

油用向日葵 GDSL 脂酶/脂肪酶基因的序列分析

于海峰^{1,2} 张旭婷³ 马艳红³ 李美娜⁴
陈阜^{1*} 李素萍² 郭树春² 张艳芳²

(1. 中国农业大学 农学院/农业部农作制度重点实验室,北京 100193;

2. 内蒙古自治区农牧业科学院,呼和浩特 010031;

3. 内蒙古农业大学 农学院,呼和浩特 010019;

4. 呼和浩特市种子管理站,呼和浩特 010020)

摘要 为挖掘油用向日葵中的 GDSL 脂酶基因,本研究以油用向日葵转录组测序得到的 Unigenes 为对象,筛选 GDSL 脂酶/脂肪酶基因并对其理化性质和序列结构等特点进行生物信息学分析。结果表明:油用向日葵中筛选到 7 个 GDSL 脂酶/脂肪酶基因,编码的蛋白质为稳定存在的亲水性蛋白,由 255~396 个氨基酸组成,分子量介于 28.75~42.61 ku,等电点分布在 4.91~8.89;除 unigene 60916 外,编码的蛋白质都含有较多的跨膜区域和较高的磷酸化程度; α -螺旋和无规则卷曲是主要的二级结构;进化树分析表明,这 7 个基因聚为三类,保守性较高,其中 unigene 58624 与 AT4G01130.1 在同一分支上高度保守,unigene 60916 与 AT1G74460.1 相似度最高,含有多个 α 螺旋和 β 折叠,推测与种子的油脂代谢有关。

关键词 油用向日葵; GDSL 脂酶/脂肪酶基因; 序列分析

中图分类号 S565.01

文章编号 1007-4333(2018)10-0018-11

文献标志码 A

Sequence analysis of GDSL esterase/lipase genes in *Helianthus annuus* L.

YU Haifeng^{1,2}, ZHANG Xuting³, MA Yanhong³, LI Meina⁴, CHEN Fu^{1*},
LI Suping², GUO Shuchun², ZHANG Yanfang²

(1. College of Agronomy and Biotechnology, China Agricultural University/Key Laboratory of Farming System of Ministry of Agriculture, Beijing 100094, China;

2. Inner Mongolia Academy of Agriculture and Animal Husbandry Sciences, Hohhot 010031, China;

3. Agronomy College, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010019, China;

4. Hohhot Seed Management Center, Hohhot 010020, China)

Abstract In order to exploit GDSL esterase/lipase gene of *Helianthus annuus* L., GDSL esterase/lipase genes were screened based on the Unigenes obtained from *H. annuus*'s transcriptome sequencing data in this study. The selected GDSL esterase/lipase gene and analysis on its physicochemical properties and sequence structure was conducted by Bioinformation. The results showed that: Seven GDSL esterase/lipase genes were selected from *H. annuus*, with the molecular size ranged from 255 to 396 aa. The ranges of molecular weight and isoelectric point were respectively 28.75~42.61 ku and 4.91~8.89. Besides unigene60916, most proteins had more transmembrane regions and higher phosphorylation levels; The alpha helix and the irregular curl were the primary secondary structure. The constructed phylogenetic tree indicated that the 7 genes were well grouped into three categories. The 7 genes are more

收稿日期: 2017-09-08

基金项目: 中国科学院“西部之光”人才培养计划(201503004);国家特色油料产业技术体系(CARS-14);内蒙古自然科学基金(2013MS0310);内蒙古农牧业科学院青年创新基金项目(2013QNJJN08)

第一作者: 于海峰,研究员,从事向日葵遗传育种与栽培研究,E-mail: nkyyhf@163.com

通讯作者: 陈阜,教授,主要从事农作制度与区域农业发展研究,E-mail: chenfu@cau.edu.cn

conservative. Among which, unigene 58624 was highly conservative with AT4G01130.1 on the same branch. Unigene 60916 was speculated to be related to lipid metabolism in seeds, which had the highest similarity with AT1G74460.1 and contained multiple alpha helix and beta sheet.

Keywords *Helianthus annuus* L; GDSL esterase/lipase genes; sequence analysis

GDSL 脂肪酶是重要的脂肪酶亚家族,在微生物^[1]和植物中普遍存在,但植物 GDSL 脂肪酶研究起步较晚^[2]。随着生物信息学的发展,特别是模式植物拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)全基因组测序的完成,陆续从拟南芥^[3]、水稻(*Oryza sativa*)^[4]、玉米(*Zea mays*)、蒺藜苜蓿(*Medicago truncatula*)^[5]、葡萄(*Vitis vinifera*)、高粱(*Sorghum bicolor*)、杨树(*Populus trichocarpa*)^[6]、油菜(*Brassica napus*)^[7]和艾菊属除虫菊(*Tanacetum cinerarii folium*)^[8]等植物中鉴别到 GDSL 脂肪酶基因,其已被证实参与植物生长发育、油脂代谢和抗逆境反应。油菜 GDSL 脂肪酶基因 *BnLIP1* 的表达随着种子的萌发而发生变化,并且在成熟植株根、茎、叶和花等组织器官中都有明显的表达,说明 *BnLIP1* 不仅参与油脂合成,还可能参与调控其他生理过程^[9];Naranjo 等^[10]研究发现拟南芥的一种编码 GDSL-motif 的脂肪酶基因 *AtLTL1* 在盐诱导下过表达能增强植物的耐盐性;Oh 等^[11]发现拟南芥 GDSL 脂肪酶 *GLIP1* 在植物的免疫中起到非常关键的作用,针对真菌侵染,能够激发植物局部和系统的抗性,且具备水解酶活性和抗菌活性;Park 等^[12]研究发现水稻中 GDSL 脂肪酶家族的 *WDL1* 基因编码的蛋白是内质网蛋白,可能在蜡质和表皮的生物合成中发挥作用。

GDSL 脂肪酶在油料作物种子的油脂代谢中发挥重要功能^[2]。GDSL 脂肪酶存在水解酶活性位点和底物结合位点,其活性位点非常灵活,使其易与底物广泛的结合发生反应^[1,13]。且 GDSL 脂肪酶属于 α/β 水解酶折叠蛋白超家族,其二级结构一般由多个 α 螺旋和 β 折叠组成^[14], α/β 水解酶折叠蛋白是已知的最大蛋白家族之一,存在 3 个保守的催化残基,这些催化残基形成一个 His(H) - Asp(D) - Ser(S) 催化三联体并且有助于酶的催化反应^[15-16]。

向日葵(*Helianthus annuus* L.)是世界第四大油料作物,由于其具有耐旱和耐瘠薄的特点,广泛种植于干旱和半干旱地区。研究油脂合成路径相关基因表达情况,利用基因工程手段培育新品种,提高向日葵的产量和质量,是改善食用油供应结构的主要手段^[17-18]。GDSL 脂肪酶基因作为一类非常重要的

脂肪酶家族成员,在油脂代谢中发挥着重要作用,但在向日葵中研究较少。本研究基于前期对油用向日葵(以下简称油葵)转录组测序得到的 unigenes,筛选 GDSL 脂肪酶基因,利用生物信息学方法分析其蛋白的理化性质、跨膜区域和二级三级结构等,并与模式植物拟南芥 GDSL 脂肪酶家族构建系统进化树,旨在为下一步研究油葵的油脂代谢及高含油量的油葵新品种培育提供参考。

1 材料与方法

1.1 油葵 GDSL 脂酶/脂肪酶基因的筛选及蛋白理化性质分析

本研究以内蒙古农牧业科学院育成的内葵杂 4 号和 NK244 2 个油葵品种转录组测序得到的 Unigenes 为对象,从功能注释基因中选出 GDSL 脂酶/脂肪酶基因。利用 NCBI 数据库中的 blast (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) 的 blastn 程序,与所有物种序列比对,得到得分最高基因;利用 NCBI 数据库中的 ORF Finder (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/orffinder/>) 和生物学软件 SeqBuilder 进行分析,预测得到开放阅读框 ORF(启动密码子: ATG;长度不低于 75 个氨基酸;正向翻译)。

对筛选出的油葵 GDSL 脂酶/脂肪酶 ORF 氨基酸序列,用在线程序 ExPASy Proteomics Server (<http://web.expasy.org/protparam/>) 预测其分子量、等电点和不稳定系数。

用生物学软件 DNAMAN 软件分析 GDSL 脂酶/脂肪酶蛋白疏水性,预测每个蛋白中各个氨基酸的疏水性,最后计算平均值。

1.2 油葵 GDSL 脂酶/脂肪酶基因结构和进化树分析

为进一步了解油葵 GDSL 脂酶/脂肪酶的系统进化分类,从 TAIR (<http://www.arabidopsis.org/>) 上下载拟南芥 GDSL 脂肪酶基因序列,用 MEGA 7.0.21 对筛选出的油葵 GDSL 基因与拟南芥 GDSL 脂肪酶基因进行 DNA 多序列相似性比对,并构建进化树,分析模型为邻接法(Neighbor-Joining, NJ),BootStrap 值设为 1 000 次。

1.3 油葵 GDSL 脂酶/脂肪酶蛋白跨膜及糖基和磷酸化预测

利用 TMpred Server (http://www.ch.embnet.org/software/TMPRED_form.html) 预测油葵 GDSL 脂酶/脂肪酶蛋白跨膜区域;分别用在线工具 NetOGlyc 4.0 server (<http://www.cbs.dtu.dk/services/NetOGlyc/>) 和 NetPhos 3.1 server (<http://www.cbs.dtu.dk/services/NetPhos/>) 预测油葵 GDSL 脂酶/脂肪酶蛋白糖基化位点和磷酸化。

1.4 油葵 GDSL 脂酶/脂肪酶蛋白二级三级结构预测

利用 SOMPA (https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=npsa_sopma.html) 和 SWISS-MODEL (<https://swissmodel.expasy.org/interactive>) 对油葵 GDSL 脂酶/脂肪酶蛋白分别进行二级结构和三级结构预测。

2 结果与分析

2.1 油葵 GDSL 脂酶/脂肪酶基因的筛选及其编码蛋白质的理化性质分析

以油葵转录组测序组装得到的 Unigenes 为对

象,从功能注释基因中选出 GDSL 脂酶/脂肪酶基因,进一步预测其 ORF,保留含有完整 ORF 的 Unigene,共 7 条。将油葵的 7 个 GDSL 脂酶/脂肪酶基因在 NCBI 数据库中与所有物种的 DNA 序列比对表明,这些 DNA 序列注释为各个物种的 GDSL 脂酶/脂肪酶基因,相似度在 69~76%。其中 unigene 60916 和 unigene 55372 都比对到芝麻的 GDSL 脂酶/脂肪酶基因,相似度分别为 76%和 71%;unigene 58710 和 unigene 48925 都比对到菊科艾菊属除虫菊 GDSL 脂酶基因,相似度分别为 70%和 75%(表 1)。

分析油葵的 7 个 GDSL 脂酶/脂肪酶蛋白理化性质,其编码的蛋白质分别由 255~396 个氨基酸组成,理论分子量范围为 28.75~42.61 ku;等电点分布在 4.91~8.89;不稳定系数在 20.00%~35.25%,均低于 50%,可能都为较稳定蛋白。编码的蛋白质疏水性都是负值,表明其可能都为亲水性蛋白,其中 unigene 58170 编码的蛋白质疏水性为 -0.303,表现出较强的亲水性(表 1)。

表 1 油葵 GDSL 脂酶/脂肪酶基因筛选及其编码蛋白质的理化性质分析

Table 1 GDSL esterase/lipase gene and protein's physicochemical properties of *H. annuus* L

基因名称 Gene name	BLAST 得分 最高基因 ID Gene ID by BLAST	相似度/% Identities	氨基酸 数量 Size	分子量/ku Molecular weight	等电点 Isoelectric point	不稳定系数 Instability index	疏水性平均值 Mean of hydrophobicity
Unigene 60916	XM_011078386.2 芝麻 GDSL 酯酶/脂肪酶	76	255	28.75	4.94	34.14	-0.233
Unigene 57474	XM_017390861.1 胡萝卜 exl3 GDSL 脂肪酶/酯酶	70	350	38.81	5.20	30.29	-0.014
Unigene 55372	XM_011102164.2 芝麻 GDSL 酯酶/脂肪酶	71	346	38.71	8.98	25.78	-0.165
Unigene 58710	JX913533.1 艾菊属除虫菊 GDSL 脂肪酶	70	372	41.63	4.91	35.25	-0.303
Unigene 48925	JX913533.1 艾菊属除虫菊 GDSL 脂肪酶	75	376	42.00	5.35	34.19	-0.175
Unigene 61470	XM_006367714.2 马铃薯 GDSL 酯酶/脂肪酶	68	396	42.61	5.41	32.18	-0.036
Unigene 58624	XM_021797609.1 橡胶树 GDSL 酯酶/脂肪酶	69	368	40.27	5.12	20.00	-0.044

2.2 油葵 GDSL 脂酶/脂肪酶系统进化分析

将筛选得到的油葵中的 7 个脂酶/脂肪酶与在 TAIR 上下载的拟南芥 GDSL 脂肪酶(有明确功能注释 91 个),筛选 98 个 GDSL 脂肪酶用于 NJ 法构建系统进化树(图 1)。油葵中的 7 个脂酶/脂肪酶与拟南芥 GDSL 脂肪酶聚为三类:其中 unigene 48952、unigene 58710、unigene 58624 和 unigene 61470 聚在第一大类;unigene 55372、unigene 57474 聚在第二大类;unigene 60916 聚在第三类。

2.3 油葵 GDSL 脂酶/脂肪酶蛋白跨膜及糖基化和磷酸化预测

利用 TMpred 预测油葵 GDSL 脂酶/脂肪酶蛋

白跨膜区域,除 unigene 60916 之外,其余 unigenes 都含有较多的跨膜区域(表 2 和图 2)。

分别用 NetOGlyc 4.0 server 和 NetPhos 3.1 server 预测油葵 GDSL 脂酶/脂肪酶蛋白糖基化位点和磷酸化,发现糖基化位点普遍较少:其中 unigene 57474、unigene 55372、unigene 48952 无糖基化位点;unigene 58710、unigene 58624 都只含有一处糖基化位点;unigene 61470 有 2 处糖基化位点(第 246 和 384 位氨基酸);unigene 60916 含有最多的糖基化位点共 6 处(第 214、222、225、228、235 和 240 位氨基酸);整体而言糖基化程度较低(表 2)。这 7 个 GDSL 脂酶/脂肪酶蛋白的磷酸化程度普遍

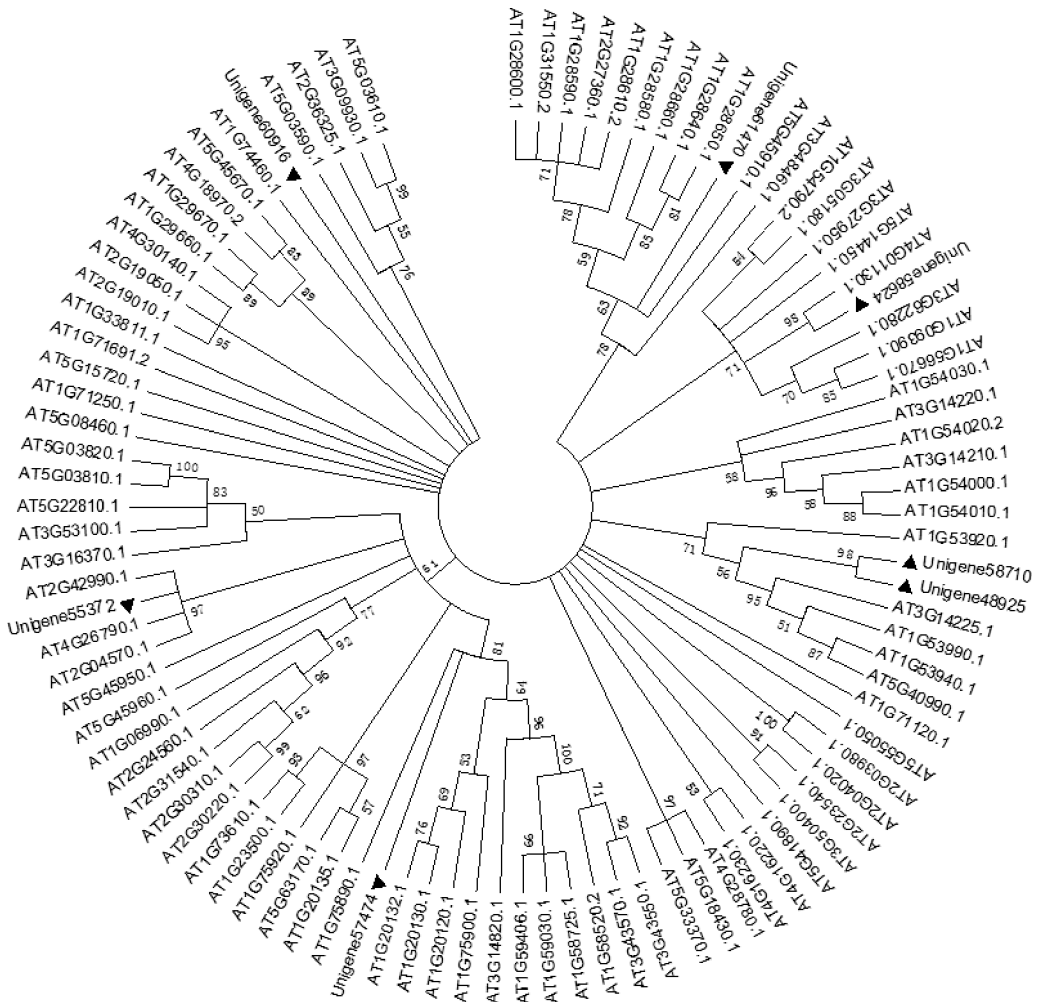


图 1 油葵 GDSL 脂酶/脂肪酶基因进化树分析

Fig. 1 Sequence analysis of phylogenetic tree of *H. annuus* GDSL esterase/lipase

较高:其中 unigene 60916 最低有 21 处磷酸化位点, unigene 61470 高达 56 处磷酸化位点(表 2 和图 3)。

表 2 油葵中的 GDSL 脂酶/脂肪酶蛋白跨膜区域及糖基化和磷酸化预测

Table 2 Prediction of transmembrane region, glycosylation and phosphorylation of *H. annuus* GDSL esterase/lipase

基因名称 Gene name	内到外 Inside to outside	外到内 Outside to inside	糖基化位点 Glycosylation site	磷酸化位点数量 Phosphorylation number
Unigene 60916	9~26	7~31*	214;222;225; 228;235;240	21
Unigene 57474	3~25*;112~132; 154~178;290~ 311*	3~22;112~132; 154~178;210~230; 290~310*	无	36
Unigene 55372	1~17*;90~109*; 144~164;282~303*	1~17*;93~109; 282~301*	无	42
Unigene 58710	1~17*;106~129*; 157~176;213~229; 287~310*	2~23*;106~129*; 210~228;291~310*	227	33
Unigene 48925	9~36*;106~124; 153~174*;292~309	8~36*;103~126*; 151~173;188~207; 206~227;291~307	无	39
Unigene 61470	9~28*;46~65;197~ 219;222~246*;307~ 328	3~24*;112~130; 218~239	246;384	56
Unigene 58624	4~22*;108~127*; 200~221*	4~20*;108~127*; 201~221*	101	24

注: * 代表跨膜区域分值>500。

Note: * represents transmembrane areas with scores greater than 500.

2.4 油葵 GDSL 脂酶/脂肪酶的蛋白结构分析

为进一步了解油葵 GDSL 脂酶/脂肪酶的结构特征,利用 SOPMA 对其二级结构进行预测,结果表明,这 7 个蛋白中主要是 α -螺旋和无规则卷曲,所占比例都在 30%~40%,是构成二级结构主要部分,延伸和 β -折叠所占比例较少,在 10%~20%(表 3 和图 4)。

用 SWISS-MODEL 对油葵 GDSL 脂酶/脂肪酶蛋白进行三级结构预测(图 5),发现 7 个蛋白都具有 α -螺旋、无规则卷曲和 β -折叠等空间结构,与二级结构预测相吻合;这 7 个蛋白聚合状态均为单体;都能够不同程度的匹配到脂蛋白 GDSL 家族、磷脂酶和酯酶 estA 等(表 4)。

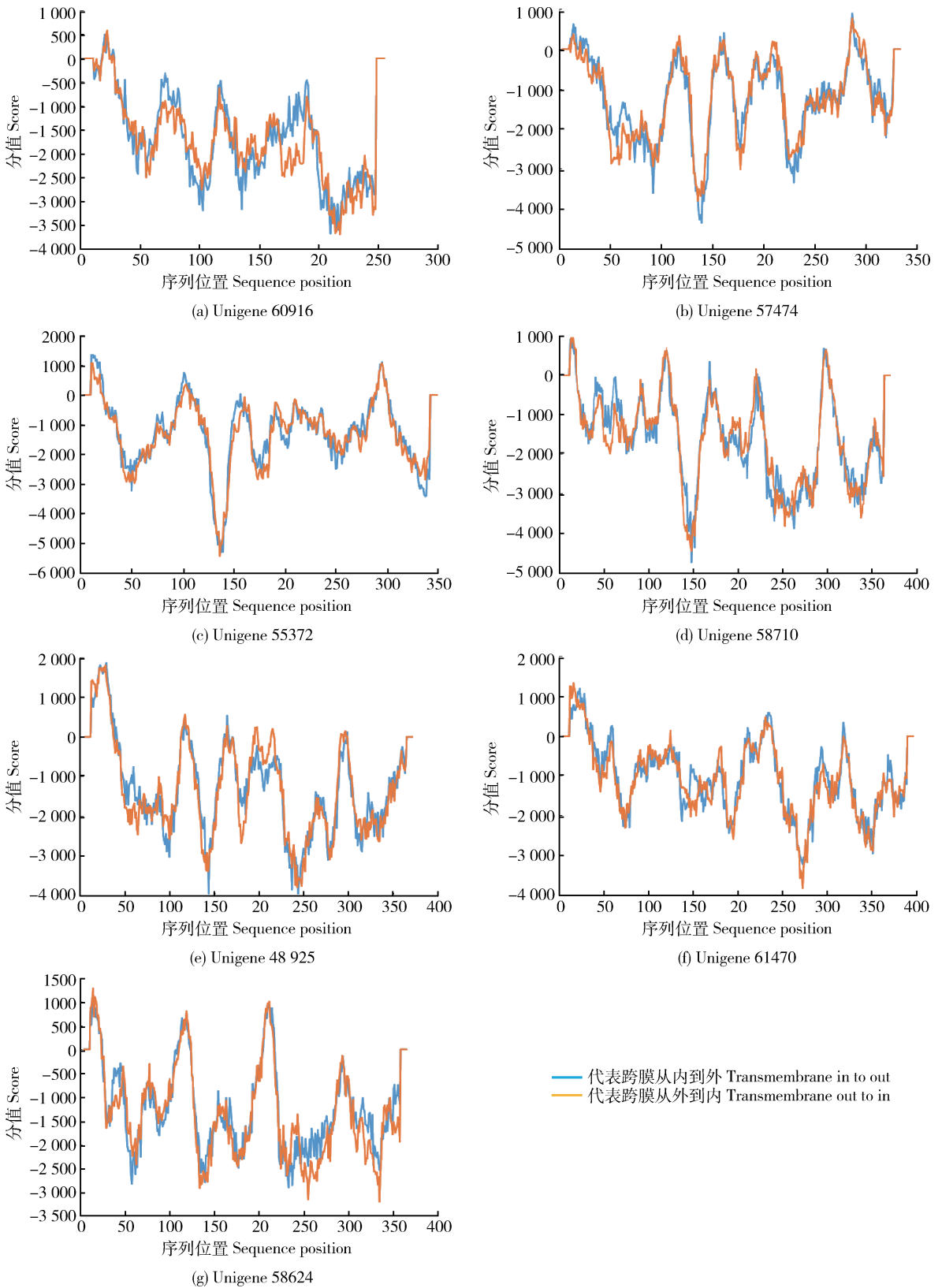
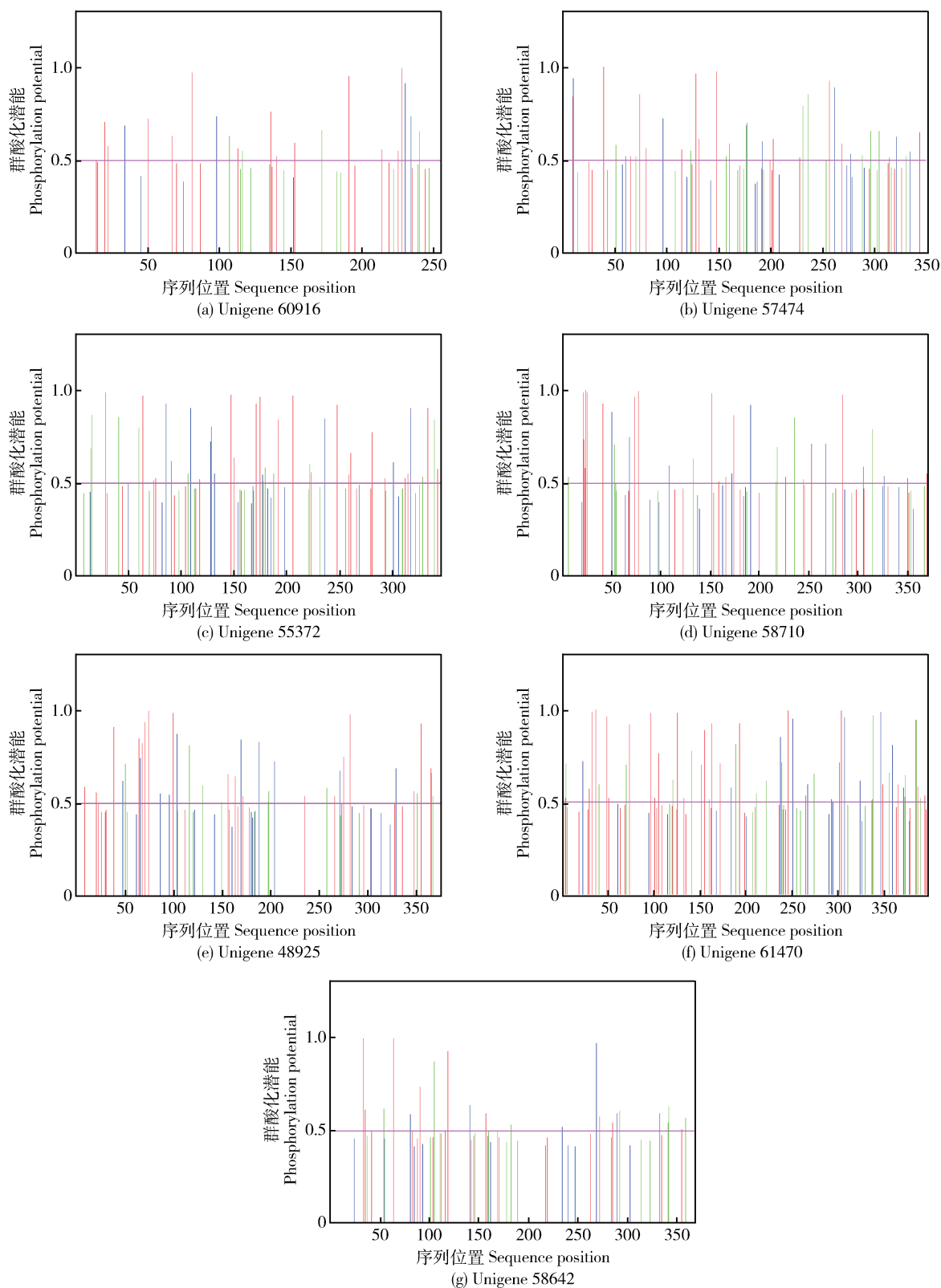


图 2 油葵 GDSL 脂酶/脂肪酶蛋白跨膜区域预测

Fig. 2 Transmembrane region prediction of *H. ammus* GDSL esterase/lipase



红色:丝氨酸;绿色:苏氨酸;蓝色:酪氨酸
red; serine; green; threonine; blue; tyrosine

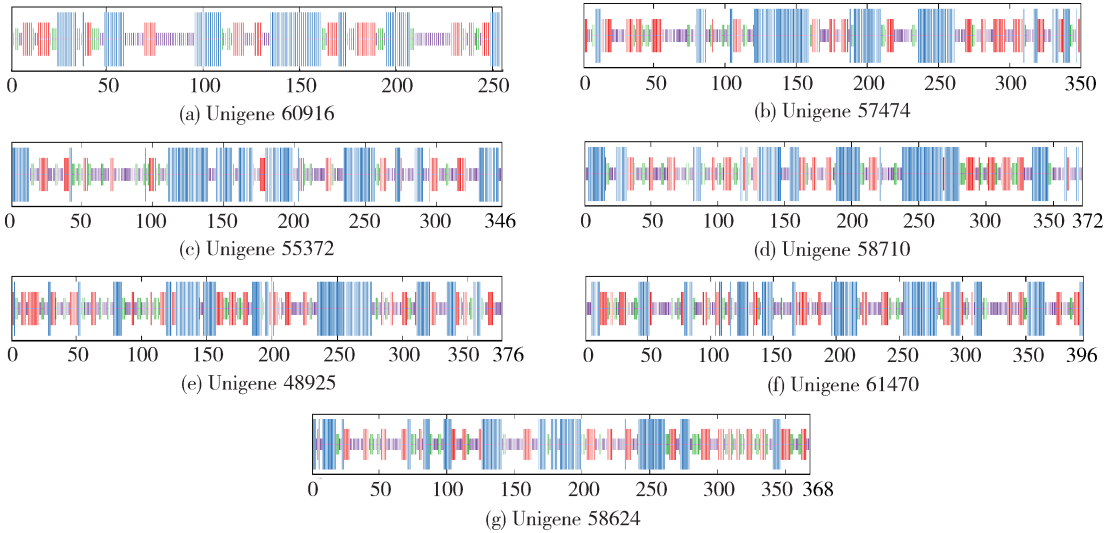
图3 油葵 GDSL 脂酶/脂肪酶氨基酸系列磷酸化预测

Fig. 3 Phosphorylation prediction of *H. annuus* GDSL esterase/lipase

表 3 油葵 GDSL 脂酶/脂肪酶蛋白二级结构组成

Table 3 Secondary structure constitution of *H. annuus* GDSL esterase/lipase %

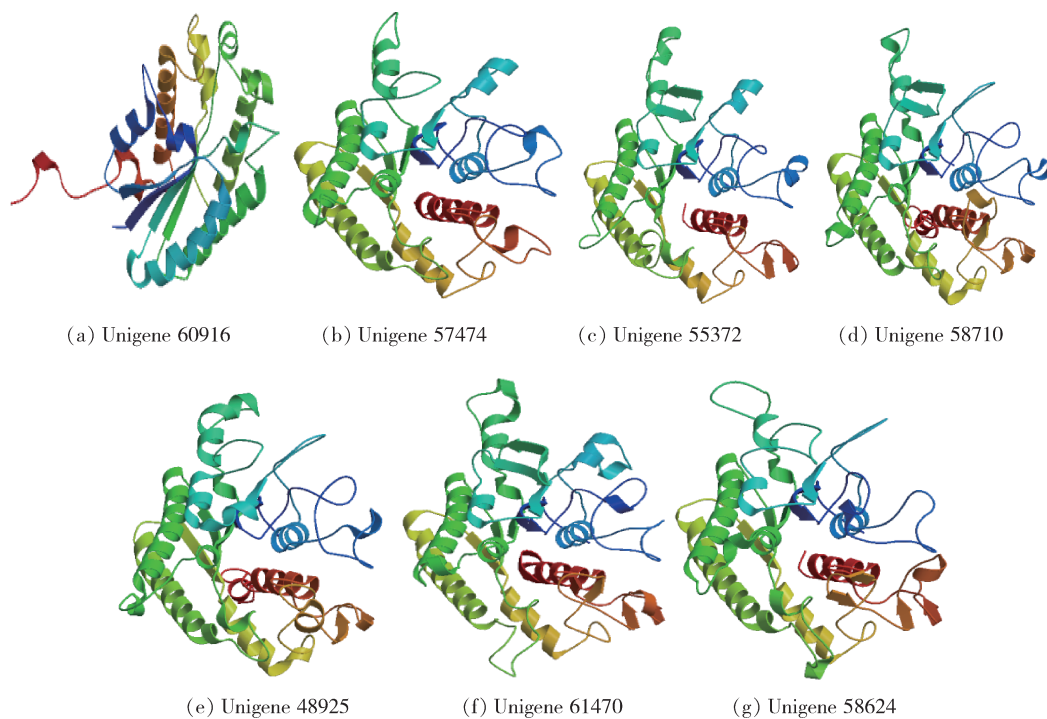
基因名称 Gene name	α -螺旋 Alpha helix	无规则卷曲 Random coil	延伸 Extended strand	β -折叠 Beta sheet
Unigene 60916	34.12	30.59	23.92	11.37
Unigene 57474	32.57	33.43	24.86	9.14
Unigene 55372	39.02	38.15	14.16	8.67
Unigene 58710	35.22	33.33	19.62	11.83
Unigene4 8925	32.98	29.79	23.94	13.30
Unigene 61470	32.83	37.63	18.43	11.11
Unigene 58624	29.08	33.15	24.18	13.59



蓝色： α -螺旋；紫色：无规则卷曲；红色：延伸；绿色： β -折叠
 blue; alpha helix; purple; random coil; red; extended strand; green; beta sheet

图 4 油葵 GDSL 脂酶/脂肪酶蛋白二级结构分析

Fig. 4 Secondary structure prediction of *H. annuus* GDSL esterase/lipase



绿色: α -螺旋; 蓝色: β -折叠; 红色: 无规则卷曲; 黄色: 延伸
 green; alpha helix; blue; beta sheet; red; random coil; yellow; extended strand;

图5 油葵 GDSL 脂酶/脂肪酶三级结构

Fig. 5 Tertiary structure prediction of *H. annuus* GDSL esterase/lipase

表4 油葵 GDSL 脂酶/脂肪酶蛋白三级结构分析

Table 4 Tertiary structure prediction of *H. annuus* GDSL esterase/lipase

基因名称 Gene name	序列匹配度/% Sequence identity	功能 Description	聚合状态 Oligo state
Unigene 60916	16.59	脂蛋白 GDSL 家族	单体
Unigene 57474	14.94	脂蛋白 GDSL 家族	单体
	16.36	磷脂酶 A1	
Unigene 55372	20.62	酯酶 estA	单体
	13.69	脂蛋白 GDSL 家族	
	17.27	磷脂酶 A1	
Unigene 58710	23.02	酯酶 estA	单体
	15.19	脂蛋白 GDSL 家族	
	16.28	磷脂酶 A1	
Unigene 48925	19.60	酯酶 estA	单体
	13.50	脂蛋白 GDSL 家族	
	17.13	磷脂酶 A1	
Unigene 61470	20.93	酯酶 estA	单体
	13.45	脂蛋白 GDSL 家族	
	18.42	酯酶 estA	
Unigene 58624	11.91	脂蛋白 GDSL 家族	单体
	17.59	磷脂酶 A1	
	21.38	酯酶 estA	

3 讨 论

GDSL 脂酶/脂肪酶是重要的脂肪酶基因家族之一,在植物生长发育等多种生理活动中有重要的功能^[13]。本研究从油葵转录组测序得到的 unigenes 数据中筛选获得 7 条 GDSL 脂酶/脂肪酶基因。在 NCBI 数据库中 with 所有物种 DNA 序列比对发现,都分别与胡萝卜、马铃薯和芝麻等不同物种中 GDSL 脂酶/脂肪酶基因相似,其中 unigene 60916 和 unigene 55372 都与芝麻中的 GDSL 脂酶/脂肪酶基因相似性最高,均在 70% 以上,而芝麻也是重要的油料作物之一^[19]; unigene 58710 和 unigene 48925 则与菊科艾菊属 GDSL 脂酶基因相似性最高,2012 年 Kikuta 等^[8]从艾菊属继代培养得到的 GDSL 脂酶基因 *TcGLIP* 被证实成熟植株和萌发期的叶片、芽和花中表达量较高。因此,推断这些基因可能参与油葵中油脂合成和生理活动等。

同模式生物拟南芥的 GDSL 脂酶基因构建系统进化树,很好的聚类成三类。说明这 7 个基因在进化中有一定的保守性;其中 unigene 58624 与 AT4G01130.1 亲缘关系最近,在同一进化分支; AT1G74460.1 属于拟南芥 GDSL 基因家族的第三类,可能参与种子的油脂代谢^[20], unigene 60916 和 AT1G74460.1 相似度最高,更进一步推断 unigene 60916 参与油葵种子的油脂代谢。

7 个油葵的 GDSL 脂酶/脂肪酶蛋白大多都含有丰富跨膜区域,糖基化程度低,而磷酸化程度高,推测这可能与蛋白定位、构型、转运和催化活性等有关^[21]。在二级与三级结构分析中,聚合状态都是单体,匹配到脂蛋白 GDSL 家族,磷脂酶、酯酶 estA,这些都是重要的脂肪酶^[22],更进一步从蛋白角度验证 7 条 unigenes 可能参与油葵脂肪代谢。

参考文献 References

[1] Huang Y T, Liaw Y C, Gorbatyuk V Y, Huang T H. Backbone dynamics of Escherichia coli thioesterase/protease I: Evidence of a flexible active-site environment for a serine protease[J]. *Journal of Molecular Biology*, 2001, 307(4): 1075-1090

[2] 李志兰. 拟南芥与油菜 GDSL 类脂肪酶基因的 in silico 分析及其对种子油脂积累影响的研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2014

Li Z L. In silico analysis of GDSL genes in *Arabidopsis* and *Brassica* and the investigation on their function in seeds. [D].

Hangzhou: Zhejiang University, 2014 (in Chinese)

[3] Ling H. Sequence analysis of GDSL lipase gene family in *Arabidopsis thaliana*. [J]. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 2008, 11(5):763

[4] Kim Y. Cloning and expression of a lipase gene from rice (*Oryza sativa* cv Dongjin)[J]. *Molecules & Cells*, 2004, 18(1):40

[5] Pringle D, Dickstein R. Purification of ENOD8 proteins from *Medicago sativa*, root nodules and their characterization as esterases[J]. *Plant Physiology & Biochemistry*, 2004, 42(1):73

[6] Chepyshko H, Lai C P, Huang L M, Liu J H, Shaw J F. Multifunctionality and diversity of GDSL esterase/lipase gene family in rice (*Oryza sativa* japonica) genome: New insights from bioinformatics analysis[J]. *BMC Genomics*, 2012, 13(1):309

[7] Ling H, Zhao J, Zuo K, Qiu C, Yao H, Qiu J, Sun X, Tang K. Isolation and expression analysis of a GDSL-like lipase gene from *Brassica napus* L [J]. *Journal of Biochemistry & Molecular Biology*, 2006, 39(3):297

[8] Kikuta Y, Ueda H, Takahashi M, Mitsumori T, Yamada G, Sakamori K, Takada K, Furutani S, Nakayama K, Katsuda Y, Hatanaka A, Matsuda K. Identification and characterization of a GDSL lipase-like protein that catalyzes the ester-forming reaction for pyrethrin biosynthesis in *Tanacetum cinerariifolium*: A new target for plant protection [J]. *Plant Journal*, 2012, 71(2):183-193

[9] Ling H, Zuo K, Zhao J, Qin J, Qiu C, Sun X, Tang K. Isolation and characterization of a homologous to lipase gene from *Brassica napus* [J]. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2006, 53(3):366-372

[10] Naranjo M A, Forment J, Roldán M, Serrano R, Vicente O. Overexpression of *Arabidopsis thaliana* LTL1, a salt-induced gene encoding a GDSL-motif lipase, increases salt tolerance in yeast and transgenic plants[J]. *Plant Cell & Environment*, 2006, 29(10):1890-1900

[11] Oh I S, Park A R, Bae M S, Kwon S J, Kim Y S, Lee J E, Kang N Y, Lee S, Cheong H, Park O K. Secretome analysis reveals an *Arabidopsis* lipase involved in defense against *Alternaria brassicicola*[J]. *Plant Cell*, 2005, 17(10):2832-2847

[12] Park J J, Ping J, Yoon J, Yang J I, Jeong H J, Ranathunge K, Schreiber L, Franke R, Lee I J, An G. Mutation in wilted dwarf and lethal 1, (WDL1) causes abnormal cuticle formation and rapid water loss in rice[J]. *Plant Molecular Biology*, 2010, 74(1-2):91

[13] 郝晓云, 蔡永智, 钱雯姝, 袁哈利, 李榕, 李鸿彬. 植物 GDSL 脂酶家族研究进展[J]. *植物生理学报*, 2013, 49(12): 1286-1290

Hao X Y, Cai Y Z, Qian W J, Yuan H L, Li R, Li H B. Advances in research of GDSL-Lipase family in plants[J]. *Plant Physiology Journal*, 2013, 49(12): 1286-1290 (in Chinese)

- [14] Lo Y C, Lin S C, Shaw J F, Liaw Y C. Crystal structure of Escherichia coli thioesterase I/protease I/lysophospholipase L1: consensus sequence blocks constitute the catalytic center of SGNH-hydrolases through a conserved hydrogen bond network[J]. *Journal of Molecular Biology*, 2003, 330(3): 539-551
- [15] Qian Z, Fields C J, Yu Y, Lutz S. Recent progress in engineering alpha/beta hydrolase-fold family members [J]. *Biotechnology Journal*, 2007, 2(2):192
- [16] Procopio L, Macrae A, van Elsas J D, Lucy S. The putative α/β -hydrolases of *Dietzia cinnamomea* P4 strain as potential enzymes for biocatalytic applications [J]. *Antonie van Leeuwenhoek*, 2013, 103(3):635-646
- [17] 于海峰,安玉麟,龙珏臣,李美娜,成建红,云旭明,陈泽彬. 向日葵产量相关性状的耐盐性分析[J]. 华北农学报, 2013, 28(6):192-198
Yu H F, An Y L, Long J C, Li M N, Cheng J H, Yun X M, Chen Z B. Analysis of yield related traits of sunflower salt tolerance[J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2013, 28(6): 192-198 (in Chinese)
- [18] 于海峰,安玉麟,李素萍,聂惠,郭树春. 油用向日葵品质形成规律研究[J]. 黑龙江农业科学, 2010, (9):14-18
Yu H F, An Y L, Li S P, Nie H, Guo S C. The pattern of quality formation in oil sunflower [J]. *Heilongjiang Agricultural Sciences*, 2010, (9):14-18(in Chinese)
- [19] Wang L H, Yu S, Tong C B, Zhao Y Z, Liu Y, Shong C, Zhang Y X, Zhang X D, Wang Y, Hua W, Li D H, Li F, Yu F, Xu C Y, Han X L, Huang S M, Tai S S, Wang J Y, Li Y R, Liu S Y, Varshney R K, Wang J, Zhang X R. Genome sequencing of the high oil crop sesame provides insight into oil biosynthesis[J]. *Genome Biology*, 2014, 15(2):R39
- [20] 佟祥超,王丽曼,胡文静,张雪颖,张天真,郭旺珍. 一个棉花 GDSL 脂肪酶基因的克隆与功能分析[J]. 作物学报, 2013, 39(7):1164-1171
Tong X C, Wang L M, Hu W J, Zhang X Y, Zhang T Z, Guo W Z. Molecular cloning and functional analysis of a GDSL Lipase gene from *Gossypium hirsutum* L [J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2013, 39(7):1164-1171(in Chinese)
- [21] 闫素珍,陈杰,谭小力. 油菜 GDSL 脂肪酶基因 BnGLIP 的生物信息学分析[J]. 生物学杂志, 2013, 30(4):29-32
Yan S Z, Chen J, Tan X L. Bioinformatics analysis of *Brassica napus* GDSL-like lipase Bn GLIP[J]. *Journal of Biology*, 2013, 30(4):29-32(in Chinese)
- [22] 张晓英. 酯酶 EstB 表达纯化及酶学性质分析[D]. 长春:东北师范大学, 2010
Zhang X Y. Protein expression and purification and analysis of enzymatic properties of esterase EstB [D]. Changchun: Northeast Normal University, 2010(in Chinese)

责任编辑:吕晓梅