

Krzysztof Kulka, Ryszard J. Górecki
Katedra Fizjologii i Biochemii Roślin ART w Olsztynie

Lipidy rozwijających się nasion

Część I. Powstawanie lipidów

1. Substancje zapasowe i ich lokalizacja w tkankach nasion

Podstawowymi substancjami zapasowymi nasion są: węglowodany, białka i tłuszcze. W zależności od zawartości powyższych składników w nasionach wyróżniamy nasiona węglowodanowe, czyli skrobiowe, białkowe i oleiste [6]. (Należy przy tym zaznaczyć, że nasiona przeznaczone do produkcji oleju metodą tłoczenia powinny zawierać co najmniej 20% tłuszczu, a metodą ekstrakcji za pomocą rozpuszczalników organicznych — 15%. Stąd za rośliny oleiste uważamy tylko takie, które zawierają tłuszcz w nasionach w wymienionych ilościach (tab. 1). Materiały zapasowe mogą być odkładane w zarodku (liścieniach) lub bielmie (rzadziej w obielmie) bądź równocześnie w obu wymienionych częściach nasienia. U wielu gatunków z rodziny motylkowatych (np. grochu, bobiku i in.) białka i węglowodany gromadzą się głównie w liścieniach. Liścienie jako organy zapasowe są też często miejscem odkładania nie tylko białek, ale także i lipidów w wielu roślinach innych gatunków (np. ogórek, dynia, sałata, gorczyca, rzepak, soja, len, słonecznik.) [3, 9].

Tabela 1. Zawartość procentowa substancji organicznych i popiołu w nasionach różnych grup roślin [20]

Rośliny	Białka	Tłuszcze	Węglowodany	Popiół
Zboża (jęczmień, owies, żyto, pszenica, kukurydza)	10,63	3,13	65,80	2,58
Strączkowe (bobik, groch, łubin)	28,51	3,77	41,30	3,33
Oleiste (konopie, mak)	25,07	36,65	13,65	5,65

W bielmie zbóż odkładane są głównie węglowodany (skrobia) oraz białka. Natomiast w bielmie niektórych roślin oleistych gromadzą się tłuszcze (rącznik, palma olejowa, pomidor, mak). Z kolei w bielmie kozieradki pospolitej oraz palmy kokosowej podstawową substancją zapasową są mannany. Powstają one również

w obielmie kawy arabskiej. Warto dodać, że wypadku orzesznicy o szczątkowych liścieniach oś zarodkowa stanowi główną strefę gromadzenia substancji zapasowych (tłuszczów) [3].

Substancje zapasowe w mniejszej lub większej ilości mogą występować we wszystkich częściach anatomicznych nasienia. Na przykład chociaż w nasionach sałaty głównym miejscem gromadzenia białka i tłuszczów są liścienie, to obecność ciał białkowych i lipidowych wykrywa się również w strefie korzeń zarodkowy-hypokotyl. Z kolei bielmo, tkanka śladowa u tej rośliny jest zasobna w mannany, chociaż zawiera także ciała białkowe. Podobną zależność obserwuje się w wypadku zbóż, w których bielmie występują zasadnicze substancje zapasowe (skrobia i białko), natomiast cukry rozpuszczalne (głównie dwu- i trójcukry) — w osi zarodkowej. Z kolei tłuszcze zapasowe odkładają się w większości w zarodkach (u żyta ok. 12%, u owsa do 26%, u kukurydzy — 33% na suchą masę) oraz w niewielkiej ilości w bielmie, a zwłaszcza w warstwie aleuronowej [3, 7].

W nasionach niektórych gatunków roślin funkcje lipidów zapasowych mogą pełnić gliko- i fosfolipidy [3]. Na przykład w nasionach orzesznicy wyniosłej glikolipidy stanowią 80% ogólnej zawartości lipidów.

Nasiona większości zbadanych gatunków roślin zawierają tłuszcze jako główny materiał zapasowy, przy czym trzy czwarte tych gatunków (ok. 4000) produkuje nasiona nie zawierające skrobi. Zawartość tłuszczów w nasionach kilkunastu gatunków roślin przedstawiono w tabeli 2.

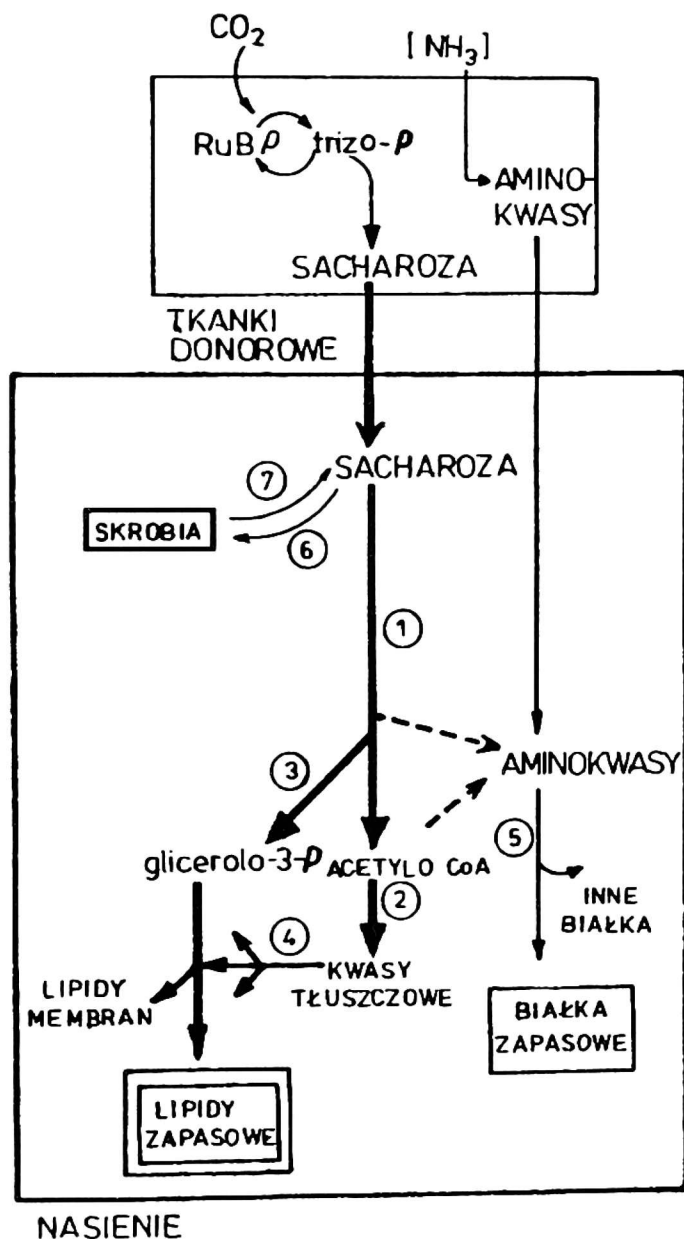
Tabela 2. Zawartość lipidów zapasowych i ich rozmieszczenie w tkankach nasion różnych gatunków roślin [3]

Gatunek rośliny	Główny organ zapasowy gromadzący tłuszcze	Zawartość lipidów w nasionach [% s.m.]
Orzesznica wyniosła (<i>Bertholletia excelsa</i>)	korzeń zarodkowy (hypokotyl)	65–68
Orzech laskowy (<i>Coryllus avellana</i>)	liścienie	60–48
Rzepak ozimy (<i>Brassica napus</i>)	liścienie	45–49
Mak lekarski (<i>Papawer somniferum</i>)	bielmo	40–55
Migdałowiec (<i>Prunus amygdalus</i>)	liścienie	40–55
Olejowa palma (<i>Elaeis quieensis</i>)	bielmo	50
Rącznik pospolity (<i>Ricinus communis</i>)	bielmo	35–57
Słonecznik zwyczajny (<i>Helianthus annus</i>)	liścienie	32–46
Sosna pinia (<i>Pinus densiflora</i>)	megagametofit prabielmo	45
Soja (<i>Glycine max.</i>)	liścienie	17–22
Len zwyczajny (<i>Linum usitatissimum</i>)	liścienie	35
Pomidor (<i>Lycopersicum esculentum</i>)	bielmo	15
Bób (<i>Vicia faba</i>)	liścienie	1,5
Kukurydza (<i>Zea mays</i>)	zarodek	4,7

2. Wykorzystanie sacharozy przez rozwijające się nasiona

Sacharoza jest pierwotnym i głównym substratem służącym w rozwijających się nasionach do syntezy podstawowych substancji zapasowych, jak: białka, lipidy i węglowodany (rys. 1).

Asymilaty, wśród których dominuje pod względem ilościowym sacharoza, dopływają do rozwijających się nasion głównie z liści oraz w znacznie mniejszej mierze z kłosów, strąków i łodyg za pośrednictwem floemu.



Rysunek 1. Przemiany sacharozy w nasieniu. Importowana z liści i owocni sacharoza ulega przekształceniu drogą glikolizy w acetylo-CoA (1), a następnie w kwasy tłuszczowe (2) i glicerolo-3-P (3). Estryfikacja glicerolo-3-P z udziałem kwasów tłuszczowych prowadzi do syntezy lipidów zapasowych i strukturalnych (4). Pośrednie metabolity glikolizy, łącznie z importowanymi aminokwasami służą do syntezy białek zapasowych i innych białek nasion (5). We wczesnym okresie rozwoju nasion oleistych część sacharozy może przekształcić się w skrobię (6). W środkowej fazie rozwoju nasion oleistych polisacharyd ten w większości przemienia się znowu w sacharozę (7)

Miejszem syntezy sacharozy są też same rozwijające się nasiona wielu gatunków roślin, które zawierają plastydy przypominające chloroplasty o dość dobrze wykształconej strukturze lamellarnej. Chloroplasty takie są zdolne do przeprowadzenia reakcji fotosyntezy [18]. Tą drogą tworzy się jednak w nasionach niewielka ilość sacharozy.

U zbóż większość sacharozy wnikająca do rozwijających się ziarniaków ulega przekształceniu w skrobię. Do syntezy lipidów zużywają ziarniaki mniej niż 5%

ogólnego węgla asymilatów. W rozwijających się nasionach niektórych roślin motylkowatych zasobnych w białka (bób, groch) importowana z liści sacharoza jest zużywana głównie do syntezy białek i skrobi. Z kolei nasiona roślin oleistych (rzepak, słonecznik) do syntezy tłuszczów zapasowych wykorzystują ok. 40–50% węgla ogólnego, białek zapasowych zaś — dalsze 20–30% [13].

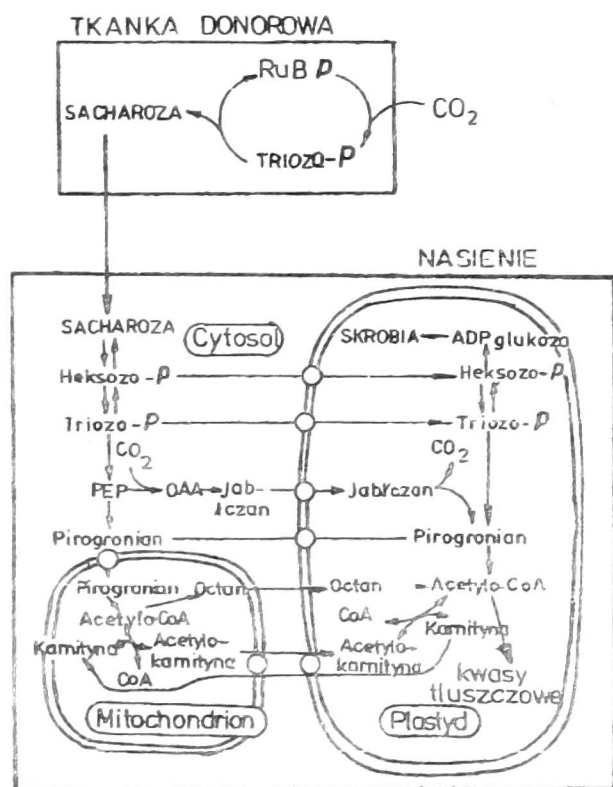
3. Synteza kwasów tłuszczowych

Wykazano, że głównym miejscem syntezy *de novo* kwasów tłuszczowych w nasionach są plastydy (zwane też protoplastami) [10]. Do ich syntezy niezbędny jest powstający w tkankach nasion z sacharozy acetylo-CoA (rys. 2). Ostatnio stwierdzono, że w plastydach odbywa się zarówno synteza *de novo* palmitynianu (16:0), który ulega elongacji do stearynianu (18:0), jak i desaturacja tego ostatniego do oleinianu (18:1) [13, 16].

Natomiast dalsze modyfikacje pierwotnych kwasów tłuszczowych dokonują się już w cytoplazmie na retikulum endoplazmatycznym (ER) [14, 22].

3.1. Powstawanie acetylo-CoA z sacharozy

Sacharoza, przenikając do rozwijających się nasion, ulega w cytoplazmie komórek (np. liścieni) hydrolizie z udziałem β -fruktofuranosyldazy na cukry proste, które po przemianie w odpowiednie fosforany heksoz ulegają przemianie glikolitycznej (rys. 2). Obecnie przyjmuje się istnienie dwóch głównych dróg prowadzących do syntezy acetylo-CoA w nasionach.



Rysunek 2. Wzajemne powiązania metaboliczne podczas syntezy lipidów i skrobi występujące pomiędzy cytozolem i plastydami w komórkach tkanek zapasowych nasion roślin oleistych. Podstawowe szlaki metaboliczne są zakreślone. Metabolity degradacji glukozy powstające w cytoplazmie podstawowej lub mitochondriach są przekazywane za pośrednictwem odpowiednich nośników białkowych do plastydów [13]

1. Wytworzone w wyniku rozpadu sacharozy fosforany heksoz mogą w cytosolu drogą glikolizy przekształcić się w pirogronian, który po przemieszczeniu się do mitochondrium lub plastydu może ulec dekarboksylacji oksydacyjnej do acetylo-CoA. Aktywny octan może w mitochondriach w wyniku hydrolizy przemienić się w wolny octan [13]. Pośrednie metabolity glikolizy wytwarzane w cytoplazmie podstawowej mogą też być przetransportowane bezpośrednio do plastydu, gdzie ulegają przekształceniu w acetylo-CoA. Ponadto octan, jako wolny kwas, może stosunkowo łatwo przenikać z mitochondrium do plastydu, gdzie w obecności syntetazy acetylo-CoA przekształca się w aktywny octan. Z drugiej strony reszta octanowa z acetylo-CoA najefektywniej jest transportowana w postaci acetylokarnityny (rys. 2).
2. Importowane z cytoplazmy podstawowej fosforany heksoz mogą też w plastydach pod wpływem enzymów glikolitycznych ulec rozpadowi do pirogronianu; który w obecności plastydowego kompleksu dehydrogenazy pirogronianowej przekształca się w acetylo-CoA [4].

W wyniku wielu badań przeprowadzonych na dobrze oczyszczonych izolowanych plastydach (np. z bielma rącznika) stwierdzono, że znakowane ^{14}C -metabolity glikolizy, takie jak fosforany heksoz, triozofosforany, pirogronian, a także $^{14}\text{CO}_2$, włączają się przez acetylo-CoA do kwasów tłuszczowych [13]. Ostatnio wykazano również, że wysoko oczyszczone i nie uszkodzone plastydy wyizolowane z liścieni rozwijających się nasion rzepaku charakteryzowały się dużą aktywnością enzymów glikolitycznych; maksymalna ich aktywność zbiegała się w czasie z intensywnym gromadzeniem w nasionach rzepaku lipidów zapasowych.

Warto też dodać, że w tkankach zapasowych młodych nasion fosforany heksoz, po przeniknięciu do plastydów, przemieniają się częściowo w skrobię. Gromadzenie się skrobi w liścieniach podczas wczesnego rozwoju nasion jest zjawiskiem powszechnie występującym u roślin oleistych. W miarę rozwoju nasion skrobia ulega degradacji do heksoz i w dojrzałych nasionach roślin oleistych wielocukier ten występuje w śladowych ilościach.

3.2. Synteza pierwotnych kwasów tłuszczowych w plastydach

W plastydach nasion roślin oleistych wykryto aktywność wszystkich podstawowych enzymów odpowiedzialnych za przemianę produktów degradacji sacharozy w palmitynian (16:0), stearynian (18:0) i oleinian (18:1). Więkość tych enzymów oczyszczono do stanu homogenności. Obecnie, stosując odwrotną transkryptazę (polimerazę DNA zależną od RNA), katalizującą powstawanie cDNA, ustala się sekwencję nukleotydową genów kodujących syntezę odpowiednich podjednostek enzymów [13].

Synteza kwasów tłuszczowych w plastydach przebiega przy współudziale dwóch układów enzymatycznych: karboksylazy acetylo-CoA, dostarczającej malonylo-CoA, oraz kompleksu syntetazy kwasów tłuszczowych. Wymienione kompleksy enzy-

matyczne dokonują syntezy palmitynianu, który to kwas w plastydach podlega elongacji do stearynianu przy udziale specyficznej elongazy. Następnie stearynian w wyniku odwodorowania (desaturacji) przekształca się w oleinian (rys. 3).

Syntezę malonylo-CoA katalizuje karboksylaza acetylo-CoA, która występuje w nieaktywnej formie protomerycznej (zdysocjowanej) i aktywnej — polimerycznej (niezdysocjowanej); masa cząsteczkowa protomeru wyizolowanego z nasion różnych gatunków wynosi ok. 500 kDa, polimeru zaś (formuje się włókienkowy polimer zawierający do 10 protomerów) dziesięciokrotnie więcej [2].

Protomer enzymu, zawierający biotynę jako koenzym, zbudowany jest z czterech podjednostek. Pełnią one funkcje: 1) karboksylazy biotynowej przyłączającej CO₂ do biotyny, 2) drobnocząsteczkowego białka (ok. 9 kDa) będącego nośnikiem karboksybiotyny (BCCP-biotyn carboxyl carrier protein), 3) transkarboksylazy, która katalizuje przeniesienie zaktywowanej grupy CO₂ z karboksybiotyny na acetylo-CoA, 4) podjednostki regulacyjnej. Dwuetapowy przebieg karboksylacji acetylo-CoA z udziałem trzech rodzajów podjednostek można przedstawić następująco: enzym-biotyna + ATP + HCO₃⁻ → CO₂-biotyna-enzym + ADP + Pi + H⁺ oraz CO₂-biotyna-enzym + acetylo-CoA → malonylo-CoA + enzym-biotyna.

Synteza *de novo* kwasów tłuszczowych o parzystej liczbie atomów węgla polega na dołączaniu do wydłużającego się łańcucha węglowodorowego coraz to nowych jednostek dwuwęglowych, których donorem jest malonylo-CoA (rys. 3).

Biosyntezę kwasów tłuszczowych katalizuje kompleks enzymatyczny składający się z siedmiu enzymów, zwany syntetazą kwasów tłuszczowych. Kompleks ten wyizolowany z prokariotów lub roślin wyższych dość łatwo ulega dysocjacji na poszczególne składniki (polipeptydy) zachowujące aktywność enzymatyczną.

Taki kompleks określa się jako syntetazę typu II. Syntetazę typu I wyodrębniono z komórek drożdży oraz z tkanek ssaków. W kompleksie tym poszczególne enzymy są silnie ze sobą powiązane [13, 15].

Ustalono, że ważnym składnikiem omawianego kompleksu jest drobnocząsteczkowe białko przenoszące reszty acylowe (acyl carrier protein-ACP). ACP stanowi centralny składnik kompleksu. Białko to dzięki użyciu elastycznego ramienia zawierającego układ 4-fosfopanteiny pełni rolę przenośnika grupy acylowej z jednego enzymu na drugi, gdzie dokonują się określone przemiany.

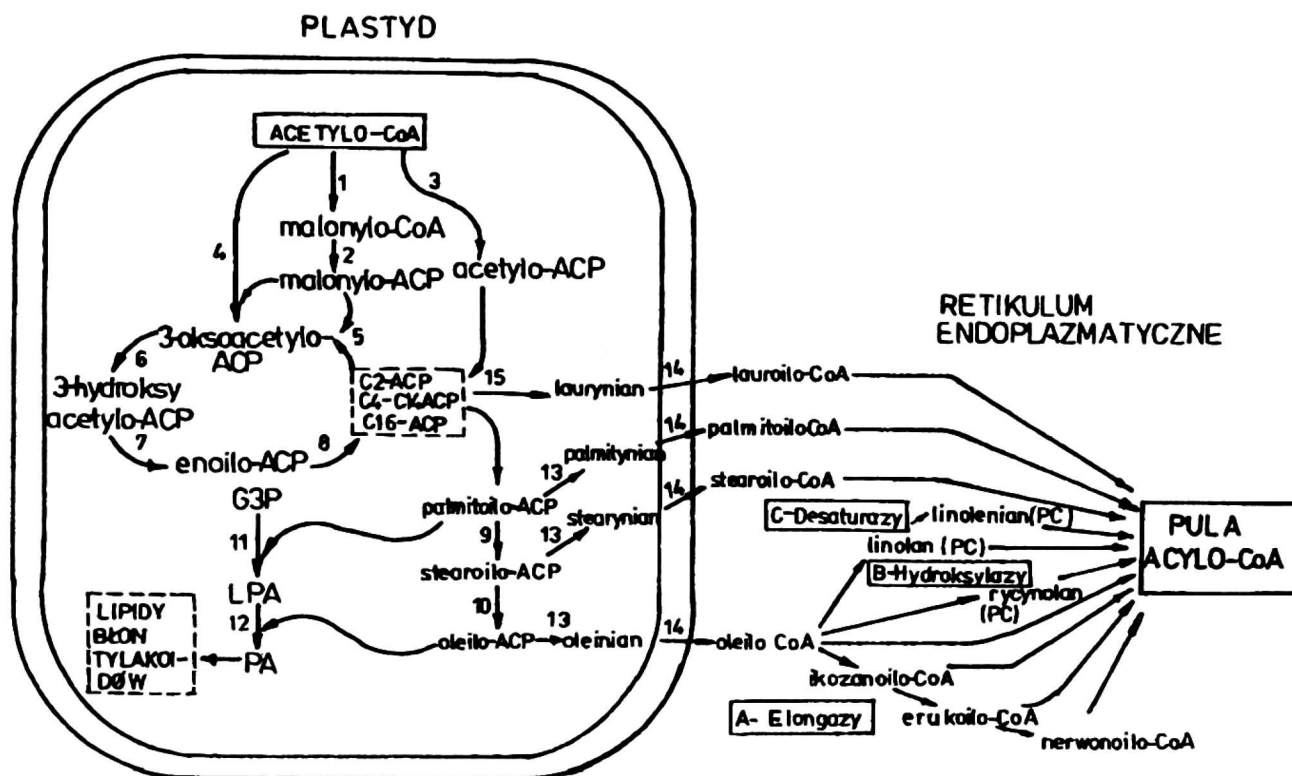
Oprócz ACP w skład kompleksu syntetazy wchodzi następujące główne enzymy (rys. 3).

1 — acetylotransferaza acetylowa (transacylaza acetylowa), która katalizuje przeniesienie reszty acetylowej z HS-CoA na HS-ACP,

2 — acylotransferaza malonylowa (transacylaza malonylowa), katalizująca przeniesienie reszty malonylowej z malonylo-CoA na HS-ACP,

3 — syntaza 3-oksoacylo-ACP, odpowiedzialna za kondensację acetylo-ACP z malonylo-ACP,

4 — reduktaza 3-oksoacylo-ACP, katalizująca redukcję do 3-hydroksyacylo-ACP,



Rysunek 3. Biosynteza i modyfikacje kwasów tłuszczowych w nasionach; (1) karboksylaza acetylo-CoA; (2) transacylaza malonylo-CoA:ACP; (3) transacylaza acetylo-CoA: ACP; (4) syntaza III 3-okso-acylo-ACP; (5) syntaza I 3-oksoacylo-ACP; (6) reduktaza 3-oksoacylo-ACP; (7) dehydrataza 3-hydroksyacylo-ACP; (8) reduktaza enoilo-ACP; (9) elongaza palmitoilo-ACP; (10) desaturaza stearoilo-ACP; (11) acylotransferaza acylo-ACP: glicerolo-3-fosforanowa; (12) acylotransferaza acylo-ACP: lizofosfatydynianowa, (13) tioesteraza długołańcuchowego acylo-ACP; (14) syntetaza acylo-CoA; (15) tioesteraza średniołańcuchowych acylo-ACP. Wytworzone w plastydach aktywne kwasy tłuszczowe są następnie eksportowane do cytosolu, gdzie w obrębie retikulum endoplazmatycznego służą bezpośrednio lub po modyfikacji do biosyntezy triacylogliceroli. Typowe modyfikacje obejmują: (A) elongację oleoilo-CoA do długołańcuchowych monoenowych acylo-CoA, (B) hydroksylację oleinianu do rycynolanu zależną od fosfatydylocholiny (PC) oraz (C) desaturację oleinianu do linolanu i linolenianu zależną od PC [13]

5 — dehydrataza 3-hydroksyacylo-ACP, katalizująca odłączenie cząsteczki wody,

6 — reduktaza enoilo-ACP, prowadząca drugą redukcję do acylo-ACP.

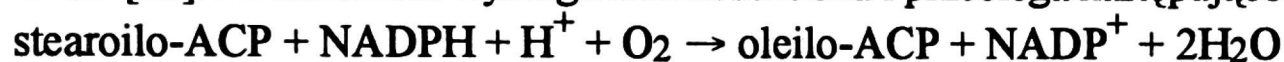
W początkowym okresie syntezy kwasów tłuszczowych przeniesione na ACP reszty: acetylowa i malonylowa podlegają kondensacji do acetoacetylo-ACP z uwolnieniem CO_2 . Produkt kondensacji podlega następnie dwukrotnej redukcji (z udziałem reduktaz i NADPH) do butyrylo-ACP. Cykle elongacyjne są powtarzane aż do uzyskania palmitoilo-ACP.

Należy dodać, że w rozwijających się nasionach roślin oleistych (głównie rzepaku) wykryto trzy typy (I, II i III) syntazy 3-oksoacylo-ACP (KAS) [10, 13]. I tak KAS I może uczestniczyć w kondensacji acylo-ACP z resztą malonylową do otrzymania 14:ACP, podczas gdy KAS II do sformowania 16:ACP. Z kolei KAS III jest odpowiedzialna za pierwszą reakcję kondensacji, tj. kondensację reszty acetylowej z

malonylową. Wymienioną syntazę KAS I, a także obie reduktazy oraz dehydratazę, jako składniki syntetazy kwasów tłuszczowych, oczyszczono do stanu homogenności, określając też częściowo ich sekwencję aminokwasową. Kwas palmitynowy jest zasadniczym produktem działania syntetazy kwasów tłuszczowych. Dlatego też kompleks ten można obecnie nazwać syntetazą palmitoilo-ACP. W przypadku syntezy krótszych łańcuchów (np. 14:0) proces elongacji zatrzymuje się wcześniej, tworząc np. lauroilo-ACP, co obserwuje się m.in. w nasionach rzepaku (u transgenicznym form roślin) zawierających ponad 23% laurynianu [21].

W plastydach zwykle zdecydowana większość wytworzonego *de novo* palmitoilo-ACP ulega wydłużeniu do stearoilo-CoA za pomocą odrębnego układu enzymatycznego, czyli tzw. elongazy palmitoilo-ACP [13]. Dawcą grup dwuwęglowych jest najprawdopodobniej malonylo-CoA.

Ważnym procesem jest wytwarzanie w obrębie łańcucha węglowodorowego wiązań podwójnych *cis*, czyli powstawanie kwasów nienasyconych. U większości nasion stearoilo-ACP (w oleju z nasion roślin oleistych kwasy nasycone występują w niewielkiej ilości) podlega zwykle odwodowaniu przez desaturazę stearoilo-ACP Δ_9 do oleilo-ACP [13]. Przemiana ta wymaga obecności tlenu i przebiega następująco:



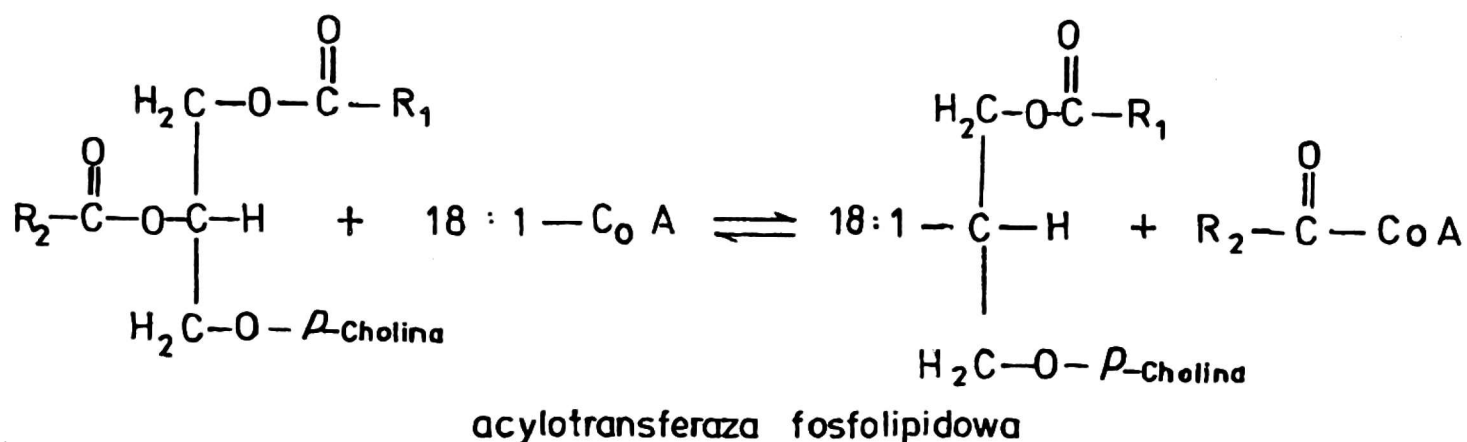
W przeciwieństwie do innych desaturaz kwasów tłuszczowych związanych z błonami — desaturaza kwasu stearynowego została najlepiej poznana [17]. Sekwencje cDNA kodujące ten enzym określono w nasionach rzepaku, soi, ogórka i rącznika. Blokując ekspresję genu odpowiedzialnego za kodowanie enzymu desaturazy stearoilo-ACP, można doprowadzić do nagromadzenia w triacyloglicerolach nasion rzepaku do ponad 40% kwasu stearynowego [11]. Trzeba dodać, że w błonach komórkowych zawartość kwasu stearynowego nie ulega wówczas zmianie.

Wytworzone w plastydach pierwotne kwasy tłuszczowe (16:0-ACP, 18:0-ACP, 18:1-ACP) ulegają hydrolizie pod wpływem odpowiednich hydrolaz acylo-ACP (zwanym też tioesterazami, deacylazami) do wolnych kwasów (rys. 3). Kwasy te podczas transportu przez otoczkę plastydu do cytosolu są przekształcane w formy acylo-CoA w obecności odpowiednich syntetaz.

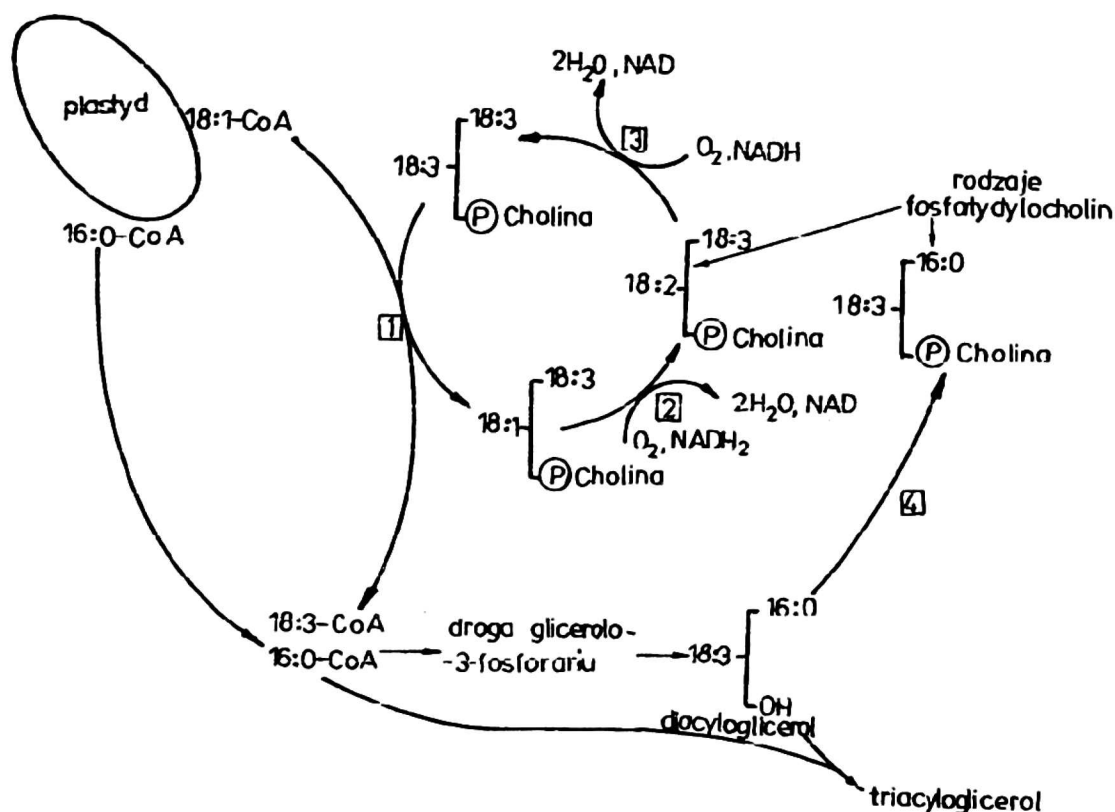
3.3. Pochodne kwasu oleinowego

W lipidach występuje wiele różnorodnych kwasów tłuszczowych — pochodnych oleinianu. Różnorodne modyfikacje reszty acylowej kwasu oleinowego, dokonujące się już w cytosolu na błonach ER, obejmują takie przemiany, jak dalszą desaturację, hydroksylację, epoksydację, a także wydłużanie łańcucha.

Proces desaturacji oleinianu do linolenianu najintensywniej był badany w rozwijających się nasionach krokosza barwierskiego [13, 19]. W ostatnich latach nagromadzono wiele faktów świadczących o tym, że tworzenie się kwasów polienowych (18:2, 18:3) jest



Rysunek 4. Reakcja transacylacji. Acylotransferaza fosfolipidowa katalizuje wymianę kwasów tłuszczowych pomiędzy estrami-CoA i fosfolipidami. W reakcji tej następuje zamiana wielonienasyconego kwasu zawartego w PC (fosfatydylocholina) na kwas oleinowy [16]



Rysunek 5. Schemat obrazujący możliwość udziału acylo-CoA, acylotransferazy fosfolipidowej i desaturaz kwasów tłuszczowych fosfatydylocholiny w tworzeniu się wielonienasyconych estrów acylo-CoA. Acylotransferaza fosfolipidowa (1) katalizuje wymianę linolenianu (18:2) lub linolenonianu (18:3) w pozycji 2 fosfatydylocholiny na resztę oleinianu (z estru 18:1-CoA), tworząc wielonienasycone Acylo-CoA (pokazano tylko reakcję z 18:3-fosfatydylocholiną). Oleinian wprowadzony do fosfolipidu podlega najpierw utlenieniu przez desaturazę oleilofosfatydylocholinową (2), a następnie desaturazę linolilofosfatydylocholinową (3). Wielonienasycone acylo-CoA łącznie z acylo-CoA pochodzącymi bezpośrednio z plastydu są włączane szlakiem glicerolo-3-fosforanowym do triacylogliceroli. Aktywna cholina reaguje z 1,2-diacyloglicerolem przy udziale cholinofosfotransferazy (4), dając fosfatydylocholinę [16]

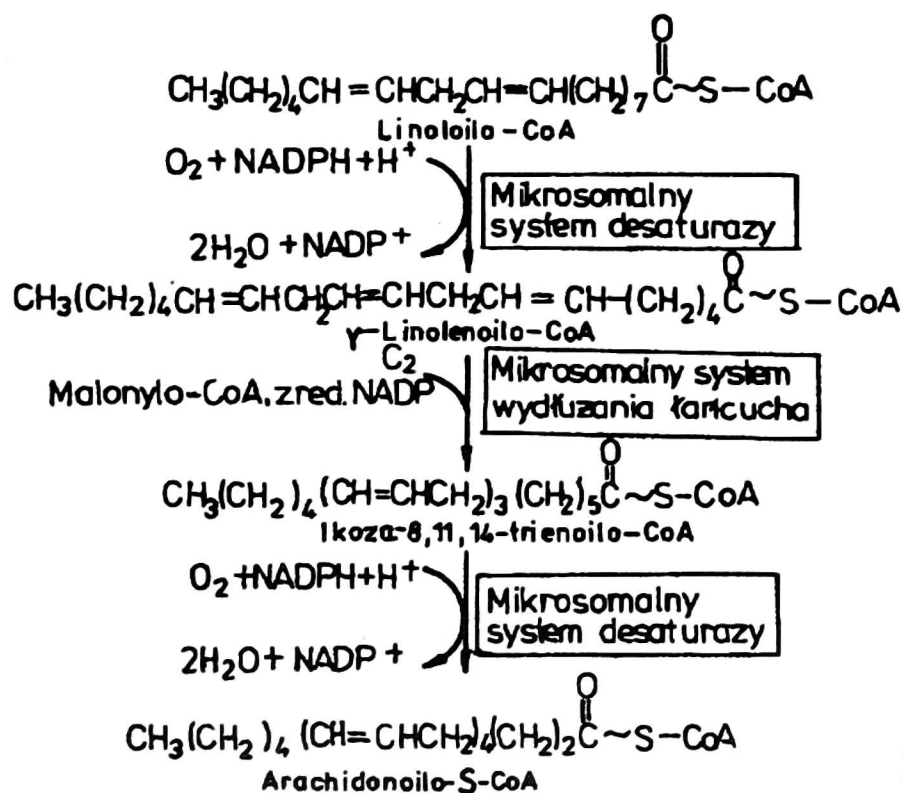
w sposób istotny związane z metabolizmem fosfolipidów (PL), a zwłaszcza fosfatydylocholiny (PC) [13, 16]. Mechanizm tego procesu przedstawiono na rysunkach 4 i 5.

Na początku aktywny oleinian (18:1-CoA) włącza się do PC (poz.*sn*-2), uwalniając równocześnie z fosfolipidu odpowiedni wielonienasycony kwas. Następnie oleilo-PC ulega desaturacji do linoloilo-PC. Z kolei kwas linolowy związany z PC może ulec utlenieniu do kwasu α -linolenowego (18:3; 9, 12, 15), a ściślej — α -linolenilo-PC. Istnieje również alternatywna droga desaturacji linolanu do γ -linolenianu (18:3; 6, 9, 12), występująca w nasionach ogórecznika i wiesiołka. Substratem tej przemiany jest także linoloilo-PC [5].

Ostatnio sklonowano cDNA (określając jego sekwencję nukleotydową) kodującego desaturazę linolanową Δ_{15} z nasion rzepaku [1].

Warto nadmienić, że takie kwasy polienowe, jak linolan i α -linolenian, należą do podstawowych niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych (NNKT). Człowiek i zwierzęta, ze względu na brak odpowiednich układów enzymatycznych, nie mają zdolności do syntezy obu wymienionych kwasów. Do NNKT należy też izomer α -linolenianu, czyli γ -linolenian oraz arachidonian (20:4; 5, 8, 11, 14).

Prekursorem kwasu γ -linolenowego i arachidonowego u człowieka i zwierząt jest kwas linolowy (rys. 6). Przemiana ta rozpoczyna się od odwodorowania linoloilo-CoA i biegnie przez γ -linolenilo-CoA, po czym następuje dołączanie jednostki dwuwęglowej (z malonylo-CoA) z utworzeniem aktywnego ikozatrienianu (homo- γ -linolenianu). Kwas ten po odwodorowaniu przekształca się w arachidonian (all-cis,5,8,11,14-ikozatetracenenowy). Kwas γ -linolenowy, podobnie jak arachidonowy, jest kwasem względnie egzogennym przy dostatecznym zaopatrzeniu ustroju w kwas linolowy.



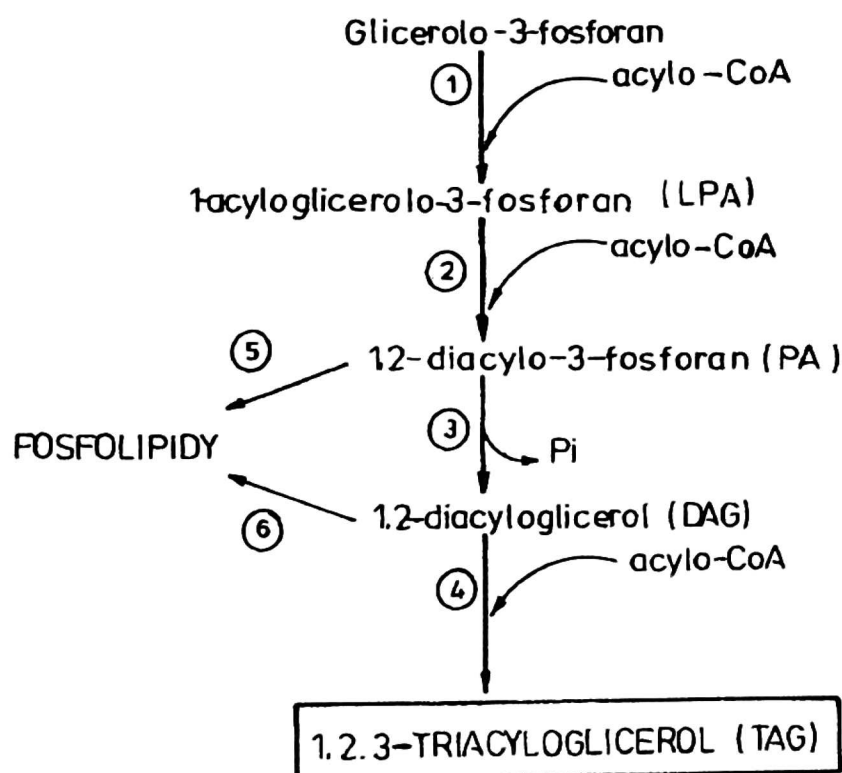
Rysunek 6. Przekształcenie linolenianu w arachidonian

Oleilo-PC jest też substratem wykorzystywanym w obecności hydroksylazy do syntezy kwasu rycynolowego (12-hydroksy-9-oktadecenowego) [14].

4. Synteza triacylogliceroli (TGA)

W rozwijających się nasionach tłuszcze zapasowe są syntetyzowane na błonach ER drogą glicerolo-3-fosforanową, zwaną też szlakiem Kenedy'ego [8, 13]. Glicerolo-3-fosforan może powstać albo w wyniku bezpośredniej fosforylacji glicerolu, katalizowanej przez kinazę glicerolową, albo przez redukcję fosforanu dihydroksyacetonu. Estryfikacja kwasami tłuszczowymi glicerolo-3-fosforanu w pozycjach sn-1 i sn-2 jest katalizowana w dwóch kolejnych reakcjach przez odpowiednie acylotransferazy (rys. 7). Enzymy te wykazują znaczną specyficzność wobec struktury acylu.

Wskazuje się też na istnienie alternatywnej drogi syntezy acylogliceroli, w której



Rysunek 7. Biosynteza triacylogliceroli w nasionach. Glicerolo-3-fosforan z udziałem odpowiednich acylotransferaz ulega stopniowej acylacji do acylogliceroli:

(1) acylotransferaza acylo-CoA: glicerolo-3-fosforan

(2) acylotransferaza acylo-CoA: lizofosfatydynian

(3) fosfohydrolaza fosfatydynianowa

(4) acylotransferaza acylo-CoA: diacyloglicerol. Zarówno fosfatydynian, jak i diacyloglicerol mogą być też użyte do syntezy glicerofosfolipidów błonowych w obrębie ER z udziałem enzymów:

(5) cytydyliotransferaza CTP:1,2-diacyloglicerolo-3-fosforan

(6) fosfotransferaza 1,2-diacyloglicerol: cholina

estryfikacji przy C-1 ulega fosforan dihydroksyacetonu. Produkt tej reakcji w wyniku redukcji przekształca się w 3-fosforan 1-acyloglicerolu, czyli kwas lizofosfatydowy (LPA). Ten ostatni związek może z kolei ulec estryfikacji w pozycji *sn*-2, tworząc 3-fosforan 1,2-diacylo-*sn*-glicerolu zwany kwasem fosfatydowym (PA).

Powstały kwas fosfatydowy pełni kluczową rolę zarówno w syntezie triacylogliceroli, jak i fosfolipidów czy glikolipidów. Podczas syntezy triacylogliceroli kwas fosfatydowy ulega hydrolizie (defosforylacji) pod wpływem specyficznej fosfohydrolazy fosfatydylowej do 1,2-diacylo-*sn*-glicerolu. Następnie diacyloglicerol (DAG) podlega trzeciej estryfikacji przy C-3, katalizowanej przez acylotransferazę specyficzną do pozycji *sn*-3 (rys. 7), dając triacyloglicerol.

Rozmieszczenie określonych grup acylowych w obrębie cząsteczek acylogliceroli nie jest przypadkowe. Na przykład w tłuszczach zapasowych nasion rzepaku reszty kwasu erukowego umieszczone są głównie w pozycjach *sn*-1 i *sn*-3 [13]. O umieszczeniu danej reszty acylowej w określonej pozycji w cząsteczce glicerolu decyduje specyficzność substratowa acylotransferaz [13]. Wykazano, że np. acylotransferaza glicerolofosforanowa rozwijających się liścieni kakaowca sprzyja włączaniu się do glicerolo-3-P(G3P) w pozycję *sn*-1 palmitynianu, a nie stearynianu, podczas gdy acylotransferaza LPA stymuluje proces estryfikacji nienasyconych kwasów tłuszczowych przy C-2.

W rozwijających się nasionach rzepaku — zarówno acylotransferaza G3P, jak i DAG — efektywnie uczestniczą w estryfikacji wymienionych substratów kwasem erukowym, podczas gdy acylotransferaza LPA działa bardziej selektywnie, uniemożliwiając włączenie tego kwasu do pozycji *sn*-2. Z uwagi na to, że kwas erukowy jest cennym surowcem przemysłowym, podejmuje się próby zmodyfikowania specyficzności substratowej tego enzymu wobec LPA nasion rzepaku, np. przez wprowadzenie do roślin rzepaku genu z innych gatunków (np. nasturcji) [12], kodującego acylotransferazę stymulującą włączenie kwasu erukowego do lizofosfatydynianu.

Literatura

- [1] Arondel V., Lemieux B., Huang I., i in. 1992. Map-based cloning of gene controlling omega-3 fatty acid desaturation. *Science* 258: 1353–1358.
- [2] Bettey M., Ireland R. J., Smith A. M. 1992. Purification and characterisation of acetyl-CoA carboxylase from developing pea embryos. *J. Plant Physiol.* 140: 513–520.
- [3] Bewley J.D., Black M. 1978. Physiology and biochemistry of seeds. Springer-Verlag, Berlin. vol. 1, pp: 69–77.
- [4] Dennis D. T., Mierynk J. A. 1990. Compartmentation of nonphotosynthetic carbon metabolism. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 33: 27–50.
- [5] Griffiths L., Stobart A. K., Stymne S. 1988. Δ_6 and Δ_{12} desaturase activities and phosphatidic acid formation in microsomal preparations from the developing cotyledons of common borage. *Biochem. J.* 252: 641–647.
- [6] Grzesiuk S., Kulka K. 1981. Fizjologia i biochemia nasion. PWRiL, Warszawa: 181–191.

- [7] Grzesiuk S., Kulka K. 1988. *Biologia ziarniaków zbóż*. PWN, 122–128.
- [8] Gurr M.I. 1980. The biosynthesis of triacylglycerols. In: *The Biochemistry of Plants* (P.K. Stumpf, E.E. Conn, eds). Acad. Press, New York, vol. 4, pp. 205–248.
- [9] Harwood J.L. 1980. Plant acyl lipids. In: *The Biochemistry of Plants*, (P.K. Stumpf, E.E. Conn, eds). Acad. Press, New York, vol. 4, pp. 1–55.
- [10] Harwood J.L. 1988. Fatty acids metabolism. *Ann. Rev. Plant Physiol. and Plant Molec. Biol.* 39: 101–138.
- [11] Kuntzon D.S., Thompson G.A., Radke S.E., i in. 1992. Modification of Brassica seed oil by antisense expression of stearyl-acyl carrier protein desaturase gene. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 89: 2624–2628.
- [12] Loehden I., Frentzen M. 1992. Triacylglycerol biosynthesis in developing seeds of *Tropaeolum majus* L. and *Limnanthes douglasii* R Br. *Planta* 188: 215–224.
- [13] Murphy D.J., Rawsthorne, Hills M.J. 1993. Storage lipid formation in seed. *Seed Sci. Research* 3: 79–95.
- [14] Richards D.E., Taylor R.D., Murphy D.J. 1993. Localisation and possible substrate specificity of the oleate hydroxylase of developing castor bean seeds. *Plant Physiol. Biochem.* 31: 89–94.
- [15] Slabas A.R., Fawcett T. 1992. The biochemistry and molecular biology of plant lipid biosynthesis. *Plant Molec. Biol.* 19: 169–191.
- [16] Slack C.R., Browse J.A. 1984. Synthesis of storage lipids in developing seeds. In: *Seed Physiology Development* (D.R. Murray, ed.). Acad. Press, Sydney-Tokyo, vol. 1, pp. 209–240.
- [17] Slocombe S.P., Cummins I., Jarvis P., Murphy D.J. 1992. Structure and temporal regulation of embryo-specific Brassica napus cDNA encoding of stearyl-acyl carrier protein (ACP) desaturase. *Plant Molec. Biol.* 20: 151–156.
- [18] Smith A. M., Quinton-Tulloch J., Denyer K. 1990. Characteristics of plastids responsible for starch synthesis in developing pea embryos. *Planta.* 180: 517–523.
- [19] Stobart A. K., Stymne S. 1990. Triacylglycerol biosynthesis. In: *Methods in Plant Biochemistry* (J.L. Harwood., Bowyer J. (eds) .4: 19–46.
- [20] Šarapov V.I. 1956. *Chemizm roślin a klimat*. PWRiL, Warszawa.
- [21] Voelker T. A., Worrell A. C., Anderson L. i in. 1992. Fatty acid biosynthesis redirected to medium chains in transgenic oilseed plants. *Science* 257: 72–73.
- [22] Whitfield H. W., Murphy D. J., Hills M. J. 1993. Subcellular localization of very long chain fatty acid elongases in oilseeds. *Phytochemistry* 32: 255–258.

Lipid of developing seeds Part. I. Lipid formation

Summary

The mechanism of lipid formation in seeds is reviewed. Seed lipids are ultimately derived from simple carbon compounds such as sucrose, which are imported into seeds from source tissues, such as leaves or pods. Lipids are synthesized from fatty acids derived from acetyl-CoA and glycerol 3-phosphate. Fatty acid biosynthesis and acetyl-CoA formation occurs within the plastids to produce oleoyl-CoA. Further elaboration of oleoyl-CoA to produce polyunsaturates, hydroxylates or long chain acyl-CoAs occurs on the endoplasmic reticulum, as does the esterification of acyl-CoAs to glycerol-3-phosphate to produce the final triacylglycerols-storage lipids.