

• 药材与资源 •

艾基因组中 MYC 转录因子基因家族鉴定及表达分析

赵欣羽^{1,2}, 张文颖^{1,2}, 张楚熠^{1,2}, 罗红梅^{1,2,3*}

1. 中国医学科学院北京协和医学院 药用植物研究所, 北京 100193

2. 中草药物质基础与资源利用教育部重点实验室, 北京 100193

3. 道地药材品质保障与资源持续利用全国重点实验室, 北京 100193

摘要: 目的 基于艾 *Artemisia argyi* 全基因组数据系统鉴定 MYC 转录因子基因家族成员 (AarMYC), 解析其进化特征及表达模式, 探究其在植物发育及茉莉酸甲酯 (methyl jasmonate, MeJA) 诱导下对次生代谢物合成的调控作用。方法 利用艾全基因组数据, 通过序列比对及保守结构域分析鉴定 MYC 转录因子; 结合生物信息学分析其染色体定位、保守结构域及进化关系等; 基于转录组数据筛选差异表达基因, 并通过 MeJA 处理结合 qRT-PCR 验证关键 MYC 基因的表达模式。结果 在艾基因组中共鉴定到 24 个 MYC 转录因子基因, 与拟南芥 AtMYC 蛋白质聚类分析显示 AarMYC 形成 4 个亚家族。组织特异性表达结果表明, AarMYCs 在不同部位中的表达模式不同; 在 MeJA 诱导下, AarMYC3、AarMYC4、AarMYC5 等 6 个转录因子基因呈现“先升高-后降低”的表达模式, 而 AarMYC12 却持续上调表达。结论 系统鉴定艾基因组中 MYC 转录因子基因家族, 为深入解析 AarMYC 调控艾药用成分生物合成过程提供理论依据。

关键词: 艾; MYC 转录因子; 全基因组鉴定; 生物信息学分析; 基因表达分析

中图分类号: R286.12 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)23-8713-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.23.021

Genome-wide identification and expression analysis of MYC transcription factor gene family in *Artemisia argyi*ZHAO Xinyu^{1,2}, ZHANG Wenying^{1,2}, ZHANG Chuyi^{1,2}, LUO Hongmei^{1,2,3}

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

2. Key Laboratory of Bioactive Substances and Resources Utilization of Chinese Herbal Medicine, Ministry of Education, Beijing 100193, China

3. State Key Laboratory of Dao-di Herbs Quality Assurance and Resource Sustainable Utilization, Beijing 100193, China

Abstract: Objective To systematically identify MYC transcription factors (TFs) in *Artemisia argyi* genome (AarMYC) analyze the evolutionary characteristics and expression patterns, and investigate their regulatory roles in plant development and secondary metabolite biosynthesis under methyl jasmonate (MeJA) induction. **Methods** MYC TFs were identified via sequence alignment and conserved domain analysis in the *A. argyi* whole-genome data. Bioinformatics approaches were employed to determine their chromosomal localization, domain composition, and evolutionary relationships. Tissue-specific transcriptome data were used to screen differentially expressed genes, while MeJA treatment combined with qRT-PCR validated temporal expression patterns of key MYC genes. **Results** A total of 24 MYC TFs were identified in the *A. argyi* genome. Phylogenetic clustering analysis revealed the AarMYC were clustered into four sub-family along with *Arabidopsis thaliana* MYC. The tissue-specific expression results indicated that AarMYCs exhibit distinct expression patterns across different tissues; under MeJA induction, six transcription factor encoding genes including AarMYC3, AarMYC4, and AarMYC5 showed a transiently up-regulated then down-regulated trend, while AarMYC12 demonstrated sustained up-regulation. **Conclusion** This study provides the systematic identification of MYC TFs in *A. argyi*, providing insights into the molecular mechanisms of AarMYC-mediated regulation of medicinal compound biosynthesis in *A. argyi*.

收稿日期: 2025-05-02

基金项目: 中国医学科学院医学与健康科技创新工程 (2021-I2M-1-071)

作者简介: 赵欣羽, 女, 硕士研究生, 研究方向为药用植物次生代谢途径解析。E-mail: s2023009072@student.pumc.edu.cn

*通信作者: 罗红梅, 女, 研究员, 研究方向为药用植物次生代谢途径解析和植物生理学。E-mail: hmluo@implad.ac.cn

Key words: *Artemisia argyi* Lévl. et Vant; MYC transcription factors; whole-genome identification; bioinformatics analysis; gene expression analysis

艾 *Artemisia argyi* Lévl. et Vant 为菊科蒿属多年生草本植物,是我国传统药用与保健植物的重要药用植物,已有上千年的应用历史。其干燥叶片又称艾叶,被《中国药典》2025 年版收录^[1]。艾叶具温经止血、散寒止痛的功效,广泛应用于中医妇科疾病、风湿痹痛及虚寒性出血等症的治疗。除临床药用外,艾作为艾灸疗法的核心材料,其燃烧产生的热效应与挥发成分可通过经络调节机体免疫功能,在慢性病防治和亚健康调理中发挥独特作用^[2]。此外,艾提取物还被开发为抗菌洗剂、驱蚊产品及天然防腐剂等^[3],成为现代日化产品开发的重要原材料。

现代药理学研究表明,艾的药用价值与其丰富的次生代谢产物密切相关,主要包括挥发油(如桉油精、樟脑、 α -侧柏酮)、黄酮类(如艾黄素、槲皮素)及三萜类(如齐墩果酸、熊果酸)等活性成分^[4]。这些次生代谢成分具有多种生物学活性,例如,挥发油可通过破坏微生物细胞膜完整性发挥抗菌作用^[5];黄酮类成分通过酚羟基结构清除自由基,减轻氧化应激损伤^[6];萜类化合物能够通过调控核因子- κ B (nuclear factor kappa-B, NF- κ B) 等炎症通路抑制促炎因子释放^[7]。近年来,艾全基因组测序完成^[8]推动艾功能基因组学研究进入新阶段,目前已鉴定出参与艾萜类合成的关键萜类合酶(terpene synthase, TPS)基因^[9]等,但关于这些基因的表达调控却鲜有报道,尤其是 MYC 转录因子家族的系统研究尚未见报道。

转录因子(transcription factors, TFs)又称反式作用分子,通过与启动子区的顺势作用元件结合来调控目的基因的转录水平。一些转录因子通过调节次生代谢途径关键酶基因的表达水平,进而调控次生代谢物质的合成及含量^[10]。MYC 转录因子作为 *bHLH* 基因家族重要成员,在植物生长发育、次生代谢调控及逆境响应中发挥核心调控作用^[11]。一般来说,MYC 蛋白质相对分子质量大小通常在 47 730~97 390,等电点在 4.53~9.05,亚细胞定位大多在细胞核、叶绿体和细胞质中^[12-13]。MYC 典型结构包含 *bHLH* 转录因子家族特有的保守螺旋-环-螺旋(helix-loop-helix, HLH, PF00010)和 MYC 典型的保守结构 *bHLH_MYC_N* (PF14215) 2 个结构域,后者通过形成二聚体特异性结合 DNA 启动子区 E-box (CANNTG) 和 G-box (5'-CACGTG-3'和 5'-

CACATG-3') 元件,其中 G-box 被认为是首选的结合位点^[14]。茉莉酸(jasmonic acid, JA)信号通路的解析进一步揭示了 MYC 的核心作用:正常状态下,植物体内含有少量 JA, Jasmonate ZIM-domain (JAZ) 蛋白质通过与 MYC 结合抑制其活性^[11];但当植物遭遇胁迫或外源施加茉莉酸甲酯(methyl jasmonate, MeJA)时,茉莉酸-异亮氨酸(jasmonic acid-isoleucine, JA-Ile)水平升高^[15],促进 JAZ 与 Coronatine insensitive1 (COI1) 受体互作并触发其泛素化降解,进而释放 MYC 以激活下游响应^[16-17]。

MYC 的调控功能在植物次生代谢中呈现高度多样性,尤其在药用成分合成中具有重要应用潜力^[18]。丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bge. 中 SmMYC2a 和 SmMYC2b 的双基因沉默会显著抑制丹参酮和酚酸的积累^[19];番茄 *Solanum lycopersicum* L. 中 SIMYC1 不仅调控 VI 型腺毛的发育,还能直接激活萜类合酶(TPS)基因的表达^[20];拟南芥 *Arabidopsis thaliana* L. 中 AtMYC2 能与 *TPS21* 和 *TPS11* 基因启动子区结合,激活其表达,从而增加倍半萜的释放量^[21];而白木香 *Aquilaria sinensis* (Lour.) Spreng. AsMYC2 通过调控 JA 响应的倍半萜合酶基因 *ASS1*, 影响沉香倍半萜的生物合成^[22]。这些研究表明,MYC 不仅能直接调控次生代谢产物合成,还可通过调控腺毛发育等影响代谢产物的储存过程。因此,在药用植物中,系统鉴定 MYC 家族成员对解析次生代谢调控网络及提升活性成分产量具有重要意义。

本研究基于艾全基因组数据,系统鉴定艾 MYC (AarMYC) 转录因子基因家族成员,通过生物信息学方法分析其系统进化关系、保守结构域、保守基序等;结合不同组织及外源 MeJA 处理的转录组数据,解析 AarMYC 时空表达模式及其对 MeJA 的响应规律。研究发现 10 个 AarMYC 转录因子受 MeJA 显著诱导,推测其可能参与艾萜类活性成分的生物合成调控。该研究为深入解析 MYC 转录因子在艾生长发育和次生代谢中的分子机制提供理论依据。

1 材料与仪器

1.1 材料

植物材料采自于中国医学科学院药用植物研

究所(以下简称药植所),由罗红梅研究员鉴定为艾 *A. argyi* Lévl. et Vant. 北京药用植物园(北纬 40°, 东经 116°),该物种在药植所种质资源库登记编号为 10107297(种质信息详见 <http://www.cumplag.cn>)。取新鲜幼嫩叶片置于液氮速冻后用于核酸提取,艾全基因组序列、cDNA 序列和氨基酸序列均来源于本课题组已发表的艾基因组^[8]。

1.2 仪器

RNAprep Pure 多糖多酚植物总 RNA 提取试剂盒购自北京天根生化科技有限公司; PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser(Perfect Real Time)、TB Green® Premix Ex Taq™ II(Tli RNaseH Plus)购自宝日医生物技术(北京)有限公司; MeJA 购自美国西格玛奥德里奇公司;本实验所用引物均由苏州金唯智生物科技有限公司合成。

2 方法

2.1 AarMYC 转录因子鉴定和蛋白质理化性质预测分析

使用 iTAK 基于 PlantTFDB 数据库对艾进行全基因组转录因子的鉴定,并提取其中预测为 bHLH 家族的转录因子蛋白质序列。在 Conserved Domain Database(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/cdd.shtml>)数据库进行 Pfam 搜索,去除结构域不完整的序列后保留同时含有 1 个 bHLH(Pfam00010)结构域和 1 个 bHLH-MYC-N(Pfam14215)结构域的序列,最终得到 24 个 MYC 转录因子基因家族成员,将其命名为 AarMYC1~AarMYC24。利用 ExPASy 网站预测分析 AarMYC 蛋白质的理化性质,包括氨基酸数量、相对分子量、理论等电点、不稳定系数等。利用 WOLF PSORT(<https://wolfpsort.hgc.jp/>)预测 AarMYC 的亚细胞定位,利用 SOPMA(<https://npsa.lyon.inserm.fr/>)分析蛋白质质脂肪系数及二级结构。

2.2 AarMYC 转录因子染色体定位分析

基于艾全基因组注释文件,采用 TBtools 软件对 24 个 AarMYC 基因进行染色体定位分析并将其分布模式进行可视化。

2.3 AarMYC 保守结构域及保守基序分析

利用在线工具 MEME(<http://meme-suite.org/index.html>)对 AarMYC 蛋白质的保守基序(Motif)进行预测,Motif 的查找数量设置为 10,其他参数均设置为默认值。利用 SMART(<http://smart.embl-heidelberg.de>)分析 AarMYC 基因家族的保守结构域,并利用 TBtools 对结果进行可视化。

2.4 AarMYC 进化树构建

使用 MAFFT(v7.490)将 24 条 AarMYC 蛋白质序列与拟南芥的 13 条 AtMYC 蛋白质序列进行多序列比对,比对结果采用 Fasttree(v2.1.11)以最大似然法(maximum likelihood, ML)构建进化树,参数均设置为默认值,并使用 iTOL(<https://itol.embl.de/>)进行美化。

2.5 AarMYC 基因在不同部位表达量分析

以艾的 8 个不同部位(根、幼茎、茎、幼芽、芽、幼叶、叶、花)的转录组测序(RNA-Seq)数据为基础,获取 AarMYC 基因表达谱,利用 TBtools 软件以 FPKM 值绘制基因表达量交互热图。

2.6 MeJA 处理后基因表达量分析

为探究 MeJA 对艾叶次生代谢物的调控作用,选取组培 45 d 的无菌苗进行 100 μmol/L MeJA 溶液喷洒处理,分别于 0(对照)、2、12 h 取样,通过 RNA 提取试剂盒获取总 RNA 并反转录合成 cDNA,采用 CFX96 荧光定量 PCR 仪及 TB Green 试剂盒进行实时荧光定量 PCR(quantitative real-time PCR, qRT-PCR)分析,以 actin 为内参基因,使用 DNAMAN 设计特异性引物,所用引物序列见表 1。每个样本设置 3 次重复,反应体系为 12.5 μL 2×TB Green Premis

表 1 qRT-PCR 引物序列

Table 1 Primers sequences of qRT-PCR

基因名称	上游引物 (5'-3')	下游引物 (5'-3')
<i>AarMYC3</i>	AACCAGCTAATGGGCGTGAA	TAGTAACGCGCACGACAAC
<i>AarMYC4</i>	GGGGTCGAAAACCTGCAAAC	TTGGGACCACTGCTCGTAAC
<i>AarMYC5</i>	GTTGCTCGCCCTTCAGTAGT	CGAGGCCGCTTATCATCTGT
<i>AarMYC14</i>	GAGCCGTGGTCCCAAACATA	TGGATGCTCATCTAACGGGC
<i>AarMYC15</i>	GTCGAAGGTTTCGGACGAGT	CTCTCGGCTTCGACGTGATT
<i>AarMYC16</i>	TGATGGTGGGGTTGTTGAGG	ACTGAGGCTGCCGTAAACTC
<i>Actin</i>	GTCACACTGGTGTTCATGGTTGGAAT	CGTGCTCAATCGGGTACTTCAAAGT

Ex Taq、1 μL 上/下游引物、2 μL 模板和 8.5 μL ddH₂O，程序设定为 95 °C 预变性 30 s，95 °C、5 s/60 °C 30 s 循环 40 次，利用 2^{-ΔΔC_t} 法计算基因相对表达量，并利用 GraphPad Prism 9.0 进行单因素方差分析，以解析 *AarMYC* 基因家族对 MeJA 诱导的时序响应模式。

3 结果

3.1 AarMYC 转录因子鉴定和蛋白质理化性质分析

基于艾基因组数据，通过同源序列搜索及 Pfam 结构域确认，在艾中共鉴定到 24 个 *MYC* 基因，将它们按照在染色体上排列的前后顺序命名为 *AarMYC1*~*AarMYC24*。利用 ExPASy 网站分析艾 *AarMYC* 蛋白质的理化性质，结果显示 24 个 *AarMYC* 蛋白质的氨基酸数量为 382 aa (*AarMYC19*)~660 aa

(*AarMYC11*)，相对分子质量为 42 948.52 (*AarMYC19*)~75 300.11 (*AarMYC11*)，理论等电点在 4.91 (*AarMYC21*)~6.71 (*AarMYC6*)。不稳定系数均大于 40，预测为不稳定蛋白质。脂肪系数在 62.94 (*AaMYC23*)~101.44 (*AaMYC19*)。蛋白质总平均亲水指数范围从 -0.853 (*AaMYC1*)~-0.211 (*AaMYC19*)，均小于 0，表明 *AarMYC* 蛋白质具有亲水性。蛋白质二级结构预测发现 *AarMYC* 家族蛋白质二级结构由 α-螺旋、β-转角、延伸链和无规则卷曲组成，并且以 α-螺旋和无规卷曲为主要二级结构，这与大部分植物 *MYC* 基因家族蛋白质的二级结构相似。亚细胞定位预测结果显示大部分 *AarMYC* 蛋白质位于细胞核，而 *AarMYC7* 和 *AarMYC18* 预测定位于线粒体 (表 2)。

表 2 AarMYC 蛋白质理化性质预测分析

Table 2 Prediction analysis of physicochemical properties of AarMYC proteins

名称	氨基酸数量	相对分子质量	理论等电点	不稳定系数	脂肪系数	亲疏水性	亚细胞定位	二级结构/%			
								α-螺旋	β-转角	无规则卷曲	延伸链
AarMYC1	625	71 279.08	5.07	45.59	62.94	-0.853	细胞核	27.04	1.28	63.68	8.00
AarMYC2	606	69 119.92	5.25	44.45	64.13	-0.794	细胞核	24.26	0.99	67.99	6.77
AarMYC3	500	56 206.47	6.27	46.91	76.78	-0.540	细胞核	36.60	2.00	51.80	9.60
AarMYC4	467	52 409.94	6.06	46.86	76.36	-0.554	细胞核	37.90	2.57	51.39	8.14
AarMYC5	592	65 681.89	6.56	40.91	79.36	-0.500	细胞核	30.57	1.01	60.81	7.60
AarMYC6	396	44 532.86	6.71	57.03	86.82	-0.346	细胞核、叶绿体	37.63	1.77	49.49	11.11
AarMYC7	418	46 994.73	6.28	56.55	88.30	-0.292	线粒体	35.41	1.91	52.39	10.29
AarMYC8	418	46 919.61	6.10	56.79	85.98	-0.312	细胞核、线粒体	34.69	1.67	52.15	11.48
AarMYC9	382	42 764.21	5.42	45.32	99.40	-0.214	细胞核、细胞质	35.86	1.31	50.26	12.57
AarMYC10	407	45 869.13	5.52	51.88	83.49	-0.500	细胞核	35.38	1.23	53.07	10.32
AarMYC11	660	75 300.11	5.33	43.61	66.98	-0.773	细胞核	23.03	1.21	66.21	9.55
AarMYC12	626	68 673.98	5.09	44.50	73.93	-0.515	细胞核	24.60	0.64	67.41	7.35
AarMYC13	496	55 065.25	5.58	42.24	79.58	-0.421	细胞核	30.44	1.41	57.66	10.48
AarMYC14	467	52 442.15	6.31	45.51	77.41	-0.529	细胞核	36.40	1.71	52.46	9.42
AarMYC15	503	56 417.75	6.27	47.24	78.65	-0.507	细胞核	32.21	1.39	57.06	9.34
AarMYC16	592	65 685.89	6.56	41.67	78.53	-0.508	细胞核	29.90	0.68	61.49	7.94
AarMYC17	418	46 867.48	6.04	51.97	90.19	-0.322	叶绿体、细胞核	30.62	1.67	55.50	12.20
AarMYC18	418	47 089.81	6.28	57.83	86.67	-0.307	线粒体	32.54	2.15	53.83	11.48
AarMYC19	382	42 948.52	5.51	45.02	101.44	-0.211	细胞质、细胞核	39.79	2.62	45.81	11.78
AarMYC20	438	49 494.18	5.77	51.15	79.16	-0.519	细胞核	34.25	1.60	54.11	10.05
AarMYC21	608	67 828.61	4.91	52.11	88.80	-0.313	细胞核	28.95	0.99	61.68	8.39
AarMYC22	640	71 520.85	5.56	46.85	82.37	-0.406	细胞核	30.78	0.94	61.09	7.19
AarMYC23	625	71 279.08	5.07	45.59	62.94	-0.853	细胞核	27.04	1.28	63.68	8.00
AarMYC24	382	42 948.52	5.51	45.02	101.44	-0.211	细胞质、细胞核	39.79	2.62	45.81	11.78

3.2 AarMYC 染色体定位及保守结构域分析

染色体定位分析表明，艾 24 个 *AarMYC* 转录因子中 20 个成员分布于 9 条染色体上，而 *AarMYC21*~*AarMYC24* 定位于 Contig 序列 (图 1-A)。进一步分析显示，*AarMYC1* 和 *AarMYC2* (Chr1)；*AarMYC6*、*AarMYC7* 和 *AarMYC8* (Chr6) 在染色体上紧密排列，

且每组内基因两两之间的氨基酸序列一致性均达 90% 以上，其分布特征可能源于串联复制事件。此外，通过 SMART 软件进行保守结构域分析 (图 1-B)，结果显示每个 *AarMYC* 蛋白质均含有 1 个 bHLH 结构域和 1 个 bHLH-MYC_N 结构域，符合 *MYC* 转录因子基因家族的结构域特征。

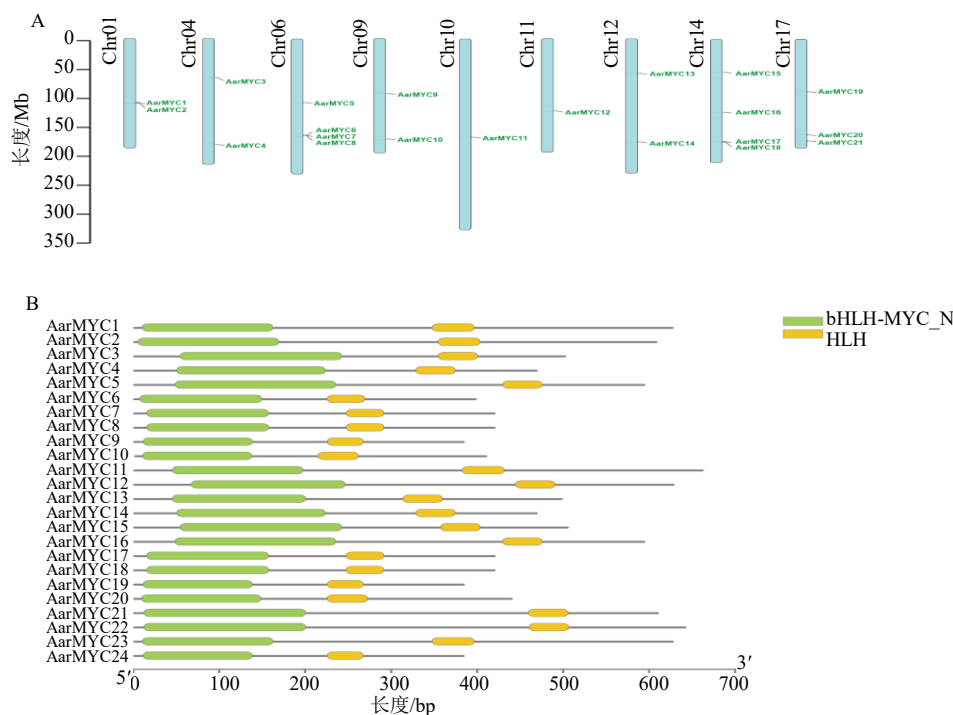


图 1 AarMYC 转录因子基因家族染色体定位 (A) 及其保守结构域分析 (B)

Fig. 1 Chromosomal localization (A) and conserved domain analysis (B) of AarMYC transcription factors gene family

3.3 AarMYC 保守基序分析

运用 MEME 在线软件对 AarMYC 家族蛋白质进行分析, 得到 10 个保守基序, 结果显示, Motif1、Motif2、Motif3、Motif5 基序存在于每一个蛋白质中, 其中, Motif1 和 Motif5 基序在所有蛋白质中均存在, 高度保守, 符合 bHLH 的 HLH 结构域特征 (图 2)。Motif1 基序包含关键碱性残基 (如组氨酸 H、精氨酸 R、赖氨酸 K), 能够特异性识别靶基因启动子中的 E-box (5'-CANNTG-3') 或 G-box (5'-CACGTG-3'和 5'-CACATG-3') 顺式作用元件, 直接参与 DNA 结合^[14]; Motif5 基序则包含疏水残基 (亮氨酸 L、缬氨酸 V、甲硫氨酸 M) 的重复模式, 通过 2 个 α -螺旋之间的相互作用介导蛋白质同源或异源二聚化^[23]。Motif4 基序在 AarMYC4、AarMYC14 缺失; Motif6 基序在 AarMYC9、AarMYC10、AarMYC19、AarMYC20、AarMYC24 中缺失; Motif9 基序在 AarMYC6~AarMYC8、AarMYC10、AarMYC13、AarMYC17、AarMYC18 中缺失; Motif7 基序只在 AarMYC1、AarMYC2、AarMYC11、AarMYC23 中存在; Motif8 基序只在 AarMYC3~AarMYC5、AarMYC12、AarMYC14~AarMYC16 中存在; Motif10 基序只在 AarMYC1、AarMYC2、AarMYC6~AarMYC8、

AarMYC11、AarMYC17、AarMYC18、AarMYC23 中存在。Motif 的差异分布暗示基因可能存在功能分化, 部分成员可能通过丢失或获得特定基序发挥不同的生物学功能。

3.4 AarMYC 系统进化分析

基于系统进化树分析, 艾 24 个 AarMYC 蛋白质与拟南芥 AtMYC 蛋白质聚类形成 4 个亚家族 (图 3)。第 I 亚家族包含 AarMYC6、AarMYC7 和 AarMYC12 等 7 个 AarMYC 成员, 与拟南芥 MYC2 (AT1G32640)、MYC3 (AT5G46760) 及 MYC4 (AT4G17880) 聚类较近。研究表明, 这些拟南芥 MYC 成员能够调控 JA 响应基因, 参与机械损伤、病菌侵袭和昆虫咬食^[24]的防御反应, 推测该亚家族基因可能在调控艾次生代谢产物的合成中发挥作用; 而第 II 亚家族包含的 AarMYC4、AarMYC14 等 6 个成员, 与拟南芥 bHLH17 (AT2G46510)、bHLH13 (AT1G01260) 和 bHLH3 (AT4G16430) 聚为一支, 已知上述拟南芥成员能够负调控 JA 响应过程^[10], 推测该亚家族成员可能通过拮抗 JA 信号转导参与调控艾次生代谢产物的动态平衡。此外, 第 III 亚家族由 AarMYC21、AarMYC22 与拟南芥 AT4G09820 (transparent testa 8, TT8) 等组成, TT8 作为类黄酮代谢关键调控因子, 通过与 TT1、PAP1 及

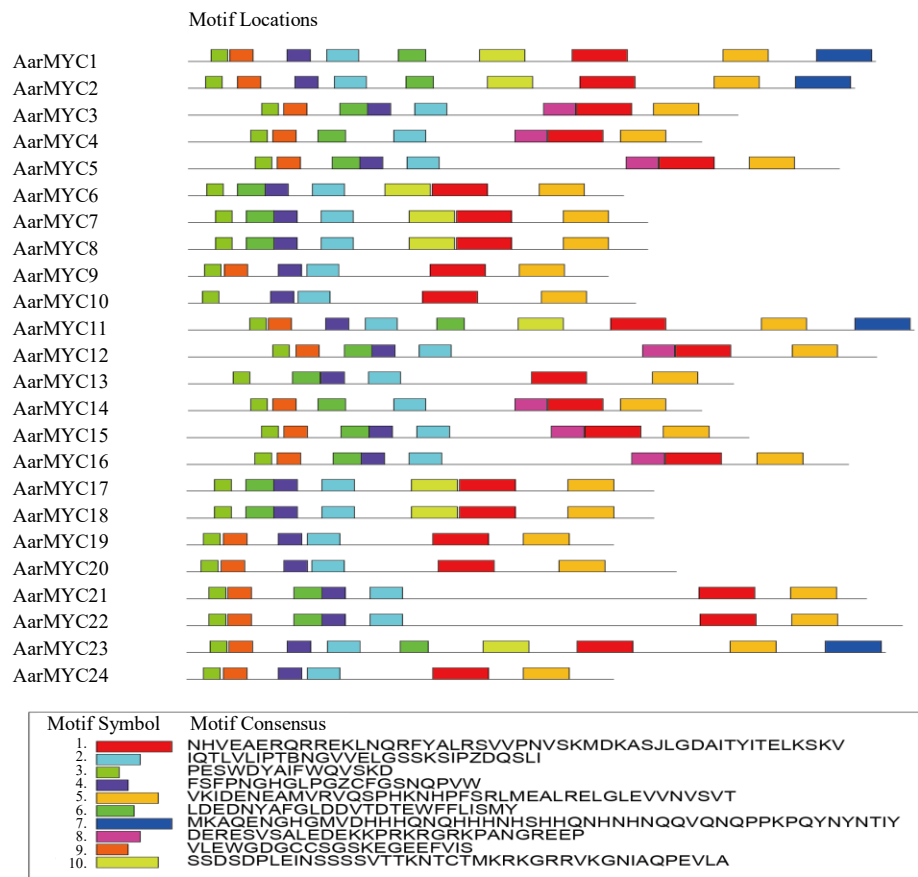


图 2 AarMYC 转录因子保守基序分析
Fig. 2 Conserved domain sequences analysis of AarMYC TFs

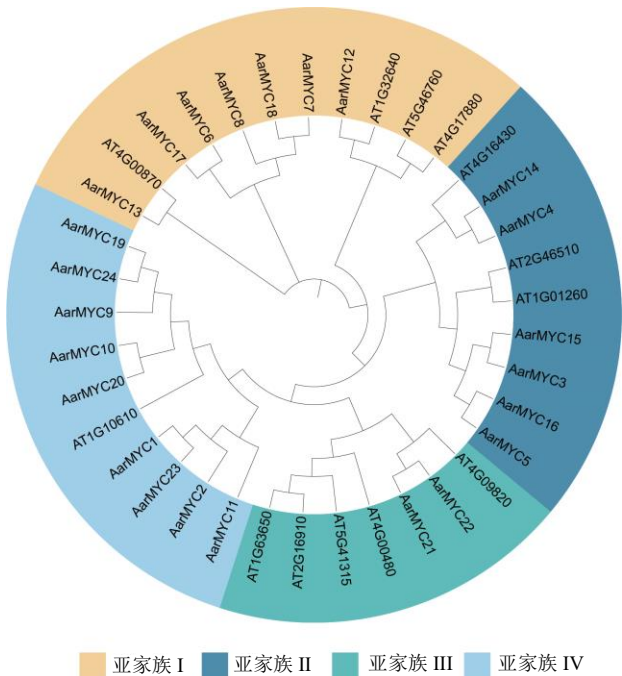


图 3 AarMYC 转录因子系统进化关系
Fig. 3 Phylogenetic relationship of AarMYC TFs

TTG1 协同调控原花青素与花青素合成, 并影响表皮毛发育^[25-26], 提示该亚家族可能调节艾黄酮类活性成分积累及腺毛发育。第 IV 亚家族中艾成员 (如 AarMYC1、AarMYC2、AarMYC9) 高度富集, 而拟南芥仅有 AT1G10610 参与聚类, 可能代表这是艾特有的 MYC 亚家族。综上所述, AarMYC 基因家族可能通过调控 JA 信号转导、黄酮/类黄酮代谢等, 协同调控艾中次生代谢成分生物合成与环境适应性。

3.5 AarMYC 基因表达模式分析

基于艾基因组及转录组数据, 对 24 个 AarMYC 转录因子基因的组织特异性表达模式进行分析 (图 4)。结果显示, 不同基因在艾根、茎、叶、花等器官中呈现差异性表达, AarMYC6、AarMYC9、AarMYC17、AarMYC19、AarMYC24 在根中表达显著高于其他成员; 在幼茎与成熟茎中, AarMYC5、AarMYC7、AarMYC15、AarMYC16、AarMYC18 表达丰度较高, 而其他成员如 AarMYC8、AarMYC14 只在茎中表达量较高; 幼芽与芽中部分基因 (如 AarMYC1、AarMYC2、AarMYC11、AarMYC23) 表达量相近; 成熟叶与幼叶相比, AarMYC12 表达量升高; 花中整体表达水平较低, 仅 AarMYC6 呈现相对较高表达水平。上述结果表明 AarMYC 家族成员在艾不同阶段存在时空特异性表达特点, 可能发挥不同的功能。

MeJA 处理后的转录组分析结果显示, 艾 MYC 转录因子家族成员对 MeJA 呈现时序特异性响应模式 (图 5-A), AarMYC3、AarMYC4、AarMYC5、

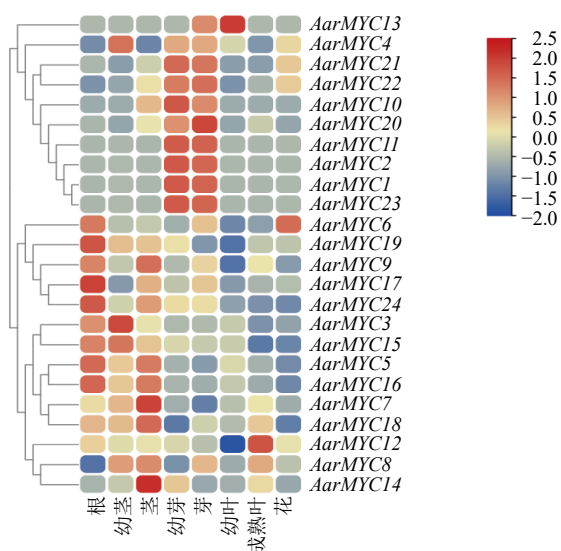


图 4 AarMYC 基因在不同组织部位的表达量分析

Fig. 4 Expression analysis of AarMYC genes in different tissues

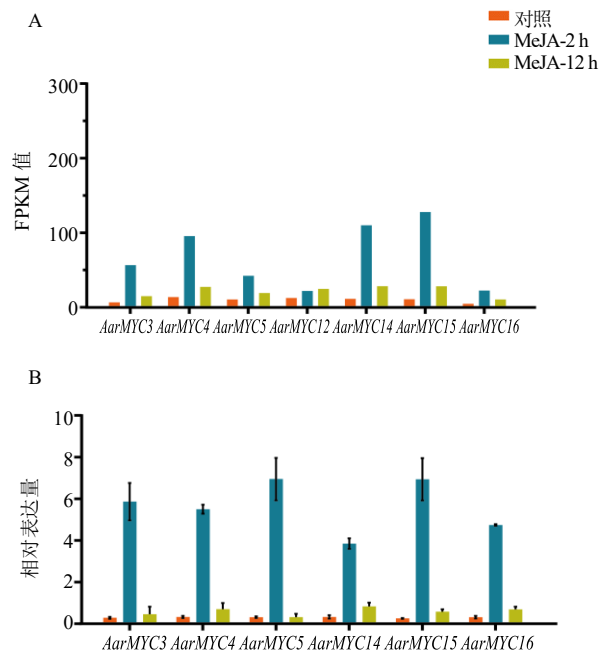


图 5 AarMYC 基因的 MeJA 诱导转录组分析 (A) 及候选基因 qPCR 验证 (B)

Fig. 5 MeJA-induced transcriptome analysis (A) and qPCR validation of candidate genes (B) of AarMYC gene

AarMYC14、AarMYC15、AarMYC16、在 MeJA 处理 2 h 后表达量显著上调, 12 h 后降低但仍略高于对照组, 符合茉莉酸信号通路中负反馈调控因子的典型动态特征; AarMYC12 则呈现渐进式上调, 这与正向调控因子 (如拟南芥 MYC2 同源基因) 表达特点相似^[21]。

qRT-PCR 验证基因相对表达量的实验结果进一步证实, AarMYC3、AarMYC4、AarMYC5、AarMYC14、AarMYC15、AarMYC16 在 MeJA 处理 2 h 显著上调表达, 而 12 h 后逐渐降低的表达模式, 该表达趋势与转录组数据高度吻合 (图 5-B), 表明 AarMYC 基因家族在 JA 信号响应过程中具有时序特异性特征。

4 讨论

艾作为传统药用植物, 其叶中富含萜类、黄酮类等多种活性成分^[27], 在抗炎^[28]、抗氧化^[29]及免疫调节^[30]方面具有显著药理价值。然而, 目前关于这些活性成分的生物合成途径及其调控机制的研究仍较为薄弱。研究表明, 转录因子在植物发育、代谢产物调控及抗胁迫等过程中发挥重要作用^[31], 而 MYC 转录因子家族是 JA 信号转导通路的核心调控因子^[32], 参与调节植物生长发育、次生代谢物的生物合成等多种生理学过程。目前, 一些转录因子基

因家族（如 AP2/ERF 和 bZIP 等）^[33-34]已在艾基因组中被鉴定，但 MYC 转录因子基因家族尚未被研究。

目前已有一些植物中的 MYC 基因被鉴定，例如拟南芥中有 13 个 MYC 基因^[32]，玉米 *Zea mays* L. 中有 8 个 MYC 基因^[35]，短柄草 *Brachypodium sylvaticum* (Huds.) Beauv. 中有 7 个 MYC 基因^[36]，而艾 MYC 转录因子家族共有 24 个成员，相较于拟南芥、水稻等模式植物，数量显著扩张，这种扩张可能源于进化过程中的串联复制事件^[7]。染色体定位结果显示，Chr1、Chr6 等 5 条染色体上存在紧密排列的 *AarMYC* 基因（如 *AarMYC1* 和 *AarMYC2*、*AarMYC6*~*AarMYC8* 等），与植物 MYC 家族通过局部复制适应环境压力的进化模式一致^[36]。保守结构域分析进一步证实，所有 *AarMYC* 序列中均含有 bHLH 和 bHLH_MYC_N 结构域，其中 Motif1 和 Motif5 分别保留 DNA 结合与二聚化功能的关键氨基酸残基^[6]，表明其具备典型 MYC 转录因子的结构域特征。

系统进化分析揭示 *AarMYC* 基因家族成员可能存在功能分化。第 I 亚家族（*AarMYC6* 和 *AarMYC7* 等）和第 II 亚家族（*AarMYC4* 和 *AarMYC14* 等）分别与拟南芥 MYC2、MYC3、MYC4 和 bHLH3、bHLH13、bHLH17 聚为一支，推测 *AarMYC* 可能通过拮抗与协同双重作用调控艾的 JA 信号通路^[38]；第 III 亚家族（*AarMYC21* 和 *AarMYC22*）与拟南芥 TT8 具有同源性，可能参与黄酮类物质积累及腺毛发育调控^[39]；而第 IV 亚家族在拟南芥中直系同源基因较少，其成员（*AarMYC1* 和 *AarMYC2* 等）可能进化出艾特有的调控功能。

通过基因相对表达量和 MeJA 诱导实验进一步分析发现，*AarMYC* 基因呈现显著时空表达特异性与 MeJA 的动态响应特征。依据相关研究，*AarMYC6* 和 *AarMYC9* 等根系高表达基因可能参与根部胁迫防御^[40]，而茎部高表达的 *AarMYC5* 和 *AarMYC7* 及叶片发育阶段高表达的 *AarMYC11* 可能分别参与植株形态建成和次生代谢物合成调控^[41-42]。qRT-PCR 验证证明第 IV 亚家族成员（*AarMYC3* 和 *AarMYC4* 等）在 MeJA 处理 2 h 快速诱导表达后显著衰减，其动态模式与拟南芥 bHLH17 等介导的 JA 信号负反馈通路一致，提示该类基因可能参与 JA 信号的负反馈调节，早期快速诱导表达可能源于与 JAZ 蛋白质互作形成抑制复合体，通过竞争性结合 JAZ 抑

制蛋白或靶基因 G-box 顺式元件，阻断 MYC2 的激活效应，从而限制 JA 信号的过度响应^[16-17]。而持续上调的 *AarMYC12* 可能作为正调控因子维持基础代谢水平。上述发现为解析 *AarMYC* 介导 JA 信号动态平衡的分子机制提供了直接证据。

综上，本研究基于艾全基因组，鉴定了 24 个 MYC 转录因子，利用生物信息学分析方法对 *AarMYC* 转录因子基因家族成员理化性质等进行预测分析，并通过不同部位表达量分析及 MeJA 诱导表达分析，筛选到可能参与 MeJA 信号响应途径的候选基因，后续研究将对以上基因进行功能验证，以期探究艾生长发育及次生代谢物合成调控机制提供研究基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2025: 91.
- [2] 宋亚芳, 张晓梅, 蒋诗媛, 等. 从肠道菌群探讨艾灸“足三里”“肝俞”穴抑制裸鼠结肠癌细胞肝转移机制 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2024, 26(12): 3118-3126.
- [3] 李玉萍, 魏莉霞, 张东佳, 等. 艾草的研究现状、应用与展望 [J]. 中国种业, 2024(8): 21-27.
- [4] 余孟娟, 赵博宇, 董诚明, 等. 不同产区艾叶 ISSR 遗传多样性分析 [J]. 中草药, 2023, 54(13): 4306-4311.
- [5] Li D Y, Wang R, You M, *et al.* The antimicrobial effect and mechanism of the *Artemisia argyi* essential oil against bacteria and fungus [J]. *Braz J Microbiol*, 2024, 55(1): 727-735.
- [6] 胡倩, 李静, 刘大会, 等. 艾叶总黄酮提取物体内抗氧化活性研究 [J]. 食品工业科技, 2021, 42(6): 304-309.
- [7] Salminen A, Lehtonen M, Suuronen T, *et al.* Terpenoids: Natural inhibitors of NF-kappaB signaling with anti-inflammatory and anticancer potential [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2008, 65(19): 2979-2999.
- [8] Chen H Y, Guo M X, Dong S T, *et al.* A chromosome-scale genome assembly of *Artemisia argyi* reveals unbiased subgenome evolution and key contributions of gene duplication to volatile terpenoid diversity [J]. *Plant Commun*, 2023, 4(3): 100516.
- [9] Zhi Y, Dai C, Fang X T, *et al.* Gene-directed *in vitro* mining uncovers the insect-repellent constituent from mugwort (*Artemisia argyi*) [J]. *J Am Chem Soc*, 2024, 146(45): 30883-30892.
- [10] Riechmann J L, Heard J, Martin G, *et al.* *Arabidopsis*

- transcription factors: Genome-wide comparative analysis among eukaryotes [J]. *Science*, 2000, 290(5499): 2105-2110.
- [11] Thines B, Katsir L, Melotto M, *et al.* JAZ repressor proteins are targets of the SCFCOII complex during jasmonate signalling [J]. *Nature*, 2007, 448: 661-665.
- [12] Li X X, Duan X P, Jiang H X, *et al.* Genome-wide analysis of basic/helix-loop-helix transcription factor family in rice and *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiol*, 2006, 141(4): 1167-1184.
- [13] Chen S K, Zhao H Y, Luo T L, *et al.* Characteristics and expression pattern of *MYC* genes in *Triticum aestivum*, *Oryza sativa*, and *Brachypodium distachyon* [J]. *Plants*, 2019, 8(8): 274.
- [14] Pires N, Dolan L. Origin and diversification of basic-helix-loop-helix proteins in PlantsOpen access [J]. *Mol Biol Evol*, 2010, 27(4): 862-874.
- [15] Fonseca S, Chini A, Hamberg M, *et al.* (+)-7-Iso-jasmonoyl-L-isoleucine is the endogenous bioactive jasmonate [J]. *Nat Chem Biol*, 2009, 5(5): 344-350.
- [16] Melotto M, Mecey C, Niu Y J, *et al.* A critical role of two positively charged amino acids in the Jas motif of *Arabidopsis* JAZ proteins in mediating coronatine- and jasmonoyl isoleucine-dependent interactions with the COII F-box protein [J]. *Plant J*, 2008, 55(6): 979-988.
- [17] Sheard L B, Tan X, Mao H B, *et al.* Jasmonate perception by inositol-phosphate-potentiated COII-JAZ co-receptor [J]. *Nature*, 2010, 468(7322): 400-405.
- [18] 张凯伦, 罗祖良, 郭玉华, 等. bHLH 转录因子调控药用植物萜类化合物生物合成的研究进展 [J]. *中国现代中药*, 2017, 19(1): 142-147.
- [19] Zhou Y Y, Sun W, Chen J F, *et al.* SmMYC_{2a} and SmMYC_{2b} played similar but irreplaceable roles in regulating the biosynthesis of tanshinones and phenolic acids in *Salvia miltiorrhiza* [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 22852.
- [20] Xu J S, van Herwijnen Z O, Dräger D B, *et al.* SIMYC1 regulates type VI glandular trichome formation and terpene biosynthesis in tomato glandular cells [J]. *Plant Cell*, 2018, 30(12): 2988-3005.
- [21] Hong G J, Xue X Y, Mao Y B, *et al.* *Arabidopsis* MYC₂ interacts with DELLA proteins in regulating sesquiterpene synthase gene expression [J]. *Plant Cell*, 2012, 24(6): 2635-2648.
- [22] Xu Y H, Liao Y C, Lv F F, *et al.* Transcription factor AsMYC₂ controls the jasmonate-responsive expression of ASS1 regulating sesquiterpene biosynthesis in *Aquilaria sinensis* (Lour.) Gilg [J]. *Plant Cell Physiol*, 2017, 58(11): 1924-1933.
- [23] Dang C V, Barrett J, Villa-Garcia M, *et al.* Intracellular leucine zipper interactions suggest c-Myc hetero-oligomerization [J]. *Mol Cell Biol*, 1991, 11(2): 954-962.
- [24] Lorenzo O, Chico J M, Sánchez-Serrano J J, *et al.* JASMONATE-INSENSITIVE1 encodes a MYC transcription factor essential to discriminate between different jasmonate-regulated defense responses in *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell*, 2004, 16(7): 1938-1950.
- [25] Baudry A, Caboche M, Lepiniec L. TT8 controls its own expression in a feedback regulation involving TTG1 and homologous MYB and bHLH factors, allowing a strong and cell-specific accumulation of flavonoids in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant J*, 2006, 46(5): 768-779.
- [26] 贾赵东, 马佩勇, 边小峰, 等. 植物花青素合成代谢途径及其分子调控 [J]. *西北植物学报*, 2014, 34(7): 1496-1506.
- [27] 张元, 康利平, 郭兰萍, 等. 艾叶的本草考证和应用研究进展 [J]. *上海针灸杂志*, 2017, 36(3): 245-255.
- [28] Zimmermann-Klemd A M, Reinhardt J K, Morath A, *et al.* Immunosuppressive activity of *Artemisia argyi* extract and isolated compounds [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 402.
- [29] Seo J M, Kang H M, Son K H, *et al.* Antitumor activity of flavones isolated from *Artemisia argyi* [J]. *Planta Med*, 2003, 69(3): 218-222.
- [30] Jiang S Y, Jin J J, Sarojam R, *et al.* A comprehensive survey on the terpene synthase gene family provides new insight into its evolutionary patterns [J]. *Genome Biol Evol*, 2019, 11(8): 2078-2098.
- [31] Hussain S, Zhang J H, Zhong C, *et al.* Effects of salt stress on rice growth, development characteristics, and the regulating ways: A review [J]. *J Integr Agric*, 2017, 16(11): 2357-2374.
- [32] Boter M, Ruiz-Rivero O, Abdeen A, *et al.* Conserved MYC transcription factors play a key role in jasmonate signaling both in tomato and *Arabidopsis* [J]. *Genes Dev*, 2004, 18(13): 1577-1591.
- [33] 岳雪雪, 肖闯, 张倩雯, 等. 艾 AP2/ERF 基因家族鉴定及表达模式分析 [J]. *药学报*, 2024, 59(9): 2634-2647.
- [34] 程泊涵, 王梦月, 郭兰, 等. 艾 bZIP 基因家族全基因组鉴定及萜类合成调控基因筛选 [J]. *中国中药杂志*, 2023, 48(19): 5181-5194.
- [35] 郝立冬, 郭海滨, 李明, 等. 玉米 MYC 基因家族的结构特点和表达模式分析 [J]. *基因组学与应用生物学*, 2021, 40(4): 1748-1753.
- [36] Liu C, Wu Y H, Liu Y X, *et al.* Genome-wide analysis of tandem duplicated genes and their contribution to stress resistance in pigeonpea (*Cajanus cajan*) [J]. *Genomics*, 2021, 113(1 Pt 2): 728-735.

- [37] Schmiesing A, Emonet A, Gouhier-Darimont C, *et al.* *Arabidopsis* MYC transcription factors are the target of hormonal salicylic acid/jasmonic acid cross talk in response to *Pieris brassicae* egg extract [J]. *Plant Physiol*, 2016, 170(4): 2432-2443.
- [38] Wu F M, Deng L, Zhai Q Z, *et al.* Mediator subunit *MED25* couples alternative splicing of *JAZ* genes with fine-tuning of jasmonate signaling [J]. *Plant Cell*, 2020, 32(2): 429-448.
- [39] Pozo M J, Van Der Ent S, Van Loon L C, *et al.* Transcription factor MYC₂ is involved in priming for enhanced defense during rhizobacteria-induced systemic resistance in *Arabidopsis thaliana* [J]. *New Phytol*, 2008, 180(2): 511-523.
- [40] Kang J Y, Choi H I, Im M Y, *et al.* *Arabidopsis* basic leucine zipper proteins that mediate stress-responsive abscisic acid signaling [J]. *Plant Cell*, 2002, 14(2): 343-357.
- [41] Qi T C, Huang H, Song S S, *et al.* Regulation of jasmonate-mediated stamen development and seed production by a bHLH-MYB complex in *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell*, 2015, 27(6): 1620-1633.
- [42] Wang H P, Li Y, Pan J J, *et al.* The bHLH transcription factors MYC₂, MYC₃, and MYC₄ are required for jasmonate-mediated inhibition of flowering in *Arabidopsis* [J]. *Mol Plant*, 2017, 10(11): 1461-1464.

[责任编辑 时圣明]