

УДК 581.1:577.115:582.264

НАКОПИЧЕННЯ НЕЙТРАЛЬНИХ ЛІПІДІВ У КЛІТИНАХ *CHLAMYDOMONAS REINHARDTII* ЗА СТРЕСОВИХ УМОВ

С.С. СТЕПАНОВ

*Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного Національної академії наук України
01601 Київ, вул. Терещенківська, 2
e-mail: serhiy1986@ukr.net*

В огляді на прикладі модельного організму — одноклітинної зеленої водорості *Chlamydomonas reinhardtii* висвітлено основні досягнення останніх десятиліть у вивченні механізмів накопичення нейтральних ліпідів, у тому числі триацилгліцеролів (ТАГ), у клітинах мікроводоростей у відповідь на стрес. Водорості розглянуто як перспективну сировину для виробництва біопалива третього і четвертого поколінь. Схарактеризовано чинники, які позитивно впливають на акумуляцію нейтральних ліпідів у клітинах *C. reinhardtii*, описано структуру, біохімічний склад та фізіологічну роль внутрішньоклітинних ліпідних включень, наведено властивості мутантних штамів, здатних накопичувати підвищені кількості ТАГ.

Ключові слова: *Chlamydomonas reinhardtii*, триацилгліцероли, запасні ліпіди, жирні кислоти, ліпідні включення, біодизель.

Терміном «ліпід» традиційно позначають різноманітні групи гідрофобних або амфифільних сполук, які структурно і функціонально можуть бути не пов'язані між собою, але мають спільну властивість добре розчинятись в органічних розчинниках і зазвичай — погано розчинятись у воді. Ці сполуки виконують низку важливих біологічних функцій у клітинах, у тому числі як структурні компоненти біологічних мембран (фосфогліцероліпіди, галактогліцероліпіди, стероли, сфінголіпіди), запасні речовини (тригліцериди) і сигнальні молекули (фосфоінозитолі, оксиліпіди) [4]. Ліпіди класифікують на основі їх хімічного складу та структури [27, 28], властивостей самоорганізації у водних системах [60] або за біосинтетичним походженням [17]. З погляду метаболізму розрізняють ліпіди, до складу яких входять жирні кислоти (ЖК), які називають також ацилоліпідами — це переважна більшість ліпідів, виявлених у клітинах (в основному гліцероліпіди й сфінголіпіди), і ліпіди, які мають інше біосинтетичне походження (стерини, преноли, полікетиди) [34]. Більшість ацилоліпідів у клітинах представлена гліцероліпідами, в яких гліцерин етерифікований з трьома залишками жирних кислот у разі триацилгліцеролів (нейтральні гліцероліпіди), або з двома залишками жирних кислот і полярною групою (полярні гліцероліпіди). Полярні гліцероліпіди є важливими структурними компонентами мембран клітини. Полярні ліпіди мікроводоростей (тут і далі під мікроводоростями розумітимемо одноклітинні еукаріотичні водорості) є предметом численних детальних досліджень [4], оскільки зміни якісного й кількісного

складу цих сполук тісно пов'язані зі станом мембран хлоропластів. Навпаки, нейтральним ліпідам, у тому числі ТАГ мікродоростей, приділено значно меншу увагу. Раніше вважали, що цей клас ліпідів виконує переважно функцію запасання речовин та енергії і, як наслідок, характеризується відносно низькою метаболічною активністю. Останнім часом напрям досліджень змінюється. Так, різко збільшилось число праць, присвячених ТАГ і їх ролі в фізіології клітин мікродоростей. Отримано цілу низку свідчень щодо різноманітності функцій ТАГ у процесах адаптації фотосинтезуючих організмів до різних чинників середовища (температури, інтенсивності освітлення, солоності).

Біоенергетичний потенціал запасуючих ліпідів мікродоростей. Інтерес до ліпідів мікродоростей зумовлений їх високим потенціалом як сировини для фармацевтичної, хімічної та харчової промисловості [29]. Ліпіди низки видів мікродоростей багаті на цінні поліненасичені жирні кислоти (ПНЖК), у тому числі й незамінні для людини лінолеву (18 : 2), α -ліноленову (18 : 3), арахідонову (20 : 4), ейкозапентаєнову (20 : 5), докозагексаєнову (22 : 6) та деякі інші [12]. Ліпіди мікродоростей є важливим компонентом раціону як водяних організмів [9], так і людини, слугують джерелом не тільки будівельного матеріалу для клітинних мембран, а й попередників сигнальних і регуляторних молекул, а також речовин із протизапальною і терапевтичною активністю [19, 26].

Мікродорості — дуже велика й різноманітна група фотосинтезуючих організмів, які можна застосовувати як сировину для поновлюваних джерел енергії. Можливості використання водоростей у біоенергетиці почали досліджувати наприкінці 1950-х років після висловлення припущення про те, що вуглеводні фракції клітин водоростей придатні для видобутку газу метану за допомогою анаеробного бродіння [47]. За результатами досліджень, проведених у 1950-х і 1960-х роках, було встановлено, що дефіцит ключових поживних речовин, таких як N або S, у середовищі культивування призводить до накопичення ліпідних включень, з яких можна виробляти біопаливо. Ця концепція отримала серйозну підтримку під час нафтового ембарго у 1970-ті роки, що реалізувалось у прийнятті департаментом енергетики США програми дослідження водяних видів мікродоростей (ASP). Під егідою ASP дослідники зібрили більш як 3000 штамів мікродоростей із різних середовищ існування. Після скринінгу на продукування ліпідів діапазон штамів водоростей був звужений до 300 найперспективніших, в основному представників Chlorophyceae (зелені водорості) і Bacillariophyceae (діатомові) [68].

Одноклітинна зелена водорість *Chlamydomonas reinhardtii*, яку іноді називають «фотосинтезуючими дріжджами», за сто років вивчення стала модельним об'єктом для генетичних, біохімічних і біотехнологічних досліджень, швидко росте на простих мінеральних середовищах унаслідок фотосинтезу, має простий життєвий цикл, гаплоїдний геном у вегетативних клітинах, тому ефекти мутацій виявляються без необхідності наступних схрещувань.

У низці досліджень підтверджено, що азотне голодування індукує значне накопичення нейтральних ліпідів у клітинах *C. reinhardtii* та інших мікродоростей [13—15, 35]. Хоча *C. reinhardtii* не входить до числа найбільш олеогенних видів мікродоростей, аналіз його метаболізму на молекулярному рівні може дати важливу інформацію про механізми накопичення ліпідів і крохмалю у відповідь на стрес для інших

видів водоростей, перспективніших у плані застосування як сировини, але для яких молекулярні та генетичні інструменти більш обмежені [23—25]. *C. reinhardtii* — поширений модельний об'єкт для дослідження широкого діапазону біологічних функцій, у тому числі метаболізму крохмалю та ліпідів [7], утворення джгутиків [37], фотосинтезу [52], синтезу сполук із біоенергетичним потенціалом [33, 71] або стресу за мінеральним живленням [41]. Наявність секвенованого геному з коректним розшифруванням та інформацією про метаболічні шляхи збільшує пропускну здатність аналізу транскрипційного, протеомного й метаболічного профілів для з'ясування змін вуглецевого, азотного та ліпідного метаболізму [38]. На сьогодні дослідження транскрипційного профілю у відповідь на зміни умов навколишнього середовища застосовують найчастіше, тоді як аналіз протеому й метаболізму для мікрободоростей не такий поширений. Крім того, транскриптоміка, що базується на аналізі мікрочіпів, зворотній транскрипції і ланцюговій полімеразній реакції, не завжди супроводжується змінами на рівні трансляції й активності ензимів. Щоб отримати повніше уявлення про зміни метаболізму мікрободоростей у відповідь на стрес, необхідно паралельно досліджувати зміни транскриптому, метаболізму та активності ензимів у таких клітинах.

Вибухове зростання інтересу до ТАГ мікрободоростей в останнє десятиліття зумовлене визнанням їх перспективною сировиною для виробництва біопалива третього і четвертого покоління [1, 2, 44, 56]. Найважливішою перевагою нових видів палива, що виробляються з ТАГ мікрободоростей, є «CO₂-нейтральність»: спалювання такого палива не призводить до підвищення загальної концентрації цього парникового газу в атмосфері. Загалом при спалюванні біопалива з мікрободоростей в атмосферу виділяється на 78 % менше CO₂, на 98 % менше сірковмісних сполук і на 50 % менше твердих часточок, ніж при спалюванні палива на основі нафти і газу [10]. Більш того, у разі промислового культивування мікрободоростей відкриваються широкі можливості для утилізації CO₂ і стічних вод, що містять органічні та мінеральні забруднювальні речовини [1, 2, 48, 49]. Важливо, що отримання біопалива з ТАГ мікрободоростей не загрожує продовольчій безпеці, оскільки установки для їх культивування не займають орних земель, необхідних для вирощування сільськогосподарських культур [49, 50].

Накопичення запасних ліпідів у мікрободоростях регулюється цілою низкою чинників навколишнього середовища. Як правило, ліпіди найінтенсивніше синтезуються за сильного світла, особливо за умови дефіциту елементів мінерального живлення, запасаються в цитоплазматичних олеосомах і реутилізуються в ході синтезу полярних ліпідів мембран і (або) катаболізму в темряві [65]. Слід зазначити, що умови, сприятливі для накопичення ліпідів, є стресовими для мікрободоростей: вони заважають поділу клітин і уповільнюють ріст культури (накопичення біомаси), що протирічить завданням біотехнології — отриманню максимальної кількості біомаси мікрободоростей, збагаченої цінними для людини сполуками [59]. Вирішення цієї нетривіальної проблеми вкрай важливе для фотобіотехнології, заснованої на культивуванні мікрободоростей, що зумовлює актуальність дослідження фізіології індукції синтезу й динаміки вмісту запасних ліпідів у цих мікроорганізмів за стресів різної природи. Різномічне дослідження метаболічних змін на молекулярному та фізіологічному рівнях проведено для модельного рослинного організму *C. reinhardtii*. Сайтспецифічний мутагенез геному уможлиблює

отримання штамів *Chlamydomonas* зі зміненими біохімічними шляхами, що допомагає краще зрозуміти перебудови метаболізму, які призводять до накопичення ліпідів у відповідь на стресові впливи. Ведеться пошук ключових регуляторів, відповідальних за запуск клітинної програми накопичення ліпідів, відокремлення її від програм, відповідальних за припинення росту та апоптоз.

У цьому огляді розглянуто структурно-функціональну характеристику ліпідних включень, а також основні методи стрес-індукції накопичення запасних ліпідів одноклітинної зеленої мікроводорості *Chlamydomonas reinhardtii*.

Структурна характеристика ліпідних включень. ТАГ є основою ліпідних включень, або олеосом (в англійській літературі — lipid bodies). За нормальних умов росту клітини мікроводоростей містять незначну кількість ТАГ, так само, як і олеосом [38, 57]. Їх можна візуалізувати за допомогою конфокальної мікроскопії шляхом забарвлення нільським червоним [67, 69]. За даними електронно-мікроскопічного дослідження, розрізняють три морфологічні типи конститутивних вмістищ ліпідів *C. reinhardtii*: гранули світлочутливого вічка (стигми); пластоглобули, локалізовані в хлоропластах, та в цитоплазмі — α -цитеолеосоми [22].

Гранули світлочутливого вічка діаметром 75–100 нм утворюють світлонепроникний екран позаду округлого світлочутливого потовщення плазматичної мембрани (рис. 1, а) [32]. Такі гранули містять каротиноїди

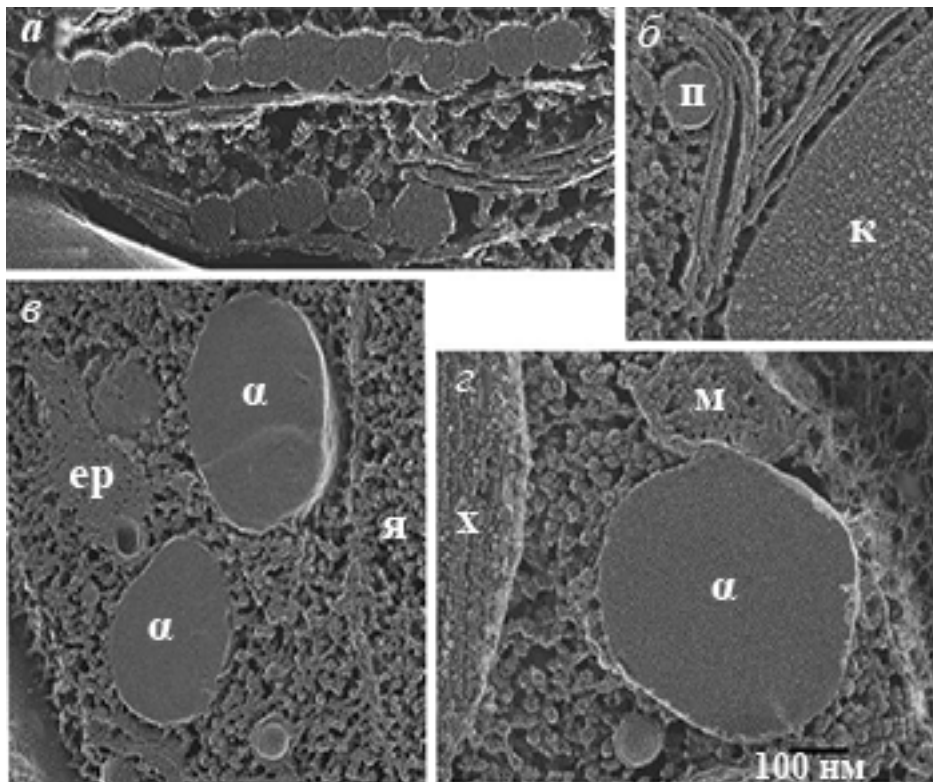


Рис. 1. Конститутивні триацилгліцероловмісні внутрішньоклітинні включення *C. reinhardtii* стаб: а — два шари гранул світлочутливого вічка, що контактують із тилакоїдною мембраною; б — пластоглобула (п), що контактує з тилакоїдною мембраною; к — крохмальна гранула; в — α -цитеолеосоми, що контактують з ендоплазматичним ретикуломом (ер) і ядерною оболонкою (я); з — α -цитеолеосома (а), що контактує з мітохондрією (м); х — хлоропласт [22]

і певний склад ТАГ із їх очищеної фракції [41]. На мікрофотографіях гранули мають гексагональну форму, тому логічно припустити наявність фібринових волокон у структурі їх оболонки [54].

Пластоглобули — округлі, обмежені ліпопротеїновою мембраною включення діаметром 50—150 нм, характерні для строми хлоропластів наземних рослин [8, 30]. Подібні включення виявлено і при електронно-мікроскопічному дослідженні *C. reinhardtii* [46, 53]. Для них характерні точкові контакти з мембраною тилакоїдів (див. рис. 1, б) [6].

α -Цитоолеосоми — включення, локалізовані в цитоплазмі, розміром 250—1000 нм. Забарвлюються флуорохромами (нільським червоним, Bodipy та ін.) в клітинах мікроводоростей, культивованих у нормальних умовах росту [66, 69]. Більшість із них контактує з ендоплазматичним ретикулумом і (або) ядерною оболонкою (див. рис. 1, в), мітохондріями (див. рис. 1, г), ацидокальціосомами (в іноземній літературі — acidocalciosomes). α -Цитоолеосоми *C. reinhardtii* часто локалізовані між хлоропластом і плазматичною мембраною [22].

За несприятливих умов росту (стресові умови) конститутивні ТАГ-вмісні внутрішньоклітинні включення змінюються стресовими формами вмістилищ ТАГ — β -цитоолеосомами і хлоропластними олеосомами в клітинах *C. reinhardtii* [22].

β -Цитоолеосоми починають виявлятися після 15 год культивування на середовищі без нітрогену, кількість і розмір таких включень збільшується з часом в усіх досліджуваних штаммах *C. reinhardtii*, тоді як α -цитоолеосоми спостерігаються дедалі рідше і зникають після 24 год культивування за стресових умов. Це дає підставу припустити, що α -цитоолеосоми є попередниками β -цитоолеосом [22]. β -Цитоолеосоми також виявляються в молодих і зрілих зиготах. Було досліджено біохімічний склад і профіль ТАГ очищених фракцій таких включень [41]. β -Цитоолеосоми *C. reinhardtii* завжди локалізуються між внутрішньою поверхнею чашоподібного хлоропласта та ядром й асоційовані з двома мембранними системами — ендоплазматичним ретикулумом та зовнішньою мембраною оболонки хлоропласта. Особливості таких асоціацій ілюструє рис. 2, а.

Хлоропластні олеосоми характерні лише для мутантного штаму *C. reinhardtii* стаб, особливість якого полягає в нездатності синтезувати крохмаль. Такі включення з'являються у хлоропластах стаб після 12 год росту на середовищі без нітрогену і згодом заповнюють усю строму хлоропласта [22]. Вони вкриті ліпідною оболонкою, характерною ознакою таких включень також є обгортка з тилакоїдів (див. рис. 2, б). Припускають, що хлоропластні олеосоми можуть розвиватися з пластоглобул, при цьому в місцях точкових контактів пластоглобул із тилакоїдами формується тилакоїдна обгортка хлоропластних олеосом.

Біохімічний склад стресових форм ліпідних включень *C. reinhardtii*. Дослідженню біохімічних характеристик стресових ліпідних тілець присвячено кілька нещодавно опублікованих оглядів [21, 43, 64, 66], де відмічено значну різноманітність складу їх ТАГ, галактоліпідів і протеїнів залежно від виду організмів, типів клітин і фізіологічного стану. Діаметри включень *C. reinhardtii*, що виявлялись унаслідок флуоресценції нільського червоного, варіювали від найменших 0,2 до найбільших 3 мкм [67]. Діаметри включень збільшуються унаслідок як постійного накопичення ТАГ, так і злиття між собою окремих ліпідних

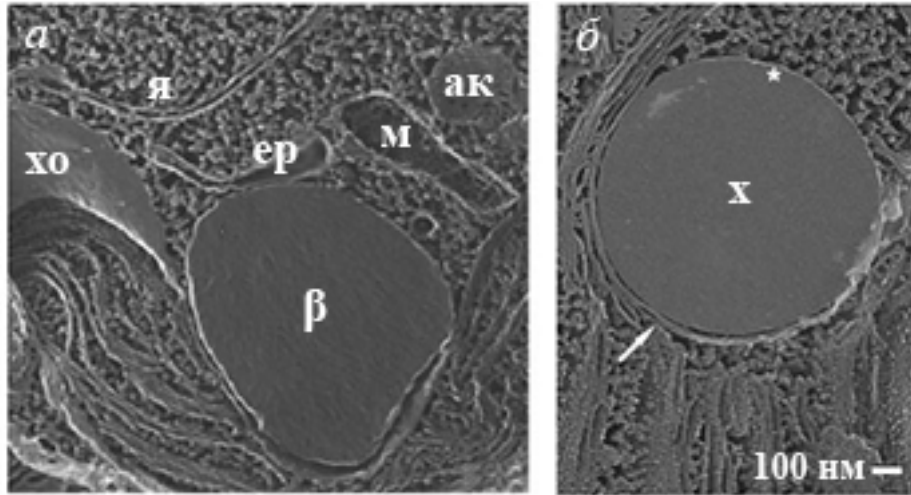


Рис. 2. Стресові форми ліпідних включень *C. reinhardtii* стаб після 15 год росту на середовищі без нітрогену:

a — β -цитолоосома (β), що контактує з ендоплазматичним ретикуломом (ep) і хлоропластом (хо); ак — ацидокальціосома; м — мітохондрія; я — ядро; *б* — хлоропластна олеосома (х); зірочкою позначено поверхню моношару, стрілкою — тилакоїдну обгортку [16]

включень [67]. Хоча за дії цитоплазматичних чинників включення всередині інтактної клітини здатні зливатися між собою, натомість *in vitro* на скляній поверхні тісний контакт не призводить до злиття. Така стабільність зумовлена моношаром галактоліпідів на поверхні олеосом, виявленого на електронних мікрофотографіях *C. reinhardtii* [43, 63]. Вищі рослини містять асоційовані з олеосомами трансмембранні протеїни (олеозини, калеозини), що беруть участь в утворенні олеосом [20], визначенні їх розміру [58] та деградації наявних у них ліпідів [50]. Водоростеві геноми, в тому числі *C. reinhardtii*, не містять генів, які кодують гомологи олеозину, але містять гомологи генів калеозину [67].

Високоочищені олеосоми містять 90 % триацилгліцеролів і 10 % вільних жирних кислот (ВЖК). Залишки етерифікованих ЖК у ТАГ представлені на 50 % насиченими (C16, C18) і на 50 % — ненасиченими ЖК, половина з яких у формі олеїнової кислоти (C18 : 1). ВЖК — на 50 % C16 і на 50 % C18 [67]. За росту в стресових умовах профіль жирних кислот у складі ТАГ змінюється (рис. 3).

Так, ріст на середовищі без нітрогену супроводжується збільшенням частки насиченої жирної кислоти пальмітату (C16 : 0) і мононенасиченої жирної кислоти олеату (C18 : 1 Δ 9) порівняно з поліненасиченими жирними кислотами C16 : 4, C18 : 3 (Δ 5,9,12) і C18 : 3 (Δ 9,12,15), частка яких зменшується [42, 57]. Така зміна жирнокислотного складу ТАГ сприятлива для виробництва біопалива, оскільки кількість подвійних зв'язків у молекулі зменшується, що приводить до створення більш відновленого профілю вуглеводневої сировини [68].

Способи індукції акумуляції ліпідів клітинами *C. reinhardtii*. За оптимальних умов росту накопичується біомаса мікроводоростей, але з відносно низьким вмістом ліпідів, які становлять близько 5–20 % маси їх сухої речовини. Процеси акумуляції ТАГ і росту мікроводоростей конкурують за фотосинтетичні асиміляти, тому для стимулювання біосинтезу ліпідів необхідне перепрограмування фізіологічних шляхів обміну

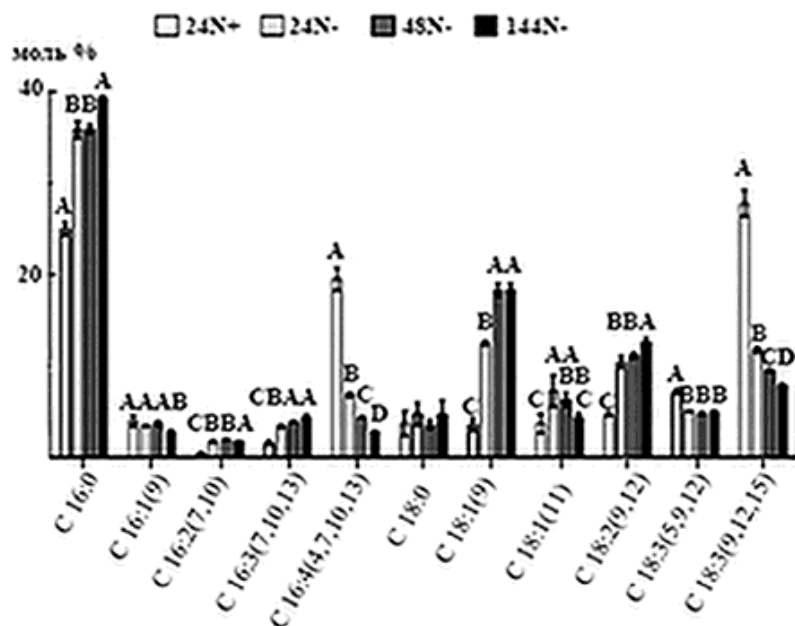


Рис. 3. Вміст жирних кислот (моль %) *C. reinhardtii* cc125 за росту на збагаченому нітрогеном (N+) і позбавленому нітрогену (N-) середовищах після 24, 48 і 144 год росту; літерами позначено істотну різницю між варіантами для кожної з жирних кислот [68]

карбону й нітрогену. За несприятливих екологічних або стресових умов багато мікроводоростей змінюють свої шляхи біосинтезу в напрямі утворення й накопичення нейтральних ліпідів (20–50 % маси їх сухої речовини), в основному у вигляді ТАГ, що дає їм змогу витримати несприятливі умови. Щоб отримати біомасу мікроводоростей із високим вмістом ліпідів, потрібно застосовувати стресові впливи або спеціальні методи індукції біосинтезу ліпідів. Нижче наведено основні методи індукції накопичення ліпідів клітинами *C. reinhardtii* та порівняно їх ефективність.

Дефіцит мінерального живлення. Дефіцит щодо мінерального живлення створюють виключенням макро- (нітроген, фосфор, сульфур) чи мікроелементів із середовища культивування *C. reinhardtii*. Такий вид стресового впливу найпоширеніший і, відповідно, найліпше досліджений [1, 2]. За нормальних умов росту АТФ і НАДФН + H⁺, отримані в процесі фотосинтезу, споживаються в анаболічних реакціях генерування біомаси й відбувається рециркулювання АДФ і НАДФ⁺. Коли ріст і поділ клітин погіршується через відсутність мінеральних елементів, зменшується пул основного акцептора електронів з електронтранспортного ланцюга НАДФ⁺. Оскільки фотосинтез в основному контролюється інтенсивністю світла, відбувається перевідновлення компонентів електронтранспортного ланцюга, що може призвести до потенційно небезпечної для клітин ситуації внаслідок генерування вільних радикалів. НАДФН + H⁺ споживається в процесі біосинтезу ЖК, тому інтенсифікація синтезу ЖК (які, в свою чергу, запасуються у формі ТАГ) поповнює пул НАДФ⁺ в умовах лімітованого росту.

Збільшення вмісту ТАГ у результаті мінерального дефіциту залежить як від дефіцитного елемента, так і від низки інших чинників (стан культури, наявність додаткових джерел органічного карбону, особливостей штамів *C. reinhardtii*).

Вміст нейтральних ліпідів за росту на ТАР середовищі після 4 діб культивування за N- і S-дефіциту для штаму *C. reinhardtii* cc124 підвищувався на 136 і 123 % відповідно порівняно з контролем, для штаму *C. reinhardtii* cc125 — на 190 і 172 % [11]. Інші дослідники відбирали клітини у стаціонарну фазу росту [67]. Після 18 год культивування на поживному середовищі з ацетатом без нітрогену штам cw15 продукував 10 нг ТАГ/10³ клітин, у той час як мутантний штам (із порушеним синтезом крохмалю) cw15sta6 — 17 нг ТАГ/10³ клітин [67]. Порівнянням вмісту ліпідів у 5 лабораторних штамів *C. reinhardtii* (cc124, cc125, cw15, cc1690 й 11-32A) також виявлено високу варіабельність ТАГ — від 2 для штаму cc124 до 11 мкг ТАГ/10⁶ клітин для 11-32A. Визначення вмісту ТАГ у трьох мутантних штамів із порушеним біосинтезом крохмалю (cw15sta1-2, cw15sta6, cw15sta7-1) показало, що блокування синтезу крохмалю не призводить до суперакумуляції ТАГ порівняно з їх прямим предком аргініновим ауксотрофним штамом 330. Автори дійшли висновку, що вміст ліпідів правильніше перераховувати на клітину, а не на суху речовину. Помічено також прямий зв'язок між здатністю до накопичення ТАГ за стресових умов та наявністю клітинної оболонки для різних штамів *C. reinhardtii* [57]. Мсане та співавт. [42] досліджували *C. reinhardtii* cc125, що зростав у фотоавтотрофних умовах (без ацетату). Для дослідження клітини відбирали в середині експоненційної фази росту. Загальний вміст ЖК за росту на середовищі без нітрогену залишався відносно сталим протягом перших 4 діб, але потім істотно підвищувався до 80 % на 6-ту добу культивування порівняно з контролем і становив 20 нг/10³ клітин.

Денг та співавт. [15] досліджували вплив дефіциту N, P, S, K, Mg, Ca, Fe на внутрішньоклітинний вміст ліпідів у *C. reinhardtii* cc124 на середовищах культивування з органічним карбоном (ТАР, HSM) та без нього (SE, BG-11). Встановлено, що вміст ліпідів підвищувався в рази за дефіциту N і S, проте лише за росту на середовищах, збагачених органічним карбоном. Нестача P, K і Ca незначно стимулювала накопичення ліпідів на таких середовищах. Дефіцит Mg і Fe не впливав на вміст ліпідів протягом дослідження. Цікаво зазначити, що на середовищах без органічного карбону дефіцит досліджуваних елементів мало позначався як на швидкості росту, так і на внутрішньоклітинному вмісті ліпідів у таких культурах [15].

Слід підкреслити, що різниця даних, отриманих різними дослідниками для однакових штамів *C. reinhardtii*, може бути пов'язана з різним фізіологічним станом культури в стаціонарній та експоненційній фазах росту. На нашу думку, доцільніше досліджувати накопичення ТАГ для культур у стаціонарній фазі росту. Виявлено також помітний прямий зв'язок між швидкістю накопичення запасних ліпідів і рівнем метаболічної активності клітин *C. reinhardtii*.

Інші методи індукції акумуляції ліпідів клітинами *C. reinhardtii*. Кім та співавт. [31] дослідили вплив брэфельдину А на накопичення олеосом у клітинах *C. reinhardtii* штамів cc503 та cc125. Брэфельдин А індуктував стрес ендоплазматичного ретикулула в різних організмів пригніченням транспорту везикул від ендоплазматичного ретикулула до апарату Гольджі. Раніше було встановлено, що такий стрес активує багато ферментів метаболізму ліпідів у клітинах кукурудзи та сої, при цьому також збільшується накопичення ТАГ ендосперму кукурудзи [55]. Додатковий

75 мкг/мл брефельдину А супроводжувалось швидким (через 2 год) накопиченням олеосом — флуоресценція нільського червоного була в 2 рази вища в оброблених клітинах порівняно з контролем. Проте через 24 год флуоресценція знижувалась і перевищувала контрольну лише на 30 %, очевидно, в результаті розвитку токсичної дії брефельдину А й загибелі клітин. Аналізом зміни ліпідного складу екстрактів клітин виявлено зниження відсоткового вмісту діацилгліцеролтриметилгомосерину й дигалактозилдіацилгліцеролу, тоді як вміст фосфатидилетаноламіну і триацилгліцеролів зростав в оброблених клітинах порівняно з контролем. Подібна зміна ліпідного складу клітин характерна й для інших методів стрес-індукції, що дає підставу припускати дію загального механізму їх відповіді на стрес різної природи. Добавляння ацетату та культивування на середовищі без нітрогену додатково стимулювали накопичення ТАГ в оброблених клітинах. Обробка брефельдином А пригнічувала ріст і поділ клітин у зв'язку з дисбалансом ліпідів і ліпопротеїнів у клітинних мембранах. Індукція олеосом захищає клітини від пошкодження денатурованими гідрофобними ділянками протеїнів ендоплазматичного ретикулула [31].

Досліджено сольову (NaCl) стрес-індукцію накопичення ТАГ клітинами *C. reinhardtii* cc124 [57]. За концентрації NaCl 100 мМ в ТАР середовищі вміст ТАГ підвищувався до 5 мкг/10⁶ клітин, що відповідає його підвищенню за росту на середовищі без нітрогену [57].

Добавляння трикарбонових кислот, зокрема цитрату, також стимулювало утворення олеосом клітинами *C. reinhardtii* cc125 [68]. Так, добавляння 6 мМ цитрату до ТАР середовища культивування супроводжувалось підвищенням флуоресценції нільського червоного в культурі до відповідного рівня за росту на середовищі без нітрогену. Проте такий вплив також виявився стресовим для клітин, оскільки культура втрачала зелене забарвлення [68].

Вперше повідомлено про індукцію олеосом для штаму *C. reinhardtii* cc125 унаслідок прямої деформації плазматичної мембрани. Ефект розвивався після 4 год від моменту деформації і зберігався протягом 3 діб, при цьому флуоресценція нільського червоного в 3 рази перевищувала контрольне значення [40].

Отже, крім дефіциту мінерального живлення інші стресові впливи виявились не менш ефективними індукторами накопичення ліпідів клітинами *C. reinhardtii*. Однак окрім методу індукції існують додаткові чинники, які підвищують накопичення ліпідів.

Шляхи підвищення ефективності накопичення ліпідів *C. reinhardtii*.

Крім розглянутих методів індукції олеосом у клітинах *C. reinhardtii* проводяться роботи щодо вдосконалення методів впливу з метою отримання максимального виходу ліпідів з біомаси водоростей. Виділяють два основні напрями досліджень:

- створення мутантних штамів;
- підвищення вмісту органічного карбону в середовищі культивування.

Використання мутантних штамів *C. reinhardtii*. Спрямований мутагенез є потужним інструментом молекулярно-біологічних досліджень функціонування шляхів метаболізму не лише *C. reinhardtii*, а й усіх живих організмів. Після розшифрування геному розширились можливості для інсерційного мутагенезу з метою виключення чи активування екс-

пресії необхідних генів. Для стимулювання ліпогенезу мікроводоростей створено мутанти з порушеним біосинтезом крохмалю [36], використання яких ґрунтується на гіпотезі щодо конкурентного розподілу асимілятів між шляхами біосинтезу крохмалю і запасних форм ліпідів, зокрема ТАГ. Стресовий вплив на мікроводорості спричиняє спочатку накопичення крохмалю як високоенергетичного резерву і лише потім — ліпідів. У результаті цих спостережень запропоновано гіпотезу, що підвищення внутрішньоклітинного вмісту ліпідів у відповідь на стрес можна досягти шляхом блокування біосинтезу крохмалю.

Для *C. reinhardtii* найбільш досліджені мутантні штами *sta1-1* (17), *sta1-2* (BafJ3), *sta6* (BafJ5) і *sta7-1* (BafJ6) (рис. 4). Усі вони або не накопичують крохмалю взагалі, або накопичують його не більш як 5 % відносно штамів дикого типу [70]. За винятком штаму *sta1-1*, що отриманий від штаму дикого типу *cc124* (137C) за допомогою рентгенівського мутагенезу й має клітинну стінку, інші мутанти (*sta1-2*, *sta6*, *sta7-1*) отримані від аргінінового ауксотрофного штаму 330 (*cw15arg7-7*) в результаті інсерційного мутагенезу і характеризуються відсутністю клітинної стінки [57]. Штам *sta6* дефектний за малою субодиницею АДФ-глюкозопірофосфорилази, штам *sta7-10* дефектний за ізоамілазою [69].

Результати досліджень щодо стимулювання накопичення ліпідів за стресових умов із використанням мутантних штамів *C. reinhardtii*, в яких порушений синтез крохмалю, досить суперечливі. За росту на середовищі ТАР без нітрогену штам *sta6* через 3 доби накопичував у 2 рази більше ТАГ, ніж комплементарний штам *sta6-C6* і споріднений штам *cw15* [19]. Штам *sta6* має низку особливостей, зокрема здатний до накопичення ліпідних включень у хлоропластах, характеризується підвищеною активністю ензимів глюконеогенезу й гліюксилатного циклу [39]. Проте в дослідженні Сьют та співавт. [57] накопичення ТАГ було однаковим після 2 діб культивування на ТАР середовищі без нітрогену для штаму *sta6* та його прямого предка штаму 330. У дослідженні Ворк

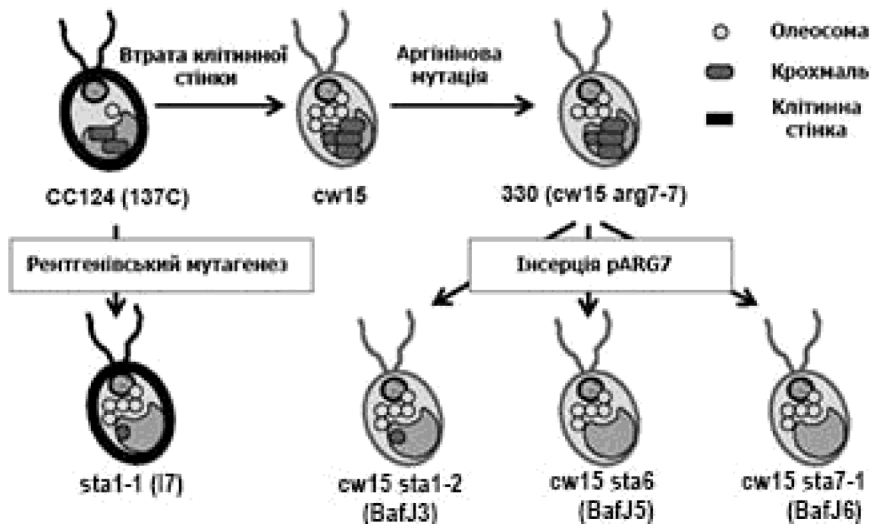


Рис. 4. Взаємозв'язок штаму дикого типу *C. reinhardtii* *cc124* й мутантних штамів із порушенням синтезу крохмалю *sta1-2* (BafJ3), *sta6* (BafJ5) і *sta7-1* (BafJ6) [57]

[69] зазначено, що ревертанти (з відновленою здатністю до синтезу крохмалю) мутантного штаму *sta7-10* накопичують більше ліпідів після 4 діб росту на середовищі без нітрогену. Тому втрата здатності синтезувати крохмаль про запас за стресових умов не завжди супроводжується посиленням здатності накопичувати ліпіди у відповідь на стрес.

Підвищення вмісту органічного карбону в середовищі культивування *C. reinhardtii*. Мікрородорості, у тому числі *C. reinhardtii*, здатні ефективно засвоювати екзогенні органічні речовини, які, залежно від їх природи, є не лише джерелами вуглецю, а й беруть участь у регуляції метаболізму [3, 62]. Зокрема, екзогенні органічні сполуки впливають на якісний і кількісний склад ЖК у ліпідах мікрородоростей [45].

Вважають, що для міксотрофного росту *C. reinhardtii* як джерело карбону та енергії може використовуватись лише ацетат [51]. За наявності ацетату в середовищі культивування поліпшуються показники росту і збільшується вміст ліпідів порівняно з фотоавтотрофним ростом. Нещодавно ми встановили, що ріст *C. reinhardtii* стимулюється також метанолом [5, 61, 62]. Міксотрофний ріст *C. reinhardtii* штаму *stab* супроводжується збільшенням вмісту ліпідів у 6 разів, а швидкість росту підвищується в 3 рази порівняно з фотоавтотрофним ростом за нормальних умов. Дефіцит щодо нітрогену додатково стимулював накопичення ліпідів у міксотрофній культурі на 40 % після 3 діб, в автотрофній культурі їх вміст підвищувався у 5 разів, але не досягав відповідного рівня в міксотрофній культурі [51]. Інший колектив авторів також досліджував вплив ацетату на накопичення ліпідних включень *C. reinhardtii* штаму *stab*. За добавляння 20 мМ ацетату після 2 діб дефіциту нітрогену посилювалось утворення ліпідів порівняно з контролем без ацетату, що супроводжувалось підняттям клітин на поверхню середовища культивування з утворенням їх плівки [22].

Отже, наявність органічного карбону в середовищі культивування (у формі ацетату) стимулює не лише метаболічну активність і ріст культури *C. reinhardtii*, а й накопичення запасуючих ліпідів (у формі ТАГ) за росту культури в стресових умовах.

Таким чином, використання *C. reinhardtii* як модельного об'єкта для дослідження здатності мікрородоростей до накопичення запасуючих ліпідів у стресових умовах росту дає змогу порівняти ефективності різноманітних стресових впливів на індукцію ліпогенезу. Найбільш ефективним, природним, оборотним і найменш затратним стресовим впливом вважають створення дефіциту нітрогену в середовищі культивування. За умов нітрогенового стресу наявність ацетату додатково підвищує накопичення ліпідів. Використання мутантних штамів *C. reinhardtii* також дає змогу підвищувати внутрішньоклітинний вміст ліпідів за стресових умов.

Проте, незважаючи на сучасні досягнення в галузі молекулярної біології та генної інженерії, відокремити фактор індукції накопичення ліпідів від стресового фактора не вдається, тобто індукція ліпогенезу завжди супроводжується пригніченням росту. Тому з погляду отримання сировини, збагаченої ліпідами, з мікрородоростей важливо не лише максимально підвищити внутрішньоклітинний вміст ліпідів, а й забезпечити виживаність і швидке відновлення росту культури.

1. Золотарьова О.К., Шнюкова Є.І., Сиваш О.О., Михайленко Н.Ф. Перспективи використання мікрородоростей у біотехнології. — К.: Альтерпрес, 2008. — С. 55.

2. Золотарьова О., Шнюкова Є. Куди прямує біопаливна індустрія? // Вісн. НАН України. — 2010. — № 4. — С. 10—20.
3. Сиваш О.О., Михайленко Н.Ф., Золотарьова О.К. Цукри як ключова ланка в регуляції метаболізму фотосинтезуючих клітин // Укр. ботан. журн. — 2001. — **58**, № 3. — С. 121—127.
4. Соловченко А.Е. Физиологическая роль накопления нейтральных липидов эукариотическими микроводорослями при стрессах // Физиология растений. — 2012. — **59**. — С. 192—202.
5. Степанов С.С., Золотарьова О.К. Метаболічний шлях метанолу у рослин // Укр. біохім. журн. — 2011. — **83**, № 4. — С. 5—15.
6. Austin J.R., Frost E., Vada A. et al. Plastoglobules are lipoprotein subcompartments of the chloroplast that are permanently coupled to thylakoid membranes and contain biosynthetic enzymes // Plant Cell. — 2006. — **18**. — P. 1693—1703.
7. Ball S., Marianne T., Dirick L. et al. *Chlamydomonas reinhardtii* low-starch mutant is defective for 3-phosphoglycerate activation and orthophosphate inhibition of ADP-glucose pyrophosphorylase // Planta. — 1991. — **185**, N 1. — P. 17—26.
8. Brehelin C., Kessler F., van Wijk K.J. Plastoglobules: versatile lipoprotein particles in plastids // Trends Plant Sci. — 2007. — **12**. — P. 260—266.
9. Brett M., Muller N.D. The role of highly unsaturated fatty acids in aquatic foodweb processes // Freshwater Biol. — 1997. — **38**, N 3. — P. 483—499.
10. Brown L.M., Zeiler K.G. Aquatic biomass and carbon dioxide trapping // Energy Conversion Manag. — 1993. — **34**. — P. 1005—1013.
11. Cakmak T., Angun P., Ozkan A.D. et al. Nitrogen and sulfur deprivation differentiate lipid accumulation targets of *Chlamydomonas reinhardtii* // Bioeng. Bugs. — 2012. — **3**. — P. 343—346.
12. Cardozo K.H.M., Guaratini T., Barros M.P. et al. Metabolites from algae with economical impact // Comp. Biochem. Physiol. C.: Toxicol. Pharmacol. — 2007. — **146**. — P. 60—78.
13. Chisti Y. Biodiesel from microalgae // Biotechnol. Adv. — 2007. — **25**. — P. 294—306.
14. Deng X.D., Li Y.J., Fei X.W. Microalgae: A promising feedstock for biodiesel // Afr. J. Microbiol. Res. — 2009. — **3**. — P. 1008—1014.
15. Deng X., Fei X., Li Y. The effects of nutritional restriction on neutral lipid accumulation in *Chlamydomonas* and *Chlorella* // Ibid. — 2011. — **5**. — P. 260—270.
16. Docampo R., Ulrich P., Moreno S.N.J. Evolution of acidocalcisomes and their role in polyphosphate storage and osmoregulation in eukaryotic microbes // Philos. Trans. R. Soc. B. — 2010. — **365**. — P. 775—784.
17. Fahy E., Subramaniam S., Brown H.A. et al. A comprehensive classification system for lipids // J. Lipid Res. — 2005. — **46**. — P. 839—862.
18. Fan J., Yan C., Andre C. et al. Oil accumulation is controlled by carbon precursor supply for fatty acid synthesis in *Chlamydomonas reinhardtii* // Plant Cell Physiol. — 2012. — **53**, N 8. — P. 1380—1390.
19. Fan Y., Chapkin R. Importance of dietary γ -linolenic acid in human health and nutrition // J. Nutr. — 1998. — **128**. — P. 1411—1414.
20. Froissard M., D'andre'a S., Boulard C., Chardot T. Heterologous expression of AtClo1, a plant oil body protein, induces lipid accumulation in yeast // FEMS Yeast Res. — 2009. — **9**. — P. 428—438.
21. Fujimoto T., Ohsaki Y. Cytoplasmic lipid droplets. Rediscovery of an old structure as a unique platform // Ann. N.Y. Acad. Sci. — 2006. — **1086**. — P. 104—115.
22. Goodson C., Roth R., Wang Z.T., Goodenough U. Structural correlates of cytoplasmic and chloroplast lipid body synthesis in *Chlamydomonas reinhardtii* and stimulation of lipid body production with acetate boost // Eukaryotic Cell. — 2011. — **10**, N 12. — P. 1592—1606.
23. Grossman A.R. *Chlamydomonas reinhardtii* and photosynthesis: genetics to genomics // Curr. Opin. Plant Biol. — 2000. — **3**. — P. 132—137.
24. Guschina I.A., Harwood J.L. Algal lipids and effect of the environment on their biochemistry // Lipids in Aquatic Ecosystems / Eds M. Kainz, M. Brett, M. Arts. — Dordrecht, Heidelberg, London, New York: Springer-Verlag, 2009. — P. 1—24.
25. Guschina I.A., Harwood J.L. Lipids and lipid metabolism in eukaryotic algae // Prog. Lipid Res. — 2006. — **45**. — P. 160—186.
26. Hansen J., Sshade D., Harris C. et al. Docosahexaenoic acid plus arachidonic acid enhance preterm infant growth // Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids. — 1997. — **57**. — P. 196.
27. Harwood J.L., Jones A.L. Lipid metabolism in algae // Adv. Bot. Res. — 1989. — **16**. — P. 1—53.

28. Harwood J.L., Scrimgeour C.M. Fatty acid and lipid structure // The Lipid Handbook / Ed. F.D. Gunstone, A.J. Dijkstra. — Boca Raton: Taylor and Francis Group, CRC Press. — 2007. — P. 1–36.
29. Hu Q., Sommerfeld M., Jarvis E. et al. Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: Perspectives and advances // Plant J. — 2008. — **54**. — P. 621–639.
30. Kessler F., Vidi P.A. Plastoglobule lipid bodies: their functions in chloroplasts and their potential for applications // Adv. Biochem. Eng. Biotechnol. — 2007. — **107**. — P. 153–172.
31. Kim S., Kim H., Ko D. et al. Rapid induction of lipid droplets in *Chlamydomonas reinhardtii* and *Chlorella vulgaris* by Brefeldin A // Plos one. — 2013. — **8**, N 12. — P. e81978.
32. Kreimer G. The green algal eyespot apparatus: a primordial visual system and more? // Curr. Genet. — 2009. — **55**. — P. 19–43.
33. Kruse O., Rupprecht J., Mussgnug J.H. et al. Photosynthesis: A blueprint for solar energy capture and biohydrogen production technologies // Photochem. Photobiol. Sci. — 2005. — **4**, N 12. — P. 957–970.
34. Li-Beisson Y., Beisson F., Riekhof W. Metabolism of acyl-lipids in *Chlamydomonas reinhardtii* // Plant J. Cell Mol. Biol. — 2015. — **82**. — P. 504–522.
35. Liu B.S., Benning C. Lipid metabolism in microalgae distinguishes itself // Curr. Opin. Biotechnol. — 2013. — **24**. — P. 300–309.
36. Li Y., Han D., Hu G. et al. *Chlamydomonas* starchless mutant defective in ADP-glucose pyrophosphorylase hyper-accumulates triacylglycerol // Metab. Eng. — 2010. — **12**. — P. 387–391.
37. Marshall W.F. Basal bodies: Platforms for building cilia // Curr. Topics Dev Biol. — 2008. — **85**. — P. 1–22.
38. Merchant S.S., Prochnik S.E., Vallon O. et al. The *Chlamydomonas* genome reveals the evolution of key animal and plant functions // Science. — 2007. — **318**. — P. 245–250.
39. Miller R., Wu G., Deshpande R.R. et al. Changes in transcript abundance in *Chlamydomonas reinhardtii* following nitrogen deprivation predict diversion of metabolism // Plant Physiol. — 2010. — **154**, N 4. — P. 1737–1752.
40. Min S.K., Yoon G.H., Joo J.H. et al. Mechanosensitive physiology of *Chlamydomonas reinhardtii* under direct membrane distortion // Sci. Rep. — 2014. — **4**. — P. 4675.
41. Moellering E.R., Benning C. RNA interference silencing of a major lipid droplet protein affects lipid droplet size in *Chlamydomonas reinhardtii* // Eukaryot. Cell. — 2010. — **9**, N 1. — P. 97–106.
42. Msanne J., Konda Xu. D., Casas-Mollano A.R. et al. Metabolic and gene expression changes triggered by nitrogen deprivation in the photoautotrophically grown microalgae *Chlamydomonas reinhardtii* and *Coccomyxa* sp C-169 // Phytochemistry. — 2012. — **75**. — P. 50–59.
43. Murphy D.J. The biogenesis and functions of lipid bodies in animals, plants, and microorganisms // Prog. Lipid Res. — 2001. — **40**. — P. 325–438.
44. Mutanda T., Ramesh D., Karthikeyan S. et al. Bioprospecting for hyper-lipid producing microalgal strains for sustainable biofuel production // Bioresour. Technol. — 2011. — **102**. — P. 57–70.
45. Mykhaylenko N.F., Syvash O.O., Tupik N.D., Zolotareva O.K. Exogenous hexoses cause quantitative changes of pigment and glycerolipid composition in filamentous cyanobacteria // Photosynthetica. — 2004. — **42**, N 1. — P. 105–110.
46. Ohad I., Siekevitz P., Palade G.E. Biogenesis of chloroplast membranes. I. Plastid dedifferentiation in a dark-grown algal mutant (*Chlamydomonas reinhardtii*) // J. Cell Biol. — 1967. — **35**. — P. 521–552.
47. Oswald W.J., Golueke C.G. Biological transformation of solar energy // Adv. Appl. Microbiol. — 1960. — **11**. — P. 223–242.
48. Park J.B.K., Craggs R.J., Shilton A.N. Wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production // Bioresour. Technol. — 2011. — **102**. — P. 35–42.
49. Pittman J.K., Dean A.P., Osundeko O. The potential of sustainable algal biofuel production using wastewater resources // Bioresour. Technol. — 2011. — **102**. — P. 17–25.
50. Poxleitner M., Rogers S.W., Samuels A.L. et al. A role for caleosin in egradation of oil-body storage lipid during seed germination // Plant J. — 2006. — **47**. — P. 917–933.
51. Ramanan R., Kim B.H., Cho D.H. et al. Lipid droplet synthesis is limited by acetate availability in starchless mutant of *Chlamydomonas reinhardtii* // FEBS Lett. — 2013. — **587**, N 4. — P. 370–377.
52. Rochaix J.D. *Chlamydomonas*, a model system for studying the assembly and dynamics of photosynthetic complexes // Ibid. — 2002. — **529**, N 1. — P. 34–38.

53. Sager R., Palade G.E. Structure and development of the chloroplast in *Chlamydomonas* / The normal green cell // J. Biophys. Biochem. Cytol. — 1957. — 3. — P. 463–488.
54. Schmidt M., Gessner G., Luff M. et al. Proteomic analysis of the eyespot of *Chlamydomonas reinhardtii* provides novel insights into its components and tactic movements // Plant Cell. — 2006. — 18, N 8. — P. 1908–1930.
55. Shank K.J., Su P., Brglez I. et al. Induction of lipid metabolic enzymes during the endoplasmic reticulum stress response in plants // Plant Physiol. — 2001. — 126. — P. 267–277.
56. Sharma K.K., Schuhman H., Schenk P.M. High lipid induction in microalgae for biodiesel production // Energies. — 2012. — 5, N 5. — P. 1532–1553.
57. Siaux M., Cuine S., Cagnon C. et al. Oil accumulation in the model green alga *Chlamydomonas reinhardtii*: characterization, variability between common laboratory strains and relationship with starch reserves // BMC Biotechnol. — 2011. — 11. — P. 7–22.
58. Siloto M.P., Findlay K., Lopez-Villalobos A. et al. The accumulation of oleosins determines the size of seed oilbodies in Arabidopsis // Plant Cell. — 18. — P. 1961–1964.
59. Singh A., Nigam P.S., Murphy J.D. Mechanism and challenges in commercialisation of algal biofuels // Bioresour. Technol. — 2011. — 102. — P. 26–34.
60. Small D. A classification of biogenic lipids based upon their interaction in aqueous systems // J. Amer. Oil Chem. Soc. — 1968. — 45. — P. 108–119.
61. Stepanov S.S., Zolotareva E.K. The effect of methanol on photosynthetic activity and productivity *Chlamydomonas reinhardtii* Dang. (Chlorophyta) // Int. J. Algae. — 2011. — 21, N 2. — P. 178–190.
62. Stepanov S.S., Zolotareva E.K. Methanol-induced stimulation of growth, intracellular amino acids, and protein content in *Chlamydomonas reinhardtii* // J. Appl. Phycol. — 2015. — 27, N 4. — P. 1509–1516.
63. Tauchi-Sato K., Ozeki S., Houjou T. et al. The surface of lipid droplets is a phospholipid monolayer with a unique fatty acid composition // J. Biol. Chem. — 2002. — 277. — P. 44507–44512.
64. Thiele C., Spandi J. Cell biology of lipid droplets // Curr. Opin. Cell Biol. — 2008. — 20. — P. 378–386.
65. Thompson G. Lipids and membrane function in green algae // Biochim. Biophys. Acta. — 1996. — 1302. — P. 17–45.
66. Walther T.C., Farese R.V. The life of lipid droplets // Biochim. Biophys. Acta. — 2009. — 1791. — P. 459–466.
67. Wang Z.T., Ullrich N., Joo S. et al. Algal lipid bodies: stress induction, purification, and biochemical characterization in wild-type and starchless *Chlamydomonas reinhardtii* // Eukaryot. Cell. — 2009. — 8. — P. 1856–1868.
68. Wasw N., Black P., Stanley B., DiRusso C. Integrated quantitative analysis of nitrogen stress response in *Chlamydomonas reinhardtii* using metabolite and protein profiling // J. Proteome Res. — 2014. — 13. — P. 1373–1396.
69. Work V.H., Radakovits R., Jinkerson R.E. et al. Increased lipid accumulation in the *Chlamydomonas reinhardtii* sta7-10 starchless isoamylase mutant and increased carbohydrate synthesis in complemented strains // Eukaryot. Cell. — 2010. — 9. — P. 1251–1261.
70. Zabawinska C., Van den Koornhuyse N.D., Hulst C. et al. Starchless mutants of *Chlamydomonas reinhardtii* lack the small subunit of a heterotetrameric ADP-glucose pyrophosphorylase // J. Bacteriol. — 2001. — 183, N 3. — P. 1069–1077.
71. Zolotareva E.K., Shniukova E.I., Podorvanov V.V. Microalgae as hydrogen producers // Int. J. Algae. — 2010. — 12, N 3. — P. 199–220.

Отримано 08.04.2016

НАКОПЛЕНИЕ НЕЙТРАЛЬНЫХ ЛИПИДОВ В КЛЕТКАХ *CHLAMYDOMONAS REINHARDTII* ПРИ СТРЕССОВЫХ УСЛОВИЯХ

С.С. Степанов

Институт ботаники им. Н.Г. Холодного Национальной академии наук Украины, Киев

В обзоре на примере модельного организма — одноклеточной зеленой водоросли *Chlamydomonas reinhardtii* освещены основные достижения последних десятилетий в изучении механизмов накопления нейтральных липидов, в том числе триацилглицеролов (ТАГ), в клетках микроводорослей в ответ на стресс. Водоросли рассмотрены как перспективное

сырье для производства биотоплива третьего и четвертого поколений. Охарактеризованы факторы, положительно влияющие на аккумуляцию нейтральных липидов в клетках *C. reinhardtii*, описаны структура, биохимический состав и физиологическая роль внутриклеточных липидных включений, приведены свойства мутантных штаммов, способных накапливать повышенные количества ТАГ.

ACCUMULATION OF NEUTRAL LIPIDS IN THE CELLS OF *CHLAMYDOMONAS REINHARDTII* UNDER STRESS CONDITIONS

S.S. Stepanov

M.G. Kholodny Institute of Botany, National Academy of Sciences of Ukraine
2 Tereshchenkivska St., Kyiv, 01661, Ukraine

The main achievements of the last decades in the study of the mechanisms of accumulation of neutral lipids, including triacylglycerols (TAG), in microalgal cells in response to stress are discussed at example of a model organism — the unicellular green algae *Chlamydomonas reinhardtii*. Algae are now considered as promising feedstock for biofuel production of the third and fourth generations. The factors that positively influence the accumulation of neutral lipids in the cells of *C. reinhardtii* are analyzed, the structure, biochemical composition and physiological role of intracellular lipid inclusions are described and the properties of the mutant strains capable to increased accumulation of TAG are considered.

Key words: *Chlamydomonas reinhardtii*, triacylglycerols, storage lipids, fatty acids, lipid bodies, biodiesel.