

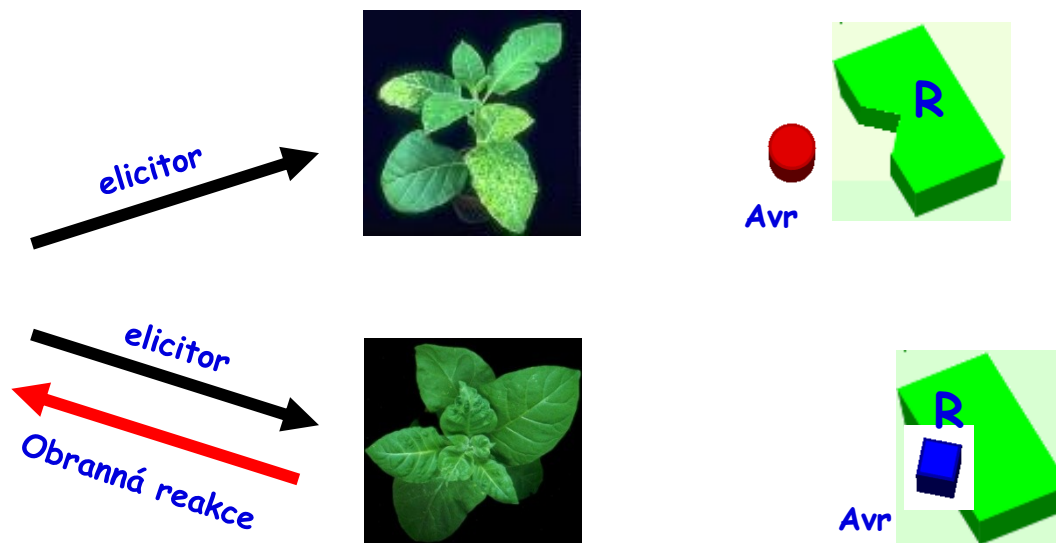
Identifikace neznámého elicitinu na základě jeho aktivity

C7195 - Pokročilé praktikum z biochemie

Patogen

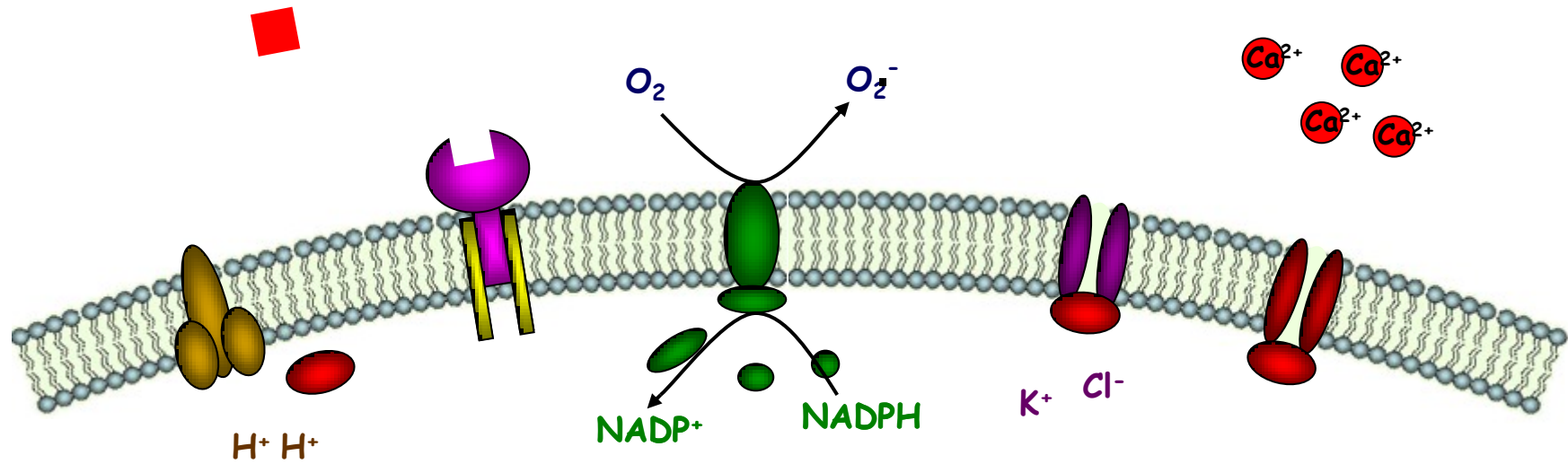
Hostitelská rostlina

Patogen obvykle nese gen avirulence (avr), jehož produkt (elicitor) je rostlinou rozpoznáván pomocí genu rezistence (R).

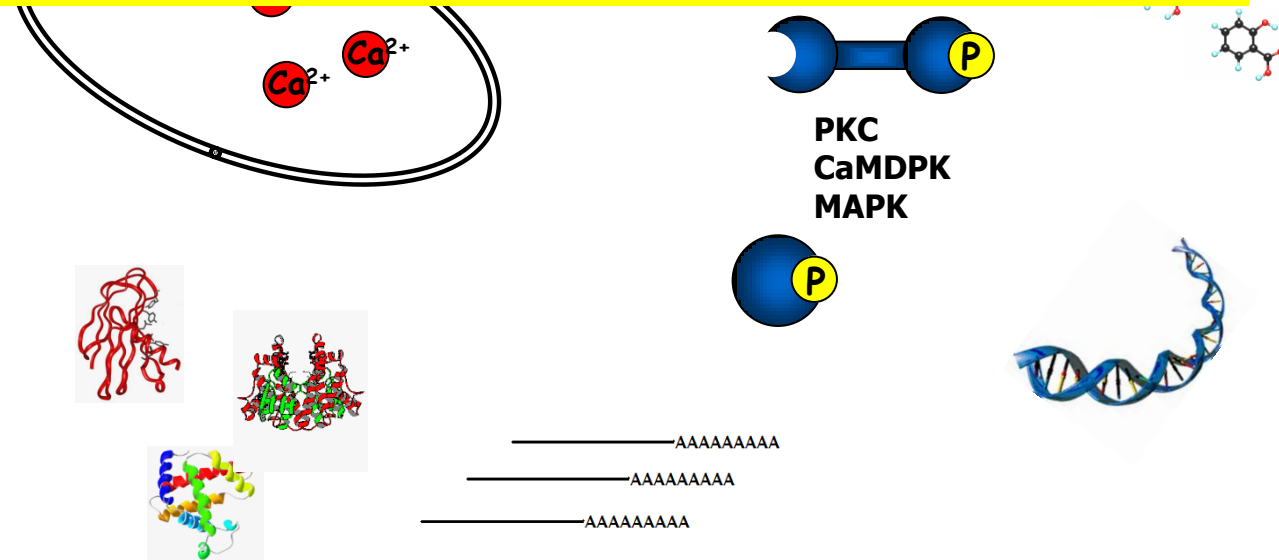


Elicitory - látky, které jsou schopné vyvolat obranou reakci u rostlin

- uvolňované patogenem do prostředí
- součást patogenu
- glykoproteiny, chitinové fragmenty, proteiny, nízkomolekulární látky, anorganické látky, atd.



Pozdní fáze obranné reakce řádově hodiny od přidání elicitoru



Obranné proteiny

- Skupina PR (Pathogenesis Related) proteinů
 - Syntetizovány ve velké míře při napadení nebo poškození rostliny
 - Dle funkce a účinku se dělí do tříd, v každé třídě se vyskytují dvě isoformy - kyselá a bazická
 - Kyselé isoformy jsou vylučovány do extracelulárního prostředí, bazické poté do vakuoly
 - Exprese kyselých forem bývá často spojena s tzv. systémově navozenou rezistencí (SAR)

Rozdělení PR (pathogenesis related) proteinů

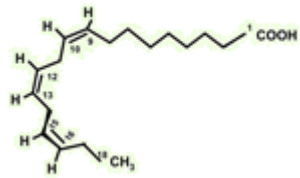
Třída	Typický zástupce	Funkce
PR-1	PR-1 (tabák)	neznámá
PR-2	PR-2 (tabák)	β -1,3-glukanasa
PR-3	P, Q (tabák)	chitinasa
PR-4	`R' (tabák)	chitinasa
PR-5	S (tabák)	podobný thaumatinu
PR-6	Inhibitor I (rajče)	proteinasový-inhibitor
PR-7	P ₆₉ (rajče)	endoproteinasa
PR-8	Chitinasa (okurka)	chitinasa
PR-9	`lignin-forming peroxidase' (tabák)	peroxidasa
PR-10	`PR1' (petržel)	podobný ribonuklease
PR-11	chitinasa třídy V (tabák)	chitinasa
PR-12	Rs-AFP3 (ředkvička)	defensin
PR-13	THI2.1 (Arabidopsis)	thionin
PR-14	LTP4 (ječmen)	lipid-transfer protein
PR-15	OxOa (ječmen)	oxalát oxidasa
PR-16	OxOLP (ječmen)	podobný oxalát oxidase
PR-17	PRp27 (tabák)	Neznámá

van Loon L. C., Rep M., Pieterse C. M. J.(2006): Significance of Inducible Defense-related Proteins in Infected Plants. Annu. Rev. Phytopathol. 44, 135-162.

Obranné proteiny

- Skupina PR (pathogenesis related) proteinů
- Enzymy účastníci se syntézy signálních molekul, fytoalexinů, tvorby H_2O_2 , atd.
 - fenylalaninamoniak lyasa
 - lipooxygenasa
 - ACC syntasa
 - 5-epiaristolochene syntasa
 - NADPH oxidasa
 - 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA syntasa

Signální molekuly



Kys. linolenová

lipooxygenasa

13-hydroxyperoxid

~~alen oxidasa syntasa~~

~~alen oxidasa cyklasa~~

12-oxophytodienová kys.

OPDA reduktasa

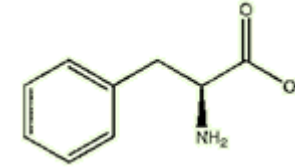
3x β -oxidace

Kys. jasmonová



Fenylalanin

PAL

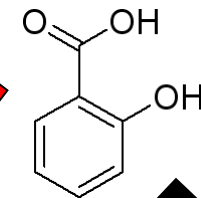


trans-skořicová k.

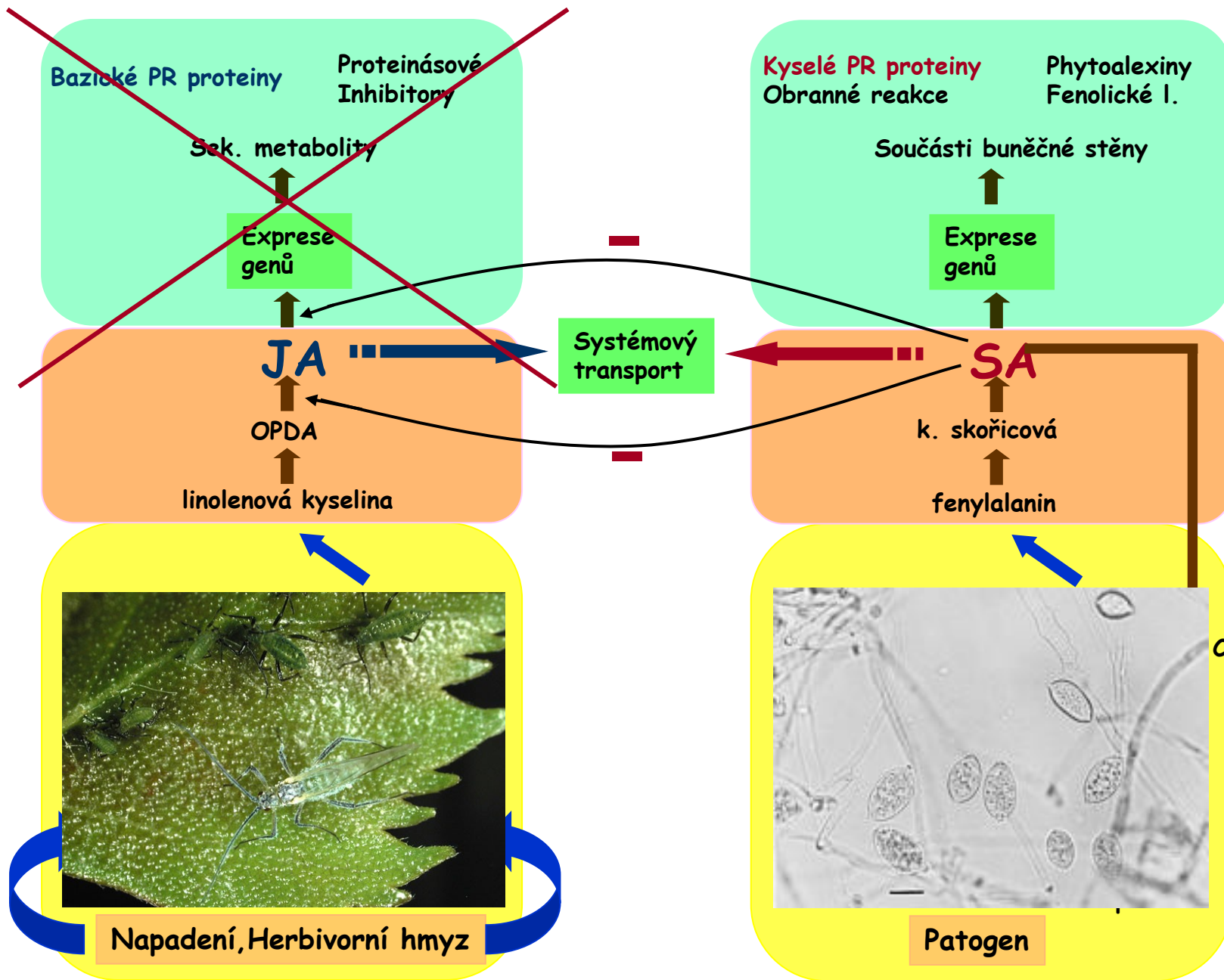
kys. benzoová

BA-2-hydroxylasa

kys. salicylová



SA-glukosid



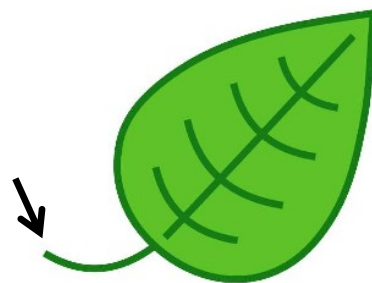
Elicitiny

- proteinové elicitory vylučované oomycetami rodu *Phytophthora* vyvolávající obrannou reakci u rostlin tabáku vedoucí k nekróze
- obsahují hydrofobní kavitu, do které se mohou vázat steroly a mastné kyseliny, proto jsou řazeny mezi tzv. sterol carries proteins (SCP)
- Dělí se na α -elicitiny (kyselé, pI= 4.2) a β -elicitiny (bazické, pI=8.5)
- Pouze β -elicitiny indukují hypersenzitivní odpověď spojenou s indukovanou systémovou rezistencí rostlin

Neznámé vzorky látek

	Cryptogein (pI = 8.8)	Infestin (pI = 4.2)	k. Salicylová (pH = 7.0)	Voda (pH = 6.0)
Přímá infiltrace - Nekróza	+++	+++	-	-
Přes petiolu - Nekróza	+++	-	-	-
Přímá infiltrace – exprese PR genů	+++	+++	+++	-
Přes petiolu – exprese PR genů	+++	+/-	++	-

Aplikace na petiolu



Přímý nástřik do listu

