

УДК 581.1

СУБСТРАТНАЯ СПЕЦИФИЧНОСТЬ АЦИЛ-ЛИПИДНОЙ
Δ⁹-ДЕСАТУРАЗЫ ИЗ ЦИАНОБАКТЕРИИ
PROCHLOROTHRIX HOLLANDICA – ПРОДУЦЕНТА
МИРИСТОЛЕИНОВОЙ КИСЛОТЫ

© 2017 г. А. Ю. Стариков^а, А. А. Усербаева^б, С. С. Лапина^а, К. С. Миронов^а, И. П. Маслова^а,
В. П. Пчёлкин^а, Б. К. Заядан^б, М. А. Синетова^а, Д. А. Лось^{а, 1}

^аФедеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва

^бФакультет биологии и биотехнологии Казахского национального Университета
им. Аль-Фараби, Алматы, Казахстан

Поступила в редакцию 18.11.2016 г.

Хлорофилл *b*-содержащая цианобактерия *Prochlorothrix hollandica* характеризуется высоким содержанием в мембранных липидах этерифицированных жирных кислот (ЖК) с 14 и 16 атомами углерода. В зависимости от условий культивирования относительное количество миристиновой (C_{14:0}) и миристолеиновой (C_{14:1}) кислот может достигать 35%, а пальмитиновой (C_{16:0}) и пальмитолеиновой (C_{16:1}) – 60% от суммы всех жирных кислот в клетках. Мононенасыщенные ЖК представлены C_{14:1}, C_{16:1Δ⁹}, а также C_{16:1} с олефиновой связью, предположительно находящейся в положении Δ⁴. Мы клонировали ген ацил-липидной Δ⁹-десатуразы, *desC1*, из *Prochlorothrix hollandica* и охарактеризовали его специфичность к длине субстрата путем гетерологичной экспрессии в клетках *Escherichia coli* с добавлением C_{14:0} или стеариновой (C_{18:0}) кислот в качестве экзогенных субстратов. Результаты показывают, что Δ⁹-десатураза DesC1 примерно с одинаковой эффективностью образует олефиновые связи в ЖК с длиной от 14 до 18 атомов углерода. Это свидетельствует о том, что длина цепи ЖК *P. hollandica* определяется активностью синтеза ЖК, а десатурация в положении Δ⁹ этой цепи происходит неспецифично по отношению к ее длине.

Ключевые слова: *Prochlorothrix* – десатураза – жирные кислоты – липиды

DOI: 10.7868/S0015330317040145

ВВЕДЕНИЕ

Планктонная филаментная цианобактерия *Prochlorothrix hollandica* характеризуется очень высоким относительным содержанием C₁₄- и C₁₆-жирных кислот (ЖК) в липидах мембран [1]. В зависимости от условий выращивания клетки этого штамма могут содержать до 33% миристолеиновой (14:1Δ⁹) и 23% пальмитолеиновой (16:1Δ⁹) кислот, в то время как доля олеиновой кислоты (18:1Δ⁹) составляет всего 5–6% [2]. Другие штаммы цианобактерий, например, одноклеточный *Synechococcus elongatus* IPPAS B-267 или филаментная *Arthrospira platensis* IPPAS B-256, содержат, соответственно, 20 и 12% 18:1Δ⁹ [2, 3].

Длина цепи ЖК детерминируется тиоэстеразами, входящими в состав синтазы ЖК – мульти-

компонентного ферментного комплекса, использующего малонил-КоА в качестве двухуглеродного блока для конденсации [4]. Первая олефиновая связь в алифатических цепях ЖК мембранных липидов цианобактерий образуется в положении Δ⁹ с помощью ацил-липидных Δ⁹-десатураз [4], которые могут быть разделены на три группы. Первая группа – DesC1 представлена ферментами, специфичными к *sn*-1 положению ЖК. Вторая группа – DesC2 специфична к положению *sn*-2. Третья группа Δ⁹-десатураз отличается от первых двух структурно, однако функции и специфичность этих ферментов пока экспериментально не установлены [5]. Кроме того, десатуразы могут обладать специфичностью к длине ЖК и преимущественно использовать цепи с тем или иным числом углеродных атомов в качестве субстратов [4].

Таким образом, синтез больших количеств мононенасыщенных 14:1Δ⁹ и 16:1Δ⁹, по сравнению со стеариновой кислотой (C_{18:0}), у *P. hollandica* может определяться как специфичностью десатураз

Сокращения: АПБ – ацил-переносающий белок.

¹ Адрес для корреспонденции: Лось Дмитрий Анатольевич. 127276 Москва, Ботаническая ул., 35. Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН. Электронная почта: losda@ippras.ru

к длине углеводородной цепи, так и тиоэстеразной активностью синтазы ЖК.

Целью этой работы было клонирование гена ацил-липидной $\Delta 9$ -десатуразы из *Prochlorothrix hollandica* и характеристика его специфичности к длине цепи ЖК путем гетерологичной экспрессии в клетках *Escherichia coli* с добавлением миристиновой кислоты ($C_{14:0}$) или $C_{18:0}$ в качестве экзогенных субстратов. В результате нам удалось клонировать ген $\Delta 9$ -десатуразы первого типа, *desC1*. Соответствующий фермент, DesC1, образует двойные связи в ЖК с разной длиной цепи (C_{14-18}) примерно с одинаковой эффективностью. Это свидетельствует о том, что длина цепи ЖК у *Prochlorothrix hollandica* определяется активностью синтазы ЖК, а десатурация в положении $\Delta 9$ происходит неспецифично по отношению к длине ЖК.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Клонирование гена $\Delta 9$ -десатуразы из *Prochlorothrix hollandica*

Штамм *Prochlorothrix hollandica* PCC 9006 был изначально получен от проф. George S. Bullerjahn (Bowling Green State University, Bowling Green, Ohio, США). Штамм выращивали на среде Ph [1].

Геномную ДНК выделяли по методу Вильямса [6] и обрабатывали рестриктазой *Sau3A* ("Thermo Scientific", Литва) при комнатной температуре в течение 5–10 мин. Фрагменты разделяли в 0.7% агарозном геле и вырезали участки агарозы, содержащие фрагменты ДНК со средним размером 15–25 т.п.н. Фрагменты элюировали с использованием набора GeneClean III ("Qbiogene Inc.", Канада).

Геномную библиотеку *P. hollandica* конструировали с использованием выделенных фрагментов геномной ДНК и фагового вектора λ -DASH II, преобразованного рестриктазой *VamH I*, в соответствии с протоколом производителя ("Stratagene", США). Проба для скрининга геномной библиотеки *P. hollandica* получали путем амплификации фрагмента геномной ДНК с вырожденными праймерами 5'-CA(TC)GA(TC)(TA)(GC)NAA(TC)AA(AG)GGNTT(TC)GT)NTGG – прямой, 5'-TT(TC)GGN-GA(AG)GGNTGGCA(TC)AA(TC)AA(TC)CA(TC)-CA(TC)GC – обратный. Праймеры соответствовали консервативным аминокислотным последовательностям известных $\Delta 9$ -десатураз цианобактерий типа DesC1 – HDSNKGFW(L)W и FGEGW-WHNNHNA [5]. Амплифицированный фрагмент величиной 360 п.н. клонировали в pT7Blue ("Novagen", США). Секвенирование вставки подтвердило гомологию амплифицированного фрагмента с известными $\Delta 9$ -десатуразами цианобактерий. Этот фрагмент радиоактивно метили с использованием коротких случайных прай-

меров и фрагмента Кленова ДНК-полимеразы и использовали для скрининга библиотеки. Выделение рекомбинантной фаговой ДНК проводили с помощью набора Lambda DNA purification kit ("Qiagen", Германия).

Анализ клонов рекомбинантных фагов, давших положительный сигнал при скрининге (рис. 1а), показал, что все они предположительно содержат ген $\Delta 9$ -десатуразы *Prochlorothrix*. Рестриктивный анализ в сочетании с блоттингом по Саузерну [7] показал, что фрагмент ДНК размером ~3 т.п.н., полученный после полной рестрикции ДНК рекомбинантных фагов ферментом *VamH I* ("Fermentas"), содержит полноразмерный ген $\Delta 9$ -десатуразы *P. hollandica* (рис. 1б, в) Этот фрагмент клонировали в плазмиде pUC19 по сайту *VamH I* и определяли нуклеотидную последовательность с использованием синтетических олигонуклеотидов ("Литех", Россия) в качестве праймеров [8] и секвенатора ABI Prism 310 (Applied Biosystems, Foster City, CA, США). Анализ нуклеотидной последовательности осуществляли с помощью пакета Lasergene ver. 14.0 ("DNASTAR", США). Нуклеотидная последовательность гена *desC1 P. hollandica* и соответствующая аминокислотная последовательность $\Delta 9$ -десатуразы депонированы в базу данных DDBJ/EMBL/GenBank под номером AY007573.

Ген *desC1* амплифицировали из геномной ДНК *P. hollandica* с помощью ПЦР с использованием синтетических нуклеотидов в качестве праймеров: 5'-TTCCATGGCCGTAGCTACTGCTG (A в положении +3 заменена на G для создания сайта рестрикции *NcoI*) и 5'-ATCTGCAGCTAAGCTTCACTGATTAAC (на конце праймера создан сайт узнавания *PstI*). Амплифицированный фрагмент ДНК, содержащий полноразмерный ген *desC1* клонировали в векторе pT7Blue ("Novagen", США), штамм *Escherichia coli* JM109. Ген *desC1* вырезали из плазмиды рестриктазами *Nco I* и *Pst I* и переклонировали в экспрессионный вектор pTc99A [9] с сохранением рамки считывания (рис. 1г). Полученная конструкция для экспрессии обозначена как pTc99A-*desC1*. В качестве носителя использовали штамм *E. coli* DH5 α .

Определение субстратной специфичности $\Delta 9$ -десатуразы *P. hollandica*

Трансформанты выращивали до оптической плотности 0.5 при 660 нм при 37°С на среде M9 [7] с добавлением 1мкМ MgSO₄, 0.5 мг/мл витамина B₁, 0.2% глюкозы, 0.1% казаминовых кислот, 100 мкг/мл ампициллина, 10 мкМ FeCl₃, а также натриевые соли $C_{14:0}$ или $C_{18:0}$ в конечной концентрации 1 мМ. Затем в культуру клеток добавляли индуктор изопропилтиогалактозид (ИПТГ) до конечной концентрации 100 мкМ и инкубировали

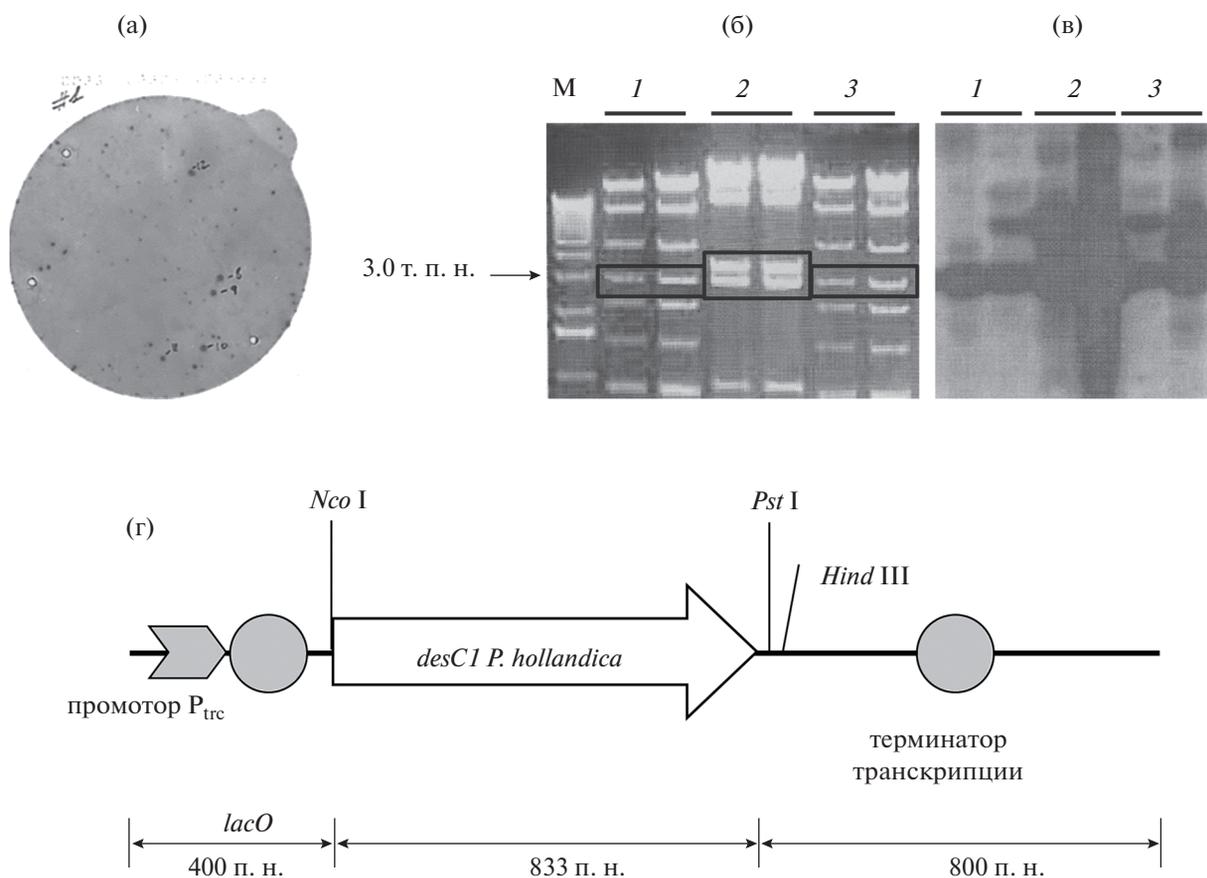


Рис. 1. Клонирование гена *desC1*, кодирующего Δ9-десатуразу *Prochlorothrix hollandica*. (а) Скрининг фаговой библиотеки с помощью радиоактивного зонда, соответствующего фрагменту гена *desC1 P. hollandica*. Яркие черные точки соответствуют сильным сигналам гибридизации. (б) Электрофореграмма фрагментов ДНК, полученных после обработки фаговой ДНК рестриктазой *Bam*HI. Показаны фрагменты трех разных изолятов (фаги 1–3) в двух повторностях. Обведены фрагменты ДНК, которые вырезали из геля для клонирования в rUC19. М – маркер молекулярных весов. (в) Радиоавтограф гибридизации фрагментов ДНК с радиоактивным зондом, соответствующим фрагменту гена *desC1 P. hollandica*. (г) Фрагмент рекомбинантного вектора экспрессии, несущий клонированный по сайтам рестрикции *Nco*I и *Pst*I ген *desC1 P. hollandica*, под контролем промотора P_{trc} и лактозного оператора LacO. Вектор также содержит ген репрессора лактозного оперона LacI^q, не показанный на рисунке.

их еще 4 ч. Полученную культуру дважды промыли дистиллированной водой. Метилловые эфиры ЖК получали из липидов культуры прямым каталитическим метанолизом и разделяли методом ГЖХ [2]. Определение качественного состава и количественного содержания индивидуальных видов ЖК культур проводили по ранее описанной методике [2].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Прохлорофит *Prochlorothrix hollandica* характеризуется высокими относительными концентрациями мононенасыщенных ЖК (14:1Δ⁹ и 16:1Δ⁹) в липидах мембран [1]. Очевидно, что двойная связь в этих ЖК образуется в результате активности Δ9-десатураз(ы). У цианобактерий имеются ацил-липидные десатуразы ЖК, образующие свои первые олефиновые связи в тех ацильных цепях,

которые связаны непосредственно с остатками глицерина липидных молекул этих бактерий.

Известные к настоящему времени Δ9-десатуразы цианобактерий можно разделить, по крайней мере, на три группы: DesC1 – фермент с выраженной специфичностью к ЖК, этерифицированным в положении *sn*-1 [10]; DesC2 – фермент с выраженной специфичностью к ЖК в положении *sn*-2 [11]; DesC3 – ферменты с неизученной пока специфичностью, но сильно отличающиеся от первых двух групп по аминокислотным последовательностям [5]. У некоторых цианобактерий десатуразы DesC1-типа представлены в геноме только одним геном (*Synechocystis* sp. PCC 6803 [11], *Anabaena* sp. PCC 7120 [12]) у других же – двумя и более [4]. Организмы, имеющие DesC2, обычно имеют и DesC1, как например, антарктический *Nostoc* sp. SO-36 [11] или термофильный *Thermosynechococcus elongatus* [[13]]. В то же время извест-

Жирнокислотный состав общих липидов клеток *E. coli* DH5 α , трансформированных геном *desC1* из *P. hollandica*

Плазмида	ИПТГ	эЖК	Жирные кислоты (мол. %)						
			14:0	14:1 Δ^9	16:0	16:1 Δ^9	18:0	18:1 Δ^9	18:1 Δ^{11}
pTrc99A	–	–	4	0	49	26	2	0	19
pTrc99A	+	–	3	0	50	25	2	0	20
pTrc99A	–	18:0	4	0	24	6	60	0	6
pTrc99A	+	18:0	3	0	23	7	61	0	6
pTrc99A	–	14:0	61	0	24	6	2	0	6
pTrc99A	+	14:0	61	0	23	7	2	0	6
pTrc99A- <i>desC1</i>	–	–	4	0	49	27	2	1	17
pTrc99A- <i>desC1</i>	+	–	2	2	38	39	1	4	14
pTrc99A- <i>desC1</i>	–	18:0	3	0	22	7	60	1	7
pTrc99A- <i>desC1</i>	+	18:0	3	1	28	9	44	7	8
pTrc99A- <i>desC1</i>	–	14:0	50	0	29	11	2	1	7
pTrc99A- <i>desC1</i>	+	14:0	40	9	25	15	1	2	8

Примечание. ИПТГ – изопропилтиогалактозид в конечной концентрации 100 мкМ; эЖК – экзогенные ЖК в конечной концентрации 1 мМ. (+) – реагент добавлен; (–) – реагент не добавлен. Представлены данные 2 биологических и 4 аналитических повторностей. Относительная стандартная ошибка составляла 2–4% для преобладающих ЖК и не более 0.1–0.5% – для минорных компонентов.

но, что единственная *DesC1* из *Synechocystis* sp. PCC 6803 отдает предпочтение *sn*-1 положению [10, 14], в то время как единственная *DesC1* из *Synechococcus elongatus* PCC 6301 [15] или PCC 7942 [16] может десатурировать ЖК как в *sn*-1, так и в *sn*-2 положениях, и использовать в качестве субстрата как C_{16}^- , так и C_{18} -ЖК [17].

В высших растениях присутствуют как ацил-липидные, так и ацил-АПБ Δ^9 -десатуразы ЖК [18], которые наряду со специфичностью к *sn*-положению, обладают предпочтениями в узнавании длины углеводородной цепи ЖК [19].

Ранее мы показали, что *DesC1* из термофильной цианобактерии *Synechococcus vulcanus*, которая узнает $C_{14:0}$ [20], также проявляет активность и на других субстратах – $C_{16:0}$ и $C_{18:0}$ [21]. В этой работе с целью изучения специфичности этого фермента к длине цепи ЖК мы клонировали ген 9-десатуразы первого типа (*DesC1*) из цианобактерии *P. hollandica*, накапливающей до 35% $14:1\Delta^9$.

Для этого в клетках *E. coli*, не имеющих десатураз ЖК и образующих моноеновые $16:1\Delta^9$ и $18:1\Delta^{11}$ с помощью синтазы ЖК, экспрессировали ген *desC1* из *P. hollandica*. В среду для роста *E. coli* добавляли натриевые соли $C_{14:0}$ и $C_{18:0}$, полагая, что $C_{16:0}$ содержится в этих клетках в достаточном количестве (рис. 2). В клетках, к которым не добавляли индуктор транскрипции ИПТГ, накопление ЖК с двойной связью в положении 9 почти незаметно. Однако, небольшие количества $18:1\Delta^9$ все же были обнаружены. Вероятно, это связано с нежестким контролем промотора репрессором LacI^q . В присутствии индуктора транскрипции,

ИПТГ, становится достоверным значительное накопление продуктов десатурации ЖК в положении Δ^9 : $14:1\Delta^9$, $16:1\Delta^9$, $18:1\Delta^9$ (рис. 2б, г, е).

Подробный анализ состава ЖК трансформантов *E. coli* приведен в таблице. Контрольные варианты трансформантов (трансформация вектором без гена *desC1*) говорят о том, что клетки *E. coli* способны накапливать экзогенные ЖК в значительных количествах, однако они не способны десатурировать их в положении Δ^9 . Это относится в первую очередь к $C_{14:0}$ и $C_{18:0}$ (таблица).

У *E. coli* образование олефиновой связи в цепи ЖК происходит путем дегидратации промежуточного продукта синтеза ЖК 3-гидроксидеканоила с образованием *цис*-3 π -связи, которая сохраняется неизменной в последующих циклах удлинения цепи на два атома С [22]. Двойная связь вводится в растущую ацильную цепь ферментом *FabA*, способным как к дегидратации β -гидроксидеканоила-АПБ в *транс*-2-деценоил-АПБ, так и к изомеризации последнего в *цис*-3-деценоил-АПБ. Для удлинения *цис*-3-деценоил-АПБ, полученного с помощью *FabA*, необходим фермент β -кетоацил-АПБ-синтаза I (*FabV*), активность которого определяет содержание ненасыщенных ЖК в клетке. На этом этапе доля *цис*-ненасыщенных ЖК определяется конкуренцией между использованием *цис*-3-деценоил-АПБ ферментом *FabV* и использованием *транс*-2-деценоил-АПБ ферментом *FabI* [23]. Эти два белка, *FabV* и *FabI*, участвующие в биосинтезе ненасыщенных ЖК по анаэробному пути, направляют синтез на формирование двух основных ненасыщенных ЖК – $16:1\Delta^9$ и *цис*-вакценовой ($18:1\Delta^{11}$).

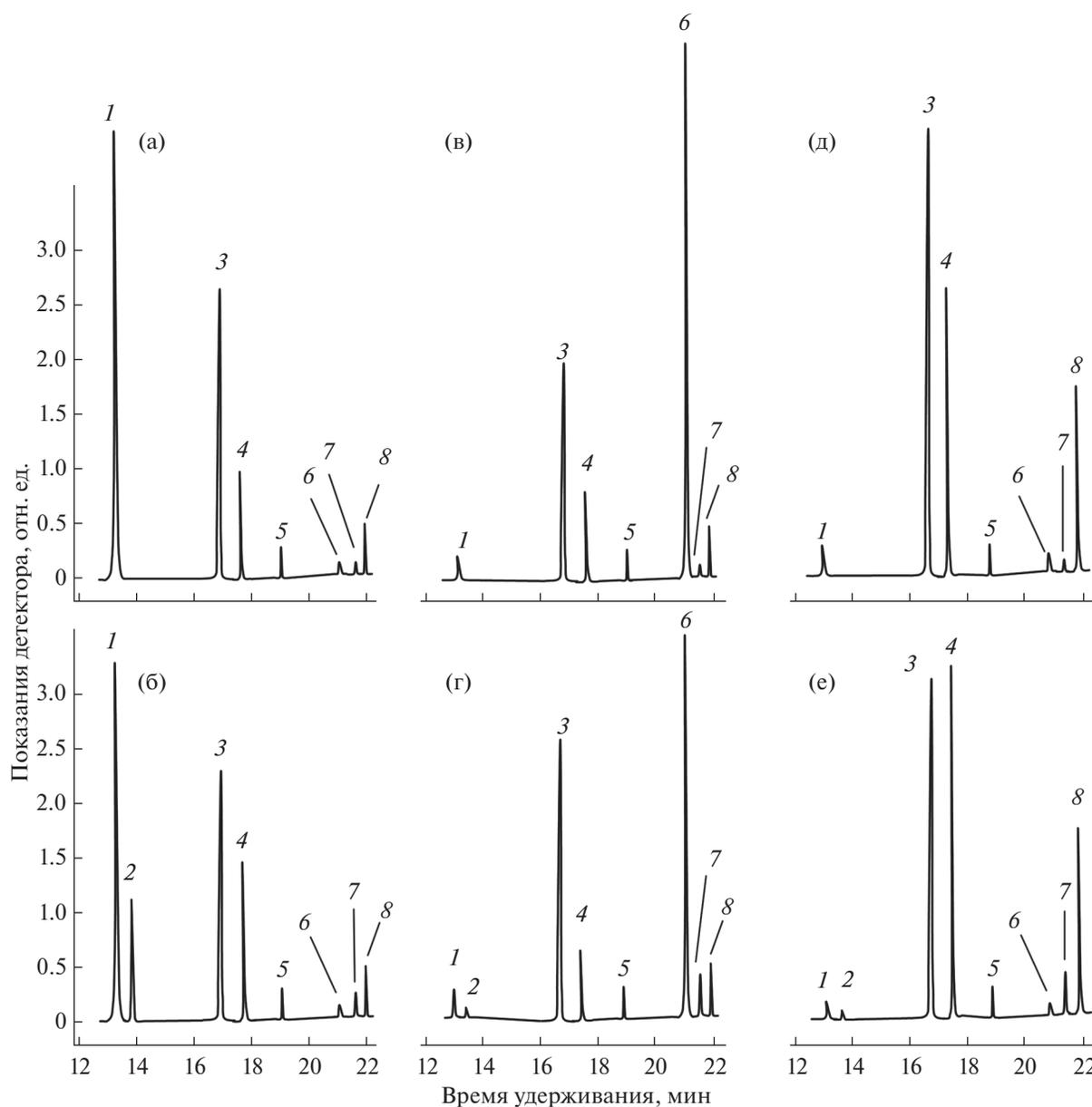


Рис. 2. ГЖХ метиловых эфиров ЖК клеток *E. coli*, экспрессирующих ген *desC1* Δ9-десатуразы *P. hollandica*. Клетки *E. coli*, трансформированные плазмидой pTc99A-*desC1*, выращивали на минимальной среде с добавлением натриевых солей миристиновой (а, б) или стеариновой (в, г) кислот, а также без добавления ЖК (д, е). Верхняя часть рисунка показывает состав ЖК клеток без добавления индуктора транскрипции ИПТГ (а, в, д), нижняя — с добавлением ИПТГ (б, г, е). 1 — 14:0; 2 — 14:1Δ⁹; 3 — 16:0; 4 — 16:1Δ⁹; 5 — внутренний стандарт (маргаиновая кислота, 17:0); 6 — 18:0; 7 — 18:1Δ⁹; 8 — 18:1Δ¹¹.

Клетки *E. coli*, трансформированные экспрессионными плазмидами, несущими ген *desC1* в присутствии индуктора транскрипции ИПТГ, способны образовывать двойные связи в положении Δ⁹ (таблица). В отсутствие экзогенных ЖК клетки десатурируют эндогенную C_{16:0} с образованием 16:1Δ⁹. Это заметно по уменьшению доли субстрата (C_{16:0}) с 49 до 38% и увеличению доли продукта (16:1Δ⁹) Δ9-десатуразы с 27 до 39% в присутствии индуктора.

При добавлении экзогенных насыщенных ЖК (C_{14:0} и C_{18:0}), которые обычно присутствуют в небольших количествах в *E. coli*, выращенной в минимальной среде, клетки накапливают их в липидах до 40–60%. После добавления индуктора транскрипции доля субстратов, относительная концентрация C_{14:0} и C_{18:0} в смеси ЖК уменьшается с 50 и 60% до 40 и 44%, соответственно. Одновременно, доля продуктов Δ9-десатуразы увеличивается: 14:1Δ⁹ — с нуля до 9%, а 18:1Δ⁹ — с 1 до 9%.

Таким образом, Δ^9 -десатураза цианобактерии *P. hollandica*, экспрессированная в клетках *E. coli* проявляет специфическую активность, как в отношении эндогенного субстрата — $C_{16:0}$, так и в отношении экзогенных субстратов — $C_{14:0}$ и $C_{18:0}$, с образованием тех мононенасыщенных ЖК, у которых олефиновые связи находятся в положении Δ^9 : $14:1\Delta^9$, $16:1\Delta^9$ и $18:1\Delta^9$. Это свидетельствует о том, что длина цепи ЖК у *P. hollandica* определяется активностью синтазы ЖК, а десатурация в положении Δ^9 происходит неспецифично по отношению к длине цепи ЖК и определяется наличием субстратов — соответствующих насыщенных ЖК.

Работа поддержана грантами Российского научного фонда № 14-14-00904 (Синетова М.А.) и №14-24-00020 (Лось Д.А.), а также грантом Министерства Образования и науки Республики Казахстан № 1582/GF4 (Заядан Б.К.).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Gombos Z., Murata N. Lipids and fatty acids of *Prochlorothrix hollandica* // Plant Cell Physiol. 1991. V. 32. P. 73–77.
2. Лапина С.С., Маслова И.П., Пчелкин В.П., Бедбе-нов В.С., Миронов К.С., Заядан Б.К., Усербаяева А.А., Синетова М.А., Лось Д.А. Оптимизация условий культивирования цианобактерии *Prochlorothrix hollandica* для получения миристолеиновой кислоты // Физиология растений. 2016. Т. 63. С. 593–600.
3. Маслова И.П., Мурадян Е.А., Лапина С.С., Клячко-Гурвич Г.Л., Лось Д.А. Жирнокислотный состав липидов и термофильность цианобактерий // Физиология растений. 2004. Т. 51. С. 396–403.
4. Лось Д.А. Десатуразы жирных кислот // М.: Научный Мир. 370 с.
5. Los D.A., Mironov K.S. Modes of fatty acid desaturation in cyanobacteria: an update // Life 2015. V. 5. P. 554–567.
6. Williams J.G.K. Construction of specific mutations in photosystem II photosynthetic reaction center by genetic engineering methods in *Synechocystis* 6803 // Methods Enzymol. 1988. V. 167. P. 766–778.
7. Green M.R., Sambrook J. Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 4th ed. Cold Spring Harbor (NY): Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2012. 2028 p.
8. Sanger F., Nicklen S., Coulson A.R. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1977. V. 74. P. 5463–5467.
9. Amann E., Ochs B., Abel K.J. Tightly regulated tac vectors useful for the expression of unfused and fused proteins in *Escherichia coli* // Gene. 1988. V. 69. P. 301–315.
10. Sakamoto T., Wada H., Nishida I., Ohmori M., Murata N. Δ^9 Acyl-lipid desaturases of cyanobacteria. Molecular cloning and substrate specificities in terms of fatty acids, *sn*-positions, and polar head groups // J. Biol. Chem. 1994. V. 269. P. 25576–25580.
11. Chintalapati S., Prakash J.S., Gupta P., Ohtani S., Suzuki I., Sakamoto T., Murata N., Shivaji S. A novel Δ^9 acyl-lipid desaturase, DesC2, from cyanobacteria acts on fatty acids esterified to the *sn*-2 position of glycerolipids // Biochem. J. 2006. V. 398. P. 207–214.
12. Kaneko T., Nakamura Y., Wolk C.P., Kuritz T., Sasamoto S., Watanabe A., Iriguchi M., Ishikawa A., Kawashima K., Kimura T., Kishida Y., Kohara M., Matsumoto M., Matsuno A., Muraki A., Nakazaki N., Shimpo S., Sugimoto M., Takazawa M., Yamada M., Yasuda M., Tabata S. Complete genomic sequence of the filamentous nitrogen-fixing cyanobacterium *Anabaena* sp. strain PCC 7120 // DNA Res. 2001. V. 8. P. 205–313.
13. Nakamura Y., Kaneko T., Sato S., et al. Complete genome structure of the thermophilic cyanobacterium *Thermosynechococcus elongatus* BP-1 // DNA Res. 2002. V. 9. P. 123–130.
14. Murata N., Wada H., Gombos Z. Modes of fatty-acid desaturation in cyanobacteria // Plant Cell Physiol. 1992. V. 33. P. 933–941.
15. Sugita C., Ogata K., Shikata M., Jikuya H., Takano J., Furumichi M., Kanehisa M., Omata T., Sugiura M., Sugita M. Complete nucleotide sequence of the freshwater unicellular cyanobacterium *Synechococcus elongatus* PCC 6301 chromosome: gene content and organization // Photosynth. Res. 2007. V. 93. P. 55–67.
16. Holtman C.K., Chen Y., Sandoval P., Gonzales A., Nalty M.S., Thomas T.L., Youderian P., Golden S.S. High-throughput functional analysis of the *Synechococcus elongatus* PCC 7942 genome // DNA Res. 2005. V. 12. P. 103–115.
17. Sato N., Wada H. Lipid biosynthesis and its regulation in cyanobacteria // Lipids in Photosynthesis: Essential and Regulatory Functions / Ed. Wada H., Murata N. Dordrecht, Netherlands: Springer. 2009. P. 157–177.
18. Los D.A., Mironov K.S., Allakhverdiev S.I. Regulatory role of membrane fluidity in gene expression and physiological functions // Photosynth. Res. 2013. V. 116. P. 489–509.
19. Shanklin J., Guy J.E., Mishra G., Lindqvist Y. Desaturases: emerging models for understanding functional diversification of diiron-containing enzymes // J. Biol. Chem. 2009. V. 284. P. 18559–18563.
20. Kiseleva L.L., Horvath I., Vigh L., Los D.A. Temperature-induced specific lipid desaturation in the thermophilic cyanobacterium *Synechococcus vulcanus* // FEMS Microbiol. Lett. 1999. V. 175. P. 179–183.
21. Kiseleva L.L., Serebriiskaya T.S., Horvath I., Vigh L., Lyukevich A.A., Los D.A. Expression of the gene for the Δ^9 acyl-lipid desaturase in the thermophilic cyanobacterium // J. Mol. Microbiol. Biotechnol. 2000. V. 2. P. 331–338.
22. Feng Y., Cronan J.E. *Escherichia coli* unsaturated fatty acid synthesis: complex transcription of the *fabA* gene and *in vivo* identification of the essential reaction catalyzed by FabB // J. Biol. Chem. 2009. V. 284. P. 29526–29535.
23. Zhang Y.M., Rock C.O. Membrane lipid homeostasis in bacteria // Nat. Rev. Microbiol. 2008. V. 6. P. 222–233.