

Záverečná karta projektu

Názov projektu Evidenčné číslo projektu **APVV-0785-11**

Lipotoxicita u kvasiniek: mechanizmy ochrany pri akumulácii mastných kyselín a skvalénu

Zodpovedný riešiteľ **Mgr. Roman Holič, PhD.**

Príjemca **Ústav biochémie a genetiky živočíchov SAV**

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

1. Ústav biochémie a genetiky živočíchov SAV
- 2.
- 3.
- 4.
- 5.

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

1. Dr. Hiroshi Uemura, Bioproduction Research Institute, AIST, Tsukuba, Japonsko
2. Dr. Randall Weselake, Agricultural, Food & Nutritional Science, University of Alberta, Edmonton, Kanada
3. Dr. Jan Malínský, Ústav experimentální medicíny AV ČR, v. v. i., Praha, Česká republika

Udelené patenty/podané patentové prihlášky, vynálezy alebo úžitkové vzory, ktoré sú výsledkami projektu

- 1.
- 2.
- 3.

Najvýznamnejšie publikácie (knihy, články, prednášky, správy a pod.) zhrňujúce výsledky projektu – uveďte aj publikácie prijaté do tlače

1. GARAIOVÁ, Martina - ZAMBOJOVÁ, Veronika - ŠIMOVÁ, Zuzana - GRIÁČ, Peter - HAPALA, Ivan. Squalene epoxidase as a target for manipulation of squalene levels in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. In FEMS Yeast Research, 2014, vol. 14, no. 2, p. 310-323. (2.436 - IF2013). (2014 - Current Contents). ISSN 1567-1356.
2. DROZDÍKOVÁ, Eva - GARAIOVÁ, Martina - CSÁKY, Zsófia - OBERNAUEROVÁ, Margita - HAPALA, Ivan. Production of squalene by lactose-fermenting yeast *Kluyveromyces lactis* with reduced squalene epoxidase activity. In Letters in Applied Microbiology, 2015, vol. 61, no. 1, p. 77-84, (1.659 - IF2014), ISSN 1472-765X.

3. SEČ, Peter - GARAIOVÁ, Martina - GAJDOŠ, Peter - ČERTÍK, Milan - GRIČ, Peter - HAPALA, Ivan - HOLIČ, Roman. Baker's Yeast Deficient in Storage Lipid Synthesis Uses cis-Vaccenic Acid to Reduce Unsaturated Fatty Acid Toxicity. In Lipids., 2015, vol. 50, no. 7, p. 621-30, (1.854 - IF2014), ISSN 0024-4201.
4. VALACHOVIC, Martin - GARAIOVA, Martina - HOLIC, Roman - HAPALA, Ivan. Squalene is lipotoxic to yeast cells defective in lipid droplet biogenesis. In Biochemical Biophysical Research Communications, 2016, vol. 469, no. 4, pp. 1123-1128, (2.297 - IF2014), ISSN 0006-291X.
5. VALACHOVIČ, Martin – HAPALA, Ivan. Biosynthetic approaches to squalene production: the case of yeast. In Methods in Molecular Biology, Vaccine Adjuvants: Methods and Protocols. Ed. Christopher B. Fox, Springer Science and Business Media, LLC, New York, ISSN: 1064-3745 – v tlači

Uplatnenie výsledkov projektu

Projekt bol primárne zameraný na základný výskum, avšak dosiahnuté výsledky môžu nájsť uplatnenie v niektorých oblastiach biotechnológií:

- Ovplyvňovaním aktivity enzýmu skvalén epoxidázy pomocou špecifického inhibítora (terbinafinu) alebo cieľenými genetickými zmenami v danom enzýme je možná vysoká produkcia skvalénu v kvasinkových bunkách.
- Pri vysokom obsahu môže byť skvalén lipotoxický a táto toxicita sa dá znížiť stimuláciou skladovacej kapacity lipidových partikul, bunkových organel slúžiacich ako zásobáreň neutrálnych lipidov.
- Na produkciu skvalénu sa dá použiť biotechnologicky významná kvasinka *Kluyveromyces lactis*, ktorá dokáže pre rast využívať odpady mliekarenského priemyslu.
- Objav doteraz neznámeho mechanizmu detoxifikácie nenasýtených mastných kyselín (elongácia kyseliny palmitolejovej na kyselinu cis-vakcénovú) je významný pri nadprodukcii mastných kyselín u buniek s defektom v syntéze triacylglycerolov.
- Proces sekrécie mastných kyselín uľahčí izoláciu mastných kyselín a otvára nové možnosti pre kontinuálnu produkciu mastných kyselín a ich separáciu z kultivačného média.
- Sekrécia mastných kyselín by mala umožniť produkciu biotechnologicky cenných mastných kyselín, ktorých syntéza v kvasinkách je za štandardných podmienok obmedzená ich toxicitou.
- Sekrécia mastných kyselín je možná aj pri kultivácii na melase ako lacnom rastovom substráte, čo výrazne zníži náklady na produkciu mastných kyselín.
- Index nasýtenosti sekretovaných mastných kyselín je možné ovplyvňovať zmenami kultivačnej teploty, čo je dôležité pre optimalizáciu zloženia mastných kyselín pre produkciu biopalív.

CHARAKTERISTIKA VÝSLEDKOV

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v slovenskom jazyku (max. 20 riadkov)

Počas riešenia projektu sme získali dôležité poznatky o lipotoxicite dvoch druhov lipofilných látok: mastných kyselín a skvalénu. Ukázali sme, že lipotoxický účinok biotechnologicky významnej kyseliny ricínolejovej sa prejavuje prevažne na úrovni plazmatickej membrány. Odhalili sme doteraz neznámy spôsob detoxifikácie kyseliny palmitolejovej elongáciou na kyselinu cis-vakcénovú, ktorý je aktivovaný v prípade, že iné detoxifikačné mechanizmy (viazanie mastných kyselín v triacylglyceroloch alebo ich sekrécia do prostredia) sú nefunkčné. Potvrdili sme správnosť našej hypotézy, že proces sekrécie mastných kyselín môže byť využitý pri produkcii mastných kyselín, ktoré sú pre bunku toxické. Ukázali sme, že moduláciou kultivačných podmienok je možné ovplyvňovať zloženie sekretovaných mastných kyselín a tak optimalizovať produkované mastné kyseliny z hľadiska vlastnosti biopalív. Zistili sme, že skvalén je lipotoxický v prípade, že ho bunka nie je schopná efektívne uskladňovať v

lipidových partikulách - špecifických organelách slúžiacich prevažne ako zásobáreň lipidov. Ukázali sme, že lacné rastové substráty (laktóza alebo melasa), môžu byť využité pri produkcii biotechnologicky významných lipidových látok ako sú skvalén a kyselina ricínolejová. Získané poznatky nájdu širšie uplatnenie hlavne pri biotechnologickej produkcii študovaných látok.

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v anglickom jazyku
(max. 20 riadkov)

During the project we have gained important knowledge on the lipotoxicity of two types of lipophilic molecules: fatty acids and squalene. We have shown that lipotoxic effect of ricinoleic acid is manifested mostly at the level of plasma membrane. We have uncovered a previously unknown mechanism of palmitoleic acid detoxification by its elongation to cis-vaccenic acid that is activated when other detoxification mechanisms (e.g. sequestration of fatty acids in triacylglycerols or their secretion to the environment) are inoperative. We have validated our hypothesis that the process of fatty acid secretion can be used in the production of fatty acids, which are toxic to the cell. We have shown that the modulation of growth conditions can be used to influence the composition of secreted fatty acids. By doing this the characteristics of biofuels can be optimized. We have found that squalene is lipotoxic to the cells in the case the cells have defect to efficiently store it in the lipid particles, a specific organelles mainly used as a reservoir of lipids. We have shown that cheap growth substrates (such as lactose or molasses) may be employed to produce biotechnologically important lipid molecules squalene and ricinoleic acid, respectively. This knowledge will find wider application mainly in biotechnological production of studied molecules.

Svojím podpisom potvrdzujem, že údaje uvedené v záverečnej karte sú pravdivé a úplné a súhlasím s ich zverejnením.

Zodpovedný riešiteľ

Mgr. Roman Holič, PhD.

V Ivanke pri Dunaji 29. 01. 2016

Štatutárny zástupca príjemcu

RNDr. Ľubor Košťál, CSc.

V Ivanke pri Dunaji 29. 01. 2016

.....
podpis zodpovedného riešiteľa

.....
podpis štatutárneho zástupcu príjemcu