

## 甘油-3-磷酸酰基转移酶在植物脂质代谢、生长及逆境反应中的作用

陈文玲, 张晴晴, 唐韶华, 龚伟, 洪月云\*

华中农业大学作物遗传改良国家重点实验室, 武汉430070

**摘要:** 甘油脂质是高等植物中含量最丰富的脂质, 其种类包括磷脂、糖脂、油脂及胞外脂质等, 广泛参与不同的生物过程。甘油-3-磷酸酰基转移酶(GPAT)利用各种脂肪族酰基或其衍生物作为底物催化甘油-3-磷酸(G3P)脂酰基化反应形成溶血磷脂酸(LPA), 是脂质合成代谢途径中的限速酶。植物GPAT家族含有多个成员, 根据其亚细胞定位、酶活性及底物选择性, 拟南芥GPAT家族10个成员可分为3类。不同的GPAT具有独特的分子结构、活性调控及时空分布, 并参与膜磷脂、甘油三脂、角质及软木脂合成代谢过程。研究表明极具分子异质性的GPAT在植物生长、发育和逆境胁迫反应过程中发挥着重要作用。

**关键词:** 植物甘油-3-磷酸酰基转移酶; 溶血磷脂酸; 甘油脂质合成; 甘油三脂; 胞外脂质

脂代谢是生物体内的基本代谢之一, 脂质种类繁多, 功能各异。植物脂质包括油脂、膜脂、信号分子、光合色素、香精油、植物激素以及植物表面保护性物质, 在植物生长发育和逆境反应中起重要作用。植物脂质功能可归纳为3方面: (1) 脂质是生物体重要的结构物质, 如细胞膜脂双层和植物组织器官表面的保护性脂质。(2) 脂质是重要的生理活性物质和信号分子, 例如磷脂酸(phosphatidic acid, PA)、茉莉酸、油菜素内酯及磷脂酰肌醇衍生物等广泛参与各种生物学过程; 此外, 脂质代谢中间体和香精油在花粉传媒或防御中具有重要作用。(3) 脂质是高效贮能物质, 单位重量脂质贮存的能量是碳水化合物和蛋白质的两倍多, 储存脂质如甘油三脂(triacylglycerol, TAG)为种子萌发和生物代谢提供了能量和碳源。此外, 植物油脂富含不饱和脂肪酸, 如油酸、亚油酸和亚麻酸等必需脂肪酸, 是人类必不可少的重要营养物质。一些含特殊脂肪酸的脂质也是重要的工业原料, 而且随着石油能源日趋短缺, 植物油脂作为绿色可持续性能源, 在安全、环保、可再生等方面显示出了巨大的优势和发展空间, 有望成为化石能源的代替者之一, 以缓解能源危机。

### 1 甘油脂质代谢合成途径概述

甘油脂质是以甘油作为分子骨架, 在甘油分子的 *sn*-1、*sn*-2或*sn*-3位羟基进行脂酰基化而成, 其种类包括磷脂、糖脂、甘油三脂及胞外脂质如角质和软木脂等, 是植物脂质的主要组分(Li-Beisson等2013)。甘油脂质的从头合成是首先在甘油-3-磷酸

酰基转移酶(glycerol-3-phosphate acyltransferase, GPAT)催化甘油-3-磷酸(glycerol-3-phosphate, G3P)的脂酰基化形成溶血磷脂酸(lysophosphatidic acid, LPA), 继而在LPA酰基转移酶(LPA acyltransferase, LPAAT)的催化下形成PA (Yang等2010, 2012; Li-Beisson等2013) (图1)。LPA及PA是甘油脂质代谢的重要中间产物, 是磷脂、糖脂、甘油三脂及胞外脂质合成途径的共同前体物。同时LAP和PA也是重要的信号分子, 通过调控下游靶标的活性或亚细胞定位参与不同的生物过程, 在膜脂代谢、信号转导、细胞骨架重塑等生物学过程中具有重要作用(Zhang等2004; Wang等2006; Hong等2016)。

植物PA的从头合成包括定位于叶绿体的原核途径和发生于内质网的真核途径(Kunst等1988; Ohlrogge和Browse 1995) (图1)。原核途径中, 由叶绿体定位的GPAT (也称ATS1)和LPPAT1 (也称ATS2)利用位于叶绿体脂肪酸合酶的直接产物油酸-脂酰基载体蛋白(oleic acyl-acyl carrier protein, C18:1-ACP)或棕榈酸-ACP (palmitic acyl-ACP, C16:0-ACP)作为脂酰基供体, 在叶绿体中相继催化G3P的*sn*-1和*sn*-2脂酰基化形成PA (Kunst等1988; Xu等2006) (图1)。在叶绿体中合成的PA主要有3个流向: 一是经过3步反应形成磷脂酰甘油(phosphatidylglycerol, PG); 二是由磷脂酸磷酸酶(PA phosphatase, PAP)催化PA去磷酸化反应形成二脂酰甘

收稿 2018-03-21 修定 2018-04-07

资助 国家自然科学基金(31271514)。

\* 通讯作者(hongyy@mail.hzau.edu.cn)。

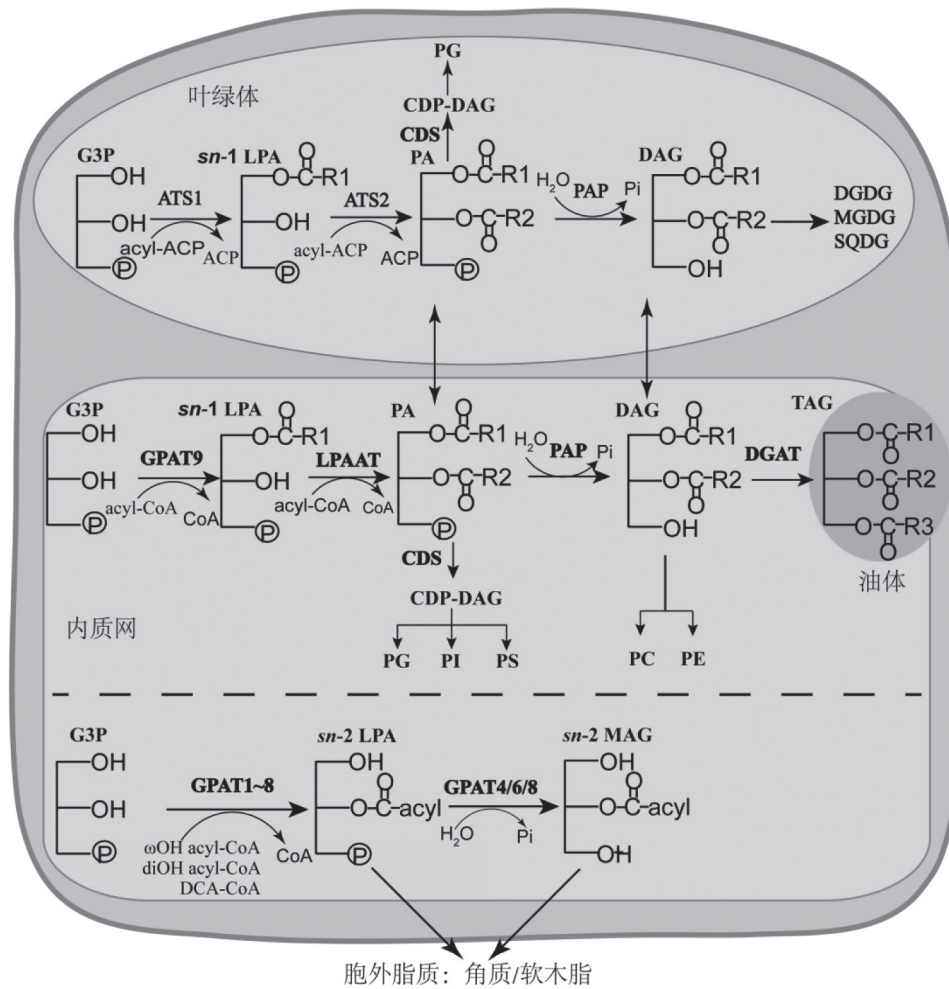


图1 甘油脂质生物合成途径

Fig.1 Glycerolipid biosynthesis pathway

甘油脂质合成代谢主要包括发生于叶绿体的原核途径及发生于内质网的真核途径。DAG: 二脂酰甘油; DGDG: 双半乳糖二脂酰甘油; G3P: 甘油-3-磷酸; LPA: 溶血磷脂酸; MAG: 单脂酰甘油; MGDG: 单半乳糖二脂酰甘油; PA: 磷脂酸; PC: 磷脂酰胆碱; PE: 磷脂酰乙醇胺; PG: 磷脂酰甘油; PI: 磷脂酰肌醇; PS: 磷脂酰丝氨酸; SQDG: 硫代异鼠李糖二脂酰甘油; TAG: 三脂酰甘油。

油(diacylglycerol, DAG), 继而在叶绿体中进一步在DAG的 $sn$ -3进行糖基化而衍生糖脂包括单半乳糖二脂酰甘油(monogalactosyldiacylglycerol, MGDG)、双半乳糖二脂酰甘油(digalactosyldiacylglycerol, DGDG)和硫代异鼠李糖二脂酰甘油(sulfoquinovosyldiacylglycerol, SQDG) (Kobayashi等2007; Okazaki等2009; Li-Beisson等2013), MGDG、DGDG、PG及SQDG是叶绿体膜脂的基本骨架成分, 对维持光系统的正常功能至关重要; 三是以PA或其去磷酸化的DAG形式转运至内质网中, 为磷脂和油脂合成提供底物(图1)。

真核途径主要在内质网进行, 其PA和DAG合

成步骤与原核途径相似, 但由定位于内质网中的GPAT和LPAAT利用脂酰-辅酶A (acyl-coenzyme A, acyl-CoA)作为脂酰基供体分别催化G3P分子 $sn$ -1和 $sn$ -2的脂酰基化反应形成PA (Ohlrogge和Browse 1995; Li-Beisson等2013)。该途径是磷脂合成的主要途径(图1)。生成的PA在内质网中可经PAP的去磷酸化形成DAG, 进而经DAG脂酰基转移酶(DAG acyltransferase, DGAT)催化DAG的 $sn$ -3脂酰基化形成TAG。发生于内质网经GPAT、LPAAT和DGAT相继催化G3P的 $sn$ -1、 $sn$ -2及 $sn$ -3脂酰基化形成TAG的反应过程也称为Kennedy途径(Wang等2012; Li-Beisson等2013)。同时, PA及其去磷酸化的DAG可

在内质网中经各种反应进一步形成磷脂如磷脂酰胆碱(phosphatidylcholine, PC)、磷脂酰乙醇胺(phosphatidylethanolamine, PE)、PG、磷脂酰肌醇(phosphatidylinositol, PI)和磷脂酰丝氨酸(phosphatidylserine, PS) (图1)。此外, 在真核(内质网)途径合成的PA及DAG亦可转运到叶绿体中作为糖脂和硫脂合成底物, 特别是在缺磷条件下, 质体外的磷脂经去磷酸化后转运到叶绿体进行糖脂MGDG和DGDG合成, 然后再输送回质体外的细胞膜系统中, 以补充和维持缺磷条件下细胞膜的完整性(Li等2006; Kobayashi等2009)。研究发现两种途径合成的甘油酯脂肪酸种类往往存在明显差异, 原核(叶绿体)途径合成的甘油酯分子 $sn-2$ 一般偏好C16:0, 而真核(内质网)途径来源的脂质 $sn-2$ 选择C18:1(Ohlrogge和Browse, 1995; Li-Beisson等2013)。

除利用常规脂肪酸外, 陆生植物GPAT亦可利用 $\omega$ -氧化脂酰基-CoA或超长链脂酰基-CoA作为酰基供体催化G3P的 $sn-2$ 脂酰基化反应而形成 $sn-2$  LPA或 $sn-2$  MAG, 为角质和软木脂聚酯合成提供单体构件(Li等2007a; Beisson等2007) (图1)。角质和软木脂属于胞外脂质, 通常位于植物表面, 为防止水分蒸发和防御病菌入侵提供保护屏障, 是植物适应陆地环境所必需的疏水性聚酯(Beisson等2007; Yang等2012; 戴双等2016)。角质和软木脂的主要单体组分为 $\omega$ -氧化脂肪酸如 $\omega$ -羟基脂肪酸( $\omega$ -hydroxyl fatty acid,  $\omega$ -OH FA)和 $\alpha, \omega$ -脂二酸( $\alpha, \omega$ -dicarboxylic acids, DCAs), 以及一定数量的甘油分子(Yang等2012; Li-Beisson等2013)。这些脂肪酸衍生物彼此之间或与甘油分子通过酯键或醚键连接成网状的高分子聚酯化合物。角质主要单体组分是C16和C18  $\omega$ -氧化脂肪酸种类, 定位于外蜡层之下, 与内蜡层相互交织, 分布在植物地上部表皮; 而软木脂单体主要组分为C22或更长的 $\omega$ -氧化脂肪酸种类, 定位于近质膜的细胞壁中, 分布于植物块茎、根韧皮部、花脱落带和种皮中, 伤害部位也可诱导软木脂形成(Li等2007a; Yang等2012; Li-Beisson等2013)。

## 2 GPAT的亚细胞定位及其分类

GPAT催化甘油酯脂酰基化的第一步反应, 是脂质合成代谢途径中的限速酶(Wendel等2009), 参与磷脂、糖脂、油脂及胞外脂质如角质、软木

脂合成途径(Li-Beisson等2013) (图2)。目前已对拟南芥GPAT进行了较为系统的研究。拟南芥GPAT家族含有10个成员, 根据其亚细胞定位、酰基化位点的差异, 拟南芥GPAT可分为3类(Xu等2006; Li等2007a; Yang等2012; Singer等2016), 其中叶绿体定位的GPAT只有一个成员即ATS1, 属于可溶性蛋白, 利用脂酰基-ACP作为底物催化G3P的 $sn-1$ 脂酰基化, 参与原核途径脂质合成(Nishida等1993; Xu等2006)。另一类是目前鉴定的GPAT家族唯一直接参与真核途径膜脂和油脂合成的成员即GPAT9。GPAT9定位于内质网, 属于膜结合蛋白, 选择催化G3P分子 $sn-1$ 脂酰基化, 与动物脂肪合成相关的mGPAT3和mGPAT4同源性最高(Gidda等2009; Singer等2016; Shockey等2016)。还有一大类包括GPAT1~GPAT8成员, 也属于膜结合蛋白, 选择催化G3P分子 $sn-2$ 脂酰基化。研究表明GPAT1~8不直接参与膜脂及油脂合成, 而是参与胞外脂质如角质和软木脂合成途径, 为陆生植物所特有, 而真菌、动物及藻类并不含有 $sn-2$ 活性的GPAT (Zheng等2003; Beisson等2007; Li等2007a; Li-Beisson等2009; Yang等2010, 2012)。根据其生化特性和亚细胞定位, GPAT1~8又可分为3个亚类: GPAT1~3定位于线粒体中, 仅有 $sn-2$ 脂酰基转移酶活性, 其催化产物为 $sn-2$  LPA, 拟南芥GPAT1主要参与花器官角质合成, 而拟南芥GPAT2及GPAT3功能有待鉴定(Zheng等2003; Yang等2012); 另一亚类成员包括GPAT4、GPAT6和GPAT8, 定位于内质网, 兼具 $sn-2$ 脂酰基转移酶和磷酸酶的双重活性, 催化产物是 $sn-2$ 单脂酰甘油( $sn-2$  monoacylglycerol,  $sn-2$  MAG), 参与角质合成代谢过程(Li等2007a; Li-Beisson等2009; Yang等2010); 第三亚类包括GPAT5及GPAT7, 也定位于内质网, 仅有 $sn-2$ 脂酰基转移酶活性, 不具备磷酸酶活性, 其催化产物为 $sn-2$  LPA, 主要参与软木脂合成(Beisson等2007; Yang等2012) (图2)。根据进化程度, GPAT4/6/8分支在进化上最为古老, 所有陆生植物包括苔藓、裸子植物和被子植物均含有这类基因。这类具有双重活性的GPAT与陆生植物的角质合成紧密相关, 是陆生植物在进化过程中适应陆地环境所必需; GPAT5/7分支仅出现于进化程度较高的维管植物中, 不具有磷酸酶活性, 参与软木脂聚酯合成, 是含栓化的维管内表皮植物种类所独有(Beisson等2007; Yang等2012)。



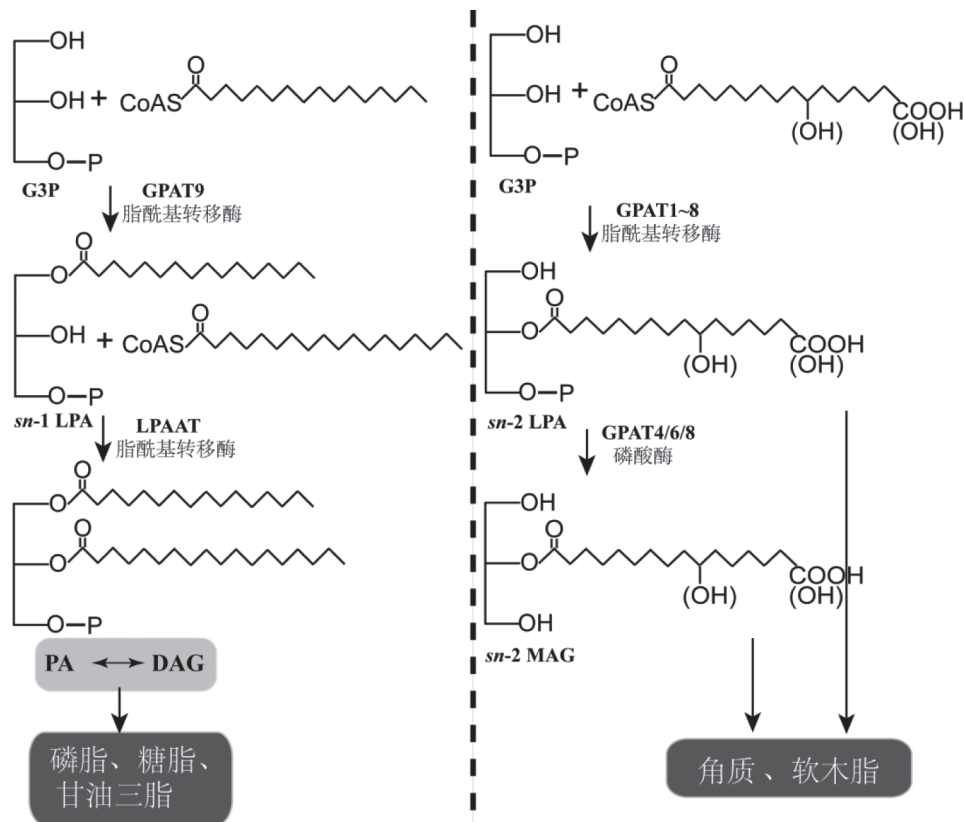


图2 植物GPAT催化位点及活性

Fig.2 Catalytic positions and activities of GPATs in plants

ATS1及GPAT9催化G3P分子 $sn-1$ 的脂酰基化形成 $sn-1$  LPA; GPAT1~8催化G3P分子 $sn-2$ 的脂酰基化形成 $sn-2$  LPA, 其中GPAT4、6、8兼具磷酸酶活性, 可进一步催化 $sn-2$  LPA去磷酸化形成 $sn-2$  MAG。DAG: 二脂酰甘油; G3P: 甘油-3-磷酸; PA: 磷脂酸;  $sn-2$  LPA:  $sn-2$ 溶血磷脂酸;  $sn-2$  MAG:  $sn-2$ 单脂酰甘油。

### 3 GPAT分子结构

GPAT的C端序列较为保守, 所有GPAT在靠近C端区域均含有脂酰基催化结构域, 该结构域中包含4个高度保守的模体(图3)。这些模体对GPAT的脂酰基转移酶活性及其结合G3P底物至关重要, 其中模体I的组氨酸(His)及天冬氨酸(Asp)、模体III的甘氨酸(Gly), 以及模体IV的脯氨酸(Pro)均是催化活性的重要位点(Zheng等2003; Gidda等2009)。同时, 与底物G3P结合的模体II的精氨酸(Arg)和模体III的谷氨酰胺(Gln)及丝氨酸(Ser)在拟南芥GPAT家族中也相当保守(Zheng等2003; Gidda等2009)。

不同GPAT的N端序列变化较大, 并因此导致不同成员之间的分子大小、生化特性及亚细胞定位的差异。拟南芥GPAT4、GPAT6及GPAT8的N端240氨基酸区域包含一个HAD-类磷酸酶催化结构域, 其中模体DXDX[T/V][L/V]的第一个天冬氨酸

(D)、模体K-[G/S]XXXDX的第一个赖氨酸(K)及第一个天冬氨酸(D)均为GPAT磷酸酶活性所必需(图3)。研究发现GPAT6序列相应位点的任一突变如D29E、K178L或D200K均导致其磷酸酶活性减少85%, 其活性产物主要为 $sn-2$  LPA (Yang等2010)。陆生植物包括进化上较为原始的植物如苔藓、裸子植物和被子植物均含有GPAT4/6/8, 且其N端区域均保留这些磷酸酶活性域的氨基酸, 而后期演化的GPAT5/7和GPAT1/2/3分支均缺失了这些氨基酸位点(Yang等2010, 2012)。此外, GPAT1~9的N端含有1~3个跨膜区(transmembrane domain, TMD) (图3), 其中GPAT2含有1个TMD, GPAT1、3、5、7、8均含有2个TMD, 而GPAT4、6、9有3个TMD。这些TMD有助于GPAT锚定于膜上(Gidda等2009); 定位于叶绿体的ATS1则不含TMD (Nishida等1993; Xu等2006)。

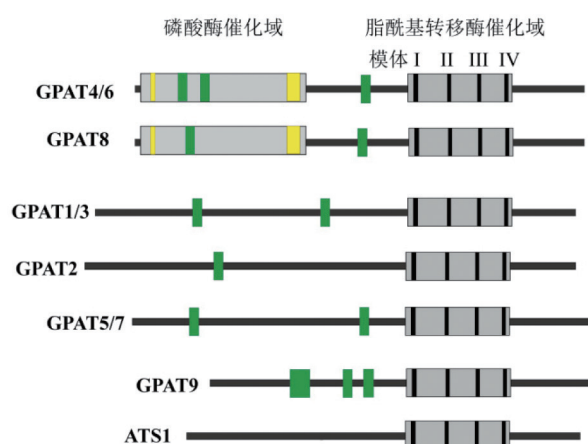


图3 植物GPAT催化活性结构域

Fig.3 Catalytic domain structures of GPATs in plants

所有GPAT的C端均含有一个保守的脂酰转移酶催化域(acyltransferase domain), 该结构域的模体I (HXXXXD)是GPAT脂酰转移酶活性所必需; 此外, GPAT4、6、8的N端还含有磷酸催化域。除ATS1不含跨膜区(transmembrane domain, TMD)外, 其余GPAT的N端含有1~3个TMD。图中绿色框表示TMD; 黄色框从左至右分别是N端磷酸催化域中的模体DXDX[T/V][L/V]和N端模体K-[G/S]XXXX; 黑色框表示C端的模体I-IV, 其中模体I: HXXXXD; 模体II: XXXXR; 模体III: XXXEGX; 模体IV: XXPXXX。

#### 4 GPAT的生化特性

角质和软木脂的主要单体组分为 $\omega$ -氧化脂肪酸如 $\omega$ -羟基棕榈酸( $\omega$ -hydroxypalmitate, C16:0  $\omega$ OH)、10,16-二羟基棕榈酸[10,16-dihydroxypalmitate, C16:0 (10,16)-diOH]、C16:0  $\alpha,\omega$ -二羧酸(C16:0  $\alpha,\omega$ -dicarboxylic acids, C16:0-DCA)、 $\omega$ -羟基油酸( $\omega$ -hydroxyoleate, C18:1  $\omega$ OH)、油酸  $\alpha,\omega$ -二羧酸(C18:1-DCA)等(Beisson等2007, 2012; Li等2007a; Yang等2012)。GPAT不同成员具有不同的脂酰基种类包括脂酰基链长度、不饱和度及 $\omega$ -氧化程度的选择性, 从而参与不同的脂质代谢过程(图2和4)。拟南芥GPAT1仅具有脂酰基转移酶活性, 对常规脂酰-CoA包括C16:0-、C16:1-、C18:0-、C18:1-及C20:1-CoA具有活性, 且对C20:0-CoA活性最高, 其活性是C16:0-CoA或C18:1-CoA底物的10倍(Zheng等2003; Yang等2012); GPAT1也可利用C22:0-二羧酸(C22:0-DCA)作为底物, 其活性与C22:0-CoA相当, 表明GPAT1可接受 $\omega$ -氧化脂酰基-CoA作为底物。GPAT1反应产物是 $sn$ -2 LPA而非 $sn$ -2 MAG (Zheng等2003), 表明GPAT1不具有磷酸酶活性。拟南芥GPAT2和

GPAT3序列与GPAT1较近, 但目前在所测试条件下未能检测到其活性(Yang等2012)。基于催化域相似性和结构预测表明拟南芥GPAT2及GPAT3也属于 $sn$ -2脂酰基转移酶(Yang等2012)。

GPAT4、GPAT6及GPAT8具有类似的生化特性, 兼具 $sn$ -2脂酰基转移酶及磷酸酶(acyltransferase/phosphatase)双重活性, 该亚类GPAT首先催化G3P分子 $sn$ -2位的脂酰基化形成 $sn$ -2 LPA, 继而在其磷酸酶活性的催化下形成 $sn$ -2 MAG (Li等2007a; Li-Beisson等2009; Yang等2010, 2012) (图2和4), 并且GPAT4、GPAT6及GPAT8均偏好C16和C18  $\omega$ -氧化脂酰基-CoA (图4), 其活性比常规脂酰基-CoA底物活性高出4~11倍, 而对C20或更长脂酰基链活性极低甚至没有活性(Li等2007a; Yang等2010, 2012)。此外, GPAT4、GPAT6及GPAT8之间对底物偏好性也存在差异, 例如拟南芥GPAT4在C18:1  $\omega$ -氧化FA种类中更偏好C18:1-DCA, 对长链(C>18)脂酰基底物活性极低(Li等2007a; Yang等2012); 甘蓝型油菜 (*Brassica napus*, *Bn*) GPAT4-A1对C16:0-DCA催化活性最高(Chen等2011, 2014)。拟南芥GPAT6偏好C16:0  $\omega$ -氧化脂酰基-CoA, 其偏好性从高到低依次为C16:0  $\omega$ OH>C16:0-DCA>C16:0 (10,16)-diOH>C16:0 (Yang等2012); 番茄(*Solanum lycopersicum*) GPAT6对C16:0 (10,16)-diOH具有较高活性(Petit等2016)。拟南芥GPAT8偏好C16:0  $\omega$ OH、C18:1  $\omega$ OH及C18:1-DCA, 其活性比常规脂酰基高10倍左右, 但对长链(C>18)脂酰基几乎没有活性(Li等2007a; Yang等2012)。

拟南芥GPAT5仅具有 $sn$ -2脂酰基转移酶活性, 不具有磷酸酶活性, 其活性产物是 $sn$ -2 LPA而非 $sn$ -2 MAG, 与拟南芥GPAT4、GPAT6及GPAT8存在明显不同。GPAT5对脂酰基链长度具有更广泛的选择性, 偏好选择C22脂酰基作为最佳底物(图4), 且对C22常规脂酰基链及C22  $\omega$ -氧化脂酰基底物活性相当。GPAT5对其他脂酰基如C16:0和C24的活性仅为C22的活性的40%~45%, 对C16脂酰基活性依次为C16:0>C16:0  $\omega$ OH>C16:0-DCA, 对C18:1活性最低(Beisson等2007; Yang等2012), 表明GPAT5对不饱和脂肪酸活性最低, 但对长链脂酰基的氧化程度没有要求。拟南芥超表达GPAT7导致超长链脂酰基如C22:0及C24:0软木脂单体在种皮和茎中累积增强, 与GPAT5异位表达的表型一致

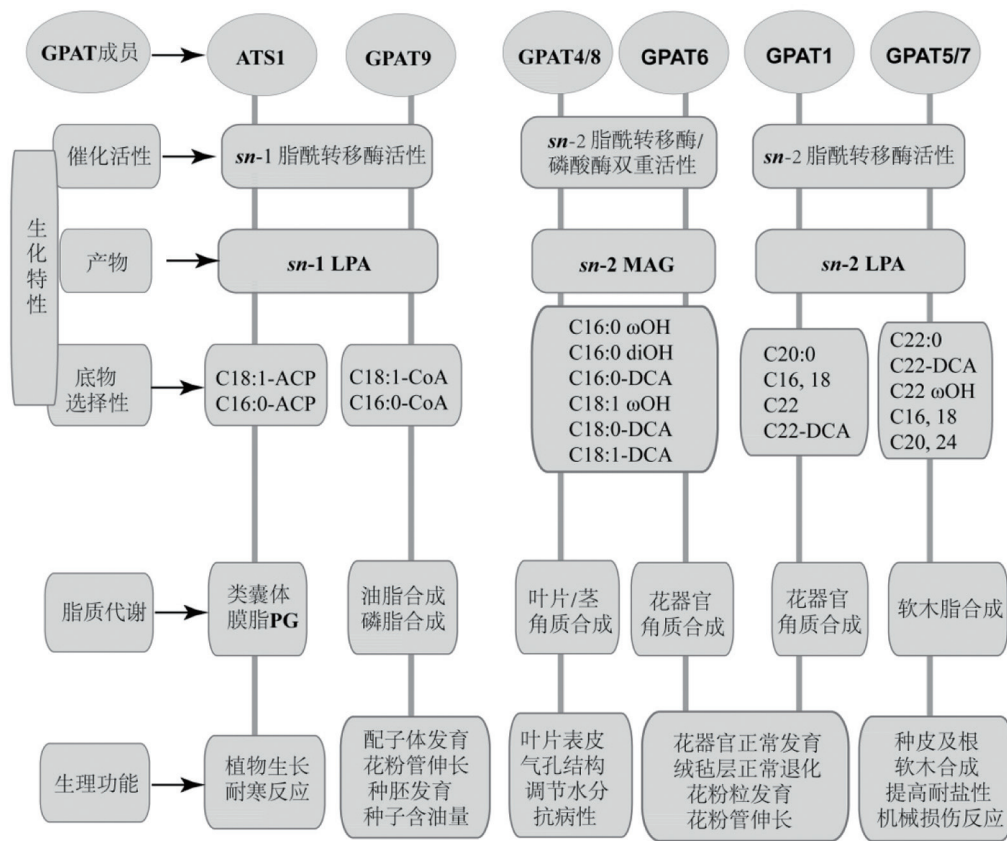


图4 植物GPAT的生化特性及其生理功能

Fig. 4 Biochemical properties of GPATs and their physiological functions in plants

拟南芥GPAT家族含有10个成员, 不同GPAT具有独特的生化特性及生理功能, 其中ATS1及GPAT9主要利用常规脂肪酸作为脂酰基供体, 直接参与胞内脂质包括磷脂和油脂合成过程, 并与植株生长发育和种子油脂累积相关; GPAT1、4、6、8参与角质合成过程, 并各具不同的底物偏好性和生物学功能; GPAT5和GPAT7参与软木脂合成, 具有较为广泛的底物选择性, 通过调节种皮、根部及机械损伤部位的软木脂合成增强植物的抗逆性。

(Beisson等2007; Yang等2012), 表明GPAT7与GPAT5对底物选择性类似。

与上述GPAT1~8催化G3P分子*sn*-2位脂酰基化不同, GPAT9和ATS1均催化G3P分子*sn*-1位脂酰基化, 且仅具有*sn*-1脂酰基转移酶活性, 不具有磷酸酶活性, 其活性产物为*sn*-1 LPA (Kunst等1988; Xu等2006; Gidda等2009; Singer等2016; Shockey等2016) (图2和4)。GPAT9偏好常规脂酰-CoA, 在所测试底物中对C18:1-CoA活性最高, 对ω-氧化脂酰基底物如16:0-DCA-CoA活性较低(Singer等2016)。拟南芥叶绿体定位的ATS1偏好常规不饱和脂肪酸如C18:1-ACP, 一些冷敏感植物如西葫芦ATS1则对C16:0-及C18:1-ACP底物没有明显偏好性(Murata和Tasaka, 1997; Xu等2006), 向日葵ATS1偏好C18:1-ACP (Payá-Milans等2015)。

## 5 GPAT表达模式

不同GPAT基因具有不同的表达模式。拟南芥GPAT1和GPAT6均在花器官中特异表达, GPAT1也在发育中的角果表达, 而GPAT6在花粉粒、花粉管、小孢子母细胞、小孢子和绒毡层细胞也均有表达(Zheng等2003; Yang等2010, 2012; Li等2012)。番茄(*Solanum lycopersicum*, Sl) GPAT6在花蕾及幼果表皮中表达量最高(Petit等2016); 油茶GPAT6也在花瓣中表达量最高(魏琦琦等2016)。这些结果预示GPAT1和GPAT6可能参与植物花器官胞外角质的合成过程。拟南芥GPAT2、GPAT3和GPAT4在不同组织均有表达, 但GPAT4表达量相对较高, 且在叶片和茎部表达量较高(Zheng等2003; Yang等2012)。GPAT5在主要种皮、根部、下胚轴均有表



达, 在根部和下胚轴的交界处表达最强, 但在茎和叶片中未能检测到表达量(Beisson等2007)。*GPAT7*在叶片中表达显著受机械损伤所诱导(Yang等2012)。拟南芥*GPAT9*表达于不同组织包括幼苗、叶片、茎、根、花、花粉、角果、种胚, 并且在叶片和发育中的角果表达量最高, 但在表皮细胞中表达极为微弱(Singer等2016), 预示*GPAT9*在种子油脂积累中的作用。因此, 不同*GPATs*在不同时期和不同组织的表达模式存在明显差异, 预示其参与不同的脂质代谢和生物学过程。

## 6 GPAT在脂质代谢中的作用及生理功能

拟南芥基因组含有10个*GPAT*基因, 其中8个*GPATs*即*GPAT1*~*8*属于植物界独有, 并参与胞外脂质包括角质和软木脂的合成代谢过程, 不直接参与磷脂、糖脂或油脂合成(Zheng等2003; Beisson等2007; Li等2007a; Li-Beisson等2009; Yang等2010, 2012); 定位于叶绿体的*ATS1*参与原核途径膜脂代谢过程(Xu等2006); 而定位于内质网涉及真核途径的*GPAT9*是目前鉴定到的*GPAT*家族唯一参与磷酸和油脂合成代谢的成员(Singer等2016; Shockey等2016)。因此, 植物*GPATs*比动物*GPATs*更为复杂, 不同*GPATs*在脂质代谢、植物生长发育和逆境胁迫反应中具有独特的功能(图4)。

### 6.1 GPAT调节膜磷脂合成及其组分影响植物生长和耐寒性

叶绿体定位的*ATS1*参与原核途径甘油脂质合成代谢, 其缺失导致拟南芥生长严重受阻, 角果变短, 种胚发育也受到抑制, *ATS1*下调表达也同样导致植株生长受阻且种胚致死率显著高于野生型(Xu等2006), 表明*ATS1*在调节植物生长发育过程具有重要作用。拟南芥叶绿体膜磷脂PG的85%来源于原核途径(Browse等1986)。*ATS1*缺失导致磷脂PG含量减少19%~25%, *ATS1*下调表达对PG含量没有明显影响, 但其脂肪酸种类C16:3严重缺失, 而C18:3则相应上升(Xu等2006)。这些结果表明*ATS1*部分地参与PG合成代谢过程, 并在原核途径(16:3)脂质代谢和植株生长中具有重要作用。

植物的耐寒性与叶绿体膜磷脂PG的*sn-1*位脂酰基不饱和度密切相关(Murata和Yamaya 1984; Moellering等2010)。*ATS1*通过选择脂酰种类而影

响PG分子*sn-1*位脂肪酸的不饱和度, 从而影响植物的耐寒性(Murata和Tasaka 1997)。抗寒植物如拟南芥和菠菜(*Spinacia oleracea*) *ATS1*优先选择C18:1脂酰基作为底物, 其叶绿体中PG的*sn-1*位置上含有较高比例的C18:1脂肪酸, 而低温敏感植物*ATS1*对脂肪酸的饱和度(如C18:1和C16:0-ACP)没有明显偏好性(Sui等2007; Zhu等2009)。在烟草(*Nicotiana tabacum*)中转入西葫芦(*Cucurbita pepo*) *ATS1*导致植株耐寒性降低, 而转入拟南芥*ATS1*则增强植株耐寒性(Nishida等1996; Murata和Tasaka 1997)。

### 6.2 GPAT调节花器官角质合成影响花粉育性和种子结实率

胞外脂质在防止花器官粘连和维持花粉正常发育方面具有重要作用。研究表明*GPAT1*参与花粉发育过程, 其缺失导致绒毡层细胞及花粉粒内质网结构发生异常, 并使绒毡层退化受阻、花粉败育, 种子结实率降低及种子油脂组分发生改变(Zheng等2003)。*GPAT6*缺失也出现类似表型(Li等2012; Yang等2012), *GPAT6*缺失还导致花器官形态异常、花瓣融合而不能正常开花(Li-Beisson等2009)。脂质分析发现*gpat6*突变体花器官角质单体比野生型降低了58%, 其中角质主要单体组分C16:0(10,16)-diOH降低了90%, 其他C16单体组分也显著降低(Li-Beisson等2009), 表明*GPAT6*为花器官C16角质单体累积所必需。拟南芥*gpat1/gpat6*双缺失突变体表型比单突变体更为明显, 其花丝更短、胼胝质退化受阻, 花粉壁缺陷及花粉完全败育(Li等2012)。这些结果表明*GPAT1*和*GPAT6*在花器官和花粉发育过程中具有功能的独特性和协同性。番茄*GPAT6*缺失也导致雄蕊变短, 花粉育性降低, 与拟南芥*GPAT6*具有类似功能, 同时番茄*gpat6*突变体果皮角质单体C16:0、C16:0-DCA、C16:0 $\omega$ OH、C16:0(10,16)-diOH、C18:0 $\omega$ OH含量均显著低于野生型, 并导致果皮通透性增加(Petit等2016)。油菜*BnGPAT4*下调表达导致花序发育异常, 其柱头和花丝较大, 角果变短、变粗, 且结实率降低到野生型的50%; 其成熟种胚中总角质含量比野生型降低了30%, 主要源自于C18:1-DCA、C18:2-DCA及C18:3 $\omega$ OH组分的降低(Chen等2014)。此外, 尽管拟南芥*GPAT2*和*GPAT3*在不同组织中均有

表达,但其缺失对脂质代谢及植株生长发育并没有明显影响(Yang等2012)。最近发现水稻(*Oryza sativa*) GPAT3也参与调节绒毡层退化及花粉发育过程,其缺失导致花粉粒外壁角质合成受阻,绒毡层退化异常,花粉败育(Men等2017)。这些结果表明植物GPAT特别是GPAT1/6通过调节花器官角质合成,进而影响花器官和种胚发育过程,并且不同的GPAT之间具有功能的保守性和特异性。

### 6.3 GPAT通过调控叶片和茎角质合成影响植株抗旱性和抗病性

GPAT4和GPAT8同源性较高,且功能存在冗余,共同参与叶片和茎角质合成。拟南芥GPAT4和GPAT8双缺失突变体*gpat4/gpat8*茎部角质单体C16 $\omega$ OH、C18 $\omega$ OH和DCA含量比野生型减少了60%~70%,其中C18:2-DCA降低幅度最大,并导致茎部角质层结构出现缺陷,突变体叶片角质也出现类似变化。而超表达GPAT4或GPAT8出现相反趋势(Li等2007a)。此外,*gpat4/gpat8*突变体气孔保卫细胞结构也发生异常,环绕气孔边沿的保卫细胞外壁角质缺失,气孔异常而呈现圆形,从而导致叶片水分流失严重,且对病菌的敏感性增强(Li等2007a)。油菜*BnGPAT4*下调表达亦使叶片角质含量显著降低,气孔结构异常、导度增大,*BnGPAT4*可互补拟南芥*gpat4/gpat8*突变体的表型(Chen等2011)。这些结果表明GPAT4及GPAT8在调节和维护叶片、茎部角质层及保卫细胞的正常结构方面具有重要作用。

### 6.4 GPAT调节软木脂合成影响植物耐盐性及机械损伤修复

超长链脂肪酸(C20或更长)及其氧化衍生物是软木脂单体主分。研究表明拟南芥GPAT5参与根部和种皮软木脂单体合成,其缺失突变导致种皮软木脂组分C22:0、C24:0、 $\omega$ -OH FA及DCA单体含量比野生型减少80%;突变体*gpat5*根部软木脂组分C22:0及C18:1 $\omega$ OH也比野生型降低了20%(Beisson等2007)。因此,GPAT5缺失导致种皮透性增加,在盐胁迫下突变体种子发芽率显著降低,幼苗根生长明显受阻(Beisson等2007),而超表达GPAT5可增强表皮脂质超长链MAG(C22~C30)的累积(Beisson等2007; Li等2007b; Yang等2010)。细胞色素P450单加氧酶CYP86A可催化脂肪酸氧化

反应。研究发现GPAT5与CYP86A1共表达可使软木脂聚酯含量比野生型增加80%,其软木脂组分C20、C22 $\omega$ OH、diOH-FA和DCA含量显著高于野生型,从而增强植株表皮结构的致密性和防止水分流失(Li等2007a)。这些结果表明GPAT5通过调节软木脂合成,以维持种皮和根表皮的正常结构、提高植物耐盐性。

GPAT7与GPAT5序列相似性最高,其氨基酸序列相似度和相同度分别达到88%和81%(Beisson等2007),在进化树聚类中属于同一分支(Yang等2012)。软木脂累积也是植株组织伤害所特有的应激反应。超表达GPAT7导致种子及茎部超长链*sn-1/3*及*sn-2* MAG增加,其游离脂肪酸C22:0和C24:0也明显高于野生型,与GPAT5超表达的表型类似(Li等2007b; Beisson等2007; Yang等2012),而GPAT7缺失导致植株损伤部位的透性增加,但其叶片软木脂含量与野生型没有明显差异(Yang等2012)。这些结果预示GPAT7也参与软木脂合成,但可能仅是局限于损伤部位的特异反应。

### 6.5 GPAT对油脂积累的影响

GPAT9是唯一参与真核途径的膜磷脂和油脂合成的成员,其缺失使雌配子体部分致死,花粉败育,花粉管伸长严重受阻,突变纯合体胚致死;GPAT9下调表达导致种子皱缩,含油量显著低于野生型,其油脂组分C16:0、C18:2、C20:1、C22:0及C22:1含量显著低于野生型,而C18:0、C18:1和C18:3含量增加(Shockey等2016; Singer等2016)。超表达GPAT9则导致种子粒重及其含油量比野生型显著增加,其油脂组分C18:1和C22:0含量增加,而C20:1减少(Shockey等2016; Singer等2016)。同时,超表达或下调表达GPAT9也扰乱了花粉粒中的油滴积累和正常分布(Singer等2016)。

## 7 总结和展望

植物GPAT家族在甘油脂质合成代谢中具有重要作用,不同GPAT在膜脂、油脂、角质和软木脂合成途径中具有独特功能,并具有不同的生化特性和时空调控机制(图3和4)。叶绿体定位的GPAT(AT51)属于可溶性蛋白,催化G3P的*sn-1*脂酰基化,利用叶绿体中常规脂酰基-ACP作为底物(Kunst等1988; Nishida等1993),参与原核途径的脂



质合成过程, 在叶绿体膜脂合成中具有重要作用(Xu等2006)。GPAT9定位于内质网中, 催化G3P的 $sn$ -1脂酰基化, 优先选择常规脂酰-CoA, 通过真核途径在膜磷脂和油脂合成代谢中发挥独特的作用(Singer等2016; Shockey等2016)。另外8个GPAT即GPAT1~8特异选择催化G3P的 $sn$ -2脂酰基化, 通常偏好氧化脂酰基, 主要参与胞外脂质如角质及软木脂合成途径(Zheng等2003; Beisson等2007; Li等2007; Li-Beisson等2009; Yang等2010, 2012) (图4)。

目前对植物GPAT家族的生化特性及其在脂质代谢中的作用等方面已取得了较为显著的进展, 一些问题还有待进一步探索。GPAT催化甘油脂质合成代谢的关键反应, 但目前仅发现GPAT9直接参与膜脂和油脂的真核途径代谢过程, 而膜脂是细胞生长、分裂所必需的基本组分, 是否还有其他GPAT成员参与此过程有待进一步探索; 叶绿体是植物脂肪酸从头合成的部位, 研究表明ATS1在叶绿体膜合成代谢中具有重要作用, 叶绿体定位的ATS1是否参与油脂合成代谢有待进一步研究; 目前研究表明绝大多数GPAT包括GPAT1~8均与胞外脂质合成相关, 但其活性产物如 $sn$ -2 LPA或 $sn$ -2 MAG如何转运至胞外及其如何组装成疏水性的胞外聚酯尚未清楚, 进一步探索GPAT产物的转运及组装过程仍然是一个挑战性问题; 某些参与胞外脂质代谢的GPAT也间接影响了胞内膜脂及油脂代谢, 由GPAT介导的胞外与胞内脂质代谢流向的互作关系目前也尚未清楚; 此外, 拟南芥GPAT2和GPAT3的活性及生物学功能也有待进一步探索。

### 参考文献(References)

- Beisson F, Li Y, Bonaventure G, et al (2007). The acyltransferase GPAT5 is required for the synthesis of suberin in seed coat and root of *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 19 (1): 351–368
- Beisson F, Li-Beisson Y, Pollard M (2012). Solving the puzzles of cutin and suberin polymer biosynthesis. *Curr Opin Plant Biol*, 15 (3): 329–337
- Browse J, Warwick N, Somerville CR, et al (1986). Fluxes through the prokaryotic and eukaryotic pathways of lipid synthesis in the '16:3' plant *Arabidopsis thaliana*. *Biochem J*, 235 (1): 25–31
- Chen X, Chen G, Truksa M, et al (2014). Glycerol-3-phosphate acyltransferase 4 is essential for the normal development of reproductive organs and the embryo in *Brassica napus*. *J Exp Bot*, 65 (15): 4201–4215
- Chen X, Truksa M, Snyder CL, et al (2011). Three homologous genes encoding  $sn$ -glycerol-3-phosphate acyltransferase 4 exhibit different expression patterns and functional divergence in *Brassica napus*. *Plant Physiol*, 155 (2): 851–865
- Dai S, Guo J, Xu W, et al (2016). Biosynthesis and regulation of cuticular wax and its effects on drought resistance of wheat. *Plant Physiol J*, 52 (7): 979–988 (in Chinese with English abstract) [戴双, 郭军, 徐文等(2016). 蜡质组成形态及其合成调控对小麦抗旱性的影响. *植物生理学报*, 52 (7): 979–988]
- Gidda SK, Shockey JM, Rothstein SJ, et al (2009). *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*, 47 (10): 867–879
- Hong Y, Zhao J, Guo L, et al (2016). Plant phospholipases D and C and their diverse functions in stress responses. *Prog Lipid Res*, 62: 55–74
- Kobayashi K, Awai K, Nakamura M, et al (2009). Type-B monogalactosyldiacylglycerol synthases are involved in phosphate starvation-induced lipid remodeling, and are crucial for low-phosphate adaptation. *Plant J*, 57 (2): 322–331
- Kobayashi K, Kondo M, Fukuda H, et al (2007). Galactolipid synthesis in chloroplast inner envelope is essential for proper thylakoid biogenesis, photosynthesis, and embryogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 104 (43): 17216–17221
- Kunst L, Browse J, Somerville C (1988). Altered regulation of lipid biosynthesis in a mutant of *Arabidopsis* deficient in chloroplast glycerol-3-phosphate acyltransferase activity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 85 (12): 4143–4147
- Li M, Welti R, Wang X (2006). Quantitative profiling of *Arabidopsis* polar glycerolipids in response to phosphorus starvation. Roles of phospholipases D $\zeta$ 1 and D $\zeta$ 2 in phosphatidylcholine hydrolysis and digalactosyldiacylglycerol accumulation in phosphorus-starved plants. *Plant Physiol*, 142 (2): 750–761
- Li XC, Zhu J, Yang J, et al (2012). Glycerol-3-phosphate acyltransferase 6 (GPAT6) is important for tapetum development in *Arabidopsis* and plays multiple roles in plant fertility. *Mol Plant*, 5 (1): 131–142
- Li Y, Beisson F, Koo AJK, et al (2007a). Identification of acyltransferases required for cutin biosynthesis and production of cutin with suberin-like monomers. *Proc Natl Acad Sci USA*, 104 (46): 18339–18344
- Li Y, Beisson F, Ohlrogge J, et al (2007b). Monoacylglycerols are components of root waxes and can be produced in the aerial cuticle by ectopic expression of a suberin-associated acyltransferase. *Plant Physiol*, 144 (3): 1267–1277
- Li-Beisson Y, Pollard M, Sauveplane V, et al (2009). Nanoridges that characterize the surface morphology of flowers require the synthesis of cutin polyester. *Proc Natl*

- Acad Sci USA, 106 (51): 22008–22013
- Li-Beisson Y, Shorrosh B, Beisson F, et al (2013). Acyl-lipid metabolism. *Arabidopsis Book*, 11: e0161
- Men X, Shi J, Liang W, et al (2017). Glycerol-3-Phosphate Acyltransferase 3 (OsGPAT3) is required for anther development and male fertility in rice. *J Exp Bot*, 68 (3): 513–526
- Moellering ER, Muthan B, Benning C (2010). Freezing tolerance in plants requires lipid remodeling at the outer chloroplast membrane. *Science*, 330 (6001): 226–228
- Murata N, Tasaka Y (1997). Glycerol-3-phosphate acyltransferase in plants. *Biochim Biophys Acta*, 1348 (1–2): 10–16
- Murata N, Yamaya J (1984). Temperature-dependent phase behavior of phosphatidylglycerols from chilling-sensitive and chilling-resistant plants. *Plant Physiol*, 74 (4): 1016–1024
- Nishida I, Murata N (1996). Chilling sensitivity in plants and cyanobacteria: the crucial contribution of membrane lipids. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 47: 541–568
- Nishida I, Tasaka Y, Shiraiishi H, et al (1993). The gene and the RNA for the precursor to the plastid-located glycerol-3-phosphate acyltransferase of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Mol Biol*, 21 (2): 267–277
- Ohlrogge J, Browse J (1995). Lipid biosynthesis. *Plant Cell*, 7: 957–970
- Okazaki Y, Shimojima M, Sawada Y, et al (2009). A chloroplastic UDP-Glucose pyrophosphorylase from *Arabidopsis* is the committed enzyme for the first step of sulfolipid biosynthesis. *Plant Cell*, 21 (3): 892–909
- Payá-Milans M, Venegas-Calderón M, Salas JJ, et al (2015). Cloning, heterologous expression and biochemical characterization of plastidial *sn*-glycerol-3-phosphate acyltransferase from *Helianthus annuus*. *Phytochemistry*, 111: 27–36
- Petit J, Bres C, Mauxion JP, et al (2016). The glycerol-3-phosphate acyltransferase GPAT6 from tomato plays a central role in fruit cutin biosynthesis. *Plant Physiol*, 171 (2): 894–913
- Shockey J, Regmi A, Cotton K, et al (2016). Identification of *Arabidopsis GPAT9* (At5g60620) as an essential gene involved in triacylglycerol biosynthesis. *Plant Physiology*, 170 (1): 163–179
- Singer SD, Chen G, Mietkiewska E, et al (2016). *Arabidopsis GPAT9* contributes to synthesis of intracellular glycerolipids but not surface lipids. *J Exp Bot*, 67 (15): 4627–4638
- Sui N, Li M, Zhao SJ, et al (2007). Overexpression of glycerol-3-phosphate acyltransferase gene improves chilling tolerance in tomato. *Planta*, 226 (5): 1097–1108
- Wang L, Shen W, Kazachkov M, et al (2012). Metabolic interactions between the Lands cycle and the Kennedy pathway of glycerolipid synthesis in *Arabidopsis* developing seeds. *Plant Cell*, 24 (11): 4652–4669
- Wang X, Devaiah SP, Zhang W, et al (2006). Signaling functions of phosphatidic acid. *Prog Lipid Res*, 45 (3): 250–278
- Wei QQ, Zhao G, He X, et al (2016). Cloning and expression analysis of two glycerol-3-phosphate acyltransferase (GPAT) genes in oil-tea tree (*Camellia oleifera*). *Plant Physiol J*, 52 (7): 1099–1109 (in Chinese with English abstract) [魏琦琦, 赵广, 何潇等(2016). 油茶2个甘油-3-磷酸酰基转移酶基因的克隆与组织表达. *植物生理学报*, 52 (7): 1099–1109]
- Wendel AA, Lewin TM, Coleman RA (2009). Glycerol-3-phosphate acyltransferases: rate limiting enzymes of triacylglycerol biosynthesis. *Biochim Biophys Acta*, 1791 (6): 501–506
- Xu C, Yu B, Cornish AJ, et al (2006). Phosphatidylglycerol biosynthesis in chloroplasts of *Arabidopsis* mutants deficient in acyl-ACP glycerol-3-phosphate acyltransferase. *Plant J*, 47 (2): 296–309
- Yang W, Pollard M, Li-Beisson Y, et al (2010). A distinct type of glycerol-3-phosphate acyltransferase with *sn*-2 preference and phosphatase activity producing 2-monoacylglycerol. *Proc Natl Acad Sci USA*, 107 (26): 12040–12045
- Yang W, Simpson JP, Li-Beisson Y, et al (2012). A land-plant-specific glycerol-3-phosphate acyltransferase family in *Arabidopsis*: substrate specificity, *sn*-2 preference, and evolution. *Plant Physiol*, 160 (2): 638–652
- Zhang W, Qin C, Zhao J, et al (2004). Phospholipase D $\alpha$ 1-derived phosphatidic acid interacts with ABI1 phosphatase 2C and regulates abscisic acid signaling. *Proc Natl Acad Sci USA*, 101 (25): 9508–9513
- Zheng Z, Xia Q, Dauk M, et al (2003). *Arabidopsis AtGPAT1*, a member of the membrane-bound glycerol-3-phosphate acyltransferase gene family, is essential for tapetum differentiation and male fertility. *Plant Cell*, 15 (8): 1872–1887
- Zhu SQ, Zhao H, Zhou R, et al (2009). Substrate selectivity of glycerol-3-phosphate acyltransferase in rice. *J Integr Plant Biol*, 51 (11): 1040–1049

## Glycerol-3-phosphate acyltransferase in lipid metabolism, growth and response to stresses in plants

CHEN Wen-Ling, ZHANG Qing-Qing, TANG Shao-Hua, GONG Wei, HONG Yue-Yun\*

*National Key Laboratory of Crop Genetic Improvement, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China*

**Abstract:** Plant glycerolipids are the most abundant lipids including phospholipids, galactolipids, storage lipids, and extralipids, and are involved in various biological processes. Glycerol-3-phosphate acyltransferase (GPAT) catalyzes the acylation of glycerol-3-phosphate (G3P) to produce lysophosphatidic acid using fatty acids or oxidized fatty acids as substrates, which is a committed step reaction in glycerolipid biosynthesis pathway. GPAT family in plants is composed of multiple members and 10 GPATs in *Arabidopsis thaliana* are divided into three groups based on subcellular localization, enzymatic activity and substrate selectivity. Each member of plant GPATs exhibits distinguishable properties in molecular structure, activity, and temporal-spatial distribution. The GPAT activation is involved in the synthesis of various lipids such as membrane phospholipids, triacylglycerol, cutins, and suberins. Increasing evidence showed that the molecular heterogeneity of GPATs plays important roles in plant growth, development and response to stresses.

**Key words:** plant glycerol-3-phosphate acyltransferase; lysophosphatidic acid; glycerolipid synthesis; triacylglycerol; extracellular lipids

---

Received 2018-03-21 Accepted 2018-04-07

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (31271514).

\*Corresponding author (hongyy@mail.hzau.edu.cn).