

# OBRONA I EPIGENETYKA W ŚWIECIE ROŚLIN: PAMIĘĆ IMMUNOLOGICZNA I KONTROLA NAD GENOMEM

Defence and epigenetics in the World of the Plants:  
immunological memory and genome control

Ewelina A. Klupczyńska (Poznań)

## Streszczenie

Istotą epigenetyki są badania zmian zachodzących w genie, które nie zaszły na drodze modyfikacji informacji genetycznej, czyli zmian sekwencji nukleotydów DNA, a powstały pod wpływem bodźców zewnętrznych. Badania modyfikacji epigenetycznych u roślin mają wielkie znaczenie, ponieważ epigenetyczne zmiany na poziomie genu są efektem odpowiedzi rośliny na stymulację środowiskową. Rośliny wykształciły wyrafinowane mechanizmy reagowania i aklimatyzacji poprzez szybkie i zharmonizowane zmiany na poziomie transkrypcji oraz zmiany potranskrypcyjne całych 'kompleksów genowych' – genów kodujących białka uczestniczące w tych samych szlakach metabolicznych. Rośliny jako organizmy niemobilne muszą przystosować się najlepiej jak potrafią do otaczającego je środowiska. Jednym z najważniejszych przystosowań jest adaptacja do świata mikroorganizmów. Rośliny mają wielu sprzymierzeńców wśród mikroorganizmów, ale mają także wielu wrogów. Dlatego do obrony przed patogenami stworzyły skomplikowany mechanizm działania układu immunologicznego. Najnowsze badania naukowe wskazują, że modyfikacje epigenetyczne, takie jak metylacja DNA i RNA oraz modyfikacje histonów, bezpośrednio uczestniczą w pamięci immunologicznej roślin.

## Abstract

The essence of epigenetics is to study changes in the gene that did not occur through changes in genetic information, i.e. changes in DNA nucleotide sequences, but were created under the influence of external conditions. Studies of epigenetic modifications in plants are important because epigenetic changes at the gene level are the effect of plant response to environmental stimulation. Plants evolved sophisticated mechanisms to respond and acclimatize by prompt and harmonized changes at transcriptional and post-transcriptional levels of whole gene complexes. Plants as non-mobile organisms must adapt as best they can to the environment around them. One of the most important adaptations is to adapt to the world of microorganisms. Plants have many allies among the microorganisms but they also have many enemies. Therefore they have developed a sophisticated immune system to defend themselves against pathogens. Recent scientific research indicates that epigenetic mechanisms, such as DNA and RNA methylation and histone modifications, directly participate in the immune memory of plants.

## Co to jest epigenetyka?

Przedrostek ‘*epi*’ pochodzi z języka greckiego (gr. *ἐπι*) i oznacza „poza czymś”, „w dodatku do czegoś”. Początki epigenetyki sięgają czasu, gdy kilkanaście lat po odkryciu 5-metylocytozyny (w 1904 r.) kolejne badania (w 1925 r.) zidentyfikowały tę cząsteczkę w DNA [4]. Odkrycie to zmieniło stan wiedzy na temat jego budowy (poznano kolejną pirymidynę wchodzącą w skład kwasów nukleinowych), dając także początek badaniom nad 5-metylocytozyną – sposobem jej powstawania i funkcją, jaką pełni w DNA. Niemniej jednak najważniejsze dla rozwoju epigenetyki były badania Conrada H. Waddingtona. Ten brytyjski naukowiec, zajmujący się biologią rozwoju, genetyką i embriologią, w swojej książce wydanej w 1939 r., za przyczyną swoich badań jako pierwszy użył określenia ‘epigenetyka’ w znaczeniu, jakie rozumiemy obecnie [8]. Waddington zaobserwował, że komórki embrionalne różnicują się w funkcjonalnie różne tkanki, pomimo że każda komórka ma ten sam zestaw chromosomów, czyli posiada identyczny materiał genetyczny. Ponadto doskonale rozumiał, że dziedziczenie i rozwój stanowią tę samą problematykę badawczą i postulował, żeby badano te zagadnienia pod jedną dyscypliną naukową, proponując dla niej nazwę – epigenetyka. Tym samym Waddington, jako jeden z pierwszych, podjął temat interdyscyplinarności nauk biologicznych, co w owych czasach nie było doceniane i pozytywnie postrzegane. Obecnie rozumiemy, że podejście angażujące w rozwiązanie problemu badawczego różne dyscypliny jest kluczowe dla dokładnego zrozumienia skomplikowanych procesów biologicznych zachodzących w organizmach żywych.

Odkrycie modyfikacji epigenetycznych DNA i związanych z DNA białek chromatyny miało bardzo duże znaczenie naukowe, ponieważ pokazało nowe kierunki badań i znacznie poszerzyło perspektywy biologii eksperymentalnej. Po badaniach C.H. Waddingtona zainteresowano się bardziej epigenetyką za przyczyną badań Barbary McClintock, zajmującej się cytogenetyką. Badania, które McClintock prowadziła w latach 40. i 50. XX w. na Uniwersytecie Cornella w USA, dotyczyły zjawiska transpozycji<sup>1</sup>. Prof. McClintock dowiodła wtedy, że mechanizm włączania i wyciszania genów odpowiedzialny jest także za cechy fizyczne organizmu, a nie tylko za procesy genetyczne wewnątrz jądra komórkowego. Jednak w pełni zrozumiano i doceniono znaczenie tych badań dopiero w latach 70. XX w., gdy pojawiły się pierwsze naukowe sugestie, że modyfikacje epigenetyczne mogą mieć wpływ na ekspresję genów<sup>2</sup>. Potwierdzono

wtedy mechanizmy zmian genetycznych i regulacji genetycznej, o których mówiła McClintock. Obecnie wiadomo już dokładnie, że procesy epigenetyczne mają wpływ na określanie, które geny będą w danym czasie aktywne, a które nie, oraz jakie funkcje będzie pełnił komórka i jak będzie rozwijał się dany organizm. Było to fascynujące odkrycie, które zupełnie odmieniło pogląd naukowców na temat zmienności organizmów i dziedziczenia. Z postępowaniem badań okazało się, że geny nie są jedynym czynnikiem determinującym dziedziczenie i zmienność cech oraz rozwój organizmów. Epigenetyka pokazała, że drugim bardzo ważnym stymulatorem jest środowisko, w którym organizmy żyją. Dotyczy to zarówno królestwa roślin (*Plantae*), jak i zwierząt (*Animalia*).

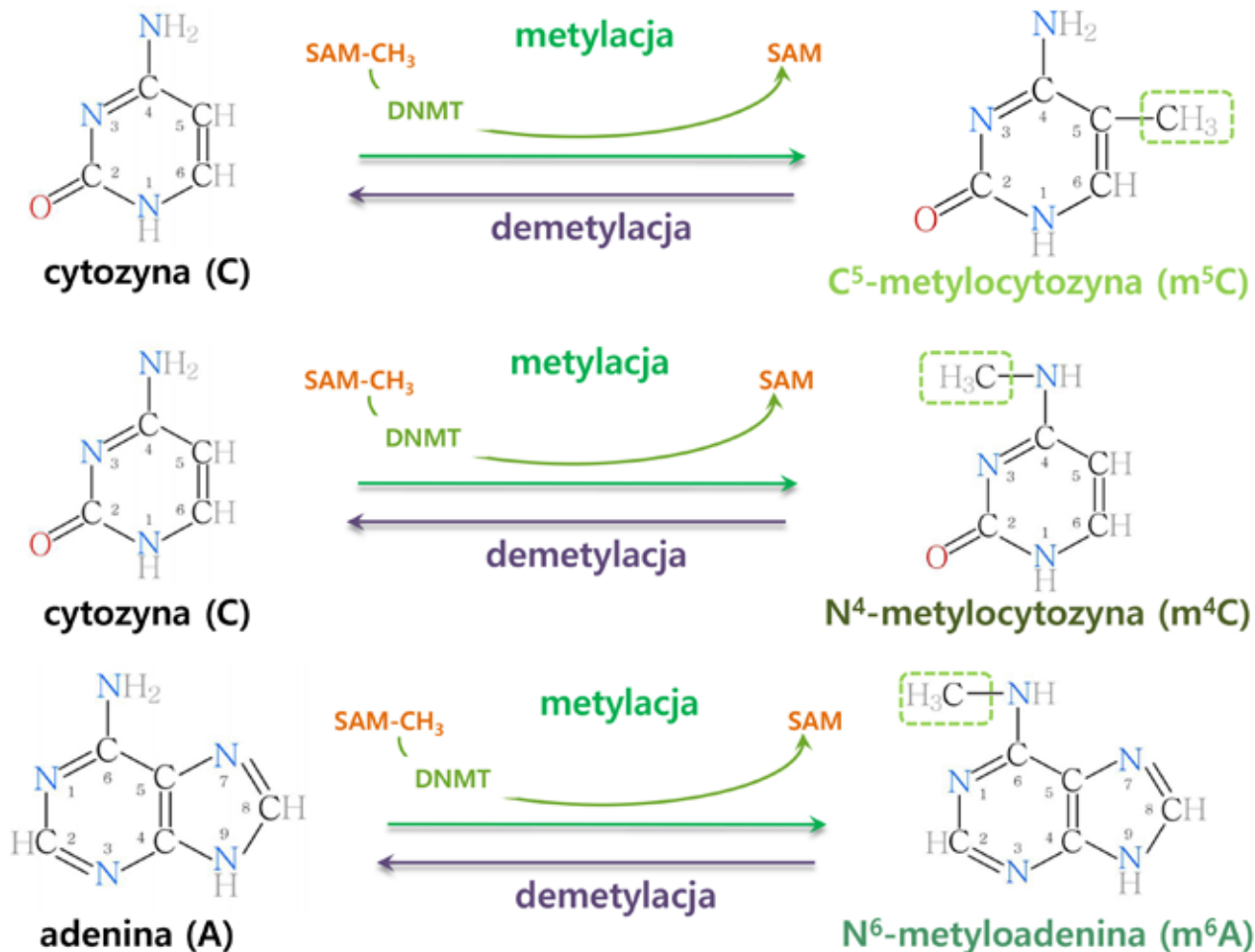
Dziś, zgodnie z najnowszym stanem wiedzy, ‘epigenetyka’ oznacza naukę zajmującą się badaniem modyfikacji zachodzących w genomie, które regulują poziom ekspresji genów, bez uprzednich zmian w sekwencji nukleotydów. Modyfikacje epigenetyczne są stabilnymi, odwracalnymi zmianami w DNA lub histonach, które mogą podlegać dziedziczeniu, ale też są zależne od bodźców zewnętrznych (np. środowisko, starzenie się organizmu).

Najlepiej obecnie poznaną modyfikacją epigenetyczną związaną z regulacją ekspresji genów jest metylacja DNA (Ryc. 1). Inne to przebudowa chromatyny za pomocą białek z nią związanych, modyfikacje histonów (Ryc. 2), interferencja RNA (Ryc. 3) i regulacja przez niekodujący RNA (ncRNA), nazywany inaczej RNA regulatorowym. Modyfikacje DNA i białek histonowych remodelują chromatynę, czyli zmieniają jej strukturę, co powoduje między innymi zmianę aktywności genów i transpozonów oraz pomaga w naprawie DNA. Zmiany w sposobie upakowania DNA dają możliwość kontroli jego odczytywania. Właśnie fakt, że modyfikacje epigenetyczne mogą kontrolować genom organizmów eukariotycznych był przełomowy. Okazało się wtedy, że epigenetyka odgrywa bardzo ważną rolę w utrzymaniu stabilności genomu i bierze udział w decydujących procesach biologicznych.

**METYLACJA DNA** to poreplikacyjna, enzymatyczna modyfikacja DNA. Modyfikacja ta jest jedną z najtrwalszych i prowadzi do wyciszenia ekspresji genów. Jest to proces kowalencyjnego przyłączenia tzw. grup metylowych (jeden atom węgla połączony z trzema atomami wodoru,  $-CH_3$ ) do zasad azotowych nukleotydów (cytozyny i adeniny). U wyższych *Eukaryota* grupy metylowe przyłączają się do atomu węgla znajdującego się w pozycji piątej pierścienia cytozyny podwójnej helisy DNA, tworząc

C<sup>5</sup>-metylocytozynę (m<sup>5</sup>C) (Ryc. 1). Mogą także przyłączyć się do grupy aminowej cytozyny (N<sup>4</sup>, m<sup>4</sup>C) (Ryc. 1). U części roślin wyższych jako efekt metylacji powstaje także N<sup>6</sup>-metyloadenina (m<sup>6</sup>A) [6] (Ryc. 1).

(AdoHcy) oraz metylowane DNA. Do metylotransferaz zalicza się: **DNMT1** (katalizuje on 97–99,9% procesu metylacji zachodzącego podczas mitozy), **DNMT2**, którego nazwa została zmieniona na



Ryc. 1. Wzory strukturalne zasad azotowych nukleotydów i proces metylacji oraz demetylacji.

Adenina (ADE lub A) - zasada azotowa z grupy puryn, która za pomocą dwóch wiązań wodorowych w dwuniciowych kwasach nukleinowych tworzy parę komplementarną z tyminą (THY lub T w DNA) albo z uracylem (URA lub U w RNA). Cytozyna (CYT lub C) - zasada azotowa, pochodna pirymidyny, tworząca za pomocą trzech wiązań wodorowych w dwuniciowych kwasach nukleinowych parę komplementarną z guaniną (GUA lub G). W metylacji donorem najczęściej jest S-adenozyl-L-metionina (SAM), a cały proces katalizowany jest przez enzymy o nazwie metylotransferazy DNA (DNMT), cytozyno- i adeninospecyficzne. Przenoszą one grupy metylowe na odpowiednie pozycje w pierścieniach zasad azotowych: do węgla (na pozycję 5 pierścienia cytozyny) oraz do grup aminowych (na pozycję 4 pierścienia cytozyny i na pozycję 6 pierścienia adeniny). Metylacja ma głównie na celu transkrypcyjne wyciszenie genów, to znaczy zatrzymanie procesu transkrypcji niektórych obszarów DNA.

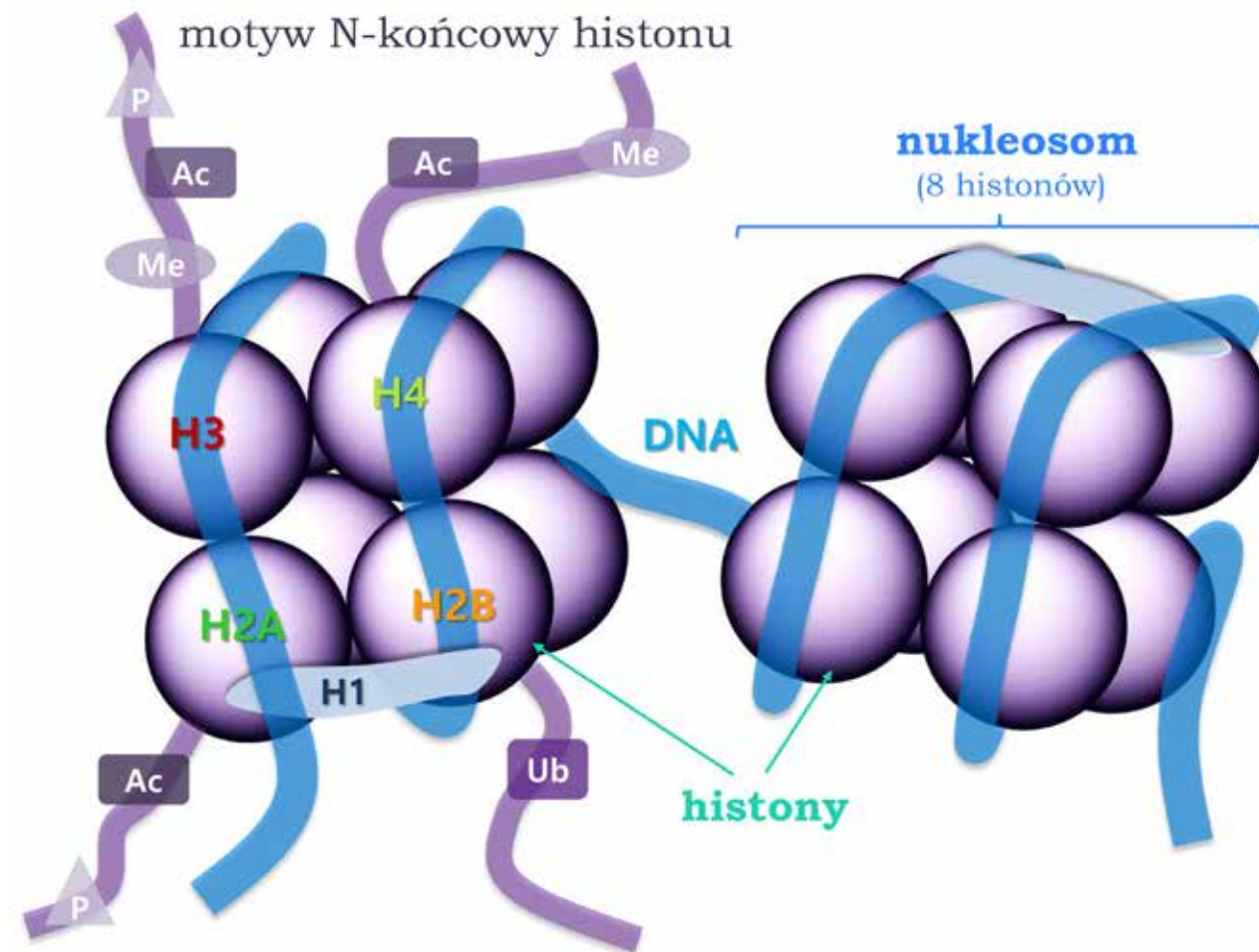
Metylacja u ssaków zachodzi głównie na nukleotydzie cytozyny w miejscu CpG i jest katalizowana przez DNA-metylotransferazy (DNMT, ang. *DNA methyltransferase*), rodzinę enzymów przenoszącą grupy metylowe pomiędzy donorem i akceptorem [5]. Jako donor grupy metylowej metylotransferazy wykorzystują S-adenozyl-L-metioninę (AdoMet), która następnie przyłączana jest do węgla (C<sup>5</sup>) w pierścieniu pirymidynowym cytozyny lub do grupy amidowej adeniny lub cytozyny. Produktami tej reakcji jest S-adenozyl-L-homocysteina

(RNMT2) – metylotransferaza tRNA kwasu asparaginowego 1 (nazwę zmieniono po odkryciu, że enzym DNMT2 metyluje pozycję 38 w RNA przenoszącym kwas asparaginowy i nie metyluje DNA; nie ma on właściwości katalitycznych) oraz enzymy **DNMT3**, w których skład wchodzi DNMT3a, 3b i 3L (metylotransferaza DNMT3L jest niekatalityczna, ale zwiększa powinowactwo pozostałych metylotransferaz do DNA, ulega ekspresji podczas gametogenezy, kiedy ma miejsce imprinting genomowy (metylacja genów i modyfikacja histonów

w komórkach jajowych i plemnikach); DNMT3a i DNMT3b są odpowiedzialne za metylację *de novo*).

Metylotransferazy DNA u eukariotów ogólnie są związane z wieloma ważnymi mechanizmami funk-

ekspresji podlegają tylko niektóre geny, tzw. *house-keeping genes*, które zapewniają podstawowe funkcje życiowe. Natomiast pozostałe geny są regulowane na drodze acetylacji i deacetylacji białek histono-



Ryc. 2. Modyfikacja histonów.

HISTONY to białka, które organizują informację genetyczną i chronią ją. Dzięki nim możliwa jest replikacja DNA, transkrypcja czy naprawa genomu. Białka histonowe potrafią regulować sposób owijania wokół siebie konkretnych fragmentów nici DNA. Modyfikacje odbywają się m.in. poprzez acetylację (Ac), metylację (Me), ubikwitynację (Ub), fosforylację (P) oraz sumoilację (SUMO) histonów, prowadząc za każdym razem do zmian w strukturze chromatyny. Nici DNA owijają się dookoła czterech podwójnie występujących histonów (H2A, H2B, H3, H4). Tworzą one rdzeń nukleosomu, natomiast kolejny histon, H1 (histon łącznikowy), znajdujący się na początku całego rdzenia, spina DNA wchodzące i schodzące z nukleosomu, stabilizując w ten sposób całą strukturę chromatysomu (nukleosom i histon H1). Motyw N-aminokońcowy jest miejscem, w którym dochodzi do modyfikacji potranslacyjnych (acetylacji (Ac), metylacji (Me) itd.). Dzięki acetylacji histonów możliwe jest zrealizowanie genetycznie zaprojektowanego programu rozwoju rośliny, a także reagowanie przez roślinę na wpływ środowiska.

cjonowania komórki. Oprócz udziału w modyfikacjach regulujących ekspresję genów, metylotransferazy biorą udział w zachowaniu integralności genomu, imprintingu genomowym, ochronie przed ruchomymi elementami genetycznymi oraz inaktywacji chromosomu X i kancerogenezie. Metylacja jest procesem, który warunkuje różnicowanie się komórek. Umożliwia jednocześnie specjalizację komórek i przekazanie uniwersalnej informacji genetycznej, co związane jest między innymi z procesem embriogenezy. Stałej

wych. Te mechanizmy pomagają metylacji wpływać na strukturę chromatyny. Metylacja DNA zmniejsza także ekspresję genów wirusowych i innych szkodliwych dla gospodarza cząsteczek.

U roślin metylacja DNA zachodzi we wszystkich kontekstach sekwencji CpG, CpHpG i CpHpH, gdzie H reprezentuje dowolny nukleotyd poza guaniną (A, T lub C). U roślin istnieją dwie klasy metylotransferaz DNA: podtrzymująca metylację DNA, która rozpoznaje znaki metylacji na nici rodzicielskiej DNA



i przenosi nową metylację na nici potomne po replikacji DNA oraz metylująca DNA *de novo* [9]. Za metylację DNA u roślin odpowiadają głównie enzymy: **MET1** (ang. *methyltransferase 1*), **CMT3** (ang. *chromomethylase 3*), oraz **DRM2** (ang. *domains rearranged methylase 2*). DRM jest jedynym enzymem odpowiedzialnym za metylację *de novo* [9]. Białka DRM2 i MET1 mają znaczącą homologię z metylotransferazami ssaków (DNMT3 i DNMT1), białko CMT3 jest unikalne dla królestwa roślin. U roślin metylacja DNA jest ważną modyfikacją epigenetyczną zaangażowaną w regulację wielu procesów biologicznych, w tym w regulację rozwoju rośliny, dojrzewania owoców czy metabolizmu wtórnego. Metylacja i demetylacja roślinnego DNA jest także ściśle związana z odpowiedzią na różnego rodzaju stres abiotyczny (środowiskowy), taki jak: zimno, susza, upał, metale ciężkie czy stres ultrafioletowy [9].

Proces metylacji DNA ma bardzo duże znaczenie w regulacji genów, zarówno u roślin, jak i u zwierząt, w tym człowieka, co znaczy, że jest jednym z ważniejszych procesów kontrolujących informację genetyczną.

U człowieka nić DNA zawarta w niemal każdej komórce ciała to ponad 3 mld par zasad (bp), a tym samym długość ludzkiego DNA w jądrze komórkowym wynosi ok. 180 cm. Rośliny okrytonasienne pod tym względem są bardzo zróżnicowane: ryż siewny *Oryza sativa* – 389 mln bp, pszenica zwyczajna *Triticum aestivum* – 15 966 mld bp. Skompresowanie prawie dwumetrowego ludzkiego DNA w niewidocznej dla oka strukturze, jaką jest komórka, możliwe jest dzięki histonom. HISTONY to zasadowe białka wchodzące w skład chromatyny i pełniące w jądrze komórkowym rolę szpilek do nawijania nici DNA. Organizują informację genetyczną i chronią ją, czyniąc dostępną dla replikacji DNA, transkrypcji lub naprawy genomu, zgodnie z programem rozwojowym organizmu, jak i pod wpływem bodźców zewnętrznych. Histony zawierają dużo aminokwasów zasadowych, zwłaszcza lizyny i argininy, które neutralizują kwasowy charakter chromatyny. Wyróżnia się 5 typów histonów – H1, H2A, H2B, H3 oraz H4 (Rys. 2). Histony H1, H2A oraz H2B są szczególnie bogate w lizynę, natomiast histony H3 i H4 są bogate w argininę. Najbardziej zmienny spośród histonów jest H1, a najbardziej konserwatywne są histony H3 i H4. Domeny globularne histonów tworzą rdzeń – oktamer histonowy, na który nawinięty jest DNA. W odróżnieniu od najbardziej konserwatywnej części globularnej histonu, nieustrukturyzowane N-aminowe i C-karboksylowe (w przypadku H2A i H2B) końce histonów wystają poza strukturę nukleosomu i nazywane są

ogonami. Ogony histonów podlegają różnym modyfikacjom potranslacyjnym.

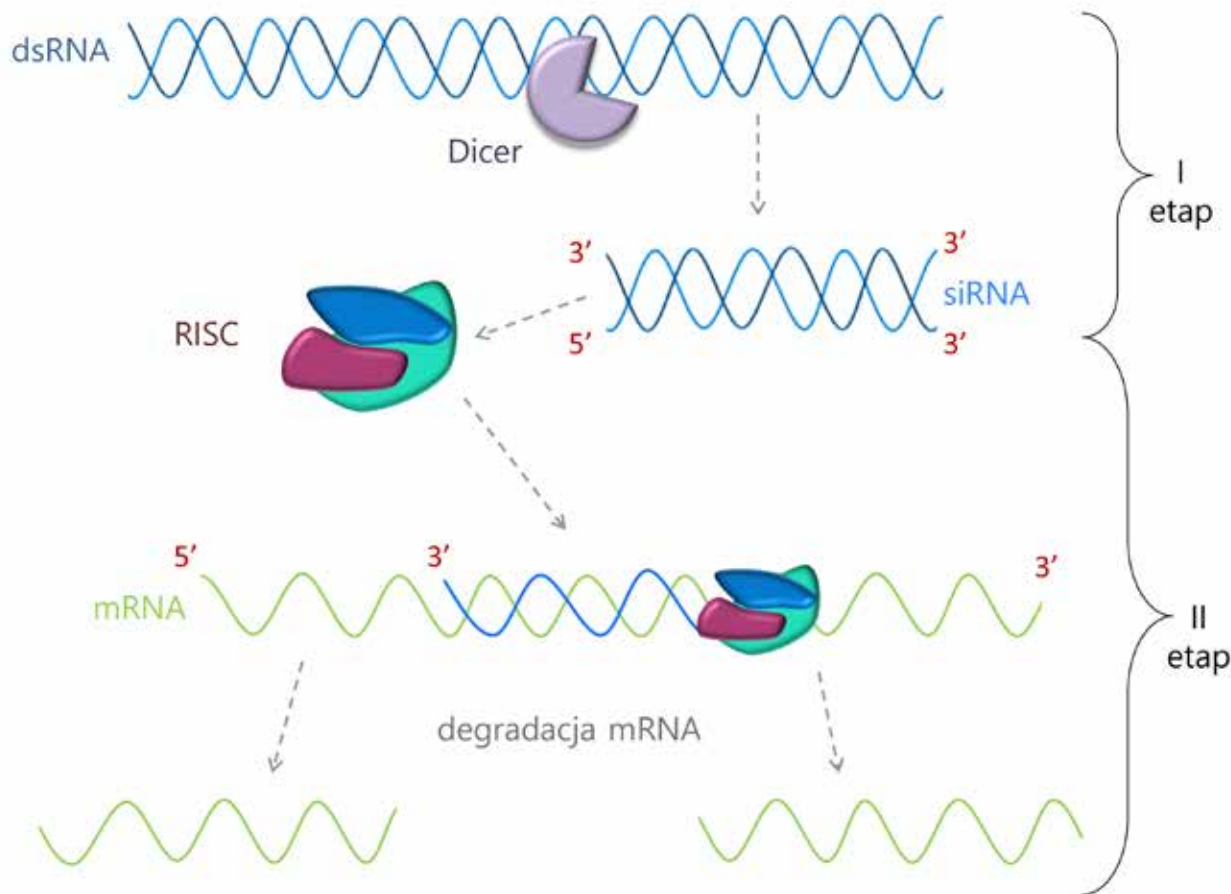
**MODYFIKACJE HISTONÓW** rdzeniowych związane są ściśle z ich funkcją, ponieważ białka potrafią regulować sposób owijania wokół siebie konkretnych fragmentów nici DNA (genów). Histony nie są do siebie podobne, dlatego też aktywność DNA modulowana jest poprzez rodzaj histonów uczestniczących w procesie modyfikacji. Niektóre z histonów pozwalają na transkrypcję, inne natomiast ułatwiają upakowanie chromatyny. Modyfikacje mogą polegać na przyłączeniu niewielkich grup, takich jak reszta metylowa – **metylacja**<sup>3</sup> (**Me**), reszta acetylowa – **acetylowanie**<sup>4</sup> (**Ac**) czy reszta fosforanowa – **fosforylowanie**<sup>5</sup> (**P**) oraz na przyłączeniu dużych cząsteczek, jak w przypadku **ubikwitynacji**<sup>6</sup> (**Ub**) i **sumoilacji**<sup>7</sup> (**SUMO**). Inne modyfikacje to: rybozylacja ADP, deiminacja – zamiana argininy na cytrulinę, izomeryzacja prolina, biotynylacja i krotonylacja. Modyfikacje te prowadzą do zmian w ułożeniu chromatyny. Typy modyfikacji mogą być związane z różnymi stanami transkrypcji, w zależności od konkretnego aminokwasu modyfikowanego histonu. Acetylowanie, metylacja, fosforylowanie i ubikwitynacja są związane z aktywnością transkrypcyjną genów. Metylowanie, ubikwitynacja, sumoilacja, deiminacja i izomeryzacja prolina związane są z represją genów. Znanych jest ponad 120 miejsc modyfikacji i cały czas odkrywano kolejne. Badania dowodzą również, że modyfikacjom może ulegać także histon łącznikowy oraz inne białka chromatyny. Większość modyfikacji histonowych jest odwracalna i może oddziaływać na siebie wzajemnie.

Kolejny mechanizm epigenetyczny zidentyfikowany w transkryptomie wielu *Eukariota*, w tym także u człowieka oraz u roślin, jest oparty o działanie **mikroRNA (miRNA)**. Regulacja ekspresji genów jest bardzo ważnym procesem zapewniającym organizmowi prawidłowy rozwój, a regulacja ekspresji poprzez krótkie cząsteczki miRNA odgrywa w tym wszystkim znaczącą rolę. MikroRNA to grupa szeroko rozgałęziona filogenetycznie, zaliczająca się do RNA niekodującego (ncRNA, ang. *non-codingRNA*), czyli takiego, które nie jest matrycą do syntezy białek. Niekodujące RNA reguluje różne procesy komórkowe. Do ncRNA zalicza się, patrząc na długość oligomeru (we frakcji RNA regulatorowych): grupę małych RNA (sRNA), o długości 100–200 nukleotydów – regulujących translację u bakterii oraz grupę długich RNA (lncRNA), o długości powyżej 10000 nt – zaangażowaną w blokowanie ekspresji genów u wyższych eukariontów. Klasa 21-, 25-nukleotydowych miRNA pełni rolę regulatorów prawidłowego procesu rozwo-

ju roślin i zwierząt, regulując potranskrypcyjnie ekspresję genów.

Jedna cząsteczka miRNA może regulować ekspresję nawet stu różnych genów i odwrotnie, ekspresja jednego genu może być regulowana przez kilka czą-

cych, daje powód do myślenia, iż pierwsze miRNA mogły pojawić się na tym etapie ewolucji, w którym kształtowały się złożone organizmy wielokomórkowe. Obecnie zidentyfikowano w komórkach roślin i zwierząt około 300 różnych miRNA.



Ryc. 3. INTERFERENCJA RNA (RNAi, ang. *RNA interference*).

RNAi to epigenetyczny mechanizm i system regulacji pracy genów. Szeroko rozpowszechniony wśród organizmów, także u roślin. Interferencja RNA jest mechanizmem obronnym przeciwko obcemu dsRNA. Długie dwuniciowe łańcuchy – dsRNA – rozcinane są przez enzym z rodziny rybonukleaz III (RNaz III) o nazwie Dicer (etap I). Tak powstają siRNA, czyli dwuniciowe krótkie interferujące RNA. Mają one ufosforylowane końce 5' i dwa wolne nukleotydy na końcach 3'. Następnie siRNA wiązane są do kompleksu wyciszającego RISC, którego rozwijanie katalizuje endonukleaza Argonaute 2 (Ago2). Kompleks wielobiałkowy RISC, związany z nicią antysensowną siRNA poprzez przyłączenie komplementarnego fragmentu docelowego mRNA, powoduje degradację informacyjnego RNA (mRNA). Dzieje się to z pomocą endo- i egz nukleaz. Dochodzi tym samym do zablokowania ekspresji genów (etap II). Aby wyłączyć gen należy przeszkodzić cząsteczce pośredniczącej w przepływie informacji. Dlatego w interferencji RNA dochodzi do zniszczenia mRNA. Proces RNAi jest zaangażowany w ochronę genomu przed wirusami, transpozonomi, ekspansją sekwencji powtarzających się i innych, które mogą zakłócić stabilność genetyczną komórki. Dzięki acetytacji histonów możliwe jest zrealizowanie genetycznie zaprojektowanego programu rozwoju rośliny, a także reagowanie przez roślinę na wpływ środowiska.

steczek miRNA. MikroRNA odgrywają kluczową rolę w regulacji m.in. proliferacji, różnicowaniu komórek czy apoptozie. Możliwe jest, że działanie zarówno roślinnych, jak i zwierzęcych miRNA wynika z połączenia procesów degradacji i represji (blokowania), których odpowiedni układ prawdopodobnie różni się w zależności od stopnia komplementarności miRNA z docelowym. Występowanie miRNA w komórkach, zarówno roślinnych, jak i zwierzę-

**INTERFERENCJA RNA (RNAi)** to kolejna modyfikacja epigenetyczna związana z potranskrypcyjną regulacją genów [1]. Mechanizm RNAi polega na indukowaniu degradacji mRNA oraz na blokowaniu przez krótkie, niekodujące cząsteczki RNA, jego translacji. RNAi to seria procesów komórkowych z udziałem dwuniciowego RNA (dsRNA, ang. *double stranded RNA*), powodującego degradację homologicznych cząsteczek RNA. Na etapie inicjacji

enzymy typu RNazy III tną dsRNA na 19-, 23-nukleotydy krótkie interferencyjne RNA (siRNA, ang. *small interfering RNA*). siRNA są podobne do miRNA pod względem wielkości, ale w odróżnieniu od siRNA są cząsteczkami jednoniciowymi. Pod względem struktury i funkcji obie cząsteczki różnią się między sobą w wielu aspektach, lecz dla obu takie same są mechanizmy enzymatyczne, prowadzące do ich powstania. Zjawisko RNAi jest procesem indukowanym tylko przez dsRNA. Cząsteczki siRNA poprzez połączenie z informacyjnym RNA (mRNA, ang. *messenger RNA*) niszczą informację genetyczną zawartą w mRNA zanim dojdzie ona do rybosomów. Proces ten dzieli się na 2 etapy (Ryc. 3). W etapie efektorowym siRNA staje się częścią wielobiałkowego kompleksu RISC (ang. *RNA-induced silencing complex*). Prowadzi to do zablokowania ekspresji genów. Proces interferencji RNA odgrywa bardzo ważną rolę w prawidłowym funkcjonowaniu każdej komórki, a co za tym idzie w funkcjonowaniu również całego organizmu. Interferencję RNA zaobserwowano u zwierząt i niektórych gatunków grzybów oraz u roślin. Proces ten jest zaangażowany w ochronę genomu przed wirusami, transpozonomi czy ekspansją sekwencji powtarzających się lub innych aberacyjnych endo- oraz egzogennych dsRNA, które mogą zakłócić stabilność genetyczną komórki, jak również współuczestniczy w regulacji ontogenezy.

W medycynie człowieka, dzięki poznaniu mechanizmu RNAi, technologia siRNA została zastosowana np. jako technika wyciszania genów w celu poznania ich funkcji, jako część terapii genowej w leczeniu chorób neurodegeneracyjnych i infekcyjnych oraz w leczeniu nowotworów poprzez wyciszanie genów prowadzących do nadmiernej proliferacji komórek nowotworowych, czy też w terapii niektórych chorób (np. zwyrodnienie plamki żółtej, mukowiscydozie i in.) [3]. Stosowanie technologii siRNA jest obciążone także pewnymi wadami. Nie ma skutecznie oponowanej procedury dostarczania siRNA do ludzkich komórek. Drugą sprawą jest wyciszenie genów, które u człowieka jest przejściowe (problemu tego nie ma u roślin i nicieni).

### Modyfikacje epigenetyczne u roślin

#### Pamięć immunologiczna roślin – obrona przed patogenami

Rośliny to bardzo specyficzne organizmy, które charakteryzują się wyjątkowymi umiejętnościami, by maksymalnie wykorzystać własny potencjał. Jest to ściśle związane z faktem, że rośliny są niemobilne, żyją przez cały swój czas w jednym

miejscu. Większość roślin nie ma szansy na przemieszczanie się przez całe swoje dorosłe życie. Z chwilą, gdy kiełkujące rośliny wytworzą korzenie, ich dalszy rozwój determinowany jest warunkami środowiska miejsca, w którym wyrosły. Nie mogą zmienić tego miejsca, gdy warunki staną się niekorzystne. Ich jedyną możliwością na prawidłowy rozwój jest maksymalne wykorzystanie swoich umiejętności przystosowania się, aby stworzyć dla siebie idealne miejsce do życia. Epigenetyczne modyfikacje ekspresji genów u roślin są bezpośrednio skoordynowane z metabolizmem pierwotnym, który reguluje ich wzrost i rozwój. W tym kontekście badania modyfikacji epigenetycznych u roślin są niezwykle ciekawe. Rośliny są interesującym obiektem badań z uwagi na niesamowitą pomysłowość w epigenetycznej odpowiedzi na bodźce dochodzące ze środowiska. Dlatego też regulacja ekspresji genów oparta na modyfikacji chromatyny w interakcji ze środowiskiem jest dla roślin bardzo ważna. W związku z tym rośliny stworzyły szereg wyjątkowo skomplikowanych mechanizmów epigenetycznych do kontroli i regulacji genomu. Warto wspomnieć choćby o kilku.

Metylacja DNA, lncRNA (ang. *long non-coding RNA*) czy sRNA (ang. *small RNA*) oraz modyfikacje histonów odgrywają znaczącą rolę w regulacji transkrypcji u eukariontów, co jest związane z obroną immunologiczną roślin i działaniem na różne aspekty odporności. Potwierdzają to wieloletnie badania naukowe na roślinach modelowych, takich jak np. rzodkiewnik pospolity *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh., gatunek rośliny zielnej należący do rodziny kapustowatych [7].

Jak wspomniano wcześniej, proces metylacji DNA ma fundamentalne znaczenie w regulacji genów u roślin. U wielu gatunków roślin zmiany w poziomie metylacji specyficznych sekwencji DNA są indukowane przez stres biotyczny i abiotyczny, powodując zmienioną ekspresję genów związanych z obroną, adaptacją i odpowiedzią na stres. Metylacja ma głównie na celu transkrypcyjne wyciszenie genów, to znaczy zatrzymanie procesu transkrypcji niektórych obszarów DNA. W wyizolowanym DNA roślin znaleziono N<sup>6</sup>-metyloadeninę (m<sup>6</sup>A) i wykazano, że u tych roślin mitochondria zawierają DNA-metylotransferazę adeninową (enzym występujący w obecności m<sup>6</sup>A) [6], brak natomiast DNA-metylotransferazy cytozynowej. Ponadto badania wykazały, że modyfikacja m<sup>6</sup>A jest również ważną cechą mRNA u roślin i odgrywa ona krytyczną rolę regulacyjną w rozwoju roślin [6]. Jedną z ważniejszych funkcji jest jej wpływ na wirusy. Odkryto, że maszyna



m<sup>6</sup>A modyfikuje wirusowe genomy RNA kilku wirusów zwierzęcych należących do rodziny *Flaviviridae*, (wirusy o skłonności do wywoływania żółtego zabarwienia ciała), tym samym przeciwdziałając infekcji [6].

Kolejnym mechanizmem kontroli i regulacji genu jest acetylacja. Dzięki acetylacji histonów możliwe jest, by genetycznie zaprojektowany program rozwoju rośliny został zrealizowany, a także możliwe jest reagowanie przez roślinę na wpływ środowiska. Regulacja ekspresji genów w ten sposób rozpoczyna się już w nasionach (w trakcie ich dojrzewania, spoczynku, kiełkowania i embriogenezy), dalej jest kontynuowana podczas rozwoju wegetatywnego, a także w fazie wzrostu i kwitnienia (w regulacji rozwoju kwiatów, gametogenezy i czasu kwitnienia). Z drugiej strony pośredniczy także w odpowiedzi na stres biotyczny i abiotyczny oraz w naprawie DNA. Do najsilniejszych regulatorów acetylacji histonów należy światło, powodując tym samym zmiany w poziomie ekspresji genów. Efektem jest morfologiczna odpowiedź roślin na światło.

Na podstawie badań tylko nad jedną rośliną modelową (*Arabidopsis thaliana*) stwierdzono istnienie ponad 100 różnych miRNA. Wiadomo, że wiele z nich występuje także u wielu innych gatunków reprezentujących świat roślin, np. w ryżu (*Oryza sp. L.*), kukurydzy (*Zea mays L.*) czy tytoniu (*Nicotiana sp. L.*). Dojrzałe miRNA roślinne wykrywane są zarówno we frakcjach komórek jądrowych, jak i cytoplazmatycznych. Najnowsze badania wykazały, że metylacja m<sup>6</sup>A (metylacja adenozyne) wpływa na biogenezę mikroRNA u roślin [2]. Metylacja m<sup>6</sup>A konieczna jest by utrzymać w komórce odpowiedni poziom miRNA i jego prekursorów oraz wpływa na sygnalizację hormonalną (auksynową). Ponadto miRNA jest również związany z regulacją poziomów kamaleksyny i glukozyzolanów, będących metabolitami wtórnymi o znaczącej roli, którą pełnią w obronie *Arabidopsis*. Kilka innych miRNA kojarzonych jest z odpornością w różnych gatunkach roślin, gdzie ich rola sięga m.in. regulacji poziomów auksyny, odkładania kalozy (substancja chemiczna wydzielana w miejscach zranienia rośliny) i ekspresji genów oraz wytwarzania reaktywnych form tlenu, ROS (ang. *reactive oxygen species*). Badania pokazują, że mikroRNA roślin i zwierząt nie są identyczne ewolucyjnie, pomimo iż wykazują wiele wspólnych cech charakterystycznych.

Procesy epigenetyczne są dziedziczne. Niemniej jednak informacja, jaką niosą ze sobą modyfikacje epigenetyczne, jest również odwracalna i może zmieniać się w czasie. Konkretna cecha może zaniknąć w dalszych pokoleniach pomimo tego,

że została odziedziczona przez potomstwo czy dzieci potomstwa. Dzieje się tak ponieważ zmiana metylacji DNA zostaje wymazana w trakcie reprogramowania epigenetycznego<sup>8</sup>. Przekazywanie cech pomiędzy pokoleniami w krótkiej perspektywie nazywane jest dziedziczością wewnątrzpokoleniową. Nie jest to dziedziczenie *sensu stricto* genetyczne (międzypokoleniowe) i aby odróżnić dziedziczenie genetyczne<sup>9</sup> od dziedziczości epigenetycznej potrzebna jest obserwacja wielu pokoleń. Jednak rośliny w pewien sposób poradziły sobie także z reprogramowaniem. Wiele gatunków roślin może rozmnażać się bezpłciowo i produkować klony wegetatywne, zapewniając możliwości dziedziczenia epigenetycznego w procesie mitozy.

Rośliny w naturalnym środowisku współistnieją w bardzo bliskiej i dynamicznej zależności z mikroorganizmami. W świecie mikroorganizmów jest wielu sprzymierzeńców roślin, ale i wielu wrogów. Dlatego do obrony przed patogenami rośliny stworzyły wyrafinowany w działaniu układ immunologiczny. Rośliny rozwinęły aktywne i precyzyjnie regulowane immunologiczne kaskady sygnalizacyjne, które prowadzą do serii odpowiedzi obronnych. Wynik tych złożonych interakcji jest czynnikiem decydującym o przeżyciu i zdolności do sprawnego funkcjonowania rośliny. Gdy roślina zidentyfikuje zewnętrzne wzorce molekularne atakujących je patogenów (tzw. MAMPs, ang. *microbe-associated molecular patterns*), wtedy następuje transdukcja sygnału prowadząca do szybkich reakcji obronnych. Dochodzi do aktywacji programów obronnych, określanych jako systemiczna odporność nabyta (tzw. SAR, ang. *systemic acquired resistance*). Następuje pobudzenie, przy którym układ obronny roślin zapamiętuje patogeny, które w przeszłości zaatakowały i zainfekowały roślinę. Rozpoznanie patogenu przez rośliny powoduje aktywację szlaków sygnałowych, które indukują reakcje obronne. Wzorce molekularne związane z patogenami (tzw. PAMPs, ang. *patogen-associated molecular patterns*) obejmują bardzo dobrze poznane fizjologiczne reakcje roślin, np. zamknięcie aparatów szparkowych w celu ograniczenia przenikania patogenów, wytwarzanie reaktywnych form tlenu (ROS, ang. *reactive oxygen species*) i tlenku azotu (NO, ang. *nitric oxide*), a także redukcję przenoszenia składników odżywczych z cytozolu (płynny składnik cytoplazmy, w którym znajdują się organelle) do apoplastu (przestrzeń utworzona przez ściany komórkowe, przestwory międzykomórkowe i światło elementów naczyniowych) oraz biosyntezę metabolitów antypatogenowych i biosyntezę hormonów obronnych. Kwas jasmonowy (JA, ang. *jasmonic acid*) i etylen



(ET, ang. *ethylene*) to hormony, które odgrywają kluczową rolę w obronie przed roślinożercami i patogenami nekrotroficznymi, czyli takimi, których rozwój zależy od występowania martwych tkanek gospodarza.

Co wspólnego ma z tym epigenetyka? Najnowsze badania naukowe wskazują, że mechanizmy epigenetyczne, takie jak metylacja DNA i RNA oraz modyfikacje histonów, poprzez możliwość dokonywania dynamicznych zmian stanu chromatyny bezpośrednio uczestniczą w pamięci immunologicznej roślin<sup>10</sup> [7].

Jeden z pierwszych dowodów na epigenomiczną (dotyczącą epigenomu) regulację odporności roślin pojawił się wraz z opisem kontroli wirulencji (skali zjadliwości) wirusów poprzez wyciszenie RNA. W odpowiedzi na wirusowe infekcje rośliny rozpoznają cząsteczki dwuniciowego wirusowego RNA (dsRNA) i degradują je (powstaje małe wirusowe RNA interferujące, vsiRNA, ang. *viral small interfering RNA*) poprzez enzymy takie jak DICER-LIKE (DCL)-2 i DCL4 (białka wymagane dla genu potranskrypcyjnego wyciszenia) [7]. Deregulacja transkrypcji prowadzi do znacznego zmniejszenia produkcji białka wirusowego, a to oznacza dla rośliny zwiększenie odporności. Jeszcze bardziej stabilnym procesem obrony przed wirusami okazał się inny mechanizm – transkrypcyjne wyciszenie genów TGS (ang. *transcriptional gene silencing*). Po raz pierwszy TGS zostało opisane podczas badań nad tytoniem (*Nicotiana sp. L.*) [7]. Proces, w którym zachodzi TGS, jest znany jako metylacja DNA zależna od RNA (RdDM, ang. *RNA-directed DNA methylation*). Z wielu naukowych doniesień wynika, że to właśnie rośliny wśród organizmów eukariotycznych opracowały najbardziej skomplikowaną, opartą na RNA regulację ekspresji genów. Aby bronić się przed obcymi kwasami nukleinowymi, wypracowały aż cztery różne ścieżki wyciszenia RNA [7]. Równie istotny jest fakt, że wirusy DNA są rzadkie wśród roślin, a wirusy jednoniciowe RNA (ssRNA, ang. *single-stranded RNA*) najbardziej rozpowszechnione. Odpowiedź immunologiczna na ataki wirusów jest często konsekwencją rozpoznawania związanych z wirusami wzorców molekularnych (VAMPs, ang. *virus-associated molecular patterns*). Takie działania obronne powodują skuteczne zniszczenie tych wirusów. Ostatnio wykazano, że metylacja RNA, szczególnie N<sup>6</sup>-metyloadenozyna (m<sup>6</sup>A), występuje w genomie bromowirusa zakażającego rzodkiewnika *Arabidopsis thaliana* [7]. Podobne zjawisko obserwowano wcześniej w komórkach zwierzęcych, gdzie metylacja m<sup>6</sup>A w genomach różnych flawiwirusów<sup>11</sup> wiązała się ze zmniejszeniem replikacji wirusa. Takie wyniki badań

sugerują istnienie epigenetycznego poziomu regulacji odporności wrodzonej, wspólnego dla tych odległych fizjologicznie gromad.

Badanie modyfikacji RNA po transkrypcji jest szczególnie nowym polem w biologii roślin i tylko kilka kompleksów białkowych biorących udział w tym procesie zostało określonych, co stwarza wyzwania i szanse na zrozumienie nowych mechanizmów regulujących odporność tych organizmów. Badania z użyciem gatunków modelowych, takich jak rzodkiewnik czy ryż (*Oryza sativa*), pokazały, że mutacja lub obniżenie szlaków metylacji DNA związane są z obroną immunologiczną i prowadzą do zwiększonej ekspresji genów oraz wyższej odporności na patogeny. Jako dodatkowy poziom złożoności sieci molekularnych zaangażowanych w regulację odporności, rośliny wykorzystują ncRNA związany z przeprogramowaniem transkrypcji, co ma miejsce podczas reakcji na stres. Wiadomo też, że kilka sRNA i lncRNA uczestniczy w transkrypcyjnym wyciszeniu genów, TGS oraz PTGS (ang. *posttranscriptional gene silencing*), regulując niektóre kluczowe aspekty obrony, a także równowagę hormonalną (miR393 był pierwszym sRNA zidentyfikowanym jako zaangażowany w odporność PTI<sup>12</sup> (ang. *PAMP-triggered immunity*), w którym obniża sygnalizację auksyny przez ujemną regulację receptorów tego hormonu) [7].

Postęp techniczny w zakresie metod sekwencjonowania pozwolił na zidentyfikowanie różnych lncRNA, które są w różny sposób indukowane w roślinach w odpowiedzi na specyficzne obciążenia. Cząsteczki te, o wartości ponad 200 nukleotydów, mogą wpływać na kilka procesów komórkowych, w tym TGS, miRNA, regulację transkrypcji genów kodujących białka cis i trans oraz modyfikację chromatyny na różnych poziomach. Jednakże, w przeciwieństwie do zwierząt, tylko kilka lncRNA zostało scharakteryzowanych funkcjonalnie u roślin. We wstępnych badaniach zidentyfikowano różne poliadenylowane lncRNA *Arabidopsis*. Dzięki podejściu do sekwencjonowania RNA specyficznego dla DNA, wykryto kilka lncRNA indukowanych w *Arabidopsis* w odpowiedzi na zakażenie grzybowym patogenem *Fusarium oxysporum* [10].

Także znaczenie ubikwitynacji histonów i przebudowy chromatyny w regulacji obrony w ostatnich latach stało się oczywiste. Mechanizmy te są jednak mniej zbadane w porównaniu z omawianymi powyżej modyfikacjami histonów. Wyniki badań pokazują, że monoubikwitynacja (przyłączenie monomerów ubikwityny do pojedynczej reszty lizyny) H2B (H2Bub1) jest niezbędna do ekspresji konkretnych genów w *Arabidopsis*, jak również do skutecznej

dynamiki mikrotubul w odpowiedzi na patogenny grzyb o nazwie *Verticillium dahliae* Kleb [7]. Dodatkowo wiadomo, że mutacja locus HUB1, kodując jedną z dwóch ligaz H2Bub1 *Arabidopsis*, prowadzi do zwiększonej wrażliwości na grzyby neurotroficzne. Ponadto ciekawe jest także to, że jeden rodzaj stresu może również pobudzać rośliny do kolejnego stresu: na przykład stwierdzono, że rzodkiewnik narażony na subletalne poziomy soli, zimna i ciepła jest bardziej odporny na zakażenie patogenami bakteryjnymi i charakteryzuje się dużym poziomem modyfikacji histonów i bardziej otwartym stanem chromatyny w różnych genach markerowych PTI [7]. Badania te jasno potwierdzają, jak ważne są modyfikacje epigenetyczne w obronie roślin.

### Dyscyplina naukowa XXI w.

Epigenetyka jest obecnie jedną z najważniejszych dyscyplin w dziedzinie genetyki roślin. Podejmowane badania nad modyfikacjami epigenetycznymi dają szerokie perspektywy, stanowią ciekawy aspekt w kontekście obrony oraz reagowania roślin na stres. Ich wyniki z pewnością wpłyną na poszerzenie naszej wiedzy. Modyfikacje epigenetyczne są ważnym mechanizmem biorącym udział w wielu bardzo różnych procesach (obrona jest tylko jednym z nich), bez którego życie roślin i zwierząt nie byłoby możliwe. Dowodem tego są kolejne doniesienia naukowe na temat funkcjonowania i znaczenia modyfikacji epigenetycznych w procesach zachodzących w jądrze komórkowym. Intensywne odkrywanie mechanizmów epigenetycznych na przełomie ostatnich kilkudziesięciu lat ukazuje nam nowe możliwości w wielu dziedzinach naszego życia. Ważną kwestią o praktycznym znaczeniu jest na przykład pytanie, czy konkretne zmiany epigenetyczne towarzyszyły udomowieniu roślin. Badania naukowe pokazują różnice w metylowaniu genów różnych gatunków dzikiej bawełny. Zmiany w metylacji między gatun-

kami mogły potencjalnie przyczynić się do cech ich udomowienia, wpływając m.in. na czas kwitnienia i spoczynek nasion. Takie informacje, uzyskane przy udziale inżynierii epigenetycznej, otwierają nowe możliwości hodowli na przykład roślin poliploidalnych. Rośliny poliploidalne posiadają więcej niż dwa kompletne zestawy chromosomów, co ma związek z ich zewnętrznymi cechami i wykorzystywane jest do zwiększenia atrakcyjności roślin np. jako produktu spożywczego – rośliny te są większe, lepszej jakości, są bardziej żywotne i odporne, dają obfitsze plony. Sterylność triploidów (roślin z potrójnym zestawem chromosomów) jest na przykład przydatna przy produkcji owoców beznasiennych, takich jak ogórki, winogrona czy mandarynki. Zrozumienie modyfikacji epigenetycznych u roślin oraz opracowywanie nowych technik ich wykorzystania daje korzyści zarówno hodowcom, jak i producentom oraz konsumentom. Obecne poznawanie modyfikacji, szczególnie w całym genomie roślinnym, możliwe stało się dzięki odkryciu i zastosowaniu najnowszej technologii, tzw. sekwencjonowania następnej generacji (NGS, ang. *Next Generation Sequencing*), która otwiera przed nami kolejne drzwi i nowe możliwości.

Jesteśmy świadkami ogromnego postępu, jaki dokonuje się od poznania pierwszych procesów epigenetycznych. Kolejne etapy odkrywania epigenetyki otwierają coraz szersze pole badań i pomagają sięgać po następne, bardziej innowacyjne rozwiązania, ukazując nam przy tym nie tylko interesujące zjawiska natury, ale także ciekawą perspektywę przyszłości. Dotyczy to ważnych obszarów życia, zarówno gospodarczo, jak i ekonomicznie, m.in. hodowli roślin (np. uprawy) czy leśnictwa (np. nasiennictwo), a więc gałęzi, które mają wpływ na dużą część społeczeństwa i determinują nasze zasoby czy status. Musimy spełnić tylko jeden istotny warunek – dbać o naszą Planetę, byśmy tę atrakcyjną perspektywę mieli szansę poznać i doświadczyć efektów kolejnych przełomowych odkryć, które z pewnością na nas czekają.

### SŁOWNICZEK

<sup>1</sup> transpozycja – przemieszczanie się transpozonu na inną pozycję w genomie tej samej komórki. Transpozony – zmieniające pozycję w obrębie genomu sekwencje DNA – nazywane są inaczej skaczącymi genami (ang. *jumping genes*). Za badania nad transpozonami w nasionach kukurydzy, powodującymi zmiany w ich ubarwieniu, Barbara McClintock otrzymała Nagrodę Nobla.

<sup>2</sup> ekspresja genów – odczytanie i przepisanie informacji zawartej w genie, by na podstawie tej informacji wytworzyć odpowiedni produkt, np. konkretne białko czy RNA. Proces prowadzący od ekspresji genu kodującego białko aż do rozpoczęcia funkcjonowania białka zachodzi w kilkunastu etapach. Podobnie jest w przypadku RNA, ale etapy są inne. Ekspresja genu to proces złożony i wieloczynnikowy, który może być regulowany na każdym z etapów za pomocą wielu mechanizmów, np. poprzez: sekwencje regulatorowe genu, metylację DNA czy niekodujący RNA (powoduje np. inaktywację chromosomu X).

<sup>3</sup> acetylacja (ang. *acetylation*, Ac) – epigenetyczny mechanizm kontroli genów. Modyfikacja histonu polegająca na przyłączeniu grupy acetylowej ( $\text{CH}_3\text{-C(O)-}$ ), wywodzącej się z kwasu octowego, do reszty lizyny na N-końcu histonu. Reakcją przeciwną jest deacetylacja.

<sup>4</sup> metylacja (ang. *methylation*, Me) - epigenetyczny mechanizm kontroli genów, dotyczący modyfikacji histonów lub DNA. Jest to proces kowalencyjnego (dzielenie między atomami pary elektronów) przyłączenia tzw. grup metylowych (-CH<sub>3</sub>) do zasad azotowych nukleotydu: cytozyny lub adeniny. Reakcją przeciwną jest demetylacja.

<sup>5</sup> fosforylacja (ang. *phosphorylation*, P) - epigenetyczny mechanizm kontroli genów. Odwracalny proces modyfikacji histonu, polegający na reakcji przyłączenia reszty fosforanowej, pochodnej kwasu fosforowego (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>), do reszty lizyny na N-końcu histonu.

<sup>6</sup> ubikwitynacja (ang. *ubiquitination*, Ub) – epigenetyczny mechanizm kontroli genów. Odwracalny proces enzymatycznej modyfikacji histonu, polegający na przyłączeniu do niego cząsteczki mniejszego białka - ubikwityny.

<sup>7</sup> suomilacja (ang. *small ubiquitin-like modification*, SUMO) – epigenetyczny proces modyfikacji histonu polegający na kowalencyjnym przyłączeniu do histonu białek SUMO, co powoduje zmianę funkcji i właściwości histonu. Białka SUMO są rodziną małych białek, które są kowalencyjnie przyłączane i odłączane od innych białek w komórkach w celu zmodyfikowania ich funkcji.

<sup>8</sup> reprogramowanie epigenetyczne – proces zachodzący w trakcie tworzenia się komórek rozrodczych w embrionie, który prowadzi do całkowitego zniszczenia w tych komórkach wzoru metylacji pochodzącego od rodziców i ustalenia go od nowa.

<sup>9</sup> dziedziczenie genetyczne – dziedziczenie *sensu stricto*, kiedy informacja genetyczna jest przekazywana z pokolenia na pokolenie tylko i wyłącznie poprzez sekwencję nukleotydów występującą w kwasach nukleinowych.

<sup>10</sup> pamięć immunologiczna – szybka i skuteczna odpowiedź układu immunologicznego na antygen (najczęściej patogen) przy ponownym kontakcie; układ odporności w takim kontakcie pamięta wcześniej przeżytą infekcję i wywołujący ją patogen – wytwarza przeciwciała – i w przypadku ponownego kontaktu z patogenem działa natychmiastowo, zwalczając infekcję szybciej i skuteczniej. Pamięć immunologiczną wykorzystuje się przy tworzeniu szczepionek.

<sup>11</sup> flawiwirus – rodzina wirusów RNA, w której występuje ok. 100 gatunków wirusów, m.in.: wirus żółtej gorączki, wirus Zachodniego Nilu, wirus zapalenia wątroby typu C czy wirus biegunki wirusowej bydła. *Flavus* oznacza po łacinie żółty. Nazwa rodziny wywodzi się od wirusa żółtej gorączki, który często wywołuje u chorych żółtaczkę.

<sup>12</sup> odporność PTI – z ang. *PAMP-triggered immunity*, PAMP – *pathogen associated molecular pattern*, to podstawowa obrona roślin. W wyniku jej działania następuje uruchomienie podstawowej odpowiedzi obronnej przejawiającej się wybuchem tlenowym, odkładaniem kalozy czy produkcją etylenu oraz indukcją genów związanych z patogenezą; odmiennym rodzajem odporności jest ETI (ang. *effector-triggered immunity*) – odpowiedź obronna, która rozpoznaje czynniki awirulencji patogena (avr), specyficzne względem danego gospodarza (tzw. efekторы). Podstawową rolę w ETI odgrywają produkty genów R, czyli geny odporności, odpowiadające za obronę przeciwko szerokiej gamie patogenów i szkodników roślin, takich jak: owady, grzyby, bakterie, wirusy czy nicienie.

## Bibliografia:

1. Bąk D. (2003). RNAi — interferencja RNA — skuteczny sposób na ciszę. *Postępy Biochemii* 49: 136-146.
2. Bhat S.S., Bielewicz D., Gulanicz T., Bodi Z., Yu X., Anderson S.J., Szewc Ł., Bajczyk M., Dolata J., Grzelak N., Smolinski D.J., Gregory B.D., Fray R.G., Jarmolowski A., Szweykowska-Kulinska Z. (2020). mRNA adenosine methylase (MTA) deposits m6A on pri-miRNAs to modulate miRNA biogenesis in *Arabidopsis thaliana*. *PNAS* September 1, 117: 21785-21795.
3. Cieślewicz A., Kijak H., Korzeniowska K., Jabłeczka A. (2013). RNA interference: therapeutic options. *Współczesna Farmacja*; 6: 89-93
4. Johnson T.B., Coghill R.D. (1925). Researches on pyrimidines. C111. The discovery of nucleic acid of the tubercle bacillus. *J. Am. Chem. Soc.*, 47: 2838-2844.
5. Łukasik M., Karmalska J., Szutowski M.M., Łukaszkiwicz J. (2009). Wpływ metylacji DNA na funkcjonowanie genomu. *Biuletyn Wydziału Farmaceutycznego WUM*. 2: 13-18
6. Martínez-Pérez M., Aparicio F., López-Gresaa M.P., Bellés J.M., Sánchez-Navarro J.A., and Pallás V. (2017). *Arabidopsis* m6A demethylase activity modulates viral infection of a plant virus and the m6A abundance in its genomic RNAs. *PNAS*, vol. 114: 10755-10760.
7. Ramirez-Prado i in. (2018). Plant Immunity: From Signaling to Epigenetic Control of Defense. 23: 833-844.
8. Waddington C. H. (1939). *An introduction to modern genetics*. George Allen & Unwin LTD, London
9. Yu Z., Zhang Z., Teixeira da Silva J.A., Li M., Zhao C., He Ch., Si C., Zhang M. and Duan J. (2021). Genome-wide identification and analysis of DNA methyltransferase and demethylase gene families in *Dendrobium officinale* reveal their potential functions in polysaccharide accumulation. *BMC Plant Biology*, 21: 1-17.
10. Zhu Q.H. i in. (2014). Long noncoding RNAs responsive to *Fusarium oxysporum* infection in *Arabidopsis thaliana*. *New Phytol.*, 201: 574-584.