

## **Wpływ tlenu azotu na stan acetylacji białek histonowych u *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary**

W toku przemian ewolucyjnych patogeny rozwinęły wiele strategii inwazyjnych, do których zaliczamy m.in. syntezę endogennej cząsteczki sygnałowej - tlenu azotu (NO). Udokumentowano m.in., że również fitopatogeny należące do unikatowej grupy organizmów grzybopodobnych są zdolne do syntezy NO i mogły wykorzystać tę cząsteczkę jako skuteczną broń, dzięki której opanowały organizm rośliny-gospodarza. Proponowane badania mają na celu wyjaśnienie nowego aspektu metabolizmu NO u patogenicznego lęgniowca *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary związanego z zaangażowaniem tej cząsteczki w regulację stopnia acetylacji białek histonowych. Funkcjonalne ogniwo łączące NO z acetylacją/deacetylacją histonów może bowiem determinować wysoką plastyczność patogena, przejawiającą się adaptacją do nowych środowisk oraz wzrostem patogeniczności. Co ciekawe, w tej grupie mikroorganizmów nie zaobserwowano rearanżacji chromatyny związanej z metylacją DNA w postaci 5-metylocytozyny, zatem reakcje acetylacji i deacetylacji mogą stanowić skuteczny sposób kontroli transkrypcji.

W pierwszych etapach projektu planuje się wyjaśnić, czy i w jakim stopniu NO modyfikuje wzorce acetylacji białek histonowych oraz zidentyfikować zmiany transkryptomu wywołane stanem acetylacji histonów w odpowiedzi na NO. Ponieważ enzymami odpowiedzialnymi za odwracalną acetylację histonów są acetylotransferazy histonowe (HATs) oraz deacetylazy histonowe (HDACs), w dalszej kolejności zaplanowano wielopoziomową analizę ekspresji genów HATs oraz HDACs. Ponadto immunodetekcja oraz analizy bioinformatyczne wskażą, czy NO bezpośrednio modyfikuje HATs i HDACs na drodze S-nitrozylacji i/lub nitrowania. Z kolei aby opisać pośredni wpływ NO na rekrutację aktywatorów i represorów transkrypcji, zaplanowano eksperymenty obejmujące immunoprecypitację chromatyny połączoną z głębokim sekwencjonowaniem. W końcowym etapie projektu, w oparciu o podejście farmakologiczne, zostaną opisane fizjologiczne konsekwencje określonych wcześniej wzorców acetylacji histonów zależnych od NO. Podejście to pozwoli wskazać korelacje pomiędzy NO a wzorcami acetylacji białek m.in. w kontekście wirulencji *P. infestans*.

Proponowane badania będą prowadzone w oparciu o analizę porównawczą pomiędzy izolatami wirulentnym (*vr*) i awirulentnym (*avr*) *P. infestans* względem wybranego genotypu ziemniaka (*Solanum tuberosum* L.), co pozwoli zidentyfikować zdarzenia istotne dla wirulencji patogena. Ponadto eksperymenty będą uwzględniały fazę saprofityczną mikroorganizmu oraz fazę *in planta*, wskazując odpowiednio zdarzenia rozwojowe oraz związane ze strategią ofensywną patogena.

Wyniki uzyskane w następstwie realizacji proponowanego projektu, w pełni wpisują się w tematykę badań podstawowych, zarówno w aspekcie wyjaśnienia molekularnych mechanizmów epigenetycznej kontroli ekspresji genów u *P. infestans*, jak również roli acetylacji/deacetylacji białek histonowych u eukariotycznych patogenów. Należy podkreślić, iż regulacja transkrypcji indukowana oddziaływaniem pomiędzy NO a HDACs i/lub HATs w strukturach patogena oferuje sprawny i odwracalny mechanizm kontroli ekspresji genów, zaangażowanych m.in. w strategię ofensywną, jak i adaptację do nowych środowisk bytowania patogenu. W świetle powyższego, NO może pełnić strategiczną rolę w organizmie agresora w warunkach presji środowiska.