

• 综 述 •

药用植物 microRNA

周芳名^{1,2}, 白志川^{1*}, 卢善发^{2*}

1. 西南大学园艺园林学院, 重庆 400715

2. 中国医学科学院 北京协和医学院药用植物研究所, 北京 100193

摘 要: 植物 microRNA (miRNA) 是一类长度为 20~25 个核苷酸的内源性小分子 RNA, 在植物体内发挥重要的调控作用。综述了植物 miRNA 的产生途径、作用方式和生理功能, 重点介绍了参与调控植物次生代谢产物生物合成的 miRNA 和药用植物中的 miRNA 研究情况, 并对药用植物 miRNA 的研究进行了展望。

关键词: microRNA; 药用植物; 次生代谢产物; 核苷酸; 调控作用

中图分类号: R282.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2013)02-0232-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.02.024

MicroRNA in medicinal plants

ZHOU Fang-ming^{1,2}, BAI Zhi-chuan¹, LU Shan-fa²

1. College of Horticulture and Landscape Architecture, Southwest University, Chongqing 400715, China

2. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100193, China

Key words: microRNA; medicinal plant; secondary metabolite; nucleotide; regulation

microRNA (miRNA) 是一类长度为 20~25 个核苷酸的内源性小分子单链 RNA。其自身不含开放阅读框 (ORF), 不具编码蛋白质的能力, 是一类负调控因子, 在植物体内发挥重要的调控作用。20 世纪 90 年代至 21 世纪初, Ambros 与 Reinhart 研究小组先后从秀丽隐杆线虫 *Caenorhabditis elegans* 中发现了 lin-4 和 let-7 两种 miRNA, 揭示了它们在生物体内的调控作用^[1-2], 为后续 miRNA 的研究奠定了基础。成熟的 miRNA 具有 5' 端磷酸基团、3' 端羟基, 从而区别于其他 RNA^[1-3]。大多数 miRNA 结构保守, 具有时相和位相的表达模式^[4]。本文对植物 miRNA 的产生途径、作用方式和生理功能进行综述, 在此基础上详细介绍与植物次生代谢相关的 miRNA 以及近年来药用植物 miRNA 的研究情况, 并展望药用植物 miRNA 的研究前景。

1 植物 miRNA 概况

1.1 miRNA 的产生途径

植物 miRNA 多数从位于 2 个蛋白质编码基因之间的 miRNA 基因上产生^[5], 也有少数来源于蛋白质编码基因的内含子。植物 miRNA 产生的整个过程分别在细胞核和细胞质中进行, 主要步骤包括: ① miRNA 基因在 RNA 聚合酶 II 的作用下转录生成长度为几百个核苷酸的初级产物 pri-miRNA^[6-7]; ② 在 DCL1 配合 SE 蛋白和 HYL1 蛋白的共同作用下第 1 次剪切 pri-miRNA 形成 miRNA 的前体 pre-miRNA^[6,8]; ③ 接着在 pre-miRNA 上进行第 2 次剪切, 形成双链 miRNA: miRNA*^[9]; ④ 该双链在 HEN1 (miRNA 甲基转移酶) 的作用下 3' 端最后一个核苷酸甲基化^[10]; ⑤ 甲基化后的双链在 HASTY 蛋白的作用下从细胞核运送到细胞质^[11]; ⑥ 双链解链成 2 条单链, 成熟的 miRNA 与靶基因结合,

收稿日期: 2012-10-10

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81072993); 国家“重大新药创制”科技重大专项 (2012ZX09301002-001-031); 北京市自然科学基金项目 (5112026); 中国医学科学院/北京协和医学院协和学者特聘教授项目资助

作者简介: 周芳名 (1986—), 女, 在读硕士, 专业方向为药用植物生物技术。Tel: 18618369312 E-mail: amy_fangming@yahoo.com.cn

*通信作者 白志川 Tel: (023)68250755 E-mail: baizhichuan@yahoo.com.cn

卢善发 Tel: (010)57833366 E-mail: sflu@implad.ac.cn

网络出版时间: 2012-12-19 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/12.1108.R.20121219.1638.001.html>

参与 RNA 沉默复合体 (RISC)^[12] 的组装, 另一条互补链 (miRNA*) 多数被降解, 只有少数具有功能的被保留下来。

1.2 miRNA 的作用方式

miRNA 在植物和动物中对靶基因的主要识别方式不同。在动物细胞中, miRNA 一般以不完全互补方式与靶 RNA 3'-UTR 结合^[13-14], 通过抑制翻译起始因子或者 Poly(A) 尾巴的功能, 来抑制靶 RNA 的翻译或影响靶 RNA 的稳定性^[15-17]。而在植物细胞中, miRNA 主要与其靶 RNA 特定定位点以完全互补或近乎完全互补方式结合, 随后切割并降解靶 RNA^[18]。目前对植物 miRNA 抑制靶 RNA 翻译的报道较少。研究发现, 在拟南芥中过表达 miR172 不引起靶基因 AP2 mRNA 水平的下调, 反而造成 AP2 蛋白量的降低, 说明 miR172 对靶基因 AP2 有翻译抑制的作用^[19-20]。

1.3 miRNA 的生理功能

植物 miRNA 的研究比动物晚, 直到 2002 年才从拟南芥中鉴定出首批植物 miRNA。尽管如此, 随着测序技术的飞速发展, 研究人员已从多种植物中鉴定出大量的 miRNA, 并对部分植物 miRNA 进行了功能研究。结果表明 miRNA 参与调控植物器官的形态建成、生长发育、激素分泌、信号转导以及植物对逆境胁迫因子的应答等^[21-22]。此外, 最近发现 miRNA 还在植物次生代谢中发挥重要的调控作用^[23-24]; 而植物次生代谢产物对 miRNA 的功能也能产生影响^[25]。这些结果促使人们加强对药用植物 miRNA 的研究。

2 参与调控植物次生代谢物生物合成的 miRNA

植物次生代谢是初级代谢产物在植物体内合成和分解的化学过程。初级代谢产物种类繁多, 导致次生代谢反应千差万别。有些次生代谢反应仅在一定的时间和环境条件下, 在特定的物种、器官或组织中进行。因此, 次生代谢是一类特殊且复杂的代谢类型。通常认为, 植物的次生代谢是通过渐变或突变获得的一种适应生存的方式, 是长期进化过程中植物对生态环境适应的结果^[26]。次生代谢产物在植物提高自身保护和生存竞争能力, 协调与环境关系中扮演着重要的角色^[27]。自然界中许多药用植物的有效成分是次生代谢产物, 且很多次生代谢产物的量很低, 但往往具有重要的生理活性, 如生物碱具有抗菌、抗炎、扩张血管、抗癌、抗抑郁等作用^[28]; 黄酮类化合物具有抗菌、抗过敏、抗炎、抗氧化、抗癌、抗艾滋病等作用^[29];

酚酸类化合物具有很强的抗脂质过氧化及清除氧自由基的功能, 在改善微循环、抗血栓、促进组织恢复、抗肝脏损伤、抗动脉硬化及细胞凋亡等方面作用显著^[24]。

植物次生代谢产物的合成途径主要包括: ①甲羟戊酸途径及丙酮酸/磷酸甘油醛途径, 产生萜类化合物等; ②醋酸-丙二酸途径, 产生脂肪酸类、酚类、蒽醌类等化合物; ③氨基酸途径, 产生生物碱类成分; ④桂皮酸途径, 产生苯丙素类、香豆素类、木质素类、木脂体类及黄酮类化合物; ⑤由以上几种途径组成的复合途径, 生成结构较为复杂的天然化合物^[30]。这些代谢途径涉及到许多调控次生代谢的转录因子和限速酶。近年来的研究表明, miRNA 既可调控转录因子, 也可能直接作用于限速酶的编码基因, 进而调控植物的次生代谢。

转录因子通过与次生代谢相关基因启动子上的顺式作用元件结合来调控次生代谢物的合成和积累。植物次生代谢物种类繁多, 相应地次生代谢途径反应步骤也多, 转录因子对植物次生代谢的调控机制较为复杂, 既有一个转录因子调节一种次生代谢产物的情况^[31], 也有两种或两种以上转录因子相互作用、相互配合, 共同调节特定次生代谢产物合成的情况^[32-33]。植物次生代谢物相关基因启动子中的顺式作用元件有的具有保守性, 如苯丙烷代谢途径中的 PAL、4CL 和 CHS 基因启动子的最近端区域中均存在 G 盒 (CACGTG) 和 H 盒 (CCTACC)^[34-35], 其中 G 盒为转录因子 bZIP 家族的结合位点^[36-37], H 盒则为 MYB 转录因子的结合位点^[38-39]。研究发现, 植物 miRNA 可靶向转录因子, 影响植物次生代谢的过程, 导致次生代谢产物积累量的变化。拟南芥中一个保守的 miRNA—miR828, 可靶向 TAS4 (*trans-acting siRNA gene 4*) 和 MYB113^[23]。TAS4 经 miR828 切割后, 在一些蛋白的作用下, 可产生许多 21 个核苷酸的 ta-siRNA (反式作用干扰小 RNA)。ta-siRNA 是植物中一类内源性 siRNA, 其成熟过程由 miRNA 介导, 通过调节 mRNA 的翻译或降解互补序列, 在转录后水平调节基因表达^[40]。来源于 TAS4 的 ta-siRNA 靶基因为 PAP1、PAP2 和 MYB113。它们都是 MYB 转录因子家族的成员, 参与调控黄酮类化合物等植物次生代谢产物的合成。miR156 在拟南芥中可靶向 SPL 转录因子。该转录因子与次生代谢有关, 当上调 miR156 的表达时可促进拟南芥中花青素的积累, 但是当下调 miR156 的表达时则会使得植物

体内黄酮醇的积累量升高^[41]。

植物 miRNA 除了靶向转录因子,也可作用于其他基因(表1)。Danny 等^[42]在拟南芥中发现 miR163 可靶向甲基转移酶类基因,而甲基转移酶在植物体中参与合成许多重要的次生代谢物^[43],如木质素、育儿酚及芒柄醇等,说明 miR163 也参与调控次生代谢产物的合成。最近对红豆杉的研究发现,miR164 和 miR171 可直接靶向紫杉醇合成途径中的紫杉烷 13 α -羟基化酶(taxane 13 α -hydroxylase)和紫杉二烯 2 α -O-苯甲酰转移酶(taxane 2 α -O-benzoyltransferase)基因,说明 miRNA 参与调控紫杉醇的生物合成^[44]。至今,对 miRNA 直接作用于限速酶的编码基因的报道不是很多,有待进一步研究。

最近研究表明,有的植物次生代谢产物反过来会对 miRNA 的功能产生影响。Broderson 等^[25]研究

发现,在拟南芥中类异戊二烯的代谢会影响 AGO1(一种外围膜蛋白)的合成。成熟的 miRNA 需要进入到一个 RNA 介导的沉默复合体(RISC)中才能发挥作用,而 AGO1 是这个 RISC 复合体中最重要的蛋白之一^[45]。由于类异戊二烯是细胞膜的重要成分,其量的变化将影响细胞膜的结构和稳定性,进而通过影响膜蛋白 AGO1 来影响 miRNA 功能的发挥^[45]。可见,miRNA 与植物次生代谢在一定程度上是相互作用、相互调节的。

3 药用植物 miRNA 的鉴定及功能分析

中国是药用植物资源最丰富的国家之一,为我国对中药资源的开发和利用创造了有利条件。随着一些常见植物如拟南芥、烟草、水稻、玉米、毛果杨等 miRNA 研究的扩大和深入,近几年对药用植物 miRNA 的研究也迅速展开(表2)。

表1 部分与植物次生代谢有关的 miRNA

Table 1 Some secondary metabolism-associated miRNA in plant

miRNA	植物	靶基因	功能	参考文献
miR156	拟南芥	SPL 转录因子	调控花青素和类黄酮醇的合成	41
miR163	拟南芥	甲基转移酶类	调控多个次生代谢产物的合成	42
miR164	红豆杉	紫杉烷 13 α -羟基化酶	可能调控紫杉醇的合成	44
miR171	红豆杉	紫杉二烯 2 α -O-苯甲酰转移酶	可能调控紫杉醇的合成	44
miR828	拟南芥	MYB113 和 TAS4	调控花青素的合成	23

表2 药用植物 miRNA 的鉴定情况

Table 2 Identification of miRNA in medicinal plants

药用植物名称	鉴定方法	鉴定数量	部分 miRNA 可能的作用	参考文献
红豆杉 <i>Taxus chinensis</i>	高通量测序	56 条保守 miRNA, 包括 2 条裸子植物特有 miRNA	miR1310 可能调控红豆杉中抗氧化有关物质合成; miR1314 可能调控红豆杉中纤维素的合成	46
欧洲千里光 <i>Senecio vulgaris</i>	EST 序列对比	10 条保守 miRNA	无	47
半夏 <i>Pinellia ternata</i>	芯片微阵列技术	54 条保守 miRNA	miR171 和 miR319 可能调控半夏块茎的发育; miR156、miR164、miR166、miR167 可能调控半夏的生长发育, 如花发育、叶的生长等	48
掌叶半夏 <i>Pinellia pedatisecta</i>	芯片微阵列技术	99 条保守 miRNA	miR166 可能调控虎掌叶的极性; miR397 可能与虎掌的胁迫响应有关; miR156 可能与虎掌花发育有关; miR319 可能调控虎掌叶的表型	49
毛地黄 <i>Digitalis purpurea</i>	转录组数据分析	13 条保守 miRNA	miR160 可能调控毛地黄生长发育; miR408 可能调控毛地黄光响应; miR396 可能与毛地黄对各种生物和非生物胁迫响应有关	51
白木香 <i>Aquilaria sinensis</i>	高通量测序	74 条保守和 27 条新的 miRNA	miR160 和 miR398 可能调控白木香中沉香的形成	50
人参 <i>Panax ginseng</i>	高通量测序	73 条保守和 28 条非保守的 miRNA	非保守的 miRNA 中 miR6138、miR6135e.2/j、miR6135i、miR6140a、miR6143-3p 与高温胁迫有关; miR6136b、miR6135k、miR6139、miR6140d、miR6140 与高温胁迫和干旱胁迫都有关	52
红豆杉 <i>Taxus mairei</i>	高通量测序和降解组测序	871 条保守 miRNA、15 条 miRNA* 和 869 条 miRNA 前体	miR164、miR171 可能调控紫杉醇的合成	44

2009年 Qiu 等^[46]运用高通量测序技术从红豆杉细胞中鉴定出 23 个基因家族的 56 条保守 miRNA, 其中 miR1310 和 miR1314 为裸子植物所特有。miR1310 可能靶向谷胱甘肽转移酶基因, 从而保护植物免受过氧化物的损害; miR1314 可能靶向纤维素合酶基因, 参与调控植物体内纤维素的合成。该研究还发现经茉莉酸甲酯诱导的红豆杉细胞中有 7 个基因家族的 14 条 miRNA 出现下调趋势, 2 个基因家族的 3 条 miRNA 出现上调的趋势。Sarika 等^[47]采用与表达序列标签 (expressed sequence tag, EST) 比对的办法, 从欧洲千里光植物中鉴定出 10 条保守的 miRNA 序列。随后, Xu 等^[48]采用芯片微阵列分析技术, 从半夏中鉴定出属于 23 个基因家族的 54 条保守的 miRNA, 挑选其中 11 条, 用实时定量 PCR 技术 (qRT-PCR), 分析其在半夏叶、茎、块茎 3 个组织器官中的表达, 结果表明 miR319 在块茎中的表达量比在茎和叶中高近 10 倍, miR171 在块茎中的表达量比在茎和叶中低, 说明 miR319 和 miR171 很可能在半夏块茎中起着非常重要作用。但这些 miRNA 在半夏块茎中的具体作用还不清楚, 有待进一步研究。Wang 等^[49]也采用芯片微阵列分析技术, 从掌叶半夏中鉴定出 22 个基因家族的 99 条保守的 miRNA。通过实验和一些关于 miRNA 靶基因的功能报道推测在掌叶半夏中 miR166 作用的靶基因与叶发育相关; miR397 作用的靶基因与各种胁迫响应有关, 如氧化胁迫、营养胁迫、干旱胁迫、冷胁迫、铜胁迫等; miR156 作用的靶基因与花发育调控有关。Gao 等^[50]通过小 RNA 高通量测序和转录组数据分析从白木香中鉴定出 27 条新的 miRNA 和 25 个基因家族的 74 条保守的 miRNA。挑选其中 10 条保守的 miRNA, 用 qRT-PCR 技术分析其在割伤木茎中不同时间的表达情况, 结果表明 miR160 和 miR398 可能与白木香中沉香的形成有关系。此外, 分析 asi-miR408 和 asi-miR408* (asi-novel-miR2) 在白木香根、茎和愈伤组织中的表达情况, 发现 asi-miR408* 积累量比 asi-miR408 高, 表明有的 miRNA* 同 miRNA 一样在植物中具有重要的功能。Wu 等^[51]基于转录组分析从毛地黄中鉴定出 13 条保守的 miRNA, 并通过网上 psRNATarget 软件预测出 25 条 miRNA 的靶基因, 发现其中 12 个靶基因与毛地黄生物代谢有关。Wu 等^[52]随后又利用高通量测序技术分析人参的小 RNA 转录组, 从中鉴定出 33 个家族的 73 条保守 miRNA 和 9 个家族的 28 条

非保守 miRNA。它们分别靶向 99 和 31 个基因。此外, Wu 等^[52]还鉴定出 5 个与干旱胁迫相关的以及 10 个与高温胁迫有关的人参 miRNA。最近 Hao 等^[44]采用高通量测序技术结合降解组测序技术从红豆杉中鉴定出 871 条保守的 miRNA、37 条新的 miRNA、15 条 miRNA* 以及 869 条 miRNA 前体序列。进一步的研究发现, 新的 miRNAm0034 从编码紫杉二烯合成酶 (紫杉醇生物合成限速酶) 基因的内含子中产生, 而 miR164 和 miR171 分别靶向参与紫杉醇合成的紫杉烷 13 α -羟基化酶基因和紫杉二烯 2 α -O-苯甲酰转移酶基因。

可见, 虽然至今对药用植物 miRNA 研究还不是很深入, miRNA 在药用植物中的生物学功能研究也较少报道, 但是近几年, 特别是近两年该领域的蓬勃发展预示药用植物 miRNA 的研究将成为药用植物学研究的重要领域。

4 展望

药用植物在中国传统医药中具有重要地位。我国药用植物资源丰富, 占中药资源种类的 87%^[53], 药用植物的研究已越来越受到重视。miRNA 在植物体内发挥重要的调控作用, 影响植物生长发育、抗病性、抗逆性以及次生代谢产物的生物合成等多个方面, 是重要的调控因子, 因此研究药用植物 miRNA 对培育高产、优质的中药材具有重要意义。目前, 研究人员已经从少数药用植物中鉴定出一些 miRNA, 分析了部分 miRNA 在次生代谢中的调控作用, 取得了初步进展。预计今后一段时间, 药用植物 miRNA 研究将从以下几个方面展开: (1) 鉴定不同药用植物种类中的 miRNA; (2) 分析同一种类药用植物中不同器官、同一器官不同发育时期的 miRNA 的表达; (3) 分析 miRNA 在不同生物和环境胁迫作用下的应答; (4) 预测 miRNA 的靶基因; (5) 转基因分析 miRNA 在药用植物生长发育中的功能和调控网络; (6) 重点研究药用植物 miRNA 在植物体内对药用活性成分生物合成的调控作用。随着药用植物 miRNA 研究的不断深入, 有望运用 miRNA 基因工程技术改良药用植物的遗传品质。更为重要的是, 野生药用植物中药效成分的量普遍较低, 而化学合成的成本高, 工艺流程复杂, 还容易造成环境污染, 深入研究药用植物 miRNA 在次生代谢产物合成过程中的作用, 可为运用生物技术手段提高药用植物中次生代谢产物的量奠定良好基础。

参考文献

- [1] Lee R C, Feinbaum R L, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14* [J]. *Cell*, 1993, 75(5): 843-854.
- [2] Reinhart B J, Slack F J, Basson M, *et al.* The 21 nucleotide *let-7* RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Nature*, 2000, 403(6772): 901-906.
- [3] Lee R C, Ambros V. An extensive class of small RNAs in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Science*, 2001, 294(5543): 858-862.
- [4] Lu X Y, Lin H X. Plant miRNAs and abiotic stress responses [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 368(3): 458-462.
- [5] 许 硕, 胡 正, 姜奇彦, 等. 植物 microRNA 功能及其在逆境条件下的研究进展 [J]. 生物技术通报, 2012, 2012(2): 2-4.
- [6] Bartel D P. MicroRNA: genomics, biogenesis, mechanism, and function [J]. *Cell*, 2004, 116(2): 281-297.
- [7] Lee Y, Kim M, Han J, *et al.* MicroRNA genes are transcribed by RNA polymerase II [J]. *EMBO J*, 2004, 23(20): 4051-4060.
- [8] Yukio K, Yuichiro W. Arabidopsis micro-RNA biogenesis through Dicer-like 1 protein functions [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(34): 12753-12758.
- [9] Hofmann N R. MicroRNA evolution in the genus *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell*, 2010, 22(4): 994-995.
- [10] Hammond S M, Bernstein E, Beach D, *et al.* An RNA-directed nuclease mediates post-transcriptional gene silencing in *Drosophila* cells [J]. *Nature*, 2000, 404(6775): 293-296.
- [11] Park M Y, Wu G, Gonzalez-Sulser A, *et al.* Nuclear processing and export of microRNAs in *Arabidopsis* [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(10): 3691-3696.
- [12] Hutvagner G, Zamore P D. A microRNA in a multiple-turnover RNAi enzyme complex [J]. *Science*, 2002, 297(5589): 2056-2060.
- [13] Wightman B, Ha I, Ruvkun G. Posttranscriptional regulation of the heterochronic gene *lin-14* by *lin-4* mediates temporal pattern formation in *C. elegans* [J]. *Cell*, 1993, 75(5): 855-862.
- [14] Zeng Y, Wagner E J, Cullen B R. Both natural and designed micro RNAs can inhibit the expression of cognate mRNAs when expressed in human cells [J]. *Mol Cell*, 2002, 9(6): 1327-1333.
- [15] Humphreys D T, Westman B J, Martin D I, *et al.* MicroRNAs control translation initiation by inhibiting eukaryotic initiation factor 4E/cap and poly (A) tail function [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(47): 16961-16966.
- [16] Gebauer F, Hentze M W. Molecular mechanisms of translational control [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2004, 5(10): 827-835.
- [17] Pillai R S, Bhattacharyya S N, Artus C G, *et al.* Inhibition of translational initiation by Let-7 microRNA in human cells [J]. *Science*, 2005, 309(5740): 1573-1576.
- [18] Jones-Rhoades M W, Bartel D P, Bartel B. MicroRNAs and their regulatory roles in plants [J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2006, 57: 19-53.
- [19] Llave C, Xie Z, Kasschau K D, *et al.* Cleavage of scarecrow-like mRNA targets directed by a class of *Arabidopsis* miRNA [J]. *Science*, 2002, 297(5589): 2053-2056.
- [20] Chen X. A microRNA as a translational repressor of APETALA2 in *Arabidopsis* flower development [J]. *Science*, 2004, 303(5666): 2022-2025.
- [21] 郭 韬, 李广林, 魏 强, 等. 植物 MicroRNA 功能的研究进展 [J]. 西北植物学报, 2011, 31(11): 2349-2351.
- [22] Voinnet O. Post-transcriptional RNA silencing in plant-microbe interactions: A touch of robustness and versatility [J]. *Curr Opin Plant Biol*, 2008, 11(4): 464-470.
- [23] Luo Q J, Mittal A, Jia F, *et al.* An autoregulatory feedback loop involving PAP1 and TAS4 in response to sugars in *Arabidopsis* [J]. *Plant Mol Biol*, 2012, 80(1): 117-129.
- [24] 刘 芬. 转录因子 PAP2 对丹酚酸类产物合成的影响 [D]. 西安: 陕西师范大学, 2011.
- [25] Brodersen P, Achard L S, Schaller H, *et al.* Isoprenoid biosynthesis is required for miRNA function and affects membrane association of ARGONAUTE 1 in *Arabidopsis* [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(5): 1778-1783.
- [26] 戴 勋. 植物次生代谢 [J]. 昭通师范高等专科学校学报, 2002, 24(5): 35-38.
- [27] 段传人, 王伯初, 徐世荣. 环境应力对植物次生代谢产物形成的作用 [J]. 重庆大学学报: 自然科学版, 2003, 26(10): 67-71.
- [28] 张 鹏, 黄启来, 华子春. 茛菪酰胺的药理作用研究进展 [J]. 中草药, 2012, 43(1): 201-204.
- [29] 高 颖, 房德敏. 骨碎补黄酮类化合物的研究进展与开发前景 [J]. 中草药, 2009, 40(2): 323-326.
- [30] 潘瑞炽. 植物生理学 [M]. 第 5 版. 北京: 高等教育出版社, 2004.
- [31] Mathews H, Clendennen S K, Caldwell C G, *et al.* Activation tagging in tomato identifies a transcriptional regulator of anthocyanin biosynthesis, modification, and

- transport [J]. *Plant Cell*, 2003, 15: 1689-1703.
- [32] Goff S A, Cone K C, Chandler V L. Functional analysis of the transcriptional activator encoded by the maize B gene: evidence for a direct functional interaction between two classes of regulatory proteins [J]. *Genes Dev*, 1992, 6(5): 864-875.
- [33] Mol J, Grotewold E, Koes R. How genes paint flowers and seeds [J]. *Trends Plant Sci*, 1998, 3: 212-217.
- [34] Lois R, Dietrich A, Hanhbrock K, *et al*. A phenylalanine ammonia lyase gene from parsley: structure, regulation and identification of elicitor and light-responsive *cis*-acting elements [J]. *EMBO J*, 1989, 8(6): 1641-1648.
- [35] Ohl S, Hedrick S A, Chory J, *et al*. Functional properties of a phenylalanine ammonia lyase promoter from *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell*, 1990, 2(9): 837-848.
- [36] Foster R, Izawa T, Chua N H. Plant *bZIP* proteins gather at ACGT elements [J]. *FASEB J*, 1994, 8(2): 192-200.
- [37] Menkens A E, Schindler U, Cashmore A R. The G-box: a ubiquitous regulatory DNA element in plants bound by the GBF family of *bZIP* proteins [J]. *Trends Biochem*, 1995, 20(12): 506-510.
- [38] Sablowski R W M, Baulcombe D C, Bevan M. Expression of a flower-specific Myb protein in leaf cells using a viral vector causes ectopic activation of a target promoter [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, 92(15): 6901-6905.
- [39] Sablowski R W, Moyano E, Culianez-Macia F A, *et al*. A flower-specific Myb protein activates transcription of phenylpropanoid biosynthetic genes [J]. *EMBO J*, 1994, 13(1): 128-137.
- [40] 温 剑, 李思光, 罗玉萍. 反式作用干扰小 RNA [J]. *生命化学*, 2007, 27(5): 399-399.
- [41] Gou J Y, Felippes F F, Liu C J, *et al*. Negative regulation of anthocyanin biosynthesis in *Arabidopsis* by a miR156-targeted SPL transcription factor [J]. *Plant Cell*, 2011, 23(4): 1512-1522.
- [42] Danny W K, Zhang C, Miller M, *et al*. *cis*- and *trans*-regulation of miR163 and target genes confers natural variation of secondary metabolites in two *Arabidopsis* species and their allopolyploids [J]. *Plant Cell*, 2011, 23(5): 1729-1740.
- [43] 田 铃, 嵇保中, 刘曙雯, 等. 甲基转移酶的功能与分类 [J]. *生命的化学*, 2007, 27(5): 425-427.
- [44] Hao D C, Yang L, Xiao P G, *et al*. Identification of *Taxus* microRNAs and their targets with high-throughput sequencing and degradome analysis [J]. *Physiol Plant*, 2012, doi: 10. 1111/j. 1399-3054. 2012. 01668. x.
- [45] 杨 曦, 何玉科. 植物 microRNA 的生物合成和调控功能 [J]. *生命科学*, 2010, 22(7): 689-691.
- [46] Qiu D, Pan X, Wilson I W, *et al*. High throughput sequencing technology reveals that the taxoid elicitor methyl jasmonate regulates microRNA expression in Chinese yew (*Taxus chinensis*) [J]. *Gene*, 2009, 436(1/2): 37-44.
- [47] Sarika S, Anjana K, Rekha D. Computational identification of miRNAs in medicinal plant *Senecio vulgaris* (Groundsel) [J]. *Bioinformation*, 2011, 7(8): 375-378.
- [48] Xu T, Wang B, Liu X, *et al*. Microarray-based identification of conserved microRNAs from *Pinellia ternate* [J]. *Gene*, 2012, 493(2): 267-272.
- [49] Wang B, Dong M, Chen W D, *et al*. Microarray-based identification of conserved microRNAs in *Pinellia pedatisecta* [J]. *Gene*, 2012, 498(1): 36-40.
- [50] Gao Z H, Wei J H, Yang Y, *et al*. Identification of conserved and novel microRNAs in *Aquilaria sinensis* based on small RNA sequencing and transcriptome sequence data [J]. *Gene*, 2012, 505(1): 167-175.
- [51] Wu B, Li Y, Yan H, *et al*. Comprehensive transcriptome analysis reveals novel genes involved in cardiac glycoside biosynthesis and miRNAs associated with secondary metabolism and stress response in *Digitalis purpurea* [J]. *BMC Genomics*, 2012, 13: 15.
- [52] Wu B, Wang M, Ma Y, *et al*. High-throughput sequencing and characterization of the small RNA transcriptome reveal features of novel and conserved microRNAs in *Panax ginseng* [J]. *PLoS One*, 2012, 7(9): e44385.
- [53] 丁 建, 夏燕莉. 中国药用植物资源现状 [J]. *资源开发与市场*, 2005, 21(5): 453-454.