

三烯生育酚研究进展

李彦娇¹, 高媛¹, 王磊^{1,2*}, 张兰^{1,2*}

1.中国农业科学院生物技术研究所, 北京 100081;

2.三亚中国农业科学院南繁研究院, 海南 三亚 572000

摘要: 三烯生育酚和生育酚统称为维生素E, 是重要的脂溶性维生素。维生素E只能在植物或者光合细菌中合成, 是人类和动物必需且只能通过食物等摄取的重要维生素。一直以来, 由于三烯生育酚与生育酚相比, 生物活性较低且分布范围较小, 人们对其研究相对较少。近些年的研究发现, 由于三烯生育酚和生育酚的结构相似, 因此三烯生育酚具有与生育酚相同的抗氧化等功能; 但又由于三烯生育酚含有不饱和的植基侧链, 使得三烯生育酚还具有一些不同于生育酚的功能, 比如保护神经免受损伤、降低胆固醇、保护脑细胞免受损伤等。因此, 三烯生育酚逐渐成为了研究热点。根据维生素E的生物合成途径, 人们也开始了对三烯生育酚的生物强化研究, 其合成途径中第一个关键酶基因 *HGGT* 的过表达是目前三烯生育酚含量提高的最有效途径; 将来还需结合其合成调控的分子机制及其吸收利用问题, 开发针对三烯生育酚的功能型产品。从三烯生育酚的合成途径、生物学功能、生物强化等方面进行了综述, 并对今后的研究重点提出了展望。

关键词: 三烯生育酚; 合成途径; 生物学功能; 生物强化

DOI: 10.19586/j.2095-2341.2021.0167

中图分类号: Q566 文献标识码: A

Research Progress of Tocotrienol

LI Yanjiao¹, GAO Yuan¹, WANG Lei^{1,2*}, ZHANG Lan^{1,2*}

1. *Biotechnology Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China;*

2. *National Nanfan Research Institute (Sanya), Chinese Academy of Agricultural Sciences, Hainan Sanya 572000, China*

Abstract: Tocotrienol and tocopherol collectively referred to as vitamin E, are important fat-soluble vitamins. Vitamin E can only be synthesized by plants or photosynthetic bacteria. It is essential for human and animal nutrition and can only be ingested from outside. For a long time, due to its lower bioactivity and limited distribution than tocopherol, few research has been done on tocotrienol. Recent studies have found that due to the similar structure of tocotrienol and tocopherol, tocotrienol has the same antioxidant as tocopherol. While due to the unsaturated side chain, tocotrienol also has some functions different from tocopherol, such as protecting nerves from damage, lowering cholesterol and protecting brain cells from damage. Therefore, the research of tocotrienol has gradually become a hot spot. According to the biosynthetic pathway of vitamin E, people have also begun the study of tocotrienol biofortification, overexpression of the first key enzyme gene *HGGT* is the most effective way to improve the content of tocotrienol. In the future, it is necessary to combine the molecular mechanism of its synthesis and regulation and its absorption and utilization to develop functional products targeting at tocotrienol. In this paper, the synthetic pathway, biological function and biofortification of tocotrienol were reviewed, and the research focus in the future was prospected.

Key words: tocotrienol; biosynthetic pathway; biological function; biofortification

早在1922年, Evans和Bishops就发现了维生素E。当小鼠体内缺乏一种脂溶性小分子化合物

时会致其不育^[1], 由于这类物质能够影响动物的生殖机能, 因此被命名为生育酚。但直到1936—

收稿日期: 2021-10-11; 接受日期: 2021-10-28

基金项目: 国家转基因生物新品种培育重大专项(2016ZX08003-002); 三亚崖州湾科技城管理局2020年度科技计划项目(SKJC-2020-02-005)。

联系方式: 李彦娇 E-mail: 1217558152@qq.com

*通信作者 王磊 E-mail: caaswlwl@163.com; 张兰 E-mail: zhanglan20000@163.com

1937年,维生素E的化学结构才被确定下来。生育酚(tocopherol)、三烯生育酚(tocotrienol)的结构均是由芳香环头部连接来自于类异戊二烯的疏水尾巴,二者最大的区别是生育酚的植基侧链是饱和的,而三烯生育酚的植基侧链含有3个不饱和双键。根据芳香环头部含有甲基的数目和位置的不同,分别有 α 、 β 、 γ 、 δ 四种形式的生育酚和三烯生育酚。尽管维生素E只能在植物或者光合细菌等光合组织合成,但维生素E的功能最早是在动物中发现的,主要归因于在动物中最早发现了 α -生育酚转运蛋白(α -tocopherol transfer protein, α -TTP)^[2]。维生素E在动物体内具有抗氧化、降低胆固醇、抗肿瘤、预防心脑血管疾病和神经保护等重要生理功能。近年来的研究发现,维生素E在植物体内也至关重要,其可以清除活性氧,阻止脂质过氧化,保护光系统和维护生物膜的稳定性;还参与植物生长发育、糖类运输和信号转导,能够提高植物对非生物逆境的适应性^[3]。

植物中生育酚分布较为广泛,而三烯生育酚分布范围较小,并且其生物活性和生物利用率均较低^[4],所以早期的工作主要集中于生育酚的功能及其生物强化研究^[3,5]。但近年来研究发现,三烯生育酚的抗氧化功效远高于生育酚。从医学应用来讲,三烯生育酚具有强大的神经保护、抗癌以及降低胆固醇的功能,而且,口服三烯生育酚还可以保护脑细胞免受损伤,这些都是生育酚所不具备的功能^[6-8]。因此,三烯生育酚的研究逐渐成为近年来的研究热点。三烯生育酚主要产生于多种单子叶植物中,如大麦、小麦、燕麦、黑麦、水稻、油棕榈、椰子等,而目前的报道尤以棕榈油中三烯生育酚的含量最高^[9]。由于三烯生育酚具有保持人体和动物健康的特性,现在已经从米糠和棕榈油的脱臭馏出物提取三烯生育酚用于商业化生产^[7-8,10-11]。但由于总体上三烯生育酚的含量较低,仍需要利用基因工程的手段提高其含量。随着三烯生育酚合成途径日渐清晰,人们也已经开始了其生物强化研究。目前报道较多的就是利用三烯生育酚生物合成途径的第一个关键酶基因HGGT的高表达来提高三烯生育酚的含量^[12-14]。本文从三烯生育酚的合成途径入手,针对三烯生育酚的生物学功能、生物强化等方面的研究进展进行综述,并对其将来的研究方向提出展望。

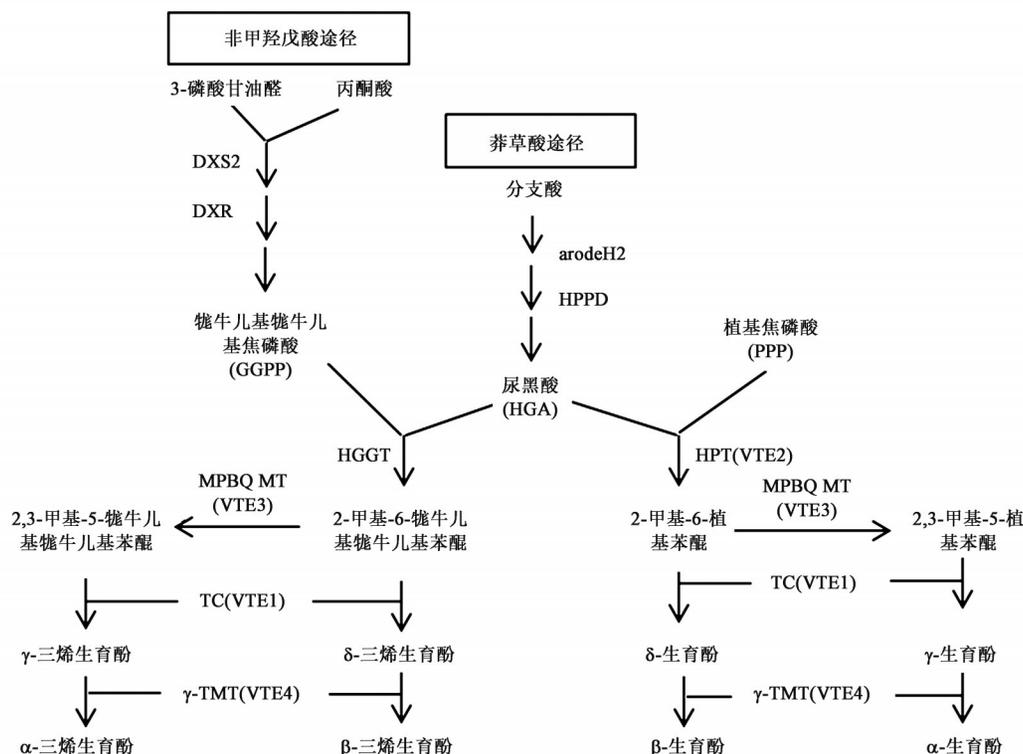
1 三烯生育酚的生物合成及分布

三烯生育酚和生育酚具有相似的生物合成途径,均在质体中发生,它们的前体物质分别是尿黑酸(homogentisate, HGA)和牻牛儿牻牛儿基焦磷酸(geranylgeranyl-pyrophosphate, GGPP)、HGA和植基焦磷酸(phytyl-pyrophosphate, PPP)^[1]。HGA来自于莽草酸途径的4-羟基丙酮酸(4-hydroxyphenylpyruvate, HPP)经4-羟基丙酮酸二加氧酶(p-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase, HPPD)的催化生成,是三烯生育酚和生育酚合成的共同前体物质;PPP和GGPP则主要来自于非甲羟戊酸途径。尿黑酸牻牛儿牻牛儿基转移酶(homogentisate geranylgeranyl-transferase, HGGT)催化GGPP和HGA发生缩合反应起始三烯生育酚的合成^[8,15],接下来经由生育酚环化酶(tocopherol cyclase, TC/VTE1)、2-甲基-6-植基苯醌甲基转移酶(MPBQ methyltransferase, MPBQ MT/VTE3)、 γ -生育酚甲基转移酶(γ -tocopherol methyltransferase, γ -TMT/VTE4)的催化生成 α -、 β -、 γ -、 δ -四种不同组分(图1)。

三烯生育酚主要产生于多种单子叶植物种子中,如大麦、小麦、燕麦、黑麦、水稻、油棕榈、椰子等^[9]。目前棕榈油中三烯生育酚的含量最高,达到 $550 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,且 α -、 β -、 γ -、 δ -三烯生育酚四种组分均存在,而以 γ -形式存在的三烯生育酚含量最高^[16];米糠中三烯生育酚的含量仅次于棕榈油,达到 $465 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

2 三烯生育酚的生物学功能

三烯生育酚和生育酚具有相似的结构,因此三烯生育酚也具有生育酚所具有的一些功能,如抗氧化等^[17]。由于三烯生育酚具有不饱和植基侧链,因此三烯生育酚又具有了一些不同于生育酚的功能,比如三烯生育酚的不饱和侧链使其能够有效地穿透含有饱和脂肪层的组织,如肝脏和脑组织等,更好地分布在细胞膜的脂肪层,从而有更优越的抗氧化功能和清除自由基作用^[18];三烯生育酚的侧链可以增加代谢中间产物法尼醇的含量,从而抑制羟甲基戊二酸单酰辅酶A还原酶(HMG-CoA还原酶)的活性,因此三烯生育酚具有



注: DXS—1-脱氧-D-木酮糖-5-磷酸合酶; DXR—1-脱氧-D-木酮糖-5-磷酸还原异构酶; arodeH2—无机酸/预苯酸脱氢酶家族蛋白; HPPD—对羟苯丙酮酸双加氧酶; HGGT—尿黑酸牻牛儿基牻牛儿基转移酶; HPT(VTE2)—尿黑酸植基转移酶; MPBQ MT(VTE3)—2-甲基-6-植基苯醌甲基转移酶; TC(VTE1)—生育酚环化酶; γ-TMT(VTE4)—γ-生育酚甲基转移酶。

图1 三烯生育酚/生育酚的生物合成途径

Fig.1 Biosynthetic pathway of tocotrienol/tocopherol

降低胆固醇的功能;三烯生育酚还具有抗血管生成的特性,且细胞摄取潜力是生育酚的70倍^[8, 19]。

2.1 抗氧化作用

维生素E是一种脂溶性抗氧化剂,通过氧化还原反应,清除自由基,阻止脂质过氧化反应的发生。Matringe等^[20]研究了生育酚和三烯生育酚在植物体内的抗氧化功能。转HPPD-PDH基因烟草叶片中三烯生育酚含量大幅提高;在高光胁迫下,野生型和转基因烟草幼叶中糖积累相似,但转基因烟草叶片中三烯生育酚含量下降,表明在清除氧自由基过程中消耗了维生素E,同时也表明三烯生育酚可以作为有效的抗氧化剂保护膜脂免受过氧化损伤。Che等^[21]在高粱中过表达HGGT基因和类胡萝卜素合成途径关键酶基因DXS、PSY和CRT I,研究结果表明,转基因高粱中不但三烯生育酚和β-胡萝卜素得到大量积累,而且β-胡萝卜素的储存稳定性得到了大幅提高,表明三烯生育酚起到了应有的抗氧化作用,使得β-胡萝卜素免受氧化降解。Salimath等^[6]在棉花种子

中过表达HGGT基因,使得三烯生育酚含量大幅提高,更主要的是利用该转基因棉花种子提取的棉籽油中三烯生育酚含量升高,不但增加了棉籽油的营养成分,更有利于人体健康,而且延长了棉籽油的货架期。

三烯生育酚的抗氧化作用在减缓动脉粥样硬化发展上有重要意义,可改善动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)。AS会引起冠心病、脑梗死、外周血管病等疾病,而三烯生育酚的抗氧化能力可以有效地抑制体内形成低密度脂蛋白、氧化型低密度脂蛋白以及甘油三酯,从而抑制形成动脉粥样硬化斑块^[22]。Valenza等^[23]对大鼠肝脏微粒体膜质过氧化过程的研究显示,α-生育酚和α-三烯生育酚在清除自由基的能力上几乎没有差异,但α-三烯生育酚的抗氧化活性比α-生育酚更强,前者约是后者的40倍;同时保护细胞色素P450的能力也更强,前者为后者的615倍。这也反映了三烯生育酚具有比生育酚更广阔的应用前景。

2.2 抗癌、抗炎作用

炎症的本质是机体受到刺激时的一种防御反应。癌是指起源于上皮组织的恶性肿瘤。炎症反应在肿瘤的发生、发展、恶变、侵袭和转移等不同的阶段中起决定性作用^[24-25]。生育酚和三烯生育酚均能通过降低血清中C反应蛋白(C-reactive protein, CRP)、晚期糖基化终末产物水平以及细胞黏附分子的表达来起到抗炎作用,但是三烯生育酚的作用大于生育酚^[26]。Ahn等研究了 γ -三烯生育酚对NF- κ B活化通路和NF- κ B调节凋亡的基因产物的影响,结果表明,三烯生育酚通过抑制诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, INOS)和环氧合酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)的产生以及抑制核转录因子NF- κ B的表达来实现抗炎活性^[27-28]。多项研究发现,三烯生育酚通过调节NF- κ B信号途径、PI3 K/AKT信号途径、MAPK途径来实现抑制肿瘤细胞增殖、促进肿瘤细胞凋亡和抗血管生成的作用^[29-31]。

另外,三烯生育酚还可以对机体免疫细胞及免疫因子的表达进行调节,从而提高免疫力,预防癌症^[32-34]。Ren等^[32]通过对幼龄(4月龄)和老龄(23月龄)C57BL/6小鼠饲喂三烯生育酚和含有等量生育酚的饮食6周,发现老龄小鼠三烯生育酚干预组体内淋巴细胞增殖能力明显高于对照组,而幼鼠无明显差异,结果表明三烯生育酚在改善与年龄相关的T细胞功能下降方面有重要意义。Mahalingam等^[33]研究了补充TRF(富含三烯生育酚的组分)对正常健康人体破伤风类毒素免疫应答的影响,结果发现,补充TRF显著增加了志愿者血浆中的总维生素E水平,TRF具有免疫刺激效应和潜在的临床益处,可以增强对疫苗的免疫反应。

2.3 神经保护作用

癫痫、帕金森病等神经系统的疾病病理损伤的主要机制是血谷氨酸水平升高介导的神经兴奋性毒性。研究发现,三烯生育酚处于高浓度时通过抗氧化特性进行神经保护作用,而低浓度时则通过不依赖于抗氧化特性的机制进行神经保护作用。Khanna等^[35]在研究亚油酸诱导的神经毒性时发现,亚油酸会导致氧化剂损伤和随后的神经毒性,研究结果证实微摩尔的 α -三烯生育酚起到了保护神经元的抗氧化剂的作用。而在纳摩尔浓度下,三烯生育酚调节特定的神经退行性信号过

程^[36-38]。Sen等^[38]的研究发现,纳摩尔级的 α -三烯生育酚可以完全行使神经保护的功能。纳摩尔级的低作用量标志着 α -三烯生育酚的神经保护功能不是通过抗氧化来修复损伤,而是通过调节神经变性信号实现的。Khanna等^[39]的研究首次证实谷氨酸诱导的cpl2改变是一种新的神经保护机制,可在纳摩尔浓度的 α -三烯生育酚作用下观察到,据此已经建立了依赖三烯生育酚抗氧化特性的神经保护作用机制以及不依赖于抗氧化特性的神经保护作用机制。

三烯生育酚的神经保护功能也不仅局限于抗谷氨酸上,其还能应对谷胱甘肽、高半胱氨酸缺乏以及亚麻酸感应的氧化压力^[35-37]。Osakada等^[40]的研究发现,从棕榈油中分离得到的三烯生育酚可显著减轻过氧化氢诱导的神经毒性,还可显著保护超氧化物供体百草枯、一氧化氮供体S-亚硝基半胱氨酸和3-吗啉啶的细胞毒性;另外, α -三烯生育酚在纹状体神经元培养中显示出最强的神经保护作用。

2.4 降低胆固醇的功能

血液中胆固醇过多是心血管疾病的主要原因,因此,降低胆固醇是预防心血管疾病的有效手段。人们一般会通过合理饮食、适当运动、服用药物等来降低胆固醇含量。近年来的研究发现,三烯生育酚具有降低胆固醇的作用。Qureshi等^[41-42]的研究发现,大麦中提取的三烯生育酚既抑制了肝脏中胆固醇合成途径的限速酶HMG-CoA还原酶的活性,又降低了血清中低密度脂蛋白(LDL)胆固醇水平,从而降低了胆固醇的生物合成水平。Cicero^[43]分析认为,三烯生育酚通过干预HMG-CoA还原酶基因的转录后调控来调节该基因的表达,并能加速HMG-CoA还原酶的分解,从而影响胆固醇的合成。Parker等^[44]在动物细胞水平上的研究结果也证明了三烯生育酚是通过HMG-CoA还原酶的转录后抑制方式来降低胆固醇含量的。

以上研究结果说明,人们可以通过食用含有三烯生育酚的食物来预防心血管疾病、神经受损性疾病,抵抗炎症预防癌症等,这也对三烯生育酚的生物强化提出了更高的要求。但是目前存在的主要问题是,三烯生育酚的吸收利用率较低,这也是未来研究的一个重要课题。

3 三烯生育酚的生物强化

由于三烯生育酚重要的生物学功能,人们已经根据其合成途径开展了生物强化研究。从三烯生育酚的合成途径来看,*HGGT*是其合成途径的第一个关键酶基因,因此*HGGT*已经被作为首选基因来研究三烯生育酚的生物强化。同时,人们在利用合成途径中其他关键酶基因研究维生素E生物强化时,也意外地提高了三烯生育酚的含量。这表明,植物体内三烯生育酚的合成至少受两方面的控制:一是由其合成关键酶的高表达决定,二是受到其合成前体物质含量的限制。

3.1 *HGGT*基因过表达提高三烯生育酚含量

目前,*HGGT*编码基因已经在大麦、水稻等作物中得到克隆,而且近些年也得到了广泛应用。Cahoon等^[12]首先克隆了大麦的*HGGT*基因并研究了其功能。将大麦*HGGT*基因在玉米中过表达发现,转基因玉米籽粒中维生素E含量提高了6倍,其中生育酚含量并无变化,主要增加的成分是三烯生育酚;而在本不存在三烯生育酚的拟南芥和烟草中分别过表达大麦*HGGT*基因和水稻*HGGT*基因,转基因拟南芥和烟草叶片中维生素E含量分别提高了5倍和15倍,也是以大量提高三烯生育酚含量为主^[12,45]。分别在大豆和亚麻荠中过表达大麦*HGGT*基因,转基因种子中维生素E含量分别提高了10倍和6倍,并且提高的部分主要成分也是三烯生育酚^[46]。Salimath等^[6]将大麦*HGGT*基因导入棉花,使得转基因棉花种子中三烯生育酚含量大幅提高,更主要的是利用该转基因棉花种子提取的棉籽油中三烯生育酚升高,不但增加了棉籽油的营养成分,更有利于人体健康,而且延长了棉籽油的货架期。Che等^[21]在高粱中过表达大麦*HGGT*基因和类胡萝卜素合成途径关键酶基因*DXS*、*PSY*和*CRT I*,转基因高粱中不但三烯生育酚和 β -胡萝卜素得到大量积累,而且 β -胡萝卜素稳定性得到了大幅提升。这些数据表明,采用此种策略,不仅三烯生育酚得到了强化,而且三烯生育酚起到了其应有的抗氧化作用使得 β -胡萝卜素免受氧化降解。

以上研究表明,*HGGT*基因是三烯生育酚合成的重要基因,而且*HGGT*基因的高表达是三烯

生育酚含量提高的有效途径,并且三烯生育酚还能很好地保护其他营养成分;同时也从侧面反映出*HGGT*决定了三烯生育酚的生物合成。

3.2 合成途径其他关键酶基因过表达提高三烯生育酚含量

上述都是过表达*HGGT*基因进行三烯生育酚生物强化比较成功的例子,但也有的实验并没有得到人们预想的结果,比如Kim等^[47]在大豆中过表达水稻的*HGGT*基因,转基因大豆中三烯生育酚含量仅提高了26.3%~35.9%,初步分析可能与基因的来源有关,也可能与使用的启动子、受体材料等不同有关。因此,人们也尝试利用合成途径其他关键酶基因过表达来提高三烯生育酚含量。

HGA是生育酚和三烯生育酚共同的合成前体物质,因此研究人员采用提高HGA含量的策略来提高维生素E含量。在拟南芥和烟草中共表达羟基苯丙酮酸双加氧酶HPPD和预苯酸脱氢酶TyrA,转基因植株叶片中维生素E含量分别提高了2倍和10倍;而在拟南芥、大豆和油菜种子中过表达HPPD和TyrA基因,转基因材料中维生素E含量分别提高了1.8倍、2.6倍和2.4倍^[48-50]。以上转基因植株中HGA得到了积累,提高的维生素E以三烯生育酚为主,表明前体物质HGA的含量是限制三烯生育酚合成的一个主要因素,过表达HPPD和TyrA基因是提高三烯生育酚含量的一种有效途径。

三烯生育酚合成的另一前体物质GGPP,是多种代谢物(类胡萝卜素、叶绿素、赤霉素以及萜类等)的共同前体物质,也是生育酚的另一前体物质PPP的来源之一,因此分析GGPP的含量对三烯生育酚的合成至关重要。强化策略是利用其合成途径的关键酶基因过表达来提高GGPP的含量。GGPP来自于非甲羟戊酸途径,目前研究较多的是过表达非甲羟戊酸途径的第一个和第二个关键酶基因*DXS*和*DXR*,但是,实验结果并未得到三烯生育酚含量提高的预期^[51-53]。推测是由于GGPP处于多种代谢物合成的关键节点位置,可能体内存在复杂的调控网络。Ruiz-Sola等^[54]报道了对拟南芥GGPP合成酶GGPPS的研究,发现GGPPS11是一些类异戊二烯类物质合成必需的。后续三烯生育酚的生物强化研究可以考虑利用GGPPS基因。

3.3 提高高活性的三烯生育酚组分含量

尽管三烯生育酚的活性相对于生育酚较低,从强化的角度目前也未提及提高高活性的三烯生育酚组分含量的要求,但是从上述报道中看出, α -三烯生育酚比 α -生育酚抗脂质过氧化的能力更强。因此,从抗氧化活性的角度,提高活性较高的 α -和 β -三烯生育酚组分也可以作为强化的一部分。Konda等^[46]在大豆中过表达大麦*HGGT*基因和大豆 γ -*TMT*基因,使得本不含有三烯生育酚的大豆种子中维生素E含量升高了8~10倍,主要是三烯生育酚含量增多,并且相对活性较高的 α -和 β -三烯生育酚含量得到了提高,同时提高了油品质量。玉米中过表达*ZmTMT*基因,不但使得转基因玉米种子中 α -生育酚含量大幅提高,同时 α -三烯生育酚含量也得到了提高^[55]。Munusamy等^[56]对苋菜和韭菜中*HPT*进行转录后沉默PTGS研究时发现,维生素E组分的合成发生了转移。由于*HPT*发生了沉默,从而使得 α -生育酚的合成减少;而当 α -生育酚的含量降低到非常低的水平时,植物自身从莽草酸途径切换到非甲羟戊酸途径,并开始产生 α -三烯生育酚作为一种补偿。

4 展望

三烯生育酚对动物和植物均表现出了很强的生物学功能,尤其是在人类医药方面展现出了巨大的应用前景,并且使用天然来源的三烯生育酚越来越受到人们的欢迎。因此,解析三烯生育酚合成的分子机制、提高三烯生育酚含量仍是未来研究的重点。

近年来,三烯生育酚的研究受到人们的广泛关注,其生物强化主要是围绕*HGGT*基因开展的,也确实起到了比较好的效果^[12, 45-46, 57]。但是,目前对三烯生育酚的研究还远远不够。因此,人们已经从遗传学角度分析了维生素E的合成。Diepenbrock等^[58]的研究发现,不仅维生素E核心合成途径中的*HGGT1*、 γ -*TMT*对维生素E合成起主要作用,而且其上游非核心合成途径中的*DXS2*、*DXS3*、*ArodeH2*以及*HPPD1*等也与维生素E的合成密切相关。*DXS2*和*DXS3*是非甲羟戊酸途径的关键酶基因,控制着三烯生育酚合成前体物质GGPP的含量;*ArodeH2*和*HPPD1*是莽草酸途径的关键酶基因,影响着维生素E的合成前体

物质HGA的含量。尽管已有的对*DXS*的研究未达到人们的预期结果,但是今后对于三烯生育酚的生物强化研究,人们仍可以考虑利用核心合成途径与非核心合成途径关键酶基因共表达的方法来更好地提高三烯生育酚的含量。另外,利用维生素E的抗氧化特性可以提高其他营养成分的稳定性,从而延长作物的储藏期,提高油品品质^[21, 46, 59]。近些年营养强化日渐提上日程,这些研究为将来进行多营养性状育种工作提供了借鉴。

已有研究表明,维生素E的合成受光调控影响,经分析发现,基因的启动子区含有光反应顺式作用元件(GATA-box、昼夜LHC和AT1-box)、对不同植物激素反应的元件(赤霉素、细胞分裂素、生长素和脱落酸)以及光响应元件^[60]。对非洲油棕榈中*HPT*基因和*HGGT*基因的启动子分析发现,这两个启动子中均存在多个激素响应元件以及光响应元件^[61],暗示了可能有转录因子与启动子的这些元件结合从而调控维生素E的合成。因此,今后可以从维生素E合成关键酶基因启动子入手,挖掘维生素E合成的调控因子,阐明调控维生素E合成的分子机制。

三烯生育酚具有生育酚不具有的一些生物学功能,但是目前只在动物体内发现了 α -生育酚的结合蛋白,其能够高度专一地结合 α -生育酚,使三烯生育酚不能很好地被吸收利用。因此,有效解决三烯生育酚的吸收和利用问题,并开发针对三烯生育酚的功能型动植物产品才能使三烯生育酚更好地为人类服务。

参 考 文 献

- [1] EVANS H M, BISHOP K S. On the existence fo a hitherto unrecognized dietary factor essential for reproduction [J]. Science, 1922, 56(1458): 650-651.
- [2] VALENTIN H E, QI Q. Biotechnological production and application of vitamin E: current state and prospects[J]. Appl. Microbiol. Biotechnol., 2005, 68(4): 436-444.
- [3] 张兰,王磊. 植物中维生素E的生物学功能研究进展[J]. 生物技术进展, 2016, 6(6): 389-395.
- [4] BABURA S R, NOR S, ABDULLAH A, et al. Advances in genetic improvement for tocotrienol production: a review[J]. J. Nutr. Sci. Vitaminol., 2017, 63(4): 215-221.
- [5] 姚兴兰,王磊,张兰. 植物维生素E生物强化研究进展[J]. 生物技术进展, 2020, 10(05): 45-52.
- [6] SALIMATH S S, ROMSDAHL T B, KONDA A R, et al. Production of tocotrienols in seeds of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) enhances oxidative stability and offers nutraceutical poten-

- tial[J]. *Plant Biotechnol. J.*, 2021, 19(6):1268–1282.
- [7] SEN C K, KHANNA S, ROY S. Tocotrienols: vitamin E beyond tocopherols[J]. *Life Sci.*, 2006, 78(18):2088–2098.
- [8] AGGARWAL B B, SUNDARAM C, PRASAD S, *et al.* Tocotrienols, the vitamin E of the 21st century: its potential against cancer and other chronic diseases[J]. *Biochem. Pharmacol.*, 2010, 80(11):1613–1631.
- [9] HORVATH G, WESSJOHANN L, BIGIRIMANA J, *et al.* Differential distribution of tocopherols and tocotrienols in photosynthetic and non-photosynthetic tissues[J]. *Phytochemistry*, 2006, 67(12):1185–1195.
- [10] FALK J, MUNNÉ-BOSCH S. Tocochromanol functions in plants: antioxidation and beyond[J]. *J. Exp. Bot.*, 2010, 61(6):1549–1566.
- [11] MUNNE-BOSCH S, ALEGRE L. The function of tocopherols and tocotrienols in plants[J]. *Crit. Rev. Plant Sci.*, 2002, 21(1): 31–57.
- [12] CAHOON E B, HALL S E, RIPP K G, *et al.* Metabolic redesign of vitamin E biosynthesis in plants for tocotrienol production and increased antioxidant content[J]. *Nat. Biotechnol.*, 2003, 21(9):1082–1087.
- [13] ZENG Z, HAN N, LIU C, *et al.* Functional dissection of HGGT and HPT in barley vitamin E biosynthesis via CRISPR/Cas9-enabled genome editing[J]. *Ann. Bot.*, 2020, 126(5):929–942.
- [14] HU, X, LIU J, LI W, *et al.* Biosynthesis and accumulation of multi-vitamins in black sweet corn (*Zea mays* L.) during kernel development[J]. *J. Sci. Food Agric.*, 2020, 100(14):5230–5238.
- [15] ZHANG G Y, LIU R R, XU G, *et al.* Increased α -tocotrienol content in seeds of transgenic rice overexpressing *Arabidopsis* γ -tocopherol methyltransferase[J]. *Transgenic Res.*, 2013, 22(1):89–99.
- [16] HASSANIEN M M M, ABDEL-RAZEK A G, RUDZINSKA M, *et al.* Phytochemical contents and oxidative stability of oils from non-traditional sources[J]. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2014, 116(11):1563–1571.
- [17] WONG R S Y, RADHAKRISHNAN A K. Tocotrienol research: past into present[J]. *Nutr. Rev.*, 2012, 70(9):483–490.
- [18] SUZUKI Y J, TSUCHIYA M, WASSALL S R, *et al.* Structural and dynamic membrane properties of alpha-tocopherol and alpha-tocotrienol: implication to the molecular mechanism of their antioxidant potency[J]. *Biochemistry*, 1993, 32(40):10692–10699.
- [19] KHOSLA P, PATEL V, WHINTER J M, *et al.* Postprandial levels of the natural vitamin E tocotrienol in human circulation [J]. *Antiox. Redox Sign.*, 2006, 8(5–6):1059–1068.
- [20] MATRINGE M, KSAS B, REY P, *et al.* Tocotrienols, the unsaturated forms of vitamin E, can function as antioxidants and lipid protectors in tobacco leaves[J]. *Plant Physiol.*, 2008, 147(2):764–778.
- [21] CHE P, ZHAO Z Y, GLASSMAN K, *et al.* Elevated vitamin E content improves all-trans beta-carotene accumulation and stability in biofortified sorghum[J]. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2016, 113(39):11040–11045.
- [22] STEINBERG D, PARTHASARATHY S, CAREW T E, *et al.* Beyond cholesterol. modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity[J]. *New Eng. J. Med.*, 1989, 320(14):915–924.
- [23] VALENZA M, SERBINOVA E, PACKER L, *et al.* Nitecapone protects the Langendorff perfused heart against ischemia-reperfusion injury[J]. *Biochem. Mol. Biol. Intern.*, 1993, 29(3): 443–449.
- [24] AGGARWAL B B. Inflammation, a silent killer in cancer is not so silent! [J]. *Curr. Opin. Pharmacol.*, 2009, 9(4):347–350.
- [25] GRIVENNIKOV S I, GRETEN F R, KARIN M. Immunity, inflammation, and cancer[J]. *Cell*, 2010, 140(6):883–899.
- [26] PRASAD K. Tocotrienols and cardiovascular health[J]. *Curr. Pharm. Des.*, 2011, 17(21):2147–2154.
- [27] WU S J, LIU P L, NG L T. Tocotrienol-rich fraction of palm oil exhibits anti-inflammatory property by suppressing the expression of inflammatory mediators in human monocytic cells[J]. *Mol. Nutr. Food Res.*, 2008, 52(8):921–929.
- [28] AHN K S, SETHI G, KRISHNAN K, *et al.* Gamma-tocotrienol inhibits nuclear factor-kappaB signaling pathway through inhibition of receptor-interacting protein and TAK1 leading to suppression of antiapoptotic gene products and potentiation of apoptosis[J]. *J. Biol. Chem.*, 2007, 282(1):809–820.
- [29] SYLVESTER P W, AYOUB N M. Tocotrienols target PI3K/Akt signaling in anti-breast cancer therapy[J]. *Anticancer. Agents Med. Chem.*, 2013, 13(7):1039–1047.
- [30] WEI L H, KUO M L, CHEN C A, *et al.* The anti-apoptotic role of interleukin-6 in human cervical cancer is mediated by up-regulation of Mcl-1 through a PI 3-K/Akt pathway[J]. *Oncogene*, 2001, 20(41):5799–5809.
- [31] HUSAIN K, FRANCOIS R A, YAMAUCHI T, *et al.* Vitamin E δ -tocotrienol augments the antitumor activity of gemcitabine and suppresses constitutive NF- κ B activation in pancreatic cancer[J]. *Mol. Cancer Ther.*, 2011, 10(12):2363–2372.
- [32] REN Z, PAE M, DAO M C, *et al.* Dietary supplementation with tocotrienols enhances immune function in C57BL/6 mice [J]. *J. Nutr.*, 2010, 140(7):1335–1341.
- [33] MAHALINGAM D, RADHAKRISHNAN A K, AMOM Z, *et al.* Effects of supplementation with tocotrienol-rich fraction on immune response to tetanus toxoid immunization in normal healthy volunteers[J]. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 2011, 65(1):63–69.
- [34] ZHAO L, YAGIZ Y, XU C, *et al.* Muscadine grape seed oil as a novel source of tocotrienols to reduce adipogenesis and adipocyte inflammation[J]. *Food Funct.*, 2015, 6(7):2293–2302.
- [35] KHANNA S, ROY S, PARINANDI N L, *et al.* Characterization of the potent neuroprotective properties of the natural vitamin E alpha-tocotrienol[J]. *J. Neurochem.*, 2006, 98(5):1474–1486.
- [36] SEN C K, KHANNA S, ROY S, *et al.* Molecular basis of vitamin E action. Tocotrienol potently inhibits glutamate-induced pp60(c-Src) kinase activation and death of HT4 neuronal cells [J]. *J. Biol. Chem.*, 2000, 275(17):13049–13055.
- [37] KHANNA S, ROY S, RYU H, *et al.* Molecular basis of vitamin E action: tocotrienol modulates 12-lipoxygenase, a key mediator of glutamate-induced neurodegeneration[J]. *J. Biol. Chem.*, 2003, 278(44):43508–43515.
- [38] SEN C K, KHANNA S, ROY S. Tocotrienols in health and disease: the other half of the natural vitamin E family[J]. *Mol. As-*

- pects Med., 2007, 28(5-6):692-728.
- [39] KHANNA S, PARINANDI N L, KOTHA S R, *et al.*. Nanomolar vitamin E alpha-tocotrienol inhibits glutamate-induced activation of phospholipase A2 and causes neuroprotection[J]. J. Neurochem., 2010, 112(5):1249-1260.
- [40] OSAKADA F, HASHINO A, KUME T, *et al.*. Alpha-tocotrienol provides the most potent neuroprotection among vitamin E analogs on cultured striatal neurons[J]. Neuropharmacology, 2004, 47(6):904-915.
- [41] QURESHI A A, SAMI S A, SALSER W A, *et al.*. Synergistic effect of tocotrienol-rich fraction [TRF(25)] of rice bran and lovastatin on lipid parameters in hypercholesterolemic humans [J]. J. Nutr. Biochem., 2001, 12(6):318-329.
- [42] QURESHI A A, SAMI S A, SALSER W A, *et al.*. Dose-dependent suppression of serum cholesterol by tocotrienol-rich fraction (TRF25) of rice bran in hypercholesterolemic humans[J]. Atherosclerosis, 2002, 161(1):199-207.
- [43] CICERO A F, GADDI A. Rice bran oil and gamma-oryzanol in the treatment of hyperlipoproteinaemias and other conditions [J]. Phytother. Res., 2001, 15(4):277-289.
- [44] PARKER R A, PEARCE B C, CLARK R W, *et al.*. Tocotrienols regulate cholesterol production in mammalian cells by post-transcriptional suppression of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase[J]. J. Biol. Chem., 1993, 268(15):11230-11238.
- [45] TANAKA, H, YABUTA Y, TAMOI M, *et al.*. Generation of transgenic tobacco plants with enhanced tocotrienol levels through the ectopic expression of rice homogentisate geranylgeranyl transferase[J]. Plant Biotechnol., 2015, 32(3):233-238.
- [46] KONDA A R, NAZARENUS T J, NGUYEN H, *et al.*. Metabolic engineering of soybean seeds for enhanced vitamin E tocopherol content and effects on oil antioxidant properties in polyunsaturated fatty acid-rich germplasm[J]. Metab. Eng., 2020, 57:63-73.
- [47] KIM Y H, LEE Y Y, KIM Y H, *et al.*. Antioxidant activity and inhibition of lipid peroxidation in germinating seeds of transgenic soybean expressing OsHGGT[J]. J. Agric. Food Chem., 2011, 59(2):584-591.
- [48] KARUNANANDAA B, QI Q, HAO M, *et al.*. Metabolically engineered oilseed crops with enhanced seed tocopherol[J]. Metab. Engin., 2005, 7(5-6):384-400.
- [49] RIPPERT P, SCIMEMI C, DUBALD M, *et al.*. Engineering plant shikimate pathway for production of tocotrienol and improving herbicide resistance[J]. Plant Physiol., 2004, 134(1):92-100.
- [50] ZHANG C, CAHOON R E, HUNTER S C, *et al.*. Genetic and biochemical basis for alternative routes of tocotrienol biosynthesis for enhanced vitamin E antioxidant production[J]. Plant J., 2013, 73(4):628-639.
- [51] ESTÉVEZ J M, CANTERO A, REINDL A, *et al.*. 1-Deoxy-D-xylulose-5-phosphate synthase, a limiting enzyme for plastidic isoprenoid biosynthesis in plants[J]. J. Biol. Chem., 2001, 276(25):22901-22909.
- [52] WRIGHT L P, ROHWER J M, GHIRARDO A, *et al.*. Deoxyxylulose 5-phosphate synthase controls flux through the methylerythritol 4-phosphate pathway in *Arabidopsis*[J]. Plant Physiol., 2014, 165(4):1488-1504.
- [53] CARRETERO-PAULET L, CAIRÓ A, BOTELLA-PAVÍA P, *et al.*. Enhanced flux through the methylerythritol 4-phosphate pathway in *Arabidopsis* plants overexpressing deoxyxylulose 5-phosphate reductoisomerase[J]. Plant Mol. Biol., 2006, 62(4-5):683-695.
- [54] RUIZ-SOLA M Á, COMAN D, BECK G, *et al.*. *Arabidopsis* GERANYLGERANYL DIPHOSPHATE SYNTHASE 11 is a hub isozyme required for the production of most photosynthesis-related isoprenoids[J]. New Phytol., 2016, 209(1):252-264.
- [55] 姚兴兰,杨文竹,罗彦忠等, 转 phyA2, ZmTMT 和 Bar 玉米的获得及其特性分析[J]. 中国农业科学, 2020, 53(24):75-84.
- [56] MUNUSAMY U, NOR S, ABDULLAH A, *et al.*. Metabolic engineering of α -tocotrienol through PTGS mechanisms and isoprenoid/non-mevalonate pathways in perennial crops[J]. Plant Cell Biotechnol. Mol. Biol., 2015, 16(3&4):119-129.
- [57] DOLDE D, WANG T. Oxidation of crude corn oil with and without elevated tocotrienols[J]. J. Am. Oil Chem. Soc., 2011, 88(9):1367-1372.
- [58] DIEPENBROCK C H, KANDIANIS C B, LIPKA A E, *et al.*. Novel loci underlie natural variation in vitamin E levels in maize grain[J]. Plant Cell, 2017, 29(10):2374-2392.
- [59] SUN T, ZHU Q, WEI Z, *et al.*. Multi-strategy engineering greatly enhances provitamin A carotenoid accumulation and stability in *Arabidopsis* seeds[J]. aBIOTECH, 2021, 2(3):191-214.
- [60] CORDOBA E, SALMI M, LEÓN P. Unravelling the regulatory mechanisms that modulate the MEP pathway in higher plants [J]. J. Exp. Bot., 2009, 60(10):2933-2943.
- [61] KONG S L, ABDULLAH S N A, HO C L, *et al.*. Molecular cloning, gene expression profiling and in silico sequence analysis of vitamin E biosynthetic genes from the oil palm[J]. Plant Gene, 2016, 5:100-108.