

## Popularnonaukowe streszczenie projektu

W obecnym czasie, gdy na świecie rośnie zapotrzebowanie na energię a zasoby ropy naftowej oraz gazu ziemnego wyczerpują się, rośnie zapotrzebowanie na alternatywne źródła energii. Wykorzystywanie roślin oleistych do produkcji biodiesla okazało się nieuzasadnione ekonomicznie z uwagi na kryzys gospodarki żywnościowej w wielu regionach świata, jak również ze względów ekonomicznych. Aby wyjść na przeciw popytowi na biopaliwa, obiecujące okazały się alternatywne metody ich produkcji jak chociażby z wykorzystaniem biomasy ligninocelulozowej czy mikroorganizmów, które charakteryzują się niesamowitymi zdolnościami do akumulacji wewnątrzkomórkowych lipidów. Istnieją drobnoustroje, które są w stanie akumulować aż do 80% lipidów w przeliczeniu na suchą masę. Jednym ze wspomnianych mikroorganizmów są drożdże *Yarrowia lipolytica*. Gatunek ten, również ze względu na zsekwencjonowany genom oraz szeroką gamę narzędzi inżynierii genetycznej, zyskał szerokie zainteresowanie naukowców i stał się organizmem modelowym procesu biosyntezy lipidów. Dynamiczny rozwój biotechnologii doprowadził jednak do odkrycia, że drożdże te potrafią również wydzielać do środowiska duże ilości alkoholi wielowodorotlenowych, które dzięki swoim właściwościom chemicznym mogą zastąpić sacharozę w produktach spożywczych. Te niesamowite mikroorganizmy należą do szerszej grupy drobnoustrojów zwanej kładem *Yarrowia*, który tworzy obecnie 15 różnych gatunków drożdży. Ogromne zainteresowanie tymi mikroorganizmami pozwoliło udowodnić, że wśród gatunków tworzących wspomniany kład istnieją takie, których zdolności do akumulacji lipidów czy sekrecji alkoholi wielowodorotlenowych są zdecydowanie wyższe niż dla *Y. lipolytica*. Okazało się również, że drożdże te zdolne są do efektywnego wykorzystywania związków odpadowych jak surowy glicerol czy lotne kwasy tłuszczowe, które znajdują się w dużych stężeniach w mieszaninach pofermentacyjnych odpadów przemysłu spożywczego czy odpadów komunalnych. *Yarrowia keelungensis* czy *Yarrowia phangngaensis* charakteryzują się zdecydowanie lepszym przyswajaniem wspomnianych substratów niż gatunek *Y. lipolytica*. Ponadto, *Yarrowia yakushimensis* jako jedyny przedstawiciel kładu, charakteryzuje się nie tylko wyższym powinowactwem względem octanu, który wykorzystuje przed propionianem czy maślanem, ale posiada również jako jedyny heksokinazę pozbawioną 37-aminokwasowej pętli, która charakteryzuje te białka u pozostałych gatunków z kładu *Yarrowia*. W związku z faktem, że heksokinaza należy do tzw. moonlighting proteins, czyli poza aktywnością kinaz bierze również udział w regulacji ekspresji genów, istotnym wydaje się analiza regulacji ekspresji genów u gatunku *Y. yakushimensis*. Ponadto, analiza transkryptomu u dwóch pozostałych wymienionych gatunków będzie punktem wyjścia do usprawnienia wykorzystania substratu przez wymienionych przedstawicieli kładu. Ważną częścią wniosku jest również charakterystyka metabolizmu glicerolu i VFA, jak również szlaku biosyntezy lipidów, dzięki zastosowaniu zautomatyzowanego systemu manipulacji koloniami. Analiza kilkudziesięciu tysięcy transformantów pozwoli na wytypowanie nowych, dotychczas nie scharakteryzowanych enzymów/transporterów/czynników transkrypcyjnych, które pozwolą na zrozumienie funkcjonowania szlaków metabolicznych wspomnianych powyżej u wybranych gatunków z kładu *Yarrowia*.

Ponadto, niezwykle ważnym aspektem zaproponowanym w projekcie jest wykorzystanie ogromnych zdolności do sekrecji białek przez drożdże z kładu *Yarrowia*, do produkcji białek heterologicznych, zwłaszcza posiadających aktywność związków powierzchniowo czynnych. Białka te będą mogły zastąpić syntetyzowane chemicznie surfaktanty wykorzystywane m.in. w górnictwie. Jednakże, mając różne właściwości fizykochemiczne, a czasem i biologiczne, surfaktanty wykorzystywane są w różnych postaciach i pełnią różne funkcje przy wytwarzaniu wielu produktów wykorzystywanych w gospodarstwach domowych, sadach i na polach uprawnych, w przemyśle motoryzacyjnym, budownictwie, drogownictwie, czy przemyśle kosmetycznym i farmaceutycznym. Każda z wymienionych gałęzi przemysłu poszukuje alternatywnych, biodegradowalnych związków, których właściwości pozwoliłyby na opracowanie technologii przyjaznych środowisku. Rozwiązanie zaproponowane w projekcie pozwoli na ocenę możliwości biosyntezy lipidów i białek o aktywności surfaktantów z odpadowych substratów pochodzących z innych gałęzi przemysłu.