

Перевод на английский язык <https://vavilov.elpub.ru/jour>

Метаболизм крахмала у картофеля *Solanum tuberosum* L.

Е.М. Сергеева , К.Т. Ларичев, Е.А. Салина, А.В. Кочетов

Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия
 sergeeva@bionet.nsc.ru

Аннотация. Крахмал – основной запасной углевод растений и важный источник калорий в рационе питания человека и животных, широко применяется также для ряда промышленных нужд. Нативный крахмал представляет собой не растворимые в воде полукристаллические гранулы, сформированные молекулами амилозы и амилопектина, которые являются природными полимерами глюкозы. Физико-химические свойства крахмала определяются соотношением амилозы и амилопектина в грануле, степенью их полимеризации и фосфорилирования. Одно из основных растений-производителей крахмала – картофель *Solanum tuberosum* L. Растущие потребности рынка диктуют необходимость получения сортов с повышенным содержанием и заданными свойствами крахмала, необходимым условием чего является получение детальной информации о процессе его метаболизма в организме растения. Процесс метаболизма крахмала сложен и представляет собой согласованную работу множества ферментов, транспортных и направляющих белков, транскрипционных и других регуляторных факторов. По принципу выполняемой биологической функции крахмал делится на два типа: транзитный, который синтезируется в хлоропластах фотосинтезирующих органов и распадается при отсутствии освещения, обеспечивая клетку углеводами; и запасной, который синтезируется и хранится в амилопластах запасящих органов (зерен, клубней). Основные ферментативные реакции биосинтеза и деградации крахмала, а также транспорта и метаболизма углеводов хорошо изучены на транзитном крахмале модельного объекта *Arabidopsis thaliana*; об особенностях метаболизма крахмала в запасящих органах, в частности клубнях картофеля, известно несколько меньше. При этом ряд вопросов остается открытым: недостаточно изучены участие различных изоформ ферментов и влияние на них регуляторных факторов в зависимости от ткани и стадии развития растения, а также условий внешней среды; реализация альтернативных путей ферментативных превращений; участие направляющих и транспортных белков. В данном обзоре рассмотрены ключевые ферментативные реакции углеводного обмена, биосинтеза и деградации транзитного и запасного крахмала, общие для растений, и отмечены особенности, характерные для картофеля; уделено внимание известным регуляторным факторам, влияющим на метаболизм крахмала.

Ключевые слова: картофель; *Solanum tuberosum*; крахмал; амилоза; амилопектин; синтез; деградация.

Для цитирования: Сергеева Е.М., Ларичев К.Т., Салина Е.А., Кочетов А.В. Метаболизм крахмала у картофеля *Solanum tuberosum* L. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2022;26(3):250-263. DOI 10.18699/VJGB-22-32

Starch metabolism in potato *Solanum tuberosum* L.

Е.М. Sergeeva , К.Т. Larichev, Е.А. Salina, А.В. Kochetov

Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia
 sergeeva@bionet.nsc.ru

Abstract. Starch is a major storage carbohydrate in plants. It is an important source of calories in the human and animal diet. Also, it is widely used in various industries. Native starch consists of water-insoluble semicrystalline granules formed by natural glucose polymers amylose and amylopectin. The physicochemical properties of starch are determined by the amylose:amylopectin ratio in the granule and degrees of their polymerization and phosphorylation. Potato *Solanum tuberosum* L. is one of the main starch-producing crops. Growing industrial needs necessitate the breeding of plant varieties with increased starch content and specified starch properties. This task demands detailed information on starch metabolism in the producing plant. It is a complex process, requiring the orchestrated work of many enzymes, transporter and targeting proteins, transcription factors, and other regulators. Two types of starch are recognized with regard to their biological functions. Transitory starch is synthesized in chloroplasts of photosynthetic organs and degraded in the absence of light, providing carbohydrates for cell needs. Storage starch is synthesized and stored in amyloplasts of storage organs: grains and tubers. The main enzymatic reactions of starch biosynthesis and degradation, as well as carbohydrate transport and metabolism, are well known in the case of transitory starch of the model plant *Arabidopsis thaliana*. Less is known about features of starch metabolism in storage organs, in particular, potato tubers. Several issues remain obscure: the roles of enzyme isoforms and different regulatory factors in tissues at various plant developmental stages and under different environmental conditions; alternative enzymatic processes; targeting and transport proteins. In this

review, the key enzymatic reactions of plant carbohydrate metabolism, transitory and storage starch biosynthesis, and starch degradation are discussed, and features specific for potato are outlined. Attention is also paid to the known regulatory factors affecting starch metabolism.

Key words: potato; *Solanum tuberosum*; starch; amylose; amylopectin; synthesis; degradation.

For citation: Sergeeva E.M., Larichev K.T., Salina E.A., Kochetov A.V. Starch metabolism in potato *Solanum tuberosum* L. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii* = *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2022;26(3):250-263. DOI 10.18699/VJGB-22-32

Введение

Крахмал – основной запасной углевод растений, составляющий до 85 % сухого веса их съедобных частей, таких как зерна злаковых (кукуруза *Zea mays* L., рис *Oryza sativa* L., пшеница *Triticum* ssp., ячмень *Hordeum vulgare* L.), клубни картофеля *Solanum tuberosum* L., корнеплоды (маниок *Manihot esculenta* Crantz, батат *Ipomoea batatas* (L.) Lam., ямс *Dioscorea alata* L.), стебли саговой пальмы *Metroxylon sagu* Rottb., плоды овощных бананов *Musa* spp. (Zeeman et al., 2010; Santana, Meireles, 2014). Крахмал обеспечивает значительную часть калорий в рационе питания человека и животных, а также является природным возобновляемым и биоразлагаемым сырьем, которое широко используется в пищевой промышленности для производства тканей, бумаги, лекарств и пластиков.

По своей химической структуре крахмал это смесь природных полимеров глюкозы – амилозы и амилопектина, которые формируют не растворимые в воде полукристаллические гранулы. Амилопектин представляет собой сильно разветвленные молекулы гликанов, линейные участки которых сформированы за счет α -1,4-гликозидных, а точки ветвления цепей – α -1,6-гликозидных связей. Амилоза – практически линейный полимер, с небольшим количеством разветвлений. Молекулы амилопектина, на который приходится около 75–80 % массы крахмала, формируют структурный каркас гранулы, состоящий из повторяющихся аморфных и полукристаллических ламелл. Молекулы амилозы распределены в полукристаллическом матриксе, сформированном амилопектином (Zeeman et al., 2010; Tetlow, Bertoft, 2020).

Соотношение амилозы и амилопектина определяет свойства крахмала, необходимые для конкретных нужд промышленности: диетические, физико-химические и функциональные. В составе продуктов питания крахмал разделяют на гликемический и резистентный. Амилопектин быстро переваривается в тонком кишечнике и придает крахмалу гликемические свойства. Увеличение содержания амилозы, напротив, придает крахмалу свойства резистентного (Li et al., 2008). Резистентный крахмал устойчив к действию амилаз в тонком кишечнике. В толстом кишечнике он выполняет роль субстрата для расщепления микроорганизмами, в результате чего образуются короткоцепочечные жирные кислоты, которые оказывают местный противоопухолевый и противовоспалительный эффект (Birt et al., 2013). При использовании крахмалов учитывают также их физико-химические (желатинизация и ретроградация) и функциональные свойства (набухание, способность к образованию клейстера и его вязкость). Данные свойства определяются генетически детерминированными признаками: размером и морфологией крахмальных гранул, соотношением амилозы и амилопектина,

степенью разветвления и уровнем фосфорилирования молекул гликанов (Visser et al., 1991; Schwall et al., 2000; Hofvander et al., 2004; Хлесткин и др., 2017).

Картофель *Solanum tuberosum* L. является четвертым по значимости продуцентом крахмала в мире (после кукурузы, маниока и пшеницы). При этом картофельный крахмал обладает рядом функционально важных характеристик, отличных от крахмалов злаковых. Так, амилоза и амилопектин картофельного крахмала имеют более высокую степень полимеризации и фосфорилирования, что делает его коммерчески выгодным для производства биопластиков (Hofvander et al., 2004; Reyniers et al., 2020). В связи с увеличивающимися нуждами промышленности наблюдается устойчивый рост мирового производства картофельного крахмала: в 2018 г. производство составило 3.7, а в 2020 г. – 3.9 млн тонн (<https://www.researchandmarkets.com/reports/5330932/potato-starch-market-global-industry-trends>). Получение нативных крахмалов с заданными свойствами, а также увеличение общего количества крахмала, продуцируемого растением, считаются актуальными задачами в селекции картофеля.

Ключевые ферменты биосинтеза крахмала (см. таблицу) и кодирующие их гены хорошо изучены как на модельных объектах (*Arabidopsis thaliana* L.), так и у сельскохозяйственных культур, в том числе картофеля (Streb, Zeeman, 2012; Van Harsselaar et al., 2017; Слугина, Кочиева, 2018).

Процесс биосинтеза крахмала представляет собой реакцию полимеризации, в которой в качестве субстрата использованы молекулы АДФ-глюкозы и которая катализируется ферментами крахмалсинтазами GBSS (granule bound starch synthase) и SS (soluble starch synthase), а также крахмалветвящими SBE (starch branching enzyme) и девятью ферментами DBE (debranching enzyme).

Метаболизм крахмала является частью общего углеводного обмена и играет важную роль в функционировании организма растения: влияет на процессы роста и развития, участвует в ответе на стрессовые факторы. Ферменты и кодирующие их гены, связанные с метаболизмом крахмала и углеводным обменом растений, активно изучались на протяжении последних трех десятилетий; существует большой объем данных по локализации этих генов в геномах растений и их экспрессии. Так, у картофеля *S. tuberosum* 75 генов картированы на референсный геном и изучен спектр экспрессии 64 генов в листьях и клубнях (Van Harsselaar et al., 2017; Слугина, Кочиева, 2018). Показано, что в геномах современных растений гены метаболизма крахмала в течение эволюции неоднократно подвергались дупликациям и образованию паралогов за счет суб- и неофункционализации. Паралогичные гены, которые кодируют различные изоформы ферментов,

Ферменты, принимающие участие в метаболизме крахмала

Фермент	Номер EC	Изоформы	Функция фермента
Метаболизм углеводов			
Сахарозсинтаза	EC:2.4.1.13	SuSy1, SuSy2, SuSy3, SuSy4, SuSy5, SuSy6, SuSy7	Обратимое расщепление сахарозы до фруктозы и УДФ-глюкозы (Stein, Granot, 2019)
УДФ-глюкозопирофосфорилаза	EC:2.7.7.9	UGPase1, UGPase2	Обратимое превращение УДФ-глюкозы и пирофосфата в глюкозо-1-фосфат и УДФ (Kleczkowski et al., 2010)
Фосфоглюкоизомераза	EC:5.3.1.9	PGI, PGI-like1, PGI-like2	Обратимое превращение фруктозо-6-фосфата в глюкозо-6-фосфат (Yu et al., 2000)
Фосфоглюкомутаза	EC:5.4.2.2	PGM1, PGM2.1, PGM2.2	Обратимое превращение глюкозо-6-фосфата в глюкозо-1-фосфат (Yu et al., 2000)
АДФ-глюкозо-пирофосфорилаза. Большая и малая субъединицы	EC:2.7.7.27	AGPL1, AGPL2, AGPL3	Обратимый синтез АДФ-глюкозы и пирофосфата из глюкозо-1-фосфата и АТФ (Geigenberger et al., 1999)
	EC:2.7.7.27	AGPS1.1, AGPS1.2, AGPS2	
Щелочная пирофосфатаза	EC:3.6.1.1	PPase, PPase-like	Расщепление пирофосфата до ортофосфата (George et al., 2010)
Синтез гранулы крахмала			
Грануло связанная крахмал-синтаза	EC:2.4.1.242	GBSS1	Синтез молекул амилозы за счет формирования α -1,4-гликозидных связей (Pfister, Zeeman, 2016)
Растворимые крахмалсинтазы	EC:2.4.1.21	SS1, SS2, SS3, SS4, SS5, SS6	SS1, SS2, SS3 – синтез молекул амилопектина за счет формирования α -1,4-гликозидных связей (Pfister, Zeeman, 2016). SS4, SS5 – инициация образования гранул (Helle et al., 2018, Tetlow, Bertoft, 2020). SS6 – белок связан с гранулами крахмала в клубнях картофеля, функция неизвестна (Helle et al., 2018)
Крахмалветвящие ферменты	EC:2.4.1.18	SBE1.1, SBE1.2, SBE2, SBE3	SBE2, SBE3 – ветвление молекул амилозы и амилопектина за счет формирования α -1,6-гликозидных связей (Tetlow, Bertoft, 2020). Функция SBE1 неизвестна (Van Harselaar et al., 2017)
Деветвящие ферменты (1→6) glucan hydrolase starch-debranching enzyme (DBE). Изоамилаза	EC:3.2.1.68	ISA1.1, ISA1.2, ISA2, ISA3	Гидролиз α -1,6-гликозидных связей амилопектина. ISA1 и ISA2 участвуют в синтезе амилопектина, влияют на формирование его полукристаллической структуры (Hennen-Bierwagen et al., 2012). Комплекс ISA1/ISA2 участвует в регуляции образования крахмальной гранулы (Bustos et al., 2004). ISA3 участвует в деградации крахмала (Streb, Zeeman, 2012; Pfister, Zeeman, 2016)
Деградация крахмала			
α -гликан- H_2O -дикиназа	EC:2.7.9.4	GWD	Фосфорилирование гликанов в позиции C6 (Ritte et al., 2006)
Фосфогликан- H_2O -дикиназа	EC:2.7.9.5	PWD	Фосфорилирование гликанов в позиции C3 (Ritte et al., 2006)
Фосфогликанфосфатаза	EC:3.1.3.48	LSF1, LSF2 SEX4, SEX4-like	Дефосфорилирование гликанов, SEX4 дефосфорилирует C3- и C6-позицию гликозидных остатков, LSF2 – C3-позицию (Hejazi et al., 2010; Santelia et al., 2011)
α -амилаза	EC:3.2.1.1	AMY1.1, AMY1.2, AMY2 (AMY23), AMY3, AMY3-like	AMY3 – гидролиз α -1,4-гликозидных связей амилозы и амилопектина (Yu et al., 2005). AMY2 (AMY23) может принимать участие в холодном осахаривании крахмала (Hou et al., 2017)

Окончание таблицы

Фермент	Номер ЕС	Изоформы	Функция фермента
β-амилаза	ЕС:3.2.1.2	BAM1, BAM2, BAM3.1, BAM3.2, BAM4, BAM6.1, BAM6.2, BAM6.3, BAM7, BAM9	BAM1 и BAM3 – расщепление α-1,4-гликозидных связей амилозы и амилопектина, образование мальтозы (Fulton et al., 2008). BAM1, BAM9 могут принимать участие в холодовом осахаривании крахмала (Hou et al., 2017)
α-гликанфосфорилаза	ЕС:2.4.1.1	RHO1a, RHO1b, RHO2a, RHO2b	Образование глюкозо-1-фосфата за счет расщепления мальтоолигосахаридов, участвует также в росте гранулы крахмала (Pfister, Zeeman, 2016)
4-α-гликанотрансфераза	ЕС:2.4.1.25	DPE1, DPE2	Расщепление мальтоолигосахаридов до глюкозы (Critchley et al., 2001), участвует в инициации образования гранулы (Tetlow, Bertoft, 2020)

демонстрируют специфичный для ткани и/или стадии развития характер экспрессии (Van Harsselaar et al., 2017; Qu et al., 2018; López-González et al., 2019). На уровень экспрессии генов метаболизма крахмала влияют различные факторы: циркадные ритмы, фотопериод, уровень фитогормонов и сахаров; а также стрессовые условия (воздействие засухи, низких температур) (López-González et al., 2019). Несмотря на то что основные ферментативные реакции биосинтеза и деградации крахмала достаточно хорошо изучены, остается много неясных моментов, касающихся реализации альтернативных путей ферментативных превращений и их локализации в клетке, а также степени участия разных изоформ ферментов в метаболизме крахмала в разных органах и на разных стадиях развития и влияния на них регуляторных факторов.

К настоящему времени определены функции ряда белков метаболизма крахмала у картофеля (см. таблицу). Большинство ферментов представлены изоформами с частично перекрывающимися функциями (Van Harsselaar et al., 2017). Важную роль в процессе метаболизма крахмала играют белки-транслокаторы, необходимые для транспорта метаболитов через мембрану пластид, которые тоже представлены различными изоформами: аденилатный транслокатор (NTT1 и NTT2) (Tjaden et al., 2001), глюкозотранспортер pGlcT1 (Cho et al., 2011), транслокатор глюкозо-6-фосфата (изоформы GPT1.1, GPT1.2, GPT2.1, GPT2.2) (Kammerer et al., 1998), мальтозотранспортер MEX1 (Cho et al., 2011) и триозофосфатный транслокатор (TPT, TPT-like) (Flügge et al., 1989).

Путем отбора растений, несущих определенные аллельные варианты генов биосинтеза крахмала, возможно получить линии растений с измененным соотношением амилозы и амилопектина. Такие линии существуют, например, у кукурузы *Z. mays*. Мутация *amylose extender* (*ae⁻*) связана с утратой каталитической активности крахмалветвящего фермента SBEIIb. Крахмал растений кукурузы с *ae⁻* фенотипом имеет повышенное содержание амилозы и более длинные цепи амилопектина (Stinard et al., 1993). Фенотип, при котором в крахмале у кукурузы практически полностью отсутствует амилоза, в связи с чем эндосперм зерна имеет клейкую текстуру, называется *waxy* (восковая) и обусловлен мутацией в гене гранулосвязанной крахмалсинтазы *GBSSI* (Hossain et al., 2019).

В то же время получение сортов картофеля с заданными свойствами крахмала с помощью селекции затруднено из-за его автотетраплоидного генома. Единственный культивируемый сорт безамилозного картофеля *Eliane* выведен с помощью технологий мутационной селекции (Muth et al., 2008). При этом методами генетической инженерии и геномного редактирования, направленными на модификацию ключевых генов биосинтеза крахмала, были успешно созданы растения картофеля с ожидаемыми фенотипами: безамилозный крахмал (нокаут и нокдаун гена *GBSSI*), крахмал с повышенным содержанием амилозы (одновременный нокдаун генов *SBE1* и *SBE2*) и крахмал с измененными свойствами амилопектина (редактирование генов *SBE1* и/или *SBE2*) (Visser et al., 1991; Schwall et al., 2000; Hofvander et al., 2004; Andersson et al., 2006, 2017; Tuncel et al., 2019).

В ряде случаев оказалось, что растения с ожидаемым фенотипом обладали также нецелевыми признаками: например, при антисенс-супрессии генов крахмалветвящих ферментов *SBE1* и *SBE2* увеличение концентрации амилозы сопровождалось снижением количества крахмала и формированием мелких гранул при большей массе клубней (Hofvander et al., 2004). Видимо, внесение изменений в отдельные звенья метаболизма крахмала может влиять на общий углеводный обмен растения. Ассоциативное исследование позволило выявить генетические локусы, связанные с признаками содержания крахмала в клубнях картофеля и урожайности (масса клубней), при этом функция многих обнаруженных генов была неизвестна либо относилась к сигнальной, транскрипционной и посттранскрипционной регуляции (Schönhals et al., 2017). Интересно, что некоторые из найденных SNP влияют на признаки урожайности и содержания крахмала в клубнях как антагонисты (Schönhals et al., 2017). Таким образом, изучение путей регуляции генов метаболизма крахмала актуально для улучшения качества и урожайности картофеля.

Углеводный обмен у растений картофеля

По принципу выполняемой биологической функции крахмал делится на два типа – транзиторийный и запасной. Транзиторийный крахмал синтезируется и накапливается в хлоропластах фотосинтезирующих тканей (листьев)

в течение светового дня, а в отсутствие освещения распадается, чтобы обеспечить клетку питательными веществами. Запасной крахмал синтезируется в амилопластах (нефотосинтезирующих пластидах) запасующих органов (например, клубней картофеля) и хранится в них в течение длительного времени, чтобы впоследствии быть использованным для подготовки к прорастанию побегов (Zeeman et al., 2010; Streb, Zeeman, 2012).

Принципиальное различие углеводного обмена в клетках листьев и запасующих органов заключается в источнике углеводов и АТФ, необходимых для биосинтеза крахмала и осуществления ферментативных реакций: в листьях данные вещества могут образовываться непосредственно в клетках, в которых происходит синтез транзитного крахмала, а в запасующие органы они попадают за счет импорта из фотосинтезирующих.

В результате реакции фотосинтеза в хлоропластах образуется АТФ и осуществляется цикл Кальвина–Бенсона, при котором происходит фиксация атмосферного углекислого газа с образованием триозофосфата как одного из промежуточных продуктов (Streb, Zeeman, 2012). Часть молекул триозофосфата остается в строме хлоропласта и используется в качестве источника углеводов для биосинтеза транзитного крахмала, другая часть транспортируется в цитозоль с помощью триозофосфатного транслокатора (ТРТ) (Flügge et al., 1989). В хлоропласте триозофосфат после последовательности ферментативных реакций превращается в глюкозо-1-фосфат (G1P), из которого с помощью АДФ-глюкозопирофосфорилазы (AGPase) синтезируется АДФ-глюкоза, основной субстрат для биосинтеза крахмала (см. рисунок).

В свою очередь молекулы триозофосфата, экспортированные в цитозоль, превращаются в сахарозу, которая затем по флоэме и апопласту доставляется в запасующие органы (клубни), где служит источником углеводов для синтеза запасного крахмала. Внутрь клеток запасующих органов сахароза попадает с помощью белков-сахарозотранспортеров либо, будучи гидролизованной инвертазой до глюкозы и фруктозы, через гексозотранспортеры (Ruan, 2014). В цитоплазме клеток клубня сахароза расщепляется двумя альтернативными путями: сахаролитическим, с использованием фермента сахарозосинтазы SuSy, или гидролитическим, катализируемым инвертазой Inv. Inv необратимо расщепляет сахарозу до глюкозы и фруктозы, а SuSy катализирует обратимую реакцию расщепления на фруктозу и УДФ-глюкозу (Stein, Granot, 2019). Преобладающий путь расщепления сахарозы зависит от стадии развития клубня. В начале роста, когда происходит активное клеточное деление, преобладает инвертазный путь деградации, а на этапе накопления крахмала наблюдается переход к сахаролитическому (Appeldoorn et al., 1997). Путь, осуществляемый SuSy, играет важную роль в интенсивности накопления крахмала у картофеля: показано, что уменьшение активности гена сахарозосинтазы вызвало уменьшение содержания крахмала в зрелых клубнях (Zrenner et al., 1995; Baroja-Fernández et al., 2009). Сахарозосинтазы SuSy картофеля представлены в виде семи изогенов, которые имеют тканеспецифичную экспрессию; так, в растущих клубнях экспрессируется ген *SuSy4* (Van Harsselaar et al., 2017). Вероятно, отдельные

изоформы сахарозосинтаз могут принимать участие в транспорте сахарозы по флоэме, как показано у *A. thaliana* (Yao et al., 2020).

Далее за счет реакций, осуществляемых ферментами фруктокиназой (ФК), гексокиназой (НК) и УДФ-глюкозопирофосфорилазой, в цитозоле клеток запасующей паренхимы формируется пул фосфорилированных гексоз, реакции перехода между которыми являются обратимыми и катализируются цитозольными изоформами ферментов фосфоглюкоизомеразы PGI2 и фосфоглюкомутазы PGM2 (Yu et al., 2000; Kleczkowski et al., 2010). Один из гексофосфатов, а именно глюкозо-6-фосфат (G6P), транспортируется в амилопласты посредством мембранного глюкозо-6-фосфат транслокатора (GPT), где используется для синтеза АДФ-глюкозы (Kammerer et al., 1998). Показано, что интенсивность биосинтеза крахмала в клубнях картофеля напрямую зависит от транспорта G6P (Tauberger et al., 2000; Fernie et al., 2002).

Также в запасующие ткани из фотосинтезирующих импортируется АТФ, который попадает в амилопласты с помощью пластидного аденилатного транслокатора (NTT). Даже небольшое уменьшение активности NTT приводит к уменьшению общего содержания крахмала в клубнях картофеля (Tjaden et al., 2001), а сочетание сверхэкспрессии NTT и GPT – к увеличению (Zhang L. et al., 2008). Возможно, существует дублирующий путь транспорта гексоз в клетки амилопласта: импорт глюкозо-1-фосфата (G1P) и использование его как непосредственного субстрата для синтеза АДФ-глюкозы. Есть доказательства того, что данный путь реализуется у картофеля, хотя соответствующий транспортный белок на настоящий момент неизвестен (Fettke et al., 2010). Недавнее исследование у *A. thaliana* выявило два кандидата на роль транспортера глюкозо-1-фосфата через плазматическую мембрану (Malinova et al., 2020).

Субстратом для биосинтеза крахмала служит АДФ-глюкоза, которая образуется в строме хлоропластов и амилопластов за счет обратимой реакции, катализируемой ферментом АДФ-глюкозопирофосфорилазой (AGPase). AGPase синтезирует АДФ-глюкозу и пирофосфат (PPi) из G1P и АТФ. Фермент является гетеротетрамером, состоящим из двух больших и двух малых субъединиц (AGPL и AGPS), и его активность играет критическую роль в биосинтезе крахмала в клубнях картофеля (Geigenberger et al., 1999). Щелочная пирофосфатаза (PPase) расщепляет образовавшийся пирофосфат до ортофосфата и влияет, таким образом, на направление обратимой реакции, катализируемой AGPase, в сторону синтеза АДФ-глюкозы, как показано у растений табака (George et al., 2010). Однако в клубнях картофеля механизм участия PPase в биосинтезе крахмала, судя по всему, значительно отличается и пока остается неизвестным. Так, показан существенный вклад пластидной формы PPase в процесс накопления крахмала в клубнях: у линий с нокаутом гена *StpsPPase* наблюдалось уменьшение количества крахмала и уменьшение размера гранул. При этом увеличивались уровни пирофосфата, а также глюкозы, фруктозы, фосфорилированных гексоз и, что неожиданно, АДФ-глюкозы. Увеличение содержания АДФ-глюкозы свидетельствует в пользу

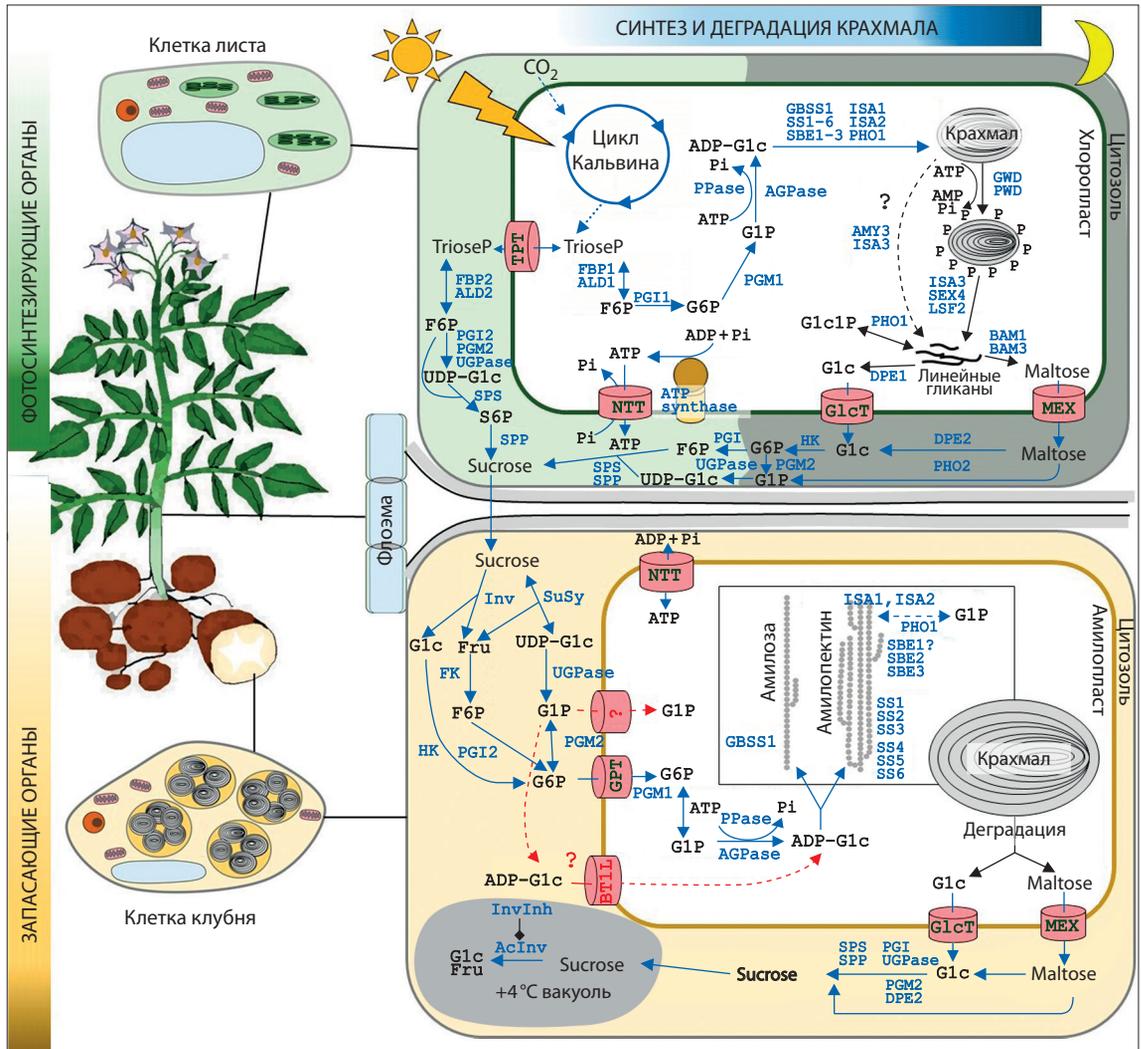


Схема метаболизма крахмала в фотосинтезирующих (листья) и запасующих (клубни) органах картофеля.

Пути биосинтеза крахмала, а также метаболизма сахаров обозначены синими стрелками, путь деградации крахмала – черными стрелками. В листьях более подробно показан путь деградации, в клубнях – путь биосинтеза крахмала. Альтернативный путь синтеза АДФ-глюкозы в цитозоле и последующего транспорта в амилопласт с помощью BT1 (Brittle1-like transporter) обозначен красной стрелкой. Углеводы (черный цвет): Fru – фруктоза; F6P – фруктозо-6-фосфат; Glc – глюкоза; G1P – глюкозо-1-фосфат; G6P – глюкозо-6-фосфат; S6P – сахарозо-6-фосфат; TrioseP – триозофосфат; ADP-Glc – АДФ-глюкоза; UDP-Glc – УДФ-глюкоза; Sucrose – сахароза; Maltose – мальтоза. Ферменты и ингибитор инвертазы (синий цвет): AcInv – вакуолярная инвертаза; AGPase – АДФ-глюкозопирофосфорилаза; ALD – альдолаза; AMY – α-амилаза; BAM – β-амилаза; FK – фруктокиназа; DPE – 4-α-гликанотрансфераза; FBP – фруктозо-1,6-бисфосфатаза; GBSS – гранулосвязанная крахмалсинтаза; GWD – α-гликан-Н₂О-дикиназа; HK – гекокиназа; ISA – изоамилаза; InvInh – ингибитор инвертазы; Inv – инвертаза; PGI – фосфоглюкоизомераза; PGM – фосфоглюкомутаза; PHO – α-гликанфосфорилаза; PPase – щелочная пирофосфатаза; PWD – фосфогликан-Н₂О-дикиназа; SBE – крахмалветвящий фермент; SEX, LSF – фосфогликанфосфатазы; SPP – сахарозофосфатфосфатаза; SPS – сахарозофосфатсинтаза; SS – крахмалсинтаза; SuSy – сахарозосинтаза; UGPase – УДФ-глюкозопирофосфорилаза. Транспортные белки (зеленый цвет): GPT – транспортер глюкозо-6-фосфата; NTT – АДФ-АДФ антипортер; MEX – мальтозотранспортер; TPT – триозофосфатный/фосфатный транслокатор; GlcT – глюкозотранспортер; BT1L – Brittle1-подобный транспортер.

того, что в клубнях картофеля пирофосфат не оказывает влияния на направление реакции, катализируемой AGPase (Andersson et al., 2018).

У злаковых (однодольных) растений имеется альтернативный цитозольный путь синтеза АДФ-глюкозы за счет действия ферментов SuSy и UGPase, который является значимым при росте зерна. Транспорт АДФ-глюкозы в амилопласт осуществляется с помощью транспортного белка Brittle1-like transporter (BT1) (Bowsher et al., 2007). У картофеля *S. tuberosum* обнаружен гомолог этого белка: StBT1, который выполняет функцию однонаправленного

транспорта АМФ, АДФ и АТФ; при этом доказательства транспорта АДФ-глюкозы через мембрану амилопластов отсутствуют (Leroch et al., 2005).

Синтез крахмальной гранулы

Биосинтез транзитного крахмала в хлоропластах листьев и запасного крахмала в амилопластах клубней происходит по одинаковой схеме. В процессе синтеза молекул амилозы и амилопектина принимают участие 16 ключевых ферментов, которые относятся к следующим группам: крахмалсинтазы, крахмалветвящие и девятя-

щие ферменты (см. таблицу). Большинство ферментов существуют в виде спектра изоформ, функции которых могут частично перекрываться (Pfister, Zeeman, 2016; Van Harsselaar et al., 2017).

Крахмалсинтазы катализируют формирование гликозидных связей путем переноса глюкозного остатка АДФ-глюкозы на нередуцирующий конец молекулы глюкозного полимера и являются группой ферментов, которая подразделяется на крахмалсинтазы, связанные с гранулой (*granule bound starch synthases, GBSS*), и растворимые крахмалсинтазы (*soluble starch synthases, SS*). GBSS отвечает за синтез длинных цепей: преимущественно амилозы, а также фракции длинных цепей у амилопектина. Растворимые крахмалсинтазы представлены спектром изоформ (SS1, SS2, SS3, SS4, SS5, SS6), из которых SS1, SS2, SS3 осуществляют рост цепей различной длины у амилопектина (Pfister, Zeeman, 2016). Изоформа SS4 играет особую роль среди крахмалсинтаз, так как участвует в инициации образования гранул крахмала (Tetlow, Bertoft, 2020). У *Arabidopsis* с выключенным геном *ss4* наблюдали одну-две крахмальные гранулы большого размера вместо пяти-семи небольших у растения дикого типа (Roldán et al., 2007). Функции изоформ крахмалсинтазы SS5 и SS6 пока неясны. У белка SS5 на С-конце отсутствует характерный для крахмалсинтаз консервативный район, содержащий каталитический домен GT1, при этом белок имеет консервативный сайт связывания гликанов. Вероятно, SS5 участвует в процессе инициации образования крахмальной гранулы; показано, что утрата белка SS5 у *Arabidopsis* вызывает уменьшение количества гранул в листьях (Abt et al., 2020). Изоформа SS6 и кодирующий ее ген были выявлены в геноме картофеля относительно недавно (Van Harsselaar et al., 2017), функциональная роль этого фермента неясна. Возможно, он участвует в процессе роста гранулы, поскольку физически связан с ней. Кроме того, у SS6 присутствуют консервативные мотивы XXGGL и KXGGL, характерные для гликозилтрансферазных доменов крахмалсинтаз GT1 и GT5 соответственно (Helle et al., 2018).

Инициация образования крахмальной гранулы долгое время оставалась малоизученным вопросом. Существующие исследования касаются образования гранулы у транзитного крахмала модельного объекта *A. thaliana*, но, вероятно, ключевые моменты механизма формирования гранулы можно в некоторой степени экстраполировать и на другие виды растений (Mérida, Fettke, 2021). Как указано выше, основным ферментом инициации является SS4, также участие в образовании и росте гранулы, по всей видимости, принимают SS5 и SS6. Акцептором для роста гранулы служат мальтоолигосахариды, образованные при деградации полигликанов амилазами (Mérida, Fettke, 2021). Пространственное взаимодействие крахмалсинтаз, молекул субстрата (АДФ-глюкозы) и растущей гранулы осуществляется с помощью направляющих белков: факторов PTST2 (*protein targeting to starch 2*) и PTST1, которые связаны с крахмалсинтазами SS4 и GBSS1 соответственно, а также содержат углевод-связывающий домен (Seung et al., 2015, 2017). Необходимо отметить, что в клубнях картофеля фактор PTST2 не обнаружен. Это свидетельствует в пользу того, что процессы иници-

ации образования гранул крахмала в листьях *Arabidopsis* и клубнях картофеля различаются (Helle et al., 2018). На инициацию формирования крахмальных гранул в клубнях картофеля оказывает влияние и гетеромультимерный комплекс, сформированный изоамилазами ISA1 и ISA2. Судя по всему, изоамилазы подавляют образование новых гранул крахмала, препятствуя образованию растворимых молекул гликанов в строме хлоропласта (Bustos et al., 2004).

По мере удлинения цепей молекул амилозы и амилопектина, осуществляемого крахмалсинтазами SS1, SS2 и SS3, происходит присоединение к ним боковых ветвей, катализируемое крахмалветвящими ферментами SBE (*starch branching enzymes*) (Pfister, Zeeman, 2016). Крахмалветвящие ферменты расщепляют α -1,4-гликозидные связи полигликанов, синтезированных крахмалсинтазами, и присоединяют образованные короткие цепи на так называемую цепь-акцептор за счет формирования α -1,6-гликозидной связи. Крахмалветвящие ферменты картофеля представлены изоформами SBE1.1, SBE1.2, SBE2, SBE3 (ранее обозначаемая как SBE1) (см. таблицу) (Van Harsselaar et al., 2017). Таким образом, упоминающиеся в других работах формы SBE1 и SBE2 по классификации Ван Харселаар и соавторов обозначены как SBE3 и SBE2. SBE3 преимущественно синтезирует длинные боковые цепи, SBE2 обеспечивает продукцию коротких цепей амилопектина (Tetlow, Bertoft, 2020). Функция SBE1.1 и SBE1.2 в биосинтезе крахмала картофеля неизвестна, однако у *Arabidopsis* обнаружено их плеiotропное влияние на рост и развитие растения: трансформанты со сверхэкспрессией *SBE1* имели нарушенную окраску, низкий рост, длинный жизненный цикл и давали меньше семян, чем контрольные растения (Wang X. et al., 2010). Совместная работа разных изоформ влияет на структуру амилопектина. На растениях картофеля с нокаутом генов *sbe3* и/или *sbe2* (в оригинальном исследовании обозначены как *sbe1* и *sbe2*) показано, что при неактивном *sbe3* формируется крахмал, состоящий из более длинных молекул амилопектина с уменьшенной степенью ветвления. Нокаут гена *sbe2* (при активном *sbe3*) не оказал заметного влияния на структуру амилопектина, при этом увеличилось количество крахмальных гранул в клубнях картофеля и уменьшился их размер (Tuncel et al., 2019).

Другая группа ферментов, принимающих участие в формировании структуры амилопектина, – деветвящие ферменты DBE (*debranching enzymes*) (см. таблицу), которые осуществляют перестройку разветвленных гликанов в формы, способные к более успешной кристаллизации, что важно при формировании гранулы (Pfister, Zeeman, 2016). DBE представлены изоамилазами (ISA), которые катализируют гидролиз α -1,6-гликозидных связей амилопектина, убирая избыточное разветвление. Изоамилазы картофеля существуют в виде изоформ ISA1, ISA2, ISA3. Белки ISA1 и ISA2 могут формировать гетеромультимеры, которые более эффективно удаляют длинные наружные цепи амилопектина (Hussain et al., 2003). ISA3 играет важную роль в процессе деградации крахмала за счет расщепления коротких наружных цепей гликанов (Streb et al., 2008). Трансгенные растения картофеля с пониженным уровнем экспрессии генов *isa1*, *isa2*, *isa3* показали существенное уменьшение содержания крахмала в развивающихся

клубнях и при этом не изменившийся уровень крахмала в листьях. Кроме того, наблюдалось увеличение количества и уменьшение размера гранул, а также рост уровня сахарозы, видимо, связанный с увеличением суммарной поверхности гранул и доступа ферментов деградации (Ferreira et al., 2017).

Помимо крахмалсинтаз, ветвящих и деветвящих ферментов, в синтезе крахмальной гранулы принимают участие α -гликанфосфорилазы, представленные пластидной (PHO1) и цитоплазматической (PHO2) изоформами, которые катализируют обратимую реакцию переноса гликозильной группы от глюкозо-1-фосфата (G1P) на нередуцирующий конец цепи α -1,4-связанных гликанов (Pfister, Zeeman, 2016). PHO2 участвует в метаболизме углеводов в цитоплазме, а PHO1 играет роль в процессах биосинтеза и деградации крахмала в пластидах. Показано, что при низких температурах в клубнях картофеля может реализовываться фосфорилазный путь биосинтеза крахмала с использованием G1P в качестве субстрата (Fettke et al., 2012).

Деградация крахмальной гранулы

Процесс деградации крахмала является неотъемлемой частью его метаболизма и общего углеводного обмена, однако изучен в значительно меньшей степени, чем биосинтез. Наиболее подробно описаны пути деградации транзиторного крахмала в листьях модельного объекта *A. thaliana*; данные же о процессе распада крахмала в клубнях картофеля получены преимущественно при исследовании процессов холодого осахаривания и прорастания. Основные этапы деградации крахмала заключаются в высвобождении растворимых гликанов из гранул крахмала, превращении гликанов в линейные формы (мальтоолигосахариды), гидролизе последних до мальтозы и ее дальнейшем метаболизме в клетке. В процессе деградации крахмала принимает участие широкий спектр ферментов: α - и β -амилазы, изоамилаза, α -гликан- H_2O -дикиназа и фосфогликан- H_2O -дикиназа, α -гликан фосфорилаза, фосфогликанфосфатаза, и 4- α -гликанотрансфераза (см. таблицу).

Деградация крахмальной гранулы инициируется действием α -гликан- H_2O -дикиназы (glucan water dikinase, GWD) и фосфогликан- H_2O -дикиназы (phosphoglucan water dikinase, PWD), которые фосфорилируют гликан по позициям C6 и C3 глюкозных остатков, делая их более гидрофильными и обеспечивая последующий доступ α -, β - и изоамилазам (см. таблицу) (Ritte et al., 2006; Streb, Zeeman, 2012). Фосфорилирование α -гликан- H_2O -дикиназой, судя по всему, играет основную роль в процессе распада крахмала в клубнях и листьях картофеля (Claassen et al., 1993; Orzechowski et al., 2021). Клубни трансгенных растений картофеля со сниженным уровнем гена *StGWD* были менее подвержены деградации крахмала при воздействии низких температур (Lorberth et al., 1998).

Следующий этап деградации крахмальной гранулы включает в себя гидролиз гликанов амилазами. В геноме картофеля α - и β -амилазы представлены достаточно широким спектром изоформ, однако точная функция большинства из них неизвестна (см. таблицу) (Van Harsselaar et al., 2017). Если экстраполировать данные, полученные

для *Arabidopsis*, β -амилазы VAM1 и VAM3 могут осуществлять гидролиз линейных участков цепей амилозы и амилопектина; для деградации же разветвленных частей молекул необходимо участие деветвящего фермента DBE (у картофеля изоамилаза ISA3) (Hussain et al., 2003; Fulton et al., 2008; Pfister, Zeeman, 2016). У картофеля при сайленсинге гена *StBAM3* наблюдали увеличение содержания крахмала в листьях по сравнению с диким фенотипом (Scheidig et al., 2002). В клубнях показано влияние активности специфичных форм амилаз в процессе холодого осахаривания: α -амилазы AMY2 (AMY23) и β -амилаз VAM1, VAM9. Предположительной функцией VAM1 и VAM9 является деградация крахмала в пластиде, а AMY2 – деградация фитогликогена в цитозоле (Hou et al., 2017). У *A. thaliana* описан также альтернативный путь деградации крахмала, инициируемый действием α -амилазы AMY3, которая высвобождает из гранул крахмала линейные и разветвленные гликаны, затем гидролизуются β - и изоамилазами (см. рисунок) (Streb et al., 2008).

Параллельно гидролизу гликанов крахмала амилазами идет процесс их дефосфорилирования, который катализируется фосфогликанфосфатазами SEX4 (Starch Excess) и LSF2 (LIKE SEX FOUR2), изначально описанными у *Arabidopsis*. Эти два процесса взаимосвязаны: фосфорилирование дикиназами увеличивает растворимость гранулы и обеспечивает доступ для работы амилаз, при этом фосфатные остатки могут препятствовать процессу гидролиза (Hejazi et al., 2010; Santelia et al., 2011). У картофеля уменьшение активности генов *SEX4* или *LSF2* ингибировало деградацию крахмала в листьях; количество крахмала в клубнях оставалось неизменным, и наблюдалось увеличение уровня фосфорилирования и уменьшение размера гранул (Samodien et al., 2018).

В результате совместного действия дикиназ, амилаз и фосфатаз образуется пул растворимых мальтоолигосахаридов (линейных гликанов), распад которых происходит с помощью двух альтернативных путей: гидролитического, за счет действия β -амилаз, либо фосфоролитического, осуществляемого α -гликанфосфорилазой PHO1 (Weise et al., 2006; Fulton et al., 2008). При реализации фосфоролитического пути деградации конечным продуктом является G1P, который может использоваться внутри пластиды для метаболических нужд. Также возможно образование глюкозы в результате действия 4- α -гликанотрансферазы DPE1 (disproportionating enzyme) и экспорт в цитозоль посредством глюкозотранспортера pGlcT1 (Critchley et al., 2001; Cho et al., 2011). У растений картофеля с сайленсингом гена хлоропластного фермента DPE в листьях выявлено уменьшение скорости деградации крахмала и при этом накопление мальтоолигосахаридов, в клубнях такого эффекта не наблюдали (Lloyd et al., 2004). В клубнях в условиях холодого осахаривания увеличивались активность β -амилаз и концентрация мальтозы (Nielsen et al., 1997).

Мальтоза, которая является преобладающим продуктом гидролитического пути деградации крахмала, экспортируется в цитозоль с помощью трансмембранного транспортного белка MEX1 (Cho et al., 2011). Затем, уже в цитозоле клетки, мальтоза вследствие действия ферментов 4- α -гликанотрансферазы DPE2 либо фосфорилазы PHO2

распадается до глюкозы или глюкозо-1-фосфата, из которых за счет согласованного действия ферментов PGI2, PGM2, НК, UGPase, SPS (сахарозофосфатсинтаза) и SPP (сахарозофосфатфосфатаза) синтезируется сахароза (см. рисунок) (López-González et al., 2019).

В клубнях картофеля сахароза используется как источник питательных веществ в процессе прорастания световых ростков, при этом ее уровень является регуляторным фактором, запускающим выход клубня из состояния покоя (Sonnewald S., Sonnewald U., 2014).

Для замедления процесса прорастания световых ростков клубней картофель хранят в условиях пониженных температур (2–5 °C), что запускает процесс так называемого холодового осахаривания, которое заключается в гидролизе сахарозы кислой вакуолярной инвертазой AcInv (ген *Pain-1*) и накоплении в клубнях редуцирующих сахаров (глюкозы и фруктозы) (см. рисунок) (Sowokinos et al., 2018). При нокауте гена вакуолярной инвертазы наблюдали более низкое содержание редуцирующих сахаров (Clasen et al., 2016). Одним из ключевых регуляторов процесса холодового осахаривания является ингибитор инвертаз (InhInv) SbAI, который подавляет активность AcInv (McKenzie et al., 2013). Показано, что SbAI может также подавлять активность α - и β -амилаз в клубнях картофеля (StAmy23, StBAM1 и StBAM9), тем самым влияя на скорость деградации крахмала при холодовом осахаривании (Zhang H. et al., 2014).

Механизмы контроля метаболизма крахмала

Синтез, деградация крахмала и метаболизм продуктов его распада требуют согласованной работы множества ферментов, транспортных и направляющих белков, что подразумевает наличие различных уровней регуляции: экспрессии генов, их посттранскрипционной регуляции, а также посттрансляционной регуляции активности ферментов. Профили экспрессии генов ключевых ферментов метаболизма крахмала достаточно хорошо изучены у разных видов растений, однако о факторах, регулирующих экспрессию, известно гораздо меньше (López-González et al., 2019). Сложность обусловлена тем, что ферменты метаболизма крахмала представлены большим количеством изоформ, которые кодируются соответствующим количеством паралогичных генов, для которых характерны спектры экспрессии, специфичные как для определенной ткани (листья, развивающиеся семена и клубни), так и для стадии развития, что показано, например, у *Arabidopsis* и кукурузы (Tsai et al., 2009; Chen et al., 2014). У картофеля тканеспецифичный характер экспрессии выявлен для генов *SuSy4*, *SS5*, *SBE3*, *APL3*, *PHO1a*, *PHO1b*, *GPT1.1*, *GPT2.1*, *SEX4*, *NTT2* (в клубнях) и *AMY1.1*, *APL1*, *BAM3.1* (в листьях) (Van Harsselaar et al., 2017). На экспрессию генов биосинтеза крахмала оказывает влияние ряд внешних и внутренних факторов: циркадные ритмы, световой цикл и уровень сахаров (Tiessen et al., 2002; Kötting et al., 2010). Так, уровень экспрессии генов *GBSSI*, *LSF1*, *LSF2*, *SEX4*, *BAM3* в листьях *A. thaliana* контролируется транскрипционными факторами, зависящими от циркадных ритмов и светового периода, что необходимо для быстрого удовлетворения потребностей в энергии в ответ на меняющиеся условия окружающей среды (Tenorio et

al., 2003; Flis et al., 2016). В растущих клубнях картофеля наблюдали зависимое от фотопериода изменение уровня экспрессии генов *GBSS*, *SuSy* и *AGPase*, при этом более высокий уровень отмечался в конце светового периода, а наиболее низкий – в начале, что обусловлено изменением уровня притока фотоассимилятов, транспортируемых из листьев (Geigenberger, Stitt, 2000; Ferreira et al., 2010).

Важной стадией развития растения картофеля является процесс туберизации, т. е. формирование запасящего органа (клубня) из подземного побега (столона), в связи с чем происходит активный биосинтез крахмала, образование крахмальных гранул и увеличение потока метаболитов. Туберизация – сложный процесс, на который влияют факторы внешней среды (фотопериод), биохимические, гормональные и другие сигналы (микроРНК, транскрипционные факторы) (Hannapel et al., 2017; Kondhare et al., 2021). Изучение процесса туберизации внесло большой вклад в понимание механизмов регуляции метаболизма крахмала в клубнях картофеля.

Фитогормоны являются важным фактором, оказывающим влияние на метаболизм крахмала. Так, показана корреляция между уровнем абсцизовой кислоты и накоплением крахмала в клубнях картофеля (Borzenkova, Borovkova, 2003). При обработке столонов ИУК (гетероауксином) наблюдалось увеличение содержания крахмала в растущих клубнях, при этом двукратное увеличение концентрации ИУК имело противоположный эффект (Wang D. et al., 2018). При формировании запасящих корней маниока показана корреляция уровня транскрипции гена ауксина и генов биосинтеза крахмала (*PGM*, *AGPase*, *GBSS*, *SS*, *BE*) (Rüscher et al., 2021).

Другое важное сигнальное вещество, влияющее на экспрессию генов метаболизма крахмала, – это сахара (гексозы, сахароза и трегалоза). У картофеля сахароза индуцирует увеличение экспрессии генов *SuSy* и *AGPase* (Salanoubat, Belliard, 1989; Müller-Röber et al., 1990). В растущих клубнях уровень экспрессии *SuSy* и *AGPase* высокий, а при отсоединении клубня от растения быстро уменьшается (Ferreira et al., 2010).

На разных стадиях развития клубня наблюдали дифференциальную экспрессию генов биосинтеза крахмала (Ferreira et al., 2010; Van Harsselaar et al., 2017). На стадии столона был повышен уровень экспрессии гена *SS4*, который снижался по мере роста клубня, что подтверждает роль этой крахмалсинтазы в инициации гранулообразования (Ferreira et al., 2010). Также при росте клубня увеличивался уровень экспрессии гена сахарозосинтазы *SuSy4* и уменьшался уровень экспрессии инвертазы клеточной стенки *cw-Inv*, что свидетельствует о переходе к сахарозосинтазному пути расщепления сахарозы. Увеличение экспрессии по мере роста клубня наблюдали для генов *GPT*, *NTT*, *AGPase*, крахмалсинтаз и крахмалветвящих ферментов, из них специфичная активность именно для тканей клубней показана для изогенов *SuSy4*, *SBE3*, *GPT2.1* (Ferreira et al., 2010; Van Harsselaar et al., 2017). Для изучения механизмов молекулярно-генетической регуляции активности генов был использован анализ коэкспрессии и обнаружена ассоциация транскрипционных факторов LOB, TIFY5a, WRKY4 с экспрессией генов *SuSy4* и *GPT2.1* (Van Harsselaar et al., 2017). Анализ

сетей коэкспрессии для генов биосинтеза крахмала семи видов растений (*Arabidopsis thaliana*, маниок *Manihot esculenta*, просо *Panicum virgatum*, кукуруза *Zea mays*, рис *Oryza sativa*, ячмень *Hordeum vulgare*, батат *Ipomoea batatas*) показал участие 24 транскрипционных факторов (López-González et al., 2019).

Посттранскрипционные механизмы регуляции генов метаболизма крахмала малоизучены. В целом посттранскрипционная регуляция осуществляется рядом факторов, таких как РНК-связывающие белки, микроРНК, альтернативный сплайсинг, благодаря чему растения могут быстро репрограммировать свой транскриптом в ответ на внутренние и внешние стимулы. У картофеля показано влияние фотопериода на профили экспрессии микроРНК при росте и развитии клубней: гены-мишени для дифференциально экспрессирующихся микроРНК кодируют транскрипционные факторы и РНК-связывающиеся регуляторные белки (*StGRAS*, *StTCP2/4* и *StPTB6*) (Kondhare et al., 2018).

Следующий уровень – посттрансляционный, который заключается в регуляции активности белков с помощью аллостерического контроля, при котором происходит связывание эффекторной молекулы с некаталитическим сайтом фермента, за счет чего меняются его конформация и каталитические свойства и, в свою очередь, специфичность и взаимодействие с другими белками (Zeeman et al., 2010). Аллостерическая регуляция включает в себя фосфорилирование белков, формирование их мультимерных комплексов и дисульфидных мостиков (Kötting et al., 2010; Zeeman et al., 2010). Показано, что многие ферменты метаболизма крахмала у *A. thaliana*, такие как PGI, PGM1, AGPase, SS3, GWD1, GWD2, DPE2, AMY3, BAM1, BAM3, LDA, pGlcT и MEX1, находятся в фосфорилированном статусе (Kötting et al., 2010). У картофеля наглядным примером фермента, подлежащего аллостерической регуляции, является АДФ-глюкозопирофосфорилаза AGPase, которая активируется в присутствии 3-фосфоглицериновой кислоты и ингибируется неорганическим фосфатом (Sowokinos, Preiss, 1982). В зависимости от окислительно-восстановительного статуса клетки AGPase может обратимо инактивироваться за счет образования дисульфидных мостиков между малыми субъединицами гетеротетрамера (Ballicora et al., 2000).

Ферменты могут собираться в комплексы, известные как «метаболоны» (Sweetlove, Fernie, 2013). Комплексы, образованные ферментами биосинтеза крахмала SSIII, SSIIa, SBEIIa и SBEIIb, обнаружены в эндосперме развивающихся семян злаков (Tetlow et al., 2008). Образование белковых комплексов PTST2 и SS4 происходит при инициации образования крахмальной гранулы в листьях *Arabidopsis* (Seung et al., 2015, 2017). У картофеля изоамилазы ISA1 и ISA2 формируют гетеротетрамерный комплекс, который контролирует образование гранул крахмала (Bustos et al., 2004).

Заключение

Растущая необходимость в производстве крахмала для нужд промышленности делает крайне актуальным изучение его метаболизма у растений картофеля, в особен-

ности в клубнях. За последние три десятилетия был получен большой объем данных о ключевых ферментах метаболизма крахмала и углеводного обмена различных видов растений (как сельскохозяйственных, так и модельного объекта *A. thaliana*). Несмотря на то что в общих чертах схема биосинтеза крахмала одинакова у изученных видов, наблюдаются и существенные различия, связанные с присутствием множества изоформ ферментов и особенностями их функций, различающимися путями транспорта метаболитов (например, транспорт АДФ-глюкозы через пластидную мембрану у злаковых), а также сложной и многоуровневой системой регуляции, которая управляется как внешними (фотопериод, температура), так и внутренними факторами (действие фитогормонов, метаболитов, микроРНК, регуляторных белков). Так, в геноме картофеля *Solanum tuberosum* идентифицированы изогены, кодирующие шесть изоформ крахмалсинтаз, семь – сахарозосинтаз, девять – β-амилаз, и по три-пять изоформ крахмалветвящих и других ферментов (Van Harselaar et al., 2017).

Функция многих изоформ (например, большинства α- и β-амилаз) до сих пор неизвестна. Для ряда изогенов показана клубнеспецифичная экспрессия (*SuSy4*, *SS5*, *SBE3*, *APL3*, *PHO1a*, *PHO1b*, *GPT1.1*, *GPT2.1*, *SEX4*, *NTT2*), а также изменения активности на разных стадиях формирования клубней (Ferreira et al., 2010; Van Harselaar et al., 2017). Отмечено специфичное участие изоформ амилаз при деградации крахмала и метаболизме углеводов при холодом осахаривании (*AMY23*, *BAM1*, *BAM9*) (Hou et al., 2017). Выявлено также влияние ряда различных факторов на процесс накопления крахмала при развитии клубня: транскрипционных факторов (*LOB*, *TIFY5a*, *WRKY4*), фитогормонов (ауксин, абсцизовая кислота), сахаров и микроРНК, содержание которых может опосредовать влияние фотопериода. При этом информация о функциях многих изоформ ферментов и о белках-участниках процесса, выполняющих регуляторные и направляющие функции в процессе метаболизма крахмала в растениях картофеля, до сих пор остается неполной. Для решения этой проблемы предлагают использовать современные методы, такие как совместный анализ метаболома и транскриптома внутри отдельной клетки либо ткани (López-González et al., 2019). Перспективным для поиска новых компонентов является подход протеомики «снизу-вверх» (bottom-up) (Helle et al., 2018). Например, при анализе 36 белков, связанных с крахмальными гранулами картофеля, кроме уже известных ферментов метаболизма крахмала были выявлены направляющие и регуляторные белки, описанные у *Arabidopsis*: PTST1 (Protein Targeting to Starch), ESV1 (Early StarVation1) и LESV (Like ESV), а также ингибиторы протеаз типа Кунитц (Kunitz-type proteinase inhibitor), тиоредоксин (TRX) и глутатионпероксидаза (GPX), которые участвуют в процессе окислительно-восстановительной регуляции (Helle et al., 2018). Развернутая информация обо всех компонентах, принимающих участие в процессе метаболизма крахмала, и о схеме их взаимодействия, в том числе при меняющихся условиях внешней среды, очень важна для получения сортов картофеля с повышенной продуктивностью и заданными свойствами крахмала.

Список литературы / References

- Слугина М.А., Кочиева Е.З. Использование генов углеводного обмена для улучшения качества клубней картофеля (*Solanum tuberosum* L.). *С.-х. биология*. 2018;53(3):450-463. DOI 10.15389/agrobiol.2018.3.450rus.
[Slugina M.A., Kochieva E.Z. The use of carbohydrate metabolism genes for potato (*Solanum tuberosum* L.). *Selskokhozyaystvennaya Biologiya = Agricultural Biology*. 2018;53(3):450-463. DOI 10.15389/agrobiol.2018.3.450eng.]
- Хлесткин В.К., Пельтек С.Е., Колчанов Н.А. Гены-мишени для получения сортов картофеля (*Solanum tuberosum* L.) с заданными свойствами крахмала. *С.-х. биология*. 2017;52(1):25-36. DOI 10.15389/agrobiol.2017.1.25rus.
[Khlestkin V.K., Peltek S.E., Kolchanov N.A. Target genes for development of potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivars with desired starch properties. *Selskokhozyaystvennaya Biologiya = Agricultural Biology*. 2017;52(1):25-36. DOI 10.15389/agrobiol.2017.1.25eng.]
- Abt M., Pfister B., Sharma M., Eicke S., Bürgy L., Neale I., Seung D., Zeeman S.C. STARH SYNTHASE5, a noncanonical starch synthase-like protein, promotes starch granule initiation in *Arabidopsis*. *Plant Cell*. 2020;32(8):2543-2565. DOI 10.1105/tpc.19.00946.
- Andersson M., Melander M., Pojmark P., Larsson H., Bülow L., Hofvander P. Targeted gene suppression by RNA interference: an efficient method for production of high-amylose potato lines. *J. Biotechnol.* 2006;123:137-148. DOI 10.1016/j.jbiotec.2005.11.001.
- Andersson M., Turesson H., Arrivault S., Zhang Y., Fält A.-S., Fernie A.R., Hofvander P. Inhibition of plastid PPase and NTT leads to major changes in starch and tuber formation in potato. *J. Exp. Bot.* 2018;69(8):1913-1924. DOI 10.1093/jxb/ery051.
- Andersson M., Turesson H., Nicolia A., Fält A.S., Samuelsson M., Hofvander P. Efficient targeted multiallelic mutagenesis in tetraploid potato (*Solanum tuberosum*) by transient CRISPR-Cas9 expression in protoplasts. *Plant Cell Rep.* 2017;36:117-128. DOI 10.1007/s00299-016-2062-3.
- Appeldoorn N.J.G., de Bruijn S.M., Koot-Gronsveld E.A.M., Visser R.G.F., Vreugdenhil D., van der Plas L.H.W. Developmental changes of enzymes involved in conversion of sucrose to hexose-phosphate during early tuberisation of potato. *Planta*. 1997;202:220-226. DOI 10.1007/s004250050122.
- Ballicora M.A., Frueauf J.B., Fu Y., Schurmann P., Preiss J. Activation of the potato tuber ADP-glucose pyrophosphorylase by thioredoxin. *J. Biol. Chem.* 2000;275(2):1315-1320. DOI 10.1074/jbc.275.2.1315.
- Baroja-Fernández E., Muñoz F.J., Montero M., Etxeberria E., Sesma M.T., Ovecka M., Bahaji A., Ezquer I., Li J., Prat S., Pozueta-Romero J. Enhancing sucrose synthase activity in transgenic potato (*Solanum tuberosum* L.) tubers results in increased levels of starch, ADPglucose and UDPglucose and total yield. *Plant Cell Physiol.* 2009;50(9):1651-1662. DOI 10.1093/pcp/pcp108.
- Birt D.F., Boylston T., Hendrich S., Jane J.L., Hollis J., Li L., McClelland J., Moore S., Phillips G.J., Rowling M., Schalinske K., Scott M.P., Whitley E.M. Resistant starch: promise for improving human health. *Adv. Nutr.* 2013;4(6):587-601. DOI 10.3945/an.113.004325.
- Borzenkova R.A., Borovkova M.P. Developmental patterns of phytohormone content in the cortex and pith of potato tubers as related to their growth and starch content. *Russ. J. Plant Physiol.* 2003;50:119-124. DOI 10.1023/A:1021957022595.
- Bowsher C.G., Scrase-Field E.F.A.L., Esposito S., Emes M.J., Tetlow I.J. Characterization of ADP-glucose transport across the cereal endosperm amyloplast envelope. *J. Exp. Bot.* 2007;58(6):1321-1332. DOI 10.1093/jxb/erl297.
- Bustos R., Fahy B., Hylton C.M., Seale R., Nebane N.M., Edwards A., Martin C., Smith A.M. Starch granule initiation is controlled by a heteromultimeric isoamylase in potato tubers. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2004;101(7):2215-2220. DOI 10.1073/pnas.0305920101.
- Chen J., Zeng B., Zhang M., Xie S., Wang G., Hauck A., Lai J. Dynamic transcriptome landscape of maize embryo and endosperm development. *Plant Physiol.* 2014;166(1):252-264. DOI 10.1104/pp.114.240689.
- Cho M.H., Lim H., Shin D.H., Jeon J.S., Bhoo S.H., Park Y.I., Hahn T.R. Role of the plastidic glucose translocator in the export of starch degradation products from the chloroplasts in *Arabidopsis thaliana*. *New Phytologist*. 2011;190(1):101-112. DOI 10.1111/j.1469-8137.2010.03580.x.
- Claassen P.A.M., Budde M.A.W., Van Calker M.H. Increase in phosphorylase activity during cold-induced sugar accumulation in potato tubers. *Potato Res.* 1993;36:205-217. DOI 10.1007/BF02360529.
- Clasen B.M., Stoddard T.J., Luo S., Demorest Z.L., Li J., Cedrone F., Tibebe R., Davison S., Ray E.E., Daulhac A., Coffman A., Yabandith A., Retterath A., Haun W., Baltes N.J., Mathis L., Voytas D.F., Zhang F. Improving cold storage and processing traits in potato through targeted gene knockout. *Plant Biotechnol. J.* 2016;14(1):169-176. DOI 10.1111/pbi.12370.
- Critchley J.H., Zeeman S.C., Takaha T., Smith A.M., Smith S.M. A critical role for disproportionating enzyme in starch breakdown is revealed by a knock-out mutation in *Arabidopsis*. *Plant J.* 2001;26(1):89-100. DOI 10.1046/j.1365-313x.2001.01012.x.
- Fernie A.R., Swiedrych A., Tauberger E., Lytovchenko A., Trethewey R.N., Willmitzer L. Potato plants exhibiting combined antisense repression of cytosolic and plastidial isoforms of phosphoglucomutase surprisingly approximate wild type with respect to the rate of starch synthesis. *Plant Physiol. Biochem.* 2002;40(11):921-927. DOI 10.1016/S0981-9428(02)01457-2.
- Ferreira S.J., Senning M., Fischer-Stettler M., Streb S., Ast M., Neuhäus H.E., Zeeman S.C., Sonnewald S., Sonnewald U. Simultaneous silencing of isoamylases ISA1, ISA2 and ISA3 by multi-target RNAi in potato tubers leads to decreased starch content and an early sprouting phenotype. *PLoS One*. 2017;12(7):e0181444. DOI 10.1371/journal.pone.0181444.
- Ferreira S.J., Senning M., Sonnewald S., Kessling P.M., Goldstein R., Sonnewald U. Comparative transcriptome analysis coupled to X-ray CT reveals sucrose supply and growth velocity as major determinants of potato tuber starch biosynthesis. *BMC Genomics*. 2010;11:93. DOI 10.1186/1471-2164-11-93.
- Fettke J., Albrecht T., Hejazi M., Mahlow S., Nakamura Y., Steup M. Glucose 1-phosphate is efficiently taken up by potato (*Solanum tuberosum*) tuber parenchyma cells and converted to reserve starch granules. *New Phytol.* 2010;185(3):663-675. DOI 10.1111/j.1469-8137.2009.03126.x.
- Fettke J., Leifels L., Brust H., Herbst K., Steup M. Two carbon fluxes to reserve starch in potato (*Solanum tuberosum* L.) tuber cells are closely interconnected but differently modulated by temperature. *J. Exp. Bot.* 2012;63(8):3011-3029. DOI 10.1093/jxb/ers014.
- Flis A., Sulpice R., Seaton D.D., Ivakov A.A., Liput M., Abel C., Millar A.J., Stitt M. Photoperiod-dependent changes in the phase of core clock transcripts and global transcriptional outputs at dawn and dusk in *Arabidopsis*. *Plant Cell Environ.* 2016;39(9):1955-1981. DOI 10.1111/pce.12754.
- Flügge U.I., Fischer K., Gross A., Sebald W., Lottspeich F., Eckerstrom C. The triose phosphate-3-phosphoglycerate-phosphate translocator from spinach chloroplasts: nucleotide sequence of a full-length cDNA clone and import of the *in vitro* synthesized precursor protein into chloroplasts. *EMBO J.* 1989;8(1):39-46.
- Fulton D.C., Stettler M., Mettler T., Vaughan C.K., Li J., Francisco P., Gil M., Reinhold H., Eicke S., Messerli G., Dorken G., Halliday K., Smith A.M., Smith S.M., Zeeman S.C. β -AMYLASE4, a non-catalytic protein required for starch breakdown, acts upstream of three active β -amylases in *Arabidopsis* chloroplasts. *Plant Cell*. 2008;20(4):1040-1058. DOI 10.1105/tpc.107.056507.
- Geigenberger P., Müller-Rober B., Stitt M. Contribution of adenosine 5'-diphosphoglucose pyrophosphorylase to the control of starch synthesis is decreased by water stress in growing potato tubers. *Planta*. 1999;209(3):338-345. DOI 10.1007/s004250050641.
- Geigenberger P., Stitt M. Diurnal changes in sucrose, nucleotides, starch synthesis and AGPS transcript in growing potato tubers that are sup-

- pressed by decreased expression of sucrose phosphate synthase. *Plant J.* 2000;23:795-806. DOI 10.1046/j.1365-313x.2000.00848.x.
- George G.M., van der Merwe M.J., Nunes-Nesi A., Bauer R., Fernie A.R., Kossmann J., Lloyd J.R. Virus-induced gene silencing of plastidial soluble inorganic pyrophosphatase impairs essential leaf anabolic pathways and reduces drought stress tolerance in *Nicotiana benthamiana*. *Plant Physiol.* 2010;154(1):55-66. DOI 10.1104/pp.110.157776.
- Hannapel D.J., Sharma P., Lin T., Banerjee A.K. The multiple signals that control tuber formation. *Plant Physiol.* 2017;174(2):845-856. DOI 10.1104/pp.17.00272.
- Hejazi M., Fetteke J., Kötting O., Zeeman S.C., Steup M. The Laforin-like dual-specificity phosphatase SEX4 from *Arabidopsis* hydrolyzes both C6- and C3-phosphate esters introduced by starch-related dikinases and thereby affects phase transition of α -glucans. *Plant Physiol.* 2010;152(2):711-722. DOI 10.1104/pp.109.149914.
- Helle S., Bray F., Verbeke J., Devassine S., Courseaux A., Facon M., Tokarski C., Rolando C., Szydowski N. Proteome analysis of potato starch reveals the presence of new starch metabolic proteins as well as multiple protease inhibitors. *Front. Plant Sci.* 2018;9:746. DOI 10.3389/fpls.2018.00746.
- Hennen-Bierwagen T.A., James M.G., Myers A.M. Involvement of debranching enzymes in starch biosynthesis. In: Tetlow I.J. (Ed.) *Essential Reviews in Experimental Biology*. Vol. 5. The Synthesis and Breakdown of Starch. Society for Experimental Biology, London, 2012;179-215.
- Hofvander P., Andersson M., Larsson C.T., Larsson H. Field performance and starch characteristics of high-amylose potatoes obtained by antisense gene targeting of two branching enzymes. *Plant Biotechnol. J.* 2004;2:311-320. DOI 10.1111/j.1467-7652.2004.00073.x.
- Hossain F., Chhabra R., Devi E.L., Zunjare R.U., Jaiswal S.K., Muthusamy V. Molecular analysis of mutant *granule-bound starch synthase-I (waxy1)* gene in diverse waxy maize inbreds. *3 Biotech.* 2019;9(1):3. DOI 10.1007/s13205-018-1530-6.
- Hou J., Zhang H., Liu J., Reid S., Liu T., Xu S., Tian Z., Sonnewald U., Song B., Xie C. Amylases StAmy23, StBAM1 and StBAM9 regulate cold-induced sweetening of potato tubers in distinct ways. *J. Exp. Bot.* 2017;68(9):2317-2331. DOI 10.1093/jxb/erx076.
- Hussain H., Mant A., Seale R., Zeeman S., Hinchliffe E., Edwards A., Hylton C., Bornemann S., Smith A.M., Martin C., Bustos R. Three isoforms of isoamylase contribute different catalytic properties for the debranching of potato glucans. *Plant Cell.* 2003;15(1):133-149. DOI 10.1105/tpc.006635.
- Kammerer B., Fischer K., Hilpert B., Schubert S., Gutensohn M., Weber A., Flüge U.I. Molecular characterization of a carbon transporter in plastids from heterotrophic tissues: the glucose 6-phosphate/phosphate antiporter. *Plant Cell.* 1998;10(1):105-117. DOI 10.1105/tpc.10.1.105.
- Kleczkowski L.A., Kunz S., Wilczynska M. Mechanisms of UDP-glucose synthesis in plants. *Crit. Rev. Plant Sci.* 2010;29(4):191-203. DOI 10.1080/07352689.2010.483578.
- Kondhare K.R., Malankar N.N., Devani R.S., Banerjee A.K. Genome-wide transcriptome analysis reveals small RNA profiles involved in early stages of stolon-to-tuber transitions in potato under photoperiodic conditions. *BMC Plant Biol.* 2018;18:284. DOI 10.1186/s12870-018-1501-4.
- Kondhare K.R., Patil A.B., Giri A.P. Auxin: an emerging regulator of tuber and storage root development. *Plant Sci.* 2021;306:110854. DOI 10.1016/j.plantsci.2021.110854.
- Kötting O., Kossmann J., Zeeman S.C., Lloyd J.R. Regulation of starch metabolism: the age of enlightenment? *Curr. Opin. Plant Biol.* 2010;13(3):321-329. DOI 10.1016/j.pbi.2010.01.003.
- Leroch M., Kirchberger S., Haferkamp I., Wahl M., Neuhaus H.E., Tjaden J. Identification and characterization of a novel plastidial adenine nucleotide uniporter from *Solanum tuberosum*. *J. Biol. Chem.* 2005;280(18):17992-8000. DOI 10.1074/jbc.M412462200.
- Li L., Jiang H.X., Campbell M., Blanco M., Jane J.L. Characterization of maize amylose-extender (*ae*) mutant starches. Part I: Relationship between resistant starch contents and molecular structures. *Carbohydr. Polym.* 2008;74(3):396-404. DOI 10.1016/j.carbpol.2008.03.012.
- Lloyd J.R., Blennow A., Burhenne K., Kossmann J. Repression of a novel isoform of disproportionating enzyme (stDPE2) in potato leads to inhibition of starch degradation in leaves but not tubers stored at low temperature. *Plant Physiol.* 2004;134(4):1347-1354. DOI 10.1104/pp.103.038026.
- López-González C., Juárez-Colunga S., Morales-Eliás N.C., Tiessen A. Exploring regulatory networks in plants: transcription factors of starch metabolism. *Peer. J.* 2019;7:e6841. DOI 10.7717/peerj.6841.
- Lorberth R., Ritte G., Willmitzer L., Kossmann J. Inhibition of a starch-granule-bound protein leads to modified starch and repression of cold sweetening. *Nat. Biotechnol.* 1998;16(5):473-477. DOI 10.1038/nbt0598-473.
- Malinova I., Kössler S., Orawetz T., Matthes U., Orzechowski S., Koch A., Fetteke J. Identification of two *Arabidopsis thaliana* plasma membrane transporters able to transport glucose 1-phosphate. *Plant Cell Physiol.* 2020;61(2):381-392. DOI 10.1093/pcp/pcz206.
- McKenzie M.J., Chen R.K., Harris J.C., Ashworth M.J., Brummell D.A. Post-translational regulation of acid invertase activity by vacuolar invertase inhibitor affects resistance to cold-induced sweetening of potato tubers. *Plant Cell Environ.* 2013;36(1):176-185. DOI 10.1111/j.1365-3040.2012.02565.x.
- Mérida A., Fetteke J. Starch granule initiation in *Arabidopsis thaliana* chloroplasts. *Plant J.* 2021;107(3):688-697. DOI 10.1111/tpj.15359.
- Müller-Röber B.T., Kossmann J., Hannah L.C., Willmitzer L., Sonnewald U. One of two different ADP-glucose pyrophosphorylase genes from potato respond strongly to elevated levels of sucrose. *Mol. Gen. Genet.* 1990;224:136-146. DOI 10.1007/BF00259460.
- Muth J., Hartje S., Twyman R.M., Hofferbert H.R., Tacke E., Prüfer D. Precision breeding for novel starch variants in potato. *Plant Biotechnol. J.* 2008;6(6):576-584. DOI 10.1111/j.1467-7652.2008.00340.x.
- Nielsen T.H., Deiting U., Stitt M. $\text{A}\beta$ -amylase in potato tubers is induced by storage at low temperature. *Plant Physiol.* 1997;113(2):503-510. DOI 10.1104/pp.113.2.503.
- Orzechowski S., Sitnicka D., Grabowska A., Compart J., Fetteke J., Zdunek-Zastocka E. Effect of short-term cold treatment on carbohydrate metabolism in potato leaves. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(13):7203. DOI 10.3390/ijms22137203.
- Pfister B., Zeeman S.C. Formation of starch in plant cells. *Cell Mol. Life Sci.* 2016;73(14):2781-2807. DOI 10.1007/s00018-016-2250-x.
- Qu J., Xu S., Zhang Z., Chen G., Zhong Y., Liu L., Zhang R., Xue J., Guo D. Evolutionary, structural and expression analysis of core genes involved in starch synthesis. *Sci. Rep.* 2018;8:12736. DOI 10.1038/s41598-018-30411-y.
- Reyniers S., Ooms N., Gomand S.V., Delcour J.A. What makes starch from potato (*Solanum tuberosum* L.) tubers unique: a review. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 2020;19(5):2588-2612. DOI 10.1111/1541-4337.12596.
- Ritte G., Heydenreich M., Mahlow S., Haebel S., Kötting O., Steup M. Phosphorylation of C6- and C3-positions of glucosyl residues in starch is catalysed by distinct dikinases. *FEBS Lett.* 2006;580(20):4872-4876. DOI 10.1016/j.febslet.2006.07.085.
- Roldán I., Wattedled F., Lucas M.M., Delvallé D., Planchot V., Jiménez S., Pérez R., Ball S., D'Hulst C., Mérida A. The phenotype of soluble starch synthase IV defective mutants of *Arabidopsis thaliana* suggests a novel function of elongation enzymes in the control of starch granule formation. *Plant J.* 2007;49:492-504. DOI 10.1111/j.1365-313X.2006.02968.x.
- Ruan Y.L. Sucrose metabolism: gateway to diverse carbon use and sugar signaling. *Annu. Rev. Plant Biol.* 2014;65:33-67. DOI 10.1146/annurev-arplant-050213-040251.
- Rüschler D., Corral J.M., Carluccio A.V., Klemens P.A.W., Gisel A., Stavolone L., Neuhaus H.E., Ludewig F., Sonnewald U., Zierer W. Auxin signaling and vascular cambium formation enable storage metabolism in cassava tuberous roots. *J. Exp. Bot.* 2021;72(10):3688-3703. DOI 10.1093/jxb/erab106.

- Salanoubat M., Belliard G. The steady-state level of potato sucrose synthase mRNA is dependent on wounding, anaerobiosis and sucrose concentration. *Gene*. 1989;84:181-185. DOI 10.1016/0378-1119(89)90153-4.
- Samodien E., Jewell J.F., Loedolff B., Oberlander K., George G.M., Zeeman S.C., Damberger F.F., van der Vyver C., Kossmann J., Lloyd J.R. Repression of *Sex4* and *Like Sex Four2* orthologs in potato increases tuber starch bound phosphate with concomitant alterations in starch physical properties. *Front. Plant Sci.* 2018;9:1044. DOI 10.3389/fpls.2018.01044.
- Santana A.L., Meireles M.A.A. New starches are the trend for industry applications: a review. *Food Public Health*. 2014;4(5):229-241. DOI 10.5923/j.fph.20140405.04.
- Santelia D., Kötting O., Seung D., Schubert M., Thalmann M., Bischof S., Meekins D.A., Lutz A., Patron N., Gentry M.S., Alain F.H., Zeeman S.C. The phosphoglucan phosphatase Like Sex Four2 dephosphorylates starch at the C3-position in *Arabidopsis*. *Plant Cell*. 2011;23(11):4096-4111. DOI 10.1105/tpc.111.092155.
- Scheidig A., Fröhlich A., Schulze S., Lloyd J.R., Kossmann J. Downregulation of a chloroplast-targeted β -amylase leads to a starch-excess phenotype in leaves. *Plant J*. 2002;30(5):581-591. DOI 10.1046/j.1365-313x.2002.01317.x.
- Schönhals E.M., Ding J., Ritter E., Paulo J.M., Cara N., Tacke E., Hoferbert H.R., Lübeck J., Strahwald J., Gebhardt C. Physical mapping of QTL for tuber yield, starch content and starch yield in tetraploid potato (*Solanum tuberosum* L.) by means of genome wide genotyping by sequencing and the 8.3 K SolCAP SNP array. *BMC Genomics*. 2017;18:642. DOI 10.1186/s12864-017-3979-9.
- Schwall G.P., Safford R., Westcott R.J., Jeffcoat R., Tayal A., Shi Y.C., Gidley M.J., Jobling S.A. Production of very-high-amylose potato starch by inhibition of SBE A and B. *Nat. Biotechnol.* 2000;18(5):551-554. DOI 10.1038/75427.
- Seung D., Boudet J., Monroe J., Schreier T.B., David L.C., Abt M., Lu K.J., Zanella M., Zeeman S.C. Homologs of PROTEIN TARGETING TO STARCH control starch granule initiation in *Arabidopsis* leaves. *Plant Cell*. 2017;29(7):1657-1677. DOI 10.1105/tpc.17.00222.
- Seung D., Soyk S., Coiro M., Maier B.A., Eicke S., Zeeman S.C. PROTEIN TARGETING TO STARCH is required for localising GRANULE-BOUND STARCH SYNTHASE to starch granules and for normal amylose synthesis in *Arabidopsis*. *PLoS Biol.* 2015;13(2):e1002080. DOI 10.1371/journal.pbio.1002080.
- Sonnenwald S., Sonnenwald U. Regulation of potato tuber sprouting. *Planta*. 2014;239(1):27-38. DOI 10.1007/s00425-013-1968-z.
- Sowokinos J.R., Hayes R.J., Thill C.A. Coordinated regulation of cold induced sweetening in tetraploid potato families by isozymes of UDP-glucose pyrophosphorylase and vacuolar acid invertase. *Am. J. Potato Res.* 2018;95:487-494. DOI 10.1007/s12230-018-9653-1.
- Sowokinos J.R., Preiss J. Pyrophosphorylases in *Solanum tuberosum*: III. Purification, physical, and catalytic properties of ADPglucose pyrophosphorylase in potatoes. *Plant Physiol.* 1982;69(6):1459-1466. DOI 10.1104/pp.69.6.1459.
- Stein O., Granot D. An overview of sucrose synthases in plants. *Front. Plant Sci.* 2019;10:95. DOI 10.3389/fpls.2019.00095.
- Stinard P.S., Robertson D.S., Schnable P.S. Genetic isolation, cloning, and analysis of a mutator-induced, dominant antimorph of the maize *amylose extender1* locus. *Plant Cell*. 1993;5(11):1555-1566. DOI 10.1105/tpc.5.11.1555.
- Streb S., Delatte T., Umhang M., Eicke S., Schorderet M., Reinhardt D., Zeeman S.C. Starch granule biosynthesis in *Arabidopsis* is abolished by removal of all debranching enzymes but restored by the subsequent removal of an endoamylase. *Plant Cell*. 2008;20(12):3448-3466. DOI 10.1105/tpc.108.063487.
- Streb S., Zeeman S.C. Starch metabolism in *Arabidopsis*. *Arabidopsis Book*. 2012;10:e0160. DOI 10.1199/tab.0160.
- Sweetlove L.J., Fernie A.R. The spatial organization of metabolism within the plant cell. *Annu. Rev. Plant Biol.* 2013;64:723-746. DOI 10.1146/annurev-arplant-050312-120233.
- Tauberger E., Fernie A.R., Emmermann M., Renz A., Kossmann J., Willmitzer L., Trethewey R.N. Antisense inhibition of plastidial phosphoglucosyltransferase provides compelling evidence that potato tuber amyloplasts import carbon from the cytosol in the form of glucose-6-phosphate. *Plant J*. 2000;23(1):43-53. DOI 10.1046/j.1365-313x.2000.00783.x.
- Tenorio G., Orea A., Romero J.M., Mérida A. Oscillation of mRNA level and activity of granule-bound starch synthase I in *Arabidopsis* leaves during the day/night cycle. *Plant Mol. Biol.* 2003;51(6):949-958. DOI 10.1023/a:1023053420632.
- Tetlow I.J., Beisel K.G., Cameron S., Makhmoudova A., Liu F., Bresolin N.S., Wait R., Morell M.K., Emes M.J. Analysis of protein complexes in wheat amyloplasts reveals functional interactions among starch biosynthetic enzymes. *Plant Physiol.* 2008;146(4):1878-1891. DOI 10.1104/pp.108.116244.
- Tetlow I.J., Bertoft E. A review of starch biosynthesis in relation to the building block-backbone model. *Int. J. Mol. Sci.* 2020;21:7011. DOI 10.3390/ijms21197011.
- Tiessen A., Hendriks J.H.M., Stitt M., Branscheid A., Gibon Y., Faré E.M., Geigenberger P. Starch synthesis in potato tubers is regulated by post-translational redox modification of ADP-glucose pyrophosphorylase: a novel regulatory mechanism linking starch synthesis to the sucrose supply. *Plant Cell*. 2002;14:2191-2213. DOI 10.1105/tpc.003640.
- Tjaden J., Möhlmann T., Kampfenkel K., Neuhaus E. Altered plastidic ATP/ADP-transporter activity influences potato (*Solanum tuberosum* L.) tuber morphology, yield and composition of tuber starch. *Plant J*. 2001;16:531-540. DOI 10.1046/j.1365-313x.1998.00317.x.
- Tsai H.-L., Lue W.-L., Lu K.-J., Hsieh M.-H., Wang S.-M., Chen J. Starch synthesis in *Arabidopsis* is achieved by spatial cotranscription of core starch metabolism genes. *Plant Physiol.* 2009;151(3):1582-1595. DOI 10.1104/pp.109.144196.
- Tuncel A., Corbin K.R., Ahn-Jarvis J., Harris S., Hawkins E., Smedley M.A., Harwood W., Warren F.J., Patron N.J., Smith A.M. Cas9-mediated mutagenesis of potato starch-branching enzymes generates a range of tuber starch phenotypes. *Plant Biotechnol. J.* 2019;17(12):2259-2271. DOI 10.1111/pbi.13137.
- Van Harsseelaar J.K., Lorenz J., Senning M., Sonnewald U., Sonnewald S. Genome-wide analysis of starch metabolism genes in potato (*Solanum tuberosum* L.). *BMC Genomics*. 2017;18(1):37. DOI 10.1186/s12864-016-3381-z.
- Visser R.G., Somhorst I., Kuipers G.J., Ruys N.J., Feenstra W.J., Jacobsen E. Inhibition of the expression of the gene for granule-bound starch synthase in potato by antisense constructs. *Mol. Gen. Genet.* 1991;225(2):289-296. DOI 10.1007/BF00269861.
- Wang D., Cheng L., Wang Y., Zhang F. Comparative proteomic analysis of potato (*Solanum tuberosum* L.) tuberization *in vitro* regulated by IAA. *Am. J. Potato Res.* 2018;95(4):395-412. DOI 10.1007/s12230-018-9640-6.
- Wang X., Xue L., Sun J., Zuo J. The *Arabidopsis BE1* gene, encoding a putative glycoside hydrolase localized in plastids, plays crucial roles during embryogenesis and carbohydrate metabolism. *J. Integr. Plant Biol.* 2010;52:273-288. DOI 10.1111/j.1744-7909.2010.00930.x.
- Weise S.E., Schrader S.M., Kleinbeck K.R., Sharkey T.D. Carbon balance and circadian regulation of hydrolytic and phospholytic breakdown of transitory starch. *Plant Physiol.* 2006;141(3):879-886. DOI 10.1104/pp.106.081174.
- Yao D., Gonzales-Vigil E., Mansfield S.D. *Arabidopsis* sucrose synthase localization indicates a primary role in sucrose translocation in phloem. *J. Exp. Bot.* 2020;71(6):1858-1869. DOI 10.1093/jxb/erz539.
- Yu T.S., Lue W.L., Wang S.M., Chen J. Mutation of *Arabidopsis* plastid phosphoglucose isomerase affects leaf starch synthesis and floral initiation. *Plant Physiol.* 2000;123(1):319-326. DOI 10.1104/pp.123.1.319.

- Yu T.S., Zeeman S.C., Thorneycroft D., Fulton D.C., Dunstan H., Lue W.L., Hegemann B., Tung S.Y., Umemoto T., Chapple A., Tsai D.L., Wang S.M., Smith A.M., Chen J., Smith S.M. α -Amylase is not required for breakdown of transitory starch in *Arabidopsis* leaves. *J. Biol. Chem.* 2005;280(11):9773-9779. DOI 10.1074/jbc.M413638200.
- Zeeman S.C., Kossmann J., Smith A.M. Starch: its metabolism, evolution, and biotechnological modification in plants. *Annu. Rev. Plant Biol.* 2010;61:209-234. DOI 10.1146/annurev-arplant-042809-112301.
- Zhang H., Liu J., Hou J., Yao Y., Lin Y., Ou Y., Song B., Xie C. The potato amylase inhibitor gene *SbAI* regulates cold-induced sweetening in potato tubers by modulating amylase activity. *Plant Biotechnol. J.* 2014;12(7):984-993. DOI 10.1111/pbi.12221.
- Zhang L., Häusler R.E., Greiten C., Hajirezaei M.R., Haferkamp I., Neuhaus H.E., Flügge U.I., Ludewig F. Overriding the co-limiting import of carbon and energy into tuber amyloplasts increases the starch content and yield of transgenic potato plants. *Plant Biotechnol. J.* 2008;6(5):453-464. DOI 10.1111/j.1467-7652.2008.00332.x.
- Zrenner R., Salanoubat M., Willmitzer L., Sonnewald U. Evidence of the crucial role of sucrose synthase for sink strength using transgenic potato plants (*Solanum tuberosum* L.). *Plant J.* 1995;7(1):97-107. DOI 10.1046/j.1365-313x.1995.07010097.x.

ORCID ID

E.M. Sergeeva orcid.org/0000-0001-8234-3063

E.A. Salina orcid.org/0000-0001-8590-847X

A.V. Kochetov orcid.org/0000-0003-3151-5181

Благодарности. Работа выполнена за счет средств бюджетного проекта № 0259-2021-0012.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 13.10.2021. После доработки 20.12.2021. Принята к публикации 20.12.2021.