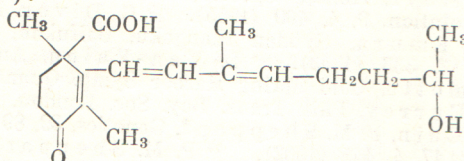


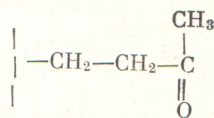
Л. А. ВАКУЛОВА, Г. А. БАЯДЖАН, М. И. БЕХТЕРЕВА, Г. И. САМОХВАЛОВ
ИЗМЕНЕНИЕ ФОСФОЛИПИДНОГО СОСТАВА У (—) ШТАММА
BLAKESLEA TRISPORA ПОД ВЛИЯНИЕМ β-ФАКТОРА

(Представлено академиком А. А. Имшенецким 29 VII 1969)

У некоторых гетероталлических грибов Chaetophorales совместное выращивание разнополюх форм ведет к увеличению в 15—20 раз образования β-каротина (1). Из культуральной жидкости после ферментации, вызываемой (+) и (—) штаммами *Bl. trispora* выделен так называемый β-фактор (2, 3), стимулирующий каротиногенез у (—) штамма в такой же степени, как совместное выращивание разнополюх штаммов (4). В состав β-фактора входят полиеновые изопреноидные кислоты, названные триспоровыми (5, 6):



Триспоровая кислота С



Фрагмент нециклического конца триспоровой кислоты В

Вещества β-фактора являются инициаторами половой дифференциации, вызывают развитие прогаметангий, т. е. могут рассматриваться как «половые гормоны» (4, 7). Недавно Гудвин с сотрудниками (8) показали, что ингибитор синтеза протеинов у *Bl. trispora* — антибиотик актидион полностью снимает влияние триспоровой кислоты на синтез каротина; однако, будучи добавлен после завершения образования специфической ферментной системы, актидион не оказывает влияния на действие β-фактора. Поскольку фосфолипиды активируют ряд энзимов (9), представляет интерес проследить, как изменения в синтезе каротина и протеинов под влиянием триспоровых кислот связаны с фосфолипидным составом биологических мембран.

Опыты проводили как с индивидуальным (—)4-штаммом *Bl. trispora*, так и при совместном выращивании его с (+)701-штаммом. Характеристика их, среда и условия культивирования опубликованы (10—12).

β-фактор*, полученный экстракцией хлороформом культуральной жидкости, после ферментации (+) и (—) штамма *Bl. trispora* дополнительно очищался обработкой раствором бикарбоната и извлекался хлористым метилом после подкисления (13). Вносился β-фактор в 24-часовую (—) культуру. Анализ подвергали мицелий в логарифмической фазе роста (3 сутки) и в стационарной фазе (6 сутки), соответствующей накоплению максимального количества β-каротина. Выделение общих липидов из мицелия проводили смесью хлороформ — метанол (2:1), отделение фосфолипидной фракции — путем тонкослойной хроматографии (13). Идентификацию индивидуальных фосфолипидов осуществляли при помощи специфических реактивов и свидетелей после хроматографии в тонком слое силикагеля в системе хлороформ — метанол — 25% аммиак — вода (140:50:7:3). При кислотном гидролизе фосфолипидной фракции и отдельных фосфолипидов при помощи хроматографии на бумаге подтверждено присутствие азотсодержащих оснований: холина, этаноламина, серина и многоатомного спирта — инозита.

* Выражаем благодарность Е. П. Феофиловой (Институт микробиологии АН СССР) за предоставленные образцы β-фактора.

Таблица 1

Динамика образования липидов, фосфолипидов и каротиноидов (+) 701- и (-) 4-штаммами культуры *Vl. trispora* при раздельном и совместном их культивировании

Штамм	Сутки роста	Вес. сух. мицелия, г на 100 мл	Общие липиды, % от сух. миц.	Фосфолипиды, % от общих липидов	Каротиноиды, μ г на 1 г сух. миц.
(-)	3	0,680	24,0	7,26	450,0
(-)	6	1,00	34,9	3,47	850,0
(\pm)	3	0,650	32,3	8,92	1735,0
(\pm)	6	0,855	42,3	4,48	2745,0
(-) и β -фактор	3	0,477	21,0	29,30	2530,0

Добавление β -фактора снижает скорость роста культуры и общий синтез липидов (-) штамма *Vl. trispora* по сравнению со спаренной культурой на 3 сутки роста. Вместе с тем, относительное содержание фосфолипидов, как видно из табл. 1, увеличивается у (-) штамма в присутствии β -фактора примерно в 4 раза по сравнению с индивидуальным (-) штаммом за тот же период развития, а по сравнению с мицелием совместно растущих штаммов в $\sim 3,3$ раза. В этих условиях у (-) штамма под влиянием β -фактора уже на 3 сутки продуцируется такое количество β -каротина, которое при совместном выращивании (+) и (-) штаммов образуется лишь на 6 сутки. Далее было установлено, что присутствие β -фактора приводило к морфологическим изменениям мицелия, характерным для периода интенсивного каротиногенеза при совместном культивировании (+) и (-) штаммов. Как видно из табл. 2, в ходе развития совместной культуры, так же как у отдельного штамма под влиянием β -фактора, наряду с заметным возрастанием биосинтеза каротина имеют место изменения фосфолипидного состава.

Таблица 2

Количественное содержание различных фосфолипидов в мицелии культуры *Vl. trispora* (P, % к сумме фосфолипидов)

Фосфолипиды	3 сутки			6 сутки	
	(-)	(-) и β -фактор	(\pm)	(-)	(\pm)
Лизофосфатидилхолин	—	—	9,33	—	7,68
Фосфатидилсерин	10,70	19,96	6,65	19,51	9,00
Фосфатидилинозит	7,81	12,57	8,47	6,84	5,64
Лизофосфатидилэтанолламин	7,31	8,22	6,62	4,46	—
Сфингомиелин	3,77	7,45	5,73	5,89	—
Фосфатидилхолин	7,55	12,74	15,75	20,30	20,50
Фосфатидилэтанолламин	52,9	22,27	40,80	34,92	36,20
Фосфатидилглицерин	—	—	—	—	8,81
Фосфатидная кислота	5,26	9,10	6,98	8,04	6,64
Кардиолипин	4,62	7,63	—	—	5,35

Примечание. Приведены средние значения из 2 или 3 биологических опытов. Прочерк означает, что соединение не обнаружено.

Можно отметить, что ускорение созревания мицелия (-) штамма под действием β -фактора сопровождается изменением фосфолипидного состава, которое характерно для (-) штамма на 6 сутки роста. По отношению к 3-суточной культуре (-) штамма содержание фосфатидилсерина, фосфатидилхолина, сфингомиелина, фосфатидной кислоты повышается как у индивидуального (-) штамма на 6 сутки, так и у этого же штамма под влиянием β -фактора на 3 сутки. Наоборот, содержание фосфатидилэтанолламина соответственно снижается. Так, в конце логарифмической фазы выращивания (-) штамма 52,9% от общего количества фосфатидов составляет фосфатидилэтанолламин, содержание которого в присутствии β -фактора

падает до 22,27% а на 6 сутки у индивидуального штамма до 34,92%. В растущей бактериальной клетке фосфатидилэтанолламин метаболически мало активен ⁽¹⁴⁾. Меньшее количество фосфатидилэтанолламина по сравнению с его содержанием у 3-суточного (—) штамма находится к этому сроку и у совместной культуры, причем в дальнейшем наблюдается падение его количества к 6 суткам.

Одновременно с этим под влиянием β-фактора у (—) штамма значительно ранее появляется тенденция к накоплению фосфатидилсерина, которая у индивидуального (—) штамма проявляется только в ходе последующего развития на 6 сутки.

Интересно отметить, что у бактерий ⁽¹⁴⁾ фосфатидилсерин является биологическим предшественником фосфатидилэтанолламина и обычно обнаруживается лишь в малых количествах.

Повышение содержания фосфатидилхолина обычного фосфатида дрожжей и грибов ⁽¹⁵⁾ заметно ускорялось у *Vl. trispora* как под действием β-фактора, так и при совместном выращивании. Происходит быстрое увеличение под влиянием β-фактора также фосфатидилинозита. Фосфатидилглицерин, для которого у бактерий ⁽¹⁴⁾ отмечена высокая метаболическая активность, не был обнаружен нигде, за исключением 6-суточной совместной культуры в период активного синтеза каротина. Кардиолипин, для которого в культуре *E. coli* ⁽¹⁴⁾ показана столь же высокая метаболическая активность, что и для фосфатидилглицерина, находится первоначально у отдельно растущего (—) штамма, а затем исчезает. Под действием β-фактора на 3 сутки и под влиянием совместного выращивания разнополюх форм на 6 сутки фиксируется заметное количество кардиолипина.

Таким образом, β-фактор приводит к более ранним и явным изменениям в фосфатидном составе липидов мицелия (—) штамма *Vl. trispora* в процессе его развития и к повышению способности к каротиногенезу.

Отмеченную нами связь усиления каротиногенеза и изменения в фосфолипидах изученных штаммов *Vl. trispora* интересно сопоставить с тем, что переход факультативных анаэробов *Athiorhodosea* к развитию на диффузном свете в отсутствие кислорода воздуха сопровождается энергичным синтезом каротина и бактериохлорофиллов, что сопровождается значительным увеличением содержания фосфолипидов ^(16, 17).

Следует указать на близость структуры триспорных кислот и витамина А, при колебании содержания которого в организме наблюдаются изменения в фосфолипидном обмене ⁽¹⁸⁾.

Всесоюзный научно-исследовательский
витаминовый институт

Институт микробиологии
Академии наук СССР
Москва

Поступило
9 VII 1969

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ A. Ciegler, *Adv. Appl. Microbiol.*, **7**, 1 (1965). ² A. Prieto, C. Spalla et al., *Chem. Ind. (London)*, № 13, 551 (1964). ³ O. Sebek, H. Jagar, *Bacteriol. Proc.*, **A-69**, 12 (1966). ⁴ H. Van den Ende, *J. Bacteriol.*, **968**, № 4, 1298 (1968). ⁵ J. Caglioti, G. Cainelli et al., *Chim. et Ind. (Milan)*, **46**, № 8, 961 (1964). ⁶ G. Cainelli, P. Grasselli, A. Selva, *Chim. et Ind. (Milan)*, **49**, № 6, 628 (1967). ⁷ R. Sutter, M. Rafelson, *J. Bacteriol.*, **95**, № 2, 426 (1968). ⁸ D. Thomas, R. Harris et al., *Phytochem.*, **6**, № 3, 361 (1967). ⁹ J. Olson, *Ann. Rev. Biochem.*, **35**, 559 (1966). ¹⁰ Г. К. Скрябин, В. Д. Кузнецов, А. А. Глухова, *Авт. свид.* № 185316, 1965; *Изобрет., пром. образ., тов. знаки*, № 17 (1966). ¹¹ М. Н. Бехтерева, Н. В. Тарасова и др., *Микробиология*, **36**, № 1, 46 (1967). ¹² Г. А. Баяджан, Л. А. Вакулова и др., *Микробиология*, **37**, № 5, 804 (1968). ¹³ *Pat. Brit.* № 1034944, 1964. ¹⁴ G. Ames, *J. Bacteriol.*, **95**, № 3, 833 (1968). ¹⁵ R. Cecil, M. Jack, *J. Am. Chem. Oil Soc.*, **42**, № 12, 1051 (1965). ¹⁶ L. Lascelles, J. Szilágyi, *J. Gen. Microbiol.*, **38**, 55 (1965). ¹⁷ G. Cohen-Bazir, W. Sistro, *The Chlorophylls*, 1966, p. 313. ¹⁸ К. М. Леутский, Е. Н. Любович, *ДАН*, **96**, № 2, 341 (1954).