

ГОЦУЛЯК В. Я.<sup>1</sup>, БЛЮМ Р. Я.<sup>1✉</sup>, ДЕМИДОВ С. В.<sup>2</sup>, САВЧУК О. М.<sup>2</sup>, ЄМЕЦЬ А. І.<sup>1</sup>, БЛЮМ Я. Б.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України, Україна, 04123, м. Київ, вул. Байди-Вишневецького, 2А, ORCID: 0009-0007-5162-7232, 0000-0003-4936-1803, 0000-0001-6887-0705, 0000-0001-7078-7548

<sup>2</sup> ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка, Україна, 03022, м. Київ, просп. Академіка Глушкова, 2, ORCID: 0000-0000-0000-0000, 0000-0003-3621-6981

✉ [blume.rostislav@gmail.com](mailto:blume.rostislav@gmail.com), (044) 463-05-32

## ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ ЛІПАЗ *BRASSICA CARINATA* І ПРОМИСЛОВИХ ЛІПАЗ ГРИБНОГО ПОХОДЖЕННЯ, ЯКІ ВИКОРИСТОВУЮТЬСЯ ДЛЯ ВИРОБНИЦТВА БІОДИЗЕЛЮ

**Мета.** Ідентифікувати гени ендогенних триацилгліцерол-ліпаз (ТАГ-ліпаз) у геномі карінати (*Brassica carinata*) і проаналізувати подібність їх амінокислотних послідовностей з відповідними послідовностями промислових ліпаз грибною походження. **Методи.** Повногеномний пошук послідовностей ТАГ-ліпаз карінати, анотація їх генів, вирівнювання їх послідовностей, філогенетичний аналіз, ідентифікація консервативних мотивів послідовностей і функціональних доменів цих білків. **Результати.** Ідентифіковано 13 генів ТАГ-ліпаз карінати, реконструйовано їх філогенетичне положення відносно ліпаз рижію і промислових ліпаз грибною походження. Проаналізовано доменну будову ТАГ-ліпаз карінати, а також виявлено міру дивергенції послідовностей їх функціональних регіонів. **Висновки.** Виявлено грибні ліпази, які є найбільш подібними за особливостями доменної організації до ідентифікованих ТАГ-ліпаз *B. carinata*, а, отже, потенційно могли би бути використані для підвищення ефективності трансестерифікації олії карінати.

**Ключові слова:** олійні культури, каріната, *Brassica carinata*, біодизель, ліпази, трансестерифікація, повногеномний пошук.

На сьогодні глобальні кліматичні зміни, спричинені викидами парникових газів, вважаються однією з найважливіших світових проблем. У зв'язку з цим, питання заміщення традиційний палив – продуктів нафтопереробки, стає надзвичайно актуальним, у тому числі і для України [1]. Використання рідких біопалив, отриманих на основі рослинних олій, зокрема біодизелю, може суттєво зменшити рівень ви-

кидів парникового газу й інших забруднювачів у атмосферу [2]. На жаль, недостатня ефективність виробництва біопалив і, відповідно, їх дороговизна суттєво лімітують масштабне впровадження різних видів альтернативного палива [1–5], тому головними завданнями для вирішення зазначених проблем є пошук дешевої сировини й нових технологічних рішень.

Наразі в промислових цілях використовують більше третини рослинних олій. Найбільш поширеними у Європі й Північній Америці є такі олійні культури, як соняшник (*Helianthus annuus*), соя (*Glycine max*), ріпак (*Brassica napus*) й ін. [1, 3, 4]. Окрім ріпаку, інші рослини з родини Хрестоцвітних (Brassicaceae) також набули широкого поширення і культивуються як у харчових, так і в промислових цілях, зокрема суріпиця (*Brassica rapa* ssp. *oleifera*, syn. *Brassica campestris*), гірчиця сарептська (*Brassica juncea*), гірчиця чорна (*Brassica nigra*) й ін. Більше того, такі перспективні біопаливні олійні культури, як рижій посівний (*Camelina sativa*), талабан (*Thlaspi arvense*) й абіссинська гірчиця, або каріната (*Brassica carinata*) також належать до цієї родини [1–3, 5].

Однак, такі нові олійні культури, як талабан і рижій, мають ряд агротехнічних недоліків, зокрема недостатню врожайність, котрі обмежують широке використання цих рослин. У свою чергу, каріната позбавлена подібних недоліків, а процес її вирощування й обробки є подібним до ріпаку. Більше того, каріната вже вирощується як технічна олійна культура у низці країн, наприклад, у Канаді та США [3, 4]. В Україні вид *B. carinata* у природі не зустрічається, а до останнього часу взагалі не вирощувався.

© ГОЦУЛЯК В. Я., БЛЮМ Р. Я., ДЕМИДОВ С. В., САВЧУК О. М., ЄМЕЦЬ А. І., БЛЮМ Я. Б.

Тим не менш, протягом останніх років у рамках співпраці ІХБГ НАНУ і НБС ім. М. М. Гришка було створено унікальний генофонд селекційних ліній і сортотразків цієї олійної культури, що відкриває перспективи для подальшого її поширення і впровадження в Україні [5].

Найчастіше конверсія рослинних олій у біопаливо (біодизель) здійснюється шляхом їх трансестерифікації у метилові або етилові естери жирних кислот, що забезпечується використанням лужного каталізатора. Інші варіанти виробництва біодизелю передбачають використання надкритичних умов або введення у реакційну суміш розчинників чи інших речовин, які можуть підвищити ефективність реакції [1]. Однак, лише у випадку ферментативної трансестерифікації за допомогою ліпаз можна досягти найбільш повної конверсії триацилгліцеридів (ТАГ) у спиртові естери жирних кислот [6]. Варто також зазначити, що ліпази, на відміну від неорганічних каталізаторів, здатні як до хімічно-селективної конверсії, так і є регіоселективними [1, 6]. Специфічність ліпаз до тригліцеридів певного типу забезпечується як особливостями просторової конформації цих ензимів, так і особливостями їх амінокислотних послідовностей і може відрізнятися у представників різних видів [1].

Саме тому метою цієї роботи був аналіз особливостей послідовностей ключових функціональних доменів ендегенних ліпаз *B. carinata*, які еволюційно адаптовані до розщеплення ТАГ насіння карінати з комерційними ліпазами, що використовуються для виробництва біодизелю.

### Матеріали і методи

Дані про специфічність комерційно доступних триацилгліцерол-ліпаз (ТАГ-ліпаз), їх типи і їх походження були отримані із супровідної документації, наданої виробником (<https://www.strem.com/catalog/gl/101/>). Детальні відомості про ID послідовностей цих ліпаз і організм походження наведені у нашому попередньому дослідженні [1]. У цьому дослідженні були використані такі амінокислотні послідовності ліпаз: O59952 (*Thermomyces lanuginosa*; відповідає комерційним ліпазам Lipozyme TL IM та TL 100 L), P41365 (*Candida antarctica*; Lipozyme CALB L та Novozym 435), 2VEO\_A (*C. antarctica*; NovoCor AD L), P19515 (*Rhizomucor miehei*; Lipozyme RM та Palatase 20000 L), а також ліпази Q2UPK8 і

XP\_023090724 (*Asperigillus oryzae*; Resinase NAT).

Також нами були ідентифіковані гени ендегенних ТАГ-ліпаз *B. carinata*. Для повногеномного пошуку була використана остання збірка геному *B. carinata* – GCA\_016771965.1. Пошук здійснювали за допомогою алгоритму BLAST, інтегрованого у NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Як референтні використовували послідовності ліпаз арабідопсису (*Arabidopsis thaliana*) (табл. 1), отримані з бази даних KEGG Genome (<https://www.genome.jp/kegg/genome/>). Слід зазначити, що усі відібрані референтні ліпази *A. thaliana*, були функціонально анотовані у KEGG за EC номером 3.1.1.3, що відповідає коду ТАГ-ліпаз. Ділянки геному, в яких за допомогою BLAST-пошуку було підтверджено наявність гена тієї чи іншої ТАГ-ліпази, були екстраговані й в подальшому анотовані за допомогою Web-Scipio (<https://www.webscipio.org/search>) [7]. Ця процедура дозволила ідентифікувати гени досліджуваних ТАГ-ліпаз, встановити їх екзон-інтронну структуру, отримати дані про кодуєчу послідовність гена і послідовності трансльованих пептидів.

Для подальших біоінформатичних аналізів були використані білкові послідовності ідентифікованих ліпаз карінати (табл. 1), а також послідовності комерційно доступних ліпаз. Наявність консервативних мотивів, спільних для усіх послідовностей, була виявлена за допомогою алгоритму MEME Suite 5.5.2 (<https://meme-suite.org/meme/index.html>). Ідентифікація структурних і функціональних доменів послідовностей ліпаз була здійснена за допомогою InterPro (<https://www.ebi.ac.uk/interpro/>), спираючись на інформацію з бази даних Pfam. Локалізація консервативних мотивів і доменів була візуалізована за допомогою програмного забезпечення TVtools v2.045 [8].

Для філогенетичного аналізу амінокислотні послідовності як повних білків, так і їх окремих доменів були вирівняні за допомогою алгоритму MUSCLE і відредаговані з метою видалення переривчастих ділянок (гепів), котрі негативно впливають на точність реконструкції філогенії. Філогенетичні дерева були побудовані з використанням веб-версії програмного забезпечення IQ-TREE (<http://iqtree.cibiv.univie.ac.at/>) [9] за допомогою методу Maximum Likelihood (ML) з бустреп-підтримкою в 1000 ітерацій. Підбір оптимальної

моделі амінокислотних замін здійснювали за допомогою того ж програмного забезпечення. Філогенетичні дерева було візуалізовано за допомогою веб-версії програмного забезпечення iTOL v6 (<https://itol.embl.de/>) [10].

### Результати та обговорення

Загалом у дослідженому геномі *B. carinata* було виявлено 13 функціональних генів ТАГ-ліпаз різних типів (табл. 1). Усі гени були представлені гомеологічними парами, що були утворені генами, які походять з В і С підгеномів *B. carinata*.

Як і у попередньому дослідженні [1], нами було ідентифіковано ліпази, які належать до чотирьох основних типів ТАГ-ліпаз, а саме: ТАГ-ліпази 1 та 2 (TAG lipase-like 1, TAG lipase-like 2),  $\alpha/\beta$ -ТАГ-ліпази 2 ( $\alpha/\beta$ -TAG lipase-like 2), цукор-залежні ТАГ-ліпази (SDP1-like (sugar-dependent 1-like) TAG lipase), а також пататин-подібні ТАГ-ліпази (Patatin-like TAG lipase) (табл. 1). Слід зазначити, що більшість цукор-залежних ТАГ-ліпаз (SDP1 і Patatin-like TAG lipase) специфічно експресуються у насінні й розщеплюють саме ліпіди насіння [1, 11]. З огляду на це слід очікувати, що ТАГ-ліпази саме цих груп є найбільш спеціалізованими для розщеплення ліпідів *B. carinata*.

На наступному етапі нами було здійснено філогенетичний аналіз ідентифікованих білків ТАГ-ліпаз *B. carinata* і *A. thaliana* (табл. 1), а також комерційних ТАГ-ліпаз і ліпаз *C. sativa*, охарактеризованих нами раніше [1]. Отримані

результати свідчать про те, що аналізовані ліпази поділяються на дві великі філогенетичні групи (рис. 1). Перша група була представлена цукор-залежними і пататин-подібними ТАГ-ліпазами *B. carinata*, їх ортологами з геномів *A. thaliana* і *C. sativa*, а також трьома ліпазами грибного походження: 2VEO\_A (*C. antarctica*) і Q2UPK8 і XP\_023090724 (*A. oryzae*). У свою чергу, друга група була представлена гомеологами ТАГ-ліпаз 1, 2 і  $\alpha/\beta$ -ТАГ-ліпаз *B. carinata*, їх ортологами у арабідопсису й рижю посівного та ліпазами O59952 (*T. lanuginosa*), P41365 (*C. antarctica*), P19515 (*R. miehei*) (рис. 1).

На наступному етапі нами було ідентифіковано консервативні мотиви у послідовностях ідентифікованих ліпаз *B. carinata* й у комерційних грибних ліпазах (рис. 2). Загалом було виявлено 14 консервативних мотивів, характерних для аналізованих послідовностей. Слід зауважити, що послідовності досліджених комерційних ТАГ-ліпаз *T. lanuginosa*, *C. antarctica* і *R. miehei* не містили жодного мотиву, який був би аналогічним до консервативних фрагментів послідовностей ТАГ-ліпаз *B. carinata*. У той же час, послідовності двох ТАГ-ліпаз *A. oryzae*, Q2UPK8 і XP\_023090724, містили консервативні мотиви, характерні для пататин-подібних і цукор-залежних ТАГ-ліпаз (за винятком мотивів 11, 5, 8 та 10 у деяких випадках) (рис. 2). Ліпази з двох різних філогенетичних груп спільних мотивів не мали. Так,  $\alpha/\beta$ -ТАГ-ліпази і ТАГ-ліпази 1 й 2 мали консервативні мотиви 12, 7, 9 та 13 у своїх послідовностях.

Таблиця 1. Ідентифіковані у геномі *B. carinata* гени ТАГ-ліпаз

NCBI ID гена	Назва білка	Довжина білка (а. з.)	Локус (хромосома : геномні координати, п. н.)	Ортолог у геномі <i>A. thaliana</i>
Vca52824_016244	VcTAGL1-1	395	B3:43'730'799-43'734'969	TAG Lipase 1 (AT2G15230)
Vca52824_073508	VcTAGL1-2	395	C6:49'183'377-49'185'384	
Vca52824_036964*	VcTAGL2-1	408	B8:42'327'238-42'329'856	TAG Lipase 2 (AT5G14180)
Vca52824_056523	VcTAGL2-2	398	C4:4'384'841-4'387'543	
Vca52824_012978*	VcABTAGL2-1	610	B3:7'973'828-7'976'217	A/B TAG Lipase 2 (AT1G18460)
Vca52824_078798*	VcABTAGL2-2	609	C7:46'780'417-46'782'941	
Vca52824_095194*	VcABTAGL2-3	584	Contig2020:37'355-40'557	
Vca52824_082296	VcSDPIL-1	699	C8:28'175'328-28'178'394	SDP1-like (AT3G57140)
Vca52824_007618	VcSDPIL-2	641	B2:9'138'367-9'141'564	
Vca52824_005763	VcPLTAGL-1	760	B1:68'973'448-68'976'441	Patatin-like TAG Lipase (AT5G04040)
Vca52824_021788	VcPLTAGL-2	772	B5:2'245'061-2'251'097	
Vca52824_050437	VcPLTAGL-3	809	C3:196'654-199'730	
Vca52824_069577*	VcPLTAGL-4	741	C6:9'522'462-9'525'526	

Примітка. \* Ідентифікований ген є частиною послідовності, яка записана під зазначеним ID-номером.

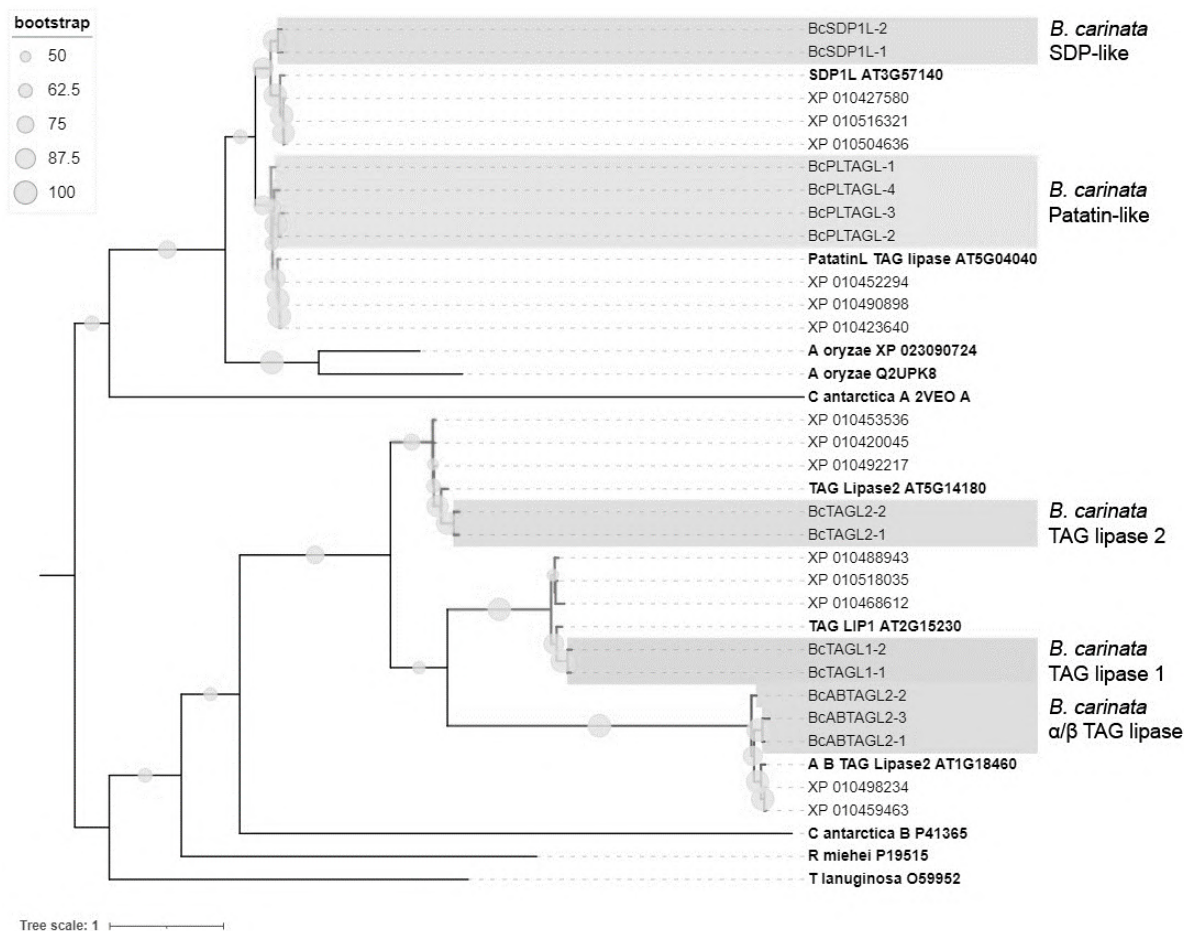


Рис. 1. Реконструкція філогенетичних співвідношень аналізованих ліпаз і їх розподілу на окремі еволюційні групи відповідно до особливостей їх амінокислотних послідовностей. Древа побудовано за допомогою методу ML (з моделлю заміни JTT+G4) з бутстреп-підтримкою у 1000 ітерацій.

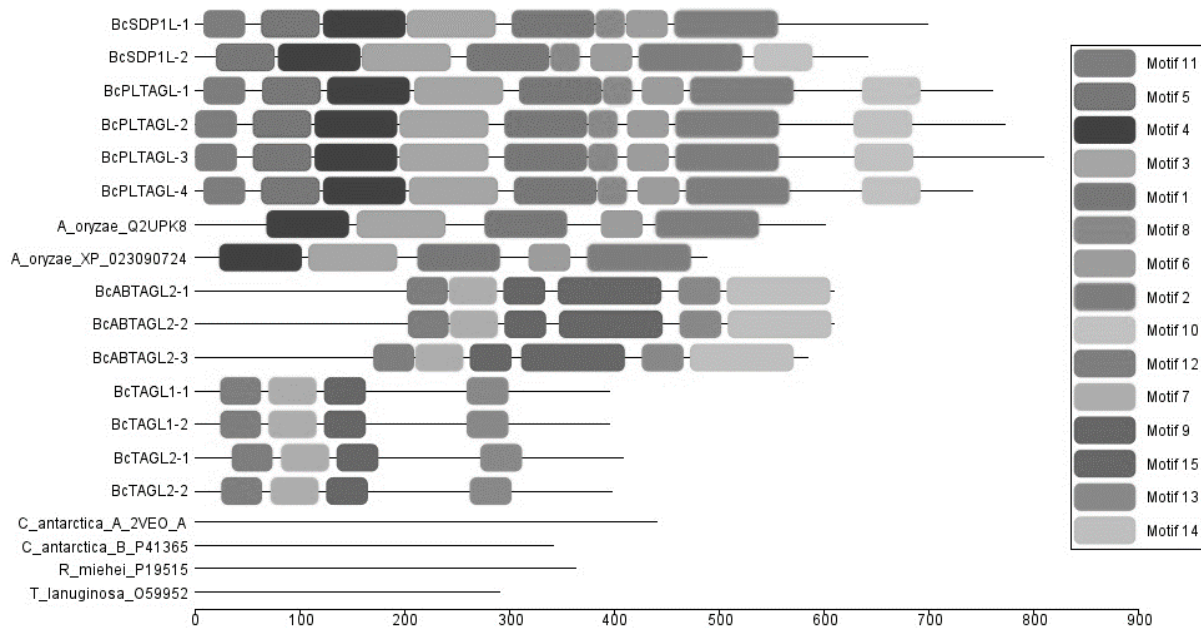


Рис. 2. Наявність і розташування консервативних мотивів амінокислотних послідовностей аналізованих TAG-ліпаз *B. carinata*. Шкала вказана в одиницях амінокислотних залишків.

Результати аналізу доменної будови ідентифікованих ТАГ-ліпаз свідчать про те, що наявність того чи іншого функціонального домену чітко корелює з набором консервативних мотивів, притаманних певній філогенетичній групі ліпаз (рис. 3). Саме наявність пататин-подібного домену у BcSDP1L-1, BcSDP1L-2, BcPLTAGL-1, BcPLTAGL-2, BcPLTAGL-3, BcPLTAGL-4 і ТАГ-ліпаз *A. oryzae* обумовлює групування цих білків у окрему кладу (рис. 1, 3 А) і їх подібну доменну будову (рис. 3 Б). Слід зазначити, що пататин-подібний домен є доволі консервативним (рис. 3 В), що обумовлює високу подібність послідовностей цього домену, як у ТАГ-ліпаз *B. carinata*, так і в *A. oryzae* (рис. 3 Г). Так само, наявність А/В-гідролазного домену в BcTAGL1-1, BcTAGL1-2, BcTAGL2-1, BcTAGL2-2, BcABTAGL2-1, BcABTAGL2-2, BcABTAGL2-3 й аналогічних доменів у грибних ліпаз *T. lanuginosa*, *C. antarctica*, *R. miehei* зумовила виокремлення цих білків у окрему гілку (рис. 1, 3 Д). При цьому слід зазначити, що ліпази 2VEO\_A і P41365 (*C. antarctica*) мають значно більший А/В-гідролазний домен, а ліпази O59952 (*T. lanuginosa*), P19515 (*R. miehei*) домени, специфічні для грибних ліпаз (рис. 3 Є). Саме тому відповідний фрагмент послідовності проявляє менший рівень консервативності й подібності послідовностей цих доменів (рис. 3 Ж, 3 З).

Незважаючи на низьку консервативність послідовності самого А/В-гідролазного домену, найбільш критичним є амінокислотна композиція активного центру ферменту, наприклад, каталітичної тріади (Ser-Asp-His) ТАГ-ліпази Б *C. antarctica* у такому домені [1, 12]. Особливості послідовностей функціонально важливих доменів ТАГ-ліпаз можуть визначати їх повну або часткову специфічність до певного типу ліпідного субстрату. Так, ТАГ-ліпаза А *C. antarctica* вирізняється підвищеною специфічністю до ліпідів, які містять насичені жирні кислоти [13], ліпази *A. oryzae* – до ненасичених жирних кислот у складі ТАГів (олеїнова, лінолева й ін. – на прикладі оливкової олії) [14], а ліпази *R. miehei* – до ненасичених жирних кислот (показано на прикладі олії авокадо) [15].

З огляду на зазначені особливості специфічності різних ТАГ-ліпаз до ліпідів з різним жирнокислотним складом, слід очікувати, що саме ліпази *A. oryzae* і *C. antarctica* могли би

бути найбільш ефективними для конверсії ліпідів Хрестоцвітих, зокрема *B. carinata*, враховуючи особливості жирнокислотного складу їх ТАГ [1, 4, 6] і високу подібність послідовностей згаданих ліпаз ендегенними ТАГ-ліпазами карінати (рис. 2, 3). Слід також зазначити, що аналогічний висновок був зроблений нами у попередньому дослідженні при аналізі послідовностей ТАГ-ліпаз рижю [1]. Варто також відзначити, що висока подібність послідовностей аналізованих ліпаз не гарантує максимальної ефективності трансестерифікації за експериментальних умов. Так, етанольна трансестерифікація олії ріпаку за допомогою ліпаз була найбільш ефективною за умов використання комерційних варіантів ТАГ-ліпаз *R. miehei* [6]. Подібні результати слід враховувати, оскільки олія карінати і ріпаку є подібною за жирнокислотним складом [2–5]. Водночас ліпаза Б *C. antarctica* є доволі подібною до ендегенних ліпаз рижю [1] і успішно використовувалась для конверсії олії цього виду [12].

### Висновки

Ідентифіковано гени основних ТАГ-ліпаз карінати і проаналізовано особливості доменної організації амінокислотних послідовностей ендегенних ліпаз карінати й комерційно доступних ліпаз. Реконструкція філогенії і детальний аналіз функціональних доменів дозволили встановити міру дивергенції ТАГ-ліпаз й виявити серед комерційних ліпаз такі, що найбільш подібні до ендегенних ліпаз *B. carinata*, а отже потенційно можуть бути використані для більш ефективної трансестерифікації олії карінати. Саме ліпази *A. oryzae* і *C. antarctica* є кандидатами бути найбільш ефективними для конверсії ліпідів. Однак прямої залежності між подібністю послідовності й високою ефективністю конверсії ліпідів наразі підтверджено не було, тому в майбутньому необхідні подальші дослідження, які б дозволили прояснити це питання.

Робота виконана за підтримки науково-дослідного проекту ВЦП КНУ ім. Т. Шевченка при НАН України «Розробка технологічних засад отримання біодизелю з олії карінати (*Brassica carinata*) шляхом ліпазної трансестерифікації» (2024–2025 рр., № Держреєстрації: 0124U002185) і частково проекту НАН України (2023–2024 рр., № Держреєстрації: 0123U102104) у рамках програми 6541230.

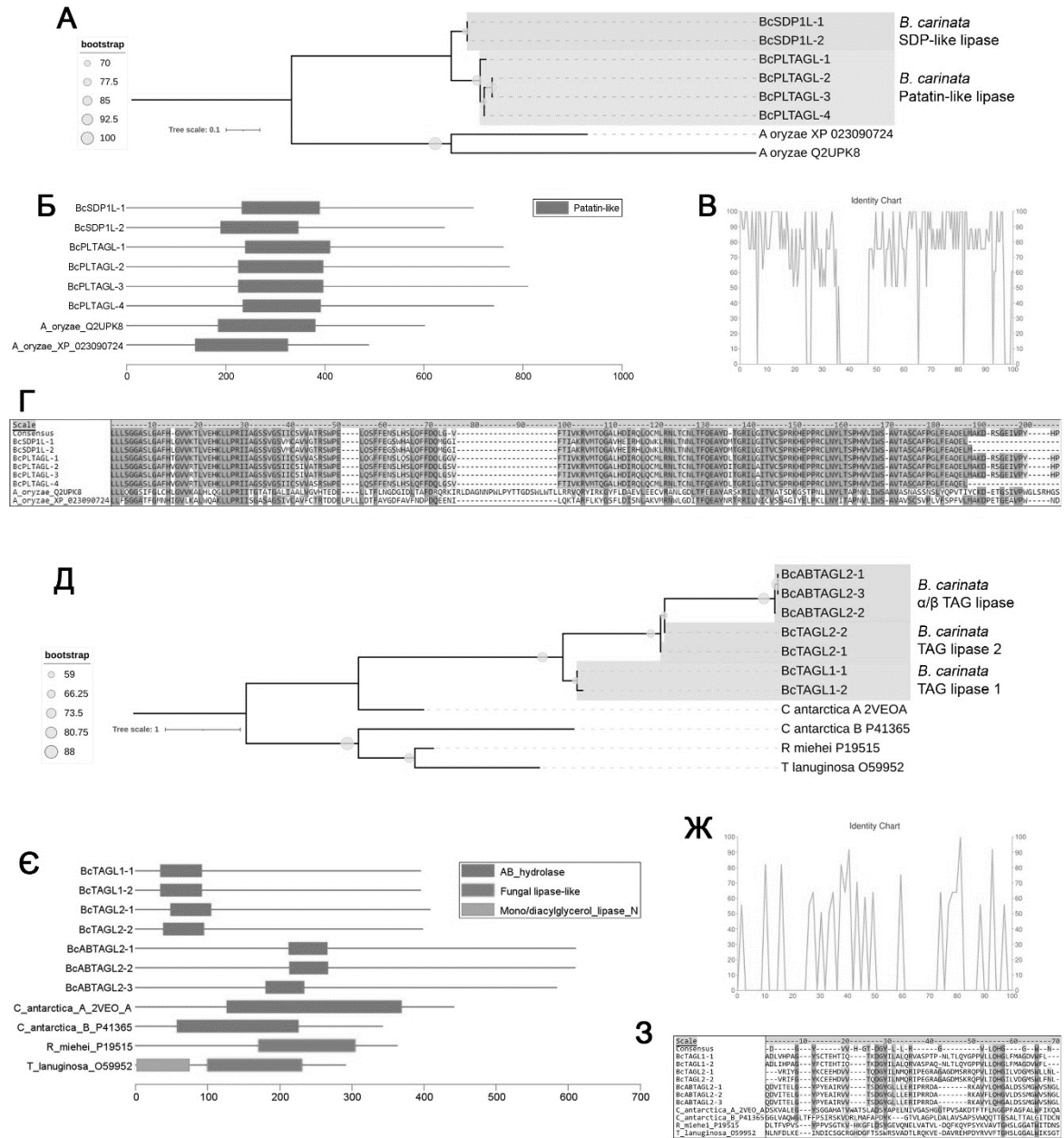


Рис. 3. Відмінності функціональних доменів ТАГ-ліпаз *B. carinata* і комерційно доступних ТАГ-ліпаз: А – філогенетичний аналіз фрагменту пататин-подібного домену (ML, модель замінів – LG+G4, бутстреп-підтримка – 1000 ітерацій); Б – локалізація пататин-подібного домену; В – консервативність послідовності пататин-подібного домену в аналізованих ліпаз; Г – вирівнювання послідовностей пататин-подібного домену; Д – філогенетичний аналіз фрагменту А/В-гідролітичного домену (ML, модель замінів – WAG+G4, бутстреп-підтримка – 1000 ітерацій); Е – локалізація специфічних регіонів А/В-гідролітичного домену ліпаз і аналогічних доменів; Ж – консервативність послідовності А/В-гідролітичного домену в аналізованих ліпаз; З – вирівнювання фрагменту послідовностей А/В-гідролітичного домену. Шкала розміру доменів вказана у одиницях амінокислотних залишків.

## References

1. Hotsuliak V. Y., Blume R. Y., Blume Y. B. Comparative analysis of *Camelina sativa* and fungal industrial lipases used for biodiesel production. *Factors Exp. Evol. Organisms*. 2023. Vol. 32. P. 23–30. doi: 10.7124/FEEO.v32.1530. [in Ukrainian]
2. Gesch R. W., Isbell T. A., Oblath E. A., Allen B. L., Archer D. W., Brown J., Hatfield J. L., Jabro J. D., Kiniry J. R., Long D. S., Vigil M. F. Comparison of several *Brassica* species in the north central U.S. for potential jet fuel feedstock. *Ind. Crop. Prod.* 2015. Vol. 75. P. 2–7. doi: 10.1016/j.indcrop.2015.05.084.

3. Marillia E. F., Francis T., Falk K. C., Smith M., Taylor D. C. Palliser's promise: *Brassica carinata*, an emerging western Canadian crop for delivery of new bio-industrial oil feedstocks. *Biocatalysis Agricult. Biotechnol.* 2014. Vol. 3 (1). P. 65–74. doi: 10.1016/j.bcab.2013.09.012.
4. Seepaul R., Kumar S., Iboyi J.E., Bashyal M., Stansly T. L., Bennett R., Boote K. J., Mulvaney M. J., Small I. M., George S., Wright D. L. *Brassica carinata*: Biology and agronomy as a biofuel crop. *GCB Bioenergy.* 2021. Vol. 13. P. 582–599. doi: 10.1111/gcbb.12804.
5. Blume R. Y., Rakhmetov D. B., Rakhmetova S. O., Hotsuliak V. Y., Yemets A. I., Blume Y. B. Introduction and performance of emerging biofuel crop *Brassica carinata* in Ukraine. *Eur. Biomass Conf. Exhib. Proc.* 2023. Vol. 1. P. 104–106. doi: 10.5071/31stEUBCE2023-1AV.4.4.
6. Santaraite M., Sendzikiene E., Makareviciene V., Kazancev K. Biodiesel production by lipase-catalyzed *in situ* transesterification of rapeseed oil containing a high free fatty acid content with ethanol in diesel fuel media. *Energies.* 2020. Vol. 13. P. 2588. doi: 10.3390/en13102588.
7. Hatje K., Keller O., Hammesfahr B., Pillmann H., Waack S., Kollmar M. Cross-species protein sequence and gene structure prediction with fine-tuned Webscipio 2.0 and Scipio. *BMC Res. Notes.* 2011. Vol. 4. P. 265. doi: 10.1186/1756-0500-4-265.
8. Chen C., Wu Y., Li J., Wang X., Zeng Z., Xu J., Liu Y., Feng J., Chen H., He Y., Xia R. TBtools-II: A "one for all, all for one" bioinformatics platform for biological big-data mining. *Mol. Plant.* 2023. Vol. 16. P. 1733–1742. doi: 10.1016/j.molp.2023.09.010.
9. Trifinopoulos J., Nguyen L. T., von Haeseler A., Minh B.Q. W-IQ-TREE: a fast online phylogenetic tool for maximum likelihood analysis. *Nucleic Acids Res.* 2016. Vol. 44 (W1). P. W232–235. doi: 10.1093/nar/gkw256.
10. Letunic I., Bork P. Interactive Tree Of Life (iTOL) v5: an online tool for phylogenetic tree display and annotation. *Nucleic Acids Res.* 2021. Vol. 49 (W1). P. W293–296. doi: 10.1093/nar/gkab301.
11. Huang A. H. C. Plant lipid droplets and their associated proteins: potential for rapid advances. *Plant Physiol.* 2018. Vol. 176 (3). P. 1894–1918. doi: 10.1104/pp.17.01677.
12. Verdasco-Martín C. M., Villalba M., dos Santos J. C. S., Tobajas M., Fernandez-Lafuente R., Otero C. Effect of chemical modification of Novozym 435 on its performance in the alcoholysis of camelina oil. *Biochem. Eng. J.* 2016. Vol. 111. P. 75–86. doi: 10.1016/j.bej.2016.03.004.
13. Akanbi T. O., Barrow C. J. *Candida antarctica* lipase A effectively concentrates DHA from fish and thraustochytrid oils. *Food Chem.* 2017. Vol. 229. P. 509–516. doi: 10.1016/j.foodchem.2017.02.099.
14. Toida J., Arikawa Y., Kondou K., Fukuzawa M., Sekiguchi J. Purification and characterization of triacylglycerol lipase from *Aspergillus oryzae*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 1998. Vol. 62 (4). P. 759–763. doi: 10.1271/bbb.62.759.
15. Caballero E., Soto C., Olivares A., Altamirano C. Potential Use of avocado oil on structured lipids MLM-type production catalysed by commercial immobilised lipases. *PLoS ONE.* 2014. Vol. 9 (9). P. e107749. doi: 10.1371/journal.pone.0107749.

**HOTSULIAK V. Y.<sup>1</sup>, BLUME R. Y.<sup>1</sup>, DEMYDOV S. V.<sup>2</sup>, SAVCHUK O. M.<sup>2</sup>, YEMETS A. I.<sup>1</sup>, BLUME Y. B.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Institute of Food Biotechnology and Genomics, Natl. Acad. Sci. Ukraine, Ukraine, 04123, Kyiv, Baidy-Vyshnevetskoho str., 2A

<sup>2</sup> Institute of Biology and Medicine, Taras Shevchenko National University of Kyiv, Ukraine, 03022, Kyiv, Hlushkova ave., 2

## COMPARATIVE ANALYSIS OF *BRASSICA CARINATA* AND FUNGAL INDUSTRIAL LIPASES USED FOR BIODIESEL PRODUCTION

**Aim.** To identify the genes of endogenous TAG-lipases in the genome of Abyssinian mustard, or *carinata* (*Brassica carinata*), and to analyze the similarity of their amino acid sequences with the industrial lipases of fungal origin.

**Methods.** Genome-wide search for *B. carinata* TAG-lipase sequences was conducted out, annotation of the identified genes, alignment of their sequences, phylogenetic analysis was performed, as well as identification of conserved sequence motifs and functional domains of these proteins was done. **Results.** 13 TAG-lipase genes were identified in the genome of Abyssinian mustard, and their phylogenetic relations with camelina and fungal lipases was reconstructed. The domain structure of *carinata* TAG-lipases was analyzed, and the level of sequence divergence of their functional regions was also revealed. **Conclusions.** Fungal lipases were identified, which are most similar in terms of domain organization to the identified TAG-lipases of *B. carinata*, and therefore could potentially be used to increase the efficiency of transesterification of *carinata* oil.

**Keywords:** abyssinian mustard, oilseed crops, *Brassica carinata*, biodiesel, lipase, transesterification, genome-wide analysis.