

„WZROST STABILNOŚCI OLEJU LNIANEGO PRZEZ ZWIĘKSZENIE PULI ANTYOKSYDANTÓW”

STRESZCZENIE

Linum usitatissimum (Len zwyczajny) występuje w dwóch odmianach oleistej i włóknistej tradycyjnie uprawianych w Polsce ze względu na dogodny klimat i jakość gleb. Nazwa tłumaczona, jako „użyteczny len” obrazuje potencjał tej rośliny. Wykorzystywane są przede wszystkim pochodzące z łodyg włókna, olej tłoczony z nasion jak i produkty odpadowe-wytłoki oraz paździerze.

Olej lniany jest bogaty w wielonienasycone kwasy tłuszczowe (WNKT), w szczególności, w przypadku tradycyjnych odmian wysokolinolenowych jest jednym z najbogatszych źródeł kwasu α -linolenowego. Istotnym problemem limitującym wykorzystywanie oleju lnianego w przemyśle farmaceutycznym, kosmetycznym czy spożywczym, jest jego duża podatność na utlenianie, co naraża konsumentów oleju na spożywanie niezwykle reaktywnych rodników lipidowych oraz związków toksycznych i kancerogennych, takich jak aldehydy i skoniugowane dieny i trieny.

Czynnikami zapobiegającymi utlenianiu oleju są naturalne antyoksydanty, w roślinie syntetyzowane głównie w dwóch szlakach- fenylopropanoidowym i terpenoidowym. W wyniku przeprowadzonych badań otrzymano profil antyoksydantów w oleju lnianym, w tym również w liniach transgenicznych, oraz ustalono, które z tych związków najskuteczniej chronią olej przed utlenianiem. Co istotne po raz pierwszy ustalono skład związków fenolowych w oleju lnianym za pomocą metody wysokosprawnej chromatografii cieczowej połączonej ze spektrometrią mas. W badaniu przeprowadzonym za pomocą różnicowej kalorymetrii skaningowej (DSC) ustalono, że oleje z lnu transgenicznego wyprowadzonego z odmiany niskolinolenowej Linola zawierające więcej związków fenolowych mają dwukrotnie dłuższą predykcijną stabilność półkową, wskaźnik informujący jak długo olej może być przechowywany w temperaturze pokojowej. Weryfikację uzyskanych wyników prowadzono poprzez zewnętrzną suplementację olejów naturalnymi standardami. Istotną obserwacją było to, iż szczególnie skutecznie chronią olej kwasy fenolowe.

Kolejnym etapem badań była weryfikacja udziału związków hydrofilowych w podniesieniu stabilności oleju wysokolinolenowego poprzez wytworzenie typu lnu transgenicznego wysokooleinowego z jednoczesną nadekspresją trzech genów syntezy flawonoidów: syntazy chalkonu (CHS), izomerazy chalkonu (CHI), reduktazy 4-dihydroflawonolu (DFR) pod kontrolą nieswoistego promotora 35S i terminatora OCS. W wyniku transformacji uzyskano rośliny o podwyższonym poziomie związków fenolowych zarówno w tkance zielonej jak i w nasionach roślin przy niezmienionej produktywności. Co najistotniejsze w wyniku tej modyfikacji uzyskano olej, którego stabilność znacznie wzrosła, co wydłużyło jego możliwy czas przechowywania warunkach pokojowych do 100 dni.

Alternatywną modyfikacją było uzyskanie roślin o podniesionej zawartości tokoferolu, który jest często dodawany, jako stabilizator olei roślinnych w przemyśle spożywczym, a ponadto u człowieka pełni funkcję witaminy E. Jako badania wstępne zidentyfikowano geny syntezy tokoferoli w lnie, co umożliwiło wybór sekwencji heterologicznej kodującej fitylotransferazę homogentyzynią (VTE-2, HPT-1, HOM), pochodzącej z *Arabidopsis thaliana* do

wytworzenia konstrukcji genetycznej. W wyniku agrotransformacji konstruktem zawierającym cDNA VTE-2, kluczowego enzymu na drodze syntezy tokoferoli pod kontrolą promotora nieswoistego 35S oraz terminatora OCS, uzyskano rośliny transgenicznego lnu wysokolinolenowego ze zwiększonym poziomem syntezy tokoferolu i o podwyższonym potencjale antyoksydacyjnym w tkankach zielonych. Ustalono również wpływ tej transformacji na zmiany w obrębie innych dróg metabolicznych w tym karotenoidów i związków fenolowych. Stwierdzono m.in., że wprowadzenie genu VTE-2, powoduje jednoczesną nadekspresję endogennego genu VTE-2 i nadekspresję niektórych genów szlaku syntezy karotenoidów oraz genów syntezy difosforanu izopentyli (IDP). Modyfikacja wpłynęła na fenotyp roślin, zwiększając długość łodygi do pierwszego rozgałęzienia, co może to umożliwić dwojakie wykorzystanie roślin do produkcji zarówno oleju jak i włókna.

W nowo wyprowadzonych liniach transgenicznych zbadano również wpływ transformacji na oporność roślin. Nie zaobserwowano wpływu transformacji na infekcję grzybami z rodzaju *Fusarium* w warunkach *in vitro*, natomiast obserwowano pozytywny wpływ modyfikacji na rozwój roślin w warunkach polowych.

W przypadku obydwu modyfikacji prowadzone są badania mające na celu wyłonienie linii homozygotycznych.