

综述

蜡酯合成途径及关键酶的研究进展

杨璞¹ 徐冬丽¹ 陈晓鸣^{1*} 刘魏魏¹ 巩中军² 胡艳红¹¹中国林业科学研究院资源昆虫研究所, 国家林业局资源昆虫培育与利用重点实验室, 昆明 650224; ²河南省农业科学院植物保护研究所, 河南省农作物病虫害防治重点实验室, 郑州 450002

摘要 蜡酯对于生物的生命活动具有重要意义, 研究表明植物和动物的蜡酯合成存在保守途径, 即脂酰辅酶A(fatty acyl-CoA)在脂酰辅酶A还原酶(fatty acyl-CoA reductase, FAR)的作用下还原成脂肪醇, 脂肪醇和脂酰辅酶A在蜡酯合酶(wax synthase, WS)的作用下生成酯, FAR和WS是该途径的关键酶, 这两个酶的结构和功能在不同物种之间表现出很大差异, 目前对于这两个酶缺乏系统的归纳分析。该文综述了蜡酯合成途径及FAR和WS的序列特征、生化特性及参与的生理功能, 分析了这两种酶相关研究存在的问题, 旨在为昆虫的蜡酯合成研究提供参考。

关键词 蜡酯; 合成途径; FAR; WS

1 引言

生物蜡酯是由超长链脂肪酸VLCFAs(very-long-chain fatty acids, 碳链大于18个碳的脂肪酸)与脂肪醇酯化形成的单酯, 在纺织、医药、化妆品、食品等行业以及航空航天工业、人工心脏、精密仪器仪表和特种机械等高科技领域均有重要用途^[1]。蜡酯在生物界广泛存在, 对生物的生命活动具有重要作用。在昆虫和植物中, 体表的蜡酯可以防止水分蒸发, 阻碍病原物入侵; 在抹香鲸(*Physeter macrocephalus*)中, 鲸油可以传递声音、调节浮力; 在藻类和浮游生物中, 蜡酯是主要的能量贮存物质^[2]。有些生物还特化了泌蜡的性状, 如蜡蚧科的白蜡虫(*Ericerus pela*)分泌的白蜡约和虫体自身的重量相当, 已经超出了仅是次生代谢物的概念, 成为白蜡虫身体不可缺少的一部分, 对于白蜡虫的生命活动具有重要意义^[3]。因此, 对于蜡酯合成分子机制的研究不但有助于增加人们对生物进化发育的了解, 加深对生物适应环境的认识, 同时也为利用基因工程技术生产蜡酯提供了候选基因。

目前, 蜡酯合成途径及关键酶的研究只在为数不多的一些物种中进行, 大多数物种还没有进行相关研究, 在昆虫中还没有鉴定出参与蜡酯合成途径的关键酶基因。本文综述了蜡酯合成途径及关键酶

的研究进展, 分析了蜡酯合成研究的趋势和存在的问题, 为其他物种开展相关研究提供了参考。

2 蜡酯合成途径研究

2.1 拟南芥角质层蜡合成途径

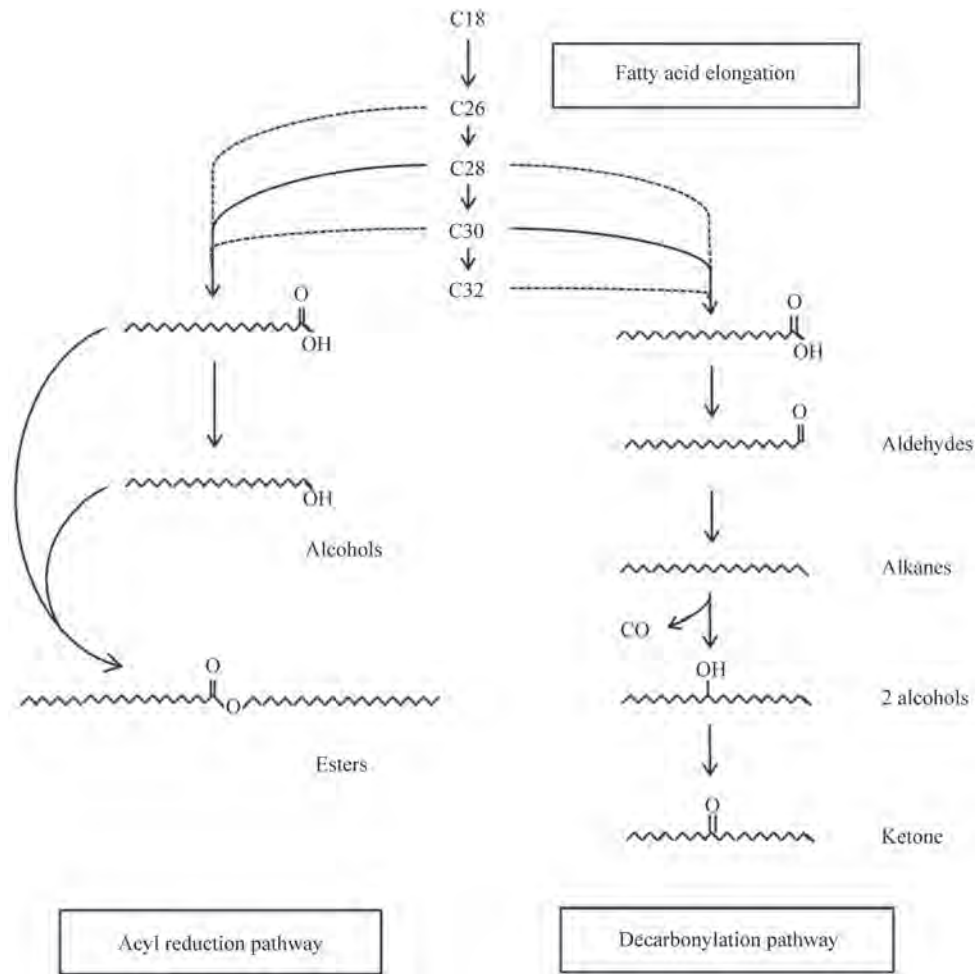
蜡酯合成的研究最早在拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中进行, 借助遗传与生化分析技术的发展, 如角质层蜡缺失突变体的分离鉴定、气相色谱/质谱分析、同位素示踪等, 在以拟南芥为主要材料研究植物角质层蜡质生物合成途径方面取得了许多进展^[4-6]。目前已基本明确, 大多数植物角质层蜡的生物合成是通过酰基还原途径(acyl reduction pathway)与脱羧基途径(decarbonylation pathway)进行的(图1)。前者由VLCFAs还原成脂肪醛, 进而还原成脂肪醇(后来证实是由VLCFAs直接还原成相应的脂肪醇), 脂肪酸和脂肪醇结合形成蜡酯, 在拟南芥中, 脂肪醇、蜡酯等约20%的角质层蜡组分由该途径产生; 后者由脂肪酸还原产生脂肪醛、烷烃以及仲醇和酮, 拟南芥中约80%的角质层蜡组分通过该途径产生^[4-8]。

在拟南芥中已经分离鉴定了一批角质层蜡合

收稿日期: 2012-03-29 接受日期: 2012-05-07

国家自然科学基金青年基金(No.31000983)、云南省自然科学基金(No.2010ZC235)和资源昆虫研究所基本科研业务费专项(No.riricaf200904M-3, No.riricaf2011006M)资助项目

*通讯作者。Tel: 0871-3860019, E-mail: xmchen@vip.km169.net



包括酰基还原途径和脱羰基途径。

There are two principal wax biosynthetic pathways: an acyl reduction pathway and a decarbonylation pathway.

图1 拟南芥角质层蜡合成途径(根据参考文献[5-6]修改)

Fig.1 Proposed pathways for wax biosynthesis in *Arabidopsis*(modified from references [5-6])

成相关基因,取得了一定的进展,但拟南芥突变体数量众多、角质层蜡组分复杂,很多基因的相关信息还了解不清,有些基因所参与的生理功能也没有得到验证。尽管如此,植物角质层蜡生物合成的研究为其他生物蜡酯合成的研究提供了重要参考。

2.2 生物蜡酯合成途径

与植物角质层蜡不同,生物蜡酯的主要成分是脂肪酸和脂肪醇形成的单酯,因此,生物蜡的合成主要通过酰基还原途径进行^[2,9-11]。

Metz等^[9]根据西蒙得木(*Simmondsia chinensis*, 英文名Jojoba, 又名荷荷芭, 种子油为高级液体蜡)种子油的主要成分(C20:1脂肪酸和C22:1脂肪醇形成的酯)推测,西蒙得木油的合成是通过脂酰辅酶A被FAR还原成相应的脂肪醇,脂肪醇和脂酰辅酶A在WS的作用下生成酯,即西蒙得木油的主要成分。

Lardizabal等^[10]将西蒙得木的*far*基因和*ws*基因以及银扇草(*Lunaria annua*)的*kcs*(β -ketoacyl-CoA synthase, β -酮脂酰-CoA合酶,一种脂肪酸延长酶)基因转至拟南芥中,¹³C核磁共振分析表明,获得的转基因植物种子中49%的油分子为蜡酯,气相色谱分析表明,种子重量的70%为蜡酯,这一结果也证实了Metz等^[9]的推测。

Cheng等^[2]对小鼠包皮腺皮脂的研究发现,其主要成分为蜡单酯,由此推测其合成路线与西蒙得木种子油合成路线相似,他们在HEK293细胞中共表达了小鼠的*far*基因和*ws*基因,在外加棕榈酸(十六烷酸)的情况下,获得了脂肪醇和蜡酯,由此证实了小鼠包皮腺皮脂的合成途径。蜡酯合成途径在小眼虫(*Euglena gracilis*, 介于动物与植物之间的一种生物,属于较为低等的原生动物,是鞭毛虫中的一类)中也得到了证实,Teerawanichpan等^[12]在酵母中共表达了

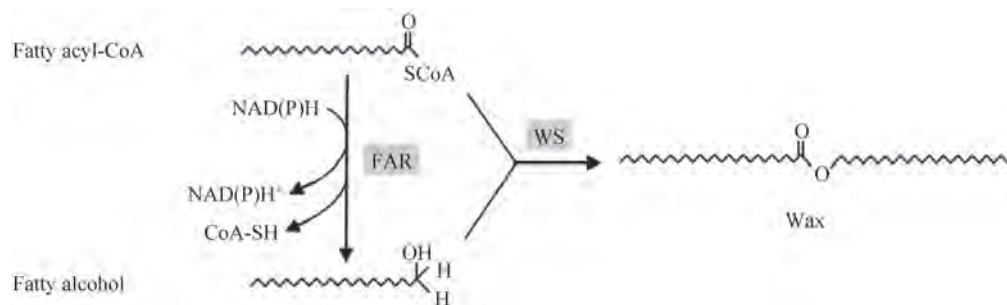


图2 蜡酯合成途径及关键酶(根据参考文献[13-14]修改)

Fig.2 Wax ester biosynthetic pathway and the related key enzymes (modified from references [13-14])

小眼虫的*far*基因和*ws*基因, 在外加豆蔻酸(十四烷酸)的情况下, 生成了四种蜡酯。

以上研究表明, 蜡酯合成途径在植物、动物和原生动动物中具有保守性, FAR和WS是蜡酯合成途径的关键酶(图2)。

2.3 细菌蜡酯合成途径

细菌中蜡酯的合成途径与动物和植物中有所不同。研究表明, 细菌脂肪醇的生成需要脂肪酸先被还原为脂肪醛, 再由脂肪醛还原酶催化将脂肪醛还原为脂肪醇^[15-17]。Wahlen等^[17]首次从海杆菌(*Marinobacter aquaeolei*) VT8中克隆了细菌蜡酯合成途径中的脂肪醛还原酶。细菌蜡酯合成途径的其它步骤与动植物蜡酯合成途径一样。由于对于细菌蜡酯的应用以及脂肪醛还原酶研究都比较少, 本文只对FAR和WS进行综述。

3 FAR研究

FAR催化脂酰辅酶A还原成脂肪醇, 是生成脂肪醇的主要途径。FAR位于过氧化物酶体膜的细胞溶质侧, 所催化的还原反应依赖NADPH, 序列分析表明, 动物和植物的FAR都有1个NADH结合基序(motif)T-G-X-T-G-F-L-(G/A)、1个Rossmann折叠, 在30-330氨基酸有1个NAD(P)(+)结合结构域(domain), 在C端含有1个Sterile蛋白结构域^[8,13](图3)。

3.1 参与蜡酯合成的FAR

在同一生物体内含有多个*far*基因, 它们的组织表达部位不同, 除了参与蜡酯合成之外, 还参与其它生理功能, 底物偏好性也有很大差异。例如, 在拟南芥中发现了8个*far*基因, 其中5个能把脂酰辅酶A还原为脂肪醇^[8], 但只有*far3*基因(*cer4*)参与了角质层蜡的合成, 该基因在叶、干、花、根等组织均有表达, 可以催化生成C24:0和C26:0脂肪醇^[19], 而*far1*、*far4*

和*far5*基因在根的内皮细胞表达, 主要参与软木脂的形成, 酶的最适底物分别是C22:0、C20:0和C18:0脂酰辅酶A^[20]。小鼠中发现了2个*far*基因, 分别参与了包皮腺和眼睑腺体的蜡酯合成以及大脑醚酯的合成, FAR1偏好选择C16:0、C18:0、C18:1和C18:2脂酰辅酶A为底物, FAR2偏好选择C16:0和C18:0饱和脂酰辅酶A^[11]。因此, 在同一生物体内参与相同功能的*far*基因的生化特征也存在很大差异。

FAR的最适底物可能与蜡酯中所含的脂肪醇一致, 例如, 西蒙得木FAR偏好使用C22:1脂酰辅酶A, 这与西蒙得木油中C22:1脂肪醇含量最高一致^[9]; 小眼虫FAR偏好选择C14脂酰辅酶A和C16脂酰辅酶A为底物, 这与小眼虫体内十四酸十四酯含量最高一致^[12]。但有些物种蜡酯成分复杂, FAR的底物也比较复杂, 家鸡(*Gallus gallus domesticus*)尾酯腺中鉴定出2个*far*基因, FAR1底物为C14-C18脂酰辅酶A, 偏好使用C16:1脂酰辅酶A, FAR2底物为C16-C20脂酰辅酶A, 偏好使用C18:0脂酰辅酶A作为底物^[21]。目前, 已经有多个*far*基因被注释, 但大多数并没有进行基因功能研究, 参与蜡酯合成的*far*基因仅在为数不多的几个物种中得到验证。

FAR氨基酸序列的系统发育分析表明, 同一物种的FAR聚为不同的分支, 而功能相似的FAR更有可能聚为一支, 如西蒙得木的FAR和拟南芥的FAR3(图4), 这说明FAR可能起源于物种分化之前。小鼠的FAR1和人的FAR1聚为一支, 小鼠的FAR2和人的FAR2聚为一支(图4), 可能是序列的相似性反应了酶生化特性的相似性。

3.2 昆虫FAR研究

与脊椎动物和植物相比, 昆虫提供了更丰富的研究材料, 昆虫*far*基因研究揭示了*far*基因功能的系统进化。目前, 主要围绕信息素开展对昆虫FAR的

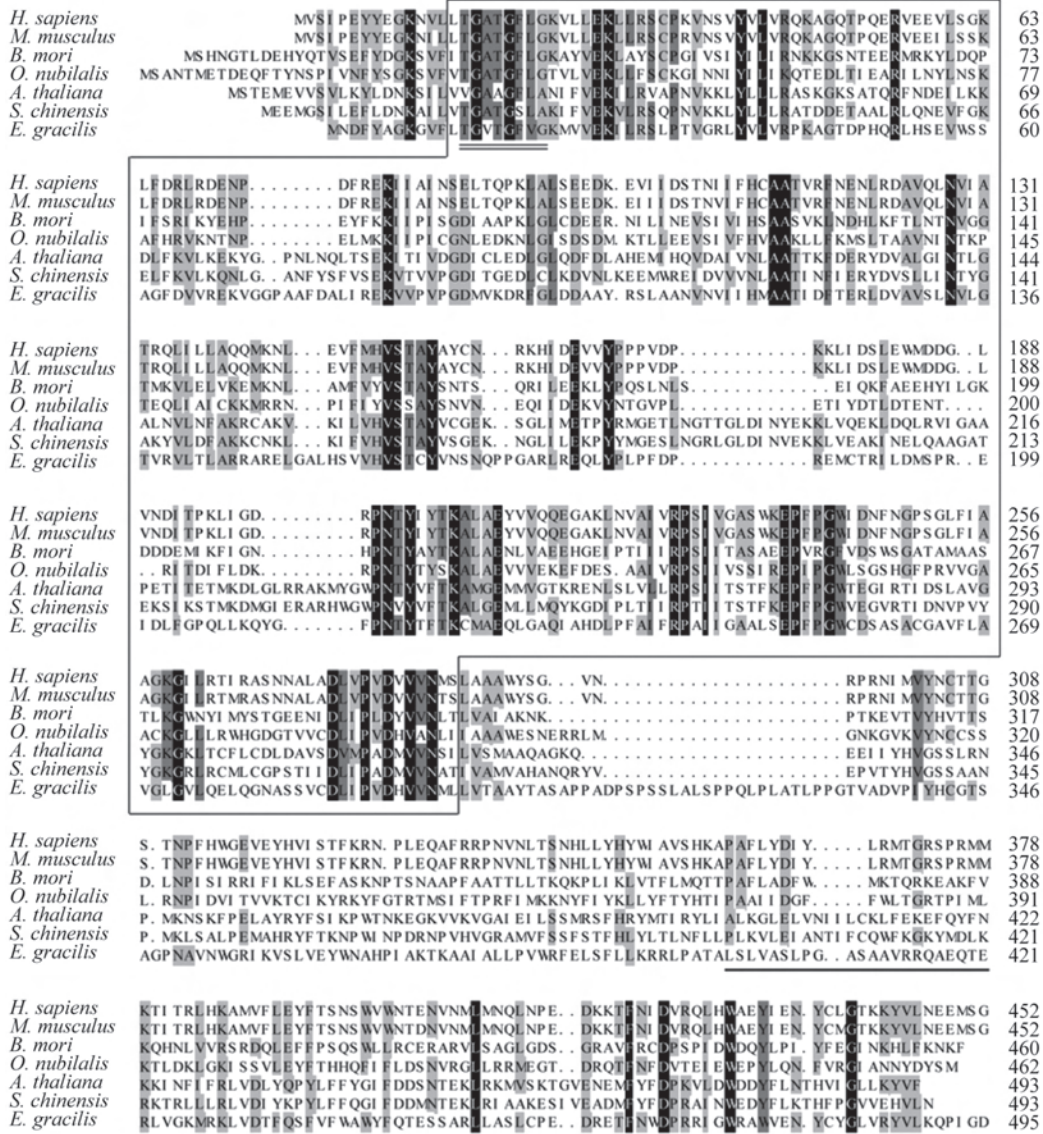


图3 不同物种FAR的多序列联配(根据参考文献[14,18]修改)
Fig.3 Alignment of the FAR from different species(modified from references [14,18])

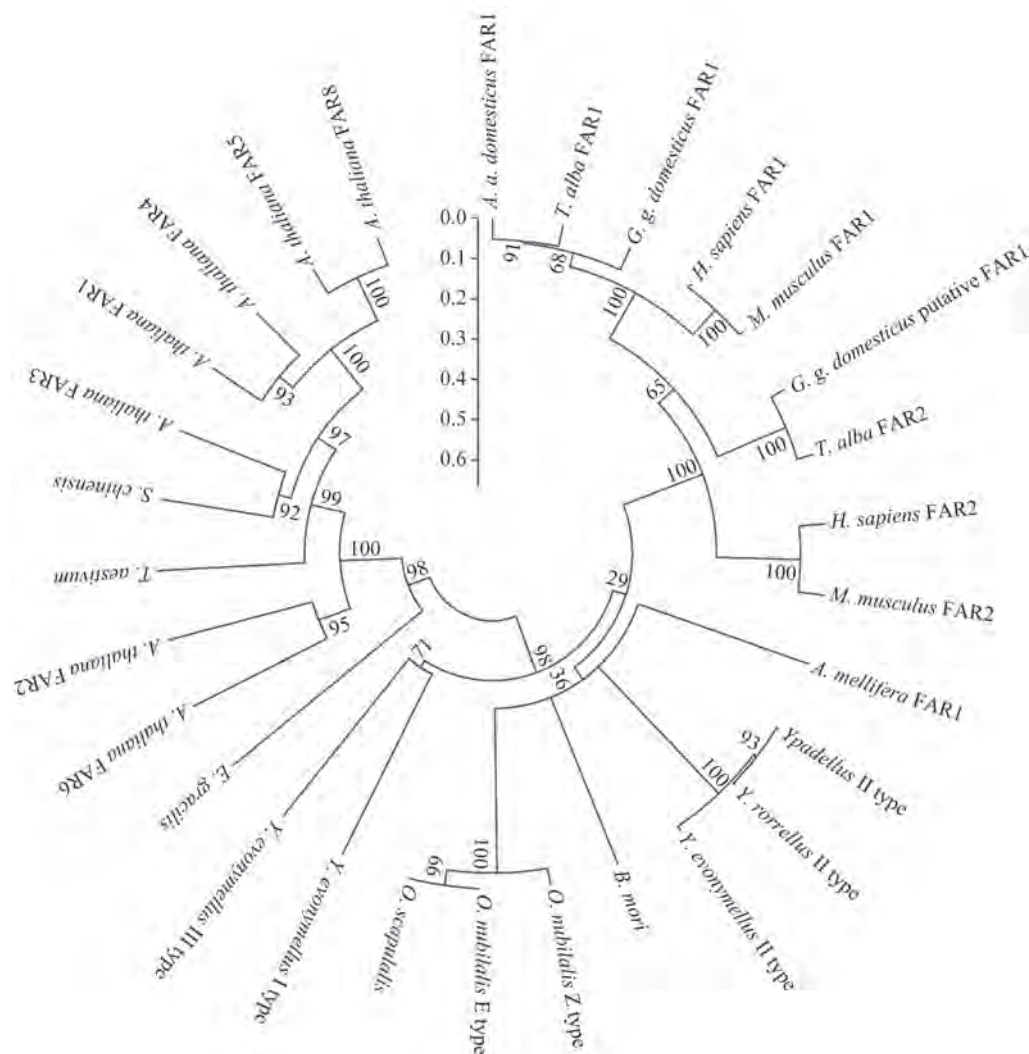
双下划线显示的是NADH结合基序, 方框内为Rossmann折叠, 单下划线显示的是Sterile蛋白结构域。各FAR序列在NCBI的登录号如下: *Homo sapiens*: AAT42129; *Mus musculus* FAR1: BC007178; *Bombyx mori*: BAC79426; *Ostrinia nubilalis*: FJ807735; *Arabidopsis thaliana*: NP567936; *Simonsia chinensis*: AF149917.1; *Euglena gracilis*: GU733919.1。

The NADH-binding motif is shown with double underline, the Rossmann-fold NAD(P)(+)-binding domain is shown with black box, and Sterile protein domain is shown with thick black line. GenBank accession numbers of the FAR enzymes are as stated above.

研究, 而且主要集中在鳞翅目中^[18,22-24]。研究发现, 家蚕(*Bombyx mori*)和巢蛾属(*Yponomeuta*) FAR底物选择性非常广泛, 巢蛾属的FAR可以把其性腺中不存在的性信息素Z或E-12-14:Me(存在于亚洲玉米螟(*Ostrinia furnacalis*)中)前体转化成相应的醇, 对于结构相似的饱和/不饱和C14和C16脂酰辅酶A底物, 优先选择C14作为底物, 但是分别以C14和C16脂酰辅酶A作为底物的情况下, 对于两种底物的转化率相似。

这些结果表明, 鳞翅目昆虫性腺中多种性信息素可以由一种FAR催化, 不同种之间性信息素的差异是由上游代谢途径生成的产物不同造成的^[18,22]。

对于欧洲玉米螟(*O. nubilalis*)两个亚种(Z和E)的研究则不同, 它们的性信息素分别含有不同比例的Z和E-11-tetradecenyl acetate(Z和E11-14:OAc), 在酵母中表达的Z亚种的FAR能够把大量的Z-11-tetradecenyl前体转化成对应的醇, 但只能转化极少



各序列用CLUSTALX1.83比对后,输入MEGA5.0,构建NJ树,各分支的bootstrap置信度用1 000次自导复制来评价。各序列在NCBI的登录号如下: *Homo sapiens* FAR1: NP_115604.1; *H. sapiens* FAR2: NP_060569.3; *Mus musculus* FAR1: NP_080419.2; *M. musculus* FAR2: NP_848912.1; *Anser anser domesticus* FAR1: JN638548; *Gallus gallus domesticus* FAR1: NP_001026350.1; *G. g. domesticus* putative FAR1: XP_417235.2; *Tyto alba* FAR1: JN638549; *T. alba* FAR2: JN638550; *Triticum aestivum*: CAD30693.1; *Bombyx mori*: NP_001036967.1; *Ostrinia nubilalis*: ACY07546.1; *O. scapularis* FAR-like protein XIII: ACJ06520.1; *Y. evonymellus*: ADD62438.1; *Y. evonymellus* FAR II: ADD62439.1; *Y. evonymellus* FAR III: ADD62440.1; *Y. padellus* FAR II: ADD62442.1; *Y. rorellus* FAR II: ADD62441.1; *Apis mellifera* FAR1: NP_001180219.1; *Simmondsia chinensis*: AAD38039.1; *Arabidopsis thaliana* FAR1: NP_197642.1; *A. thaliana* FAR2: AEE75132.1; *A. thaliana* FAR3(CER4): NP_567936.5; *A. thaliana* FAR4: NP_190040.3; *A. thaliana* FAR5: NP_190041.2; *A. thaliana* FAR6: AEE79553.1; *A. thaliana* FAR8: NP_190042.2; *Euglena gracilis*: ADI60057.1。Amino acid sequences alignment is carried out using the software CLUSTALX1.83 before construction of phylogenetic trees, and the result was imported to software MEGA5.0. Phylogenetic trees were generated using the neighbour-joining method and bootstrapped with 1 000 iterations to evaluate the branch strength of the tree. GenBank accession numbers of the FAR enzymes are as stated above.

图4 不同物种FAR的系统进化树(根据参考文献[18,21]修改)

Fig.4 Phylogenetic tree of FAR(modified from references [18,21])

量的E-11-tetradecenoyl前体,而E亚种的FAR酶刚好相反,玉米螟2个far基因核酸序列的变异导致酶的底物偏好性不同,由此生成不同的性信息素,导致了欧洲玉米螟2个亚种的生殖隔离^[24]。

从意蜂(*Apis mellifera*)头部获得的far基因参与了信息素或者醚酯的合成,其FAR能将C14:0-C22:0的

脂酰辅酶A还原成脂肪醇,但偏好选择C18:0脂酰辅酶A为底物,这与意蜂头胸部C18:0脂肪醇含量最高相一致^[13]。

以上看似矛盾的结果说明,昆虫FAR生化特征差异很大,是由于far基因沿着不同的路线进化,使不同物种FAR产生的信息素能够相互区别。目前,在昆虫中

并没有鉴定出参与蜡酯合成的FAR, 开展昆虫FAR的基因克隆及其功能研究, 将拓展*far*酶基因的研究, 有助于了解*far*基因结构和功能的系统进化。

4 WS

4.1 WS的双功能酶特点

WS属于酰基转移酶家族成员, 该家族成员还包括单酰基甘油酰基转移酶(*acyl-CoA: mon-oacylglycerol acyltransferase*, MGAT, 产物为甘油二酯)、二酰基甘油酰基转移酶(*acyl-CoA: diacylglycerol acyltransferase*, DGAT, 产物为甘油三酯)和胆固醇酰基转移酶(*acyl-CoA: cholesterol acyltransferase*, ACAT, 产物为胆固醇酯)等^[2,25]。该家族成员的基因序列相似性较高, 参与的功能较为相似, 给WS的研究带来很大困难, 目前只报道了10个物种的*ws*基因。

研究表明, 小鼠*ws*基因与*mgat1*、*mgat2*、*dgat2*具有很高的相似性, MGAT和DGAT也具有WS的部分活性, 即可以生成蜡酯, 但小鼠WS并不具有MGAT和DGAT的活性, 不能生成甘油二酯和甘油三酯^[2]。家鸡、家鹅(*Anser anser domesticus*)、仓鸮(*Tyto alba*)中发现的WS则是双功能酶, 即具有WS和DGAT两种酶的活性, 但家鸡中另外3个WS与小鼠类似, 只具有合成蜡单酯的功能^[25]。

拟南芥WS也具有DGAT的活性^[7,26], 而在矮牵牛(*Petunia hybrida*)和小眼虫中发现的WS均不具备DGAT的活性^[12,27], 西蒙得木WS是否为双功能酶还没有验证^[10]。

在不动杆菌(*Acinetobacter sp.*)中发现的WS也是双功能酶, 但是该酶WS的活性要高于DGAT的活性^[15-16]。烃海杆菌(*M. hydrocarbonoclasticus*)含有3个WS, 其中1个WS是双功能酶, 而另外2个则不具备DGAT的活性^[28-29]。阿维链霉菌(*Streptomyces avermitilis*)中鉴定到的WS/DGAT基本上不具备WS的活性^[30]。

WS还有许多领域需要探索, 如: WS有几个活性中心, WS双功能酶的特点有何意义, 不同物种WS是否存在进化路线上的差异等。

4.2 WS的生化特性

不同物种WS的生化特征差异较大, 而且WS的底物偏好性与生成的蜡酯主要成分并不一定一致。在蜡酯合成途径中, 尽管FAR生成的脂肪醇是WS的底物之一, 但WS最适底物的前体与FAR最适底物有

可能并不一致。

WS最先在西蒙得木中被鉴定, 该酶对于C14-C24的饱和/单不饱和脂酰辅酶A均具有活性, 但是偏好选择C20:1脂酰辅酶A作为底物; 对于很多脂肪醇也有活性, 但偏好选择C18:1和C18:2脂肪醇, 与西蒙得木种子油主要成分并不一致, 与西蒙得木FAR偏好使用C22:1脂酰辅酶A也不一致^[10]。

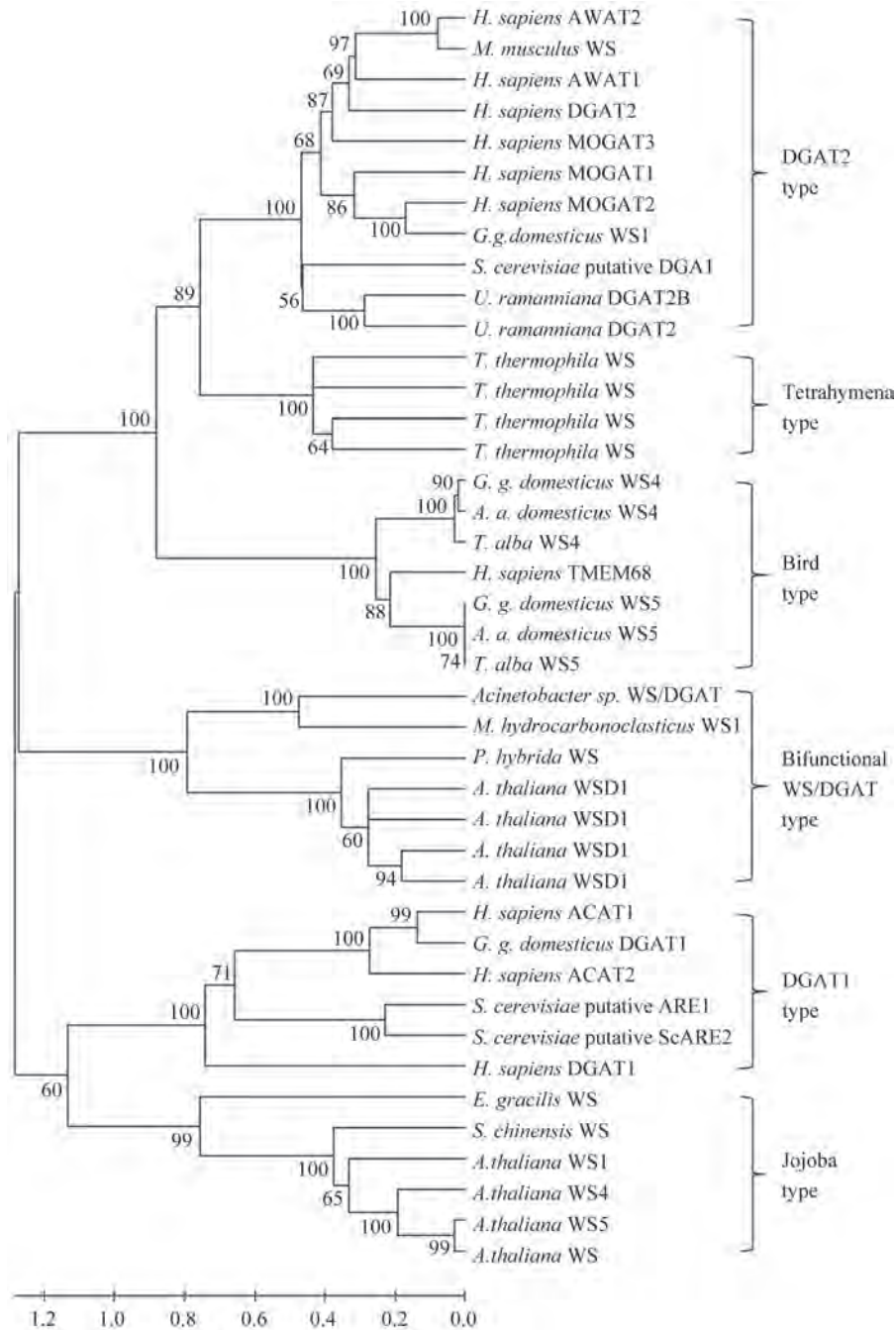
家鸡的WS对于C10-C12的饱和醇以及C14-C18的饱和硫酯均具有活性, 与家鸡2个FAR的最适底物都不一致^[25]。小鼠WS对于脂肪醇选择范围很广, C20以下的脂肪醇都能作为底物, 偏好选择单不饱和及多不饱和的C18:1和C18:2的脂肪醇作为底物, 与小鼠FAR最适底物一致, 而对于脂酰辅酶A的选择则偏好碳链短的, 对于单不饱和以及多不饱和脂酰辅酶A没有选择性^[2]。因此, 不同物种WS和FAR生化特征的差异共同决定了生物蜡酯的组分差异。

4.3 WS的基因序列特点

从序列特征上看, 细菌的*ws*基因与其它一些微生物基因有相似序列, 而与植物和动物*ws*基因没有相关性, 植物和动物的*ws*基因之间也没有明显的相似性^[2,14-16]。但是酰基转移酶家族成员之间的相似性较高, 例如, 小鼠*ws*基因和*dgat2*基因的序列相似性为46.5%, 和*mgat2*的相似性为40.5%, 和*mgat1*的相似性为38.7%^[2]。

研究发现, 人的DGAT1和ACAT存在一个潜在的脂酰辅酶A结合基序: FYXDWWN, 而在人的DGAT2、WS和家鸡单功能、双功能WS中均存在一个潜在的酶激活基序: HPHG, 在禽类其它的WS中该基序可能是(Y/F)YHG^[25]。在植物和微生物中发现WS有共同的基序: HHXXXDG, 但在动物中却没有发现该基序^[2,12,15-16,25-26,28-29]。由于*ws*基因没有明显的结构特征, 给WS的基因克隆带来很大的难度。

Li等^[26]将WS分为3类: 一是哺乳动物WS, 这类*ws*基因与植物没有明显的相似性, 但是和拟南芥*dgat2*基因有一些相似性; 二是西蒙得木WS, 与拟南芥等植物的*ws*基因有相似性; 三是不动杆菌WS, 这类酶为双功能酶, 与动物和植物的*ws*基因没有相似性。但是对目前已经鉴定的*ws*基因以及酰基转移酶家族的*dgat*、*acat*基因进行的序列联配发现, *ws*基因聚为6支(图5), 与酶的生化特性并不一致, 所以对于*ws*基因需要更多的深入研究。



构建方法同图4。各序列在NCBI的登录号如下: *Homo sapiens* AWAT1: NP_001013597.1; *H. sapiens* AWAT2: NP_001002254.1; *H. sapiens* MOGAT3: NP_835470; *H. sapiens* MOGAT2: NP_079374; *H. sapiens* MOGAT1: NP_477513.2; *H. sapiens* ACAT1: NP_003092.4; *H. sapiens* ACAT2: NP_003569.1; *H. sapiens* DGAT2: NP_115953.2; *H. sapiens* DGAT1: NP_036211.2; *H. sapiens* TMEM68: Q96MH6.2; *Mus musculus* WS: AY611031.1; *Anser anser domesticus* WS5: JQ031647; *A. a. domesticus* WS4: JQ031643; *Gallus gallus domesticus* WS1: XP_424082.2; *G. g. domesticus* WS4: XP_419207.1; *G. g. domesticus* WS5, NP_001026192.1; *G. g. domesticus* DGAT1: JQ031642; *Tyto alba* WS4: JQ031645; *T. alba* WS5: JQ031646; *Simmondsia chinensis* WS: AF149919_1; *A. thaliana* WS: NP_200345.1、NP_200349.1、NP_200346.1、XP_002866091.1; *A. thaliana* WSD1: NP_568547.1、NP_177356.1、NP_850307.1、NP_200151.2; *Petunia hybrida* WS: AAZ08051.1; *Euglena gracilis* WS: AD160058.1; *Acinetobacter* sp. WS/DGAT: YP_045555.1; *Tetrahymena thermophila* WS: XP_001027910、XP_001026090、XP_001008104、XP_001019739; *Marinobacter hydrocarbonoclasticus* WS1: ABO21021.1; *Umbelopsis ramanniana* DGAT2A: AAK84179.1; *U. ramanniana* DGAT2B: AAK84180.1; *Saccharomyces cerevisiae* putative DGA1: NP_014888.1; *S. cerevisiae* putative ARE1: CAA42296.1; *S. cerevisiae* putative ScARE2: CAA96298.1。

The method of construction of phylogenetic trees is the same as above. GenBank accession numbers of the enzymes are as stated above.

图5 不同物种WS和酰基转移酶家族其它成员的系统进化树(根据参考文献[14,25]修改)

Fig.5 Phylogenetic tree of WS and other enzymes of acyltransferase family(modified from references [14,25])

5 小结与展望

近十年的研究基本明确了生物蜡酯的合成途径,但是由于生物蜡酯成分较多,很多产物对应的酶并没有被鉴定。Shi等^[31]在水稻(*Oryza sativa*)雄性不育突变体中发现一种新的脂肪酸还原酶(defective pollen wall, DPW)可以催化palmiltoyl-acyl载体蛋白、palmiltoyl-CoA和palmitoleoyl-CoA生成相应的醇,但该酶主要参与植物花药表皮和孢子花粉素的形成。该研究结果表明,随着研究的不断深入,会有新的参与脂肪醇或者蜡酯成分合成的酶被发现。

体外生物途径重构表明,即使不参与蜡酯合成的FAR也可以和WS生成蜡酯^[3],这说明在生物体内不参与蜡酯合成的FAR生成的脂肪醇也可以用来合成蜡酯,FAR参与的生理功能与它的组织表达部位有一定关系,WS的表达部位和生化特性对蜡酯合成有决定性影响,WS的底物偏好性与上游的FAR的主要产物并不一致,这说明在生物蜡酯生成的进化过程中,WS和FAR并不是协同进化的,这两个酶可能沿着不同的进化路线进化。

目前,关于FAR和WS的研究不是很多,昆虫中还没有鉴定出参与蜡酯合成的FAR和WS,关于这两个酶还有很多问题需要研究,如参与不同生理功能的FAR有何进化关系,生物体内存在的多个WS,它们所参与的生理功能有何异同,它们是如何被调控的,WS的活性中心是什么,都需要在更多物种中进行深入研究。

参考文献 (References)

- 何晨柳, 孔任秋, 胡晗华. 产蜡酯聚球藻PCC 7002的构建. 水生生物学报(He Chenliu, Kong Renqiu, Hu Hanhua. *Synechococcus* sp. PCC 7002 engineered for wax ester production. *Acta Hydrobiologica Sinica*) 2010; 34(6): 1202-5.
- Cheng JB, Russell DW. Mammalian wax biosynthesis. II. Expression cloning of wax synthase cDNAs encoding a member of the acyltransferase enzyme family. *J Biol Chem* 2004; 279(36): 37798-807.
- 谢映平, 薛皎亮, 郑乐怡. 蜃科昆虫的蜡分泌物超微结构和化学成分. 北京: 中国林业出版社(Xie Yingping, Xue Jiaoliang, Zheng Leyi. Wax secretions of soft scale insects their ultrastructure & chemical composition. Beijing: China Forestry Publishing House), 2006, 11-2.
- 倪郁, 郭彦军. 植物超长链脂肪酸及角质层蜡质生物合成相关酶基因研究现状. 遗传(Ni Yu, Guo Yanjun. Progress in the study on genes encoding enzymes involved in biosynthesis of very long chain fatty acids and cuticular wax in plants. *Hereditas*) 2008; 30(5): 561-7.
- Millar AA, Clemens S, Zachgo S, Giblin EM, Taylor DC, Kunst L. CUT1, an *Arabidopsis* gene required for cuticular wax biosynthesis and pollen fertility, encodes a very-long-chain fatty acid condensing enzyme. *Plant Cell* 1999; 11(5): 825-38.
- Kunst L, Samuels AL. Biosynthesis and secretion of plant cuticular wax. *Prog Lipid Res* 2003; 42(1): 51-80.
- Klypina N, Hanson SF. *Arabidopsis thaliana* wax synthase gene homologues show diverse expression patterns that suggest a specialized role for these genes in reproductive organs. *Plant Sci* 2008; 175: 312-20.
- Doan TP, Carlsson AS, Hamberg M, Bülow L, Stymne S, Olsson P. Functional expression of five *Arabidopsis* fatty acyl-CoA reductase genes in *Escherichia coli*. *J Plant Physiol* 2009; 166(8): 787-96.
- Metz JG, Pollard MR, Anderson L, Hayes TR, Lassner MW. Purification of a jojoba embryo fatty acyl-coenzyme A reductase and expression of its cDNA in high erucic acid rapeseed. *Plant Physiol* 2000; 122: 635-44.
- Lardizabal KD, Metz JG, Sakamoto T, Hutton WC, Pollard MR, Lassner MW. Purification of a jojoba embryo wax synthase, cloning of its cDNA, and production of high levels of wax in seeds of transgenic *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 2000; 122(3): 645-55.
- Cheng JB, Russell DW. Mammalian wax biosynthesis. I. Identification of two fatty acyl-coenzyme A reductases with different substrate specificities and tissue distributions. *J Biol Chem* 2004; 279(36): 37789-97.
- Teerawanichpan P, Qiu X. Fatty acyl-CoA reductase and wax synthase from *Euglena gracilis* in the biosynthesis of medium-chain wax esters. *Lipids* 2010; 45(3): 263-73.
- Teerawanichpan P, Robertson AJ, Qiu X. A fatty acyl-CoA reductase highly expressed in the head of honey bee (*Apis mellifera*) involves biosynthesis of a wide range of aliphatic fatty alcohols. *Insect Biochem Molec* 2010; 40: 641-9.
- Yang P, Zhu JY, Gong ZJ, Xu DL, Chen XM, Liu WW, et al. Transcriptome analysis of the Chinese white wax scale *Ericerus pela* with focus on genes involved in wax biosynthesis. *PLoS ONE* 2012; 7(4): e35719.
- Kalscheuer R, Steinbüchel A. A novel bifunctional wax ester synthase/acyl-CoA: Diacylglycerol acyltransferase mediates wax ester and triacylglycerol biosynthesis in *Acinetobacter calcoacetivus* ADP1. *J Biol Chem* 2003; 278(10): 8075-82.
- Stöveken T, Kalscheuer R, Malkus U, Reichelt R, Steinbüchel A. The wax ester synthase/acyl coenzyme A: Diacylglycerol acyltransferase from *Acinetobacter* sp. strain ADP1: Characterization of a novel type of acyltransferase. *J Bacteriol* 2005; 187(4): 1369-76.
- Wahlen BD, Oswald WS, Seefeldt LC, Barney BM. Purification, characterization, and potential bacterial wax production role of NADPH-dependent fatty aldehyde reductase from *Marinobacter aquaeolei* VT8. *Appl Environ Microbiol* 2009; 75(9): 2758-64.
- Liénard MA, Hagstrom AK, Lassance JM, Löfstedt C. Evolution of multicomponent pheromone signals in small ermine moths involves a single fatty-acyl reductase gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107(24): 10955-60.
- Rowland O, Zheng HQ, Hepworth SR, Lam P, Jetter R, Kunst L. *CER4* encodes an alcohol-forming fatty acyl-coenzyme A reductase involved in cuticular wax production in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 2006; 142(3): 866-77.
- Domergue F, Vishwanath SJ, Joubès J, Ono J, Lee JA, Bourdon M, et al. Three *Arabidopsis* fatty acylcoenzyme A reductases, FAR1,

- FAR4, and FAR5, generate primary fatty alcohols associated with suberin deposition. *Plant Physiol* 2010; 153(4): 1539-54.
- 21 Hellenbrand J, Biester EM, Gruber J, Hamberg M, Frentzen M. Fatty acyl-CoA reductases of birds. *BMC Biochem* 2011; 12: 64.
- 22 Moto K, Yoshiga T, Yamamoto M, Takahashi S, Okano K, Ando T, *et al.* Pheromone gland-specific fatty-acyl reductase of the silkworm, *Bombyx mori*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100(16): 9156-61.
- 23 Antony B, Fujii T, Moto K, Matsumoto S, Fukuzawa M, Nakano R, *et al.* Pheromone-gland-specific fatty-acyl reductase in the adzuki bean borer, *Ostrinia scapulalis* (Lepidoptera: Crambidae). *Insect Biochem Molec* 2009; 39(2): 90-5.
- 24 Lassance JM, Groot AT, Liénard MA, Antony B, Borgwardt C, Andersson F, *et al.* Allelic variation in a fatty-acyl reductase gene causes divergence in moth sex pheromones. *Nature* 2010; 466(7305): 486-9.
- 25 Biester EM, Hellenbrand J, Gruber J, Hamberg M, Frentzen M. Identification of avian wax synthases. *BMC Biochem* 2012; 13: 4.
- 26 Li FL, Wu XM, Lam P, Bird D, Zheng HQ, Samuels L, *et al.* Identification of the wax ester synthase/acyl-coenzyme A: Diacylglycerol acyltransferase WSD1 required for stem wax ester biosynthesis in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 2008; 148(1): 97-107.
- 27 King A, Nam JW, Han JX, Hilliard J, Jaworski JG. Cuticular wax biosynthesis in petunia petals: Cloning and characterization of an alcohol-acyltransferase that synthesizes wax-esters. *Planta* 2007; 226(2): 381-94.
- 28 Holtzapfel E, Schmidt-Dannert C. Biosynthesis of isoprenoid wax ester in *Marinobacter hydrocarbonoclasticus* DSM 8798: Identification and characterization of isoprenoid coenzyme A synthetase and wax ester synthases. *J Bacteriol* 2007; 189(10): 3804-12.
- 29 Grossi V, Yakimov MM, Ali BA, Tapilatu Y, Cuny P, Goutx M, *et al.* Hydrostatic pressure affects membrane and storage lipid compositions of the piezotolerant hydrocarbon-degrading *Marinobacter hydrocarbonoclasticus* strain #5. *Environ Microbiol* 2010; 12(7): 2020-33.
- 30 Kaddor C, Biermann K, Kalscheuer R, Steinbüchel A. Analysis of neutral lipid biosynthesis in *Streptomyces avermitilis* MA-4680 and characterization of an acyltransferase involved herein. *Appl Microbiol Biot* 2009; 84(1): 143-55.
- 31 Shi J, Tan HX, Yu XH, Liu YY, Liang WQ, Ranathunge K, *et al.* *Defective pollen wall* is required for anther and microspore development in rice and encodes a fatty acyl carrier protein reductase. *Plant Cell* 2011; 23(6): 2225-46.

Research Progress on Wax Ester Biosynthetic Pathway and the Related Key Enzymes

Yang Pu¹, Xu Dongli¹, Chen Xiaoming^{1*}, Liu Weiwei¹, Gong Zhongjun², Hu Yanhong¹

(¹Research Institute of Resources Insects, Chinese Academy of Forestry, the Key Laboratory of Cultivating and Utilization of Resources Insects of State Forestry Administration, Kunming, 650224, China; ²Institute of Plant Protection, Henan Academy of Agricultural Science, Key Laboratory of Crop Pest Control of Henan Province, Zhengzhou 450002, China)

Abstract Wax esters play an important role in life activities of organisms. It has been shown that the wax ester biosynthetic pathway is highly conserved in animals and plants. In this pathway, the fatty acyl-CoA precursor is reduced to the corresponding alcohol by fatty acyl-CoA reductase (FAR) and proceeds through esterification with alcohol, which is catalyzed by the wax synthase (WS), yielding wax ester. FAR and WS are key enzymes responsible for wax biosynthesis. The structure and function of the two enzymes are different in different species. At present, there is no comprehensive analysis of the two enzymes. This paper reviews the sequence characteristics, biochemical characteristics, functions, and research status of the two enzymes, which purposes to provide reference for related researches.

Key words wax ester; biosynthetic pathway; FAR; WS

Received: March 29, 2012 Accepted: May 7, 2012

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Youth Program) (No.31000983), the Applied Basic Research Foundation of Yunnan Province (No.2010ZC235) and the National Nonprofit Institute Research Grant of RIRI-CAF (No.riricaf200904M-3, No.riricaf2011006M)

*Corresponding author. Tel: 86-871-3860019, E-mail: xmchen@vip.km169.net