

Celem planowanego projektu jest poszerzenie dostępnej wiedzy na temat ewolucji biosyntezy skrobi. Skrobia to polimer reszt glukozy, odgrywający kluczową rolę w funkcjonowaniu roślin jako substancja zapasowa. Stanowi ona podstawę diety większości ludzkości i ma liczne zastosowania przemysłowe. Pod względem struktury chemicznej przypomina ona inny materiał zapasowy – glikogen, lecz ma bardziej złożoną i regularną budowę. W biosyntezie i degradacji skrobi uczestniczą podobne enzymy jak w przypadku glikogenu. Jej metabolizm wymaga jednak udziału dodatkowych enzymów z grupy izoamylaz, zapewniających regularność struktury skrobi, oraz dikanaz glukan- i fosfoglukan-woda (GWD i PWD), niezbędnych do jej degradacji.

W przeciwieństwie do glikogenu, powszechnie syntezowanego przez różnorodne organizmy, skrobię wykryto jedynie u niektórych sinic i kilku grup eukariotów. Wszystkie znane eukarioty zdolne do jej gromadzenia posiadają plastydy – organella komórkowe odpowiadające za fotosyntezę, które wyewoluowały w procesie tzw. endosymbiozy z pochłoniętych komórek sinic lub eukariotycznych glonów. Uważa się zatem, że ewolucja biosyntezy skrobi u eukariotów była powiązana z tym procesem. Jako że skrobia może być gromadzona w większych ilościach niż glikogen, jej pojawienie się w toku ewolucji mogło usprawnić magazynowanie przez gospodarza nadmiaru produktów fotosyntezy dostarczanych przez przekształcającego się w plastyd endosymbionta.

Od wielu lat pojawiały się jednak doniesienia sugerujące obecność skrobi u orzęsków – cudzożywnych eukariotów, które nie posiadają i najprawdopodobniej w przeszłości nigdy nie posiadały plastydów. Obserwacje z użyciem transmisyjnego mikroskopu elektronowego pozwoliły wykryć w ich komórkach ziarna podobne do skrobi. W przypadku jednej grupy orzęsków wykonano także bardziej szczegółowe analizy biochemiczne wskazujące na jej występowanie. Niedawno udało nam się również zidentyfikować metodami bioinformatycznymi sekwencje GWD/PWD różnorodnych orzęsków. Wykonana przez nas analiza filogenetyczna tych białek sugeruje, że zdolność do syntezy skrobi u orzęsków występowała już u ich wspólnego przodka.

Uznaliśmy zatem, że warto ostatecznie zweryfikować, czy orzęski są organizmami zdolnymi do syntezy skrobi, co jest bezpośrednim celem naszego projektu. Zamierzamy sprawdzić, czy wybrane szczepy posiadają ziarna przypominające skrobię, które można zaobserwować różnymi technikami mikroskopowymi. Planujemy następnie oczyścić je z komórek orzęsków i sprawdzić, czy ich struktura rzeczywiście jest typowa dla skrobi. Jako że dotychczasowe badania nie wykryły genów izoamylaz w genomach orzęsków, chcemy także ustalić, jakie inne białka mogą determinować regularną strukturę skrobi u tych organizmów. Będziemy ich poszukiwać pośród białek związanych z oczyszczonymi przez nas ziarnami. Wykryte w ten sposób białka oraz zidentyfikowane enzymy GWD/PWD orzęsków zbadamy pod względem funkcjonalnym, aby sprawdzić, czy odgrywają one oczekiwane role w metabolizmie skrobi.

Przeprowadzone eksperymenty pozwolą lepiej scharakteryzować różnorodność metabolizmu skrobi u eukariotów oraz zweryfikować, czy jego ewolucja rzeczywiście musiała być zawsze powiązana z endosymbiozą. Istnieje możliwość, że mechanizmy determinujące strukturę skrobi, które planujemy zidentyfikować, występują także u spokrewnionych z orzęskami pasożytniczych apikompleksów, też gromadzących skrobię bez udziału izoamylaz. Nasze badania mogą zatem umożliwić opracowanie nowych leków na choroby powodowane przez te protisty, takie jak toksoplazmoza. W przyszłości odkryta skrobia orzęsków oraz białka biorące udział w jej biosyntezie i degradacji mogą mieć również różnorodne zastosowania biotechnologiczne.