

文章编号: 1674-7054(2023)04-0357-07



油棕乙酰基酰基载体蛋白硫酯酶 *EgFATA* 基因的克隆与功能分析

金柳¹, 李萌晗¹, 郑育声², 李东栋^{1,2}

(1. 海南大学热带作物学院, 海口, 570228; 2. 海南大学三亚南繁研究院, 三亚, 572024)

摘要: 为了探索油棕(*Elaeis guineensis* Jacq.) *EgFATA* 基因的生物学功能, 解析 *EgFATA* 基因在油棕中与脂肪酸积累的对对应关系, 为进一步研究 *EgFATA* 作用机制奠定基础, 从油棕果 cDNA 中克隆得到了 *EgFATA* 基因的全长序列, 经生物信息学分析发现, *EgFATA* 编码区由 1 155 个碱基组成, 可编码 385 个氨基酸, 相对分子量为 91.89 kDa, 与海藻 *PdFATA* 亲缘关系最近。在此基础上, 构建 *EgFATA* 的病毒沉默载体并侵染油棕胚状体, RT-qPCR 结果表明, *EgFATA* 的表达量被下调 85%~90%。同时, 对基因沉默胚状体进行脂肪酸气相色谱法分析, 硬脂酸(C18:0)、油酸(C18:1)、亚油酸(C18:2)的含量均显著性降低。以上结果表明在油棕胚状体中, *EgFATA* 对 C18:0-ACP、C18:1-ACP、C18:2-ACP 的水解具有催化作用, 且对 C18:1-ACP 的催化活性最强。

关键词: 油棕; 乙酰基酰基载体蛋白硫酯酶; 油脂代谢调控

中图分类号: Q 786 **文献标志码:** A

引用格式: 金柳, 李萌晗, 郑育声, 等. 油棕乙酰基酰基载体蛋白硫酯酶 *EgFATA* 基因的克隆与功能分析[J]. 热带生物学报, 2023, 14(4): 357-363. DOI: 10.15886/j.cnki.rdsxb.2023.04.002

油棕(*Elaeis guineensis* Jacq.)又名油椰子, 为原产于热带非洲的棕榈科多年生单子叶木本植物^[1], 在中国主要分布于海南省南部、云南省西双版纳等地区, 寿命长、经济价值高, 年均单位面积产油量(CPO)高达 3.7 t·hm⁻²^[2], 是世界油料的重要来源之一。油棕果实的中果皮是重要的油脂积累组织, 主要产物为棕榈油, 棕榈油的用途广泛, 在食品加工、轻工业、机械和生物清洁能源等领域均有应用^[3-6]。棕榈油中饱和脂肪酸与不饱和脂肪酸的比例约为 1:1。新鲜油棕果肉含有约 38%~45% 的棕榈酸(C16:0), 38%~44% 的油酸(C18:1), 10%~12% 的亚油酸(C18:2)和 3%~5% 硬脂酸(C18:0), 总饱和度约为 50%。提高食用油中油酸(C18:1)等不饱和脂肪酸含量, 降低饱和脂肪酸在总油脂中的比例, 一直是油棕遗传改良的

重要目标之一。

乙酰基酰基载体蛋白硫酯酶(fatty acyl-ACP thioesterase, FAT)是一种由核基因编码的可溶性酶, 主要作用于酰基和 ACP 间的硫酯键, 水解硫酯键、释放 ACP 和游离的脂肪酸, 从而停止碳链的延长^[7-8]。目前研究的高等植物中酰基-ACP 硫酯酶根据其分解底物的特异性可分为两类^[9]: 一类是 FATA(酰基载体蛋白硫酯酶 A), 在油棕中主要用于十八碳链脂肪酸链(C18:X-ACP), 但在不同的物种中具体对应关系有较大差异; 另一类则是 FATB(酰基载体蛋白硫酯酶 B), 主要作用饱和脂酰基-ACP^[10], 对 C16:0-ACP 的催化活性最高^[11]。

病毒诱导的基因沉默(virus induced gene silencing, VIGS)利用插入了植物靶基因 cDNA 片段的病毒载体侵染植物, 进入植株的病毒在复制

收稿日期: 2022-06-03

修回日期: 2022-09-13

基金项目: 海南省重点研发项目(ZDYF2022XDNY148); 海南省自然科学基金创新团队项目(2019CXTD397)

第一作者: 金柳(1995-), 女, 海南大学热带作物学院 2019 级硕士研究生. E-mail: 374664932@qq.com

通信作者: 李东栋(1975-), 男, 博士, 教授. 研究方向: 热带棕榈作物. E-mail: lidd@hainanu.edu.cn

和转录过程中能够特异性识别与插入片段序列同源的 mRNA,使其降解从而抑制靶基因的表达^[12]。常规遗传转化验证基因功能时,常需要植物生长至 F2 代甚至 F3 代时才能展开研究,而 VIGS 体系的应用,可在较短时间内通过观察植株的表型或生理指标的变化,应用 VIGS 技术对基因的功能进行验证。VIGS 体系的应用特别适合于多年生木本植物中基因的功能鉴定^[13]。在本研究中,油棕胚状体实验材料的选择可以克服油棕遗传转化周期长的困难,加快基因功能的鉴定与研究,同时保持了油棕的物种特性。

油棕是热带重要油料作物,产油量较高且用途广泛。然而,作为食用油来说,棕榈油脂肪酸比例的改善一直是油棕的重要育种目标之一^[14-15]。其中,油棕乙酰基-ACP 硫酯酶决定了脂肪酸链的长度和饱和度,被认为对脂肪酸组分的改善有重要的价值。目前,油棕中油棕乙酰基-ACP 硫酯酶的具体功能尚不明确,沉默 *EgFATA* 基因的表达并测定基因沉默前后脂肪酸种类的变化,能够解析 *EgFATA* 的具体功能及其在脂肪酸调控中的作用。

1 材料与方法

1.1 材料 试验使用的油棕胚状体由笔者所在的实验室提供、诱导并保存。保存方式:温度 28 °C,相对湿度 65%,光照强度 400 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$,28 d 继代培养 1 次,光照 16 h,黑暗 8 h 交替培养。pTRV1、pTRV2 载体由山东农业大学李媛媛老师惠赠;pEASY-T1-Simple-Cloning Kit 试剂盒购自北京全式金公司;大肠杆菌 DH5 α 感受态细胞、农杆菌 EHA105 感受态细胞购自上海唯地生物公司。

1.2 *EgFATA* 的克隆和生物信息学分析 参照 NCBI 公布的基因序列(https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/XM_029265988.1?report=fasta),使用 Primer Premier 5 软件设计带接头的 FATA 引物(F:atgaattcATGCTGAAGGGGTACCACGTG;R:atgagctcTCATCGAACCAACTTCCTCCA),酶切位点为 *Eco*r1 和 *Spe*1,以实验室保存的油棕果 cDNA 为克隆模板,使用诺唯赞的 Phanta Max Super-Fidelity DNA Polymerase 试剂盒进行扩增,按照说明书进行操作,其中,退火温度为 57 °C,延

伸时间为 2 min。使用 Cycle-Pure Kit 试剂盒纯化 PCR 产物,将目的片段 37 °C、30 min 构建到 pEASY-T1 Simple Cloning Kit 中间载体上,用热激法转化至大肠杆菌感受态 DH5 α ,挑取单菌落进行 PCR 验证,重组载体酶切鉴定、测序均验证无误后,保藏菌种。

对 *EgFATA* (XP_010927699.1) 的蛋白序列使用 ProtParam 软件分析理化性质,使用 ProtScale 对 *EgFATA* 蛋白序列的疏水性进行预测;对 FATA 使用 TMHMM 蛋白跨膜结构区分析;使用 MEGA 7.0 对 NCBI 数据库对检索出的 *EgFATA* 的同源蛋白聚类分析,构建系统发育进化树。

1.3 *EgFATA* 的 VIGS 载体构建 以测序正确的 *EgFATA*-pEASY-Blunt 质粒为模板,于 NCBI 在线选取 *EgFATA* 200 ~ 500 bp 的特异性片段,使用 Primer Premier 5 软件设计 *EgFATA* 特异性片段的引物(F:atgaattcTTGGATGGGTCCTCGAAAGC;R:atgagctcGTGCGGCCCGATTATT),使用 Cycle-Pure Kit 试剂盒纯化 PCR 产物后,通过 Takara T4 DNA Ligase 试剂盒 22 °C、1 h 连接目的片段与线性化 pTRV2 载体,测序无误后使用冻融法转化至 EHA105 农杆菌感受态中,甘油法保藏菌种。

1.4 VIGS 侵染油棕胚状体 于含有 Kana⁺、Lif⁺ 的液体培养基(LB)中,28 °C、220 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 培养 pTRV1-EHA105、pTRV2-EHA105、pTRV2-EgFATA-EHA105 农杆菌菌种,用分光光度计调节菌液 $OD_{600}=0.5$ 。混合 pTRV1-EHA105 和 pTRV2-EHA105 菌液作为病毒空白对照,混合 pTRV1-EHA105 与 pTRV2-EgFATA-EHA105 作为实验组,离心收集农杆菌菌体后,加入 MSO 液体培养基悬浮,保持菌液 $OD_{600}=0.5$ 。使用针扎、浸泡的方式侵染油棕胚状体,浸泡 5 min 后,将胚状体放置在灭菌后的滤纸上,吸取多余菌液,之后转移至共培养固体植物培养基(WPM)中(含 20 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 AS(乙酰丁香酮)和 100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的半胱氨酸),19 °C 暗培养 2 d。无菌水清洗胚状体后将其转移到继代培养基中,在 28 °C 温度下培养。期间淘汰长势不好以及死亡的胚状体,培养 12 d 后获得成功存活下来的转基因胚状体,用于后续实验(qRT-PCR 和 FAs)分析。

1.5 胚状体 RNA 的提取和表达量分析 使用诺唯赞公司的多糖多酚植物 RNA 提取试剂盒,提取

油棕胚状体 RNA, 液氮研磨样品后, 不可再次冻融, 严格按照说明书操作。分别计算野生型、对照组(病毒组)和实验组胚状体 RNA 浓度, 保证 RNA 加入量相同, 反转录获得 cDNA。

以油棕保守基因 *Eg-β-actin* 为内参, 根据 *EgFATA* 和 *Eg-β-actin* 基因分别设计荧光定量引物(qRT-FATA-F: TATCGCCAATCTCCTCCAG; qRT-FATA-R: GTTCATCATCACCCACTTGC; qRT-actin-F: TGGAAGCTGCTGGAATCCAT; qRT-actin-R: TCCTCCACTGAGCACACGTT) 使用 TaKaRa TD600 荧光定量 PCR 仪和 2xQ3 SYBR qPCR Master Mix(22204)试剂盒进行实时荧光定量, 检测 *EgFATA* 基因在实验组和病毒对照组胚状体中的表达量, 反应体系(20 μL): 上下游引物各 0.5 μL, cDNA 1 μL, 2xQ3 SYBR qPCR Master Mix(Universal) 10 μL, ddH₂O 8 μL; PCR 反应程序为预变性 95 °C; 循环反应 95 °C 10 s, 60 °C 30 s, 40 个循环; 溶解曲线采集 95 °C 15 s, 60 °C 60 s, 95 °C 15 s, 实验中每个样品设置 3~4 个平行, 严格按照说明书操作。

1.6 VIGS 侵染后油棕胚状体中脂肪酸含量分析

实验用的枪头、Ep 管进行 121 °C、20 min 高压灭菌处理, 无水乙醇灼烧研钵与研磨棒, 冷却后于研钵中研磨等量胚状体, 油脂瓶收集样品后, 使用 $V_{\text{氯仿}}: V_{\text{甲醇}}=2:1$ 的提取液萃取 2~3 次, 收集上清液经无菌水与 0.9% NaCl 溶液漂洗后, 氮吹仪吹干获得油脂, 加入 2.5% 浓硫酸的甲醇溶液(1/1), 并加入 10 μg 的 C17 烷酸标准品, 80 °C 水浴 2 h 进行甲酯化, 氮吹仪吹干后, 加入适量正己烷溶解, 漩涡混匀后加入 2 mL 0.9% NaCl 溶液, 静置、离心后取上层正己烷有机相用于高效气相色谱分析。

2 结果与分析

2.1 *EgFATA* 的克隆与生物信息学分析 以油棕果 cDNA 为模板, PCR 方法扩增获得 *EgFATA* 基因的 CDS 区 1 155 bp, 1.2% 琼脂糖凝胶回收后, 构建 *EgFATA*-pEASY-Blunt 载体, 并对单菌落 PCR 检测, 条带大小与预期一致, 测序结果与 NCBI 公布的参考序列相同。使用 ProtParam 对 *EgFATA* 进行理化性质分析, 结果表明: *EgFATA* 的编码区由 1 155 个氨基酸的序列组成, 编码 385 个氨基酸, 相对分子量为 91.89 kDa。通过 NCBI 在线网站

的 BLAST 功能, 比对 *EgFATA*(XP_010927699.1) 蛋白的相似序列, 结果表明: *EgFATA* 与海藻 *PdFATA*(XP_008794588.1)、椰子 *CnFATA*(AZZ09172.1)、凤梨 *AcFATA*(XP_020106065.1)、香蕉 *MaFATA*(XP_009411855.1)、野蕉 *MbFATA*(THU68832.1) 有极高的同源性, 分别为 94.28%、91.13%、92.76%、89.76%、89.42%(图 1-A); 为进一步确定油棕 *EgFATA* 与其他物种间的亲缘关系, 于 NCBI 在线网站 BLAST 中继续筛选其他物种的 *FATA* 基因, 使用 MEGA 7.0 构建系统进化树, 结果表明, *EgFATA* 与海藻 *PdFATA* 蛋白相似度最高, 亲缘关系最近(图 1-B)。

2.2 *EgFATA* 的 VIGS 载体构建 设计带接头的引物, 以 *EgFATA*-pEASY-Blunt 质粒为模板, PCR 扩增方法扩增获得 *EgFATA* 基因的特异性片段 247 bp, 1.2% 琼脂糖凝胶回收后, 与经 *Ecor*1 和 *Sac*1 双酶切的 pTRV2 线性化载体连接并进行酶切鉴定(图 2), 测序结果表明, *EgFATA*-pTRV2 基因沉默载体构建成功, 使用冻融法将其转入 EHA105 农杆菌感受态中。

2.3 *EgFATA* 基因的沉默(VIGS) 分别提取基因沉默实验组、空白病毒对照组的胚状体 RNA, 反转录为 cDNA, 以 *Eg-β-actin* 为内参基因, 进行实时定量 PCR 检测, 结果显示, 与病毒对照组相比, 基因沉默实验组不同株系的 *EgFATA* 表达量均出现极显著性下调, 说明 VIGS 体系成功将不同株系中的 *EgFATA* 基因的表达量下调了 85%~90%(图 3)。

2.4 沉默胚状体中油脂含量变化 分别提取实验组、空白病毒对照组和野生型的胚状体总油脂, 经甲酯化处理后、进行高效气相色谱分析。结果表明, 与野生型和空载病毒对照相比, 沉默 *EgFATA* 基因的油棕胚状体脂肪酸含量发生变化, C18:0 和 C18:1 极显著性下降, 与 C18:0 相比, C18:1 下调的程度极显著; 除此之外, C18:2 显著性下降, 其他种类的脂肪酸未呈现显著性变化(图 4)。该结果说明, 下调 *EgFATA* 基因的表达, 抑制了油棕胚状体中十八烷基脂肪酸的合成代谢, 从而使 C18:0、C18:1、C18:2 的含量下降, 即油棕胚状体中 *EgFATA* 的催化底物为 C18:0-ACP、C18:1-ACP、C18:2-ACP, 其中对 C18:1-ACP 的偏好性更强。

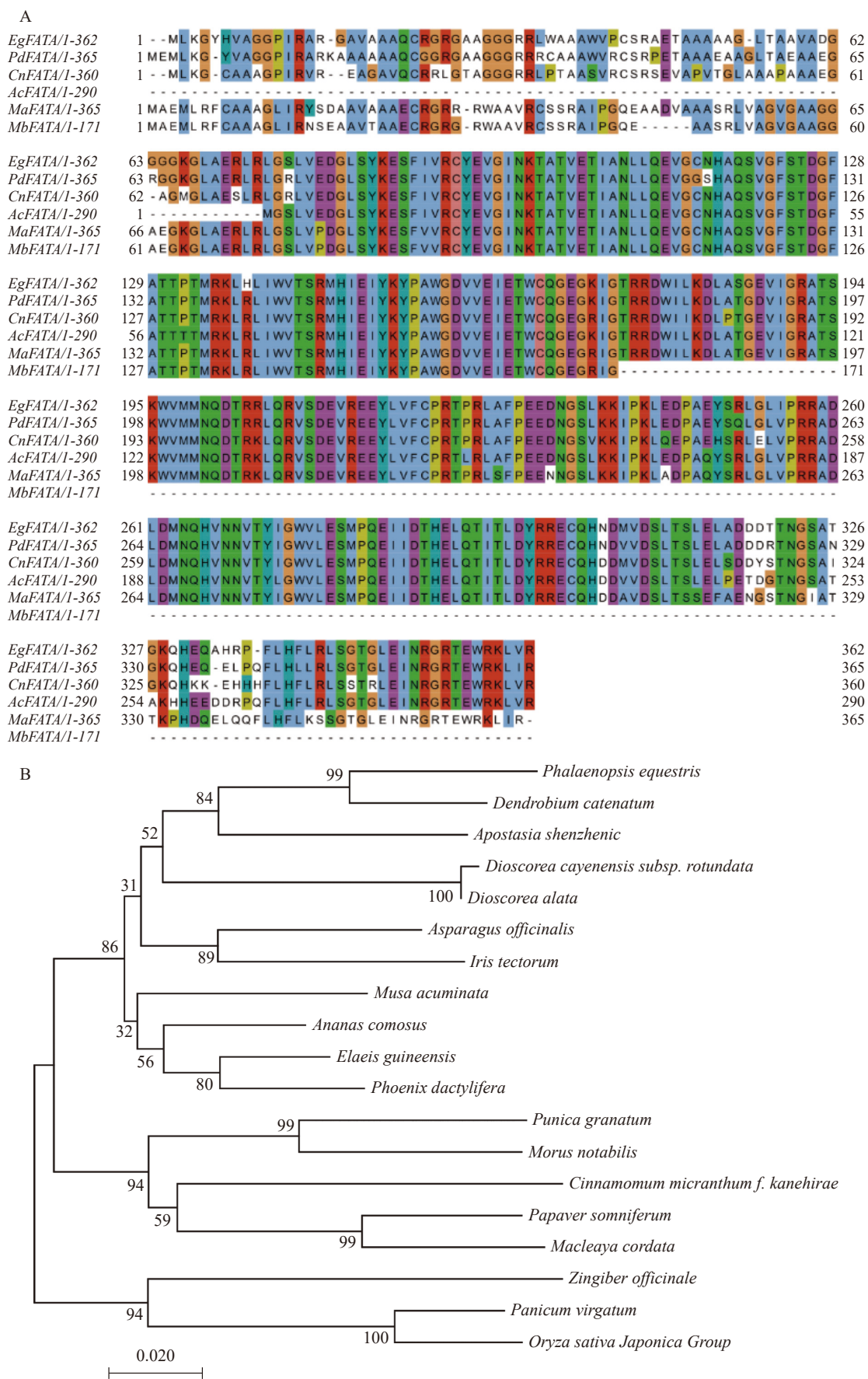


图1 EgFATA 蛋白的生物信息学分析

A: EgFATA 蛋白的多重序列比对分析 B: EgFATA 系统发育进化树。

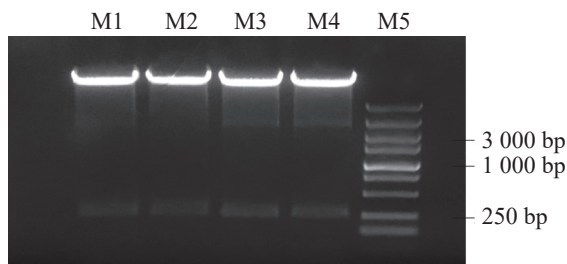


图2 *EgFATA*-pTRV2 重组质粒的酶切鉴定

注: M1~M4 为酶切后的 *EgFATA*-pTRV2 重组质粒
M5: DL5000 Marker。

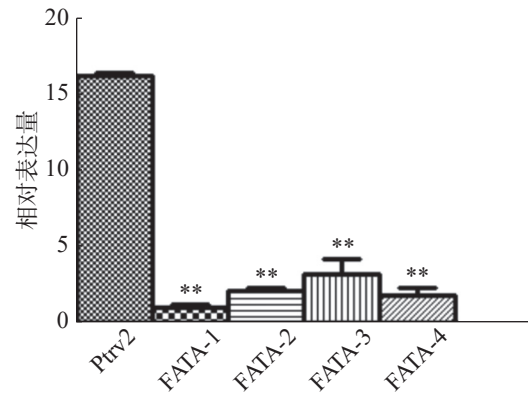


图3 油棕胚状体中实验组及病毒对照组 *EgFATA* 基因表达量的检测

注: *: $P \leq 0.05$ 为显著性差异; **: $P \leq 0.01$ 为极显著性差异。

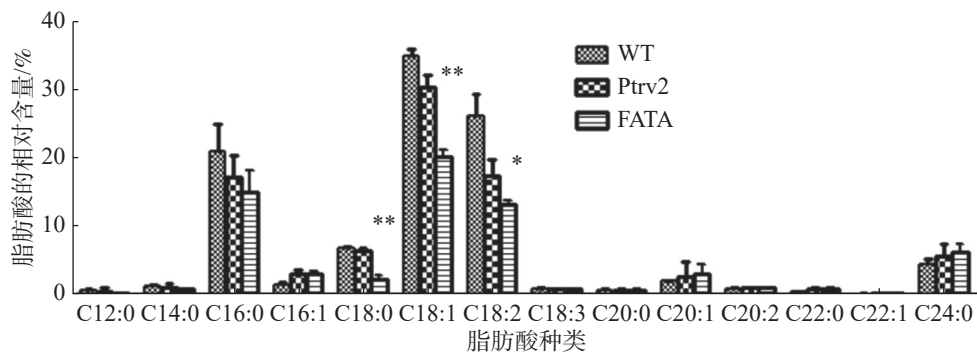


图4 *EgFATA* 基因沉默胚状体中脂肪酸相对含量的变化

WT: 野生型胚状体; pTRV2: 病毒对照组胚状体; FATA: 实验组胚状体。*: $P \leq 0.05$ 为显著性差异; **: $P \leq 0.01$ 为极显著性差异。

3 讨论

研究表明, *EgFATA* 氨基酸序列与海藻、椰子、凤梨、香蕉、野蕉同源性极高, 在 89% 以上, 说明 *FATA* 蛋白在不同物种中具有高度的保守性。系统进化树分析发现, *EgFATA* 与 *PdFATA* 亲缘关系最近, 二者在功能上可能存在相似性。对沉默 *EgFATA* 油棕胚状体进行 RT-qPCR 实验、油脂的提取与脂肪酸分析, 与野生型和空载病毒对照组胚状体比较发现, 沉默油棕胚状体中脂肪酸的种类未发生改变, 但含量发生了显著性变化, 如 C18:0、C18:1 和 C18:2 均显著性降低, 说明 *EgFATA* 表达量的下调影响了十八碳链脂肪酸 (C18:X) 的积累。

EgFATA 是影响油脂积累的重要基因, Kaczmarzyk^[16] 和 Tan 等^[17] 认为, 多数植物 *FATA* 基因功能上具有相似性, 即对 C18:X-ACP 具有催化活性, 且对 C18:1-ACP 的偏好性更高, 这与笔者的研究对象 *EgFATA* 功能相似, 下调油棕胚状体

中 *EgFATA* 基因的表达量后, C18:0 和 C18:1 分别下降 75%、90%, C18:1 下调程度更大, 与先前报道相符。然而, 文献报道显示有些植物中的 *FATA* 基因对 C18:0-ACP 催化活性更强, 如油菜中过表达山竹 *GmFATA* 基因会使转基因油菜中 C18:0 的含量显著提升约 20%^[18]。除此之外, 其他物种中 *FATA* 基因还存在不同的对应关系, Moreno-Pérez 等发现沉默拟南芥 *AtFATA* 基因后, 其种子的亚麻酸 (C18:3) 和芥酸 (C22:1) 含量显著性增加^[19]。

常见的油料作物如油菜、花生、大豆、芝麻等, 基因的功能研究均存在实验周期长、转化效率低、操作难度大、研究成本高的问题, 因此以往的研究多在拟南芥、大肠杆菌、酵母菌^[20] 等模式物种中开展, 本研究选择油棕胚状体作为实验材料, 缩短了实验周期, 并且保留物种特性, 功能研究更为便捷。与以往研究报道不同的是, 本次发现 *EgFATA* 表达量的下调对 C18:2 的积累也产生了

影响。在分析沉默 *EgFATA* 的转基因胚状体中脂肪酸的含量发现, C18:2 约被下调 51%, 脂肪酸去饱和酶 ($\Delta 12$ Fatty acid desaturase, *FAD2*) 是合成 C18:2 的重要基因, 催化 C18:1 向 C18:2 的转变^[21]。本实验中 C18:2 的下调一方面可能是由于合成底物 C18:1 的减少, 影响了 C18:2 的积累; 另一方面 *EgFATA* 可能对 C18:2-ACP 也具有催化活性, 因此 C18:2 的积累可能受到 *EgFATA* 与 *EgFAD2* 的共同调控。

油棕 *EgFATA* 功能的研究探索了 *EgFATA* 基因的生物学功能, 解析了 *EgFATA* 基因在油棕中与脂肪酸积累的对应关系, 并为进一步研究 *EgFATA* 调控油脂代谢的分子机制奠定了基础。

参考文献:

- [1] 冯美利, 曾鹏, 刘立云. 海南发展油棕概况与前景[J]. 广西热带农业, 2006(4): 37-38.
- [2] NGANDOEBONGUE G F, AJAMBANG W N, KOONA P, et al. Oil palm[M]// Technological Innovations in Major World Oil Crops, Volume 1. New York: Springer, 2012, 79(2): 165-200.
- [3] SYLVIE, WECKX, DIRK, et al. Tissue Culture of Oil Palm: Finding the Balance Between Mass Propagation and Somaclonal Variation. [J]. *Frontiers in plant science*, 2019, 10: 722.
- [4] 高尚士. 高产油料树——油棕[J]. 林业科技通讯, 1994(11): 41.
- [5] ITHNIN M, XU Y, MARJUNI M, et al. Multiple locus genome-wide association studies for important economic traits of oil palm [J]. *Tree Genetics & Genomes*, 2017, 13(5): 103.
- [6] 陈张彬. 甘蓝型油菜中 5 个脂酰-ACP 硫酯酶基因的克隆及表达分析[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2018.
- [7] 元冬娟, 吴滢, 江黎明. 高等植物的酰基-ACP 硫酯酶研究进展[J]. 中国油料作物学报, 2009, 31(1): 103-108.
- [8] 王凯. 木姜子 FATB 基因的克隆和功能分析[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2019.
- [9] SALAS J J, OHLROGGE J B. Characterization of substrate specificity of plant FatA and FatB acyl-ACP thioesterases [J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2002, 403(1): 25-34.
- [10] DONG S, LIU Y, XIONG B, et al. Transcriptomic analysis of a potential bioenergy tree, *Pistacia chinensis* Bunge, and identification of candidate genes involved in the biosynthesis of oil [J]. *BioEnergy Research*, 2016, 9(3): 740-749.
- [11] 李昊远, 郝翠翠, 潘丽娟, 等. 花生酰基载体蛋白硫酯酶 (FATB2) 基因的克隆与表达分析[J]. *花生学报*, 2017, 46(4): 7-14.
- [12] CHEN X, DUAN X, WANG S, et al. Virus-induced gene silencing (VIGS) for functional analysis of MYB80 gene involved in *Solanum lycopersicum* cold tolerance [J]. *Protoplasma*, 2019, 256(2): 409-418.
- [13] 金龙飞, 尹欣幸, 曹红星. 油棕体细胞胚胎发生的研究进展[J]. *江苏农业科学*, 2021, 49(13): 29-35.
- [14] WOITTEZ L S, VAN WIJK M T, SLINGERLAND M, et al. Yield gaps in oil palm: a quantitative review of contributing factors [J]. *European Journal of Agronomy*, 2017, 83: 57-77.
- [15] 范世航, 刘念, 华玮. 油料作物油脂合成调控研究进展[J]. *中国油料作物学报*, 2021, 43(3): 361-375.
- [16] KACZMARZYK D, HUDSON E P, FULDA M. Arabidopsis acyl-acyl carrier protein synthetase AAE15 with medium chain fatty acid specificity is functional in cyanobacteria [J]. *AMB Express*, 2016, 6(1): 7.
- [17] TAN K W M, LEE Y K. Expression of the heterologous *Dunaliella tertiolecta* fatty acyl-ACP thioesterase leads to increased lipid production in *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. *Journal of Biotechnology*, 2017, 247: 60-67.
- [18] HAWKINS D J, KRIDL J C. Characterization of acyl-ACP thioesterases of mangosteen (*Garcinia mangostana*) seed and high levels of stearate production in transgenic canola. [J]. *The Plant Journal: for Cell and Molecular Biology*, 1998, 13(6): 743-752.
- [19] MORENO-PÉREZ A J, VENEGAS-CALERÓN M, VAISTIJ F E, et al. Reduced expression of FatA thioesterases in *Arabidopsis* affects the oil content and fatty acid composition of the seeds [J]. *Planta*, 2012, 235(3): 629-639.
- [20] 郝昭程, 王腾飞, 李忠奎, 等. 拟南芥硫酯酶基因在毕赤酵母中的表达[J]. *生物工程学报*, 2015, 31(1): 115-122.
- [21] JARVIS B A, ROMSDAHL T B, MCGINN M G, et al. CRISPR/Cas9-induced *fad2* and *rod1* mutations stacked with *fae1* confer high oleic acid seed oil in pennycress (*Thlaspi arvense* L.) [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2021(12): 652319.

Cloning and functional analysis of the fatty acyl-ACP thioesterase *EgFATA* in oil palm

JIN Liu¹, LI Menghan¹, ZHENG Yusheng², LI Dongdong^{1,2}

(1. School of Tropical Crops, Hainan University, Haikou, Hainan 570228; 2. Sanya Nanfan Research Institute, Sanya, 572024, China)

Abstract: Oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) is an important tropical palm with high oil production. Fatty acyl-ACP thioesterase (FAT) is the key enzyme for hydrolysis of acyl and ACP and termination of carbon chain extension. The oil palm *FATA* family mainly acts on eighteen-carbon chain fatty acids (18: X-ACP), but the specific hydrolysis substrates and preferences are unknown. In this study, the full-length sequence of the *EgFATA* gene was first cloned from oil palm fruit. Bioinformatics analysis indicated that the *EgFATA* coding region consists of 1 155 bases and can encode 385 amino acids with a molecular weight of 91.89 kDa, and is most closely related to the alga *PdFATA*. A viral silencing vector for *EgFATA* was constructed and then infected the embryoids of oil palm, and RT-qPCR results showed that the expression of *EgFATA* was down regulated by 85%-90%. At the same time, fatty acid GC analysis of the silenced embryoids showed that the contents of stearic acid (C18:0), oleic acid (C18:1) and linoleic acid (C18:2) were significantly reduced. The aforesaid results indicated that *EgFATA* had catalytic effect on the hydrolysis of C18:0-ACP, C18:1-ACP and C18:2-ACP in the oil palm embryoids, with the highest catalytic activity observed in the hydrolysis of C18:1-ACP. This study initially explored the biological functions of *EgFATA* genes in oil palm, providing a theoretical basis for further exploration of the molecular mechanisms of *EgFATA* in regulation of lipid metabolism.

Keywords: oil palm; fatty acyl-ACP thioesterase; regulation of lipid metabolism

(责任编辑:叶 静)