

Abstrakt

Acetyl-CoA karboxylasa (ACC) je klíčovým enzymem metabolismu mastných kyselin. U eukaryot se často vyskytuje v mnoha isoformách a v různých buněčných kompartmentech.

V zemědělství jsou inhibitory plastidové ACC používány jako účinné herbicidy travinných plevelů. Problémem se ale stává resistance některých populací travinných plevelů vůči používaným herbicidům aryloxyfenoxypionátům (APPs) a cyklohexandionům (CHDs). Pomocí PCR a sekvenování bylo u resistantních rostlin populací *Avena sterilis ssp. ludoviciana* Durieu z obilnářské oblasti severní Austrálie nalezeno pět aminokyselinových substitucí v plastidové ACC: Trp-1999-Cys, Trp-2027-Cys, Ile-2041-Asn, Asp-2078-Gly a Gly-2096-Ala. S použitím kvasinkového "gene-replacement" systému jsme ukázali, že každá z těchto mutací způsobuje resistenci k herbicidům i u pšeničné plastidové ACC: Asp-2078-Gly způsobuje resistenci k APPs a CHDs, Trp-2027-Cys a Ile-2041-Asn způsobují resistenci k APPs a Trp-1999-Cys způsobuje resistenci pouze k fenoxapropu. Tyto mutace by velmi pravděpodobně mohly způsobit resistenci kteréhokoli druhu travinných plevelů pod selekčním tlakem hojně používaných herbicidů.

Lidská ACC představuje zajímavý cíl nových léčiv pro léčbu metabolického syndromu. Vyvinuli jsme finančně nenáročný neradioaktivní vysokokapacitní systém k identifikaci nových inhibitorů ACC. Testování využívá kvasinkové "gene-replacement" kmeny závisející svým růstem na klonované lidské ACC1 a ACC2. Pro ověření fungování tohoto systému byl růst zmíněných kmenů inhibován známými inhibitory lidské ACC. Testováním knihoven chemických sloučenin jsme našli nové specifické inhibitory lidské ACC2. Cíl působení nejlepšího z těchto inhibitorů byl potvrzen testováním enzymatické aktivity *in vitro*. Tato sloučenina inhibuje lidskou ACC2 s 2,8 μM IC_{50} a nemá ve 100 μM žádný účinek na lidskou ACC1.

Sekvenci genu pro pšeničnou ACC jsme studovali také z evolučního hlediska. DNA sekvence lokusů pšeničných ACC1 a ACC2, kódujících plastidovou a cytosolovou formu ACC, byly analyzovány s cílem porozumět evoluci těchto genů a původu tří genomů v moderní hexaploidní pšenici. Byly sekvenovány lokusy ACC1 a ACC2 z pšeničných druhů *Triticum urartu* (genom A), *Aegilops tauschii* (genom D), *Triticum turgidum* (genom AB) a *Triticum aestivum* (genom ABD), a dva pseudogeny ACC2 z *T. urartu*. Tři homologní chromosomy se podle výpočtů na základě kódujících a intronových sekvencí genů ACC1 oddělily před 2,3-2,4 miliony let, což je na dolní hranici jiných odhadů. Při kalibraci molekulárních hodin jsme

vycházeli z doby oddělení pšenice a kukuřice před 60 miliony let. Ve stejném časovém měřítku se na základě sekvencí ACC a dalších genů oddělila pšenice a ječmen před 11,6 miliony let. Oblasti ohraničující ACC geny nejsou konservované mezi genomy A, B a D. Jsou konservované v porovnání homologních genomů diploidní, tetraploidní a hexaploidní pšenice. Frekvence substitucí v intergenových oblastech je proměnlivá a v průměru je 3,5 krát vyšší než frekvence substitucí v intronech.