



13-Й МЕЖДУНАРОДНЫЙ СИМПОЗИУМ ПО ЛИПИДАМ РАСТЕНИЙ (5–10 июля 1998 г., Севилья, Испания)

На очередном, 13-м симпозиуме по липидам растений, созванном Институтом жиров (Севилья, Испания), присутствовали более 280 исследователей из 30 стран.

По традиции симпозиум открылся обсуждением новейших достижений в области методов исследования липидов. Продолжая свою многолетнюю работу по определению структуры ЖК с помощью ГЖХ-МС и ВЭЖХ-МС, W. Christie (Шотландия) показал, что применение 4,4-диметилноксазолиновых производных ЖК позволяет достоверно устанавливать положение двойных связей в их углеводородной цепи. В той же лаборатории разработаны методы определения видового состава полярных липидов растений путем ВЭЖХ-МС-анализа никотиноиловых эфиров ДАГ и ВЭЖХ-метод идентификации мутантов *Arabidopsis thaliana* с различным составом этих липидов в листьях. Кроме того, ВЭЖХ была использована для установления состава 2-гидрокси-ЖК и сфингозиновых оснований в глюкозилцерамидах листьев *A. thaliana* (H. Imai, Япония), видового состава смеси синтетических фосфатидилхолинов, включающей остатки 14 видов ЖК (Т. МакЕон, США), и аналитического разделения 3,5-динитрофенилуретановых производных энантиомерных *sn*-1,2- и *sn*-1,3-ДАГ на хиральной колонке, содержащей *N*-(*R*)-1-(α -нафтил)этиламинокарбонил-(*S*)-валин в качестве стационарной фазы (J. Bezar, Франция). Были также представлены новый метод спектрофотометрического количественного анализа свободного CoA для быстрого определения активности CoA-зависимых ЛФК-АТ и ДАГ-АТ (R. Rodriguez-Sotres, Мексика) и методика установления содержания синапоилхолина (синапина), лигнанов и других биологически активных фенольных соединений в масличных семенах с помощью капиллярного электрофореза (P. Kolodziejczik, Канада). Наконец, четыре доклада касались оценки качества преобладающего в средиземноморском регионе оливкового масла с применением спектроскопии комбинационного рассеяния, ГЖХ и других традиционных методов анализа (R. Aparicio, A. Cert, J. Garcia, Испания; E. Perri, Италия).

При изучении окисления ЖК была выделена и идентифицирована кДНК из семян клещевины, кодирующая синтез белкового кофактора олеат- Δ 12-гидроксилазы (R. Cifarelli, Италия). Липоксигеназа, которая катализирует превращение ПНЖК, включающих 1,4-пентадиеновую систему, в 9- и 13-гидроперокси-ЖК, в зародышках ячменя содержалась в ви-

де двух изоформ, активность которых в покоящихся и прорастающих семенах была различной (W. Holtman, Голландия); в созревающих и прорастающих семенах рапса присутствовали три и два изоформа соответственно (O. Valentova, Чехия). В исходных культурах клеток петрушки $C_{18:2}$ -ЖК могла превращаться только в 9-гидропероксилинолеовую, однако их заражение грибом *Phytophthora megasperma* индуцировало образование 13-гидропероксилинолеата (E. Vlee, Франция). В каллусной культуре плодов маслины липоксигеназа продуцировала как 9-, так и 13-гидроперокси-ЖК и включала шесть пластидных и цитозольных изоформ, специфичных к линолеату или линоленату и имеющих различающиеся оптимумы рН; эти различия определяли состав летучих продуктов окисления ЖК (J. Harwood, Великобритания).

В другой лаборатории было показано, что в мембране липидных тел этих плодов была сосредоточена 13-липоксигеназа, которая, переходя в масло, образовывала там 13-гидропероксилинолеовую кислоту; замена только одного аминокислотного остатка в активном центре этого фермента путем направленного мутагенеза приводила к его превращению в 9-липоксигеназу (I. Feussner, Германия).

В микросомах лукович чеснока и в клетках водорослей 13-гидропероксилинолеовая кислота под действием соответствующей синтетазы превращалась в ЖК, представлявшие собой простые дивиниловые эфиры, атом кислорода которых происходил из гидропероксигруппы (А. Гречкин, Россия). Метилловый эфир этой кислоты в среде органического растворителя и в присутствии пероксигеназы микросом семян овса образовывал эпокисы ЖК (G. Piazza, США), а в составе фосфолипида остатки линолеата превращались под действием липоксигеназы в остатки 13-гидропероксилинолеовой кислоты (G. Veldink, Голландия). Наконец, в мономолекулярных слоях свободных ЖК на поверхности раздела аргон-вода площадь на одну молекулу для олеиновой и линолевой кислот составляла 60 и 80 Å² соответственно, а для их оксидов и пероксидов достигала 103–150 Å²; добавление β -циклодекстрина к водной фазе резко усиливало переход всех ЖК в эту фазу (R. Verger, Франция).

Продуктами переокисления ПНЖК в листьях картофеля и *A. thaliana* являются фитогормоны – жасмоновая кислота и ее новое производное – ди-нор-9S,13S-12-оксо-10,15(Z)-фитодиеновая кислота, представляющая собой продукт окисления $C_{16:3}$ -ЖК и C_{16} -гомолог C_{18} -фитодиеновой кислоты (H. Weber, Швейцария). После обработки этиолированных проростков вики метилжасмонатом содержание цитохрома-P450, активность ω -гидроксилазы ЖК и уровня ω -гидроксилауриновой кислоты возра-

Сокращения: АПБ – ацил-переносящий белок; АТ – ацил-трансфераза; ДАГ – диацилглицерин; ЖК – жирные кислоты; ЛФК – лизофосфатидные кислоты; ПНЖК – полиненасыщенные ЖК; ТАГ – триацилглицерин; Gto3P – *sn*-глицеро-3-фосфат.

стали в 14 раз (J.-P. Salaun, Франция). В микросомах проростков люцерны, а также плодов огурца и перца содержались гидропероксидлиазы, осуществляющие расщепление цепи как 9-, так и 13-пероксидов линолевой и линоленовой кислот с образованием C_9 - и C_6 -летучих альдегидов и C_9 - и C_{12} -кетокислот соответственно, а также фермент, катализирующий *цис-транс*-изомеризацию этих альдегидов (G. Veldink, Голландия). Два изоэпимера лиазы, активные лишь в отношении 13-пероксидов ПНЖК, обнаружены в мембранах мякоти плодов маслины (J. Sanchez, Испания). В летучей фракции оливкового масла найдены C_6 - и C_9 -альдегиды (67–92%), а также спирты и сложные эфиры (F. Angerosa, M. Servili, Италия). В микросомах проростков огурца обнаружены известные ранее гексаналь и (2E)-гексеналь, а также найденные впервые (2E)-4-гидрокси-2-ноненаль и -гексеналь, которые были идентифицированы с помощью ВЭЖХ и ГЖХ-МС их *o*-пентафторбензилгидразонов (I. Feussner, Германия).

При изучении химии пренильных липидов обнаружены новые производные сквалена – авенацины (антигрибковые сапонины), путь биосинтеза которых был установлен после инкубации корней овса с [^{14}C]мевалоновой кислотой (M. Trojanowska, Англия). Фунгицидное действие в опытах с соей, зараженной грибом *Septoria glycines*, оказывали также природные тритерпены – карбеноксолон, глицирризиновая кислота и сезамол (H. Norman, США).

При добавлении ацетата к культуре зеленой водоросли в ней удваивалось содержание кетокаротиноида астаксантина, служащего компонентом ряда пищевых продуктов (M. Orosa, Испания), а обработка проростков гороха 2-(4-хлорфенилтио)триэтиламинном приводила к увеличению уровня суммарных каротиноидов, ликопина и хлорофилла, активности фитоендесатуразы и фитоенсинтетазы и скорости образования хромопластов (P. Mills, Англия). В то же время добавление к культуре клеток табака мевинолина – ингибитора синтеза мевалоната – вызывало 80% торможение роста клеток, которое снималось фарнезолом (T. Vach, Франция). Из *A. thaliana* клонировали ген фермента, катализирующего образование α -токоферола из продуктов шикиматного пути биосинтеза, и ген, кодирующий метилтрансферазу, которая превращает γ -токоферол в α -токоферол (D. Shintani, США), а в семенах 10 видов *Brassica* содержание этих изомеров не коррелировало с уровнем других компонентов семени (F. Goffman, Германия). Наконец, найдено, что в листьях шпината пластохинон и убихинон синтезируются в эндоплазматическом ретикулуме, а затем переносятся в пластиды (M. Wanke, Польша).

При исследовании растительных стероидов было обнаружено, что в листьях, плодах и семенах *A. thaliana* их общее содержание составило 142, 2,6 и 28 мкг/г соответственно; в их составе были идентифицированы десять стероидов, образующихся на основе 24 α -этилхолестерина, в том числе новый изомер зимостерина – холеста-9(11),24-диенол. У различных растений между размерами плода и количеством стероидов имелась прямая корреляция (W. Nes, США). В стеринах культуры клеток петрушки, содержащей ингибиторы синтеза стероидов, до 80% приходилось на долю 9 β ,19-циклопропил-

14 α -метил- Δ^8 -стероидов, а обычные стероиды – сито-стерин, стигмастерин и 24-метилхолестерин – отсутствовали (M. Hartmann, Франция). Из мембран растений выделили ферменты С4-деметилирования стероидов (4,4-диметилстерин- и 4 α -метилстерин-4 α -метилоксидазы) и Δ^7 -стерин-С5(6)-десатуразу, которые нуждались в O_2 и цитохроме b_5 , тормозились цианидом, не реагировали на СО и участвовали в превращении циклоартенола в Δ^5 -стероиды (M. Taton, Франция). В то же время из различных растений клонировали кДНК стерин-С-метилтрансфераз, катализирующих двойное метилирование стероидов с образованием 24-этилстероидов, а из *A. thaliana* были выделены мутанты, которые за счет инактивации Δ^7 -стерин-С5(6)-десатуразы были обогащены Δ^7 -стеринами (R. Benveniste, Франция).

Из *A. thaliana* были выделены мутанты, семена которых характеризовались пониженной масличностью, пониженным уровнем ТАГ и активности ДАГ-АТ и одновременно увеличенным содержанием ДАГ (D. Taylor, Канада); уменьшенными на 30% концентрациями масла, олеата и $C_{20:1}$ -ЖК с преобладанием в ТАГ линолената, а также усиленным включением в ТАГ ацетата и пирувата при отсутствии включения сахаров (S. Benning, Германия). Трансгенные формы семян *A. thaliana* были получены путем экспрессии в них Δ^{12} -олеил-гидроксилазы из кледевины с образованием масла, богатого рицинолеатом (M. Smith, Канада); ферментов биосинтеза Δ^9 -октадецен-12-иновой и $\Delta^{12,13}$ -эпокси-9-октадеценной ЖК с образованием соответствующих ЖК в количестве 25 и 15% (S. Stymne, Швеция); тиоэстеразы из *Cuphea lanceolata* и синтетазы полимерных полиоксиалканоев из *Pseudomonas aeruginosa*, содержащих в качестве мономера промежуточный продукт β -окисления – 3-гидроксиоктановую кислоту и применяющихся в качестве пластмасс, способных к биодegradации (Y. Poigier, Швейцария); и Gro3P-ацилтрансферазы, которая оказалась более специфичной к олеил-АПБ, чем к пальмитоил-АПБ (A. Slabas, Англия).

Общее впечатление от симпозиума – бурное развитие исследований по химии липидов растений в западных странах и в Японии и заметное отставание отечественных работ в этой области, которые были представлены лишь шестью докладами. В то же время следует отметить, что сообщения наших ученых были встречены участниками симпозиума с интересом и пользовались значительным успехом.

Представленные материалы показали, что в настоящее время фитоллипидология в большой степени основывается на молекулярно-биологических представлениях и экспериментальных подходах. В результате получен ряд перспективных для практики сортов трансгенных растений – продуцентов ценных масел для нужд промышленности и медицины. Впервые в программу симпозиума включена специальная секция, посвященная липидам грибов.

Труды симпозиума будут опубликованы Университетом Севильи. 14-й симпозиум по растительным липидам решено провести в Кардиффе (Великобритания) в июле 2000 г.

А.Г. Верещагин
Институт физиологии растений РАН