

植物油脂中脂肪酸成分改良的生物技术研究进展

王 鹏¹, 淮东欣², 盖江涛¹

(1. 中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所/农业部华南作物基因资源与种质创制重点实验室, 海南 儋州, 571737;
2. 华中农业大学作物遗传改良国家重点实验室, 湖北 武汉, 430070)

摘要:回顾近年来植物油脂中脂肪酸成分改良的育种研究及成果,并展望未来通过基因工程等改良脂肪酸成分的研究。通过自然突变筛选和人工诱变等手段,高油酸含量育种取得了较大进展,且高油酸油菜和大豆品种已成功推向市场。通过基因工程与传统育种手段相结合,已创造了芥酸含量为 70% 以上的油菜种质。通过导入外源基因,使得传统油料作物生产出含特殊脂肪酸的工业或能源用油脂成为可能。然而,对植物中脂肪酸代谢途径及其酶学活性调控的分子基础知识不足,仍然是制约油脂中脂肪酸成分调控的瓶颈因素。

关键词:植物油脂;脂肪酸;油酸;芥酸
中图分类号:S565 **文献标识码:**A **文章编号:**1007 – 9084(2015)06 – 0907 – 08

Recent advances in modification of fatty acid composition in plants through biotechnology

WANG Peng¹, HUAI Dong – xin², GAI Jiang – tao¹

(1. *Tropical Crops Genetic Resources Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences /Key Laboratory of Crop Gene Resources and Germplasm Enhancement in Southern China, Ministry of Agriculture, Danzhou 571737, China;*
2. *National Key Laboratory of Crop Genetic Improvement, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China*)

Abstract: Through natural mutagenesis and modification, breakthroughs have been achieved for high oleic acid breeding. As their products, high – oleic rapeseed and soybean varieties have been released to market. Regarding to erucic acid breeding, with the combination of genetic engineering and conventional approaches, rapeseed germplasms were created with erucic acid content higher than 70%. Introduction of genes through genetic engineering have been made it possible to produce oils for industrial or energy uses with specialized fatty acids in oilseed crops. Here we reviewed achievements worldwide in oilseed breeding for fatty acid compositions, and forecasted future research on fatty acid composition manipulation through emerging approaches such as genetic engineering. However, insufficient understanding of plant fatty acid metabolism pathways and their molecular foundations of enzymatic regulation restricted their manipulations. In China, the study of plant lipid composition modification have started recently. Through learning from research activities on molecular foundations of plant lipid biosynthesis around the world, and accumulating knowledge by multi – disciplinary combinations, research in China on plant fatty acid composition alteration will be improved, which would further contribute to technical competitiveness of plant lipid industry.

Key words: Plant lipid; Fatty acid; Oleic acid; Erucic acid

植物油脂是人类营养的重要来源,同时某些特殊油脂也是重要的工业物资和医药原料。目前,植物油脂作为人类食物来源、用于饲料和投放于工业应用(包括生物能源应用)中的比例已由 80: 6: 14

演变为 75: 5: 20^[1]。在全球工业化潮流下,全世界对植物油脂的消费也有了可观的增长^[1]。
人类主要从种子或果实中获取植物油脂。人类的育种和生物技术实践,不仅把提高植物油脂产量

收稿日期:2015-03-27
基金项目:中央级公益性科研院所基本科研业务(重点项目)(1630032013009,1630032014013)
作者简介:王 鹏(1980 –),男,安徽安庆人,副研究员,博士,主要从事植物天然产物生物技术、植物基因组学研究,E – mail: pwang521@163.com

作为重要目标,同时也把改变油脂中脂肪酸成分作为关注的重点。然而,在传统育种工作中,改变油脂中脂肪酸成分具有很大的难度。其主要原因在于,在缺少专业分析工具的情况下,对油脂成分这一定量性状把握较难;同时,人类对油脂积累机制的知识较为缺乏。近 30 年来,通过分子生物学、基因组学、生物化学和分析化学等多学科的结合,科学界对植物种子中油脂生物合成和积累机制的了解逐渐深入^[2,3]。在此基础上,通过生物技术调控油脂合成通路中的重要基因,从而提高油脂在种子中的积累和改变油脂中脂肪酸成分,也有了诸多成功的实例^[4,5]。本文将在简要阐述植物油脂合成和积累分子机制的基础上,从油酸含量、芥酸含量、长链不饱和脂肪酸含量及特殊结构脂肪酸等角度,对近年来国际上通过转基因和诱变技术等生物技术手段改变植物油脂中脂肪酸含量这一领域的研究进行回顾,并对未来国内的研究工作加以简要的展望。

1 改变油脂中油酸含量

植物种子中,植物油脂主要以三羧酸甘油酯(triacylglycerol, TAG)的形式存在。甘油的 3 个羟基分别与脂肪酰基辅酶 A 发生缩合反应,就会产生 TAG。此外,通过磷脂二酰甘油酰基转移酶(phospholipids: diacylglycerol acyltransferase, PDAT)、磷脂酰胆碱甘油胆碱磷酸转移酶(phosphatidylcholine: diacylglycerol cholinephosphotransferase, PDCT)等的催化,TAG 中 sn-2、sn-3 等位置也会和其它脂肪分子发生脂肪酸的交换。所以,TAG 中脂肪酸成分主要由以下因素决定:脂肪酰基辅酶 A 中各脂肪酰基团比例、脂肪分子中各脂肪酰基团比例以及 TAG 形成、积累过程中各相关酶的相对活性。

脂肪酰基辅酶 A 是从卵磷脂(phosphotidylcholine, PC)上切除下来形成,而多不饱和脂肪酰基是在 PC 上从单不饱和脂肪酰基演变而来;如在 PC 上,油酸(18:1)可依次由油酸脱氢酶(fatty acid desaturase 2, FAD2)和亚油酸脱氢酶(fatty acid desaturase 3, FAD3)催化形成亚油酸(18:2)和亚麻酸(18:3)^[3,6]。这些酶的相对活性以及编码这些酶的基因的相对表达丰度是影响这些不同不饱和度脂肪酸比例的重要因素。高油酸植物油脂具有较高的氧化稳定性,形成较少的氧化产物,这使得它具有货架期长、烹煮高温下较稳定的特点。此外,有研究证明,高油酸含量和低亚油酸、亚麻酸含量,可降低血液中低密度脂蛋白含量,所以它在阻止动脉血管硬化中起正面作用^[7]。另外,高油酸植物油脂还是工

业用润滑油等较好的替代品,并可应用于化妆品等日化产品以及生物燃料^[8]。

1.1 高油酸油菜育种

传统油菜品种中多不饱和脂肪酸和芥酸含量较高。尽管油菜是多倍体物种,遗传背景复杂,高油酸油菜育种仍取得了较大的成功。1995 年,Rücker 和 Röbbelen 选育了高油酸突变体,其种子油酸含量达 71%^[9]。此后,世界上多个公共研究机构或赢利团体的科学家相继在高油酸油菜育种中取得了较大的进展。

采用 EMS 等化学诱变及⁶⁰Co 照射等物理诱变,已创制出高油酸油菜种质^[10,11]。由于对油酸代谢途径及其基因表达已了解得较为详细,利用反义抑制、RNA 干扰等基因工程手段对 *FAD2* 等基因进行调控,亦获得了高油酸含量材料^[12]。此外,利用 RAPD、SCAR 和 SNP 等分子标记技术,对影响油酸含量的分子标记进行定位,取得了较大的成功,这为将来分子标记辅助育种技术应用在高油酸含量油菜育种上打下基础^[13~15]。

由于油菜高油酸品质具有巨大的经济价值及应用前景,一些育种公司也加入了油菜高油酸品质育种的行列,并取得了显著成效。加拿大 Cargill 公司,在 2004 年推出 CNR603、CNR604 等高油酸品系进行品比试验。澳大利亚 Cargill 公司和澳大利亚第一产业部 Victoria 合作,在油菜高油酸品质育种方面也有了突破。2004 年,第一个高油酸 HOLL 油菜品种在法国注册,这是在欧洲注册的第一个高油酸油菜品种。目前,高油酸油菜中油酸含量可达 90%^[16]。由高油酸油菜品种生产的高油酸菜籽油也吸引了一些知名食品企业的注意。例如,世界著名快餐连锁企业肯德基(KFC)在 2012 年宣布,在澳大利亚的连锁店所用的食用油由棕榈油改为高油酸菜籽油。

1.2 高油酸大豆育种

大豆油在世界植物油脂消费中具有举足轻重的地位;在植物油脂中,大豆油消费占比约 30%。值得注意的是,近年来,大豆油在润滑油、生物能源中的使用占大豆油消费的比重呈上升趋势。例如,2010 年,美国约有 14% 的大豆油用于工业领域;2011 年则上升到 20%^[17,18]。然而,大豆油中脂肪酸的构成不是在食品及工业领域中要求的最佳比例。目前普遍使用的普通大豆油中,单不饱和脂肪酸油酸含量只有 20%~25%,而多不饱和脂肪酸亚油酸占 50%~55%,亚麻酸占 10%~15%。中国栽培大豆中,油酸在豆油中含量平均约 23%,和世界

平均水平相当^[19]。所以,提高油酸的含量、降低多不饱和脂肪酸含量,是大豆育种领域的重要目标。近年来,通过基因工程或诱变育种,高油酸大豆育种取得了可喜的进展^[8]。

Wagner 等通过基因工程抑制种子中 *FAD2* 基因的表达,大豆油中油酸含量最高提高到了 85% 以上^[20]。通过筛选突变的 *FAD2-1* 基因,Pham 等也获得了高油酸含量的大豆株系^[21]。脂酰-酰基载体蛋白硫酯酶 B 型(*fatty acyl-ACP thioesterase, FatB*)基因编码是负责棕榈酸(16:0)合成的关键酶,同时抑制 *FatB* 基因和 *FAD2* 基因的表达,Buhr 等将豆油中油酸含量进一步提高,最高油酸含量达 91%,而亚油酸和亚麻酸含量总和降低到 3.5%^[22]。

由于高油酸大豆油在食用、烹调及工业应用等方面较普通大豆油具有明显的优势,一些著名农业公司,如杜邦(DuPont)、孟山都(Monsanto)等近年来力推高油酸大豆油及其品种。杜邦育成了高油酸大豆品种 Plenish[®],其种子脂肪中油酸含量达到 77%,而亚油酸和亚麻酸含量分别只占 8% 和 3%。此品种在 2012 年获得了美国农业部(USDA)的生产批文;目前,杜邦正与 Cargill 等公司合作将其推向市场^[23]。孟山都公司也推出了类似的高油酸品种 Vistiv Gold[®],其种子脂肪中油酸含量也达到 75%^[24]。

1.3 其它作物中油酸含量品质改良

普通花生油中油酸占比 20% 左右。1987 年,Norden 等筛选出了花生自然突变体 F435,其脂肪中油酸含量高达 80%^[25]。自此以后,世界上各国通过诱变等方法获得了多个高油酸花生突变体。1995 年,美国农业部允许生产第一个高油酸花生品种 SunOleic 95R。自此以后,全世界已有几十个高油酸花生品种获得了生产推广许可。在我国,也有多个高油酸花生品种通过审批,如花育 32、开农 61 等。这些高油酸花生品种多为 Runner 型、Spanish 型小花生,产量较低,其产量等农艺性状需要进一步改良^[26]。

杜邦旗下的先锋种业 Zheng 等发掘到了 *DGAT1-2* 基因发生点突变的玉米突变株,其种子中油脂含量不仅得到了提高,油酸占比也由平均 40% 左右显著提高到 80% 以上^[27]。此外,向日葵、红花等作物的高油酸品质育种也获得了进展^[28,29]。

2 高芥酸油菜基因工程及育种研究

芥酸(erucic acid, C22:1),是一种长碳链不饱和脂肪酸,主要存在于十字花科(Brassicaceae)和旱

金莲科(Tropaeolaceae)植物种子中,以及一些海洋动物的油脂中。芥酸及其衍生物因分子碳链长,疏水性和防水性强,润滑性能优异,氧化-聚合速度较短碳链脂肪酸慢,是一种很重要的油脂化工产品,在冶金、机械、橡胶、化工、油漆、纺织和医药等领域具有广泛用途,是重要的精细化工原料^[30]。目前,高芥酸菜籽油仍然是生产芥酸的主要原料来源。由于高芥酸菜籽油具有用途广、质量高、价格低和可再生的特点,在现代化工业中显示出越来越重要的作用,因此高芥酸油菜的研究引起了人们热切的关注^[31]。目前,我国高芥酸油菜品种芥酸含量一般为 50% 左右。近年来随着转基因技术的发展及其在作物育种中的应用,通过基因工程提高油菜种子中芥酸含量已成为近年来高芥酸育种的主要途径。

2.1 过量表达 *FAE* 基因提高芥酸含量

脂肪酰-CoA 延长酶(fatty acyl-CoA elongase, FAE)是一种膜结合酶复合物^[32]。FAE 是负责催化芥酸合成的第一步反应的酶,也是脂肪酸延伸反应的第一步关键酶,因此是基因工程改变植物种子中芥酸含量的重要调控对象^[33]。目前,多种产芥酸植物的 *FAE1* 基因已经得到克隆,如高芥酸甘蓝型油菜(*Brassica napus*)、拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)等^[34,35]。将这些基因克隆并通过转基因的方法在植物中过量表达,均可在植物种子中不同程度地提高芥酸的含量。3-酮脂酰辅酶 A 合成酶(3-ketoacyl-CoA synthase, KCS)是 FAE 的一种酶,Taylor 等对 C18:1 具有高亲和力的拟南芥 *AtKCS* 和对 C20:1 具有高亲和力的旱金莲 *TmKCS* 同时转入埃及,芥酸含量由 36% 提高到了 47%^[36]。

2.2 引入对芥酸具有亲和力的 *LPAAT*

溶血磷脂酸酰基转移酶(Lysophosphatidic Acid Acyltransferase, LPAAT)是植物种子油脂合成的关键酶^[37]。将在池花属(*Limnanthes* R. Brown)植物中克隆得到的 *LaLPAAT* 和 *LdLPAAT* 基因,分别转入油菜后,虽然 sn-2 位置上芥酸含量增加,但其油脂中芥酸总量并未增加。这说明芥酸在 sn-2 位置上的增加是以 sn-1 和 sn-3 位置上芥酸含量减少为代价的^[38]。这一结果表明,在芥酸合成没有增加的条件下,导入 *LPAAT* 基因只引起芥酸在甘油 3 个羟基位置上的重新分配。将 *BnKCS* 和 *LdLPAAT* 同时转入甘蓝型油菜,*BnKCS* 和 *LdLPAAT* 的超量表达保证了芥酸在甘油骨架的 sn-2 位的插入,但这并没有显著提高芥酸含量。这种结果可能是由于竞争性强的脱饱和作用存在和向贮藏脂类的不可逆结合,在脂肪酸链的延长过程中缺少可利用的脂肪酰基-

CoA^[39,40]。

2.3 抑制表达 *FAD* 基因提高芥酸含量

由于超量表达 *KCS*,同时引入对芥酸具有亲和力的 *LPAAT*,不能显著提高芥酸含量,仅引起芥酸在甘油骨架 3 个位置的重新分配,其可能的原因是存在去饱和和作用的竞争,致使脂肪酸碳链延长酶没有足够的底物,即油酸(C18: 1)。所以,沉默脂肪酸的去饱和酶是进一步提高芥酸含量的重要途径。在不饱和脂肪酸亚油酸(C18: 2)和亚麻酸(C18: 3)的合成过程中,内质网 ω -6 脂肪酸去饱和酶(*FAD2*)的活性尤为重要,因为它负责向位于内质网的单不饱和脂肪酸中引入第二个双键,是多不饱和脂肪酸合成的第一步也是关键的一步。沉默 *FAD2* 基因可以有效地增加油酸的含量,为合成芥酸提供足够的底物^[41]。

将高芥酸甘蓝型油菜与高油酸甘蓝型油菜杂交,目的是将突变的 *FAD2* 基因导入高芥酸油菜中,在其杂交后代中发现,多不饱和脂肪酸(C18: 2 + C18: 3)的含量显著下降,同时芥酸的含量得以上升 3% ~ 5%^[42]。通过基因工程方法,无论共抑制 *FAD2* 基因的表达,还是转入其反义链抑制 *FAD2* 基因的表达,均可减少多不饱和脂肪酸的含量,增加 C18: 1 的含量,同时少量增加芥酸含量^[43]。在埃塞俄比亚芥中,利用 RNAi 沉默 *FAD2* 基因的同时,超量表达 *CaKCS*,有效地提高了种子中芥酸的含量,同时减少了亚麻酸和亚油酸的含量^[44]。

2.4 调控 *KCS*、*LPAAT*、*FAD* 基因共同提高芥酸含量

Nath 等将 *LdLPAAT* 与 *BnKCS* 基因超量表达的转基因甘蓝型油菜与高芥酸/低多烯脂肪酸的甘蓝型油菜进行杂交,半粒法气液色谱分析表明在 F_2 的分离群体中芥酸含量高达 72%。这暗示转入的基因与控制高芥酸含量/低多烯脂肪酸的基因之间的互作对芥酸含量的增加具有正向效应。这一结果在对 F_3 群体的分析后得到证实,并且 F_3 群体的芥酸含量平均值提高到了 64.8%,比 F_2 群体的芥酸含量平均值 58.8% 提高了 6 个百分点,而且变异范围有所缩小^[45]。采用同样的思路,Li 等使用 *BnKCS*、*LdLPAAT* 和 *CaFAD2* - RNAi 构建共表达载体,侵染海甘蓝,在转化后代中将芥酸含量提高到了 73%,通过单粒种子的分析表明,更是得到了芥酸含量高达 76.9% 的种子^[46]。这两项研究证明,利用基因工程,在超量表达 *KCS* 和芥酸特异 *LPAAT* 的同时,沉默 *FAD2* 基因的表达,可以有效提高植物种子中芥酸含量。

3 向普通油料作物中引入外源脂肪酸的基因工程研究

普通油料作物中主要含 16 - 18 碳的脂肪酸,而一些特殊的油菜品种中也含有大量 20 碳的芥酸。此外,还有一些普通油料作物中不存在的脂肪酸,如 ω -3 多不饱和和长链脂肪酸、短链脂肪酸、含特殊基团的脂肪酸等。含有这些特殊脂肪酸的油脂在人类健康、生物能源及工业中扮演着重要角色。以下将介绍通过生物技术,在普通油料作物中生产这些特殊脂肪酸的研究进展。

3.1 在普通油料作物中生产 ω -3 多不饱和和长链脂肪酸

ω -3 多不饱和和长链脂肪酸(very long - chain polyunsaturated fatty acid, VLC - PUFA)是人体中起重要作用的脂肪酸。已有大量报道显示,VLC - PUFA 在预防心血管系统疾病、肥胖症及代谢综合征等方面扮演重要角色^[47~49]。然而,普通人群中,VLC - PUFA,如 EPA 和 DHA 的摄入量远不能满足人体本身所需。VLC - PUFA 主要从海洋鱼类获得,而海洋鱼类体内的 VLC - PUFA 也并非在其身体内合成,而是由食用微藻如硅藻(diatom)获得。由于过度捕捞造成的海洋鱼类数量剧减,使得人类获得 VLC - PUFA 变得日益困难;而直接培养海洋微藻生产 VLC - PUFA 也存在技术及成本难题。通过从微藻向普通油料作物中引入相应基因,从而在普通油料作物中生产 VLC - PUFA,是一个富有前景和希望的方向。

合成 VLC - PUFA 的前体是十八碳三烯酸(γ -linolenic acid, GLA, 18: 3(6,9,12))和十八碳四烯酸(stearidonic acid, SDA, 18: 4(6,9,12,15))。通过在芥菜型油菜(*Brassica juncea*)中表达琉璃苣(*Borago officinalis*)的 $\Delta 6$ 去饱和酶基因,Qiu 等获得了含 GLA 3% ~ 9% 的油脂^[50]。通过在油菜种子中(*B. napus*)共表达来源于高山被孢霉(*Mortierella alpina*)的 $\Delta 6$ 去饱和酶基因和 $\Delta 12$ 去饱和酶基因,Liu 等获得了含 GLA 达 43% 的油脂^[51]。在亚麻种子中表达来源于报春花(*Primula vialii*)的 $\omega 6$ 去饱和酶基因,种子油脂中 SDA 含量达到 13%^[52]。

和其它天然产物一样,相对于生产前体,生产 EPA、DHA 等 VLC - PUFA 终产物难度会加大很多。这需要协调表达至少 3 ~ 7 个外源基因。近年来,已有多篇通过表达相应基因获得 VLC - PUFA 的报道,但是所获得的 DHA 等长链脂肪酸的含量甚微。如 Wu 等通过在油菜种子中表达多条基因,获得了

EPA 含量高达 15% 的油脂,而油脂中也含有微量 DHA (0.2%)^[53]。而 Kinney 等在大豆中表达多条基因,也获得了油脂中 EPA 含量高达 19.6% 的大豆种子,并且在大豆胚中检测到含量达 3.3% 的 DHA^[54]。Astrid 等在拟南芥中表达 PKS 系统的多个基因,也获得了脂肪中 DHA 含量达 2.4% 的种子^[55]。

3.2 在普通油料作物中生产适用于生物能源的植物油脂

普通植物种子中,脂肪酸成分一般为 16~18 碳。然而,某些植物,如萼距花属(*Cuphea*)植物中,含有 8~14 个碳的脂肪酸,这些脂肪酸被称为中链脂肪酸(medium-chain fatty acid, MCFA)^[56]。甲酯化的 MCFA 在凝固点、燃点等特性方面具有和汽油等化石燃料类似的特点,且不含硫等有害物质,故 MCFA 被认为是一种潜在的替代清洁能源。然而,萼距花属植物等产 MCFA 植物含油量低,农艺性状不佳,不宜直接栽培。将这些植物中负责 MCFA 合成的基因转入大宗油料作物中,是一个有前景的生产 MCFA 的方法。从萼距花(*Cuphea hookeriana*)中分离得到脂酰-酰基载体蛋白硫酯酶 B 型(*FatB2*)基因,将其转入油菜,转基因种子脂肪酸中含有一些 MCFA,如含 11% 的 8:0,和 27% 的 10:0^[57]。将其与同样分离自萼距花的 3-酮脂酰 ACP 合成酶(3-ketoacyl-ACP synthase, *KAS*)基因共表达,MCFA 在油菜中含量提高到 30%~40%^[58]。然而,各种转基因研究均无法将 MCFA 在植物油中含量进一步大幅度提高。

在卫矛(*Euonymus alatus*)种子中,含有一种特殊的三羧酸甘油酯(TAG),其 sn-3 位置并非通常的 18 个碳的脂肪酰基,而是乙酰基。这种 TAG 由于凝固点低,所以不用甲酯化就可以直接用于生物能源。Durrett 等在其中找到负责此种特殊 TAG 合成的关键基因,这种基因属于膜骨架酰基转移酶基因(*Membrane-bound O-acyltransferase, MBOAT*)家族,与同属于此家族的二酰甘油酰基转移酶 1 基因(*Diacylglycerol acyltransferase 1, DGAT1*)相比,基因长度缩短。将其转入拟南芥,获得了此种 TAG 含量达 40% 的植物油脂^[59]。

3.3 在普通油料作物中生产具有特殊基团的植物油脂

在自然界中,存在一些特殊油脂,其脂肪酸长链上含有一些特殊基团,如羟基、环氧基、炔基、共轭双键等。这些特殊的油脂可用于制造工业润滑剂、增塑剂及尼龙原料等。由于生产这些油脂的植物产量

不稳定,农艺性状不佳,因此科学家试图将生产特殊油脂的代谢通路从这些植物移植到普通油料作物中。近年来的研究表明,除 *FAD2* 外,二酰甘油酰基转移酶 2 (*diacylglycerol acyltransferase 2, DGAT2*)、溶血磷脂酰基转移酶(*lysophospholipid acyltransferase, LPLAT*)等也在特殊油脂合成中起重要作用^[60,61]。然而,仅仅将这些基因转入油菜、大豆等作物,并没有在种子中产出较高含量的特殊油脂,并且往往产生降低总油脂含量的副效应。将环氧合酶基因与 *DGAT1*、*DGAT2* 基因在大豆中表达,不仅能克服总油脂含量降低的影响,而且使环氧基脂肪酸占总脂肪酸达 50% 以上^[62,63]。此外,*LPLAT*、*PDAT* 等也在特殊脂肪酸合成中起潜在作用,但是还没有见到公开出版的数据。

4 结论及展望

在现代社会,植物油脂不仅作为普通食用油供应人类,它还在人类营养、可替代能源及工业中起重要作用。通过生物技术对普通作物进行改良,从而生产这些特殊用途的油脂,已经显示出初步成效和巨大潜力。然而,除了对油酸含量的改良取得了可应用的成果,生产其它特殊油脂为目的的遗传改良与真正的应用还存在很大距离。其原因在于,一方面,我们对这些特殊脂肪酸的代谢通路及其遗传基础还远未了解透彻;另一方面,如何成功将这些代谢通路移植到普通油料作物中,使其与普通油料作物中的油脂合成通路协调,还需要深入研究。如果产生可应用的研究成果,这两方面都需要取得较大的突破。

中国是油料作物种植大国,也是油脂消费大国。中国植物油脂品质改良和油料作物品质育种研究起步较晚,研究水平和国外相比,还存在一定差距。然而近年来,借助分子生物学、分析化学和基因组学等多学科的结合,中国植物油脂成分改良研究工作取得了一些进展,尤其在高油酸品质育种方面取得了较大进展。继续开展相关研究,特别是对于油脂代谢通路的研究以及其生物技术改良,对于发展我国油料作物产业和油脂加工产业将具有重要意义。

参考文献:

- [1] Gunstone F D. Oils and fats in the market place [EB/OL]. Urbana, IL, USA, The AOCS Lipid Library, 2011, <http://lipidlibrary.aocs.org>.
- [2] Chapman K D, Ohlrogge J B. Compartmentation of triacylglycerol accumulation in plants [J]. The Journal of Bio-

- logical Chemistry,2012,287(4):2 288 – 2 294.
- [3] Voelker T, Kinney A J. Variations in the biosynthesis of seed – storage lipids[J]. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology,2001,52:335 – 361.
 - [4] Broun P, Gettner S, Somerville C. Genetic engineering of plant lipids [J]. Annual Review of Nutrition, 1999, 19: 197 – 216.
 - [5] Haslam R P, Ruiz – Lopez N, Eastmond P, et al. The modification of plant oil composition via metabolic engineering – better nutrition by design [J]. Plant Biotechnology Journal,2013,11(2):157 – 168.
 - [6] 张琦,李明春,孙红妍,等. Δ^6 – 脂肪酸脱氢酶的分子生物学研究进展[J]. 生物工程学报,2004,20(4): 319 – 324.
 - [7] Grundy S M. Comparison of monounsaturated fatty acids and carbohydrates for lowering plasma cholesterol [J]. The New England Journal of Medicine,1986,314(12): 745 – 748.
 - [8] Rudnick L R. Synthetics, mineral oils, and bio – based lubricants; Chemistry and technology [M]; 2nd Ed. Boca Raton, Florida, USA; CRC Press, 2013.
 - [9] Rucker B, Röbelen G. Development of high oleic acid rapeseed [A]. Proceedings of 9th International Rapeseed Congress [C]. Cambridge, UK, 1995, Vol. 2: 389 – 391.
 - [10] 官春云,刘春林,陈社员,等. 辐射育种获得油菜 (*Brassica napus*) 高油酸材料 [J]. 作物学报,2006,32(11):1 625 – 1 629.
 - [11] 伍新玲. 利用诱变技术改良油菜脂肪酸组成及油酸含量遗传研究 [D]. 武汉:华中农业大学,2005.
 - [12] Sivaraman I, Arumugam N, Sodhi Y S, et al. Development of high oleic and low linoleic acid transgenics in a zero erucic acid *Brassica juncea* L. (Indian mustard) line by antisense suppression of the *fad2* gene [J]. Molecular Breeding,2004,13(4):365 – 375.
 - [13] Tanhuanpää P K, Vilkki J P, Vilkki H J. Mapping of a QTL for oleic acid concentration in spring turnip rape (*Brassica rapa* ssp. *oleifera*) [J]. Theoretical and Applied Genetics,1996,92(8):952 – 956.
 - [14] Tanhuanpää P, Vilkki J. Marker – assisted selection for oleic acid content in spring turnip rape [J]. Plant Breeding,1999,118(6):568 – 570.
 - [15] Hu X, Sullivan – Gilbert M, Gupta M, et al. Mapping of the loci controlling oleic and linolenic acid contents and development of *fad2* and *fad3* allele – specific markers in canola (*Brassica napus* L.) [J]. Theoretical and Applied Genetics,2006,113(3):497 – 507.
 - [16] Liu L, Isaonova D. High – oleic canola oils and their food applications [N]. Inform American Oil Chemists Society,2012.
 - [17] American Soybean Association. SoyStats: A reference guide to important soybean facts and figures; US fats & edible oils consumption 2010 [OL]. <http://soystats.com>.
 - [18] American Soybean Association. SoyStats: A reference guide to important soybean facts & figures,2012 [OL]. <http://soystats.com>.
 - [19] 郑永战,盖钧镒,赵团结,等. 中国大豆栽培和野生资源脂肪性状的变异特点研究 [J]. 中国农业科学,2008,41(5):1 283 – 1 290.
 - [20] Wagner N, Mroczka A, Roberts P D, et al. RNAi trigger fragment truncation attenuates soybean *FAD2* – 1 transcript suppression and yields intermediate oil phenotypes [J]. Plant Biotechnology Journal,2011,9(7):723 – 728.
 - [21] Pham A T, Lee J D, Shannon J G, et al. A novel *FAD2* – 1 A allele in a soybean plant introduction offers an alternate means to produce soybean seed oil with 85% oleic acid content [J]. Theoretical and Applied Genetics,2011,123(5):793 – 802.
 - [22] Buhr T, Sato S, Ebrahim F, et al. Ribozyme termination of RNA transcripts down – regulate seed fatty acid genes in transgenic soybean [J]. The Plant Journal,2002,30(2):155 – 163.
 - [23] Pioneer Hi – Bred International, Inc. Plenish [EB/OL]. Pioneer Hi – Bred International, 2013. <http://www.plenish.com/>.
 - [24] Monsanto Company. Vistive Gold [EB/OL]. Monsanto Company,2013. <https://www.vistivegold.com/>.
 - [25] Norden A J, Gorbet D W, Knauff D A, et al. Variability in oil quality among peanut genotypes in the Florida breeding program [J]. Peanut Science,1987,14(1):7 – 11.
 - [26] 高建强. 花生高油酸种质的研究与利用 [J]. 江西农业学报,2012,24(9):22 – 25.
 - [27] Zheng P, Allen W B, Roesler K, et al. A phenylalanine in DGAT is a key determinant of oil content and composition in maize [J]. Nature Genetics,2008,40(3):367 – 372.
 - [28] Hamdan Y A, García – Moreno M J, Fernández – Martínez J M, et al. Mapping of major and modifying genes for high oleic acid content in safflower [J]. Molecular Breeding,2012,30(3):1 279 – 1 293.
 - [29] Wilson R F. The role of genomics and biotechnology in achieving global food security for high – oleic vegetable oil [J]. Journal of Oleo Science,2012,61(7):357 – 367.
 - [30] 吴关庭,郎春秀,陈锦清. 芥酸的生产及其衍生产品开发 [J]. 中国油脂,2007,32(6):27 – 31.

- [31] 陈光尧,王国槐. 高芥酸油菜利用与研究[J]. 作物研究,2004(5):366-368.
- [32] 倪 郁,郭彦军. 植物超长链脂肪酸及角质层蜡质生物合成相关酶基因研究现状[J]. 遗传,2008,30(5):561-567.
- [33] James D W, Lim E, Keller J, et al. Directed tagging of the Arabidopsis *FATTY ACID ELONGATION1* (*FAE1*) gene with the maize transposon *activator* [J]. The Plant Cell,1995,7(3):309-319.
- [34] Rossak M, Smith M, Kunst L. Expression of the *FAE1* gene and *FAE1* promoter activity in developing seeds of *Arabidopsis thaliana*[J]. Plant Molecular Biology,2001,46(6):717-725.
- [35] Wang N, Wang Y, Tian F, et al. A functional genomics resource for *Brassica napus*; development of an EMS mutagenized population and discovery of *FAE1* point mutations by TILLING[J]. New Phytologist,2008,180(4):751-765.
- [36] Taylor D C, Falk K C, Palmer C D, et al. *Brassica carinata* - a new molecular farming platform for delivering bio - industrial oil feedstocks; case studies of genetic modifications to improve very long - chain fatty acid and oil content in seeds[J]. Biofuels, Bioproducts and Biorefining,2010,4(5):538-561.
- [37] 华方静,刘凤珍,万勇善,等. 花生及其野生种质溶血磷脂酰基转移酶基因(*LPAAT*)的克隆及序列分析[J]. 分子植物育种,2014,12(1):74-79.
- [38] Brough C L, Coventry J M, Christie W W, et al. Towards the genetic engineering of triacylglycerols of defined fatty acid composition; major changes in erucic acid content at the sn - 2 position affected by the introduction of a 1 - acyl - sn - glycerol - 3 - phosphate acyltransferase from *Limnanthes douglasii* into oil seed rape[J]. Molecular Breeding,1996,2(2):133-142.
- [39] Han J, Lühs W, Sonntag K, et al. Functional characterization of β - ketoacyl - CoA synthase genes from *Brassica napus* L.[J]. Plant Molecular Biology,2001,46(2):229-239.
- [40] 陈 柳,毛善婧,陆 莉,等. 导入 *LPAAT* 和 *KCS* 基因对油菜种子芥酸含量的影响[J]. 作物学报,2006,32(8):1174-1178.
- [41] Yang Q, Fan C, Guo Z, et al. Identification of *FAD2* and *FAD3* genes in *Brassica napus* genome and development of allele - specific markers for high oleic and low linolenic acid contents[J]. Theoretical and Applied Genetics,2012,125(4):715-729.
- [42] Sasongko N D, Möllers C. Toward increasing erucic acid content in oilseed rape (*Brassica napus* L.) through the combination with genes for high oleic acid [J]. Journal of the American Oil Chemists' Society, 2005,82(6):445-449.
- [43] Jadhav A, Katavic V, Marillia E - F, et al. Increased levels of erucic acid in *Brassica carinata* by co - suppression and antisense repression of the endogenous *FAD2* gene [J]. Metabolic Engineering, 2005,7(3):215-220.
- [44] Mietkiewska E, Hoffman T L, Brost J M, et al. Hairpin - RNA mediated silencing of endogenous *FAD2* gene combined with heterologous expression of *Crambe abyssinica* *FAE* gene causes an increase in the level of erucic acid in transgenic *Brassica carinata* seeds[J]. Molecular Breeding,2008,22(4):619-627.
- [45] Nath U K, Wilmer J A, Wallington E J, et al. Increasing erucic acid content through combination of endogenous low polyunsaturated fatty acids alleles with *Ld - LPAAT* + *Bn - fae1* transgenes in rapeseed (*Brassica napus* L.) [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2009,118(4):765-773.
- [46] Li X, van Loo E N, Gruber J, et al. Development of ultra - high erucic acid oil in the industrial oil crop *Crambe abyssinica*[J]. Plant Biotechnology Journal,2012,10(7):862-870.
- [47] Calder P C. n - 3 Fatty acids and cardiovascular disease: evidence explained and mechanisms explored[J]. Clinical Science,2004,107(1):1-11.
- [48] Poudyal H, Panchal S K, Diwan V, et al. Omega - 3 fatty acids and metabolic syndrome: Effects and emerging mechanisms of action[J]. Progress in Lipid Research, 2011,50(4):372-387.
- [49] Williams C M, Burdge G. Long - chain n - 3 PUFA: plant v. marine sources[J]. Proceedings of the Nutrition Society,2006,65(1):42-50.
- [50] Qiu X, Hong H, Datla N, et al. Expression of borage $\Delta 6$ desaturase in *Saccharomyces cerevisiae* and oilseed crops[J]. Canadian Journal of Botany,2002,80(1):42-49.
- [51] Liu J W, Huang Y S, Demichele S, et al. Evaluation of the seed oils from a canola plant genetically transformed to produce high levels of γ - linolenic acid[A]. γ - Linolenic acid: recent advances in biotechnology and clinical applications Second International Symposium on γ - Linolenic Acid[C]. 91st AOCS Annual Meeting & Expo, San Diego, California, USA, April 2000; 2001. AOCS Press:61-71.
- [52] Ruiz - López N, Haslam R P, Venegas - Calerón M, et al. The synthesis and accumulation of stearidonic acid in transgenic plants; a novel source of heart - healthy omega - 3 fatty acids[J]. Plant Biotechnology Journal,2009,

- 7(7):704–716.
- [53] Wu G, Truksa M, Datla N, et al. Stepwise engineering to produce high yields of very long – chain polyunsaturated fatty acids in plants[J]. *Nature Biotechnology*, 2005, 23(8):1 013 – 1 017.
- [54] Kinney A, Cahoon E, Damude H, et al. Production of very long chain polyunsaturated fatty acids in oilseed plants: USA, US 20040172682 A1[P]. 2004.
- [55] Astrid M, Helene K, Frederic D, et al. Novel fatty acid elongases and their use for the reconstitution of docosa-hexaenoic acid biosynthesis[J]. *Journal of Lipid Research*, 2004, 45(10):1 899 – 1 909.
- [56] Kaunitz H, Slanetz C A, Johnson R E, et al. Relation of saturated, medium – and long – chain triglycerides to growth, appetites, thirst and weight maintenance requirements[J]. *The Journal of Nutrition*, 1958, 64(4):513 – 524.
- [57] Dehesh K, Jones A, Knutson D S, et al. Production of high levels of 8:0 and 10:0 fatty acids in transgenic canola by overexpression of *Ch FatB2*, a thioesterase cDNA from *Cuphea hookeriana* [J]. *The Plant Journal*, 1996, 9(2):167 – 172.
- [58] Dehesh K, Edwards P, Fillatti J, et al. KAS IV: a 3 – ketoacyl – ACP synthase from *Cuphea sp.* is a medium chain specific condensing enzyme[J]. *The Plant Journal*, 1998, 15(3):383 – 390.
- [59] Durrett T P, McClosky D D, Tumaney A W, et al. A distinct DGAT with sn – 3 acetyltransferase activity that synthesizes unusual, reduced – viscosity oils in *Euonymus* and transgenic seeds[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, 107(20):9 464 – 9 469.
- [60] Bursal J, Shockey J, Lu C, et al. Metabolic engineering of hydroxy fatty acid production in plants: RcDGAT2 drives dramatic increases in ricinoleate levels in seed oil [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2008, 6(8):819 – 831.
- [61] Li R, Yu K, Hatanaka T, et al. *Vernonia* DGATs increase accumulation of epoxy fatty acids in oil[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2010, 8(2):184 – 195.
- [62] Li R, Yu K, Wu Y, et al. *Vernonia* DGATs can complement the disrupted oil and protein metabolism in epoxigenase – expressing soybean seeds[J]. *Metabolic Engineering*, 2012, 14(1):29 – 38.
- [63] Shockey J M, Gidda S K, Chapital D C, et al. Tung tree DGAT1 and DGAT2 have nonredundant functions in triacylglycerol biosynthesis and are localized to different subdomains of the endoplasmic reticulum[J]. *The Plant Cell*, 2006, 18(9):2 294 – 2 313.

(责任编辑:肖唐华)