

利用植物来源铅结合蛋白进行植物修复的研究进展*

王凤珠, 陈琴芳, 俞陆军, 束文圣, 肖仕
(中山大学生命科学学院, 广东 广州 510275)

摘要: 植物修复是指利用植物来清除环境中包括重金属在内的污染物。土壤或者水体中的污染物经植物的根转运到植物的地上组织进行贮存, 这些含有污染物的植物组织最终可被收割及合理处理。植物可利用太阳光进行光合作用营自养生活的这一特性使得植物修复成为一种经济有效且环保的方法清除污染物。重金属是采矿业和制造业等工业的附属产物, 对人类健康有非常严重的毒害作用。据报道, 转基因植物可以用来解除土壤中如汞、镉、砷、硒等重金属的毒性, 但是目前还没有铅结合蛋白从植物中被分离出来。酰基辅酶 A 结合蛋白 (Acyl-CoA-binding proteins, ACBPs) 已被阐明在体内和体外都能结合铅。因此, 本文将论述利用改造植物中的 ACBP 蛋白进行植物修复铅的潜能。

关键词: 酰基辅酶 A 结合蛋白; 重金属; 结合铅; 植物修复; 转基因植物

中图分类号: X172 **文献标志码:** A **文章编号:** 0529-6579 (2015) 03-0102-05

Potential of Plant-Derived Lead-Binding Proteins in Phytoremediation

WANG Fengzhu, CHEN Qinfang, YU Lujun, SHU Wensheng, XIAO Shi

(School of Life Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: Phytoremediation uses plants to remove pollutants including heavy metals from the environment. The roots of the plant channel pollutants residing in soil or water in the environment to above-ground plant tissues for storage. Eventually, these pollutant-containing plant parts can be harvested and properly disposed. Plants thrive by photosynthesis making solar-driven *in situ* localized phytoremediation a very cost-effective and environmentally-friendly method to rid contaminants. Heavy metals are the undesirable products from industries such as mining and manufacturing and they are toxic to both man and animals. It has been reported that transgenic plants can be used to detoxify heavy metals like mercury, cadmium, arsenate, and selenate from the soil. However, few lead-binding proteins have been isolated from plants. Acyl-CoA-binding proteins (ACBPs) have been demonstrated to bind lead *in vitro* and *in vivo* and the potential in using ACBPs for the phytoremediation of lead in transformed plants will be discussed.

Key words: Acyl-CoA-binding proteins; heavy metals; Pb-binding; phytoremediation; transgenic plants

近年来致力于用转基因植物进行土壤中如汞、镉、砷和硒等重金属解毒的研究已经相当广泛^[1]。这些重金属都是采矿业、制造业等工业以及农业所产生的环境污染物, 对人类和动物都有很大的毒性, 特别是对人类神经系统可造成不可逆转的影响

并诱发癌症^[2-3]。同样, 生长在被污染土壤上的植物的生长与发育也会受到抑制。而重金属高富集植物和表达重金属抗性基因的转基因植物, 能够耐受这些胁迫同时净化被污染的环境^[4-5]。植物的根将土壤或者水体中的污染物转运到植物的地上组织如

* 收稿日期: 2015-03-16

基金项目: 广东省高等学校科技创新重点资助项目 (2012CXZD0003)

作者简介: 王凤珠 (1989 年生), 女; 研究方向: 植物分子生物学; 通讯作者: 陈琴芳, 肖仕; E-mail: chenqf3@mail.sysu.edu.cn; xiaoshi3@mail.sysu.edu.cn

叶和茎中贮存^[5], 最后这些含有污染物质的植物组织能被收割并进行合理处理, 这一过程叫做植物修复^[1,5-6]。这种方法特别适用于处理包括砷、镉和汞等不容易分解的金属污染物^[7]。

将非植物基因在植物中异位表达的基因工程技术应用于植物修复已早有报道。例如, 表达能分解三价砷复合物及解除汞、硒酸盐毒性的细菌酶的遗传转化植物已经被报道^[1,8]。过表达酵母液泡转运蛋白 YCF1 的转基因拟南芥能更耐受铅和镉胁迫, 且将这些重金属富集在地上部分^[9]。因此, 表达 YCF1 的转基因拟南芥是第一个植物修复铅的范例。将该基因在用于植物修复的植物物种芸薹 *Brassica juncea* 中过表达, 转基因植株地上部分富集镉和铅的量是野生型 1.5 至 2.0 倍, 这进一步证实 YCF1 在植物修复中的应用潜力^[10]。而去除铅的细菌 P-型 ATP 酶最终不能将铅充分富集在植物细胞中, 故被认为不适用于植物修复^[9]。由于铅对人类特别是儿童的健康所带来的危害不容忽视, 因此植物修复能提供一种有效的策略来消除铅在食物链中的富集和含量^[3]。

1 铅结合蛋白

有报道指出, 人肾组织中的两个小相对分子质量胞质蛋白, 即相对分子质量为 5 000 的胸腺素 β -4 和 9 000 的酰基辅酶 A 结合蛋白能在活体内与生理型的铅紧密结合^[11]。该研究还进一步发现, 这两个在哺乳动物中高度保守的铅结合蛋白是暴露于铅环境的人体中特异的铅离子分子靶标。这个 9 000 的人类 ACBP 蛋白与植物、果蝇、酵母和哺乳动物的生物体中高度保守的 10 000 小 ACBP 蛋白同源^[12-13]。ACBP 蛋白介导细胞内酰基辅酶 A 的转运, 通过与已知在脂质代谢及其他例如蛋白运输、小泡运输和基因调控等细胞过程中作为中间调解者的长链酰基辅酶 A 酯的结合而进行^[12-14]。

相反地, 植物中铅结合蛋白的鉴定及其在铅的植物修复中的潜在应用更是鲜有报道。过度表达钙调蛋白结合转运子 *NtCBP4* 的转基因烟草能在铅诱导胁迫下产生超敏反应而富集铅^[15]。拟南芥 ATP 酶结合匣 (ABC) 转运子 *AtATM3*、*AtPDR12* 和 *AtPDR8* 的转基因植株虽对铅具有耐受能力, 但由于这些植物缺乏植物修复过程中在地上部分积累铅以便最后收获和处理的前提条件, 故被认为不适宜应用于植物修复^[16-18]。但是后续研究者将编码 *AtATM3* 的基因在植物修复常用物种芸薹 *Brassica juncea* 中过表达, 不仅可以提高芸薹对镉和铅的耐

受性, 而且转基因植株地上部分对于镉和铅的富集水平分别是野生型植株的 1.5 和 2.5 倍^[19]。

最近有研究观察到, 编码乙烯信号途径的拟南芥 *EIN2* 基因的表达受铅处理的诱导^[20], *ein2* 突变体比野生型更耐受铅胁迫且同时富集铅^[21]。而内源水杨酸 SA 的含量也与拟南芥对铅和镉的耐受性相关, 比如 SA 积累突变体 *snc1* 的生长被铅和镉抑制, 而铅和镉对 SA 信号中断突变体 *npr1* 和 *snc1/nahG* 植株生长的抑制作用明显减弱, 因此降低植物内源 SA 的含量能减轻拟南芥中铅和镉的毒性^[22]。更多潜在的跟其他重金属功能关联的蛋白已经从拟南芥信息资源数据库 TAIR 中被鉴定出来, 其中包括 1 272 个锌结合蛋白、108 个铜结合蛋白和 4 个镍结合蛋白^[23]。通过搜索同样的数据库, 我们发现仅有一个潜在蛋白 STA1/ATM3 可能与铅有关^[24]。此外, 从豆科田青属 *Sesbania drummondii* 中鉴定到一批铅响应基因, 其中 63 个基因在响应铅处理中呈现大于等于 2.5 倍差异表达变化^[25]。对玉米在铅处理下的基因组表达谱分析, 发现有 2 379 个基因的表达上调, 1 832 个基因的表达下调, 这些基因与翻译后修饰、信号转导、碳水化合物或者脂质转运和代谢相关^[26]。

2 拟南芥酰基辅酶 A 结合蛋白

除相对分子质量为 10 000 的 AtACBP6 外^[27-28], 我们还鉴定到其他 5 个更大相对分子质量的 AtACBP 蛋白, 将拟南芥中的 6 个 ACBP 蛋白命名为 AtACBP1 至 AtACBP6^[13,29]。这个 *AtACBP* 基因家族编码的蛋白大小范围在 92 个氨基酸 (10 400) 到 668 个氨基酸 (73 100), 每一个蛋白都含有一个保守的酰基辅酶 A 结合结构域^[13,29]。这其中包括已经被亚细胞定位到内质网和质膜上的膜关联的 AtACBP1 和 AtACBP2^[30-31]、细胞外靶标的 AtACBP3^[32], 还有含有 kelch 基序的位于胞质中的 AtACBP4 和 AtACBP5^[29,33]。ACBP 蛋白具有明显不同的亚细胞定位以及与酰基辅酶 A 酯不同的亲和力^[13,27-28,30,32-37], 提示它们在植物脂质代谢中有多种多样的细胞功能。已经被鉴定出来的植物 ACBP 蛋白总共有 4 种, 包括小 ACBP (Class I), ANK 型 ACBP (Class II), 大 ACBP (Class III), Kelch 型 ACBP (Class IV)^[38]。其中, 拟南芥 AtACBP6 属于 Class I; AtACBP1 和 AtACBP2 属于 Class II; AtACBP3 属于 Class III; AtACBP4 和 AtACBP5 属于 Class IV^[39]。

AtACBP 蛋白中的两个成员 AtACBP1 和 At-

ACBP2, 有 76.9% 的氨基酸和 N 端跨膜结构域是一致的, 而且都与膜相关联^[30-31,34-35]。此外, 其他结构域的存在, 如 AtACBP1 和 AtACBP2 上的锚蛋白重复, AtACBP4 和 AtACBP5 上的 kelch 基序使得它们能够与蛋白分子伴侣相互作用^[36,40-41]。我们最近的结果进一步显示, 重组的 AtACBP 蛋白可以在体外结合磷脂 PC 或者 PA, 且 AtACBP 表达的改变影响磷脂在拟南芥中的分布^[28,37,42-43], 这些都暗示着它们在脂质代谢中的作用。在 AtACBP 蛋白家族中, 最小的成员 AtACBP6 在其他真核生物中的同源蛋白已广为人知^[14,27,44], 而其他 5 个成员 AtACBP1 至 AtACBP5 在其他生物中的同源蛋白所知甚少。

现已知有几个 AtACBP 蛋白家族成员的表达受非生物和生物胁迫诱导^[13]。例如, AtACBP6 的表达受冷冻处理诱导提高^[28], AtACBP4 的表达则为乙烯前体 ACC、甲基茉莉酮酸酯和葡萄孢属念珠菌感染所诱导^[41]。通过拟南芥 ACBP 过表达植株和基因敲除突变体作为材料进行的研究, 这些与各种胁迫相关的 AtACBP 基因功能均已得到证实^[28,36,43]。另外, 通过分析 *acbp1* 和 *acbp2* 单突变体以及 *acbp1acbp2* 双突变体, 我们发现 AtACBP1 和 AtACBP2 蛋白对于早期胚胎发育至关重要^[42]。综上所述, 拟南芥 ACBP 蛋白通过调节植物脂质和酰基辅酶 A 代谢从而在植物发育和响应胁迫中扮演重要的角色。

3 水稻酰基辅酶 A 结合蛋白

研究者对水稻酰基辅酶 A 结合蛋白基因家族进行系统发生、表达和功能分析, 发现和双子叶拟南芥一样, 有 6 个基因编码水稻的 ACBP 蛋白, 分别命名为 OsACBP1 至 OsACBP6。它们归属的类别有别于上述拟南芥 ACBP, OsACBP1、OsACBP2 和 OsACBP3 都属于 Class I; OsACBP4 属于 Class II; OsACBP5 属于 Class III; OsACBP6 属于 Class IV^[45]。在烟草表皮细胞中分别瞬时表达与绿色荧光蛋白融合的 6 个 OsACBP 蛋白来研究它们的细胞亚定位。和预期相符的是, OsACBP1 和 OsACBP2 定位在胞质, OsACBP4 和 OsACBP5 定位在内质网, 但是 OsACBP3 的定位呈现多样化, 而 OsACBP6 定位在过氧化物酶体。在存在过氧化物酶体脂肪酸氧化缺陷的过氧化物酶体 ABC 转运子 1 突变体 *pxa1* 中过表达 OsACBP6, 可以恢复 IBA 过氧化物酶体氧化、创伤诱导的植物生长相关贮存蛋白 VSP1 的表达和茉莉酸 JA 的积累, 这提示 Os-

ACBP6 在过氧化物酶体氧化中起作用, 也预示着水稻 ACBP 蛋白除了参与脂质合成同时也参与了脂质降解过程^[46]。然而, 水稻 ACBP 蛋白功能的研究还比较有限, 其在逆境胁迫特别是重金属胁迫中的作用是否与拟南芥一致尚未有报道。

4 拟南芥 ACBP 用于植物修复的潜力

与人类相对分子质量为 10 000 的 ACBP 结合铅^[11]的能力相似, 我们的研究结果显示膜关联的 AtACBP 重组蛋白 rACBP1 和 rACBP2 在体外结合铅的能力优于重组的 10 000 ACBP 蛋白 rACBP6^[47]。与此一致的是, Northern blot 结果显示铅处理之后 *AtACBP1* 和 *AtACBP2* 的表达上调, 而 *AtACBP6* 的表达出乎意料地下调。过表达 *AtACBP1* 的转基因拟南芥抗性实验发现, *AtACBP1* 过表达植株比野生型更耐受铅引发的胁迫, 基因敲除突变体 *acbp1* 也表现出对生长培养基中所添加的铅更敏感的表现^[47]。铅含量测定发现, *AtACBP1* 过表达植株在地上部分富集铅。以上结果提示 AtACBP1 可以被用于植物修复^[47]。AtACBP1 在植物地上部分富集铅的能力使其可能有助于移除所污染土壤中的铅。

我们的实验结果进一步表明, AtACBP2 在质膜上与法尼基化重金属结合蛋白 AtFP6 相互作用^[36]。翻译的 *AtFP6* 和 *AtACBP2* 蛋白在体外都能结合铅、镉、铜, 而 EDTA 则能抑制它们结合多种多样的二价金属离子^[36]。AtACBP2 和 AtFP6 的过表达转基因拟南芥在含镉的生长培养基中对镉胁迫的耐受性都比野生型更好^[36], 这提示着这两个蛋白很有可能促进譬如铅、镉和铜重金属在拟南芥中的转运, 因而它们的过表达植物可能有助于植物修复这些重金属。目前仍然需要进一步对这些生长在含重金属培养基上的转基因植株地上组织进行重金属测定以便评估修复效用。

5 结论和展望

我们推测 AtACBP1 和 AtACBP2 可能参与质膜相关的将铅或其他重金属离子运输到拟南芥地上部分的作用, 故它们的过表达转基因植物在植物修复中具有潜在利用价值。由于重组的 AtACBP1 和 AtACBP2 蛋白在体外均能结合不饱和^[14] 18: 2 - CoA 和^[14] 18: 3 - CoA, 因此它们可能在重金属诱导的胁迫所引发的质膜上的脂质双层膜修复中发挥作用^[36,47]。拟南芥另外 4 种 ACBP 和来自其他植物物种的 ACBP 蛋白在结合铅的功能^[44,48-50] 及其过表达植株在铅诱导的胁迫中的耐受性及对重金属铅的

转运功能目前仍在进一步研究中。同时鉴定自其他植物物种例如豆科田青属毒豆 *Sesbania drummondii* 的铅响应基因值得引起关注^[25]。这些基因都为将来从事铅相关蛋白应用于植物修复的研究工作提供宝贵的基因资源。

参考文献:

- [1] KRAMER U. Phytoremediation; novel approaches to cleaning up polluted soils[J]. *Curr Opin Biotech*, 2005, 16(2): 133 – 141.
- [2] RASKIN I, SMITH R D, SALT D E. Phytoremediation of metals; using plants to remove pollutants from the environment[J]. *Curr Opin Biotechnol*, 1997, 8(2): 221 – 226.
- [3] CLEMENS. Molecular mechanisms of plant metal tolerance and homeostasis[J]. *Planta*, 2001, 212(4): 475 – 486.
- [4] HALL J L. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance[J]. *J Exp Bot*, 2002, 53(366): 1 – 11.
- [5] CHYE M L, XIAO S, CHEN Q F, et al. Potential in using *Arabidopsis* acyl-coenzyme-A-binding proteins in engineering stress-tolerant plants [M] // *Biocatalysis and molecular engineering*. New York: John Wiley and Sons, 2010: 83 – 97.
- [6] CUNNINGHAM S D, OW D W. Promises and prospects of phytoremediation[J]. *Plant Physiol*, 1996, 110(3): 715 – 719.
- [7] POWELL K. Genes improve green cleaning[J]. *Nature*, 2002, doi: 10.1038/news021001 – 14.
- [8] DHANKHER O P, LI Y, ROSEN B O, et al. Engineering tolerance and hyperaccumulation of arsenic in plants by combining arsenate reductase and gamma-glutamylcysteine synthetase expression[J]. *Nature Biotech*, 2002, 20(11): 1140 – 1146.
- [9] SONG W Y, SOHN E J, MARTINOIA E, et al. Engineering tolerance and accumulation of lead and cadmium in transgenic plants[J]. *Nat Biotech*, 2003, 21(8): 914 – 919.
- [10] BHUIYAN M S U, MIN S R, JEONG W J, et al. Overexpression of a yeast cadmium factor 1 (YCF1) enhances heavy metal tolerance and accumulation in *Brassica juncea* [J]. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 2011, 105(1): 85 – 91.
- [11] SMITH D R, KAHNG M W, QUINTANILLA-VEGA B, et al. High-affinity renal lead-binding proteins in environmentally-exposed humans [J]. *Chem Biol Interact*, 1998, 115(1): 39 – 52.
- [12] KRAGELUND B B, KNUDSEN J, POULSEN F M. Acyl-coenzyme A binding protein (ACBP) [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1999, 1441(2/3): 150 – 161.
- [13] XIAO S, CHYE M L. An *Arabidopsis* family of six acyl-CoA-binding proteins has three cytosolic members [J]. *Plant Physiol Biochem*, 2009, 47(6): 479 – 484.
- [14] FAERGEMAN N J, KNUDSEN J. Role of long-chain fatty acyl-CoA esters in the regulation of metabolism and in cell signalling[J]. *Biochem J*, 1997, 323(1): 1 – 12.
- [15] ARAZI T, SUNKAR R, KAPLAN B, et al. A tobacco plasma membrane calmodulin-binding transporter confers Ni²⁺ tolerance and Pb²⁺ hypersensitivity in transgenic plants[J]. *Plant J*, 1999, 20(2): 171 – 182.
- [16] LEE M, LEE K, LEE J, Et al. AtPDR12 contributes to lead resistance in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiol*, 2005, 138(2): 827 – 836.
- [17] KIM D Y, BOVET L, KUSHNIR S, et al. AtATM3 is involved in heavy metal resistance in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiol*, 2006, 140(3): 922 – 932.
- [18] KIM D Y, BOVET L, MAESHIMA M, et al. The ABC transporter AtPDR8 is a cadmium extrusion pump conferring heavy metal resistance [J]. *Plant J*, 2007, 50(2): 207 – 218.
- [19] BHUIYAN M S U, MIN S R, JEONG W J, et al. Overexpression of AtATM3 in *Brassica juncea* confers enhanced heavy metal tolerance and accumulation [J]. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 2011, 107(1): 69 – 77.
- [20] ALONSO J M, HIRAYAMA T, ROMAN G, et al. EIN2, a bifunctional transducer of ethylene and stress responses in *Arabidopsis* [J]. *Science*, 1999, 284(5423): 2148 – 2152.
- [21] CAO S, CHEN Z, LIU G, et al. The *Arabidopsis* Ethylene-Insensitive 2 gene is required for lead resistance [J]. *Plant Physiol Biochem*, 2009, 47(4): 308 – 312.
- [22] TAO S, SUN L, MA C, et al. Reducing basal salicylic acid enhances *Arabidopsis* tolerance to lead or cadmium [J]. *Plant and Soil*, 2013, 372(1/2): 309 – 318.
- [23] KRAMER U, TALKE I N, HANIKENNE M. Transition metal transport[J]. *FEBS Lett*, 2007, 581(12): 2263 – 2272.
- [24] XIAO S, CHYE M L. *Arabidopsis* ACBP1 overexpressors are Pb(II)-tolerant and accumulate Pb(II) [J]. *Plant Signal Behav*, 2008, 3(9): 693 – 694.
- [25] SRIVASTAVA A K, VENKATACHALAM P, RAGHOTHAMA K G, et al. Identification of lead-regulated genes by suppression subtractive hybridization in the heavy metal accumulator *Sesbania drummondii* [J]. *Planta*, 2007, 225(6): 1353 – 1365.
- [26] SHEN Y, ZHANG Y, CHEN J, et al. Genome expression profile analysis reveals important transcripts in maize roots responding to the stress of heavy metal Pb

- [J]. *Physiologia Plantarum*, 2013, 147 (3): 270 – 282.
- [27] ENGESETH N J, PACOVSKY R S, NEWMAN T, et al. Characterization of an acyl-CoA-binding protein from *Arabidopsis thaliana* [J]. *Arch Biochem Biophys*, 1996, 331(1): 55 – 62.
- [28] CHEN Q F, XIAO S, CHYE M L. Overexpression of the *Arabidopsis* 10-kilodalton acyl-coenzyme A-binding protein ACBP6 enhances freezing tolerance [J]. *Plant Physiol*, 2008, 148(1): 304 – 315.
- [29] LEUNG K C, LI H Y, MISHRA G, et al. ACBP4 and ACBP5, novel *Arabidopsis* acyl-CoA-binding proteins with kelch motifs that bind oleoyl-CoA [J]. *Plant Mol Biol*, 2004, 55(2): 297 – 309.
- [30] CHYE M L, HUANG B Q, ZEE S Y. Isolation of a gene encoding *Arabidopsis* membrane-associated acyl-CoA-binding protein and immunolocalization of its gene product [J]. *Plant J*, 1999, 18(2): 205 – 214.
- [31] LI H Y, CHYE M L. Membrane localization of *Arabidopsis* acyl-CoA-binding protein ACBP2 [J]. *Plant Mol Biol*, 2003, 51(4): 483 – 492.
- [32] LEUNG K C, LI H Y, XIAO S, et al. *Arabidopsis* ACBP3 is an extracellularly targeted acyl-CoA-binding protein [J]. *Planta*, 2006, 223(5): 871 – 881.
- [33] XIAO S, LI H Y, ZHANG J P, et al. *Arabidopsis* acyl-CoA-binding proteins ACBP4 and ACBP5 are subcellularly localized to the cytosol and ACBP4 depletion affects membrane lipid composition [J]. *Plant Mol Biol*, 2008, 68(6): 571 – 583.
- [34] CHYE M L. *Arabidopsis* cDNA encoding a membrane-associated protein with an acyl-CoA-binding domain [J]. *Plant Mol Biol*, 1998, 38(5): 827 – 838.
- [35] CHYE M L, LI H Y, YUNG M H. Single amino acid substitutions at the acyl-CoA-binding domain interrupt ¹⁴[C] palmitoyl-CoA binding of ACBP2, an *Arabidopsis* acyl-CoA-binding protein with ankyrin repeats [J]. *Plant Mol Biol*, 2000, 44(6): 711 – 721.
- [36] GAO W, XIAO S, LI H Y, et al. *Arabidopsis thaliana* acyl-CoA-binding protein ACBP2 interacts with heavy-metal-binding farnesylated protein AtFP6 [J]. *New Phytol*, 2009, 181 (1): 89 – 102.
- [37] XIAO S, CHEN Q F, CHYE M L. Light-regulated *Arabidopsis* ACBP4 and ACBP5 encode cytosolic acyl-CoA-binding proteins that bind phosphatidylcholine and oleoyl-CoA ester [J]. *Plant Physiol Biochem*, 2009, 47 (10): 926 – 933.
- [38] BURTON M, ROSE T M, FÆRGEMAN N J, et al. Evolution of the acyl-CoA-binding protein (ACBP). *Journal of Biochemistry*, 2005, 392: 299 – 307.
- [39] XIAO S, CHYE M L. New roles for acyl-CoA-binding proteins (ACBPs) in plant development, stress responses and lipid metabolism [J]. *Progress in Lipid Research*, 2011, 50(2): 141 – 151.
- [40] LI H Y, CHYE M L. *Arabidopsis* acyl-CoA-binding protein ACBP2 interacts with an ethylene-responsive element-binding protein, AtEBP, via its ankyrin repeats [J]. *Plant Mol Biol*, 2004, 54(2): 233 – 243.
- [41] LI H Y, XIAO S, CHYE M L. Ethylene- and pathogen-inducible *Arabidopsis* acyl-CoA-binding protein 4 interacts with an ethylene-responsive element binding protein [J]. *J Exp Bot*, 2008, 59(14): 3997 – 4006.
- [42] CHEN Q F, XIAO S, QI W Q, et al. The *Arabidopsis* acbp1acbp2 double mutant lacking the acyl-CoA-binding proteins ACBP1 and ACBP2 is embryo lethal [J]. *New Phytol*, 2010, 186(4): 843 – 855.
- [43] DU Z Y, XIAO S, CHEN Q F, et al. Depletion of the membrane-associated acyl-CoA-binding protein ACBP1 enhances the ability of cold acclimation in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiol*, 2010, 152(3): 1585 – 1597.
- [44] HILLS M J, DANN R, LYDIATE D, et al. Molecular cloning of a cDNA from *Brassica napus* L. for a homologue of acyl-CoA-binding protein [J]. *Plant Mol Biol*, 1994, 25(5): 917 – 920.
- [45] MENG W, SU Y C F, SAUNDERS R M K, et al. The rice acyl-CoA-binding protein gene family: phylogeny, expression and functional analysis [J]. *New Phytologist*, 2011, 189(4): 1170 – 1184.
- [46] MENG W, HSIAO A S, GAO C J, et al. Subcellular localization of rice acyl-CoA-binding proteins (ACBPs) indicates that OsACBP6::GFP is targeted to the peroxisomes [J]. *New Phytologist*, 2014, 203(2): 469 – 482.
- [47] XIAO S, GAO W, CHEN Q F, et al. Overexpression of membrane-associated acyl-CoA-binding protein ACBP1 enhances lead tolerance in *Arabidopsis* [J]. *Plant J*, 2008, 54(1): 141 – 151.
- [48] BROWN A P, JOHNSON P, RAWSTHORNE S, et al. Expression and properties of acyl-CoA binding protein from *Brassica napus* [J]. *Plant Physiol Biochem*, 1998, 36(9): 629 – 635.
- [49] METZNER M, RUECKNAGEL K P, KNUDSEN J, et al. Isolation and characterization of two acyl-CoA-binding proteins from proembryogenic masses of *Digitalis lanata* Ehrh [J]. *Planta*, 2000, 210(4): 683 – 685.
- [50] SUZUI N, NAKAMURA S, FUJIWARA T, et al. A putative acyl-CoA-binding protein is a major phloem sap protein in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *J Exp Bot*, 2006, 57(11): 2571 – 2576.