz *Rpi-phu1*) i powiązać te zmiany ze spadkiem ekspresji stosownych miRNAs odpowiedzialnych za wyciszanie transkrypcyjne i potranskrypcyjne aktywności genów obronnych.

Materiał roślinny będą stanowią dwa genotypy ziemniaka, tj. 'Sarp Mira', która posiada gen *R3a* oraz linia hodowlana TG 97-411 z genem *Rpi-phu1*. Oba genotypy z awirulentnymi izolatami *P.infestans* wykazują symptomy odporności typu effector-triggered immunity (ETI) w postaci nadwrażliwej śmierci (hypersensitive response – HR) zaatakowanych komórek. Na podkreślenie zasługuje fakt, że lęgniowce (*Oomycetes*), do których należy *Phytophthora infestans* to nieliczna grupa organizmów żywych, obok *Drosophila*, *Caenorhabditis elegans* i drożdży, u których nie stwierdzono procesu metylacji DNA. Stąd też w proponowanym projekcie, zmiana profilu metylacji DNA w układzie ziemniak - *P.infestans*, będzie wyłącznie odzwierciedleniem modyfikacji DNA rośliny-gospodarza.

Autorzy wychodzą z założenia, że chociaż planowane badania mają wyłącznie charakter badań podstawowych, to pomyślna realizacja projektu może zaowocować wynikami o dużym potencjale aplikacyjnym, co w przyszłości może okazać się przydatne w walce z groźną chorobą, jaką stanowi zaraza ziemniaka.