

Fjölketíð framleidd í gersveppnum *Saccharomyces cerevisiae*

Snorri Páll Davíðsson, Zophonias O. Jónsson, Ólafur S. Andrésón.
Líffræðistofnun Háskóla Íslands. spd@hi.is

Flestar lífverur framleiða annars stigs lífefni af einhverju tagi, þ.e. efni sem ekki eru notuð til viðhalds lífsnauðsynlegum efnaskiptumheldur eru notuð sem litar-, lyktar eða varnarefni svo dæmi séu tekin. Til þessa hóps efna teljast meðal annarra: alkaloid efni, terpen efni, og, þau sem hér eru til umfjöllunar: fjölketíð. Mjög mörg þessara lífefna eru nýtt í hinum fjölbreytilegasta tilgangi í matvæla, efna og lyfjaiðnaði.

Fjölketíð eru gríðarstór og fjölbreyttur hópur annars stigs lífefna. Hvert fjölketíð er framleitt af sértæku fjölvirku ensími, fjölketíð synþasa, í ferli sem svipar til nýmyndunar fitusýra. Munurinn liggur fyrst og fremst í lægra oxunarstigi keto hópa þar sem fjölketíð synþasi heldur eftir súrefnishópum og notar þá til margvíslegra umbreytinga á kolefnakeðjunni, t.d. til að mynda hringi. Viðbótar fjölbreytni fæst þegar mismunandi acyl CoA esterar eru notaðir sem upphafsefni. Fjölketíð er að finna víða og meðal lífvera sem framleiða fjölketíð má telja bakteríur og sveppi, plöntur og allnokkrar tegundir hryggleysingja.

Það sem helst takmarkar nýtingu fjölketíða er að margar þeirra lífvera sem framleiða áhugaverð fjölketíð er erfitt eða óhagkvæmt að rækta og því er eftirsóknarvert að einangra gen sem skrá fyrir tilteknum fjölketíð synþösum og flytja þau yfir í meðfærilega lífveru svosem gersveppinn *Saccharomyces cerevisiae* og fá þau framleidd þar. Þetta hefur í sumum tilfellum tekist ágætlega en í öðrum tilfellum hefur reynst erfitt að fá gersvepp til að tjá hið framandi gen og ástæður þess geta verið margvíslegar, skortur á hráefnum, kóðabjögum, mismunandi mRNA merkiraðir og þannig mætti áfram telja. Líka er mikilvægt að tryggja að virkt hjálparensím sé til staðar, í flestum tilvikum 4' fósópanteþein hleðsluensím (PPT) sem virkjar fjölketíð synþasann með því að hlaða fósópanteþein hópi á serín í acyl burðar hluta þess, þ.e. þess hluta ensímsins sem kolefnakeðjan er fest við á meðan hún er mynduð.

Til að rannsaka framleiðslu fjölketíða í gersveppum höfum við tvær útgáfur af genum sem myndað geta einfaldan fjölketíð synþasa, 6-metýlsalisýlsýru synþasa Þessi gen voru einangruð voru úr þráðsveppnum *Penicillium patulum* (*P. griseofulvum*). Sýnt hefur verið að annað þeirra (PP-6MSAS) myndar 6-metýlsalisýlsýru í *S. cerevisiae* en hitt (PG-6MSAS) hefur hingað til ekki fengist til að mynda 6-metýlsalisýlsýru né efni því skyld. 6-metýlsalisýlsýra er einfalt fjölketíð og því hentugt til þessara rannsókna. Til að framleiða það þarf að vera nægt framboð af acetyl CoA og malonyl CoA hráefnum og virkt PPT ensím. Í því skyni höfum við notað tvö PPT hleðsluensím: Annað klónað úr *Bacillus subtilis* en hitt úr *Aspergillus nidulans*. Bæði hafa verið notuð með góðum árangri við framleiðslu á 6-metýlsalisýlsýru í *S. cerevisiae*. Þennan efnivið ætlum við að nota til að leita svara við þeirri spurningu hversvegna sum fjölketíð fást ekki framleidd í gersveppum og leita leiða til að bæta þar úr.