

刘晓悦,王盼娣,熊小娟,等.油料作物种子中神经酸含量提升研究进展[J].华中农业大学学报,2024,43(2):64-74.
DOI:10.13300/j.cnki.hnlkxb.2024.02.008

油料作物种子中神经酸含量提升研究进展

刘晓悦,王盼娣,熊小娟,吴刚,刘芳

中国农业科学院油料作物研究所/农业农村部油料作物生物学与遗传育种重点实验室/农业农村部植物生态环境安全监督检验检测中心,武汉430062

摘要 神经酸(NA)是一种超长链单不饱和脂肪酸,为大脑神经纤维髓鞘的核心成分,具有修复受损大脑神经纤维、促进神经细胞再生等功能。因此,NA受到越来越多的研究和关注。目前NA主要依赖于从天然物种中提取,难以满足市场需要,限制其进一步发展和应用。近年来,随着基因工程以及合成生物学的发展,通过多基因策略,在现有物种中构建NA代谢路径,可经济且可持续地获得NA,以满足营养、制药和化学工业等领域的需求。本文综述了NA的生物功能、生物来源、合成途径,并比较了基因工程生产NA各底盘的优劣,进一步探讨了十字花科油料作物底盘生产富含NA种子油的影响因素,以期将来通过转基因技术和分子育种调控NA的生产,获得可再生的NA资源提供一定的思路和策略。

关键词 神经酸;基因工程;底盘;转基因;分子育种;十字花科油料作物;种子油

中图分类号 Q819:S565 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2024)02-0064-11

神经酸(nervonic acid, NA)学名为15-二十四碳烯酸(C₂₄:1),最初在鲨鱼大脑中分离得到,故又名鲨油酸^[1]。其分子式为C₂₄H₄₆O₂,相对分子质量为366.6,纯品在常温状态下为白色针状固体,溶于醇,不溶于水,是一种 ω -9型长链单不饱和脂肪酸^[2]。在人体中主要以三酰甘油(triacylglycerol, TAG)的形式储存^[3]。研究表明,NA与人体多种疾病有关,而人体无法合成NA,必须从食物中获取。探究NA及其衍生物的生理功能、来源及合成途径等对现代基因工程规模化生产NA具有重要价值。本文对NA的生物功能、生物来源、合成途径及基因工程生产NA的研究进展进行综述,以期将来通过转基因技术和分子育种调控NA的生产、获得可再生的NA资源提供一定的思路和策略。

1 NA的相关功能

NA是一种天然的生物活性脂肪酸,最早以神经鞘脂(nervonic sphingolipids, SLs)形式被发现。早在1972年,英国神经学家就发现NA具有修复鲨鱼受伤脑组织的作用^[4]。NA及其衍生物存在于人体多数

组织中,大脑、肝脏及肾脏中较为丰富^[5]。NA及其衍生物以自由状态或通过酰胺键与鞘氨醇碱结合形成神经酰胺、鞘脂^[6]等物质参与众多生物过程^[7-8]。Phung等^[9]系统总结了NA功能及相关机制,主要包括细胞结构、信号传导、抗炎、脂质动员4个相互关联的功能。人体缺乏NA会引起神经系统发育异常、脱髓鞘疾病、神经退行性疾病、心脑血管疾病、免疫缺陷疾病、肿瘤及抑郁症等多种疾病,机体摄入NA可以协调作用多个靶点,共同缓解机体症状(表1)。

NA及其衍生物在工业上也有广泛应用,作为生产塑料、化妆品、树脂、尼龙、表面活性剂、生物燃料和润滑剂等产品的原料^[32]。相较于其他工业原料,绿色及具可持续特性的NA及其衍生物,更具有应用和推广价值。

随着社会环境的改变以及人口老龄化程度的加深,我国患心脑血管疾病、神经退行性疾病、癌症以及抑郁症的人数不断攀升。由于这类疾病无特效药,病程极长,治疗及康复过程将占用大量公共资源,成为经济和社会发展的阻碍。我国植物神经酸研究起步较晚,近年来才展现出急起直追之势。国

收稿日期:2023-10-10

基金项目:农业农村部转基因生物新品种培育重大专项(SQ2019ZD080018);中国农业科学院油料作物研究所级重点任务新兴学科建设合成生物学专项(CAAS-OCRI-XKPY-202106)

刘晓悦, E-mail: 17860395910@139.com

通信作者:刘芳, E-mail: liufang03@caas.cn

表1 NA及其衍生物生物学功能
Table 1 Biological functions of NA and its derivatives

生物学功能 Biological functions	机制 Mechanism	涉及疾病 Related diseases	参考文献 References
	髓鞘核心成分、调节神经元通信 Core component of myelin sheath, regulating neuronal communication	肾上腺脑白质营养不良症、神经系统发育异常 Adrenoleukodystrophy, maldevelopment of nervous system	[10-13]
结构成分 Structural components	促进胆固醇结合、维持膜结构稳定性 Promote cholesterol binding, maintain membrane structure stability	脱髓鞘疾病、多发性硬化症(MS)、阿尔兹海默综合征(AD) Demyelinating diseases, multiple sclerosis, Alzheimer's disease	[14-16]
	促进髓鞘再生、恢复神经纤维活跃度 Promote myelin regeneration, restore nerve fiber activity	抑郁症、双向情感障碍 Depression, bipolar affective disorder	[17-18]
信号转导 Signal transduction	调节多巴胺系统、抑制氧化应激 regulate dopamine system, inhibition of oxidative stress	AD、帕金森(PD)、术后认知功能障碍(POCD) Alzheimer's disease, Parkinson's disease, postoperative cognitive dysfunction	[19-21]
	诱导凋亡 Induce apoptosis	癌症 Cancer	[22-25]
抵抗炎症 Anti-inflammation	内源性抗氧化剂成分 Endogenous antioxidant components	AD, PD, MS	[26]
	激活相应受体、抑制炎症因子表达、调节代谢 Activate corresponding receptors, inhibit the expression of inflammatory factors, regulate metabolism	Alzheimer's disease, Parkinson's disease, Multiple sclerosis	[26]
	人类免疫缺陷病毒1型逆转录酶非竞争性抑制剂 Noncompetitive inhibitors of human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase	艾滋病 Acquired immunodeficiency syndrome	[27]
脂质动员 Lipid mobilization	调节血糖、血脂 Regulate blood glucose, blood lipids	肥胖及并发症 Obesity and its complications	[28-30]
	加速脂质动员、降解生成ATP Accelerate lipid mobilization and ATP production	糖尿病 Diabetes	[31]
	调节胰岛素敏感性因子 Regulate insulin sensitivity factor		

内的研究主要聚焦于工业化提取^[33]、自然资源元宝枫(*Acer truncatum* Bunge)籽油的工业化生产以及微藻品种的发掘等基础研究。市场上售卖的NA产品主要有国壮元宝枫籽油、汉林牌脑忆康胶囊和寿堂牌纳福希胶囊等,品类少且价格贵。我国亟需开发新型NA资源,加速深层研究,更好地服务大众。

2 NA的生物来源

2.1 动物来源

发达国家最早从鲨鱼脑中提取NA^[1],但国际组织明令禁止捕获鲨鱼。近年来,在大西洋鳕、大马哈鱼以及红鲑等鱼类中发现NA及其衍生物,但由于人类过渡捕捞和海洋环境污染,这些鱼类资源的可持续性和安全性受到威胁,限制其作为NA来源进一步开发利用^[34-35]。在其他哺乳动物的大脑中也含有神经酸,但其经济产量较低,尚未得到大规模开发应用(表2)。

2.2 植物来源

一些植物的果实和种子油中含有丰富的NA。截至目前,在13科31个属的38种植物中发现NA^[49-50],包含木本及草本两大类,其中应用较广及NA含量较高[NA占总脂肪酸(FA)19%及以上]植物见表2。

木本植株较长的生长周期在很大程度上限制其利用,故只有NA含量高的物种才具有开发利用价值。广东和云南特有物种蒜头果果仁中含有55.7%~67%的NA,为国家二级保护植物,无法作为NA的主要来源^[36]。元宝枫果油中含有6%的NA,不断优化的提取技术将终产品NA含量提高到47%左右^[37-38]。盾叶木(*Macaranga adenantha*)NA含量高,但分布零散^[39]。故我国特有物种元宝枫凭借其较为丰富的资源,成为目前提取NA的主要自然植物资源^[37-39]。

含NA的草本植物十字花科居多,十字花科植物较木本植物生长周期短,繁殖继代快,具有先天的开

表2 NA的生物来源
Table 2 Biological sources of NA

分类 Classification	物种 Species	NA比例/% NA content of total fatty acid	现状及存在问题 Current situation and existing problems	参考文献 References
动物 Animals	鱼类 Fish	0.25~50.00	过度捕捞、濒危、海洋环境污染、安全性存疑 Overfishing, endangered, marine environmental pollution, safety doubts	[1,34-35]
	哺乳动物 Mammals	0.00~50.00	经济产量低 Low economic output	
	蒜头果 <i>Malania oleifera</i>	55.70~67.00	濒临灭绝、资源短缺、分布狭窄、不易繁殖 Endangered, rare, narrow distribution, difficult reproduction	[36-37]
	元宝枫 <i>Acer truncatum</i>	3.90~7.80	生长周期长 Long growth cycle	[38]
植物 Plants	盾叶木 <i>Macaranga adenantha</i>	55.90	分布分散、生长条件特殊、采集困难 Scattered distribution, special growth conditions, acquisition difficult	[39]
	碎米荠 <i>Cardamine graeca</i>	45.00~54.00	生长条件苛刻,要求红色土壤、产量低 Harsh growth conditions, red soil requirements, low yield	[40]
	旱金莲 <i>Tropaeolum speciosum</i>	40.00~45.40	种子难获得和繁殖 Difficult to obtain seeds and reproduce	[41]
	银扇草 <i>Lunaria annua</i>	14.00~24.20	产量不稳定、种子易破碎 Yield instability, fragile seed	[42]
	<i>Mychonastes after</i> HSO-3-1	3.78~3.80	含量较低、开发应用繁琐 Low content, cumbersome development and application	[43]
	<i>Nannochloris</i> sp. QUCCCM31	3.80~9.97	耐高温、广泛盐度 High temperature resistance, broad salinity	[44]
	<i>Macrophomina phaseolina</i>	16.10~48.80	病原微生物、高致病性 Pathogenic microorganism, high pathogenicity	[45]
微生物 Microorganisms	<i>Francisella tularensis</i>	11.20~19.30	病原微生物、高致病性 Pathogenic microorganism, high pathogenicity	[46]
	<i>Mortierella capitata</i> RD000969	0.06~6.90	致病性强、含量低、开发应用价值低 High pathogenicity, low content, low development and application value	[47]
	<i>Mortierella elongata</i> SC-208	1.70~4.90	含量低、开发应用价值低 Low content, low development and application value	[48]

发利用优势^[35]。碎米荠(*Cardamine graeca*)NA含量最高,但其苛刻的生长条件限制其大规模扩繁种植^[40]。智利独有的多年生草本植物旱金莲(*Tropaeolum speciosum*),其种子油NA占总FA的40.0%~45.4%,但种子较难获得和繁殖^[41]。银扇草(*Lunaria annua*)是2年生草本油料作物,其种子油NA含量相对较低且产量不稳定,无法规模化收获,同时其高达50%的芥酸(erucic acid, EA)无法满足NA油的相关应用要求^[42]。

2.3 微生物来源

在现有报道中,天然微生物的NA含量和滴度相对较低(表2)。早在1986年, Nichols等^[51]就在硅藻*Nitzshia cylindrus*中发现了低含量的NA;近年来, Yuan等^[43]在华东地区发现绿色微藻*Mychonastes after* HSO-3-1(*M. HSO-3-1*)中含NA,且具有极低的EA含量和较高的亚麻酸(C18:3)含量。Saadaoui等^[44]在波斯湾分离得到1株耐高温和广泛盐度的*Nannochloris* sp. QUCCCM31,其NA含量占总脂质的9.97%。

除微藻外,少数真菌和细菌也具有合成NA的能

力。植物病原丝状真菌*Macrophomina phaseolina*和细菌*Francisella tularensis*可产生较高含量的NA,但较高的感染性限制其应用^[45-46]。有学者鉴定,油丝状真菌*Mortierella capitata* RD000969和*Mortierella elongata* SC-208可分别积累占总脂肪酸6.94%及4.9%的NA,但经发酵优化后,NA滴度只能达186.3和123.7 mg/L,达不到工业应用程度^[47-48]。

由于天然物种中动物资源的单一性和稀缺性,植物资源的长周期性和难获得性,微生物资源的低NA含量,致使从自然资源中获取NA无法满足市场需求,需进一步改造和筛选新的NA来源。

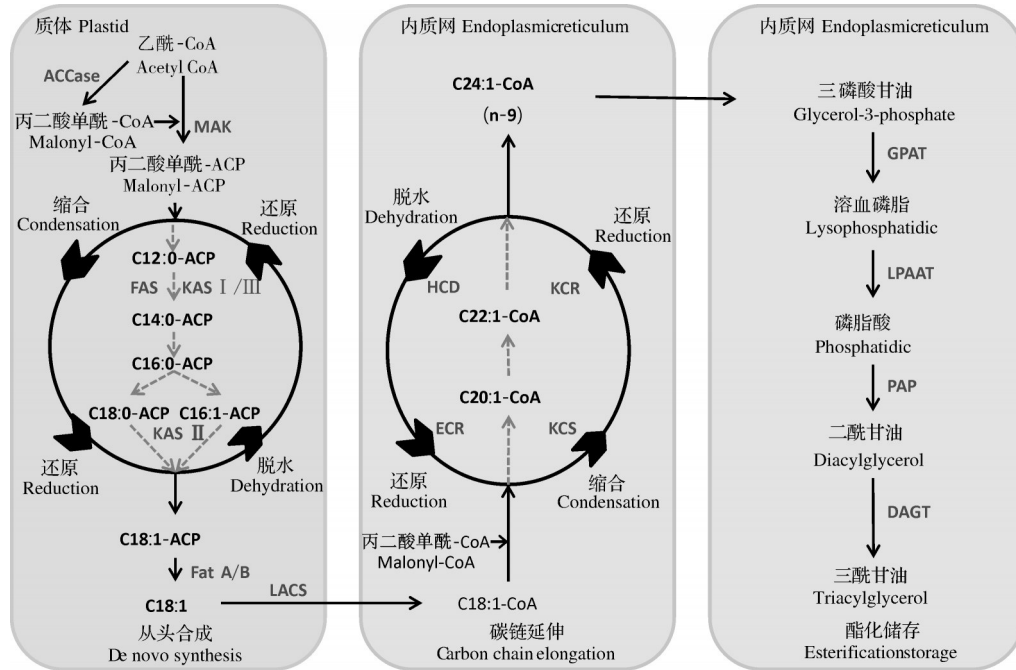
3 NA的生物合成途径

NA作为超长链脂肪酸再加上其单不饱和的特性,其生物合成主要划分为3步^[3]:在质体脂肪酸合酶复合体作用下,乙酰-CoA从头延伸生成软脂酸-ACP或硬脂酸-ACP;去饱和形成油酸(oleic acid, C18:1);在内质网脂肪酸延伸酶复合体作用下经缩合、还原、脱水、还原循环3次延伸生成NA^[52-54](图1)。该复合体包括3-酮酯酰-CoA合酶(3-keto-

acyl-CoA synthase, KCS)、3-酮酯酰-CoA 还原酶(3-ketoacyl-CoA reductase, KCR)、3-羟酯酰-CoA 脱水酶(3-hydroxyacyl-CoA dehydrase, HCD)和羟酯酰-CoA 还原酶(enoyl-CoA reductase, ECR), 其中KCS是碳链延伸过程的限速酶, 结合囊的性状和大小赋予严格的底物及组织特异性, 决定最终产物的碳链

长度^[55]。

合成的NA经酰基转移酶作用以甘油三酯(triglycerides, TAGs)的形式储存^[54-56](图1)。值得注意的是, NA在哺乳动物母乳中主要结合于三磷酸甘油(G3P)的sn-2位, 而在植物中主要结合sn-1和sn-3位^[57]。



ACCase: 乙酰辅酶A羧化酶; MAT: 丙二酰辅酶A/ACP转酰基酶; FAS: 脂肪酸合酶; KAS: 酮酰基 ACP 合酶; Fat A/B: 脂肪酸硫脂酶; LACS: 长链酰基辅酶A合成酶; KCS: 3-酮酯酰-CoA 合酶; KCR: 3-酮酯酰-CoA 还原酶; HCD: 3-羟酯酰-CoA 脱水酶; ECR: 羟酯酰-CoA 还原酶; GPAT: 甘油磷酸酰基转移酶; LPAAT: 溶血卵磷脂酰基转移酶; PAP: 磷脂酸磷酸酶; DAGT: 二酰基甘油酰基转移酶。ACCase: Acetyl CoA carboxylase; MAT: Malonyl-CoA-ACP transacylase; FAS: Fatty acid synthase; KAS: Ketoacyl ACP synthase; Fat A/B: Fatty acyl-ACP thioesterase; LACS: Long-chain acyl-CoA synthetase; KCS: 3-Ketoacyl-CoA synthase; KCR: 3-Ketoacyl-CoA reductase; HCD: 3-Hydroxyacyl-CoA dehydrase; ECR: Enoyl-CoA reductase; GPAT: Glycerol-3-phosphate acyltransferase; LPAAT: Lysophosphatidic acid acyltransferase; PAP: Phosphatidic acid phosphatase; DAGT: Diacylglycerol acyltransferase.

图1 植物中神经酸生物合成与积累途径

Fig. 1 Pathways of neuroic acid biosynthesis and accumulation in plants

4 基因工程生产NA现状及前景

有学者利用顺-13-二十二碳烯基甲酯化学合成NA, 但存在产率较低、副产物较多、制备过程资源消耗高, 污染严重等问题^[58]; 随着基因工程以及合成生物学技术的蓬勃发展, NA合成和组装相关基因的确定, 基因工程生产NA凭借其规模大、耗时短、资源浪费少, 吸引了各国科学家的加入。

4.1 底盘选择

由于微生物具有增殖周期短、产量高、条件限制少、遗传转化便捷等特点, 科学家最早开发微生物底盘来生产NA。微藻和酵母在改造项目中占据高位^[59-60]。有学者在酵母中异源表达菌株 *Myconas-*

tes HSO-3-1 的 KCS 基因^[61] 以及 *Lunaria annua* 的 KCS 基因 (*LaKCS*)^[62], 转基因品系中产生 NA。夏俊杰^[63] 利用酿酒酵母构建了高产 NA 工程菌, 使得 NA 产量高达到 1.37%。Zhang 等^[64] 在 *Saccharomyces cerevisiae* 中共表达 *Crambe hispanica* 的 *ChFAE1* 和 *Lunaria annua* 的 *LaKCS*, 使得转基因株系产生 5% 的 NA。Wang 等^[65] 在产油酵母 *Yarrowia lipolytica* 中构建出植物与非植物相结合的 NA 合成通路: 增加 C18:0 作为非植物途径前体的供应, 同时删除了 β -氧化途径; 利用 NA 特异性 *Malania oleifera* 的 *MoLpaat* 替换其内源 LPAAT, 并增加了辅助因子的供应, 最终获得 NA 含量为 23.44% 菌株。

科学家在利用植物底盘生成NA的尝试主要集中在十字花科。Huai等^[52]利用拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中单拷贝的 *AtKCR*、*AtHCD* 和 *AtECR* 组合 *LaKCS*, 辅助种子特异性启动子, 在亚麻荠(*Camelina sativa*)中异源表达, 研究了所有延长酶组合的组合效应。在 *AtKCR*、*AtHCD* 以及 *AtECR* 单独结合 *LaKCS* 构成的3个双基因共表达系, 以及 *AtKCR*、*AtHCD* 和 *LaKCS* 结合三基因共表达系中, NA均没有进一步增加, 再次证明 *KCS* 基因在NA延长过程中限速酶的重要地位。Guo等^[62]将 *LaKCS* 基因转移至拟南芥以及高EA埃塞俄比亚芥(*Brassica carinata*)中表达, 结果显示转基因系NA含量较野生型分别增加30和10倍, 转基因埃塞俄比亚芥中NA含量更是高达30%。Taylor等^[66]在埃塞俄比亚芥中表达 *Cardamine graeca* 的 *KCS* 基因(*CgKCS*), 使得NA比例增加到42.2%。高的NA比例、较高的种子油含量(38%)和田间种子产量(167~200 kg/667 m²)使其成为目前所有NA种子源中表现最好的品种^[35]。

外源基因的转入可使微生物产生NA, 但难免会遇到大型生物发酵设备持续的资金投入问题; 相较微生物, 选择繁殖快、产量高的十字花科植物生产NA, 除前期开发株系需一定资本投入外, 后期应用只需根据需求调整种植面积即可。

4.2 可利用基因资源

NA天然物种蒜头果^[54,67]、文冠果^[68]、元宝枫^[69]基因组测序的完成及 *KCS* 基因家族的鉴定和分类, 为基因的选择提供了保障。目前鉴定出的拟南芥、蒜头果、文冠果、元宝枫 *KCS* 基因家族成员分别有 *FAE-like*、*KCS-like*、*FDH-like* 和 *CER* 等4个亚族。元宝枫线粒体^[70]、叶绿体^[71]基因组测序的完成, 进一步拓宽了可利用基因的范围。有学者将产油酵母、拟南芥、碎米芥和蒜头果的酰基转移酶序列进行比对, 并对酰基转移酶编码基因进行了鉴定^[54]。异源酰基转移酶在植物中表达可提高超长链脂肪酸(very long-chain fatty acids, VLCFA)在TAG中的组装效率以及含油量^[72-74]。可利用基因资源的不断丰富, 促进基因工程生产NA的进一步发展。

4.3 生产NA的植物代谢工程前景

前人已验证在植物中异源表达重组 *KCS* 能够显著改变十字花科 VLCFA 的含量。利用植物代谢工程生产NA的研究思路还可进一步拓展, 包括: 提高某种超长链脂肪酸底物含量、提高脂肪酸组装效率

以及含油量等^[75]。同时综合考虑最终NA产品所需的便捷性、经济性和可持续性, 可优选产量大、可持续、易应用的植物种子油为NA载体。借助前人改造十字花科生产NA的经验, 采取将 *KCS* 基因以及TAGs生物合成相关基因相结合的多基因策略, 进一步开发十字花科油料作物生产NA种子油有望实现既得利益最大化。以下探讨影响十字花科油料作物种子油中NA含量的主要因素。

1) *KCS* 基因的选择。*KCS* 作为NA生物合成过程中的限速酶, 具有严格的底物以及组织特异性, 决定转基因作物中NA的最终含量。元宝枫 Chr4.2307.*KCS*、Chr4.2308.*KCS*、Chr4.2311.*KCS* 在NA生成关键时期显著上调^[76]; 蒜头果Mo*KCS11*对二十碳烯具有显著底物偏好性^[77], *FAE-like* 基因Maole004215.T1在野生酵母中表达产生C22:0/C22:1和C24:0/C24:1等4种新的脂肪酸^[78]。

将不同的 *KCS* 进行组合, 构成代谢链, 调动不同底物转化成NA; 或选择底物充足的转化底盘, 提高底物转化率, 以突破单基因调控NA含量增加的有限性。值得注意的是, 目前普遍认为摄入EA过多, 会引起心脏疾病^[79-80]。转基因植物种子中EA含量与该品种的利用价值呈负相关, 增加NA的同时降低EA的含量, 也是未来改造的目标之一。

2) 提高NA的存储能力。不同十字花科油料作物含油量及NA比例均有所不同, 只有含油量超过10%且NA比例高的油料作物才具有开发利用价值^[35]。故在未来改造过程中不仅要提高NA含量还要兼顾作物含油量的提高。TAG是种子油中的主要成分, 将 *KCS* 基因与提高TAG含量的相关基因共表达, 有助于培育高价值新品种。

①促进NA积累。在经典的肯尼迪途径(Kennedy pathway)中, GPAT、LPAAT和DGAT催化G3P主链上连续的酰化反应生成TAG^[81-82]。在烟草以及马铃薯块茎中, 利用强组成型病毒启动子CaMV-35S表达 *DGAT1*, 导致TAG增加, 并且对植物生长没有显著的负面影响^[83-84]。植物内源性酰基转移酶只能将NA并入且不能同时并入TAG的sn-1或sn-3位, sn-2位通常由16C和18C脂肪酸占据^[50,61], 限制了NA在植物中的含量。Zou等^[72]在高EA油菜中表达酵母的LPAAT基因 *SLC1-1*, 将TAG sn-2位置上的芥酸酰比例提高到41%^[73]。由此推断, TAG sn-2位结合NA的能力和偏好也可以通过异源表达相关的基因来调节。Wang等^[69]将来自 *Malania*

oleifera 的 MoLPAAT 在 *Yarrowia lipolytica* 中进行表达,发现其可替换内源 LPAAT 发挥功能,并表现出对包括 NA 在内的超长链单不饱和脂肪酸的偏好性,使得转基因菌株 NA 含量增加到 17.10%。此外, Ma 等^[75]通过元宝枫的加权基因共表达网络分析验证了转录因子 MYB 以及 bZIP 在 NA 合成过程中的调控作用。

筛选 DGAT 基因增加 TAGs 含量,同时应用对 NA 具有偏好性的内源或外源 LPAAT 提高 TAGsn-1、sn-2 以及 sn-3 位点结合 NA 的能力,辅助转录因子对 NA 合成的调控,进一步设计 NA 代谢路径,能够最大限度地增加 NA 积累量。

②减少 NA 降解。在植物中合成的脂肪酸主要通过过氧化物酶体的 β -氧化途径分解代谢。Goepfert 等^[85]在利用拟南芥探究脂肪酸降解 β -氧化途径时,发现 β -氧化阻断突变体表现为 TAG 分解的减少和长链酰基 CoA 的积累。Xue 等^[86]在利用 *Y. lipolytica* 生产二十碳五烯酸(EPA)时发现,PEX10 基因突变会损伤过氧化物酶体的形态和完整性,原菌株 β -氧化途径缺陷,导致酶体对 VLCFAs 的降解能力减弱,EPA 滴度较原菌株提高 2 倍。Wang 等^[65]将该菌株 PEX10 敲除,截断脂肪酸 β -氧化降解途径,最终 NA 积累量达到亲本菌株的 29 倍。另有学者发现删除 β -氧化途径可显著增加总脂质含量^[87]。参考和拓展脂肪酸降解途径删除或截断策略,可以最大程度地减少 NA 的降解。

增加 NA 积累,减少 NA 氧化降解,提高 NA 结合效率,逐级递进式增加植物转基因品系中 NA 的含量。

3) 基因表达情况。

①特异性启动子应用。特异性启动子表达目的基因,实现目的基因在目标组织中的高活性而在其他组织中低活性,以减少潜在的负面影响。利用种子特异性启动子表达具有底物特异性的 KCS 相关基因是生产 NA 种子油的一个有效策略。种子特异性 napin 启动子、种子特异性大豆 glycinin-1 启动子以及大豆优速启动子均被验证能驱动 KCS 基因在相应受体表达,并增加 NA 的含量^[52,62,78]。

②基因拷贝数。除依托某特异性或强启动子提高基因转录表达水平外,还需考虑基因在物种内的拷贝数。Guo 等^[62]发现在转入 *LaKCS* 的转基因品系中,NA 含量与 *LaKCS* 的拷贝数呈正相关,多拷贝株系中转录物强度更高。因此在选定基因基础上增

加拷贝数,或许可以最大化提高终产物含量。

③最优基因组合。在选定目标基因的基础上,还需要考虑基因间的相互作用:相关基因结合构成的代谢链是否会产生不必要的中间产物,该产物是否对终产物的合成有负面影响,在终产物提取及利用过程中是否需要花费大量人力物力来去除,以及相关基因的表达是否影响作物自身正常生长发育。在先前的研究中,就有在拟南芥中表达 *LaKCS* 基因,产生 7.6%NA 的同时产生 13.8% 的 EA,而目前认为较高的 EA 含量可能对人体具有负面作用,例如可能引发心脏问题^[79-80]。因此,在后续的研究中应该斟酌该基因的使用或结合新的 KCS 基因将 EA 进一步利用转化为 NA。

因此,未来在转基因改造过程中,要尽可能规避以上风险问题,并最大化利用特异启动子及基因自身特性,寻找最适配基因组合,增加基因拷贝数,构成 NA 代谢链,缩减时间及资金成本。

4) 受体选择。NA 最终的得率除由 NA 比例和种子的含油量决定外,还由底盘品种的产量和抗逆性等综合指标共同决定。目前的研究主要关注提高 NA 比例,甚少考虑受体自身性状对 NA 获得的影响。

①受体农艺特性。NA 的最终产量由作物产量、含油量以及 NA 比例共同决定。我国主要的油料作物有大豆、油菜、花生、葵花籽等,NA 在这些主要栽培油料作物中含量极低或无。其中油菜是我国第一大油料作物,属于十字花科芸苔属,年播种面积 700 hm² 以上,年产油达 520 万 t,占国产植物油总量的 47%,且年产量与消费量逐年增长^[88]。油菜品种的多样性、较高的含油量、较短生长周期以及高产抗逆的农艺性状,再加上成熟的遗传转化体系可为植物代谢工程生产 NA 提供最基础、稳妥的保障^[35]。

②受体底物含量。富含 NA 的油通常混有大量 EA,考虑到 EA 对健康的影响,市场急需高 NA 低 EA 的油。EA 作为 NA 的直接前体物质,以高 EA 油菜品种为受体,有望提高合成 NA 的效率并降低 EA 含量,平衡营养和安全。但目前如何将尽可能多的 EA 转化成 NA 缺乏丰富的分子机理研究以及实验证据支持。有学者曾尝试在高 EA 甘蓝型油菜表达 Cg-KCS,但产量不容乐观,仅为 1 500 kg/hm²^[78]。另有学者在产油酵母 *Y. lipolytica* 中构建 NA 合成双通路:在植物途径的基础上,增加 C18:0 作为非植物途径的 NA 前体^[68]。今后的研究应汲取已有经验,发

挥不同油菜品种的潜在价值,促进不同脂肪酸底物转化为NA,实现营养、安全双平衡。

5)生长环境与人工选择的影响。生物体的性状受到基因以及环境的共同作用。种植的时间、地理位置、水文条件等影响种子的出苗情况;生长过程中的施肥状况、人为活动、水源灌溉周期、病虫害等影响作物的生长状况^[35];收获时期的收种方式、收种时间、收种后的储存方法等影响种系的实际收获率,最终综合影响作物的产量、含油量以及脂肪酸的含量。

在保持适宜且一致的种植模式和收种方法的同时,辅之准确的人工选择,对含有优良目标性状的种系进行选择归类,逐步优化作物的目标性状。在Guo等^[62]的研究中,表达*LaKCS*的转基因埃塞俄比亚芥经过2代筛选后,最佳NA含量达到30%,达T₁代转基因株系NA含量的2倍。逐代选择含油量及NA含量高且EA含量低、产量和抗逆性与野生型没有显著差异的目标植株,可使NA最终产量最大化。

5 结语与展望

NA及其衍生物在人体内广泛分布。作为神经纤维髓鞘的核心成分,NA具有修复受损大脑神经纤维、促进神经细胞再生的功能;作为膜结构的重要成分,NA能够调节胆固醇分布,维持体内膜平衡;作为储存脂质,NA可优先分解氧化,提供能量,支持人体生命活动。缺乏NA会导致多种疾病。NA及其衍生物的酯化形式可作为药物成分和膳食补充剂的原料,以生物递质、前药、奶粉、食用油、饮料、口服乳剂和胶囊等形式应用于日常生活和医疗保健。

我国NA目前主要有2种来源。一种是通过蒜头果、元宝枫等植物直接提取,但可利用植物生长周期长、繁殖速度慢、采集收种困难。另一种是通过基因工程改造现有物种合成NA,但以微生物为底盘生产NA,难以避免大量养殖微藻所带来的环境污染,且提纯设备和工艺复杂,需要持续的资金支持;而以植物为底盘生产NA,目前已表现出较为理想的NA产量,且在生产体系成熟后,种植面积为唯一限制因素。相较而言,植物基因工程生产NA具有更高的应用潜力。

在先前的研究中主要聚焦脂肪酸延长步骤中限速酶基因*KCS*的表达调控,忽略了NA在内的油脂合成是一个多基因协同作用的复杂的代谢过程,NA的最终得率由作物本身产量、含油量和NA比例等多因素共同决定。本文对已有研究进展进行分析

比较,将植物基因工程生产NA的改造重点放在十字花科油料作物油菜上,希望借助其成熟的研究体系,以及高产抗逆,高含油量、易遗传转化等优质农艺性状,在保障产量的基础上再根据VLCFA合成规律,采取多基因策略,组合包括调动EA在内的各底物转化为NA的*KCS*基因,负责提高含油量和将NA组装到TAG各个位置上的相关基因;同时借助种子特异性启动子,将易应用的种子油作为最终的NA载体。以期将来通过转基因技术和分子育种调控NA的生产,获得可再生的NA资源提供一定的思路和策略,让NA更好地惠及大众、造福人类。

参考文献 References

- [1] TSUJIMOTO M. On new fatty acids in shark liver oil[J]. The journal of the Society of Chemical Industry, Japan, 1925, 28(8):835-842.
- [2] MERRILL A H, SCHMELZ E M, WANG E, et al. Importance of sphingolipids and inhibitors of sphingolipid metabolism as components of animal diets[J]. The journal of nutrition, 1997, 127(5):830-833.
- [3] BATES P D, DURRETT T P, OHLROGGE J B, et al. Analysis of acyl fluxes through multiple pathways of triacylglycerol synthesis in developing soybean embryos[J]. Plant physiology, 2009, 150(1):55-72.
- [4] SINCLAIR A J, CRAWFORD M A. The incorporation of linolenic acid and docosahexaenoic acid into liver and brain lipids of developing rats[J]. FEBS letters, 1972, 26(1/2):127-129.
- [5] MARTÍNEZ M, MOUGAN I. Fatty acid composition of human brain phospholipids during normal development[J]. Journal of neurochemistry, 1998, 71(6):2528-2533.
- [6] SASSA T, KIHARA A. Metabolism of very long-chain fatty acids: genes and pathophysiology[J]. Biomolecules & therapeutics, 2014, 22(2):83-92.
- [7] POULOS A. Very long chain fatty acids in higher animals: a review[J]. Lipids, 1995, 30(1):1-14.
- [8] KIKAS P, CHALIKIAS G, TZIAKAS D. Cardiovascular implications of sphingomyelin presence in biological membranes[J]. European cardiology, 2018, 13(1):42-45.
- [9] PHUNG N V, RONG F, XIA W Y, et al. Nervonic acid and its sphingolipids: biological functions and potential food applications[J/OL]. Critical reviews in food science and nutrition, 2023, 4: 2203753 [2023-10-10]. <https://doi.org/10.1080/10408398.2023.2203753>.
- [10] GROTHEER M, ROSENKE M, WU H, et al. White matter myelination during early infancy is linked to spatial gradients and myelin content at birth[J/OL]. Nat Commun, 2022, 13(1):997 [2023-10-10]. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-28326-4>.

- [11] YU J H, YUAN T L, ZHANG X H, et al. Quantification of nervonic acid in human milk in the first 30 days of lactation: influence of lactation stages and comparison with infant formulae [J/OL]. *Nutrients*, 2019, 11 (8) : 1892 [2023-10-10]. <https://doi.org/10.3390/nu11081892>.
- [12] BATHELT J, SCERIF G, NOBRE A C, et al. Whole-brain white matter organization, intelligence, and educational attainment [J]. *Trends in neuroscience and education*, 2019, 15: 38-47.
- [13] RUBINOV M, SPORNS O. Complex network measures of brain connectivity: uses and interpretations [J]. *NeuroImage*, 2010, 52(3) : 1059-1069.
- [14] COUPLAND K, LANGLEY N A. Use of nervonic acid and long chain fatty acids for the treatment of demyelinating disorders: US5194448[P]. 1993-03-16.
- [15] MANNI M M, SOT J, ARRETXE E, et al. The fatty acids of sphingomyelins and ceramides in mammalian tissues and cultured cells: Biophysical and physiological implications [J]. *Chemistry and physics of lipids*, 2018, 217: 29-34.
- [16] LEWKOWICZ N, PIĄTEK P, NAMECIŃSKA M, et al. Naturally occurring nervonic acid ester improves myelin synthesis by human oligodendrocytes [J/OL]. *Cells*, 2019, 8(8) : 786 [2023-10-10]. <https://doi.org/10.3390/cells8080786>.
- [17] KAGEYAMA Y, DEGUCHI Y, HATTORI K, et al. Nervonic acid level in cerebrospinal fluid is a candidate biomarker for depressive and manic symptoms: a pilot study [J/OL]. *Brain and behavior*, 2021, 11(4) : e02075 [2023-10-10]. <https://doi.org/10.1002/brb3.2075>.
- [18] KAGEYAMA Y, KASAHARA T, NAKAMURA T, et al. Plasma nervonic acid is a potential biomarker for major depressive disorder: a pilot study [J]. *International journal of neuropsychopharmacology*, 2018, 21(3) : 207-215.
- [19] BLANCHARD J W, AKAY L A, DAVILA-VELDERAIN J, et al. APOE4 impairs myelination via cholesterol dysregulation in oligodendrocytes [J]. *Nature*, 2022, 611(7937) : 769-779.
- [20] HUYNH K, LIM W L F, GILES C, et al. Concordant peripheral lipidome signatures in two large clinical studies of Alzheimer's disease [J/OL]. *Nature communications*, 2020, 11: 5698 [2023-10-10]. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-19473-7>.
- [21] 胡丹东, 崔玉娟, 张继. 神经酸对帕金森病小鼠运动障碍的改善及保护作用 [J]. *中国药理学通报*, 2021, 37(11) : 1524-1529. HU D D, CUI Y J, ZHANG J. Amelioration and protection of nervonic acid on motor disorder in mice with Parkinson's disease [J]. *Chinese pharmacological bulletin*, 2021, 37(11) : 1524-1529 (in Chinese with English abstract).
- [22] GULBINS E. Regulation of death receptor signaling and apoptosis by ceramide [J]. *Pharmacological research*, 2003, 47(5) : 393-399.
- [23] SISKIND L J. Mitochondrial ceramide and the induction of apoptosis [J]. *Journal of bioenergetics and biomembranes*, 2005, 37(3) : 143-153.
- [24] YAMANE M, MORIYA S, KOKUBA H. Visualization of ceramide channels in lysosomes following endogenous palmitoyl-ceramide accumulation as an initial step in the induction of necrosis [J]. *Biochemistry and biophysics reports*, 2017, 11: 174-181.
- [25] ZHANG X W, SAKAMOTO W, CANALS D, et al. Ceramide synthase 2-C24: 1-ceramide axis limits the metastatic potential of ovarian cancer cells [J/OL]. *FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 2021, 35(2) : e21287 [2023-10-10]. <https://doi.org/10.1096/fj.202001504RR>.
- [26] WANG X Q, LIANG T Y, MAO Y, et al. Nervonic acid improves liver inflammation in a mouse model of Parkinson's disease by inhibiting proinflammatory signaling pathways and regulating metabolic pathways [J/OL]. *Phytomedicine*, 2023, 117: 154911 [2023-10-10]. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2023.154911>.
- [27] KASAI N, MIZUSHINA Y, SUGAWARA F, et al. Three-dimensional structural model analysis of the binding site of an inhibitor, nervonic acid, of both DNA polymerase beta and HIV-1 reverse transcriptase [J]. *Journal of biochemistry*, 2002, 132(5) : 819-828.
- [28] LIVINGSTONE K M, LOVEGROVE J A, GIVENS D I. The impact of substituting SFA in dairy products with MUFA or PUFA on CVD risk: evidence from human intervention studies [J]. *Nutrition research reviews*, 2012, 25(2) : 193-206.
- [29] CONSOLE L, SCALISE M, GIANREGORIO N, et al. The link between the mitochondrial fatty acid oxidation derangement and kidney injury [J/OL]. *Frontiers in physiology*, 2020, 11: 794 [2023-10-10]. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00794>.
- [30] KHAWAJA Y, SCRANO L A, BUFO S, et al. A new equation for calculating the number of ATP molecules generated from fatty acids [J]. *World journal of pharmaceutical sciences*, 2015, 4(7) : 175-185.
- [31] LEONARDINI A, LAVIOLA L, PERRINI S, et al. Cross-talk between PPAR gamma and insulin signaling and modulation of insulin sensitivity [J/OL]. *PPAR research*, 2009, 2009: 818945 [2023-10-10]. <https://doi.org/10.1155/2009/818945>.
- [32] DODOS G S, KARONIS D, ZANNIKOS F, et al. Renewable fuels and lubricants from *Lunaria annua* L [J]. *Industrial crops and products*, 2015, 75: 43-50.
- [33] 侯镜德, 袁晓悟, 胡伟, 等. 金属盐沉淀法分离神经酸 [J]. *生物技术*, 1996, 6(1) : 39-41. HOU J D, YUAN X W, HU W, et al. Separation of nervonic acid by metal salt precipitation method [J]. *Biotechnology*, 1996, 6(1) : 39-41 (in Chinese).
- [34] BAVHURE B. Fatty acid composition of *Lebrunia bushiae*

- staner and *Tephrosia vogelii* hook. f. seed oils [J]. European journal of medicinal plants, 2014, 4(7): 844-853.
- [35] LIU F, WANG P D, XIONG X J, et al. A review of nervonic acid production in plants: prospects for the genetic engineering of high nervonic acid cultivars plants [J/OL]. Frontiers in plant science, 2021, 12: 626625 [2023-10-10]. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.626625>.
- [36] 欧乞斌. 一个重要脂肪酸 *cis*-tetracos-15-enoic 的新存在: 蒜头果油 [J]. 云南植物研究, 1981, 3(2): 181-184. OU Q Z. A new presence of important fatty acid (*cis*-tetracos-15-enoic)-oil of malania oleifera Chun et Lee [J]. Acta botanica Yunnanica, 1981, 3(2): 181-184 (in Chinese with English abstract).
- [37] 王性炎, 樊金栓, 王姝清. 中国含神经酸植物开发利用研究 [J]. 中国油脂, 2006, 31(3): 69-71. WANG X Y, FAN J S, WANG S Q. Development situation and outlook of nervonic acid plants in China [J]. China oils and fats, 2006, 31(3): 69-71 (in Chinese with English abstract).
- [38] 史宣明, 陈燕, 张骊, 等. 从元宝枫油中提取神经酸并制备生物柴油的技术研究 [J]. 中国油脂, 2013, 38(2): 61-65. SHI X M, CHEN Y, ZHANG L, et al. Preparation of nervonic acid and biodiesel from *Acer truncatum* Bunge seed oil [J]. China oils and fats, 2013, 38(2): 61-65 (in Chinese with English abstract).
- [39] 马柏林, 梁淑芳, 赵德义, 等. 含神经酸植物的研究 [J]. 西北植物学报, 2004, 24(12): 2362-2365. MA B L, LIANG S F, ZHAO D Y, et al. Study on plants containing nervonic acid [J]. Acta botanica boreali-occidentalia sinica, 2004, 24(12): 2362-2365 (in Chinese with English abstract).
- [40] JART A. The fatty acid composition of various cruciferous seeds [J]. Journal of the American Oil Chemists' Society, 1978, 55(12): 873-875.
- [41] LITCHFIELD C. *Tropaeolum speciosum* seed fat: a rich source of *cis*-15-tetracosenoic and *cis*-17-hexacosenoic acids [J]. Lipids, 1970, 5(1): 144-146.
- [42] MASTEBROEK H D, MARVIN H J P. Breeding prospects of *Lunaria annua* L. [J]. Industrial crops and products, 2000, 11(2/3): 139-143.
- [43] YUAN C, LIU J H, FAN Y, et al. *Mychonastes afer* HSO-3-1 as a potential new source of biodiesel [J/OL]. Biotechnology for biofuels, 2011, 4(1): 47 [2023-10-10]. <https://doi.org/10.1186/1754-6834-4-47>.
- [44] SAADAOU I, AL GHAZAL G, BOUNNIT T, et al. Evidence of thermo and halotolerant *Nannochloris* isolate suitable for biodiesel production in Qatar Culture Collection of Cyanobacteria and Microalgae [J]. Algal research, 2016, 14: 39-47.
- [45] WASSEF M K, AMMON V, WYLLIE T D. Polar lipids of *Macrophomina phaseolina* [J]. Lipids, 1975, 10(3): 185-190.
- [46] JANTZEN E, BERDAL B P, OMLAND T. Cellular fatty acid composition of *Francisella tularensis* [J]. Journal of clinical microbiology, 1979, 10(6): 928-930.
- [47] UMEMOTO H, SAWADA K, KURATA A, et al. Fermentative production of nervonic acid by *Mortierella capitata* RD000969 [J]. Journal of oleo science, 2014, 63(7): 671-679.
- [48] CHAUDHURI S, GHOSH S, BHATTACHARYYA D K, et al. Effect of mustard meal on the production of arachidonic acid by *Mortierella elongata* SC-208 [J]. Journal of the American oil chemists' society, 1998, 75(8): 1053-1055.
- [49] FAN Y, MENG H M, HU G R, et al. Biosynthesis of nervonic acid and perspectives for its production by microalgae and other microorganisms [J]. Applied microbiology and biotechnology, 2018, 102(7): 3027-3035.
- [50] MA B, LIANG S, ZHAO D, et al. Study on plants containing nervonic acid [J]. Agricultural and food sciences, environmental science, 2004, 24: 2362-2365.
- [51] NICHOLS P D, PALMISANO A C, SMITH G A, et al. Lipids of the Antarctic Sea ice diatom *Nitzschia cylindrus* [J]. Phytochemistry, 1986, 25(7): 1649-1653.
- [52] HUAID X, ZHANG Y Y, ZHANG C Y, et al. Combinatorial effects of fatty acid elongase enzymes on nervonic acid production in *Camelina sativa* [J/OL]. PLoS One, 2015, 10(6): e0131755 [2023-10-10]. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0131755>.
- [53] YANG T Q, YU Q, XU W, et al. Transcriptome analysis reveals crucial genes involved in the biosynthesis of nervonic acid in woody *Malania oleifera* oilseeds [J/OL]. BMC plant biology, 2018, 18(1): 247 [2023-10-10]. <https://doi.org/10.1186/s12870-018-1463-6>.
- [54] FAN Y, GAO G, XUE Y, et al. Research progress on plant nervonic acid [J]. Current biotechnology, 2022, 12(5): 664-672.
- [55] JOUBÈS J, RAFFAELE S, BOURDENX B, et al. The VLCFA elongase gene family in *Arabidopsis thaliana*: phylogenetic analysis, 3D modelling and expression profiling [J]. Plant molecular biology, 2008, 67(5): 547-566.
- [56] KENNEDY E P, WEISS S B. The function of cytidine coenzymes in the biosynthesis of phospholipides [J]. The journal of biological chemistry, 1956, 222(1): 193-214.
- [57] SCARTH R, TANG J H. Modification of *Brassica* oil using conventional and transgenic approaches [J]. Crop science, 2006, 46(3): 1225-1236.
- [58] 雷泽, 付正启, 温晓江, 等. 一种神经酸的化学合成方法: CN103396304A [P]. 2013-11-20. LEI Z, FU Z Q, WEN X J, et al. Nervonic acid chemosynthesis method: CN103396304A [P]. 2013-11-20 (in Chinese).
- [59] MICHALAK I, CHOJNACKA K. Algae as production systems of bioactive compounds [J]. Engineering in life sciences, 2015, 15(2): 160-176.
- [60] YUAN C, ZHENG Y L, ZHANG W L, et al. Lipid accumulation and anti-rotifer robustness of microalgal strains isolated from Eastern China [J]. Journal of applied phycology, 2017, 29(6): 2789-2800.
- [61] FAN Y, YUAN C, JIN Y, et al. Characterization of 3-ketoac-

- yl-coA synthase in a nervonic acid producing oleaginous microalgae *Mychonastes afer*[J]. Algal research, 2018, 31: 225-231.
- [62] GUO Y M, MIETKIEWSKA E, FRANCIS T, et al. Increase in nervonic acid content in transformed yeast and transgenic plants by introduction of a *Lunaria annua* L. 3-ketoacyl-CoA synthase (KCS) gene [J]. Plant molecular biology, 2009, 69 (5): 565-575.
- [63] 夏俊杰. 高产神经酸工程菌的构建及发酵条件的优化[D]. 北京: 北京化工大学, 2020. XIA J J. Construction and optimization of fermentation conditions for high-yielding engineered nervonic acid bacteria[D]. Beijing: Beijing University of Chemical Technology, 2020 (in Chinese with English abstract).
- [64] ZHANG Y, YANG C, XIA J J, et al. Overproducing nervonic acid by synergism of fatty acid elongases in engineered *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Process biochemistry, 2022, 122: 341-346.
- [65] WANG K F, LIN L, WEI P, et al. Combining orthogonal plant and non-plant fatty acid biosynthesis pathways for efficient production of microbial oil enriched in nervonic acid in *Yarrowia lipolytica*[J/OL]. Bioresource technology, 2023, 378: 129012[2023-10-10]. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2023.129012>.
- [66] TAYLOR D C, FRANCIS T, GUO Y M, et al. Molecular cloning and characterization of a KCS gene from *Cardamine graeca* and its heterologous expression in *Brassica* oilseeds to engineer high nervonic acid oils for potential medical and industrial use[J]. Plant biotechnology journal, 2009, 7(9): 925-938.
- [67] YANG T Q, ZHANG R G, TIAN X L, et al. The chromosome-level genome assembly and genes involved in biosynthesis of nervonic acid of *Malania oleifera*[J/OL]. Scientific data, 2023, 10: 298[2023-10-10]. <https://doi.org/10.1038/s41597-023-02218-8>.
- [68] LIANG Q, LIU J N, FANG H C, et al. Genomic and transcriptomic analyses provide insights into valuable fatty acid biosynthesis and environmental adaptation of yellowhorn [J/OL]. Frontiers in plant science, 2022, 13: 991197 [2023-10-10]. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.991197>.
- [69] WANG R K, LIU P, FAN J S, et al. Comparative transcriptome analysis two genotypes of *Acer truncatum* Bunge seeds reveals candidate genes that influences seed VLCFAs accumulation[J/OL]. Scientific reports, 2018, 8: 15504[2023-10-10]. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-33999-3>.
- [70] MA Q Y, WANG Y X, LI S S, et al. Assembly and comparative analysis of the first complete mitochondrial genome of *Acer truncatum* Bunge: a woody oil-tree species producing nervonic acid[J/OL]. BMC plant biology, 2022, 22(1): 29[2023-10-10]. <https://doi.org/10.1186/s12870-021-03416-5>.
- [71] MA Q Y, WANG Y N, ZHU L, et al. Characterization of the complete chloroplast genome of *Acer truncatum* bunge (Sapindales: Aceraceae): a new woody oil tree species producing nervonic acid [J/OL]. BioMed research international, 2019, 2019: 7417239 [2023-10-10]. <https://doi.org/10.1155/2019/7417239>.
- [72] ZOU J, KATAVIC V, GIBLIN E M, et al. Modification of seed oil content and acyl composition in the Brassicaceae by expression of a yeast Sn-2 acyltransferase gene [J]. The plant cell, 1997, 9(6): 909-923.
- [73] KATAVIC V, FRIESEN W, BARTON D L, et al. Improving erucic acid content in rapeseed through biotechnology: what can the *Arabidopsis* *FAE1* and the yeast *SLC1-1* genes contribute[J]. Crop science, 2001, 41(3): 739-747.
- [74] TAYLOR D C, KATAVIC V, ZOU J T, et al. Field testing of transgenic rapeseed cv. Hero transformed with a yeast Sn-2 acyltransferase results in increased oil content, erucic acid content and seed yield [J]. Molecular breeding, 2002, 8(4): 317-322.
- [75] TAYLOR D C, SMITH M A, FOBERT P, et al. Metabolic engineering of higher plants to produce bio-industrial oils [M]//Comprehensive Biotechnology. Amsterdam: Elsevier, 2011: 67-85.
- [76] MA Q Y, SUN T L, LI S S, et al. The *Acer truncatum* genome provides insights into nervonic acid biosynthesis[J]. The Plant journal, 2020, 104(3): 662-678.
- [77] LI Z W, MA S J, SONG H, et al. A 3-ketoacyl-CoA synthase 11 (KCS11) homolog from *Malania oleifera* synthesizes nervonic acid in plants rich in 11Z-eicosenoic acid[J]. Tree physiology, 2021, 41(2): 331-342.
- [78] DAI H, ZHANG Y Y, JIN P, et al. Identification of KCS gene family and functional analysis of *FAE-like* genes from *Malania oleifera*[J]. Oil crop science, 2021, 6(1): 35-40.
- [79] HEIJENSKJÖLD L, ERNSTER L. Studies of the mode of action of erucic acid on heart metabolism[J]. Acta medica scandinavica. supplementum, 1975, 585: 75-83.
- [80] DAS S, ROSCOE T J, DELSENY M, et al. Cloning and molecular characterization of the fatty acid elongase 1 (*FAE 1*) gene from high and low erucic acid lines of *Brassica campestris* and *Brassica oleracea* [J]. Plant science, 2002, 162(2): 245-250.
- [81] WESELAKE R J, TAYLOR D C, RAHMAN M H, et al. Increasing the flow of carbon into seed oil [J]. Biotechnology advances, 2009, 27(6): 866-878.
- [82] KENNEDY E P. Biosynthesis of complex lipids [J]. J Clin Invest, 1961, 40(6): 925-932.
- [83] VANHERCKE T, EL TAHCHY A, LIU Q, et al. Metabolic engineering of biomass for high energy density: oilseed-like triacylglycerol yields from plant leaves [J]. Plant biotechnology journal, 2014, 12(2): 231-239.
- [84] LIU Q, GUO Q G, AKBAR S, et al. Genetic enhancement of oil content in potato tuber (*Solanum tuberosum* L.) through an integrated metabolic engineering strategy [J]. Plant biotechnology journal, 2017, 15(1): 56-67.
- [85] GOEPFERT S, POIRIER Y. β -Oxidation in fatty acid degra-

- ation and beyond[J]. *Current opinion in plant biology*, 2007, 10(3):245-251.
- [86] XUE Z X, SHARPE P L, HONG S P, et al. Production of omega-3 eicosapentaenoic acid by metabolic engineering of *Yarrowia lipolytica* [J]. *Nature biotechnology*, 2013, 31(8):734-740.
- [87] WANG K F, SHI T Q, WANG J P, et al. Engineering the lipid and fatty acid metabolism in *Yarrowia lipolytica* for sustainable production of high oleic oils [J]. *ACS synthetic biology*, 2022, 11(4):1542-1554.
- [88] 何平, 王会, 罗莉霞, 等. 油菜品种登记现状分析[J]. *中国种业*, 2021(8):26-29. HE P, WANG H, LUO L X, et al. Analysis on current situation of oilseed rape variety registration [J]. *China seed industry*, 2021(8):26-29 (in Chinese).

Progress on improving content of nervonic acid in seeds of cruciferous oil crops

LIU Xiaoyue, WANG Pandi, XIONG Xiaojuan, WU Gang, LIU Fang

Key Laboratory of Biology and Genetic Breeding of Oil Crops, Ministry of Agriculture and Rural Affairs/Oil Crops Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences/Plant Ecological Environment Safety Supervision and Testing Center, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Wuhan 430062, China

Abstract Nervonic acid (NA) is an ultra-long chain monounsaturated fatty acid, a core component of the myelin sheath of brain nerve fibers, with functions including repairing damaged brain nerve fibers and promoting regeneration of nerve cell. Therefore, more and more studies are focusing on NA. At present, NA mainly relies on extraction from natural species, which is difficult to meet market needs and limits its further development and application. In recent years, with the development of genetic engineering and synthetic biology, constructing NA metabolic pathways in existing species through multi-gene strategies can economically and sustainably obtain NA to meet the needs of fields such as nutrition, pharmaceuticals, and chemical industries. This article reviewed the biological functions, biological sources, and synthetic pathways of NA. The advantages and disadvantages of genetic engineering production of NA chassis were compared. The influencing factors of producing NA-rich seed oil using cruciferous oil crops as the chassis were further explored. It will provide some ideas and strategies for regulating NA production and obtaining renewable NA resources in the future through transgenic technology and molecular breeding.

Keywords nervonic acid; genetic engineering; chassis; transgene; molecular breeding; cruciferous oil crops; seed oil

(责任编辑:张志钰)