



## 15-Й МЕЖДУНАРОДНЫЙ СИМПОЗИУМ ПО ЛИПИДАМ РАСТЕНИЙ (12–17 МАЯ 2002 г., ОКАДЗАКИ, ЯПОНИЯ)

На очередном, 15-м симпозиуме по липидам растений, созванном (впервые в Азии) Национальным институтом фундаментальной биологии (Окадзаки, Япония), от имени более чем 200 участников этой встречи из 29 стран было представлено свыше 160 докладов.

Симпозиум открылся вступительным словом его организатора – известного липидолога растений N. Murata, а затем была прослушана традиционная пленарная лекция, посвященная памяти известного липидолога растений T. Galliard (Англия), которая на этот раз была представлена E. Heinz (Германия). Автор клонировал  $\Delta 8$ - и  $\Delta 4$ -десатуразы сфинголипидов, выделенные из растений и грибов, а также трансферазы, переносящие остатки глюкозы с УДФ-глюкозы на стерины и церамиды с образованием мембранных глюколипидов, которые, как предполагается, играют важную роль в биосинтезе целлюлозы.

При рассмотрении структуры и методов анализа липидов были доложены результаты молекулярно-генетического анализа ферментов биосинтеза необычных жирных кислот (ЖК). В результате клонирования кДНК синтетазы циклопропановых ЖК из созревающих семян *Sterculia foetida* и ее экспрессии в суспензионной культуре клеток табака, в ФХ и других липидах полученных трансгенных клеток образовывалась содержащая циклопропановое кольцо дигидростеркулиновая кислота (до 6% суммы ЖК), которая синтезировалась путем присоединения  $\text{CH}_2$ -группы S-аденозил-метионина к *cis*-двойной связи остатка олеиновой кислоты (M. Pollard, США). Аналогичные опыты с кДНК из тунгового дерева (*Aleurites fordii*), масло которого содержит до 80% конъюгированной  $\alpha$ -элеостеариновой (9-*cis*, 11-*транс*, 13-*транс*-октадекатриеновой) кислоты, показали, что экспрессия этой кДНК в дрожжах *Saccharomyces cerevisiae* индуцировала в них образование двух ферментов: десатуразы, превращавшей олеиновую кислоту в линолевую, и конъюгазы, которая катализировала переход линолевой кислоты в  $\alpha$ -элеостеариновую и другие конъюгированные ПНЖК (J.M. Dyer, США). Применение нового метода анализа структуры ТАГ высокостеарино-

вого масла семян подсолнечника показало, что, в случае количественного преобладания в ТАГ данного семени линолеата над олеатом, в *sn*-1-положении этих ТАГ содержалось 20–40% насыщенных ЖК, а при обратном соотношении – только 15–30% (N.R. Lopez, Испания).

Ряд докладов на симпозиуме был посвящен биосинтезу ЖК. В работе Y. Sasaki (Япония) было достигнуто усиление экспрессии одной из субъединиц ключевого фермента этого биосинтеза – прокариотической (пластидной) ацетил-КоА-карбоксилазы – в листьях и семенах табака, которое приводило к увеличению выхода ЖК и масла в расчете на одно растение-трансформант. Изучение последующего фермента образования ЖК – конденсирующей 3-кетоацил-АПБ-синтетазы (КАС) – показало, что КАС из *Escherichia coli* и *Hordeum vulgare* специфичны для реакций удлинения ЖК  $\text{C}_{16:1}$  до  $\text{C}_{18:1}$  и  $\text{C}_{16:0}$  до  $\text{C}_{18:1}$  соответственно, а КАС из симбиотических азотфиксирующих бактерий, используя  $\text{C}_{12:1}$ -ЖК в качестве праймера, синтезируют в них остатки *транс*- $\text{C}_{16:3}$  и  $\text{-C}_{18:4}$ -ЖК в сигнальных липохитоолигосахаридах, которые контролируют образование клубеньков и формирование симбиоза в бобовом растении-хозяине (P. von Wettstein-Knowles, Дания). В лаборатории F.H. Shah (Малайзия) из мезокарпа плодов масличной пальмы выделили фрагмент КАС, который включал 238 аминокислот, был на 80–81% гомологичен КАС из других растений и на 48% – КАС из *E. coli* и мог превращать  $\text{C}_{16}$ -АПБ в  $\text{C}_{18}$ -АПБ. В той же лаборатории из плода пальмы был получен фрагмент гена терминального фермента биосинтеза ЖК – пальмитоил-АПБ-тиоэстеразы, кодирующий 357 аминокислот, а в растении *Arabidopsis thaliana* были идентифицированы четыре различные ацил-КоА-тиоэстеразы, специфичные к длинноцепочечным ацил-КоА, две из которых были локализованы в пероксисомах, а еще две – в митохондриях (J. Browse, США). Предшественником биосинтеза ЖК, а также восков, изопреноидов, флаваноидов и многих других растительных веществ служит ацетил-КоА; по данным В. J. Nikolau (США), полученным с применением мутантов, пулы ацетил-КоА в цитозоле и пластидах образуются под действием АТФ-цитратлиазы и пируватдегидрогеназы соответственно. В то же время незаменимым кофактором этого биосинтеза служит АПБ, состав изоформ ко-

Сокращения: АПБ – ацил-переносающий белок; ЖК – жирные кислоты; КАС – 3-кетоацил-АПБ-синтетаза; кДНК – комплементарная ДНК; ПНЖК – полиненасыщенные ЖК; ТАГ – триацилглицерин; УДФ – уридиндифосфат; ФХ – фосфатидилхолины.

торого у *A. thaliana* был установлен J. Ohlogge (США) и J.K. Branen (США).

Образование ПНЖК рассматривалось в докладе J. Harwood (Великобритания). Было обнаружено, что в ТАГ мха *Dicranum scoparium* до 25% суммы ЖК составляет ацетиленовая 9,12,15-октадекатриен-6-иновая кислота, которая синтезируется путем Δ6-десатурации линолеата в ФХ, включения полученной γ-линоленовой кислоты в ТАГ, повторной Δ6-десатурации ее цепи в ТАГ с образованием остатка 9,12-октадекадиен-6-иновой кислоты и превращения последней путем ее Δ15-десатурации без отрыва от ТАГ в остаток 9,12,15-октадекатриен-6-иновой кислоты. Биосинтез ω3-С<sub>22</sub>:6- и -С<sub>22</sub>:5-ПНЖК из <sup>14</sup>С-малонил-КоА у эукариотической микроводоросли *Schizochytrium*, весьма богатой этими ПНЖК, осуществляется не за счет С<sub>16</sub>-С<sub>18</sub>-ЖК в качестве предшественников и мембраносвязанных десатураз и элонгаз этих ЖК, а под действием растворимой поликетидсинтетазы, образующей ПНЖК у ряда морских бактерий (J. Metz, США). При клонировании из бактерий *Shewanella* sp. и *Moritella marina* генных кластеров, ответственных за биосинтез С<sub>20</sub>:5- и С<sub>22</sub>:6-ПНЖК соответственно, и последующей экспрессии этих кластеров в клетках *E. coli* в выделенных трансформантах наблюдалось образование только С<sub>20</sub>:5-ЖК, поскольку в кластере из *M. marina* отсутствовала ДНК, кодирующая фосфоантотеинилтрансферазу, которая переносит 4'-фосфоантотеин с КоА на апо-АПБ для получения активного голо-АПБ (Н. Окуяма, Япония). До сих пор ω3- и ω6-С<sub>20</sub>-С<sub>22</sub>-ПНЖК, незаменимые для питания человека, обнаруживались только в запасных ТАГ низших растений, грибов и животных. В докладе А. Abbadì (Германия) были изложены результаты опытов по клонированию и комбинированной функциональной экспрессии Δ6-элонгазы, а также Δ6- и Δ5-десатураз из мхов и водорослей для получения ω6-С<sub>20</sub>:4-ЖК в высших растениях. Элонгазы, пригодные для проведения такой экспрессии, были обнаружены и в целом ряде других организмов. Так, из микроводоросли *Isochrysis galbana*, продуцента ω3-С<sub>22</sub>:6-ЖК, выделили кДНК элонгазы, которая катализирует удлинение линолевой и α-линоленовой кислот с образованием ω6-С<sub>20</sub>:2- и ω3-С<sub>20</sub>:3-ЖК соответственно (А.К. Stobart, Великобритания), а из семян рапса – неспецифическую элонгазу, удлиняющую С<sub>18</sub>-С<sub>20</sub>-насыщенные и ПНЖК до С<sub>26</sub>-ЖК (М. Frentzen, Германия).

Особая сессия симпозиума была посвящена десатурационным ферментам, катализирующим образование характерных для растений ненасыщенных ЖК. По данным М. Abdel-Reheem (США), в семенах змееголовника (*Dracocephalum moldavica*) линолеат из ацил-КоА включается в ФХ, где подвергается быстрой ω3-десатурации с образованием α-линолената, который используется для биосинтеза ТАГ, тогда как в семенах сои линоле-

ат из ФХ включается в ТАГ непосредственно, без десатурации. Были получены мутанты цианобактерии *S. platensis* с пониженным или нулевым содержанием γ-линоленовой кислоты, которое было обусловлено дефектами в Δ6-десатуразе на транскрипционном или посттранскрипционном уровне и на уровне температурного сигнала (M.R. Walya, Таиланд). Наиболее эффективным природным продуцентом арахидоновой кислоты (100–300 мг/г мицелия) является гриб *Mortierella alpina*; в его мутантах, дефектных по Δ12- и Δ6-десатуразам, были обнаружены необычные Δ6,9-С<sub>18</sub>:2-, Δ8,11-С<sub>20</sub>:2- и Δ5,8,11-С<sub>20</sub>:3-ЖК, а также Δ5,11-С<sub>20</sub>:2- и Δ5,11,13-С<sub>20</sub>:3-ЖК соответственно (S. Shimizu, Япония). Экспрессия трех десатураз ЖК с различной позиционной специфичностью из морской диатомовой водоросли *Phaeodactylum tricorutum* в дрожжах *S. cerevisiae* привела к образованию в них арахидоновой и ω3-С<sub>20</sub>:5-ЖК, а в клетках водорослей и грибов был осуществлен биосинтез ω3-С<sub>22</sub>:6-ЖК из экзогенной ω3-С<sub>22</sub>:5-ЖК и была определена роль Δ4-десатуразы, с одной стороны, и поликетидсинтетазы, с другой, в этом биосинтезе (E. Heinz, Германия). Наконец, для определения механизма биосинтеза пунициновой (цис-9, транс-11, цис-13-октадекатриеновой) кислоты в семенах граната (*Punica granatum*) одну из десатураз ЖК этих семян, на 60% гомологичную Δ12-десатуразам других растений, экспрессировали в *S. cerevisiae*; инкубация полученных трансгенных дрожжей с линолеатом привела к образованию большого количества пунициновой кислоты, и потому был сделан вывод, что клонированный фермент представлял собой десатуразу/конъюгазу нового типа, которая катализирует превращение цис-Δ12-двойной связи линолеата в систему сопряженных транс-Δ11, цис-Δ13-двойных связей (E. Hornung, Германия).

При рассмотрении биохимии изопреноидных липидов были охарактеризованы ферменты биосинтеза токоферолов (витамина E) – пренилтрансфераза, переносящая пренильную группу с пренилпирофосфата на гомогентизат с образованием 2-метил-6-пренилбензохинола, и токоферолциклаза, формирующая хроманольную головную группу токоферолов (M. Frentzen, Германия). Наконец, для определения видового состава эфиров ЖК с фитостеринами, содержащихся в масле семян кукурузы и играющих важную роль в питании, был разработан метод их разделения согласно числу двойных связей на колонке с окисью алюминия при 75°C; фракционирования эфиров по числу атомов углерода в их ЖК-остатках при этом не происходило (R.A. Moreau, США).

ЖК, образующиеся при ферментативном гидролизе липидов, подвергаются затем пероксисомному β-окислению в виде их ацил-КоА-производных. Гены его ферментов с различной специфичностью к длине цепи ЖК были идентифицированы в мутантах *A. thaliana*; разрушение еще одного гена,

обнаруженного в этих мутантах, приводило к торможению распада ЖК при прорастании вследствие снижения активности ацил-КоА-тиолазы (I.A. Graham, Великобритания). Экспрессия бактериальной синтетазы, катализирующей полимеризацию промежуточного продукта  $\beta$ -окисления ЖК, 3-оксиацил-КоА, в пероксисомах трансгенных растений *A. thaliana* с образованием полиоксисалканоатов позволила определить механизм деградации ЖК в ходе  $\beta$ -окисления (Y. Poigier, Швейцария).

Данный симпозиум отличался от всех предыдущих тем, что в его программу были впервые включены две специальные устные сессии. На одной из них участники проинформировали о последних достижениях в биохимии животных липидов. Разрушение одной из изоформ стеароил-КоА-десатуразы в препуциальной железе мыши ингибировало биосинтез восковых эфиров, ТАГ,  $\Delta^9$ - $C_{18:1}$ - и  $\Delta^9$ - $C_{16:1}$ -ЖК, но увеличивало на 50%

уровень  $\Delta^6$ - $C_{16:1}$ -ЖК вследствие индукции пальмитоил-КоА- $\Delta^6$ -десатуразы, широко распространенной в растениях (J.M. Ntambi, США), а для определения путей образования мембранных фосфолипидов были получены мутантные клетки млекопитающих с измененным обменом этих липидов (M. Nishijima, Япония). На другой сессии были изложены данные работ в странах Азии по изучению состава, свойств и биосинтеза липидов растений.

Материалы симпозиума будут опубликованы издательством "Kluwer Academic Publishers" (Голландия).

*А.Г. Верецагин*  
*Институт физиологии*  
*растений РАН, Москва*  
*эл. почта: vdt@ippras.ru*