

Streszczenie

Ważnymi, lecz ciągle słabo poznanymi enzymami biosyntezy lipidów membranowych i zapasowych są acylotransferazy acylo-CoA:lizofosfolipid (LPLAT). Enzymy te uczestniczą w przenoszeniu reszty acylowej z acylo-CoA na lizofosfolipidy syntetyzując odpowiednie fosfolipidy. Sugeruje się również, że w reakcji przebiegającej w odwrotnym kierunku (reakcje *backward*) mogą one przenosić reszty kwasów tłuszczowych z pozycji sn-2 fosfatydylocholiny (miejsca ich syntezy) do puli cytoplazmatycznego acylo-CoA. Uważa się, że reakcje *forward* oraz *backward* katalizowane przez LPLATy są jednym z mechanizmów warunkujących remodelowanie składu kwasów tłuszczowych fosfolipidów. Tworzone zaś w tym procesie acylo-CoA (zawierające kwasy tłuszczowe fosfolipidów) mogą być następnie wykorzystywane do różnego rodzaju syntez w tym do syntezy lipidów zapasowych-triacylogliceroli.

W pracy prowadzono badania *in vitro* dotyczące specyficzności substratowej dwóch głównych LPLAT'ów *S. cerevisiae*: Ale1 i Slc1 oraz LPLATów *A. thaliana*: LPCAT2, LPEAT1 oraz LPEAT2. W badaniach tych wykorzystywano frakcje mikrosomalne uzyskiwane ze szczepu dzikiego drożdży BY4742 oraz z drożdży transgenicznych uzyskanych na bazie wymienionego szczepu, u których zostały wyłączone endogenne geny kodujące LPLATy (Ale1 lub Slc1), lub u których wprowadzono ich nadekspresję czy też były transformowane wybranymi genami kodującymi LPLATy *A. thaliana*. Wyniki badań wykazały, że testowane acylotransferazy różnią się specyficznością substratową zarówno w stosunku do donora (acylo-CoA) jak i akceptora kwasów tłuszczowych (lizofosfolipidy). Dodatkowo wykazano, że enzymy Ale1, Slc1, AtLPCAT2 oraz AtLPEAT2 mają w warunkach *in vitro* zdolność do przeprowadzania reakcji w odwrotnym kierunku (*backward*), czyli zdolność remodelowania składu kwasów tłuszczowych fosfolipidów i puli acylo-CoA. Każda z tych acylotransferaz wykazywała jednak odmienną specyficzność substratową.

Podjęto również próbę określenia funkcji fizjologicznych wybranych acylotransferaz w drożdżach piekarniczych oraz rzodkiewniku pospolitym. Przeprowadzone doświadczenia wykazały, że delecja zarówno genu *ALE1* jak i delecja genu *SLC1* (kodujących białka Ale1 i Slc1) w drożdżach, powoduje nieznaczne osłabienie przyrostu komórek tych mutantów w porównaniu do szczepu kontrolnego. Nadekspresja zaś genów: *ALE1* i *SLC1* oraz genów z *A. thaliana*: *At1g63050*, *At1g80950*, *At2g45670* w komórkach drożdży, zwiększa nieznacznie przyrost biomasy ich komórek. Ponadto wprowadzone transformacje

powodowały drobne zmiany w całkowitej zawartości lipidów w komórkach drożdży oraz niewielkie zmiany w składzie tych lipidów.

Mutanty insercyjne (T-DNA) *A. thaliana* wykazujące brak aktywności LPEATów (acylotransferaz acylo-CoA:lizofosfatydyloetanoloamina) oraz mutanty z nadkspresją genów odpowiedzialnych za aktywność tych acylotransferaz (geny: *At1g80950* - LPEAT1 oraz *At2g45670* - LPEAT2) wykazywały wyraźne różnice fenotypowe w porównaniu do roślin kontrolnych. Wyłączenie badanych genów powodowało szereg defektów w rozwoju roślin. Mutanty te wykazywały karłowaty fenotyp oraz produkowały mniejszą ilość, mniejszych nasion. Nasiona, liście i korzenie tych mutantów posiadały także obniżoną zawartość i zazwyczaj zmieniony profil lipidów (w porównaniu do roślin kontrolnych). Nadkspresja zaś genów odpowiedzialnych za aktywność LPEAT powodowała, że rośliny były większe i produkowały większą ilość nasion. Korzenie tych mutantów charakteryzowały się natomiast wyższą, niż korzenie roślin kontrolnych, zawartością lipidów (głównie polarnych).