

STRESZCZENIE

Kwas indolilo-3-octowy (IAA) reguluje wiele procesów związanych ze wzrostem i rozwojem rośliny. Biologicznie aktywną formę fitohormonu stanowi wolna auksyna, jednakże w całkowitej puli IAA dominują jego związane formy, nazywane koniugatami. W zależności od rodzaju cząsteczki, do której przyłączony jest IAA oraz wytwarzanego między nimi wiązania wyróżnia się koniugaty estrowe i amidowe. Przyjmuje się, że koniugaty estrowe stanowią przeważającą formę auksyny u roślin jednoliściennych, natomiast rośliny dwuliścienne gromadzą głównie koniugaty amidowe IAA. Jednym z enzymów szlaku biosyntezy koniugatów estrowych IAA jest acylotransferaza 1-*O*-indolilo-3-acetylo- β -D-glukoza (1-*O*-IAGlc) : *myo*-inozytol (syntaza IAInos), która katalizuje reakcję przeniesienia reszty IAA z 1-*O*-IAGlc na cząsteczkę *myo*-inozytolu. W wyniku tej reakcji powstaje IA-*myo*-inozytol (IAInos), który u ryżu stanowi około 10% całkowitej puli koniugatów estrowych. Na podstawie analizy częściowej sekwencji aminokwasowej syntazy IAInos z kukurydzy, enzym ten został zaklasyfikowany do rodziny acylotransferaz podobnych do karboksypeptydaz serynowych, SCPL. W ramach badań przedstawionych w niniejszej pracy sklonowano gen kodujący syntazę IAInos z ryżu i przeprowadzono jego ekspresję w bakteryjnym i drożdżowym systemie ekspresyjnym. Właściwości otrzymanych w ten sposób rekombinowanych białek porównano z częściowo oczyszczonym preparatem natywnej syntazy IAInos wyizolowanej z 6-dniowych siewek ryżu. Wszystkie trzy formy enzymu wykazują identyczne optimum pH wynoszące 7,4 oraz bardzo zbliżone wartości K_M dla *myo*-inozytolu, a ich aktywność jest hamowana przez fluorek fenylometylosulfonylu (PMSF) – znany nieodwracalny inhibitor karboksypeptydaz serynowych. Natywna syntaza IAInos z ryżu wyróżnia się zdecydowanie niższą wartością szybkości maksymalnej w porównaniu do obu rekombinowanych form, jest też mniej wrażliwa na działanie PMSF. Analiza wpływu czasu prowadzenia reakcji na aktywność syntazy IAInos z ryżu sugeruje, że enzym ten oprócz podstawowej aktywności acylotransferazowej może wykazywać również aktywność hydrolityczną względem IAInos. Tempo zmian aktywności katalitycznej jest różne dla natywnej syntazy IAInos i obu białek rekombinowanych, możliwe więc, że zależy od poziomu ich glikozylacji. Na tej podstawie można przypuszczać, że aktywność syntazy IAInos jest regulowana poprzez glikozylację tego enzymu. W ramach niniejszej pracy zbadano również wpływ warunków stresu abiotycznego (stres solny i susza) oraz fitohormonów (IAA, 2,4-D, SA i ABA) na ekspresję i aktywność syntazy IAInos w 6-dniowych siewkach ryżu. Warunki stresowe oraz ABA powodowały spadek aktywności

enzymu, natomiast IAA, 2,4-D i SA stymulowały jego aktywność. Badane warunki praktycznie nie miały wpływu na ekspresję syntazy IAlnos, co sugeruje że regulują aktywność tego białka na poziomie posttranslacyjnym.

Anna Ciarkowska, 12.05.2017r.