

**ОСОБЕННОСТИ СОСТАВА СТЕРИНОВ ИЗОЛИРОВАННЫХ  
МИТОХОНДРИЙ *LARIX SIBIRICA* LEDEB.**

*Л.В. Дударева*<sup>1</sup>, *И.В. Горбенко*<sup>2</sup>, *В.Н. Шмаков*<sup>1</sup>,  
*Н.В. Семенова*<sup>1</sup>, *Е.Г. Рудиковская*<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН,  
Иркутск, e-mail: laser@sifibr.irk.ru,

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО Иркутский государственный университет, Иркутск

Известно, что растительные стеринны являются жизненно важными компонентами мембран, которые играют не только структурную, но и регуляторную роль во многих ключевых клеточных процессах. Наиболее распространенными стеринами растений являются  $\beta$ -ситостерин, стигмастерин и кампестерин, а также холестерин, у которого большинства видов содержится в относительно небольших количествах. Считается, что  $\beta$ -ситостерин и 24-метилхолестерин способны регулировать текучесть и проницаемость растительных мембран, ограничивая подвижность жирных ацильных цепей. Стерины могут быть вовлечены в процессы адаптации растительных мембран к изменениям температуры, влажности, а также модулировать активность мембраносвязанных ферментов (Валитова и др., 2016). Известно, что  $\beta$ -ситостерин и стигмастерин играют ключевую роль в клеточной дифференциации и пролиферации. Полученные к настоящему времени данные свидетельствуют о том, что стерины служат сигнальными и/или регуляторными молекулами, вовлеченными в процессы роста и развития растения. Стерины могут находиться в растении как в свободном состоянии, так и в сопряжении с жирными кислотами, а также в виде стерилгликозидов и ацилстерилгликозидов – углеводных производных стериннов. Широко обсуждается участие стериннов (наряду с другими липидными компонентами, такими, как сфинголипиды) в формировании функциональных мембранных доменов (Silvestro et al., 2013). Особый интерес представляет состав стериннов мембран клеточных органелл. Для растений показано, что свободные стерины локализованы преимущественно в плазматической мембране. В относительно небольших количествах они обнаружены в эндоплазматическом ретикулуме, тонопласте и мембранах митохондрий (Валитова и др., 2016). Показано, что относительно небольшая доля стериннов присутствует в мембранах хлоропластов, но они отсутствуют в мембранах тилакоидов. Возможны, однако, существенные видовые различия в содержании стериннов в клеточных органеллах. Так, для древесной зелени ели обыкновенной показано, что при внутриклеточном распределении стериннов основная их масса содержится в микросомах (мембранах эндоплазматического ретикулума) и в митохондриях (Kimland, Norln, 1972). В целом жирнокислотный и стеринновый состав митохондриальных мембран хвойных растений и возможные механизмы участия стериннов в ключевых клеточных процессах этих видов изучены не достаточно. В частности, потому, что изоляция клеточных органелл, в том числе митохондрий, из тканей хвойных, до сих пор представляется трудной задачей. В связи с вышеизложенным целью представляемой работы был анализ качественного и количественного состава стериннов, а также жирнокислотного состава суммарных липидов митохондрий хвои лиственницы сибирской.

Митохондрии из тканей хвои *L. sibirica* изолировали с помощью градиентного центрифугирования. Липиды из полученной фракции экстрагировали по модифицированному методу Фолча. Стерины и жирные кислоты суммарных липидов выделяли и идентифицировали с помощью метода ТСХ ( $R_f$ , жирные кислоты – 0.71-0.73,  $R_f$ , стерины – 0.19,  $R_f$ , эфиры стериннов – 0.87). Зоны целевых компонентов элюировали хлороформом, добавляли внутренний стандарт (эргостерол для стериннов и C19:0 для ЖК), затем дериватизировали стерины с BSTFA, жирные кислоты подвергали метилированию. Полученные про-

изводные анализировали с использованием хромато-масс-спектрометра 5973/6890N MSD/DS Agilent Technologies (США). Условия анализа: детектор – квадрупольный масс-спектрометр, способ ионизации - электронный удар, энергия ионизации 70 эВ, для анализа использовали режим регистрации полного ионного тока. Для разделения использовали капиллярную колонку HP-INNOWAX. Газ-носитель: гелий, скорость потока газа 1 мл/мин. Относительное содержание ЖК определяли методом внутренней нормализации – в весовых процентах (% вес.) от общего их содержания в исследуемом образце, с учетом коэффициента отклика ЖК.

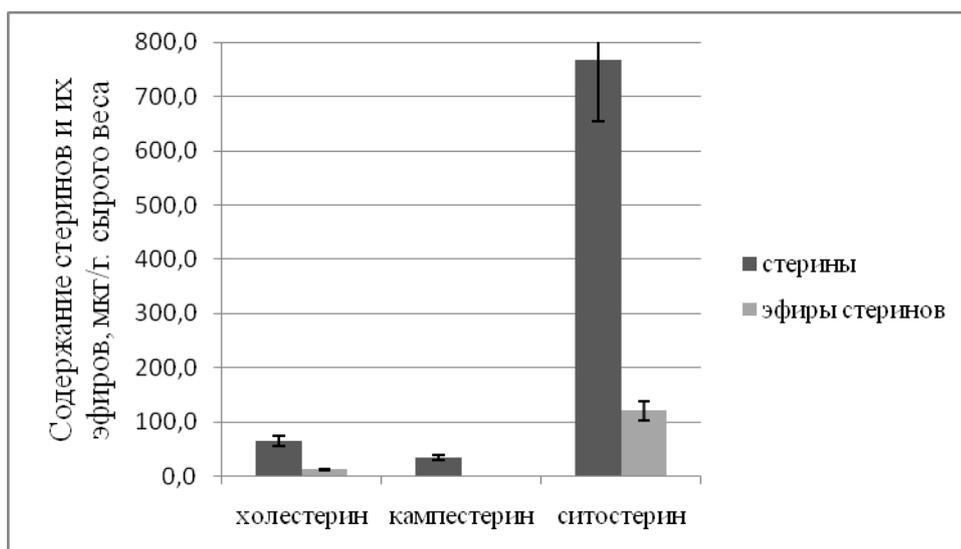
Таблица 1

**Жирнокислотный состав суммарных липидов митохондрий *Larix sibirica* L.**

№№	Жирная кислота	Сод-е, % вес.
1	C12:0	2,63
2	C14:0	2,67
3	C15:0	0,39
4	C16:0	19,25
5	C16:1(n-9)	0,86
6	C16:1(n-5)	0,55
7	C17:0-a	1,35
8	C17:0	1,12
9	C18:0	6,61
10	C18:1(n-9)	6,52
11	C18:1(n-7)	1,15
12	C18:2(5.9)	0,70
13	C18:2(n-6)	16,17
14	C18:3(5.9.12)	2,65
15	C18:3(n-3)	23,18
16	C18:4(5.9.12.15)	1,54
17	C20:0	1,83
18	C20:1(n-11)	0,24
19	C20:3(5.11.14)	6,10
20	C20:3(7.11.14)	0,49
21	C22:0	4,01

Результаты анализа жирнокислотного и стеринового состава митохондрий из хвои лиственницы сибирской представлены в табл. 1 и на рис. 1, соответственно. Состав жирных кислот митохондрий *L. sibirica* носит, по-видимому, видоспецифичный характер, при этом отличается от тканевого состава ЖК хвои этого вида содержанием отдельных ненасыщенных жирных кислот. Так, содержание линолевой и олеиновой кислот в мембранах митохондрий в 2 раза выше, чем в общей липидной фракции ткани, что объясняется, вероятно, более высокой активностью соответствующих десатураз. Существенные различия обнаружены в содержании полиметилен разделенных Δ-5 ненасыщенных кислот, характерных для хвойных и других эволюционно древних таксонов. В митохондриях таких кислот почти в 2 раза больше, чем в общей фракции липидов. Что касается состава стеринов, то их суммарное содержание в митохондриальной фракции составило  $865,8 \pm 118,8$  мг/г. сырого веса, а эфиров стеринов  $132,2 \pm 48,7$  мг/г. сырого веса. В пересчете на сухой вес хвои содержание стеринов в митохондриях составляет около 10 % от их общего содержания в этой ткани. В отличие от тканей хвои в митохондриях не обнаружен стигмастерин (рис. 1). Самое высокое содержание показано для β-ситостерина, самое низкое для кампестерина. Дальнейшее изучение динамики содержания стериновых компонентов в митохондриальных мембранах *L. sibirica* при различных условиях роста интактных растений и клеточной культуры позволит полу-

чить информацию об участии этих органелл в защите клеток от стресса и в росте и дифференцировке тканей *in vitro*.



**Рис. 1.** Содержание стериновых компонентов в митохондриях из хвои *Larix sibirica* L.

#### Литература

Валитова Ю.Н., Сулкарнаева А.Г., Минибаева Ф.В. Растительные стерины: многообразие, биосинтез, физиологические функции // Биохимия. – 2016. – Т. 81, №8. – С. 1050–1068.

Kimland B., Norln T. Wood extractives of Common Spruce, *Picea abies* (L.) Karst. Svensk Papper slid. – 1972. – V. 75. – P. 403–409.

Silvestro D., Andersen T.G., Schaller H., Jensen P.E. Plant Sterol Metabolism. D7-Sterol-C5-Desaturase (STE1/DWARF7), D5,7-Sterol-D7-Reductase (DWARF5) and D24-Sterol-D24-Reductase (DIMINUTO/DWARF1) Show Multiple Subcellular Localizations in *Arabidopsis thaliana* (Heynh) L. Plos One. 2013. V. 8. (2). DOI: 10.1371/journal.pone.0056429.