

Kiła kapusty jest chorobą rzepaku oraz innych roślin kapustowatych, takich jak kapusta głowiasta czy brokuły. Jej sprawcą jest żyjący w glebie pierwotniak o nazwie *Plasmodiophora brassicae*, który poraża korzenie roślin. Po wnikięciu do rośliny namnaża się on wewnątrz jej komórek a wraz z postępowaniem jego rozwoju korzenie nienaturalnie grubieją i powstają narośla – stąd nazwa kiła kapusty. Rozwój prowadzi do zmiany stosunków pokarmowych w roślinie, przebudowy tkanki przewodzącej oraz zaburzenia ciągłości transportu wody z korzeni do organów nadziemnych. Rośliny osłabione na skutek przekierowania transportu substancji odżywczych do narośli oraz niemożności efektywnego pobrania wody z gleby więdną i zamierają. Z rozkładających się narośli uwalniają się miliony zarodników, które mogą spoczywać w glebie przez wiele lat czekając na dogodne warunki do infekcji kolejnych roślin. Produkcja rzepaku dla uzyskania oleju oraz jako składnika pasz zwierzęcych to przemysł wyceniany na miliony euro. Straty z powodu kiły kapusty w niektórych latach mogą osiągnąć nawet 15% upraw. Dotychczasowo najbardziej skuteczną strategią walki z problemem kiły kapusty jest hodowla odmian uprawnych oparta na lokalnych komponentach, które w toku ewolucji wytworzyły odporność na tę chorobę.

Poznane dotychczas geny odporności na *P. brassicae* mają strukturę typową dla receptorów innych patogenów roślinnych. Kodują one białka zawierające domeny biorące udział w interakcji patogenu i jego rozpoznaniu oraz domeny zaangażowane w dalszy przekaz sygnału infekcji. Na skutek tegoż przekazu następuje odpowiedź obronna w postaci syntezy antymikrobiałnych związków chemicznych oraz wzmocnienia barier ochronnych pomiędzy komórkami, które zapobiega rozprzestrzenianiu się patogenu. Przekaz sygnału alarmowego zawiera wiele etapów polegających na tworzeniu kompleksów białkowych oraz kaskadzie chemicznej modyfikacji białek, pozwalającej na dotarcie sygnału do komórki. W niniejszym projekcie chcemy zbadać mechanizm odpowiedzi obronnej na kiłę kapusty mediowanej przez gen *RPB1* (ang. *Resistance to Plasmodiophora brassicae 1*) u rzodkiewnika (*Arabidopsis thaliana* L.).

Spośród światowej populacji 142 genotypów rzodkiewnika zainfekowanych *P. brassicae* wytypowaliśmy 11 genotypów odpornych. Z odpornością korelowały markery genetyczne zlokalizowane na chromosomie 1 a w ich rejonie wykryliśmy gen *RPB1*. W celu dalszego, zbadania udziału tego genu przeprowadziliśmy edycję genomu metodą CRISPR/Cas9, dzięki czemu uzyskaliśmy rewersję wrażliwości na *P. brassicae* u genotypów odpornych. Białko kodowane przez gen *RPB1* nie przypomina żadnego znanego dotychczas komponentu reakcji obronnych u roślin. Nie posiada typowej domeny odpowiedzialnej za rozpoznanie patogenu oraz znanych elementów zaangażowanych w przekaz sygnału. Zakładamy, że białko RPB1 w kompleksie z innymi białkami rośliny wchodzi w interakcję z czynnikami *P. brassicae*. W celu poznania poszczególnych komponentów tego kompleksu planujemy dodać do sekwencji kodującej białko RPB1 niewielki znacznik (epitop) białkowy i uzyskać rośliny produkujące białko hybrydowe, będące podstawowym narzędziem do dalszych badań. W przypadku uzyskania funkcjonalnego białka, mediującego reakcję obronną, przeprowadzimy ko-immunoprecypitację (ang. *pull out*) z wykorzystaniem przeciwciał rozpoznających wprowadzony epitop. Dzięki wykorzystaniu powinowactwa białek (ang. *affinity purification*) i zsekwencjonowaniu uzyskanych komponentów metodą spektrometrii mas zidentyfikujemy czynniki wchodzące w interakcję z RPB1. Kolejnym etapem pracy będzie zbadanie funkcji wytypowanych czynników – scharakteryzowanie ich interakcji oraz stworzenie mutantów, pozwalające na ocenę ich potencjalnego udziału w odpowiedziach obronnych związanych z kiłą kapusty.

W Europie występuje wiele patotypów *P. brassicae* różniących się zdolnością do porażenia poszczególnych odmian i gatunków roślin kapustowatych. W niniejszym projekcie sprawdzimy również, dla których patotypów *P. brassicae* białko RPB1 stanowi czynnik decydujący o odporności. Porównanie kompatybilnych i niekompatybilnych genomów pozwoli na zidentyfikowanie czynników patogenu rozpoznawanych przez kompleks RPB1 i innych białek rośliny. Stworzenie modelu zawierającego czynniki patogenu oraz rośliny-gospodarza przybliży zrozumienie dynamiki reakcji odpornościowej oraz presji ewolucyjnej obecnej podczas przełamania odporności przez patogen. Finalizacja niniejszego projektu dostarczy wiedzy, która w przyszłości może stać się podstawą dla tworzenia nowych strategii walki z patogenem, będącym źródłem poważnych strat ekonomicznych.