DOI: 10.12264/JFSC2025-0022

鱼类 DHA 合成关键酶基因及其转录调控研究进展

胡雪松¹, 钟大伟^{1,2}, 贾智英¹

 中国水产科学研究院黑龙江水产研究所,淡水鱼类育种国家地方联合工程实验室,农业农村部淡水水产生物技 术与遗传育种重点实验室,中国水产科学研究院鲤遗传育种工程技术研究中心,黑龙江 哈尔滨 150070;

2. 天津农学院水产学院, 天津 300384

摘要:二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid, DHA) (22:6n-3)是近年来备受关注的一种 n-3 型长链多不饱和脂肪酸 (long chain polyunsaturated fatty acid, LC-PUFA)。鱼类是人类获取 DHA 的重要来源。本文综述了鱼类 DHA 合成途 径及在各节点起关键作用的 *Elovl* 和 *Fads* 基因家族成员;探讨了这些基因的分工、功能的补偿和多样性;在启动 子水平分析了转录因子对上述关键酶基因的不同调控模式及其对 DHA 合成的影响,旨为利用基因编辑或分子模 块设计等技术开展养殖鱼类 DHA 合成能力的遗传改良和精准育种研究提供理论参考。

二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid, DHA) (22:6n-3)是一种 n-3 (ω3)型长链(C≥20)多不饱和 脂肪酸(long chain polyunsaturated fatty acid, LC-PUFA), n 或 ω 表示第一个双键出现在碳链甲基端的位置 (图 1)。如果采用另一种命名方式,即Δ命名法, DHA 也可被表示为 22:6 (Δ4, 7, 10, 13, 16, 19), Δ 后面的数字代表双键位置的碳原子号码, 它是从 羧基端向甲基端计数的(图 1)。DHA 是脑和视网 膜的重要构成成分, 在儿童智力和视力发育过程 中不可或缺^[1-2]。更引人关注的是,随着研究的不 断深入, DHA 在抗血脂、抗炎、抗氧化、抗肥胖、 抗癌和抗阿尔茨海默病等方面的生理功能也相继 被揭示^[3-7]。尽管人体自身可将食物中的α-亚麻酸 (α-linolenic acid, ALA) (18:3n3)转化为 DHA, 但 转化率极低(<5%)^[8],因此仍需通过膳食直接补 充 DHA。由于野生海水鱼类能摄食富含 DHA 的 微藻,因此其肌肉 DHA 含量丰富,是目前人类获 取 DHA 的重要来源之一。目前全球海洋捕捞产 量正在呈下降趋势,近几年海洋生态环境的变化 加剧了野生资源供应的不确定性。据 FAO 报道^[9], 2022 年全球水产养殖产量首次超过捕捞, 而中国 水产养殖产量达到了 5565.46 万 t, 养殖与捕捞产 量比超过 4:1^[10]。可以预见、未来从养殖鱼类中 获取 DHA 的比重将显著提高。然而, 在养殖条件 下,海水鱼类的内源 DHA 合成能力相对较弱,需 依赖高鱼油含量的饲料满足其对 DHA 的需求。 与此同时,淡水鱼类和鲑科鱼类可利用自身的酶 系统将饲料中的 ALA 转化为 DHA, 但转化效率 主要取决于鱼体自身的遗传特性和饲料中的脂肪 酸组成^[11-12]。鉴于此,如何有效提升养殖鱼类的 内源 DHA 合成能力成为了当前水产业亟待解决 的问题, 而深入探究参与 DHA 合成的核心因子

收稿日期: 2025-02-07; 修订日期: 2025-03-11.

基金项目:中央级公益性科研院所基本科研业务费资助项目(HSY202303M, 2023TD35); 黑龙江省自然科学基金资助项目 (LH2023C055).

作者简介:胡雪松(1977-),男,博士,副研究员,研究方向为鱼类遗传育种.E-mail: huxuesong@hrfri.ac.cn

通信作者: 贾智英, 研究员, 研究方向为鱼类遗传育种. E-mail: jiazhiying@ hrfri.ac.cn

及其调控机制是解决该问题的基础。



图 1 DHA 分子结构图 Fig. 1 DHA molecular structure diagram

鱼类主要在肝脏利用自身的碳链延长酶 (elongases of very long-chain fatty acid, Elovl)和脂 肪酸去饱和酶(fatty acid desaturases, Fads)将短链 不饱和肪酸逐步合成 DHA。现已发现多个参与 PUFA 合成的 Elovl 基因, 主要为 Elovl2、Elovl4、 Elov15 和 Elov18^[13-15]。在涉及 DHA 合成的反应 中, 以 C20 和 C22 PUFA 为底物的延长反应主要 是 Elovl2、Elovl4 和 Elovl5 蛋白发挥作用(以 Elovl2 为主)^[16-27]; 高等脊椎动物通常拥有 2 个 类型的 Fads 基因,即 Fads1 (Δ5 fad 活性)和 Fads2 (Δ6 fad 活性)。硬骨鱼可能在进化过程中 丢失了 Fads1 基因, 但它具有多个 Fads2 基因, 其产物对应着不同功能(Δ6、Δ5、Δ6/Δ5、Δ4、Δ8 fad 活性)^[28-31]。与其他高等脊椎动物一样, 鱼类 *Fads2* 基因缺乏 Δ12 和 Δ15 fad 活性,因此无法 以油酸(18:1n9)为底物合成 DHA, 只能以从食物

中摄取的 ALA 为底物, 依赖自身的 Elovl 和 Fads2 系统合成 DHA^[32-33]。

在养殖鱼类中,将来自不同家系的大黄鱼 (Larimichthys crocea)^[34-35]和不同品种鲫(Carassius auratus)^[36]在相同条件下养殖,其肌肉 DHA 含量 存在显著差异。此外,在大西洋鲑(Salmo salar)^[37-39]、 虹鳟(Oncorhynchus mykiss)^[40]和金头鲷(Sparus aurata)^[41]中的研究表明. 个体间 DHA 合成能力 的差异存在可遗传性。有学者指出,遗传背景是 影响养殖鱼类 DHA 含量的重要因素之一^[42-44]。如 能阐明鱼类 DHA 合成的核心因子及其调控机制, 有望利用基因操作或选育等手段培育出高 DHA 含量的鱼类新品种。鱼类 Elovl 和 Fads2 及其相关 调控因子通过分工协作,在 DHA 合成中发挥重 要作用。本文综合最新研究进展, 概述了 DHA 合 成途径中的关键酶基因及其在启动子水平上的转 录调控机制, 旨为养殖鱼类 DHA 含量性状的遗 传改良和精准育种提供参考和理论依据。

1 鱼类 DHA 合成途径

近年来,鱼类 DHA 合成途径及参与中间产物 转化的酶功能研究不断取得进展。现有研究表明, 鱼类 DHA 的合成途径主要有两种^[45]:一种是 "Sprecher 途径",其生物合成过程需要在内质网 中由 22:5n3 在 Elov12、Elov14 或 Elov15 的作用下 经过碳链延长,生成 24:5n3,随后 24:5n3 在 Δ6 Fads2 或 Δ6/Δ5 Fads2 的作用下增加 1 个双键,生 成 24:6n3, 24:6n3 进入过氧化物酶体经过 1 次 β-氧化移去 2 个碳原子,最终生成 DHA (图 2)。该 途径在鱼类中具有普遍性。另一种 DHA 合成途 径是由 22:5n3 在 Δ4 Fads2 的去饱和作用下,直接 生成 DHA (图 2),也被称作"Δ4 途径"^[28]。与 "Sprecher 途径"相比, "Δ4 途径"仅在少量鱼类中 被发现(表 1),是一种替代性的 DHA 合成途径^[45]。



图 2 鱼类 DHA 合成途径 Fig. 2 DHA biosynthesis pathways in fish

2 鱼类 DHA 合成关键酶基因

目前,已明确鱼类DHA合成的两个途径中涉 及到的关键酶基因包括 Elovl2、Elovl5、Elovl4、 Δ6 Fads2、Δ6/Δ5 Fads2 和 Δ4 fads2。这些基因产 物之间在功能上存在明显的多样性及重叠性,这 可能与它们在生物体内复杂的调控机制有关。例 如大多数海水鱼在进化中丢失了对淡水鱼 DHA 合成(Sprecher 途径)极为关键的 Elvol2 基因^[30],但 它们能在特定条件下通过 Elov15 或 Elov14 完成 22:5n3 向 24:5n3 的转化(这并非 Elov15 或 Elov14 通常参与 PUFA 合成的主要功能), 再借助 Δ6 Fads2 或 Δ6/Δ5 Fads2 将 24:5n3 转化为 24:6n3, 从 而通过"Sprecher 途径"合成 DHA。另外、离体研 究发现, 部分海水鱼 Fads2 具有 Δ4 Fad 活性, 可 能通过"Δ4 途径"直接将 22:5n3 合成 DHA (表 1)。 以下重点介绍这些关键酶基因在鱼类 DHA 合成 过程中可能的作用及其相互关系。

2.1 *Elovl2*

对于淡水鱼和鲑科鱼来说, Elovl2 将 22:5n3 转化为 24:5n3 的步骤是鱼类经"Sprecher 途径"合 成 DHA 的关键。有研究指出,海水鱼 LC-PUFA 合成能力较低可能与其丢失了 Elovl2 基因有关^[46]。 在斑马鱼(Danio rerio)中的研究发现, 敲除 Elovl2 会导致成鱼肝脏和孵化后3d的胚胎中的DHA含 量分别减少67.1%和91.7%。而敲除Elov15则未引 起 DHA 含量的显著变化。在单独敲除 Elvol2 和 Elov15 的突变体中,可对应地使 Elov15 和 Elvol2 的mRNA分别上调15.1和9.9倍^[47]。这表明Elovl2 而非 Elovl5 对 DHA 合成起决定性作用。然而, 该 研究并未在敲除 Elov15 的突变体中检测到 Elov12 的显著上调对 DHA 合成的刺激作用。最近,该团 队通过敲除斑马鱼 Elovl2 成功构建了 DHA 合成 缺陷模型,揭示了 DHA 在维护肝脏脂质稳态和 抵御非酒精性脂肪肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)中的重要作用, 但未发现 Elov15 敲除的突变体对 NAFLD 有任何作用^[48], 进一步 支持了其前期研究结果,即 Elov15 敲除不会改变 DHA 含量。值得注意的是,在另一项斑马鱼中的 研究显示, 敲除 Elov15 会使 Elov12 和 Elov14a 上

调, 肝脏和肌肉 DHA 含量也显著增加, 而敲除 *Elovl2*则使 *Elovl5*下调, 同时 DHA 水平也显著下 降, 同时提高了 *Elovl4b* 的 mRNA 水平^[49]。两项 研究均指向 Elovl2 而非 Elovl5 是 DHA 合成的决 定因子, 但后者的研究证明, 在 *Elovl5* 敲除后, *Elovl2* 可独立或与 *Elovl4a* 同时发挥作用, 促进 DHA 合成, 相反在敲除 *Elovl2* 后, *Elovl4b* 的上调 无法单独维持 DHA 的正常合成。两项研究在斑 马鱼中敲除 *Elovl5* 后对 DHA 含量影响的差异需 进一步研究。在大西洋鲑中, 敲除 *Elovl2* 使肝脏、脑和白肌中的 DHA 水平显著下降, 并积累较对 照显著增加的 20:5n3 和 22:5n3, 说明 *Elovl2* 在多 个组织参与 DHA 合成^[50]。上述研究结果充分表 明, *Elovl2* 在 DHA 合成中发挥关键作用。

2.2 *Elov15*

尽管在斑马鱼中的研究表明, 鱼类 Elov15 对 DHA 合成的作用远不如 Elovl2 重要^[47-49], 但如前 文所述^[47,49], Elovl5 的表达变化(敲除)会导致 Elovl2的表达发生变化,可能会间接影响 DHA 合 成。另一方面, Elvol5 虽主要以 C18 和 C20 PUFA 为底物发挥延长作用,但在黄斑蓝子鱼(Siganus canaliculatus)^[21]、箕作黄姑鱼(Nibea mitsukurii)^[22]、 金钱鱼(Scatophagus argus)^[23]等海水鱼中的研究表 明, Elvol5 也存在一定将 22:5n3 转化为 24:5n3 的 能力。因此, 在海水鱼需要内源性 DHA 时(如发 育早期), 机体可能通过 Elvol5 补偿 Elovl2 的功 能。最近, 在鲤(Cyprinus carpio)中的研究显示, 其Elov15a和Elov15b均能将22:5n3转化为24:5n3, 且 Elovl5a 的延长活性整体上高于 Elovl5b^[51]。在 对鲤的另一项研究发现, Elovl5a的转录本与 DHA 含量呈负相关关系。同时该研究还鉴定了一个可 负调控 Elovl5a 表达并提高 DHA 含量的 miRNA (miR-26a-5p)^[52]。 *鲤 Elovl5* 表达对 DHA 含量的影 响是否是由 Elovl2 介导,还需进一步研究。

2.3 Elovl4

基于在哺乳动物中的研究,人们更多地关注 Elovl4 在超长链脂肪酸(very long-chain fatty acids, VLC-FAs) (≥C24)合成中的功能^[53]。在斑马鱼的 离体研究中发现, Elovl4a 和 Elovl4b 能将饱和脂 肪酸延长至 C36 的 VLC-FAs。此外, Elovl4b 还具 备以 22:5n3 为底物合成 24:5n3 的能力, 胚胎发育 过程的整体原位杂交结果支持 Elovl4b 参与了 DHA 的合成^[19]。结合已在军曹鱼(*Rachycentron canadum*)^[20]、 黄斑蓝子鱼^[21]、箕作黄姑鱼^[22]、金钱鱼^[23]、斜带 石斑鱼(*Epinephelus coioides*)^[24]、大黄鱼^[25]和黑鲷 (*Acanthopagrus schlegelii*)^[26]等海水鱼中开展的离 体研究可以发现, 其 Elovl4 均具有合成 22:5n3 和 24:5n3 的能力。在军曹鱼早期发育过程的研究证 实了 Elovl4 参与了 DHA 合成^[20]。由此可见,海 水鱼中的 Elvol4 也能补偿 Elovl2 在 DHA 合成中 的作用。

2.4 *△6 Fads2* 和 *△6/△5 Fads2*

Δ6 Fads2 或 Δ6/Δ5 Fads2 在"Sprecher 途径" 中直接参与了 DHA 合成。大多数鱼类都有单独 的 Δ6 Fads2 发挥去饱和酶作用,但也有一些种类 具有 Δ6/Δ5 Fads2 基因,其编码的蛋白同时具有 Δ6 Fad 和 Δ5 Fad 两种活性^[13]。2001 年,在斑马 鱼中首次鉴定 Δ6/Δ5 Fads2 基因,这是脊椎动物 中最早被发现的此类双功能基因^[54]。此后,直到 2010 年,在黄斑蓝子鱼中也鉴定出了功能类似的 Δ6/Δ5 Fads2 基因^[28]。该类基因的存在可能与鱼类 在环境适应中需要更高的 LC-PUFA 合成能力有 关,它进一步丰富了我们对鱼类脂肪酸代谢机制 的理解。此外,有的鱼类还具有不同亚型的 Δ6 *Fads2* 或 $\Delta 6/\Delta 5$ *Fads2* 基因,如在大西洋鲑中鉴定 到 3 个 $\Delta 6$ *Fads2* 基因($\Delta 6Fad_a$, $\Delta 6Fad_b$ 和 $\Delta 6Fad_c$)^[55],而在鲤中鉴定到 2 个 $\Delta 6/\Delta 5$ *Fads2* 基因($\Delta 6/\Delta 5Fads2a$ 和 $\Delta 6/\Delta 5Fads2b$)^[56]。Oboh 等^[45] 测定了 7 种鱼的 $\Delta 6$ Fads2 和 4 种鱼的 $\Delta 6/\Delta 5$ Fads2 以 24:5n3 为底物转化 24:6n3 的能力,发现除箕作 黄姑鱼 $\Delta 6$ Fads2 外,其余均具有活性。进一步表明, 鱼类通过"Sprecher 途径"合成 DHA 具有普遍性。

2.5 *Δ4 Fads2*

在早期哺乳动物 DHA 合成研究中,学者们推 测存在一种具有 Δ4 fad 活性的酶可以将 22:5n3 直 接合成 DHA,但未鉴定到这样的酶,且所有证据 都指向了"Sprecher 途径"^[57-60]。Li 等^[28]于 2010 年在黄斑蓝子鱼中首次发现,脊椎动物存在 DHA 合成的"Δ4 途径"。该发现使 Δ4 Fads2 基因的研究 成为了热点,现已有 19 种鱼(3 个未定名种)被证 实其 Fads2 基因具有 Δ4 活性(表 1)。现有的观点 认为,"Δ4 途径"是少量鱼类存在的 DHA 合成替代 性途径。引人注意的是,在 2015 年的一项以人类 乳腺癌细胞系 MCF-7 为对象的研究中,发现了可 将 22:5n3 转化为 22:6n3 的 Δ4 Fads2^[61]。这表明 脊椎动物 DHA 合成的"Δ4 途径"可能比之前预计 的更为广泛,也预示着在特定条件下可能存在更 精细的 DHA 合成机制。

表 1 具有呈 Δ4 Fad 活性(22:5n3→22:6n3)的脂肪酸去饱和酶基因的鱼类 Tab. 1 Fish species with fatty acyl desaturase genes presenting Δ4 Fad activity (22:5n3→22:6n3)

种类 fish species	文献 reference
黄斑蓝子鱼(Siganus canaliculatus); 青鳉(Oryzias latipes); 尼罗罗非鱼(Oreochromis niloticus); 斑马拟丽鱼	[27-28, 45, 62-67]
(Maylandia zebra); 伯氏朴丽鱼(Haplochromis burtoni); 大口黑鲈(Micropterus salmoides); 孔雀花鳉	
(Poecilia reticulata); 加拿大底鳉(Fundulus heteroclitus); 林奈氏澳鳉(Austrofundulus limnaeus); 塞内加尔	
鳎(Solea senegalensis); 欢卡颏银汉鱼(Chirostoma estor); 线鳢(Channa striata); 沙鳎(Pegusa lascaris); 沙	
真银汉鱼(Atherina presbyter); 卵形鲳鲹(Trachinotus ovatus); 秋刀鱼(Cololabis saira)	

3 鱼类 DHA 合成关键酶基因的转录调控

在斑马鱼^[47-49]、大西洋鲑^[50]和鲤^[52]中的敲除 实验证实,与 DHA 合成相关的关键酶基因的表 达变化对 DHA 含量有显著的影响,因此解析这 些基因的表达调控机制能帮助深入理解 DHA 合 成调控网络。在启动子水平上的调控处于转录的 起始阶段,涉及多种转录因子的协同作用,决定 了基因表达的程度和时间、酶的数量和活性,对基因表达起着主导性作用。以下重点介绍鱼类 DHA 合成的关键酶基因在启动子水平上的转录 调控研究进展。

3.1 鱼类 DHA 合成关键酶基因的启动子克隆、转录因子及结合位点预测

鱼类 DHA 合成关键酶基因的启动子已获得 克隆的物种主要包括黄斑蓝子鱼(*Elov15*^[68]、

△4 Fads2^[69]、△6/△5 Fads2^[70])、卵形鲳鲹(Elov15^[71]、 Elov14^[72]、 14 Fads2^[67])、大西洋鲜(Elov15^[73]、 16 *Fads2*^[74])、斑马鱼(*Elov15*^[75]、 △6/△5 *Fads2*^[76])、 鲤(Elov15^[51]、 16/15 Fads2^[56])、 线鳢(Elov15^[75])、 大西洋鳕(Godus morhua L.) (A6 Fads2^[74])、斜带 石斑鱼(△6 Fads2^[77])、大黄鱼(Elov15^[25]、Elov14^[25]、 △6 Fads2^[78])、虹鳟(△6 Fads2^[78])和鲈(Lateolabrax *japonicus*) (*A6 Fads2*^[79])。在影响这些关键酶基因 启动子活性的关键区域, 预测的转录因子和结合 位点包括肝细胞核因子 4α (hepatocyte Nuclear Factor 4α, HNF4α)、HNF4γ、刺激蛋白 1(stimulatory protein 1, SP1)、GATA 结合蛋白 2(GTAT binding protein 2, GATA-2), GATA-3, GATA-1, CCAAT-增强子结合蛋白(CCAAT/enhancer binding protein,

C/EBP)、C/EBPa、C/EBPb、核因子 1 (nuclear factor 1, NF-1)、核因子 Y (nuclear factor Y, NF-Y)、甾醇 调节元件(sterol regulatory element, SRE)、活化蛋 白1 (activated protein 1, AP1)、胰岛素反应元件 (insulin response element, IRE)、过氧化物酶体增 殖物激活受体 γ (peroxisome proliferator-activated receptor γ, PPARγ)、PPARab、胆固醇调节元件结 合蛋白(sterol-regulatory element binding proteins, SREBPs)、肝 X 受体(liver X receptor, LXR)和视黄 醇 X 受体(retinoid X receptor, RXR)复合物(LXR/ RXR)、CCAAT 盒(CCAAT boxes)、TATA 盒结合蛋 白(TATA box binding protein, TBP)、阴阳蛋白 1 (vin yang 1, YY1)、RXR 和维生素 D 受体(vitamin D receptor, VDR)复合物(RXR/VDR), 详见表 2。

表 2	鱼类 DHA 合成关键酶基因的核心启动子调控区域及转录因子或结合位点	

种类 fish species	关键酶基因 key enzyme genes	启动子核心调控区域 core promoter regions	预测的转录因子或结合位点 predicted transcription factors or binding sites	文献 reference
黄斑蓝子鱼 Siganus canaliculatus	Elovl5	-837~+89; -491~-468	HNF4a, SP1	[68, 80]
	∆4 Fads2	-262~ +203	GATA-2, C/EBP, NF-1, NF-Y, HNF4a, SRE	[69]
	∆6/∆5 Fads2	-159~ -137; -456~ +51,	SP1, C/EBP, NF–Y, AP1, SRE, IRE, SREPB 1c, PPAR γ	[70, 81-82]
卵形鲳鲹 Trachinotus ovatus	Elovl5	-146~ +459;	PPARαb	[71]
	Elovl4a	-148~ +258	PPARαb	[72]
	∆4 Fads2a	-827~+1	PPARαb	[67]
	∆4 Fads2b	-836~+1	PPARαb	[67]
大西洋鲑 Salmo salar	Elovl5a	-3617~-3538; +9~-153;	SREBP 1, SREBP 2, LXR/RXR	[73]
	Elovl5b	-1305~ -1226; -1305~ -664; +734~ +1	SREBP 1, SREBP 2, LXR/RXR	[73]
	⊿6 Fads2	-546~ -209	SP1	[74]
斑马鱼 Danio rerio	Elovl5	-682~ +202;	SRE	[75]
	$\Delta 6/\Delta 5 Fads 2$	-161~ -67	SRE, CCAAT boxes	[76]
线鳢 Channa striata	Elovl5	-161~+46	SRE, SP1	[75]
斜带石斑鱼 Epinephelus coioides	⊿6 Fads2	-347~ -17	YY1, TBP, NF−1, NF−Y, HNF4γ, RXR/VDR	[77]
大黄鱼 Larimichthys crocea	⊿6 Fads2	-408~ -194, -65~ +54	C/EBPa, GATA3	[78, 83]
虹鳟 Oncorhynchus mykiss	⊿6 Fads2	+383~ +826	C/EBPa, GATA3	[78, 83]
鲤 Cyprinus carpio	Elovl5a	-493~+1	NF-1, C/EBPβ, GATA-1, SP1	[51]
	Elovl5b	-440~+57	C/EBPa, SP1, NF-1	[51]
	∆6/∆5 Fads2a	-622~ -46	TBP, NF-1, AP1	[56]
	∆6/∆5 Fads2b	-812~+1	SP1, NF-1, AP1	[56]

Tab. 2 The core promoter regions, transcription factors or binding sites of key enzyme genes involved DHA biosynthesis in fish

3.2 转录因子对鱼类 DHA 合成关键酶基因表达 的调控作用

在不同鱼类中, 学者们已从多个层面在 DHA 合成关键酶基因的启动子核心调控区域预测甚至 鉴定到了多个转录因子(表 2)。目前,研究相对深 入的是黄斑蓝子鱼,凝胶迁移实验(electrophoretic mobility shift assay, EMSA)显示, 转录因子 HNF4α 可直接与 Elov15^[68]和 △4 Fads2^[69]的启动子结合。 在 HEK 293T 细胞系中, 过表达 HNF4α 显著提高 了 Elov15^[68]和 14 Fads2^[69]的启动子活性。在黄斑 蓝子鱼肝细胞系(SCHL)中, 过表达 HNF4α 显著 提高了 Elov15^[68]和 4 Fads2^[69]的 mRNA 水平及 DHA 含量^[68]。相反, 通过 siRNA 敲降 SCHL 中的 $HNF4\alpha$ 会导致 Elov15 转录本的显著下降^[68]。在体 实验发现,在稚鱼中注射HNF4α的激活剂可提高 Elov15^[68]和 △4 Fads2^[69]的表达,并显著提高肝脏 DHA 的含量^[68]。另外一个重要的转录因子是 SP1, 它能直接与 Elovl5 和 △6/△5 Fads2 启动子相互作 用^[80]。在 HepG2 细胞系中, SP1 结合位点的突变 会显著影响 Elov15 和 16/15 Fads2 启动子活性。 在 SCHL 中过表达或敲降 SP1 时, Elov15 和 A6/A5 Fads2的mRNA水平与SPI的变化呈显著正相关, 且在 SP1 过表达时,细胞中 DHA 含量显著增加^[80]。 在 16/15 Fads2 核心启动子调控区还进一步鉴定 到了由 SP1、NF-Y 和 SRE 元件构成的 IREs。在 SCHL 中胰岛素(insulin, INS)可与 IREs 作用, 上 调 SP1、SREBP1c、A6/A5 Fads2 和 elov15 的表达, 进而提高细胞中 DHA 含量, 而 INS 对 A6/A5 Fads2和 elov15表达及 DHA 合成的调控作用是由 SP1 和 SREBP1c 介导的^[81]。有趣的是,将来自黄 斑蓝子鱼 A6/A5 Fads2 启动子上的 SP1 结合位点 插入到其自身的 Δ4 Fads2^[80]或斜带石斑鱼的 △6Fads2^[77]启动子对应区域,均可显著提高二者 的启动子活性, 说明 SP1 可能在某些鱼类进化早 期就对 Δ4 Fads2 或 Δ6Fads2 具有保守的调控作 用。此外, 转录因子 PPARy 也能与 $\Delta 6/\Delta 5$ Fads2 启动子直接作用^[82]。在 HEK293 细胞系中, PPARy 过表达使 A6/A5 Fads2 启动子活性下调, 而施加 PPARγ抑制剂(GW9662)则使启动子活性上调^[82]。

在 SCHL 中,通过 GW9662 (或 siRNA)抑制或过 表达 *PPARy* 可显著提高或降低 $\Delta 6/\Delta 5$ Fads2 的 mRNA 水平,但在过表达 *PPARy* 时,细胞中 DHA 含量显著下降^[82]。

在其他鱼类 DHA 合成关键酶基因启动子的 转录调控研究中, 也发现了多个转录因子或结合 位点(如 PPARa、SREBPs、SRE、CCAAT 盒、C/EBPa 和 GATA3 等)参与启动子活性的调控, 但未检测 细胞中DHA含量的相应变化^[51,67,71-78]。例如, Zhu 等发现,卵形鲳鲹 PPARab 能正调控 Elov15^[71]和 Elovl4a^[72]启动子活性。在 HEK293 细胞中过表达 PPARab可时间依赖性地加强 Elov15 启动子活性^[71]: 而通过 RNAi 敲降 PPARab, 则会使 Elovl4a 在蛋 自水平上产生时间依赖性的下降^[72]。此外, PPARab 还可正调控 Δ 4*Fads2a*和 Δ 4*Fads2b*的启动子活性, 尤其是能与主要发挥 Δ4Fad 活性的 Δ4Fads2a 启 动子的潜在结合位点(M1)直接作用。若将 M1 突 变,则 Δ4Fads2a 启动子活性显著下降^[67]。这些结 果表明, PPARab 可能通过转录调控 Elov15、Elov14a 和 △4Fads2 促进卵形鲳鲹 DHA 的合成。在洄游 性鱼类大西洋鲑中, SREBP1 和 SREBP2 被证实是 促进 Elvol5a 和 Elovl5b 转录的依赖性转录因子^[73]。 突变实验证实,两种 SREPBs 均可通过与 Elov15b 启动子核心区域的2个 SRE 位点结合发挥调控作 用, 其相邻的 2 个 NF-Y 位点也可能参与该过程, 而 Elov15a 启动子活性仅在 SREBP1 过表达时会受 到 SRE 和 NF-Y 位点突变的影响^[73]。另外, SREBP1 还可刺激斑马鱼和线鳢 Eovl5 的启动子活性,但 在线鳢中, 还受到临近的 SP1 结合位点的协同作 用^[75]。在斑马鱼 46/45 Fads2 启动子中存在 SRE 和2个CCAAT 盒位点,实验发现,将肝细胞系中 的 SREBP1 和 SREBP2 过表达均可显著提高启动 子活性, 而突变 SRE 和 CCAAT 盒位点则显著降 低了启动子活性^[76]。最近的研究还表明, C/EBPα 和 GATA3 均可与虹鳟和大黄鱼的 A6 Fads2 启动 子直接作用^[83]。在 HEK293T 细胞系中, C/EBPa 可同时上调虹鳟和大黄鱼 46 Fads2 的启动子活性, 而 GATA3 虽能增强虹鳟 Δ6 Fads2 的启动子活性, 但在大黄鱼中却发挥抑制使用, 该调控方式进一

步被 RNAi 证实^[83]。还应指出, 在鲤的 *Elovl5a* 和 *Elovl5b* 启动子的核心区域也预测到了 C/EBPs, 可能参与转录调控^[51]。

4 问题与展望

深入解析鱼类 DHA 合成关键酶基因的具体 角色、分工、相互关系及其在启动子水平的调控 机制, 是实现鱼类 DHA 合成能力遗传改良的基 础。然而,现有研究仍存在一些亟待解决的问题: (1)鱼类 DHA 合成依赖普遍存在的"Sprecher 途 径"及自 2010 年以来在少数鱼类中发现的"Δ4 途 径", 在经离体实验未发现具有 Δ4 fad 活性的 Fads2 基因的鱼类中, 是否可在体内通过"Δ4 途 径"合成 DHA 仍不清楚。(2)对于能利用两种途径 合成 DHA 的鱼类, 在特定的发育阶段, 机体如何 指令相应的酶基因表达并选择经哪个途径来合成 DHA, 该机制尚不明确。(3)黄斑蓝子鱼和卵形鲳 鲹的研究侧重揭示的是单个转录因子对多个 DHA 合成关键酶基因的作用, 主要体现为多基因 调控模式,最终影响了 DHA 含量。这些转录因子 相互间或与其他转录因子间如何协同作用并最终 影响 DHA 合成, 仍需进一步研究。(4)在大西洋 鲑、斑马鱼、线鳢、虹鳟和大黄鱼的离体研究中, 虽发现多个转录因子对某种关键酶基因的协同调 控作用,但这些作用如何影响细胞中 DHA 含量 变化仍不清楚。(5)现有的对启动子活性的调控实 验主要停留在 EMSA 阶段, 还需利用染色质免疫 共沉淀(chromatin immunoprecipitation, ChIP)技术, 揭示在体情况下转录因子的结合位点,并构建完 整的调控网络。

DHA 合成关键酶基因及其在启动子水平的 调控机制在不同鱼类中呈现出多样化的模式。已 有研究为理解 DHA 合成复杂的调控机制提供了 重要的线索。肌肉 DHA 含量作为需屠宰度量且 遗传力相对较低的性状,利用传统选育技术选育 难以取得理想效果。最新的选育技术,如基因编 辑、分子模块设计育种和基因组育种等技术,有 望被应用于鱼类 DHA 合成能力的遗传改良,进 而提高肌肉 DHA 含量。这些技术的应用需要更 多功能基因的研究作为理论支持。因此,未来的 研究应借助不断更新的基因敲除、敲降、敲入等 新技术,在模式生物斑马鱼和重要养殖鱼类中更 多地开展在体功能实验。这将有助于揭示关键酶 基因及其转录调控因子对 DHA 合成的影响,并 验证离体研究结果,为鱼类内源 DHA 合成能力 的遗传改良和精准育种提供直接证据和明确的 靶点。

参考文献:

- Shindou H, Koso H, Sasaki J, et al. Docosahexaenoic acid preserves visual function by maintaining correct disc morphology in retinal photoreceptor cells[J]. Journal of Biological Chemistry, 2017, 292(29): 12054-12064.
- [2] Lauritzen L, Brambilla P, Mazzocchi A, et al. DHA effects in brain development and function[J]. Nutrients, 2016, 8(1): 6.
- Jump D B. The biochemistry of *n*-3 polyunsaturated fatty acids[J]. Journal of Biological Chemistry, 2002, 277(11): 8755-8758.
- [4] Li G L, Li Y Y, Xiao B P, et al. Antioxidant activity of docosahexaenoic acid (DHA) and its regulatory roles in mitochondria[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2021, 69(5): 1647-1655.
- [5] Rossmeisl M, Jelenik T, Jilkova Z, et al. Prevention and reversal of obesity and glucose intolerance in mice by DHA derivatives[J]. Obesity, 2009, 17(5): 1023-1031.
- [6] Newell M, Baker K, Postovit L M, et al. A critical review on the effect of docosahexaenoic acid (DHA) on cancer cell cycle progression[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2017, 18(8): 1784.
- [7] Cunnane S C, Plourde M, Pifferi F, et al. Fish, docosahexaenoic acid and Alzheimer's disease[J]. Progress in Lipid Research, 2009, 48(5): 239-256.
- [8] Brenna J T. Efficiency of conversion of alpha-linolenic acid to long chain n-3 fatty acids in man[J]. Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care, 2002, 5(2): 127-132.
- [9] FAO. The State of World Fisheries and Aquaculture 2024: Blue Transformation in Action[M]. Rome: FAO, 2024.
- [10] Administrative Department for Fisheries the Ministry for Agriculture and Rural Affairs, National Fisheries Technology Extension Center, China Society of Fisheries. China fishery statistical yearbook 2023[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2023. [农业农村部渔业渔政管理局, 全国水产技术 推广总站,中国水产学会. 2023 中国渔业统计年鉴[M]. 北京:中国农业出版社, 2023.]
- [11] Tocher D R. Omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids and aquaculture in perspective[J]. Aquaculture, 2015, 449:

94-107.

- [12] Zhang Z Y, Miar Y, Huyben D, et al. Omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in Atlantic salmon: Functions, requirements, sources, de novo biosynthesis and selective breeding strategies[J]. Reviews in Aquaculture, 2024, 16(3): 1030-1041.
- [13] Xie D Z, Chen C Y, Dong Y W, et al. Regulation of long-chain polyunsaturated fatty acid biosynthesis in teleost fish[J]. Progress in Lipid Research, 2021, 82: 101095.
- [14] Sun S X, Wang Y M, Goh P T, et al. Evolution and functional characteristics of the novel *elovl8* that play pivotal roles in fatty acid biosynthesis[J]. Genes, 2021, 12(8): 1287.
- [15] Li Y, Wen Z Y, You C H, et al. Genome wide identification and functional characterization of two LC-PUFA biosynthesis elongase (*elovl8*) genes in rabbitfish (*Siganus canaliculatus*)[J]. Aquaculture, 2020, 522: 735127.
- [16] Ferraz R B, Kabeya N, Lopes-Marques M, et al. A complete enzymatic capacity for long-chain polyunsaturated fatty acid biosynthesis is present in the Amazonian teleost tambaqui, *Colossoma macropomum*[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology, 2019, 227: 90-97.
- [17] Monroig Ó, Rotllant J, Sánchez E, et al. Expression of long-chain polyunsaturated fatty acid (LC-PUFA) biosynthesis genes during zebrafish *Danio rerio* early embryogenesis[J]. Biochimica et Biophysica Acta, 2009, 1791(11): 1093-1101.
- [18] Ding H Z, Shi X T, Wen Z Y, et al. Molecular identification and functional characterization of LC-PUFA biosynthesis elongase (*elovl2*) gene in Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*)[J]. Animals, 2024, 14(16): 2343.
- [19] Monroig Ó, Rotllant J, Cerdá-Reverter J M, et al. Expression and role of Elovl4 elongases in biosynthesis of very long-chain fatty acids during zebrafish *Danio rerio* early embryonic development[J]. Biochimica et Biophysica Acta, 2010, 1801(10): 1145-1154.
- [20] Monroig Ó, Webb K, Ibarra-Castro L, et al. Biosynthesis of long-chain polyunsaturated fatty acids in marine fish: Characterization of an Elovl4-like elongase from cobia *Rachycentron canadum* and activation of the pathway during early life stages[J]. Aquaculture, 2011, 312(1-4): 145-153.
- [21] Monroig Ó, Wang S Q, Zhang L, et al. Elongation of long-chain fatty acids in rabbitfish *Siganus canaliculatus*: Cloning, functional characterisation and tissue distribution of Elov15- and Elov14-like elongases[J]. Aquaculture, 2012, 350-353: 63-70.
- [22] Kabeya N, Yamamoto Y, Cummins S F, et al. Polyunsaturated fatty acid metabolism in a marine teleost, Nibe croaker *Nibea*

mitsukurii: Functional characterization of Fads2 desaturase and Elovl5 and Elovl4 elongases[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology, 2015, 188: 37-45.

- [23] Xie D Z, Chen F, Lin S Y, et al. Long-chain polyunsaturated fatty acid biosynthesis in the euryhaline herbivorous teleost *Scatophagus argus*: Functional characterization, tissue expression and nutritional regulation of two fatty acyl elongases[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology, 2016, 198: 37-45.
- [24] Li S L, Monroig Ó, Navarro J C, et al. Molecular cloning and functional characterization of a putative *Elovl4* gene and its expression in response to dietary fatty acid profiles in orange-spotted grouper *Epinephelus coioides*[J]. Aquaculture Research, 2017, 48(2): 537-552.
- [25] Li S L, Monroig Ó, Wang T J, et al. Functional characterization and differential nutritional regulation of putative Elov15 and Elov14 elongases in large yellow croaker (*Larimichthys crocea*)[J]. Scientific Reports, 2017, 7(1): 2303.
- [26] Jin M, Monroig Ó, Navarro J C, et al. Molecular and functional characterisation of two *elovl4* elongases involved in the biosynthesis of very long-chain (>C24) polyunsaturated fatty acids in black seabream *Acanthopagrus schlegelii*[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology, 2017, 212: 41-50.
- [27] Matsushita Y, Kabeya N, Kawamura W, et al. Capability of DHA biosynthesis in a marine teleost, Pacific saury *Cololabis saira*: Functional characterization of two paralogous Fads2 desaturases and Elov15 elongase[J]. Fisheries Science, 2023, 89(5): 687-698.
- [28] Li Y Y, Monroig Ó, Zhang L, et al. Vertebrate fatty acyl desaturase with Δ4 activity[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2010, 107(39): 16840-16845.
- [29] Castro L F C, Monroig Ó, Leaver M J, et al. Functional desaturase Fads1 (Δ5) and Fads2 (Δ6) orthologues evolved before the origin of jawed vertebrates[J]. PLoS One, 2012, 7(2): e31950.
- [30] Castro L F C, Tocher D R, Monroig Ó. Long-chain polyunsaturated fatty acid biosynthesis in chordates: Insights into the evolution of Fads and Elovl gene repertoire[J]. Progress in Lipid Research, 2016, 62: 25-40.
- [31] Monroig Ó, Li Y Y, Tocher D R. Delta-8 desaturation activity varies among fatty acyl desaturases of teleost fish: High activity in delta-6 desaturases of marine species[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry

and Molecular Biology, 2011, 159(4): 206-213.

- [32] Monroig Ó, Kabeya N. Desaturases and elongases involved in polyunsaturated fatty acid biosynthesis in aquatic invertebrates: A comprehensive review[J]. Fisheries Science, 2018, 84(6): 911-928.
- [33] Monroig Ó, Shu-Chien A C, Kabeya N, et al. Desaturases and elongases involved in long-chain polyunsaturated fatty acid biosynthesis in aquatic animals: From genes to functions[J]. Progress in Lipid Research, 2022, 86: 101157.
- [34] Lin L M, Wang Q R, Wang Z Y, et al. Comparison of biochemical compositions of muscle among three stocks and wild-caught large yellow croaker *Pseudosciaena crocea*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2006, 13(2): 286-291.
 [林利民, 王秋荣, 王志勇, 等. 不同家系大黄鱼肌肉营养 成分的比较[J]. 中国水产科学, 2006, 13(2): 286-291.]
- [35] Li M Y, Zheng Y F, Guan D D, et al. The nutrition of fatty acid and amino acid analysis of four genealogies *Pseudosciaena crocea* (Richardson)[J]. Journal of Fisheries of China, 2009, 33(4): 632-638. [李明云,郑岳夫,管丹东,等. 大黄鱼四 家系肌肉营养成分差异及品质选育分析[J]. 水产学报, 2009, 33(4): 632-638.]
- [36] Li Z, Liang H W, Wang Z W, et al. Comparative analysis on the flesh quality and nutrient component of tetraploid gibel carp "Changfeng" variety[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2016, 40(4): 853-858. [李忠, 梁宏伟, 王忠卫, 等. 四倍体 异育银鲫新品种"长丰鲫"肌肉品质和营养成分分析[J]. 水生生物学报, 2016, 40(4): 853-858.]
- [37] Leaver M J, Taggart J B, Villeneuve L, et al. Heritability and mechanisms of n-3 long chain polyunsaturated fatty acid deposition in the flesh of Atlantic salmon[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics, 2011, 6(1): 62-69.
- [38] Horn S S, Ruyter B, Meuwissen T H E, et al. Genetic effects of fatty acid composition in muscle of Atlantic salmon[J]. Genetics, Selection, Evolution, 2018, 50(1): Article No.23.
- [39] Horn S S, Meuwissen T H E, Moghadam H, et al. Accuracy of selection for omega-3 fatty acid content in Atlantic salmon fillets[J]. Aquaculture, 2020, 519: 734767.
- [40] Blay C, Haffray P, D'Ambrosio J, et al. Genetic architecture and genomic selection of fatty acid composition predicted by Raman spectroscopy in rainbow trout[J]. BMC Genomics, 2021, 22(1): Article No.788.
- [41] Horn S S, Aslam M L, Difford G F, et al. Genetic parameters of fillet fatty acids and fat deposition in gilthead seabream (*Sparus aurata*) using the novel 30 k Medfish SNP array[J]. Aquaculture, 2022, 556: 738292.
- [42] Xie D Z, Wang S Q, You C H, et al. Influencing factors and

mechanisms on HUFA biosynthesis in teleosts[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2013, 20(2): 456-466. [谢帝芝, 王树启, 游翠红, 等. 鱼类高度不饱和脂肪酸合成的影响 因素及其机理[J]. 中国水产科学, 2013, 20(2): 456-466.]

- [43] Xie D Z, Chen F, Zhang Q H, et al. Advance in the regulatory mechanisms of LC-PUFA biosynthetic metabolism of teleost[J]. Journal of Shantou University (Natural Science), 2015, 30(2): 3-19. [谢帝芝,陈芳,张庆昊,等. 鱼类 LC-PUFA 合成代谢调控机制研究进展[J]. 汕头大学学报 (自然科学版), 2015, 30(2): 3-19.]
- [44] He Z J, Xie D Z, Nie G X. Comprehensive strategies for increasing n-3 highly unsaturated fatty acids content in farmed fish[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2020, 32(11): 5089-5104. [和子杰,谢帝芝,聂国兴. 提升养殖鱼 类 n-3 高不饱和脂肪酸含量的综合策略[J]. 动物营养学报, 2020, 32(11): 5089-5104.]
- [45] Oboh A, Kabeya N, Carmona-Antoñanzas G, et al. Two alternative pathways for docosahexaenoic acid (DHA, 22:6n-3) biosynthesis are widespread among teleost fish[J]. Scientific Reports, 2017, 7(1): Article No.3889.
- [46] Morais S, Monroig O, Zheng X Z, et al. Highly unsaturated fatty acid synthesis in Atlantic salmon: Characterization of ELOVL5- and ELOVL2-like elongases[J]. Marine Biotechnology, 2009, 11(5): 627-639.
- [47] Liu C J, Ye D, Wang H P, et al. Elovl2 but not Elovl5 is essential for the biosynthesis of docosahexaenoic acid (DHA) in zebrafish: Insight from a comparative gene knockout study[J]. Marine Biotechnology, 2020, 22(5): 613-619.
- [48] Li X H, Liu C J, Zhang R, et al. Biosynthetic deficiency of docosahexaenoic acid causes nonalcoholic fatty liver disease and ferroptosis-mediated hepatocyte injury[J]. Journal of Biological Chemistry, 2024, 300(7): 107405.
- [49] Sun S X, Ren T Y, Li X, et al. Polyunsaturated fatty acids synthesized by freshwater fish: A new insight to the roles of *elovl2* and *elovl5* in vivo[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2020, 532(3): 414-419.
- [50] Datsomor A K, Zic N, Li K S, et al. CRISPR/Cas9-mediated ablation of *elovl2* in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) inhibits elongation of polyunsaturated fatty acids and induces Srebp-1 and target genes[J]. Scientific Reports, 2019, 9(1): Article No.7533.
- [51] Zhao R, Wang Y X, Yang C R, et al. Dominant elongase activity of *Elovl5a* but higher expression of *Elovl5b* in common carp (*Cyprinus carpio*)[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23(23): 14666.
- [52] Zhang H Y, Li P Z, Zhu Y X, et al. Contribution of *elov15a* to docosahexaenoic acid (DHA) synthesis at the transcriptional

regulation level in common carp, *Cyprinus carpio*[J]. Animals, 2024, 14(4): 544.

- [53] Agbaga M P, Brush R S, Mandal M N A, et al. Role of Stargardt-3 macular dystrophy protein (ELOVL4) in the biosynthesis of very long chain fatty acids[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2008, 105(35): 12843-12848.
- [54] Hastings N, Agaba M, Tocher D R, et al. A vertebrate fatty acid desaturase with Δ5 and Δ6 activities[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2001, 98(25): 14304-14309.
- [55] Monroig Ó, Zheng X Z, Morais S, et al. Multiple genes for functional Δ6 fatty acyl desaturases (Fad) in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): Gene and cDNA characterization, functional expression, tissue distribution and nutritional regulation[J]. Biochimica et Biophysica Acta, 2010, 1801(9): 1072-1081.
- [56] Zhao R, Yang C R, Wang Y X, et al. Fads2b plays a dominant role in $\Delta 6/\Delta 5$ desaturation activities compared with Fads2a in common carp (*Cyprinus carpio*)[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24(13): 10638.
- [57] Voss A, Reinhart M, Sankarappa S, et al. The metabolism of 7,10,13,16,19-docosapentaenoic acid to 4,7,10,13,16,19docosahexaenoic acid in rat liver is independent of a 4-desaturase[J]. Journal of Biological Chemistry, 1991, 266(30): 19995-20000.
- [58] Wang N, Anderson R E. Synthesis of docosahexaenoic acid by retina and retinal pigment epithelium[J]. Biochemistry, 1993, 32(49): 13703-13709.
- [59] Mohammed B S, Sankarappa S, Geiger M, et al. Reevaluation of the pathway for the metabolism of 7,10,13, 16-docosatetraenoic acid to 4,7,10,13,16-docosapentaenoic acid in rat-liver[J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 1995, 317(1): 179-184.
- [60] Ferdinandusse S, Denis S, Mooijer P A W, et al. Identification of the peroxisomal β-oxidation enzymes involved in the biosynthesis of docosahexaenoic acid[J]. Journal of Lipid Research, 2001, 42(12): 1987-1995.
- [61] Park H G, Park W J, Kothapalli K S D, et al. The fatty acid desaturase 2 (*FADS2*) gene product catalyzes Δ4desaturation to yield n-3 docosahexaenoic acid and n-6 docosapentaenoic acid in human cells[J]. The FASEB Journal, 2015, 29(9): 3911-3919.
- [62] Morais S, Castanheira F, Martinez-Rubio L, et al. Long chain polyunsaturated fatty acid synthesis in a marine vertebrate: Ontogenetic and nutritional regulation of a fatty acyl desaturase with $\Delta 4$ activity[J]. Biochimica et Biophysica Acta, 2012, 1821(4): 660-671.

- [63] Fonseca-Madrigal J, Navarro J C, Hontoria F, et al. Diversification of substrate specificities in teleostei Fads2: Characterization of $\Delta 4$ and $\Delta 6\Delta 5$ desaturases of *Chirostoma estor*[J]. Journal of Lipid Research, 2014, 55(7): 1408-1419.
- [64] Kuah M K, Jaya-Ram A, Shu-Chien A C. The capacity for long-chain polyunsaturated fatty acid synthesis in a carnivorous vertebrate: Functional characterisation and nutritional regulation of a Fads2 fatty acyl desaturase with Δ4 activity and an Elov15 elongase in striped snakehead (*Channa striata*)[J]. Biochimica et Biophysica Acta, 2015, 1851(3): 248-260.
- [65] Garrido D, Kabeya N, Betancor M B, et al. Functional diversification of teleost Fads2 fatty acyl desaturases occurs independently of the trophic level[J]. Scientific Reports, 2019, 9(1): 11199.
- [66] Galindo A, Garrido D, Monroig Ó, et al. Polyunsaturated fatty acid metabolism in three fish species with different trophic level[J]. Aquaculture, 2021, 530: 735761.
- [67] Zhu K C, Zhang N, Liu B S, et al. Transcription factor pparab activates fads2s to promote LC-PUFA biosynthesis in the golden pompano *Trachinotus ovatus* (Linnaeus 1758)[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 161: 605-616.
- [68] Li Y Y, Zeng X W, Dong Y W, et al. Hnf4α is involved in LC-PUFA biosynthesis by up-regulating gene transcription of elongase in marine teleost *Siganus canaliculatus*[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2018, 19(10): 3193.
- [69] Dong Y W, Wang S Q, Chen J L, et al. Hepatocyte nuclear factor 4α (HNF4α) is a transcription factor of vertebrate fatty acyl desaturase gene as identified in marine teleost *Siganus canaliculatus*[J]. PLoS One, 2016, 11(7): e0160361.
- [70] Dong Y W, Zhao J H, Chen J L, et al. Cloning and characterization of $\Delta 6/\Delta 5$ fatty acyl desaturase (Fad) gene promoter in the marine teleost *Siganus canaliculatus*[J]. Gene, 2018, 647: 174-180.
- [71] Zhu K C, Song L, Zhao C P, et al. The transcriptional factor PPARαb positively regulates *Elov15* elongase in golden pompano *Trachinotus ovatus* (Linnaeus 1758)[J]. Frontiers in Physiology, 2018, 9: Article No.1340.
- [72] Zhu K C, Song L, Guo H Y, et al. Elovl4a participates in LC-PUFA biosynthesis and is regulated by PPARαβ in golden pompano *Trachinotus ovatus* (Linnaeus 1758)[J]. Scientific Reports, 2019, 9(1): Article No.4684.
- [73] Carmona-Antoñanzas G, Zheng X Z, Tocher D R, et al. Regulatory divergence of homeologous Atlantic salmon *elov15* genes following the salmonid-specific whole-genome duplication[J]. Gene, 2016, 591(1): 34-42.

- [74] Zheng X Z, Leaver M J, Tocher D R. Long-chain polyunsaturated fatty acid synthesis in fish: Comparative analysis of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) Δ6 fatty acyl desaturase gene promoters[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology, 2009, 154(3): 255-263.
- [75] Goh P T, Kuah M K, Chew Y S, et al. The requirements for sterol regulatory element-binding protein (Srebp) and stimulatory protein 1 (Sp1)-binding elements in the transcriptional activation of two freshwater fish *Channa striata* and *Danio rerio elov15* elongase[J]. Fish Physiology and Biochemistry, 2020, 46(4): 1349-1359.
- [76] Tay S S, Kuah M K, Shu-Chien A C. Transcriptional activation of zebrafish *fads2* promoter and its transient transgene expression in yolk syncytial layer of zebrafish embryos[J]. Scientific Reports, 2018, 8(1): Article No.3874.
- [77] Xie D Z, Fu Z X, Wang S Q, et al. Characteristics of the *fads2* gene promoter in marine teleost *Epinephelus coioides* and role of Sp1-binding site in determining promoter activity[J]. Scientific Reports, 2018, 8(1): Article No.5305.
- [78] Dong X J, Tan P, Cai Z N, et al. Regulation of FADS2 transcription by SREBP-1 and PPAR-α influences LC-PUFA biosynthesis in fish[J]. Scientific Reports, 2017, 7: Article No.40024.

- [79] Xu H G, Dong X J, Ai Q H, et al. Regulation of tissue LC-PUFA contents, Δ6 fatty acyl desaturase (FADS2) gene expression and the methylation of the putative FADS2 gene promoter by different dietary fatty acid profiles in Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*)[J]. PLoS One, 2014, 9(1): e87726.
- [80] Li Y Y, Zhao J H, Dong Y W, et al. Sp1 is involved in vertebrate LC-PUFA biosynthesis by upregulating the expression of liver desaturase and elongase genes[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2019, 20(20): 5066.
- [81] Dong Y W, Liu L J, Li M M, et al. Insulin can up-regulate LC-PUFA biosynthesis with the involvement of Srebp-1c and stimulatory protein 1 (Sp1) in marine teleost *Siganus canaliculatus*[J]. Gene, 2022, 840: 146755.
- [82] Li Y Y, Yin Z Y, Dong Y W, et al. Ppary is involved in the transcriptional regulation of liver LC-PUFA biosynthesis by targeting the $\Delta 6\Delta 5$ fatty acyl desaturase gene in the marine teleost *Siganus canaliculatus*[J]. Marine Biotechnology, 2019, 21(1): 19-29.
- [83] Sun J, Li J Q, Li Y N, et al. Regulation of Δ6Fads2 gene involved in LC-PUFA biosynthesis subjected to fatty acid in large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. Biomolecules, 2022, 12(5): 659.

Research progress on key enzyme genes involved in DHA biosynthesis and their transcriptional regulation in fish

HU Xuesong¹, ZHONG Dawei^{1, 2}, JIA Zhiying¹

- National and Local Joint Engineering Laboratory for Freshwater Fish Breeding; Key Laboratory of Freshwater Aquatic Biotechnology and Breeding, Ministry of Agriculture and Rural Affairs; Research Center for Genetic and Breeding Engineering Technology of Common Carp, Chinese Academy of Fishery Sciences; Heilongjiang River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Harbin 150070, China;
- 2. College of Fisheries, Tianjin Agricultural University, Tianjin 300384, China

Abstract: Docosahexaenoic acid (DHA) (22:6n-3) is an n-3 (omega-3) long-chain polyunsaturated fatty acid (LC-PUFA) that has attracted much attention in recent years. It is indispensable in the brain and visual development of infants and young children and has many physiological functions, such as the regulation of blood lipids, inhibition of tumor growth, and prevention of Alzheimer's disease. Fish are an important source of DHA in humans. However, with the decline of wild-capture marine fisheries and the increasing aquaculture production, the proportion of DHA obtained from farmed fish is projected to increase significantly. Recent studies suggest that genetic manipulation or selective breeding can enhance endogeous DHA biosynthesis in farmed fish by targeting key regulatory factors, potentially reducing dietary fish oil reliance while increasing DHA content in muscle. During the biosynthesis of LC-PUFAs, elongation of very long-chain fatty acids (Elovl) and fatty acid desaturases (Fads) play important roles by extending the carbon chain and introducing double bonds, respectively. This article provides an overview of the DHA biosynthesis pathways in fish and the *Elovl* and *Fads* gene family members that play key roles at various nodes, and explores the division of labor, functional compensation, and diversity of these genes. The different regulatory modes of transcription factors on the key enzyme genes mentioned above and their effects on DHA biosynthesis were analyzed at the promoter level. This article provides a theoretical reference for genetic improvement and precision breeding of the DHA content trait in farmed fish using techniques such as gene editing or molecular module design.

Key words: fish; docosahexaenoic acid (DHA); key enzyme gene; promoter; transcriptional regulation Corresponding author: JIA Zhiying. E-mail: jiazhiying@hrfri.ac.cn