

Metabolizm wtórny w odpowiedzi immunologicznej wybranych gatunków Brassicaceae

Karolina Kulak

Nadrzędnym celem przedłożonej pracy doktorskiej była charakterystyka zmian, jakie zachodzą w szlakach metabolicznych wybranych gatunków z rodziny Brassicaceae w odpowiedzi odpornościowej na inokulację patogenem *Plectosphaerella cucumerina* lub rozpoznanie wzorca molekularnego związanego z mikroorganizmem flg22. Obiektem badań był gatunek modelowy *Arabidopsis thaliana* oraz cztery inne gatunki: *Capsella rubella*, *Cardamine hirsuta*, *Thellungiella salsuginea* i *Arabis alpina*, które pokrywają w dużej części drzewo filogenetyczne wszystkich gatunków Brassicaceae, posiadających zsekwencjonowany genom. Cel pracy miał być osiągnięty poprzez badania na poziomie metabolomu, genomu i transkryptomu.

Analizy metabolomu opierały się na identyfikacji metabolitów zawartych w liściach lub siewkach, które w badanych gatunkach ulegały zwiększonej akumulacji odpowiednio po inokulacji patogenem bądź traktowaniu wzorcem molekularnym. Identyfikacja została wykonana poprzez zastosowanie techniki ultrasprawnej chromatografii cieczowej (UPLC) z użyciem detektora fotodiodowego (PDA) i fluorescencyjnego (FLR), dzięki czemu wykonano badania ilościowe oraz dokonano wstępnej klasyfikacji części metabolitów. Dzięki sprzężeniu UPLC z wysokorozdzielczym spektrometrem mas możliwe było uzyskanie dokładniejszych danych strukturalnych oraz wyznaczenie potencjalnych struktur części metabolitów. Określono filogenetyczny zasięg występowania poszczególnych metabolitów oraz wykazano, że metabolity, których akumulacja była indukowana po inokulacji patogenem lub po traktowaniu wzorcem molekularnym, w dużej części były specyficzne gatunkowo. Jedynie około 20% z nich charakteryzowało się zwiększoną biosyntezą w przynajmniej dwóch z badanych gatunków Brassicaceae. Wśród tych metabolitów były grupy związków należących do pochodnych tryptofanu oraz fenyloalaniny, które były przynajmniej częściowo zakonserwowane w badanych gatunkach. Przeprowadzone eksperymenty wykazały również, że w wyniku odpowiedzi odpornościowej na patogen bądź wzorzec molekularny, uruchamiane mogą być te same szlaki metaboliczne, jednak prowadzą do zwiększenia biosyntezy różnych produktów końcowych.

Występowanie poszczególnych metabolitów zależne jest od obecności w genomie oraz ekspresji genów związanych ze szlakami ich biosyntezy. Dlatego też w trakcie realizacji niniejszej pracy wykonano analizy filogenetyczne wybranych gatunków Brassicaceae mające na celu identyfikację ortologów i dalszych homologów genów związanych z metabolizmem tryptofanu i ze szlakiem fenylopropanoidowym *A. thaliana*. Następnie dla wybranych genów przeprowadzono analizę zmian ekspresji, zachodzących po inokulacji patogenem. Wyniki przeprowadzonych analiz pozwoliły

na określenie filogenetycznego zasięgu występowania poszczególnych genów oraz wykazały, że większość z nich ulega zwiększonej ekspresji po inokulacji *P. cucumerina*, co wskazuje na potencjalną rolę tych genów w odpowiedzi odpornościowej.

Ostatnim etapem prac była korelacja wyników uzyskanych na poziomie metabolomu, genomu i transkryptomu. Korelacja ta była możliwa tylko częściowo i była skuteczna jedynie w przypadku metabolitów i szlaków ich biosyntezy opisanych wcześniej w gatunku modelowym *A. thaliana*. Przeprowadzone analizy wykazały, że we wszystkich badanych gatunkach Brassicaceae występują wciąż metabolity o nieznanych szlakach biosyntezy oraz geny, charakteryzujące się zwiększoną ekspresją po inokulacji patogenem, których funkcja jest dotąd niepoznana.