

УДК 633.15:577.151:577.212

## ГЕНИ ФЕРМЕНТІВ КАРОТИНОГЕНЕЗУ В ЕНДОСПЕРМІ КУКУРУДЗИ

Б.С. ЖУКОВ, Н.Е. ВОЛКОВА, Ю.М. СИВОЛАП

*Селекційно-генетичний інститут — Національний центр насіннізнавства та сортовивчення Національної академії аграрних наук України  
65036 Одеса, Овідіопольська дорога, 3  
e-mail: natavolk@rambler.ru*

В огляді сучасного стану досліджень щодо генетичного контролю каротиногенезу в ендоспермі кукурудзи наведено інформацію стосовно проблеми «прихованого голоду» та її подолання шляхом біофортificaції сільськогосподарських культур, розглянуто ключові ферменти біосинтезу каротиноїдів, їх функції, наведено дані щодо генів ферментів каротиногенезу, їх структури та поліморфізму, приклади підвищення рівня каротиноїдів в ендоспермі кукурудзи генно-інженерними методами.

*Ключові слова:* *Zea mays L.*, каротиногенез, ферменти, гени, біофортificaція.

**«Прихований голод».** Однією з глобальних проблем людства є незбалансованість харчування, нестача вітамінів та мінеральних речовин (мікронутрієнтів). Проблема так званого прихованого голоду актуальна для населення як розвинених країн, так і країн, що розвиваються. Якісним і збалансованим харчуванням не забезпечене й населення України. Згідно з даними динамічних спостережень, понад 50 % населення нашої держави харчується неякісно. Україна загалом знаходиться в доволі тяжкому економічному й екологічному стані. Високі ціни на продукти тваринного походження, фрукти, овочі змушують багатьох людей відмовлятися від їх вживання й переходити на дешеві, менш поживні продукти, зокрема зернові. Зернові продукти в більшості країн світу є основною часткою харчового раціону, вони становлять 60—80 % добової калорійності споживаної їжі, але не вирішують проблему «прихованого голоду» [5].

Основними дефіцитними мікронутрієнтами є залізо, цинк, йод, селен, вітаміни груп А, В, Е. Загальноприйняті заходи боротьби з нестачею життєво важливих елементів (виробництво харчових добавок, біопрепаратів, штучне збагачення продуктів харчування мікроелементами) проблему не вирішують. Очевидно, що кардинально змінити ситуацію може тільки підвищення природного вмісту необхідних мікроелементів у найважливіших продовольчих культурах, що входять у щоденний раціон людини. До того ж їх засвоюваність організмом людини ефективніша порівняно зі штучним збагаченням продуктів харчування.

Нещодавно сформульовано біологічний (селекційно-генетичний) підхід природного підвищення вмісту мікронутрієнтів у рослинах під назвою «біофортificaція». Біофортificaція — поліпшення поживних якостей рослин за допомогою прийомів традиційної селекції та молекуляр-

но-генетичних підходів. Кінцевою метою цієї стратегії є створення рослин із підвищеним вмістом певних елементів і сполук, у тому числі й невластивих їм, або зі зменшеним вмістом чи відсутністю небажаних сполук [4, 25, 52].

Біофортифікація — новий, перспективний, багатообіцяючий підхід до вирішення глобальних проблем, пов'язаних із харчуванням. У 2010 р. у Вашингтоні (США) було проведено Першу глобальну конференцію з біофортифікації, на якій визначено, що якісне харчування можна забезпечити селекцією високоврожайних і високопоживних сільськогосподарських культур, біодоступністю, ефективністю вітамінів і мінералів з високопоживних ліній (сортів) рослин. У Національній академії наук України розроблено і схвалено концепцію Державної науково-технічної програми «Біофортифікація та функціональні продукти на основі рослинної сировини на 2012—2016 роки», до виконання якої залучені провідні наукові колективи НАМН України, НААН України, науковці вищих навчальних закладів [11].

Під егідою ООН, Світового банку, Консультативної групи з міжнародних сільськогосподарських досліджень розпочато реалізацію міжнародної програми «Harvest Plus». Ця програма — альянс 40 наукових організацій, що займаються генетикою і селекцією сільськогосподарських культур (в основному зернових) для підвищення в них вмісту мікроелементів. Першим етапом програми є вивчення генетичної варіабельності пшениці, рису, кукурудзи за вмістом заліза, цинку,  $\beta$ -каротину [52].

**Каротиноїди.** Окремою проблемою на фоні загального стану «прихованого голоду» стає дефіцит каротиноїдів — провітамінів А. Каротиноїди — велика група пігментів жовтого, оранжевого і червоного кольорів, які поглинають короткі хвилі видимої частини спектра (400—550 нм) і виконують низку дуже важливих функцій [19]. У вищих рослин як допоміжні фотосинтетичні пігменти вони передають кванти світла на хлорофіл; відіграють велику роль у поглинанні енергії світла у фотосистемі ціанобактерій; функціонують як фотопротектори, що запобігають фотоокиснювальному пошкодженню. За інтенсивного освітлення хлорофіл передає електрони на молекули кисню, в результаті чого утворюється синглетний кисень. Каротиноїди здатні розсіювати надлишок поглинутої хлорофілом світлової енергії у вигляді теплоти, зменшуючи тим самим інтенсивність утворення активних форм кисню [27].

Для організму людини каротиноїди незамінні, оскільки їх біосинтез можливий лише в рослинному організмі [2]. Вони впливають на роботу ендокринної системи, мають значну імуностимулювальну активність, необхідні для нормального розвитку ембріона, захищають організм від несприятливих чинників зовнішнього середовища, таких як кисневі радикали, ультрафіолетове випромінювання. Однією з головних функцій каротиноїдів є їх провітамінна активність [9]. Такі провітамінні каротиноїди, як ретинол,  $\beta$ -криптоксантин,  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -каротини, життєво необхідні для нормального функціонування зорового апарату, нервової та статевих систем, стану шкіри [28, 32]. Непровітамінні каротиноїди, такі як зеаксантин, астаксантин, лютеїн та інші, мають дуже широкий спектр корисної дії, наприклад, профілактика дегенерації жовтої плями, зниження ризику виникнення діабету [6, 17, 24, 31]. Дефіцит каротиноїдів у організмі людини може призвести до дуже тяжких наслідків, серед яких: вторинні імунodefіцити, порушення стану шкіри, зору та метаболізму загалом [58].

Невпинно зростаючий обсяг фундаментальних і прикладних знань забезпечує глибше розуміння складових життєво важливих процесів. Це дає змогу застосовувати біологічний підхід до вирішення проблем дефіциту життєво важливих елементів і сполук у харчуванні, а саме, до стратегії біофортифікації, що базується на досягненнях молекулярної генетики, біоінформатики, біотехнології, геноміки.

Метою цього огляду є з'ясування сучасного стану досліджень генетичного контролю процесу біосинтезу каротиноїдів у зерні на прикладі кукурудзи.

Кукурудзу (*Zea mays* L.) обрано для досліджень із кількох причин, а саме, через її різноманітний генофонд, «піддатливість» для генетичного аналізу. Зерно кукурудзи містить велику кількість поживних речовин, тому вона є однією з лідерів за споживанням серед злакових культур, надійним джерелом олії, борошна, круп, крохмалю, етилового спирту, декстрину, глюкози, вітаміну Е, аскорбінової й глутамінової кислот, інших речовин [3, 7, 10]. Кукурудза характеризується значним природним різноманіттям складу каротиноїдів, у тому числі попередників вітаміну А —  $\alpha$ -,  $\beta$ -каротину,  $\beta$ -криптоксантину, але в низькій концентрації (у середньому відповідно 0—1,30; 0,13—2,70; 0,13—1,90 нмоль/г) [1].

**Біосинтез каротиноїдів.** У клітинах рослин каротиноїди синтезуються в пластидах з ізопреноїдних попередників [53]. Цикл їх біосинтезу на кожному етапі забезпечується окремими субстратспецифічними ферментами, які кодуються відповідними ядерними генами або групами генів [22]. Основні етапи каротиногенезу такі: 1) геранілгеранілпірофосфат, який є конкуруючим субстратом для кількох шляхів біосинтезу, включаючи каротиноїди, може бути конвертованим у фітоїн фітоїнсинтазою; 2) із фітоїну генерується лікопін — перший забарвлений компонент (через наявність хромофорів) — шляхом десатурації за допомогою фітоїндесатурази та  $\zeta$ -каротиндесатурази; 3) лікопін циклізується в  $\alpha$ - і  $\beta$ -каротини лікопін- $\epsilon$ -циклазою та (або) лікопін- $\beta$ -циклазою; 4)  $\beta$ -каротингідроксилаза каталізує перетворення  $\alpha$ - й  $\beta$ -каротинів відповідно на лютеїн і зеаксантин [34, 45]. З погляду біофортифікації важливим є накопичення саме  $\beta$ -каротину як попередника вітаміну А в організмі людини.

Ключові етапи каротиногенезу переважно регулюються на рівні транскрипції генів, що зумовлює необхідність зосередження уваги саме на дослідженні генів, які кодують основні ферменти біосинтезу каротиноїдів. У рослин, у тому числі й кукурудзи, визначено і клоновано гени, які кодують ключові ферменти біосинтезу каротиноїдів. Проте загальною особливістю кукурудзи є дуплікація генів для біосинтезу каротиноїдів включно; картовано паралоги генів каротиноїдів, роль більшості дуплікацій ще не визначено, що ускладнює розуміння регуляції в різних тканинах [23].

Серед генів ферментів каротиногенезу в ендоспермі кукурудзи більшість дослідників виділяє вісім основних, що мають значення для утворення й накопичення саме  $\beta$ -каротину: *y1*, *vp5*, *y9*, *zds1*, *lyce1*, *ps1*, *csu704*, *hyd3* (таблиця).

**Гени ферментів каротиногенезу в ендоспермі кукурудзи.** Першим важливим кроком синтезу каротиноїдів є перетворення геранілгеранілпірофосфату на фітоїн під дією ферменту фітоїнсинтази. Геном кукурудзи містить три гени-паралоги, що кодують фітоїнсинтази PSY1, PSY2, PSY3. Аналізом транскриптів мРНК доведено, що саме продукт гена *y1* — PSY1 — пов'язаний з накопиченням каротиноїдів у ендоспермі,

Гени ферментів біосинтезу  $\beta$ -каротину кукурудзи [54, 57]

Ген/локус		Фермент		
Назва	Локалізація	Назва		Позначення
		Українська	Англійська	
<i>y1</i>	6L	Фітоїнсинтаза	Phytoene synthase	PSY
<i>vp5</i>	1S	Фітоїндесатураза	Phytoene desaturase	PDS
<i>y9</i>	10S	$\zeta$ -Каротинізомераза	$\zeta$ -Carotene isomerase	Z-ISO
<i>csu704</i>	4L	Каротиноїдізомераза	Carotenoid isomerase	CRTISO1
<i>zds1</i>	7S	$\zeta$ -Каротиндесатураза	$\zeta$ -Carotene desaturase	ZDS
<i>lyce1</i>	8L	Лікопін- $\epsilon$ -циклаза	Lycopene $\epsilon$ -cyclase	LCYE
<i>ps1</i>	5S	Лікопін- $\beta$ -циклаза	Lycopene $\beta$ -cyclase 1	LCYB
<i>hyd3</i>	10L	$\beta$ -Каротингідроксилаза	$\beta$ -Carotene hydroxylase	HYD

Примітка: L — довге плече хромосоми, S — коротке.

PSY2 — з аналогічним процесом у листках рослини [46], PSY3 у клітинних кореневої системи — з відповіддю на температурний шок [33].

Ще в 1940 р. знайдено локус *yellow* (*y1*), який виявляв ефект дози гена на вміст каротиноїдів у зерні [44]. Три копії домінантного *Y1* алеля в триплоїдному ендоспермі зумовлювали найжовтіший колір насіння (ендосперм) на відміну від гомозиготних *y1* зерен. Ендосперм *y1* білого кольору є спадковою ознакою, спільною з теосинте — диким предком кукурудзи. Методами клонування й наступного секвенування *Y1* ген ідентифіковано як той, що кодує PSY1 [18], локалізований у довгому плечі хромосоми 6. До його складу входять 6 екзонів і 5 інтронів.

Продукт гена *y1* — фітоїнсинтаза (PSY) — каталізує двоступінчасту реакцію, в ході якої конденсуються дві молекули геранілгеранілпірофосфату для утворення фітоїну через префітоїнпірофосфат.

Алелі гена *y1* пов'язані з концентрацією каротину в ендоспермі насіння, що фенотипно виражається у кольорі, який стає менш насиченим або зовсім білим. Окремі алелі впливають на синтез хлорофілу, наприклад *psy1* — *pb* (*piebald*). Крім цього, продукт гена *y1* необхідний для каротиногенезу в листках за умов температурного стресу та в темряві [23].

Різні «дикі типи» алелів гена *y1* різняться інсерціями мобільних генетичних елементів у промотори, поліаденіновими додатковими регіонами, довгими тандемними повторами нуклеотидів CCA без помітного впливу на функцію гена. Домінантний «дикий тип» алеля *Y1* проявляється у високому рівні експресії в ембріоні та ендоспермі. Вставки транспозонного елемента *Mu3* на 5'-кінці відповідають за мінорні алелі, що зумовлюють зниження рівня каротиноїдів у ендоспермі зерна й паростків, які вирощують за підвищеної температури. Хоча розмір транскрипту такої мутації гена *y1* вказує на те, що *Mu3* вбудований у промотор згаданого алеля, тканини листків цієї мутантної лінії містять приблизно нормальну кількість мРНК. У достатній кількості мРНК рецесивного алеля *y1* міститься в ембріонах і паростках, що зумовлює нормальний рівень каротиноїдів у них, але відсутня в ендоспермі, тому каротиноїдів у ньому майже немає [18].

Фітоїн — продукт фітоїнсинтази, як уже зазначалось, рідко накопичується в рослинах. На подальших етапах біосинтезу каротиноїдів він повністю перетворюється на лікопін. Для цього процесу рослинний ор-

ганізм потребує чотирьох ферментів: двох десатураз — фітоїндесатурази (PDS),  $\zeta$ -каротиндесатурази (ZDS) та двох ізомераз —  $\zeta$ -каротинізомерази (Z-ISO), каротиноїдізомерази (CRTISO) [30, 35, 42].

Десатурація й подальша циклізація — важливі етапи біосинтезу каротиноїдів для встановлення геометричної ізомерії каротиноїдів, їхніх метаболітів, як ключові модулятори їх накопичення та функціональної характеристики, тобто кожен із цих етапів має важливі стереохімічні аспекти [27].

Десатурази PDS, ZDS мають подібні структури й послідовності. В результаті їх спільної дії утворюються чотири подвійні зв'язки в молекулі фітоїну: спочатку в C11, C12 і C11', C12' позиціях — PDS, потім у C7, C8 і C7', C8' позиціях — ZDS. Для забезпечення перебігу цих реакцій дегідрування потрібні пластохінон [38, 40] або пластидоксидаза [20] як інтермедіат, а також кисень як кінцевий акцептор електронів [12]. Крім цього, кожен субстрат має бути попередньо модифікований ферментом  $\zeta$ -каротинізомеразою, щоб набути специфічної конформації, структурно доступної для перетворення десатуразами на кожному етапі. Геометричною формою ізомерів каротиноїдів зумовлена велика різноманітність структур, що визначає їх біологічну активність, у тому числі локалізацію у тканинах, метаболічне спрямування [35, 42].

У кукурудзи ідентифіковано кілька мутантних локусів, що кодуєть ферменти класу десатураз, які зумовлюють накопичення проміжних метаболітів для кожного перетворення. Ці мутанти є цінними для визначення стереохімічних перетворень кожного кроку біосинтезу каротиноїдів та пошуку методів впливу на них.

Ген *vr5*, що кодує фітоїндесатуразу, виявлено під час вивчення мутантного зерна *viviparous 5* із безбарвним ендоспермом за дефіциту каротиноїдів та абсцизової кислоти [56]. Він локалізований на короткому плечі хромосоми 1. Ген *zds1*, що кодує  $\zeta$ -каротиндесатуразу, локалізований на короткому плечі хромосоми 7 [55].

Продукти десатурації PDS (9,15,9'-три-*цис*- $\zeta$ -каротин) та ZDS (тетра-*цис*-лікопін) мають бути ізомеризовані для отримання геометрично доступних субстратів для дії наступних ферментів [16]. Виявлено, що  $\zeta$ -каротинізомераза взаємодіє лише з продуктом ZDS [30], незважаючи на наявність необхідних 15-*цис*-зв'язків у продукті PDS (9,15,9'-три-*цис*- $\zeta$ -каротин), що підтверджує необхідність його попередньої ізомеризації. Отже, без функціонування Z-ISO провітамін А-каротиноїди не можуть продукуватись в ендоспермі — цільовій тканині для біофортифікації [15, 37].

$\zeta$ -Каротинізомераза кодує ген *u9*, локалізований на короткому плечі хромосоми 10. Ген складається із 4 екзонів і 3 інтронів [21]. Інформація щодо гена, який кодує каротиноїдізомераза, дуже обмежена. Ідентифіковано дві кДНК: *crtiso1*, *crtiso2*, які картовано як незчеплені локуси відповідно на хромосомах 4 і 2; кожен локус містить 12 інтронів [34]. У локусі *crtiso2* знайдено стоп-кодон в екзоні 1, який перериває трансляцію, що підтверджує його псевдогенну природу. Локус *crtiso1* локалізований у регіоні, синтеничному *CrtISO* рису, визначено його зчеплення з маркером *csu704* [28, 48, 49].

Лікопін — продукт дії чотирьох вищеописаних ферментів десатураз та ізомераз — є важливою точкою розгалуження на шляху синтезу каротиноїдів, оскільки він є субстратом для двох конкуруючих ферментів — лікопін- $\beta$ -циклази і лікопін- $\epsilon$ -циклази. Обидва ферменти циклізують

лінійні основи для створення термінальних іононових кілець, але структура цих кілець різна. Додавання одного  $\beta$ -кілця лікопіну лікопін- $\beta$ -циклазою утворює  $\gamma$ -каротин, додавання другого  $\beta$ -кілця до вільного кінця цим самим ферментом продукує  $\beta$ -каротин. І  $\gamma$ -, і  $\beta$ -каротини належать до групи ретинолу, виявляють провітамін А-активність, однак  $\beta$ -каротин є кращим джерелом, оскільки містить дві такі групи.  $\gamma$ -Каротин швидко перетворюється на  $\beta$ -каротин і, як правило, не накопичується. Крім того, додавання одного  $\epsilon$ -кілця лікопіну лікопін- $\epsilon$ -циклазою генерує  $\delta$ -каротин, який не виявляє провітамін А-активності. Це збіднений субстрат для лікопін- $\epsilon$ -циклази, тому зазвичай друга  $\epsilon$ -циклізація не відбувається. Проте це добрий субстрат для лікопін- $\beta$ -циклази, яка додає  $\beta$ -кілце до вільного кінця з утворенням  $\alpha$ -каротину, який позбавлений провітамін А-активності [43].

Ген *lyc1* кодує фермент лікопін- $\epsilon$ -циклазу, містить 10 езонів і 9 інтронів, локалізований на довгому плечі хромосоми 8.

Ген *ps1* (*pink scutellum1*) кодує фермент лікопін- $\beta$ -циклазу [14], локалізований на короткому плечі хромосоми 5. Визначено вставку Ac елемента, що є інсерційним порушенням гена [46].

Як  $\alpha$ -каротин, так і  $\beta$ -каротин — продукти дії лікопін- $\beta$ -циклази і лікопін- $\epsilon$ -циклази — за наявності ферменту  $\beta$ -каротингідроксилази можуть перетворюватись на складніші каротиноїди, які не мають провітамін А-активності. Для  $\alpha$ -каротину — це лютеїн, для  $\beta$ -каротину — зеаксантин з проміжним продуктом  $\beta$ -криптоксантином, який є провітамін А-активним. Лютеїн — природний кінець  $\alpha$ -каротинового шляху, зеаксантин — входить у ксантофіловий цикл, а також може перетворюватись на важливий рослинний гормон — абсцизову кислоту [33].

Ідентифіковано незчеплені паралоги, пов'язані з  $\beta$ -каротингідроксилазою (BCH): два паралоги визначено як псевдогени (*hyd1*, *hyd2*), *hyd3* — як ген *bch*, що кодує  $\beta$ -каротингідроксилазу, решта — як гени, що кодують ферменти з характерними гідроксилазними доменами і пластид-цільовими сигналами (*hyd4*, *hyd5*, *hyd6*, *hyd7*), не визначені [47]. Ген *hyd3* локалізований на довгому плечі хромосоми 10, складається із 6 езонів і 5 інтронів [50].

**Генна інженерія і підвищення рівня  $\beta$ -каротину в рослинах.** Відкриття та вивчення генів ферментів біосинтезу каротиноїдів та можливість маніпулювання ними за допомогою генно-інженерних методів забезпечили значні успіхи в боротьбі з прихованим голодом. Найяскравішим прикладом є створення сорту Золотий рис, який містить у 23 рази більше каротиноїдів, ніж звичайний [41]. Його створили, перенісши ген фітоїнсинази нарциса до геному рису й експресували в ендоспермі останнього. В результаті у зерні рису почала утворюватись підвищена кількість речовин, необхідних для біосинтезу  $\beta$ -каротину. Модифікована рослина запобігає дефіциту вітаміну А в раціоні мешканців країн, для яких рис є основною складовою повсякденного харчування. Генно-інженерний підхід використано для підвищення вмісту вітаміну А в таких важливих сільськогосподарських культурах, як ріпак, цвітна капуста, морква, картопля, маніока, манго, банан, гарбуз, диня, ківі, томат [8, 36]. Кілька груп дослідників скористались таким підходом для підвищення рівня каротиноїдів у кукурудзі. Так, Алуру та співавт. [13] інтродукували бактеріальні гени *crtB* і *crtI* під контролем  $\gamma$ -зеїнового промотора для забезпечення ендоспермспецифічної експресії, підвищили загальний

вміст каротиноїдів до 33,6 мг/г сухої речовини (у 34 рази більше, ніж у дикого типу), вміст β-каротину — до 9,8 мг/г сухої речовини (у 10 разів більше). Новим методом комбінаторної генетичної (ядерної) трансформації для швидкого отримання мультиплекс-трансгенних рослин 5 генів — *psy1* кукурудзи, *lycb*, *bch* тирлича жовтого *Gentiana lutea*, *crtW* бактерій *Paracoccus* spp., *crtI* бактерії *Pantoea ananatis* — під контролем ендосперм-специфічних промоторів перенесено в елітну інбредну лінію з білим ендоспермом М37W [39, 51]. У результаті отримано рослини з екстраординарними рівнями β-каротину та інших каротиноїдів, у тому числі складних сумішей гідроксикаротиноїдів і кетокаротиноїдів. Зокрема, загальний рівень каротиноїдів у трансгенних рослинах порівняно з диким типом становив 163,2 (у 112 разів більше), рівень β-каротину — 59,3 мг/г сухої речовини (у 169 разів більше).

Проте низка причин, а саме — недовіра більшості населення до продуктів, отриманих із генетично модифікованих рослин, відсутність можливості генно-інженерних маніпуляцій у бідних країнах, відносна дорожнеча створення трансгенних культур — стимулює створення біофортифікованих рослин методами традиційної селекції із супроводом молекулярними маркерами. Обмеженням традиційної селекції є залежність від наявності в генетичному пулі форм із підвищеним рівнем β-каротину. Такі форми можуть бути або ідентифіковані (із використанням молекулярно-генетичних підходів), або індуковані мутагенезом і в подальшому використані для створення ліній з підвищеним вмістом β-каротину. Потужний інструментарій геноміки спільно з традиційними методами селекції забезпечують пошук і створення таких форм для отримання біофортифікованих високоврожайних, високопоживних ліній (сортів) сільськогосподарських рослин, у тому числі й кукурудзи.

1. Батурина А.К. Химический состав и энергетическая ценность пищевых продуктов. Справочник Мак Канса и Уиддоусона. — Санкт-Петербург: Профессия, 2006. — 245 с.
2. Бриттон Г. Биохимия природных пигментов. — М.: Мир, 1986. — 422 с.
3. Бугайов В.Д., Васильківський С.П. Селекція польових культур. — Біла Церква: Вид-во Білоцерків. агр. ун-ту, 2010. — 120 с.
4. Бурака О.М., Сорочинський Б.В. Рослинні біотехнології: Біофортифікація харчових рослин. — К.: ДІА, 2010. — С. 13—23.
5. Корецький В.Л., Орлова Н.М. До проблеми безпеки харчування та моніторингу якості життя населення України // Проблеми харчування. — 2006. — № 1. — С. 42—44.
6. Ляхович В.В., Вавилин В.А., Зенков Н.К. Активная защита при окислительном стрессе. Антиоксидант-респонсивный элемент // Биохимия. — 2006. — 71, № 9. — С. 1183—1197.
7. Пащенко М. Ресурсосберегающая технология выращивания кукурузы. — Днепропетровск: Ин-т зернового хозяйства УААН, 2002. — 20 с.
8. Рукавцова Е.Б., Бурьянов Я.И., Шульга Н.Я., Быков В.А. Трансгенные растения для фармакологии // Вопросы биол., мед. и фарм. химии. — 2006. — № 2. — С. 3—12.
9. Сімонова М. Каротиноїди: будова, властивості та біологічна дія // Біологічні студії. — 2010. — 4, № 2. — С. 159—170.
10. Циков В.С. Кукуруза: технология, гибриды, семена. — Днепропетровск: Заря, 2003. — 196 с.
11. Концепція Державної науково-технічної програми «Біофортифікація і функціональні продукти на основі рослинної сировини на 2012—2016 роки» [Електронний ресурс] URL [http://search.ligazakon.ua/1\\_doc2.nsf/link1/MUS17448.html](http://search.ligazakon.ua/1_doc2.nsf/link1/MUS17448.html)
12. Al-Babili S., von Lintig J., Haubruck H., Beyer P. A novel, soluble form of phytoene desaturase from *Narcissus pseudonarcissus* chromoplasts is Hsp70-complexed and competent for flavinylation, membrane association and enzymatic activation // Planta. — 1996. — N 9. — P. 601—612.
13. Aluru M., Xu Y., Guo R. et al. Generation of transgenic maize with enhanced provitamin A content // J. Exp. Bot. — 2008. — N 59. — P. 3551—3562.

14. Bai C., Twyman R., Farre G. et al. A golden era — pro-vitamin A enhancement in diverse crops // *Planta*. — 2011. — N 47. — P. 205—221.
15. Bartley G.E., Scolnik P.A., Beyer P.U. Two *Arabidopsis thaliana* carotene desaturases, phytoene desaturase and zeta-carotene desaturase, expressed in *Escherichia coli*, catalyze a poly-cis pathway to yield pro-lycopene // *Eur. J. Biochem.* — 1999. — N 259. — P. 396—403.
16. Beyer P., Mayer M., Kleinig K. Molecular oxygen and the state of geometric isomerism of intermediates are essential in the carotene desaturation and cyclization reactions in daffodil chromoplasts // *Ibid.* — 1989. — N 184. — P. 141—150.
17. Bianchi L., Tateo F., Pizzala R. Carotenoids reduce the chromosomal damage induced by bleomycin in human cultured lymphocytes // *Anticancer Res.* — 1993. — 13, N 4. — P. 1007—1010.
18. Brent B., Phillip S.M., Diane J.B. The *yl* gene of maize codes for phytoene synthase // *Genetics*. — 1996. — 143, N 1. — P. 479—488.
19. Britton G., Liaaen-Jensen S., Pfander H. Carotenoids Handbook. — Basel: Birkhuser Verlag, 2004. — P. 14—18.
20. Carol P., Kuntz M. A plastid terminal oxidase comes to light: implications for carotenoid biosynthesis and chlororespiration // *Trends Plant Sci.* — 2001. — N 6. — P. 31—36.
21. Chen Y., Li F., Wurtzel E.T. Isolation and characterization of the Z-ISO gene encoding a missing component of carotenoid biosynthesis in plants // *Plant Physiol.* — 2010. — N 153. — P. 66—79.
22. DellaPenna D., Pogson B. Vitamin synthesis in plants: tocopherols and carotenoids // *Annu. Rev. Plant Biol.* — 2006. — N 57. — P. 711—738.
23. Gallagher C.E., Matthews P.D., Li F., Wurtzel E.T. Gene duplication in the carotenoid biosynthetic pathway preceded evolution of the grasses (Poaceae) // *Plant Physiol.* — 2004. — N 135. — P. 1776—1783.
24. Giovannucci E., Rimm E., Liu Y. et al. A prospective study of tomato products, lycopene, and prostate cancer risk // *J. National Cancer Institute*. — 2002. — N 94. — P. 391—398.
25. Graham R.D., Welch R.M. Breeding for staple food crops with high micronutrient density // *Agricultural Strategies for Micronutrients Working Paper 3*. — Washington, D.C.: Int. Food Policy Res. Institute, 1996. — P. 4—55.
26. Harjes C., Rocheford T., Bai L. et al. Natural genetic variation in lycopene epsilon cyclase tapped for maize biofortification // *Science*. — 2008. — 319, N 5861. — P. 330—333.
27. Hirschberg J. Carotenoid biosynthesis in flowering plants // *Curr. Opin. Plant Biol.* — 2001. — N 4. — P. 210—218.
28. Hussein G., Sankawa U., Goto H. et al. Astaxanthin, a carotenoid with potential in human health and nutrition // *J. Natl. Prod.* — 2006. — N 69. — P. 443—449.
29. Isaacson T., Ohad I., Beyer P., Hirschberg J. Analysis in vitro of the enzyme CRTISO establishes a poly-cis-carotenoid biosynthesis pathway in plants // *Plant Physiol.* — 2004. — N 136. — P. 4246—4255.
30. Isaacson T., Ronen G., Zamir D., Hirschberg J. Cloning of tangerine from tomato reveals a carotenoid isomerase essential for the production of  $\beta$ -carotene and xanthophylls in plants // *Plant Cell*. — 2002. — N 14. — P. 333—342.
31. Jyonouchi H., Sun S., Lijima K. Antitumor activity of astaxanthin and its mode of action // *Nutr. Cancer*. — 2000. — 36, N 1. — P. 59—65.
32. Krinsky N.I., Landrum J.T., Bone R.A. Biologic mechanisms of the protective role of lutein and zeaxanthin in the eye // *Annu. Rev. Nutr.* — 2003. — N 23. — P. 171—201.
33. Li F. Carotenoid biosynthesis in maize: characterization of the *PSY* gene family and genetic definition of a new biosynthetic step in higher plants. — Dissertation Ph. D. — The City University of New York, 2008. — 144 p.
34. Li F., Farre G., Naqvi S., Breitenbach J. Cloning and functional characterization of the maize carotenoid isomerase and  $\beta$ -carotene hydroxylase genes and their regulation during endosperm maturation // *Transgenic Res.* — 2010. — N 19. — P. 1053—1068.
35. Li F., Murillo C., Wurtzel E. Maize Y9 encodes a product essential for 15-cis zetacarotene isomerization // *Plant Physiol.* — 2007. — N 144. — P. 1181—1189.
36. Li L., Van Eck J. Metabolic engineering of carotenoid accumulation by creating a metabolic sink // *Transgenic Res.* — 2007. — N 16. — P. 581—585.
37. Matthews P.D., Luo R., Wurtzel E.T. Maize phytoene desaturase and zetacarotene desaturase catalyze a poly-Z desaturation pathway: implications for genetic engineering of carotenoid content among cereal crops // *J. Exp. Bot.* — 2003. — N 54. — P. 2215—2230.
38. Mayer M.P., Nievelstein V., Beyer P. Purification and characterization of a NADPH dependent oxidoreductase from chromoplasts of *Narcissus pseudonarcissus*: a redox mediator possibly involved in carotene desaturation // *Plant Physiol. Biochem.* — 1992. — N 30. — P. 389—398.



39. *Naqvi S., Zhu C., Farre G. et al.* Transgenic multivitamin corn through biofortification of endosperm with three vitamins representing three distinct metabolic pathway // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* — 2009. — N 106. — P. 7762–7767.
40. *Norris S.R., Barrette T.R., DellaPenna D.* Genetic dissection of carotenoid synthesis in *Arabidopsis* defines plastoquinone as an essential component of phytoene desaturation // *Plant Cell.* — 1995. — N 7. — P. 2139–2149.
41. *Paine J.A., Shipton C.A., Chaggar S. et al.* Improving the nutritional value of Golden Rice through increased pro-vitamin A content // *Nature Biotech.* — 2005. — N 23. — P. 482–487.
42. *Park H., Kreunen S.S., Cuttriss A.J. et al.* Identification of the carotenoid isomerase provides insight into carotenoid biosynthesis, prolamellar body formation, and photomorphogenesis // *Plant Cell.* — 2002. — N 14. — P. 321–332.
43. *Pogson B., McDonald K.A., Truong M. et al.* Arabidopsis carotenoid mutants demonstrate that lutein is not essential for photosynthesis in higher plants // *Ibid.* — 1996. — N 8. — P. 1627–1639.
44. *Randolph L., Hand D.* Relation between carotenoid content and number of genes per cell in diploid and tetraploid corn // *J. Agr. Res.* — 1940. — N 1. — P. 51–64.
45. *Rumer S., Fraser P.D.* Recent advances in carotenoid biosynthesis, regulation and manipulation // *Planta.* — 2005. — N 221. — P. 305–308.
46. *Singh M., Lewis P.E., Hardeman K. et al.* Activator mutagenesis of the pink scutellum1/viviparous7 locus of maize // *Plant Cell.* — 2003. — N 15. — P. 874–884.
47. *Vallabhaneni R., Gallagher C.E., Licciardello N. et al.* Metabolite sorting of a germplasm collection reveals the Hydroxylase 3 locus as a new target for maize provitamin A biofortification // *Plant Physiol.* — 2009. — **151**. — P. 1635–1645.
48. *Vallabhaneni R., Wurtzel T.E.* Timing and biosynthetic potential for carotenoid accumulation in genetically diverse germplasm of maize // *Ibid.* — 2009. — **150**. — P. 562–572.
49. *Wurtzel E.T., Abby Cuttriss A., Vallabhaneni R.* Maize provitamin A carotenoids, current resources, and future metabolic engineering challenges // *Plant Sci.* — 2012. — N 3. — P. 1–10.
50. *Yan J., Kandianis C.B., Harjes C.E. et al.* Rare genetic variation at *Zea mays* crtRB1 increases  $\beta$ -carotene in maize grain // *Nature Genet.* — 2010. — **42**, N 4. — P. 322–327.
51. *Zhu C., Naqvi S., Breitenbach J., Sandmann G.* Combinatorial genetic transformation generates a library of metabolic phenotypes for the carotenoid pathway in maize // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2008. — **105**, N 47. — P. 18232–18237.
52. *Harvest Plus* program [Электронный ресурс] URL <http://www.harvestplus.org/>
53. *KEGG* pathway [Электронный ресурс] URL [http://www.genome.jp/dbget-bin/www\\_bget?map00906](http://www.genome.jp/dbget-bin/www_bget?map00906)
54. *Maize GDB* data base [Электронный ресурс] URL <http://www.maizegdb.org/>
55. *Maize GDB* data base [Электронный ресурс] URL <http://www.maizegdb.org/cgi-bin/displaylocusrecord.cgi?id=125301>
56. *Maize GDB* data base [Электронный ресурс] URL <http://www.maizegdb.org/cgi-bin/displaylocusrecord.cgi?id=12733>
57. *NCBI* data base [Электронный ресурс] URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
58. *WHO* World Health Organization [Электронный ресурс] URL <http://www.who.int/whr/2002/en/>

Отримано 29.04.2013

ГЕНЫ ФЕРМЕНТОВ КАРОТИНОГЕНЕЗА В ЭНДОСПЕРМЕ КУКУРУЗЫ

*Б.С. Жуков, Н.Э. Волкова, Ю.М. Сиволан*

Селекционно-генетический институт — Национальный центр семеноведения и сортоизучения Национальной академии аграрных наук Украины, Одесса

В обзоре современного состояния исследований генетического контроля каротиногенеза в эндосперме кукурузы приведена информация о проблеме «скрытого голода» и ее преодолении путем биофортификации сельскохозяйственных культур, рассмотрены ключевые ферменты биосинтеза каротиноидов, их функции, приведены данные о генах ферментов каротиногенеза, их структуре и полиморфизме, примеры повышения уровня каротиноидов в эндосперме кукурузы генно-инженерными методами.

GENES OF CAROTENOGENESIS ENZYMES IN MAIZE ENDOSPERM

*B.S. Zhukov, N.E. Volkova, Yu.M. Sivolap*

Pant Breeding and Genetics Institute — National Center of Seed and Cultivars Investigation,  
National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine  
3 Ovidiopska road, Odesa, 65036, Ukraine

The current state of carotenogenesis genetic control in maize endosperm is reviewed. Information about the problem of «hidden hunger» and overcome it by biofortification crops, key enzymes of carotenoid biosynthesis, their function, data on carotenogenesis enzymes genes, their structure and polymorphism are discussed. Examples of carotenoids content increase in maize endosperm by gene engineering methods are shown.

*Key words:* *Zea mays* L., carotenogenesis, enzymes, genes, biofortification.