doi:10.3969/j.issn.1000-9760.2013.04.003

海洋微藻 PUFAs 及合成酶基因在肿瘤预防和治疗中的应用

马晓磊 张向阳 黄延红
(济宁医学院基础学院,山东 济宁 272067)

摘 要 多不饱和脂肪酸(PUFAs)对人类的健康至关重要,参与了人体内许多重要的生理反应,尤其是体内 n-3 PUFAs 和 n-6 PUFAs 的相对含量与肿瘤预防和治疗有关。除了在饮食中添加富含 n-3 PUFAs 和 n-6 PUFAs 外,利用 PUFAs 合成关键酶基因作用于底物在体内合成也是一个重要的途径。研究已获得海洋微藻中多个 PUFAs 合成关键酶基因,转入肿瘤的宿主细胞后发现该基因在肿瘤细胞内能进行有效异源表达,抑制肿瘤细胞的增殖且导致凋亡,展示了该类基因在肿瘤的基因治疗中具有良好的应用价值。

关键词 海洋微藻;PUFAs;合成酶基因;基因治疗
中图分类号:R34 **文献标志码**:A **文章编号**:1000-9760(2013)08-239-06

Marine microalgae PUFAs and synthetase genes application in tumor prevention and treatment

MA Xiao-lei, ZHANG Xiang-yang, HUANG Yan-hong
(Academy of Basic Medicine, Jining Medical University, Jining 272067, China)

Abstract: PUFAs was essential for human health, and involved in many important physiological reaction in the human body. Especially the relative content of n-3 PUFAs/n-6 PUFAs was associated with the treatment and prevention of tumor. We can obtain PUFAs from diet which rich in n-3 PUFAs and n-6 PUFAs, and also synthesize PUFAs with the help of PUFAs synthetase gene using fatty acid substances. Study showed that PUFAs synthetase genes of marine microalgae can express effectively in tumor cells, inhibit cell proliferation and lead to apoptosis. It proved that these genes can be applied to tumor cell therapy with good value.

Key words: Marine microalgae; PUFAs and synthetase gene; Gene therapy

多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acids,PUFAs)是指长链中有 16～22 个碳原子,且含有至少 2 个以上双键的直链脂肪酸。根据双键的位置及功能的不同将其分为 n-3 PUFAs 和 n-6 PUFAs,其中第一个双键位于甲基端第 3,4 碳原子之间的为 n-3 PUFAs。n-3 PUFAs 人体自身不能合成,必须从食物中获得,属于必需脂肪酸,是细胞磷脂的主要成分,包括 α-亚麻酸(α-linolenci acid,ALA)、二十碳五烯酸(eicosapentaenoic acid,EPA)和二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid,DHA)。脂肪饮食包括 n-3 PUFAs 和 n-6 PUFAs,二者在许多人体的生命活动中都扮演重要的角色。人体不能合成 n-3 PUFA 和 n-6 PUFAs,它们是必需脂肪酸。尽管所有的哺乳动物细胞能使 PUFAs 通过延长、去饱和、逆转等作用在族内相互转变,但是由于缺乏能编码 n-3 去饱和酶基因(Fat-1),这两种脂肪酸是不能相互转变的[1]。人体要获得 PUFAs 只有 2 个途径:1)直接富含 PUFAs 的食物中获得,目前能提供 PUFAs 的主要是一些低等生物,要考虑其安全性;2)利用自身已有的脂肪酸作为底物,外源转入的 PUFAs 合成关键酶基因在体内合成。

1 海洋微藻生产 PUFAs 的研究

目前,PUFAs 的主要来源是深海鱼油,但是鱼类并不是 PUFAs 的真正生产者,它是通过吞食富含 PUFAs 的藻类(海洋微藻→浮游动物→鱼类)后在体内实现 PUFAs 的积累,因此,海洋微藻才是 PUFAs 的真正生产者[2]。海洋微藻是海洋食物链的初级生产者,许多物种中 PUFAs 含量较高,尤其是 n-3PUFAs,其脂肪酸具有组成稳定,不含胆固醇,没有难闻的鱼腥味和重金属污染等优

点,正逐步成为 PUFAs 的一个重要来源[3]。海洋微藻约占海洋生物物种的 40% ～86% ,大量的研究表明微藻细胞中 PUFAs 含量较高,大多数微藻的油脂含量在 20% 以上,通过异养培养技术可获得油脂含量高达细胞干重 55% 的藻细胞[3]。有专门对 4 个门(金藻门、硅藻门、绿藻门、蓝藻门)的 32 株海洋微藻进行的研究发现特定条件下的一次性培养,在指数生长末期采收,对其进行总脂含量和脂肪酸组成的分析,13 株海洋微藻的总脂含量占干重的 11.2% ～29.7% ,其他 19 株在 3.2% ～9.2% 之间。每个门的微藻脂肪酸组成都有各自特点,金藻门中含大量 17 ∶0、14 ∶1、16 ∶1、22 ∶ln9、18 ∶2n6、18 ∶3n6、20 ∶2、20 ∶4n6、20 ∶5n3、22 ∶6n3;硅藻门中 l6 ∶1、22 ∶ln9、18 ∶3n6、20 ∶2、20 ∶4n6 含量较高;绿藻门中 17 ∶0、22 ∶In9、24 ∶1、18 ∶2n6t、18 ∶3n6、20 ∶2、20 ∶4n6、20 ∶5n3、22 ∶6n3 含量较高,且基本都含有 20 ∶5n3、22 ∶6n3;蓝藻门中的聚球藻富含 23 ∶0、22 ∶ln9、18 ∶3n6、20 ∶2、22 ∶6n3。32 株海洋微藻中长链脂肪酸的含量都很高,均在 70% 以上[4]。

国内外的大量研究发现 n-3 PUFAs 在海洋微藻中的含量较高,如紫球藻(Porphyridium cruentum)、微拟球藻属(Nannochloropsis)、三角褐指藻(Phaeodactylum tricornutum)和蒜头藻(Monodus subterraneus)等都富含 EPA,而寇氏隐甲藻(Crypthecodinium cohnii)、盐生蓝隐藻(Chroomonas salina)和球等鞭金藻(Isochrysis galbana)等微藻中的 DHA 含量较高。表 1 列出了几株研究较多的海洋经济微藻中的 EPA 和 DHA 的含量。

我们的研究发现了一株富含 EPA 的海洋真核单胞藻一微拟球藻(N. oculata)CS-179,该藻属于真眼点藻纲,微拟球藻属,是一类重要的海产单细胞经济微藻。在日本、澳大利亚、以色列等国家已实现了大规模养殖,用来生产高纯度的 EPA,国际市场供不应求。该藻细胞微小,细胞壁极薄,生长适应性强,繁殖速度快,是一个广温广盐的藻种,在水体中具有极强的竞争优势,易于纯化、培养和进行分子生物学操作,其脂肪酸组成简单,只含 EPA 未检测到 DHA。实验测得该藻在不同培养温度下脂肪酸的种类与含量都会发生改变(表 2),在稍低于最适培养温度的培养条件该藻细胞中 EPA 和 PUFAs(20℃)的含量是最高的,达到总脂肪酸的 53.48% 和 61.77% ,而且该藻不含 DHA 及其生成过程中的某些中间产物,有利于 EPA 的下游分离纯化,可直接培养提取 EPA/PUFAs 添加到人类膳食中。

2 PUFAs 合成关键酶基因

PUFAs 通常由饱和脂肪酸的前体经一系列去饱和与延伸反应合成而来。绝大多数生物体进行的是需氧合成的途径,在不同的生物体其合成路经也各不相同,PUFAs 生物合成途径如图 1 所示。真核生物 PUFAs 的生物合成都是从亚油酸和 α-亚麻酸的 Δ6-去饱和酶作用开始的,接着在 Δ6-延伸酶的作用下延伸 18C 到 20C 脂肪酸,然后由 Δ5-去饱和酶催化生成 AA 和 EPA。植物以硬脂酸为底物,经过 Δ9、Δ12、Δ15 3 个去饱和酶的连续催化作用下生成 α-亚油酸。动物中存在着 2 条经典的生物合成路径 n3 和 n6。n6 途径经过 4 步去饱和与 1 步延伸生成花生四烯酸;n3 途径较复杂,经过 5 步去饱和与 3 步延伸最后生成 DHA,EPA 是中间产物。Δ8-去饱和途径也是在哺乳动物组织中发现的,有资料表明 Δ8 去饱和途径的发生伴随着 Δ6 去饱和作用的降低或消失。所谓的“Sprecher”通路,不依赖于 Δ4-去饱和酶,而是包括 2 步连续的 C2 延伸、Δ6 去饱和以及发生于过氧化物酶体的 β-氧化,该路径主要在球等鞭金藻中发现。此外,还从海洋生物-破囊壶菌和淡水眼虫(Euglena graciliszh)中分离得到 Δ4-去饱和酶基因。

表 1 典型海洋微藻中 EPA 和 DHA 含量(%)

类别	藻种名称 Names	EPA 占总脂肪酸	EPA 占总脂	DHA 占总脂肪酸	DHA 占总脂
硅藻	三角褐指藻(P. tricomutum)	9.1～39.0	3.7～10.8	1.1～5.3	1.0～2.2
	假微型海链藻(Thalassiosira pseudonana)	7.7～32.7	—	1.4～6.2	—
绿藻	微小小球藻(Chlorella minutissima)	16.2～44.7	6.4～20.0	—	—
	微拟球藻(N. oculata)	13.0～40.0	—	0～0.6	—
金藻	球等鞭金藻(I. galbana)	8.0～12.8	13.2～32.0	3.6～6.4	4.3～13.4
	盐生巴夫藻(pavlova salina)	25.4～28.2	—	10.2～11.0	—
甲藻	渤海螺甲藻(Gymnodinium sp.)	13.3～13.7	6.5	31.9～32.3	15.5～15.6
蓝藻	集胞藻(Synechocystis sp.)	—	—	—	—
隐藻	盐生蓝隐藻(C. salina)	10.9～12.9	—	5.2～7.1	—

表 2 不同培养温度下微拟球藻细胞中 PUFAs 的种类与含量变化[5]

FA \ 温度	10℃	15℃	20℃	25℃	30℃
C14:0	7.77±0.08[c]	6.21±0.05[d]	3.36±0.23[b]	5.66±0.10[bc]	4.84±0.09[a]
C14:1	3.80±0.34[b]	1.00±0.24[a]	2.52±0.27[ab]	1.46±0.05[ab]	2.13±0.29[b]
C16:0	29.20±0.93[c]	29.75±1.40[c]	19.79±0.90[b]	24.67±0.36[b]	20.29±0.19[a]
C16:1	4.11±0.13[a]	1.86±0.27[a]	6.33±0.43[b]	4.70±0.17[b]	11.76±0.31[c]
C18:0	5.55±0.20[b]	7.88±0.39[c]	2.45±0.09[a]	4.38±0.58[b]	4.05±0.17[b]
C18:1	4.35±0.11[bc]	1.98±0.18[ab]	3.79±0.11[a]	4.72±0.09[d]	2.53±0.30[c]
C18:2	1.53±0.28[a]	1.09±0.29[a]	1.37±0.32[a]	ND	ND
C20:3	2.25±0.30[a]	1.40±0.22[b]	ND	ND	ND
C20:4	8.57±0.20[c]	6.19±0.18[a]	6.92±0.19[b]	7.41±0.27[b]	6.95±0.07[b]
C20:5	41.55±1.42[a]	44.40±0.09[b]	53.48±1.06[d]	47.34±0.91[e]	37.45±0.19[c]
SFAs	45.19±0.01[c]	43.74±0.02[d]	25.60±0.01[ab]	33.70±0.02[b]	29.17±0.03[a]
MUFAs	12.25±0.003[b]	4.84±0.003[a]	12.63±0.003[c]	10.54±0.003[d]	16.42±0.003[e]
PUFAs	42.56±0.010[b]	51.41±0.017[a]	61.77±0.011[c]	55.75±0.016[b]	54.41±0.002[a]

注:不同的字母(a,b,c,d or e)代表差异显著($P<0.05$);FA:脂肪酸;SFAs:饱和脂肪酸;MUFAs:单不饱和脂肪酸;PUFAs:多不饱和脂肪酸;ND:未测到。

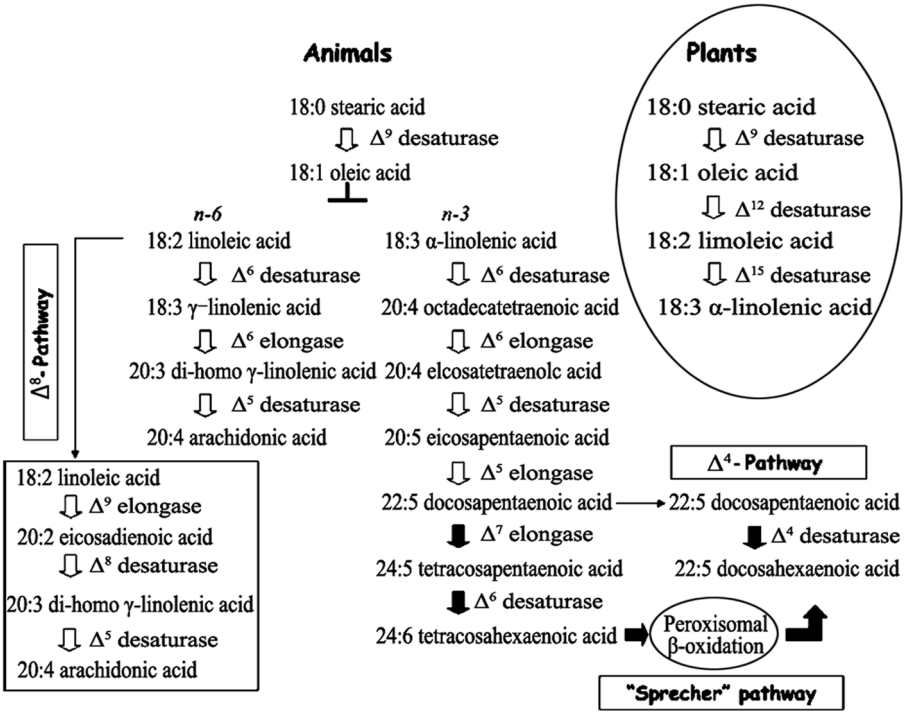

图 1 PUFAs 的生物合成路径[6]

哺乳动物不能从头合成 PUFAs,n-3 PUFAs 和 n-6 PUFAs 分别在在 ALA 和亚油酸(linoleic acid,LA)的基础上衍生而来,其中第一个催化反应的关键限速酶为 Δ6-去饱和酶,该酶的活性直接决定了机体内 PUFAs 的合成速度。人类体内缺乏这些关键的去饱和酶和延伸酶,不能催化生成 PUFAs,并且 n-3 PUFAs 和 n-6 PUFAs 之间也不能相互转化,只能从日常的膳食中获得这些 PUFAs。

海洋微藻还具有从头合成 PUFAs 的能力,表明其细胞内含有丰富的合成 PUFAs 的酶系。研究者已经在多个海洋微藻中克隆到了 PUFAs 合成的关键去饱和酶和延伸酶基因,并且大部分已经在酿酒酵母真核表达体系中进行了初步的功能验证(表 3)。已有的研究证明,低等生物(线虫)Δ12-脂肪酸去饱和酶能够在哺乳动物中重建 PUFAs 生物合成路径,利用细胞中的油酸合成亚油酸[7]。这些丰富的 n-3PUFAs 及其相关的合成酶基因资源就为我们研究动物瘤细胞和癌细胞的治疗提供了丰富的资源。

表 3 已克隆和表达的微藻去饱和酶与延伸酶基因

藻种	基因	参考文献
集胞藻 PCC6803	Δ9、Δ12、ω3 和 Δ6 去饱和酶	[8]
莱茵衣藻	叶绿体 ω6(Δ12)去饱和酶	[9]
红藻	Δ9 去饱和酶	[10]
三角褐指藻	Δ5、Δ6、Δ12 去饱和酶	[11-12]
球等鞭金藻	Δ4 去饱和酶;Δ9 延伸酶	[13-14]
陆兹尔巴夫藻	Δ4 去饱和酶	[15]
巴夫藻 CCMP459	Δ5 延伸酶	[13]
盐生巴夫藻	Δ4、Δ5、Δ8 去饱和酶和 Δ5 延伸酶	[16-17]
绿色巴夫藻	C20 延伸酶	[18]
假微型海链藻	Δ4、Δ5、Δ6、Δ8 和 Δ11 去饱和酶;Δ6 延伸酶	[16,19-20]
绿色游藻	Δ6 酰基辅酶 A 去饱和酶和 Δ5 延伸酶	[21-22]
微拟球藻	Δ6 去饱和酶和延伸酶	[23-24]

到目前为止,我们关于微拟球藻的分子生物学研究包括成功构建了两个文库:EST 文库和 cDNA 全长文库[25-26]。从文库中查找基因片段结合 RACE 技术(rapid amplification of cDNA end)获得其中 3 个关键酶基因— Δ6-去饱和酶,延伸酶基因和长链脂酰辅酶 A 合成酶基因[23-24,27]。研究还证明在稍低于最适培养温度 20℃培养的藻细胞中,PUFAs 生物合成的关键酶基因转录水平及活性都是最高的[5],这就为我们研究肿瘤的基因治疗提供了丰富的酶基因资源。

3 PUFAs 及其合成酶基因与肿瘤关系的研究

已有的研究表明维持细胞稳态和正常生长起关键作用的不是 n-6PUFAs、n-3 PUFAs 的绝对水平,而是二者之间的比率。n-3 PUFAs 能够抑制动物肿瘤和癌细胞的生长,而 n-6PUFAs 则起到相反的作用[28-29]。人体内,理想的 n-3PUFAs/n-6 PUFAs 应该是 1∶4 到 1∶1 之间。n-3PUFAs 具有重要的生理功能与保健意义,临床实验证明持续添加 n-3PUFAs 到直肠癌和乳腺癌病人的饮食中,对肿瘤的发展有很好的抑制作用[30-31]。因此,我们可通过筛选富含 n-3 PUFAs 的藻株大量培养获得其中的 PUFAs 添加到食品或者药品中,改变机体内 n-3PUFAs/n-6 PUFAs 的含量,调节机体内某些代谢相关的关键因子的水平,达到对疾病进行预防的目的。

基于大量 PUFAs 基因资源的获得,近年的研究集中到了 n-3PUFAs 合成相关酶基因与肿瘤之间的相关性研究上。最早的研究是从线虫的 n-3 去饱和酶开始,研究发现转该基因进入哺乳动物细胞中发现可以优化其脂肪酸的组成[32]。随后的研究转向了 PUFAs 相关酶基因对肿瘤的预防和治疗上。在人胃癌 SGC7901 细胞系上转入外源秀丽隐杆线虫(Caenorhabditis elegans)的脂肪酸脱氢酶基因(fat-1)显示了 n-3 脂肪酸饱和酶的高表达,n-6PUFAs/n-3PUFAs 比例从 10.45 下降到了 0.79,同时,fat-1 基因的转移导致大量胃癌细胞的凋亡,抑制了胃癌细胞的增殖[33];李茂刚等[34]的研究证明 fat-1 基因同样可以改变大肠癌细胞 HT-29 细胞中 n-6PUFAs/n-3PUFAs 比例,促进癌细胞凋亡,抑制其增殖;杨凯等[35]研究发现结直肠癌患者 PUFA 代谢以 n-6 PUFA 占优势,n-6 脂肪酸代谢途径较 n-3 代谢途径活跃,与结直肠癌的发生、发展有一定的关系,可能为结直肠癌的防治提供一种手段;n-6 脂肪酸脱氢酶基因能在乳腺癌细胞 MCF-7 细胞内有效异源表达,抑制 MCF-7 细胞的增殖且导致凋亡,前列腺素的含量也明显地减少,说明 n-6 脂肪酸脱氢酶基因在乳腺癌的基因治疗中具有良好利用价值[36];n-3 多不饱和脂肪酸脱氢酶基因在人肺癌细胞 H460 中能够进行有效的异源表达,基因表达产物能有效地抑制肺癌细胞的增殖率($P<0.05$),气相色谱分析基因表达前后细胞中 n-6 PUFAs/n-3 PUFAs 比例降低($P<0.05$),为将该基因用于癌症的转基因治疗奠定了基础[37]。

这些研究所利用的基因资源来源于线虫,相比较而言,海洋微藻中含有的酶基因更丰富、安全,亦可作为肿瘤治疗研究的基因来源,但是海洋微藻是低等生物,与动物差别很大,其基因是否能够在高等生物中进行表达是该领域研究的一个盲点。到目前为止,仅有李艳君等[38]研究证明小球藻的 n-3 脱氢酶基因能在人乳腺瘤细胞 MCF-7 内进行有效

地表达，发挥其功能，抑制人乳腺瘤细胞 MCF-7 的增殖，并且增加了细胞膜 n-3PUFAs 的含量。

皮兹堡大学泌尿外科与癌症研究中心的最新研究证实给予 n-3PUFAs 饮食的小鼠与给予 n-6PUFAs 饮食的小鼠相比，其前列腺癌（PCa）细胞系 Los Angeles Prostate Cancer-4（LAPC-4）肿瘤复发、PSA 倍增时间有延迟的倾向。这个研究试图阐明 n-3 脂肪酸可能是通过与 LA 代谢酶 15-脂肪氧化酶-1（15-LO-1，ALOX15）和 AA 酶（环氧合酶 COXs）途径竞争，从而对癌细胞产生促凋亡和减缓增殖作用。因此，我们用摄入 n-3 PUFAs 的方法来阻止癌症的发生，这是在抗 PCa 和抗 PCa 复发中一个有效的重要策略。实验结果证实了 LAPC-4 细胞可以表达活性 15-LO-1 和 COX 酶，也证实了在体外 LA 和 AA 脂肪酸是处于高增殖状态的。在 n-6 和 n-3 脂肪酸共同的代谢途径，除 15-LO-1 酶催化第一个限速步骤外，△6-去饱和酶也催化该步骤（图 2）。这也为我们初步探讨 PUFAs 及其合成关键酶基因在肿瘤细胞中的作用机制提供了理论依据。

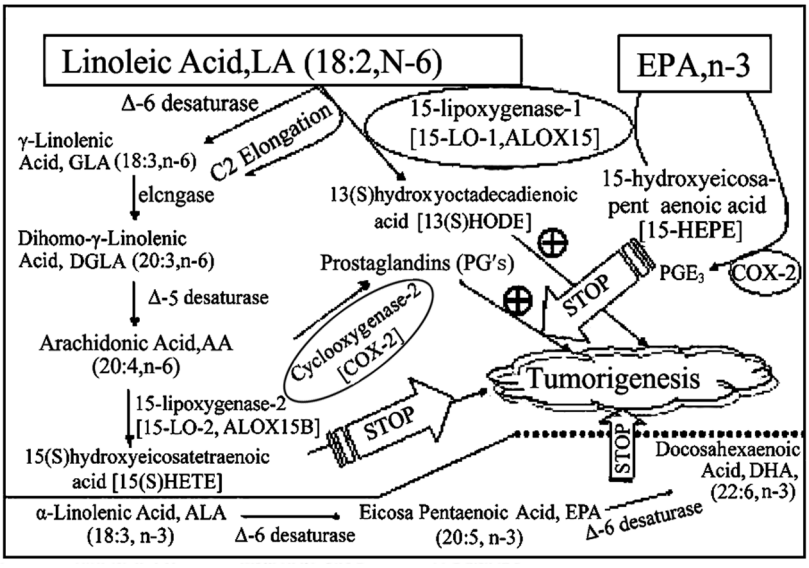

图 2 ω-3 和 ω-6 脂肪酸对 LA 和 AA 途径酶的调节

基于我们的研究工作基础，后续的研究重点集中在下面几个方面：验证该基因是否能够在宿主哺乳动物细胞和肿瘤细胞中进行有效的异源表达，其表达是否是高丰度，对细胞 PUFAs 种类与含量的影响，对细胞生长的影响，从而确定该基因在疾病预防和基因治疗领域的应用价值。

参考文献：

[1] Spychalla JP，Kinney AJ，Browse J. Identification of an animal omega-3 fatty acid desaturase by heterologous expression in Arabidopsis[J]. Proc Natl Acad Sci USA，1997，94(4)：1142-1147.

[2] Domergue F，Abbadi A，Heinz E. Relief for fish stocks：oceanic fatty acids in transgenic oilseeds[J]. Trends Plant Sci，2005，10(3)：112-116.

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

[4] 卢丽娜，孙利芹，田焕玲，等. 32 株海洋微藻总脂含量及其脂肪酸组成研究[J]. 中国油脂，2009，34(1)：68-73.

[5] Ma XL，Zhang L，Zhu BH，et al. Low-temperature affected LC-PUFA conversion and associated gene transcript level in Nannochloropsis oculata CS179[J]. J Ocean Univ China，2011，10(3)：1-5.

[6] Sayanova VO，Napier JA. Eicosapentaenoic acid：biosynthetic routes and the potential for synthesis in transgenic plants[J]. Phytochemistry，2004，65(2)：147-158.

[7] 孔平，杜茁，汤波，等. 转基因哺乳动物细胞自合成多不饱和脂肪酸[J]. 生物化学与生物物理学进展，2008，35(11)：1305-1311.

[8] Los DA，Murata N. Structure and expression of fatty acid desaturases[J]. Biochim Biophysica Acta，1998，1394(1)：3-15.

[9] Sato R，Yang J，Wang X，et al. Assignment of the membrane attachment，DNA binding，and transcriptional activation domains of sterol regulatory element-binding protein-1(SREBP-1)[J]. J Biol Chem，1994，269(25)：17267-17273.

[10] Itoh R，Toda K，Takahashi H，et al. Δ9-fatty acid desaturase gene containing a carboxyl-terminal cytochrome b5 domain form the red alga cyanidioschyzon merolae[J]. Curr Genet，1998，33(3)：165-170.

[11] Domergue F，Lerchl J，Zahringer U，et al. Cloning and functional characterization of phaeodactylum tricornutum front-

end desaturases involved in eicosapentaenoic acid biosynthesis [J].Eur J Biochem ,2002 ,269(16):4105-4113 .

[12] Domergue F ,Spiekermann P ,Lerchl J ,et al .New insight into Phaeodactylum tricornutum fatty acid metabolism . Cloning and functional characterization of plastidial and microsomal Δ12-fatty acid desaturases [J]. Plant Physiol ,2003 ,131 (4): 1648-1660 .

[13] Pereira SL ,Leonard AE ,Huang YS ,et al .Identification of two novel microalgal enzymes involved in the conversion of the ω3-fatty acid ,eicosapentaenoic acid ,into docosahexaenoic acid[J].Biochem J ,2004 ,384(Pt2):357-366 .

[14] Qi BX ,Beaudoin F ,Fraser T ,et al .Identification of a cDNA encoding a novel C18-Δ9 polyunsaturated fatty acid-specific elongating activity from the docosahexaenoic acid (DHA)-producing microalgae , Isochrysis galbana [J]. FEBS Lett , 2002 ,510(3):159-165 .

[15] Tonon T ,Harvey D ,Tony R ,et al .Identification of a very long chain polyunsaturated fatty acid Δ4-desaturase from the microalga Pavlova lutheri [J]. FEBS Letters ,2003 ,553 (3): 440-444 .

[16] Zhou XR ,Robert SS ,Petrie JR ,et al .Isolation and characterization of gene from the marine microalgae Pavlova salina encoding three front-end desaturase involved in docosahexaenoic acid biosynthesis [J]. Phytochemistry letters ,2007 ,68 (6): 785-796 .

[17] Robert SS ,Petrie JR ,Zhou XR ,et al .Isolation and characterisation of a Δ5-fatty acid elongase from the marine microalga pavlova salina[J].Mar Biotechnol ,2009 ,11(3):410-418 .

[18] Niu Y ,Kong J ,Fu L ,et al .Identification of a novel C20-elongase gene from the marine microalgae Pavlova viridis and its expression in Escherichia coli[J].Mar Biotech ,2009 ,11(1): 17-23 .

[19] Tonon T ,Harvey D ,Qing RW ,et al .Identification of a fatty acid Δ11-desaturase from the microalga Thalassiosira pseudonana[J].FEBS Lett ,2003 ,563(1-3):28-34 .

[20] Tonon T ,Sayanova O ,Michaelson LV ,et al .Fatty acid desaturase from microalgae Thalassiosira pseudonana [J]. FEBS Journal ,2005 ,272(13):3401-3412 .

[21] Domergue F ,Abbadi A ,Zahringer U ,et al .In vivo characterization of the first acyl-CoA Δ6-desaturase from the plant kingdom ,the microalga ostreococcus tauri [J]. Biochem J , 2005 ,389(Pt2):483-490 .

[22] Meyer A ,Kirsch H ,Domergue F ,et al .Novel fatty acid elongases and their use for the reconstitution of docosahexaenoic acid biosynthesis[J].J Lipid Res ,2004 ,45(10):1899-1909 .

[23] Pan KH ,Ma XL ,Yu JZ ,et al .Cloning and phylogenetic analysis of a fatty acid elongase gene from Nannochloropsis oculata CS179[J].Journal of Ocean University of China ,2009 ,8 (4):392-398 .

[24] Ma XL ,Yu JZ ,Zhu BH ,et al .Cloning and characterization of a delta-6 desaturase encoding gene of Nannochloropsis oculata[J].Chinese Journal of Oceanology and Limnology ,2011 , 29(2):290-296 .

[25] Yu JZ ,Ma XL ,Pan KH ,et al .Construction and characterization of a normalized cDNA library of Nannochloropsis oculata (Eustigmatophyceae)[J].Chinese Journal of Oceanology and Limnology ,2010 ,28(4):802-807 .

[26] Shi J ,Pan KH ,Yu JZ ,et al .Analysis of expressed sequence tags from the marine microalgae Nannochloropsis oculata (Eustigmatophyceae)[J].J Phycol ,2008 ,44(1):99-102 .

[27] Zhang L ,Ma XL ,Yang GP ,et al .Isolation and characterization of a long-chain acyl-coenzyme a synthetase encoding gene from the marine microalga nannochloropsis oculata[J].J Appl Phycol ,2012 ,24(4):873-880 .

[28] Kang JX .From fat to fat-1 ;a tale of omega-3 fatty acids[J].J Membr Biol ,2005 ,206(2):165-172 .

[29] Domergue F ,Spiekermann P ,Lerchl J ,et al .New insight into Phaeodactylum tricornutum fatty acid metabolism . Cloning and functional characterization of plastidial and microsomal delta12-fatty acid desaturases [J]. Plant Physiol ,2003 ,131 (4):1648-1660 .

[30] Neuringer M .Infant vision and retinal function in studies of dietary long-chain polyunsaturated fatty acids ; methods , results ,and implications[J].Am J Clin Nutr ,2000 ,71(1 Suppl):256S-267S .

[31] Rotstein NP ,Politi LE ,German OL ,et al .Protective effect of docosahexaenoic acid on oxidative stress-induced apoptosis of retina photoreceptors[J].Invest Ophthalmol Vis Sci ,2003 ,44 (5):2252-2259 .

[32] Kang ZB ,Ge YL ,Chen ZH ,et al .Adenoviral gene transfer of Caenorhabditis elegansn-3 fatty acid desaturase optimizes fatty acid composition in mammalian cells [J]. Proc Natl Acad Sci USA ,2001 ,98(7):4050-4054 .

[33] 马志国,蒋正尧.C .elegans fat-1 基因对 SGC7901 细胞的促凋亡作用[J].医学检验与临床,2008,19(5):29-32 .

[34] 李茂刚,夏立建,葛银林,等.改变细胞膜脂肪酸组成防治大肠癌的基因治疗研究[J].中国肿瘤临床,2010,37(4):198-200 .

[35] 杨凯,田文,董矜,等.结直肠癌多不饱和脂肪酸代谢与 Δ6 脱饱和酶关系的研究[J].肿瘤研究与临床,2013,25(5):293-299 .

[36] 葛银林,耿芳宋,张金玉,等.ω-6 脂肪酸脱氢酶基因在乳腺癌细胞内的表达和作用[J].中国生物化学与分子生物学报,2005,21(3):329-333 .

[37] 李芳芳,葛银林,李艳君,等.n-3 多不饱和脂肪酸脱氢酶基因 fat-1 在人肺癌细胞 H460 内的表达[J].青岛农业大学学报(自然科学版).2011,28(3):215-218 .

[38] 李艳君,薛美兰,郑征,等.人乳癌细胞小球藻 CvFad3 基因的表达和作用[J].齐鲁医学杂志,2011,26(4):285-289 .

(**收稿日期** 2013-05-14)