МИКРОБИОЛОГИЯ, 2019, том 88, № 1, с. 120–122

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

ВЛИЯНИЕ ТРИСПОРОИДОВ НА ЛИПОГЕНЕЗ Т (–) ШТАММА МИЦЕЛИАЛЬНОГО ГРИБА *BLAKESLEA TRISPORA*

© 2019 г. О. А. Данилова[a], *, В. М. Терёшина[a]

[a] *Федеральный исследовательский центр "Фундаментальные основы биотехнологии" Российской академии наук, Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, Москва, 119071, Россия*

**e-mail: noitcelfer@mail.ru*

Поступила в редакцию 28.08.2018 г.
После доработки 03.09.2018 г.
Принята к публикации 02.10.2018 г.

Ключевые слова: *Blakeslea trispora*, триспороиды, триспоровые кислоты, липогенез

DOI: 10.1134/S0026365619010038

Гетероталличный мукоровый гриб *Blakeslea trispora* используется в биотехнологии в качестве суперпродуцента β-каротина и ликопина, которые применяются в медицине, пищевой промышленности и косметологии. При половом взаимодействии (+) и (–) штаммов образуются триспороиды, триспоровые кислоты и их нейтральные предшественники – триспорины и триспоролы. Триспоровые кислоты являются авторегуляторными сигнальными молекулами, которые осуществляют коммуникацию между (+) и (–) штаммами гриба (Schachtschabel et al., 2008). Посредством индукции фитоинсинтазы и ликопинциклазы, триспоровые кислоты стимулируют синтез каротиноидов и других изопреноидов (Shmidt et al., 2005) преимущественно у (–) штамма, который, в отличие от (+) штамма, не способен образовывать триспоровые кислоты в отсутствие полового партнера (Schachtschabel et al., 2008).

Нейтральные липиды – эфиры стеринов, три- и диацилглицерины – являются основными компонентами липидных глобул, в которых локализованы липофильные каротиноиды (Murphy, Vance, 1999), и могут синтезироваться *de novo* или поступать в клетку экзогенно. β-Каротин и триацилглицерины имеют общего предшественника, но синтезируются в разных компартментах, что указывает на независимую регуляцию их синтеза (Kuzina, 2007). Известно, что растительные масла (особенно масла с высокой степенью ненасыщенности) стимулируют каротиногенез у *B. trispora* (Верещагина и соавт., 2010). В совокупности существующие данные указывают на тесную взаимосвязь между каротино- и липогенезом.

Целью настоящей работы было изучение влияния триспоровых кислот и их нейтральных предшественников, триспоринов и триспоролов, на синтез нейтральных и мембранных липидов Т (–) штамма *B. trispora*.

Работу проводили с Т (–) штаммом *B. trispora* из коллекции Института микробиологии им. С.Н. Виноградского. Действие триспороидов на липогенез Т (–) штамма *B. trispora* изучали радиоизотопным методом. Инокулят выращивали, как описано ранее (Верещагина и соавт., 2012), затем в количестве 20% (об.) вносили в мучную среду и выращивали еще 24 ч. Полученную культуру по 30 мл переносили в колбы емкостью 200 мл. В опытные варианты вносили растворы триспороидов в этаноле, которые получали как описано ранее (Верещагина и соавт., 2012), из расчета 50 мкг/мл среды, а в контроль – соответствующее количество этанола и выращивали в течение 3 ч. Затем в колбы вносили меченый (^{14}C)-ацетат натрия из расчета 16 кБк/мл и культивировали еще 3 ч. Анализ каротиноидов проводили спектрофотометрически (Терешина и соавт., 1994). Анализ липидов для определения включения (^{14}C)-ацетата натрия в индивидуальные фракции проводили в соответствии с описанным в предыдущей работе (Терёшина с соавт., 2013). Опыты проводили в трехкратной повторности, в сообщении представлены данные типичного опыта, отражающие общую закономерность. Разброс результатов не превышал 10%.

В результате исследования показано, что нейтральные предшественники триспоровых кислот, триспорины и триспоролы, не оказывали заметного влияния на биосинтез нейтральных липидов (табл. 1). Триспоровые кислоты, напротив, обладали выраженным действием, стимулируя синтез диацилглицеринов, стеринов и триацилглицеринов в 1.5–2 раза. При этом ни триспоровые кислоты, ни триспорины и триспоролы не оказывали влияния на включение метки во фракцию свободных жирных кислот.

Таблица 1. Влияние триспороидов на включение (^{14}C)-ацетата в нейтральные и мембранные липиды и каротиноиды *B. trispora* (имп./мин/г сухой биомассы × 10^3)

Фракция		Контроль	Триспорины и триспоролы	Триспоровые кислоты
Нейтральные липиды	Диацилглицерины	63.9	61.1	129.3
	Стерины	348.5	371.5	507.8
	Свободные жирные кислоты	62.5	53.9	79.7
	Триацилглицерины	706.6	733.5	1277.7
Мембранные липиды	Фосфатидилэтаноламин	203.4	243.8	256.8
	Фосфатидилхолин	256.3	305.4	276.8
	Кардиолипин	54.7	52.9	57.9
	Фосфатидная кислота	70.6	75.7	78.7
	Сфинголипиды	57.2	88.4	81.2
	Фосфатидилсерин	71.4	92.4	41.2
	Фосфатидилинозитол	58.6	75.0	37.2
	Лизофосфатидилхолин	40.1	Следы	Следы
Каротиноиды		60.7	50.0	791.1

Интенсификация биосинтеза нейтральных липидов под действием триспоровых кислот сопровождалась выраженным каротиногенным эффектом: включение метки в каротиноиды возрастало в 13 раз, тогда как фракция триспоринов и триспоролов подобным действием не обладала.

Изучение действия триспороидов на синтез полярных липидов – основных компонентов мембран – показало, что включение метки в них изменялось слабо, в отличие от нейтральных липидов. Так, триспоровые кислоты и их нейтральные предшественники не оказывали заметного влияния на синтез фосфатидилэтаноламинов, фосфатидилхолинов, кардиолипинов и фосфатидных кислот, но немного стимулировали синтез сфинголипидов (в 1.5 раза). Нужно отметить, что в присутствии триспоринов и триспоролов уровень синтеза фосфатидилсеринов и фосфатидилинозитолов слабо возрастал (на 30%), а при введении триспоровых кислот падал в 1.6–1.7 раза.

Таким образом, впервые показано, что триспоровые кислоты принимают участие в регуляции липогенеза, однако их действие на биосинтез нейтральных и мембранных липидов различно. Установлено стимулирующее действие триспоровых кислот на биосинтез стеринов, а также триацилглицеринов и диацилглицеринов, являющихся основными компонентами липидных глобул, тогда как заметного влияния на синтез фосфолипидов не выявлено. В отличие от триспоровых кислот, триспорины и триспоролы не оказывают значительного влияния на биосинтез ни нейтральных, ни мембранных липидов. При этом триспоровые кислоты, в отличие от их нейтральных предшественников, обладают сильным каротиногенным эффектом.

Полученные результаты подтверждают предположение о тесной взаимосвязи липо- и каротиногенеза и указывают на новую функцию триспоровых кислот, заключающуюся в их способности стимулировать не только каротиногенез, но и синтез нейтральных липидов – диацилглицеринов, триацилглицеринов и стеринов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Верещагина О.А., Меморская А.С., Кочкина Г.А., Терёшина В.М. Триспороиды и каротиноиды у штаммов *Blakeslea trispora* с различной способностью к зиготообразованию // Микробиология. 2012. Т. 81. № 5. С. 570–577.

Vereshchagina O.A., Memorskaya A.S., Kochkina G.A., Tereshina V.M. Trisporoids and carotenoids in *Blakeslea trispora* strains differing in capacity for zygote formation // Microbiology (Moscow). 2012. V. 81. P. 517–525.

Верещагина О.А., Меморская А.С., Терёшина В.М. Роль экзогенных липидов в ликопиногенезе мукорового гриба *Blakeslea trispora* // Микробиология. 2010. Т. 79. № 5. С. 605–613.

Vereschagina O.A., Memorskaya A.S., Tereshina V.M. The role of exogenous lipids in lycopene synthesis in the mucoraceous fungus *Blakeslea trispora* // Microbiology (Moscow). 2010. V. 79. P. 593–601.

Терёшина В.М., Меморская А.С., Котлова Е.Р. Обмен липидов у *Aspergillus niger* в условиях теплового шока // Микробиология. 2013. Т. 82. № 5. С. 528–533.

Tereshina V.M., Memorskaya A.S., Kotlova E.R. Lipid metabolism in *Aspergillus niger* under conditions of heat shock // Microbiology (Moscow). 2013. V. 82. P. 542–546.

Терёшина В.М., Меморская А.С., Феофилова Е.П. Экспресс-метод определения содержания ликопина и β-каротина // Микробиология. 1994. Т. 63. № 6. С. 1111–1116.

Kuzina V., Cerdá-Olmedo E. Ubiquinone and carotene production in the Mucorales *Blakeslea* and *Phycomyces* // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2007. V. 76. P. 991–999.

Murphy D.J., Vance J. Mechanisms of lipid-body formation // Trends Biochem. Sci. 1999. V. 24. P. 109–115.

Shmidt A., Heinecamp T., Matuschek M., Liebmann B., Bollschweiler C., Brakhage A.A. Analysis of mating-dependent transcription of *Blakeslea trispora* carotenoid biosynthesis genes *carB* and *carRA* by quantitative real-time PCR // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2005. V. 67. P. 549–555.

Schachtschabel D., David A., Menzel K., Schimek C., Wöstemeyer J., Boland W. Cooperative biosynthesis of trisporoids by the (+) and (–) mating types of the zygomycete *Blakeslea trispora* // ChemBioChem. 2008. V. 9. P. 3004–3012.