

# Lipidomics

**Marzia Beccaccioli, PhD**

Researcher

Plant Pathology Laboratory

Dep. Of Environmental Biology

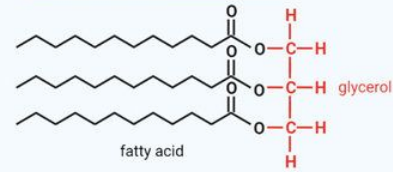
Sapienza Università di Roma

# Lipids

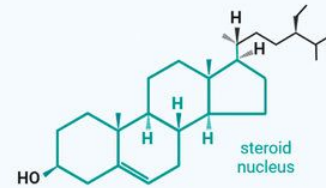
## Fatty acyls



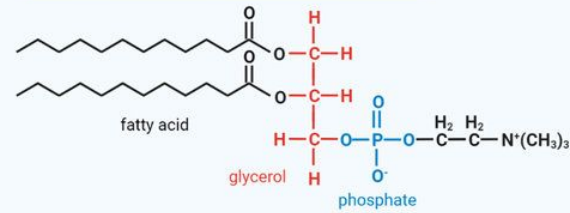
## Glycerolipids



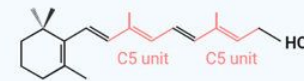
## Sterol lipids



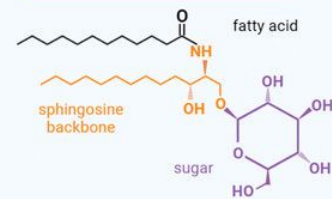
## Glycerophospholipids



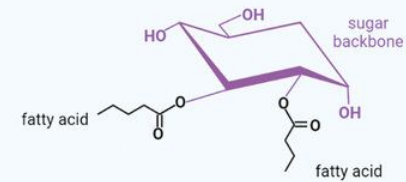
## Prenol lipids



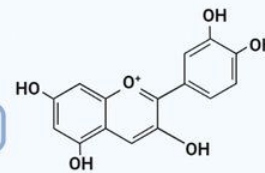
## Sphingolipids



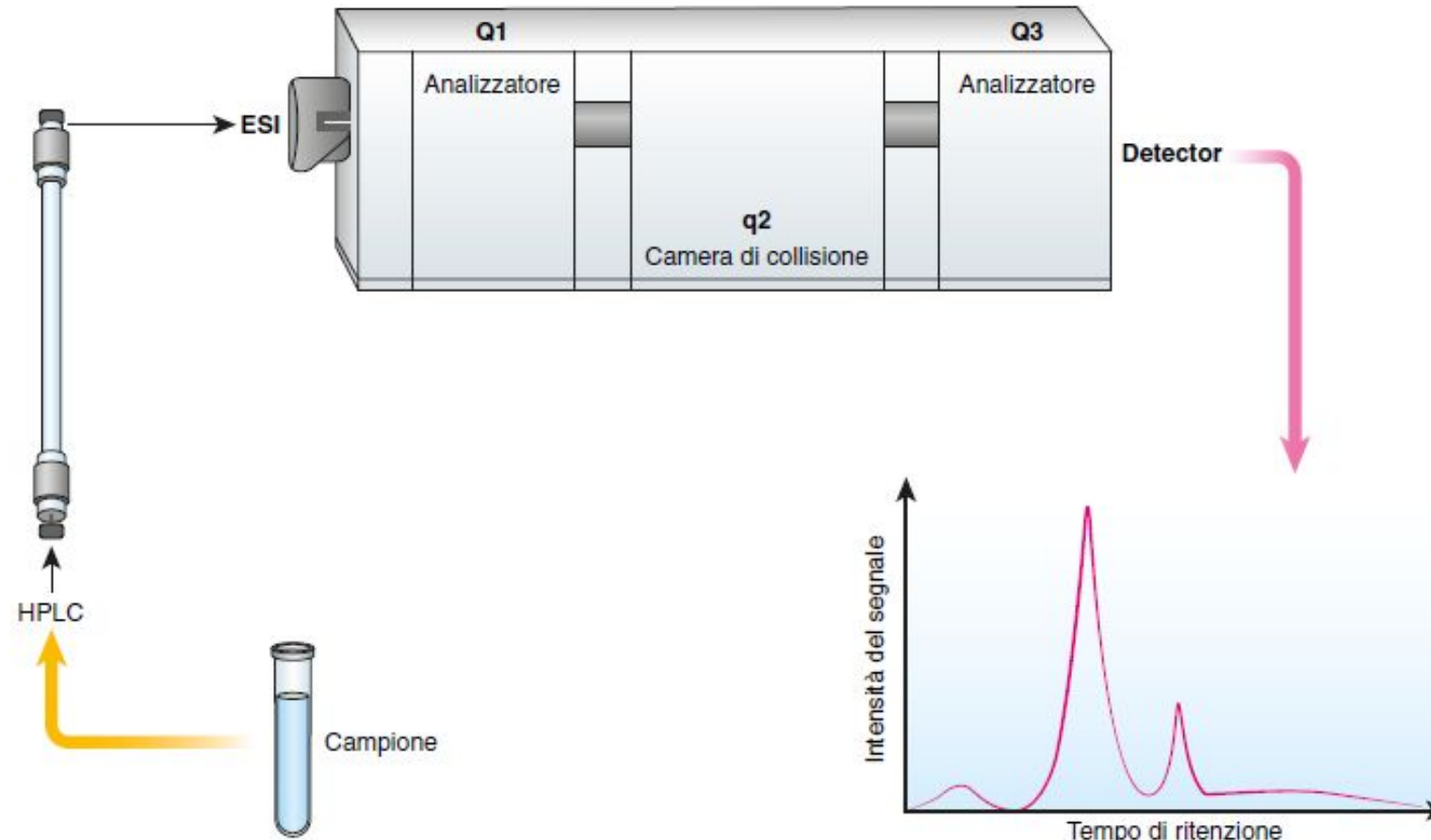
## Saccharolipids



## Polyketides

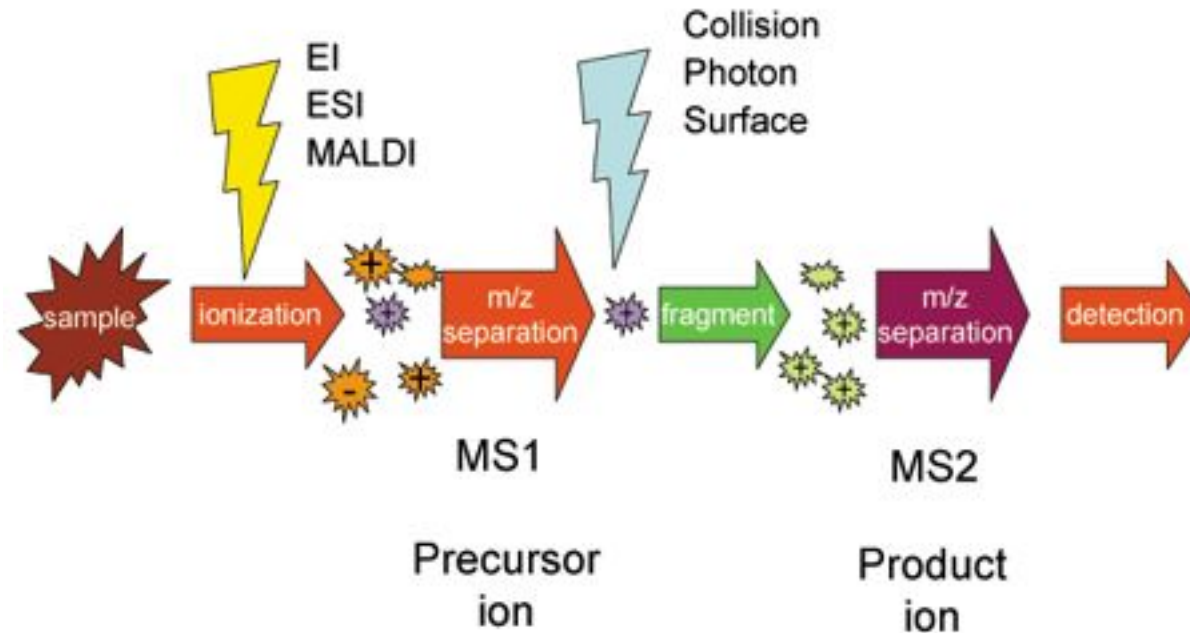


# Lipids Detection: HPLC-MS/MS

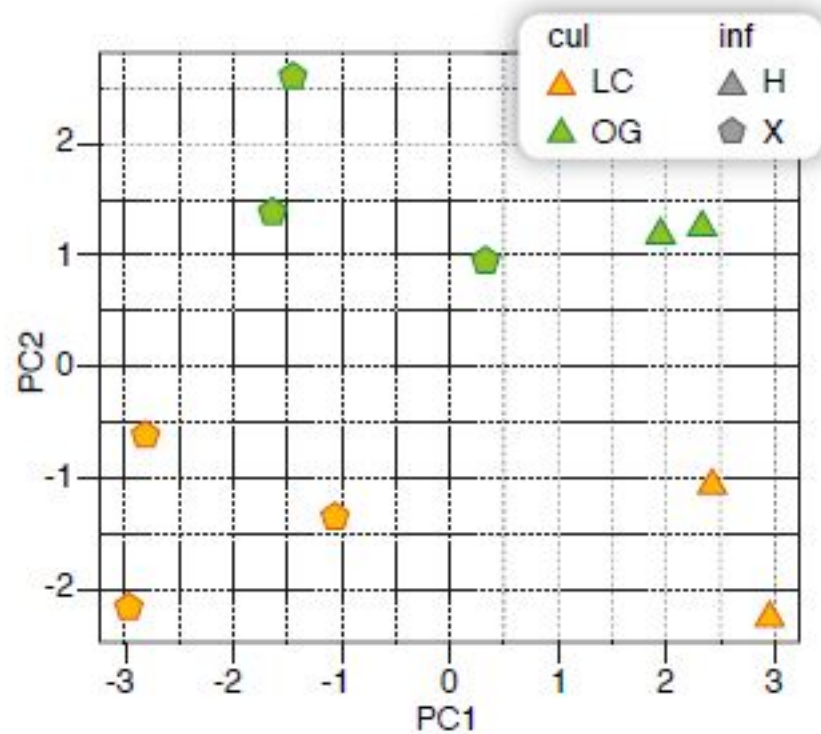


**Figura 20.1** Schematizzazione del processo di analisi lipidica HPLC-MS/MS. I lipidi vengono separati mediante HPLC, ionizzati da ESI e posti nel triplo quadrupolo (Q1-q2-Q3) per essere analizzati mediante spettrometria di massa tandem. I quadrupoli Q1 e Q3 sono analizzatori, mentre il q2 opera in radiofrequenza per dare una frammentazione (CID).

# Lipids Detection: HPLC-MS/MS



# Lipids Analysis: PCA and Machine Learning Approach



**Figura 20.2** Analisi delle componenti principali (PCA) di un esperimento in campo in cui la cultivar (LC, OG) è contaminata o meno (H, X) da un patogeno. La PCA effettuata usando come dataset i tipi e le quantità relative di oltre cento entità lipidiche valutate con un approccio lipidomico, mostra un chiaro *clustering* tra campioni infetti e non e tra varietà diverse.

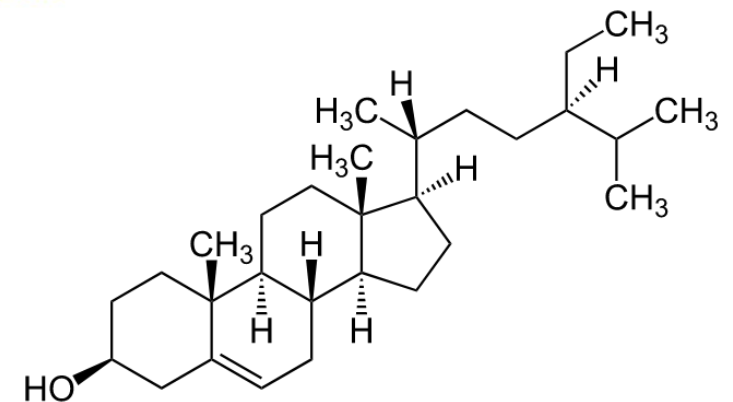
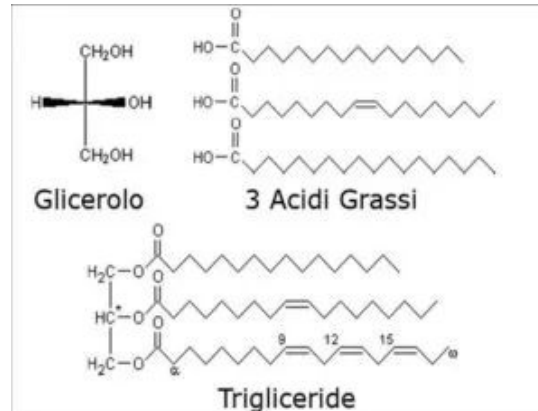
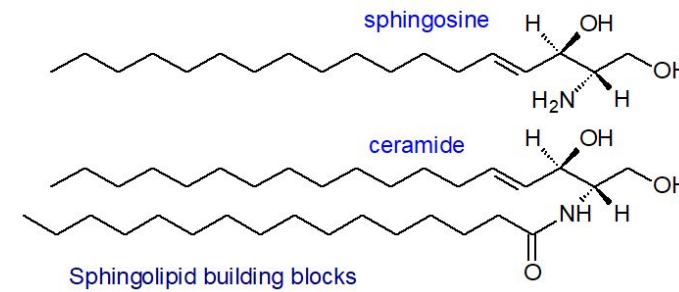
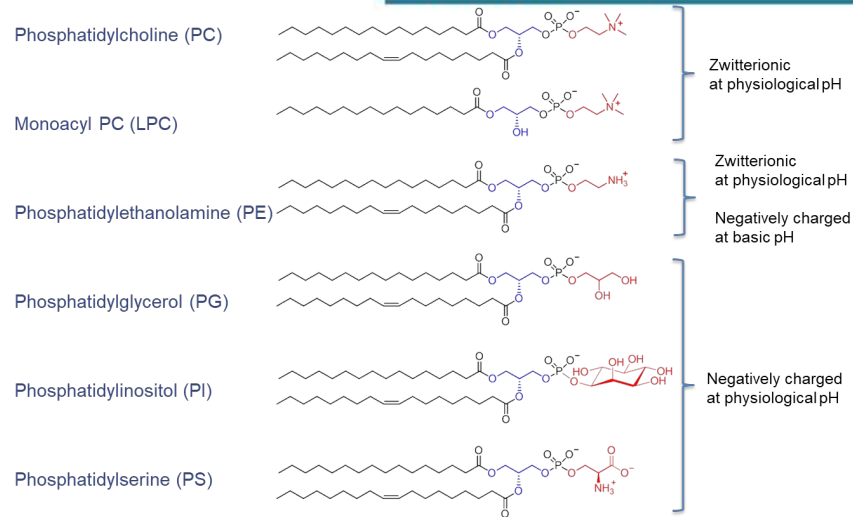


**Figura 20.3** Schematizzazione del flusso di lavoro dell'approccio di *machine learning*.

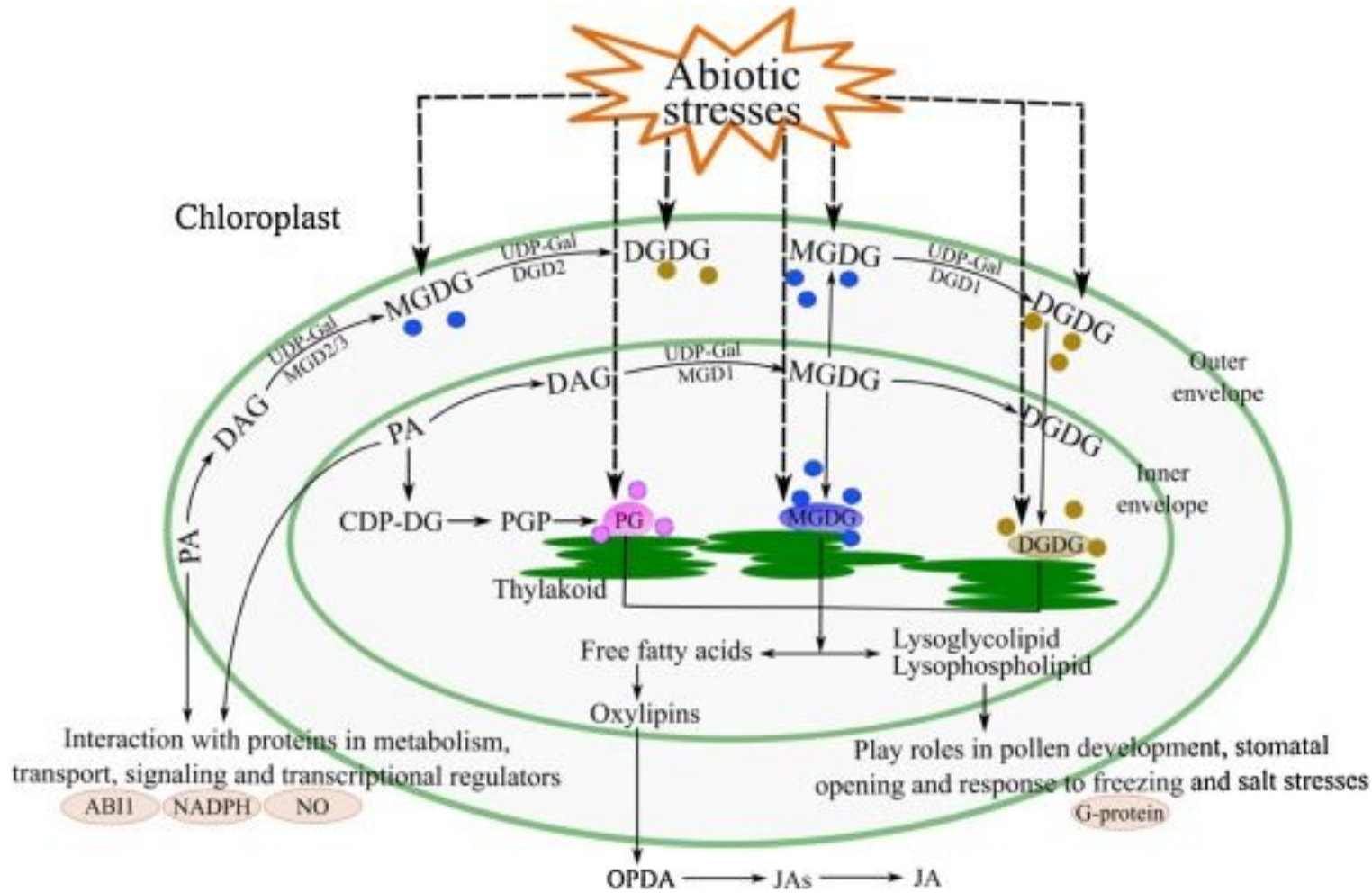
# Plant Lipids

**Tabella 20.1** La composizione lipidica delle cellule vegetali: le principali classi lipidiche vegetali e le loro componenti

Glicerolipidi	Sfingolipidi	Steroli
Fosfolipidi (PC, PE, PI, PS, PG)	Glicosil-inositoli-fosfoceramidi	Fitosteroli ( $\beta$ -sitosterolo Campesterolo Stigmasterolo)
Galattolipidi (MGDG, DGDG, TGDG)	Glucosilceramidi	
Triacilgliceroli	Ceramidi	
Sulfolipidi (SQDG)	Basi libere a catena lunga	



# Lipidic alteration under abiotic stressors



The redistribution of membrane lipids is integrated to regulate the stability, integrity and fluidity of plant membrane, and adjust the adaptation ability of plants to various abiotic stresses.

# Lipidic alteration under abiotic stressors

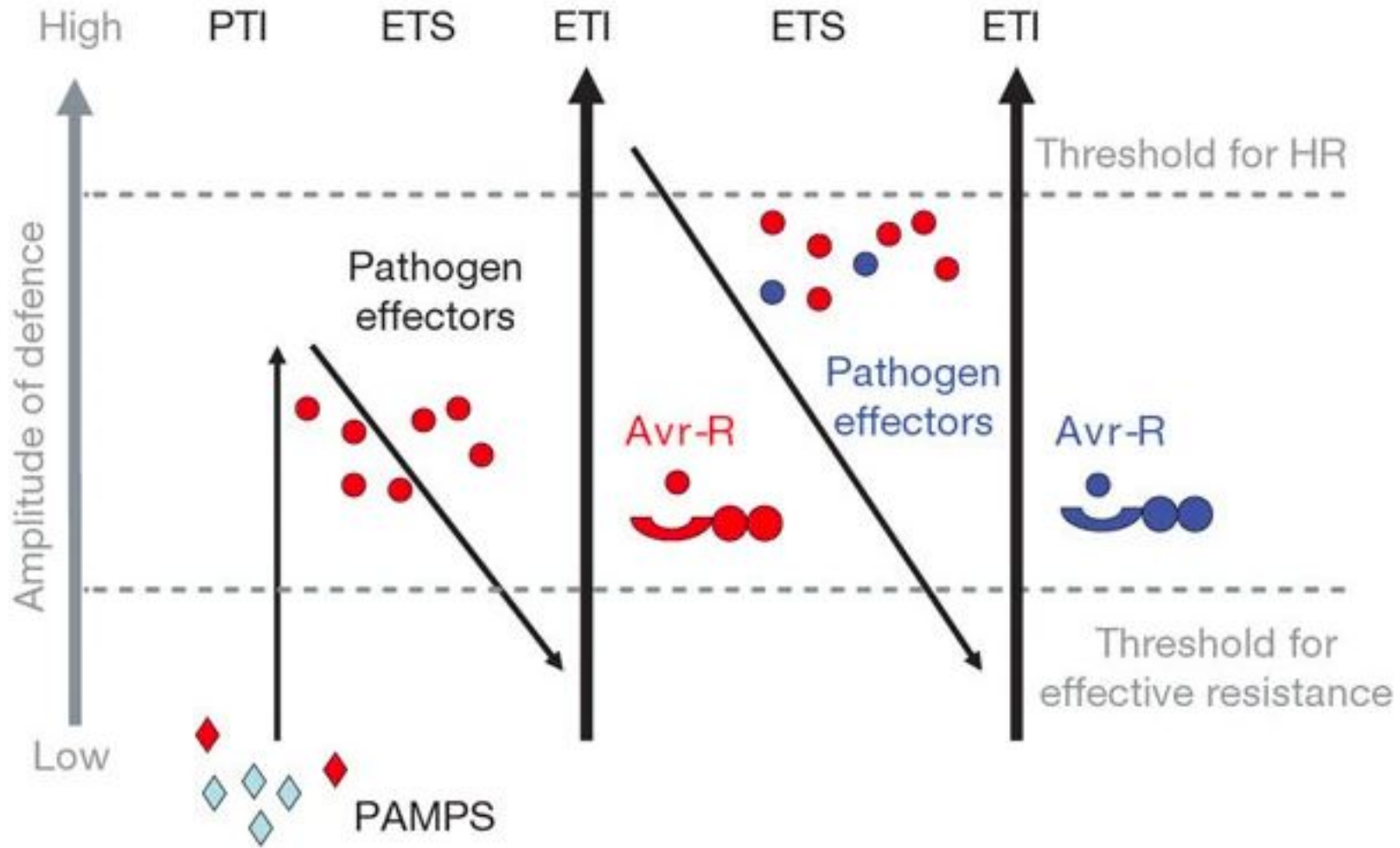
**Tabella 20.2** Variazione della composizione lipidica nelle cellule vegetali: I principali fattori di stress e loro influenza sulla composizione lipidica delle membrane cellulari nelle piante

Fattori di stress						
Nutrienti		Temperatura			Osmosi	Siccità
Fosfato	Azoto	Caldo	Freddo	Congelamento	Salinità	
↓ MGDG (16:3/18:3) ↑ DGDG (16:0/18:3) ↑ fosfolipidi ↑ 12:0, 14:0, 16:3 Nessun cambiamento in PE o PC, PS	↓ PC, PE e PG ↑ DGDG e SQDG ↓ 18:0, 18:1 ↑ 18:2, 18:3	↑/↓ 16:0, 16:3, 18:1, 18:2 ↓ MGDG, DGMG, SL, SQDG, PE, PG ↓ MGDG/DGDG ↓ 18:3-PG; 16:3- PG ↑/↓ 18:3 ↑ 16:1	↑ 16:3, 18:3 ↑ PA, DGDG ↓ PC, MGDG ↓ phospholipids containing saturated acyl groups ↑ MGDG ↓ DGDG ↑ PC, PE	↑ PA ↓ PC, PE, PG ↓ 16:0	↓ 16:1-trans ↑ 16:0, 18:0 ↓ 18:3 ↑ 18:2 ↑ glycolipids ↓ PC, PE	↓ 18:1 ↓/↑ 18:2 ↑ 18:3 ↓/↑ 16:0 ↓/↑ 18:0 ↓/↑ 16:1 ↓ PG, PS, DGDG, SQDG

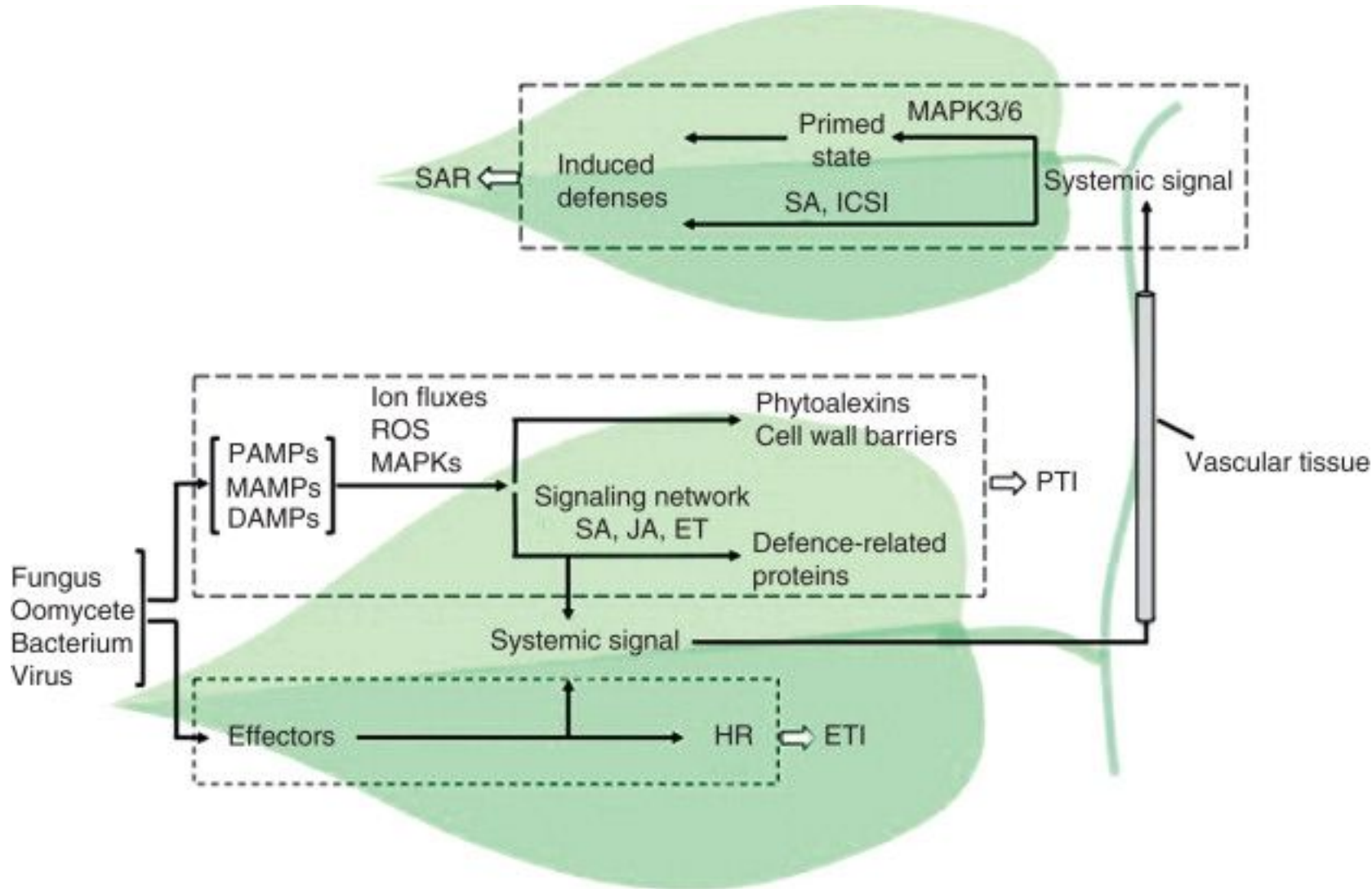
Nomenclatura: 12:0: acido laurico; 14:0: acido miristico; 16:0: acido palmitico; 16:1: acido palmitoleico; 18:0: acido stearico; 18:1: acido oleico; 18:2: acido linoleico; 18:3: acido linolenico.



# The plant immune system



# A molecular and biochemical roadmap to the plant immune system



# Plant Hormones

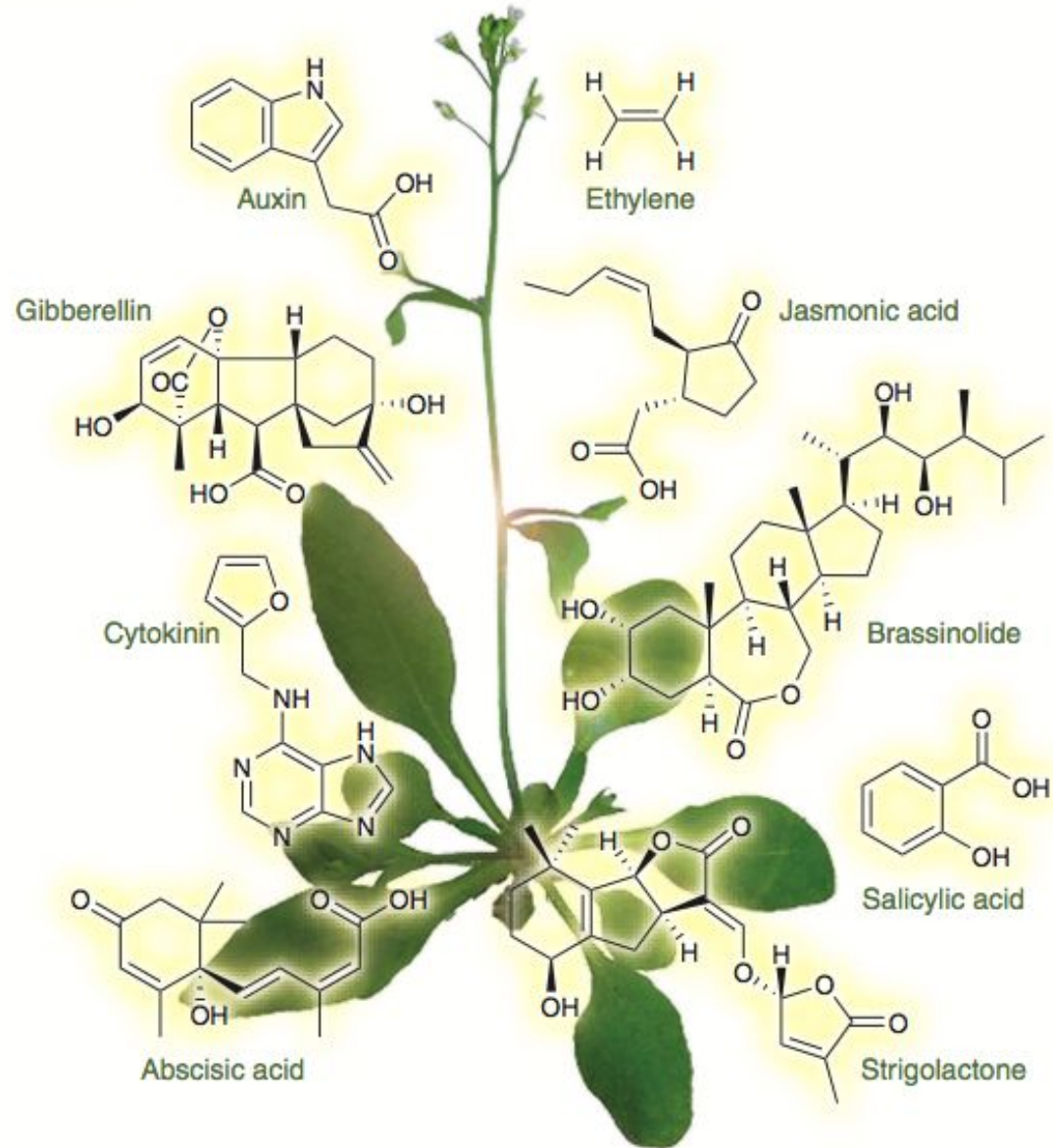
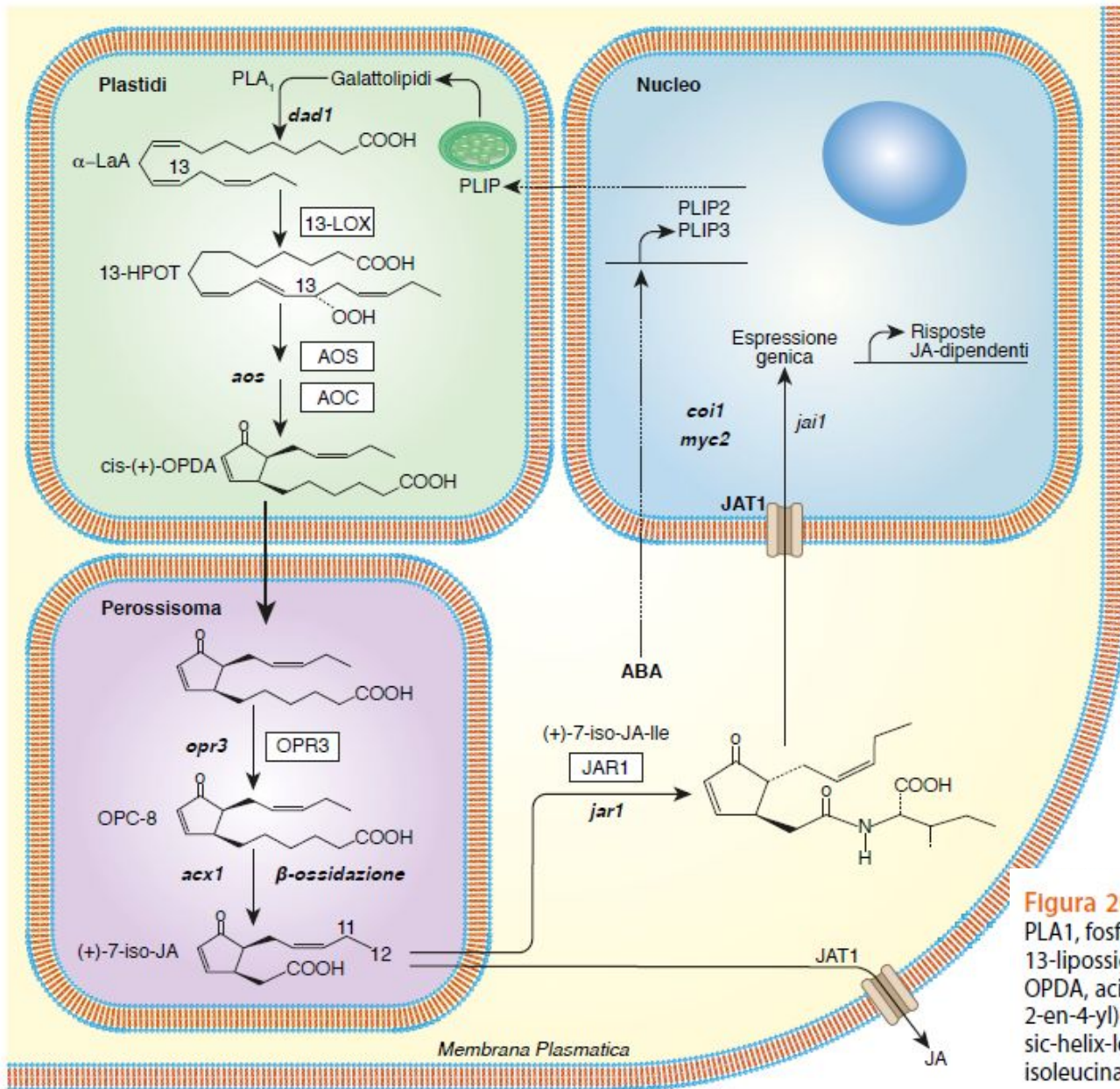


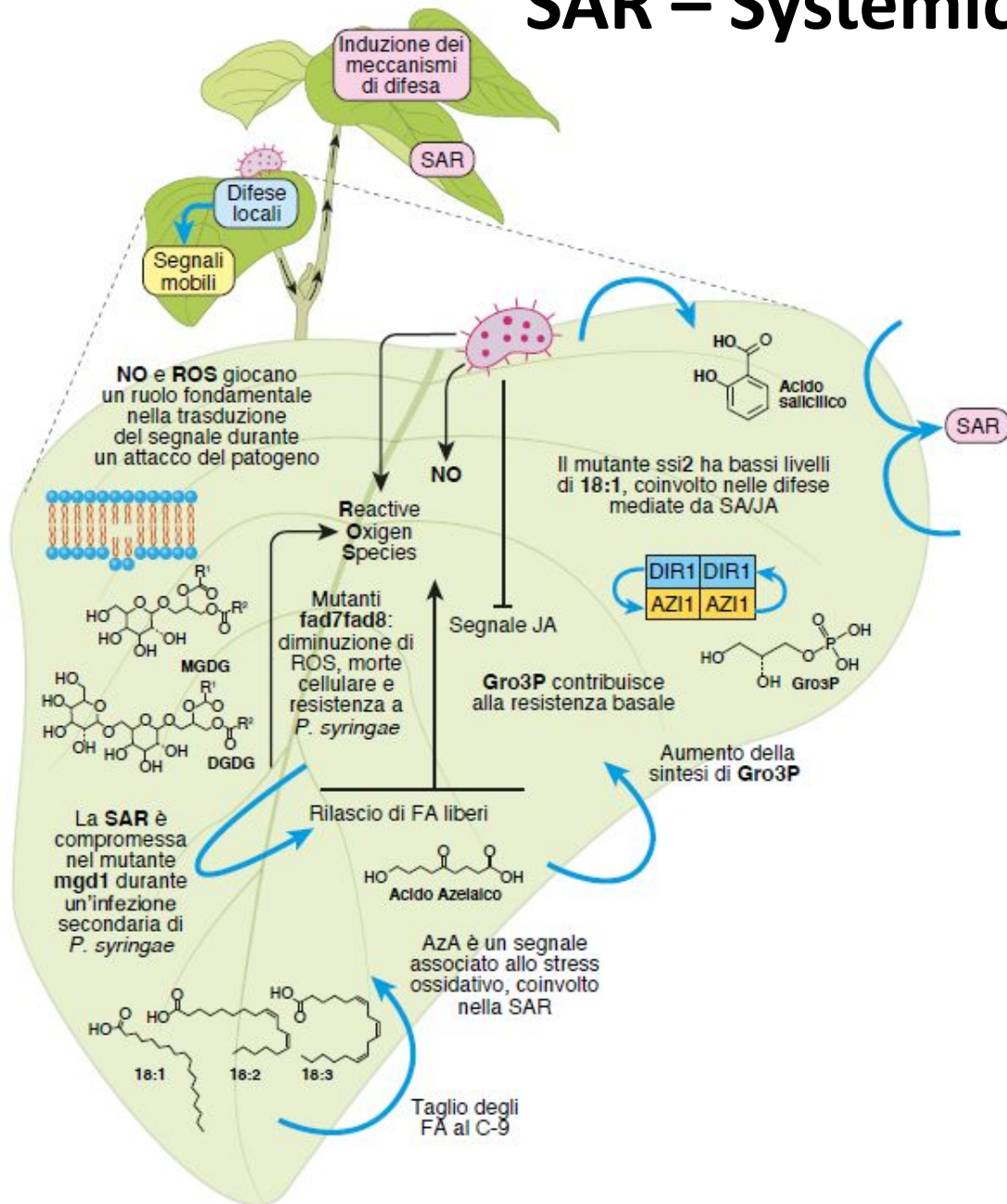
Figure 1 Phytohormones regulate all aspects of plant growth and development.

# Jasmonic Acid – Biosynthesis and Signalling



**Figura 20.4** Ormoni "lipidici". Biosintesi degli jasmonati e localizzazione endocellulare dei diversi intermedi. PLA1, fosfolipasi A1 (gene *dad1*); PLIP, lipasi plastidiali che rispondono all'ABA;  $\alpha$ -LaA, acido  $\alpha$ -linolenico; 13-LOX, 13-lipossigenasi; 13-HPOT, acido 13-idrossioctadecatrienoico; AOS, allene ossido sintasi; AOC, allene ossido ciclastasi; OPDA, acido oxo-fitodienoico; OPR3, 12-oxo-fitodienoato riduttasi; OPC-8, acido 8-(7-oxo-8-oxabicyclo[3.3.0]oct-2-en-4-yl)octanoico; *acx3*, acyl-CoA oxidase; *coi1*, coronatine-insensitive mutant; *myc2*, fattore di trascrizione basic-helix-loop-helix (bHLH); *jai1*, jasmonate-insensitive mutant; ABA, acido abscissico; 7-iso-JA-Ile, 7-iso-jasmonato isoleucina; *jar1*, jasmonoil-aminoacid synthetase; JAT1, trasportatore dello jasmonico.

# SAR – Systemic Acquired Response

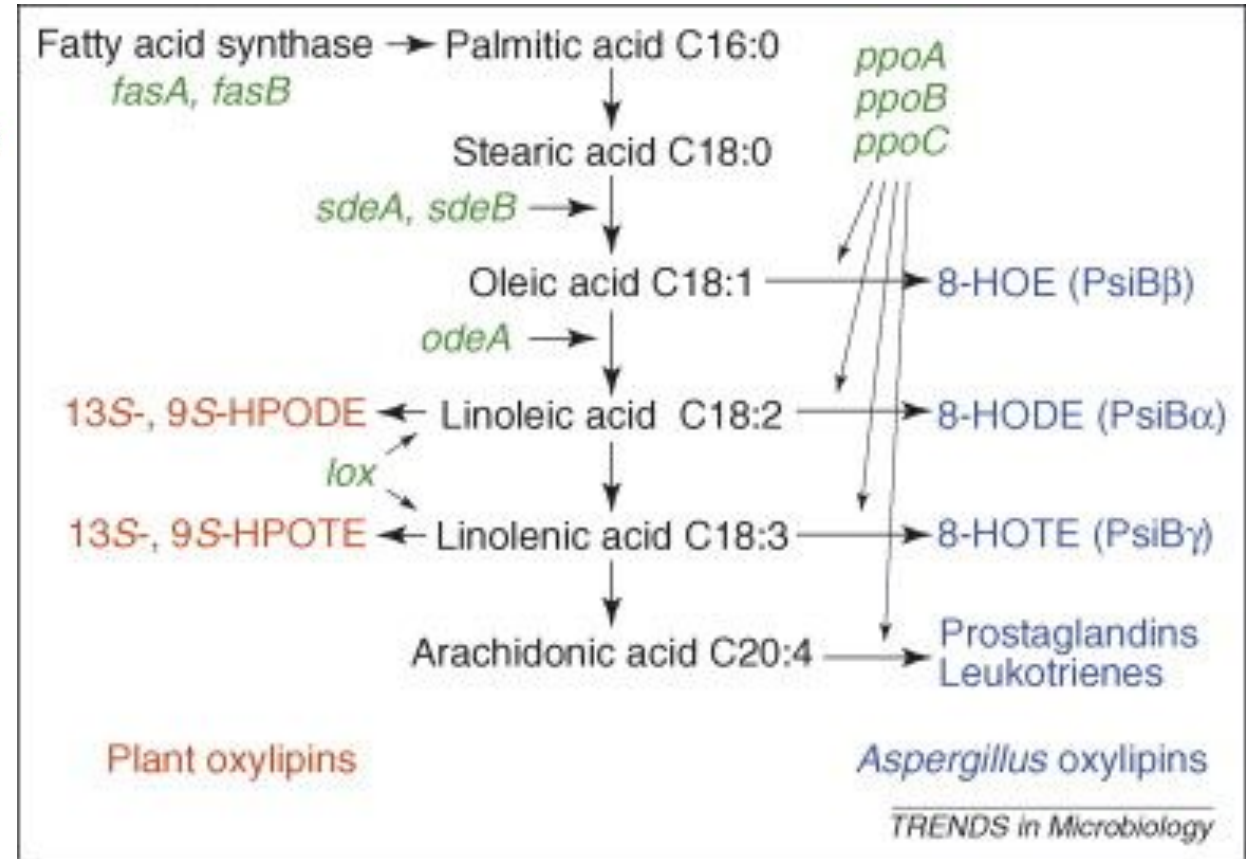
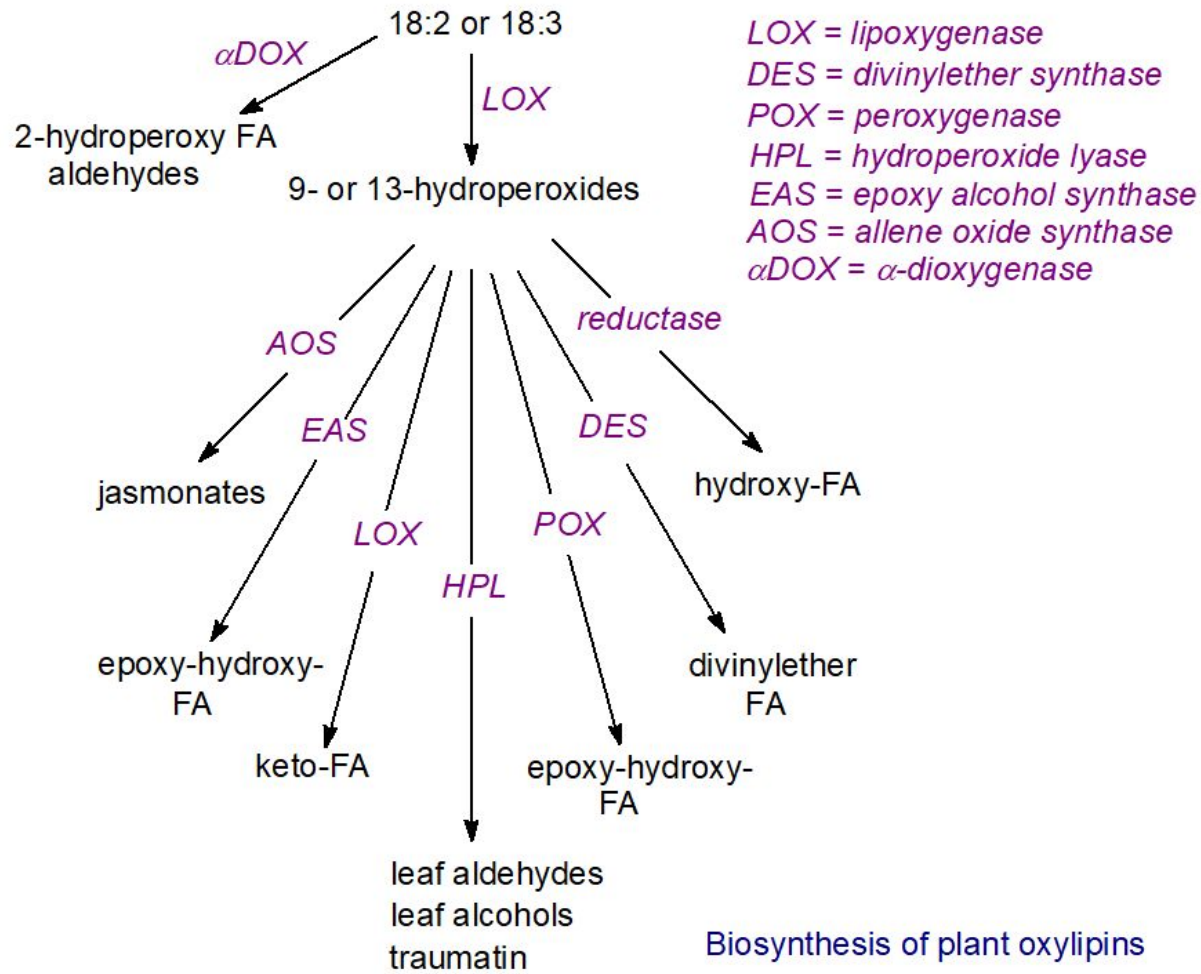


After pathogen attack, **SA levels rise** in the primary infected tissue and trigger a SAR response.

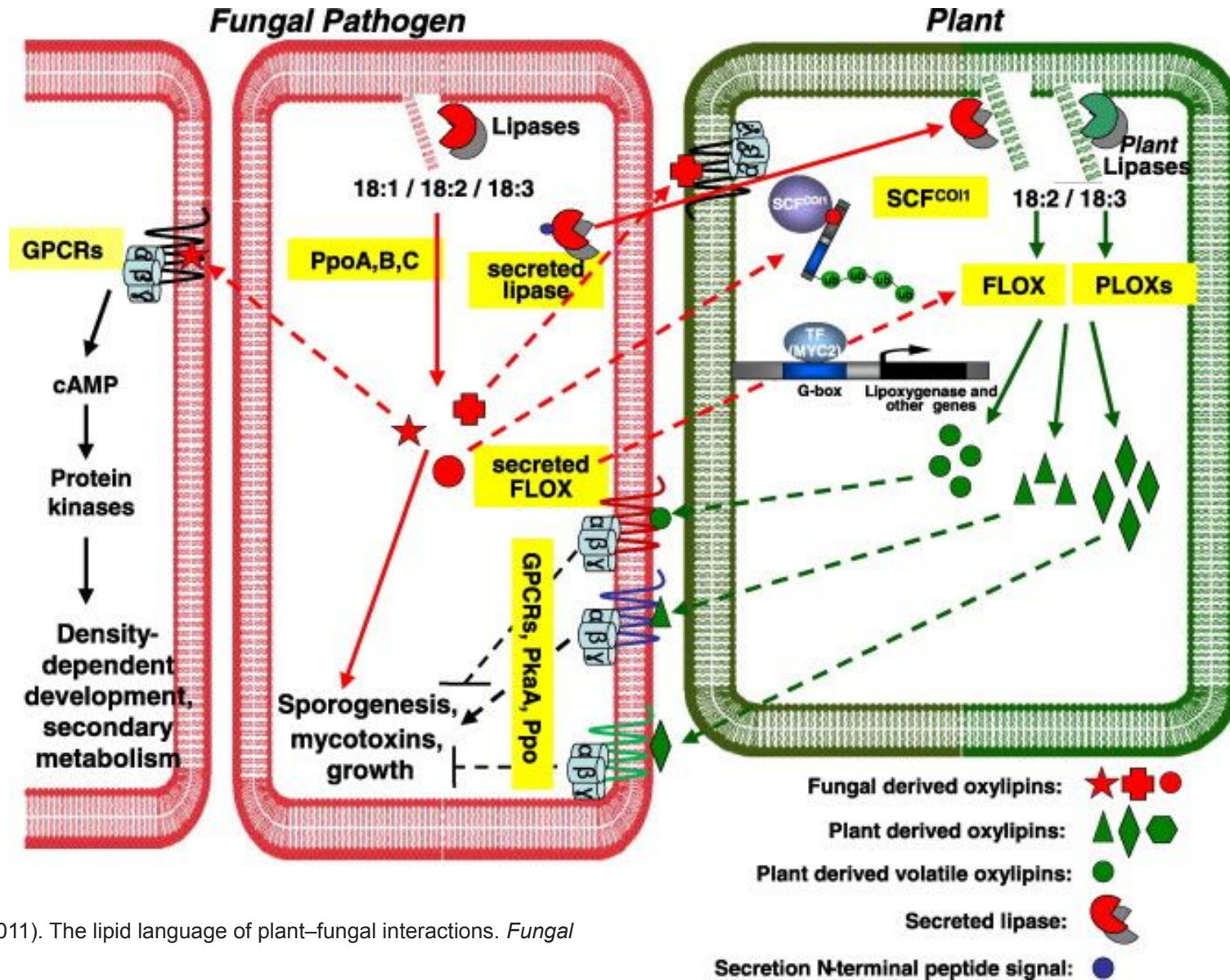
**MGDG** can serve as a **substrate** for **JA** synthesis during defense responses. **Free fatty acids** are released and cleaved at C-9 yielding **AzA**. AzA is a general oxidative stress signal implicated in SAR. Increased synthesis of **Gro3P** contributes to basal resistance and to SAR. **NO** and **ROS** are also implicated in mediating SAR. **ROS-mediated lipid peroxidation** is induced by biotic stress.

The *fad7fad8* double mutant is deficient in trienoic fatty acids and show reduced ROS accumulation, cell death, and lower resistance to *P. syringae*. The *ssi2* mutant accumulates low levels of 18:1. 18:1 is implicated in SA- and JA-mediated defense responses. AzA, azelaic acid; AZI1, azelaic acid induced 1; DGDG, digalactosyldiacylglycerol; DIR1, defective in induced resistance 1; FA, fatty acid; Gro3P, glycerol-3-phosphate; JA, jasmonic acid; MGDG, monogalactosyldiacylglycerol; NO, nitric oxide; OPDA, oxophytodienoic acid, PIP, phosphatidylinositol phosphates; ROS, reactive oxygen species; SA, salicylic acid; SAR, systemic acquired resistance.

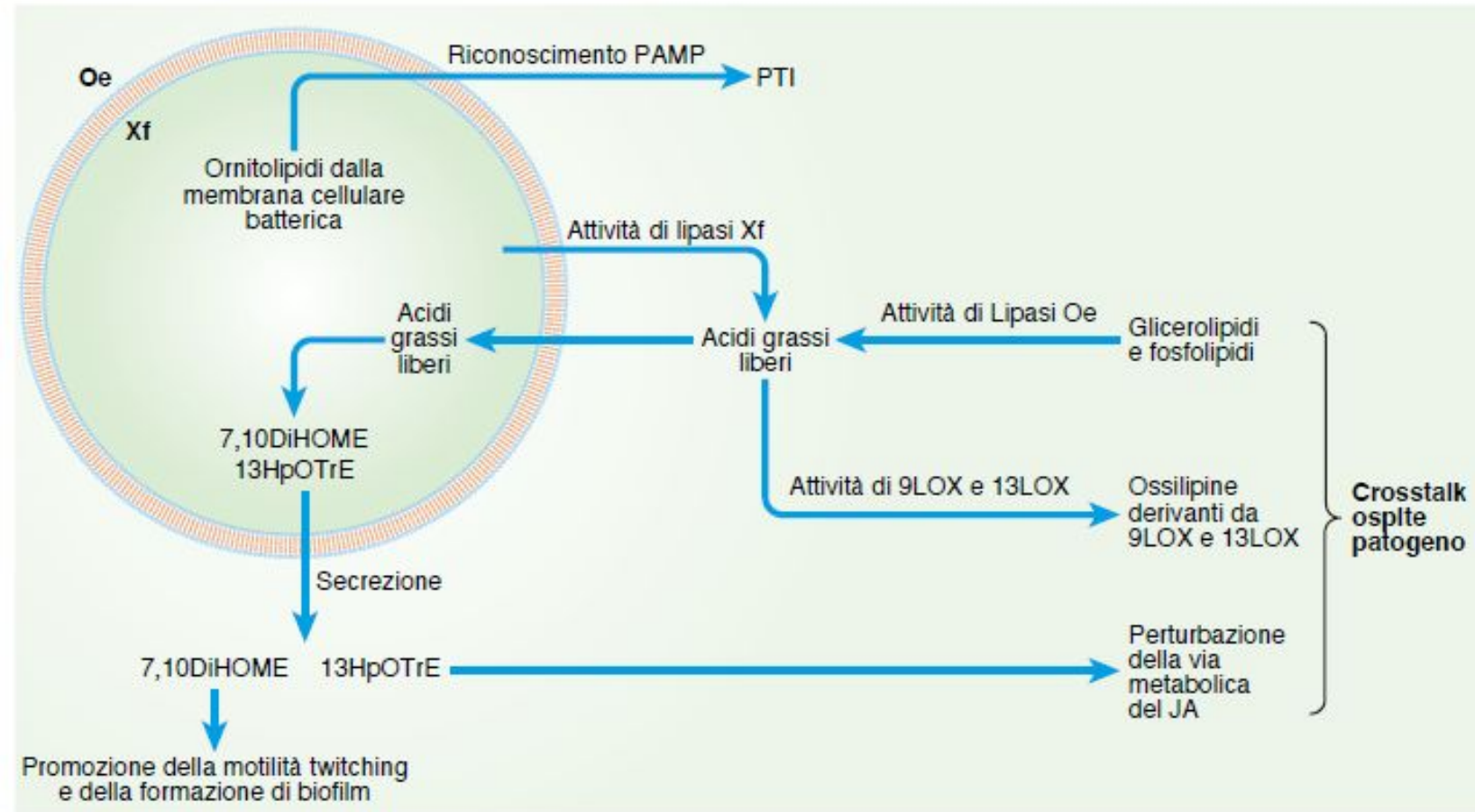
# Oxylipin Biosynthesis



# The lipid language of plant–fungal interactions



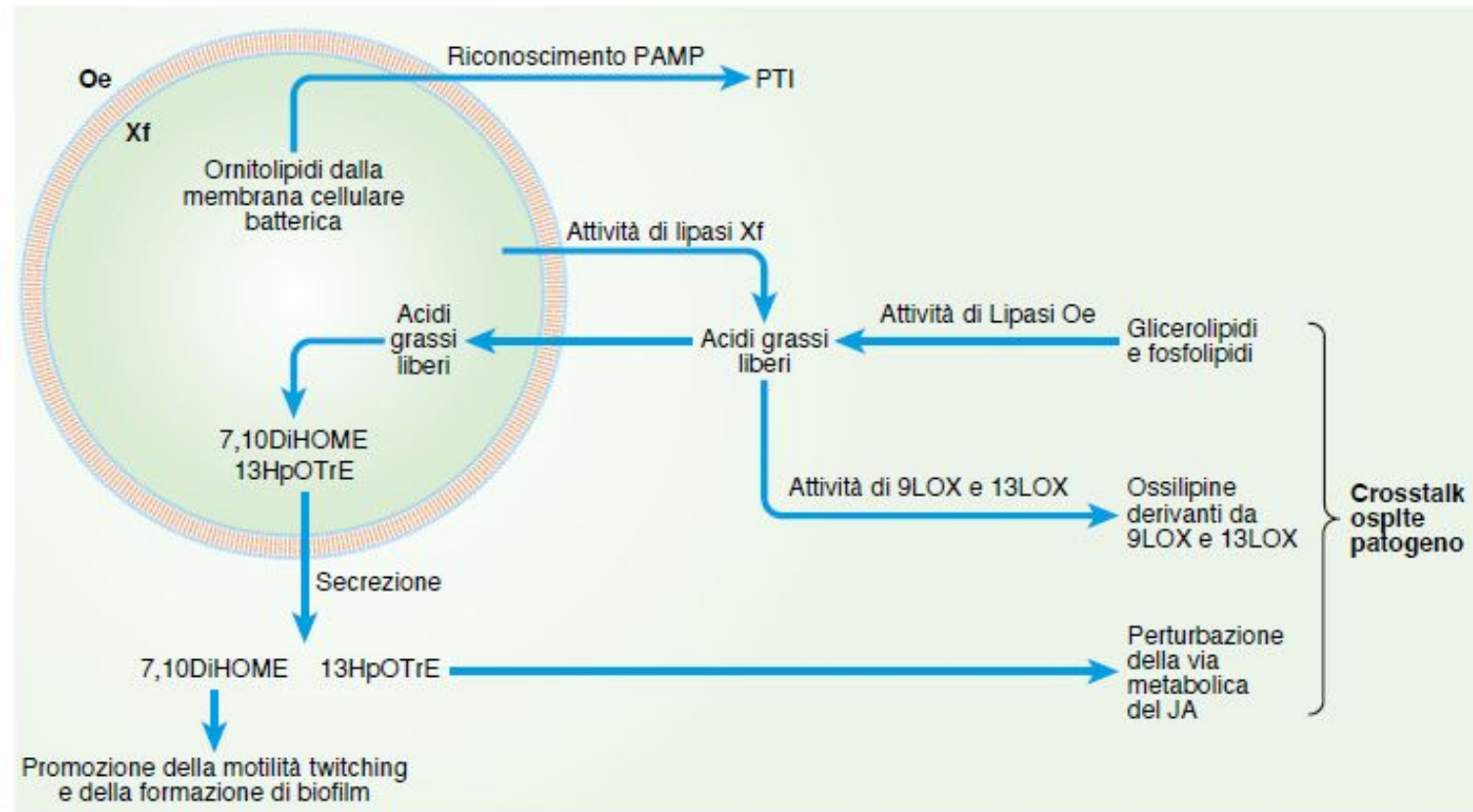
# Cross-talk lipidico pianta-batteri



- Entità lipidiche in tessuti bisogna considerare che possono appartenere sia alla pianta che al patogeno: infatti, come le piante cambiano il loro profilo lipidico a seguito dell'attacco di un patogeno, allo stesso modo anche nei batteri si ha un rimodellamento del lipidoma.
- Ornitolipidi, peculiari della membrana batterica, sono riconosciuti come PAMP dalla pianta e si ha pertanto l'attivazione della pathogen triggered immunity (PTI).



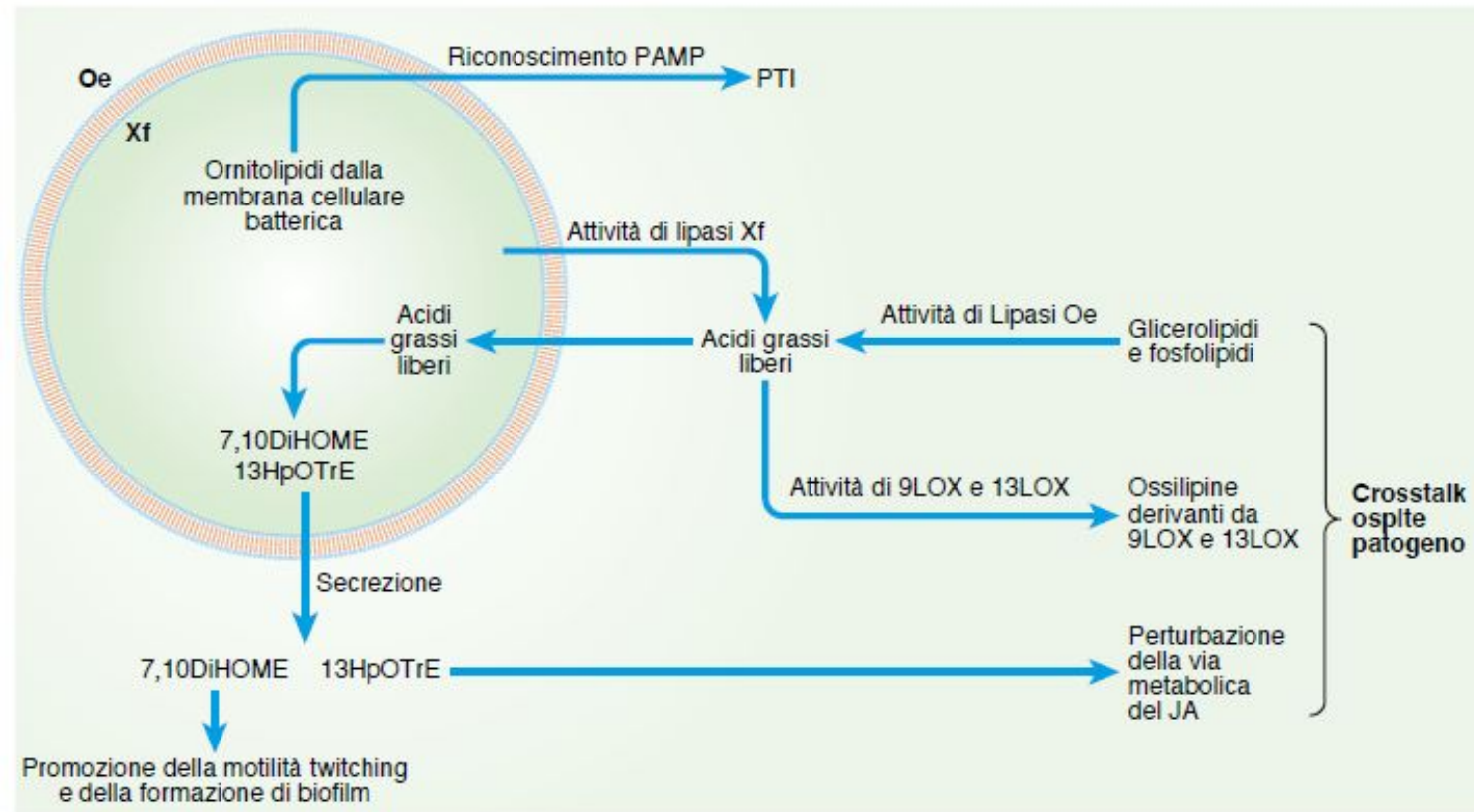
# Cross-talk lipidico pianta-batteri



- L'aumento di acidi grassi liberi->  
attività di lipasi secrete dal batterio/pianta

Il rimodellamento del lipidoma della pianta  
risulta essere vantaggioso per il batterio,  
che sfrutta molecole prodotte dall'ospite  
per modulare la propria fisiologia.

# Cross-talk lipidico pianta-batteri



Gli acidi grassi liberi possono andare incontro ad ossidazione per opera di 9 e 13 lipossigenasi (LOX) della pianta, da cui si originano **ossilipine** con gruppi ossidati sul C9 o sul C13, oppure possono essere internalizzati dalla cellula batterica e fungere da substrato per la sintesi di ossilipine come la 13HpOTRE e la 7,10 DiHOME.

L'accumulo della prima, precursore dello JA, potrebbe avere un feedback negativo sulla sintesi dello stesso. La seconda può promuovere l'adesione del batterio allo xilema e la motilità di tipo twitching, favorendo quindi la colonizzazione dello xilema e la formazione di aggregazioni batteriche (biofilm). La stessa azione promotrice potrebbe derivare da un'ossilipina derivante dalla via della 13 LOX, ovvero l'acido 13-idrossioctadecanoico (13HODE).

# Mycotoxins in crops and food



# Fumonisin biosynthesis

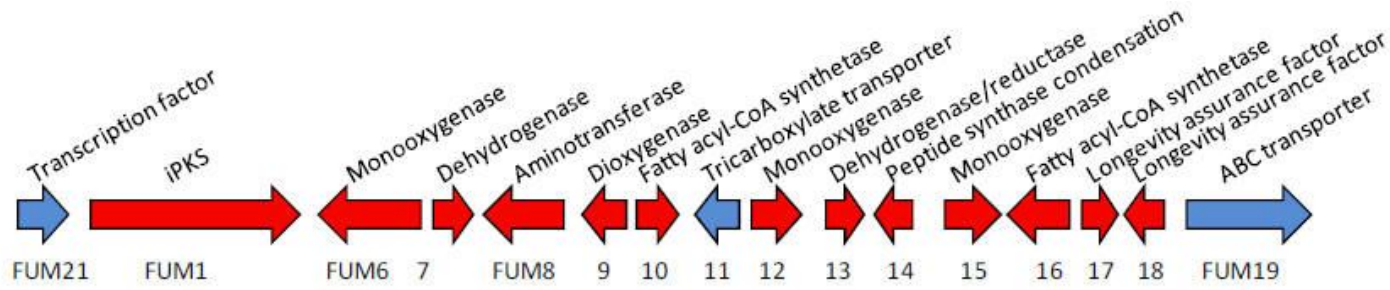
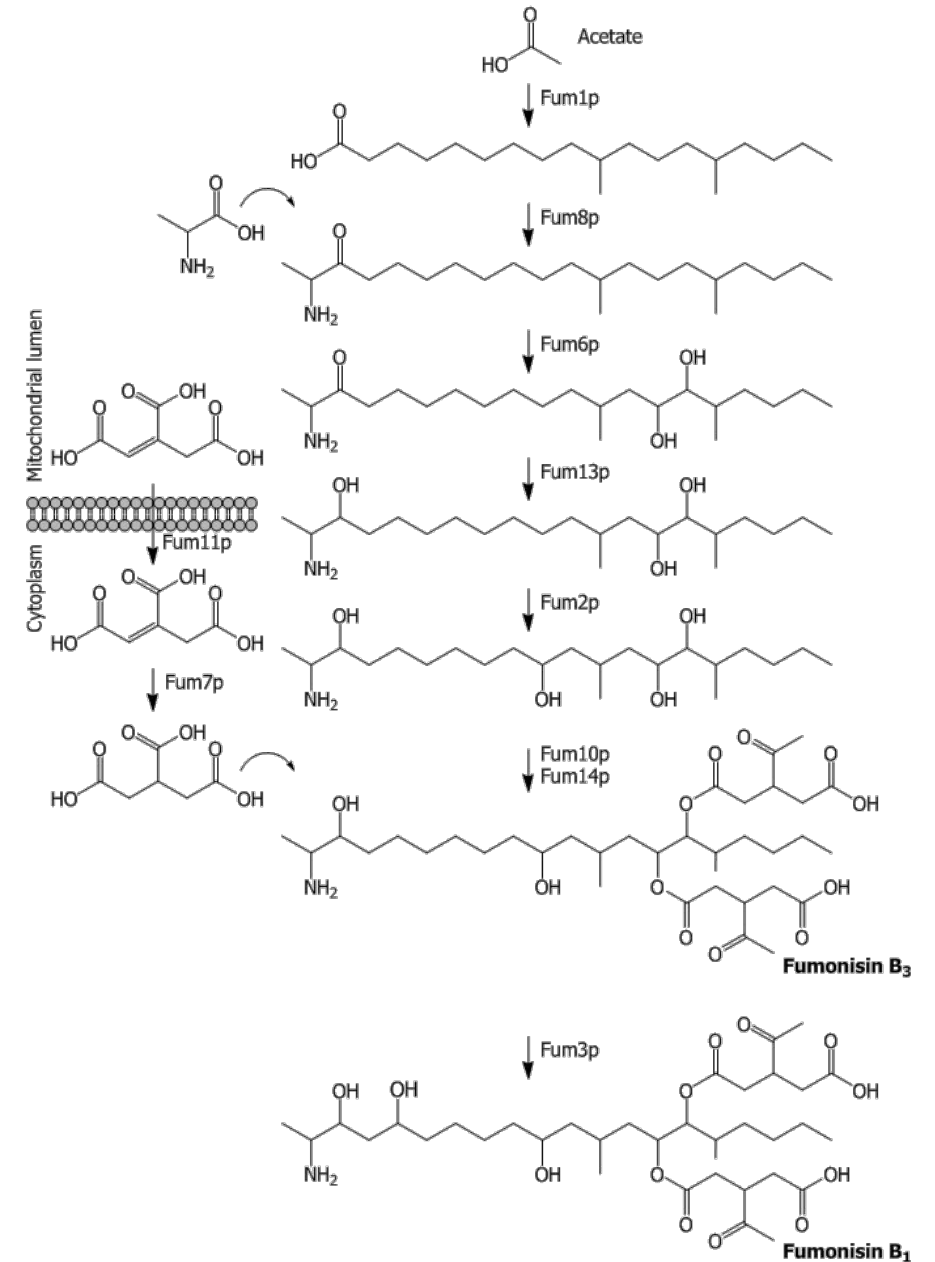
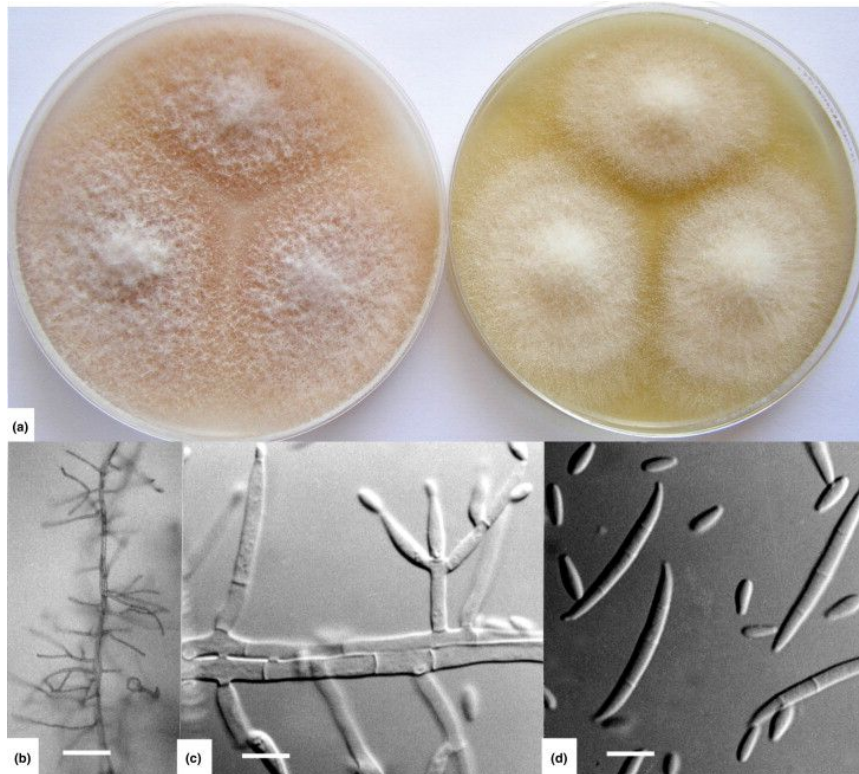
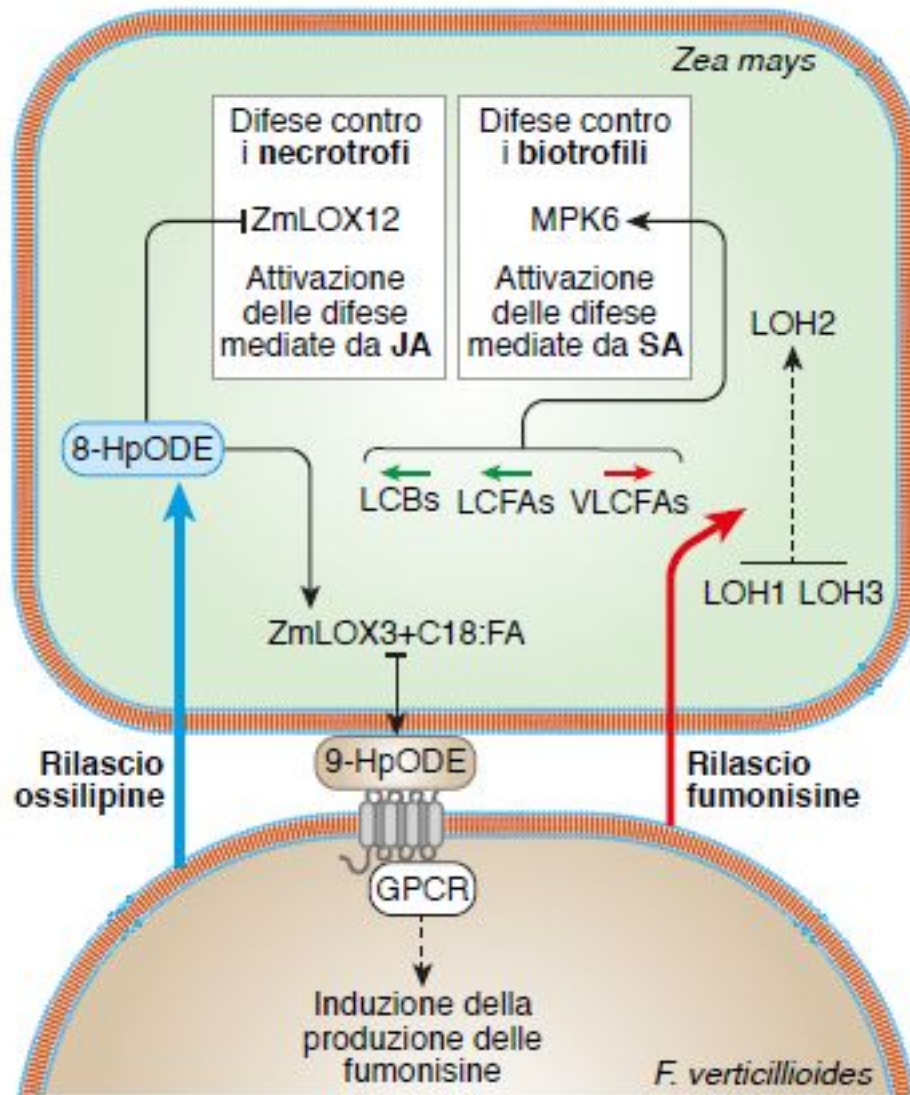


Figure 13 The FUM gene cluster in *F. moniliformis*.

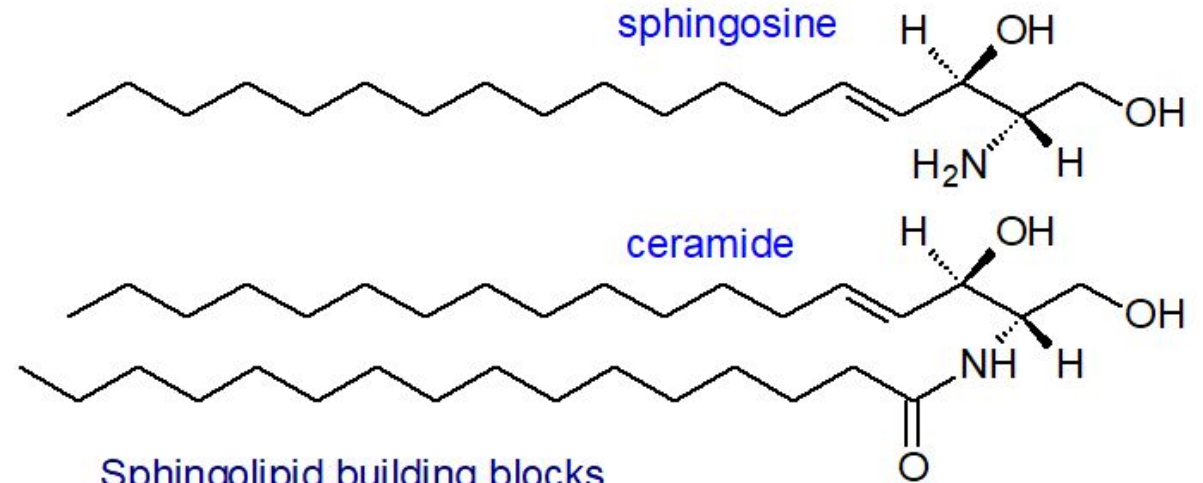
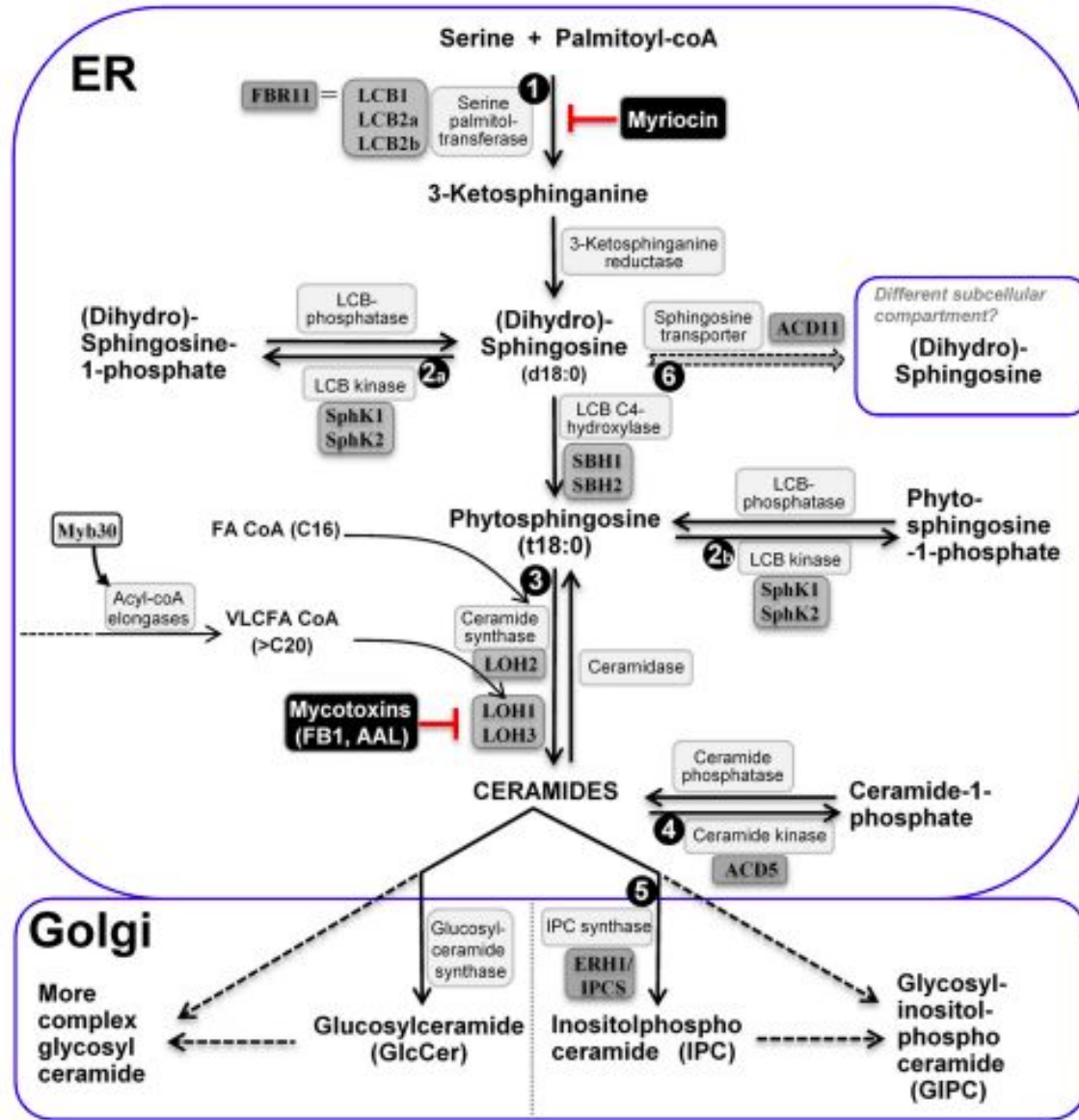


# Mycotoxins and lipidic cross-talk



**Figura 20.8** Micotossine e cross-talk lipidico. Nell'interazione tra *Fusarium verticillioides* e *Zea mays*, il fungo per direzionare la propria crescita verso la pianta produce ossilipine (8-HpODE) che nella cellula vegetale influenza a livello trascrizionale l'attività delle lipossigenasi. In particolare, inibisce la ZmLOX12 che produce i precursori per la sintesi degli jasmonati ed attiva la ZmLOX3 che invece produce delle 9-ossilipine (9-HpODE). Queste vengono secrete e legate da dei recettori accoppiate a proteine G al *tip* delle ife fungine attivando una cascata fosforilativa che porta alla sintesi della micotossina fumonisia B1 (FB1). Questa viene secreta e penetra nella cellula vegetale dove ha la capacità di inibire in modo differenziale le ceramide sintasi del mais. In mais sono probabilmente presenti 3 isoforme (LOH1-3) come nella pianta di *Arabidopsis*, ognuna delle quali produce sfingolipidi diversi. In particolare, FB1 inibisce LOH1 e LOH3 ed attiva LOH2 portando alla deplezione degli sfingolipidi contenenti *very long chain fatty acids* (>20 unità di carbonio) e all'accumulo delle basi a catena lunga (es. sfingosine) e degli sfingolipidi contenenti *long chain fatty acids* (14<C<18). Questo accumulo e la contemporanea deplezione di specifiche classi di sfingolipidi porta all'attivazione di una cascata di segnalazione chinasi che "fa capo" a MPK6 e che – attraverso la biosintesi di acido salicilico – porta alla morte cellulare programmata facilitando la crescita "necrotrofica" del fungo patogeno.

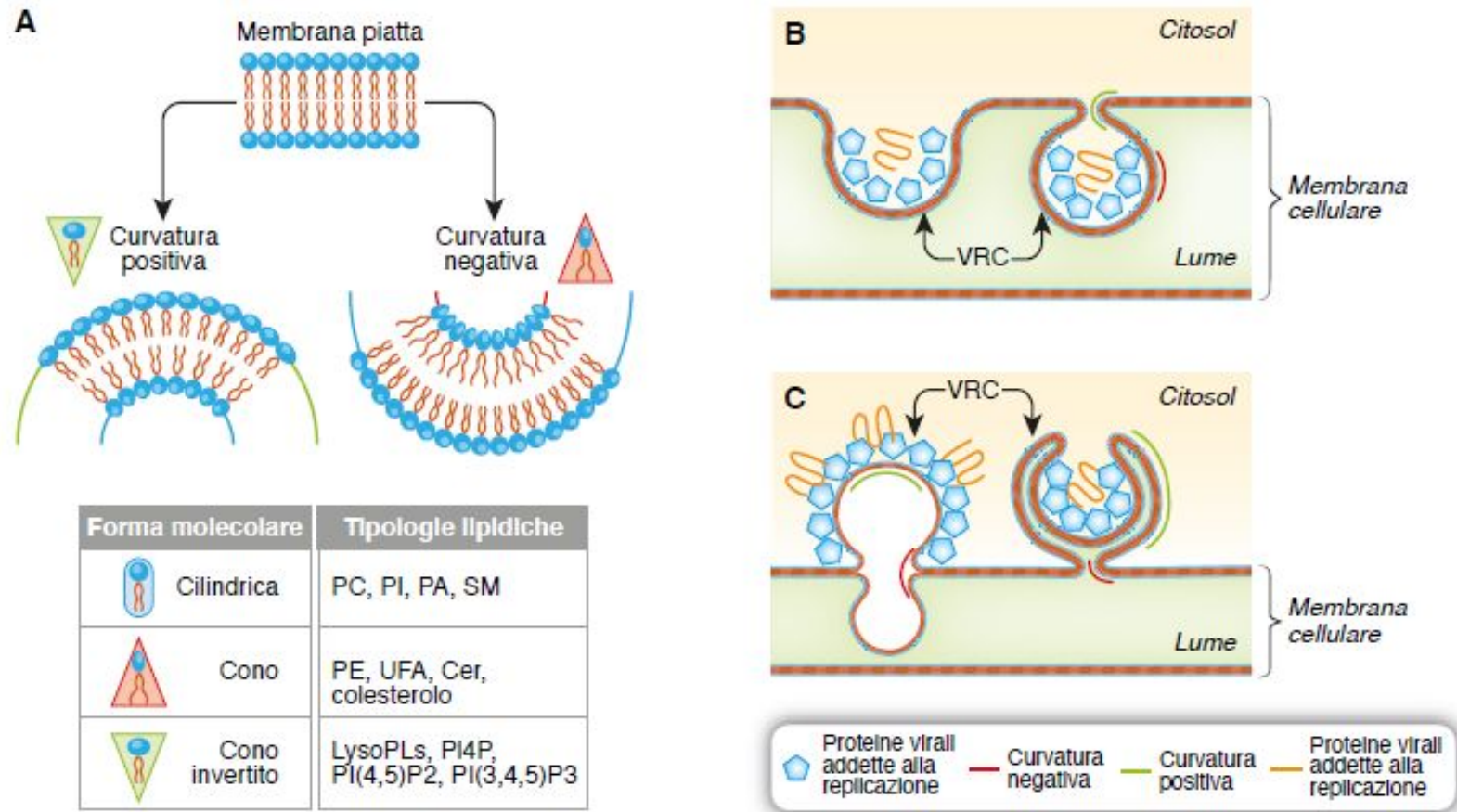
# Sphingolipid metabolism in plants



Sphingolipid building blocks

*De novo* ceramide synthesis occurs in the ER and synthesis of more complex sphingolipids occurs in the Golgi apparatus. The metabolic steps genetically characterized to be critical for plant PCD regulation are enumerated 1 to 6 ; Name of enzymes are in white boxes, and genetically characterized ones in gray boxes; Uncharacterized steps are linked with dashed lines.

# Viral Replication Model



**Figura 20.6** Modelli per la formazione della curvatura della membrana e dei complessi di replicazione virale. **A.** L'inserimento di alcuni lipidi con forma conica o conica rovesciata genera rispettivamente una curvatura "negativa" o "positiva" della membrana dell'organello dell'ospite. Modelli per la formazione dei complessi di replicazione virale del tipo "invaginazione" (**B**) e "protrusione" (**C**). Nel modello di tipo protrusione, il VRC a destra rappresenta la vescicola a doppia membrana (DMV). PC, fosfatidilcolina; PI, fosfatidilinositolo; PI4P, fosfatidilinositolo-4-fosfato; PI(4,5)P2, fosfatidilinositolo-4,5-bisfosfato; PI(3,4,5)P3, fosfatidilinositolo-3,4,5-trifosfato; PA, acido fosfatidico; SM, sfingomieline; PE, fosfatidiletanolamina; UFA, acido grasso insaturo; Cer, ceramide; VRC, complesso di replicazione dei virus.