

在基因家族背景下对四种植物中 DGAT2 的鉴定和序列分析

陈振玺^{1,2}, 王 鹏², 盖江涛², 王奇志^{1*}

(1. 华侨大学化工学院, 福建厦门 361021; 2. 中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所, 海南儋州 571737)

摘 要: 二酰甘油酰基转移酶 2 (Diacylglycerol O-acyltransferase 2, DGAT2) 是植物中三羧酸甘油酯 (TAG) 合成途径的限速酶, 其编码基因属于酰基转移酶基因超家族。本研究依托植物全基因组数据库 Phytozome, 通过 BLAST 搜索获得了蓖麻 (*Ricinus communis* L.)、拟南芥 (*Arabidopsis thaliana* Heynh.)、毛果杨 (*Populus trichocarpa* Torr. & A. Gray.) 和木薯 (*Manihot esculenta* Crantz.) 4 种双子叶植物酰基转移酶基因超家族所编码的 73 条多肽序列, 并从中鉴定出 5 条 DGAT2 序列。理化性质和跨膜结构域分析表明, 5 条 DGAT2 序列均为疏水性跨膜蛋白, 其中木薯 DGAT2 为一次跨膜蛋白且在叶绿体膜中大量分布, 这与其他植物的 DGAT2 序列存在差异; 木薯 DGAT2 蛋白在进化过程中发生了功能分化且可能与木薯的抗逆作用有关。

关键词: DGAT2; 三酰甘油; 限速酶; 基因家族

中图分类号: Q349

文献标识码: A

文章编号: 2095-0837(2015)02-0186-09

Identification and Sequence Analysis of DGAT2s in Four Plants under the Scenario of Gene Family

CHEN Zhen-Xi^{1,2}, WANG Peng², GAI Jiang-Tao², WANG Qi-Zhi^{1*}

(1. College of Chemical Engineering, Huaqiao University, Xiamen, Fujian 361021, China; 2. Tropical Crops Genetic Resources Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Danzhou, Hainan 571737, China)

Abstract: DGAT2, a rate-limiting enzyme of the TAG biosynthesis pathway, was coded by the acyltransferase supergene family. Genome-wide analysis revealed 73 acyltransferase supergene family members and five DGAT2s in the genomes of *Ricinus communis* L., *Arabidopsis thaliana* Heynh., *Populus trichocarpa* Torr. & A. Gray. and *Manihot esculenta* Crantz. based on the whole genome database Phytozome. Analysis of the physical and chemical properties and transmembrane domains indicated that DGAT2s were hydrophobic transmembrane proteins, and DGAT2s of *M. esculenta* differed from the others due to their single transmembrane domain and wide chloroplast membrane distribution. We concluded that functional differentiation of *M. esculenta* DGAT2s may exist and DGAT2s may be involved in the anti-stress pathways in *M. esculenta*.

Key words: Diacylglycerol O-acyltransferase 2 (DGAT2); Triacylglycerol (TAG); Limiting-rate enzyme; Gene family

三羧酸甘油酯又称甘油三酯 (Triacylglycerol, TAG)^[1], 是植物细胞中的主要储能物质^[2], 在植物种子和花粉的萌发、叶片代谢等多种生理发育过程中起重要作用^[3,4]。此外, TAG 还是人类必需脂

肪酸 (essential FAs) 摄入的一个重要来源, 与人类的健康息息相关^[5]。故 TAG 一直都是国内外学者研究的一个热点, 而作为其根本来源的生物合成途径也受到学者们的广泛关注^[6,7]。

收稿日期: 2014-06-17, 退修日期: 2014-07-21。

基金项目: 中央级科研单位基本科研业务费重点项目 (1630032014013); 国家标本平台教学标本子平台建设 (2005DKA21403-JK)。

作者简介: 陈振玺 (1991-), 男, 硕士, 研究方向为基因组数据挖掘与分析 (E-mail: ginseachen@hotmail.com)。

* 通讯作者 (Author for correspondence. E-mail: wqz@hqu.edu.cn)。

二酰甘油酰基转移酶(Diacylglycerol O-acyltransferase, DGAT)是植物中 TAG 合成途径的限速酶^[8],主要催化二酰甘油生成 TAG 的酰基转移反应。目前已知的 DGAT 主要有 3 种^[5],分别为 DGAT1、DAGT2 和 DGAT3。其中 DGAT1 和 DGAT2 为疏水性跨膜蛋白, DGAT3^[9] 为可溶性蛋白。这 3 种 DGAT 蛋白虽然催化同一反应,但却不具有同源性且由不同家族的基因编码^[5,10]。DGAT1 基因与酰基辅酶 A:胆固醇酰基转移酶(Acyl-CoA:cholesterol acyltransferase, ACAT)基因具有较高的同源性,同属于膜骨架氧酰基转移酶(membranebound o-acyltransferases, MBOAT)基因家族^[11,12]。DGAT2 基因则与酰基辅酶 A:单酰甘油酰基转移酶(Acyl-CoA:monoacylglycerol acyltransferase, MGAT)基因的同源性较高^[13],同属于酰基转移酶(acyltransferase)基因超家族。而关于 DGAT3 基因的研究和报道均较少,其序列与 DGAT1、DGAT2 之间的差异较大,同源性不足 10%^[5,9]。

DGAT1 在植物油脂合成以及种子、花粉萌发等多种生理代谢过程中具有重要作用,沉默和过表达 DGAT1 基因均会导致植物中 TAG 的含量发生显著变化^[3,5,14]。Shockey 等^[15]对油料作物油桐(*Vernicia fordii* Airy Shaw.)的 DGAT1 和 DGAT2 蛋白序列进行了比较分析,发现二者处于内质网的不同区域中且功能没有出现重叠。此外,Zhang 等^[3]通过对拟南芥(*Arabidopsis thaliana* Heynh.)正常植株和 DGAT1 突变植株中 DGAT2 基因敲除研究发现,TAG 含量未发生显著变化,因此认为拟南芥 DGAT2 可能不具有酰基转移酶活性。这与前人在含有特殊结构脂肪酸植物中的研究结果不同,如蓖麻(*Ricinus communis* L.)^[16]、油桐^[15]和紫菀草(*Vernonia galamensis* L.)^[17]的 DGAT2 蛋白均表现出明显的酰基转移酶催化活性且对特殊结构脂肪酸具有显著的底物亲和性。Zhou 等^[18]通过瞬态表达(transiently expression)技术在本氏烟草(*Nicotiana benthamiana* Domain.)叶片中成功表达拟南芥 DGAT1 基因和 DGAT2 基因,结果表明拟南芥 DGAT2 基因不仅具有显著的特殊结构脂肪酸底物特异性,还能够显著增加叶片中 TAG 的

含量。相对于 DGAT1 和 DGAT2,可溶性蛋白 DGAT3 的研究报道较少,目前仅在花生(*Arachis hypogaea* L.)^[9]、油桐^[19]和粘红酵母(*Rhodotorula glutinis* Elad.)^[20]等物种中被克隆、鉴定。

本文拟选取双子叶模式植物拟南芥、含有特殊结构脂肪酸的大戟科油料作物蓖麻、大戟科热带粮食作物木薯(*Manihot esculenta* Crantz.)以及木本模式植物毛果杨(*Populus trichocarpa* Torr. & Gray.)为研究对象,以其全基因组数据库 Phytozome 为依托,通过 BLASTP 搜索获得这 4 种植物中酰基转移酶基因超家族编码的全部多肽序列;通过系统发育分析并以功能已知的拟南芥和蓖麻 DGAT2 序列为参考,于大量多肽序列中筛选、鉴定得到木薯和杨树的 DGAT2 序列,并对其进行理化性质、基因结构、跨膜结构域和亚细胞定位等生物信息学分析。旨在从生物信息学的角度揭示这 4 种植物中 DGAT2 蛋白的序列特征,为植物 DGAT2 的功能研究提供一定的数据支持。

1 材料与方法

1.1 数据库搜索

从植物全基因组数据库 Phytozome v9.1(<http://www.phytozome.net>)中获取拟南芥、蓖麻、毛果杨和木薯的全基因组注释信息,并将从 NCBI 数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/>)中下载的功能已知的蓖麻 DGAT2 序列(Accession No.: ACB30544.1)^[18]作为靶序列,在上述 4 种植物的全基因组数据库中进行 BLASTP 搜索。为检索到与靶序列同源度较低的蛋白,E 值设为 50;对获得的候选序列于 Pfam 数据库中进行结构域验证,并将含有二酰甘油酰基转移酶结构域(CL0228)的序列确定为酰基转移酶基因超家族成员并以此构建新的搜索靶序列集,重复上述操作,直至无新的序列出现为止。

1.2 多序列比对分析

用 Probcons 软件^[21]对获得的多肽序列进行多序列比对,并将结果保存为 fasta 格式;再在 MEAG 6.0 软件^[22]中对结果进行手动调整,调整后的序列保存为 nexus 格式以备后续分析。

1.3 系统发育分析

采用 Mrbayes version 3.1.2 软件^[23]进行系统

发育分析: 选取 10^6 代、4 条马尔科夫链 (Markov chains)、取样频率为 1000, 其余参数均为软件默认值; 当 split frequencies 小于 0.01 时程序终止运行。获得的系统发育树在 Figtree version 1.3.1 软件中进行美化修饰处理。

1.4 蛋白质的生物信息学分析

采用 ProtParam tool (<http://web.expasy.org/protparam/>) 在线工具预测分析蛋白质的理化性质; 用 TMHMM (<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM-2.0/>) 预测蛋白质的跨膜结构; 蛋白质的亚细胞定位在 WoLF PSORT (<http://wolfpsort.org>) 中完成; 采用 signalP 4.1server (<http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/>) 进行蛋白质信号肽的预测。由于目前还未有研究报道 DGAT2 蛋白的三级结构, 因此无法完成对其三级结构的同源建模分析。

2 结果与分析

2.1 酰基转移酶基因超家族的序列收集

通过 BLASTP 的方法共搜索得到 73 条酰基转移酶基因超家族编码的氨基酸序列 (图 1), 其中拟南芥有 14 条、杨树 21 条、木薯 23 条、蓖麻 15 条。理化性质分析显示, 酰基转移酶基因超家族编码蛋白以碱性为主 (78%), 在哺乳动物中的半衰期均为 30 h。亲水性分析发现, 疏水性蛋白 (GRAVY > 0) 约占总蛋白的 68%。稳定性分析显示, 不稳定性系数 (instability index) 小于 40 的蛋白质占总蛋白的 23%, 其中蓖麻中酰基转移酶基因超家族蛋白 30803.m000024 不稳定系数最小 (30.33), 其等电点 ($pI = 10.59$) 也远高于其他蛋白质。

2.2 DGAT2 预测分析

蓖麻和拟南芥中的 DGAT2 编码序列均为单拷贝基因, 对应的基因 ID 分别为 29682.m000581 和 AT3G51520.1。由图 1 可知, AT3G51520.1 与 29682.m000581 以较高的后验概率 ($PP = 1$) 聚为一枝。此外, 该分枝中还分别出现了 2 条木薯序列 (cassava4.1_013523m 和 cassava4.1_028223m) 和一条杨树序列 (Potri.011G145900.1), 我们推测这 3 条序列可能为 DGAT2 序列, 暂时将该分枝

命名为 DGAT2 分枝。

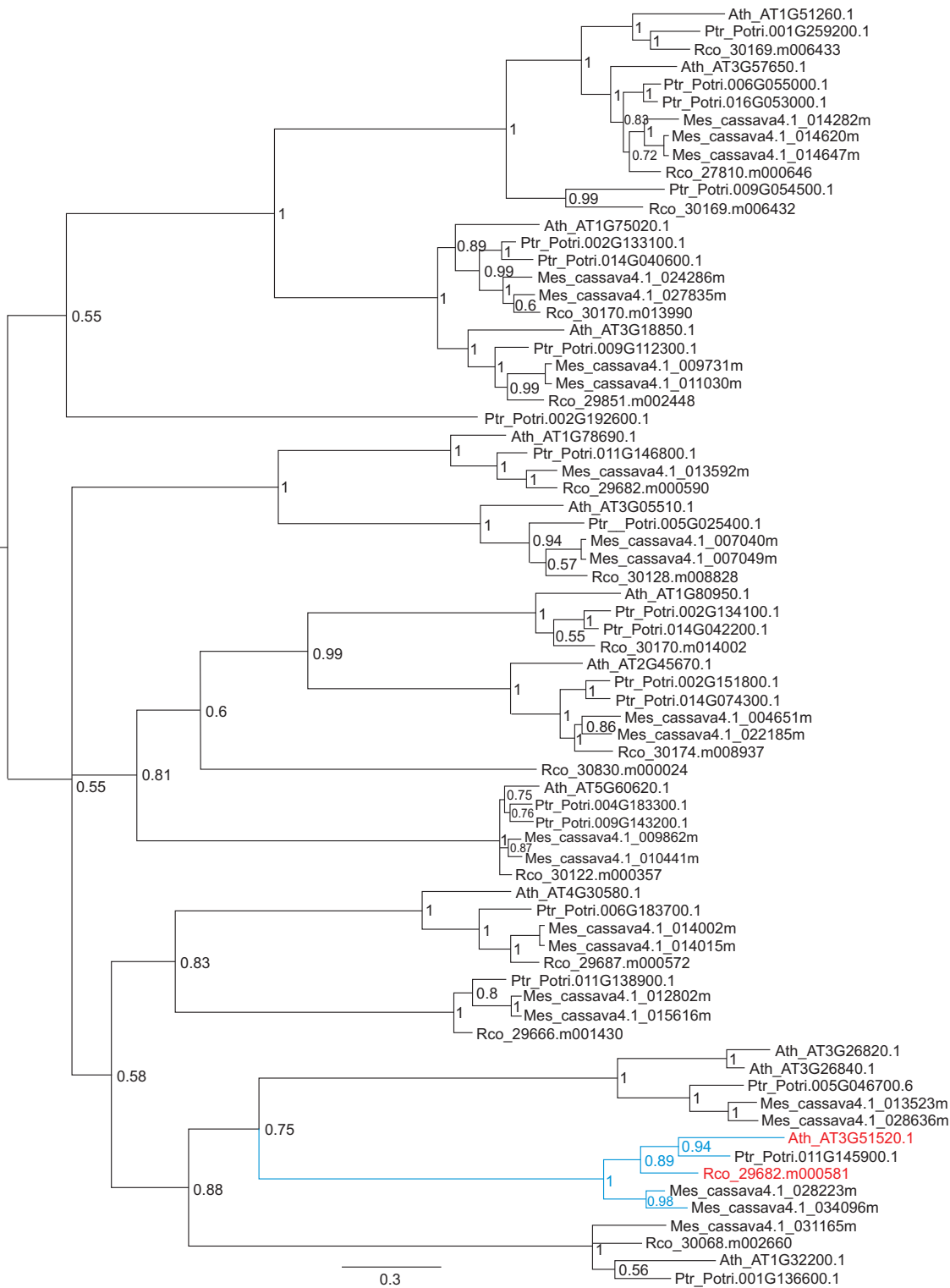
为进一步验证这一推测, 用 SIAS (<http://imed.med.ucm.es/Tools/sias.html>) 在线工具对蓖麻 DGAT2 序列和其他酰基转移酶基因超家族编码的多肽序列进行了序列相似性分析, 结果表明蓖麻 DGAT2 与 DGAT2 分枝的同源度 (identity values, 81.47% ~ 85.35%) 远高于其他分枝 (44.71% ~ 71.52%)。

由 DGAT2 分枝及其近缘枝序列的系统发育关系和基因结构可知 (图 2), DGAT2 分枝中的 5 条序列以很高的后验概率 ($PP = 1$) 聚在一起且其基因结构中均含有 8~9 个外显子, 而 DGAT2 分枝的近缘枝序列含有 4~14 个外显子。Liu 等^[5]认为在真核生物中除真菌和线虫 (*Caenorhabditis elegans* Maupas.) 以外, 其余物种 DGAT2 序列的编码基因最多含有 8~9 个外显子, 这也进一步佐证了本文对杨树和木薯中 DGAT2 序列推测结果的准确性。

为方便后续分析, 我们将 cassava4.1_0282-23m、cassava4.1_013523m、Potri.011G145900.1、29682.m000581、AT3G51520.1 这 5 条 DGAT2 序列分别命名为 MesDGAT2A (*Manihot esculenta* Crantz.)、MesDGAT2B、PtrDGAT2 (*Populus trichocarpa* Torr. & A. Gray.)、RcoDGAT2 (*Ricinus communis* L.)、AthDGAT2 (*Arabidopsis thaliana* Heynh.)。这 4 种植物中除木薯有 2 条 DGAT2 蛋白序列外, 其余 3 种植物的 DGAT2 编码基因均为单拷贝基因。

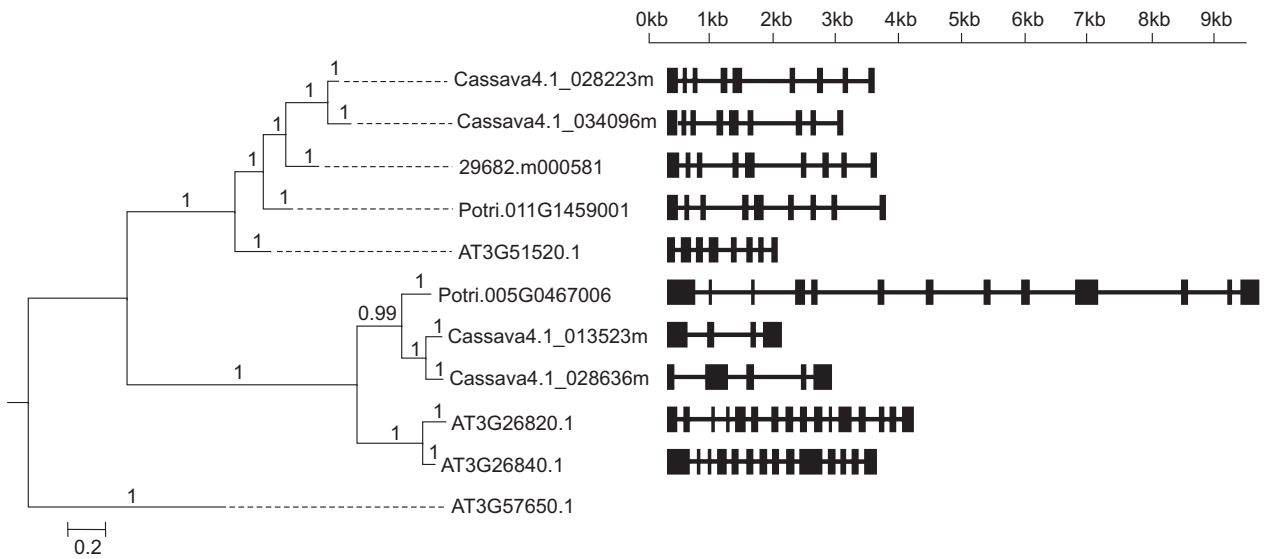
2.3 DGAT2 序列的生物信息学分析

一般而言, 亲水性系数 (GRAVY 值) 大于 0 则表示对应的蛋白质为疏水性蛋白^[20]。我们对拟南芥、蓖麻、毛果杨、木薯 4 种植物的 DGAT2 多肽序列进行了理化性质 (表 1)、多序列比对、跨膜结构域以及亚细胞定位分析, 结果表明 DGAT2 均为碱性蛋白质 ($pI > 7$) 且其平均亲水性系数 (GRAVY 值) 介于 0.166 ~ 0.346 之间, 这与前人的研究一致^[5]。也正是由于 DGAT2 蛋白是具有很强的疏水性的跨膜蛋白, 才使其三级结构的鉴定成为一个研究难点, 目前还未见报道。此外, 稳定性分析表明, 除 AthDGAT2 和 PtrDGAT2 蛋白质序列不稳定系数大于 40 之外, 其余 3 条序列的不稳定系数均



Ath: 拟南芥; Mes: 木薯; Rco: 蓖麻; Ptr: 毛果杨。不同节点上的数字表示该节点后验概率的大小。蓝色分枝为 DGAT2 分枝，红色表示已经鉴定功能的 DGAT2 序列。
Ath: *Arabidopsis thaliana*; Mes: *Manihot esculenta*; Rco: *Ricinus communis*; Ptr: *Populus trichocarpa*. Different values of the nodes indicate the posterior probability of each node. The DGAT2 clade is highlighted in blue, and red indicates experimentally characterized DGAT2 sequences.

图 1 酰基转移酶基因超家族多肽序列系统发育树
Fig. 1 Phylogenetic tree of peptide sequences from the acyltransferase supergene family



黑色方块表示外显子，直线表示内含子，AT3G57650.1 为外类群。
Black boxes and lines represent exons and introns, respectively. AT3G57650.1 is the outgroup.

图 2 DGAT2 分枝与其近缘枝序列的基因结构和系统发育分析

Fig. 2 Phylogenetic tree and gene structure of the DGAT2 clade and its relative clades

表 1 五条 DGAT2 蛋白的理化性质分析

Table 1 Physical and chemical properties analysis of five DGAT2 sequences

序列 Sequence	等电点 Isoelectric point	相对分子质量 Molecular weight	半衰期 Half life (h)	不稳定系数 Instability index	脂肪族氨基酸指数 Aliphatic index	平均亲水性 Grand average of hydropathy
AthDGAT2	9.00	35845.0	30	43.43	97.77	0.190
PtrDGAT2	8.84	37027.6	30	45.55	105.78	0.346
RcoDGAT2	8.94	38662.0	30	39.65	95.97	0.142
MesDGAT2A	9.47	37423.1	30	37.82	98.90	0.166
MesDGAT2B	9.27	36870.3	30	32.55	95.67	0.238

小于 40。一般认为，不稳定系数小于 40 的蛋白质是稳定的^[24]。

对 4 种植物中 DGAT2 的序列比对分析表明，5 条 DGAT2 蛋白之间的序列分化较低(图 3)。Liu 等^[5]对动物、植物和真菌的 DGAT2 蛋白序列进行了比对分析，共发现了 4 个保守基团，分别为 YFP、(H/E)PH(G/S)、GGXXE 和 RXGFX(K/R)XAXXXGXXL(L/V)VPXXXFG(E/Q)。大戟科植物蓖麻和木薯的 YFP 保守基团中第一个氨基酸位点由酪氨酸变为组氨酸，这与其他动植物和真菌中的研究结果不同^[5]。此外，在大戟科植物木薯和蓖麻 DGAT2 的 N-端区域检测到了一段包含 3~6 个位点的天冬氨酸簇，但在杨树和拟南芥 DGAT2 序列中并未发现。

对拟南芥、蓖麻、毛果杨、木薯中 DGAT2 蛋白的跨膜结构域预测结果(图 4)显示，4 种植物的 5 条 DGAT2 蛋白均为跨膜蛋白；除 MesDGAT2A 和 MesDGAT2B 含有一个跨膜结构域以外，其余 DGAT2 均含有两个跨膜结构域。Stone 等^[25]发现小鼠 DGAT2 蛋白 N-端附近含有两个跨膜结构域且 N-端和 C-端均位于胞质溶胶中，本文中杨树、蓖麻和拟南芥 DGAT2 的膜拓扑结构与之一致(图 4)。

信号肽预测表明，拟南芥和杨树的 DGAT2 序列 N-端均有一段信号锚定序列(signal anchor sequence)，且其对应的预测概率分别为 0.996 和 1.000；而大戟科植物木薯和蓖麻的 DGAT2 序列 N-端并未发现信号肽(signal peptide)和信号锚定序列的存在。

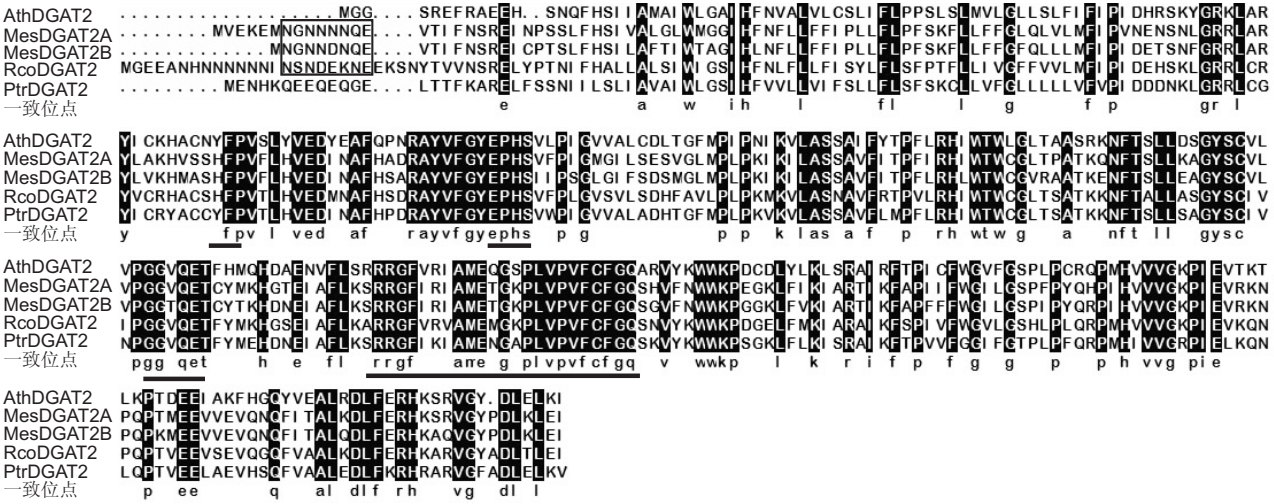


图 3 DGAT2 蛋白的序列比对分析
Fig. 3 Alignment analysis of DGAT2s

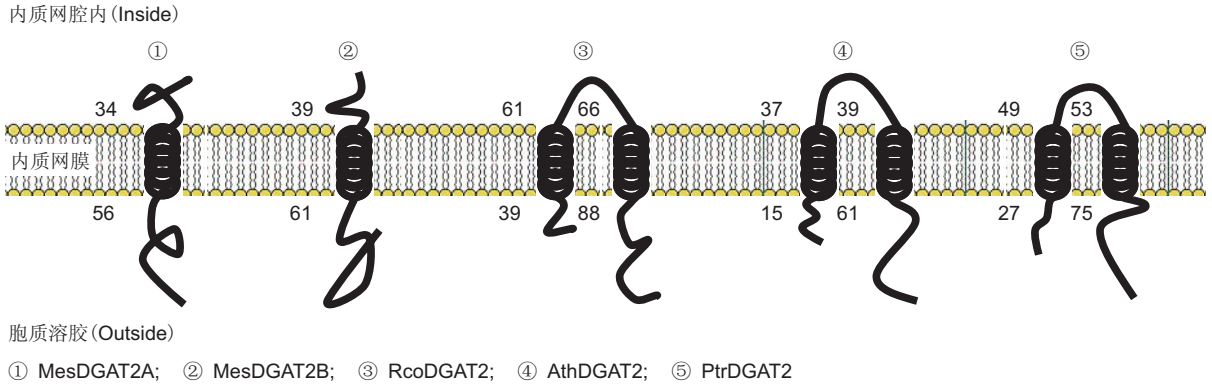


图 4 四种双子叶植物 DGAT2 蛋白的跨膜结构域分析
Fig. 4 Transmembrane domain analysis of DGAT2s in four dicots

4 种双子叶植物中 DGAT2 蛋白的亚细胞定位分析(表 2)和跨膜结构域分析(图 4)表明, MesDGAT2B、RcoDGAT2、AthDGAT2、PtrDGAT2 是镶嵌在质膜中的跨膜蛋白, MesDGAT2A 则是主要镶嵌在叶绿体膜上的跨膜蛋白。此外, 木薯中的 2 条 DGAT2 蛋白出现了互补分布的趋势, 他们除在叶绿体膜中同时存在以外, 还在其他亚细胞中单独存在。

3 讨论

DGAT 蛋白是油脂合成中一类重要的活性物

质。除 DGAT3 以外, DGAT 均含有跨膜结构域, 为典型的跨膜蛋白。与大多数疏水性跨膜蛋白一样, DGAT 通过信号识别颗粒 (signal recognition particle, SRP) 镶嵌在生物膜中。Stone 等^[25]认为位于胞质溶胶中的 DGAT 蛋白参与了其中 TAG 沉积形成脂肪小滴 (lipid droplets) 的反应; 小鼠 DGAT2 蛋白 N-端和 C-端的大部分区域均处于胞质溶胶中, 可能与胞质溶胶中 TAG 的沉积反应有关^[5]。本研究对 4 种植物中 5 条 DGAT2 蛋白进行的跨膜结构域分析(图 4)表明, 杨树、蓖麻、拟南芥的 DGAT2 蛋白与小鼠 DGAT2 蛋白膜拓扑结构

表 2 四种双子叶植物 DGAT2 蛋白的亚细胞定位分析
Table 2 Subcellular localization prediction of DGAT2s in four dicots

序列 ID ID of sequences	细胞核 Nucl	质膜 Plas	胞外 Extr	细胞质 Cyto	线粒体 Mito	内质网 E.R	过氧化物酶体 Pero	高尔基体 Golg	叶绿体 Chlo	液泡 Vacu
MesDGAT2A	0.24	—	0.49	—	—	1.87	—	0.41	6.65	0.34
MesDGAT2B	—	4.10	—	—	1.60	—	1.85	—	2.45	—
RcoDGAT2	1.09	6.64	—	—	1.61	—	0.67	—	—	—
AthDGAT2	—	7.33	—	0.15	—	0.36	1.10	1.06	—	—
PtrDGAT2	0.01	9.91	—	—	—	0.07	—	—	—	—

注：“—”表示对应序列在该亚细胞中不存在。
Notes: “—” indicates the corresponding sequence not located on this subcellular structure. Nucl: Nucleus; Plas: Plasmalemma; Extr: Extracellular; Cyto: Cytoplasm; Mito: Mitochondrion; E.R: Endoplasmic reticulum (ergastoplasm); Pero: Peroxisome; Golg: Golgis; Chlo: Chloroplast; Vacu: Vacuole.

相似，因此推测 PtrDGAT2、RcoDGAT2 和 AthDGAT2 可能参与了胞质溶胶中的 TAG 沉积反应。

对拟南芥、蓖麻、毛果杨、木薯 4 种植物 DGAT2 蛋白的数据库进行搜索及序列鉴定与分析中发现，木薯含有 2 条 DGAT2 蛋白，这与大多数植物中的单拷贝现象不符^[15,16,26]。但对 5 条 DGAT2 蛋白的同源度分析、基因结构分析和多序列比对分析均证明本研究对 DGAT2 蛋白推测的准确性，因此认为木薯中 DGAT2 编码基因可能在木薯进化形成之后发生了基因复制事件。

YFP 残基是位于 DGAT2 蛋白 N-端跨膜结构域附近的 3 个氨基酸位点，为动植物和真菌中所共有的保守区域^[5]，酵母中 YFP 残基的突变导致了酵母 DGAT2 活性的显著下降，因此该残基可能与 DGAT2 蛋白的活性有关^[27]。在对拟南芥、蓖麻、毛果杨、木薯 4 种植物 DGAT2 蛋白的多序列比对中发现，大戟科植物蓖麻和木薯中 YFP 残基的第一个氨基酸位点由酪氨酸变为组氨酸，但这一变化所导致的生理差异还未见研究报道，值得后期的进一步关注。

对 4 种植物中 DGAT2 蛋白的亚细胞定位分析显示，除木薯的 DGAT2 蛋白在叶绿体膜中有分布以外，拟南芥、蓖麻、毛果杨的 DGAT2 均未在叶绿体膜中发现。Martin 等^[28]对 DGAT 的亚细胞定位分析显示，叶片细胞的叶绿体中也存在 DGAT 活性，且在胁迫条件下催化叶绿体中的 TAG 合成反应^[29,30]，因此我们推测 MesDGAT2A 和 MesDGAT2B 可能与木薯的抗逆反应有关。此外，MesDGAT2A 和 MesDGAT2B 除共同定位于叶绿体膜中以外，在其他细胞器中均是单独存在的。跨

膜结构域分析表明，MesDGAT2A 和 MesDGAT2B 均含有一个跨膜结构域，为一次跨膜蛋白且 N-端位于内质网腔内，与小鼠以及其他植物(拟南芥、蓖麻、毛果杨等)的跨膜结构域不同(图 4)，这可能是 DGAT2 蛋白在木薯进化形成之后发生了功能分化。

木薯属于大戟科木薯属，为世界三大薯类之一，具有优良的抗逆和抗贫瘠特性，对于木薯的抗胁迫研究具有重要的理论和实践意义。本研究首次推测报道了木薯中 DGAT2 蛋白可能与植物抗胁迫反应有关，为木薯的抗逆性研究提供了一定的数据支持，但关于这一推测的准确性还需要进一步的实验验证。

参考文献：

[1] Karantonis HC, Nomikos T, Demopoulos CA. Triacylglycerol metabolism[J]. *Curr Drug Targets*, 2009, 10(4): 302–319.

[2] Dolinsky VW, Gilham D, Alam M, Vance DE, Lehner R. Triacylglycerol hydrolase: role in intracellular lipid metabolism[J]. *Cell Mol Life*, 2004, 61(13): 1633–1651.

[3] Zhang M, Fan JL, Taylor DC, Ohlrogge JB. DGAT1 and PDAT1 acyltransferases have overlapping functions in *Arabidopsis* triacylglycerol biosynthesis and are essential for normal pollen and seed development[J]. *Plant Cell*, 2009, 21(12): 3885–3901.

[4] Lock YY, Snyder CL, Zhu WM, Siloto RM, Weselake RJ, Shah S. Antisense suppression of type 1 diacylglycerol acyltransferase adversely affects plant development in *Brassica napus*[J]. *Physiol*

- Plantarum*, 2009, 137(1): 61–71.
- [5] Liu Q, Siloto RM, Lehner R, Stone SJ, Weselake RJ. Acyl-CoA: diacylglycerol acyltransferase: molecular biology, biochemistry and biotechnology [J]. *Prog Lipid Res*, 2012, 51(4): 350–377.
- [6] Agarwal AK, Garg A. Congenital generalized lipodystrophy: significance of triglyceride biosynthetic pathways [J]. *Trends Endocrin Met*, 2003, 14(5): 214–221.
- [7] Pillai MG, Certik M, Nakahara T, Kamisaka Y. Characterization of triacylglycerol biosynthesis in subcellular fractions of an oleaginous fungus, *Mortierella ramanniana* var. *angulisporea* [J]. *Mol Cell Biol*, 1998, 1393(1): 128–136.
- [8] Coleman RA, Lee DP. Enzymes of triacylglycerol synthesis and their regulation [J]. *Prog Lipid Res*, 2004, 43(2): 134–176.
- [9] Saha S, Enugutti B, Rajakumari S, Rajasekharan R. Cytosolic triacylglycerol biosynthetic pathway in oilseeds. Molecular cloning and expression of peanut cytosolic diacylglycerol acyltransferase [J]. *Plant Physiol*, 2006, 141(4): 1533–1543.
- [10] Yen CL, Stone SJ, Koilwad S, Harris C, Farese JR. DGAT enzymes and triacylglycerol biosynthesis [J]. *J Lipid Res*, 2008, 49: 2283–2301.
- [11] Matsuda S, Inoue T, Lee HC, Kono N, Tanaka F, Gengyo-Ando K, Mitani S, Arai H. Member of the membrane-bound *O*-acyltransferase (MBOAT) family encodes a lysophospholipid acyltransferase with broad substrate specificity [J]. *Genes Cells*, 2008, 13(8): 879–888.
- [12] Wang P, Wang Z, Dou Y, Zhang X, Wang M, Tian X. Genome-wide identification and analysis of membrane-bound *O*-acyltransferase (MBOAT) gene family in plants [J]. *Planta*, 2013, 238(5): 907–922.
- [13] Winter A, Van Eckeveld M, Bininda-Emonds ORP, Habermann FA, Fries R. Genomic organization of the DGAT2/MOGAT gene family in cattle (*Bos taurus*) and other mammals [J]. *Cytogenetic Genome Res*, 2004, 102(1–4): 42–47.
- [14] Li RZ, Yu KS, Hildebrand DF. DGAT1, DGAT2 and PDAT expression in seeds and other tissues of epoxy and hydroxy fatty acid accumulating plants [J]. *Lipids*, 2010, 45(2): 145–157.
- [15] Shockey JM, Gidda SK, Chapital DC, Kuan JC, Dhanoa PK, Bland JM, Rothstein SJ, Mullen RT, Dyer JM. Tung tree DGAT1 and DGAT2 have non-redundant functions in triacylglycerol biosynthesis and are localized to different subdomains of the endoplasmic reticulum [J]. *Plant Cell*, 2006, 18(9): 2294–2313.
- [16] Kroon J, Wei WX, Simon WJ, Siabas AR. Identification and functional expression of a type 2 Acyl-CoA: diacylglycerol acyltransferase (DGAT2) in developing castor bean seeds which has high homology to the major triglyceride biosynthetic enzyme of fungi and animals [J]. *Phytochemistry*, 2006, 67(23): 2541–2549.
- [17] Li RZ, Yu KS, Hatanaka T, Hildebrand DF. Vernonia DGATs increase accumulation of epoxy fatty acids in oil [J]. *Plant Biotechnol J*, 2010, 8(2): 184–195.
- [18] Zhou XR, Shrestha P, Yin F, Petrie JR, Singh SP. AtDGAT2 is a functional Acyl-CoA: diacylglycerol acyltransferase and displays different Acyl-CoA substrate preferences than AtDGAT1 [J]. *Febs Lett*, 2013, 587(15): 2371–2376.
- [19] Cao HP, Shockey JM, Klasson KT, Chapital DC, Mason CB, Scheffler BE. Developmental regulation of diacylglycerol acyltransferase family gene expression in tung tree tissues [J]. *Plos One*, 2013, 8(10): e76946.
- [20] Rani SH, Saha S, Rajasekharan R. A soluble diacylglycerol acyltransferase is involved in triacylglycerol biosynthesis in the oleaginous yeast *Rhodotorula glutinis* [J]. *Microbiology*, 2013, 159(Pt 1): 155–166.
- [21] Do CB, Mahabhashyam MSP, Brudno M, Batzoglu S. Probcons: probabilistic consistency-based multiple sequence alignment [J]. *Genome Res*, 2005, 15(2): 330–340.
- [22] Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipowski A, Kumar S. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0 [J]. *Mol Biol Evol*, 2013, 30(12): 2725–2729.
- [23] Ronquist F, Huelsenbeck JP. MrBayes 3: bayesian phylogenetic inference under mixed models

- [J]. *Bioinformatics*, 2003, 19(12): 1572–1574.
- [24] Gasteiger E, Gattiker A, Hoogland C, Ivanyi I, Appel RD, Bairoch A. ExPASy: the proteomics server for in-depth protein knowledge and analysis [J]. *Nucleic Acids Res*, 2003, 31(13): 3784–3788.
- [25] Stone SJ, Levin MC, Farese RV. Membrane topology and identification of key functional amino acid residues of murine Acyl-CoA: diacylglycerol acyltransferase-2[J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(52): 40273–40282.
- [26] Aymé L, Baud S, Dubreucq B, Joffre F, Chardot T. Function and localization of the *Arabidopsis thaliana* diacylglycerol acyltransferase DGAT2 expressed in yeast[J]. *Plos One*, 2014, 9(3): 1–9.
- [27] Liu Q, Siloto RM, Snyder CL, Weselake RJ. Functional and topological analysis of yeast acyl-CoA: diacylglycerol acyltransferase 2, an endoplasmic reticulum enzyme essential for triacylglycerol biosynthesis[J]. *J Biol Chem*, 2011, 286: 13115–13126.
- [28] Martin BA, Wilson RF. Subcellular localization of triacylglycerol synthesis in spinach leaves[J]. *Lipids*, 1984, 19(2): 117–121.
- [29] Sakaki T, Kondo N, Yamada M. Pathway for the synthesis of triacylglycerols from monogalactosyl-diacylglycerols in ozone-fumigated spinach leaves [J]. *Plant Physiol*, 1990, 94(2): 773–780.
- [30] Yang ZL, Ohlrogge JB. Turnover of fatty acids during natural senescence of *Arabidopsis*, *Brachypodium*, and switchgrass and in *Arabidopsis* β -oxidation mutants[J]. *Plant Physiol*, 2009, 150(4): 1981–1989.

(责任编辑: 刘艳玲)