

植物种子 α -亚麻酸形成及调控机理研究进展

吴端¹, 王力军², 杨仕梅¹, 沈奇^{1,3}, 赵德刚^{1,3}

(¹ 贵州大学生命科学学院 / 农业生物工程研究院 / 山地植物资源保护与种质创新教育部重点实验室 / 山地生态与农业生物工程协同创新中心, 贵阳 550025; ² 中国农业科学院油料作物研究所, 武汉 430062; ³ 贵州省农业科学院油菜研究所, 贵阳 550008)

摘要: α -亚麻酸是人体必需但不能自身合成的 ω -3 系列多不饱和脂肪酸, 主要来源于植物油脂。由于大宗油料作物种子油脂中 ALA 含量普遍较低, 所以探寻新的种质资源, 了解 α -亚麻酸形成及调控机理, 对于油脂营养膳食健康及植物油脂改良具有重要意义。种子中富含 α -亚麻酸的陆生植物资源有紫苏、亚麻、杜仲、油用牡丹、奇亚、藜香、香薷、猕猴桃、星油藤等。在植物中, ω -3FAD 是催化 LA 转化生成 ALA 的关键酶, ω -3FAD 由在质体中 FAD3 及在内质网中的 FAD7 及 FAD8 组成。目前通过基因组及转录组研究已极大的丰富了 ω -3FAD 基因家族的鉴定及研究。其中, FAD3 基因是种子 ALA 合成的关键基因, 其表达受多个转录因子的调控, bZIP、WR11、LEC、ABI3、FUS3、ASL1 和 PKL 等转录因子通过相互作用调控 FAD3 基因表达, 决定油料作物种子中 α -亚麻酸的含量。本文综述了高含量 α -亚麻酸油料植物资源分布, 以及主要油料植物种子中油脂脂肪组成及 ALA 的含量, 种子 ALA 生物合成基本途径及关键基因, 植物 ω -3 脂肪酸脱饱和酶类型及功能以及 ω -3FAD 的关键调控因子, 以期高 ALA 植物新资源的利用, 以及油料植物脂肪酸成分改良等相关研究提供理论依据。

关键词: α -亚麻酸; 脂肪酸合成及组装; ω -3FAD 基因; 转录因子

Advances on Formation and Regulation Mechanism of α -linolenic Acid in Seeds

WU Duan¹, WANG Li-jun², YANG Shi-mei¹, SHEN Qi^{1,3}, ZHAO De-gang^{1,3}

(¹ College of Life Sciences, Guizhou University/Institute of Agro-bioengineering/Key Laboratory of Plant Resource Conservation and Germplasm Innovation in Mountainous Region (Ministry of Education)/Collaborative

Innovation Center for Mountain Ecology & Agro-Bioengineering (CICMEAB), Guiyang 550025;

² Oil Crop Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Wuhan 430062;

³ Rapeseed Research Institute, Guizhou Academy of Agricultural Sciences, Guiyang 550008)

Abstract: α -linolenic acid is an omega-3 series polyunsaturated fatty acid that is essential for the human body but cannot be synthesized by itself. It is mainly derived from vegetable oils and fats. Due to the generally low ALA content in the oils and fats of bulk oil crops, exploring new germplasm resources and understanding the

收稿日期: 2019-10-24 修回日期: 2019-11-15 网络出版日期: 2019-11-07

URL: <http://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20191024001>

第一作者研究方向为生物工程, E-mail: 1428898213@qq.com; 王力军为共同第一作者

通信作者: 沈奇, 研究方向为植物遗传育种, E-mail: shenqi-gz1983@163.com

赵德刚, 研究方向为分子生物学, E-mail: dgzhao@gzu.edu.cn

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31860391); 贵州省科技计划项目 (黔科合平台人才 [2019]5656) 贵州特色植物种质资源利用与创新人才基地 (RCJD2018-14); 贵州省科技支撑计划项目 (黔科合 NY 字 [2016]3052 号, 黔科合支撑 [2018]2346 号); 黔农科院青年基金 ([2018]03 号, [2018]24 号); 国家油料种质资源平台 (NICGR2019014); 特种油料种质资源保护及利用 (2019NWB033-4)

Foundation project: National Natural Science Foundation of China (31860391), Guizhou Science and Technology Plan Project (Qianke Co-platform Talents [2019]5656), Guizhou Specialized Plant Germplasm Resources Utilization and Innovation Talent Base (RCJD2018-14), Guizhou Science and Technology Support Project (Guizhou Kehe Support NY character [2016]3052, Guizhou Kehe Support [2018]2346), Youth Fund of Guizhou Academy of Agricultural Sciences ([2018]03, [2018]24), National Oil Germplasm Resources Platform (NICGR2019014), Protection and Utilization of Special Oil Germplasm Resources (2019NWB033-4)

formation and regulation mechanism of α -linolenic acid are of great significance for the nutrition and diet of oils and the improvement of plant oils. The α -linolenic acid has been detected with abundance in seeds of land plants such as *Perilla frutescens* (L.) Britton, *Linum usitatissimum* L., *Eucommia ulmoides* Oliv., *Paeonia suffruticosa* Andrews, *Salvia Hispanica* L., *Agastache rugosa* (Fisch. & C. A. Mey.) Kuntze, *Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Hy1., *Actinidia chinensis* Planch., *Plukenetia volubilis* L.. Fatty acid desaturase such as Δ^9 FAD, Δ^6 FAD, Δ^{12} FAD, Δ^{15} FAD is able to regulate the desaturation of the polyunsaturated fatty acid carbon chain. In plants, omega-3FAD is a key enzyme complex that catalyzes the conversion of LA to ALA. The omega-3FAD consists of FAD3 in the plastid and FAD7 and FAD8 in the endoplasmic reticulum. To date, the identification of the omega-3FAD gene family have been greatly accelerated taking advantage of genome and transcriptome studies. Among them, the *FAD3* gene is a key gene involved in seed ALA synthesis and determines the content of α -linolenic acid in oil crop seeds, its expression is regulated by multiple transcription factors such as bZIP, WRI1, LEC, ABI3, FUS3, ASIL1 and PKL. This paper reviewed the distribution of high-content α -linolenic acid oil plant resources, as well as the fat and fat composition and ALA content of the main oil plant seeds, the basic pathways and key genes of seed ALA biosynthesis, and the types and functions of plant omega-3 fatty acid desaturase, as well as the key regulators of omega-3FAD, in order to provide a theoretical basis for the use of high ALA plant resources and oil plant fatty acid composition improvement.

Key words: ALA; fatty acid synthesis and assembly; ω -3FAD gene; transcription factor

α -亚麻酸(ALA, α -linolenic acid), 又称 9, 12, 15-十八碳三烯酸, 在植物体中 ALA 主要以磷脂(phospholipid)、膜脂(membrane lipids)及三酰甘油(TAG, triacylglycerols)的形式构成细胞膜脂及种子中的储脂。除参与重要的细胞构成及能量储藏外, ALA 还作为脂肪酸前体物质合成重要的信号分子, 在植物响应寒冷、干旱等逆境胁迫, 以及发育代谢中起着重要作用^[1]。 α -亚麻酸是人类生长和发育所必需的 ω -3 必需脂肪酸, 由于人体及哺乳动物体内多缺乏催化 α -亚麻酸合成的脂肪酸脱饱和酶基因, ALA 不能在哺乳动物体内合成, 需要通过植物来源的食物摄入^[2]。食用 α -亚麻酸后, ALA 在脂肪酸脱饱和酶及延长酶作用下催化形成多不饱和脂肪酸二十碳五烯酸(C20:5 Δ 5, 8, 11, 14, 17, EPA)和二十二碳六烯酸(C22:6 Δ 4, 7, 10, 13, 16, 19, DHA)。DHA 是视网膜及大脑神经发育的重要因子, EPA 形成前列腺素 I3 具有抗血栓形成能力。因此, 摄入 α -亚麻酸可有效预防治疗心血管疾病、增强免疫力和抑制衰老、抗癌、抗氧化等功效^[3]。传统膳食如玉米、大豆、橄榄等植物油脂中 ALA 含量相对较低, 因此 ALA 已成为国民膳食中的短板物质。目前随着对油料植物不断的开发, 一些富含 ALA 的特殊油料植物如紫苏、亚麻、牡丹籽等的开发, 成为 α -亚麻酸保健产品的新型来源及膳食营养补充剂。

无论是特殊油料植物营养开发, 还是传统油料

植物的油脂改良。如何平衡脂肪酸组成, 获得健康油脂一直是油料作物遗传研究及品质育种中关注的热门话题。目前, ALA 在植物体内的催化合成途径已非常清晰, 控制其合成的关键基因家族及调控机制已逐渐被阐明。本文综述了高 α -亚麻酸植物种质资源, 调控种子脂肪酸合成途径, ALA 合成关键脂肪酸脱饱和酶(FAD3)特征及该 FAD 家族的编码基因组成, 并总结了种子 ALA 合成关键的调控基因。通过对种子 ALA 合成关键酶及其关键基因的调控机制的梳理, 以期为后期关于提高种子中 α -亚麻酸含量以及植物油脂品质改良等相关研究提供理论支持。

1 α -亚麻酸的研究

1.1 主要油料植物种子中油脂脂肪组成及 ALA 的含量

植物种子是油脂储藏的主要器官, α -亚麻酸则主要以甘油酯的形式广泛存在于植物种子中。表 1 总结了一些主要油料植物脂肪酸组分比例及 α -亚麻酸含量。日常膳食中主要油料植物如花生、油菜、大豆、棕榈、橄榄、玉米胚芽、米糠、向日葵、油茶等 α -亚麻酸含量较低, 分别为 0.30%、7.90%、6.10%、0.30%、0.60%、0.10%、1.97%、0.20%、0.10%。可以看出传统膳食主要油料作物种子中 α -亚麻酸普遍含量较低, 因此 α -亚麻酸成为国民膳食的短板物质, 也是急需补充的营养素。随着对油料作物

的不断开发,许多富含 α - 亚麻酸的特色油料作物逐渐被挖掘,如紫苏、奇亚、亚麻、亚麻荠、星油藤等油料植物中,其 α - 亚麻酸含量分别达到 59.92%、66.00%、53.23%、41.30%、50.41%。在木本油料植物杜仲及牡丹籽中,其 α - 亚麻酸含量高达 55.63%、

45.40%。紫苏、亚麻、杜仲、牡丹等 4 类植物种子含油量高、资源丰富、原料价格低廉,且通过毒理实验对其油脂进行评价,结果表明无毒且无副作用,食用安全,很适合作为 α - 亚麻酸的营养膳食补充剂,或开发相关的保健食品。

表 1 主要油料植物种子油脂脂肪酸组成及 α - 亚麻酸含量

Table 1 Fatty acid composition and α -linolenic acid content in plant seed oil

油料作物 Oil crop	棕榈酸 Palmitic (C16:0)	硬脂酸 Stearic (C18:0)	油酸 Oleic (C18:1)	亚油酸 Linoleic (C18:2)	α - 亚麻酸 ALA (C18:3)	饱和 脂肪酸 Saturated	单不饱和 脂肪酸 Monounsaturated	多不饱和 脂肪酸 Polyunsaturated	参考文献 References
花生 Peanut	8.00	1.80	53.30	28.40	0.30	15.60	55.70	28.70	[4]
油菜 Rape	4.90	1.60	33.00	20.40	7.90	6.50	65.30	28.30	[4]
大豆 Soybean	11.30	3.60	24.90	53.00	6.10	15.30	25.60	59.10	[4]
棕榈 Palm	36.70	6.60	46.10	8.60	0.30	44.70	46.40	8.90	[4]
橄榄 Olive	11.60	3.10	75.00	7.80	0.60	15.70	76.00	8.40	[4]
玉米胚芽 Corn	6.50	1.40	65.60	25.20	0.10	8.00	66.40	25.30	[4]
向日葵 Sunflower	6.20	3.70	25.20	63.10	0.20	11.10	25.60	63.30	[4]
米糠 Rice	16.65	1.56	41.82	36.95	1.97	18.21	41.82	38.92	[5]
油茶 Camellia	8.32	2.21	81.88	6.68	0.10	10.53	81.88	6.68	[6]
核桃 Walnut	6.25	2.90	25.04	56.48	8.35	9.15	25.04	64.83	[6]
杜仲 Eucommia	9.51	4.24	19.85	9.73	55.63	13.75	19.85	65.36	[6]
牡丹籽 Peony	5.14	1.20	20.80	25.90	45.40	6.34	20.80	71.30	[6-7]
星油藤 Plukenetia volubilis	4.24	2.50	8.41	34.08	50.41	6.74	8.41	84.49	[6]
芝麻 Sesame	10.50	5.20	37.10	46.20	0.30	15.70	37.10	46.50	[8]
紫苏 Perilla	7.65	1.06	14.41	19.84	59.92	8.71	14.41	79.76	[9]
奇亚 Chia	14.00	13.00	11.10	18.15	66.00	4.41	11.10	84.15	[10]
亚麻 Flax	9.07	5.09	16.09	14.50	53.23	14.16	16.09	67.73	[11]
亚麻荠 Camelina sativa (L.) Crantz	6.90	2.50	6.10	14.80	41.30	6.90	6.10	56.10	[12]
猕猴桃 Kiwi fruit	6.13	2.85	14.99	13.94	60.59	6.13	14.99	74.53	[13]

1.2 α - 亚麻酸植物资源

通过分析 ALA 含量大于 30% 的植物来源、资源分布及原料价格,发现陆生植物中唇形科、杜仲科、亚麻科中部分植物种子富含 ALA,且 ALA 含量较高,这些植物有藿香(60%~62%)、香薷(57%~65%)、紫苏(51%~63%)、杜仲(42%~62%)、亚麻(42%~60%)、猕猴桃(62%~66%)等。其中藿香、香薷种子价格昂贵,而猕猴桃种子难以获取,因此认为紫苏、亚麻和杜仲是目前较为理想的开发 α - 亚麻酸油的植物。随着相关油料植物研究的推进,许多新兴油料植物资源相继被开发,使得如奇

亚、星油藤、油用牡丹等也成为开发 ALA 产品的新理想材料。

紫苏 (*Perilla frutescens* (L.) Britton) 是我国传统的药食、油料作物,其原产于亚洲东部,后分布于中国、印度、尼泊尔、韩国及日本,表 2 总结了儿种高 ALA 植物资源分布情况。在我国北方紫苏以油用为主,而南方以药用为主。紫苏籽出油率高达 45%~55%,且富含不饱和脂肪酸,其 α - 亚麻酸含量高达 51%~63%。此外,紫苏富含黄酮类化合物、类胡萝卜素及迷迭香酸等活性成分,在医药行业常作为预防和治疗心血管疾病、抗癌及增加免疫力及

多功能医药中间体^[9]。

奇亚 (*Salvia hispanica* L.) 是美国食品和药物管理局 (FDA) 认证的安全食品, 我国卫生和计划生育委员会在 2014 年将其列为新食品原料, 原产于墨西哥南部和危地马拉等北美洲地区。奇亚籽富含 ALA, 是天然 omega-3 脂肪酸的重要来源, 其种子含油量为 25%~50%, 饱和和脂肪酸含量约 80.5%, n-3/n-6 比例合理且含有天然抗氧化剂; 此外, 奇亚种子蛋白及矿物质含量高, 含有人体所需的 8 种必需氨基酸, 是食品、化妆品、保健品开发的天然原材料^[10]。

杜仲 (*Eucommia ulmoides* Oliv.) 又名丝连皮、思仲等, 是我国特有树种, 有“活化石植物”之称, 为国家二级珍贵保护树种。张家界是杜仲之乡, 也是世界最大的野生杜仲产地, 杜仲籽油是从杜仲籽中亚临界低温萃取制得的油脂, 其油脂含量约为 32.3%, 籽油中饱和脂肪酸含量为 91.18%, 而 ALA 含量为 42%~62%^[6]。通过气相色谱法分析比较杜仲籽油、紫苏籽油的脂肪酸组成和 α -亚麻酸含量, 结果显示二者脂肪酸 GC 指纹图谱较为相似, 且脂肪酸组成和含量基本相同, 此外油的外观、气味、折光率等质量指标也非常相近, 因此杜仲种子与紫苏籽一样具有开发价值。但杜仲现在主要用于提炼杜仲胶, 而杜仲种子作为提胶后的副产品, 其价格低廉且

含有较高含量的 α -亚麻酸, 具有较好的开发前景。

星油藤 (*Plukenetia volubilis* L.) 又名南美油藤、印加果, 原产地为南美洲安第斯山脉的热带雨林, 其种子富含油脂、蛋白质、维生素等生物活性物质, 以及生物碱、皂甙和香豆素等次生代谢物, 对于调整血脂、预防心血管疾病等具有明显的功能。星油藤的品种多样, 据秘鲁农业部统计, 经自然或人工驯化选育形成的具有相对遗传稳定性的品种共有 40 余种。此外, 星油藤种子产量高且含油量高达 30%~60%, 油脂富含不饱和脂肪酸, 其种间亚麻酸含量的变化范围为 39.82%~57.22%, 较其他低亚麻酸油料作物而言具有很大的优势^[6]。

牡丹 (*Paeonia suffruticosa* Andr.) 是多年生落叶小灌木, 原产于中国。而油用牡丹是一种新兴的木本油料作物, 其产籽量大且种子含油率高、品质优、抗性强。研究发现, 牡丹结实率高且种子饱满, 籽仁中油脂含量高达 33%, 其中饱和脂肪酸含量高达 92%, 而 α -亚麻酸占 45%, 其营养价值远超橄榄油, 使得其具有良好的市场价值^[6-7]。此外, 国家卫生部发布“关于批准元宝枫籽油和牡丹籽油作物新资源食品的公告”, 进一步促进了油用牡丹的种植和综合开发利用。

表 2 富含 α -亚麻酸的油料植物资源分布

Table 2 Distribution of oil plant resources rich in α -linolenic acid

科名 Family	种名 Scientific name	主要种植地 Main planting area	含油量 (%) Oil content	种间 α -亚麻酸 含量 (%) Interspecific ALA content	产油部位 Oil production site
唇形科 Labiatae	紫苏 <i>Perilla frutescens</i> (L.) Britton	中国、韩国、日本	34~45	51~63	种子
	香薷 <i>Elsholtzia ciliata</i> (Thunb.) Hyl.	西伯利亚、日本、印度、中国等	33.4	57~65	种子
	藿香 <i>Agastache rugosa</i> (Fisch. & C. A. Mey.) Kuntze	中国的四川、江苏、浙江、湖南、广东	33.6	60~62	种子
	奇亚 <i>Salvia Hispanica</i> L.	墨西哥和危地马拉、阿根廷、美国	25~50	62.23~66.00	种子
亚麻科 Linaceae	亚麻 <i>Linum usitatissimum</i> L.	中国的内蒙古中西部、山西北部	40~60	42~60	种子
猕猴桃科 Actinidiaceae	猕猴桃 <i>Actinidia chinensis</i> Planch.	中国的陕西、湖南、湖北	27.9~35	62~66	种子
杜仲科 Eucommiaceae	杜仲 <i>Eucommia ulmoides</i> Oliv.	中国的张家界	32.3	42~62	种子
芍药科 Paeoniaceae	油用牡丹 <i>Paeonia suffruticosa</i> Andrews.	中国的山东、河南、甘肃、四川、云南北部、陕西	33	40	种子
大戟科 Euphorbiaceae	星油藤 <i>Plukenetia volubilis</i> L.	秘鲁、厄瓜多尔	30~60	39.82~57.22	种子

2 种子 ALA 生物合成基本途径及关键基因

植物种子储脂是其能量储藏及萌发生长的重要能源。种子中脂肪酸的生物合成场所主要在质体 (Plastid) 中, 合成的脂肪酸及甘油酯运输至内质网 (ER, Endoplasmic reticulum) 中装配为三酰基甘油 (TAGs, Triacylglycerols), 作为植物体生长发育过程中的能量储备。ALA 生物合成主要是涉及脂肪酸的脱饱和作用及形成 TAGs, 以下详细介绍其合成的主要代谢过程及关键控制基因 (图 1)。

2.1 种子油脂合成基本途径

2.1.1 植物脂肪酸的从头合成

脂肪酸生物合成的碳元素来源于植物光合作用生成的蔗糖, 蔗糖从叶片、绿色果实等光合器官转运到种子细胞中, 经过糖酵解途径形成己糖, 后者经氧化反应形成脂肪酸生物合成反应的底物——乙酰 CoA (CoA, Acetyl-CoA)。在脂肪酸从头合成体系中, CoA 在乙酰 CoA 羧化酶 (ACCase, Acetyl CoA carboxylase) 催化下形成丙二酸单酰 CoA (Malonyl CoA), 这一过程是脂肪酸生物合成中的限速步骤, 其控制脂肪酸合成中的碳流量。随后, 丙二酸单酰 CoA-ACP 转移酶 (MMCT, Malonyl-CoA-ACP transferase) 将丙二酸酰基从 CoA 转移至酰基载体蛋白 (ACP, Acyl carrier protein)。脂肪酸合成酶 (FAS, Fatty acid synthase) 使用 CoA 作为起始单元, 丙二酰-ACP 作为延伸剂对脂肪酸碳链进行延伸, 所有的催化反应均在 ACP 上进行。FAS 是多酶复合体, 由 3-酮酰基-CoA 合酶 (KCS, β -Ketoacyl-ACP synthase)、3-酮酰基-CoA 还原酶 (KCR, β -Ketoacyl-ACP reductase)、3-羟脂酰-CoA 脱水酶 (HCD, β -Hydroxyacyl-ACP dehydratase) 和烯脂酰-CoA 还原酶 (ECR, Enoyl-ACP reductase) 等组成, 这些酶分别催化脂肪酸碳链延伸中的缩合、还原、脱水 and 再还原等酶促反应, 以每个循环加上 2 个 C 的方式进行脂肪酸 C 链的延长。

2.1.2 脂肪酸脱饱和作用及长链脂肪酸的合成

脂肪酸可在脂肪酸脱饱和酶催化作用下形成不饱和脂肪酸, 根据不饱和键的位置不同, 可将脂肪酸分为 n-3、n-6、n-7、n-9 系列。在植物中, 第一个双键由 $\Delta 9$ 硬脂酰-ACP 脱饱和酶 ($\Delta 9$ -SAD) 引入。质体中, SAD 在饱和脂肪酸碳链间引入双键分别催化软脂酸 (16:0-ACP) 和硬脂酸 (18:0-ACP) 脱饱和形成棕榈油酸 (C16:1 $\Delta 9$) 及油酸

(C18:1 $\Delta 9$; OA), 而从 ACP 上释放的游离脂肪酸在长链脂酰 CoA 合成酶 (LACS, Long-chain acyl-coenzyme A synthetases) 的作用下合成脂酰-CoA。后者经脱饱和作用合成单不饱和脂肪酸 (MUFA, Monounsaturated fatty acid) 运输到内质网中, 再经 $\Delta 6$ FAD、 $\Delta 12$ FAD (ω -6FAD)、 $\Delta 15$ FAD (ω -3FAD) 等脂肪酸去饱和酶作用形成多不饱和脂肪酸 (PUEA, Polyunsaturated fatty acid)。

由于高等植物 (尤其油料植物) 中缺少相关去饱和酶, 故植物体内 18C 以上的 PUEAs 较少, 多数植物只合成 OA、亚油酸 (C18:2 $\Delta 9, 12$; LA)、ALA^[14]。在一些低等动植物中, 长链不饱和脂肪酸 (LC-PUFAs, Long-Chain Polyunsaturated Fatty Acids) 的合成途径主要分为 $\Delta 6$ 途径 ($\omega 3$ - $\Delta 6$; $\omega 6$ - $\Delta 6$) 和 $\Delta 8$ 途径 ($\omega 3$ - $\Delta 8$; $\omega 6$ - $\Delta 8$)。其中, $\Delta 6$ 途径是 LC-PUFAs 合成的共同途径, $\Delta 6$ FAD 以 OA ($\omega 6$ 途径) 和 ALA ($\omega 3$ 途径) 为底物合成双 γ -亚麻酸 (C18:3 $\Delta 6, 9, 12$; GLA) 和十八碳四烯酸 (STA, C18:4 $\Delta 6, 9, 12, 15$), 两者经 $\Delta 6$ 链延伸酶 ($\Delta 6$ -elongase) 延伸为双高- γ -亚麻酸 (DGLA, C20:3 $\Delta 8, 11, 14$) 和二十碳四烯酸 (ETA, C20:4 $\Delta 8, 11, 14, 17$), 并进一步去饱和形成花生四烯酸 (ARA, C20:4 $\Delta 5, 8, 11, 14$) 和二十碳五烯酸 (EPA, C20:4 $\Delta 5, 8, 11, 14, 17$); $\Delta 8$ 途径是用于生物合成 20 碳 PUFAs 的替代途径, 其只存在于一些生物体中, 但通过 $\Delta 8$ 替代途径的转基因植物中 LC-PUFAs 积累量高于 $\Delta 6$ 途径, 在 $\Delta 8$ 途径中, LA 和 ALA 在 $\Delta 9$ 链延伸酶作用下合成二十碳二烯酸 (EDA, C20:2 $\Delta 11, 14$) 和二十碳三烯酸 (ETra, C20:3 $\Delta 11, 14, 17$), 经 $\Delta 8$ FAD 去饱和作用合成 DGLA 和 ETA^[15]。

在 LC-PUFAs 合成中, 脂肪酸去饱和酶和链延长酶通过交替作用合成 LC-PUFAs, 其中, $\Delta 6$ FAD 是整个合成过程的限速酶, 是合成下游 LC-PUFAs 的第 1 个酶, 也是两条 LC-PUFAs 合成途径的起点。而 C18- $\Delta 9$ 多不饱和和特异性延伸酶 ($\Delta 9$ -elongases) 是 $\Delta 8$ 途径的限速酶, 其调控 LA 和 ALA 到 DHA 的脂肪酸通量^[14]。此外, 酰基 ACP 硫酯酶 (FAT, Acyl-ACP Thioesterase) 通过水解脂酰-CoA 生成游离脂肪酸和 ACP, 调控内质网中单不饱和脂肪酸量^[16]。

2.1.3 三酰甘油 (TAGs) 的合成及储藏

Kennedy 途径是 TAG 从头合成的主要途径, 其从三磷酸甘油 (G-3-P, 3-phosphoglycerate) 开始, 3-磷酸甘油酰基

转移酶(GPAT, Glycerol-3-Phosphate acyltransferase)催化G-3-P的sn-1位酰基化反应产生溶血磷脂酸(LPA, Lysophosphatidic acid),这一过程是TAG生物合成的主要“阀门”,其中,GPAT基因是影响种子储值含量高低的关键基因。随后,溶血磷脂酸酰基转移酶(LPAAT, Lysophosphatidic acid acyltransferase)使LPA酰化产生磷脂酸(PA, Phosphatidic acid),磷脂酸酶(PAP, Phosphatidate phosphatase)将PA转化形成1,2-sn二酰甘油(DAG, Diacyl glycerol),脂肪酸在1,2-sn二酰甘油酰基转移酶(Diacylglycerol acyltransferase; DGAT)的作用下转移至DAG的sn-3空位合成TAG,此步骤是TAG合成的限速过程。三酰甘油脂在内质网中合成,后与油体蛋白结合形成油体并储存在植物组织中。

2.2 种子油脂合成的关键基因

乙酰CoA羧化酶(ACCCase):分为异质型和同质型两种类型。异质型ACCCase由4个独立的亚基构成(BCCP; BC; a-CT; B-CT),由ACC-1基因编码。在脂肪酸的从头合成过程中催化产生的Mal-CoA,是油脂含量的关键限速酶;同质型ACCCase存在于植物细胞质中,由ACC-2基因编码,每个亚基兼具ACCCase的主要催化功能,但要所有亚基聚合才有活性,其催化产生的Mal-CoA主要用于类黄酮等次生代谢产物的合成^[17]。

脂肪酸合酶复合体(FAS):由乙酰CoA-ACP转移酶(Acetyl transferase)、丙二酸单酰CoA-ACP转移酶(MMCT)、3-酮酰基-ACP合酶(KAS)、3-酮酰基-ACP还原酶(KAR)、β-酮脂酰-ACP脱水酶(HAD)、烯脂酰-ACP还原酶(ENR)等6个酶组成的复合酶体。在碳链延伸过程中,KAS、KAR、HAD、ENR分别调控脂肪酸合成缩合、还原、脱水和再还原过程获得比循环开始时多两个碳原子的饱和脂肪酸^[17]。KAS由3个亚型组成,Ⅲ型的3-酮酰基-ACP合酶(KASⅢ)催化产生4:0-ACP,通过调控其基因的表达可以提高中链脂肪酸的含量;KAS I /KASB同种型的3-酮酰基-ACP合酶催化脂肪酸碳链延伸产生16:0-ACP, KAS II /KASA最终将16:0-ACP延伸至18:0-ACP。在种子的发育过程中,KAR和ENR基因表达量呈先上升后下降趋势,而HAD基因表达量则呈不规律变化;通过过表达陆地棉KAR和ENR基因,使得棉籽油分含量显著提高,尤其是其不饱和脂肪酸的含量^[18]。

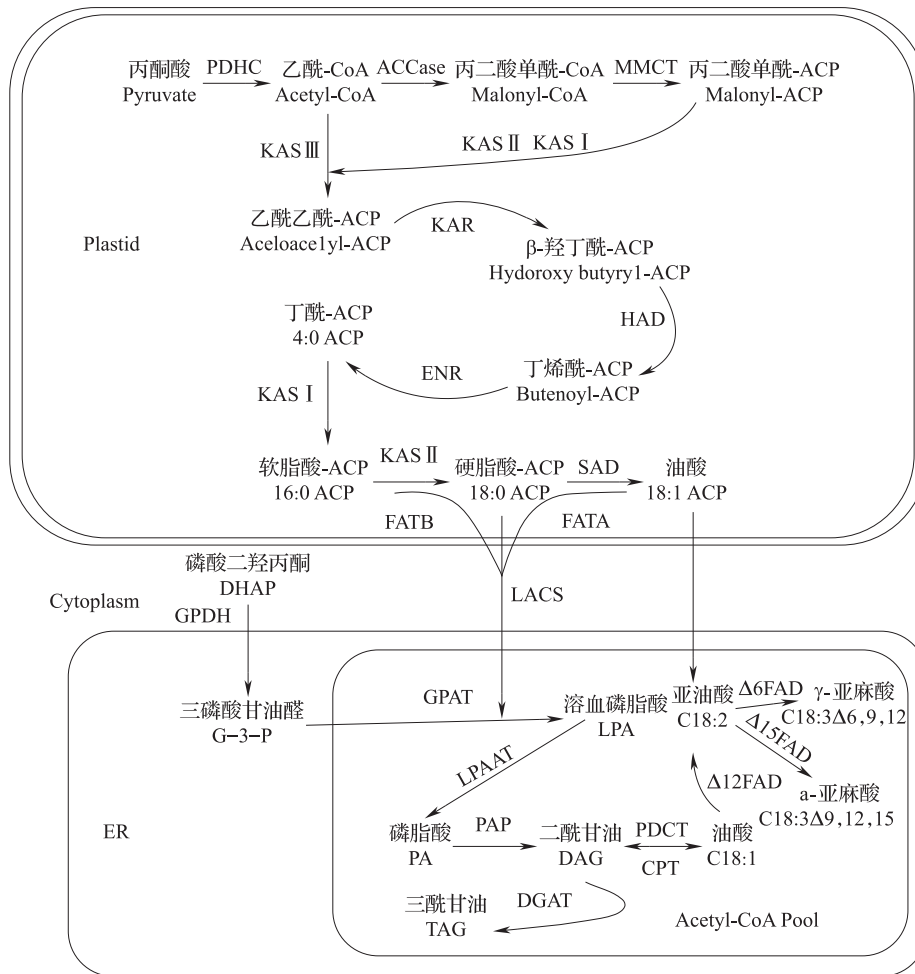
酰基ACP硫酯酶(FAT):定位于植物体中,FAT对不同底物的酶活性不同,其中对硬脂酰-ACP和棕榈酰-ACP的酶活性很低,对不饱和棕榈酰-ACP活性较高,而对油酰-ACP底物活性最高。根据蛋白质序列的差异,将植物FAT分为FATB和FATA两大家族,其中FATA主要编码C18:1-ACP硫酯酶,表现很强的C18:1-ACP活性以及相对弱的C18:0-ACP活性;FATB参与饱和脂酰碳链的释放,主要水解8C-18C的饱和脂酰-ACP^[19]。在种子中过量表达拟南芥FATB1基因,可增加种子中C16:0脂肪酸,干扰FATB1基因表达,C16:0脂肪酸和总饱和脂肪酸的含量减少^[16]。通过序列比对发现,FATB的N端相似性高于FATA,蛋白序列长于FATA,但是二者高级结构相似。

二酰甘油酰基转移酶(DGAT):大多数研究将DGAT定位于油体和内质网,其是三酰甘油(TAG)合成的限速酶。植物中主要有DGAT1、DGAT2、DGAT3三种类型且均参与植物油脂的合成。DGAT1和DGAT2蛋白是微粒体酶,主要与内质网膜结合。其中DGAT1是植物油脂合成的关键酶,研究表明DGAT1基因过表达可促进种子中TAG的积累^[20]。DGAT2基因则是大量累积特殊脂肪酸(如蓖麻油酸)的主控基因,同时也参与油棕和橄榄常规TAG的累积。在玉米中表达DGAT2基因后小幅度提高了玉米的含油量,提高了油酸含量,同时降低了亚油酸含量,但对产量没有显著影响^[21]。DGAT3主要响应膜脂的生物合成,参与TAG生物合成,主要作用于多不饱和脂肪酸,在种子的成熟过程中,过表达天然存在的DGAT或者酶诱变DGAT形式来增加油脂的含量^[18]。

3 植物ω-3FAD的研究进展

3.1 植物FAD的类型及功能

脂肪酸脱饱和酶是多不饱和脂肪酸(PUFAs)合成途径的关键酶,主要催化脂肪链中指定位置的两个碳原子间的单键(C-C)转化为双键(C=C)。根据FAD的亚细胞定位和辅因子的不同可将FAD划分为可溶性去饱和酶(包括Δ4 FAD, Δ6FAD及Δ9SAD)和膜结合去饱和酶(ω6FAD及ω3FAD)。其中,Δ9SAD催化硬脂酸去饱和和作用产生油酸,是决定饱和脂肪酸和不饱和脂肪酸比例的关键酶^[14]。Δ4 FAD和Δ6FAD定位于内质网中,Δ6FAD能够催化LA去饱和生成GLA。Δ4 FAD含有一个类似于细胞色素b5的保守结合域(HPGG),



PDHC: 丙酮酸脱氢酶复合物; ACCase: 乙酰 CoA 羧化酶; MMCT: 丙二酸单酰 CoA-ACP 转移酶; KAS: β -酮脂酰-ACP 合酶; KAR: β -酮脂酰-ACP 还原酶; HAD: β -酮脂酰-ACP 脱水酶; ENR: 烯脂酰-ACP 还原酶; SAD: 硬脂酰脱氢酶; FATA/B: 酰基-ACP 硫酯酶 A/B; LACS: 长链酰基辅酶 A 合成酶; GPDH: 甘油磷酸脱氢酶; GPAT: 磷酸酰基转移酶; LPAAT: 溶血磷脂酸酰基转移酶; PAP: 磷脂酸酶; DGAT: 1, 2-sn-二酰甘油酰基转移酶; PDCT: 磷脂酰胆碱: 二酰基甘油胆碱磷酸转移酶; CPT: COP 胆碱: 1, 2-sn-二酰甘油胆碱磷酸转移酶; $\Delta 6$ FAD: $\Delta 6$ 型脂肪酸去饱和酶; $\Delta 12$ FAD: 油酸去饱和酶; $\Delta 15$ FAD: 亚油酸去饱和酶

PDHC: Pyruvate dehydrogenase complex, ACCase: acetyl-CoA carboxylase, MMCT: Malonyl CoA-ACP transferase, KAS: β -Ketoacyl-ACP synthase, KAR: β -Ketoacyl-ACP reductase, HAD: β -Hydroxyacyl-ACP dehydrates, ENR: Enoyl-ACP reductase, SAD: Stearoyl-CoA Desaturase, FATA/B: Acyl-ACP thioesterase, A/B; LACS: Long-chain acyl-coenzyme a synthetases, GPDH: Glycerol phosphate dehydrogenase, GPAT: Glycerol 3 phosphate acyltransferase, LPAAT: Lysophosphatidic acid acyltransferase, PAP: phosphatidate phosphatase, DGAT: Diacylglycerol acyltransferase, PDCT: Phosphatidylcholine: diacylglycerol choline phosphotransferase, CPT: Diacylglycerol choline phosphotransferase, $\Delta 6$ FAD: $\Delta 6$ FAD Fatty acid desaturase, $\Delta 12$ FAD: Oleic acid desaturase, $\Delta 15$ FAD: Linoleic acid desaturase

图 1 高等植物 α -亚麻酸从头合成途径

Fig.1 De novo synthesis of plant α -linolenic acid

是 DHA 合成的关键酶,目前只在少数海洋微藻和某些低等生物中发现,其催化 EPA 生成 DHA 的反应^[22]。 $\Delta 12$ FAD (ω -6 FAD) 催化油酸 C12-C13 间引入双键形成亚油酸,是多不饱和脂肪酸代谢途径的限速酶。高等植物中 $\Delta 12$ FAD 由 *FAD2* 和 *FAD6* 基因编码,其中 *FAD2* 基因往往以多拷贝形式存在(拟南芥除外),*FAD6* 基因以单拷贝形式存在,除了调控植物中油酸的含量,这两个基因在植物抵御逆境胁迫中有着重要作用^[23]。

ω -3FAD ($\Delta 15$ FAD) 是植物 α -亚麻酸合成的关键酶,其通过在亚油酸 C15-C16 间引入第 3 个双键,催化亚油酸形成 α -亚麻酸。研究发现,高等植物中 ω -3FAD 有 3 个编码基因(*FAD3*, *FAD7*, *FAD8*),其 N 端与 C 端位于膜的外侧,保守性低,中间部位相对保守,有两段长的疏水区可以形成 4 个跨膜区域及 2 段膜嵌合区,且在细胞质一侧存在 3 个极度保守的与 Fe^{2+} 形成酶的催化活性中心的组氨酸簇^[24]。其中,*FAD3* 基因编码内质网型

ω -3FADs, 是植物种子中 ALA 的生物合成的关键基因, 其响应可能依赖于翻译后水平的调控; *FAD7* 和 *FAD8* 基因编码质体型同工酶, 主要在植物叶组织中表达, *FAD7* 基因的表达不受温度的调控, 而 *FAD8* 基因则属于温度敏感型表达, 在转录、转录后水平都受到调控, 其酶活性的调控区域主要在 *FAD8* 的羧基末端^[24]。

ω 6FAD 及 ω 3FAD 根据亚细胞定位不同, 可分为内质网型和质体型两种, 其中 *FAD2* 和 *FAD3* 定位于内质网, 以 NADH、NADH 细胞色素 b5 还原酶和细胞色素 b5 为电子供体, 主要作用于除质体膜膜脂之外所有酯化为磷脂酰胆碱及其他磷脂的脂肪酸; *FAD6*、*FAD7* 和 *FAD8* 定位于质体, 以 NAD(P)H、铁氧还原蛋白-NAD(P)还原酶和铁氧还原酶为电子供体, 主要负责质体膜膜脂中磷脂酰甘油、磷脂和半乳糖脂中脂肪酸的去饱和^[14]。

表 3 油料植物相关基因鉴定表

Table 3 Oil plant related gene identification table

油料植物 Oil plant	种子转录组 Seed transcriptome	脂质合成相关基因 Lipid synthesis related gene	FAD 基因 FAD gene	ω -3 FAD 基因 Omega-3 FAD gene	参考文献 References
花生 Peanut	基因组	85	31	8	[25]
油菜 Rape	基因组	2652	84	13	[26-27]
大豆 Soybean	基因组	1259	29	7	[28]
橄榄 Olive	转录组	300	6	3	[29-30]
玉米 Corn	转录组	1177	3	2	[27, 31]
向日葵 Sunflower	转录组	719	6	2	[32]
油茶 Camellia	转录组	1379	5	2	[33-34]
核桃 Walnut	转录组	571	9	7	[35-36]
芝麻 Sesame	转录组	708	4	1	[37]
紫苏 Perilla	转录组	540	23	20	[38]
亚麻 Flax	转录组	91	25	6	[39]
杜仲 Eucommia	转录组	72	11	6	[40]
牡丹籽 Peony	转录组	388	18	8	[41-42]
星油藤 <i>Plukenetia volubilis</i> L.	转录组	397	21	10	[43]
亚麻芥 <i>Camelina sativa</i> (L.) Crantz	转录组	1281	6	3	[44]

3.3 *FAD3* 基因催化调控功能

FAD3 基因是催化植物种子中的 α -亚麻酸合成的主要基因^[2]。研究发现, *FAD3* 蛋白序列间均具有一定的保守性, 其相似性也较高。自最初在拟南芥中首次发现 *FAD3* 基因, 目前已经在麻风树 (*Jatropha curcas* L.)^[45]、紫苏 (*Perilla frutescens* (L.) Britton) 和鼠尾草 (*Salvia hispanica* L.)^[46]、大豆 (*Glycine max* (L.) Merr)^[47]、红花 (*Carthamus tinctorius* L.)^[48] 等多种植物中成功克隆并表达

3.2 植物 FAD 基因家族组成及数量

目前通过高通量的基因组及转录组研究已极大地丰富了 FAD 基因家族的鉴定及研究。基于花生、油菜、大豆的基因组数据及富含 α -亚麻酸的植物紫苏、亚麻、牡丹、星油藤、亚麻芥等转录组数据, 我们总结了目前主要油料植物中 FAD 基因家族数量及特点(表 3)。结果显示, 植物种子亚麻酸含量高低与植物中脂质合成基因以及 ω -3 FAD 的数量并无直接关系, 造成亚麻酸种质差异的原因, 可能的解释是 ω -3 FAD 的表达活性不同决定 α -亚麻酸形成, 或者还存在着其他的转录调控机制, 有待进一步研究。通过对油料植物种子转录组进行分析, 充分挖掘和鉴定种子中不饱和脂肪酸合成的关键基因, 为进一步理解亚麻酸的合成和代谢机制以及改良种子油脂组分提供理论支持。

FAD3 基因。在多数植物中, *FAD3* 基因主要在种子中表达, 且 *FAD3* 基因的表达水平与种子中 ALA 的合成密切相关。在拟南芥种子中过表达麻风树 *JcFAD3* 基因, 其种子中 ALA 含量较野生型种子显著提高了 20.50%~24.94%, 且种子中亚油酸 LA 含量降低了 11.4%~23.5%^[49], 芝麻种子中特异性表达大豆 *FAD3c* 基因使芝麻种子中 ALA 水平特异性增强 4.91%^[50], 大豆中异位表达拟南芥 *FAD3* 基因也可提高大豆种子中 α -亚麻酸的含量。从上述实验

可以看出, *FAD3* 基因的表达量影响着植物种子中 α - 亚麻酸的积累量。

此外, *FAD3* 基因在植物响应逆境胁迫中十分重要。研究发现, 转 *FAD3* 基因的烟草植株 α - 亚麻酸含量明显增加, 且对寒冷的耐受能力也增加; 如 Zhou 等^[51] 在 $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下对白杨幼苗冷冻胁迫处理, 结果显示, 过表达 *FAD3* 基因和 RNAi 干涉 *FAD3* 基因表达, 其白杨幼苗存活率分别为 73% 和 10%, 而在杨树中引入 *pFAD3* 基因后, 小规模地实现了冷冻耐受性的显著增加。番茄中过表达 *LeFAD3* 基因, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下处理转基因番茄幼苗发现 *LeFAD3* 基因表达水平显著增加且提高番茄耐寒和耐盐等能力^[52]。此外, 研究发现植物在非生物胁迫下有助于 *FAD3* 基因和蛋白质的表达, 从而提高植物 α - 亚麻酸的积累和植物的抗寒能力^[53]。

4 ω -3FAD 的关键调控因子

4.1 *WRI1* 转录因子

ω -3FAD 基因关键调控因子如图 2 所示。植物种子中 ALA 的积累受脂肪酸合成的碳流量的影响, *WRI1* 就是影响植物碳流量的关键转录因子之一。*WRI1* 是 APETALA2 (AP2) / 乙烯响应元件结合蛋白家族的植物特异结构域转录因子 (TF), 其 N 端和 C 端各有 1 个与 DNA 结合的 AP2/ERE BP 保守结构域; 此外 *WRI1* 转录因子 C 端存在与转录活性相关酸性结构域^[54]。在植物中, *WRI1* 基因通过特异性正向调控 ACCase、FAS、CoA 等糖酵解和脂肪酸合成过程相关酶的基因活性调控植物种子中 ALA 的积累。研究发现, 在单子叶植物和双子叶植物中 *WRI1* 基因功能都具有保守性, 且过表达转录因子 *WRI1* 编码基因能够提高植物种子的油脂含量^[55]。例如在油菜 (*Brassica napus* L.)^[56], 玉米 (*Zea mays* L.)^[57] 和亚麻荠^[58] (*Camelina sativa* (L.) Crantz) 等油料植物中过表达 *WRI1* 基因, 其植物幼苗中的糖酵解和脂肪酸生物合成基因的表达水平普遍上调, 且植物总种子油含量增加。

WRI1 的调控机制主要是通过 TF 识别靶启动子上的特定 DNA 序列, 通过募集 RNA 聚合酶 II (pol II) 转录中心调节因子 Mediator 激活或者抑制启动子的表达^[59]。Mediator 复合体的 MED15 亚基和 *WRI1* 之间的表达模式在种子发育过程中是相关的。MED15 或 *WRI1* 的过表达增加了参与糖酵解和脂肪酸生物合成的 *WRI1* 靶基因的转录水平, 在野生型长角果中过表达 MED15 和 *WRI1* 增

加了 BCCP2, *FAD2* 转录水平, 通过沉默 MED15 和野生型或 *WRI1* 过表达植物中 *WRI1* 基因后, *WRI1* 靶基因的转录水平下调, 而 *WRI1* 基因激活的时间会影响种子的油与储存蛋白比例, 进而影响种子中 ALA 的积累^[60]。Zhang 等^[61] 通过共表达分析发现, *WRI1* 与紫苏 *FAD3* 表达存在着较强的相关性, 暗示 *WRI1* 可能参与调节 ALA 的积累。

4.2 *LEC1*、*LEC2*、*ABI3*、*FUS3* 转录因子

LEC 上游调控因子通过调控参与糖酵解和脂肪酸合成途径中的关键酶的基因的表达, 增加参与油脂合成途径的碳源, 促进植物油脂的积累。LEC 因子主要有 *LEC1* 和 *LEC2* 两种。拟南芥 *LEC1* 是首次验证出的种子发育的调控因子, 其编码 CCAAT-box 结合因子 HAP3 亚基的同源物, 是控制胚形成和发育以及种子成熟的重要调节因子^[62]。*LEC1* 基因的过表达导致脂肪酸生物合成基因的表达的全面增加, 在拟南芥中过表达 *LEC1* 基因, 结果显示植物细胞质中编码脂肪酸生物合成酶的基因的转录水平上调 60%, 同时糖酵解途径相关酶、 ω -6FAD、 ω -3FAD、油体蛋白的编码基因转录水平也发生上调; 通过在油菜中异位表达拟南芥 *LEC1* 基因, 转基因植物中主要脂肪酸种类和脂质的水平显著增加, 尤其是油酸和亚油酸含量显著提高^[62]。*LEC1* 对脂肪酸合成过程的调控过程主要通过 *FUS3* 进行, 在 *FUS3* 和 *ABI3* 转录因子存在下, 过量表达 *LEC* 会诱导种子贮藏蛋白 (SSP, Seedstorage protein) 基因的表达^[63]。*LEC1* 和 *L1L* 在功能上是等效, *L1L* 的异位表达可以阻止 *LEC1* 的突变。

LEC2、*FUS3* 和 *ABI3* 属于植物特异性转录因子 B3 超级家族成员, 三者共同构成 AFL 家族, AFL 家族成员在种子成熟以及油脂合成等主要生理过程中具有相似的功能, 他们相互调节, 密不可分。*LEC2* 是种子成熟的关键基因, 其诱导叶片中油脂的积累, 可以激活 *LEC1*、*FUS3* 和 *ABI3* 等种子特异性基因的表达^[64]。*LEC1* 和 *FUS3* 是体外胚胎形成的关键因子, *FUS3* 通过调控赤霉素与脱落酸在胚胎中的合成方式控制种子发育与成熟过程。通过抑制 *LEC1* 基因和 *FUS3* 基因表达会降低胚胎发生的数量和再生的频率, 且 *FUS3* 的突变将导致亚油酸增加; 而异位表达 *LEC1* 可以在转录水平激活 B3 转录因子 *FUS3*、*ABI3* 的表达, 并进一步诱导 SSP 基因的转录本积累^[63]。

ABI3 是种子成熟过程中 ABA 响应途径的主要调控因子, *FUS3* 通过抑制赤霉素 (GA,

Gibberellin)合成同时激活脱落酸(ABA, Abscisic acid)合成控制种子发育的进程。ABI3和FUS3激活SSP后,异位表达LEC2会诱导LEC1、FUS3和ABI3RNA的积累,LEC2通过直接调控WRI1转录因子,而LEC1的异位过表达激活了WRI1表达但对LEC2无效。WRI1、LEC1、LEC2、ABI3、FUS3转录因子位于脂肪酸合成调控网络上游,其通过调控激活下游转录因子或其他信号分子调控种子中ALA的积累^[65]。

4.3 bZIP转录因子

bZIP转录因子广泛存在于动植物中,其编码的蛋白质具有很高的序列保守性,依据其结构特点和功能被划分为10个亚族。bZIP转录因子保守结构域由60~80个氨基酸残基组成,包含碱性氨基酸区和亮氨酸拉链区两个保守结构域。其中,碱性氨基酸区域由18个碱性氨基酸组成,含有一个核定位信号和一个结合特异DNA序列的N-x7-R/K基序,亮氨酸拉链区域沿着转录因子C末端准确定位了9个氨基酸,产生同源或异源二聚体;研究表明bZIP转录因子家族能够特异性的与A-box(TACGTA)、C-box(GACGTC)和G-box(CACGTG)等ACGT元件结合^[66]。

在植物种子中,bZIP转录因子通过结合植物FAD3基因启动子部位G-box元件来激活FAD3基因的表达,进一步促进植物种子中 α -亚麻酸的积累。例如拟南芥中,FUS3和LEC1转录因子诱导L1L、NF-YC2和bZIP67基因表达,在L1L和NF-YC2转录因子存在下,bZIP67与G-box元件相互作用结合FAD3基因的启动子,通过反式激活FAD3基因的表达调节拟南芥籽油中的 α -亚麻酸的含量^[67]。廖晓佳等^[68]通过酵母单杂交实验和启动子激活实验,验证了星油藤bZIP124转录因子能够通过结合Pv-FAD3基因启动子部分的G-box位点,从而激活Pv-FAD3基因表达,通过比较PvbZIP124氨基酸序列和拟南芥bZIP成员的同源性,推测bZIP转录因子在发育的种子中对FAD3基因的调控可能具有物种特异性。

4.4 ASIL1和PKL转录因子

ASIL1属于Trihelix转录因子家族,其结构域含有3个串联的螺旋结构(螺旋-环-螺旋-环螺旋)能特异性的结合DNA序列上的GT光应答元件。ASL1转录因子会抑制LEC1、LEC2、FUS2和ABI3转录因子的表达,其通过在种子胚胎发育的前期抑制miRNA合成酶DICER-LIKE1的合成来控

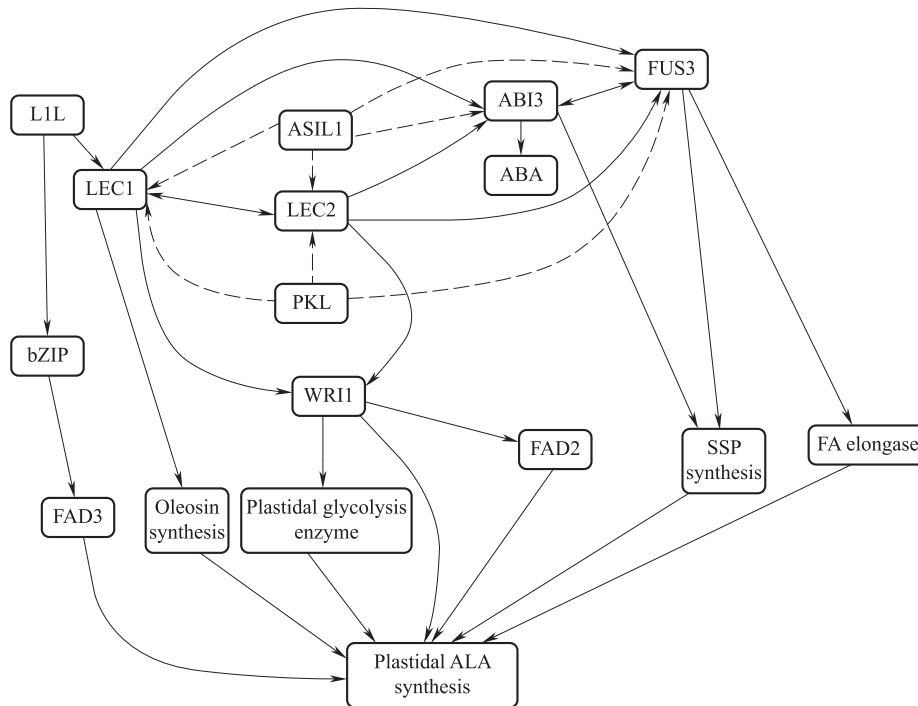
制种子特异性基因的表达^[69]。PICKLE(PKL)基因编码一个CHD3-染色质重塑因子,该因子会抑制LEC1、LEC2、FUS3的表达。在植物油脂改良中,可能通过抑制ASIL1和PKL转录因子的表达水平来促进种子特异性基因的表达水平,提高植物种子ALA的积累量。

5 总结与展望

ALA是一种不能自身合成的必需脂肪酸,摄入ALA可以有效补充人体 ω -3FAD脂肪酸,促进大脑视力发育、治疗心血管疾病等。ALA主要来源于植物类油脂,传统膳食的主要油脂中ALA含量较低,因此成为国民膳食亟需补充的营养素。随着油料作物的不断开发,紫苏、奇亚、亚麻、杜仲和牡丹籽等富含ALA的油料植物被不断挖掘,成为了ALA膳食补充剂以及保健食品开发的主要来源。如何提高植物种子中ALA含量目前已受到重视,日渐成为油料植物脂肪酸成分改良的重点研究方向之一。

脂肪酸是植物油脂主要组成成分,其在质体中合成后经ER装配为TAGs并储存在种子组织中,作为植物体生长发育过程中的能量储备。在脂肪酸的生物合成中,FAS使用CoA作为底物,丙二酰-ACP作为延伸剂,经缩合、还原、脱水和再还原过程以每个循环加上2个C的方式对脂肪酸碳链进行延长,而ACCase控制脂肪酸合成中的碳流量,是脂肪酸生物合成的关键限速酶。OA作为长链脂肪酸合成的前体物质,其在硫酯酶的作用下脱去ACP而变成游离的脂肪酸进入细胞质中,在ER中经 Δ 5FAD、 Δ 6FAD、 Δ 8FAD、 Δ 12FAD、 Δ 15FAD连续去饱和作用,以及酯酰-CoA延长酶复合体作用下合成机体生长发育所必需的多种LC-PUFAs。其中, Δ 12FAD催化油酸趋饱和作用形成的亚油酸是控制长链脂肪酸合成方向的关键物质,由于脂肪酸饱和酶作用位点不同,使得长链脂肪酸的合成分为两个不同的方向。Kennedy途径是TAG从头合成的主要途径,其催化G-3-P经系列酶促反应后合成TAG,而3-磷酸甘油酰基转移酶是三酰甘油(TAG)合成的“阀门”,DGAT是三酰甘油合成的限速酶,其催化二酰甘油加上脂肪酸酰基形成三酰甘油。

在植物中已经证明了 ω -3脂肪酸脱饱和酶是内质网和质体中催化亚油酸(LA)转化生成 α -亚麻酸(ALA)的关键酶,内质网型FAD3基因和质体型FAD7/FAD8基因通过在亚油酸C15-C16位置引入第3个双键,催化亚油酸形成 α -亚麻酸。FAD3



图中实线代表正调控、虚线代表负调控

The solid line in the figure represents positive regulation and the dotted line represents negative regulation.

Oleosin synthesis: 油脂蛋白合成; Plastidal glycolysis enzyme: 质体糖酵解途径相关酶; SSP synthesis: 种子储存蛋白合成;

FA elongase: 脂肪酸延伸酶; Plastidal ALA synthesis: 质体 α - 亚麻酸合成

图 2 种子 α - 亚麻酸生物合成转录因子调控网络

Fig.2 Seed α -linolenic acid biosynthesis transcription factor regulatory network

基因是种子中 ALA 合成的关键基因, *FAD7/FAD8* 是植物叶中 ALA 合成的关键基因, 而 ω -6 脂肪酸脱饱和酶 *FAD2* 和 *FAD6* 基因是催化油酸脱氢形成亚油酸的关键基因, 这两个基因通过调控种子中亚油酸的含量影响种子 α - 亚麻酸的积累。实验中常通过上调 ω -3 脂肪酸脱饱和酶基因的表达量调控植物油脂各组分含量。

虽然 *FAD3* 基因是调控种子中 ALA 生物合成的关键基因, 但其基因的表达受多个转录因子的调控。其中 *bZIP* 转录因子通过结合 *FAD3* 基因启动子部位的 G-box 激活 *FAD3* 基因的表达, 但 *bZIP* 转录因子在发育的种子中对 *FAD3* 基因的调控可能具有物种特异性。*WR11* 转录因子在胚胎发生过程中在转录水平上调节糖酵解和脂肪酸生物合成过程中相关基因的表达从而调控植物油脂的合成, 在植物中过表达 *WR11* 基因上调了 *FAD2* 和 *FAD3* 基因的表达水平。*LEC1*、*ABI3*、*FUS3* 转录因子是种子特异性基因, 通过提高种子发育中脂肪酸合成相关基因的表达促进种子中 ALA 的积累, *WR11* 受 *LEC2* 和 *LEC1* 因子调控, *LEC2* 直接调控 *WR11* 转录因子的表达, *LEC1* 基因的过表达导致脂肪酸生物合成基

因的全面增加的表达。*LEC2* 能够诱导叶片中油脂的积累, 同时通过激活 *LEC1*、*FUS3* 和 *ABI3* 等种子特异性基因的表达。而 *FUS3* 的突变将导致亚油酸增加而促进 ALA 的合成; 在植物中, *WR11*、*LEC1*、*LEC2*、*FUS3*、*ABI3* 转录因子通过相互作用正向调控 *FAD3* 基因的表达, 但是存在两种转录因子 (*ASIL1* 和 *PKL*), 其通过负调控 *LEC1*、*LEC2*、*FUS3*、*ABI3* 转录因子的表达抑制 *FAD3* 基因的表达。因此在种子 ALA 生物合成转录因子调控网络中, 可通过上调正调控转录因子转录水平或者下调负调控转录因子的表达水平提高 *FAD3* 基因的表达, 进一步提高植物油脂中 ALA 的含量, 改良植物油脂品质。

虽然目前已经发掘出紫苏、亚麻和星油藤等富含 α - 亚麻酸的特殊油料作物, 但大多数日常膳食类油料植物中 α - 亚麻酸含量依旧很低, 尚且不能满足人们对于 α - 亚麻酸的需求。通过了解种子中 α - 亚麻酸形成以及调控机理, 对于进一步开发和探寻富含 α - 亚麻酸的自然资源、改良植物油脂品质以及开发 α - 亚麻酸相关保健食品具有重大意义。本文综述了高 ALA 植物资源分布, 植物种子中 α - 亚麻酸的生物合成途径及其转录因子调控网络, 以期

后续 α -亚麻酸的相关研究和油料植物油脂组分改良,以及开发 α -亚麻酸保健食品等提供理论依据。

参考文献

- [1] Weber H. Fatty acid-derived signals in plants. Trends in Plant Science, 2002, 7: 217-224
- [2] Liu H L, Yin Z J, Xiao L, Xu Y N, Qu L Q. Identification and evaluation of ω -3 fatty acid desaturase genes for hyperfortifying α -linolenic acid in transgenic rice seed. Journal of Experimental Botany, 2012, 63 (8): 3279-3287
- [3] Ella J B, Elizabeth A M, Graham C B, Parveen Y, Philip C C. Metabolism and functional effects of plant-derived omega-3 fatty acids in humans. Progress in Lipid Research, 2016, 64: 30-56
- [4] María J R, Carmen M F, Abraham C, Lourdes R, Ángel P. Influence of fatty acid composition of raw materials on biodiesel properties. Bioresource Technology, 2008, 100 (1): 261-268
- [5] 杨青坪,梁少华,杨瑞楠. 不同产地米糠油理化特性与组成分析研究. 河南工业大学学报:自然科学版, 2015, 36 (3): 25-31
Yang Q P, Liang S H, Yang R N. Physicochemical properties and fatty acid compositions of rice bran oils from different areas. Journal of Henan University of Technology : Natural Science Edition, 2015, 36 (3): 25-31
- [6] 尹丹丹,李珊珊,吴倩,冯成庸,李冰,王倩玉,王亮生,徐文忠. 我国 6 种主要木本油料作物的研究进展. 植物学报, 2018, 53 (1): 110-125
Yin D D, Li S S, Wu Q, Feng C Y, Li B, Wang Q Y, Wang L S, Xu W Z. Advances in research of six woody oil crops in China. Plant Journal, 2018, 53 (1): 110-125
- [7] 徐兴兴,成仿云,彭丽平,鲜宏利. 革质花盘亚组野生牡丹资源的调查及保护利用建议. 植物遗传资源学报, 2017, 18 (1): 46-55
Xu X X, Cheng F Y, Peng L P, Xian H L. Suggestions on conservation and utilization of wild tree peony resources of subsect. vaginatae based. Journal of Plant Genetic Resources, 2017, 18 (1): 46-55
- [8] 汪学德,崔英德,刘日斌,任勇. 芝麻籽中脂肪酸组成测定及相关性分析. 中国油脂, 2016, 41 (1): 95-99
Wang X D, Cui Y D, Liu R B, Ren Y. Determination and correlation analysis of fatty acid composition of sesame seed. China Oils and Fats, 2016, 41 (1): 95-99
- [9] 沈奇,朱文秀,秦信蓉,赵云,王仙萍,李敏,杜才富. 30 份贵州紫苏的含油率与脂肪酸成分含量. 贵州农业科学, 2014, 42 (10): 5-8
Shen Q, Zhu W X, Qin X R, Zhao Y, Wang X P, Li M, Du C F. Oil Content and fatty acid components of 30 perilla frutescens samples in Guizhou. Guizhou Agricultural Sciences, 2014, 42 (10): 5-8
- [10] 姚宏燕,罗文涛,杨成,沈晓芳. 奇亚籽油的品质特性及提取工艺研究进展. 中国油脂, 2019, 44 (4): 46-49
Yao H Y, Luo W T, Yang C, Shen X F. Progress in quality characteristics and extraction technology of chia seed oil. China Oils and Fats, 2019, 44 (4): 46-49
- [11] 孙方. 主要麻类作物种子脂肪酸组成及其含量的比较研究. 长沙:湖南农业大学, 2015
Sun F. Comparative and study of the main fiber crops seeds fatty acid composition and content. Changsha: Hunan Agricultural University, 2015
- [12] 苑丽霞,郝敬云,周广航,薛金爱,李润植. 新型油料作物亚麻荠种子油脂积累的研究. 山西农业大学学报:自然科学版, 2015, 35 (3): 271-276
Yuan L X, Hao J Y, Zhou G H, Xue J A, Li R Z. Study on accumulation of seed oil in camelina sativa, a new alternative oilseed crop. Journal of Shanxi Agricultural University: Natural Science Edition, 2015, 35 (3): 271-276
- [13] 栾霞,李秀娟,郭咪咪. 湘西猕猴桃籽成分分析及猕猴桃籽油的特性研究. 中国油脂, 2017, 42 (8): 136-139
Luan X, Li X J, Guo M M. Xiangxi kiwifruit seed component and characteristics of kiwifruit seed oil. China Oils and Fats, 2017, 42 (8): 136-139
- [14] 曹福亮,王欢利,郁万文,程华. 高等植物脂肪酸去饱和酶及编码基因研究进展. 南京林业大学学报:自然科学版, 2012, 36 (2): 125-132
Cao F L, Wang H L, Yu W W, Cheng H. Progress of research on fatty acid desaturase and their coding genes in higher plant. Journal of Nanjing Forestry University: Natural Science Edition, 2012, 36 (2): 125-132
- [15] Li M, Ou X, Yang X, Guo D, Qian X, Xing L, Li M. Isolation of a novel C18- Δ 9 polyunsaturated fatty acid specific elongase gene from DHA-producing Isochrysis galbana H29 and its use for the reconstitution of the alternative Δ 8 pathway in Saccharomyces cerevisiae. Biotechnology Letters, 2011, 33 (9): 1823-1830
- [16] Salas J J, Ohlrogge J B. Characterization of substrate specificity of plant Fat A and Fat B acyl-ACP thioesterases. Archives of Biochemistry and Biophysics, 2002, 403 (1): 25-34
- [17] Wu G Z, Xue H W. Arabidopsis β -ketoacyl-[Acyl Carrier Protein] synthase is crucial for fatty acid synthesis and plays a role in chloroplast division and embryo development. Plant Cell, 2010, 22: 3726-3744
- [18] 蔡曼,柳延涛,王娟,孔宪辉,王旭文,李卫华,余渝,刘丽. 植物种子油脂合成代谢及其关键酶的研究进展. 中国粮油学报, 2018, 33 (1): 131-139
Cai M, Liu Y T, Wang J, Kong X H, Wang X W, Li W H, Yu Y, Liu L. Research progress on anabolism and key enzymes of plant seed oil. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2018, 33 (1): 131-139
- [19] 刘芳,刘睿洋,官春云. *BnFAD2*、*BnFAD3* 和 *BnFATB* 基因的共干扰对油菜种子脂肪酸组分的影响. 植物遗传资源学报, 2017, 18 (2): 290-297
Liu F, Liu R Y, Guan C Y. Effect of silencing of *BnFAD2*, *BnFAD3*, *BnFATB* genes on fatty acid component in rapeseed (*Brassica napus*). Journal of Plant Genetic Resources, 2017, 18 (2): 290-297
- [20] Guo X J, Fan C M, Chen Y H, Wang J Q, Yin W B, Wang R C, Hu Z M. Identification and characterization of an efficient acyl-CoA: diacylglycerol acyltransferase 1 (DGAT1) gene from the microalga *Chlorella ellipsoidea*. BMC Plant Biology, 2017, 17 (1): 48
- [21] Hernández M L, Whitehead L, He Z, Gazda V, Gilday A, Kozhevnikova E, Vaistij F E, Larson T R, Graham L A. A cytosolic acyltransferase contributes to triacylglycerol synthesis in sucrose-rescued Arabidopsis seed oil catabolism mutants. Plant Physiology, 2012, 160 (1): 215-225

- [22] 郭兵. 两株海洋微藻中 $\Delta 4$ -脂肪酸去饱和酶基因和 $\Delta 5$ -脂肪酸延长酶基因的克隆以及功能验证. 北京: 中国农业科学院, 2011
Guo B. Cloning and functional characterization of $\Delta 4$ -fatty acid desaturase gene and $\Delta 5$ -fatty acid elongase gene from two marine microalgae. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2011
- [23] 陈丹, 俞滢, 岳川, 王鹏杰, 陈静, 陈桂信, 叶乃兴. 茶树 $\Delta 12$ -脂肪酸去饱和酶基因 FAD2 和 FAD6 的克隆与表达分析. 茶叶科学 2017, 37(6): 541-550
Chen D, Yu Y, Yue C, Wang P J, Chen J, Chen G X, Ye N X. Cloning and expression analysis of $\Delta 12$ -fatty acid desaturase in tea plants. Journal of Tea Science, 2017, 37(6): 541-550
- [24] 王海波, 郭俊云, 刘潮, 高永. 麻风树脂脂肪酸去饱和酶 7 基因的克隆及生物信息学分析. 江苏农业科学, 2017, 45(2): 31-35
Wang H B, Guo J Y, Liu C, Gao Y. Cloning and bioinformatics analysis of *Jatropha* fatty acid desaturase 7 gene. Jiangsu Agricultural Science, 2017, 45(2): 31-35
- [25] 阮建, 单雷, 李新国, 郭峰, 孟静静, 万书波, 彭振英. 花生 FAD 基因家族的全基因组鉴定与表达模式分析. 山东农业科学, 2018, 50(6): 1-9
Ruan J, Shan L, Li X G, Guo F, Meng J J, Wan S B, Peng Z Y. Genome-wide identification and expression pattern analysis of Peanut FAD gene family. Shandong Agricultural Sciences, 2018, 50(6): 1-9
- [26] Xue Y, Chen B, Wang R, Win A N, Li J, Chai Y. Genome-wide survey and characterization of fatty acid desaturase gene family in *Brassica napus* and its parental species. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2018, 184(2): 582-598
- [27] 陈书琪. 四种油料作物油脂基因的鉴定及其种子发育不同时期的比较转录组分析. 南京: 南京农业大学, 2016
Chen S Q. Identification of oil genes in four oil crops and comparative transcriptome analysis of seed development in different periods. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2016
- [28] Chi X Y, Yang Q L, Lu Y D, Wang J Y, Zhang Q F, Pan L J, Chen M N, He Y A, Yu S L. Genome-wide analysis of fatty acid desaturases in soybean (*Glycine max*). Plant Molecular Biology Reporter, 2011, 29(4): 769-783
- [29] Muñoz-Mérida A I, González-Plaza J J, Cañada A, Blanco A M, García-López M del C, Rodríguez J M, Pedrola L, Sicardo M D, Hernández M L, De la Rosa R, Belaj A, Gil-Borja M, Luque F, Martínez-Rivas J M, Pisano D G, Trelles O, Valpuesta V, Beuzón C R. De Novo assembly and functional annotation of the Olive (*Olea europaea*) transcriptome. DNA Research, 2013, 20(1): 93-108
- [30] 官玲亮, 侯凯, 陈郡雯, 徐应文, 吴卫. ω -6 和 ω -3 脂肪酸脱氢酶家族系统进化与功能分化. 遗传, 2013, 35(5): 643-654
Guan L L, Hou K, Chen J W, Xu Y W, Wu W. Phylogenetic and functional differentiation of the omega-6 and omega-3 fatty acid dehydrogenase families. Hereditas, 2013, 35(5): 643-654
- [31] Berberich T, Harada M, Sugawara H, Iba K, Kusano T. Two maize genes encoding omega-3 fatty acid desaturase and their differential expression to temperature. Plant Molecular Biology, 1998, 36(2): 297-306
- [32] 于海峰, 韩平安, 李美娜, 陈阜, 郭树春, 李素萍, 张艳芳, 赵建军, 闫明霞. 基于 RNA-Seq 技术的向日葵油酸形成的转录组学分析. 中国油料作物学报, 2018, 40(6): 769-776
Yu H F, Han P A, Li M N, Chen H, Guo S C, Li S P, Zhang Y F, Zhao J J, Yan M X. Transcriptomic analysis of Sunflower oleic acid formation based on RNA-Seq technology. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2018, 40(6): 769-776
- [33] 江南, 谭晓风, 张琳, 曾艳玲. 基于 RNA-Seq 的油茶种子 α -亚麻酸代谢途径及相关基因分析. 林业科学, 2014, 50(8): 68-75
Jiang N, Tan X F, Zhang L, Zeng Y L. Analysis of α -linolenic acid metabolism pathway and related genes in *Camellia oleifera* seeds based on RNA-Seq. Scientia Silvae Sinicae, 2014, 50(8): 68-75
- [34] 林萍, 曹永庆, 姚小华, 王开良, 滕建华. 普通油茶种子 4 个发育时期的转录组分析. 分子植物育种, 2011, 9(4): 498-505
Lin P, Cao Y Q, Yao X H, Wang K L, Teng J H. Transcriptome analysis of four developmental stages of common *Camellia oleifera* seeds. Molecular Plant Breeding, 2011, 9(4): 498-505
- [35] 董昂, 赵国森, 胡欢欢, 陈文充, 叶生月. 山核桃 (*Carya cathayensis*) 种子生长发育过程转录组的初步分析. 分子植物育种, 2018, 16(12): 3844-3854
Dong A, Zhao G M, Hu H H, Chen W C, Ye S Y. Preliminary analysis of the transcriptome of the growth and development of pecan (*Carya cathayensis*) seeds. Molecular Plant Breeding, 2018, 16(12): 3844-3854
- [36] 黄春颖. 山核桃油脂合成基因家族分析及候选基因功能验证. 杭州: 浙江农林大学, 2017
Huang C Y. Family analysis of Pecan oil synthetic genes and functional verification of candidate genes. Hangzhou: Zhejiang Agriculture and Forestry University, 2017
- [37] Wang L H, Yu S, Tong C B, Zhao Y Z, Liu Y, Song C, Zhang Y X, Zhang X D, Wang Y, Hua W, Li D H, Li F, Yu J Y, Liu S Y. Genome sequencing of the high oil crop sesame provides insight into oil biosynthesis. Genome Biology, 2014, 15: 39
- [38] Liao B N, Hao Y J, Lu J X, Bai H Y, Li G, Zhan T. Transcriptomic analysis of perilla frutescens seed to insight into the biosynthesis and metabolic of unsaturated fatty acids. BMC Genomics, 2018, 19: 213
- [39] You F M, Li P C, Kumar S, Ragupathy R, Li Z H, Fu Y B, Cloutier S. Genome-wide identification and characterization of the gene families controlling fatty acid biosynthesis in flax (*Linum usitatissimum* L.). Journal of Proteomics & Bioinformatics, 2014, 7(10): 310
- [40] 冯延芝. 杜仲种仁转录组测序及 FAD3 基因的鉴定与功能研究. 北京: 中国林业科学研究院, 2016
Feng Y Z. Transcriptome sequencing and study on FAD3 gene identification and function in *Eucommia ulmides* Oliv. Beijing: Chinese Academy of Forestry, 2016
- [41] 于蕊. 紫斑牡丹种子 α -亚麻酸合成相关基因克隆与功能验证. 杨凌: 西北农林科技大学, 2018
Yu R. Cloning and functional verification of α -linolenic acid synthesis related genes in purple Peony seeds. Yangling: Northwest A&F University, 2018
- [42] Li S S, Wang L S, Shu Q Y, Wu J, Chen L G, Shao S, Yin D D. Fatty acid composition of developing tree peony (*Paeonia section Moutan* DC.) seeds and transcriptome analysis during seed development. BMC Genomics, 2015, 16: 208
- [43] Hu X D, Pan B Z, Fu Q T, Niu L J, Chen M S, Xu Z F. De novo transcriptome assembly of the eight major organs of *Sacha Inchi* (*Plukenetia volubilis*) and the identification of genes involved in α -linolenic acid metabolism. BMC Genomics,

- 2018, 19: 380
- [44] Abdullah H M, Akbari P, Paulose B, Schnell D, Qi W, Park Y, Pareek A, Dhankher O P. Transcriptome profiling of camelina sativa to identify genes involved in triacylglycerol biosynthesis and accumulation in the developing seeds. *Biotechnology for Biofuels*, 2016, 9: 136
- [45] Wu P Z, Zhang S, Zhang L, Chen Y P, Li M, Jiang H W, Wu G J. Functional characterization of two microsomal fatty acid desaturases from *Jatropha curcas* L. *Journal of Plant Physiology*, 2013, 170(15): 1360-1366
- [46] Xue Y F, Chen B J, Win A N, Fu C, Lian J P, Liu X, Wang R, Zhang X C, Chai Y R. Omega-3 fatty acid desaturase gene family from two ω -3 sources, *Salvia hispanica* and *Perilla frutescens*: Cloning, characterization and expression. *PLoS One*, 2018, 13(1): e0191432
- [47] Roman A, Andreu V, Hernandez M L, Lagunas B, Picorel R, Martinez-Rivas J M. Contribution of the different omega-3 fatty acid desaturase genes to the cold response in soybean. *Journal Experimental Botany*, 2012, 63: 4973-4982
- [48] Guan L L, Wu W, Hu B, Li D, Chen W, Hou K, Wang L. Developmental and growth temperature regulation of omega-3 fatty acid desaturase genes in safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *Genetic Molecular Research*, 2014, 13: 6623-6637
- [49] Wu P Z, Zhang S, Zhang L, Chen Y P, Li M R, Jiang H W, Wu G J. Functional characterization of two microsomal fatty acid desaturases from *Jatropha curcas* L.. *Journal of Plant Physiology*, 2013, 170(15): 1360-1366
- [50] Bhunia R K, Chakraborty A, Kaur R, Gayatri T, Bhattacharyya J, Basu A, Maiti M K, Sen S K. Seed-specific increased expression of 2S albumin promoter of sesame qualifies it as a useful genetic tool for fatty acid metabolic engineering and related transgenic intervention in sesame and other oil seed crops. *Plant Molecular Biology*, 2014, 86(4-5): 351-365
- [51] Zhou Z, Wang M J, Hu J J, Lu M Z, Wang J H. Improve freezing tolerance in transgenic poplar by overexpressing a ω -3 fatty acid desaturase gene. *Molecular Breeding*, 2010, 25(4): 571-579
- [52] Yu C, Wang H S, Yang S, Tang X F, Duan M, Qing W M. Overexpression of endoplasmic reticulum omega-3 fatty acid desaturase gene improves chilling tolerance in tomato. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2009, 47(11): 1102-1112
- [53] Chumphukam O, Pintha K, Khanaree C, Tantipaiboonwong P, Chaiwangyen W, Tipsuwan W, Roytrakul S, Suttajit M, Topanurak K. Alpha-Linolenic acid content and expression of KASII and FAD3 in perilla seeds correlated cultivated areas of Northern Thailand. *Preprints*, 2018, DOI: 10.20944/preprints201808.0439.v1
- [54] Cermac A, Benning C. WRINKLED1 encodes an AP2/EREB domain protein involved in the control of storage compound biosynthesis in Arabidopsis. *The Plant Journal*, 2004, 40(4): 575-585
- [55] Kim M J, Jang I C, Chua N H. The mediator complex MED15 subunit mediates activation of downstream lipid-related genes by the WRINKLED1 transcription factor. *Plant Physiology*, 2016, 171(3): 1951-1964
- [56] Liu J, Hua W, Zhan G, Wei F, Wang X, Liu G, Wang H. Increasing seed mass and oil content in transgenic Arabidopsis by the overexpression of wril1-like gene from *Brassica napus*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2010(48): 9-15
- [57] Pouvreau B, Baud S, Vernoud V, Morin V, Py C, Gendrot G, Pichon J P, Rouster J, Paul W, Rogowsky P M. Duplicate maize Wrinkled1 transcription factors activate target genes involved in seed oil biosynthesis. *Plant Physiology*, 2011, 156(2): 674-686
- [58] An D, Suh M C. Overexpression of Arabidopsis WR11 enhanced seed mass and storage oil content in *Camelina sativa*. *Plant Biotechnology Reports*, 2015, 9(3): 137-148
- [59] Malik S, Roeder R G. The metazoan Mediator co-activator complex as an integrative hub for transcriptional regulation. *Nature Reviews Genetics*, 2010, 11: 761-772
- [60] Kanai M, Mano S, Kondo M, Hayashi M, Nishimura M. Extension of oil biosynthesis during the mid-phase of seed development enhances oil content in Arabidopsis seeds. *Plant Biotechnology Journal*, 2016, 14(5): 1241-1250
- [61] Zhang T Y, Song C, Song L, Shang Z W, Yang S, Zhang D, Sun W, Shen Q, Zhao D G. RNA Sequencing and coexpression analysis reveal key genes involved in α -linolenic acid biosynthesis in *Perilla frutescens* seed. *International Journal of Molecular Sciences*, 2017, 18(11): 2433
- [62] Mu J, Tan H, Zheng Q, Fu F, Liang Y, Zhang J, Yang X, Wang T, Chong K, Wang X J, Zuo J. LEAFY COTYLEDON1 is a key regulator of fatty acid biosynthesis in Arabidopsis. *Plant Physiology*, 2008, 148(2): 1042-1054
- [63] 侯路. 植物转录因子 LEC1 研究进展. *现代农业科技*, 2010(8): 34-35
- Hou L. Advances in research on plant transcription factor LEC1. *Modern Agricultural Technology*, 2010(8): 34-35
- [64] Santos M M, Dubreucq B, Miquel M, Caboche M, Lepiniec L. LEAFY COTYLEDON 2 activation is sufficient to trigger the accumulation of oil and seed specific mRNAs in Arabidopsis leaves. *Febs Letters*, 2005, 579(21): 4666-4670
- [65] 李玉兰, 孙勤富, 王幼平. 植物油脂合成的转录调控研究进展. *分子植物育种*, 2016, 14(9): 2509-2518
- Li Y L, Sun Q F, Wang Y P. Research advance in transcriptional regulation of lipid synthesis and accumulation in plant. *Molecular Plant Breeding*, 2016, 14(9): 2509-2518
- [66] Ji X, Liu G, Liu Y, Zheng L, Nie X, Wang Y. The bZIP protein from *Tamarix hispida*, ThbZIP1, is ACGT elements binding factor that enhances abiotic stress signaling in transgenic Arabidopsis. *BMC Plant Biology*, 2013, 13(3): 1-13
- [67] Mendes A, Kelly A A, van Erp H, Shaw E, Powers S J, Kurup S, Eastmond P J. bZIP67 regulates the Omega-3 fatty acid content of Arabidopsis seed oil by activating fatty acid desaturase3. *The Plant Cell*, 2013, 25(8): 3104-3016
- [68] 廖晓佳, 王晓娟, 王彬, 刘爱忠. 星油藤关键酶基因 PvFAD3 启动子的克隆及表达激活分析. *植物生理学报*, 2017, 53(1): 79-88
- Liao X J, Wang X J, Wang B, Liu A Z. Cloning of the promoter of the key enzyme gene PvFAD3 from *Sacha Inchi* and its transcriptional activation analyses. *Plant Physiology Journal*, 2017, 53(1): 79-88
- [69] 罗军玲, 赵娜, 卢长明. 植物 Trihelix 转录因子家族研究进展. *遗传*, 2012, 34(12): 1551-1560
- Luo J L, Zhao N, Lu C M. Plant trihelix transcription factors family. *Hereditas*, 2012, 34(12): 1551-1560