

Lipazy kiełkujących nasion roślin oleistych, ze szczególnym uwzględnieniem nasion jojoba – jedynej rośliny akumulującej woski

mgr Adam Kawiński

Badania przeprowadzono na trzech gatunkach roślin oleistych: *Simmondsia chinensis* (jojoba), *Crabe abyssinica* (katran abisyński) i *Camelina sativa* (lnicznik siewny). Jojoba jest jedyną rośliną, o której wiadomo, że magazynuje w swoich nasionach, jako materiał zapasowy woski (ang. wax esters) zamiast triacylogliceroli. Katran abisyński i lnicznik siewny to uprawne rośliny oleiste, które ze względu na stosunkowo niewielkie wykorzystanie ich olei w przemyśle spożywczym wytypowane zostały do potencjalnej produkcji wosków (po odpowiednich modyfikacjach genetycznych) w międzynarodowym projekcie ICON ("Industrial Crops producing added value Oils for Novel chemicals" finansowanego częściowo przez Unię Europejską), którego częścią były badania prezentowane w niniejszej pracy.

Woski nasion jojoba składają się z bardzo długołańcuchowych jednonienasyconych kwasów tłuszczowych i alkoholi tłuszczowych i stanowią do 60% masy jej nasion. Podczas kiełkowania nasion jojoba, pierwszy etap mobilizacji wosków jest katalizowany przez lipazy. Lipazy katalizują również pierwszy etap mobilizacji triacylogliceroli podczas kiełkowania nasion innych roślin oleistych. Do tej pory żaden z genów kodujących lipazę/y jojoba nie został sklonowany, a lipazy kiełkujących nasion jojoba, tak samo jak i lipazy kiełkujących nasion innych roślin oleistych były stosunkowo słabo scharakteryzowane. Głównym celem niniejszej pracy była charakterystyka lipaz kiełkujących nasion trzech wymienionych powyżej gatunków roślin oleistych; szczególnie ich specyficzności w stosunku do wosków.

W badaniach wykorzystywano frakcje mikrosomalne z kiełkujących nasion wymienionych wyżej gatunków roślin. W pierwszym etapie badań wykazano, że aktywność lipaz występujących w frakcjach mikrosomalnych uzyskanych z kiełkujących nasion w różnym etapie ich kiełkowania była do pewnego stopnia skorelowana z intensywnością mobilizacji lipidów zapasowych tych nasion. Ponadto w badaniach przeprowadzonych na kiełkujących nasionach jojoba wykazano, że w miarę postępów kiełkowania w badanych frakcjach mikrosomalnych wzrasta zawartość oleozyn, białek charakterystycznych dla ciałek olejowych. Wyciągnięto, więc wniosek, że lipazy badanych frakcji mikrosomalnych pochodzą z resztek membran degradowanych ciałek olejowych. W badaniach specyficzności substratowej lipaz kiełkujących nasion wszystkich trzech badanych gatunków (*S. chinensis*, *C. abyssinica* i *C. sativa*) wykazano, że nie ma większych różnic w zdolności tych lipaz do hydrolizy wosków. Wykazano ponadto, że lipazy wszystkich badanych gatunków wykazują wyższe powinowactwo do triacylogliceroli niż wosków (również te z kiełkujących nasion jojoba). Lipazy wszystkich trzech badanych gatunków wykazywały również zdolność do syntezy wosków w warunkach *in vitro*. Pod względem właściwości biochemicznych, lipazy kiełkujących nasion testowanych roślin oleistych wykazywały zarówno podobieństwa, jak i różnice. Wszystkie były najbardziej aktywne w środowisku reakcji o pH w granicach 7-8. Różnic można się było jednak doszukać w ich reakcji na niższe i wyższe pH. Wszystkie były też aktywowane przez jony Ca^{2+} ; jony Mg^{2+} stymulowały jednak tylko aktywność lipaz nasion jojoba. Lipazy kiełkujących nasion jojoba i *C. abyssinica* wykazywały najwyższą aktywność w temperaturze około 60 °C, zaś lipazy nasion *C. sativa* maksimum aktywności osiągały już w temperaturze 30 °C. Dodatkowe różnice występowały w ich reakcjach na temperatury niższe i wyższe od optymalnych. Podczas kiełkowania transgenicznych roślin *C. sativa* magazynujących woski wykazano, że woski te były mobilizowane, jednak ich mobilizacja była trochę przesunięta w czasie w porównaniu do mobilizacji triacylogliceroli tych nasion, które mobilizowane były szybciej i we wcześniejszych fazach kiełkowania.