

茜草转录组分析及其蒽醌类化合物合成相关基因的挖掘

彭亮, 张岗, 颜永刚, 孙涛, 王媚, 李洁, 罗露, 曹福麟, 胡本祥, 杨冰月*
陕西中医药大学药学院, 陕西 西安 712046

摘要:目的 获得茜草 *Rubia cordifolia* 转录组学信息及挖掘其蒽醌类化合物生物合成的关键酶基因, 为茜草的功能基因克隆与分析提供参考。方法 采用 Illumina HiSeq™ 2000 150PE 高通量测序技术对茜草进行转录组测序, 使用 Trinity 软件完成 Unigene 的 *de novo* 拼接, 基于 BLAST 实现 Unigene 的分类、功能注释、代谢通路分析和蛋白功能注释等。结果 最终获得 7.3 Gb 数据, 通过 *de novo* 拼接注释得到 Unigene 66 646 条, 平均长度为 1 424 bp, 所有 Unigene 能被 NCBI nonredundant protein sequences (NR)、NCBI nucleotide sequences (NT)、kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG)、A manually annotated and reviewed protein sequence database (Swissprot)、gene ontology (GO)、euKaryotic ortholog groups (KOG) 和 protein family (Pfam) 数据库所注释, 注释成功率 100%, 找到与茜草蒽醌类化合物生物合成相关的基因 64 条。结论 首次对茜草转录组进行了分析, 并获得了茜草蒽醌类化合物生物合成相关的候选基因, 为茜草的分子生物学研究提供了丰富的数据资源, 也为后期开展茜草蒽醌类化合物次生代谢途径解析奠定了基础。

关键词: 茜草; 转录组; 高通量测序; 蒽醌类化合物; 次生代谢途径

中图分类号: R282.12 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2018)08-1890-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.08.024

Analysis of transcriptomes and exploring of anthraquinones biosynthetic pathway genes in *Rubia cordifolia* L.

PENG Liang, ZHANG Gang, YAN Yong-gang, SUN Tao, WANG Mei, LI Jie, LUO Lu, CAO Fu-lin, HU Ben-xiang, YANG Bing-yue

College of Pharmacy, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xi'an 712046, China

Abstract: Objective To obtain the transcriptome sequence database and to identify the genes related to the biosynthesis of anthraquinones in *Rubia cordifolia*. **Methods** The transcriptome data of root of *Rubia cordifolia* was obtained by Illumina HiSeq™ 2000 150PE sequencing and *de novo* splicing of Unigene was realized by Trinity. The GO classification, KOG functional, metabolism of KEGG metabolic pathway and protein function annotation analysis were completed based on BLAST. **Results** 7.3 Gb database was assembled after assembly steps, and 66 646 unigenes were assembled with an average length of 1 424 bp. All Unigenes were annotated in the public databases NR (NCBI nonredundant protein sequence), NT (NCBI nucleotide sequences), KEGG (kyoto encyclopedia of genes and genomes), Swissprot (A manually annotated and reviewed protein sequence database), GO (gene ontology), KOG (euKaryotic ortholog groups) and Pfam (protein family). Based on the assignment of KEGG pathway, 64 Unigenes involved in anthraquinones biosynthesis were found. **Conclusion** This study was the first comprehensive transcriptome analysis for *R. cordifolia*, and the candidate genes involved in the biosynthesis of anthraquinones were obtained. The transcriptome data constitutes a much more abundant genetic resource that can be utilized to benefit further molecular biology studies on *R. cordifolia*.

Key words: *Rubia cordifolia* L.; transcriptome; high-throughput sequencing; anthraquinones; secondary metabolic pathway

茜草为茜草科 (Rubiaceae) 植物茜草 *Rubia cordifolia* L. 的干燥根及根茎, 我国传统大宗中药材品种之一, 始载于《神农本草经》, 历代药典均有

记载。其性寒、味苦, 具有凉血止血、祛瘀、通经等功效。研究表明, 蒽醌类化合物是茜草的主要活性成分, 具有调节血脂和胆固醇、降血压、利尿等

收稿日期: 2017-12-31

基金项目: 陕西省教育厅项目 (16JK1212, 15JK1210); 陕西省教育厅重点项目 (11JS038); 陕西省中医管理局项目 (ZYMS004)

作者简介: 彭亮 (1985—), 男, 讲师, 博士, 研究方向为中药资源评价与开发利用、中药材质量控制研究。E-mail: ppengliang@126.com

*通信作者 杨冰月 (1983—), 女, 讲师, 博士, 研究方向为中药品种、质量及资源开发研究。E-mail: 304951774@qq.com

多种药理活性^[1]。茜草素型蒽醌由 3 个苯环组成, 羟基分布在蒽醌分子一侧的苯环上, 主要存在于茜草科植物中, 有茜草素、羟基茜草素、伪羟基茜草素等。目前, 茜草的研究多集中于药理作用和化学成分等方面^[2], 分子水平的研究只见遗传多样性及品种鉴定等报道^[3-6], 缺乏茜草活性成分代谢途径的相关解析, 转录组学分析、蒽醌类化合物生物合成关键基因的鉴定与研究未见相关报道。高通量测序技术的发展, 为研究茜草生长发育及其次生代谢产物生物合成的分子机制提供了新的方法和基因资源。

高通量转录组测序已成功应用于药用植物转录组基因表达分析, 可全面地获取药用植物个体在特定时期和特定组织的所有基因转录信息。转录组学研究是连接基因组与蛋白组的纽带, 通过转录组学分析, 可从中挖掘相关功能基因, 揭示特征表达的分子机制, 特别是对基因组序列信息有限的药用植物进行基因结构和功能预测等研究尤为便捷^[7-8]。近年来, 研究人员完成了多种中药材的转录组测序和分析, 如人参^[9]、西洋参^[10]、甘草^[11]、丹参^[12]等, 获得了大量与药用植物活性物质生物合成途径相关的基因。本研究拟在转录水平上, 采用二代高通量测序平台 Illumina HiSeq™ 2000 150PE 测序技术构建茜草根转录组数据库, 获得茜草转录本信息, 进行功能注释和蒽醌类化合物生物合成相关基因的挖掘, 以期揭示茜草根转录组的整体表达特征, 为后续蒽醌类化合物生物合成关键基因的克隆、功能验证以及次生代谢途径解析提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 材料

样品于 2017 年 7 月 15 日采自陕西中医药大学药用植物园茜草种植资源圃, 经陕西中医药大学药学院彭亮博士鉴定为茜草 *Rubia cordifolia* L., 选择 3 年生茜草 10 株, 取根部无菌水清洗干净, 滤纸吸干水分后随机分成 2 组, 液氮速冻置于 -80 °C 冰箱备用。

1.2 RNA 提取及 cDNA 文库构建

采用 Qiagen RNeasy Mini Kit 提取茜草根总 RNA, 去除 gDNA, 琼脂糖凝胶电泳和 Nanodrop 检测完整性后, 用带有 Oligo (dT) 的磁珠富集 mRNA; 加入打断试剂在 Thermomixer 中适温将 mRNA 打断成短片段, 以打断后的 mRNA 为模版合成一链 cDNA 以及二链 cDNA, 纯化回收、黏性末端修复、cDNA 的 3' 末端加上碱基 "A" 并连接

接头, 然后进行片段大小选择, 最后进行 PCR 扩增; 构建好的文库用 Agilent 2100 Bioanalyzer 质检。

1.3 测序及数据组装

使用 Illumina HiSeq™ 2000 150PE 进行测序。

Trinity 对测序数据集进行 *de novo* 组装。

1.4 功能注释

对获得的 Unigene 进行功能注释和功能分类等生物信息学分析。在本地化 Linux 系统下, 通过 Blast 将拼接后的 Unigene 序列与蛋白数据库进行比对, 以 E 值 $< 1 \times 10^{-5}$ 为阈值获取注释, 包括 NCBI 非冗余核酸数据库 (NR) 和 Swiss-Prot 蛋白质序列数据库。根据 NR 注释信息, 使用 BLAST2 GO 得到 GO 注释信息, 包括 3 个相对独立的类别, 即参与的生物过程 (biological process)、构成的细胞组分 (cellular component) 以及实现的分子功能 (molecular function); 使用 WEGO 对所有的 Unigene 进行 GO 功能分类; 对 Unigene 进行蛋白质直系同源数据库 (KOG) 比对及基因组百科全书 (KEGG) 代谢通路分析。

1.5 蒽醌类化合物合成相关基因的挖掘

依据文献提出的高等植物蒽醌类化合物合成途径, 结合 KEGG 注释结果和数据库中已知的基因信息, 利用本地 BLAST 进行检索比对, 确定本转录组数据库中与茜草蒽醌类化合物合成相关的基因。

2 结果与分析

2.1 RNA 提取与质量控制

用 Qiagen RNeasy Kit 提取茜草根总 RNA, Agarose 电泳检测 RNA 质量, Nanodrop™ 2000 分析表明 A_{260}/A_{280} 值为 1.92、 A_{260}/A_{230} 值为 2.11, Agilent 2100 Bioanalyzer 检测 rRNA 比为 1.6、RNA 完整数量 (RIN) 7.3、626.240 ng/μL, 说明 RNA 质量和完整性较高, 可以进行下一步高通量测序。

2.2 测序与组装结果

用 Illumina HiSeq™ 2000 150PE 平台进行茜草根转录组的高通量测序, 共获得 49 687 870 条 raw reads, 经过测序质量控制, 得到 48 661 746 条 clean reads 和 7.3G clean bases, Q20 达 97.63%, Q30 达 93.74%, GC 量为 48.48%, 测序质量非常高, 对原始数据进行过滤后, 剔除了低质量的数据, 能够满足后续分析研究的需要。序列已上传至 NCBI 的 Sequence Read Archive 数据库, 登陆号: SRP127756。

采用 Trinity 软件对序列进行拼接, 共获 109 205

个 transcripts, 在 transcripts 数据的基础上, 进一步对序列进行组装, 共获得 66 646 条 Unigene, 具体情况见表 1。

2.3 Unigene 功能注释

通过选择 BLAST 参数 E 值 $< 1 \times 10^{-5}$ 和 HMMER 参数 E 值 $< 1 \times 10^{-5}$, 最终所有 Unigene 都被注释到各数据库中, 见表 2。其中 50 240 个 (75.38%) Unigene 在 NR 数据库中可找到相似序列; 37 127 个 (55.70%) 在 GO 数据库中可找到相似序列; 15 015 个 (22.52%) Unigene 在 KOG 数据库中可找到相似序列。

Unigene 在 NR 数据库相似序列匹配的近缘物种中, 咖啡 *Coffea canephora* Pierre 所占比例最高, 为 60.7%, 其后依次是芝麻 *Sesamum indicum* L.

表 1 茜草转录组组装结果统计

Table 1 Summary of the transcript statistics generated from *R. cordifolia*

长度	transcript/条	unigene/条
200~500 bp	49 876	10 065
500~1 000 bp	21 575	19 285
1 000~2 000 bp	22 854	22 446
>2 000 bp	14 900	14 850
总数量	109 205	66 646
总长度	108 054 801	94 907 351
N50 长度	1 718	1 911
N90 长度	381	721
平均长度	989	1 424

表 2 茜草 Unigene 注释结果统计

Table 2 Summary statistics of functional annotation for *R. cordifolia* sequences in public databases

数据库	Unigene/条	占比/%
Annotated in NR	50 240	75.38
Annotated in NT	28 105	42.17
Annotated in KEGG	20 054	30.09
Annotated in SwissProt	38 718	58.09
Annotated in PFAM	36 944	55.43
Annotated in GO	37 127	55.70
Annotated in KOG	15 015	22.52
Annotated in all Databases	7 637	11.45
Annotated in at least one Database	53 616	80.44
Total Unigene	66 646	100.00

(5.5%)、美花烟草 *Nicotiana sylvestris* L. (3.0%)、葡萄 *Vitis vinifera* L. (2.7%) 和绒毛烟草 *Nicotiana tomentosiformis* L. (2.8%), 其他物种为 25.3% (图 1)。

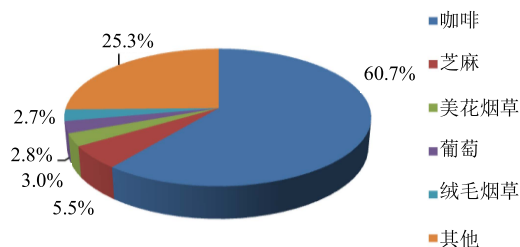


图 1 NR 数据库比对结果的主要物种分布

Fig. 1 Summary statistics of species classification in NR databases

2.4 GO 分类

GO 数据库是一个国际化的基因功能分类数据库, 用于全面地描述不同生物中基因的生物学特征^[13]。结合 GO 数据库对茜草根转录组的 Unigene 进行功能分类, 可从宏观上认识茜草根表达基因的功能分布特征。结果表明 (图 2), 有 37 127 条 Unigene 被注释到 GO 分类, 其中, 样本基因数量在 10 000 条以上且功能在参与的生物过程分类中主要聚集于细胞过程 (cellular process, 21 157 个), 代谢过程 (metabolic process, 20 257 个) 和单一生物过程 (single-organism process, 15 655 个); 在细胞成分主要聚集于 cell (11 020 个) 和 cell part (11 016 个); 在分子功能分类中主要聚集于 binding (21 888 个) 和催化活性 (17 557 个)。

2.5 KOG 功能分类

KOG 数据库是对基因产物进行直系同源分类的数据库^[14], 将茜草根转录组信息与 KOG 数据库进行对比, 可预测 Unigene 功能并进行分类统计。结果表明, 共有 15 015 条 Unigene 被注释到 25 种 KOG 分类中。从图 3 中可以看出 Unigene 涉及的 KOG 功能类别比较全面, 涉及了大多数的生命活动。其中, 功能预测类基因 (general function prediction only) 是最大类别, 包含 2 155 条 Unigene, 占被注释到 Unigene 总数的 14.35%; 其次是翻译后修饰 (posttranslational modification)、蛋白质周转 (protein turnover) 和分子伴侣 (chaperones), 包含 2 022 条 Unigene; 而细胞运动 (cell motility) 和细胞外结构 (extracellular structures) 基因较少, 分别为 12 和 10 条; 其他类别的基因表达丰度都各不相同。

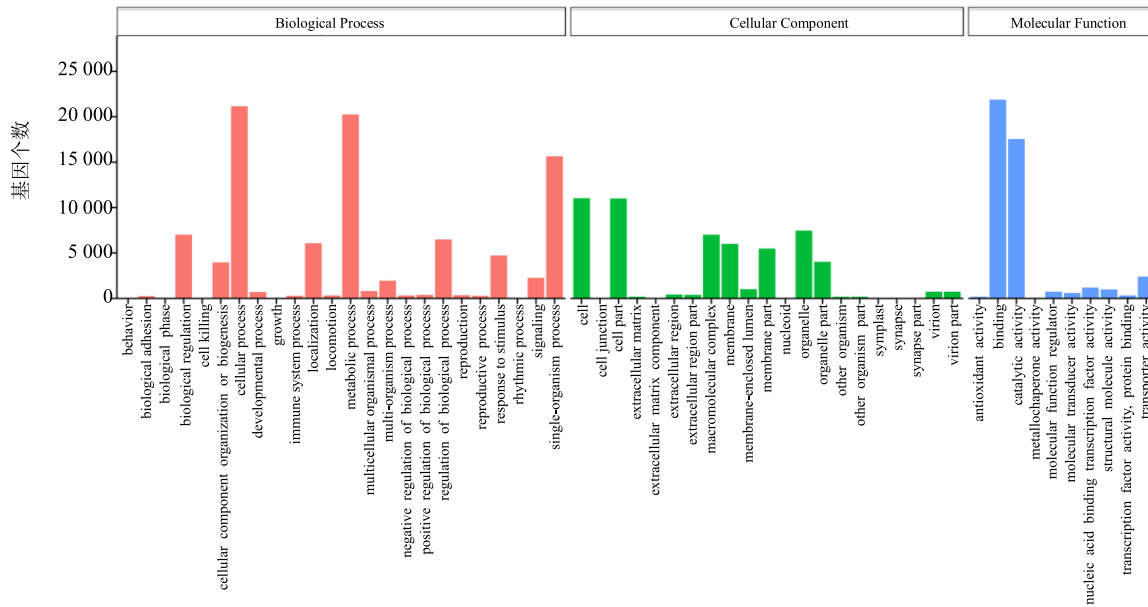


图 2 Unigene 的 GO 分类结果

Fig. 2 GO classification of assembled Unigene

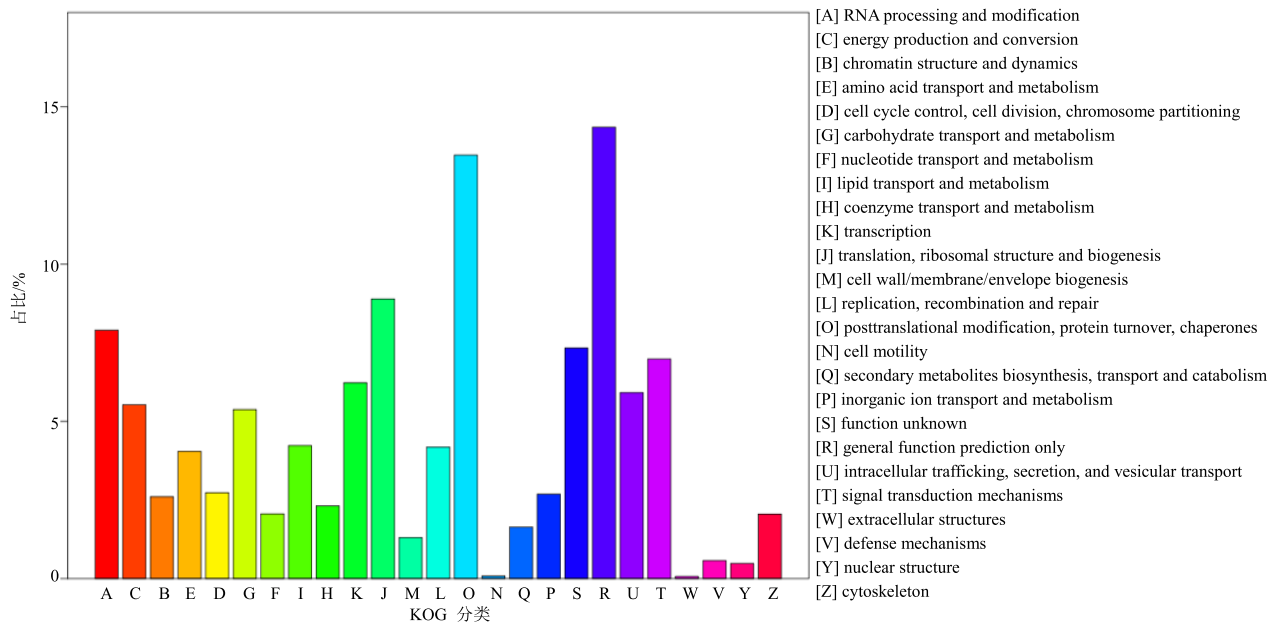


图 3 Unigene 的 KOG 分类结果

Fig. 3 KOG classification of assembled Unigene

2.6 KEGG 代谢通路分析

KEGG 数据库是系统分析基因产物在细胞中的代谢途径以及这些基因产物功能的数据库^[15]。通过 KEGG 功能分类 (图 4), 共有 20 054 条序列, 其中 14 773 条得到注释, 共涉及到 5 条主通路: 细胞过程 (cellular processes, A), 环境信息处理 (environmental information processing, B), 遗传信息处理 (genetic information processing, C), 代谢

(metabolism, D), 有机系统 (organismal systems, E); 19 条子通路, 以碳水化合物代谢 (carbohydrate metabolism) 的最多, 为 1 651 条; 其次为翻译 (translation) 和折叠、分类、降解 (folding, sorting and degradation), 分别有 1 620 和 1 380 条; 最少的是膜运输 (membrane transport), 为 92 条。

2.7 茜草蒽醌类化合物合成相关基因的鉴定

蒽醌及其苷类成分是茜草的主要活性成分, 目

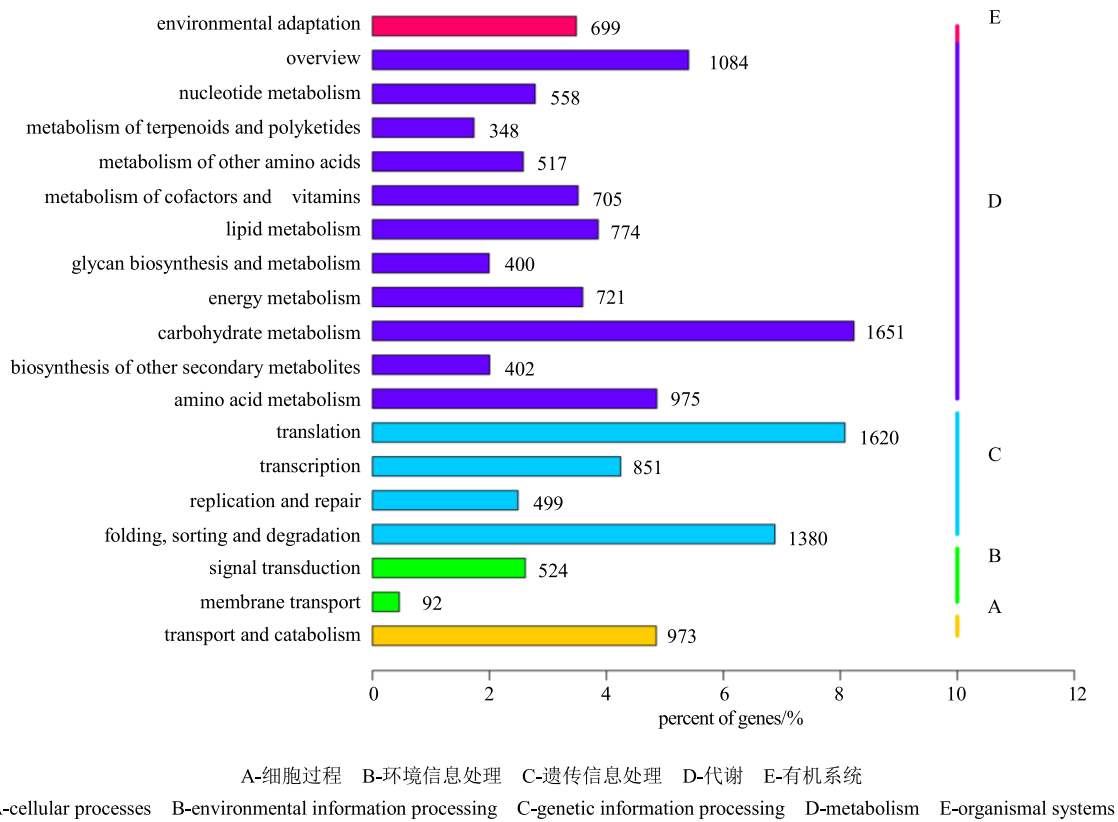


图 4 Unigene 的 KEGG 分类结果

Fig. 4 KEGG classification of assembled Unigene

前已知的有茜草素、茜草酸、羟基茜草素、甲基异茜草素等 50 多种^[16]。研究表明^[1]，茜草素型蒽醌的合成由以下 2 个部分组成：(1) 蒽醌 A 环与 B 环的形成，主要通过莽草酸（分支酸）途径来完成，经由莽草酸、异分支酸和 α -酮戊二酸，再经一系列代谢分别形成蒽醌的 A 环与 B 环；(2) 蒽醌 C 环的形成，C 环来源于异戊烯二磷酸，大量研究已经证实异戊烯二磷酸的形成是通过甲羟戊酸（MVA）途径或甲基赤藓糖醇磷酸（MEP）途径。可知，茜草蒽醌类化合物的合成主要与莽草酸途径、MVA 途径和 MEP 途径有关，通过对茜草根转录组注释所得的 Unigene 进行 KEGG 代谢通路分析，共有 64 条 Unigene 映射到上述相关合成途径上，具体信息见表 3。

3 讨论

目前，高通量转录组测序技术结合生物信息学分析技术已经广泛应用于药用植物转录组及相关代谢途径解析中，其中，二代主流 Illumina 高通量测序平台在众多药用植物道地性、环境饰变、次级代谢通路等研究发面，取得了一系列的研究成果^[18]。

茜草作为常用中药材品种之一，随着在临床及中成药中的应用范围不断扩大，其化学成分、药理作用等方面的研究也不断深入，但代谢途径、关键酶基因、转录组和基因组方面的研究尚未见报道，严重制约了茜草的次生代谢生物合成研究及相关代谢产物的开发利用。本研究首次采用 Illumina HiseqTM 2000 150PE 结合大规模生物信息分析技术平台，对茜草根进行转录组测序和功能分析，进一步挖掘与茜草蒽醌类化合物合成相关的关键基因，填补了茜草相关领域研究的空白。测序数据经 Trinity 软件组装，获得了 66 646 条 Unigene 序列，平均长度为 1 474 bp，N50 为 1 911 bp，转录组测序数据质控水平较高，测序质量优良，组装效果好，完整性高，能够满足后续数据分析的要求。

本研究利用生物信息学技术对转录组测序获得的茜草 Unigene 与 NR、GO、KOG 等 7 个数据库进行比对与注释，结果显示所有 Unigene 均获得相应注释信息，注释成功率为 100%，优于其他药用植物转录组，如山茱萸（36.94%）^[17]、华细辛（52.61%）^[18]、虎杖（61.04%）^[19]等。推测其原因

表 3 茜草蒽醌类生物合成相关候选基因

Table 3 Candidate genes involved in anthraquinones biosynthesis identified in *R. cordifolia*

基因名称	Ko 号	基因数目	功能
acetyl-CoA C-acetyltransferase	Ko0626	6	transferase activity, transferring acyl groups other than amino-acyl groups, 3-oxoacyl-[acyl-carrier-protein] synthase activity
hydroxymethylglutaryl-CoA synthase	Ko1641	1	transferase activity, transferring acyl groups other than amino-acyl groups, hydroxymethylglutaryl-CoA synthase activity
hydroxymethylglutaryl-CoA reductase (NADPH)	Ko0021	3	NADPH activity, coenzyme binding
mevalonate kinase	Ko0869	8	ATP binding
phosphomevalonate kinase	Ko0938	1	ATP binding
diphosphomevalonate decarboxylase	Ko1597	1	ATP binding, actin binding
1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate synthase	Ko1662	7	1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate synthase activity, catalytic activity
1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate reductoisomerase	Ko0099	3	oxidoreductase activity, acting on the aldehyde or oxo group of donors, NAD or NADP as acceptor, protein binding, NADPH binding
2-C-methyl-D-erythritol-4-phosphate cytidyltransferase	Ko0991	7	2-C-methyl-D-erythritol-4-phosphate cytidyltransferase activity, nucleotidyltransferase activity, uridylyltransferase activity
2-C-methyl-D-erythritol-2,4-cyclodiphosphate synthase	Ko1770	1	2-C-methyl-D-erythritol-2,4-cyclodiphosphate synthase activity
4-hydroxy-3-methylbut-2-en-1-yl diphosphate synthase	Ko3526	1	4-hydroxy-3-methylbut-2-en-1-yl diphosphate synthase activity, oxidoreductase activity, antioxidant activity
4-hydroxy-3-methylbut-2-enyl diphosphate reductase	Ko3527	1	4-hydroxy-3-methylbut-2-en-1-yl diphosphate reductase activity, metal ion binding
isopentenyl-diphosphate-delta-isomerase	Ko1823	4	hydrolase activity
4-diphosphocytidyl-2-C-methyl-D-erythritol kinase	Ko0919	2	ATP binding
shikimate dehydrogenase	K13832	7	shikimate 3-dehydrogenase (NADP ⁺) activity, 3-dehydroquinate dehydratase activity
shikimate kinase	Ko0891	11	cytidylate kinase activity, dephospho-CoA kinase activity, ATP binding

可能是因为本研究测序所获得的 Unigene 片段长度较长，公共数据库中所存的信息较为完整，可以较好地比对上。上述结果表明 Illumina HiSeq™ 2000 高通量测序技术可成功获得茜草等没有基因组注释的非模式植物的深度转录组数据，为批量挖掘茜草次生代谢途径相关酶基因尤其是蒽醌类等活性成分生物合成途径关键酶基因提供基础数据。

茜草素型蒽醌是茜草的主要活性成分，也是茜草属的特征性成分，因其药效明确而具有极高的开发价值^[2]。但是，仍缺乏茜草蒽醌类成分代谢合成的基础及分子机制研究，茜草中催化蒽醌类化合物生物合成的酶及相关基因未见报道。本研究通过转录组测序获得茜草次生代谢产物合成相关基因，进一步开展同源性分析及与公共数据库进行比对、注释，共挖掘到 64 条编码茜草蒽醌类化合物代谢途径关键酶的相关基因。这些基因的获得，可为茜草蒽醌类化合物合成关键基因的鉴定和克隆提供基

础数据，为后续开展茜草的蒽醌类成分生物合成分子机制和途径解析提供依据。

参考文献

[1] 廖海, 周嘉裕. 高等植物蒽醌生物合成途径相关酶及其基因研究进展 [J]. 安徽农业科学, 2009, 37(24): 11388-11391.

[2] 陈毅, 王海丽, 薛露, 等. 茜草的研究进展 [J]. 中草药, 2017, 48(13): 2771-2779.

[3] 陈一龙, 范刚, 刘悦, 等. 茜草及其混伪品 DNA 条形码鉴定 [J]. 中国药学杂志, 2015, 50(15): 1266-1272.

[4] 夏至, 王璐静, 李贺敏, 等. 基于 psbA-trnH 基因序列对中药材茜草的分子鉴定 [J]. 时珍国医国药, 2016, 27(2): 374-376.

[5] 彭亮, 黄涛, 张岗, 等. 基于 SCoT 标记的陕产茜草野生居群遗传多样性分析 [J]. 药学学报, 2017, 52(10): 1621-1628.

[6] 董美芳, 袁王俊, 韩远记, 等. 河南产不同种群茜草遗

- 传多样性分析 [J]. 中草药, 2013, 44(18): 2600-2604.
- [7] Sangwan R S, Tripathi S, Singh J, *et al.* De novo sequencing and assembly of *Centella asiatica* leaf transcriptome for mapping of structural, functional and regulatory genes with special reference to secondary metabolism [J]. *Gene*, 2013, 525(2): 58-63.
- [8] Grabherr M G, Haas B J, Yassour M, *et al.* Full-length transcriptome assembly from RNA-Seq data without a reference genome [J]. *Nat Biotechnol*, 2011, 29(7): 644-652.
- [9] Jayakodi M, Lee S C, Lee Y S, *et al.* Comprehensive analysis of *Panax ginseng* root transcriptomes [J]. *BMC Plant Biol*, 2015, 15(1): 138-149.
- [10] Wu D, Austin R S, Zhou S, *et al.* The root transcriptome for North American ginseng assembled and profiled across seasonal development [J]. *BMC Genom*, 2013, 14(1): 564-577.
- [11] Liu Y, Zhang P, Song M, *et al.* Transcriptome analysis and development of SSR molecular markers in *Glycyrrhiza uralensis* Fisch [J]. *PLoS One*, 2015, 10(11): e0143017.
- [12] Wenping H, Yuan Z, Jie S, *et al.* De novo transcriptome sequencing in *Salvia miltiorrhiza* to identify genes involved in the biosynthesis of active ingredients [J]. *Genomics*, 2011, 98(4): 272-279.
- [13] Gene Ontology Consortium. Gene ontology annotations and resources [J]. *Nucleic Acids Res*, 2013, 41(D1): D530-D535.
- [14] Zhou Y, Gao F, Liu R, *et al.* De novo sequencing and analysis of root transcriptome using 454 pyrosequencing to discover putative genes associated with drought tolerance in *Ammopiptanthus mongolicus* [J]. *BMC Genomics*, 2012, 13(1): 266-273.
- [15] Du J, Yuan Z, Ma Z, *et al.* KEGG-PATH: Kyoto encyclopedia of genes and genomes-based pathway analysis using a path analysis model [J]. *Mol Bio Sys*, 2014, 10(9): 2441-2447.
- [16] Lange B M. Online resources for gene discovery and biochemical research with aromatic and medicinal plants [J]. *Phytochem Rev*, 2016, 15(3): 489-510.
- [17] 朱昀昊, 董诚明, 郑晓珂, 等. 基于转录组测序的山茱萸次生代谢生物合成相关基因的挖掘 [J]. 中国中药杂志, 2017, 42(2): 213-219.
- [18] 林懋怡, 牛 卉, 刘晋杰, 等. 基于转录组分析华细辛甲基丁香酚生物合成途径的相关基因 [J]. 中草药, 2017, 48(15): 3160-3167.
- [19] 郝大程, 马 培, 穆 军, 等. 中药植物虎杖根的高通量转录组测序及转录组特性分析 [J]. 中国科学: 生命科学, 2012, 42(5): 398-412.