

## 植物表皮蜡质合成与分泌基因研究进展

王东阳, 邵淑君, 季娜娜, 张新华, 李富军\*

山东理工大学农业工程与食品科学学院, 山东淄博255049

**摘要:** 本文综述了近年来植物表皮蜡质合成与分泌相关基因的主要研究进展, 其中包括与超长链脂肪酸的合成、脱羧基途径(烷烃途径)、酰基还原途径(初级醇途径)相关的基因以及与分泌相关基因的研究。

**关键词:** 植物; 表皮蜡质; 基因; 综述

表皮蜡质是植物与外界接触的第一道屏障。已有的研究表明, 这层由角质层及沉积和附着在其上的蜡质组成的疏水结构层, 在抵御不良环境、阻止病虫害、维持品质、减少蒸腾失水等方面, 具有重要作用(Yeast和Rose 2013; Lara等2014), 并可能参与了器官的发育和细胞的形成(Bach等2011)。关于植物表皮蜡质组成、结构、功能与意义的研究, 有多篇文章进行了全面的综述(岑斌和王慧中2009; 李婧婧等2011; 曾琼等2013; Hen-Avivi等2014; Dominguez等2011), 本文将重点介绍蜡质合成与分泌相关基因的种类及其表达的研究进展。

目前, 尽管植物表皮蜡质合成与分泌途径仍然不完全清楚, 但借助于在拟南芥、水稻、小麦和玉米等植物上的研究结果, 基本可以确定其大致途径(Kunst和Samuels 2009; Bernard和Joubès 2013; Lee和Suh 2015)。

图1表明, 蜡质合成的第一步是在细胞溶胶内, 由一系列脂肪酸合成酶催化, 合成16个C的软脂酸(C<sub>16</sub>), 然后在质体内延伸为硬脂酸(C<sub>18</sub>), 并以此为前体, 在内质网(endoplasmic reticulum, ER)上合成含26~34个C骨架的超长链脂肪酸(very long chain fatty acids, VLCFAs), 形成蜡质合成的直接前体物质; 第二步是VLCFAs经酰基还原途径或者脱羧基途径, 分别生成初级醇、次级醇、醛、酮、酸、烷烃、酯、萜烯类等不同的蜡质成分; 第三步是这些蜡质成分在ABC转运蛋白(ATP binding cassette transporter)和脂转运蛋白(lipid transfer protein, LTP)的共同作用下由内质网转运至质膜, 最后输出至植物蜡质层。可见, 该过程涉及到了蜡质及其前体物质在细胞内外的转移, 需要一系列相关基因及其所表达的酶的参与。

### 1 VLCFAs的合成及相关基因

#### 1.1 VLCFAs的合成

VLCFAs是表皮蜡质合成的前体物质, 其合成

分为两步: 第一步是在植物表皮细胞质体中由脂肪酸合成酶复合体(fatty acid synthase complex, FAS)催化乙酰辅酶A的酰基链, 经过多个循环反应延伸成C<sub>16</sub>或C<sub>18</sub>酰基-ACP, 再由酰基-ACP硫解酶催化形成游离的C<sub>16</sub>或C<sub>18</sub>脂肪酸, 然后由质体外膜上的长链酰基辅酶A合成酶催化形成相应的酰基辅酶A, 转移到内质网上。第二步是在内质网上, 以C<sub>16</sub>或C<sub>18</sub>脂肪酸和丙二酰-CoA作为反应底物, 经脂肪酸延伸酶复合体(fatty acid elongase complex, FAE)催化, 延伸形成具有足够碳链长度的VLCFAs, 用来作为蜡质合成的直接前体(胡晓君等2013; 吉庆勋等2012)。

#### 1.2 VLCFAs合成相关基因

VLCFAs的合成涉及多种酶, 分别由不同的基因编码。Bach等(2008)在拟南芥中发现了*PASTIC-CINO2* (*PAS2*)基因, 并在2011年进一步确认该基因编码β-羟脂酰-CoA脱水酶(β-hydroxyacyl-CoA dehydrase, HCD), 是脂肪酰-CoA延长酶复合体的重要组成部分, 与VLCFA延长相关。Roudier等(2010)指出, *PATICCINO1* (*PAS1*)是内质网上与FAE相关的基因, 在内质网脂肪酸延长酶体系中充当着分子骨架的重要作用, 在缺乏*PAS1*的拟南芥突变体中, VLCFAs的水平会下降。

Richardson等(2007)发现, 大麦中*CUT1*的同源基因*HvCUT1*与VLCFAs的延长相关。在水稻中的研究还发现, *CER6/CUT1*编码VLCFA合成所需要的β-酮脂酰-辅酶A合成酶(β-ketoacyl-CoA synthase, KCS) (Mao等2012), 并有研究证明这是唯一一个专门催化碳原子数大于22的VLCFAs酶(Kunst和Samuels 2009)。Ehret等(2012)在番茄果实中也克

收稿 2015-12-04 修定 2016-04-10

资助 国家自然科学基金(31101587和31201432)。

\* 通讯作者(E-mail: lifujun@sdut.edu.cn)。

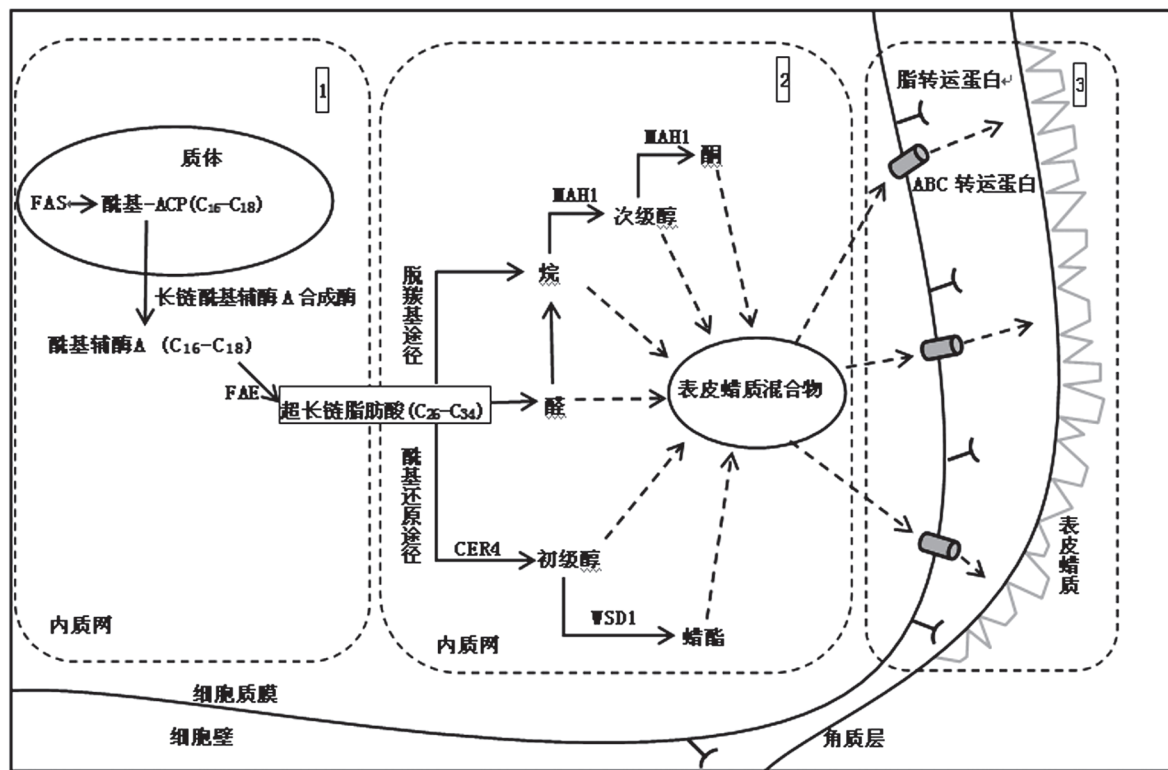


图1 植物表皮蜡质合成与分泌的可能途径示意图

Fig.1 The possible pathway of plant cuticular wax biosynthesis and secretion

FAS: 脂肪酸合成酶复合体; FAE: 脂肪酸延伸酶复合体; ABC转运蛋白: ATP结合盒式转运蛋白; CER4: 脂肪酰基CoA还原酶; WSD1: 蜡质合成/二酰基甘油酰基转移酶(多功能酶); MAH1: 中链烷烃羟化酶。

隆得到了*LeCER6*基因, 并发现在*lecer6*缺失突变体的表皮蜡质中, 碳原子数大于28的VLCFAs含量明显减少。柑橘中的研究也表明, *CsCER6*参与了表皮蜡质的合成(Wang等2014), 其表达的降低是果实表皮光滑的原因之一(Liu等2015)。本实验室在苹果表皮蜡质合成相关基因的研究中也发现, *MdCER6*含有丙二酰CoA结合位点, 三型PKS (CHS-Like)结构域和聚合酶家族序列, 编码了KCS (数据未发表)。

Lee等(2009b)研究发现拟南芥*ECR*和从拟南芥*cer10*突变体中克隆的*CER10*是同一个基因, 并指出, 所有包含VLCFAs的脂质, 包括表皮蜡质、种子甘油三酯和鞘酯的合成需要*CER10/ECR*的参与。该基因编码的烯酰-辅酶A还原酶催化超长链脂肪酸延长反应的最后一步(Lee和Suh 2015)。

由*CS-FAD*基因编码的 $\omega$ -3脂肪酸去饱和酶( $\omega$ -3 fatty acid desaturases, FAD)是控制亚油酸向亚麻酸转换的关键酶, FAD又是不饱和脂肪酸合成途径中的关键酶, 其含量的变化能改变膜脂中

脂肪酸的组成, 尤其是三烯脂肪酸的水平(孟晶晶等2013)。

*KCR1*则编码了与VLCFA生物合成相关的 $\beta$ -酮脂酰-辅酶A还原酶( $\beta$ -ketoacyl-CoA reductase, KCR)。Puyaubert等(2005)在甘蓝中发现, *BnKCR1*参与了VLCFAs的生物合成, 与VLCFAs的延长有关。此后, 在拟南芥(Beaudion等2009)和甜樱桃(Alkio等2012)中也得到了*KCR1*的同源基因*AtKCR1*和*PaK-CR1*, 并分别证明了其功能与*KCR1*相同。

在拟南芥*KCS*家族中, *KCS2*和*KCS20*是 $C_{22}$ 延长所需要的(Lee等2009a); *KCS9*是 $C_{24}$ 合成所需要的, 也是鞘酯和磷脂质合成过程中所必须的(Kim等2013)。KCS基因家族中*CsKCS19*、*CsKCS10*和*KCS11-LIKE1*表达量的降低, 还可能会导致柑橘表皮中脂肪族蜡质的减少(Liu等2015)。

## 2 植物表皮蜡质的合成及相关基因

目前利用同位素示踪和气相色谱-质谱等技术已经基本阐明, 表皮蜡质合成大部分都存在两

种途径,即脱羧基途径,又叫烷烃途径和酰基还原途径,又叫初级醇途径。

脱羧基途径中, VLCFAs在脂酰辅酶A还原酶(fatty acyl-CoA reductase, FAR)的作用下被还原成醛,再经醛脱羧酶催化生成中链烷烃。中链烷烃在中链烷烃羟化酶(middle chain alkane hydroxylase, MAH)的催化下,进行羟化反应生成次级醇,再经MAH二次催化生成酮。酰基还原途径中, VLCFAs被还原成初级醇,初级醇经蜡酯合成酶(wax synthase, WS)的催化,与饱和脂肪酸经缩合反应,生成烷基酯。

### 2.1 脱羧基途径相关基因

脱羧基途径是植物蜡质合成过程中的重要途径,蜡质合成前体VLCFAs在FAR、醛脱羧酶、MAH等催化下进行反应,生成长链烷烃、次级醇和酮等蜡质成分,其过程涉及到*CER1*、*CER22*、*MAH1*、*WAX2*和*GLI*等多个基因的调控。

拟南芥中*CER1*编码与烷烃生物合成和脱羧反应相关的酶,主要在脱羧基途径中表达,并且*CER1*控制烷烃的生物合成与生物和非生物的胁迫高度相关(Bourdenx等2011; Bernard等2012)。小麦中研究发现,*CER1*的同源基因*TaCER1*缺失后(*tacer1*缺失突变体),蜡质中 $C_{30}$ 醛向 $C_{29}$ 烷的转化减少,次级醇和酮的含量也相应降低(Hu等2009)。Alkio等(2012)在甜樱桃中也发现了*CER1*的同源基因*PaCER1*,并指出其与樱桃果实发育早期表皮蜡质沉积有关。黄瓜中的研究表明,*CsCER1*定位于细胞内质网上,在表皮细胞中表达,参与VLCFAs的合成,并受干旱、低温、盐胁迫和ABA诱导(Wang等2015)。柑橘中的研究则表明,*CsCER1*和*CsCER3*表达量的下降,会导致果皮蜡质中烷烃含量的下降(Wang等2014; Liu等2015)。

拟南芥中VLCFAs延伸成长链烷烃后,由*MAH1*编码的中链烷烃羟化酶催化,进行氧化反应生成次级醇,进而生成酮(Greer等2007)。作者克隆并分析了苹果*MdMAH1*基因后也发现,苹果*MdMAH1*含有的PLN03195、p450、CypX和PTZ00404四个保守区,除第一个为编码脂肪酸- $\omega$ -脱氢酶外,其它几个区域均为依赖细胞色素P450区域有关,这与拟南芥中*MAH1* (cytochrome P450 enzyme CYP96A15)的功能一致(数据未发表)。

此外,*WAX2*也与蜡质合成中脱羧基途径密切相关。Mao等(2012)在研究中发现,*wax2*突变体中除了 $C_{30}$ 的初级醇之外,其它的蜡质成分(烷、酮、醛和次级醇)都减少了将近80%。

### 2.2 酰基还原途径相关的基因

酰基还原途径是蜡质合成过程中的另一条重要途径。在该途径中, VLCFAs经酰基还原酶、蜡酯合成酶等催化,生成初级醇、蜡酯等蜡质成分,涉及的基因有*CER4*、*FAR*、*WSD1*和*LACS*等。

FAR是酰基还原途径中非常重要的一个还原酶,催化VLCFAs生成初级醇。*CER4*是编码FAR的一个典型基因(Kunst等2009; Mao等2012)。在拟南芥*cer4*突变体的研究中发现,突变体茎上几乎完全缺失初级醇和烷基酯(Huy等2009),这也证实了*CER4*基因编码的酶是负责初级醇和烷基酯合成的FAR。Albert等(2013)在苹果中发现,在*CER4*基因的调控下, $C_{30}$ 、 $C_{28}$ 和 $C_{26}$ 醇的含量显著增加。Liu等(2015)在柑橘上的研究也表明,*CsCER4-LIKE1*和*CsCER4-LIKE3*表达量的降低会导致果实表皮蜡质中初级醇含量的减少。

其他的一些与FAR具有同源性的基因,包括*FAR5-1*、*FAR4-1*、*CsFAR2*和*FAR1-1*,这些基因分别调控不同碳链长度的初级醇的合成(Domergue等2010)。此外,*FAR2/MS2*基因也编码FAR,参与了初级醇的合成过程(Liu等2015)。

初级醇合成后,在WS的催化下与饱和脂肪酸经缩合反应生成烷基酯。*WSD1*编码主要蜡质合成酶,在拟南芥蜡酯合成过程中起重要作用(Li等2008)。此外,该基因还编码二酰基甘油酰基转移酶,是一个双功能酶。本实验室研究也发现,苹果表皮蜡质合成基因*MdWSD1*含有WES-acyltransf和acyl-WS-DGAT保守区,前者编码蜡质合成酶-类酰基CoA转移酶区域,后者为酰基转移酶,为双功能酶(数据未发表)。但在酵母细胞中的进一步研究表明,*WSD1*基因表达会导致蜡酯的积累,而不是三酰甘油,并且在缺失*WSD1*的拟南芥突变体中,蜡酯的含量会严重的减少。这表明*WSD1*的主要功能是编码蜡酯合成酶,作用于酰基还原途径(Mao等2012; Kunst和Samules 2009)。

*LACS1/CER8*是编码拟南芥中9个(*LACS1*~*LACS9*)长链酰基辅酶A合成酶的基因之一。在拟



南芥*lcs1/cer8*突变体中,茎和叶上除了大于24个碳的超长链脂肪酸增加了155%以外,其余的所有化学成分含量都减少(Kunst和Samules 2009);同*LACS1/CER8*相似,*LACS2*对于辅酶A的酯化反应非常重要(Lu等2009; Mao等2012), Lee等(2009b)发现*LACS1/CER8*和*LACS2*在蜡质和角质的合成上有协同作用。此后, Alkio等(2012)和Albert等(2013)也分别在甜樱桃和苹果上发现*PaLACS2*和*LACS2*基因调控了蜡质成分中脂类的生物合成。Liu等(2015)也发现,柑橘中*LACS1*、*LACS2*和*LACS4*含量的降低,可能是导致长链酰基辅酶A合成减少的原因。

### 3 表皮蜡质合成调控相关基因

目前所发现的基因中,有一部分虽然与表皮蜡质的合成没有直接联系,但却间接影响表皮蜡质基因的表达,调控蜡质的合成。

*CER2*在 $C_{28}$ 超长链脂肪酸延长酶体系中有着重重要的作用。Mcnevin等(1993)发现,在拟南芥*cer2*突变体中,醛、烷烃、次级醇和酮的含量减少,脂肪酸含量增加,初级醇的含量几乎不变,并且,这些成分的链长都比野生型的少2~4个碳原子。因此认为*CER2*的突变阻断了超长链脂肪酸延伸的最后2个步骤,使所有的脂肪酸及其衍生物的链长变短了。由于*CER2*蛋白与参与脂肪酸生物合成的任何酶都没有相似性,因此认为*CER2*基因产物可能是延伸酶的调节因子。Haslam等(2012)在研究中也指出,*CER2*是脂肪酸延长至超长长度所需要的脂肪酸延长机制的一部分,在*cer2*蜡质缺失型突变体中,缺少大于28个碳的蜡质成分。此后, Pascal等(2013)和Haslam等(2015)在研究中也指出,拟南芥*cer2*突变体会减少大于28碳的蜡质成分的含量。

Hooker等(2007)在研究中指出,拟南芥表皮蜡质的合成受到一种抑制因子的调控,它会抑制*CER3/WAX2*的表达,在*cer7*突变体中表现出表皮蜡质合成受阻,而*CER7*核糖核酸酶能识别并降解这种抑制因子的mRNA,使*CER3/WAX2*正常表达,促进蜡质合成。此后,刘小凤等(2014)通过蛋白序列同源比对和PCR技术从黄瓜中克隆获得了调控蜡质合成相关基因*CER7*的序列—*CsCER7*,并指出随着*CsCER7*表达量的升高,黄瓜表皮蜡质含量也会随之升高。

研究发现,拟南芥中*MYB96*表达了与长链脂肪酸浓缩酶基因相关的转录激活因子,在蜡质合成中起着关键性的作用:在*MYB96*转录因子激活的拟南芥突变体中,与蜡质合成相关*KCSI*、*KCS2*、*CER1*和*CER3*等的表达量均会上升;总蜡质、脂肪酸、醛、醇、烷、酮等成分的含量均有一定程度的增加;在*MYB96*转录因子缺失的突变体中,这些基因的表达量则会下降,相应的蜡质成分含量也有所下降(Seo等2011)。柑橘中的研究也表明,*MYB96*表达量的增加与表皮蜡质合成密切相关(Wang等2014)。

*MYB30*作为拟南芥中的另一种转录激活因子,也参与了脂质的生物合成,主要与VLCFAs的合成有关:在*MYB30*转录因子激活的拟南芥突变体中,*LACS3*、*CER2*和*WAX2*等基因的表达量大幅提高,VLCFAs的含量增加了12%, $C_{29}$ 和 $C_{31}$ 的烷烃的含量增加了大约2倍,但醛类、醇类等其他蜡质成分含量变化很小(Raffaele 2008)。

*WIN1/SHN1*基因也表达一种与表皮蜡质积累有关的转录因子,通过调控与拟南芥新陈代谢途径相关的基因来影响蜡质的积累(Kannangara等2007)。当*WIN1*过量表达时, $\omega$ -羟基脂肪酸、16-羟基棕榈酸以及十八烷酸的含量增加, $C_{24}$ 脂肪酸含量下降, $C_{28}$ 脂肪酸含量上升。另外,在*WIN1/SHN1*过量表达的植株中,与蜡质合成相关酶的基因,如*KCSI*、*CER1*、*CER2*等表达量也会上升。Albert等(2013)在苹果中也克隆到了*WIN1/SHN1*的存在,但发现其在苹果果实表皮和叶中表达均比较弱。

Kamigaki等(2009)研究发现,过氧化物酶体生物合成因子(*PEX10*)在维护内质网的形态和调控与拟南芥蜡质合成相关基因表达中起着重要作用。在*pex10*缺失突变体中,*CER4*基因的表达量下降12%,*SHN1*基因的表达量下降42.2%,并可导致*CER1*、*CER4*和*WAX2*基因定位错误。另外,在*pex10*缺失突变体中, $C_{29}$ 烷烃含量下降了76.7%, $C_{30}$ 醛类以及初级醇均下降了54.3%。

### 4 表皮蜡质分泌相关基因

$C_{16}$ ~ $C_{18}$ 的游离脂肪酸从质体运输到内质网,在内质网上合成蜡质后,在ABC转运蛋白和LTP的作用下,将蜡质成分运输到质膜,最后输出至植物蜡质层。

蜡质成分从质膜运输到质外体环境, 必须由脂质双分子层释放。研究者在拟南芥中发现了2个与上述蜡质分泌过程相关的转运蛋白基因*CER5*和*WBC11*。在拟南芥*cer5*和*wbc11*中, 表皮蜡质的含量减少, 细胞内蜡质含量增加(Pighin等2004; Luo等2007; Bird等2008)。*wbc11*突变体蜡的表现型与*cer5*突变体相似, 主要表现在角质的减少、生长和发育的减缓(Bird 2008)。另有研究指出, *WBC12*与蜡质分泌有关: 在*wbc12*突变体中, 表皮蜡质含量下降并且在表皮细胞的细胞质中会出现油脂夹杂物的积累。在柑橘中, *CsABCG11*表达量的降低, 也会导致表皮蜡质中脂肪族成分的降低(Liu等2015)。

*LTPG*基因家族也与表皮蜡质输出相关。拟南芥*ltpg*突变体表皮蜡质成分中的烷烃含量大幅下降, 并且从该突变体中鉴定出的*LTPG*基因编码一种糖基化磷脂酰肌醇结合型的LTP蛋白。已有研究表明, *LTPG1*和*LTPG2*参与了表皮蜡质的输出(DeBono等2009; Kim等2012; Albert等2013)。向建华等(2005)论述了*LTP4*基因, 并认为其功能是编码一个脂质转移蛋白。目前, 已确定*LTPG*定位在质膜上, 具有结合脂质分子的能力, 是脂质转运所必需的一种蛋白。但是, *LTPG*是否具有穿越细胞壁将脂质分泌到表皮的功能尚有待验证(DeBono等2009; Lee等2009b)。

Xue等(2014)在拟南芥中发现了一个新的, 位于内质网和质膜上、与蜡质分泌有关的基因*ATACBP1*。并指出其编码酰基辅酶A结合蛋白(acyl-CoA-binding proteins, ACBPs), 主要参与脂质成分的分泌运输, 与角质层的形成相关。

## 5 展望

植物表皮蜡质的合成和分泌是一个十分复杂的过程。到目前为止, 研究者们通过各种先进的技术手段, 成功阐明了该过程中一些基因及其所编码的酶和转运蛋白的作用(表1), 确定了蜡质成分的主要合成部位是细胞内的内质网, 鉴定出了一些与蜡质成分穿越质膜向质体外分泌相关的蛋白。但在一些基因及其调控的研究上, 仍存在许多的问题, 具体表现在以下几个方面。

(1)对蜡质合成的详细途径、调控因素和相互影响的机制仍然不完全清楚。如对拟南芥*cer10*突

变体的研究表明, 所有包含VLCFAs的脂质, 包括表皮蜡质、种子甘油三酯和鞘酯的合成, 都需要*CER10/ECR*的参与。但是, 在拟南芥*ECR*功能缺失型*cer10*突变体中, 仍然保留了野生型40%的蜡质含量以及一些用于合成种子甘油三酯和鞘酯的VLCFAs, 这表明拟南芥*ECR*的功能可能是冗余的。

(2)蜡质合成涉及多途径、多基因, 目前仍然不能全面阐明, 对于基因的寻找还只限于突变体和同源基因这两条途径, 应当有许多候选基因仍然有待于进一步验证其是否直接或间接参与了蜡质合成。

(3)现在已经发现的许多与蜡质合成相关的基因中, 许多基因的具体功能仍然不能确定, 部分基因的功能鉴定仍然缺乏足够的证据。如: 研究者们发现除了*CUT1/CER6*基因, 还有7个*KCS*基因在拟南芥的茎表皮细胞中表达上调, 其中包括了*FIDDLEHEAD*和*KCS1*, 这些基因的具体功能目前还不清楚, 需要进一步研究(吉庆勋等2012); 从*cer5*和*wbc11*的表型来看, 质膜上蜡质的分泌需要*CER5*和*WBC11*这2个ABC转运蛋白的参与, 但是现在还没有直接的证据证明这2个转运蛋白的底物是蜡质分子; 研究者们认为LTPs可能在蜡质成分的跨壁转运起主要作用, 但是目前也没有直接的试验证据支持这一假说。这一方面是因为在植物体内验证LTPs的功能很困难, 另一方面是因为编码LTPs的候选基因太多, 在拟南芥基因组中就有72个可能编码LTPs的候选基因, 这些问题都需要进一步的实验来鉴定和确认。

(4)转录因子参与了植物表皮蜡质合成和转运的转录调控, 但其机理仍有待于深入研究。转录因子作为调控基因时空特异表达的蛋白质分子, 已有广泛的研究表明其参与了植物各种生命代谢过程的调控。在植物表皮蜡质合成与分泌相关基因的表达与调控网络中, 也有众多相关转录因子的参与, 如前文所述的*WIN1/SHN1*转录因子(Kannangara等2007)。本实验室在苹果表皮蜡质合成相关基因的研究中也发现, 乙烯信号转导途径中AP2/ERF家族的转录因子ERF1与*MdCER6*、*MdCER4*和*MdWAH1*存在乙烯作用的共调节现象, 这初步表明ERF1可能参与到了苹果表皮蜡质基因合成的转录调控(数据未发表)。那么, 类似参与到植

表1 蜡质合成与分泌相关基因

Table 1 Genes related to plant cuticular wax synthesis and secretion

序号	基因名	物种	功能	参考文献
1	<i>PAS2</i>	拟南芥	促进脂肪酸延长	Bach等2008
2	<i>PAS1</i>	拟南芥		Roudier等2010
3	<i>HvCUT1</i>	大麦	编码 $\beta$ -酮脂酰-辅酶A合成酶	Richardson等2007
4	<i>CER6/CUT1</i>	水稻	编码 $\beta$ -酮脂酰-辅酶A合成酶, 催化碳原子数大于22的超长链脂肪酸酶	Mao等2012; Kunst和Samuels 2009
5	<i>LeCER6</i>	番茄	编码 $\beta$ -酮脂酰-辅酶A合成酶, 催化碳原子数大于28的超长链脂肪酸酶	Ehret等2012
6	<i>CsCER6</i>	柑橘	编码 $\beta$ -酮脂酰-辅酶A合成酶, 影响柑橘果实表皮光滑程度	Wang等2014; Liu等2015
7	<i>CER10</i>	拟南芥	编码的烯酰-辅酶A还原酶, 催化超长链脂肪酸延长反应的最后一步	Lee等2009b; Lee和Suh 2015
8	<i>CS-FAD</i>	黄瓜	编码的 $\omega$ -3脂肪酸去饱和酶, 调控亚油酸向亚麻酸的转换	孟晶晶等2013
9	<i>KCR1</i>	拟南芥	编码 $\beta$ -酮脂酰-辅酶A还原酶, 催化超长链脂肪酸延长反应的起始阶段	Beaudion等2009
10	<i>BnKCR1</i>	甘蓝		Puyaubert等2005
11	<i>PaKCR1</i>	甜樱桃		Alkio等2012
12	<i>KCS2</i>	拟南芥	调控C22蜡质成分延长	Lee等2009a
13	<i>KCS20</i>	拟南芥		Lee等2009a
14	<i>KCS9</i>	拟南芥		Kim等2013
15	<i>CsKCS19</i>	柑橘	影响脂肪族蜡质成分含量	Liu等2015
16	<i>CSKCS10</i>	柑橘		Liu等2015
17	<i>KCS11-LIKE1</i>	柑橘		Liu等2015
18	<i>CER1</i>	拟南芥	调控烷烃的合成	Bourdenx等2011; Bernard 2012
19	<i>TaCER1</i>	小麦	调控烷烃的合成, 促进C <sub>30</sub> 醛向C <sub>29</sub> 烷转化	Hu等2009
20	<i>PaCER1</i>	甜樱桃	调控烷烃的合成	Alkio等2012
21	<i>CsCER1</i>	黄瓜		Wang等2014; Liu等2015
22	<i>CsCER3</i>	柑橘		Liu等2015
23	<i>MAH1</i>	拟南芥	编码中链烷烃羟化酶, 氧化超长链脂肪酸	Greer等2007
24	<i>WAX2</i>	拟南芥	减少除了初级醇之外的蜡质成分含量	Mao等2012
25	<i>CER4</i>	拟南芥	编码脂肪酰基还原酶, 促进初级醇的合成	Kunst等2009; Mao等2012; Huy等2009
26	<i>CER4</i>	苹果		Albert等2013
27	<i>CsCER4-LIKE1</i>	柑橘		Liu等2015
28	<i>CsCER4-LIKE3</i>	柑橘		Liu等2015
29	<i>FAR5-1</i>	拟南芥	调控初级醇的合成	Domergue等2010
30	<i>FAR4-1</i>	拟南芥		Domergue等2010
31	<i>CsFAR2</i>	拟南芥		Domergue等2010
32	<i>FAR1-1</i>	拟南芥		Domergue等2010
33	<i>FAR2/MS2</i>	拟南芥		Liu等2015
34	<i>WSD1</i>	拟南芥	编码蜡酯合成酶, 促进蜡酯的合成	Li等2008; Mao等2012; Kunst和Samules 2009
35	<i>LACS1/CER8</i>	拟南芥	编码长链酰基辅酶A合成酶, 激活酰基链	Kunst和Samules 2009; Liu等2015
36	<i>LACS2</i>	拟南芥	编码长链酰基辅酶A合成酶, 调控辅酶A的酯化	Lu等2009; Mao等2012
37	<i>PaLACS2</i>	甜樱桃	编码长链酰基辅酶A合成酶, 调控辅酶A的酯化	Alkio等2012
38	<i>LACS2</i>	苹果		Albert等2013; Liu等2015
39	<i>LACS4</i>	柑橘	编码长链酰基辅酶A合成酶	Liu等2015
40	<i>CER2</i>	拟南芥	降低所有碳链长度超过22的蜡质成分	Mcnevin等1993; Haslam 2012, 2015; Pascal等2013
41	<i>CER7</i>	拟南芥	保证CER3/WAX2正常表达, 促进蜡质合成	Hooker等2007



表1 (续表)

序号	基因名	物种	功能	参考文献
42	<i>CsCER7</i>	黄瓜	促进蜡质合成	刘小凤等2014
43	<i>MYB96</i>	拟南芥	长链脂肪酸浓缩酶基因相关的转录激活因子	Seo等2011
44	<i>MYB96</i>	柑橘		Wang等2014
45	<i>MBY30</i>	拟南芥	脂肪酸延长相关的转录因子	Raffaele等2008
46	<i>W1N1/SHN1</i>	拟南芥	蜡质积累相关的转录因子	Kannangara等2007; Seo和Park 2011
47	<i>W1N1/SHN1</i>	苹果		Albert等2013
48	<i>PEX10</i>	拟南芥	维护内质网的形态和调控与拟南芥蜡质合成相关基因表达	Kamigaki等2009
49	<i>CER5</i>	拟南芥	促进蜡质成分分泌转运	Pighin等2004
50	<i>WBC11</i>	拟南芥		Bird 2008; Bird等2007; Luo 等2007
51	<i>CsABCG11</i>	柑橘	影响脂族蜡质成分分泌转运	Liu等2015
52	<i>LTPG1</i>	拟南芥	促进蜡质成分分泌转运	DeBono等2009; Kim等2012
53	<i>LTPG1</i>	苹果		Albert等2013
54	<i>LTPG2</i>	拟南芥		DeBono等2009; Kim等2012
55	<i>LTP4</i>	拟南芥	编码脂质转移蛋白	向建华等2005
56	<i>ATACBP1</i>	拟南芥	编码酰基辅酶A结合蛋白, 调控脂质成分分泌转运	Xue等2014

物表皮蜡质合成的转录因子还有哪些, 他们对外源因子, 如光照、干旱、乙烯等的调控是如何响应的, 各自的结合和效应位点在哪里, 是直接还是间接起作用的等一系列问题, 都有待于更加深入的研究来揭示。

随着分子生物学和遗传学的不断发展, 各种新的研究方法不断出现, 现在基因组学、转录组学、蛋白质组学和代谢组学技术以及RNA干涉、酵母双杂交、基因芯片等新技术日益成熟, 并且已经在研究蜡质合成和转运过程开始应用, 这些新技术的运用, 将为植物蜡质合成、转运机理和调控网络的深入研究提供有力的支持。

### 参考文献

- Albert Z, Ivanics B, Molnar A, Misko A, Toth M, Papp I (2013). Candidate genes of cuticle formation show characteristic expression in the fruit skin of apple. *Plant Growth Regul*, 70 (1): 71–78
- Alkio M, Jonas U, Sprink T, Nocker SV, Knoche M (2012). Identification of putative candidate genes involved in cuticle formation in *Prunus avium* (sweet cherry) fruit. *Ann Bot*, 110 (1): 101–112
- Bach L, Michaelson LV, Haslam R, Bellec Y, Gissot L, Marion J, Costa MA, Boutin JP, Miquel M, Tellier F, et al (2008). The very-long-chain hydroxy fatty acyl-CoA dehydratase *PASTICCINO2* is essential and limiting for plant development. *Proc Natl Acad Sci USA*, 105 (38): 14727–14731
- Bach L, Gissot L, Marion J, Tellier F, Moreau P, Beatrice SJ, Palauqui JC, Napier JA, Faure JD (2011). Very-long-chain fatty acids are required for cell plate formation during cytokinesis in *Arabidopsis thaliana*. *J Cell Sci*, 124 (19): 3223–3234
- Beaudoin F, Wu XZ, Li FL, Haslam RP, Markham JE, Zheng HQ, Napier JA, Kunst L (2009). Functional characterization of the *Arabidopsis*  $\beta$ -ketoacyl-coenzyme a reductase candidates of the fatty acid elongase. *Plant Physiol*, 150 (3): 1174–1191
- Bernard A, Domergue F, Pascal S, Jetter R, Renne C, Faure J D, Haslam RP, Napier JA, Lessire R, Joubes J (2012). Reconstitution of plant alkane biosynthesis in yeast demonstrates that *Arabidopsis* *ECERIFERUM1* and *ECERIFERUM3* are core components of a very-long-chain alkane synthesis complex. *Plant Cell*, 24 (7): 3106–3118
- Bernard A, Joubès J (2013). *Arabidopsis* cuticular waxes: advances in synthesis, export and regulation. *Prog Lipid Res*, 52 (1): 110–129
- Bird D, Beisson F, Brigham A, Shin J, Greer S, Jetter R, Kunst L, Wu XM, Yephremov A, Samuels L (2007). Characterization of *Arabidopsis* *ABCG11/WBC11*, an ATP binding cassette (ABC) transporter that is required for cuticular lipid secretion. *Plant J*, 52 (3): 485–498
- Bird DA (2008). The role of ABC transporters in cuticular lipid secretion. *Plant Sci*, 174 (6): 563–569
- Bourdenx B, Bernard A, Domergue F, Pascal S, Leger A, Roby D, Pervent M, Vile D, Haslam RP, Napier JA, et al (2011). Overexpression of *Arabidopsis* *ECERIFERUM1* promotes wax very-long-chain alkane biosynthesis and influences plant response to biotic and abiotic stresses. *Plant Physiol*, 156 (1): 29–45
- Cen B, Wang HZ (2009). Research progress in plant wax synthesis and secretion. *Bull Sci Technol*, 25 (3): 265–270 (in Chinese with English abstract) [岑斌, 王慧中(2009). 植物蜡质合成与分泌的研究进展. *科技通报*, 25 (3): 265–270]
- DeBono AD, Yeats TH, Rose JKC, Bird D, Jetter R, Kunst L, Samuels L (2009). *Arabidopsis* *LTPG* is a glycosylphosphatidylinositol-anchored lipid transfer protein required for export of lipids to the plant surface. *Plant Cell*, 21 (21): 1230–1238

- Domergue F, Vishwanath SJ, Joubes J, Ono J, Lee JA, Bourdon M, Alhattab R, Lowe C, Pascal S, Lessire R, et al (2010). Three *Arabidopsis* fatty acyl-coenzyme A reductases, FAR1, FAR4, and FAR5, generate primary fatty alcohols associated with suberin deposition. *Plant Physiol*, 153 (4): 1539–1554
- Dominguez E, Cuartero J, Heredia A (2011). An overview on plant cuticle biomechanics. *Plant Sci*, 181 (2): 77–84
- Ether DJ, Frey B, Helmer T, Aharoni A, Wang Z, Jetter R (2012). Fruit cuticular and agronomic characteristics of a *lecer6* mutant of tomato. *J Hort Sci Biotechnol*, 87 (6): 619–625
- Greer S, Wen M, Bird D, Wu X, Samuels L, Kunst L, Jetter R (2007). The cytochrome P450 enzyme CYP96A15 is the mid-chain-alkane hydroxylase responsible for formation of secondary alcohols and ketones in stem cuticular wax of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol*, 145 (3): 653–667
- Haslam TM, Fernandez MA, Zhao LF, Kunst L (2012). *Arabidopsis ECERFERUM2* is a component of the fatty acid elongation machinery required for fatty acid extension to exceptional lengths. *Plant Physiol*, 160 (3): 1164–1174
- Haslam TM, Haslam R, Thoraval D, Pascalc S, Deludec C, Domergue F, Fernández MA, Beaudoinb F, Napierb J A, Kunsta L, et al (2015). *CER2-like* proteins have unique biochemical and physiological functions in very-long-chain fatty acid elongation. *Am Soci Plant Biol*, 167 (3): 682–692
- Hen-Avivi S, Lashbrooke J, Costa F, Aharoni A (2014). Scratching the surface: genetic regulation of cuticle assembly in fleshy fruit. *J Expl Bot*, 65 (16): 4653–4664
- Hooker T, Lam P, Zheng HQ, Kunst L (2007). A core subunit of the RNA-processing/degrading exosome specifically influences cuticular wax biosynthesis in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 19 (3): 904–913
- Hu XJ, Zhang ZB, Li WQ, Fu ZY, Zhang SX, Xu P (2009). cDNA cloning and expression analysis of a putative decarbonylase *Ta-Cer1* from wheat (*Triticum aestivum* L.). *Acta Physiol Plant*, 31 (6): 1111–1118
- Hu XJ, Zhang ZB, Liu W, Han QD, Jia HT (2013). Research progress of plant cuticular wax and very-long-chain fatty acids (VLCFA). *J Anhui Agricul Sci*, 41 (12): 5176–5178, 5185 (in Chinese with English abstract) [胡晓君, 张正斌, 刘文, 韩庆典, 贾洪涛 (2013). 植物表皮蜡质及长链脂肪酸类物质的研究. *安徽农业科学*, 41 (12): 5176–5178, 5185]
- Huy TPD, Anders SC, Hamberg M, Bulow L, Stymne S, Olsson P (2009). Functional expression of five *Arabidopsis* fatty acyl-CoA reductase genes in *Escherichia coli*. *J Plant Physiol*, 166 (8): 787–796
- Ji QX, Liu DC, Liu Y (2012). Advances of plant cuticular wax biosynthesis and export pathway. *Chin Agricul Sci Bull*, 28 (3): 225–232 (in Chinese with English abstract) [吉庆勋, 刘德春, 刘勇 (2012). 植物表皮蜡质合成和运输途径的研究. *中国农学通报*, 28 (3): 225–232]
- Kamigaki A, Kondo M, Mano S, Hayashi M, Nishimura M (2009). Suppression of peroxisome biogenesis factor 10 reduces cuticular wax accumulation by disrupting the ER network in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol*, 50 (12): 2034–2046
- Kannangara R, Branigan C, Liu Y, Penfield T, Rao V, Mouille G, Hofte H, Pauly M, Riechmann J, Broun P (2007). The transcription factor *WIN1/SHN1* regulates cutin biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell*, 19 (4): 1278–1294
- Kim H, Lee SB, Kim HJ, Min MK, Hwang I, Suh MC (2012). Characterization of glycosylphosphatidylinositol-anchored lipid transfer protein 2 (*LTPG2*) and overlapping function between *LTPG/LTPG1* and *LTPG2* in cuticular wax export or accumulation in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol*, 53 (8): 1391–1403
- Kim J, Jung JH, Lee SB, Go YS, Kim HJ, Cahoon R, Markham JE, Cahoon EB, Suh MC (2013). *Arabidopsis* 3-ketoacyl-coenzyme A synthase is involved in the synthesis of tetracosanoic acids as precursors of cuticular waxes, suberins, sphingolipids, and phospholipids. *Plant Physiol*, 162 (2): 567–580
- Kunst L, Samuels L (2009). Plant cuticles shine: advances in wax biosynthesis and export. *Plant Biol*, 12 (6): 721–727
- Lara I, Belge B, Goulao LF (2014). The fruit cuticle as a modulator of postharvest quality. *Postharvest Biol Technol*, 87 (1): 103–112
- Lee SB, Jung SJ, Go YS, Kim JK, Cho HJ, Park OK, Suh MC (2009a). Two *Arabidopsis* 3-ketoacyl CoA synthase genes, *KCS20* and *KCS2/DAISY*, are functionally redundant in cuticular wax and root suberin biosynthesis, but differentially controlled by osmotic stress. *Plant J*, 60 (3): 462–475
- Lee SB, Go YS, Bae HJ, Park JH, Cho SH, Cho HJ, Lee DS, Park OK, Hwang I, Suh MC (2009b). Disruption of glycosylphosphatidylinositol-anchored lipid transfer protein gene altered cuticular lipid composition, increased plastoglobules, and enhanced susceptibility to infection by the fungal pathogen *alternaria brassicicola*. *Plant Physiol*, 150 (1): 42–54
- Lee SB, Suh MC (2015). Advances in the understanding of cuticular waxes in *Arabidopsis thaliana* and crop species. *Plant Cell Rep*, 34 (4): 557–572
- Li FL, Wu XM, Lam P, Bird D, Zheng HQ, Samuels L, Jetter R, Kunst L (2008). Identification of the wax ester synthase/acyl-coenzyme A: diacylglycerol acyltransferase *WSD1* required for stem wax ester biosynthesis in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 148 (1): 97–107
- Li JJ, Huang JH, Xie SC (2011). Plant wax and its response to environmental conditions: an overview. *Acta Ecol Sin*, 31 (2): 565–574 (in Chinese with English abstract) [李婧婧, 黄俊华, 谢树成 (2011). 植物蜡质及其与环境的关系. *生态学报*, 31 (2): 565–574]
- Liu DC, Yang L, Zheng Q, Wang YC, Wang ML, Zhuang X, Wu Q, Liu CF, Liu SB, Liu Y (2015). Analysis of cuticular wax constituents and genes that contribute to the formation of ‘glossy Newhall’, a spontaneous bud mutant from the wild-type ‘Newhall’ navel orange. *Plant Mol Biol*, 88 (6): 573–590
- Liu XF, An JB, Zhang LX, Wang WJ, Xu C, Ren HZ (2014). Cloning and expression analysis of *CsCER7*, a relative gene may regulate wax synthesis in cucumber. *Acta Hortic Sin*, 41 (4): 661–671 (in



- Chinese with English abstract) [刘小凤, 安静波, 张立新, 王文娇, 徐冲, 任华中(2014). 黄瓜调控蜡质合成相关基因*CsCER7*的克隆与表达分析. 园艺学报, 41 (4): 661–671]
- Lu S, Song T, Kosma DK, Parsons EP, Rowland O, Jenks MA (2009). *Arabidopsis CER8* encodes *LONG-CHAIN ACYL-COA SYNTHETASE1 (LACS1)* that has overlapping functions with *LACS2* in plant wax and cutin synthesis. *Plant J*, 59 (4): 553–564
- Luo B, Xue XY, Hu WL, Wang LJ, Chen XY (2007). An ABC transporter gene of *Arabidopsis thaliana*, *AtWBC11*, is involved in cuticle development and prevention of organ fusion. *Plant Cell Physiol*, 48 (12): 1790–1802
- Mao BG, Cheng ZJ, Lei CL, Xu FH, Gao SW, Ren YL, Wang JL, Zhang X, Wang J, Wu FQ, et al (2012). Wax crystal-sparse leaf2, a rice homologue of *WAX2/GL1*, is involved in synthesis of leaf cuticular wax. *Planta*, 235 (1): 39–52
- McNevin JP, Woodward W, Hannoufa A, Feldmdmann KA, Lenieux B (1993). Isolation and characterization of *eceriferum (cer)* mutants induced by T-DNA insertions in *Arabidopsis thaliana*. *Genome*, 36 (3): 610–618
- Meng JJ, Qin ZW, Zhou XY, Xin M (2013). Progress of study on functional genes in cucumber. *Acta Horti Sin*, 40 (9): 1767–1778 (in Chinese with English abstract) [孟晶晶, 秦智伟, 周秀艳, 辛明(2013). 黄瓜功能基因研究进展. 园艺学报, 40 (9): 1767–1778]
- Pascal S, Bernard A, Sorel M, Pervent M, Vile D, Haslam RP, Napier JA, Lessire R, Domergue F, Joubes J (2013). The *Arabidopsis cer26* mutant, like the *cer2* mutant, is specifically affected in the very long chain fatty acid elongation process. *Plant J*, 73 (5): 733–746
- Pighin JA, Zheng HQ, Balakshin LJ, Goodman IP, Western TL, Jetter R, Kunst L, Samuels AL (2004). Plant cuticular lipid export requires an ABC transporter. *Science*, 306 (5969): 702–704
- Puyaubert J, Garcia C, Chevalier S, Lessire R (2005). Acyl-CoA elongase, a key enzyme in the development of high-erucic acid rapeseed?. *Eur J Lipid Sci Technol*, 107 (107): 263–267
- Raffaele S, Vaillau F, Leger A, Joubes J, Miersch O, Huard C, Blee E, Mongrand S, Domergue F, Roby D (2008). A MYB transcription factor regulates very-long-chain fatty acid biosynthesis for activation of the hypersensitive cell death response in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 20 (3): 752–767
- Richardson A, Bosdari A, Schreiber L, Kerstiens G, Jarvis M, Herzyk P, Fricke W (2007). Cloning and expression analysis of candidate genes involved in wax deposition along the growing barley (*Hordeum vulgare*) leaf. *Planta*, 226 (6): 1459–1473
- Roudier F, Gissot L, Beaudoin F, Haslam R, Michaelson L, Marion J, Molino D, Lima A, Bach L, Morin H, et al (2010). Very-long-chain fatty acids are involved in polar auxin transport and developmental patterning in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 22 (2): 364–375
- Seo P J, Lee S B, Suh M C, Park M J, Go Y S, Park C M (2011). The MYB96 transcription factor regulates cuticular wax biosynthesis under drought conditions in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 23 (3): 1138–1152
- Wang JQ, Hao HH, Liu RS, Ma QL, Xu J, Chen F, Cheng YJ, Deng XX (2014). Comparative analysis of surface wax in mature fruits between Satsuma mandarin (*Citrus unshiu*) and ‘Newhall’ navel orange (*Citrus sinensis*) from the perspective of crystal morphology, chemical composition and key gene expression. *Food Chem*, 153: 177–185
- Wang WJ, Zhang Y, Xu Chong, Ren JJ, Liu XF, Black K, Gai XS, Wang Q, Ren HZ (2015). Cucumber *ECERIFERUM1 (CsCER1)*, which influences the cuticle properties and drought tolerance of cucumber, plays a key role in VLC alkanes biosynthesis. *Plant Mol Biol*, 87 (3): 219–233
- Xiang JH, Chen XB, Zhou XY (2005). Research progress in plant cuticular wax genes. *Lett Biotechnol*, 16 (2): 224–227 (in Chinese with English abstract) [向建华, 陈信波, 周小云(2005). 植物角质层蜡质基因的研究进展. 生物技术通讯, 16 (2): 224–227]
- Xue Y, Xiao S, Kim J, Lung SC, Chen L, Tanner JA, Suh MC, Chye ML (2014). *Arabidopsis* membrane-associated acyl-CoA-binding protein *ACBPI* is involved in stem cuticle formation. *J Expl Bot*, 65 (18): 5473–5483
- Yeats TH, Rose JKC (2013). The formation and function of plant cuticles. *Am Soci Plant Biol*, 163 (1): 5–20
- Zeng Q, Liu DC, Liu Y (2013). The overview and prospect of chemical composition of plant cuticular wax. *Acta Ecol Sin*, 33 (17): 5133–5140 (in Chinese with English abstract) [曾琼, 刘德春, 刘勇(2013). 植物角质层蜡质的化学组成研究综述. 生态学报, 33 (17): 5133–5141]

## Research advances on genes related to plant cuticular wax synthesis and secretion

WANG Dong-Yang, SHAO Shu-Jun, JI Na-Na, ZHANG Xin-Hua, LI Fu-Jun\*

*School of Agricultural Engineering and Food Science, Shandong University of Technology, Zibo, Shandong 255049, China*

**Abstract:** The research advances on genes related to the plant cuticular wax synthesis and secretion in recent years were reviewed in this paper, mainly included the genes related to the synthesis of very long chain fatty acids (VLCFAs), the decarbonylation pathway (alkanes pathway) and the acyl reduction pathway (primary alcohol pathway), and the genes related to the wax secretion.

**Key words:** plant; cuticular wax; gene; review

---

Received 2015-12-04 Accepted 2016-04-10

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant Nos. 31101587 31201432).

\*Corresponding author (E-mail: lifujun@sdut.edu.cn).