

# 微藻油脂合成的转录调控研究进展

张艺博<sup>1</sup>, 薛永常<sup>1</sup>, 刘长斌<sup>1,2</sup>

(1. 大连工业大学生物工程学院, 辽宁大连116034; 2. 大连工业大学仪器分析中心, 辽宁大连116034)

**摘要:**生物燃料是传统化石燃料的理想替代品,微藻是生产生物燃料的优良原料,通过对微藻油脂合成和调控的了解,能够有效提高微藻生产生物柴油的效率。转录因子是一种具有特殊功能结构、行使调控基因表达功能的蛋白质分子,在复杂的油脂合成代谢过程中,转录因子能对代谢过程中多个酶系进行集体调控,从而促进藻细胞中油脂积累。从微藻油脂的合成途径出发,简要介绍了合成途径中的关键酶,重点综述了bZIP、MYB、Dof、bHLH转录因子对于微藻油脂合成的调控影响。微藻油脂合成涉及多个亚细胞单位的多条途径,是一个十分复杂的代谢网络过程,通过基因工程手段改变合成途径中相关酶的表达可以增加微藻中油脂积累。

**关键词:**微藻; 转录因子; 转录调控; 油脂积累

中图分类号: Q812; TE624

文献标识码: A

文章编号: 1003-7969(2024)04-0097-07

## Advances in transcriptional regulation of lipid synthesis in microalgae

ZHANG Yibo<sup>1</sup>, XUE Yongchang<sup>1</sup>, LIU Changbin<sup>1,2</sup>

(1. School of Biological Engineering, Dalian Polytechnic University, Dalian 116034, Liaoning, China;

2. Instrumental Analysis Center, Dalian Polytechnic University, Dalian 116034, Liaoning, China)

**Abstract:** Biofuel is an ideal alternative to traditional fossil fuels, and microalgae is excellent raw materials for the production of biofuels. Through the understanding of the synthesis and regulation of microalgae lipid, the production efficiency of biodiesel by microalgae can be effectively improved. Transcription factors are protein molecules with special functional structures that perform the function of regulating gene expression. In the complex lipid synthesis and metabolism process, transcription factors can collectively regulate multiple enzyme lines in the metabolic process, thus promoting lipid accumulation in algal cells. The synthesis pathway of microalgae lipid was introduced, the key enzymes in the synthesis pathway were briefly introduced, and the regulation effect of bZIP, MYB, Dof and bHLH transcription factors on the microalgae lipid synthesis was reviewed. Microalgae lipid synthesis involves multiple pathways of multiple subcellular units, and is a very complex metabolic network process, and changing the expression of related enzymes in the synthetic pathways by genetic engineering means can increase lipid accumulation in microalgae.

**Key words:** microalgae; transcription factors; transcription regulation; lipid accumulation

收稿日期: 2022-11-09; 修回日期: 2024-01-27

基金项目: 辽宁省教育厅2020年度科研项目(J2020113); 辽宁省市场监督管理局2022年度市场监管科技计划项目(2022ZC025)

作者简介: 张艺博(1998), 女, 硕士研究生, 研究方向为微藻培养和代谢调控(E-mail) zhangyibo129@163.com。

通信作者: 薛永常, 教授, 博士(E-mail) xueych@dlpu.edu.cn; 刘长斌, 实验师, 博士(E-mail) liuchb@dlpu.edu.cn。

随着全球经济迅速发展, 能源需求日益增加, 传统的煤炭、石油等化石燃料资源日益减少, 环境污染日益严重, 被认为是替代化石燃料的可持续性能源——生物燃料越来越引起人们的关注, 作为第三代生物燃料之一的微藻生物柴油在世界生物能源生产中占有重要地位<sup>[1]</sup>。

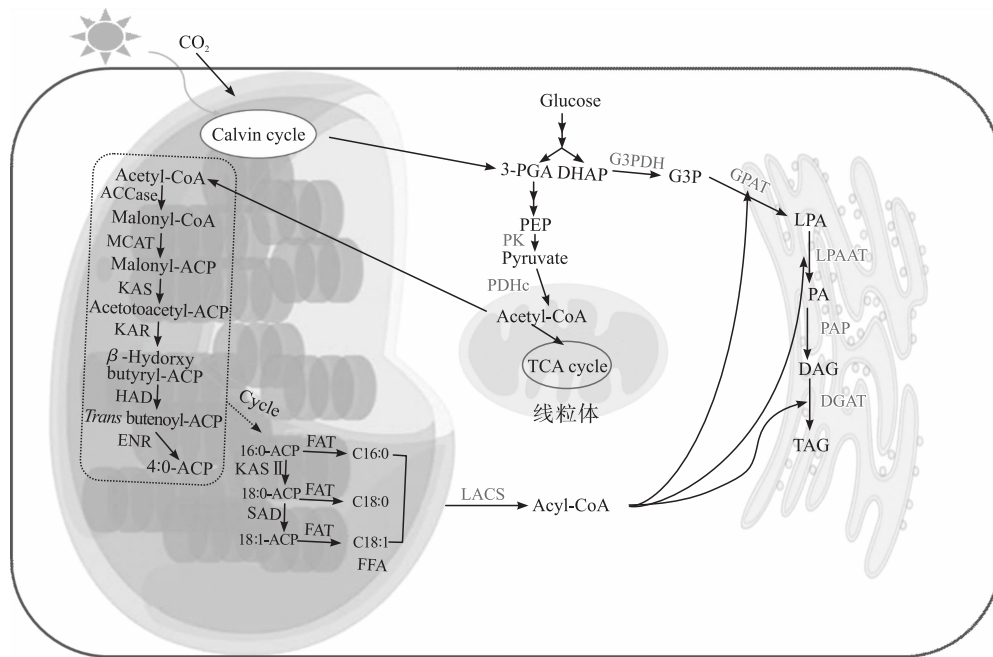
微藻是一类在显微镜下才能辨别其形态的微小藻类的总称, 其在陆地、湖泊、海洋中分布广泛。以

微藻作为生物燃料原料具有油脂含量高、生长周期短、光合作用效率高、不占用耕地资源、不造成环境污染等优势<sup>[2-4]</sup>,故通过大规模培养微藻来制备生物柴油具有广阔的前景。油脂合成涉及多个亚细胞单位的多条途径,是一个十分复杂的代谢网络过程,通过基因工程手段改变合成途径中相关酶的表达可以增加油脂积累。在油脂合成的代谢网络中,转录因子能对代谢过程中多个酶系进行集体调控,因此越来越受到研究者的关注。本文从微藻油脂的合成

途径出发,简要介绍了合成途径中的一些关键酶,重点综述了 bZIP、MYB、Dof、bHLH 转录因子对于微藻油脂合成的调控影响,以为后续微藻脂质代谢过程的改造提供依据。

## 1 微藻油脂的合成途径

微藻油脂的合成途径大多是从植物中推断出来的,主要包括两部分,即脂肪酸的合成和甘油三酯 (TAG) 的合成,具体见图 1。



注:3-PGA. 3-磷酸甘油醛;DHAP. 磷酸二羟丙酮;PEP. 磷酸烯醇式丙酮酸;Pyruvate. 丙酮酸;Acetyl-CoA. 乙酰辅酶 A; Malonyl-CoA. 丙二酸单酰 CoA; Malonyl-ACP. 丙二酸单酰-ACP; Acetoacetyl-ACP. 乙酰乙酰-ACP;  $\beta$ -Hydroxy butyryl-ACP.  $\beta$ -羟丁酰-ACP; *Trans* butenoyl-ACP. 反式丁烯酰-ACP; 4:0-ACP. 丁酰-ACP; 16:0-ACP. 软脂酰-ACP; 18:0-ACP. 硬脂酰-ACP; 18:1-ACP. 硬脂酰-ACP; C16:0. 软脂酸; C18:0. 硬脂酸; C18:1. 油酸; FFA. 游离脂肪酸; Acyl-CoA. 脂酰 CoA; G3P. 甘油-3-磷酸; LPA. 溶血磷脂酸; PA. 磷脂酸; DAG. 二酰甘油; PK. 丙酮酸激酶; PDHc. 丙酮酸脱氢酶复合物; ACCase. Acetyl-CoA 羧化酶; MCAT. 丙二酸单酰 CoA-酰基转体蛋白 (ACP) 转酰基酶; KAS. 酮酰基 ACP 合成酶; KAR. 酮酰基-ACP 还原酶; HAD.  $\beta$ -羟脂酰-ACP 脱水酶; ENR. 烯脂酰-ACP 还原酶; KAS II. 酮酰基 ACP 合成酶 II; SAD. 硬脂酰脱氢酶; FAT. 脂酰基-ACP 硫酯酶; LACS. 长链脂酰 CoA 合成酶; G3PDH. 甘油-3-磷酸脱氢酶; GPAT. 甘油-3-磷酸酰基转移酶; LPAAT. 溶血磷脂酰基转移酶; PAP. 磷脂酸磷酸酶; DGAT. 二酰甘油酰基转移酶。FAS 包括 MCAT、KAS、KAR、HAD、ENR 和 FAT

图 1 微藻油脂合成途径

(1) 脂肪酸的合成:一方面微藻可在自养条件下,吸收外界  $\text{CO}_2$ ,在叶绿体中经过卡尔文循环 (Calvin cycle) 生成 3-磷酸甘油醛 (3-PGA),该过程是微藻光合固碳生成油脂的关键限速步骤,3-PGA 也是糖酵解过程重要的中间体,在后续相应酶的催化作用下转化为脂肪酸合成的前体物质 Acetyl-CoA。另一方面,微藻能够在异养条件下以培养基中的葡萄糖 (Glucose) 为营养物质,经糖酵解过程合成丙酮酸 (Pyruvate),之后丙酮酸则进一步在丙酮

酸脱氢酶复合物 (PDHc) 的催化下生成 Acetyl-CoA。Acetyl-CoA 羧化酶 (ACCase) 是脂肪酸从头合成的第一步限速酶,催化 Acetyl-CoA 生成丙二酸单酰 CoA (Malonyl-CoA),该过程在脂肪酸合成途径中至关重要,且不可逆转。Malonyl-CoA 在丙二酸单酰 CoA-酰基转体蛋白 (ACP) 转酰基酶 (MCAT) 催化下生成丙二酸单酰-ACP (Malonyl-ACP)。然后丙二酸单酰-ACP 在脂肪酸合成酶复合物 (FAS) 作用下经过装载、缩合、还原、脱水、再还

原、释放等多次循环进行长链脂肪酸碳链的延伸,形成以 C16 和 C18 为主的游离脂肪酸 (FFA)。脂肪酸合成途径中, ACCase<sup>[5-6]</sup>、MCAT<sup>[7-9]</sup>、脂酰基-ACP 硫酯酶 (FAT)<sup>[10]</sup> 等关键酶的调控作用有助于促进脂肪酸的生成从而提高 TAG 的积累。

(2) 甘油三酯合成途径: FFA 在长链脂酰 CoA 合成酶 (LACS) 催化作用下生成脂酰 CoA (Acyl-CoA)。葡萄糖经糖酵解途径生成的磷酸二羟丙酮 (DHAP) 在甘油-3-磷酸脱氢酶 (G3PDH) 催化下生成 TAG 的前体物质甘油-3-磷酸 (G3P)。G3P 和 Acyl-CoA 在甘油-3-磷酸酰基转移酶 (GPAT) 催化作用下生成溶血磷脂酸 (LPA), LPA 在溶血磷脂酰基转移酶 (LPAAT) 催化下生成磷脂酸 (PA), PA 在磷脂酸磷酸酶 (PAP) 催化下生成二酰甘油 (DAG), DAG 在二酰甘油酰基转移酶 (DGAT) 的催化下生成 TAG。

在 TAG 合成过程中, 前体物质 G3P 的含量对 TAG 的积累起至关重要的作用。研究表明, 通过合成酵母的 *g3pdh* 基因, 并将其转入莱茵衣藻过表达, 有利于促进藻细胞中油脂的积累<sup>[11]</sup>。而 Balamurugan<sup>[12]</sup>、Niu<sup>[13]</sup> 等通过过表达三角褐指藻 (*Phaeodactylum tricornutum*) 内源性 GPAT 基因, 发现藻细胞中性脂含量较野生型分别提高 1.8 倍和 2 倍, 不饱和脂肪酸水平显著升高。因此, 通过调控 TAG 合成途径中的 G3PDH、GPAT、LPAAT<sup>[14-15]</sup>、DGAT<sup>[16-19]</sup> 有助于藻细胞中油脂的积累。

## 2 调控微藻油脂合成相关转录因子

转录因子也称反式作用因子, 是通过与靶基因启动子区的顺式作用元件相互作用而调节相关基因的激活或者抑制转录的一类蛋白质<sup>[20]</sup>。转录因子能对代谢过程中多个酶系进行集体调控。目前发现对微藻油脂积累具有调控作用的转录因子主要有 bZIP 基因家族、MYB 基因家族、Dof 基因家族、bHLH 基因家族等, 转录因子调控的靶基因主要包含糖代谢与油脂合成途径中相关基因, 促进藻细胞中油脂积累。

### 2.1 bZIP 转录因子

碱性亮氨酸拉链 (Basic leucine zipper, bZIP) 蛋白是广泛存在于真核生物中的一类高度保守的转录因子家族。bZIP 转录因子由一个相对保守的碱性区域和一个亮氨酸拉链组成<sup>[21]</sup>。

Bai 等<sup>[22]</sup> 发现莱茵衣藻 (*Chlamydomonas reinhardtii*) CC-5325 的 bZIP 转录因子突变株 *crbzip2* 在缺氮条件下 TAG 积累降低。Ji 等<sup>[23]</sup> 通过全基因组分析鉴定出了莱茵衣藻的 17 个 bZIP 转录

因子, 通过盐胁迫处理发现莱茵衣藻的细胞生长降低, 光合作用减弱, 但脂质积累增加, 经 qRT-PCR 分析发现其中有 6 个 *CrebZIP* 基因的表达谱在盐胁迫下发生显著变化, 表明某些 *CrebZIP* 可能在介导微藻光合作用和脂质积累响应胁迫中发挥重要作用。Lee 等<sup>[24]</sup> 在小球藻 HS2 中鉴定出了 7 个内源性 bZIP 转录因子, 通过异养条件下过表达 bZIP 发现转化子中的脂质和脂肪酸甲酯含量均高于野生型, 且 ACCase、酰基脂酰 CoA 合成酶 (KCS)4 和 KCS11 基因表达量明显增加。

Kwon 等<sup>[25]</sup> 在微拟球藻 CCMP1776 中鉴定出的 bZIP 同源物 NsbZIP1 转录因子与 Hu 等<sup>[26]</sup> 报道的 bZIP 转录因子 (s259. g7362) 同源关系最近, NsbZIP1 属于 C 型 bZIP, C 型 bZIP 可调节应激条件下的碳水化合物和脂质代谢, 在过表达 NsbZIP1 转录因子的转化子中发现其中性脂质含量高于野生型, 在氮限制或高盐条件下转化子中的中性脂质含量均高于野生型。通过对 4 个脂质代谢相关基因酰基辅酶 A 结合蛋白 (Acyl-CoA-binding protein, ACBP)、KAS、LACS 和 LPAAT 的 qRT-PCR 分析, 发现随着 NsbZIP1 的过表达, ACBP、KAS、LACS 和 LPAAT 的表达上调, 表明 NsbZIP 的表达能够通过调节脂类代谢基因来提高脂类含量。

### 2.2 MYB 转录因子

MYB 转录因子 (V-myb avian myeloblastosis viral oncogene homolog) 是植物中普遍存在的最大的一类转录因子家族之一, 因其含有一段保守的 DNA 结合区 Myb 结构域而得名。该结构域通常包含 1~4 个不完整的重复序列 (R 结构), 根据其所包含 R 结构数目的不同将 MYB 转录因子家族分为 1R-MYB 家族、R2R3-MYB 家族、3R-MYB 家族和 4R-MYB 家族 4 类, 其中 R2R3-MYB 转录因子对脂质的合成起着重要的调控作用<sup>[27]</sup>。

Shi 等<sup>[28]</sup> 通过转录相关性分析、酵母单杂交和电泳移动性转移实验, 在佐芬根色绿球藻 (*Chromochloris zofingiensis*) 中发现了一个 R2R3-MYB 转录因子, 其能激活生物素羧基载体蛋白 (BCCP)、酰基载体蛋白 (ACP) 1、KAS、HAD、GPAT2、LPAAT1 等脂质代谢关键酶基因的表达, 以促进佐芬根色绿球藻 TAG 的积累, 其原因可能是这些基因中都有能被其识别并结合的 CNGTTA 元件。Xing 等<sup>[29]</sup> 从原壳小球藻 (*Auxenochlorella protothecoides* UTEX2341) 中鉴定出了 6 个 R2R3-MYB 转录因子, 通过对 R2R3-MYB 转录因子及脂质合成相关基因表达谱的综合分析, 发现转录因子

ApMYB3 共调控 8 个油脂合成相关基因的表达,从而调控油脂合成及积累。

Choi 等<sup>[30]</sup>发现莱茵衣藻 CC-4533 的 R2R3-MYB1 转录因子突变株 *myb1-1* 和 *myb1-2* 在缺氮条件下培养 3 d 后积累的 TAG 分别为野生型的 35% 和 40%, 总脂肪酸含量为野生型的 65% 和 70%, 缺氮条件下, *myb1* 突变株不能诱导 *FAT1* 的表达, 而在野生型藻株 CC-4533 的叶绿体中过表达 *FAT1* 能够促进藻细胞中脂质的积累, 表明 MYB1 转录因子是诱导 *FAT1* 表达的必要条件, 可促进氮耗竭条件下莱茵衣藻的脂质积累。Li 等<sup>[31]</sup>证实了 R2R3-MYB 转录因子 MYB89 可直接结合 BCCP1、KASI、KCS11 等位点, 抑制这些基因的表达, 从而抑制拟南芥种子中油脂的合成。相反, 当 MYB89 转录因子功能丧失时, 可以促进糖酵解、脂肪酸生物合成和修饰以及在质体或内质网中的 TAG 沉积等重要代谢过程基因的表达, 从而促进油脂的积累。这为研究微藻中 MYB 转录因子对油脂合成的调控作用提供了新思路。

### 2.3 Dof 转录因子

Dof (DNA-binding with one finger) 蛋白是植物中特有的一类转录因子, 具有高度保守的 DNA 结合结构域, 该蛋白属于单锌指蛋白超家族, 长度为 200~400 氨基酸, 主要由 N-端保守的 DNA 结合结构域和多功能转录调控的 C-端结构域两部分组成。Dof 结构域可通过识别植物基因启动子中的 AAAG 序列或 CTTT 序列调控蛋白间的相互作用及激活基因表达<sup>[32]</sup>。

Ibáñez-Salazar 等<sup>[33]</sup>通过过表达莱茵衣藻中的 Dof 转录因子, 发现转化子 Dof 9 和 Dof 11 藻细胞的总脂肪酸含量高于野生型的, 但细胞生长、脂肪酸组成都没有发生变化。Zhang 等<sup>[34]</sup>将大豆 Dof 4 转录因子基因转入椭圆小球藻 (*Chlorella ellipsoidea*) 中, 在混合营养培养条件下, GmDof 4 的表达显著提高了小球藻细胞的脂质含量, qRT-PCR 和酶活性测定结果显示, GmDof 4 显著上调了转基因小球藻细胞中 *ACCase* 基因表达和其酶活性, 表明大豆 Dof 转录因子通过调控脂质合成途径中关键酶基因的表达来促进脂质积累。Salas-Montantes 等<sup>[35]</sup>在莱茵衣藻中发现转有 Dof 11 的藻株在硫和氮饥饿下脂肪酸含量显著增加, 而且在氮饥饿条件下, Dof 11 转基因藻株积累了更多的棕榈酸、油酸和亚油酸。Tokunaga 等<sup>[36]</sup>在小球藻 (*Chlorella vulgaris*) 基因组数据库中筛选出了一个 Dof 转录因子, 在氮缺乏条件下过表达发现转化子

藻株 CvDOF#3 的单细胞和每毫升培养物的中性脂质含量分别提高了 1.5 倍和 1.1 倍。Jia 等<sup>[37]</sup>在莱茵衣藻 cc849 中过表达了一个 Dof 转录因子, 通过对中性脂质进行荧光染色发现大多数转基因藻株的荧光强度高于野生型, 其中转基因藻株 Tranc-crDOF-12 荧光强度高出野生型菌株 1.8 倍, 其干物质中总脂肪酸含量比野生型高 23.24%, 参与脂质代谢的 *BCCP1*、*FAT1* 等基因的表达水平显著上调, 表明 Dof 转录因子可通过影响参与脂质代谢的关键基因来增加细胞内脂质积累。

### 2.4 bHLH 转录因子

bHLH (Basic helix-loop-helix) 超家族以其高度保守的碱性/螺旋-环-螺旋结构域命名, 是第二大转录因子家族, 广泛存在于动植物中<sup>[38]</sup>。bHLH 结构域有大约 60 个保守氨基酸残基, 由 2 个保守基序组成, 即碱性区域和螺旋-环-螺旋区域 (HLH 区域)。碱性区域参与 DNA 与其靶基因中的 E-box (通常是 CANN TG) 或 G-box (CACGTG) 基序的结合; HLH 区域由 2 个含有疏水残基的  $\alpha$  螺旋组成, 该区域可以自身形成同源二聚体, 也可以与其他转录因子形成异源二聚体或多聚体发挥作用<sup>[39]</sup>。

Kang 等<sup>[40]</sup>在微拟球藻 CCMP1776 中鉴定了 2 个 bHLH 转录因子 NsbHLH1 和 NsbHLH2, 实验证明 NsbHLH2 参与微拟球藻生长和养分吸收, 使用内源性的 TUB 启动子过表达 NsbHLH2 的转化藻株在生长前期时的生长速度更快, 生物量更高, 产生了更多的脂肪酸甲酯。Li 等<sup>[41]</sup>在小球藻 UTEX 1602 中发现 bHLH 家族的 2 个转录因子在氮限制条件下均上调表达, 并促进了脂质合成。由于该转录因子目前在藻类中的研究较少, 未来可以考虑在不同种类的微藻中进行研究, 丰富其对油脂合成的调控机制。

### 2.5 其他参与微藻油脂积累的转录因子

除了上述较常见的调控油脂合成的转录因子之外, 还存在一些对油脂合成有影响的转录因子。例如 LEAFY COTYLEDON 1 (LEC1)、LEAFY COTYLEDON 2 (LEC2)、ABSCISIC ACID INSENSITIVE 3 (ABI3)、FUSCA3 (FUS3)、AP2/EREBP 型转录因子 WRINKLED1 (WRI1) 等, 这些转录因子在拟南芥、油菜<sup>[42]</sup>等中的研究较为广泛, 在微藻中仅有少量研究报道。Liu 等<sup>[43]</sup>将拟南芥 LEC1 转录因子转入椭圆小球藻, 发现了核因子-Y (NF-Y) 基因家族的 3 个成员 *CeNF-YA*、*CeNF-YB* 和 *CeNF-YC*, 在转基因藻细胞中只有 *CeNF-YA* 的表达增强, 表明其中一个 NF-Y 成员的表达可能受到拟南芥 LEC1 的影响, 从而可能导致脂质

积累的增加。在混合营养培养条件下,转化子的总脂肪酸含量和总脂含量分别显著提高 24.20% ~ 32.65% 和 22.14% ~ 29.91%, 自养条件下分别显著提高 24.4% ~ 28.87% 和 21.69% ~ 30.45%; 且两种培养条件均不影响转基因藻株的生长速度和生物量。通过比较 *AtLEC1* 在小球藻和拟南芥中调控的差异表达基因,发现约 59% 的脂质代谢相关基因在转 *AtLEC1* 的小球藻中被上调。Liu 等<sup>[44]</sup> 将拟南芥 *LEC2* 转录因子转入小球藻 (*Chlorella sorokiniana*) 中,其脂肪酸组成与原始藻株几乎没有差别,但其脂肪酸含量显著增加,且转基因藻株的生长及光合作用都不受影响。Shang 等<sup>[45-46]</sup> 通过转录组测序鉴定了参与脂肪酸生物合成和分解代谢的基因,并克隆了杜氏盐藻 FACHB-815 中的 WRI1-Like 转录因子。对氮限制和氮充盈条件下该转录因子的表达分析发现,氮限制显著诱导了其表达,且可通过调节光合作用、糖酵解途径、三羧酸循环、淀粉代谢过程中与碳水化合物代谢相关的靶基因,以促进糖类转化为脂质,从而提高盐藻中脂质的生成。

### 3 结 语

油脂合成是一个复杂的代谢网络,涉及众多酶及转录因子的参与。相较于提高单个酶调控油脂合成,转录因子的调控可能具有更大的效率。目前已有一些转录因子在微藻中被鉴定出来,用于调节油脂的积累,但是由于微藻种类繁多,不同藻种之间存在差异,不同种属之间转录因子调控也存在差异,转录因子间也存在相互调控,也可同时调控代谢途径上的多个基因。故还需加强对转录因子的调控研究,这对未来产生具有优良特性的转基因生物具有重要意义。另外,通过对陆生植物相关转录因子间网络调控的研究,对于改造微藻成为高产油脂的藻株也可提供借鉴意义。

### 参考文献:

[1] 方正, 吕德义. 微藻制备生物柴油的研究进展[J]. 现代化工, 2017, 37(9): 57-61.

[2] 夏云峰. 不同营养条件和培养方式对普通小球藻生长及油脂合成含量影响的研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2011.

[3] 潘孝妍. 微藻油脂积累的环境调控及分子机制研究[D]. 海口: 海南大学, 2020.

[4] CHISTI Y. Biodiesel from microalgae[J]. Biotechnol Adv, 2007, 25(3): 294-306.

[5] LIU J, HUANG J, SUN Z, et al. Differential lipid and fatty acid profiles of photoautotrophic and heterotrophic *Chlorella zofingiensis*: Assessment of algal oils for biodiesel production[J]. Bioresour Technol, 2011, 102(1): 106-

110.

[6] GOMMAA E, LEE S K, SUN S M, et al. Improvement in oil production by increasing malonyl-CoA and glycerol-3-phosphate pools in *Scenedesmus quadricauda* [J]. Indian J Microbiol, 2015, 55(4): 447-455.

[7] LEI A, CHEN H, SHEN G, et al. Expression of fatty acid synthesis genes and fatty acid accumulation in *Haematococcus pluvialis* under different stressors [J/OL]. Biotechnol Biofuels, 2012, 5(1): 18 [2022-11-09]. <https://doi.org/10.1186/1754-6834-5-18>.

[8] CHEN J W, LIU W J, HU D X, et al. Identification of a malonyl CoA-acyl carrier protein transacylase and its regulatory role in fatty acid biosynthesis in oleaginous microalga *Nannochloropsis oceanica* [J]. Biotechnol Appl Biochem, 2017, 64(5): 620-626.

[9] LI Z, MENG T, LING X, et al. Overexpression of malonyl-CoA: ACP transacylase in *Schizochytrium* sp. to improve polyunsaturated fatty acid production [J]. J Agric Food Chem, 2018, 66(21): 5382-5391.

[10] TANK W, LEE Y K. Expression of the heterologous *Dunaliella tertiolecta* fatty acyl-ACP thioesterase leads to increased lipid production in *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. J Biotechnol, 2017, 247: 60-67.

[11] 李逸, 王潮岗, 胡章立. 利用基因工程技术提高微藻油脂含量的研究进展[J]. 生物技术通报, 2015, 31(3): 70-81.

[12] BALAMURUGAN S, WANG X, WANG H L, et al. Occurrence of plastidial triacylglycerol synthesis and the potential regulatory role of AGPAT in the model diatom *Phaeodactylum tricorutum* [J/OL]. Biotechnol Biofuels, 2017, 10(1): 97 [2022-11-09]. <https://doi.org/10.1186/s13068-017-0786-0>.

[13] NIU Y F, WANG X, HU D X, et al. Molecular characterization of a glycerol-3-phosphate acyltransferase reveals key features essential for triacylglycerol production in *Phaeodactylum tricorutum* [J/OL]. Biotechnol Biofuels, 2016, 9: 60 [2022-11-09]. <https://doi.org/10.1186/s13068-016-0478-1>.

[14] LV H, QU G, QI X, et al. Transcriptome analysis of *Chlamydomonas reinhardtii* during the process of lipid accumulation [J]. Genomics, 2013, 101(4): 229-237.

[15] YAMAOKA Y, ACHARD D, JANG S, et al. Identification of a *Chlamydomonas* plastidial 2-lysophosphatidic acid acyltransferase and its use to engineer microalgae with increased oil content [J]. Plant Biotechnol J, 2016, 14(11): 2158-2167.

[16] WEI H, SHI Y, MA X, et al. A type-I diacylglycerol acyltransferase modulates triacylglycerol biosynthesis and

- fatty acid composition in the oleaginous microalga, *Nannochloropsis oceanica* [J/OL]. *Biotechnol Biofuels*, 2017, 10: 174 [2022 - 11 - 09]. <https://doi.org/10.1186/s13068-017-0858-1>.
- [17] BEACHAMT A, ALI S T. Growth dependent silencing and resetting of DGA1 transgene in *Nannochloropsis salina* [J]. *Algal Res*, 2016, 14: 65 - 71.
- [18] DINAMARCA J, LEVITAN O, KUMARASWAMY K, et al. Overexpression of a diacylglycerol acyltransferase gene in *Phaeodactylum tricornutum* directs carbon towards lipid biosynthesis[J]. *J Phycol*, 2017, 53(2): 405 - 414.
- [19] ZULUN N, POPKO J, ZIENKIEWICZ K, et al. Heterologous co - expression of a yeast diacylglycerol acyltransferase ( *ScDGA1* ) and a plant oleosin ( *AtOLEO3* ) as an efficient tool for enhancing triacylglycerol accumulation in the marine diatom *Phaeodactylum tricornutum*[J/OL]. *Biotechnol Biofuels*, 2017, 10: 187 [2022 - 11 - 09]. <https://doi.org/10.1186/s13068-017-0874-1>.
- [20] 刘强, 张贵友, 陈受宜. 植物转录因子的结构与调控作用[J]. *科学通报*, 2000, 45(14): 1465 - 1474.
- [21] 刘怡麟, 王帅, 朱俐铭, 等. 红花 *CbZIP47* 基因的表达分析及调控酵母油脂合成的作用研究[J/OL]. *吉林农业大学学报*, 2021; 1 - 8 [2022 - 11 - 09]. <https://doi.org/10.13327/j.jjlau.2021.1352>.
- [22] BAI F, ZHANG Y, LIU J. A bZIP transcription factor is involved in regulating lipid and pigment metabolisms in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii*[J/OL]. *Algal Res*, 2021, 59: 102450 [2022 - 11 - 09]. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102450>.
- [23] JI C, MAO X, HAO J, et al. Analysis of bZIP transcription factor family and their expressions under salt stress in *Chlamydomonas reinhardtii* [J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(9): 2800 [2022 - 11 - 09]. <https://doi.org/10.3390/ijms19092800>.
- [24] LEE H, SHINW S, KIM Y U, et al. Enhancement of lipid production under heterotrophic conditions by overexpression of an endogenous bZIP transcription factor in *Chlorella* sp. HS2 [J]. *J Microbiol Biotechnol*, 2020, 30(10): 1597 - 1606.
- [25] KWON S, KANGN K, KOH H G, et al. Enhancement of biomass and lipid productivity by overexpression of a bZIP transcription factor in *Nannochloropsis salina* [J]. *Biotechnol Bioeng*, 2018, 115(2): 331 - 340.
- [26] HU J, WANG D, LI J, et al. Genome - wide identification of transcription factors and transcription - factor binding sites in oleaginous microalgae *Nannochloropsis*[J/OL]. *Sci Rep*, 2014, 4: 5454 [2022 - 11 - 09]. <https://doi.org/10.1038/srep05454>.
- [27] LI S, HUANG H, MA X, et al. Characterizations of MYB transcription factors in *Camellia oleifera* reveal the key regulators involved in oil biosynthesis [J/OL]. *Horticulturae*, 2022, 8(8): 742 [2022 - 11 - 09]. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8080742>.
- [28] SHI M, YU L, SHI J, et al. A conserved MYB transcription factor is involved in regulating lipid metabolic pathways for oil biosynthesis in green algae[J]. *New Phytol*, 2022, 235(2): 576 - 594.
- [29] XING G, LI J, LI W, et al. AP2/ERF and R2R3 - MYB family transcription factors: Potential associations between temperature stress and lipid metabolism in *Auxenochlorella protothecoides* [J/OL]. *Biotechnol Biofuels*, 2021, 14(1): 22 [2022 - 11 - 09]. <https://doi.org/10.1186/s13068-021-01881-6>.
- [30] CHOI B Y, SHIM D, KONG F, et al. The *Chlamydomonas* transcription factor MYB1 mediates lipid accumulation under nitrogen depletion [J]. *New Phytol*, 2022, 235(2): 595 - 610.
- [31] LI D, JIN C, DUAN S, et al. MYB89 transcription factor represses seed oil accumulation[J]. *Plant Physiol*, 2017, 173(2): 1211 - 1225.
- [32] 靳容, 蒋薇, 刘明, 等. 甘薯 Dof 基因家族挖掘及表达分析[J]. *作物学报*, 2022, 48(3): 608 - 623.
- [33] IBÁÑEZ - SALAZAR A, ROSALES - MENDOZA S, ROCHA - URIBE A, et al. Over - expression of Dof - type transcription factor increases lipid production in *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. *J Biotechnol*, 2014, 184: 27 - 38.
- [34] ZHANG J, HAO Q, BAI L, et al. Overexpression of the soybean transcription factor GmDof4 significantly enhances the lipid content of *Chlorella ellipsoidea* [J/OL]. *Biotechnol Biofuels*, 2014, 7(1): 128 [2022 - 11 - 09]. <https://doi.org/10.1186/s13068-014-0128-4>.
- [35] SALAS - MONTANTES C J, GONZÁLEZ - ORTEGA O, OCHOA - ALFARO A E, et al. Lipid accumulation during nitrogen and sulfur starvation in *Chlamydomonas reinhardtii* overexpressing a transcription factor [J]. *J Appl Phycol*, 2018, 30(3): 1721 - 1733.
- [36] TOKUNAGA S, SANDA S, URAGUCHI Y, et al. Overexpression of the DOF - type transcription factor enhances lipid synthesis in *Chlorella vulgaris*[J]. *Appl Biochem Biotechnol*, 2019, 189(1): 116 - 128.

- [18] 高红亮, 谭静, 常忠义, 等. 一种提高大豆多糖水溶液透明度的方法: CN201310061306.3[P]. 2013-05-29.
- [19] GECA M, WIŚNIEWSKA M, NOWICKI P. Biochars and activated carbons as adsorbents of inorganic and organic compounds from multicomponent systems: A review[J/OL]. *Adv Colloid Interface Sci*, 2022, 305: 102687 [2023-02-13]. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2022.102687>.
- [20] REN Y Y, ZHU Z Y, SUN H Q, et al. Structural characterization and inhibition on  $\alpha$ -glucosidase activity of acidic polysaccharide from *Annona squamosa* [J]. *Carbohydr Polym*, 2017, 174: 1-12.
- [21] WANG S, LI G, ZHANG X, et al. Structural characterization and antioxidant activity of *Polygonatum sibiricum* polysaccharides [J/OL]. *Carbohydr Polym*, 2022, 291(1): 119524 [2023-12-03]. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.119524>.
- [22] HALLIWELL B, GUTTERIDGE J M, ARUOMA O I. The deoxyribose method: A simple "test-tube" assay for determination of rate constants for reactions of hydroxyl radicals[J]. *Anal Biochem*, 1987, 165(1): 215-219.
- [23] HU Z, ZHOU H, ZHAO J, et al. Microwave-assisted extraction, characterization and immunomodulatory activity on RAW264.7 cells of polysaccharides from *Trichosanthes kirilowii* Maxim seeds [J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 164(1): 2861-2872.
- [24] YANG X, HUANG M, QIN C, et al. Structural characterization and evaluation of the antioxidant activities of polysaccharides extracted from Qingzhuan brick tea [J]. *Int J Biol Macromol*, 2017, 101: 768-775.
- [25] 韩明会, 刘彦涛, 朱妙馨, 等. 不同温度下分级水提罗望子多糖的结构与性质[J]. *林业工程学报*, 2018, 3(5): 71-77.
- [26] LI X, XIA W. Effects of concentration, degree of deacetylation and molecular weight on emulsifying properties of chitosan [J]. *Int J Biol Macromol*, 2011, 48(5): 768-772.
- [27] SHAO P, FENG J, SUN P, et al. Recent advances in improving stability of food emulsion by plant polysaccharides [J/OL]. *Food Res Int*, 2020, 137: 109376 [2023-02-13]. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109376>.
- [28] JIN Q, LI X, CAI Z, et al. A comparison of corn fiber gum, hydrophobically modified starch, gum arabic and soybean soluble polysaccharide: Interfacial dynamics, viscoelastic response at oil/water interfaces and emulsion stabilization mechanisms [J]. *Food Hydrocolloid*, 2017, 70: 329-344.
- [29] 张权, 陈洁, 曾茂茂, 等. 制造过程对可溶性大豆多糖结构和产物起泡性的影响[J]. *食品与机械*, 2020, 36(7): 33-38.
- [30] 陈洋, 张行荣, 尚衍波, 等. 起泡剂性能测试方法及影响泡沫稳定性的因素[J]. *中国矿业*, 2014, 23(S2): 230-234.
- 
- (上接第 102 页)
- [37] JIA B, XIE X, WU M, et al. Understanding the functions of endogenous DOF transcript factor in *Chlamydomonas reinhardtii* [J/OL]. *Biotechnol Biofuels*, 2019, 12: 67 [2022-11-09]. <https://doi.org/10.1186/s13068-019-1403-1>.
- [38] DUEKP D, FANKHAUSER C. bHLH class transcription factors take centre stage in phytochrome signalling [J]. *Trends Plant Sci*, 2005, 10(2): 51-54.
- [39] TOLEDO-ORTIZ G, HUQ E, QUAILP H. The *Arabidopsis* basic/helix-loop-helix transcription factor family [J]. *Plant Cell*, 2003, 15(8): 1749-1770.
- [40] KANGN K, JEON S, KWON S, et al. Effects of overexpression of a bHLH transcription factor on biomass and lipid production in *Nannochloropsis salina* [J/OL]. *Biotechnol Biofuels*, 2015, 8: 200 [2022-11-09]. <https://doi.org/10.1186/s13068-015-0386-9>.
- [41] LI L, ZHANG G, WANG Q. De novo transcriptomic analysis of *Chlorella sorokiniana* reveals differential genes expression in photosynthetic carbon fixation and lipid production [J/OL]. *BMC Microbiol*, 2016, 16(1): 223 [2022-11-09]. <https://doi.org/10.1186/s12866-016-0839-8>.
- [42] 李玉兰, 孙勤富, 王幼平. 植物油脂合成的转录调控研究进展 [J]. *分子植物育种*, 2016, 14(9): 2509-2518.
- [43] LIU X, ZHANG D, ZHANG J, et al. Overexpression of the transcription factor *AtLEC1* significantly improved the lipid content of *Chlorella ellipsoidea* [J/OL]. *Front Bioeng Biotechnol*, 2021, 9: 626162 [2022-11-09]. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.626162>.
- [44] LIU Y, HUO X, YU S, et al. Quantitative proteomic analysis to understand the role of *Arabidopsis thaliana* LEAFY COTYLEDON 2 in promoting lipid accumulation in *Chlorella sorokiniana* by upregulating photosynthetic proteins and G3PDH [J]. *J Appl Phycol*, 2022, 34(6): 3035-3046.
- [45] SHANG C, BI G, YUAN Z, et al. Discovery of genes for production of biofuels through transcriptome sequencing of *Dunaliella parva* [J]. *Algal Res*, 2016, 13: 318-326.
- [46] SHANG C, PANGB, YU H, et al. Identification of targets of transcription factor WRINKLED1-like related to lipid biosynthesis from marine microalga *Dunaliella parva* [J/OL]. *Front Mar Sci*, 2022, 8: 807493 [2022-11-09]. <https://doi.org/10.3389/fmars.2021.807493>.