

孙晓丽,武艳芳,王永丽,等. 金银花 MYB 基因家族的功能鉴定与组织表达差异分析[J]. 江苏农业科学,2025,53(8):41-48.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2025.08.006

金银花 MYB 基因家族的功能鉴定与组织表达差异分析

孙晓丽,武艳芳,王永丽,高璐,陈寻峰,蒋建雄

(江苏大学生物质能源研究院,江苏镇江 212013)

摘要:为了探究金银花 MYB 家族转录因子的调控功能,挖掘对绿原酸生物合成具有调控作用的 MYB 转录因子,从金银花的转录组数据中鉴定出 37 个 MYB 转录因子,并对其所编码蛋白的理化性质、进化关系、启动子序列、保守基序区域和不同组织中的相对表达量进行系统分析。保守基序(motif)区域分析结果表明,37 个 MYB 转录因子含有保守的 R2R3-MYB 结构域,属于 R2R3-MYB 亚族。上游启动子元件分析结果显示,这些 MYB 转录因子参与植物激素、外界非生物胁迫、生长发育的应答等。组织差异性表达分析结果显示,LjMYB6-1、LjMYB12-2、LjMYB4 为代表的 12 个转录因子的基因在白花中相对表达量较高,以 LjMYB6、LjMYB11、LjMYB12 为代表的 12 个转录因子的基因在青蕾中相对表达量较高,而金银花中的白花和青蕾是绿原酸含量最高的药用部位。系统进化树结果显示,LjMYB11、LjMYB4、LjMYB6、LjMYB6-1、LjMYB12、LjMYB12-2 共 6 个 MYB 转录因子位于参与植物苯丙素代谢途径调控的进化分支中,表明它们具有潜在的调控苯丙素代谢途径的作用。综合分析,认为这 6 个转录因子可能参与对金银花绿原酸生物合成的调控。

关键词:金银花;MYB;转录因子;功能分析;组织表达;motif 分析

中图分类号:S567.7+90.1 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2025)08-0041-08

金银花(*Lonicera japonica* Thunb.)作为我国的传统中药,药用部位为植物未开放的花蕾,金银花早在《本草纲目》中就有记载,使用历史悠久,药用价值极高。现代医学表明,金银花具有清热解毒、凉血止痢、抗菌消炎、保肝利胆、提高免疫力等功效^[1-2],对于呼吸道感染和肺炎等疾病也有很好的治疗作用^[3]。金银花含有绿原酸、木犀草素、多酚、黄酮类、三萜皂苷类、挥发油等物质^[4-6]。其中,绿

原酸类物质是金银花发挥抗菌消炎作用的主要药效成分^[7],也是评价金银花等级的重要指标^[8]。

绿原酸(chlorogenic acid),也称为咖啡鞣酸,是由咖啡酸(caffeic acid)和奎宁酸(quinic acid)生成的缩酚酸^[9]。在金银花中,次级代谢产物绿原酸主要通过细胞的苯丙素代谢途径进行合成^[10]。绿原酸合成通路从苯丙氨酸开始,首先生成对-香豆酰 CoA(*p*-Coumaroyl CoA),再分别经历 3 种主要途径,羟基化肉桂酰辅酶 A/奎宁酸肉桂酰羟基化转移酶(HQT)途径、对-香豆酰奎宁酸(*p*-coumaroyl quinic acid)途径、羟基化肉桂酰 D-葡萄糖/奎宁酸羟基化肉桂酰转移酶(HCGQT)途径,最终生成绿

收稿日期:2024-03-05

作者简介:孙晓丽(1996—),女,山西大同人,硕士研究生,主要从事金银花绿原酸代谢调控研究。E-mail:chinamoyu@163.com。

通信作者:蒋建雄,博士,研究员,主要从事植物育种与生物质资源化利用研究。E-mail:jxjiang2002@163.com。

and breeding based on subspecies *indica* and *japonica* genome alignments[J]. *Genome Research*,2004,14(9):1812-1819.

[21]岳晓鹏. 基于甘蓝型油菜基因组重测序开发 InDel 标记[D]. 武汉:华中农业大学,2014:30-31.

[22]尤园园,王帅,方莹莹,等. 茄子全基因组 InDel 变异特征及分子标记开发和应用[J]. *园艺学报*,2024,51(3):520-532.

[23]Park S, Yu H J, Mun J H, et al. Genome-wide discovery of dna polymorphism in *Brassica rapa* [J]. *Molecular Genetics & Genomics*,2010,283(2):135-145.

[24]许玉富,黄依琳,李荣华,等. 基于 RAD-seq 的菜心 InDel 标记开发及应用[J]. *广东农业科学*,2024,51(3):91-102.

[25]吉康娜,鄧俊杰,林丹妮,等. 基于茄子基因组重测序的 InDel 标记开发及应用[J]. *植物遗传资源学报*,2019,20(5):1278-1288.

[26]蒲伟军,谭冰兰,贺丹晨,等. 利用重测序技术开发高粱 InDel 分子标记[J]. *生物技术进展*,2023,13(5):730-741.

[27]杨易,黎庭耀,李国景,等. 基于重测序的长豇豆基因组 InDel 标记开发及应用[J]. *园艺学报*,2022,49(4):778-790.

[28]齐兰,杨耀东,黄丽云,等. 基于重测序的槟榔 InDel 标记开发及应用[J]. *分子植物育种*,2024,22(5):1501-1507.

[29]卢霞,刘梦华,邓志军,等. 基于 InDel 标记的黄瓜种质资源遗传多样性分析[J]. *江苏农业科学*,2021,49(1):49-54.

原酸^[11-15]。

MYB 转录因子家族成员数量庞大,在拟南芥中 10.4% 的转录因子属于 MYB 家族^[16]。MYB 转录因子家族成员在 N 端包含高度保守的 MYB 结构域,在 C 端通常包含 1 个转录激活域或 1 个发挥转录抑制功能的 EAR (ethylene - responsive element binding factor - associated amphiphilic repression motif) 结构^[17]。每个 N 端的 MYB 结构域含有 51 ~ 52 个高度保守的氨基酸残基,构成了 3 个螺旋结构,第 2、第 3 个螺旋和两者间的转角构成了 HLH 结构,MYB 蛋白通过 HLH 结构插入到 DNA 分子大沟,与目标 DNA 结合,进而调控基因的表达。根据 MYB 家族转录因子 N 端所包含的 MYB 结构域数目,将 MYB 蛋白分为 4 个亚族,1R - MYB (R1/2 或 R3MYB)、2R - MYB (R2R3 - MYB)、3R - MYB (R1R2R3 - MYB) 和 4R - MYB (R1/R2 - like)^[18]。4 个亚族的 MYB 转录因子成员在功能上各有分工,1R 亚族主要参与次生代谢、响应磷饥饿信号、花与果实的发育和维持染色体结构^[19];3R 亚族通常涉及细胞周期调控^[20];4R 亚族是成员数量最少的 MYB 亚族,发现存在于植物中,目前功能研究较少;而 2R 亚族是成员数量最多,也是发挥主要调控功能的 MYB 亚族,广泛参与植物次生代谢物调控、细胞分化与形态建成及细胞信号转导等^[21]。

已有大量研究表明植物的 R2R3 - MYB 转录因子对于苯丙素代谢途径有很强的调控作用,植物的苯丙素代谢途径产物包括花青素、单宁、黄酮类和绿原酸等次生代谢物质^[22]。在葡萄中,*VvMYBA1-2*、*VvMYB5a* 和 *VvMYB5b* 使得苯丙素代谢途径的花青素和单宁大量积累^[23-25];在拟南芥中,*AtMYB11/PFG1*、*AtMYB12/PFG1*、*AtMYB111/PFG3* 控制黄酮的生物合成,*AtMYB75*、*AtMYB90*、*AtMYB113*、*AtMYB114* 控制花青素的生物合成,*AtMYB123/TT2* 控制拟南芥种皮中原花青素的生物合成^[16,26-27];苦荞的 *FtMYB2*、*FtMYB1* 基因提高了转基因烟草中的黄酮含量^[28];在桑树中,*MbMYB12* 基因在毛状根中的表达提高了黄酮类化合物的含量,*MbMYB308* 基因则抑制了黄酮类化合物的合成^[29]。

综上所述,MYB 转录因子家族成员对植物的苯丙素代谢途径具有调控作用,影响苯丙素代谢途径中植物次生代谢产物的合成;因此,金银花 MYB 转录因子家族成员可能会影响植物次生代谢物绿原酸的生成含量。本研究通过对金银花的 MYB 转录

因子家族成员筛选鉴定、理化性质统计、进化树系统分析、蛋白序列的保守 motif 基序分析和 MYB 基因上游的启动子分析,同时对于植物不同组织中的 MYB 基因家族成员的相对表达丰度进行分析,以期探究对绿原酸合成具有潜在调控作用的 MYB 转录因子。

1 材料与方法

1.1 试验时间与地点

试验于 2023 年 12 月在江苏大学生物质能源研究院完成。

1.2 金银花 MYB 转录因子家族成员鉴定

对金银花的不同组织材料(青蕾 - QH,金花 - HH,白花 - BH,嫩叶 - YL,老叶 - AL)进行二代转录组测序分析,对全株的金银花进行蛋白组测序分析;从中国国家生物信息中心 (<http://www.cncb.ac.cn/>) 下载金银花的基因组、转录组和蛋白组文件;从 PlantTFDB (<http://planttfdb.gao-lab.org/>) 下载 168 个拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 的 MYB 转录因子蛋白序列。利用 TBtools 软件以拟南芥的 MYB 转录因子蛋白序列为基础^[30],对金银花的蛋白序列进行筛选鉴定,获得金银花 MYB 转录因子蛋白序列。利用 MEME 在线软件 (<http://meme-suite.org/meme/>) 对 MYB 转录因子的保守结构域进行筛选^[31],去除结构域不完整的 MYB 转录因子序列,获得具有完整结构域蛋白序列的金银花 MYB 转录因子。

1.3 理化性质分析

使用 ExPASy (Expasy - ProtParam tool) 在线软件对金银花 MYB 转录因子进行相对分子量(ku)、氨基酸数量、等电点、不稳定指数、脂溶指数、平均亲水性等理化性质分析。

1.4 进化分析

收集鉴定的 37 个金银花的 MYB 转录因子的蛋白序列、拟南芥的部分 MYB 转录因子的蛋白序列、草莓 (*Fragaria × ananassa*) 的 R2R3 - MYB 转录因子 FaMYB5 蛋白序列^[32]、小苍兰 (*Freesia hybrida*) 中的 R2R3 - MYB 转录因子 FhMYB5 蛋白序列^[33]、葡萄 (*Vitis vinifera*) 的 R2R3 - MYB 转录因子 VvMYB5b 蛋白序列^[24],利用 MEGA 11 软件中的 Align by ClustalW 模块进行多序列比对^[34],然后使用 Neighbor - Joining 功能构建进化树(默认软件参数,bootstrap = 1 000),进行金银花 MYB 转录因子的进化定位分析。

1.5 启动子顺式作用元件分析

在中国国家生物信息中心下载金银花的基因组文件和注释文件,利用 TBtool 获取 MYB 基因家族成员上游 3 500 bp 的基因组序列^[30],然后在线网站 Plant CARE 进行启动子顺式作用元件分析^[35],将分析结果通过 TBtools 进行图像化处理^[30]。

1.6 蛋白结构域分析

将在 MEME 在线软件获得的金银花 MYB 转录因子家族成员的保守基序分析结果^[31],利用 TBtools 的 Visualize MEME Motif Pattern 程序进行数据处理,获得直观的 Motif 分析^[30]。

1.7 基因在不同组织的相对表达丰度分析

利用金银花不同组织材料(青蕾-QH、金花-HH、白花-BH、嫩叶-YL、老叶-AL)的二代转录组数据,获得金银花 MYB 基因家族成员在不同组织中的表达丰度数据,利用 TBtools 的 Heat Map 模块绘制表达丰度热图^[30]。

2 结果与分析

2.1 金银花 MYB 转录因子鉴定与理化性质分析

通过分析测序获得的金银花蛋白序列数据,并结合中国国家生物信息中心的金银花蛋白数据,鉴定出 37 个具有全长序列的金银花 MYB 转录因子蛋白。结果表明,这些 MYB 转录因子蛋白分子量在 20 107.36 ~ 44 291.50 ku 之间,氨基酸数量在 180 ~ 407 之间,等电点在 5.05 ~ 9.69 之间,不稳定系数在 36.95 ~ 67.00 之间,脂溶指数在 54.04 ~ 81.29 之间,平均亲水性 (GRAVY) 在 0.970 ~ 0.482 之间(表 1)。

2.2 进化分析

本研究对金银花和拟南芥等的 MYB 转录因子蛋白进行了多序列比对,使用 MEGA11 软件进行了进化树构建,并对鉴定出的 37 个金银花 MYB 转录因子(图 1)。结果显示,37 个 MYB 转录因子均属于 R2R3-MYB 亚类,其中的 LjMYB1、LjMYB6、LjMYB12、LjMYB16、LjMYB17、LjMYB20、LjMYB36、LjMYB62、LjMYB73 共 9 个转录因子有旁系同源蛋白。37 个 MYB 转录因子从生理功能角度分为 3 组,第 1 组 MYB 转录因子家族成员主要在细胞分化和组织结构形成的过程中发挥调控作用;第 2 组 MYB 转录因子家族成员主要在植物的苯丙素代谢途径和次生代谢产物合成的过程中具有调控的作

用;第 3 组 MYB 转录因子家族成员大部分主要在植物的抗逆胁迫和激素响应的过程中发挥调控的作用。其中,LjMYB4、LjMYB6、LjMYB6-1、LjMYB11、LjMYB12、LjMYB12-2 共 6 个转录因子属于第 2 组,具有潜在的调控次生代谢物合成的功能。LjMYB11 与 AtMYB5、FaMYB5、VvMYB5b、FhMYB5 进化关系较近,属于 MYB5 亚类。

2.3 启动子顺式作用元件分析

对 MYB 基因上游 3 500 bp 的启动子区域进行功能元件分析,结果表明基因上游应答元件主要与植物激素应答、逆境应答、光感应答和生长发育调控有关(图 2)。MYB 家族基因上游启动子元件可以参与植物激素生长素 (auxin)、茉莉酸甲酯 (MeJA)、赤霉素 (GA)、脱落酸 (ABA) 的应答;上游启动子元件可以参与干旱、缺氧、低温、损伤、胁迫等逆境应答;还有的启动子元件可以响应分生组织生长、胚乳表达和栅栏叶肉细胞分化的反式作用因子。

2.4 蛋白结构域分析

通过利用 MEME 网站对金银花 37 个 MYB 转录因子蛋白序列和 FhMYB5、FaMYB5、VvMYB5b 这 3 个经典的 R2R3-MYB 亚族转录因子蛋白序列进行保守基序分析(图 3),发现 37 个金银花 MYB 家族转录因子蛋白均属于 R2R3-MYB 亚族,包含经典的 R2R3 保守基序(图 4)。

2.5 不同组织中的基因相对表达丰度分析

本研究对不同组织部位中的转录组进行测序,收集了 37 个 MYB 基因的转录表达值,构建了 MYB 基因家族成员的表达矩阵,根据矩阵构建了相对表达热图(图 5)。在金银花绿原酸含量最高的 QH 组织中,LjMYB11、LjMYB36、LjMYB6、LjMYB62、LjMYB14、LjMYB16、LjMYB340、LjMYB26、LjMYB12、LjMYB17、LjMYB60、LjMYB86 共 12 个基因的相对表达量较高。在金银花的 BH 组织中,LjMYB6-1、LjMYB20-2、LjMYB36-2、LjMYB73、LjMYB73-2、LjMYB61、LjMYB12-2、LjMYB4、LjMYB73-5、LjMYB305、LjMYB1、LjMYB73-4 共 12 个基因的相对表达量较高,其中的 7 个基因 LjMYB61、LjMYB12-2、LjMYB4、LjMYB73-5、LjMYB305、LjMYB1、LjMYB73-4 在 HH 组织中也具有较高的表达丰度,可能主要参与植物花组织的生理功能调控。在 HH 组织中,除上述的 7 个基因外,LjMYB1-2、LjMYB20、LjMYB62-1、LjMYB102 共 4 个基因也具有较高的相对表达量。而

表 1 37 个金银花 MYB 转录因子蛋白及理化性质分析

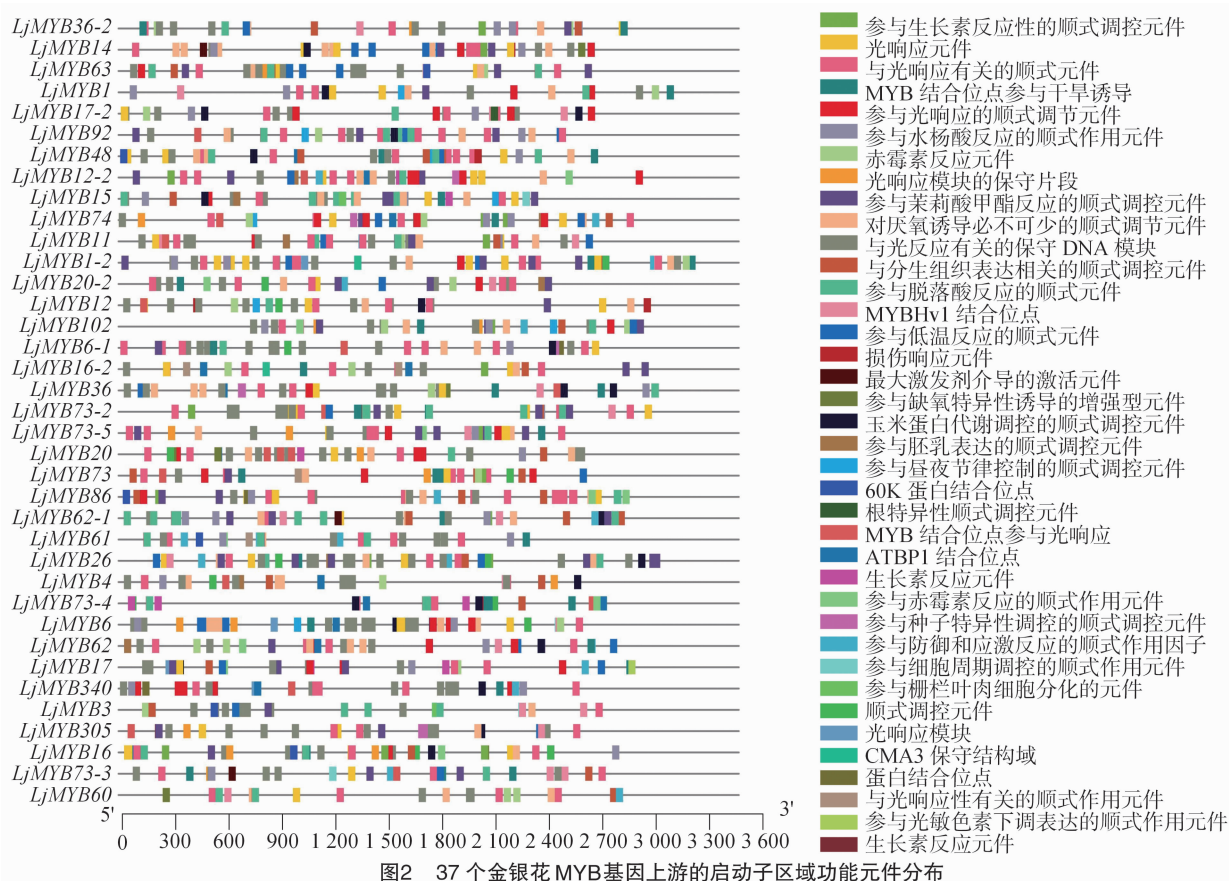
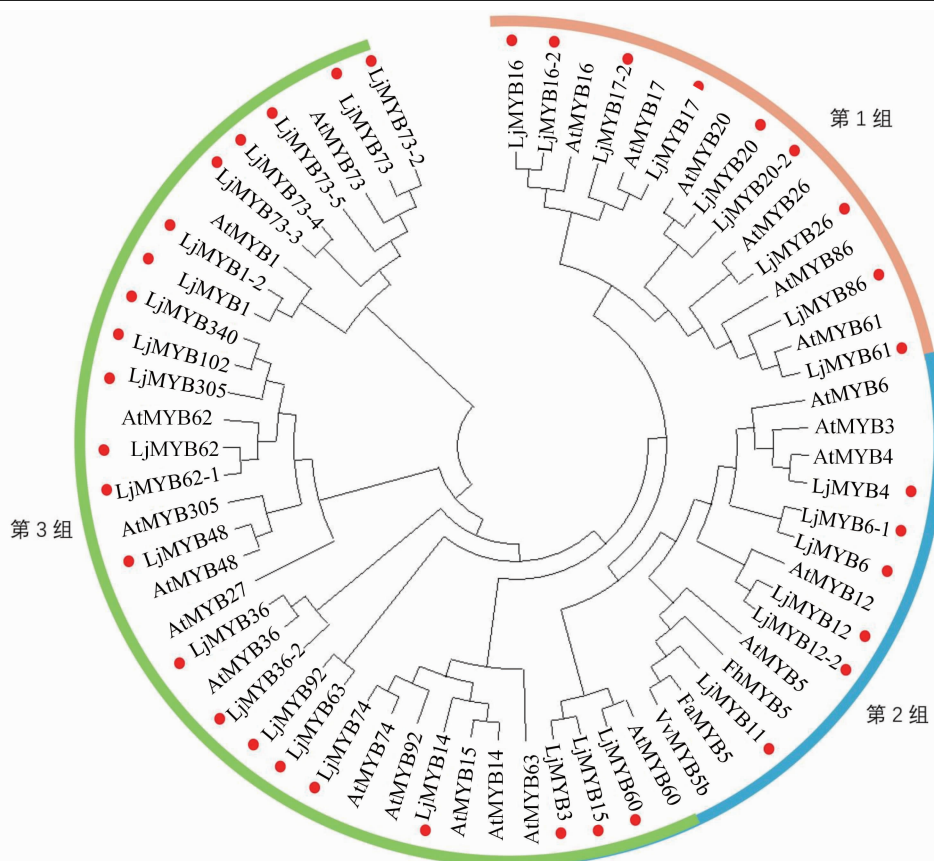
蛋白名称	氨基酸数量 (个)	分子量 (ku)	等电点 (pI)	不稳定指数	脂溶指数	平均亲水性
LjMYB1	382	41 621.83	5.85	46.88	70.47	-0.482
LjMYB1-2	407	44 291.50	5.70	44.48	70.02	-0.585
LjMYB3	248	27 804.19	6.32	57.65	74.31	-0.756
LjMYB4	193	21 774.75	9.28	52.99	70.83	-0.781
LjMYB6	230	26 149.46	8.38	46.65	72.48	-0.818
LjMYB6-1	229	25 913.38	8.54	59.39	78.38	-0.762
LjMYB11	272	30 656.81	6.06	56.19	61.73	-0.970
LjMYB12	328	36 244.47	5.34	54.67	66.86	-0.624
LjMYB12-2	337	37 970.53	5.05	58.71	69.50	-0.741
LjMYB14	243	27 905.28	7.01	49.27	64.98	-0.799
LjMYB15	260	29 729.37	7.71	52.53	74.19	-0.850
LjMYB16	349	38 688.11	6.38	53.82	66.56	-0.787
LjMYB16-2	357	39 169.51	6.09	55.53	65.32	-0.757
LjMYB17	324	36 099.57	5.70	52.00	69.26	-0.643
LjMYB17-2	284	32 029.06	6.25	50.71	70.07	-0.677
LjMYB20	208	23 954.39	8.08	48.86	75.00	-0.808
LjMYB20-2	202	23 504.00	8.13	40.47	81.09	-0.729
LjMYB26	302	34 251.89	7.69	67.00	81.29	-0.548
LjMYB36	340	38 533.95	6.01	61.49	66.03	-0.763
LjMYB36-2	307	35 065.94	6.03	42.78	54.04	-0.902
LjMYB48	233	26 933.54	8.58	60.85	72.32	-0.680
LjMYB60	302	34 279.26	6.34	47.50	63.94	-0.749
LjMYB61	391	44 264.92	6.72	59.53	59.64	-0.884
LjMYB62	291	33 704.81	6.05	63.89	63.06	-0.889
LjMYB62-1	296	33 987.19	6.00	60.81	71.79	-0.710
LjMYB63	237	27 584.59	5.38	61.19	68.35	-0.870
LjMYB73	360	39 552.34	7.65	60.06	66.58	-0.610
LjMYB73-2	349	38 690.04	8.84	59.47	72.03	-0.489
LjMYB73-3	276	30 963.16	8.41	54.86	76.59	-0.619
LjMYB73-4	260	29 263.06	6.67	36.95	68.23	-0.712
LjMYB73-5	180	20 107.36	9.69	63.71	58.56	-0.909
LjMYB74	349	39 901.34	5.44	52.54	68.74	-0.761
LjMYB86	326	37 099.31	5.59	58.90	69.66	-0.671
LjMYB92	243	28 183.68	6.33	57.07	66.63	-0.757
LjMYB102	324	36 879.63	5.64	58.57	69.23	-0.752
LjMYB305	194	22 550.36	6.23	51.67	74.43	-0.827
LjMYB340	194	22 442.13	7.02	52.61	66.91	-0.885

在 YL 和 AL 组织中, *LjMYB48*、*LjMYB15*、*LjMYB16-2*、*LjMYB17-2*、*LjMYB73-3*、*LjMYB63*、*LjMYB74*、*LjMYB3*、*LjMYB92* 共 9 个基因相对表达量较高,对叶片的生理功能具有潜在的调控作用。

3 讨论与结论

MYB 转录因子家族成员数量庞大,在植物生理代谢过程中发挥重要的调控作用。MYB 转录因子蛋白在 N 端包含 MYB 保守结构域,在 C 端包含激

活域或抑制域 EAR 基序,从而发挥 MYB 转录因子的调控功能。MYB 转录因子家族主要在植物生长发育、生命活动周期节律调控、植物激素应答、生物与非生物胁迫、植物苯丙素代谢途径的次生代谢合成等领域发挥功能^[36]。在本研究的 MYB 基因上游启动子元件分析中可以显现,MYB 转录因子可以参与种子发育、栅栏细胞形成、胚乳形成、玉米蛋白形成、生长素、赤霉素和脱落酸等植物激素,干旱、缺氧、低温、损伤胁迫等的应答。



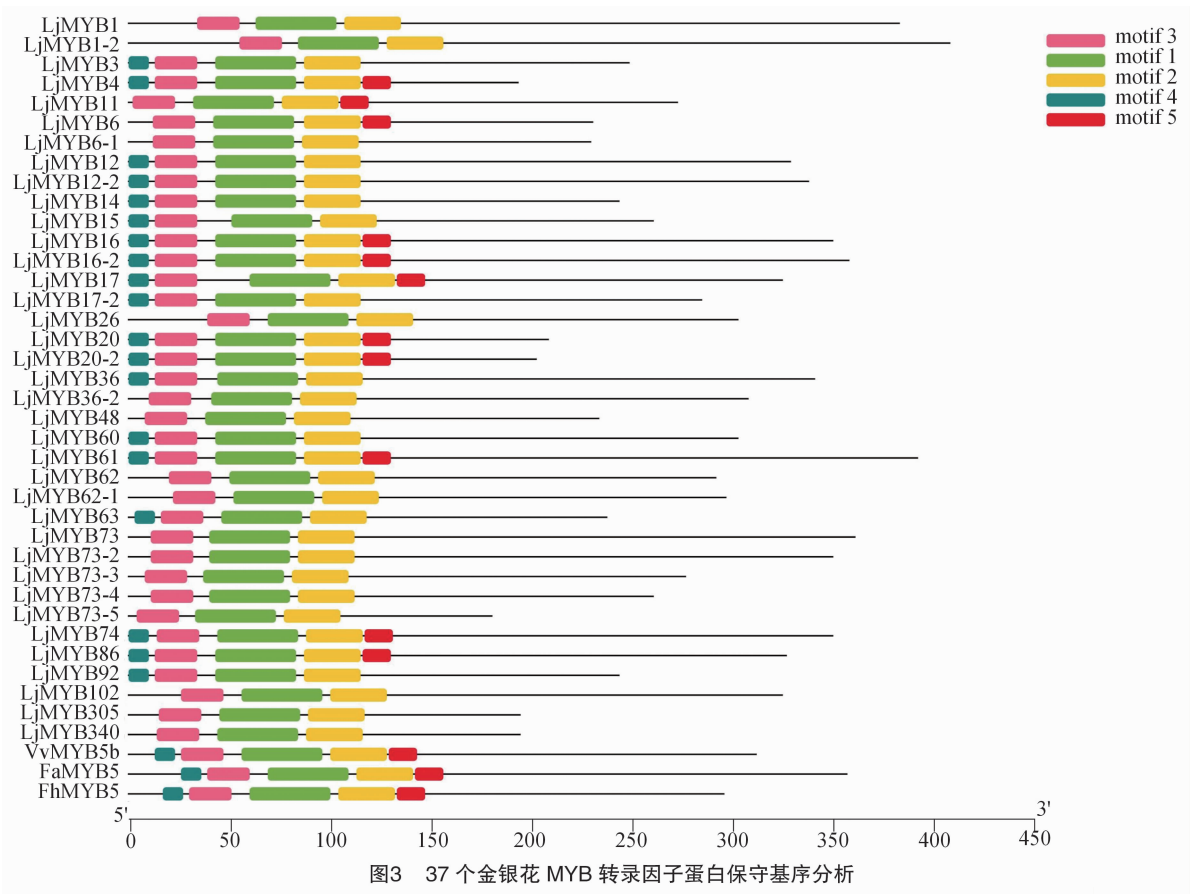


图3 37 个金银花 MYB 转录因子蛋白保守基序分析

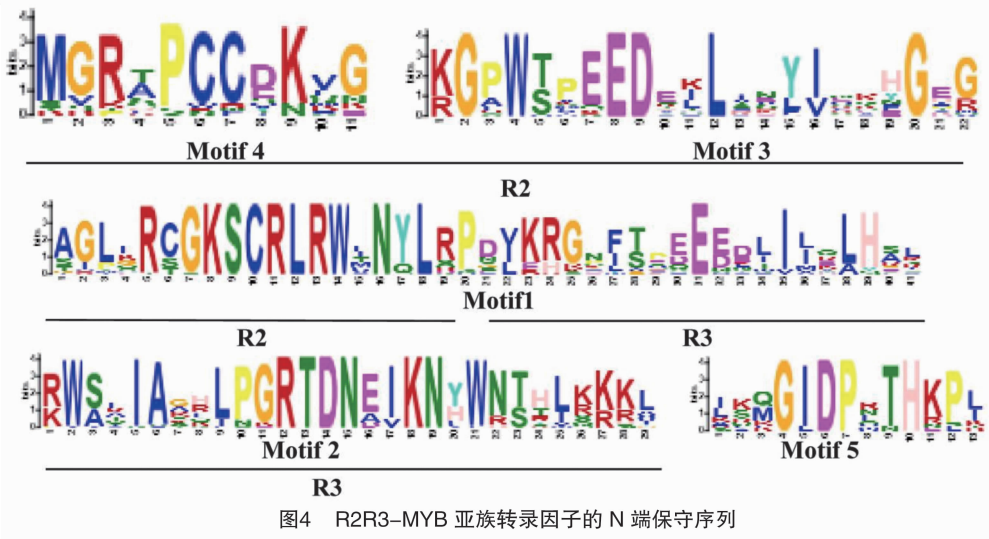


图4 R2R3-MYB 亚族转录因子的 N 端保守序列

本研究鉴定出的 37 个 MYB 家族转录因子,均含有保守的 MYB 结构域,通过蛋白保守基序分析,37 个转录因子均属于 R2R3 亚类,参与植物的次生代谢、激素应答、生长发育等过程的调控。系统进化分析中发现金银花 MYB 转录因子具有旁系同源蛋白,在金银花 WRKY 家族转录因子中也有同样的现象,这体现了植物代谢调控的复杂和互补性^[37]。

基因在不同组织中的相对表达热图显示,在金

银花绿原酸含量较高的青蕾、白花的组织中,*LjMYB11*、*LjMYB6*、*LjMYB12* 等 12 个基因在青蕾组织中相对表达量较高,*LjMYB6-1* 等 12 个基因在白花组织中相对表达量较高。并且,系统进化树结果显示 *LjMYB6*、*LjMYB6-1*、*LjMYB11*、*LjMYB12*、*LjMYB12-2*、*LjMYB4* 共 6 个转录因子与拟南芥中已研究的参与苯丙素代谢途径调控的 MYB 转录因子进化距离较近。因此,这 6 个转录因子可能对于

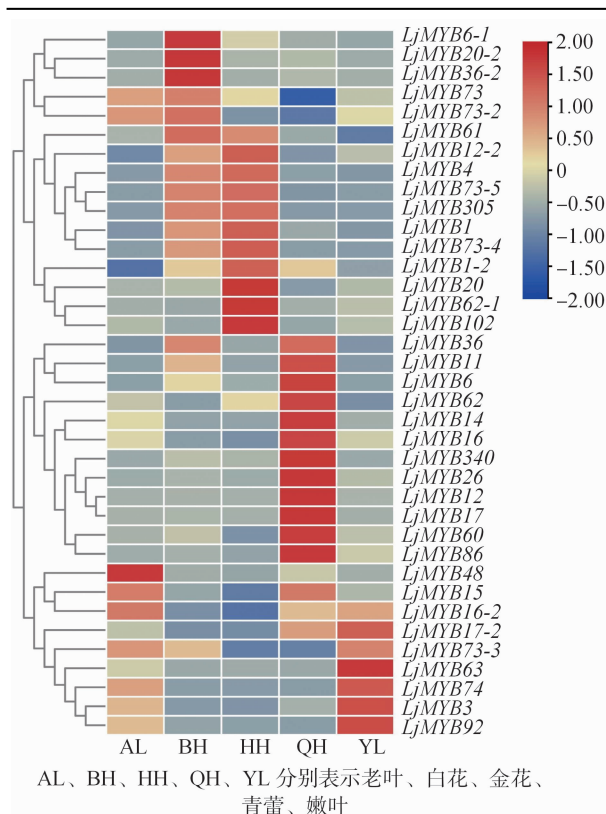


图5 37个金银花MYB基因在不同组织中的相对表达热图

金银花的绿原酸生物合成具有调控作用。

本研究中的 LjMYB11、AtMYB5 等 MYB5 亚族转录因子进化关系较近,属于 MYB5 亚族。已有研究表明 MYB5 亚类转录因子在葡萄、草莓、小苍兰等植物中均可以提高植物苯丙素代谢途径的次生代谢产物的含量^[24,32-33];杨树中的 PtMYB6 转录因子可以提高杨树茎秆苯丙素代谢途径产物花青素的含量^[38];AtMYB12 转录因子可以特异性地调控查尔酮合成酶和黄酮醇合成酶的表达,促进黄酮醇等物质的合成^[39-40]。

棉花 GhMYB4 转录因子可以抑制苯丙素代谢通路中的木质素合成,对于黄酮等次生代谢物的合成不产生影响,但同时提高了棉花对黄萎病菌的抗性,可能原因是 GhMYB4 提高了植物抗菌物质有机酚酸的合成^[41]。本研究结果与上述结果相似,LjMYB6、LjMYB6-1、LjMYB11、LjMYB12、LjMYB12-2、LjMYB4 转录因子具有对植物的苯丙素代谢途径和次级代谢产物生物合成过程的潜在调控作用。

金银花作为传统中药材,具有抗菌消炎和清热解毒的功效,而次级代谢产物绿原酸是其中发挥药效的主要成分^[42]。在金银花中,绿原酸含量最高的

部位是青蕾和白花^[43]。因此,本研究利用金银花不同组织的转录组数据,筛选获得了对绿原酸合成具有潜在调控作用的 6 个 MYB 家族转录因子,其可能参与对金银花的绿原酸生物合成的调控。本研究为进一步深入探究 MYB 转录因子对绿原酸生物合成的调控机理奠定了基础。

参考文献:

- [1] Liu Z X, Cheng Z Y, He Q J, et al. Secondary metabolites from the flower buds of *Lonicera japonica* and their *in vitro* anti-diabetic activities[J]. *Fitoterapia*, 2016, 110: 44-51.
- [2] Kwon S H, Ma S X, Hong S I, et al. *Lonicera japonica* THUNB. extract inhibits lipopolysaccharide-stimulated inflammatory responses by suppressing NF- κ B signaling in BV-2 microglial cells[J]. *Journal of Medicinal Food*, 2015, 18(7): 762-775.
- [3] 郑依玲, 欧阳勇, 梅全喜, 等. 金银花在新型冠状病毒肺炎防治中的应用探析[J]. *亚太传统医药*, 2021, 17(7): 180-184.
- [4] Wang Y D, He Y, Dai Z, et al. A comparative study on bioactive constituents in different parts of *Lonicera japonica* determined by HPLC-ESI-MS(n)[J]. *Journal of Asian Natural Products Research*, 2016, 18(10): 988-1003.
- [5] Pratyusha D S, Sarada D V L. MYB transcription factors - master regulators of phenylpropanoid biosynthesis and diverse developmental and stress responses[J]. *Plant Cell Reports*, 2022, 41(12): 2245-2260.
- [6] 关秀锋, 王锐, 李晓龙, 等. 金银花的化学成分与药理作用研究新进展[J]. *化学工程师*, 2020, 34(4): 59-62.
- [7] Huang J H, Xie M X, He L, et al. Chlorogenic acid: a review on its mechanisms of anti-inflammation, disease treatment, and related delivery systems[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2023, 14: 1218015.
- [8] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 2020 年版. 北京:中国医药科技出版社, 2020: 230-232.
- [9] 王玲娜, 姚佳欢, 马超美. 绿原酸的研究进展[J]. *食品与生物技术学报*, 2017, 36(11): 1121-1130.
- [10] 陈治民, 李翠, 韦继天, 等. 绿原酸生物合成调控及其应用研究进展[J]. *生物技术通报*, 2024, 40(1): 57-71.
- [11] 徐萍, 徐小博, 郭晖, 等. 金银花中绿原酸的积累和生物合成研究进展[J]. *食品工业*, 2021, 42(10): 252-256.
- [12] Niggeweg R, Michael A J, Martin C. Engineering plants with increased levels of the antioxidant chlorogenic acid[J]. *Nature Biotechnology*, 2004, 22(6): 746-754.
- [13] Tang N, Cao Z Y, Yang C, et al. A R2R3-MYB transcriptional activator LmMYB15 regulates chlorogenic acid biosynthesis and phenylpropanoid metabolism in *Lonicera macranthoides*[J]. *Plant Science*, 2021, 308: 110924.
- [14] Valiñas M A, Lanteri M L, ten Have A, et al. Chlorogenic acid biosynthesis appears linked with suberin production in potato tuber (*Solanum tuberosum*)[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2015, 63(19): 4902-4913.
- [15] Chen H C, Li Q Z, Shuford C M, et al. Membrane protein complexes

- catalyze both 4- and 3-hydroxylation of cinnamic acid derivatives in monolignol biosynthesis [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, 108 (52): 21253–21258.
- [16] Dubos C, Stracke R, Grotewold E, et al. MYB transcription factors in *Arabidopsis* [J]. *Trends in Plant Science*, 2010, 15 (10): 573–581.
- [17] Du H, Zhang L, Liu L, et al. Biochemical and molecular characterization of plant MYB transcription factor family [J]. *Biochemistry*, 2009, 74 (1): 1–11.
- [18] 牛义岭, 姜秀明, 许向阳. 植物转录因子 MYB 基因家族的研究进展 [J]. *分子植物育种*, 2016, 14 (8): 2050–2059.
- [19] Feller A, Machemer K, Braun E L, et al. Evolutionary and comparative analysis of MYB and bHLH plant transcription factors [J]. *The Plant Journal*, 2011, 66 (1): 94–116.
- [20] Haga N, Kato K, Murase M, et al. R1R2R3 – MYB proteins positively regulate cytokinesis through activation of KNOLLE transcription in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Development*, 2007, 134 (6): 1101–1110.
- [21] Stracke R, Werber M, Weisshaar B. The R2R3 – MYB gene family in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2001, 4 (5): 447–456.
- [22] Mondal S K, Roy S. Genome – wide sequential, evolutionary, organizational and expression analyses of phenylpropanoid biosynthesis associated MYB domain transcription factors in *Arabidopsis* [J]. *Journal of Biomolecular Structure & Dynamics*, 2018, 36 (6): 1577–1601.
- [23] Cutanda – Perez M C, Ageorges A, Gomez C, et al. Ectopic expression of *VlmybA1* in grapevine activates a narrow set of genes involved in anthocyanin synthesis and transport [J]. *Plant Molecular Biology*, 2009, 69 (6): 633–648.
- [24] Deluc L, Bogs J, Walker A R, et al. The transcription factor VvMYB5b contributes to the regulation of anthocyanin and proanthocyanidin biosynthesis in developing grape berries [J]. *Plant Physiology*, 2008, 147 (4): 2041–2053.
- [25] Cavallini E, Zenoni S, Finezzo L, et al. Functional diversification of grapevine MYB5a and MYB5b in the control of flavonoid biosynthesis in a *Petunia* anthocyanin regulatory mutant [J]. *Plant and Cell Physiology*, 2014, 55 (3): 517–534.
- [26] Stracke R, Ishihara H, Huep G, et al. Differential regulation of closely related R2R3 – MYB transcription factors controls flavonol accumulation in different parts of the *Arabidopsis thaliana* seedling [J]. *Plant Journal*, 2007, 50 (4): 660–677.
- [27] Gonzalez A, Zhao M Z, Leavitt J M, et al. Regulation of the anthocyanin biosynthetic pathway by the TTG1/bHLH/Myb transcriptional complex in *Arabidopsis* seedlings [J]. *The Plant Journal*, 2008, 53 (5): 814–827.
- [28] 虎 萌. 苦苣转录因子 FtMYB1 和 FtMYB2 对烟草黄酮合成关键酶基因表达和黄酮积累的影响 [D]. 雅安: 四川农业大学, 2012: 23–25.
- [29] 黄 虹. 桑树 MYB12 和 MYB308 基因调控黄酮类化合物合成的功能解析及应用研究 [D]. 泰安: 山东农业大学, 2022: 53–55.
- [30] Chen C J, Wu Y, Li J W, et al. TBtools – II: a “one for all, all for one” bioinformatics platform for biological big – data mining [J]. *Molecular Plant*, 2023, 16 (11): 1733–1742.
- [31] Bailey T L, Boden M, Buske F A, et al. MEME SUITE: tools for motif discovery and searching [J]. *Nucleic Acids Research*, 2009, 37 (Web Server issue): W202–W208.
- [32] Jiang L Y, Yue M L, Liu Y Q, et al. A novel R2R3 – MYB transcription factor FaMYB5 positively regulates anthocyanin and proanthocyanidin biosynthesis in cultivated strawberries (*Fragaria × Ananassa*) [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2023, 21 (6): 1140–1158.
- [33] Li Y Q, Shan X T, Zhou L D, et al. The R2R3 – MYB factor FhMYB5 from *Freesia hybrida* contributes to the regulation of anthocyanin and proanthocyanidin biosynthesis [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2019, 9: 1935.
- [34] Tamura K, Stecher G, Kumar S. MEGA11: molecular evolutionary genetics analysis version 11 [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2021, 38 (7): 3022–3027.
- [35] Lescot M, Déhais P, Thijs G, et al. PlantCARE, a database of plant cis – acting regulatory elements and a portal to tools for in silico analysis of promoter sequences [J]. *Nucleic Acids Research*, 2002, 30 (1): 325–327.
- [36] 江 舟, 韩丽君. 茄科植物转录因子 MYB 基因家族研究现状 [J]. *现代园艺*, 2023, 46 (18): 187–189.
- [37] 杨教童, 李鹏飞, 肖巧巧. 金银花 WRKY 基因家族的鉴定与功能分析 [J]. *西南大学学报 (自然科学版)*, 2023, 45 (7): 87–96.
- [38] Wang L J, Lu W X, Ran L Y, et al. R2R3 – MYB transcription factor MYB6 promotes anthocyanin and proanthocyanidin biosynthesis but inhibits secondary cell wall formation in *Populus tomentosa* [J]. *The Plant Journal*, 2019, 99 (4): 733–751.
- [39] Mehrtens F, Kranz H, Bednarek P, et al. The *Arabidopsis* transcription factor MYB12 is a flavonol – specific regulator of phenylpropanoid biosynthesis [J]. *Plant Physiology*, 2005, 138 (2): 1083–1096.
- [40] 邓文楷, 彭 艳, 杨 成, 等. 建兰 MYB 基因家族鉴定及在盐胁迫下的表达分析 [J]. *江苏农业科学*, 2023, 51 (21): 19–28.
- [41] 肖胜华. 转录因子 MYB4、WRKY41 和 TINY2 调控棉花木质素代谢与免疫反应的功能解析 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2021: 59–63.
- [42] 王庆华, 杜婷婷, 张智慧, 等. 绿原酸的药理作用及机制研究进展 [J]. *药学学报*, 2020, 55 (10): 2273–2280.
- [43] 石雨荷, 谢舒平, 王丽君, 等. 高效液相色谱法同时测定湖南不同产地金银花中不同部位绿原酸与木犀草苷含量 [J]. *中草药*, 2019, 17 (4): 552–555.