

STRESZCZENIE

Acylotransferazy acylo-CoA:lizofosfolipid (LPLAT) są uważane za jedne z kluczowych enzymów uczestniczących w procesie remodelowania, czyli edycji grup acylowych znajdujących się w puli fosfolipidów oraz w cytoplazmatycznej puli acylo-CoA. Rola ta została przypisana enzymom LPLAT, ponieważ wykazują one dualną aktywność, a zatem są zdolne do przeprowadzania dwóch odmiennych reakcji. W reakcjach typu *forward* enzymy te katalizują dołączenie grupy acylowej do lizofosfolipidu, co w efekcie prowadzi do powstania określonego fosfolipidu. W reakcji typu *backward* odpowiadają one za proces odwrotny, który prowadzi do suplementacji puli acylo-CoA w zmodyfikowane kwasy tłuszczowe, będącej źródłem tych kwasów dla innych acylotransferaz uczestniczących w syntezie lipidów zapasowych (triacylogliceroli) oraz edycji lipidów membranowych. Pomimo potencjalnie, znaczącej roli w procesie remodelowania, badania dotyczące udziału oraz roli enzymów LPLAT w tym procesie są/były słabo zaawansowane.

W związku z brakiem odpowiedniej wiedzy w tym zakresie, celem badań wykonanych w ramach niniejszej pracy było scharakteryzowanie procesu remodelowania zachodzącego w różnych tkankach rośliny oleistej jaką jest *Camelina sativa*. Celem było określenie efektywności tego procesu w nasionach oraz liściach w zależności od różnych czynników takich jak: dojrzałość tkanek, warunki hodowli roślin oraz zmiany temperatury. *C. sativa* obecnie staje się rośliną modelową do badań metabolizmu lipidów, niemniej jednak wciąż wiedza na jej temat jest ograniczona, w związku z czym w pracy podjęta została również próba charakterystyki biochemicznej enzymów LPLAT występujących w jej różnych tkankach. Otrzymane podczas badań wyniki skierowały dalszą uwagę na enzymy LPEAT, których sekwencje nukleotydowe zostały sklonowane, przeanalizowane, a następnie wprowadzone do systemu drożdżowego, który posłużył do określenia ich dokładnej charakterystyki.

Przeprowadzone badania, w pierwszej kolejności skupiające się na nasionach *C. sativa* wykazały, że różne grupy enzymów LPLAT charakteryzują się odmiennymi właściwościami biochemicznymi, jednak zarówno w reakcjach *forward*, jak i *backward* preferują one, jako donory kwasów tłuszczowych, acylo-CoA z 18-węglowymi nienasyconymi kwasami tłuszczowymi. Wykazano, że enzymy LPCAT, syntetyzujące fosfatydylocholinę (PC), mają potencjał do przeniesienia niemalże wszystkich wielonienasyconych kwasów tłuszczowych produkowanych w puli PC do cytoplazmatycznej puli acylo-CoA. Dalsze badania odpowiedziały również na pytania dotyczące udziału innych LPLATów w procesie edycji grup acylowych lipidów nasion *C. sativa*. Wykazały one, że enzymy typu LPAAT mogą niezwykle

szybko przenosić kwasy tłuszczowe obecne w puli kwasu fosfatydowego (PA) do puli acylo-CoA, podczas gdy remodelowanie puli fosfatydyloetanolaminy za pośrednictwem LPEATów zachodzi znacznie wolniej. Ilość kwasów tłuszczowych przeniesionych z puli PA i PE do puli cytoplazmatycznego acylo-CoA wynosiła odpowiednio około 5% oraz około 2% wszystkich kwasów tłuszczowych obecnych w dojrzałych nasionach.

Wykonane badania udowodniły również, że właściwości biochemiczne oraz udział w remodelowaniu może być zależny od warunków hodowli roślin. Ta część badań jasno pokazała, że wyniki doświadczeń skupiających się na biochemii lipidów, dla roślin hodowanych w warunkach *in vitro*, nie odzwierciedlają efektów obserwowanych w warunkach *in vivo*, a zatem wyniki te nie mogą mieć bezpośredniego przełożenia na warunki naturalne.

Kolejna część pracy dotycząca wpływu temperatury na enzymy LPLAT doprowadziła do niezwykle ważnego odkrycia fizjologicznej roli enzymów LPEAT. Enzymy te okazały się być czujnikami reagującymi na zmiany temperatury. Wyniki tych badań wskazują, że enzymy te pod wpływem zmian temperaturowych modyfikują swoją specyficzność substratową i mogą regulować w ten sposób profil puli PE. Zaobserwowane efekty zostały dodatkowo potwierdzone poprzez sklonowanie genów kodujących poszczególne izoenzymy LPEAT, których charakterystykę biochemiczną i preferencje substratowe w zależności od temperatury zweryfikowano w systemie drożdżowym. Wykazano również, że izoenzymy CsLPEAT1 preferują wykorzystywanie 18:1-LPE, podczas gdy CsLPEAT2 18:2-LPE jako akceptory grup acylowych. Ponadto jedynie warianty CsLPEAT2 były zdolne do wykorzystania bardzo długołańcuchowych donorów grup acylowych. Sklonowane sekwencje wykorzystane zostały również m. in. do analizy filogenetycznej. Odtworzenie ewolucyjnych zależności pomiędzy sekwencjami pozwoliło na wykazanie, że geny kodujące dwa warianty CsLPEAT tj. CsLPEAT1c oraz CsLPEAT2c pochodzą z genomu *Camelina hispida*, natomiast geny kodujące pozostałe warianty CsLPEAT z genomu auto-tetraploidalnej *Camelina neglecta*. Ekspresja genów kodujących poszczególne warianty CsLPEAT wykazała, że w nasionach głównie eksprymowane są geny kodujące warianty CsLPEAT1, podczas gdy w liściach głównie wariant CsLPEAT2b co, sądząc po specyficzności substratowej tych izoenzymów, może korelować z funkcją pełnioną przez te tkanki.