

## 二酰甘油从头合成途径的关键酶及其功能

柏杨, 章文华

南京农业大学生命科学学院, 南京210095

**摘要:** 二酰甘油(diacylglycerol, DAG)是脂代谢, 包括储存三酰甘油和膜脂代谢中的一个重要中间体。多条途径可以合成DAG, 如磷脂酶C水解膜脂产生DAG等, 但是本文主要概述从头合成的Kennedy途径。这条途径中, 主要由甘油-3-磷酸酰基转移酶、溶血磷脂酸酰基转移酶、磷脂酸磷酸酶等催化完成。我们将综述这三类酶的基因及其功能, 着重介绍它们在油脂合成、抗逆和发育信号方面的研究进展。

**关键词:** 二酰甘油; 甘油-3-磷酸酰基转移酶; 溶血磷脂酸酰基转移酶; 磷脂酸磷酸酶

油脂具有三个基本功能, 即作为膜组分、储存能量和转导信号(Yang和Benning 2018)。植物油合成是由一系列生化反应参与、并在多个细胞器内完成的复杂代谢过程, 包括脂肪酸合成和三酰甘油(triacylglycerol, TAG)组装两大步骤。脂肪酸在质体中合成后, 在长链酰基CoA合成酶(long-chain acyl-CoA synthetase, LACS)的作用下合成酰基辅酶A(acyl-CoA), 并从质体转运到内质网, 启动从头合成DAG(以及随后的TAG)的Kennedy途径(周丹等2012)。此途径一开始, 甘油-3-磷酸(glycerol-3-phosphate, G3P)和酰基辅酶A在甘油-3-磷酸酰基转移酶(glycerol-3-phosphate acyltransferase, GPAT)作用下生成溶血磷脂酸(lysophosphatidic acid, LPA); 然后, LPA和酰基辅酶A在溶血磷脂酸酰基转移酶(lysophosphatidic acid acyltransferase, LPAT)作用下生成磷脂酸(phosphatidic acid, PA); PA又在PA磷酸酶(phosphatidic acid phosphatase/ phosphatidic acid hydrolase, PAP/PAH)作用下生成二酰甘油(diacylglycerol, DAG); 最后, DAG在酰基辅酶A:二酰甘油酰基转移酶(acyl-CoA:diacylglycerol acyltransferase, DGAT)作用下与酰基辅酶A生成TAG(Chapman和Ohlrogge 2012; Bates 2016)(图1)。本文综述GPAT、LPAT和PAP这三个关键酶的研究进展。

### 1 甘油-3-磷酸酰基转移酶(GPAT)

GPAT催化酰基辅酶A或酰基载体蛋白上的酰基向G3P羟基转移的反应, 其产物是溶血磷脂酸(LPA)。此酶可分为 $sn$ -1-GPAT和 $sn$ -2-GPAT:  $sn$ -1-GPAT转移酰基到G3P的 $sn$ -1位, 生成1-酰基-溶血磷脂酸(1-acyl-lysophosphatidic acid, 1-acyl-LPA);  $sn$ -2-GPAT转移酰基到G3P的 $sn$ -2位, 生成2-酰基-

溶血磷脂酸(2-acyl-lysophosphatidic acid, 2-acyl-LPA)。酵母GPAT(Gat1p和Gat2p)不仅利用G3P为底物, 还可以利用DHAP(dihydroxyacetone phosphate)和酰基辅酶A合成1-acyl-DHAP(Zheng和Zou 2001), 后者在acyl-DHAP还原酶Ayr1p催化下生成1-acyl-LPA(Athenstaedt和Daum 2000)。 $sn$ -1-GPAT一般参与甘油脂的合成, 而 $sn$ -2-GPAT参与聚酯(polyester)的合成, 如角质(cutin)和软木质(suberin)等(Li-Beisson等2013)。依据GPAT在细胞内的定位, 又可以分为3类: 质体GPAT、内质网GPAT和线粒体GPAT(Chen等2011)。我们将按照该酶的生化功能和细胞定位, 分别对GPAT加以阐述。

#### 1.1 $sn$ -1-GPAT

在拟南芥中, 迄今发现了10个GPAT基因, 包括ATSI和GPAT1~9。其中ATSI和GPAT9属于 $sn$ -1-GPAT, GPAT1~8属于 $sn$ -2-GPAT。

最早发现拟南芥GPAT相关突变体的是Kunst等(1988)。他们鉴定到丧失质体GPAT活性的突变体, 并将之命名为ACT1, 为了避免与肌动蛋白基因ACT冲突, 又改成ATSI。随后Nishida等(1993)将其cDNA在大肠杆菌中表达, 证明了它编码的蛋白具有GPAT活性。ATSI是质体GPAT。在对拟南芥ATSI缺失突变体的研究中, 发现该突变株系的PG含量减少了10%~25%, 同时还伴有种子萌发受阻、叶片发黄、植株矮小等生长发育问题(Zheng等2003)。麻风树(*Jatropha curcas*)含有ATSI同源基因(*JcGPAT1*), 也是质体GPAT。在拟南芥中过表

收稿 2018-11-20 修定 2018-12-23

资助 转基因生物新品种培育重大专项(2016ZX08004003)和国家自然科学基金(31570270)。

\* 通讯作者(whzhang@njau.edu.cn)。

达*JcGPAT1*, 种子油含量增加13%~20% (Misra等2017)。过表达来自红花(*Carthamus tinctorius*)质体GPAT基因, 能提高拟南芥种子油含量10%~21%。这些结果提示质体GPAT基因具有生物技术利用价值, 用以提高种子油含量。

除此以外, 质体GPAT与植物抗冷性有关, 这可能与影响质体膜的PG脂肪酸饱和度有关 (Murata和Tasaka 1997; Jayawardhane等2018)。在对拟南芥、豌豆、菠菜等耐冷植物的研究中发现, 它们的质体GPAT在体外表现出偏向于以18:1<sup>cisΔ9</sup>作为酰基底物(Nishida等1993)。但对南瓜或野苋菜等冷害敏感型植株的质体GPAT进行分析时, 这类质体GPAT表现出对16:0酰基底物的高活性而不是18:1酰基底物(Tamada等2004)。将冷害敏感型南瓜内编码质体GPAT的基因在烟草体内表达, 导致了烟草耐寒性下降; 而将耐寒型拟南芥的质体GPAT基因在烟草中表达, 提高了烟草耐寒能力。番茄质体GPAT (*LeGPAT*)对18:1的底物偏好性高于16:0, 过表达*LeGPAT*能增强番茄的耐寒性(Sui等2007)。向日葵的质体GPAT也与向日葵较强的耐寒性有关(Payá-Milans等2015)。在百合中, *LpGPAT*基因可以被低温诱导, 暗示了*LpGPAT*基因可能也参与了百合的耐寒性机制(Sun等2015)。

上述提到的质体GPAT都是*sn*-1-GPAT; 但是, 反过来, *sn*-1-GPAT并不全都位于质体。例如, GPAT9是*sn*-1-GPAT, 但它定位于内质网。下调*AtGPAT9*表达引起拟南芥种子油含量下降(Singer等2016)。而过表达*AtGPAT9*则提高种子油含量以及花粉中油体数量; 同时提高叶片中的TAG含量, 但不影响角质和蜡质含量(Singer等2016)。向日葵GPAT9 (*HaGPAT9-1*和*HaGPAT9-2*)也参与种子油合成(Payá-Milans等2016)。完全敲除*AtGPAT9*基因引发雄配子体和雌配子体致死, 提示该基因在有性生殖过程中的极端重要性, 但其机理尚有待研究。

## 1.2 *sn*-2-GPAT

拟南芥GPAT1~8都属于*sn*-2-GPAT。这些GPAT可能不直接参与甘油酯合成, 而参与角质(cutin)和软木质(suberin)的合成(Yang和Benning 2018)。它们是脂肪酸或其衍生物通过酯键连接而成的聚合物。角质由C16和C18的 $\omega$ 羟基酸及其衍生物构成; 软木质则由二羧酸(dicarboxylic acids)、阿魏酸(ferulic acid)以及C $\geq$ 20的饱和脂肪族等组成(Beisson等2012)。

在果实、叶片、茎和花的表面都覆盖有角质层(cuticle), 它的外层是蜡质(wax), 内层是角质; 角质下层靠近细胞膜的部分是软木质。角质和软

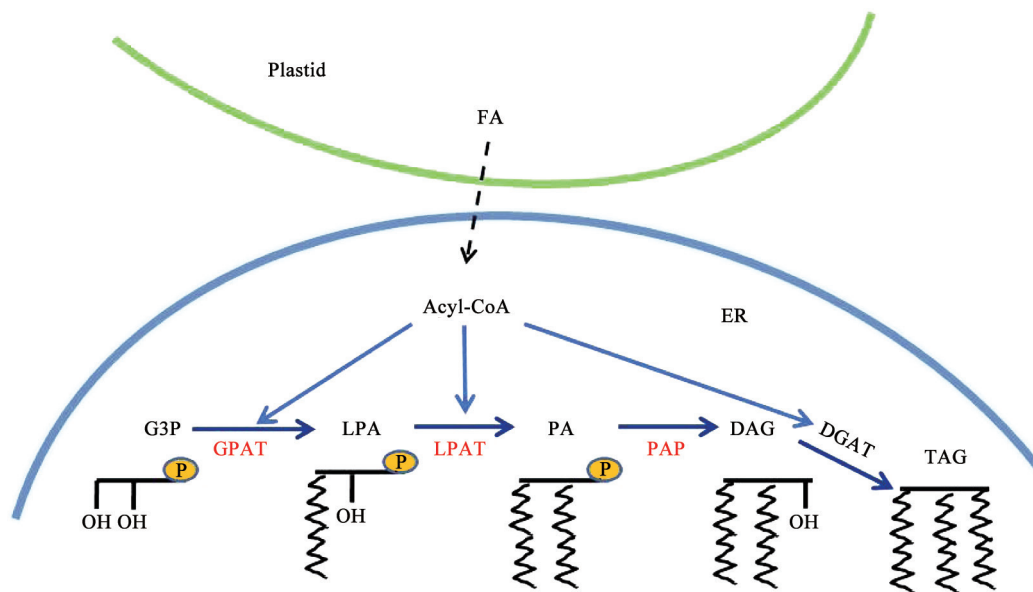


图1 DAG从头合成模型图

Fig.1 Schematic diagram of de novo synthesis of diacylglycerol

DAG: 二酰甘油, GPAT: 甘油-3-磷酸酰基转移酶, LPAT: 溶血磷脂酰基转移酶, PAP: 磷脂酸磷酸酶, ER: 内质网, Plastid: 质体。

木质都是细胞壁的组分,它们在防止水分蒸腾、阻止病原菌侵染方面起关键作用(Beisson等2012)。

### 1.2.1 定位于内质网、参与角质合成的GPAT

拟南芥中定位于内质网且与角质合成相关的GPAT有GPAT4、GPAT6、GPAT8这三个基因。GPAT4和GPAT8具有超过80%的DNA序列同源性,单突变体*gpat4*、*gpat8*均无明显的角质层缺陷,但它们的双突变体*gpat4 gpat8*茎叶结构角质含量严重降低,角质单体中的 $\alpha,\omega$ -18:2二羧酸显著减少,对脱水胁迫和真菌感染的抗性降低,气孔结构也被严重影响,提示这两基因在茎叶的角质合成上功能冗余(Li等2007a)。在拟南芥中过表达GPAT4或GPAT8后,角质单体 $\alpha,\omega$ -16:0和 $\alpha,\omega$ -18:0显著增加,这些结果表明GPAT催化的角质合成过程需要其它酶提供进一步修饰,例如对脂肪酰基链进行去饱和以及羧化作用的酶。值得一提的是,拟南芥GPAT4不仅具有 $sn$ -2酰基转移酶活性,还具有磷酸酶活性。首先催化 $\alpha,\omega$ -二羧酸辅酶A ( $\alpha,\omega$ -dicarboxylic acid-CoA, DCA-CoA)与甘油-3-磷酸在 $sn$ -2位的酯化反应,生成 $sn$ -2 DCA-LPA;接着由于其磷酸酶活性,一部分LPA被进一步转化成2-单酰甘油( $sn$ -2-monoacylglycerol, 2-MAG),成为角质合成的中间物质(Yang等2010)。

GPAT6和GPAT8也具有 $sn$ -2酰基转移酶活性和磷酸酶活性,偏向于利用C16和C18  $\omega$ -氧化酰基辅酶A为底物(Yang等2010, 2012)。拟南芥GPAT6与花瓣的角质合成有关,突变体*gpat6*表现出花瓣角质含量大量减少,导致了花瓣表面上的脊状结构缺失。该突变体绒毡层和花粉壁发育也有缺陷,导致花粉大量败育;花粉的萌发及花粉管伸长也受影响,最终导致种子产量严重下降(Li等2012)。

油菜中有3个与拟南芥GPAT4同源高的GPAT,分别是BnGPAT4-C1、BnGPAT4-C2和BnGPAT4-A1,它们都具有GPAT活性,但其基因的组织表达有差异。干扰BnGPAT4的表达导致角质含量下降,叶片气孔结构改变;用以上三个BnGPAT4基因分别回补拟南芥*gpat4 gpat8*双突变体均能一定程度恢复正常表型。Chen等(2014)又进一步确定了BnGPAT4具有 $sn$ -2酰基转移酶活性和磷酸酶活性,以二羧酸-辅酶A为底物;BnGPAT4还与花器官及种子发育有关,BnGPAT4的表达被干扰后,花粉粒及胚囊的发育受到影响,结实率下降,种子中油体形态、

油含量及脂肪酸组分都受到影响。番茄GPAT6在果实角质合成中具有重要作用,GPAT6功能缺失导致花粉形成不正常,但不像拟南芥*gpat6*突变体雄性不育,果实角质层厚度,组分及性质都被改变;有关角质和细胞壁形成及调动的基因表达也被改变了(Petit等2016)。水稻OsGPAT3也是一个内质网定位的蛋白,具有 $sn$ -2酰基转移酶活性,OsGPAT3主要在绒毡层和花药中的小孢子表达,在花药发育和花粉形成中具有重要作用(Men等2017)。与野生型水稻相比,*osgpat3*突变体的花药更小、颜色浅白、角质缺失、花粉外壁缺陷、绒毡层发育不正常,脂代谢及花药发育相关的基因表达下调。最近,玉米中报道了一个与水稻OsGPAT3同源性非常高的GPAT (*Zea mays male sterility33*, *ZmMs33*),在未成熟的花药中有高表达,ZmMs33具有 $sn$ -2酰基转移酶活性,与花药及绒毡层的发育有关(Xie等2018)。

### 1.2.2 定位于内质网、参与软木质合成的GPAT

拟南芥中定位于内质网且与软木质合成相关的GPAT主要是GPAT5和GPAT7,它们具有很高的同源性(Beisson等2007)。拟南芥GPAT5是根和种皮软木质生物合成所必需的,*gpat5*突变体的种皮软木质成分中C22:0、C24:0、 $\omega$ -羟基脂肪酸和二羧酸单体大量减少,但甘油脂类和表皮蜡质脂的组分及含量都没有明显改变;*gpat5*突变体对盐的耐受性也降低,表现为种子萌发率降低,幼苗的生长也受到抑制(Beisson等2007)。GPAT5具有 $sn$ -2酰基转移酶活性,但与GPAT4、GPAT6和GPAT8不同的是,GPAT5不具有磷酸酶活性,因此2-酰基-LPA是GPAT5的主要产物,而不是2-MAG (Yang等2010)。另外,GPAT5对于底物的选择性没有GPAT4、GPAT6或GPAT8严格,能够利用较宽范围链长度的 $\omega$ -氧化和不经取代修饰的酰基辅酶A,但几乎不利用顺式不饱和和与 $\omega$ -氧化的C16底物(Yang等2012)。

同时过表达拟南芥GPAT5和编码细胞色素P450依赖的脂肪酰基氧化酶(cytochrome P450-dependent fatty acyloxidase, CYP86A1)基因CYP86A1改变角质的组分,典型的软木质类长链羟基酸(C20-C22)增加,从而影响角质层的结构和功能,导致铺板细胞(pavement cells)大小及形态改变、失水增加。但是这种失水并没有影响到生长;另一方面,GPAT5和CYP86A1过表达植株显示出对真菌的抵抗能力增强(Li等2007b)。

GPAT7与GPAT5功能上有一定的相似性,在拟南芥中过表达*GPAT7*,导致了种子和茎蜡质中的长链 $sn$ -1/3-和 $sn$ -2 MAG的产生,伴有C22:0和C24:0游离脂肪酸生成(软木质合成的前体)。Pro<sub>GPAT7</sub>-*GUS*转基因株系在叶片受机械伤害后,在伤害组织周围GUS大量表达,表明*GPAT7*可能参与伤害胁迫响应(Yang等2012)。

### 1.2.3 定位于线粒体的GPAT

拟南芥中,定位于线粒体的GPATs包括GPAT1、GPAT2、GPAT3。*GPAT1*在角果和花芽中表达高,*GPAT2*和*GPAT3*在各组织中都有表达,但很低(Zheng等2003)。拟南芥*GPAT1*基因被敲除后,绒毡层的分化受阻,导致花粉败育,结实率严重下降。组分分析发现,花芽的TAG及极性脂含量降低了大约10%,TAG中脂肪酸组分发生改变:棕榈酸(16:0)含量下降,而亚油酸(18:2)和亚麻酸(18:3)含量上升;花粉粒中脂肪酸组分也受到影响:硬脂酸(18:0)含量上升,而亚麻酸(18:3)含量下降。突变体种子油含量虽然略有下降,但与野生型比无显著性差异;不过,种子棕榈酸(16:0)、硬脂酸(18:0)、亚麻酸(18:3)和二十碳烯酸(20:1)含量下降,而油酸(18:1)和亚油酸(18:2)含量上升(Zheng等2003)。

GPAT1定位在线粒体,具有 $sn$ -2酰基转移酶活性,能利用非取代酰基辅酶A(C16:0、C16:1、C18:0、C18:1、C20:1),也能利用 $\omega$ -氧化的酰基辅酶A。至今尚未检测到GPAT2和GPAT3活性;*gpat2*、*gpat3*突变体并没有明显的表型改变,而且花、叶片、种子的聚酯成分也没有改变(Zheng等2003; Yang等2012),对它们的功能有待深入研究。

## 2 溶血磷脂酸酰基转移酶(LPAT)

溶血磷脂酸酰基转移酶(LPAT)是一个非常庞大且古老的酶家族,属于MBOAT(membrane bound O-acyltransferase)超级家族,催化以溶血磷脂酸(lyso-PA)和酰基辅酶A为底物生成PA的生化反应(Korbes等2016)。PA是膜脂、贮存脂类和信号转导相关脂类合成的关键性中间物质,参与各种各样的生理活动(Korbes等2016)。根据LPAT在动物、植物、藻类、真菌及细菌中的进化关系和底物选择性,植物LPAT可以分为质体-LPAT和微囊体-LPAT;后者又主要分成A类LPAT(LPAT-A)和B类LPAT(LPAT-B)两

类(Kim等2015)。

### 2.1 质体-LPAT

LPAT1定位在质体,在底物选择上更偏好于16:0-CoA,已报道的植物LPAT家族都含有LPAT1同源基因(Misra等2014; Korbes等2016)。

拟南芥LPAT1(又称为*AtATS2*)基因在组织中广泛表达。该基因突变后导致PA减少而lyso-PA增加,从而影响膜完整性和PA调控的功能,导致胚胎死亡(Kim和Huang 2004; Yu等2004)。油菜中质体定位的LPAT(BAT2)具有LPAT活性,底物选择上更偏好于16:0-CoA(Bourgis等1999)。蓖麻中也报道了一个质体定位的RcLPAT1,进化上与LPAT1相近,在种子发育的S1、S2期呈线性上升,在S3期达到最高,在种子发育后期S4、S5期逐渐下降,可能与种子脂合成有关(Cagliari等2010)。对绿藻脂合成积累过程中的转录组分析表明LPAT1(*CrLPAT1*)和DGAT1(*CrDGAT1*)是表达上调最显著的基因,这两个基因被敲除后,中性脂降低(Lv等2013)。CrLPAT1定位于质体,对底物18:1-CoA的偏好性低于16:0-CoA;在缺氮源的情况下,过表达*CrLPAT1*可以促进TAG的合成(Yamaoka等2016)。而最近报道的牡丹PrLPAT1却定位于质膜而不是质体,*PrLPAT1*在组织中广泛表达,在花和发育种子中表达最高,在拟南芥种子中特异表达可以提高种子脂肪酸的含量(Zhang等2017)。

### 2.2 LPAT-A

LPAT-A多在组织中广泛表达,且在底物选择性上更偏好于18:1-CoA而不是16:0-CoA(Arroyo-Caro等2013)。拟南芥LPAT2(*AtLPAT2*)和LPAT3(*AtLPAT3*)都属于LPAT-A。

*AtLPAT2*定位于内质网,具有LPAT活性。该基因突变后可能导致甘油酯稳态失衡而引起雌配子体败育(Kim等2005)。*AtLPAT3*的基因表达仅在花序和根被检测到,花粉中表达尤为强烈;*AtLPAT3*与*AtLPAT2*功能上存在一定冗余,可以部分回补*atlpat2*突变体表型(Kim等2005)。在磷缺乏的情况下,*AtLPAT2*能促进磷脂合成而促进根的发育(Angkawijaya等2017)。油菜中鉴定出的3个LPAT(BAT1.3、BAT1.5、BAT1.13),属于LPAT-A(Maisonneuve等2010)。*BAT1.13*在组织中广泛表达,*BAT1.5*主要在种子中表达,在拟南芥中分别过表

达这两个基因均能增加种子重量和油脂含量。花生*AhLPAT2*在组织中广泛表达, 在雌蕊和种子中表达最强, 编码胞质蛋白, 在拟南芥中种子特异性表达后上调脂肪酸重头合成和TAG组装相关基因的表达, 促进了种子油脂合成和粒重增加(Chen等2015)。蓖麻中报道了3个LPAT-A (*RcLPAT2/3/4*), 它们在种子发育不同时期的基因表达不同, *RcLPAT2*相对表达最高(Cagliari等2010)。*RcLPAT2/3*分别与拟南芥*AtLPAT2/3*相似性高, *RcLPAT2*在种子发育过程中的表达趋势与*RcLPAT1*相似, 而*RcLPAT3*在S1、S2期维持较高的表达水平, 之后表达下降。*RcLPAT4*仅在种子发育的S2期表达高, 在S1、S3期很低, 而在S4、S5期几乎检测不到表达。Arroyo-Caro等(2013)对*RcLPAT2*、*RcLPAT3A* (*RcLPAT3*)、*RcLPAT3B* (*RcLPAT4*)做了进一步的研究, 发现*RcLPAT2*除了在种子中表达, 还在其他大部分组织表达, *RcLPAT2*偏好18:1-CoA。蓖麻油的脂肪酸组分约90%是18:1-OH且在*sn-2*位置上, *RcLPAT2*对底物选择的特性应该与此结果有关(Tomosugi等2006)。*RcLPAT3A*主要在花药表达, *RcLPAT3B*在营养组织和生殖组织都有表达, 这两个酶的LPAT活性目前还没检出来。池花(*Limnanthes douglasii*) *LPAT1*也属于LPAT-A, 在叶片和种子中都有表达, 池花*LPAT1*更偏好于以18:1-CoA为底物(Brown等2002)。

### 2.3 LPAT-B

LPAT-B的基因一般只在种子中表达, 在底物的选择性上偏好于不寻常的酰基底物(比如中链脂肪酰基), 目前在椰子、池花及蓖麻种子中已有报道, 拟南芥中没有此类基因报道(Korbes等2016)。

池花*LAT2* (*Ld-LPAT2*)属于LPAT-B, 更偏向于利用16:0-CoA和22:1-CoA为底物。*Ld-LPAT2*仅在开花22 d后的发育中种子表达(Brown等2002)。池花种子中C22:1脂肪酸大量积累时, *Ld-LPAT2*蛋白表达水平也达到最高, 这与体外结果吻合(Brown等2002)。另外, 在油菜中过表达油菜*FAE1* (*BnFAE1*)和*Ld-LPAT2*可以显著提高种子中C22:1脂肪酸含量, 也支持LPAT2偏好22:1-CoA为底物这一结论(Nath等2009)。

椰子胚乳中也鉴定出一个LPAT-B (*CnLPAT*), 偏好以中链脂肪酰辅酶A为底物, 尤其是12:0-CoA

(Knutzon等1995)。在油菜中共表达椰子*CnLPAT*和加州月桂(*Umbellularia californica*)硫酯酶基因*BTE* (*bay thioesterase*)可以产生富含C12:0脂肪酸的TAG (Knutzon等1999; Wiberg等2000)。在烟草叶片中共表达*CnLPAT*、*BTE*和*AtWR11*, 可以显著增加叶片中的C12:0和C14:0脂肪酸含量(Reynolds等2015)。甚至在酵母中表达*CnLPAT*基因, 也可以提高C12:0和C14:0脂肪酸含量。但是, 在*CnLPAT*表达载体中加上种子特异表达启动子, 然后在烟草中表达, 则导致C12:0、C14:0脂肪酸含量显著下降, 但C6:0、C8:0、C10:0脂肪酸含量上升(Yuan等2015)。因此, 需要对*CnLPAT*等这一类LPAT-B如何参与含中链脂肪酸油脂合成的机理作进一步探究。

### 2.4 其它LPAT

拟南芥LPAT4和LPAT5 (*AtLPAT4*与*AtLPAT5*)在进化上与动物AGPAT8相似(Korbes等2016)。它们在组织中虽广泛表达但是量很低, 而且在细菌或酵母中表达这两个蛋白, 均未检测到酶活性, 其功能有待进一步探究(Kim等2005)。通过对牡丹种子不同发育阶段的脂肪酸积累趋势及相关基因表达情况进行分析, 牡丹LPAT (*PrLPAT4*)对于种子脂肪酸及油脂合成有正向调控作用(Zhang等2018)。*PrLPAT4*定位于质膜, 在拟南芥中过表达该基因会促进TAG合成相关基因表达上调, 促进脂肪酸尤其是油酸(C18:1)的积累(Zhang等2017)。花生*AhLPAT4*编码胞质蛋白。该基因在除花器官以外的大部分组织中表达。通过对花生种子不同发育时期中油含量和*AhLPAT4*的表达情况分析, *AhLPAT4*可能与种子油脂积累关系不大(Chen等2012)。Ghosh等(2009)在拟南芥中也发现了一个可溶性的LPAT (*solLPAT*, *At4g24160*), 在进化上, *solLPAT*与哺乳动物 $\alpha/\beta$ 水解酶类蛋白CGI-58 (comparative gene identification-58)相似, 表现在蛋白结构上的保守性, 即都有脂酶/酯酶结构域, 内含G-x-S-x-G基序(motif), 以及酰基转移酶结构域, 内含HxxxxD基序。因此, 在原核细胞中表达该蛋白, 不仅具有LPAT活性, 还有TAG和PC水解酶活性(Ghosh等2009)。通常情况下TAG积累在种子中, 但是如果干扰CGI-58表达, 会导致在其它组织(如绿色组织中的叶肉细胞)中积累TAG (James等2010), 提示该蛋白体内的TAG水解活性。随后Park等(2013)鉴定出CGI-58

的互作蛋白PXA1 (peroxisomal ABC transporter 1), 它是过氧化物体膜上的转运蛋白, 将底物转运到过氧化物, 随后进行 $\beta$ -氧化。两者的互作, 不但调控细胞内TAG, 还调节茉莉酸含量, 以及对生长素信号的转导。由此可见, 脂代谢的中间产物具有广泛的生理作用。

### 3 磷脂酸磷酸酶

DAG从头合成的最后一步由磷脂酸磷酸酶(PAP)催化完成。PAP去磷酸化PA, 产生DAG和无机磷酸根(Pi)。根据酶的催化特性分为PAP1和PAP2。

#### 3.1 PAP1/PAH

PAP1是胞质酶, 偶尔会结合到内质网膜上(Nakamura和Ohta 2010), 这可能是为了与膜上的底物PA结合(Han等2006)。在酵母中此酶已经被纯化, 被命名为磷脂酸磷酸水解酶(phosphatidate phosphohydrolase, PAH)。其酶活性依赖 $Mg^{2+}$ , 主要以PA为底物, 并在Kennedy途径发挥作用(Kelly和Feussner 2016)。

拟南芥中PAH1和PAH2参与了糖脂的合成, 其介导的膜脂重塑调控植物适应缺磷土壤环境。*pah1 pah2*拟南芥双突变体的糖脂合成显著下降, 缺磷条件下的幼苗生长也受到严重影响(Nakamura等2009)。相反, PAH1和PAH2对磷脂合成有抑制作用, 因此*pah1 pah2*双突变体中磷脂合成增加(Eastmond等2010)。可能的原因如下: 细胞内PAHs活性降低会使其底物PA积累, 使得内质网内PA/PC比值增加, 从而刺激PC合成限速酶磷酸胆碱二胞苷酰基转移酶(CTP:phosphocholine cytidylyltransferase1, CCT1)催化磷酸胆碱(P-Cho)生成CDP-胆碱(CDP-Cho), 并进一步在氨基醇磷酸转运酶(aminoalcohol phosphotransferase)催化下, DAG和CDP-Cho反应生成PC(Craddock等2015)。*pah1 pah2*双突变体中, 除了PA和PC增加外, PE和PI也显著增加(Eastmond等2010)。另外, 细胞周期蛋白依赖的激酶CDKA;1 (cyclin-dependent kinase a;1)通过磷酸化PAH1的162-丝氨酸来降低PAH1的活性及其与膜的结合, 调控PC的合成(Craddock等2017)。从生化上分析, 生成的PC可以被作为磷脂:二酰甘油酰基转移酶(phospholipid:diacylglycerol acyltransferase1,

PDAT1)的底物, 用于TAG的合成。有报道指出, 酵母PAH1与甘油酯合成有关, 其*pah1* $\Delta$ 突变体中PA含量增加, 而DAG和TAG含量减少(Han等2006)。将拟南芥PAH和油菜PAH在酵母*pah1* $\Delta$ 突变体内表达可以(部分)回补*pah1* $\Delta$ 突变体TAG减少的缺陷(Mietkiewska等2011), 这说明植物PAH可能也参与了TAG的合成。最近的研究结果支持这一推论。在氮素缺乏情况下, 拟南芥双突变体*pah1 pah2*叶片中TAG含量比野生型低, 而PAH1和PAH2过表达植株的叶片TAG含量要高于野生型(Yoshitake等2017)。在红花正在成熟的种子中分离到一个PAP, 其活性依赖 $Mg^{2+}$ , 可以水解磷脂酸和溶血磷脂, 可能参与种子TAG积累(Ichihara等1989)。

由于PA是重要的脂信号分子, 因此PAH还可能通过调控PA的浓度来调控一系列的生长发育和对环境信号的响应过程。PAH1和PAH2双基因突变后, 花序有明显的发育缺陷, 与花序PA含量显著增加相关(Nakamura等2014)。拟南芥PAH2在烟草叶片过表达后, 可以抑制番茄丛矮病毒的复制(Chuang等2014)。

#### 3.2 PAP2/LPP

PAP2是跨膜酶蛋白, 其底物具有广泛性, 不仅水解PA, 还可以水解二酰甘油焦磷酸(diacylglycerolpyrophosphate, DGPP)、溶血磷脂酸(LPA)、鞘氨醇-1-磷酸(sphingosine-1-phosphate, S1P)和神经酰胺-1-磷酸(ceramide-1-phosphate, C1P)等, 主要产物是DAG(Pascual和Carman 2013)。PAP2不仅在信号转导中有重要作用, 还参与甘油酯的合成。

拟南芥中有9个PAP2, 其中AtLPP1~4 (LPP $\alpha$ 1~ $\alpha$ 4)与动物PAP2同源性高, 归为真核LPP; 另外5个是AtLPP $\beta$ 、 $\gamma$ 、 $\delta$ 、 $\epsilon$ 1、 $\epsilon$ 2, 根据与蓝藻的同源性比对, 归为原核LPP(Nakamura和Ohta 2010)。AtLPP1可以利用PA和DGPP为底物, 但更偏好DGPP。AtLPP1主要在叶和根中表达, 被 $\gamma$ 射线和UV-B、黄蜂毒素(mastoparan)和细菌蛋白harpin处理诱导表达, 说明了AtLPP1可能参与了DNA损伤、G蛋白激活及氧化胁迫等信号转导途径(Piergues等2001)。AtLPP2也可以利用PA和DGPP为底物, 在芽、花、叶、根、角果和茎中都有表达, AtLPP2的表达基本不受 $\gamma$ 射线和UV-B、黄蜂毒素和harpin处理诱导(Piergues等2001)。AtLPP2响

应ABA信号,在种子萌发及叶片气孔运动中的ABA信号转导中发挥作用。拟南芥*lpp2*突变体种子在萌发期PA大量积累,对ABA的敏感性增强,说明了*AtLPP2*作为负调控因子参与萌发期的ABA信号转导(Katagiri等2005)。*lpp2*突变体叶片中PA含量也比对照高,对ABA抑制的气孔开放的敏感性降低,这也说明了*AtLPP2*参与了ABA调节的气孔运动(Paradis等2011)。原核表达*AtLPP3*不能检测到其活性,但其基因表达在种子萌发期增强,在叶片中的表达受ABA处理刺激而显著升高(Paradis等2011)。*AtLPP4*酶活性及功能都没有被报道,用ABA处理叶片时,其基因表达也检测不到(Paradis等2011)。

*AtLPP $\gamma$* 、*- $\epsilon$ 1*、*- $\epsilon$ 2*是定位在质体的LPP,具有LPP活性,活性受Mg<sup>2+</sup>抑制(Nakamura等2007)。这三个质体LPP基因都在根、茎、叶、花中表达,*AtLPP $\gamma$* 在茎、花中表达比*AtLPP $\epsilon$ 1*、*- $\epsilon$ 2*的强。*AtLPP $\gamma$* 突变导致花粉管伸长受阻,而*atlpp $\epsilon$ 1*、*atlpp $\epsilon$ 2*和*atlpp $\epsilon$ 1atlpp $\epsilon$ 2*这三个突变体均无明显表型,且脂组分也无明显变化。*AtLPP $\delta$*  (*AtSPP1*)与动物SPP (sphingosine-1-phosphate phosphatase)同源性很高,具有LCBP (long-chain base 1-phosphate)酶功能,定位于内质网,在调控气孔运动的ABA信号转导途径中具有一定作用,其突变体的气孔对ABA的敏感性增强(Nakagawa等2012)。*AtLPP $\beta$* 与蓝藻LPP同源性较高,其功能目前仍未确定(Nakamura等2007)。牵牛花的一个*AtLPP $\beta$* 同源蛋白PnFL-1被报道可能与光周期的响应有关(Kim等2003),*AtLPP $\beta$* 是否具有类似功能需要进一步探究。

烟草LPP (*DS1*)是一个酶活性不依赖Mg<sup>2+</sup>的PAP,通过调节PA水平来影响植物ROS (reactive oxygen species)和JA (jasmonic acid)级联反应相关的免疫响应机制。通过VIGS抑制*DS1*基因表达,降低PAP活性,导致植株内PA超积累。当该植株接种青枯雷尔氏菌(*Ralstonia solanacearum*)后,出现细胞死亡加速、活性氧积累、*PR-4*基因表达等抗病反应;相反,过表达*DS1*基因,PA下降,降低植物对青枯雷尔氏菌的抗性(Nakano等2013)。说明PA的积累是烟草抗青枯雷尔氏菌所必需的。

烟草LPP通过调控PA水平来调控花粉管的生长,抑制烟草花粉管中LPP4的表达、或者用药理

学方法抑制LPP活性,均可以显著促进花粉管的生长(Pleskot等2012)。豇豆的两个PAP2酶VuPAP $\alpha$ 和VuPAP $\beta$ 与水分胁迫有关,其基因表达受水分缺失诱导,但不受机械伤害和茉莉酸处理诱导(França等2008)。此外,苦瓜中报道了一个较为特殊的PAP,其活性不依赖Mg<sup>2+</sup>,是可溶性蛋白,其功能尚不清楚(Cao等2014)。

有关PAP2的大部分报道都是其参与信号转导,但也有参与油脂代谢的报道。通过对油棕脂代谢相关基因转录水平的分析,发现油棕LPP $\beta$ 在果实成熟时期大量表达,与TAG合成相关的GPAT及LPAT的表达水平一致,这说明油棕LPP $\beta$ 可能也参与了油脂合成(Bourgis等2011)。对莎草块茎发育过程中脂代谢相关基因转录水平分析表明,莎草LPP $\beta$ 可能也参与了莎草块茎中油脂的合成(Yang等2016)。在绿藻中表达绿藻PAP2基因*CrPAP2*或酵母PAP2基因(*ScDPP*和*ScLPP*)都可以显著提高油脂含量(Hsieh等2012; Deng等2013),证明其PAP2/LPP在油脂中的正向调控作用。

#### 4 展望

植物细胞中DAG的含量虽然比较低,但它是植物正常生长、对环境刺激作出积极响应所必需的(图1)。DAG作为连接油脂和膜脂的关键节点,直接影响着胞内油脂和膜脂的平衡。同时,它又是一些脂信号分子产生的“中转站”。例如,磷脂酶C水解PIP<sub>2</sub>(或PIP),生成DAG和IP<sub>3</sub>(或IP<sub>2</sub>)等产物(Li等2017),DAG可以进一步被DAG激酶磷酸化,产生另外一个重要的脂信号分子PA(Zhang等2014)。而PIP<sub>2</sub>等磷酸肌醇盐在控制激素运输,调节植物胚发育和幼叶生长中起到关键作用(Tejos等2014)。位于不同细胞器的一系列酶调控DAG的合成和代谢,发挥各种细胞和生理学的功能。

本文综述了DAG的从头合成途径,着重介绍了参与此途径的GPAT、LPAT、PAP三类酶的基因家族、生化特征,分析了它们的功能。通过遗传操纵等手段初步证明这些基因在油脂合成、生长发育、植物抗性等方面具有广泛的功能(图1)。但是,有一些重要的问题将来仍需继续探索:如这些酶及其产物是如何起作用的细胞和分子学机理,目前知道得很少,有待深入研究;第二,对这些酶(蛋

白)的转录调控机制知之甚少;第三,针对作物的研究很少,如大豆、油菜,甚至玉米等作物,相对应的基因是否、如何在这些油料作物的DAG、TAG等合成中起作用?解决这些问题,有利于将来利用基因工程手段培育含油量高、品质好的油料作物。

### 参考文献(References)

- Angkawijaya AE, Nguyen VC, Nakamura Y (2017). Enhanced root growth in phosphate-starved *Arabidopsis* by stimulating de novo phospholipid biosynthesis through the overexpression of lysophosphatidic acid acyltransferase 2 (LPAT2). *Plant Cell Environ*, 40: 1807–1818
- Arroyo-Caro JM, Chileh T, Kazachkov M, et al (2013). The multigene family of lysophosphatidate acyltransferase (LPAT)-related enzymes in *Ricinus communis*: cloning and molecular characterization of two LPAT genes that are expressed in castor seeds. *Plant Sci*, 199–200: 29–40
- Athenstaedt K, Daum G (2000). 1-Acyldihydroxyacetone-phosphate reductase (Ayr1p) of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* encoded by the open reading frame *YIL124w* is a major component of lipid particles. *J Biol Chem*, 275: 235–240
- Bates PD (2016). Understanding the control of acyl flux through the lipid metabolic network of plant oil biosynthesis. *Biochim Biophys Acta*, 1861: 1214–1225
- Beisson F, Li-Beisson Y, Pollard M (2012). Solving the puzzles of cutin and suberin polymer biosynthesis. *Curr Opin Plant Biol*, 15: 329–337
- Bourgis F, Kader JC, Barret P, et al (1999). A plastidial lysophosphatidic acid acyltransferase from oilseed rape. *Plant Physiol*, 120: 913–922
- Bourgis F, Kilaru A, Cao X, et al (2011). Comparative transcriptome and metabolite analysis of oil palm and date palm mesocarp that differ dramatically in carbon partitioning. *Proc Natl Acad Sci USA*, 108: 12527
- Brown AP, Carnaby S, Brough C, et al (2002). *Limnanthes douglasii* lysophosphatidic acid acyltransferases: immunological quantification, acyl selectivity and functional replacement of the *Escherichia coli* plsC gene. *Biochem J*, 364: 795–805
- Cagliari A, Margis-Pinheiro M, Loss G, et al (2010). Identification and expression analysis of castor bean (*Ricinus communis*) genes encoding enzymes from the triacylglycerol biosynthesis pathway. *Plant Sci*, 179: 499–509
- Cao H, Sethumadhavan K, Grimm CC, et al (2014). Characterization of a soluble phosphatidic acid phosphatase in bitter melon (*Momordica charantia*). *PLoS One*, 9: e106403
- Chapman KD, Ohlrogge JB (2012). Compartmentation of triacylglycerol accumulation in plants. *J Biol Chem*, 287: 2288–2294
- Chen S, Lei Y, Xu X, et al (2015). The peanut (*Arachis hypogaea* L.) gene *AhLPAT2* increases the lipid content of transgenic *Arabidopsis* seeds. *PLoS One*, 10: e0136170
- 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: 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: 851–865
- Chuang C, Barajas D, Qin J, et al (2014). Inactivation of the host lipin gene accelerates RNA virus replication through viral exploitation of the expanded endoplasmic reticulum membrane. *PLoS Pathogens*, 10: e1003944
- Deng XD, Cai JJ, Fei XW (2013). Involvement of phosphatidate phosphatase in the biosynthesis of triacylglycerols in *Chlamydomonas reinhardtii*. *J Zhejiang Univ Sci B*, 14: 1121–1131
- Dong W, Lv H, Xia G, et al (2012). Does diacylglycerol serve as a signaling molecule in plants? *Plant Signal Behav*, 7 (4): 472–475
- Eastmond PJ, Quettier A-L, Kroon JTM, et al (2010). Phosphatidic acid phosphohydrolase 1 and 2 regulate phospholipid synthesis at the endoplasmic reticulum in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 22: 2796–2811
- Ghosh AK, Chauhan N, Rajakumari S, et al (2009). At4g24160, a soluble acyl-coenzyme A-dependent lysophosphatidic acid acyltransferase. *Plant Physiol*, 151: 869–881
- Hsieh H-J, Su C-H, Chien L-J (2012). Accumulation of lipid production in *Chlorella minutissima* by triacylglycerol biosynthesis-related genes cloned from *Saccharomyces cerevisiae* and *Yarrowia lipolytica*. *J Microbiol*, 50: 526–534
- Ichihara K, Norikura S, Fujii S (1989). Microsomal phosphatidate phosphatase in maturing safflower seeds. *Plant Physiol*, 90: 413
- James CN, Horn PJ, Case CR, et al (2010). Disruption of the *Arabidopsis* CGI-58 homologue produces Chanarin-Dorfman-like lipid droplet accumulation in plants. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 107: 17833–17838
- Jayawardhane KN, Singer SD, Weselake RJ, et al (2018). Plant sn-glycerol-3-phosphate acyltransferases: biocatalysts involved in the biosynthesis of intracellular and extracellular lipids. *Lipids*, 53: 469–480
- Katagiri T, Ishiyama K, Kato T, et al (2005). An important role of phosphatidic acid in ABA signaling during germination in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*, 43: 107–117
- Ke X, Yi Y, Li XF (2010). Ectopic expression of *Crambe abyssinica* lysophosphatidic acid acyltransferase in trans-



- genic rapeseed increases its oil content. *AFR J Biotechnol*, 9: 3904–3910
- Kelly AA, Feussner I (2016). Oil is on the agenda: Lipid turnover in higher plants. *Biochim Biophys Acta*, 1861: 1253–1268
- Kim HJ, Silva JE, Iskandarov U, et al (2015). Structurally divergent lysophosphatidic acid acyltransferases with high selectivity for saturated medium chain fatty acids from *Cuphea* seeds. *Plant J*, 84: 1021–1033
- Kim HU, Huang AH (2004). Plastid lysophosphatidyl acyltransferase is essential for embryo development in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 134: 1206–1216
- Kim Y, Terng EL, Riekhof WR, et al (2018). Endoplasmic reticulum acyltransferase with prokaryotic substrate preference contributes to triacylglycerol assembly in *Chlamydomonas*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 115: 1652–1657
- Korbes AP, Kulcheski FR, Margis R, et al (2016). Molecular evolution of the lysophosphatidic acid acyltransferase (LPAAT) gene family. *Mol Phylogenet Evol*, 96: 55–69
- 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: 4143–4147
- Li-Beisson Y, Shorrosh B, Beisson F, et al (2013). Acyl-lipid metabolism. *Arabidopsis Book*, 11: e0161
- Li L, Wang F, Yan P, et al (2017). A phosphoinositide-specific phospholipase C pathway elicits stress induced  $Ca^{2+}$  signals and confers salt tolerance to rice. *New Phytol*, 214: 1172–1187
- 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: 131–142
- Li Y, Beisson F, Koo AJ, et al (2007). Identification of acyltransferases required for cutin biosynthesis and production of cutin with suberin-like monomers. *Proc Natl Acad Sci USA*, 104: 18339–18344
- Li Y, Beisson F, Ohlrogge J, et al (2007). 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: 1267–1277
- Lv H, Qu G, Qi X, et al (2013). Transcriptome analysis of *Chlamydomonas reinhardtii* during the process of lipid accumulation. *Genomics*, 101: 229–237
- Maisonneuve S, Bessoule JJ, Lessire R, et al (2010). Expression of rapeseed microsomal lysophosphatidic acid acyltransferase isozymes enhances seed oil content in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 152: 670–684
- Mietkiewska E, Siloto RM, Dewald J, et al (2011). Lipins from plants are phosphatidate phosphatases that restore lipid synthesis in a *pah1Δ* mutant strain of *Saccharomyces cerevisiae*. *FEBS J*, 278: 764–775
- Misra A, Khan K, Niranjana A, et al (2017). Heterologous expression of two GPATs from *Jatropha curcas* alters seed oil levels in transgenic *Arabidopsis thaliana*. *Plant Sci*, 263: 79
- Misra N, Panda PK, Parida BK (2014). Genome-wide identification and evolutionary analysis of algal LPAT genes involved in TAG biosynthesis using bioinformatic approaches. *Mol Biol Rep*, 41: 8319–8332
- Murata N, Tasaka Y (1997). Glycerol-3-phosphate acyltransferase in plants. *Biochim Biophys Acta*, 1348: 10
- Nakamura Y, Koizumi R, Shui G, et al (2009). *Arabidopsis* lipins mediate eukaryotic pathway of lipid metabolism and cope critically with phosphate starvation. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 106: 20978–20983
- Nakamura Y, Ohta H (2010). Phosphatidic acid phosphatases in seed plants— involvement in membrane lipid biosynthesis and signal transduction. *Seikagaku*, 82: 1137–1141
- Nakamura Y, Teo NZ, Shui G, et al (2014). Transcriptomic and lipidomic profiles of glycerolipids during *Arabidopsis* flower development. *New Phytol*, 203: 310–322
- Nath UK, Wilmer JA, Wallington EJ, et al (2009). Increasing erucic acid content through combination of endogenous low polyunsaturated fatty acids alleles with *Ld-LPAAT* + *Bn-fae1* transgenes in rapeseed (*Brassica napus* L.). *Theor Appl Genet*, 118: 765–773
- Nishida I, Tasaka Y, Shiraishi 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: 267–277
- Paradis S, Villasuso AL, Aguayo SS, et al (2011). *Arabidopsis thaliana* lipid phosphate phosphatase 2 is involved in abscisic acid signalling in leaves. *Plant Physiol Biochem*, 49: 357–362
- Park S, Gidda SK, James CN, et al (2013). The alpha/beta hydrolase CGI-58 and peroxisomal transport protein PXA1 coregulate lipid homeostasis and signaling in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 25: 1726–1739
- Pascual F, Carman GM (2013). Phosphatidate phosphatase, a key regulator of lipid homeostasis. *Biochim Biophys Acta*, 1831: 514–522
- 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: 894–913
- Reynolds KB, Taylor MC, Zhou X-R, et al (2015). Metabolic engineering of medium-chain fatty acid biosynthesis in *Nicotiana benthamiana* plant leaf lipids. *Front Plant Sci*, 6: 164

- Shockey J, Regmi A, Cotton K, et al (2016). Identification of *Arabidopsis* GPAT9 (At5g60620) as an essential gene involved in triacylglycerol biosynthesis. *Plant Physiol*, 170: 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: 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: 1097
- Sun SK, Yang NN, Chen LJ, et al (2015). Characterization of *LpGPAT* gene in *Lilium pensylvanicum* and response to cold stress. *Biomed Res Int*, 2015: 792819
- Tamada T, Feese MD, Ferri SR, et al (2004). Substrate recognition and selectivity of plant glycerol-3-phosphate acyltransferases (GPATs) from *Cucurbita moscata* and *Spinacea oleracea*. *Acta Cryst*, 60: 13–21
- Tejos R, Sauer M, Vanneste S, et al (2014). Bipolar plasma membrane distribution of phosphoinositides and their requirement for auxin-mediated cell polarity and patterning in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 26: 2114–2128
- Tomosugi M, Ichihara K, Saito K (2006). Polyamines are essential for the synthesis of 2-ricinoleoyl phosphatidic acid in developing seeds of castor. *Planta*, 223: 349–358
- Xie K, Wu S, Li Z, et al (2018). Map-based cloning and characterization of *Zea mays* male sterility33 (*ZmMs33*) gene, encoding a glycerol-3-phosphate acyltransferase. *Theor Appl Genet*, 131: 1363–1378
- Xu C, Shanklin J (2016). Triacylglycerol metabolism, function, and accumulation in plant vegetative tissues. *Annu Rev Plant Biol*, 67: 179–206
- Yamaoka Y, Achard D, Jang S, et al (2016). Identification of a *Chlamydomonas* plastidial 2-lysophosphatidic acid acyltransferase and its use to engineer microalgae with increased oil content. *Plant Biotechnol J*, 14: 2158–2167
- 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: 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: 638–652
- Yang Y, Benning C (2018) Functions of triacylglycerols during plant development and stress. *Curr Opin Biotechnol*, 49: 191–198
- Yang Z, Ji H, Liu D (2016). Oil biosynthesis in underground oil-rich storage vegetative tissue: comparison of *Cyperus esculentus* tuber with oil seeds and fruits. *Plant Cell Physiol*, 57: 2519–2540
- Yu B, Wakao S, Fan J, et al (2004). Loss of plastidic lysophosphatidic acid acyltransferase causes embryo-lethality in *Arabidopsis*. *Plant Cell Physiol*, 45: 503–510
- Yuan Y, Liang Y, Gao L, et al (2015). Functional heterologous expression of a lysophosphatidic acid acyltransferase from coconut (*Cocos nucifera* L.) endosperm in *Saccharomyces cerevisiae* and *Nicotiana tabacum*. *Sci Horti-Amsterdam*, 192: 224–230
- Zhang Q, Que Y, Jing W, et al (2014). Phospholipase Ds in plant response to hyperosmotic stresses. In: Wang (ed). *Phospholipases in Plant Signaling. Signaling and Communication in Plants*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 121–134
- Zhang QY, Niu LX, Yu R, et al (2017). Cloning, characterization, and expression analysis of a gene encoding a putative lysophosphatidic acid acyltransferase from seeds of *Paeonia rockii*. *Appl Biochem Biotech*, 182: 721–741
- Zhang QY, Yu R, Xie LH, et al (2018). Fatty acid and associated gene expression analyses of three tree peony species reveal key genes for alpha-linolenic acid synthesis in seeds. *Front Plant Sci*, 9: 106
- 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: 1872–1887
- Zheng Z, Zou J (2001). The initial step of the glycerolipid pathway: Identification of glycerol 3-phosphate/dihydroxyacetone phosphate dual substrate acyltransferases in *Saccharomyces cerevisiae*. *J Biol Chem*, 276: 41710–41716
- Zhou D, Zhao J, Bai Y et al (2012). Research advance in triacylglycerol synthesis, metabolism, and regulation in plants. *J Nanjing Agri Univ*, 35: 77–86 (in Chinese with English abstract) [周丹, 赵江哲, 柏杨等(2012). 植物油脂合成代谢及调控的研究进展. *南京农业大学学报*, 35: 77–86]

## Key enzymes for *de novo* synthesis of diacylglycerol in plant cells

BAI Yang, ZHANG Wen-Hua\*

College of Life Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China

**Abstract:** Diacylglycerol (DAG) is an intermediate in metabolism of both triacylglycerols and membrane lipids. Multiple pathways for DAG synthesis and/or metabolism have been identified in plant cells, e.g. phospholipase C-mediated DAG generation. We here review the Kennedy pathway of *de novo* DAG synthesis, in which glycerol-3-phosphateacyl transferase (GPAT), lysophosphatidic acid acyltransferase (LPAT) and phosphatidic acid phosphatase (PAP) are highlighted. The gene families of these enzymes and their functions are reviewed, especially in oil synthesis, stress response, and development.

**Key words:** diacylglycerol (DAG); glycerol-3-phosphateacyltransferase (GPAT); lysophosphatidic acid acyltransferase (LPAT); phosphatidic acid phosphatase (PAP)

---

Received 2015-11-20 Accepted 2015-12-23

The work is supported by grants from the Key Transgenic Breeding Program of China (2106ZX08004003) and the National Natural Science Foundation of China (31570270).

\*Corresponding author (whzhang@njau.edu.cn).