

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2013.01352

植物 *GPATs* 基因研究进展

刘聪¹, 肖旦望¹, 施春霖¹, 胡学芳¹, 邬克彬¹, 官春云^{1,2}, 熊兴华^{1,2}

1. 湖南农业大学作物基因工程湖南省重点实验室, 长沙 410128;
2. 湖南农业大学国家油料改良中心湖南分中心, 长沙 410128

摘要: 甘油-3-磷酸酰基转移酶(Glycerol-3-phosphate acyltransferase, GPAT)是三酰甘油(Triacylglycerol, TAG)生物合成的限速酶, 催化 TAG 生物合成的起始步骤。GPATs 主要负责将脂肪酰基从酰基-酰基载体蛋白(acyl-ACP)或酰基辅酶 A(acyl-CoA)上转移到甘油-3-磷酸的(Glycerol-3-phosphate, G3P) sn-1 位置上。有些成员还具有 sn-2 酰基转移活性。目前已经在多种植物中克隆得到了 *GPAT* 基因。这些 *GPAT* 基因编码的酶主要分为三类, 它们在细胞中分别定位于质体、线粒体和内质网上。这些酶参与三酰甘油、几丁质和软木脂等多种脂质的生物合成, 在植物的生长发育中发挥着非常重要的作用。文章介绍了植物 *GPAT* 基因的染色体定位和基因结构以及 GPAT 酶的亚细胞定位、sn-2 酰基转移特异性、GPAT 酶的底物选择性及其生理功能的最新研究进展。

关键词: *GPAT* 基因; 底物选择性; sn-2 特异性; GPAT 功能

sn-glycerol-3-phosphate acyltransferases (GPATs) in plants

LIU Cong¹, XIAO Dan-Wang¹, SHI Chun-Lin¹, HU Xue-Fang¹, WU Ke-Bin¹, GUAN Chun-Yun^{1,2}, XIONG Xing-Hua^{1,2}

1. Crop Gene Engineering Key Laboratory of Hunan Province, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China;
2. Hunan Branch of National Oilseed Crops Improvement Centre, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China

Abstract: sn-glycerol-3-phosphate acyltransferase (GPAT) catalyzes the acylation at sn-1 position of glycerol-3-phosphate to produce lysophosphatidic acid (LPA) in an acyl-CoA or acyl-ACP-dependent manner, which is the initial and rate-determining step of TAG biosynthetic pathway. Some GPATs have sn-2 transfer activity. Part members of the *GPAT* gene family have been cloned from different plant species. Based on their subcellular localizations, GPATs can be classified into three types, plastid GPATs, mitochondria GPATs and endoplasmic reticulum GPATs. GPATs exhibit diverse biochemical properties and are involved in synthesis of several lipids such as TAG, suberin, and cutin which play important roles in the growth and development of plants. This review summarized the current understanding of the chromosomal locus and gene structure of *GPAT* genes and the subcellular localization, sn-2 regiospecificity, substrates specialty, and functions of GPATs in plants.

Keywords: *GPAT* genes; substrates specificity; sn-2 regiospecificity; GPATs function

收稿日期: 2013-06-03; 修回日期: 2013-09-09

基金项目: 国家高技术研究发展计划(“863”计划)项目(编号: 2012AA101107-3)和湖南省科技厅项目(编号: 06FJ4264, 07RS4014)资助

作者简介: 刘聪, 硕士, 专业方向: 油菜分子生物学。E-mail: 787600117@qq.com

通讯作者: 熊兴华, 博士, 副研究员, 硕士生导师, 研究方向: 油菜分子生物学。E-mail: xiongene@yahoo.com

网络出版时间: 2013-9-12 0:57:05

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20130912.0057.002.html>

GPAT是三酰甘油生物合成的限速酶^[1], 主要将酰基从acyl-ACP或acyl-CoA(定位于质体的GPAT酶以acyl-ACP为酰基供体, 定位于内质网和线粒体的GPAT酶以acyl-CoA为酰基供体)^[2]转移到G3P的sn-1位置上形成溶血磷脂酸(Lysophosphatidic acid, LPA)^[2-4]。溶血磷脂酸和acyl-CoA在溶血磷脂酸酰基转移酶的作用下形成磷脂酸(Phosphatidic acid, PA)^[5]。在磷脂酸磷酸酶的作用下, PA脱去磷酸基团形成二酰甘油(Diacylglycerol, DAG), 经二酰甘油酰基转移酶(Diacylglycerol acyltransferase, DGAT)的催化作用产生三酰甘油^[6]。三酰甘油可作为一种终产物在植物的特定组织中储存, 亦可作为软木脂、几丁质, 脂蛋白等生物合成的底物。研究表明GPAT酶不仅参与TAG生物合成的起始步骤, 而且具有磷酸酶活性^[7,8]。此外, GPAT家族中有些成员具有酰基转移sn-2位点特异性^[7,8]。

1 植物 GPAT 基因家族成员

GPAT基因已经在多种植物如拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)^[9-12]、豌豆(*Pisum sativum*)南瓜(*Cucurbita moschata*)^[13-15]、菠菜(*Spinacia oleracea*)^[16,17]、番茄(*Lycopersicon esculentum*)^[18]、蓝蓟(*Echium vulgare*)^[19]、油桐(*Jatropha curcas*)^[20]、向日葵(*Helianthus annuus*)^[21]、水稻(*Oryza Sativa*)^[22]和阔叶独行菜(*Lepidium latifolium*)^[1]中被克隆。目前已知拟南芥中有 10 个GPAT基因家族成员, 分别命名为ATS1、AtGPAT1、AtGPAT2、AtGPAT3、AtGPAT4、AtGPAT5、AtGPAT6、AtGPAT7、AtGPAT8和AtGPAT9。根据酶的亚细胞定位不同可将拟南芥GPAT基因家族成员分为 3 类, 分别为质体GPAT(ATS1)^[8]、线粒体GPAT(AtGPAT1/2/3)^[12]和内质网GPAT(AtGPAT4/5/6/7/8/9)^[9,10]。从GenBank中搜索到拟南芥、甘蓝型油菜、菠菜、红花和人类的GPATs氨基酸序列并进行系统进化树分析(图 1), 可以看出定位于质体的ATS1酶与菠菜SoGPAT和红花的质体CtpGPAT蛋白归为一类; 定位于拟南芥线粒体的AtGPAT1、AtGPAT2和AtGPAT3属于同一个分支; AtGPAT4/5/6/7/8相似度较高, 在进化距离上较近; AtGPAT9与定位于人类线粒体的HsGPAT更接近。根据系统进化树, 推测定位于质体的ATS1首先从家族中分化出来, 其次是AtGPAT9, 再次是定位于线粒体的

AtGPAT1/2/3, 最后是AtGPAT5/7, AtGPAT4/6/8可能是与祖先基因最接近的成员。

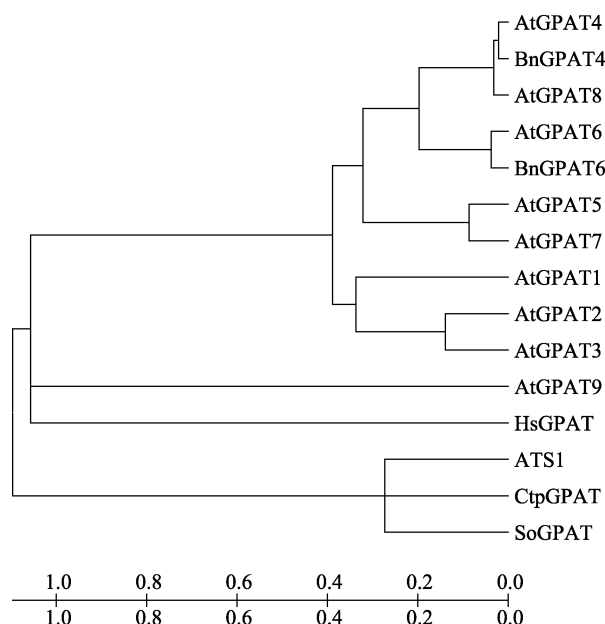


图 1 GPATs 氨基酸序列进化树

应用 mega5.0 ClustalW 对拟南芥 GPAT 基因家族成员 ATS1~AtGPAT9、甘蓝型油菜 BnGPAT4 和 BnGPAT6、红花 CtpGPAT、菠菜 SoGPAT 和人类 HsGPAT 的多肽序列进行系统进化树分析。

通过对拟南芥的GPAT蛋白保守结构域查找(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/lexington/lexington.cgi?cmd=rps>)和比较发现, 拟南芥GPAT基因家族中每个成员都具有酰基转移酶活性结构域, AtGPAT4/6/8具有类似卤酸脱卤酶(Haloacid dehalogenase-like hydrolase, HAD-like)结构域。对酰基转移酶活性位点进行比较, 发现拟南芥GPATs都拥有非常保守的motif -HXXXXD。其中GPAT1/2/3的motif完全一样, GPAT4-GPAT8的motif基本一致, ATS1和AtGPAT9与其他成员的motif差别较大。此外, ATS1拥有4个motifs, 而家族中其他成员只有3个。从拟南芥GPATs motifs的比较(表 1)可以看出, AtGPAT1-8的motif / 非常保守, 而ATS1和AtGPAT9的motif / 与其他成员的差别很大。

2 拟南芥 GPAT 基因结构及染色体定位

拟南芥GPAT基因家族中 10 个成员的大小和结构不尽相同(表 2)。其基因组DNA长度分别为 2 779 bp、1 898 bp、2 243 bp、2 114 bp、2 306 bp、1 768 bp、

表 1 拟南芥 GPATs 的 motifs 和活性位点

蛋白	Motif	Motif	Motif	Motif
ATS1	HQSEAD	KCVAGDRV	CVYSKKH	IWIAPSGGRDRP
AtGPAT1	HRTLLD	VTYSLSKF	CPEGTTC	
AtGPAT2	HRTLLD	VTYSLSRL	CPEGTTC	
AtGPAT3	HRTLLD	VTYSLSRV	CPEGTTC	
AtGPAT4	HRTALLD	VTYSVSRL	CPEGTTC	
AtGPAT5	HRTLMD	VTYISRL	CPEGTTC	
AtGPAT6	HRTVLD	VTYISKF	CPEGTTC	
AtGPAT7	HRTLMD	VTYISRL	YPEGTTC	
AtGPAT8	HRTALLD	VTYSVSRL	CPEGTTC	
AtGPAT9	HTSMID	FAVIMQKH	FPEGTCV	

注 :表中带 的残基为溶血磷脂酰基转移酶 (Lysophospholipid acyltransferase, LPLAT) 超家族所必须的残基, 灰色背景的残基为拟南芥各 GPATs 的活性位点, 各成员活性位点的具体位置分别为 : ATS1 (229,232,234,258~261,283~284,323~325,327), AtGPAT1(403,406,408,427~430,468~470), AtGPAT2(339,342,344,364~367,405~407), AtGPAT3(334,337,339,359~362,400~402), AtGPAT4 (311,314,316,335~338,376~378), AtGPAT5(300,303,305,324~327,365~367),AtGPAT6 (313,316,318,337~340,378~380), AtGPAT7(298,301,303,322~325,363~365), AtGPAT8 (310,313,315,334~337,375~377), AtGPAT9(171,174,176,190~193,246~248)。

2 549 bp、1 617 bp、2 423 bp和 2 382 bp, 其编码区长度分别为 1 380 bp、1 758 bp、1 593 bp、1 563 bp、1 512 bp、1 509 bp、1 506 bp、1 503 bp、1 503 bp、和 1 131 bp, 分别编码 459、585、530、520、503、502、501、500、500 和 376 个氨基酸。*ATS1* 和 *AtGPAT9* 基因均有 12 个外显子和 11 个内含子, *AtGPAT1*、*AtGPAT2*、*AtGPAT3*、*AtGPAT5*、*AtGPAT6* 和 *AtGPAAT7* 基因只有 2 个外显子和 1 个内含子, *AtGPAT4* 和 *AtGPAT8* 基因均有 4 个外显子和 3 个内含子。10 个 GPAT 基因的内含子和外显子的具体位置如图 2 所示。

拟南芥 *GPAT* 基因家族成员遍布 5 条染色体(表 2)。*ATS1*、*AtGPAT1*、*AtGPAT2* 和 *AtGPAT4* 位于拟南芥 1 号染色体上; *AtGPAT5* 和 *AtGPAT6* 分别位于 3 号染色体和 2 号染色体上; *AtGPAT3* 和 *AtGPAT8* 位于 4 号染色体上; *AtGAPT7* 和 *AtGPAT9* 位于 5 号染色体上。

3 酰基转移 sn-2 位特异性

为了区分 GPAT 酶的区域特异性, 生化分子生物学国际联合酶学命名委员会为 sn-2 特异性 GPAT 酶指定了一个新的 EC 编号——EC2.3.1.198。最初研究发现 GPAT 酶只具有将 Acyl-CoA 的酰基转移到 G3P 的 sn-1 号位上形成 LPA [2, 3, 10, 23, 24]。最近研究表明, GPAT 酶能将 Acyl-CoA 的酰基转移到 G3P 的 sn-2 位置上, 产生 sn-2 LPA 或 sn-2-单酰甘油(sn-2 monoacyl-

glycerol sn-2 MAG) [7, 8]。目前, 具有这一特性的 GPAT 酶只在陆生植物中被发现。因此, 这一类酶又命名为陆生植物特异性 GPATs。

AtGPAT1-8 都可能具有 sn-2 酰基转移活性, 其中 AtGPAT1、AtGPAT5、AtGPAT7 酶促反应产物主要为 sn-2 LPA; AtGPAT4、AtGPAT6、AtGPAT8 的产物则主要是 sn-2 MAG, 这是 AtGPAT4/6/8 具有磷酸酶活性的缘故。虽然没有直接的证据证明 AtGPAT2 和 AtGPAT3 是否有 sn-2 酰基转移活性, 但通过蛋白质结构模型和活性位点序列比对预测 AtGPAT2 和 AtGPAT3 也有 sn-2 酰基转移特性 [7, 8]。由于 sn-2 产物比 sn-1 产物的热力学稳定性低, 因此, 植物体内 sn-1 酰基产物比 sn-2 产物多 3 倍。至于 sn-2 区域特异性生物合成是否能够赋予聚酯独特的性能优势? 或者 sn-2 单体能为聚酯提供识别信号使其进入特定的运输途径或聚集场所? 或者仅仅是因为与 sn-1 酰基化合物不同而进入不同的代谢途径? 这些问题都有待于进一步通过生物化学和细胞生物学研究来 解答。

4 GPAT 酶的底物选择性

研究表明低温敏感型植物的质体 GPAT 酶具有棕榈酰-ACP(C16:1-ACP)底物偏好性, 而耐低温植物质体 GPAT 酶的底物以油酰-ACP 为主 [13, 16, 18, 22]。AtGPAT1/2/3 能利用 C16 到 C24 的大部分 Acyl-CoAs

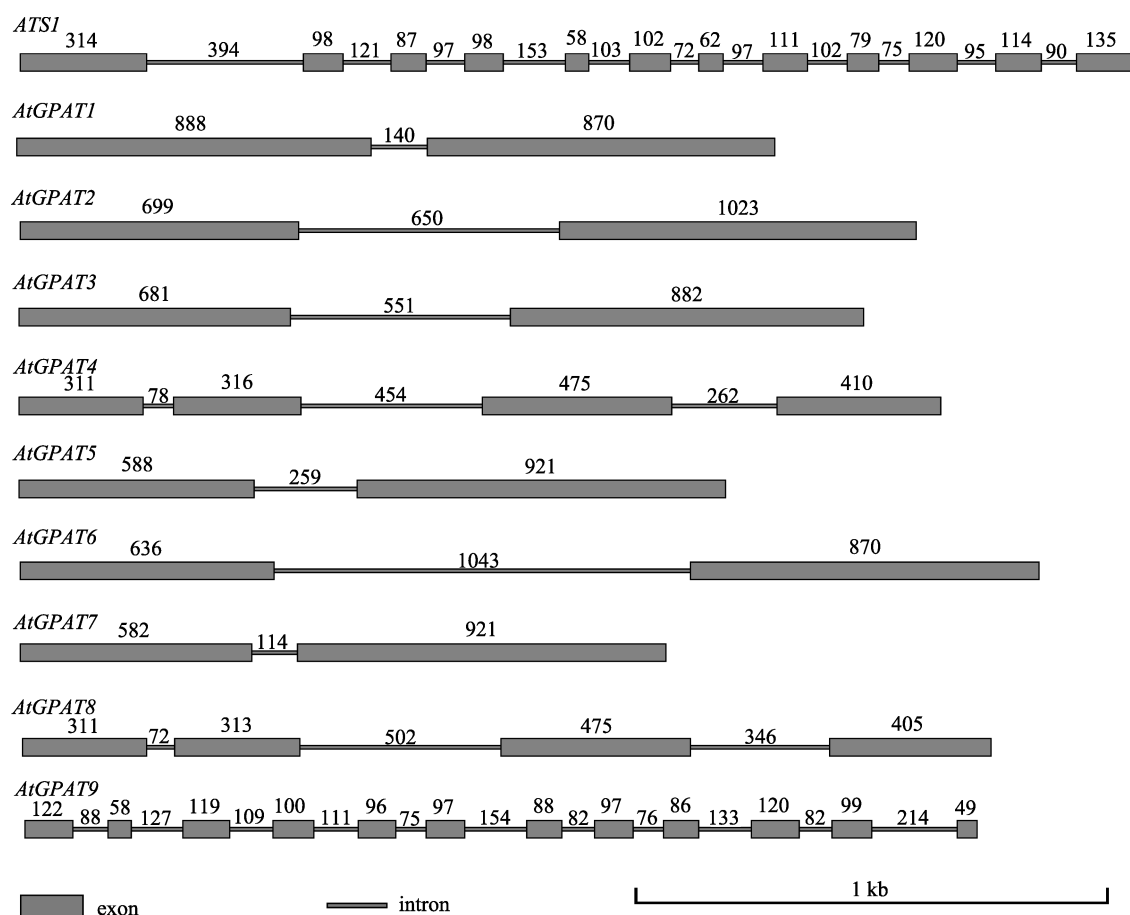


图 2 拟南芥 *GPAT* 基因家族成员基因结构图

表 2 拟南芥 *GPAT* 基因、编码区和蛋白质序列长度及外显子、内含子数目和染色体定位

基因	基因长度(bp)	编码区长度(bp)	蛋白长度(aa)	外显子数目	内含子数目	染色体定位
<i>ATSI</i>	2779	1380	459	12	11	A1
<i>AtGPAT1</i>	1898	1758	585	2	1	A1
<i>AtGPAT2</i>	2243	1593	530	2	1	A1
<i>AtGPAT3</i>	2114	1563	520	2	1	A4
<i>AtGPAT4</i>	2306	1512	503	4	3	A1
<i>AtGPAT5</i>	1768	1509	502	2	1	A3
<i>AtGPAT6</i>	2549	1506	501	2	1	A2
<i>AtGPAT7</i>	1617	1503	500	2	1	A5
<i>AtGPAT8</i>	2423	1503	500	4	3	A4
<i>AtGPAT9</i>	2382	1131	376	12	11	A5

作为底物，其中 *AtGPAT2* 和 *AtGPAT3* 不能利用 C16:0、C16:1、C18:0、C18:1 和 C20:1 Acyl-CoA^[8,12]，而 *AtGPAT1* 对 C20:0 Acyl-CoA 的偏好最强，对 C22:0 α 、 ω -二羧酸($\alpha\omega$ -dicarboxylic acid, DCA) Acyl-CoA 的利用率与 C20:0 CoA 相同。*AtGPAT4* 和 *AtGPAT8* 能利用 C16~C22 Acyl-CoAs，对 C16:0、

C18:1 DCA Acyl-CoAs 和 C18 ω -羟基脂肪酸(ω -hydroxy fatty, acid, ω -OHFA) Acyl-CoA 的活性比 C16:0、C18:1、C18:0、C20:0、C22:0 Acyl-CoAs 高近 10 倍，但 *AtGPAT4* 和 *AtGPAT8* 几乎不能利用碳链长于 18 的 DCA Acyl-CoAs^[8]。在拟南芥中 *AtGPAT4* 和 *AtGPAT8* 参与茎和叶中 C16 和 C18 ω

-OHFA和 α , ω -DCA几丁质单体的积累^[25]。甘蓝型油菜BnGPAT4对棕榈酸的活性比较高^[26]。AtGPAT6在花中大量表达^[11, 12], 主要负责将10,16-二羟基棕榈酸(10,16-dihydroxypalmitate, 10,16-diOHC16:0-FA)、十六烷-1,16-二酸(Hexadecane-1,16-dioic acid, C16:0-DCA)、16-羟基棕榈酸(16-hydroxypalmitate (16-OH C16:0-FA))转移到G-3-P上。在拟南芥花中, 10,16-diOH C16:0-FA-CoA占Acyl-CoA的绝大部分, 16-OH C16:0-FA-CoA所占的比例很小^[27], 但AtGPAT6对底物16-OH C16:0-FA-CoA的活性比10,16-diOH C16:0-FA-CoA高^[8]。总之, AtGPAT6对C16和C18Acyl-CoA的活性比其他长度的Acyl-CoA底物的活性高, 与经修饰(如 ω -氧化或 ω -羟基)的底物的活性比未经修饰的底物活性高^[8]。AtGPAT5为拟南芥根和种皮软木脂的合成提供C22和C24 ω -羟基脂肪酸和二酸单酰甘油^[28]。AtGPAT5能利用多种底物, 但对C22:0-CoA的偏好性最强, 对C22:0 DCA-CoA和22-OH C22:0的偏好性次之, 对未修饰Acyl-CoA的选择性比羟基化和羧基化的底物强。AtGPAT7的底物选择性与AtGPAT5基本一致^[8]。对7种海藻和3种高等植物GPAT蛋白序列进行序列比对和结构分析发现, 这些物种GPAT酶存在共同的由14个 α -螺旋和9个 β -折叠组成的保守区域, 其中某些氨基酸残基的变化可能影响GPAT酶的底物选择性^[29]。

5 植物 GPAT 基因的生理功能

虽然 GPAT 基因家族成员并不多, 但是由于 GPAT 酶的底物选择性和酰基转移位点特异性, 为多种脂质合成提供了底物。因此 GPAT 基因表现出多种生理功能, 在植物的生长发育中发挥着重要的作用。

5.1 GPAT 基因与植物的育性的关系

在拟南芥花粉发育阶段, AtGPAT6 在绒毡层和小孢子中大量表达。拟南芥 *atgp6* 突变体的绒毡层细胞内质网数量明显减少, 花粉败育, 花粉壁缺陷^[11]。此外, 突变体的花粉萌发和花粉管的伸长也受到影响, 使雌配子受精受到阻碍^[11]。研究表明, AtGPAT6 和 AtGPAT1^[12] 共同影响拟南芥的结实率。 *atgp1/atgp6* 双突变体会导致小孢子的释放和雄

蕊长纤丝的伸长受阻, 从而减小授粉概率降低结实率^[11]。

5.2 GPAT 基因与植物抗逆性的关系

5.2.1 GPAT 基因与植物抗低温的关系

1999 年杨明等^[30]在比较南瓜(*Cucurbita moschata*)与黑子南瓜(*Cucurbita ficifolia*) GPAT 酶的氨基酸序列时发现他们之间有 13 个氨基酸残基的差异, 并且在其中 3 个位点上, 黑子南瓜的 GPAT 氨基酸残基与拟南芥、菠菜、豌豆等抗冷性植物一致, 推测这 3 个氨基酸残基可能与植物的底物选择性和抗冷性有关。2000 年刘继梅等^[31]对不同抗冷性水稻品种 GPAT 保守氨基酸区域研究发现其中 3 个不同位点的脯氨酸替换与水稻抗冷性相关。磷脂是生物膜的主要成分, 根据主链结构分为磷酸甘油酯(Phosphoglycerides, PG)和鞘磷脂鞘磷脂(Sphingomyelin, SM)。PG 饱和度的改变影响类囊体膜脂和膜蛋白接界面的动力学活性^[32], 而质体 GPAT 酶的底物选择性能改变类囊体膜 PG 的饱和度。抗低温能力强的植物如拟南芥^[33]、菠菜^[13, 34]、桃^[34, 35]等质体 GPAT 酶对顺 9-十八碳烯酸(油酸)的亲合力比较强^[36]。抗低温能力弱的植物(如野苋菜、南瓜)质体 GPAT 酶偏好于饱和脂肪酸^[13]。对烟草转基因研究发现, 将拟南芥的质体 GPAT 基因的 cDNA 转入烟草中超表达能提高其低温抗性, 而将编码南瓜质体 GPAT 酶的 cDNA 转入烟草中超表达降低了烟草的抗寒能力^[32]。然而, 并非所有的低温敏感植物的质体 GPAT 酶都是棕榈酸偏好型的。Sui 等^[18]从番茄中克隆得到 *LeGPAT* 基因, 番茄为低温敏感型植物, 但 *LeGPAT* 酶却具有油酸偏好性。通过在番茄中超表达 *LeGPAT* 基因, 提高了其抗低温能力。

在对水稻叶绿体类囊体膜磷脂分子的研究发现, 含不饱和 PG 高的水稻品种 J9516 在低温条件下植物 PS 反应中心 D1 蛋白的含量稳定, 对低温诱导的光抑制有耐性。相反, 含不饱和 PG 低的水稻品种 i-SY63 在低温条件下类囊体膜 D1 蛋白含量不稳定, 对低温诱导的光抑制敏感。不饱和 PG 含量在这两者之间的水稻品种 ji95SY 表现出中等程度的低温诱导光抑制敏感性^[22]。

5.2.2 GPAT 基因与植物耐高温的关系

与抗低温植物相反, 耐高温植物的质体 GPAT 酶

能提高类囊体膜脂的饱和度。Yan 等^[37]将甜椒的 GPAT 基因转入烟草中, 转基因烟草在高温下, 其类囊体膜上单半乳糖基二脂酰甘油(Monogalactosyldiacylglycerol, MGDG)、硫代异鼠李糖甘油二酯(Sulfoquinovosyl-diacylglycerol, SQDG)、二半乳糖基甘油二酯(Digalactosyldiacylglycerol, DGD)和 PG 的饱和程度普遍增加, 尤其是 MGDG 增加显著。随着温度升高, 转基因植株光合速率的降低要慢一些。当消除高温压力后转基因烟草的光合效率比野生型恢复快。

5.2.3 GPAT 基因与植物耐干旱和耐高浓度盐的关系

软木脂和几丁质是植物体中两种重要的聚酯, 它们构成植物阻止病原体入侵的防护栏, 并控制水分和溶质的运输。2007 年, Li 等^[25]发现, *AtGPAT5* 与拟南芥根和种皮中的软木脂含量有关。*gp5* 突变体的幼根中软木脂的含量下降 50%, 而在种皮中则成倍减少。这使得突变体拟南芥的幼根和种皮的渗透性急剧增强, 而在高盐浓度下容易失水, 最终导致种子的萌发率和幼苗的存活率降低。

几丁质合成相关的 GPAT 基因在拟南芥(*AtGPAT4*、*AtGPAT6*、*AtGAPT8*)^[7-9, 11, 38]、甘蓝型油菜(*BnGPAT4*)^[26]和蓝蓟(*EpGPAT1*、*EpGPAT2*)^[19]等植物中被克隆。*AtGAPT4* 和 *AtGPAT8* 基因的相似度超过 80%^[26, 39], 共同控制植物茎和叶中几丁质的合成, 且有功能冗余。*atgp4/8* 双突变体的茎和叶中表现出明显的几丁质缺陷^[25]。Chen 等^[26]从甘蓝型油菜中克隆得到 *BnGPAT4* 基因。*BnGPAT4* 的 RNAi 干扰系角质层有明显几丁质缺陷, 其气孔结构和形态发生变化。其原因是缺陷的角质层改变了表皮的微环境, 影响了防卫细胞周围表皮细胞的膨胀度, 致使气孔张开, 不能正常关闭, 因此植株长期处于高蒸腾作用状态, 容易失水。此外, *BnGAPT4* 基因与甘蓝型油菜根和种皮中的软木脂合成有关。

5.3 GAPT 基因与种子含油量的关系

Jain 等^[40]克隆了红花质体 GPAT 基因(*CtpGPAT*), 将 35S 启动子驱动的带质体信号肽的 *CtpGPAT* 基因和 35S 启动子驱动的用内质网信号肽替换质体信号肽的 *CtGPAT* 基因分别转入拟南芥中。两种转基因植株的种子重量和含油量比野生型都有明显增加。此外, 对拟南芥 *AtGPAT9* 的氨基酸序列进行生信息学

分析和表达分析, 表明其有可能与拟南芥种子含油量有关^[9]。

5.4 GPAT 基因的其他功能

2010 年 Manas-Fernandez 等^[19]发现蓝蓟 GPAT 基因编码的酶其 N-端存在 HAD-like 结构域, 可能具有磷酸酶活性。同年 Yang 等^[7]发现拟南芥 *AtGPAT4* 和 *AtGPAT6* 基因编码的酶具有 HAD-like 并具有磷酸酶活性, 并证明 *AtGPAT4* 和 *AtGPAT6* 能将 acyl-基团接到 G3P sn-2 位上, 并去掉其磷酸基团, 形成 2-MAG。而没有磷酸酶活性的 GPAT5 的产物为 2-Acyl-LPA。2012 年, Yang 等^[8]再次验证了 *AtGPAT4*、*AtGPAT6* 和 *AtGPAT8* 的磷酸酶活性, 同时证明了拟南芥 *AtGPAT7* 参与软木脂的合成, 在植物受伤部位表达量剧增, 能对植物进行伤口修复。

6 展望

植物 GPAT 基因家族虽然只是一个小家族, 但其功能的重要性和惊人的多样性足以激发研究者们对其进行更深入研究兴趣。目前对植物 GPAT 基因家族的研究集中于拟南芥。虽然对植物 GPAT 基因的研究已有 20 余年, 但其许多特性尚不明确。每一次探究都会有新的发现, 每一次新的发现都会让我们遇到更多的谜团。如 sn-2 区域特异性、磷酸酶活性、甘蓝型油菜 *BnGPAT4* 基因所编码的酶同时出现在内质网和叶绿体膜上等等。至于有些 GPAT 酶为什么有 sn-2 酰基转移特异性, sn-2 酰基转移特异性产物在植物脂质合成过程中有什么特殊的意义, 对植物的生长发育有什么影响? 这些问题都有待进一步的研究。GPAT 酶的磷酸酶活性从何而来? 是其祖先基因所编码的酶本身就存在, 还是在进化过程中由于基因突变等原因有些成员丢失了本身的功能? 或者是磷酸酶活性结构域来自于基因位点突变或基因片段的插入? 这些尚不得而知。但从进化的规律来看, GPAT 酶的祖先具有磷酸酶活性, 随后, 酶的分工逐渐精细和单一。随着比较基因组学、植物生理、生化、细胞生物学及其交叉学科研究的进一步深入, GPAT 基因家族神秘的面纱将会被一层层揭开, 为作物品质创新等应用研究提供有用的信息。

参考文献(References):

- [1] Gupta SM, Pandey P, Grover A, Patade VY, Singh S,

- Ahmed Z. Cloning and characterization of GPAT gene from *Lepidium latifolium* L.: a step towards translational research in agri-genomics for food and fuel. *Mol Biol Rep*, 2013, 40(7): 4235–4240. [\[DOI\]](#)
- [2] Murata N, Tasaka Y. Glycerol-3-phosphate acyltransferase in plants. *Biochim Biophys Acta*, 1997, 1348(1-2): 10–16. [\[DOI\]](#)
- [3] Wendel AA, Lewin TM, Coleman RA. Glycerol-3-phosphate acyltransferases: rate limiting enzymes of triacylglycerol biosynthesis. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1791(6): 501–506. [\[DOI\]](#)
- [4] Zhang YM, Rock CO. Thematic review series: Glycerolipids. Acyltransferases in bacterial glycerophospholipid synthesis. *J Lipid Res*, 2008, 49(9): 1867–1874. [\[DOI\]](#)
- [5] Bourgis F, Kader JC, Barret P, Renard M, Robinson D, Robinson C, Delseny M, Roscoe TJ. A plastidial lysophosphatidic acid acyltransferase from oilseed rape. *Plant Physiol*, 1999, 120(3): 913–922. [\[DOI\]](#)
- [6] Lung SC, Weselake RJ. Diacylglycerol acyltransferase: a key mediator of plant triacylglycerol synthesis. *Lipids*, 2006, 41(12): 1073–1088. [\[DOI\]](#)
- [7] Yang WL, Pollard M, Li-Beisson YH, Beisson F, Feig M, Ohlrogge JB. A distinct type of glycerol-3-phosphate acyltransferase with sn-2 preference and phosphatase activity producing 2-monoacylglycerol. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(26): 12040–12045. [\[DOI\]](#)
- [8] Yang WL, Simpson JP, Li-Beisson Y, Beisson F, Pollard M, Ohlrogge JB. A land-plant-specific glycerol-3-phosphate acyltransferase family in arabidopsis: substrate specificity, sn-2 preference, and evolution. *Plant Physiol*, 2012, 160(2): 638–652. [\[DOI\]](#)
- [9] Gidda SK, Shockey JM, Rothstein SJ, Dyer JM, Mullen RT. Arabidopsis thaliana GPAT8 and GPAT9 are localized to the ER and possess distinct ER retrieval signals: functional divergence of the dilysine ER retrieval motif in plant cells. *Plant Physiol Biochem*, 2009, 47(10): 867–879. [\[DOI\]](#)
- [10] Chen X, Snyder CL, Truksa M, Shah S, Weselake RJ. sn-Glycerol-3-phosphate acyltransferases in plants. *Plant Signal Behav*, 2011, 6(11): 1695–1699. [\[DOI\]](#)
- [11] Li XC, Zhu J, Yang J, Zhang GR, Xing WF, Zhang S, Yang ZN. Glycerol-3-phosphate acyltransferase 6 (GPAT6) is important for tapetum development in Arabidopsis and plays multiple roles in plant fertility. *Mol Plant*, 2012, 5(1): 131–142. [\[DOI\]](#)
- [12] Zheng ZF, Xia Q, Dauk M, Shen WY, Selvaraj G, Zou JT. Arabidopsis *AtGPAT1*, a member of the membrane-bound glycerol-3-phosphate acyltransferase gene family, is essential for tapetum differentiation and male fertility. *Plant Cell*, 2003, 15(8): 1872–1887. [\[DOI\]](#)
- [13] Tamada T, Feese MD, Ferri SR, Kato Y, Yajima R, Toguri T, Kuroki R. Substrate recognition and selectivity of plant glycerol-3-phosphate acyltransferases (GPATs) from *Cucurbita moscata* and *Spinacea oleracea*. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr*, 2004, 60(Pt 1): 13–21. [\[DOI\]](#)
- [14] Hayman MW, Fawcett T, Schierer TF, Simon JW, Kroon JTM, Gilroy JS, Rice DW, Rafferty J, Turnbull AP, Sedelnikova SE, Slabas AR. Mutagenesis of squash (*Cucurbita moschata*) glycerol-3-phosphate acyltransferase (GPAT) to produce an enzyme with altered substrate selectivity. *Biochem Soc Trans*, 2000, 28(6): 680–681. [\[DOI\]](#)
- [15] 杨明攀, 陈善娜, 鄢波, 黄兴奇, 刘继梅, 谭德勇. 南瓜甘油-3-磷酸转酰酶基因cDNA的克隆及限制性图谱分析. 云南大学学报 (自然科学版), 1998, 20(5): 374–376. [\[DOI\]](#)
- [16] Ferri SR, Toguri T. Substrate specificity modification of the stromal glycerol-3-phosphate acyltransferase. *Arch Biochem Biophys*, 1997, 337(2): 202–208. [\[DOI\]](#)
- [17] Nishida I, Beppu T, Matsuo T, Murata N. Nucleotide sequence of a cDNA clone encoding a precursor to stearyl-(acyl-carrier-protein) desaturase from spinach, *Spinacia oleracea*. *Plant Mol Biol*, 1992, 19(4): 711–713. [\[DOI\]](#)
- [18] Sui N, Li M, Zhao SJ, Li F, Liang H, Meng QW. Overexpression of glycerol-3-phosphate acyltransferase gene improves chilling tolerance in tomato. *Planta*, 2007, 226(5): 1097–1108. [\[DOI\]](#)
- [19] Mañas-Fernández A, Li-Beisson Y, Alonso DL, García-Maroto F. Cloning and molecular characterization of a glycerol-3-phosphate O-acyltransferase (GPAT) gene from *Echium* (Boraginaceae) involved in the biosynthesis of cutin polyesters. *Planta*, 2010, 232(4): 987–997. [\[DOI\]](#)
- [20] 张楠, 徐荣华, 刘小烛, 刘爱忠. 小桐子甘油-3-磷酸酰基转移酶(JcGPAT) cDNA的克隆与序列分析. 植物生理学报, 2011, 47(2): 181–188. [\[DOI\]](#)
- [21] Ruiz-Lopez N, Garces R, Harwood JL, Martinez-Force E. Characterization and partial purification of acyl-CoA: glycerol 3-phosphate acyltransferase from sunflower (*Helianthus annuus* L.) developing seeds. *Plant Physiol Biochem*, 2010, 48(2–3): 73–80. [\[DOI\]](#)
- [22] Zhu SQ, Zhao H, Liang JS, Ji BH, Jiao DM. Relationships between phosphatidylglycerol molecular species of thylakoid membrane lipids and sensitivities to chilling-induced photoinhibition in rice. *J Integr Plant Biol*, 2008, 50(2):

- 194–202. [\[DOI\]](#)
- [23] Zheng Z, Zou JT. The initial step of the glycerolipid pathway: identification of glycerol 3-phosphate/dihydroxyacetone phosphate dual substrate acyltransferases in *Saccharomyces cerevisiae*. *J Biol Chem*, 2001, 276(45): 41710–41716. [\[DOI\]](#)
- [24] Gimeno RE, Cao J. Thematic review series: glycerolipids. Mammalian glycerol-3-phosphate acyltransferases: new genes for an old activity. *J Lipid Res*, 2008, 49(10): 2079–2088. [\[DOI\]](#)
- [25] Li YH, Beisson F, Koo AJK, Molina I, Pollard M, Ohlrogge J. Identification of acyltransferases required for cutin biosynthesis and production of cutin with suberin-like monomers. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(46): 18339–18344. [\[DOI\]](#)
- [26] Chen X, Truksa M, Snyder CL, El-Mezawy A, Shah S, Weselake RJ. Three homologous genes encoding sn-glycerol-3-phosphate acyltransferase 4 exhibit different expression patterns and functional divergence in *Brassica napus*. *Plant Physiol*, 2011, 155(2): 851–865. [\[DOI\]](#)
- [27] Li-Beisson YH, Pollard M, Sauveplane V, Pinot F, Ohlrogge J, Beisson F. Nanoridges that characterize the surface morphology of flowers require the synthesis of cutin polyester. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(51): 22008–22013. [\[DOI\]](#)
- [28] Beisson F, Li YH, Bonaventure G, Pollard M, Ohlrogge JB. The acyltransferase GPAT5 is required for the synthesis of suberin in seed coat and root of *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2007, 19(1): 351–368. [\[DOI\]](#)
- [29] Misra N, Panda PK. In search of actionable targets for agrigenomics and microalgal biofuel production: sequence-structural diversity studies on algal and higher plants with a focus on GPAT protein. *OMICS*, 2013, 17(4): 173–186. [\[DOI\]](#)
- [30] 杨明攀, 陈善娜, 鄢波, 刘继梅, 黄兴奇. 黑子南瓜甘油-3-磷酸酰基转移酶基因的克隆及序列分析. *云南植物研究*, 1999, 21(2): 139–143. [\[DOI\]](#)
- [31] 刘继梅, 陈善娜, 鄢波, 黄兴奇, 杨明攀. 不同抗冷性水稻中编码甘油-3-磷酸转酰酶的部分cDNA的序列比较研究. *云南植物研究*, 2000, 22(3): 317–321. [\[DOI\]](#)
- [32] Szalontai B, Kóta Z, Nonaka H, Murata N. Structural consequences of genetically engineered saturation of the fatty acids of phosphatidylglycerol in tobacco thylakoid membranes. An FTIR study. *Biochemistry*, 2003, 42(14): 4292–4299. [\[DOI\]](#)
- [33] Nishida I, Tasaka Y, Shiraishi H, Murata N. The gene and the RNA for the precursor to the plastid-located glycerol-3-phosphate acyltransferase of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Mol Biol*, 1993, 21(2): 267–277. [\[DOI\]](#)
- [34] Bertrams M, Heinz E. Positional specificity and fatty acid selectivity of purified sn-glycerol 3-phosphate acyltransferases from chloroplasts. *Plant Physiol*, 1981, 68(3): 653–657. [\[DOI\]](#)
- [35] Weber S, Wolter FP, Buck F, Frentzen M, Heinz E. Purification and cDNA sequencing of an oleate-selective acyl-ACP: sn-glycerol-3-phosphate acyltransferase from pea chloroplasts. *Plant Mol Biol*, 1991, 17(5): 1067–1076. [\[DOI\]](#)
- [36] Cronan JE, Roughan PG. Fatty Acid Specificity and Selectivity of the Chloroplast sn-Glycerol 3-Phosphate Acyltransferase of the Chilling Sensitive Plant, *Amaranthus lividus*. *Plant Physiol*, 1987, 83(3): 676–680. [\[DOI\]](#)
- [37] Yan K, Chen N, Qu YY, Dong XC, Meng QW, Zhao SJ. Overexpression of sweet pepper glycerol-3-phosphate acyltransferase gene enhanced thermotolerance of photosynthetic apparatus in transgenic tobacco. *J Integr Plant Biol*, 2008, 50(5): 613–621. [\[DOI\]](#)
- [38] Chen YQ, Kuo MS, Li SY, Bui HH, Peake DA, Sanders PE, Thibodeaux SJ, Chu SY, Qian YW, Zhao Y, Bredt DS, Moller DE, Konrad RJ, Beigneux AP, Young SG, Cao GQ. AGPAT6 is a novel microsomal glycerol-3-phosphate acyltransferase. *J Biol Chem*, 2008, 283(15): 10048–10057. [\[DOI\]](#)
- [39] Hanada K, Kuromori T, Myouga F, Toyoda T, Li WH, Shinozaki K. Evolutionary persistence of functional compensation by duplicate genes in *Arabidopsis*. *Genome Biol Evol*, 2009, 1: 409–414. [\[DOI\]](#)
- [40] Jain RK, Coffey M, Lai K, Kumar A, Mackenzie SL. Enhancement of seed oil content by expression of glycerol-3-phosphate acyltransferase genes. *Biochem Soc Trans*, 2000, 28(6): 958–961. [\[DOI\]](#)