BIOTECHNOLOGICALLY RELEVANT ENZYMES AND PROTEINS

Comprehensive characterization of sphingolipid ceramide *N*-deacylase for the synthesis and fatty acid remodeling of glycosphingolipids

Yun-Bin Han • Lie Wu • Jamie R. Rich • Feng-Tao Huang • Stephen G. Withers • Yan Feng • Guang-Yu Yang

Rece ed: 14 Oc be 2014/Re ed: 14 Ja 4a. 2015/Acce ed: 19 Ja 4a. 2015 © S e -Ve a Be He de be 2015

Abstract S d ce a de N-deac a e (SCDa e) ca c ea de ae a e e e b e eac С d d ed e ed. W e ea afte ee ac e SCDa e c d, e ae ea e c a ac e ed e e.I , ee ac e e SCDa e Shewanella alga G8 (SA SCD) e e e a ca caace edadcaed ec eca a a abe SCDa e Pseudomonas . TK4 (PS SCD). T e a e d c a d e c ac H a 4e SA_SCD, e e H 6.0 a d H 7.5, e ec e . B ac e e b ed b Z^{2+} a d $C4^{2+}$, e Fe^{2+} , C $^{2+}$, N $^{2+}$, M $^{2+}$, Ca $^{2+}$, a d M $^{2+}$ ed e d c ac ba b ed e e c ac . SA_SCD ed e b ad 4b a e ec c b d a d e-. I a , SA SCD a a b ade ec c ac

d acce a ce a d e PS SCD, e ec a 4 a 4a ed a ... ac d a d a ... ac d ... e... ac ca. F4 e caa e eaed a $e k_{ca}/K_{M}$ a 4e e d cac SA_SCD a 8.9- d e a a PS_SCD GM1a, e e a 4e е e c ac e e 38- d e ea cacda d 23- d e -GM1a (d18:1) a e PS SCD, e eccaa_cee.Teb ad a acd ec c ad cec, ee, eeee ee SA SCD Escherichia coli, a e a be e b ca a a PS_SCD e e ad 4c.4 a e de с d .

KeywordsG_c $d \cdot H - e$ $a \cdot e \neq d$ c $a = \cdot S$ $d \cdot e a = d e N$ -deac $a \cdot e \cdot S$ S4b $a \cdot e \cdot c$ $a \cdot e \cdot c$ $a \cdot e \cdot c$

Electronic supplementary material T e e e a ce (d :10.1007/00253-015-6421-8) c a 4 e e a a e a, c a a abe a4 ed 4 e .

Y.-B. Ha \cdot L. W4 \cdot F.-T. H4a \cdot Y. Fe (\boxtimes) \cdot G.-Y. Ya (\boxtimes) Sae Ke Lab a Mc ba Meab , Sc L e Sce ce a d B ec , Sa a Ja T U e , Sa a 200240, C a e- a : e 2009@ 4.ed4.c e- a : a @ 4.ed4.c

L. W4

SaeKe Laba Eecaa ca Ce , Ca c4 I 4e A ed Ce , Cee Acade Scece, Ca c4 130022, Ca

J. R. R c S. G. W. e De a. e. C e ..., U e ... B . C 4 b a, Va c 4 e, B . C 4 b a V6T 1Z1, Ca ada

Introduction

.c d (GSL) a e a c a a c c -A d a e ce A ace a a e a e e e a a e d (GSL) a e a c a a G c ce **4** a a (We e e e a . 2009). T e a e ed a a e a ca ce e (B4 e e a. 2000; Ha 1998; W a d Y4 2002) a d e GSL a e e e e a e a e a e a e a ca ce ad ef a de e e a e d ea e (Ge e e a. 1991; Ka e e a . 2007; Sc c e a . 2013). H e e , c e e 4d e b ca 4 c adedee a e d 4 a e bee e e e a eedb cae e a caed, l e a e-cae _ e . W e e а GSL a 4 a 4 ce с de, d4c e e a ed a a e 4b ec e a a d ea e, e e e e , a d ca c (R4 č ć a d Ma ć 2004). T e c e ca e c e GSL 4c-4 e e 4 e a ac a , c 4 , e c , a d de ec e , a e e e c a e a d a e ec c (Va a a d Sc d 2000). E a ca e b GSL , e e a d, e ca ad a a e d4ee 4c e e e e, de eac c d , a d e ac e d4c 4 ca (R c e a 2011; R c a d W e 2012).

S d cea de N-deac a e (SCDa e) a e e a ca e ea ab caa e e a c e GSL ce caa e e e e be d / e e a de a e be e e e a ac d a d e e ba e e cea de e GSL (F . 1a). T e e c ac SCDa e a bee 4 ed e 4 e a e b a 4 GSL (M 4 a e e a . 1997, 1998; ecee4eeacGSL .F4SCDaaebeeedNocardia(Habaaea. 1988), Pseudomonas. (Iea. 1995),Streptomyces. (Adaea. 1995), adShewanella algaG8(F4aea. 2002), eece.eeeePseudomonas. TK4 (PS_SCD)adS. algaG8 (SA_SCD)aeeea2002; Iea2004), beeeaa



 Fig. 1 a SCDa e caale e e be eac
 c e a de

 a e GSL
 d ed
 e ed. b T e e e e a e

 HPLC c
 a a
 e a a
 e d
 c SCDa e ac

 e ab e ce (dotted line) a d
 e e e ce (solid line)
 SA_SCD.

 T e eac
 4 e a de a ed
 OPA a d de e ce d a
 a

e de ce .PS_SCD c e ca a a abe; e e, d4c e e ba ed e e e a-*Pseudomonas* .TK4 ce a e bee e e d e e e ed. B c a ,SA_SCD ca be eade e e ed *Escherichia coli*, c e e d e c a c a a a d e e e e d e e e ed *4 a e e* (F4 4 a e a 2002). H e e, e ab 4 e e a c e e SA_SCD ce d c ac a bee c a ac eed, a d a a , e e c ac a bee 4d ed. A e e e e c a ac e a sA_SCD ce d c ac a bee c a ac eed, a d a a , e e c a c a bee 4d ed. A e e e c a ac e a e e e eded de be a 4 ed e e a c e GSL .

I 4d, e dec be ede e e a, ac ca, a d ec e HPLC-ba ed e d a a SCDa e. We e 4 e e e a a de e e e ec ce a d e c e e SA_SCD a d c a e e e ec e ca a a ab ePS_SCD. T e e 4 4 e a SA_SCD a 4 e e e e PS_SCD e e a e ec, a a a 4 ab e b ca a a 4 a GSL.

Materials and methods

Ce ca ade e

Te d ee 4 c a ed A a P a L d (A aba e, USA), e ce b e a ce a de (Gb4Ce), c a 4 c a ed Wa P4 e C e ca I d4 e (O a a, Ja a) a d GM1a, c a 4 c a ed Q 4 P a ace4 ca C ., L d. (J a, C a). O a a de de (OPA) a 4 c a ed S a-A d c (S. L 4, USA). L -GM1a a da da d PS_SCD e e 4 c a ed Ta a a B ec C ., L d. (Da a, C a). T e -GM1a, -GM3, -4 a de, -Gb4Ce, a d ω - d ed a ac d e e ed 4 ab, a d e d be 4b ed e e e e e ba ed Wae (M d, USA). HPLC e e e 4 c a ed A e C ., L d. (S a a, C a). A e e a e e e e 4 a a abe.

P e e e a d 4 ca SA_SCD de e 4 a

Te e e e c d e a $4 e SA_SCD$ e, c ac 38-e d 4e N-e a e c e a e 4e c e a dc e 277-e d 4e C-e a e 4e c e a b e e d e e e d, a c d - ed *E. coli* a d e ed (Ge c C a , Na , C a). Te e e e 4e c e a 4bc ed ET23b ec (N a e , Mad , USA) 4e NdeI/XhoI e c e a d a a ed

HPLC-ba ed a a SCDa e-ca a ed d

I a adada a, e d cac SCDa e a ea 4 ed 4 GM1a a 4b a e. T e eac 4 e c a ed 15 GM1a a d a a e a 4 ee e 30 μL 25 M d 4 ace a e b4 e (H 6.0) 0.1 % T X-100. F c4ba a 37 C 5 , e eac a ed b ea ab ae ba 5 . <mark>A a 4 (10 μL) eac 4 a e</mark> ae 4, ed 20 μL OPA eae (7.5 M), ad c4baed a 30 C 5 e de a a A e ce 4 a a 13,000 , e 4 e a a a a e edaa a a a daa 4 (10 µL) a eced a e e e a e HPLC c 🐴 (Z ba SB-C18, 4.6 ID, 150 , 5-µ a c e e, A e Tec e, Sa a Caa, USA) 🧍 a a_4 - a e (A e 1260 ALS), e a /H₂O (70:30, *v*/*v*) a e be ae a a ae 1.0 L/ . T e OPA-de a ed data a de ec ed 4 a 4 e ce ce de ec (A e 1260 FLD, $E_x=$ 340 , $E_m = 455$).

HPLC-ba ed a a SCDa e-ca a ed e

I a a da d a a , e _ e c ac _ SCDa e a ea 4 ed 4 -GM1a (d18:1) a d ea c ac d a e 4b a e . T e eac 4 e, c a a a a e a 4 SCDa e, 15 -GM1a (d18:1), a d 15 ea c ac d, a c4ba ed 30 μL 25 M T -HC b4 e (H 7.5) c a 0.1 % T X-100 a d 10 % d e 4 de (DMSO) a 37 C 10 . Reac a e a ed b ea ab ae ba 5, ad e GM1a (d18:1/18:0) a ea 4 ed b e e a HPLC 4 a e e e a e c 4 (Z ba Ec e $P \notin C18, 4.6$ ID, 100 , 3.5- μ a ce e, A e Tec e, Sa a Caa, USA). T e b e a e c a ed ace e a d a e (80:20, v/v), 4 0.03 % e a e, H ad 4 ed 7.5 4 c ac d. GM1a (d18:1/18:0) a e 4 ed ec 4 a a a e 1.0 L/ a d de ec ed

a a a e e 195 4 a a ab e a e e de ec (A e 1260 VWD).

Ge e a c a ac e a SCDa e

T e e ec H e ac e SA_SCD e e ea 4 ed ac e H a e 4.5 10.0 4 a de-a e H b4 e c a HEPES, TAPS, CAPS, MES, a d ace c ac d, eac a 40 M.

T e e e c e a e ac e SA_SCD e e a a ed e e e c e 5 M e a c a (FeC $_2$, C C $_2$, N C $_2$, C $_4$ C $_2$, M C $_2$, Z C $_2$, C aC $_2$, a d M C $_2$) EDTA.

Tee ec a c e e e cac SA_SCD e e ea 4 ed e e e ce a c e (DMSO a d d e e a e (DME)) a d e e c ce a- (ν/ν) .

T e e ec de e SA_SCD e c ac e e ea 4 ed b e a da d e d e ce a T X-100, d 4 de c a e (DOC) a4 de c a e (TDC) e e 4 ed a d e e c ce a (v/v). T e e ec T X-100 SA_SCD d c ac e e ea-

4 ed b e a da d e d e ce a T X-100 a 4 ed a d e e c ce a (v/v) e GM1ac ce a ed e a a e a 0.1, 0.5 1.0 M.

I a e eac 4 e ab e, 15 e e a 4 el d cac a a , a d 30 a 4 ed e cac a a . T e ac a ed e a e e a a a 4 e eac e e e, e ce e e e c e a c e ac a a de a e e c e a added.

S4b ae ec c e SCDae

Те d cac e SCDa e a a d d e e d c ead 4 (F . 2), e e ea 4 ed 15 SA SCD 35 PS SCD b e a da d . Te Ab ae ec c ad c ead a a a e e e edb e ec c d cac . e cac e SCDa e a d -GSL c d e e d c ead A e e de e ed а 4 15 -GSL a d 30 ea c ac d 30 L 25 M HEPES b4 e (H 7.0) c a 0.1 % Т X-100 a d 10 % DMSO. Reac e e ed a 12 30 SA_SCD. T e e c ec -37 ad d c ead 4 a e e e ed b с ed (%), ca c4 a ed a : (ea a ea a GSL- ea a ea e a -GSL) 100/ ea a ead a -GSL. T e HPLC de ec -GSL ea OPA de a a a a a -GM1a ae have be a ea e_a /H₂O, a ad-lacc d be a grade -GSL. e co 4

Te a acd ec c e SCDa e e e c e c e a acd. Te

Kecaa. SCDae

F e e c a a d c ac , GM1a (0.02– 2.0 M) a c4ba ed 15 SA SCD 35 PS SCD 2 $30 \,\mu\text{L}$ 25 M d 4 ace a e b 4 e (H 6.0) 0.1 % T X-100 4 de a da d c d . Kecaa e ed 🛔 -GM1a (d18:1) a d ea c ac d a 4b a e e e e ce 30 SA SCD 3 70 PS SCD 20 30 μL 25 MT -HC b4 e (H7.5) c a 0.1% T X-100 a d 10 % DMSO 4 de a da d c d . Kecaaee eacadee ed A c ce a be ee 0.02 a d 2.0 M a a ed -GM1a (d18:1) c ce a (1 M). K e c a a e e -GM1a (d18:1), e e de e e d 4 c ce a beee 0.06 a d 1.0 M a a ed ea c ac d c ce a (1 M). T e a a e e $K_{\rm M}$ a d $k_{\rm ca}$ e e b a ed b ee e e a da a e M c ae -Me e e c de 4 O 8.0.

N4c e de e 4e ce acce 4 be

N4c e de e 4e ce da a SA_SCD de e 4 a a bee de ed e Ge Ba da aba e 4 de acce 4 be KM986461.

Results

De e e HPLC a a e d c a d e c ac e SCDa e

T eac e SCDa ea e ca de ed 4 TLCba ed e d b 4 ad ca abeed 4b ae (K a e a 2001; M 4 a e e a 1998). A 4 e e, 4c a a a e d c4 e e ce e abeed ea e a e ead a a abea d e 4 e e ca ac e a d e. T e e e, HPLC-ba ed e d e e de eed ea 4 e e e d ca d e ca c e SCDa e, e e ce (F . 1b, c). T e e e d a ed a a d ec e a a SCDa e 4 e 4 e ad ac e 4b ae.

T e SCDa e-ca aeddGSLe e a e aeeae,cca be deaedOPA a4aed ba4e ce ce de ecHPLC (F1b). Cdeedeaeed ade cbedFS1. T

e d c a be ea a a 4 4b ae, c 4d ce a de (Ce), 4c ce a de (G cCe), a ac ce a de (Ga Ce), 4 a de, ac ce a de (LacCe), GM3, GM1a, Gb4Ce, a d e (SM) (F S2). T e e d a d ec aa d e-a a ea e a da d de a (RSD) a e a 5% (Tab e S1). T e HPLC-ba ed e d ee e de a e ab ea a e d cac SCDa e.

Te e c ac SCDa e ca be d ec de e eadebd a a 195 ed b 4 a UV de ec e HPLC. Tace e de a a addeec e d4c, ee ab ed a d ed ee e e e - a e HPLC e d e edb Ga e a. (1984): ead Ga 'LC b RP-8 c 4 ee edaeee-aeZbaEceP4C18c-HPLC a a . W e 4 -GM1a (d18:1) a d 4 ea c ac d a 4b a e , e d4c GM1a (d18:1/18:0) c 4 d be c ea a e a a ed e 4b a e a d b4 e c e 4 a be aec a ace ead, ae (80:20, v/v) 0.03 % e a e, H 7.5 (F . 1c). TeRSD a-a a a de e-a a de cac a a e e a e a 5 % (Tab e S2), d ca a a e e da a d ec .

Bace_ac e.e SA_SCD

SA_SCD, a 4 d a a ebace 4 , S. alga G8, a d e e a c edb F4 4 a e a. (2002). I e Fig. 3 C a ace a e ec b a SA_SCD. a E ec H. b E ec e a ca a d EDTA. c E ec a c SA_SCD. d E ec T X-100 e d c ac SA_SCD a d e e GM1a c ce a e E ec de e e e c ac c SA_SCD. Values e e e e a SD (n=3)



be abe 4 a cc - e, add 5 % DME DMSO ed e ac . F4 e cea eDMEccea e e bed ecac (F . 3c). H e e, cce a DMSO, 4 a a 4 a 10 %, e a ced e cac -, e ecce a bed.

Tee ec a 4 de e e e d cad e c eac SA_SCD e e a e a ed. I c de e e , DOC, a d TDC c e e b ed d c ac (da a). I e e , e - c de ee T X-100 e a ced d , b4 e e ec de e ded GM1a c ce a (F . 3d). F GM1a c ce a (0.1 M), e 4 c ce a T

X-100 (0.1 %, w/v), b4 e GM1a c ce a (1.0 M) e 4 e a c e d e c ce a T X-100 (0.5 %, w/v) e be e a ce e S e c ac ceeded e c e e a b e ce de e e Add T X-100, DOC, TDC b ed e e c eac (F . 3e): e cc4 ed e DOC TDC c ce a eac ed 1 %, e 60 % e ac a b e ed 1 % T X-100.

Head 4 ec c e SA_SCD a d PS_SCD

GM1a Te 4b ae ec c. SCDae c 4c a T ac ca a ca , b4 e a a a abe

b SA_SCD a d PS_SCD. T e e e, e 4b a e ead 4 ec c e SA_SCD a d PS_SCD e e Aded dea aea eacca.F d , SA_SCD ee ed GSL , a e 4 a e e (GM3, GM1a, a d Gb4Ce) c a ed ead 4 (SM a d 4 a de) e e a e e4-a 4 a e e (G cCe, Ga Ce, a d LacCe) (Tab e 1). PS SCD a e e ed GSL e a e 4 a e e, b4 dd e e e e ce ad GSL caed ead 4 (e.., SM). M e e, PS_SCD d ed a de a e a GM1a a d GM3, e ea SA_SCD d ed GM1a ad GM3 a.e. I.ee., a a ae. a SA_SCD d ed GSL **4**c a e a d d PS_SCD, d ca ea e e c e c . F e a e, ec c ac e SA_SCD GM3, GM1a, a d SM e e 25-, 39-, a d 69- d e , e ec e , a e PS_SCD.

T e 4b a e ead 4 ec c e e SCDa e e e c eac e e a e a ed (Tab e 1).

| | Sr. c. re | 1 o-GM1a (d18:1) | | | |
|------|-----------|-------------------------|-----|--------|-----|
| En r | | Reac ion Yield $(\%)^a$ | | | |
| | | SA_SCD | | PS_SCD | |
| 11 | | 84.4 | 0.4 | 35.4 | 4.6 |
| 12 | | 73.4 | 0.5 | 21.7 | 6.3 |
| 13 | | 82.3 | 0.2 | 15.5 | 4.2 |
| 14 | | 63.0 | 3.2 | 57.5 | 0.9 |
| 15 | | 70.0 | 1.8 | 74.7 | 4.7 |
| 16 | | 85.5 | 0.6 | 65.2 | 4.2 |
| 17 | | 83.0 | 0.9 | 71.3 | 0.3 |
| 18 | | 85.0 | 0.8 | 75.7 | 2.3 |
| 19 | | 83.8 | 0.9 | 75.8 | 1.7 |
| 20 | | 85.8 | 0.5 | 81.3 | 1.5 |
| 21 | | 64.3 | 5.8 | 56.2 | 2.9 |
| 22 | | 4.0 | 0.8 | 23.3 | 6.1 |

ee PS SCD 4 2.0 M.

ea 4 e c a a e e e ac 4b a e, e SA_SCD e a c ac d a d -GM1a (d18:1), e e 2.7-

e a 0.3 M, eea e e a c ce a ec-4b ae a ed a a b a ee PS_SCD 4 2.0 M. 1.0 M c ce a . T e a 4e e ed Tabe 4 a e

a d 5.7- d e a e PS_SCD, e e k_{ca} a 4e e e 106- a d 131- d e a PS_SCD. T 4, e k_{ca}/K_M SA_SCD e a c a c d a d -GM1a (d18:1) e e 38- a d 23- d e, e e c e , a e PS_SCD.

Discussion

SCDa e a c de ab e e a e e GSL, e ecal e bea 4 a 4 a a acd, a d 4 a a b ca a e e ab GSL e ea c . Se e a e e de ce a e ece 💷 🛔 e ed la le a 🗉 ac d e e GSL c 4 d ca a ec e b ca 4 c . F4c -GM1a bea 4 a 4 a ed a ac d b e e a 4 a e 4 e a-de ed HL-60 ce, e ea a e a 4c -GM1a bea a ea c ac d d e (X4 e a . 2009). GM1a, a e c e a e e e e , _ e ec e _ e cae _ e a a e bae _ e trans-G ad eed a cec44 ec4ed a 4 a 4 a ed acca e (Caeea. 2012). LIGA-20, a e e c GM1a de a e ded a ... ac d e..., ed ea e e cac a d a e, e de e e a GM1a e e d e4-de e e a e ce e 4 a (L a e a 1992; K a a e a . 1994; M cc e 2005; Bac e a . 2002). Ne e d e ac e GSL ae ee e a edee e d 🛔 ca e ea e cace ad e4 de e e a e d ea e.

 e d4e ed ae ca a e a e ea c ac d e ea ed GM1ab d -, 4 4 e eac e 4 b 4 a d e d c d ec . T be a a e a e e a a -GSL. I e e , Z $^{2+}$ a d C 4^{2+} b ed b e d c a d e c ac e ca , c d e e e d ae ca . T e b e ce c a bee b e ed e e a c a e a e a a 4e, eac deceae beca4 e e e ec4 e a e e e e ce e. We e a e a e a a 4e, cea e c ce a T X-100 decea e e 4b a e ce a a e ce e 4 ace, c a decea e e e a c ac T d a e e a c e a a -GSL : b de e a a a T X-100/GSL , e a a ab e c ce a GSL ca be ed, e eb ca e d ce ce c.

- EaBR, DeEA (1976) A aa e C (Bacilluscereus) aca dedce ed a daA cBc eB176:604-609
- F4 4 a M, S4e N, M, 4 a e S, Sa a 4c K, K a K, O N, Ic e S, O A, I M (2002) M ec4 a c a d c a ace a d ce a de N-deac a e a a e bace 4, Shewanella alga G8. J B C e 277:17300–17307
- Ge e FH, D e FC, C e a WP (1991) Rec e 4 c a e a - c d 4 — a a d ed, aceb - c ed a GM-1 a de. N E J Med 324:1829–1838
- G e-O. M, G -R FX, H4be R, A FX (1997) I b cab e da e A b e ce c: a a e 4c 4 a de a b X-a c a a FEBS Le 400:336–340
- Ha S (1998) Cace-a caed c da e : e 4c4e, a a , ad4c . Ce T 4e O a 161:79– 90
- H aba a Y, K 4 a M, Ma 4 M, Ya a K, Kad a S, T c 4 a T (1988) A e c d d ee, c d ce a de deac a e, c cea e e a e be ee e a acd a d e ba e c d J B c e 103:1-4
- H a d DR, Ha4 a AC, J4e D, Ma e BW (1995) S 4c 4 a a a c 4b 4 eac e e e . P e Sc 4:1955–1965
- I M, K4 a T, K a K (1995) A e e e a cea e e *N*-ac a e cea de a 4 c d a e a e d4ce e .JB C e 270: 24370–24374
- I M, K4 a T, K a K, S4e N, M 4 a e S, F4 a M, O N, I4 H, Ka I (2004) S d ce a de N-deac a e, e d d4c d a d d de a e, a d d ce a de N-deac a e e e. US Pae 6821761:B2
- Kae
 M, Yaada K, Ma
 T, Iaa
 M, H & C R (2007)

 Ned
 e cac
 a
 de
 ec
 de a d
 e

 Ac & e-ac
 ea
 . C e P a
 B4
 55:462–463

 Kaa
 A, Z
 c I, P
 A, A
 D, C a E, G4 d
 A
- K a a A, Z c I, P A, A D, C a E, G_4^4 d A (1994) LIGA20, a de a e a de GM1, e a a e c c a b ed $_4^4$ ce a c e a d a c a ed c de c P c Na Acad Sc U S A 91:6303-6307
- K.aK,K4 aT,I M (2001) C aace a eee be a4e e eac caa edb d ce a de N-deac a e—a e e e e d eac E4 JB c e 268:592–602
- K b HC, F MG, S a e KB (2001) C c c e : d e e c e ca 4 c a e d eac . A e C e I Ed E 40:2004-2021
- K4c ař L, R J, A a B, Le ed J, H D, K ec L, B Z, Led J (2010) Se e C17:0 4 a de a d 4c ce a de 4 b ed d ce a de N-deac a e a ca a a ca a ec e-Ra d C 4 Ma S ec 24:2393–2399
- K4 aT, I4H, Sa M, I M, Ka I(2000) E ace e d c ac dcea de N-deac ae ea 4e 4 a cb a c e JL d Re 41:846-851
- La e KS, A4 d DS (1989) Cab... e da e A: ec a c b. .B c e ... 28:9620–9625
- La e KS, A4 d DS (1991) C a ace a a b e a b de ca b e da e A. B c e 30:2613–2618
- La. M, La a A, Ma e H (1992) Ga de de a e LIGA20 ed4ce NMDA e4 c. e aa a ba . Ne4 Re 3: 919-921
- Mae H, Faa M, Vc S, G4d A, C aE (1990) G 4 a aed4ced e4 a dea a c4 4 e ce ebe a a 4 e

ce: ec b ecdea e ed e 4 d.JPa ac E Te 252:419-427

- M. 4 a e S, K. a K, O N, I M (1997) [¹⁴C]Ce a de e b d ce a de N-Deac a e: e a a ce a da e acde ec . A a B c e 247:52–57
- M 4a = S, K = a K, Na a a a T, I M (1998) E a c e¹⁴C- c d b e e d eacd ce a de N-deac a e: de ece d ce a da eac a ea e. J B c e 123:859-863
- Na a a T, Ta M, K a K, I M (1999) Pe a a 4 e ce ceabe ed GM1 a d e b e e e e d eac d ce a de N-Deac a e a 4b a e a a d-de ad e e a d de ec db d e JB c e 126:604-611
- Na a a a T, M A, Ta M, S4e N, K H, I M (2005) C18:3-GM1a d4ce a Ne4 2ace : e a c e de a ac c a c d.JL d Re 46: 1103-1112
- O J, Ma 4 G (2000) A a 4e c d a d ce d 4 abe c 4 a d-a d a -4 c a ed 4 ace. Te a ed 56:9975–9984
- R c JR, W e SG (2012) A c e e a c a e $e e_4^4 e c a a de LLG-3 4 a$ e ee ed a d e ed a e. A e C e I Ed E51:8640–8643
- R c JR, C4 a A-M, G be M, W e SG (2011) G c d e e ac b a ec ba c a e a e a d a e d c c e a d a e c a e. C e C 4 47:10806-10808
- R be: MF, Dee RA, De EA (1977) D4a e e ac a d a e A2 ca a. P c Na Acad Sc U S A 74:1950–1954
- R_4^4 č ć J, Ma ć V (2004) Ce eb de *Candida lipolytica* ea . A M c b B ec 64:416-420
- Sc c C, B e E, Sc a e S (2013) B ec ca d4c d ba e a d e a ca . A M c b B ec 97:4301–4308
- S4 de R, Abe AW, Vae PR (1978) E ac e e ad d ae Bacillus cereus. S4b aed 4 de e - d ce e ad b a e e ce. JB C e 253:4175-4179
- Va a YD, Sc d RR (2000) C e . . . c d ca b d a e ec $_4^4$ e b ca ca ce. C e S c Re 29: 201–216
- Wa a a a M, M 4 a Y, O a K, Sa a K, M 4c M (1995) Meacaace a *N*-Ac -D- 4 a a e A d d a e *Pseudomonas* . S a 5 - . B c B ec B c e 59: 1489–1492
- We
 e
 e
 T, a
 de
 Be
 RJBHN, B
 RG, a
 de
 Ma e
 GA,

 O
 e
 e
 HS, Ae
 JMFG (2009) G
 C
 d
 a 4 e,

 4
 c
 , a d
 a
 ac
 ca
 d4 a
 A
 e
 C
 e
 I
 Ed

 E
 48:8848–8869
 HJ18(6)]TJ-3.922.3999996.4
 .999991(1992)]TJ60000038(
- W HJ18(6)]TJ-3.922.3999996.4 999991(1992)]TJ60000038(0))-255.89999 e e999878()16.79.1999998(a)17.3