

Autor: Kamil Demski

Promotor: Prof. dr hab. Antoni Banaś

Tytuł dysertacji: Udział acylotransferaz typu DGAT (acyl-CoA:diacyloglicerol acylotransferaza) i acylotransferaz typu PDAT (fosfolipid:diacyloglicerol acylotransferaza) w akumulacji triacylogliceroli w nasionach wybranych roślin oleistych

Triacyloglicerole (TAG) stanowią główne lipidy zapasowe nasion większości roślin. Zawartość TAG w tych nasionach, oraz skład ich kwasów tłuszczowych, zależy często nie tylko od gatunku do którego dana roślina oleista należy, ale również od jej odmiany. Synteza TAG ma miejsce w retikulum endoplazmatycznym komórki roślinnej w cyklu acylacji łańcucha glicerolowego, zwanego szlakiem Kennedy'ego. W ostatnim etapie tego szlaku, enzym „acylotransferaza acylo-CoA:diacyloglicerol” (DGAT) katalizuje przeniesienie grupy acylowej z acylo-CoA do pozycji *sn*-3 diacyloglicerolu (DAG), syntetyzując w ten sposób cząsteczkę triacyloglicerolu. Istnieje również alternatywna droga biosyntezy TAG w ER, przebiegająca równolegle z acylacją DAG przeprowadzaną przez DGAT. Uczestniczy w niej enzym „acylotransferaza fosfolipid:diacyloglicerol” (PDAT), który przenosi grupę acylową do pozycji *sn*-3 DAG, nie z acylo-CoA, a z fosfolipidu.

W niniejszej pracy badano aktywność enzymów typu PDAT oraz aktywność i specyficzność substratową względem różnych acylo-CoA enzymów typu DGAT, obecnych we frakcjach mikrosomalnych z rozwijających się nasion następujących roślin oleistych: soi warzywnej (*Glycine max*), rącznika zwyczajnego (*Ricinus communis*) i dwóch odmian kapusty rzepek (*Brassica napus*; badane odmiany to niskoerukowa odmiana MONOLIT i wysokoerukowa odmiana MAPLUS). Dodatkowo, wykonano analizę zmian ekspresji czterech izoform DGAT1 oraz czterech izoform DGAT2 w rozwijających się nasionach badanych odmian rzepek. Geny kodujące te izoformy zostały również sklonowane i eksprymowane w systemie drożdżowym. Pozwoliło to w późniejszych doświadczeniach określić ich specyficzność substratową względem acylo-CoA.

Przeprowadzone badania wykazały, że stosunek aktywności enzymów typu PDAT do aktywności enzymów typu DGAT jest różny w każdym z badanych gatunków roślin oraz, że zmienia się w trakcie rozwoju nasion. Wykazano także, że aktywność enzymów typu DGAT z frakcji mikrosomalnych testowanych nasion w stosunku do różnych acylo-CoA może osiągać maksimum w różnych stadiach ich rozwoju. Może to

świadczyć, że aktywność różnych izoform DGAT zmienia się niezależnie od siebie w cyklu rozwoju nasion oraz, że izoformy te różnią się specyficzną substratową względem acylo-CoA.

W badaniach nad specyficzną substratową izoform DGAT z nasion rzepaku, eksprymowanych w systemie drożdżowym, wykazano iż specyficzną substratową izoform *Bna*.DGAT1 względem różnych acylo-CoA różniła się znacznie od specyficznosci substratowej izoform *Bna*.DGAT2. Ponadto wykazano, że izoformy *Bna*.DGAT1 nie różnią się specyficznosciami substratową między sobą podczas gdy takie różnice odnotowano dla izoform *Bna*.DGAT2.. Wśród tych ostatnich, dwie wykazywały np. bardzo wysoką specyficznosc w stosunku do 18:3-CoA podczas gdy dwie pozostałe były wysoce specyficzne w stosunku do 22:1-CoA.

W badaniach nie wykazano korelacji pomiędzy względną ekspresją badanych izoform *Bna*.DGAT, a aktywnością i specyficzną substratową enzymów typu DGAT obecnych we frakcjach mikrosomalnych z rozwijających się nasion badanych odmian rzepaku.

Przeprowadzone badania zwiększają naszą wiedzę nad mechanizmami regulującymi ilość i jakość tłuszczów produkowanych w nasionach roślin oleistych. W przyszłości mogą być wykorzystane przy modyfikacji różnych roślin oleistych w kierunku zwiększenia ilości i/lub jakości produkowanych przez nie olejów.