



УДК 577.115.3:577.125.3

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ВИДЫ МЕМБРАННЫХ ЛИПИДОВ МОРСКОГО АНЕМОНА *Exaiptasia diaphana* И ЕГО СИМБИОНТОВ

© 2025 г. Е. Т. Бизикашвили*, #, С. А. Козловский*, Е. В. Ермоленко*,
К. В. Ефимова*, Т. В. Сикорская*

* Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского Дальневосточного отделения РАН,
Россия, 690041 Владивосток, ул. Пальчевского, 17

Поступила в редакцию 13.01.2025 г.

После доработки 27.01.2025 г.

Принята к публикации 28.01.2025 г.

Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием исследованы молекулярные виды мембранных липидов морского анемона *Exaiptasia diaphana* и молекулярные виды гликолипидов его симбионтов. Всего было идентифицировано 82 молекулярных вида глицерофосфолипидов *E. diaphana*, основными из которых были холинглицерофосфолипид (PC) 16:0/22:6, этаноламинглицерофосфолипиды (PE) 18:1e/20:4 и 18:1e/20:5, серинглицерофосфолипид (PS) 18:0/22:4, инозитглицерофосфолипид (PI) 18:0/22:4 и церамидаминоэтилфосфонат (CAEP) 18:2b/16:0. У симбионтов было идентифицировано 36 молекулярных видов гликолипидов. Основными молекулярными видами были моногалактозилдиацилглицерол (MGDG) 18:4/18:5, дигалактозилдиацилглицеролы DGDG 18:3/18:5 и 18:4/18:4, сульфохиноновозилдиацилглицерол (SQDG) 14:0/16:0. С помощью молекулярно-генетического анализа было установлено, что все колонии *E. diaphana* содержали динофлагелляты *Breviomatum minutum*, *Cladocopium thermophilum* и *Gerakladium endoclionum*. Профиль молекулярных видов липидов организма-хозяина может выступать хемотаксономическим признаком, а галактолипиды симбионтов могут указывать на устойчивость к изменению температуры морской воды. Данное исследование вносит вклад в развитие липидомики организмов типа Cnidaria.

Ключевые слова: морские анемоны, фосфолипиды, гликолипиды, tandemная масс-спектрометрия, липидомика, молекулярные виды липидов

DOI: 10.31857/S0132342325040107, **EDN:** LNTLOF

ВВЕДЕНИЕ

Липиды представляют собой широкую группу органических соединений, которая включает в себя воски, стерины, жирорастворимые витамины, моно-, ди- и триглицериды, глицерофосфолипиды (PL) и др. Помимо энергетической и структурной функций, липиды участвуют в клеточном сигналинге, апоптозе и фолдинге мембранных белков [1]. Общие липиды морских организмов могут

содержать до десяти основных классов липидов, однако каждый класс липидов представляет собой сложную смесь молекулярных видов липидов, различающихся составом жирных кислот.

Кораллы (тип Cnidaria, класс Anthozoa) – одна из самых разнообразных и распространенных групп животных в морских экосистемах. Класс Anthozoa подразделяется на два подкласса: Octocorallia и Hexacorallia. Морские анемоны или актинии

Сокращения: ASAP – метод автоматического разделения видов; CAEP – церамидаминоэтилфосфонат; DGCC – 1,2-диацилглицерил-3-O-карбокси-(гидроксиметил)-холин; DGDG – дигалактозилдиацилглицерол; ESI – ионизация распылением в электрическом поле; FA – жирные кислоты; HPLC – высокоэффективная жидкостная хроматография; GL – гликолипиды; LPC – лизофосфатидилхолин; LPE – лизофосфатидилэтаноламин; MGDG – моногалактозилдиацилглицерол; ML – максимальное правдоподобие; MS/MS – tandemная масс-спектрометрия; PC – холинглицерофосфолипиды; PE – этаноламинглицерофосфолипиды; PI – инозитглицерофосфолипиды; PL – глицерофосфолипиды; PS – серинглицерофосфолипиды; PUFA – полиненасыщенные жирные кислоты; SQDG – сульфохиноновозилдиацилглицерол.

Автор для связи: (тел.: +7 (423) 231-09-05; эл. почта: bilielenas01@gmail.com).

(Cnidaria: Anthozoa: Hexacorallia: Actiniaria) – это животные, которые ведут сидячий образ жизни в виде одиночных полипов. Отряд Actiniaria включает в себя ~1200 видов, объединенных в 46 семейств, обитающих от арктических до тропических вод на различных глубинах [2].

Exaiptasia diaphana (Rapp, 1829) – морской анемон, широко распространенный по всему миру в тропической мелководной зоне. Обычно считают, что морские анемоны – исключительно хищные животные, однако они могут образовывать симбиоз с одноклеточными микроводорослями (динофлагеллятами) [3]. *E. diaphana* в своей гастродерме содержит клетки динофлагеллят из семейства Symbiodinium, которые в процессе фотосинтеза вырабатывают до 90% энергии, необходимой организму-хозяину [4, 5]. Известно, что *E. diaphana* и его симбионты-динофлагелляты могут быть отделены и культивированы независимо друг от друга [4]. Поэтому данный морской анемон используют в качестве модельного объекта для изучения клеточных и молекулярных аспектов симбиоза кораллов [6, 7].

Ткани кораллов богаты липидами, содержание которых может достигать до 26% от сухой массы тканей коралла [8]. Больше половины общих липидов кораллов составляют глицерофосфолипиды (PL), к которым относятся холинглицерофосфолипиды (PC), этаноламинглицерофосфолипиды (PE), серинглицерофосфолипиды (PS), инозитглицерофосфолипиды (PI), лизофосфатидилхолины (LPC), лизофосфатидилэтаноламины (LPE), а также фосфонолипиды – церамидаминоэтилfosфонаты (CAEP) [8, 9].

Основу мембран динофлагеллят составляют гликолипиды (GL), такие как сульфохиновозилдиацилглицеролы (SQDG), моногалактозилдиацилглицеролы (MGDG) и дигалактозилдиацилглицеролы (DGDG), которые выступают основными компонентами тилакоидной мембранны фотосинтетического аппарата растений [10]. Плазматическая мембра динофлагеллят состоит из диацильных форм PC, PE, PS, PI и бетаниновых липидов (BL) 1,2-диацилглицерил-3-O-карбокси-(гидроксиметил)-холинов (DGCC) [9]. GL и BL, а также некоторые полиненасыщенные жирные кислоты (FA), которые входят в состав ацильных групп этих липидов, рассматриваются как главные маркеры динофлагеллят [9, 11]. При благоприятных условиях окружающей среды

липидом тилакоидной мембранны находится в гомеостазе, что проявляется в постоянном соотношении липидов тилакоидной мембранны и их структуры [12]. При стрессе происходят окислительные реакции в клетках динофлагеллят, которые вызывают повреждения фотосинтетического аппарата, приводящие к изменению липидного профиля тилакоидной мембранны симбионтов [13, 14].

В поддержании устойчивого симбиоза между *E. diaphana* и его динофлагеллятами большую роль играют различные молекулярные виды липидов [15]. Чувствительность тилакоидных мембран динофлагеллят к высоким температурам, вероятно, связана с уровнем ненасыщенности FA в гликолипидах мембранны [16]. В нормальных условиях состав полярных головных групп существенно не меняется, в то время как состав ацильных цепей гликолипидов изменяется в зависимости от температуры: доля ненасыщенных FA уменьшается, а доля насыщенных FA увеличивается при повышении температуры [17, 18]. Например, для симбионтов *Cladocarpium C1/C3* из мягкого коралла *Sinularia heterospiculata* характерна более низкая степень ненасыщенности гликолипидов, что служит характерной липидомной особенностью термочувствительных симбионтов [17]. В отличие от термочувствительных симбионтов, динофлагелляты из твердого коралла *Acropora aspera* имеют характерные особенности, присущие термоустойчивым симбионтам, такие как SQDG с короткоцепочечными FA, а также большее количество ненасыщенных FA в MGDG и DGDG [17].

Исследование профиля молекулярных видов липидов (липидома) организма-хозяина и его симбионтов позволит выявить хемотаксономические признаки *E. diaphana* и их симбиотических динофлагеллят.

Цель данной работы – установление профиля молекулярных видов структурных глицерофосфолипидов морского анемона *Exaiptasia diaphana* (Rapp, 1829) и профиля молекулярных видов гликолипидов динофлагеллят с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Липидом морского анемона *E. diaphana*. В общем липидном экстракте морского анемона

E. diaphana присутствовали следующие глицерофосфолипиды и фосфонолипиды: PC, PE, PS, PI, CAEP, LPC и LPE. По классам GLP разделяли с помощью HPLC на полярной фазе, время удерживания для молекулярных видов PC, PE, PS, PI, CAEP, LPC, LPE составляло 7–10, 9–15, 11–15, 12–16, 7–8.5, 20–24 и 13–15 мин соответственно. Структуру молекулярных видов определяли с помощью tandemной масс-спектрометрии высокого разрешения (MS/MS) в режиме ионизации распылением в электрическом поле (ESI). Всего было идентифицировано 82 молекулярных вида GLP, из которых 30 молекулярных видов PC, 18 молекулярных видов PE, 12 молекулярных видов PS, 7 молекулярных видов PI, 9 молекулярных видов CAEP, 3 молекулярных вида LPC и 3 молекулярных вида LPE. Основными молекулярными видами были 16:0/22:6 PC, 18:1e/20:4 PE, 18:1e/20:5

PE, 18:0/22:4 PS, 18:0/22:4 PI, 18:2b/16:0 CAEP, 16:0e LPC и 18:0e LPE.

Основные структурные глицерофосфолипиды были представлены холин- и этаноламинглицерофосфолипидами (PC и PE). Молекулярные виды PE и PC у морского анемона *E. diaphana* содержали в своей структуре простую эфирную связь (табл. 1). Простая эфирная связь в фосфолипидах меняет их физические и биологические свойства, а также влияет на динамику плазматической мембраны клетки [19]. Она способствует образованию более прочных межмолекулярных водородных связей между функциональными группами [20].

В клетке PS и PI выполняют не только структурную функцию, но и выступают сигнальными молекулами, взаимодействуют с белками, могут влиять на динамику мембран и ее ремоделирование [21]. У морского анемона *E. diaphana*

Таблица 1. Состав холин- и этаноламинглицерофосфолипидов (PC и PE) морского анемона *E. diaphana*

PC	[M + H] ⁺	C _{отн.} , %*	PE	[M - H] ⁻	C _{отн.} , %
16:0/22:6**	806.5675	15.29 ± 0.80	18:1e/20:4	748.5173	27.17 ± 5.05
38:6e***	792.5876	13.25 ± 1.93	18:1e/20:5	746.502	21.77 ± 1.79
16:0e/22:4	796.6222	7.97 ± 0.41	16:1e/20:4	720.4863	6.87 ± 0.92
36:5e	766.5774	6.68 ± 0.92	18:1e/22:6	764.5103	6.48 ± 0.52
38:5e	794.6022	6.29 ± 1.10	18:1e/22:4	766.5261	6.47 ± 0.50
40:6e	820.6141	6.04 ± 0.46	34:8	688.451	5.87 ± 5.05
36:4e	768.5939	5.77 ± 0.57	16:1e/20:5	667.4738	5.39 ± 0.77
38:4	810.5927	4.56 ± 0.30	18:1e/17:1	714.5340	3.50 ± 1.08
38:5	808.5788	4.53 ± 1.08	16:0/22:4; 18:0/20:4	762.5307	3.10 ± 1.09
20:1/20:5	834.5959	4.49 ± 0.89	38:7e	736.5279	2.99 ± 0.40
34:1	760.5886	3.95 ± 0.06	18:0/22:4	778.5631	2.19 ± 0.49
36:4	782.5739	3.39 ± 0.59	38:5	752.5436	1.84 ± 0.58
36:5	780.5569	3.07 ± 1.46	18:0/22:5	774.5314	1.06 ± 0.36
34:1e	746.6156	1.93 ± 0.42	38:4e	464.3082	1.05 ± 0.08
40:5e	822.6276	1.89 ± 0.83	17:1e/20:4	728.5475	1.02 ± 0.11
34:3	756.5589	1.58 ± 0.40	Другие	—	3.29 ± 1.21
40:5	836.6095	1.52 ± 0.16	Сумма	—	100
40:7	832.5740	1.23 ± 0.51	—	—	—
36:3	784.5861	1.17 ± 0.18	—	—	—
Другие	—	5.58 ± 1.44	—	—	—
Сумма	—	100	—	—	—

* Относительное содержание молекулярных видов в каждом классе липидов, %.

** Алкил (*sn*-1)/ацил (*sn*-2).

*** Ацил/ацил.

молекулярные виды PS и PI в основном представлены в виде диацильных форм, что характерно для подкласса Hexacorallia (табл. 2).

Церамидаминоэтилфосфонаты (САЕР) представляют собой сфинголипиды, которые имеют аминоэтилфосфонат в качестве полярной головной группы [22]. Состав молекулярных видов САЕР приведен в табл. 3. Как и глицерофосфолипиды, САЕР – это один из основных мембранных липидов у морских беспозвоночных. В некоторых случаях его содержание сравнимо с PC и PE [12]. Наличие C–P-связи в аминоэтилфосфонате определяет устойчивость САЕР к гидролитическим ферментам [23], однако на данный момент его

функции в клетках морских беспозвоночных еще недостаточно изучены [12].

Липиды *E. diaphana* содержали большое количество молекулярных видов PC и PE с полиненасыщенными жирными кислотами (ПУФА) C₂₀ и C₂₂. Подобный состав PC и PE наблюдался у *Acropora cerealis* и *Palythoa tuberculosa*, что служит отличительной характеристикой твердых кораллов и зоонтарий, которые, как и *E. diaphana*, относятся к подклассу Hexacorallia [24, 25]. У *E. diaphana* были идентифицированы преимущественно диацильные формы PS, что характерно для подкласса Hexacorallia [26], в отличие от подкласса Octocorallia, у представителей которого

Таблица 2. Состав серин- и инозитглицерофосфолипидов (PS и PI) морского анемона *E. diaphana*

PS	[M – H] ⁻	C _{отн.} , %*	PI	[M – H] ⁻	C _{отн.} , %
18:0/22:4**	838.5495	45.04 ± 3.93	18:0/22:4	913.5685	69.87 ± 1.42
–	–	–	18:0/22:5	911.5515	11.89 ± 0.20
22:4/22:1	892.5936	10.47 ± 0.64	18:0/22:6	909.5369	9.74 ± 1.23
20:1/22:4	864.5626	10.15 ± 3.30	16:0/22:6	881.5081	4.38 ± 1.16
20:0/22:4	866.5000	8.88 ± 1.87	16:0/22:4	885.5363	3.84 ± 1.02
18:1e/22:4	822.5531	7.42 ± 0.08	Другие	–	0.31 ± 0.36
18:0/22:5	836.5320	4.49 ± 0.56	Сумма	–	100
22:4/22:6	882.5141	3.73 ± 1.36	–	–	–
18:0e/22:4***	824.5718	1.94 ± 0.95	–	–	–
18:0/22:6	834.5163	1.95 ± 0.20	–	–	–
18:1e/22:6	818.5267	1.75 ± 0.03	–	–	–
Другие	–	4.14 ± 0.42	–	–	–
Сумма	–	100	–	–	–

* Относительное содержание молекулярных видов в каждом классе липидов, %.

** Алкил (*sn*-1)/ацил (*sn*-2).

*** Ацил/ацил.

Таблица 3. Состав церамидэтилфосфонатов (САЕР) и лизоформ фосфатидилхолина и фосфатидилэтаноламина (LPC и LPE) морского анемона *E. diaphana*

САЕР	[M – H] ⁻	C _{отн.} , %*	LPC	[M + H] ⁺	C _{отн.} , %
18:2b/16:0*	641.4922	68.26 ± 1.46	16:0e****	482.3660	60.96 ± 4.05
18:2b/17:0, 19:2b/16:0***	655.5064	10.90 ± 1.08	18:0e	510.3972	39.04 ± 3.15
C ₃₆ H ₆₉ N ₂ O ₅ P	639.4764	9.36 ± 0.50	Сумма	–	100
18:1b/16:0	643.5077	5.89 ± 0.64	LPE	[M – H] ⁻	C _{отн.} , %
18:2b/18:0	669.5220	2.88 ± 0.54	18:1e	464.3070	83.02 ± 9.96
C ₃₆ H ₇₁ N ₂ O ₆ P	657.4882	1.60 ± 0.49	16:0e	438.2921	12.66 ± 8.90
Другие	–	1.15 ± 0.33	16:1e	436.2751	4.33 ± 1.62
Сумма	–	100	Сумма	–	100
–	–	–	Сумма	–	100

* Относительное содержание молекулярных видов в каждом классе липидов, %.

** Алкил (*sn*-1)/ацил (*sn*-2).

*** b – сфингоидное основание.

**** Ацил/ацил.

основные молекулярные виды PS находятся в алкил/ацильной форме и содержат тетракозаполиеновые FA [27]. Таким образом, молекулярные виды PL морского анемона *E. diaphana* схожи с другими представителями подкласса Hexacorallia.

Липидом симбионтов (динофлагеллят рода *Symbiodinium*). В общем липидном экстракте морского анемона *E. diaphana* были обнаружены гликолипиды (MGDG, DGDG, SQDG) и бетаниновые липиды (DGCC). Данные липиды анализировали в тех же условиях, что и глицерофосфолипиды, при этом времена удерживания для MGDG, DGDG, SQDG и DGCC находились в интервалах 2–3,

10–13, 11–13 и 10–14 мин соответственно. Всего было идентифицировано 36 молекулярных видов GL, из которых 10 молекулярных видов MGDG, 13 молекулярных видов DGDG, 5 молекулярных видов SQDG и 8 молекулярных видов DGCC. Основными молекулярными видами были 18:4/18:5 MGDG, 18:3/18:5 и 18:4/18:4 DGDG, 14:0/16:0 SQDG и 16:0/22:6 DGCC (табл. 4).

Молекулярные виды MGDG, DGDG и DGCC образовывали ионы $[M + Na]^+$ и $[M + H]^+$, в отличие от молекулярных видов SQDG, которые образовывали ионы $[M - H]^-$. У всех гликолипидов в MS/MS-спектре содержались интенсив-

Таблица 4. Состав моногалактозил-, дигалактозил-, сульфохиновозилдиацилглицеролов и 1,2-диацилглицерил-3-*O*-карбокси-(гидроксиметил)-холинов (MGDG DGDG, SQDG и DGCC) морского анемона *E. diaphana*

MGDG	$[M + Na]^+$	$C_{\text{отн.}} \%, ^*$	DGDG	$[M + Na]^+$	$C_{\text{отн.}} \%, ^*$
18:4/18:5*	791.4700	57.65 ± 1.34	18:3/18:5; 18:4/18:4	955.5368	35.72 ± 0.68
36:8	793.4806	18.31 ± 4.40	18:4/22:6	1007.568	25.99 ± 1.16
18:4/22:6	845.5156	7.26 ± 1.94	18:3/18:4	957.5484	14.08 ± 3.44
18:3/18:4; 18:2/18:5	795.4973	7.03 ± 1.56	18:4/18:5	953.5228	12.91 ± 2.36
16:0/18:3	775.5322	2.73 ± 1.58	18:3/22:6	1009.578	4.26 ± 1.23
36:6	797.5132	2.13 ± 0.26	18:3/18:3	959.5718	1.72 ± 0.94
36:7	773.5229	1.66 ± 0.50	16:0/18:4	935.5699	1.48 ± 0.34
16:0/16:1; 14:0/18:1	751.5311	1.24 ± 0.62	14:0/18:4	907.5385	1.15 ± 0.38
34:6	747.5031	1.08 ± 0.11	Другие	—	2.74 ± 2.03
16:0/18:1	779.5636	0.96 ± 0.55	Сумма	—	100
Сумма	—	100	SQDG	$[M - H]^-$	$C_{\text{отн.}} \%, ^*$
DGCC	$[M + H]^+$	$C_{\text{отн.}} \%, ^*$			
16:0/22:6	800.6030	71.38 ± 9.21	14:0/16:0	765.4712	69.39 ± 2.97
22:6/22:6	872.6010	9.42 ± 0.79	14:1/16:0	763.4557	19.66 ± 2.50
18:0/28:7	910.7115	6.32 ± 0.77	12:0/14:0	737.4402	5.25 ± 0.79
36:6	772.5719	4.01 ± 3.18	14:0/18:0	793.5019	5.04 ± 0.52
18:0/22:6	828.6307	3.43 ± 1.78	32:1	791.4840	0.69 ± 0.68
34:3	750.5863	2.44 ± 0.30	Сумма	—	100
34:4	748.5736	2.21 ± 1.10		—	
Другие	—	0.83 ± 0.55			
Сумма	—	100			

* Относительное содержание молекулярных видов в каждом классе липидов, %.

** Алкил (*sn*-1)/ацил (*sn*-2).

ные сигналы фрагмент-ионов, полученных при потере FA. На рис. 1 для гликолипидов и DGCC приведены масс-спектры и схемы фрагментации на примере одного молекулярного вида из каждого класса.

На рис. 1 α представлена схема фрагментации MGDG 18:4/22:6. В спектре положительных ионов наблюдали сигнал иона $[M + Na]^+$ (m/z 845.5156). В MS/MS-спектре присутствовали сигналы фрагмент-ионов, образованные при потере FA 18:4 (m/z 569.312) и 22:6 (m/z 517.276). На рис. 1 β представлена схема фрагментации DGDG 18:4/22:6. В результате фрагментации иона $[M + Na]^+$ (m/z 1007.568) в MS/MS-спектре появлялись сигналы фрагмент-ионов, образованные при потере FA 18:4 (m/z 731.3659)

и 22:6 (m/z 679.3237). На рис. 1 γ представлена схема фрагментации SQDG 12:0/14:0. Фрагментация депротонированного молекулярного иона $[M - H]^-$ (m/z 737.4402) в MS/MS-спектре давала серию интенсивных сигналов, образованных при отрыве кислот 12:0 (m/z 537.7829) и 14:0 (m/z 509.9246). На рис. 1 δ представлена схема фрагментации DGCC 16:0/22:6. Спектр MS/MS показывает, что ион $[M + H]^+$ теряет две FA, образуя фрагменты 16:0 (m/z 544.3677) и 22:6 (m/z 472.3685). Все остальные молекулярные виды GL и BL были идентифицированы аналогичным образом.

DGCC – предшественник липидов хлоропластов, косвенно задействованный в биосинтезе MGDG [28]. DGCC имеет цвиттерионную струк-

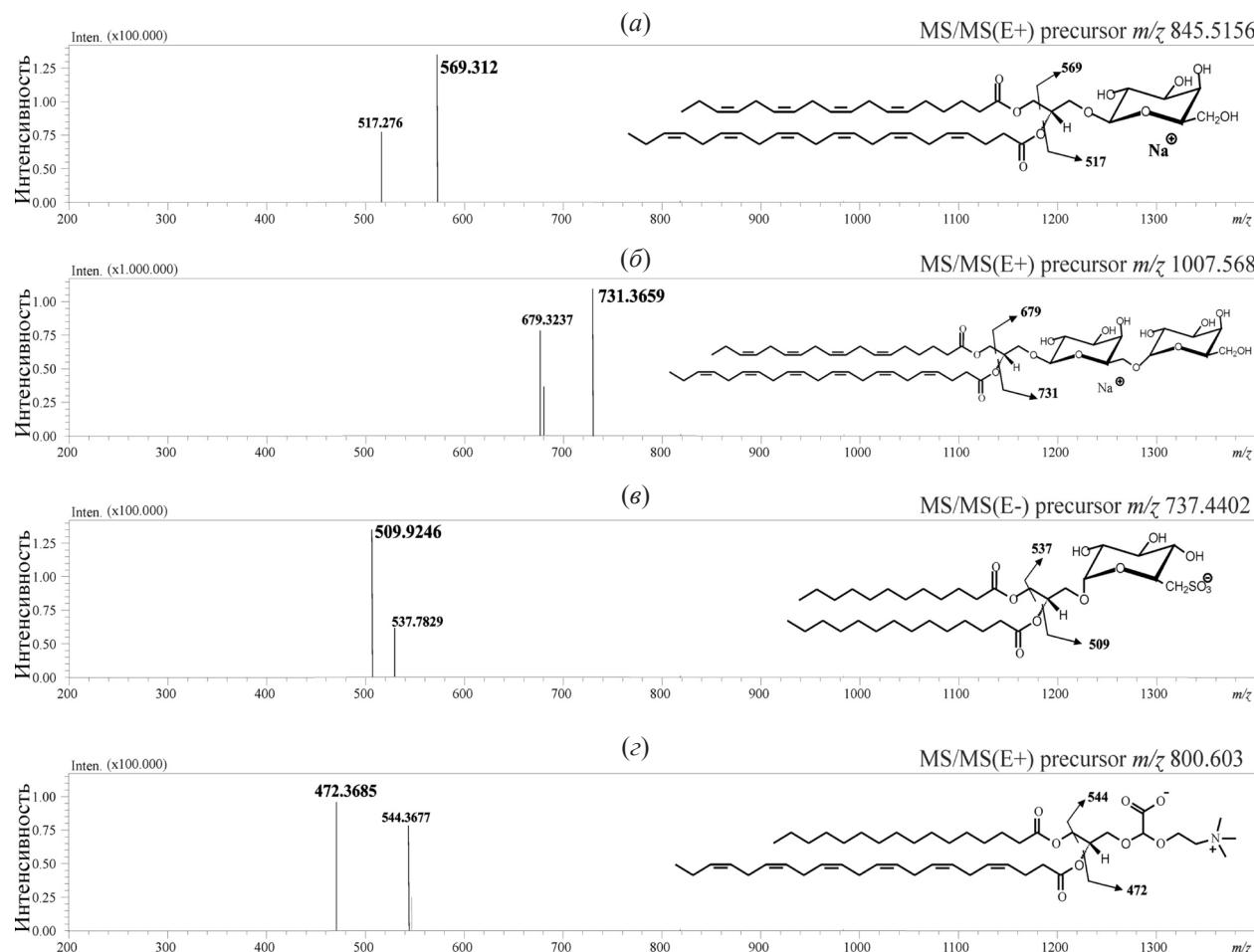


Рис. 1. Масс-спектры и схемы фрагментации гликолипидов морского анемона *E. diaphana*: (а) – моногалактозилдиацилглицерол MGDG 18:4/22:6; (б) – дигалактозилдиацилглицерол DGDG 18:4/22:6; (в) – сульфохиновозилдиацилглицерол SQDG 12:0/14:0; (г) – 1,2-диацилглицерил-3-*O*-карбокси-(гидроксиметил)-холин DGCC 16:0/22:6. MS/MS(E⁺) – MS²-спектр в режиме регистрации положительных ионов, MS/MS(E⁻) – MS²-спектр в режиме регистрации отрицательных ионов.

туру, напоминающую структуру РС, что позволяет предположить, что эти два компонента выполняют одну и ту же или сходную структурную функцию в плазматической мемbrane симбиотических динофлагеллят [29].

Гликолипиды, такие как MGDG, DGDG и SQDG, – это основные компоненты тилакоидной мембраны фотосинтетического аппарата динофлагеллят [30]. В тилакоидной мембране MGDG и DGDG образуют липофильный матрикс, который обеспечивает латеральную диффузию фотосистем [31]. Анионный SQDG имеет серосодержащую полярную функциональную группу, которая взаимодействует с фотосинтетическими белками и аннексинами [31]. Нами было показано, что молекулярные виды MGDG и DGDG у динофлагеллят *E. diaphana* содержали в основном ненасыщенные FA, что служит признаком устойчивых к повышению температуры морской воды динофлагеллят [13, 32]. Молекулярно-генетический анализ подтвердил наличие у морского анемона *E. diaphana* термоустойчивого штамма *Cladocopium thermophilum*. Профиль молекулярных видов галактолипидов – надежный индикатор термоустойчивости динофлагеллят.

Молекулярно-филогенетический анализ. С помощью праймеров PaxC_intron-FP1/PaxC_intron-FR1 были успешно амплифицированы и секвенированы короткие фрагменты длиной 256 п.н. BLAST-поиск выявил ближайшее сходство (98%) с последовательностью ретровирус-связанного Pol-полипротеина из ретротранспозируемого элемента R2 1-го типа у *Exaiptasia*

diaphana (LOC110249153). При сравнении с аминокислотными последовательностями с помощью поиска blastx мы обнаружили, что полученная нами последовательность выравнивается с последовательностями из NCBI, кодирующими связанный с ретровирусом *Pol*-полипротеин из ретротранспозируемого элемента R2 1-го типа и связанный с ретровирусом *Pol*-полипротеин из ретротранспозируемого элемента R2DM 2-го типа из *Exaiptasia diaphana* CC7 (XM_028662195) [33], проявив сходство 95–100%. Анализ последовательностей ядерной 28S D1-D2 рДНК (928 п.н.) показал, что образцы имеют 99–99.9% сходства с последовательностями *E. diaphana* из NCBI. Для анализа автоматического разделения видов (ASAP, Assemble Species by Automatic Partitioning) два итоговых сценария с оценками asap scores/ threshold dist (чем ниже оценка, тем надежнее результаты) приведены на рис. 2. Конечный анализ ASAP показал, что исследуемые в работе колонии анемона наиболее близко связаны с последовательностями из базы NCBI, принадлежащими *E. diaphana*, и входят в одну филогруппу, что также подтверждается предварительным ML-деревом. Согласно генетическому анализу Symbiodiniaceae, все изученные колонии *E. diaphana* содержали *Breviolum minutum*, *Cladocopium thermophilum* и *Gerakladium endoclionum* (рис. 3). Как было показано ранее, *B. minutum* – облигатный симбионт для индо-тихоокеанских и атлантических морских анемонов *E. diaphana* [34]. В настоящем исследовании впервые показан случай ассоциации *C. thermophilum* с *E. diaphana*, хотя в

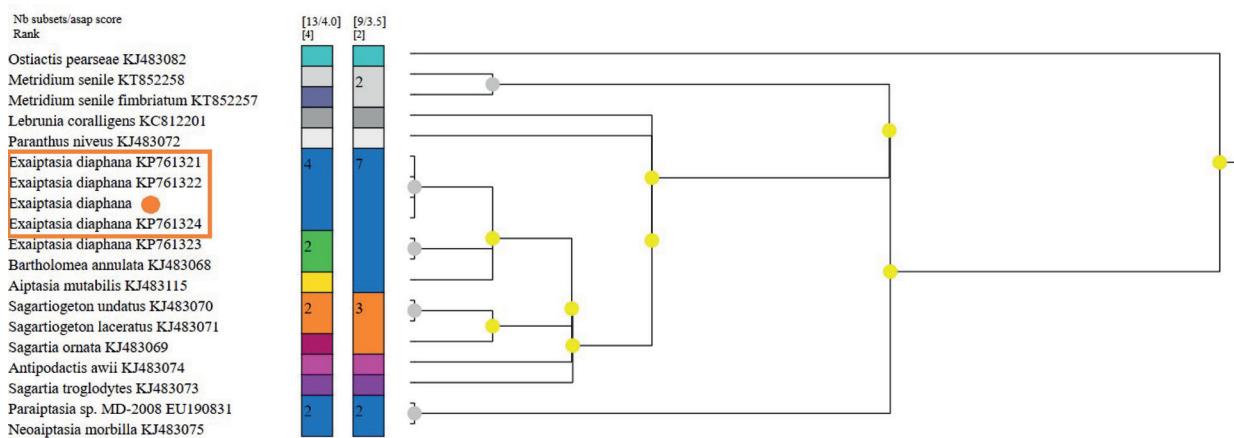


Рис. 2. Определение положения морского анемона и связи с видами семейства Aiptasiidae из базы NCBI на основе ядерных последовательностей 28S рДНК, сгенерированных ASAP, с двумя конечными сценариями (цветные столбцы).

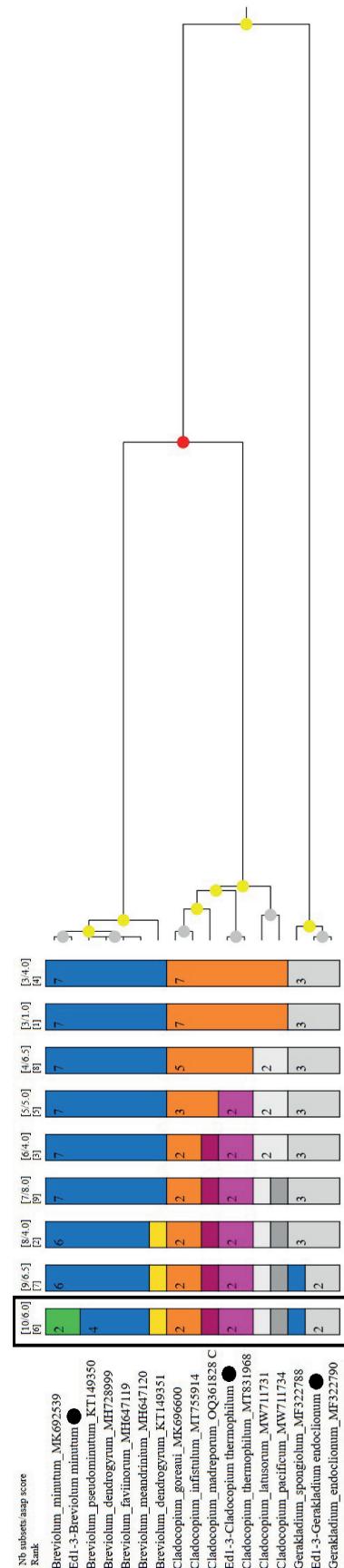


Рис. 3. Определение положения видов семейства Symbiodiniaceae из *Eaipia diaiphana* на основе последовательностей ядерной 28S рДНК, сгенерированных ASAP, с девятью конечными сплайсами (цветные столбцы).

индо-тихоокеанских и атлантических колониях *E. diaphana* обнаруживали другой вид рода – *C. goreai* – в небольшом количестве [34, 35]. *G. endoclonium*, ранее описанный только в ассоциации с губками [36], также впервые обнаружен в ассоциации с *E. diaphana*.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Реагенты. Для экстракции липидов использовали хлороформ, метанол квалификации ч.д.а.; для HPLC – гексан, 2-пропанол, муравьиную кислоту, аммиак, триэтиламин квалификации LC-MS grade (Sigma-Aldrich, США).

Объект исследования. Колонии морских анемонов *Exaiptasia diaphana* (Rapp, 1829) содержали в аквариуме (емкость 500 л) с аэрированной морской водой, которая поступала из залива Петра Великого, Россия, в северо-западной части Японского моря). Колонии освещали белыми люминесцентными лампами (National, FL20SS-N/18) с плотностью потока фотосинтетических фотонов 200 мкмоль фотонов $\text{m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Фотопериод составлял 12 ч света/12 ч темноты. Для анализа липидов использовали три особи морского анемона.

Экстракция липидов. Общие липиды получали с помощью модифицированного метода Folch et al. [37]. Ткани морского анемона массой 2 г измельчали на мелкие кусочки и гомогенизировали в 6 мл смеси хлороформ–метанол (1 : 2), фильтровали через бумажный фильтр, остаток дважды промывали 6 мл смеси хлороформ–метанол (2 : 1). Экстракты объединяли, смешивали с 6 мл хлороформа и 18 мл воды и оставляли расслаиваться на ночь при 4°C. Нижний слой отбирали, упаривали и растворяли в небольшом количестве хлороформа. Общие липидные экстракты хранили при –80°C.

Анализ глициерофосфолипидов и гликолипидов. Содержание и структуру молекулярных видов PL и GL, входящих в состав общих липидных экстрактов, анализировали с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (HPLC) и масс-спектрометрии высокого разрешения. Общий липидный экстракт разделяли на колонке Shim-Pack diol (4.6×50 мм, размер частиц 5 мкм) (Shimadzu, Япония) с использованием хроматографической системы Nexera-e (Shimadzu, Япония). Система растворителей была следующей: система А (2-пропанол–гексан– H_2O – $HCOOH$ – NH_3 – H_2O – Et_3N , $28 : 72 : 1.5 : 0.1 : 0.05 : 0.02$, по

объему), система Б (2-пропанол– H_2O – HCOOH – NH_3 – H_2O – Et_3N , 100 : 1.5 : 0.1 : 0.05 : 0.02, по объему). Процентное содержание системы Б в общем потоке растворителя программировали следующим образом: 0–20% (7 мин), 20–100% (5 мин), 100% (5 мин), 100–0% (0,1 мин) и 0% (10 мин). Скорость элюирования составляла 0.2 мл/мин. Идентификацию молекулярных видов PL и GL проводили на tandemном масс-спектрометре высокого разрешения LCMS-IT-TOF (Shimadzu, Япония). Анализ проводили в режиме ионизации распылением в электрическом поле (ESI) с одновременной регистрацией сигналов положительных и отрицательных ионов. Сканирование осуществляли в диапазоне m/z 100–1200. Потенциал источника составлял 3.5 кВ в случае образования отрицательных ионов и 4.5 кВ в случае положительных ионов. Температура источника ионов 250°C; давление сухого газа (N_2) 200 кПа; поток газа-распылителя (N_2) 1.5 л/мин. В соударительной камере масс-спектрометра использовали аргон (0.003 Па). Процентное содержание определенных молекулярных форм каждого класса глицерофосфолипидов и гликолипидов рассчитывали на основе площади пика отрицательных ионов $[M - H]^-$, за исключением холинглицерофосфолипидов (PC), MGDG, DGDG и DGCC, содержание которых определяли по площади пиков положительных ионов $[M + \text{H}]^+$. Молекулярные виды PL и GL идентифицировали по методу [38, 39].

Молекулярно-филогенетический анализ. Принадлежность к семейству Symbiodiniaceae подтверждали путем секвенирования участка внутреннего транскрибуируемого спайсера (ITS2) и большой субъединицы (28S) рибосомальной ДНК (рДНК). ДНК выделяли из свежих коралловых колоний с использованием протокола на основе гуанидина тиоцианата, опубликованного в работе Сикорской с соавт. [14]. Идентификацию анемона проводили с помощью секвенирования по Сэнгеру ядерной области D1-D2-домена 28S рДНК с использованием праймеров DIR/D2C и условий ПЦР, описанных в работе [40], также амплифицировали ядерный ген, кодирующий тканеспецифический транскрипционный фактор C (*Pax-C*), с помощью праймеров PaxC_intron-FP1/PaxC_intron-RP1 [41].

Подтверждали наличие и определяли Symbiodiniaceae с помощью ПЦР-скрининга и секвени-

рования полученных продуктов с использованием молекулярно-генетических маркеров и в соответствии с протоколами, опубликованными в работах [14, 18]. Последовательности депонировали в GenBank: PQ798901–PQ798903, PQ805399–PQ805416, PQ809264.

Проверяли качество прямых и обратных последовательностей, редактировали и собирали с использованием программного обеспечения Geneious Prime (версия 2022.0.2, Biomatters Limited, Окланд, Новая Зеландия). Последовательности организмов, ассоциированных с кораллами, идентифицировали по их сходству с последовательностями из GenBank [42] и базы данных SymPortal (<https://symportal.org/>), которые затем использовали для межвидового и внутривидового анализа. Выравнивание выполняли с использованием программы MAFFT (версия 7) [43] с настройками по умолчанию, реализованными в Geneious Prime, и проверяли, чтобы исключить неоднозначные сложно выравниваемые области. Все специфичные для С3-клады последовательности области ITS2 проверяли на наличие/отсутствие 8-нуклеотидной делеции “*S. thermo.-indel*” [44]. Последовательности ядерной 28S рДНК использовали для разграничения видов Symbiodiniaceae с помощью ASAP [45]. ASAP запускали на веб-сервере <https://bioinfo.mnhn.fr/abi/public/asap/> с применением дистанционной модели Кимура (K80) с TS/TV = 2.0 (рис. 3).

Набор данных из 19 близкородственных последовательностей D1-D2-доменов 28S рДНК *Exaiptasia* sp. предварительно анализировали с использованием метода максимального правдоподобия (ML). Дерево ML построили на базе веб-сервера IQ-TREE [46] после выбора моделей замещения (K2P+I), основываясь на байесовском информационном критерии (BIC) в ModelFinder [47]. Поддержку ветвей оценивали с использованием следующих параметров: 1000 повторов с помощью SH-aLRT (тест приблизительного отношения правдоподобия [aLRT] и Шимодайра–Хасегава [SH]-aLRT), теста ответвлений [-alrt] [48], метод бутстрепа, основанный на анализе 1000 копий UFBoot2 [49] с минимальной корреляцией 0.99 в качестве критерия конвергентности, и приблизительный тест Байеса [-aBayes] [50]. Чтобы оценить предполагаемые видовые линии в семействе Aiptasiidae, мы использовали автоматизированный метод определения границ видов на

основе ядерных последовательностей D1-D2-доменов 28S рДНК – ASAP. Исследование ASAP проводили с использованием дистанционной модели Кимура (K80) при TS/TV = 2.0 (рис. 2).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Впервые были идентифицированы молекулярные виды глицерофосфолипидов и гликолипидов морского анемона *Exaiptasia diaphana* и его симбионтов с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием. Был подтвержден род и вид морского анемона *E. diaphana*, а также были идентифицированы его симбионты.

Для морских анемонов характерно преобладание молекулярных видов основных классов PL с FA 22:4 [12]. Большая часть молекулярных видов PC и PE находилась в этерной форме, а молекулярные виды PS и PI были в диацильной форме. Кроме того, можно отметить, что у основных молекулярных видов PL присутствует FA 22:6, источником которой выступают симбиотические динофлагелляты [27, 51]. Липиды могут транспортироваться от членов микробиального сообщества *E. diaphana* для биосинтеза его собственных FA [12]. В результате нашего исследования мы не обнаружили молекулярные виды PL с гидроксилированными FA, источником которых выступают грибы [12]. В следовых количествах присутствовали молекулярные виды с нечетными FA (18:1e/17:1 PE), что указывает на наличие бактерий у *E. diaphana* [52]. В общем липидном экстракте были обнаружены липиды тилакоидных мембран динофлагеллят MGDG, DGDG и SQDG. У MGDG и DGDG преобладали молекулярные виды с ПНЖК 18:4/18:5 ($57.65 \pm 1.34\%$) и 18:3/18:5, 18:4/18:4 ($35.72 \pm 0.68\%$), 18:4/22:6 ($25.99 \pm 1.16\%$) соответственно. У SQDG преобладал насыщенный молекулярный вид 14:0/16:0 ($69.39 \pm 2.97\%$). Эти данные о липидоме тилакоидной мембранны позволяют сделать вывод о термоустойчивости симбиотических динофлагеллят морского анемона *E. diaphana* [13, 32]. Также этот вывод подтверждается данными генетического анализа, при котором обнаружили термоустойчивых эндосимбиотических динофлагеллят, таких как *Breviolum minutum*, *Cladocopium thermophilum* и *Gerakladium endoclonium*.

Одно из основных фундаментальных значений данной работы – понимание взаимоотношений

между организмом-хозяином и его эндосимбионтами, как происходит транспорт FA между членами симбиоза, какой вклад вносит каждый член микробиального сообщества организма-хозяина. Установление термоустойчивости эндосимбиотических динофлагеллят организмов типа Cnidaria с помощью липидомного и генетического подходов может внести вклад в исследование механизмов адаптации к температурным изменениям и мониторинга устойчивости видов к изменениям климата.

ФОНДОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Данная работа не имеет финансовой поддержки.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит описания исследований с участием людей или использованием животных в качестве объектов исследования.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

Концептуализация – ЕЕВ, СТВ; экспериментальные работы – БЕТ, ЕКВ; написание статьи – БЕТ, ЕКВ, КСА; анализ данных – БЕТ, ЕКВ, КСА; администрирование проекта – ЕЕВ, СТВ.

Все авторы дали одобрение на окончательный вариант рукописи.

ДОСТУПНОСТЬ ДАННЫХ

Данные, подтверждающие выводы настоящего исследования, можно получить у корреспондирующего автора по обоснованному запросу.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Bogdanov M., Dowhan W. // J. Biol. Chem. 1999. V. 274. P. 36827–36830.
<https://doi.org/10.1074/jbc.274.52.36827>
2. Daly M., Brugler M.R., Cartwright P., Collins A.G., Dawson M.N., Fautin D.G., France S.C., McFadden C.S., Opresco D.M., Rodriguez E., Romano S.L., Stake J.L. // Zootaxa. 2007. V. 1668. P. 127–182.
<https://doi.org/10.5281/zenodo.180149>
3. Madio B., King G.F., Undheim E.A.B. // Mar. Drugs. 2019. V. 17. P. 325.
<https://doi.org/10.3390/md17060325>.

4. Garrett T.A., Schmeitzel J.L., Klein J.A., Hwang J.J., Schwarz J.A. // PLoS One. 2013. V. 8. P. e57975. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0057975>
5. Muscatine L. // Science. 1967. V. 156. P. 516–519. <https://doi.org/10.1126/science.156.3774.516>
6. Dungan A.M., Hartman L.M., Tortorelli G., Belderok R., Lamb A.M., Pisan L., McFadden G.I., Blackall L.L., van Oppen M.J.H. // Symbiosis. 2020. V. 80. P. 195–206. <https://doi.org/10.1007/s13199-020-00665-0>
7. Weis V.M., Davy S.K., Hoegh-Guldberg O., Rodriguez-Lanetty M., Pringle J.R. // Trends Ecol. Evol. 2008. V. 23. P. 369–376. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2008.03.004>
8. Yamashiro H., Oku H., Higa H., Chinen I., Sakai K. // Comp. Biochem. Phys. B. 1999. V. 122. P. 397–407. [https://doi.org/10.1016/S0305-0491\(99\)00014-0](https://doi.org/10.1016/S0305-0491(99)00014-0)
9. Sikorskaya T.V., Imbs A.B. // Russ. J. Bioorg. Chem. 2020. V. 46. P. 643–656. <https://doi.org/10.1134/S1068162020050234>
10. Bishop D.G., Kenrick J.R. // Lipids. 1980. V. 15. P. 799–804. <https://doi.org/10.1007/BF02534368>
11. Imbs A.B., Rybin V.G., Kharlamenko V.I., Dang L.P.T., Nguyen N.T., Pham K.M., Pham L.Q. // Russ. J. Mar. Biol. 2015. V. 41. P. 461–467. <https://doi.org/10.1134/S1063074015060048>
12. Sikorskaya T.V. // Mar. Drugs. 2023. V. 21. P. 335. <https://doi.org/10.3390/md21060335>
13. Rosset S., Koster G., Brandsma J., Hunt A.N., Postle A.D., D'Angelo C. // Coral Reefs. 2019. V. 38. P. 1241–1253. <https://doi.org/10.1007/s00338-019-01865-x>
14. Sikorskaya T.V., Efimova K.V., Imbs A.B. // Phytochemistry. 2021. V. 181. P. 112579. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2020.112579>
15. Weis V.M. // Integr. Comp. Biol. 2019. V. 59. P. 845–855. <https://doi.org/10.1093/icb/icz067>
16. Tchernov D., Gorbunov M.Y., de Vargas C., Narayan Yadav S., Milligan A.J., Häggblom M., Falkowski P.G. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2004. V. 37. P.13531–13535. <https://doi.org/10.1073/pnas.0402907101>
17. Sikorskaya T.V., Ermolenko E.V., Ginanova T.T., Boroda A.V., Efimova K.V., Bogdanov M. // Commun. Biol. 2024. V. 7. P. 878. <https://doi.org/10.1038/s42003-024-06578-8>
18. Sikorskaya T.V., Ermolenko E.V., Efimova K.V., Dang L.T.P. // Mar. Drugs. 2022. V. 20. P. 485. <https://doi.org/10.3390/md20080485>
19. Dean J.M., Lodhi I.J. // Protein Cell. 2018. V. 9. P. 196–206. <https://doi.org/10.1007/s13238-017-0423-5>
20. Lohner K. // Chem. Phys. Lipids. 1996. V. 81. P. 167–184. [https://doi.org/10.1016/0009-3084\(96\)02580-7](https://doi.org/10.1016/0009-3084(96)02580-7)
21. Kay J.G., Fairn G.D. // Cell Commun. Signal. 2019. V. 17. P. 126. <https://doi.org/10.1186/s12964-019-0438-z>
22. Tomonaga N., Manabe Y., Sugawara T. // Lipids. 2017. V. 52. P. 353–362. <https://doi.org/10.1007/s11745-017-4239-0>
23. Chintalapati M., Truax R., Stout R., Portier R., Losso J.N. // J. Agric. Food Chem. 2009. V. 57. P. 5201–5210. <https://doi.org/10.1021/jf803818y>
24. Sikorskaya T.V. // Chem. Nat. Compd. 2020. V. 56. P. 44–49. <https://doi.org/10.1007/s10600-020-02940-4>
25. Ermolenko E.V., Sikorskaya T.V. // Biochem. Syst. Ecol. 2021. V. 97. P. 104276. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2021.104276>
26. Garrett T.A., Hwang J., Schmeitzel J.L., Schwarz J. // FASEB J. 2011. V. 25. P. 938.2. https://doi.org/10.1096/fasebj.25.1_supplement.938.2
27. Imbs A.B., Latyshev N.A., Dautova T.N., Latypov Y.Y. // Mar. Ecol. Prog. Ser. 2010. V. 409. P. 65–75. <https://doi.org/10.3354/meps08622>
28. Flaim G., Obertegger U., Anesi A., Guella G. // Freshwater Biol. 2014. V. 59. P. 985–997. <https://doi.org/10.1111/fwb.12321>
29. Künzler K., Eichenberger W., Radunz A. // Z. Naturforsch. C J. Biosci. 1997. V. 52. T. 487–495.
30. Hözl G., Dörmann P. // Annu. Rev. Plant Biol. 2019. V. 70. P. 51–81. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050718-100202>
31. Boudière L., Michaud M., Petroutsos D., Rébeillé F., Falconet D., Bastien O., Roy S., Finazzi G., Rolland N., Jouhet J., Block M.A., Maréchal E. // Biochim. Biophys. Acta. 2014. V. 1837. P. 470–480. <https://doi.org/10.1016/j.bbabiobio.2013.09.007>
32. Botana T.M., Chaves-Filho A.B., Inague A., Güth, A.Z., Saldanha-Correa F., Müller M.N., Sumida P.Y.G., Miyamoto S., Kellermann M.Y., Valentine R.C., Yoshinaga M.Y. // Limnol. Oceanogr. 2022. V. 67. P. 1456–1469. <https://doi.org/10.1002/lno.12094>
33. Baumgarten S., Simakov O., Esherick L.Y., Liew Y.J., Lehnert E.M., Michell C.T., Li Y., Hambleton E.A., Guse A., Oates M.E., Gough J., Weis V.M., Aranda M., Pringle J.R., Voolstra C.R. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2015. V. 112. P. 11893–11898. <https://doi.org/10.1073/pnas.1513318112>

34. *Thornhill D.J., Xiang Y., Pettay D.T., Zhong M., Santos S.R.* // Mol. Ecol. 2013. V. 22. P. 4499–4515.
<https://doi.org/10.1111/mec.12416>
35. *Núñez-Pons L., Bertocci I., Baghdasarian G.* // Mar. Environ. Res. 2017. V. 130. P. 303–314.
<https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2017.08.005>
36. *Ramsby B.D., Hill M.S., Thornhill D.J., Steenhuizen S.F., Achlatis M., Lewis A.M., LaJeunesse T.C.* // J. Psychol. 2017. V. 53. P. 951–960.
<https://doi.org/10.1111/jpy.12576>
37. *Folch J., Lees M., Sloane-Stanley G.A.* // J. Biol. Chem. 1957. V. 226. P. 497–509.
[https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)64849-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)64849-5)
38. *Sikorskaya T.V., Ermolenko E.V., Imbs A.B.* // J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 2020. V. 524. P. 151295.
<https://doi.org/10.1016/j.jembe.2019.151295>
39. *Imbs A.B., Dang L.P.T., Nguyen K.B.* // PLoS One. 2019. V. 14. P. e0215759.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0215759>
40. *Scholin C.A., Herzog M., Sogin M., Anderson D.M.* // J. Psychol. 1994. V. 30. P. 999–1011.
<https://doi.org/10.1111/j.0022-3646.1994.00999.x>
41. *van Oppen M.J., McDonald B.J., Willis B., Miller D.J.* // Mol. Biol. Evol. 2001. V. 18. P. 1315–1329.
<https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a003916>
42. *Altschul S.F., Gish W., Miller W., Myers E.W., Lipman D.J.* // J. Mol. Biol. 1990. V. 215. P. 403–410.
[https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(05\)80360-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80360-2)
43. *Katoh K., Rozewicki J., Yamada K.D.* // Brief Bioinform. 2019. V. 20. P. 1160–1166.
<https://doi.org/10.1093/bib/bbx108>
44. *Hume B.C., D'Angelo C., Smith E.G., Stevens J.R., Burt J., Wiedenmann J.* // Sci. Rep. 2015. V. 5. P. 8562.
<https://doi.org/10.1038/srep08562>
45. *Puillandre N., Brouillet S., Achaz G.* // Mol. Ecol. Resour. 2021. V. 21. P. 609–620.
<https://doi.org/10.1111/1755-0998.13281>
46. *Nguyen L.T., Schmidt H.A., von Haeseler A., Minh B.Q.* // Mol. Biol. Evol. 2015. V. 32. P. 268–274.
<https://doi.org/10.1093/molbev/msu300>
47. *Kalyaanamoorthy S., Minh B.Q., Wong T.K.F., von Haeseler A., Jermiin L.S.* // Nat. Methods. 2017. V. 14. P. 587–589.
<https://doi.org/10.1038/nmeth.4285>
48. *Guindon S., Dufayard J.F., Lefort V., Anisimova M., Hordijk W., Gascuel O.* // Syst. Biol. 2010. V. 59. P. 307–321.
<https://doi.org/10.1093/sysbio/syq010>
49. *Hoang D.T., Chernomor O., von Haeseler A., Minh B.Q., Vinh L.S.* // Mol. Biol. Evol. 2018. V. 35. P. 518–522.
<https://doi.org/10.1093/molbev/msx281>
50. *Anisimova M., Gil M., Dufayard J.F., Dessimoz C., Gascuel O.* // Syst. Biol. 2011. V. 60. P. 685–699.
<https://doi.org/10.1093/sysbio/syr041>
51. *Viso A.C., Marty J.C.* // Phytochemistry. 1993. V. 34. P. 1521–1533.
[https://doi.org/10.1016/s0031-9422\(00\)90839-2](https://doi.org/10.1016/s0031-9422(00)90839-2)
52. *Řezanka T., Siristova L., Matoušková D., Sigler K.* // Lipids. 2011. V. 46. P. 765–780.
<https://doi.org/10.1007/s11745-011-3556-y>

Molecular Species of Membrane Lipids of the Sea Anemone *Exaiptasia diaphana* and Its Symbionts

E. T. Bzikashvili*, #, S. A. Kozlovskiy*, E. V. Ermolenko*,
K. V. Efimova*, and T. V. Sikorskaya*

Phone: +7(423)2310905, e-mail: bilielena801@gmail.com

* A.V. Zhirmunsky National Scientific Center of Marine Biology Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences,
ul. Palchevskogo 17, Vladivostok, 690041 Russia

The molecular types of membrane lipids of the sea anemone *Exaiptasia diaphana* and the molecular types of glycolipids of its symbionts were studied using the method of high-performance liquid chromatography with mass spectrometric detection. A total of 82 molecular types of *E. diaphana* glycerophospholipids were identified, the main ones being 16:0/22:6 cholinglycerophospholipid (PC), 18:1e/20:4 and 18:1e/20:5 ethanolamininglycerophospholipids (PE), 18:0/22:4 seringlycerophospholipid (PS), 18:0/22:4 inositolgycero-phospholipid (PI), 18:2b/16:0 ceramidaminoethylphosphonate (CAEP). 36 molecular types of glycolipids have been identified in symbionts. The main molecular species were 18:4/18:5 monohalactosyldiacylglycerol (MGDG), 18:3/18:5 and 18:4/18:4 digalactosyldiacylglycerols DGDG, 14:0/16:0 sulfoquinovosyldiacylglycerol (SQDG). Molecular genetic analysis revealed that all *E. diaphana* colonies contained the following dinoflagellates: *Breviolum minutum*, *Cladocopium thermophilum*, and *Gerakladium endoclo-num*. The profile of the molecular types of lipids of the host organism can act as a chemotaxonomic feature, and galactolipids of symbionts indicate resistance to changes in seawater temperature. This study contributes to the development of lipidomics of marine organisms of the phylum Cnidaria.

Keywords: sea anemones, tandem mass-spectrometry, phospholipids, glycolipids, lipidomics, lipid molecular species