

**Изучение пути биосинтеза фосфатидилхолина у базидиальных дрожжей с помощью меченых предшественников**

**Научный руководитель – Сеник Светлана Викторовна**

**Амигуд Екатерина Ярославна**

*Студент (бакалавр)*

Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена, Факультет биологии, Санкт-Петербург, Россия

*E-mail: ekamigud@gmail.com*

Фосфолипиды - консервативные липидные компоненты клеточных мембран. Фосфатидилхолин (ФХ) и фосфатидилэтанолламин (ФЭ) – два основных класса фосфолипидов эукариот – синтезируются по пути Кеннеди через холин и этаноламин. Кроме того, ФХ могут синтезироваться через ЦДФ-ДАГ путём метилирования ФЭ. В разных группах организмов эволюционно стал преобладать тот или другой путь. У аскомицетных дрожжей, изученных на примере *Saccharomyces cerevisiae*, сходно с клетками млекопитающих, преобладает путь метилирования. Однако нет данных об активности путей биосинтеза у базидиальных дрожжей.

Целью исследования стало определение особенностей биосинтеза ФХ у данной группы. Для решения проблемы был разработан метод выращивания дрожжей с мечеными дейтерием предшественниками ФХ. Также были проанализированы молекулярные профили ФХ.

Объектами исследования были штаммы базидиальных дрожжей *Phaeotremella foliacea* (Pers.) LE-BIN 4616 и *Rhodotorula diobovata* (S.Y. Newell & I.L. Hunter). Для более точного сравнения с аскомицетными дрожжами был также взят штамм модельного организма *Saccharomyces cerevisiae* (Desm.) CEN.PK2-1C дикого типа.

Штаммы выращивались на твердой среде Сабуро при 25 [U+2103], *S. cerevisiae* – при 30 [U+2103]. После колонии инкубировали в течение 24 часов в 5 Мм растворах меченых предшественников (в трех повторностях): d9-холина, d3-серина, d4-этанолламина, и смесь d9-холина и d3-серина (по 2.5 Мм). Липиды экстрагировали в хлороформе с метанолом (1:2) с последующей промывкой 1% раствором NaCl. Классы фосфолипидов разделяли с помощью одномерной тонкослойной хроматографии. Наличие включенной в биосинтез метки в профиле ФХ определяли методом жидкостной хроматографии - масс-спектрометрии в режиме MRM.

Результаты показали, что базидиальные дрожжи кардинально отличаются от *S. cerevisiae* по молекулярному профилю фосфолипидов: ФХ и ФЭ у них состоят из 5-6 основных молекулярных видов, преимущественно составленных из 16:0, 18:1 и 18:2 жирных кислот, и 15-20 минорных мол. видов, тогда как в составе фосфолипидов *S. cerevisiae* обнаруживаются 3 доминантных молекулярных вида, состоящих из насыщенных и моноеновых кислот - 16:0/18:1, 18:1/18:1 и 18:0/18:1, а также ряд минорных.

Использование методов масс-спектрометрии позволило оценить включение дейтерированных предшественников d9-холина, d3-серина, d4-этанолламина в ФХ и d3-серина и d4-этанолламина в ФЭ, которое отличалось в зависимости от метаболического состояния суспензионной культуры и было максимальным на логарифмической фазе роста. В молекулярном профиле *P. foliacea* и *R. diobovata* преобладало включение d9-холина, тогда как включение d3-серина (предшественника ФЭ) было минимальным, что говорит о большей активности пути Кеннеди. Таким образом, данный метод позволяет эффективно определять активность биосинтеза фосфолипидов в разных физиологических состояниях.