

Poszukiwanie molekularnych podstaw integracji metabolizmu węgla i azotu poprzez szlak glutaminianowy u *Yarrowia lipolytica*

W obliczu coraz większych globalnych wyzwań - takich jak rosnące niedobory żywności, ograniczone zasoby energetyczne czy problematyczne odpady, których recykling jest utrudniony - świat poprzez, naukowców intensywnie poszukuje nowych, zrównoważonych rozwiązań. Jednym z obiecujących kierunków jest wykorzystanie mikroorganizmów w gospodarce o obiegu zamkniętym. Celem modelu gospodarki o obiegu zamkniętym, jest minimalizacja odpadów poprzez waloryzację ich z wykorzystaniem mikroorganizmów do związków o charakterze dodanym. Szczególnie interesującym organizmem są drożdże *Yarrowia lipolytica*. Gatunek ten posiada wyjątkową zdolność do przetwarzania odpadów przemysłowych takich jak zhydrolizowana biomasa ligninocelulozowa, olej napędowy czy plastik w cenne substancje. Pośród licznych cennych związków można wyróżnić takie jak tłuszcze i białka, oraz alkohole cukrowe które służą jako zamiennik cukru dla diabetyków.

Chociaż drożdże *Y. lipolytica* są już obecnie szeroko wykorzystywane w przemyśle, funkcjonowanie ich metabolizmu - czyli sposobu przetwarzania składników odżywczych - wciąż pozostaje nie do końca poznany. Szczególnie istotną rolę odgrywa tutaj azot - pierwiastek chemiczny, który jest podstawowym elementem budującym wszystkie organizmy żywe na naszej planecie, wchodzi między innymi w skład DNA. Dodatkowo w zależności od swojej dostępności może skłaniać komórki drożdży do wytwarzania zwiększonej liczby biomasy lub produkcji wartościowych związków, takich jak tłuszcze czy kwasy organiczne. Jednak dokładne mechanizmy sterujące dostosowaniem metabolizmu do zmiennych warunków środowiska zewnętrznego na które są wystawione drożdże *Y. lipolytica* nadal pozostają niejasne. Większość, dokładniej zbadanych gatunków drożdży, reguluje swój metabolizm korzystając z mechanizmu Represji Katabolicznej Azotem (NCR), polega on na dostosowywaniu metabolizmu do występowania preferowanych źródeł azotu. Podczas występowania preferowanego źródła azotu, komórka drożdży ogranicza produkowanie białek związanych z przemianami niepreferowanych źródeł azotu w celu minimalizowania strat energetycznych. Regulacja ta odbywa się na poziomie ekspresji genów poprzez czynniki transkrypcyjne. Jednym z głównych szlaków odpowiedzialnym za przemiany azotu w komórce jest szlak GDH. Co ciekawe komórki na poziomie tego szlaku łączą ze sobą metabolizm azotu i węgla poprzez α -ketoglutaran, który jest związkiem pośrednim cyklu Krebsa. Dodatkowo drożdże *Y. lipolytica* w porównaniu do modelowych drożdży posiadają dodatkowy alternatywny szlak odzyskiwania azotu (ANRP).

Badania prowadzone w prezentowanym projekcie mają za zadanie zrozumieć, w jaki sposób drożdże *Y. lipolytica* regulują przemiany azotu i jak integrują je z ogólnym metabolizmem komórki z wykorzystaniem szlaku GDH i ANRP. Badania skoncentrują się na dwóch szlakach będących w centrum metabolizmu azotu-szlaku GDH, który jest ważnym fragmentem przemian aminokwasów oraz na szlaku ANRP, który pozwala rekompensować drożdżom niedobór azotu w środowisku hodowlanym. Dodatkowo zostanie zbadany potencjalny wpływ sygnały związków, powstających podczas przemian w szlaku GDH, jako „wewnętrzny sygnał” informujący komórkę o stanie jej środowiska i regulujący jej zachowanie metaboliczne. Aby odpowiedzieć na te pytania, projekt zakłada kompleksowy zestaw eksperymentów. Obejmują one analizę metabolitów, badania ekspresji genów, śledzenie lokalizacji białek wewnątrz komórki, a także testowanie, jak drożdże reagują na zmienne warunki odżywcze w czasie. Wykorzystane zostaną nowoczesne technologie mikroskopowe i analityczne z użyciem najnowszych urządzeń eksperymentalnych, dodatkowo zostaną wykorzystane najświeższe narzędzia biologii molekularnej, służące do edycji genomu- system CRISPR-Cas9.

Wyniki uzyskane podczas działań prowadzonych w projekcie pozwolą w lepszy sposób zrozumieć w jaki sposób drożdże *Y. lipolytica* przystosowują się do ciągłych zmian w środowisku zewnętrznym. Ze względu na ogromny potencjał tego gatunku drożdży w przemyśle energetycznym, przemyśle żywnościowym i farmaceutycznym oraz przy rewaloryzacji uciążliwych związków odpadowych, niezbędna jest dokładna wiedza na temat funkcjonowania metabolizmu. Pozwoli ona w przyszłości na projektowanie bardziej wydajnych szczepów oraz na optymalizację procesów technologicznych prowadzonych z drożdżami *Y. lipolytica* co przyczyni się do bardziej efektywnego wykorzystania tego mikroorganizmu w modelu gospodarki o obiegu zamkniętym. Badania prowadzone w projekcie przyczynią się do rozwoju bardziej nowoczesnej i zrównoważonej biotechnologii, która jest kluczem do lepszej przyszłości.