

基于转录组测序的牛蒡木质素类物质生物合成途径及关键酶基因分析

魏俊雯¹, 张声祥⁴, 施圆圆⁴, 单春苗⁴, 马克龙^{1*}, 吴家文^{2,3,5*}

1. 安徽中医药大学中西医结合临床学院, 安徽 合肥 230012

2. 安徽中医药大学 科研实验中心、新安医学教育部重点实验室, 安徽 合肥 230038

3. 安徽道地中药材品质提升协同创新中心, 安徽 合肥 230012

4. 安徽中医药大学研究生院, 安徽 合肥 230012

5. 安徽省中医药科学院, 安徽 合肥 230012

摘要: 目的 获得牛蒡 *Arctium lappa* 根功能基因数据库, 分析其木质素类化合物生物合成途径及关键酶基因。方法 以牛蒡根为研究对象, 利用华大基因 BGISEQ-500 测序平台进行转录组测序, 通过从头组装获得 Unigene, 利用各种已有的核酸和蛋白质数据库对 Unigene 进行注释和分类, 利用 KEGG 代谢途径分析木质素生物合成途径及其关键酶基因, 利用三维同源建模分析苯丙氨酸解氨酶(AIPAL)的结构特点。结果 通过转录组测序共获得 54 215 个 Unigene, 其中 42 003 个 Unigene 被任一数据库注释, 1 668 个 Unigene 被注释到 54 个转录因子家族中; KEGG 途径分析鉴定了 423 个 Unigene 参与了木质素的生物合成。AIPAL 空间结构模型显示其为同型四聚体, 每个单体由 3 个结构域组成, 包括 4-甲基-咪唑-5-酮(MIO)结构域、核心结构域和屏蔽结构域, 其中 MIO 结构域包含保守的三肽 ASG, 构成 AIPAL 酶的催化活性中心。结论 对牛蒡根转录组进行分析, 为牛蒡功能基因鉴定、次生代谢途径解析及其调控机制研究奠定了实验基础。

关键词: 牛蒡; 转录组测序; 木质素; 功能基因; 苯丙氨酸解氨酶

中图分类号: R282.12 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2020)16-4300-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.16.026

Transcriptome analysis reveals key enzyme genes involved in lignin biosynthesis pathway in *Arctium lappa*

WEI Jun-wen¹, ZHANG Sheng-xiang⁴, SHI Yuan-yuan⁴, SHAN Chun-miao⁴, MA Ke-long¹, WU Jia-wen^{2,3,5}

1. Clinical College of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230012, China

2. Key Laboratory of Xin'an Medicine, Ministry of Education, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230038, China

3. Synergetic Innovation Center of Anhui Authentic Chinese Medicine Quality Improvement, Hefei 230012, China

4. Graduate School, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230012, China

5. Anhui Academy of Chinese Medicine Sciences, Hefei 230012, China

Abstract: Objective To obtain the functional genes in *Arctium lappa* and analyze the key enzyme genes involved in biosynthesis pathway of lignin. **Methods** The transcriptome dataset of roots of *A. lappa* was obtained by using the BGISEQ-500 sequencing platform. Unigenes were *de novo* assembled and annotated according to the existing nucleic acids and protein databases. The key enzyme genes involved in lignin biosynthesis pathway were analyzed and the three-dimensional model of phenylalanine ammonia-lyase (AIPAL) was generated by the SWISS-MODEL and PyMol. **Results** A total of 54 215 Unigenes were obtained by *de novo* assembly, and 42 003 Unigenes were annotated in at least one public database. A total of 1 668 Unigenes were identified to be plant transcription factors (TFs), which belong to 54 TF families, and 423 Unigenes were found to be involved in the biosynthesis pathway of lignin.

收稿日期: 2019-12-23

基金项目: 安徽省高校自然科学研究重大项目(KJ2018ZD028)及重点项目(KJ2019A0476); 安徽省高校优秀青年人才支持计划项目(gxyq2019030); 安徽省自然科学基金项目(1408085QH182); 国家级大学生创新创业训练计划项目(201810369050, 201910369029); 名贵中药资源可持续利用能力建设项目(2060302)

作者简介: 魏俊雯, 本科生。E-mail: 1506118462@qq.com

***通信作者** 马克龙, 副教授。Tel: 13865938257 E-mail: makelong210@126.com

吴家文, 教授。Tel: (0551)65169793 E-mail: wujiawen@ahcm.edu.cn

Structure model indicated that AIPAL was a homotypic tetramer, and each monomer was consisted of three domains, including 4-methyl-imidazole-5-ketone (MIO) domain, core domain and shield domain. The MIO domain contained three conserved amino acids (ASG), which formed the catalytic activity center of the enzyme. **Conclusion** This study was the first *de novo* transcriptome assembly of *A. lappa*, which will lay the foundation for the identification of functional genes, secondary metabolic pathway and the study of regulation mechanism of biosynthesis pathway of lignin in *A. lappa* in the future.

Key words: *Arctium lappa* L.; transcriptome sequencing; lignin; functional Unigenes; phenylalanine ammonialyase

牛蒡 *Arctium lappa* L. 是传统药用植物^[1-2], 为菊科牛蒡属植物, 又被称为大力子、东洋参等, 其根可入药, 具有风热疏导、解毒消肿的作用, 常用于治疗感冒、喉咙不适以及疮疡肿毒等疾病^[3]。牛蒡含木质素、挥发油及少量的生物碱等化学成分^[4], 其中木质素类化合物是牛蒡的重要药用成分, 其具有多种药理活性, 主要包括抗肿瘤^[5]、抗菌^[6]、对心血管及中枢神经系统的抑制作用等^[7-8]。

木质素是由苯丙烷单体脱氢聚合而成, 苯丙烷首先经历苯丙氨酸、酪氨酸、色氨酸等芳香族氨基酸的莽草酸途径, 然后经过脱氨基、甲基化、羟基活化等过程生成羟基肉桂酸 (HCA) 类化合物及羟基肉桂酸酯酰辅酶 A (HCA-CoA) 类化合物; 它们进一步被氧化还原为木质素单体, 再强化脱氢聚合生成木质素^[9]。牛蒡的苯丙氨酸解氨酶 (AIPAL) 是调控木质素合成的首个关键酶, 能够催化苯丙氨酸脱氨生成肉桂酸, 大量研究表明 PAL 活性与木质素、花青素、黄酮等的积累呈显著正相关, 说明其在调节次级代谢产物的生成、维持植物正常生长发育及提高植物抗逆能力方面发挥着重要作用^[10-13]。

近年来, 象草 *Pennisetum purpureum* Schum.^[14]、慈竹笋 *Neosinocalamus affinis* L.^[15] 等多种植物被陆续进行了转录组测序, 象草和慈竹笋中木质素类物质生物合成途径及关键酶也得到了分析。而牛蒡转录组信息的研究目前尚未被报道, 这也阻碍了对牛蒡木质素类合成途径的研究。本研究利用华大基因 BGISEQ-500 测序平台构建牛蒡根转录组数据库, 获取了转录本信息, 通过分析功能基因, 挖掘木质素生物合成关键酶, 为进一步揭示牛蒡木质素的生物合成路径及调控机制、关键酶基因功能研究等奠定了基础。

1 材料

牛蒡根样品采摘于山东省临沂市兰陵县牛蒡种植基地, 经安徽中医药大学杨青山教授鉴定为菊科牛蒡属植物牛蒡 *Arctium lappa* L.。将新鲜的牛蒡根用超纯水洗净, 然后用滤纸吸干其水分, 放入液

氮中储存, 保存于-80 °C 冰箱备用。

2 方法

2.1 RNA 提取和测序

用 Omega Bio-Tek RNA 试剂盒提取牛蒡根组织的总 RNA, 并利用 Nano Drop 和 Agilent 2100 检测其纯度、浓度和完整性, 用带有 Oligo (dT) 的磁珠富集 mRNA 并进行片段化处理。以片断 mRNA 为模版合成一链 cDNA 以及二链 cDNA, 最终获得 cDNA 文库。利用华大基因 BGISEQ-500 测序平台对完整 cDNA 文库进行测序。

2.2 序列拼接和组装

转录组测序后, 获得原始读段 (raw reads), 通过数据过滤获得高质量读段 (clean reads)。利用 Trinity 软件重新组装获取转录本序列, 然后使用 TGICL 软件对转录本进行聚类去冗余, 以获得 Unigene。

2.3 Unigene 功能注释和分类

利用 BLASTX 对获得的 Unigene 进行 NR (NCBI 非冗余蛋白质数据库)、Swiss Prot (蛋白质序列数据库)、KEGG (京都基因与基因组百科全书)、KOG (蛋白直系同源数据库)、NT (非冗余核苷酸数据库) 注释, 根据 NR 注释信息, 使用 Blast 2 GO 得到 Unigene GO (基因本体数据库) 注释, 最后将 Unigene 进行 Pfam (多序列比对和隐马尔科夫模型构建的蛋白家族数据) 注释。

2.4 结构特征分析

利用 ORF Finder (Open Reading Frame Finder) 工具寻找 AIPAL 基因完整的开放读码框 (ORF), 使用 DNAMAN 软件对 AIPAL 氨基酸序列进行同源比对, 寻找其保守的活性位点; 使用 SWISS-MODEL 软件 (<https://swissmodel.expasy.org/>) 进行三维同源建模, 利用 PyMOL 软件构建 PAL 的三级结构, 并对其三级结构进行分析。

2.5 转录因子的鉴定分析

通过对编码转录因子 (TF) 的基因进行预测, 再对基因所属的转录因子家族进行分类统计, 然后使用 ORF Finder 工具确定这些 Unigene 编码的蛋白

序列,将编码蛋白序列与植物转录因子数据库 plant TFDB 进行 hmmscan 比对,得到 Unigene 对应的 TF 家族,同时获得 TF 更多的关于功能、结合位点等蛋白信息。

3 结果与分析

3.1 牛蒡转录组的测序和组装

通过对牛蒡根进行转录组测序,获得了 11 531 万条原始读段,过滤后得到了 11 094 万条高质量读段,最终组装获得 54 215 个 Unigene,平均长度为 1 271 bp,GC 含量为 41.40%,Q30 值为 90.51%。其中长度 1 000~3 000 bp 的 Unigene 有 22 786 个,长度超过 3 000 bp 的 Unigene 有 3 806 个(图 1)。

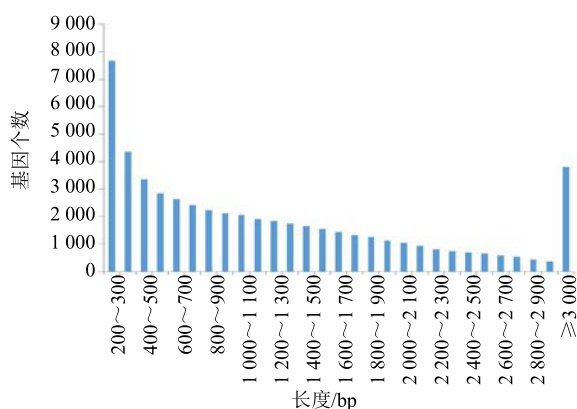


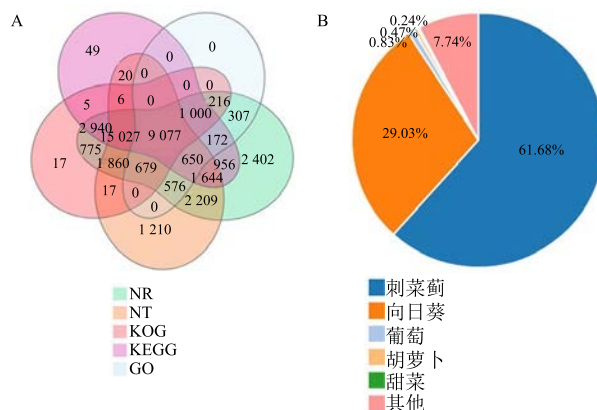
图 1 Unigene 的长度分布

Fig. 1 Length distribution of Unigenes from *A. lappa* transcriptome

3.2 Unigene 的功能注释

3.2.1 序列比对及功能注释 将 42 003 个 Unigene 注释到各种功能数据库,其中 NR 数据库注释率最高(40 490 Unigenes),占 74.68%;其次是 NT、KEGG、KOG 数据库,分别注释了 32 975 (60.82%)、31 619 (58.32%)、31 546 (58.19%) 个 Unigenes,而 GO 数据库注释 Unigene 最少,为 12 677 个,仅占 23.38% (图 2-A)。NR 数据库注释基因同源物种分布如图 2-B 所示,注释到刺菜蓟 *Cynara cardunculus* var. *scolymus* L. 的 Unigene 最多,占 61.68%;其次是向日葵 *Helianthus annuus* L.,占 29.03%。

3.2.2 Unigene 的 GO 分析 利用 Blast2GO 在线软件将所有已比对到 NR 数据库的 Unigene 进行 GO 功能注释,结果显示共有 12 677 个 Unigenes 被注释,注释率为 23.38%。这些 Unigenes 被分为 3 大类即生物过程、细胞组成、分子功能(图 3)。其中生物过程主



A-5 个不同数据库的 Unigene 注释韦恩图 B-牛蒡的 NR 数据库物种注释分布

A-Venn diagram of annotated Unigenes from different databases
B-distribution of species annotated in NR database

图 2 Unigene 的功能注释

Fig. 2 Unigene functional annotation

要集中在细胞过程 (cellular process, 3 817 个 Unigenes); 细胞组成主要集中于细胞 (cell, 3 876 个 Unigenes)、膜部分 (membrane part, 3 592 个 Unigenes) 和细胞器部分 (organelle part, 1 523 个 Unigenes); 分子功能主要集中于结合功能 (binding, 6 253 个 Unigenes) 和催化活性 (catalytic activity, 5 878 个 Unigenes)。

3.2.3 Unigene 的 KOG 分类 将组装获得的 Unigene 注释到 KOG 数据库中,共有 31 619 个 Unigenes 被注释到 25 种 KOG 分类中,其中“一般功能”“信号转导机制”是其中最大的 2 类,分别有 6 602、3 900 个 Unigenes; Unigene 在细胞运动 (cell motility) 类别中分布最少,仅有 3 个 (图 4)。

3.2.4 Unigene 的 KEGG 分析 利用 KEGG 数据库对牛蒡参与代谢途径的 Unigene 进行注释,结果有 31 546 个 Unigene 注释到 5 大类群中,参与了 134 条代谢途径。其中细胞过程 (cellular processes) 主要集中在运输和分解代谢 (transport and catabolism, 1 459 个); 环境信息处理 (environmental information processing) 主要集中在信号传导 (signal transduction, 1 774 个); 遗传信息处理 (genetic information processing) 主要集中在翻译 (translation, 2 202 个) 和折叠、分类和降解 (folding, sorting and degradation, 2 018 个); 代谢 (metabolism) 主要集中在碳水化合物代谢 (metabolism, 2 680 个)

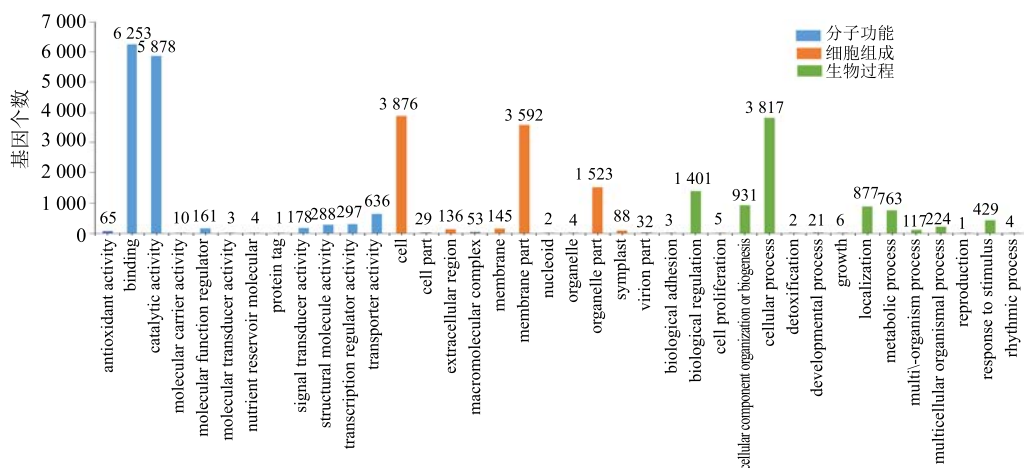


图 3 Unigene 的 GO 功能分类

Fig. 3 GO function classifications for Unigenes of *A. lappa*

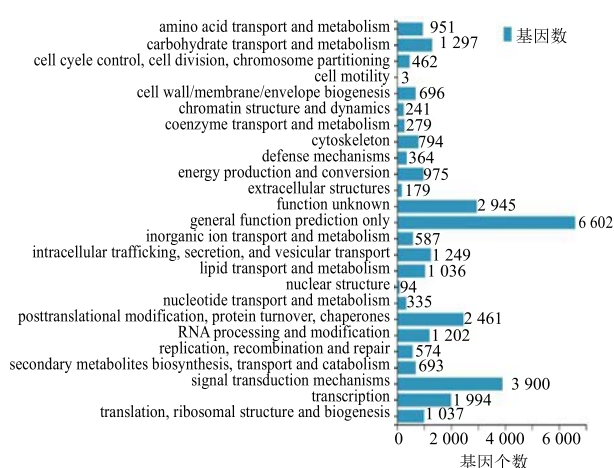


图 4 Unigene 的 KOG 功能分类

Fig. 4 KOG annotation of Unigenes from *A. lappa*

和氨基酸代谢 (environmental adaptation, 1 383 个); 有机系统 (organismal systems) 主要集中在环境适应 (environmental adaptation, 1 160 个) (图 5)。

在牛蒡根的转录组数据中, 共有 1 002 个 Unigenes 基因定位于 14 个其他次生代谢产物合成相关的途径, 其中 423 个 Unigenes 被定位于苯丙素生物合成途径 (Ko00940); 其次是有 97 个 Unigenes 被定位于类黄酮生物合成途径 (Ko00941); 定位于花青素生物合成途径 (Ko00942) 的 Unigenes 最少, 仅有 10 个 (图 6)。

3.3 木质素类物质生物合成相关基因分析

在牛蒡木质素合成 (图 7) 中, 苯丙氨酸经由苯丙酸途径, 通过一系列的脱氨基、羟基化与甲基化等反应, 合成羟基肉桂酸类化合物, 包括对-香豆酸 (*p*-coumaric acid)、咖啡酸 (caffeic acid)

与阿魏酸

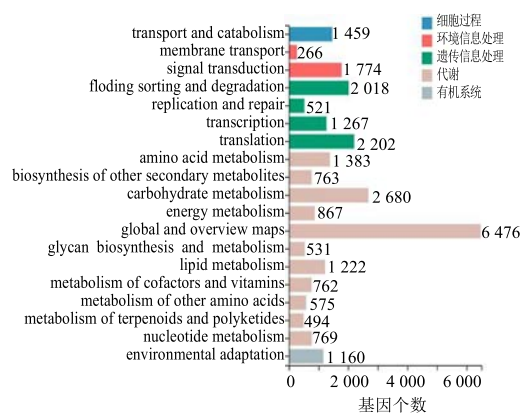


图 5 Unigene 的 KEGG 功能分类

Fig. 5 KEGG annotation of Unigenes from *A. lappa*

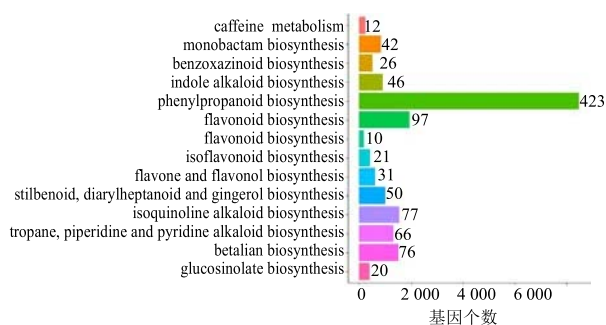
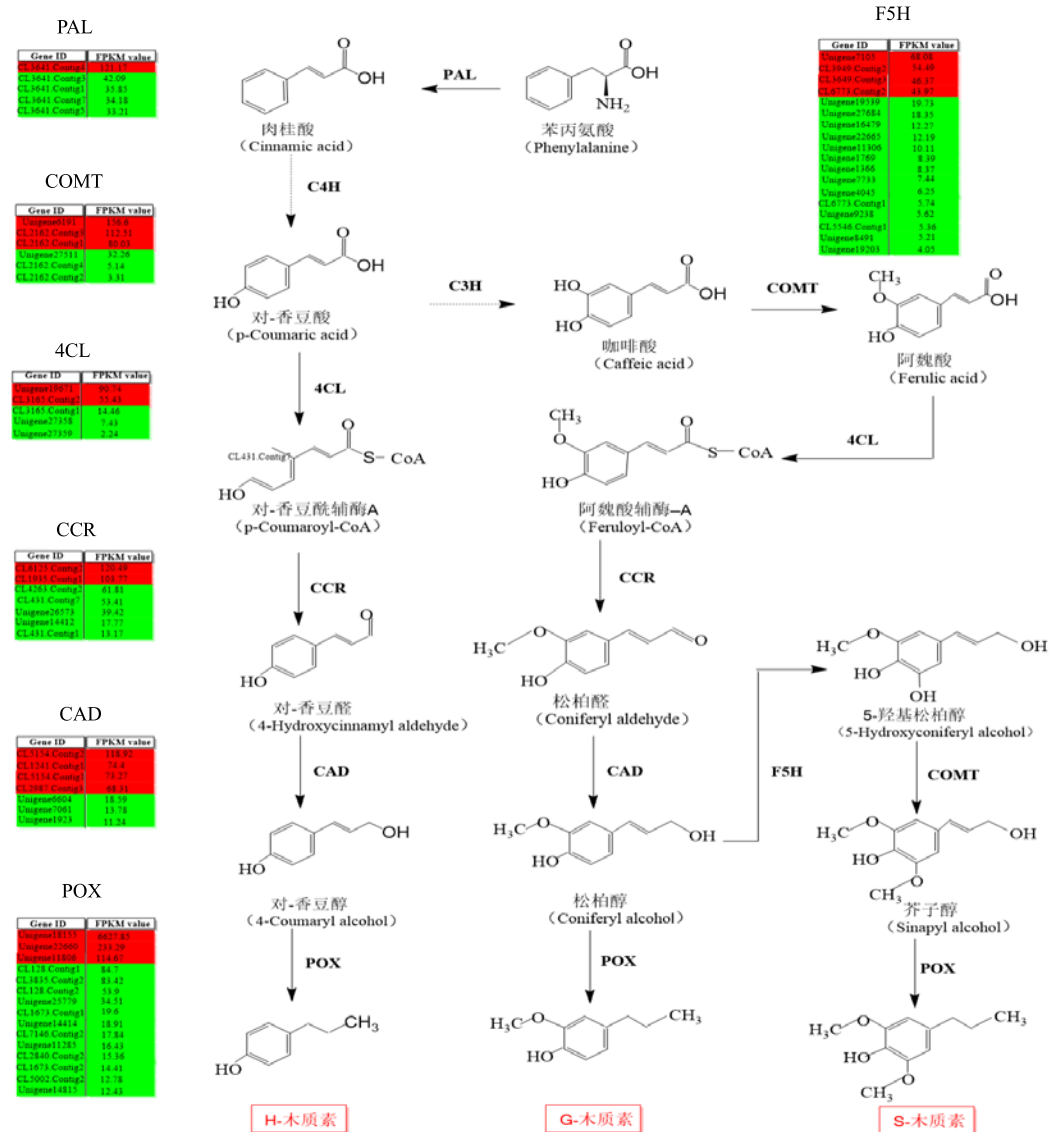


图 6 牛蒡根其他次生代谢物生物合成途径分类

Fig. 6 Pathway classification for biosynthesis of other secondary metabolites

(ferulic acid); 羟基肉桂酸经 4-香豆酸辅酶 A 连接酶 (4CL) 催化合成羟基肉桂酸酯酰辅酶 A 类化合物, 然后进入木质素特异的合成反应中, 经肉桂酰



绿色代表表达水平较低的基因，红色代表表达水平较高的基因
Green and red represent lower and higher expression levels, respectively

图 7 牛蒡根中木质素生物合成途径

Fig. 7 Lignin biosynthesis pathway in *A. lappa*

辅酶 A 还原酶 (CCR) 与肉桂醇脱氢酶 (CAD) 2 步还原反应生成甲基化程度不同的木质素单体; 木质素单体在过氧化物酶 (POX) 的作用下进一步氧化聚合, 生成 3 种主要的木质素类型: 对-羟基苯基木质素 (H-木质素)、愈创木基木质素 (G-木质素) 和紫丁香基木质素 (S-木质素)。共发现 423 个 Unigenes 参与木质素的代谢通路, 有 63 个 Unigenes 编码木质素合成途径中 7 种关键酶, 包括 PAL、COMT、4CL、CCR、CAD、POX 和 F5H, 其中编码 F5H 的基因最多, 有 18 个; 编码 POX 的基因其次, 有 15 个; 而编码 COMT、PAL、4CL 的基因分别有 6、5、5 个 (表 1)。

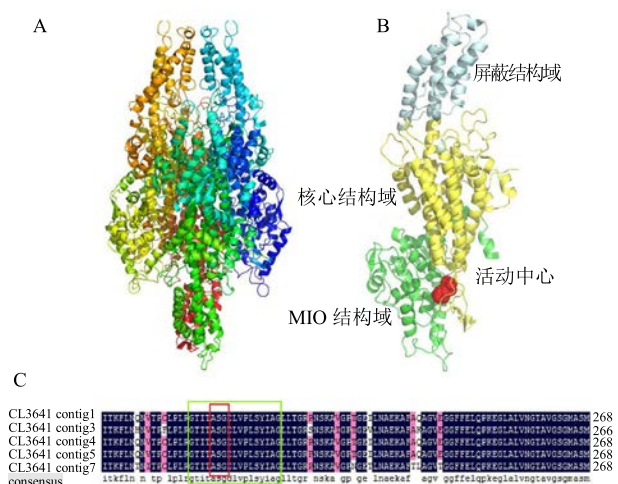
表 1 木质素类物质生物合成关键酶基因

Table 1 Identification of Unigenes involved in lignin biosynthesis pathway

酶的名称	缩写	基因编号	基因数目
苯丙氨酸解氨酶	PAL	4.3.1.24	5
咖啡酸-3-O-甲基转移酶	COMT	2.1.1.68	6
4-香豆酸辅酶 A 连接酶	4CL	6.2.1.12	5
肉桂醇脱氢酶	CCR	1.2.1.44	7
肉桂醇脱氢酶	CAD	1.1.1.195	7
过氧化物酶	POX	1.11.1.7	15
阿魏酸-5-羟基化酶	F5H	1.14.-.-	18

3.4 AIPAL 的结构特征分析

在牛蒡根转录组数据库中发掘了 5 个完整的 AIPAL 基因，它们的氨基酸序列一致性高达 96.08%。本课题组选择具完整读码框的表达量最高的 CL3641. Contig 4 基因为研究对象，利用 SWISS-MODEL 和 PyMol 软件，以欧芹 *Petroselinum crispum* Nym. 中的 PAL 晶体结构 (PDB ID: 1w27) [16] 为模板构建了 AIPAL 的三级结构模型。AIPAL 空间结构是一个“橄榄球状”的同型四聚体 (图 8-A)，每个 AIPAL 单体含有 3 个结构域，分别为 MIO 结构域 (W25-A261，图 8-B 绿色螺旋显示)、核心结构域 (V262-E527 和 Z650-I716，图 8-B 黄色螺旋显示) 和屏蔽结构域 (E528-R649，图 8-B 青色螺旋显示)。其中，MIO 结构域包含 PAL 酶家族保守序列 (GTITASGDLVPLSYIAG) (图 8-C，绿色方框显示) 和酶的活性中心 (Ala-Ser-Gly，即 ASG) (图 8-B，红色球形显示；图 8-C，红色方框显示)。



A-AIPAL 同型四聚体 B-AIPAL 单体 C-5 个 AIPAL 基因的氨基酸序列比对 (红色框出的是 PAL 酶的活性中心“ASG”) A-AIPAL homotetramer B-AIPAL monomer C-sequence alignment of five AIPAL Unigenes (PAL enzyme activity center “ASG” is colored in red)

图 8 AIPAL 氨基酸序列比对及蛋白空间结构模型

Fig. 8 Sequence alignment and structure model of AIPAL

3.5 AIPAL 的同源性及系统进化关系分析

利用 MEGA 5.0 软件对 GenBank 数据库中不同植物的 PAL 氨基酸序列进行比对分析得到 AIPAL 系统发育进化树 (图 9)。AIPAL 与刺菜蓟 *Cynara cardunculus* var. *scolymus* 的遗传距离最短，亲源关

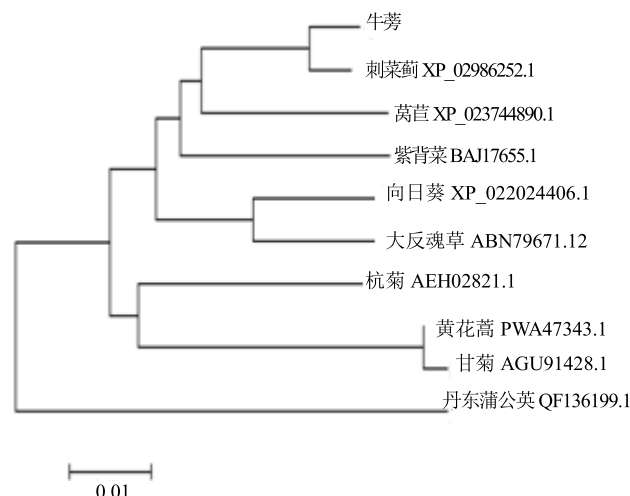


图 9 PAL 的系统发育进化树

Fig. 9 Phylogenetic tree of PAL

系最近，这与刺菜蓟与牛蒡都属于菊科菜蓟族是一致的。

3.6 与木质素生物合成及其他次生代谢相关的转录因子

转录因子 (transcription factor, TF) 被证明可以调控各种次生代谢途径。在牛蒡根转录组数据库中，1 668 个 Unigenes 被注释为 TF，共分为 54 个 TF 家族。其中 Unigene 数目最多的是 MYB 家族 (212 个 Unigenes)，其次是 AP2-EREBP 家族 (135 个 Unigenes) 和 bHLH 家族 (122 个 Unigenes，图 10)。

对 1 668 个 TF 进行代谢途径富集，鉴定了 9 个参与木质素生物合成途径的 Unigenes，包括 5 个属于 MYB 家族的 Unigenes，调控过氧化物酶 (POX)；3 个属于 NAC 家族的 Unigenes，调控肉桂酰辅酶 A 还原酶 (CCR)；1 个属于 HRT 家族的 Unigene，调控肉桂醇脱氢酶 (CAD)，见表 2。

4 讨论

牛蒡是一种常见的药食同源的传统中药材，木质素类化合物作为牛蒡的主要活性成分，常用于治疗风热感冒、咳嗽多痰、麻疹等症，但目前对牛蒡中木质素类物质的生物合成及其调控机制尚未有深入研究。本研究首次利用华大基因 BGISEQ-500 平台对牛蒡根样品进行转录组测序，通过从头组装后获得了 54 215 个 Unigenes，平均长度为 1 271 bp；通过功能基因分析进一步挖掘了牛蒡木质素类物质生物合成的关键基因。

将获得的 Unigenes 与 NR、KEGG、GO 等 7 大数据库进行比对，有 42 003 个 Unigenes 获得功

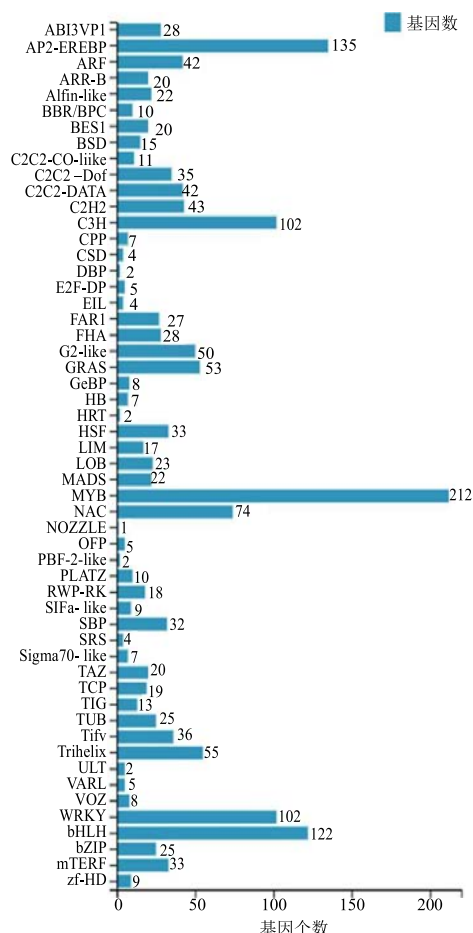


图 10 转录因子家族分类

Fig. 10 Classification of transcription factor families

表 2 木质素类物质生物合成相关转录因子

Table 2 Classification of transcription factors involved in lignin biosynthesis

基因 ID	TF 家族	酶
CL1673.Contig1	MYB	peroxidase
CL1673.Contig2	MYB	peroxidase
CL3012.Contig1	MYB	peroxidase
CL3012.Contig2	MYB	peroxidase
Unigene 17385	MYB	peroxidase
CL431.Contig1	NAC	Cinnamoyl-coa reductase
CL431.Contig2	NAC	Cinnamoyl-coa reductase
Unigene 3567	NAC	Cinnamoyl-coa reductase
CL1978.Contig1	HRT	Cinnamyl alcohol dehydrogenase

能注释, 注释率为 77.47%, 这与已报道的艾草^[17]、黄三七^[18]、白鲜^[19]等药用植物转录组注释比例相似。因为缺乏基因组信息, 12 121 个 Unigenes 未获得注释, 故牛蒡根转录组尚存在 22.53% 功能未知的

Unigenes。

在牛蒡根木质素合成途径中, 63 个功能基因编码 7 种关键酶, 其中 AIPAL 是调控木质素合成的首个关键酶, 能够催化苯丙氨酸脱氨生成肉桂酸。在牛蒡根中编码 AIPAL 的 CL3641. Contig 4 基因表达量最高, 且具有完整的读码框, 本课题组对其三级结构进行同源建模, AIPAL 的空间结构是一个“橄榄球状”的同型四聚体, 每个单体包含 3 个结构域, 其中, MIO 结构域含有 PAL 酶家族保守序列和三肽活性中心“ASG”。Ala-Ser-Gly 三肽经环化脱水形成亲电基团, 通过攻击芳香环增加亲电性, 从而发挥酶辅助因子的作用, 增强 PAL 酶的活性^[20-21]。Aterola 等^[22]研究发现, 抑制 PAL 表达会导致转基因烟草中木质素含量降低, 并伴随着丁香木质素/愈创木基木质素 (S/G) 比值的增加, 严重影响其生长发育, 推测 AIPAL 很可能在调控牛蒡根木质素合成过程中也同样发挥着重要调控作用。

牛蒡根中共有 1 668 个 Unigenes 注释到 54 个转录因子家族, 包括 MYB、NAC、HRT、AP2-EREBP 等, 其中注释到 MYB 家族的 Unigene 数目最多, 有 212 个。Blanca 等^[23]研究发现海岸松中 MYB8 转录因子能激活 PAL 的表达, 使得木质素含量提高。因此本课题组推测在牛蒡木质素类物质生物合成过程中 MYB 类转录因子可能对木质素类物质生物合成的关键酶也发挥着重要的调控作用。

本研究首次对牛蒡根进行了转录组测序, 构建了牛蒡根转录组数据库, 为牛蒡木质素类物质生物合成途径的解析和关键酶功能研究奠定了基础。

参考文献

- [1] 武世豪, 杜金行, 努尔比亚·阿布拉, 等. 牛蒡药理作用研究进展 [J]. 中华中医药杂志, 2017, 32(7): 3093-3095.
- [2] 曹剑锋. 牛蒡根其化学成分的药理活性研究 [D]. 济南: 山东大学, 2012.
- [3] 郑云枫, 彭国平. 牛蒡的化学研究进展 [J]. 时珍国医国药, 2005, 16(2): 153-155.
- [4] 蒋淑敏. 牛蒡化学成分和药理作用的研究现状 [J]. 时珍国医国药, 2001, 12(10): 941-942.
- [5] 崔银雪. 木脂素对 MCF-7 乳腺癌细胞抗增殖作用及其机制的研究 [D]. 延吉: 延边大学, 2010.
- [6] 冯亚净, 媛媛, 王瑞鑫, 等. 五味子木脂素对大肠杆菌的抑菌机理及效果 [J]. 食品与发酵工业, 2016, 42(2): 72-76.
- [7] 惠永正. 中药天然产物大全 [M]. 上海: 上海科学技

- 术出版社, 2011.
- [8] 王国丽, 祝洪艳, 郇玉钢, 等. 五味子木脂素对中枢神经系统作用的研究进展 [J]. 上海中医药杂志, 2014, 48(11): 99-101.
- [9] 丁 霄, 曹彩荣, 李朋波, 等. 植物木质素的合成与调控研究进展 [J]. 山西农业科学, 2016, 44(9): 1406-1411.
- [10] 胡晓立, 杨建民, 陈东亮, 等. NaCl 胁迫对紫叶李叶片色泽的影响 [J]. 林业科学, 2010, 46(12): 64-69.
- [11] 李云飞, 李彦慧, 王中华, 等. 土壤干旱胁迫对紫叶矮樱叶片呈色的影响 [J]. 生态学报, 2009, 29(7): 3678-3684.
- [12] 刘 佳, 徐秉良, 薛应钰, 等. 美洲南瓜 (*Cucurbita pepo*) 种皮苯丙氨酸解氨酶基因克隆与表达分析 [J]. 中国农业科学, 2014, 47(6): 1216-1226.
- [13] Thomas V. Phenylpropanoid Biosynthesis [J]. *Molecular Plant*, 2010, 3(1): 2-20.
- [14] 吴娟子, 钱 晨, 刘智微, 等. 基于转录组测序分析象草木质素合成的研究 [J]. 草业学报, 2019, 28(1): 150-161.
- [15] 蒋海港, 王树刚, 刘 阳, 等. 基于转录组测序的慈竹笋木质素基因筛选及其表达分析 [J]. 植物研究, 2018, 38(3): 415-421.
- [16] Ritter H. Structural basis for the entrance into the phenylpropanoid metabolism catalyzed by phenylalanine ammonia-lyase [J]. *Plant Cell Online*, 2004, 16(12): 3426-3436.
- [17] Liu M, Zhu J, Wu S, *et al.* De novo assembly and analysis of the *Artemisia argyi* transcriptome and identification of genes involved in terpenoid biosynthesis [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 5824.
- [18] 李依民, 彭 亮, 杨冰月, 等. 基于高通量测序技术的黄三七根茎转录组数据分析 [J]. 中草药, 2018, 49(21): 38-45.
- [19] 李依民, 张化为, 陈 莹, 等. 白鲜根转录组高通量测序与数据分析 [J]. 中草药, 2018, 49(21): 30-37.
- [20] Lin W, Liu A, Weng C, *et al.* Cloning and characterization of a novel phenylalanine ammonia-lyase gene from *Inonotus baumii* [J]. *Enzyme Microb Technol*, 2018, 112: 52-58.
- [21] Calabrese J C, Jordan D B, Boodhoo A, *et al.* Crystal structure of phenylalanine ammonia lyase: Multiple helix dipoles implicated in catalysis [J]. *Biochemistry*, 2004, 43: 11403-11416.
- [22] Aterola A M, Lewis N G. Trends in lignin modification: A comprehensive analysis of the effects of genetic manipulations/mutations on lignification and vascular integrity [J]. *Phytochemistry*, 2002, 61(33): 221-294.
- [23] Craven B B, Pascual M, Cánovas F M, Avila Concepción. A Myb transcription factor regulates genes of the phenylalanine pathway in maritime pine [J]. *Plant J*, 2013, 74(5): 239-246.