

研究报告

Research Report

花生及其野生种质溶血磷脂酸酰基转移酶基因(LPAAT)的克隆及序列分析

华方静 刘凤珍* 万勇善* 张昆

山东农业大学农学院, 作物生物学国家重点实验室, 山东省作物生物学重点实验室, 泰安, 271018

* 通讯作者, liufz@sdau.edu.cn; yswan@sdau.edu.cn

摘要 溶血磷脂酸酰基转移酶(LPAAT)是植物种子油脂合成的关键酶。本研究从花生(*Arachis hypogaea* L.)栽培品种花育 32 号和 4 个花生区组二倍体野生种中克隆得到编码 LPAAT 的基因序列。从花育 32 号获得的两条 cDNA 序列 *rlpaat-1* 和 *rlpaat-2* 开放阅读框均为 1 131 bp 编码 376 个氨基酸,二者存在 11 个 SNP 差异位点,编码的氨基酸序列 LPAAT-1 和 LPAAT-2 有 1 个氨基酸残基的差异。LPAAT 蛋白具有典型的酰基转移酶功能结构域以及 4 个保守氨基酸基序。之后从花育 32 号得到两条 DNA 序列 *glpaat-1* 和 *glpaat-2* 长度分别为 3 729 bp 和 3 736 bp,均由 12 个外显子和 11 个内含子组成,二者共存在 37 处碱基差异,其中 34 处为 SNP 位点。4 个花生区组二倍体野生种各获得一条 LPAAT 序列 *A. correntina*, *A. duranensis*, *A. batizocoi* 和 *A. ipaensis* LPAAT 的序列长度分别为 3 757 bp、3 757 bp、3 742 bp 和 3 756 bp。核苷酸序列多态性和系统进化树分析表明,栽培品种 LPAAT 的两条序列 *glpaat-2* 与 *glpaat-1* 分别来自 A、B 染色体组。

关键词 花生, 溶血磷脂酸酰基转移酶, 基因克隆, 序列分析

Cloning and Sequence Analysis of a Lysophosphatidic Acid Acyltransferase Gene (LPAAT) in *Arachis hypogaea* L. and Wild Diploid Species

Hua Fangjing Liu Fengzhen* Wan Yongshan* Zhang Kun

State Key Laboratory of Crop Biology, Shandong Key Laboratory of Crop Biology, Agronomy College of Shandong Agricultural University, Tai'an, 271018

* Corresponding authors, liufz@sdau.edu.cn; yswan@sdau.edu.cn

DOI: 10.13271/j.mpb.012.000074

Abstract Lysophosphatidic acid acyltransferase (LPAAT) is a pivotal enzyme responsible for the acylation of lysophosphatidic acid (LPA) into phosphatidic acid (PA). In this study, we obtained the sequences of its encoding gene LPAAT from one cultivated variety and four wild diploid species. Two cDNA sequences *rlpaat-1* and *rlpaat-2* were isolated from Huayu32 and they both had an ORF (open reading frame) of 1 131 bp which encodes a putative protein of 376 amino acid residues. There were 11 different SNP (single nucleotide polymorphism) sites within *rlpaat-1* and *rlpaat-2*, leading to one amino acid difference in the corresponding amino acid sequences LPAAT-1 and LPAAT-2. LPAAT protein comprised a conserved acyltransferase domain and four conserved motifs that existed in the whole acyltransferase family. Then DNA sequences were cloned from Huayu32 and four wild species. The length of *glpaat-1* and *glpaat-2* obtained from Huayu32 were 3 729 bp and 3 736 bp, respectively. Sequence alignment revealed that between *glpaat-1* and *glpaat-2*, there were 37 different sites in total, of which 34 were SNP sites. But they both had 12 exons and 11 introns. One sequence was obtained from each wild

收稿日期 2013-04-12

接受日期 2013-05-21

网络出版日期 2013-06-13

URL: <http://5th.sophiapublisher.com/abstract-1586-mpbopa>

基金项目 本研究由山东省花生良种产业化工程项目、山东省现代农业产业技术体系花生创新团队建设项目、国家现代农业产业技术体系建设专项资金项目(CARS-14)、十二五农村领域国家科技计划项目(2011BAD35B04)和国家自然科学基金项目(31271757)共同资助

species, for *A. correntina*, *A. duranensis*, *A. batizocoi*, *A. ipaensis*, the sequence length of *LPAAT* was 3 757 bp, 3 757 bp, 3 742 bp and 3 756 bp, respectively. Nucleotide polymorphism analysis and phylogenetic analysis indicated that *glpaat-1* and *glpaat-2* came from different genomes.

Keywords *Arachis*, Lysophosphatidic acid acyltransferase, Gene cloning, Sequence analysis

植物油脂的主要成分甘油三脂肪酸酯, 又称三酰甘油(triacylglycerol, TAG), 是在内质网中 3 种酰基转移酶的作用下, 游离脂肪酸逐步加在甘油 -3-磷酸的骨架上而形成的(Cao et al., 2006; Baral et al., 2012)。该过程中的 3 种酰基转移酶分别为甘油 -3-磷酸酰基转移酶(GPAT)、溶血磷脂酸酰基转移酶(LPAAT)和二酰甘油酰基转移酶(DGAT)。其中, LPAAT 催化脂肪酸酰基从脂酰 -CoA 加到溶血磷脂酸的 *sn*-2 位, 产物磷脂酸(PA)可用于继续合成 TAG, 也可用于合成其它磷脂类物质(Weselake et al., 2009)。

目前对 LPAAT 编码基因的报道多见于拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)和油菜(*Brassica napus*) *AtLPAAT1* 是拟南芥中唯一编码质体型 LPAAT 的基因, 由 7 个外显子组成, 编码 356 个氨基酸(Kim and Huang, 2004)。而在油菜中, *BnLPAAT1* 编码 344 个氨基酸且存在多个拷贝, 但 *AtLPAAT1* 和 *BnLPAAT1* 蛋白转运肽的位置、跨膜结构域数以及 2 个保守基序(NHX4D 和 EGT)均分别相同; 拟南芥 *AtLPAAT2* 和 *AtLPAAT3* 蛋白分别编码 377 和 390 个氨基酸, 它们 4 个跨膜结构域和 2 个保守基序的位置分别相似; 与 *AtLPAAT2* 相比, 油菜 *BnLPAAT2* 的 3 个跨膜区域以及 2 个保守基序的位置与前者相似, 但较其缺少一个跨膜结构域, *BnLPAAT3* 蛋白尚未见报道; *AtLPAAT4* 和 *AtLPAAT5* 分别编码 376 和 379 个氨基酸, 二者 3 个跨膜结构域和 2 个保守基序的位置也分别相似(Kim and Huang, 2004)。这些研究结果表明 LPAAT 具有类型多样性的特点, 也为花生 LPAAT 基因的研究提供了参考。

大量研究表明 LPAAT 具有很强的底物选择性, 即 TAG *sn*-2 位的酰基类型受到该酶底物选择性的高度限制(Bemerth and Frentzen, 1990; Zhu et al., 2009; Arroyo-Caro, 2013)。Zou 等(1997)研究认为酵母的 SLC1 基因编码具 LPAAT 活性的蛋白质, 其突变基因 *slc1-1* 的编码产物对长链脂肪酸有更大的偏好性, 将突变基因转入油菜和拟南芥后发现 TAG 的 *sn*-2 位置上超长链脂肪酸增加而且种子中总脂肪酸的含量升高了 8%~48%, 这一结果为利用基因工程创造特高脂肪酸含量的新型油料植物提供了依据。Kim 和 Huang (2004) 研究表明, *AtLPAAT1* 对 16:0-CoA

比 18:1-CoA 有更大偏好性, 具有典型的原核途径脂类合成特征。Bourgis 等(1999)认为胞质 LPAAT 对亚麻酸的偏好性大于油酸, 不接受 C16 和 C18 的饱和酰基群。

Maisonneuve 等(2010)研究认为拟南芥基因组中的 *LPAAT* 至少有 9 个(Roscoe, 2005; 陈四龙等, 2012), 可分为 3 类: *AtLPAAT2*、*AtLPAAT3*、*AtLPAAT6* 和 *AtLPAAT7* 为第一类, 主要参与真核途径甘油脂类的合成; *AtLPAAT1*、*AtLPAAT5* 和 *AtLPAAT8* 为第二类, 参与原核途径质体中脂类的合成; *AtLPAAT4*、*AtLPAAT9* 和 *AtLPAAT10* 为第三类, 功能尚未知。这些基因分布于拟南芥基因组的 5 条染色体上, 并不成簇存在(Maisonneuve et al., 2003)。

在花生中, 陈四龙等(2012)已获得 LPAAT 基因家族的 2 个成员——LPAAT 和 LPAAT4 (Chen et al., 2012)。LPAAT 为内质网型蛋白, 其表达无组织特异性, 基因表达量与花生种子含油量积累速率变化趋势一致(陈四龙等, 2012); LPAAT4 为胞质结合蛋白, 在除花之外的多个组织中均有表达(Chen et al., 2012)。中山大学刘琛(2010)通过设计简并引物克隆到花生中编码 LPAAT 的基因, RT-PCR 和 qRT-PCR 结果表明该基因在花生各组织中均有表达; 洋葱瞬时表达体系表明该 LPAAT 蛋白定位于质膜上; 温度敏感 LPAAT 缺陷型大肠杆菌 JC201 温度互补实验证明该基因不是质体型 LPAAT。在此基础上, 本研究参考他的引物序列, 从花生栽培品种(*Arachis hypogaea* L., 染色体组为 AABB)和二倍体野生种(wild diploid species, 染色体组为 AA 或 BB) 中克隆得到 *LPAAT*, 对栽培种与野生种间 *LPAAT* 的基因序列多态性进行了分析, 并探讨了花生栽培种染色体组的起源进化关系。

1 结果与分析

1.1 LPAAT 的克隆

以花生栽培品种花育 32 号的种子 cDNA 为模板进行 PCR 扩增, 获得约 1.2 Kb 的电泳条带, 与预期大小相符, 将目的条带回收、测序。测序结果为两条序列, 分别命名为 *rlpaat-1* 和 *rlpaat-2*, 所推导

的氨基酸序列命名为 LPAAT-1 和 LPAAT-2。软件分析显示 *rlpaat-1* 和 *rlpaat-2* 开放阅读框长度均为 1 131 bp, 编码 376 个氨基酸, 这两条序列间存在 11 个 SNP (单核苷酸多态性) 位点的差异。将这两条序列与刘琛在栽培品种汕油 523 中获得的 cDNA 序列 (命名为 *syrlpaat*) (刘琛, 2010) 进行比对, 发现 *rlpaat-1* 与之存在 4 个 SNP 位点的差异, *rlpaat-2* 与之存在 15 个 SNP 位点的差异 (表 1) 即 *rlpaat-1* 与 *syrlpaat* 的同源性更高。

以花育 32 号和 4 个野生种的叶片 DNA 为模板进行 PCR 扩增, 各获得约 3.5 kb 的电泳条带, 将产物回收、测序。结果显示从花育 32 号中得到两条序列, 长度分别为 3 729 bp 和 3 736 bp, 分别命名为 *glpaat-1* 和 *glpaat-2*。4 个野生种各获得 1 条序列 *A. correntina*、*A. duranensis*、*A. batizocoi* 和 *A. ipaensis* LPAAT 的基因序列长度依次为 3 757 bp、3 757 bp、3 742 bp 和 3 756 bp, 分别命名为 *Acorlpaat*、*Adurlpaat*、*Abatlpaaat* 和 *Aipalpaat*。基因结构分析表明 *glpaat-1* 和 *glpaat-2* 均由 12 个外显子和 11 个内含子组成 (图 1), 二者共存在 37 处碱基差异, 其中 34 处为 SNP 位点 (图 2 显示了部分 SNP 差异位点) (表 2), 二者核苷酸序列一致性为 98.80%。A 组 2 个野生种 *A. correntina* 和 *A. duranensis* LPAAT 的序列一致性为 99.87%, B 组 2 个品种 *A. batizocoi* 和 *A. ipaensis* LPAAT 的序列一致性为 95.91%。*glpaat-2* 与 *Acorlpaat*、*Adurlpaat*、*Abatlpaaat* 和 *Aipalpaat* 的一致性分别为 97.06%、96.98%、96.69% 和 95.50%, 即 *glpaat-2* 与

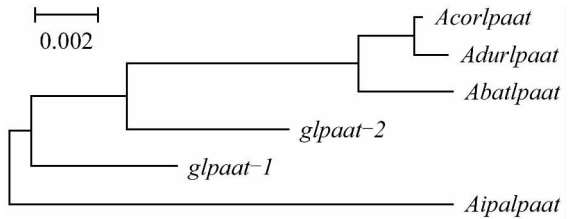


图 2 *AhLPAAT* 核苷酸序列的系统进化树
Figure 2 Phylogenetic tree based on the nucleotide sequences of *AhLPAAT* from the cultivated allotetraploid peanut and wild diploid species

A 组 2 个野生种 LPAAT 基因序列的同源性高于 B 组的, *glpaat-1* 与 4 个野生种 LPAAT 序列的一致性分别为 96.61%、96.53%、96.24% 和 96.36%, 在不同染色体组间无明显差别。

1.2 LPAAT 蛋白的生物信息学分析

蛋白质二级结构预测表明 LPAAT-1 和 LPAAT-2 均含有 47.34% 的 α -螺旋、15.69% 的延伸链、2.66% 的 β 转角和 34.31% 的不规则卷曲。LPAAT-1 的理论分子量 MW (molecular weight) 为 43.36 kD, 等电点 pI (isoelectric point) 为 9.13, 平均亲水系数 GRAVY (grand average of hydropathicity) 为 -0.170; LPAAT-2 的 MW 为 43.39 kD、pI 为 9.13, GRAVY 为 -0.173。将 LPAAT 蛋白载入 NCBI CDD 数据库, 显示氨基酸序列 V152-K274 为典型的酰基转移酶功能结构域, 在该区域内还含有 4 个高度保守的氨基酸基序, 其中基序 (VANHTSMIDF) 即 NH(X4)D

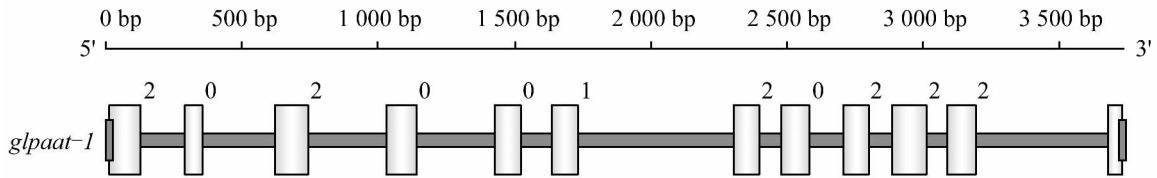


图 1 LPAAT 的基因结构图

注: 方框代表外显子部分; 细线代表内含子部分; 数字代表内含子相位

Figure 1 Gene structure of LPAAT

Note: The boxes indicate exons; The lines indicate introns; The numbers indicate intron phases

表 1 本研究所得序列与参考序列外显子部分的碱基差异 (刘琛, 2010)

Table 1 SNP difference in exons between the reference sequence and sequences obtained in this study (Liu, 2010)

基因序列 Sequence	碱基位置 Base position															
	62	214	310	342	358	381	402	405	418	558	825	960	1011	1065	1098	
<i>Syrlpaat</i>	C	A	T	C	C	G	A	G	G	C	T	A	T	G	G	
<i>rlpaat-1</i>	C	C	C	C	C	G	A	G	A	T	T	A	T	G	G	
<i>rlpaat-2</i>	A	C	C	A	T	A	G	A	A	T	C	G	C	A	C	

表 2 花生栽培品种与二倍体野生种 LPAAT 的 SNP 差异位点
Table 2 The main SNP differences of LPAAT between cultivated varieties and wild diploid species

<i>glpaat-1</i>	<i>glpaat-2</i>	<i>Aipalpaat</i>	<i>Abatlpaaat</i>	<i>Acorlpaaat</i>	<i>Adurlpaat</i>
132C	132G	132C	132C	132C	132C
455G	464A	455G	460G	460G	460G
498T	507C	498T	503T	503T	503T
512T	521C	512T	517T	517T	517T
796C	805C	796G	801G	801G	801G
812G	821G	817A	817A	817A	817A
817A	826A	817G	822G	822G	822G
-	-	861T	866T	866T	866T
1077C	1086A	1078C	1083C	1083C	1083C
1116G	1125A	1117G	1122G	1122G	1122G
1166A	1175A	1167C	1172C	1172C	1172C
1584A	1593G	1585A	1590A	1590A	1590A
1784T	1791T	1775C	1780C	1780C	1780C
1790C	1797C	1781G	1786G	1786G	1786G
1818A	1825A	1820G	1825G	1825G	1825G
-	-	2714T	2721T	2728T	2728T
3171G	3178A	3183G	3188G	3200G	3200G
3281G	3288G	3295A	3298A	3300A	3300A
-	-	3316A	3319A	3307A	3307A
3312T	3319T	3327G	3330G	3342G	3342G
3392A	3398A	3406G	3409G	3421G	3421G
3396G	3402G	3410A	3413A	3425A	3425A
3497G	3504G	3512C	3509C	3521C	3521C
3528C	3535C	3543A	3540A	3552A	3552A
-	-	3599G	3602G	3614G	3614G
3590G	3597G	3603A	3606A	3618A	3618A
3597A	3604A	3610T	3613T	3625T	3625T
-	-	-	3644A	-	-
3677T	3684T	3690G	3694G	3705G	3705G

基序中的天冬氨酸和组氨酸、基序 (IFPEGT)中的甘氨酸以及基序 (VCPVAI)中的脯氨酸是重要的酰基转移酶催化活性中心;基序 (IWFNR)中的苯丙氨酸和精氨酸及基序 中的谷氨酸是甘油 -3- 磷酸底物结合的重要位点(Lewin et al., 1999; Gidda et al., 2009)。跨膜结构预测表明该蛋白序列 P74-L96、F100-L122 和 S135-V152 为 3 个跨膜区域。亚细胞定位预测表明 LPAAT 蛋白定位于质膜的可信度为 6.0,内质网为 5.0,细胞质为 2.0。

氨基酸序列比对分析表明,LPAAT-1 与 LPAAT-2 有 1 个氨基酸残基的差异,同源性高达 99.73%,与所参考序列有 2 个氨基酸残基的差异,同源性达 99.47%;与蓖麻(*Ricinus communis*) (Genbank 登录号: ACB30546)和拟南芥(Genbank 登录号: AAP04020)

氨基酸序列同源性分别为 86.97%和 84.88%。

1.3 栽培种与野生种 LPAAT 核苷酸序列的系统进化分析

进化树表明,4 个野生种中 A 组的两个野生种 *A. correntina* 和 *A. duranensis* 关系最近,而 B 组的 *A. ipaensis* 与来自 A 组的 2 个品种以及同来自 B 组的 *A. batizocoi* 相距较远;*A. ipaensis* 与栽培种的亲缘关系最近,*A. correntina* 和 *A. duranensis* 与栽培种的亲缘关系相似(图 2)。

2 讨论

从花生栽培品种中克隆得到 LPAAT 的 2 条 cDNA 序列和 2 条 DNA 序列,本研究所得的 *rlpaat-1* 序列与刘琛(2010)在汕油 523 中得到的 cDNA 序列同源性较高,而另一序列 *rlpaat-2* 与之同源性稍低,推测 *rlpaat-1* 和 *rlpaat-2* 来自不同染色体组,同时也验证了花生栽培种的遗传基础狭窄,多态性水平低这一说法(Milla et al., 2005)。两 DNA 序列中所有内含子的剪切方式均符合经典的 GT-AG 规则,两条序列之间的差异位点多位于内含子部分且由碱基的重复或缺失所导致突变的比例较大,说明内含子部分发生碱基突变的频率远高于外显子部分。

一般认为花生栽培种是由 2 个具有不同染色体组的二倍体野生种通过自然杂交然后一次性加倍进化而来的,不同的花生栽培品种很可能具有相同的二倍体野生种祖先,很多研究者认为 *A. duranensis* 和 *A. ipaensis* 最可能是栽培种的祖先(Jung et al., 2003; Moretzsohn et al., 2004; Seijo et al., 2007)。本课题组通过研究 2- 甲基 -6- 植基 -1,4- 苯醌甲基转移酶基因 *VTE3* (郭安强等, 2012)和 Δ^9 - 硬脂酰 -ACP 脱氢酶基因 *SAD* 的起源进化,也得出了相同的结论(东金玉等, 2012)。在本研究中,核苷酸序列比对和系统进化树分析结果表明,花生栽培种 LPAAT 的两条序列 *glpaat-2* 与 *glpaat-1* 分别来自 A、B 染色体组(Smartt et al., 1978),B 组野生种 *A. ipaensis* 与栽培花生的亲缘关系最近,而 A 组的 *A. correntina* 和 *A. duranensis* 与栽培花生的亲缘关系相近。

LPAAT 是酰基转移酶家族的成员之一,该酶呈现出底物特异性与类型多样性的双重特点(Brown et al., 2002),本研究所得的 LPAAT 蛋白与拟南芥 LPAAT2-5 蛋白的氨基酸序列同源性仅 10.63%~14.58%,与花生中 2 个已发表基因的氨基酸序列同源性也只有 11%左右,说明 LPAAT 在进化过程中的

多样性特点。

3 材料与方法

3.1 试验材料

3.1.1 植物材料

花生栽培品种花育 32 号由山东省花生研究所选育 4 个花生区组二倍体野生种材料 *A. correntina*、*A. duranensis*、*A. batizocoi* 和 *A. ipaensis* 由中国农业科学院油料作物研究所姜慧芳研究员提供。

3.1.2 试剂

TIANGel 胶回收试剂盒、RNAPrep Pure 植物总 RNA 提取试剂盒购自北京天根生化科技有限公司；TransScript First-Strand cDNA Synthesis SuperMix，pEASY-T1 Cloning Kit 及大肠杆菌感受态细胞 Trans I-T1 购自北京全式金生物技术有限公司；其他试剂均为进口或国产分析纯；引物由上海生工生物工程股份有限公司合成；测序工作由北京六合华大基因科技有限公司完成。

3.2 试验方法

3.2.1 叶片基因组 DNA 和种子总 RNA 提取及 cDNA 合成

采用 CTAB 法提取花生幼嫩叶片的基因组 DNA，按照植物总 RNA 提取试剂盒的说明书提取花生种子总 RNA，根据 cDNA 反转录试剂盒的说明合成 cDNA。

3.2.2 LPAAT 全长 cDNA 序列和 DNA 序列的克隆

参考中山大学刘琛(2010)的引物序列 F 5'-AT-GACTACCACTGGGCACTCAAG-3'，R 5'-TCATT TTTCTCCAAACGCCGTAGC-3'。以花育 32 号的种子 cDNA 为模板，PCR 扩增条件为：95℃ 预变性 5 min，95℃ 30 s，55℃ 30 s，72℃ 1 min 10 s，35 个循环，72℃ 后延伸 10 min。以花育 32 号和 4 个野生种的叶片 DNA 为模板，PCR 扩增条件为：95℃ 预变性 5 min，95℃ 30 s，55℃ 30 s，72℃ 4 min，35 个循环；72℃ 后延伸 10 min。

3.2.3 PCR 产物的回收、测序

PCR 产物的胶回收、连接和测序等方法参照文献(东金玉等, 2012)。由于花生栽培种属异源四倍体，测序结果可能是 2 条序列，因此花育 32 号至少送 6 个单克隆用于测序，以保证每条序列 3 个重复，每个野生种品种至少送 3 个单克隆。

3.2.4 序列生物信息学分析

利用 NCBI 和 DNAMAN 软件分析核苷酸序列及其推导的氨基酸序列同源性，采用 MEGA5.0 软件的 Neighbor-Joining 算法构建系统进化树，Bootstrap 检验，并重复 1 000 次。基因结构作图：GSDS (<http://gsds.cbi.pku.edu.cn/index.php/>)；蛋白质二级结构分析软件：SOPMA (http://npsa-pbil.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=/NPSA/npsa_sopma.html/)；蛋白跨膜结构预测：TMHMM (<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/>)；氨基酸基本理化性质：ProtParam (<http://www.expasy.ch/tools/protparam.html/>)；蛋白质保守结构域：NCBI CDD 数据库 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi/>)；蛋白质的亚细胞定位：WoLF PSORT (<http://psort.hgc.jp/form.html/>)。

作者贡献

华方静是本研究的实验设计和实验研究的执行人，完成数据分析，论文初稿的写作；张昆完成试验材料的种植；刘凤珍和万勇善是项目的构思者及负责人，指导试验设计，数据分析，论文写作与修改。全体作者都阅读并同意最终的文本。

致谢

本研究由山东省花生良种产业化工程项目、山东省现代农业产业技术体系花生创新团队建设项目、国家现代农业产业技术体系建设专项资金项目(CARS-14)、十二五农村领域国家科技计划项目(2011BAD35B04)和国家自然科学基金项目(31271757)共同资助。

参考文献

- Arroyo-Caro J.M., Chileh T., Kazachkov M., Zou J.T., Alonso D. L., and García-Maroto F., 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
- Baral M., Misra N., Panda P.K., and Thirunavoukkarasu M., 2012, *In silico* structural determination of GPAT enzyme from *Ostreococcus Lucimarinus* for biotechnological application of microalgal biofuel production, *Biotechnol. Biotech. Eq.*, 26(1): 2794-2800
- Bemerth R., and Frentzen M., 1990, Utilization of erucoyl-CoA by acyltransferases from developing seeds of *Brassica napus*

- (L.) involved in triacylglycerol biosynthesis, *Plant Sci.*, 67(1): 21-28
- Bourgis F., Kader J.C., Barret P., Renard M., Robinson D., Robinson C., Delseny M., and Roscoe T.J., 1999, Plastidial lysophosphatidic acid acyltransferase from oilseed rape, *Plant Physiol.*, 120(3): 913-921
- Brown A.P., Slabas A.R., and Denton H., 2002, Substrate selectivity of plant and microbial lysophosphatidic acid acyltransferases, *Phytochemistry*, 61(5): 493-501
- Cao J.S., Li J.L., Li D.M., Tobin J.F., and Gimeno R.E., 2006, Molecular identification of microsomal acyl-CoA: glycerol-3-phosphate acyltransferase, a key enzyme in de novo triacylglycerol synthesis, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103(52): 19695-19700
- Chen S.L., Huang J.Q., Lei Y., Ren X.P., Wen Q.G., Chen Y.N., Jiang H.F., Yan L.Y., and Liao B.S., 2012, Cloning and expression analysis of lysophosphatidic acid acyltransferase (LPAT) encoding gene in peanut, *Zuowu Xuebao (Acta Agronomica Sinica)*, 38(2): 245-255 (陈四龙, 黄家权, 雷永, 任小平, 文奇根, 陈玉宁, 姜慧芳, 晏立英, 廖伯寿, 2012, 花生溶血磷脂酸酰基转移酶基因的克隆与表达分析, *作物学报*, 38(2): 245-255)
- Chen S.L., Huang J.Q., Lei Y., Zhang Y.T., Ren X.P., Chen Y.N., Jiang H.F., Yan L.Y., Li Y.R., and Liao B.S., 2012, Identification and characterization of a gene encoding a putative lysophosphatidyl acyltransferase from *Arachis hypogaea*, *J. Biosci.*, 37(1): 1029-1039
- Dong J.Y., Wan Y.S., and Liu F.Z., 2012, Sequence analysis of Δ^9 -Stearoyl-ACP desaturase gene (*SAD*) in peanut, *Zuowu Xuebao (Acta Agronomica Sinica)*, 38(7): 1167-1177 (东金玉, 万勇善, 刘凤珍, 2012, 花生 Δ^9 -硬脂酰-ACP脱氢酶基因(*SAD*)的序列分析, *作物学报*, 38(7): 1167-1177)
- Gidda S.K., Shockey J.M., Rothstein S.J., Dyer J.M., and Mullen R.T., 2009, *Arabidopsis thaliana* GPAT8 and GPAT9 are localized to the ER and possess distinct ER retrieval signals: Functional divergence of the dilysine ER retrieval motif in plant cells, *Plant Physiol. Biochem.*, 47(10): 867-879
- Guo A.Q., Wan Y.S., and Liu F.Z., 2012, Cloning and polymorphism analysis of 2-methyl-6-phytyl-1,4-benzoquinol methyltransferase gene (*VTE3*) in *Arachis*, *Zhongguo Nongye Kexue (Scientia Agricultura Sinica)*, 45(9): 1685-1695 (郭安强, 万勇善, 刘凤珍, 2012, 花生 2-甲基-6-植基-1,4-苯醌甲基转移酶基因 *VTE3* 的克隆及多态性分析, *中国农业科学*, 45(9): 1685-1695)
- Jung S., Tate P.L., Horn R., Kochert G., Moore K., and Abbott A.G., 2003, The phylogenetic relationship of possible progenitors of the cultivated peanut, *J. Hered.*, 94(4): 334-340
- Kim H.U., and Huang A.H., 2004, Plastid lysophosphatidyl acyltransferase is essential for embryo development in *Arabidopsis*, *Plant Physiol.*, 134(3): 1206-1216
- Lewin T.M., Wang P., and Coleman R.A., 1999, Analysis of amino acid motifs diagnostic for the sn-glycerol-3-phosphate acyltransferase reaction, *Biochemistry*, 38(18): 5764-5771
- Liu C., 2010, Gene clone and function analysis of a peanut lysophosphatidic acid acyltransferase, Thesis for M.S., Sun Yat-Sen University, Supervisor: Huang S.Z., pp.22-84 (刘琛, 2010, 花生溶血磷脂酸酰基转移酶基因的克隆和功能初步研究, 硕士学位论文, 中山大学, 导师: 黄上志, pp.22-84)
- Maisonneuve S., Bessoule J.J., Lessire R., Delseny M., and Roscoe T.J., 2010, Expression of rapeseed microsomal lysophosphatidic acid acyltransferase isozymes enhances seed oil content in *Arabidopsis*, *Plant Physiol.*, 152(2): 670-684
- Maisonneuve S., Guyot R., Delseny M., and Roscoe T., 2003, A multigene family of lysophosphatidic acid transferases of *Arabidopsis thaliana*, In: Murata N., Yamada M., Nishida I., Okuyama H., Sekiya J., and Hajime W. (eds.), *Advanced research on plant lipids*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands, pp.183-186
- Milla S.R., Isleib T.G., and Stalker H.T., 2005, Taxonomic relationships among *Arachis* sect. *Arachis* species as revealed by AFLP markers, *Genome*, 48(1): 1-11
- Moretzsohn M.C., Hopkins M.S., Mitchell S.E., Kresovich S., Valls J.F.M., and Ferreira M.E., 2004, Genetic diversity of peanut (*Arachis hypogaea* L.) and its wild relatives based on the analysis of hypervariable regions of the genome, *BMC Plant Biol.*, 4: 11
- Roscoe T.J., 2005, Identification of acyltransferases controlling triacylglycerol biosynthesis in oilseeds using a genomics-based approach, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 107(4): 256-262
- Seijo G., Lavia G.I., Fernández A., Krapovickas A., Ducasse D. A., Bertioli D.J., and Moscone E.A., 2007, Genomic relationships between the cultivated peanut (*Arachis hypogaea* Leguminosae) and its close relatives revealed by double GISH, *Am. J. Bot.*, 94(12): 1963-1971
- Smartt J., Gregory W.C., and Gregory M.P., 1978, The genomes of *Arachis hypogaea* L. cytogenetic studies of putative genome donor, *Euphytica*, 27(3): 665-675
- Weselake R.J., Taylor D.C., Rahman M.H., Shah S., Laroche A., McVetty P.B., and Harwood J.L., 2009, Increasing the flow of carbon into seed oil, *Biotechnol. Adv.*, 27(6): 866-878
- Zhu S.Q., Zhao H., Zhou R., Ji B.H., and Dan X.Y., 2009, Substrate selectivity of glycerol-3-phosphate acyltransferase in rice, *J. Integr. Plant Biol.*, 51(11): 1040-1049
- Zou J., Katavic V., Giblin E.M., Barton D.L., MacKenzie S.L., Keller W.A., Hu X., and Taylor D.C., 1997, Modification of seed oil content and acyl composition in the brassicaceae by expression of a yeast sn-2 acyltransferase gene, *Plant Cell*, 9(6): 909-923