

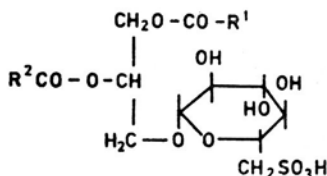
ZBIGNIEW KRUPA

## SULFOLIPID ROŚLINY

Przez szereg lat niewiele uwagi poświęcano lipidom roślinnym, szczególnie glikolipidom (galaktolipidy i sulfolipid), chociaż lipidy te zdecydowanie dominują w komórkach roślinnych. Aktualny stan wiedzy o biosyntezie i znaczeniu galaktolipidów przedstawiono we wcześniejszym artykule (Krupa Z., Krupa D., 1975). W niniejszym przeglądzie omówiony zostanie najmniej dotychczas poznany glikolipid roślinny — sulfolipid.

### 1. Budowa chemiczna i występowanie sulfolipidu

Sulfolipid, odkryty przez Bena i wsp. w 1959 roku, występuje zarówno u glonów jak i w roślinach wyższych. Daniel i wsp. (1961) wykazali, że ma on strukturę 1,2-dwuacylo-[6-sulfo- $\alpha$ -D-chinowopiranozylo-(1  $\rightarrow$  3)]-*sn*-glicerolu (ryc. 1).



Ryc. 1. Sulfolipid (wg Hitchcock 1975)

Stwierdzono też, że lipid ten zawiera duże ilości kwasu palmitynowego oraz linolowego i linolenowego (Kates 1970, Tulloch i wsp. 1974).

W tkankach fotosyntetyzujących sulfolipid znajduje się bez wątpienia w chloroplastach (Davies i wsp. 1965, Ongun i wsp. 1968, Thomas i Stobart 1970). W obrębie chloroplastów występuje on przede wszystkim w lamellach. Analiza osłonki chloroplastowej wykonana przez Poincelota (1973) wykazała jedynie ślady sulfolipidu, natomiast badania Douce i wsp. (1973) wskazują, że we frakcji osłonki chloroplastowej jest niewiele mniej sulfolipidu niż w lamellach. Ogólna

ilość chloroplastowego sulfolipidu waha się w granicach 4—5% wszystkich lipidów tych organelli (Mudd i Garcia 1975). Sulfolipid występuje też w tkankach niefotosyntetyzujących, na przykład w bulwach ziemniaka i owocach, lecz stanowi tam zaledwie około 1% wszystkich lipidów (Galliard 1968a, b).

Już kilkanaście lat temu donoszono o istnieniu u roślin jeszcze innych glikolipidów, podobnie jak sulfolipid zawierających siarkę. W 1963 roku Collier i Kennedy (cyt. wg Opute 1974 a) znaleźli trzy komponenty sulfolipidowe w ekstraktach lipidowych z roślin wyższych oraz niektórych zielenic, sinic i brunatnic. Również Kates i Volcani (1966) oraz Opute (1974a, b) donoszą o istnieniu niezidentyfikowanych tioglikolipidów u okrzemek. Być może spełniają one rolę prekursorów właściwego sulfolipidu.

## 2. Biosynteza sulfolipidu

### 2.1. Badania fizjologiczne

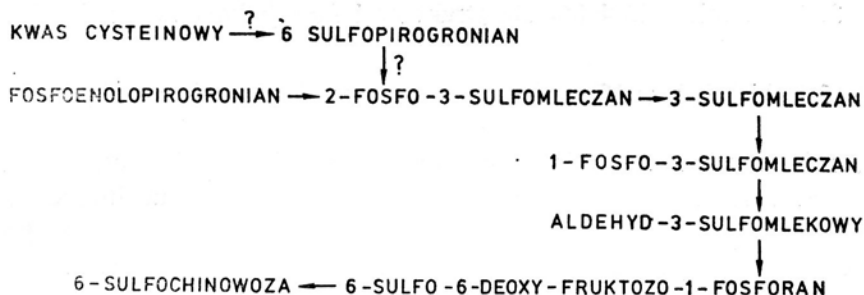
Tevini (1973) badał zmiany glikolipidów po naświetleniu etiolowanych siewek jęczmienia i stwierdził, że ilość sulfolipidu spada po 48 godzinach naświetlania. Światło nie jest więc konieczne do syntezy sulfolipidu. Podobnie Leech i wsp. (1973) analizując skład lipidowy liści kukurydzy w różnych stadiach rozwojowych stwierdzili, że najmłodsze odcinki liści nie mające jeszcze chloroplastów, lecz tylko proplastydy, zawierały prawie połowę tej ilości sulfolipidu, jaka była w odcinkach w pełni rozwiniętych. Podobne wyniki uzyskali również Roughan i Boardmann (1972) oraz Sellden i Selstam (1976) dla siewek grochu, fasoli i jęczmienia. Niewielkie ilości sulfolipidu wykrywano również w rosnących w ciemności kulturach tkankowych *Kalanchoë crenata* (Thomas i Stobart 1970).

### 2.2. Badania biochemiczne

#### 2.2.1. Synteza sulfochinowozy i dwuglicerydu sulfochinowozy

Davies i wsp. (1966) inkubowali komórki *Euglena gracilis* z różnymi prekursorami znakowanymi siarką  $^{35}\text{S}$ . Najlepszym prekursorem do syntezy sulfolipidu był kwas cysteinowy. Znakowany siarczan ( $^{35}\text{SO}_4^{2-}$ ) był zaledwie w 10% tak efektywny jak kwas cysteinowy. Dowiedziono również, że włączanie siarczanu do sulfolipidu następowało za pośrednictwem adenozyno-3'-fosfo-5'-fosfosiarczanu. Davies i wsp. (1966) połączyli te wyniki w hipotetyczny szlak syntezy sulfochinowozy (ryc. 2).

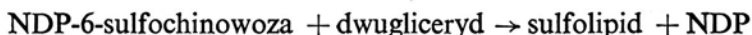
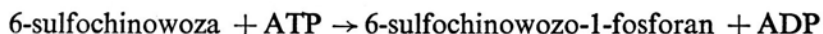
Schemat ten podobny jest do przedstawionego przez Benaona (1963) schematu przemiany sulfopirogronianu do sulfochinowozy. Wyniki uzyskane przez Harwooda (1975) wykazują podobieństwo syntezy sulfochinowozy w komórkach *Euglena gracilis* i u roślin wyższych. Dowiedziono udziału 3'-fosfoadenozyno-5'-



Ryc. 2. Schemat syntezy sulfochinowozy (wg Davies i wsp. 1966)

fosfosiarczanu, kwasu cysteinowego oraz siarczanu i kwasu sulfomlekowego w biosyntezie sulfochinowozy u roślin wyższych.

Przez analogię z syntezą galaktozyłodwuglicerydów można by wnioskować, że dwugliceryd sulfochinowozy powstaje z 1, 2-dwu-O-acylo-3-O-*sn*-glicerolu i nukleozydu dwufosfosulfochinowozy. Shi buya i wsp. (1963) wykryli ten związek w ekstraktach z komórek *Chlorella*. Jeśli taki związek jest prekursorem sulfolipidu, to wynikają stąd dalsze komplikacje. W schemacie 1 tworzenie 6-sulfochinowozy jest analogiczne do tworzenia glukozo-6-fosforanu, lecz niemożliwa jest konwersja do jego analogu — glukozo-1-fosforanu. Niezbędnym jest więc enzym fosforylujący 6-sulfochinowozę i enzym katalizujący reakcję 6-sulfochinowozo-1-fosforanu z trójfosfonukleotydem (NTP):



Nie wykazano dotychczas doświadczalnie żadnej z tych reakcji. Najpowszechniej obecnie stosowanym prekursorem w syntezie sulfolipidu jest kwas cysteinowy. Dalsze rozważania nad szlakiem biosyntezy powinny opierać się na badaniach wczesnych produktów metabolizmu kwasu cysteinowego i utylizacji potencjalnych prekursorów takich, jak sama sulfochinowoz.

### 2.2.2. Przyłączanie grup acylowych

Wolfsberger i Pieringer (1974) badali acylację sulfochinowozylomonoglicerydu stosując jako donator acylo-CoA. Stwierdzili, że najlepszymi substratami były palmitylo-CoA i linoleilo-CoA. Z badań Tullocha i wsp. (1974) nad rozmieszczeniem kwasów tłuszczowych w sulfochinowozylodwuglicerydzie wynika, że pozycja 1 acylowana jest przede wszystkim kwasem tłuszczowym nienasyconym, natomiast w pozycji 2 przyłącza się kwas nasycony (kwas palmitynowy).

### 3. Znaczenie sulfolipidu dla struktury i funkcji komórki roślinnej

#### 3.1. Udział sulfolipidu w procesach fizjologicznych

Jedną z istotnych różnic między zwierzętami a roślinami jest utrata zdolności do przemieszczania się w przestrzeni u tych ostatnich. Utrata ruchliwości oznacza, że roślina musi adaptować się do warunków otoczenia. Adaptacja taka zachodzi na kilku poziomach organizacyjnych z komórką i organellami subkomórkowymi włącznie. Oznacza to zwykle, że błony biologiczne ulegają silnym zmianom w odpowiedzi na stressowe warunki zewnętrzne. Zmiany w składzie lipidowym związane ze zmianami warunków zewnętrznych opisywane są zwykle jako część mechanizmów adaptacyjnych rośliny. Szczególnie użytecznym układem doświadczalnym jest wprowadzenie jakiejś istotnej zmiany w środowisku i śledzenie wpływu tej zmiany na bezwzględne ilości rozmaitych lipidów. Badania takie mogą dostarczyć danych o roli poszczególnych lipidów w strukturze błon biologicznych i w transporcie przez te błony.

##### 3.1.1. Transport jonów sodowych i potasowych

Hansson i Kylin (1969) oraz Kylin i wsp. (1970, 1972) wyizolowali z korzeni buraka i liści *Avicennia* specyficzne ATP-azy zależne od jonów  $\text{Na}^+$  i  $\text{K}^+$ . Usunięcie lipidów z preparatów enzymatycznych przez działanie acetonem obniżało aktywność tych ATP-az do minimum. Aktywność enzymów przywracał jedynie dodatek sulfolipidu i nienasyconych analogów fosfatydylocholino (Kuiper 1972). Obydwie rośliny są halofitami, a ATP-azy zależne od jonów  $\text{Na}^+$  i  $\text{K}^+$  wyizolowane z nich skorelowane są z transportem tych jonów.

##### 3.1.2. Transport jonów magnezowych i wapniowych

Kylin i Kähr (1973) badali wpływ jonów  $\text{Mg}^{2+}$  i  $\text{Ca}^{2+}$  na ATP-azy korzeni owsa i pszenicy. ATP-aza korzeni owsa stymulowana jest przez jony  $\text{Mg}^{2+}$ , natomiast ATP-aza korzeni pszenicy przez jony  $\text{Ca}^{2+}$ . Kuiper i wsp. (1974) określili skład lipidowy preparatów tychże enzymów. Zwiększenie ilości jonów wapniowych w pożywce podnosiło aktywność ATP-azy zależnej od jonów  $\text{Ca}^{2+}$  i jednocześnie wzrastała ilość sulfolipidu i fosfatydylocholino związanych z tym enzymem. W przypadku ATP-azy zależnej od jonów magnezowych korelacja między aktywnością enzymu a ilością sulfolipidu była słabsza.

##### 3.1.3. Temperatura otoczenia a skład lipidowy komórki

W siewkach lucerny rosnących w niskich temperaturach obserwowano akumulację wielonienasyconych lipidów, a jednocześnie komórki korzenia wykazywały większą przepuszczalność dla wody (Gerloff i wsp. 1966). Podobne zwiększenie przepuszczalności dla wody zauważono w sztucznych błonach składających się z lipidów nienasyconych. Zmiany w stopniu nasycenia lipidów pociągają za sobą oczywiście zmiany

w składzie lipidowym korzeni lucerny. Bardziej nasycone lipidy (sulfolipid, fosfatydyloglicerol, fosfatydyloinozytol) zastępowane są przez lipidy zawierające przede wszystkim kwas linolowy i linolenowy (galaktolipidy, fosfatydylocholina, fosfatydyloetanolamina). Podobne zjawisko występowało w siewkach pszenicy rosnących w temperaturze  $+2^{\circ}\text{C}$  (de la Roche i wsp. 1973).

### 3.2. Udział sulfolipidu w strukturze i funkcji błon tylakoidowych

Dla zachowania funkcjonalnej struktury błon oprócz wzajemnych oddziaływań lipid-lipid i białko-białko muszą też istnieć oddziaływania pomiędzy cząsteczkami lipidów i białek. Niewiele dotychczas wiadomo o naturze tych oddziaływań, stąd też i niewiele można powiedzieć o roli poszczególnych lipidów w błonach biologicznych.

W roku 1970 Radunz i Berzborn znani ze swych badań immunologicznych nad lokalizacją poszczególnych lipidów chloroplastowych w błonach tylakoidowych, określili testami aglutynacyjnymi miejsce sulfolipidu w tych błonach. Z wyników swych doświadczeń wywnioskowali, że sulfolipid znajduje się wewnątrz tylakoidów, chociaż niektóre reszty sulfochinowozytowe mogą przenikać na zewnątrz poprzez bliżej nieokreślone przestrzenie w zewnętrznej warstwie białkowej. Podobną hipotezę wysunęli też Heise i Jacobi (1973) na podstawie porównania składu lipidowego ekstraktów uzyskanych z całych chloroplastów oraz z fragmentów tylakoidów, otrzymanych po działaniu ultradźwięków.

Zagadnienie funkcji tego lipidu w chloroplastach pozostało nadal otwarte. W 1967 roku Weier i Benson sugerowali, że sulfolipid pomaga w orientacji przestrzennej cząsteczek chlorofilu wewnątrz błon chloroplastowych. Barr i wsp. (1972) przypisują sulfolipidowi rolę czynnika kontrolującego tworzenie się gran. Przeczyć temu wydają się wyniki badań Tuqueta i wsp. (1977), którzy stwierdzili większe ilości sulfolipidu w tylakoidach stromy i chloroplastach agranalnych niż w granach.

Wielu badaczy rozpatruje udział sulfolipidu w stabilizacji czynnika sprzęgającego  $\text{CF}_1$  uczestniczącego bezpośrednio w fotofosforylacji (Livne i Racker 1969, Kannangara i wsp. 1970, Schopf i wsp. 1974). Zdaniem Livne i Racker'a (1969) sulfolipid mógłby za pośrednictwem jonów  $\text{Ca}^{2+}$  i  $\text{Mg}^{2+}$  łączyć się z grupami karboksylowymi czynnika sprzęgającego i wiązać go z powierzchnią błony tylakoidowej. Pewnego udziału sulfolipidu w aktywności I układu fotosyntezy i związanej z nim fotofosforylacji cyklicznej dowodzą badania Krupy i Baszyńskiego (1977).

Interesujące wyniki przedstawili w swej pracy Menke i wsp. (1976). Stwierdzili oni, że przeciwciała przeciwko sulfolipidowi inhibują transport elektronów w I układzie fotosyntezy, nie naruszając jednak fotofosforylacji cyklicznej i niecyklicznej. Wydaje się jednak, że inhibicja transportu elektronów w I układzie fotosyntezy nie jest bezpośrednim efektem oddziaływania przeciwciał na cząsteczki sulfolipidu. Prawdopodobnie przyłączenie przeciwciała do sulfolipidu powoduje zmiany konformacyjne cząsteczki białka, do której przyłączony jest ten lipid. Jeśli ta cząsteczka białkowa uczestniczy w fotosyntetycznym transporcie elektronów, to jej zmiana

konformacyjna może powodować zmiany w szybkości transportu elektronów. Stwierdzono również, że w wąskim zakresie pH pomiędzy 6.9 a 7.4 sulfolipid powoduje zmiany konformacyjne polipeptydu chloroplastowego o masie cząsteczkowej 24 000 daltonów. Łącząc ze sobą obydwie te fakty autorzy wysuwają przypuszczenie, że połączenie sulfolipid — białko stanowi swoisty mechanizm regulacyjny, którego działanie uzależnione jest od niewielkich lokalnych zmian pH w obrębie błon tylakoidowych.

Bardzo ciekawą hipotezę dotyczącą lokalizacji sulfolipidu w błonie tylakoidowej zaproponował Anderson (1975). Oparł się na badaniach Bretschera (1973) oraz Zwaala (1973), którzy dowiedli asymetrycznej dystrybucji lipidów pomiędzy zewnętrzną i wewnętrzną warstwę podwójnej błony erytrocytów. Z ogólnych właściwości lipidów chloroplastowych Anderson wnioskuje o ich miejscu w błonie tylakoidowej. Obojętne galaktolipidy zawierające dużą ilość nienasyconych kwasów tłuszczowych mogłyby tworzyć płynną matrix tylakoidów, ponieważ wiadomo, że im większy stopień nienasyconienia grup acylowych, tym większa jest płynność błony. Niektóre fosfolipidy oraz sulfolipid posiadające bardziej nasycone grupy acylowe mogłyby być lipidami granicznymi i wiązać się przede wszystkim z kompleksem białkowo-chlorofilowym 2. Ponadto lipidy te dzięki swemu ujemnemu ładunkowi mogły wraz z kompleksem chlorofilowo-białkowym 2 przy udziale jonów  $Mg^{2+}$  uczestniczyć w spajaniu dwóch warstw błony tylakoidowej (zewnętrznej i wewnętrznej).

Niniejszy krótki przegląd badań nad sulfolipidem roślinnym dowodzi, jak niewiele o nim wiadomo i ile jeszcze zagadnień związanych z tym lipidem oczekuje na rozwiązanie.

*Zakład Fizjologii Roślin, Instytutu Biologii Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej, Lublin.*

## LITERATURA

- Anderson J. M., 1975. *Biochim. Biophys. Acta* 416, 191—235.
- Barr R., Hall J. D., Baszyński T., Brand J., Crane F. L., Krogmann D. W., 1972. *Proc. Indiana Acad. Sci.* 81, 114—120.
- Benson A. A., Daniel H., Wiser R., 1959. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 45, 1582—1587.
- Benson A. A., 1963. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 49, 571—574.
- Bretscher M. S., 1973. *Science* 181, 622—629.
- Daniel H., Miyamo M., Mumma R. O., Yagi T., Lepage M., Shibuya I., Benson A. A., 1961. *J. Am. Chem. Soc.* 83, 1765—1766.
- Davies W. H., Mercer E. I., Goodwin T. W., 1965. *Phytochemistry* 4, 741—749.
- Davies W. H., Mercer E. I., Goodwin T. W., 1966. *Biochem. J.* 98, 369—373.
- Douce R., Holz R. B., Benson A. A., 1973. *J. Biol. Chem.* 248, 7215—7222.
- Galliard T., 1968 a. *Phytochemistry* 7, 1907—1914.
- Galliard T., 1968 b. *Phytochemistry* 7, 1915—1922.
- Gerloff E. D., Richardson T., Stahmann M. A., 1966. *Plant Physiol.* 41, 1280—1284.
- Hansson G., Kylin A., 1969. *Z. Pflanzenphysiol.* 60, 270—275.
- Harwood J. L., 1975. *Biochim. Biophys. Acta* 398, 224—230.
- Heise K. P., Jacobi G., *Z. Naturforsch.* 28 c, 120—127.

- Hitchcock C., 1975 [w:] Recent Advances in the Chemistry and Biochemistry of Plant Lipids, red. T. Galliard, E. I. Mercer, Academic Press, London-New York-San Francisco, 1—19.
- Kannangara G. C., wan Wyk D., Menke W., 1970. Z. Naturforsch. 25 b, 613—618.
- Kates M., Volcani B. E., 1966. Biochim. Biophys. Acta 116, 264—278.
- Kates M., 1970. Adv. Lipid. Res. 8, 225—265.
- Krupa Z., Krupa D., 1975. Wiad. Bot. 19, 43—58.
- Krupa Z., Baszyński T., 1977. Bull. Acad. Pol. Sci. 25, 409—413.
- Kuiper P. J. C., 1972. Physiol. Plant. 26, 200—205.
- Kuiper P. J. C., Kähr M., Stuiver C. E. E., Kylin A., 1974. Physiol. Plant. 32, 33—36.
- Kylin A., Gee R., 1970. Plant Physiol. 45, 169—172.
- Kylin A., Kuiper P. J. C., Hansson G., 1972. Physiol. Plant. 26, 271—278.
- Kylin A., Kähr M., 1973. Physiol. Plant. 28, 452—457.
- Leech R. M., Rumsby M. G., Thomson W. W., 1973. Plant Physiol. 52, 240—245.
- Livne A., Racker E., 1969. J. Biol. Chem. 244, 1332—1338.
- Menke W., Radunz A., Schmid G. H., Koenig F., Hirtz R. D., 1976. Z. Naturforsch. 31 c, 436—444.
- Mudd J. B., Garcia R. E., 1975, [w:] Recent Advances in the Chemistry and Biochemistry of Plant Lipids, red. T. Galliard, E. I. Mercer, Academic Press, London-New York-San Francisco, 161—201.
- Ongun A., Mudd J., 1968. J. Biol. Chem. 243, 1558—1566.
- Opute F. I., 1974 a. J. Exp. Bot. 25, 798—809.
- Opute F. I., 1974 b. J. Exp. Bot. 25, 823—835.
- Poincelot R. P., 1973. Arch. Biochem. Biophys. 159, 134—142.
- Radunz A., Berzborn R., 1970. Z. Naturforsch. 25 b. 412—419.
- Roche de la, J. A., Andrews C. J., Kates M., 1973. Plant Physiol. 51, 468—473.
- Roughan P. G., Boardmann N. K., 1972. Plant Physiol. 50, 31—34.
- Sellden G., Selstam E., 1976. Physiol. Plant. 37, 35—41.
- Schopf R., Heise K. P., Schmidt B., Jacobi G., 1974, [w:] Proceedings of the IIIrd International Congress on Photosynthesis Research, red. M. Avron, Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam, t. 2, 911—919.
- Tevini M., 1971. Z. Pflanzenphysiol. 65, 266—272.
- Thomas D. R., Stobart A. K., 1970. J. Exp. Bot. 21, 274—285.
- Tulloch A. P., Heinz F., Fischer W., 1973. Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 354, 879—889.
- Tuquet C., Guillot-Salomon T., de Lubac M., Signol M., 1977. Plant Science Letters 8, 59—64.
- Weier T. E., Benson A. A., 1967. Am. J. Bot. 54, 389—402.
- Wolfsberger M. G., Pieringer R. A., 1974. J. Lipid Res. 15, 1—10.
- Zwaal R. F., Roelofsen B., Colley C. M., 1973. 159—182.