

Specyficzność substratowa LPCATów z fotosyntetyzujących glonów jednokomórkowych akumulujących oleje, w reakcjach do przodu i do tyłu oraz charakterystyka ich funkcji w edycji grup acylowych fosfatydylocholin

Wielonienasycone kwasy tłuszczowe omega-3 o bardzo długich łańcuchach węglowych (VLC-PUFA), są niezbędne dla prawidłowego funkcjonowania organizmu ludzkiego. Są one dostarczane do organizmu wraz z żywnością. Głównym źródłem tych kwasów tłuszczowych w naszej diecie są ryby. Same ryby nie mogą jednak syntetyzować VLC-PUFA podobnie jak i inne organizmy zwierzęce. Pozyskują one te kwasy tłuszczowe z diety, głównie z glonów. W ostatnich latach rozpoczęto poszukiwania nowych źródeł VLC-PUFA dla wzbogacenia nimi naszej diety. Jako alternatywę dla ryb proponuje się oleje roślinne wzbogacone tymi kwasami tłuszczowymi. Wytworzenie tego typu roślin oleistych wymaga jednak dokładnego poznania mechanizmów biosyntezy VLC-PUFA oraz ich transferu do triacylogliceroli (głównego składnika olei).

Wiele gatunków alg może wydajnie syntetyzować VLC-PUFA, dzięki czemu są one doskonałymi organizmami modelowymi do badania szlaków ich biosyntetycznych. W tej grupie znajdują się, między innymi okrzemki, glony, które będą przedmiotem obecnych badań. Modelowa okrzemka *Phaeodactylum tricorutum* syntetyzuje np. stosunkowo dużo kwasu eikozapentaenowego (EPA, 20:5) - omega-3 VLC-PUFA - najbardziej korzystnie wpływającego na nasze zdrowie. W organizmie tym większość EPA gromadzona jest w galaktoglicerolipidach, pomimo iż EPA syntetyzowany jest w fosfatydylocholinie (PC). Fakt ten wskazuje że u *Phaeodactylum* wyewoluował nie tylko mechanizm biosyntezy EPA, ale także mechanizm selektywnego kierowania tego VLC-PUFA z PC i do galaktoglicerolipidów (oraz w niewielkich ilościach do triacylogliceroli). Szlak biosyntezy EPA w glonach został już dosyć dobrze wyjaśniony, jednakże mechanizmy transferu prekursorów EPA z miejsca ich modyfikacji czyli PC do miejsca ich elongacji (czyli puli acylo-CoA) a także mechanizmy transferu samego EPA do galaktoglicerolipidów i TAG, pozostają jak na razie nieznane. Brak jest również danych dotyczących kluczowych enzymów / genów kontrolujących ten transport.

W dotychczasowych badaniach wykazano, że w roślinach wyższych wymiana kwasów tłuszczowych pomiędzy PC a pulą acylo-CoA (kwasy tłuszczowe połączone z koenzymem A) jest katalizowana przez enzymy typu LPCAT (acylotransferazy acylo-CoA:lizofosfatydylocholina). Wspomniana wymiana odgrywa ważną rolę w przekazywaniu roślinnych PUFA (18:2 i 18:3) z PC do TAG. W związku z tym założono, że podobny mechanizm może istnieć w również w glonach. W obecnym projekcie planowane są więc, badania nad rolą enzymów typu LPCAT w biosyntezie VLC-PUFA w okrzemkach.

W celu określenia mechanizmów kontrolujących przepływ VLC-PUFA z PC do galaktoglicerolipidów i TAG w *Phaeodactylum*, badania zostaną rozpoczęte od klonowania genów o sekwencjach sugerujących, że mogą one kodować enzymy typu LPCAT i wyboru tych z nich które kodują enzymy posiadające rzeczywistą aktywność LPCAT. Następnie geny te zostaną wprowadzone do mutantu drożdżowego nie posiadającego aktywności LPCAT i badana będzie specyficzność substratowa enzymów przez nie kodowanych. W szczególności skupimy się na zdolności tych enzymów do transferu produktów pośrednich biosyntezy EPA: 18:3 i 20:4, a także samego EPA (20:5), z PC (w miejsca wprowadzenia kolejnych wiązań podwójnych) do puli acyl-CoA (miejsca wydłużania kwasów tłuszczowych i miejsca skąd 18:3, 20:4 i EPA są przenoszone do innych lipidów) przez te sklonowane ptLPCATy (LPCATy z *Phaeodactylum tricorutum*). Zrekonstruujemy również szlak biosyntezy EPA w roślinie modelowej *Arabidopsis thaliana* i zbadamy wpływ ptLPCATów na akumulację omega-3 VLC-PUFA w tej roślinie. Dodatkowo poszczególne ptLPCATy zostaną wyłączane w *Phaeodactylum tricorutum* (gatunek okrzemek wykorzystywany w badaniach) i zostanie badany wpływ tych „wyląceń” na akumulację VLC-PUFA u tego glonu.

Zaplanowane badania pogłębią ogólną wiedzę na temat mechanizmów biosyntezy VLC-PUFA i mechanizmów kierujących je do miejsca ich magazynowania. Badanie przyczynią się również do pogłębienia naszej wiedzy odnośnie „narzędzi metabolicznych” mogących posłużyć w bioinżynierii do projektowania biosyntezy olejów o określonym składzie chemicznym, szczególnie tych zawierających omega-3 VLC-PUFA, w wysokowydajnych roślinach oleistych. Planowane badania stanowiąc będą „pionierskie badania” nad enzymami typu LPCAT u glonów.

Proponowane badania przyczynią się również do pogłębienia współpracy i dwustronnej wymiany akademickiej między polskimi i chińskimi instytucjami zaangażowanymi w projekt. Wspólna realizacja planowanych badań może również wzmocnić kompetencje polskiego partnera w zakresie biologii molekularnej lipidów roślinnych oraz kompetencje chińskiego partnera w dziedzinie biochemii tychże lipidów.