

• 药材与资源 •

黄连 P450 基因家族全基因组鉴定及 *CYP719* 基因的进化特异性分析王雨婷¹, 李国凤¹, 陶琦¹, 刘迪¹, 裴柳玲^{1,2*}, 刘义飞^{1,2*}

1. 湖北中医药大学药学院, 湖北 武汉 430065

2. 湖北时珍实验室, 湖北 武汉 430061

摘要: 目的 基于基因组数据挖掘黄连 *Coptis chinensis* 细胞色素 P450 (Cytochrome P450, *CYP*) 基因家族成员, 并分析黄连 *CYP719* 基因的进化特异性。方法 基于拟南芥 *Arabidopsis thaliana* 和水稻 *Oryza sativa* 的 *CYP* 基因序列鉴定黄连 *CYP* 基因家族成员, 利用生物信息学对黄连 *CYP* 基因家族成员进行蛋白理化性质、系统分类、基因结构、表达图谱和顺式作用元件等分析; 基于 23 条已报道的 *CYP719* 基因鉴定黄连中 *CYP719* 家族成员, 基于同源序列比对进行共线性分析。结果 在黄连基因组数据中共鉴定得到 308 个 *CYP* 基因, 归属 9 个家族簇的 45 个家族。编码蛋白的氨基酸数量分布在 103~2 008 aa, 相对分子质量介于 11 010~230 370, 等电点介于 4.85~9.79。黄连 *CYP* 基因外显子数量范围为 1~38 个, 变化范围较大。308 个黄连 *CYP* 基因不均一地分布在 9 条染色体上, 主要通过分散复制 (dispersed duplication, DSD) 和邻近复制 (proximal duplication, PD) 进行扩张。*CYP* 基因表达具有组织特异性, 有 9 个基因在根茎和须根中表达显著上调。胁迫响应元件是黄连 *CYP* 基因启动子区预测最多的顺式作用元件。比较基因组分析表明, *CYP719* 基因在矮牵牛、毛黄堇、罂粟和马兜铃中有分布, 在拟南芥、大豆、桃、菊花脑、葡萄、黄草乌、水稻和无油樟中均没有同源基因。结论 黄连中拥有丰富的 *CYP* 超基因家族, 且 *CYP719* 基因呈现支系特异性进化, 为解析该类基因的功能奠定基础。

关键词: 黄连; 细胞色素 P450; 生物信息学分析; 表达模式; 分散复制; 邻近复制

中图分类号: R286.12 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2026)01-0256-14

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.01.023

Genome wide identification of *Coptis chinensis* P450 gene family and evolutionary specificity of *CYP719* genes

WANG Yuting¹, LI Guofeng¹, TAO Qi¹, LIU Di¹, PEI Liuling^{1,2}, LIU Yifei^{1,2}

1. School of Pharmacy, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, China

2. Hubei Shizhen Laboratory, Wuhan 430061, China

Abstract: Objective To mine *CYP* gene family members in *Coptis chinensis* based on genomic data and analyze the evolutionary specificity of *CYP719* genes. **Methods** The *CYP* gene family members of *C. chinensis* were identified based on homologous *CYP* gene sequence from both *Arabidopsis thaliana* and *Oryza sativa*. Analyses of the physicochemical properties of proteins, system classification, gene structure, expression profile and *cis*-acting elements of the identified *CYP* genes were further conducted by bioinformatics. The *CYP719* family members in *C. chinensis* were identified based on the 23 reported *CYP719* genes in other plants, and their collinearity analysis was performed through homologous sequence alignment. **Results** A total of 308 *CYP* genes were identified in the *C. chinensis* genomic data, belonging to 45 families in nine family clans. The range of amino acid numbers for encoded proteins is from 103 to 2 008 aa, with a relative molecular mass ranging from 11 010 to 230 370, and an isoelectric point ranging from 4.85 to 9.79. The number of *CYP* gene exons in *C. chinensis* varies between 1 and 38, with a wide range of variation. A total of 308 *CYP* genes were unevenly distributed on nine chromosomes of *C. chinensis* and mainly expanded through dispersed duplication (DSD) and proximal duplication (PD). The expression of *CYP* genes was tissue-specific, and nine genes were significantly upregulated in rhizomes and fibrous roots. In the promoter regions of these *CYP* genes, stress response elements were predicted to be the most

收稿日期: 2025-09-05

基金项目: 国家自然科学基金项目 (32270231); 湖北时珍实验室首席科学家项目 (HSL2024SX0006)

作者简介: 王雨婷 (2000—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药资源品质评价及开发利用。E-mail: 1660662082@qq.com

*通信作者: 裴柳玲, 硕士生导师, 副教授, 研究方向为中药资源评价与应用。E-mail: llpei3348@hbuem.edu.cn

刘义飞, 博士生导师, 教授, 研究方向为中药品质多组学研究。E-mail: liuyifei@hbucm.edu.cn

frequently occurring *cis*-acting elements. Through genomic collinear analyses between different plants, the *C. chinensis* *CYP719* genes have homologous ones in *Aquilegia coerulea*, *Corydalis tomentella*, *Papaver somniferum*, and *Aristolochia debilis*, but not in *Arabidopsis thaliana*, *Glycine max*, *Prunus persica*, *Chrysanthemum nankingense*, *Vitis vinifera*, *Aconitum vilmorinianum*, *O. sativa*, and *Amborella trichopoda*. **Conclusion** *C. chinensis* has a rich CYP supergene family, in which *CYP719* gene shows branch-specific evolution, laying the foundation for analyzing the functions of this type of gene.

Key words: *Coptis chinensis* Franch.; cytochrome P450; bioinformatics analysis; expression analysis; dispersed duplication; proximal duplication

黄连为毛茛科植物黄连 *Coptis chinensis* Franch.、三角叶黄连 *C. deltoidea* C. Y. Cheng et Hsiao 或云南黄连 *C. teeta* Wall.的干燥根茎, 它们分别被称为“味连”“雅连”或“云连”。黄连性味苦、寒, 具有清热燥湿、泻火解毒的功效, 常被应用于治疗湿热痞满、呕吐吞酸、泻痢等病症。《本草纲目》记载:“其根连珠而色黄, 故名”^[1]。目前从黄连中分离的次生代谢成分已超过100种, 其中苄基异喹啉类生物碱(benzylisoquinoline alkaloids, BIAs)为其主要药用活性成分^[2]。黄连也是研究这类生物碱生物合成与调控的模式植物。《中国药典》2025年版规定黄连碱、小檗碱、表小檗碱、巴马汀作为黄连药材质量评价的指标性成分^[3]。丰富的化学成分也赋予了黄连降血糖、抗氧化、抗炎、抗肿瘤、抗心律失常等多种现代药理活性^[4]。

细胞色素P450(cytochrome P450, CYP)是含亚铁血红素单加氧酶, 主要分布在内质网、线粒体、质体、高尔基体等膜性细胞器中。CYP酶催化活性的核心区域, 血红素结合域(heme-binding region)是该蛋白家族中保守的基序^[5]。目前已报道的CYP基因家族和亚家族成员分别超过1000和2500个, 是一个古老的超基因家族^[6]。在植物体内, CYP酶主要参与萜类、黄酮类、单萜醇类以及生物碱类等多种次生代谢物的生物合成。青蒿中 *CYP71AV1* 能通过氧化紫穗槐-4,11-二烯, 得到青蒿素的重要前体物质青蒿酸^[7]。桂花中 *CYP142* 能促进香气成分芳樟醇的积累^[8]。茯苓中 *CYP118*、*CYP220* 和 *CYP153* 促进茯苓酸与16 α -羟基氢化松磷酸、土莫酸、齿孔酸等中间产物的生物合成^[9]。在黄连中, *CYP80B2* 催化碳-氧酚羟基的偶联^[10], *CYP80G* 催化单苄基异喹啉类生物碱分子内C-C偶联反应^[11], 促进多样化生物碱的形成。

不同于其他分布广泛的CYP家族, *CYP719*家族成员主要特异性分布于木兰类植物和早期分化的双子叶植物中^[12]。其中, *CYP719B*亚家族成员和多数*CYP719A*亚家族成员参与了BIAs的生物合

成。*CYP719B*亚家族主要存在于罂粟属中, 对吗啡烷类化合物的生物合成具有重要作用^[13]。罂粟科和毛茛科中的*CYP719A*亚家族被认为具有催化亚甲二氧基桥形成的活性^[14]。花菱草中*CYP719A5*催化(S)-金黄紫堇碱形成碎叶紫堇碱, *CYP719A9*催化(R,S)-番荔枝碱形成亚甲二氧基桥, *CYP719A2*和*CYP719A3*可催化碎叶紫堇碱形成亚甲二氧基桥^[15]。刺罂粟中, *CYP719A13*可分别催化(S)-碎叶紫堇碱、(S)-四氢非洲防己碱和(S)-金黄紫堇碱形成(S)-四氢黄连碱、(S)-四氢小檗碱以及(S)-南天竹碱^[16]。延胡索中*CYP719A39*和*CYP442*对(S)-金黄紫堇碱环上亚甲二氧基桥的形成均有较高的催化效率^[17]。此外, 胡椒中*CYP719A37*对5-(4-羟基-3-甲氧基苯基)-2,4-戊二烯酸也具有成桥活性^[18]。莲中*CYP719A22*催化阿朴啡生物合成中亚甲基二氧桥的形成^[19-20]。

在黄连中, *CYP719A1*已被证实可催化(S)-四氢非洲防己碱形成(S)-四氢小檗碱^[10]。Liu等^[21]发布的黄连基因组中报道, *CYP719A1*具有广泛的催化活性, 不仅可以催化(S)-四氢非洲防己碱转化为(S)-四氢小檗碱, 催化(S)-碎叶紫堇碱转化为(S)-四氢黄连碱, 还可以催化(S)-金黄紫堇碱形成(S)-南丁宁碱, 进而形成黄连中多样化的BIAs。进一步探究黄连BIAs生物合成的调控网络发现, *CYP719A1*还可以将(S)-金黄紫堇碱转化为(S)-碎叶紫堇碱, 而*CYP719A2*和*CYP719A3*表现出更高的底物选择性, 仅能催化(S)-金黄紫堇碱形成(S)-碎叶紫堇碱^[22]。

目前, 黄连全基因组水平的CYP基因家族成员谱系分布情况以及基因表达模式尚缺乏深入分析。本研究利用已有的黄连基因组鉴定CYP基因家族成员, 并对其蛋白理化性质、系统分类、基因结构、染色体分布、基因表达模式以及顺式作用元件等进行系统分析。同时, 利用已报道的*CYP719*基因挖掘黄连中*CYP719*家族成员, 分析*CYP719*家族成员结构特征与起源进化, 为深入研究黄连CYP基因家族在生物碱生物合成中的功能及家族特异性提

供理论依据。

1 材料

本研究使用的样品采于湖北省恩施市, 经湖北中医药大学刘义飞研究员鉴定为黄连 *C. chinensis* Franch. 的植株, 采集后迅速冷冻于液氮中, 随后保存于-80 °C冰箱中。

2 方法

2.1 CYP 基因家族成员鉴定与理化性质分析

本研究使用的黄连基因组数据来自课题组团队基于湖北利川道地药材黄连的植株测序、组装和不断更新的染色体级别基因组, 相比已发表版本具有组装水平的优化提升^[22]。为了全面鉴定黄连中的 CYP 基因家族成员, 首先, 从 Pfam 数据库(<http://pfam-legacy.xfam.org/>) 下载 CYP 基因家族的隐马尔可夫模型文件 (PF00067), 使用 TBtools 软件^[23]在黄连基因组蛋白序列中检索。同时, 从 P450 数据库 (<https://drnelson.uthsc.edu/p450seqs-dbs/>) 获取拟南芥和水稻 CYP 基因家族的蛋白序列, 使用 TBtools 软件将其与黄连蛋白序列进行 BLASTP 比对分析。将隐马尔可夫模型文件检索结果和 BLASTP 比对结果取交集, 剔除长度小于 300 个氨基酸的蛋白序列。

为了分析黄连 CYP 家族成员的理化性质, 本实验使用 ExPASy (<https://web.expasy.org/protparam/>) 在线网站中的 ProtParam 工具计算蛋白的理化参数。使用 WOLF PSORT (<https://www.genscript.com/wolf-psort.html>) 在线工具对黄连 CYP 家族蛋白的亚细胞定位进行预测分析。

2.2 CYP 基因家族的系统发育分析

利用 MAFFT (v7.520) 软件对拟南芥、水稻及黄连的 CYP 家族成员的氨基酸序列进行多序列比对。利用 IQ-TREE (v2.2.3) 软件构建最大似然系统发育树, 参数设置为-m MFP-bb 1 000。使用 iTOL 在线工具 (<https://itol.embl.de/>) 对系统发育树进行可视化。在拟南芥数据库 (<https://www.arabidopsis.org/index.jsp>) 对黄连 CYP 蛋白序列逐条进行 BLASTP, 同时结合与水稻 CYP 蛋白序列和 NCBI 数据库的 BLASTP 的结果, 寻找与黄连 CYP 蛋白序列一致性最高的序列。根据 CYP 基因国际命名标准^[24], 将预测的黄连 CYP 基因系统分类, 若 2 个 CYP 基因的氨基酸序列一致性在 40%~55%, 则将其归为同一家族。

2.3 CYP 家族成员蛋白保守基序与基因结构分析

使用 MEME (<https://meme-suite.org/meme/>

tools/meme) 在线工具对黄连 CYP 家族蛋白进行保守基序 (motif) 分析。参数设置为: 单一 motif 重复次数设定为任何, 每个 motif 的宽度为 6~50 个氨基酸残基, 设定目标 motif 数量为 10。此外, 利用 TBtools 的 GXF Stat 插件, 输入黄连基因组注释文件, 提取黄连 CYP 家族成员的基因结构信息。

2.4 CYP 家族基因染色体定位及基因复制分析

使用 TBtools 软件, 从黄连基因组注释文件中提取 CYP 基因家族成员的染色体位置信息并进行可视化。利用 TBtools 的 One Step MCScanX-Super Fast 插件鉴定基因的种内共线性, 使用 Dual Systeny Plot 插件对鉴定到的 CYP 基因家族成员共线性结果进行可视化。使用 DupGen_finder 软件 (https://github.com/qiao-xin/DupGen_finder) 鉴定 CYP 基因的复制类型。

2.5 CYP 基因的组织特异性表达分析

本研究使用的四年生黄连须根、根茎、叶、叶柄的转录组数据来自团队已有数据 (NCBI 数据库登录号 SRX10414485-SRX10414496)。首先, 使用 fastp (v0.24.1) 软件对原始数据进行过滤处理。然后, 以黄连基因组数据为参考, 将过滤后的高质量数据映射到参考基因组上。使用 abundance_estimates_to_matrix.pl 脚本 (https://github.com/trinityrnaseq/trinityrnaseq/blob/master/util/abundance_estimates_to_matrix.pl) 得到基因计数矩阵 (gene.count.matrix) 和表达矩阵 (genes.TPM.not_cross_norm, TPM)。使用 pheatmap 包绘制黄连 CYP 基因的组织表达模式热图。使用 DESeq2 软件包鉴定差异表达基因, 显著性阈值为 $|\log_2 \text{fold change}| \geq 1$ 且校正 P 值 (P_{adj}) < 0.01 。

使用 EGGNOG-Mapper 在线网站 (<http://eggnog-mapper.embl.de/>) 对差异表达的 CYP 基因进行功能注释。使用 TBtools 软件对差异基因进行京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 及基因本体 (gene ontology, GO) 富集分析, 并对富集结果进行可视化。

2.6 CYP 基因家族成员顺式作用元件分析

使用 TBtools 软件提取已鉴定的黄连 CYP 基因家族成员上游 2 000 bp 的启动子序列, 将其提交到 PlantCARE 在线网站 (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>) 进行顺式作用元件预测。使用 ChiPlot 在线工具 (<https://www.chiplot.online/>) 对顺式元件预测结果进行可视化。

2.7 CYP719 家族基因鉴定及分析

为了全面获得黄连中特异的 *CYP719* 家族成员, 从 NCBI 数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 中下载已报道的 23 条 *CYP719* 序列, 使用 TBtools 软件与黄连蛋白序列进行 BLASTP 比对。使用 MUSCLE (v5.1.0) 软件构建所有 *CYP719* 基因的系统发育树; 同时使用前述方法研究 *CYP719* 家族的基因结构、染色体位置、基因复制及表达情况信息。

2.8 CYP719 家族基因共线性分析

本研究使用拟南芥 *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.、大豆 *Glycine max* (L.) Merr.、桃 *Prunus persica* (L.) Batsch、菊花脑 *Chrysanthemum indicum* L.、葡萄 *Vitis vinifera* L.、耧斗菜 *Aquilegia viridiflora* Pall.、黄草乌 *Aconitum vilmorinianum* Kom.、毛黄堇 *Corydalis tomentella* Franch.、罂粟 *Papaver somniferum* L.、马兜铃 *Aristolochia debilis* Siebold & Zucc.、水稻 *Oryza sativa* L. 和无油樟 *Amborella trichopoda* L. 等植物的基因组作为参

考, 与黄连进行 *CYP719* 基因的共线性分析。这些植物是被子植物主要进化支系的典型代表。相关参考基因组序列和基因注释 gff 文件来自 NCBI 等公共数据库。使用 TBtools 软件将其与黄连 *CYP719* 家族成员蛋白序列进行 BLASTP 比对鉴定同源基因对, 使用 Chipplot 在线网站 (<https://www.chipplot.online/>) 进行可视化。

3 结果与分析

3.1 CYP 基因家族成员的鉴定与理化性质分析

通过全基因组分析, 在黄连中共鉴定到 308 个 *CYP* 基因。这些基因编码的蛋白表现出显著的序列多样性, 其氨基酸长度变化为 103~2 008 aa, 对应的蛋白质相对分子质量 11 010~230 370。理化性质分析显示, 这些 *CYP* 蛋白的理论等电点 (pI) 分布在 4.85~9.79, 其中酸性蛋白 (pI<7) 88 个、碱性蛋白 (pI>7) 220 个。进一步的结构稳定性评估表明, 这些蛋白的不稳定指数为 21.98~56.56, 脂肪族指数 61.09~121.17, 平均疏水性指数介于-0.64~0.65 (表 1)。

表 1 黄连 *CYP* 基因家族成员理化性质统计

Table 1 Statistics of physical and chemical properties of *CYP* gene family members in *C. chinensis*

理化性质	氨基酸长度/aa	相对分子质量	理论等电点	不稳定指数	脂肪族指数	平均疏水性指数
最小值	103	11 010	4.85	21.98	61.09	-0.64
最大值	2 008	230 370	9.79	56.56	121.17	0.65
中位数值	515.50	58 570	8.31	39.72	92.42	-0.15
平均值	557.93	63 400	7.87	40.06	92.02	-0.16

亚细胞定位预测表明, 该家族成员呈现明显的空间分布特异性: 多数黄连 *CYP* 成员 (161/308, 52.3%) 定位于叶绿体, 其次是质膜 (49/308, 15.9%), 细胞质 (41/308, 13.3%), 少数定位于细胞核、液泡过氧化物酶体等部位。黄连 *CYP* 家族成员的多样化空间分布模式暗示, 其可能参与从初级代谢到次生代谢的多层次生化反应网络 (图 1)。

3.2 CYP 基因家族成员系统分类分析

为阐明黄连 *CYP* 基因家族成员间的系统分类关系, 将 308 个黄连 *CYP* 蛋白序列、280 个拟南芥 *CYP* 蛋白序列以及 326 个水稻 *CYP* 蛋白序列进行多序列比对分析 (图 2)。结果显示, 黄连 308 个 *CYP* 基因家族成员分布于 9 个 Clan 中, 包括 71、85、72、86、97、74、710、711、51 Clan。其中, 71 Clan 包含 214 个 *CYP* 成员, 是成员数最多的家族簇; 85 Clan 次之, 包含 38 个 *CYP* 蛋白; 72 Clan 和 86 Clan 分别包含 25 个和 22 个 *CYP* 蛋白; 97 Clan 和 74 Clan 均包含 3 个 *CYP* 蛋白; 而 710 Clan、711 Clan

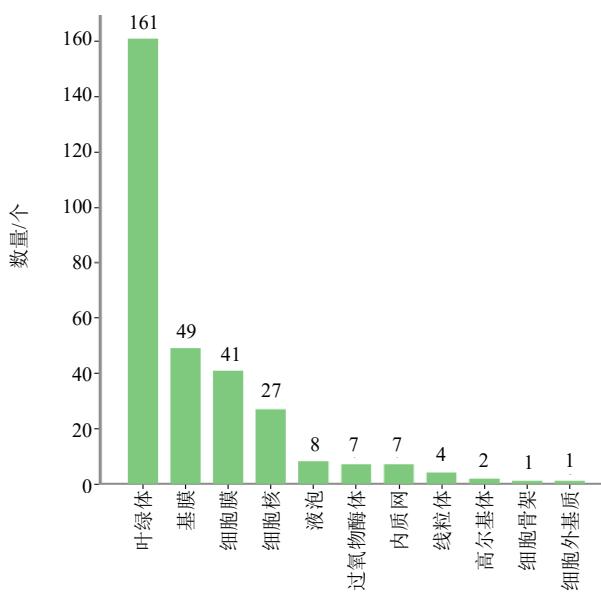


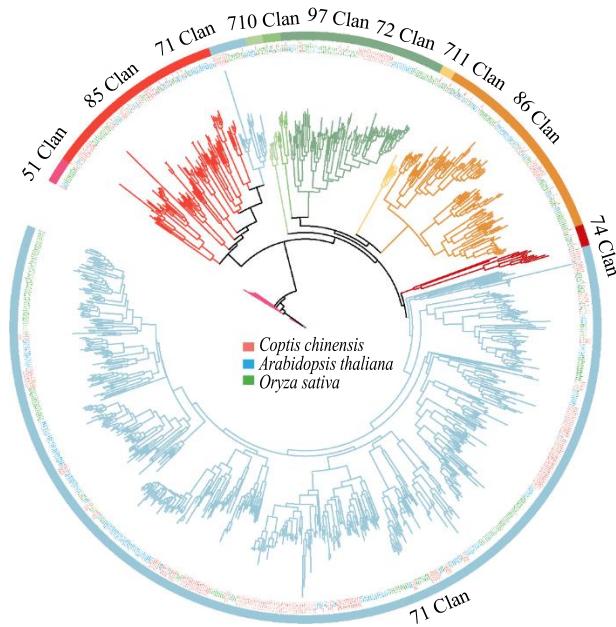
图 1 黄连 *CYP* 基因家族成员亚细胞定位预测

Fig. 1 Prediction of subcellular localization of *CYP* gene family members in *C. chinensis*

和51 Clan家族簇都仅包含1个CYP蛋白。

依据CYP基因国际命名标准^[24]以及基因的进化分析结果,对预测的黄连CYP基因家族成员

逐条进行一致性鉴定和家族划分。308个黄连CYP基因被进一步划分至9个家族簇中的45个家族(表2)。



不同颜色条带代表不同家族簇,红色字体为黄连CYP蛋白,蓝色字体为拟南芥CYP蛋白,绿色字体为水稻CYP蛋白。

Different color bands represent different clans, red font refers to CYP protein of *C. chinensis*, blue font refers to CYP protein of *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh., and green font refers to CYP protein of *Oryza sativa* L.

图2 黄连、拟南芥和水稻CYP蛋白的系统发育树

Fig. 2 Phylogenetic tree of *C. chinensis*, *A. thaliana* and *O. sativa* CYP proteins

表2 黄连CYP基因家族成员基因的分布

Table 2 Gene distribution of CYP gene family members in *C. chinensis*

簇名	家族名称	黄连成员数目	簇名	家族名称	黄连成员数目
71 Clan	<i>CYP82</i>	43	85 Clan	<i>CYP707</i>	8
	<i>CYP79</i>	21		<i>CYP729</i>	6
	<i>CYP706</i>	20		<i>CYP728</i>	6
	<i>CYP93</i>	18		<i>CYP716</i>	6
	<i>CYP71</i>	17		<i>CYP90</i>	4
	<i>CYP81</i>	16		<i>CYP88</i>	3
	<i>CYP76</i>	14		<i>CYP85</i>	1
	<i>CYP705</i>	12		<i>CYP720</i>	1
	<i>CYP87</i>	9		<i>CYP722</i>	1
	<i>CYP78</i>	9		<i>CYP733</i>	1
	<i>CYP77</i>	9		<i>CYP718</i>	1
	<i>CYP712</i>	6		<i>CYP72</i>	19
	<i>CYP92</i>	5		<i>CYP721</i>	2
	<i>CYP75</i>	3		<i>CYP714</i>	2
	<i>CYP99</i>	3		<i>CYP734</i>	1
	<i>CYP89</i>	3		<i>CYP735</i>	1
	<i>CYP84</i>	3	74 Clan	<i>CYP74</i>	2
	<i>CYP98</i>	2		<i>CYP727</i>	1
	<i>CYP701</i>	1		<i>CYP97</i>	3
86 Clan	<i>CYP704</i>	9		<i>CYP710</i>	1
	<i>CYP95</i>	7		<i>CYP711</i>	1
	<i>CYP86</i>	4		<i>CYP51</i>	1
	<i>CYP96</i>	2			

3.3 CYP 基因家族成员保守基序和基因结构分析

为了进一步研究黄连 CYP 基因家族的功能分化, 使用 MEME motif 分析工具在黄连 CYP 蛋白中共鉴定出 10 个保守基序 (motif)。这些 motif 在 A 型 Clan (71 Clan) 和非 A 型 Clan (非 71 Clan) 中存在显著差异 (图 3、表 3)。有 7 个 motif (motif 1、2、3、6、7、9 和 10) 在黄连 CYP 蛋白中相对保守, 其中, motif 1 包含 ExxR 结构 (K-helix), 可以参与形成高度保守的三维结构。motif 2 包含 FxxGxRxGxG (Heme-binding), 是 CYP 酶的核心催化 motif 9 包含 (P/I) PGPx (P/G) xP 结构 (proline-rich region), 对 CYP 酶准确定位到细胞膜上具有重要作用^[25]。有 3 个 motif (motif 4、5 和 8) 保守性较差, 这些 motif 的缺失在非 A 型 CYP 基因结构中较为常见。其中, motif 4 包含 (A/G)Gx(E/D)T(T/S) 结构 (I-helix), 可以参与氧的结合和活化过程^[26]。

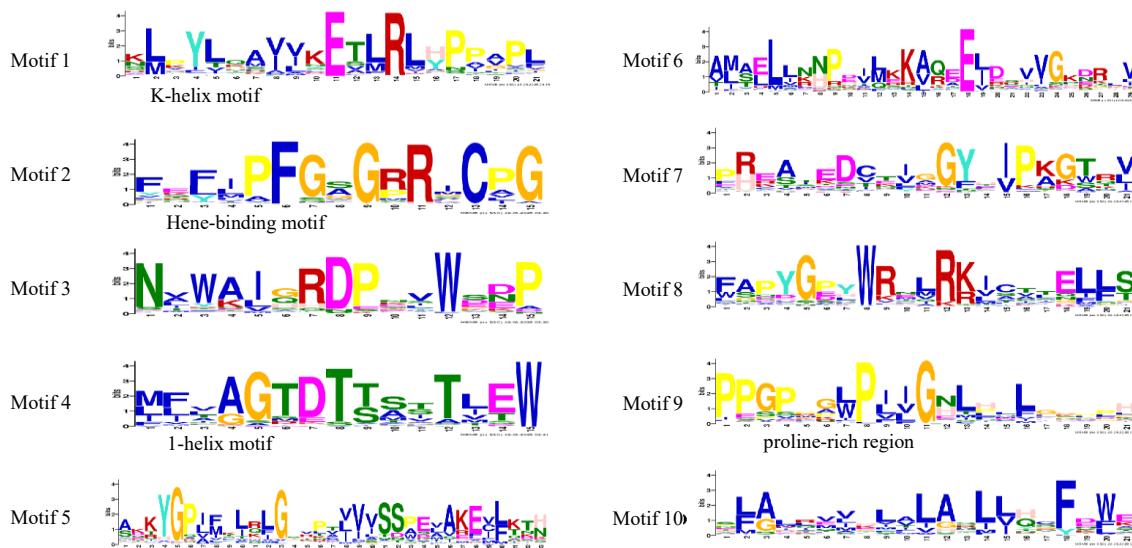


图 3 黄连 CYP 基因家族 motif 图

Fig. 3 Motif diagram of CYP gene family in *C. chinensis*

表 3 黄连 CYP 基因家族 motif 数量

Table 3 Motif number of CYP gene family in *C. chinensis*

motif	Clan										Motif序列
	71	85	72	86	97	74	710	711	51	总数	
1	180	30	22	20	3	2	1	1	1	260	KLPYLQAVVKETLRLHPPAPL
2	167	31	22	16	3		1	1	1	242	FEFJPFGSGRRICPG
3	165	4	3	1	2	1				176	NVWAIGRDPNVWSDP
4	75	1		6						82	MFVAGTDTTSTTLEW
5	148	8	7	3			1			167	AKKYGPJFKLRLGSVPTVVVSSPEVAKEVLKTH
6	159	4	9	2	3		1			178	AMAELLNNPDILKKAQEEJDQVVGKBRLV
7	169	30	5	4	1		1	1	1	212	PREATEDCTIGGYHIPKGTRV
8	163		1	17		1				182	FAPYGPYWRNLRKICTTELLS
9	149	25	3	6	2		1	1		187	PPGPPGLPJGNLHLLGGPPH
10	154	19	21	12	2		1	1		210	SLALRVVHLALASLLHCFDWE

为进一步了解黄连 CYP 基因的结构, 总结了黄连 CYP 基因的外显子数目 (图 4)。与 A 型黄连 CYP 基因相比, 非 A 型 CYP 基因中外显子数目范围变化较小, 但分布较为分散。A 型 CYP 基因外显子数量为 1~38 个, 多数基因 (154/214, 71.96%) 的外显子数量为 1~10 个。非 A 型 CYP 基因外显子数量为 1~29 个, 多数基因 (75/94, 79.79%) 的外显子数量为 1~13 个。

综上所述, 尽管黄连 CYP 家族成员中不同 Clan 之间的保守 motif 分布存在差异, 但 308 个 CYP 蛋白均至少含有 1 个 CYP 基因家族的保守 motif, 表明这些蛋白进化和核心催化功能的一定程度保守性。外显子是真核生物基因组中编码蛋白的必需核心区域。黄连 CYP 基因可能通过不同的组合剪接外显子, 产生多样的成熟 mRNA, 从而适应环境的变化。

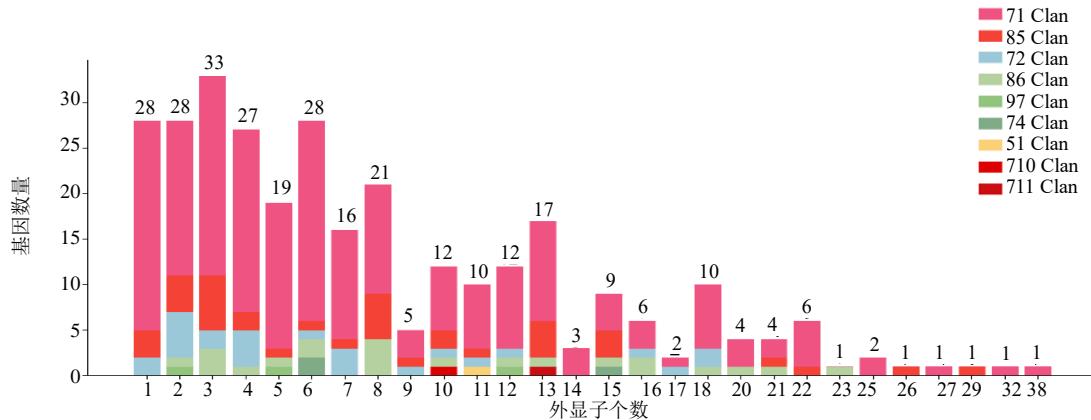


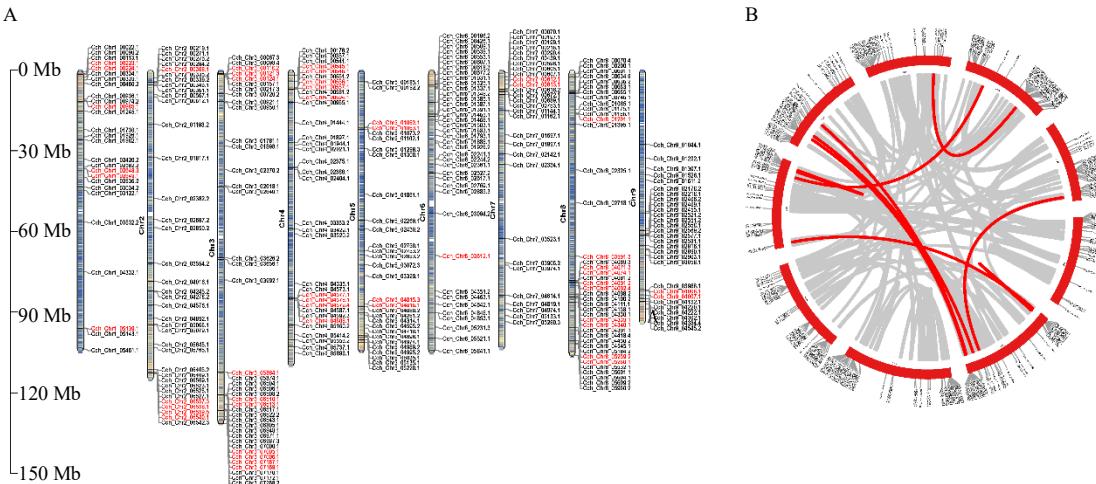
图 4 黄连 CYP 基因家族外显子的分布
Fig. 4 Distribution of CYP gene family exons in *C. chinensis*

3.4 CYP 基因家族成员染色体定位和基因复制分析

黄连 CYP 基因家族成员在 9 条染色体上呈不均匀分布 (图 5-A)，各染色体上 CYP 基因密度从高到低依次为 3 号染色体和 8 号染色体 (各 41 个)、6 号染色体 (39 个)、2 号染色体 (37 个)、4 号染色体 (35 个)、5 号染色体 (30 个)、7 号染色体与 9 号染色体 (各 29 个) 以及 1 号染色体 (27 个)。这种基因的染色体分布差异可能反映了黄连基因

组的复制与染色体重组的历史痕迹。

基因复制对于植物新基因和生物学新功能的产生具有非常重要的作用^[27]。基因复制分析表明 (图 5-B)，多数黄连 CYP 基因复制类型为分散复制 (175/308, 56.8%)，其次是邻近复制 (71/308, 23.1%)，串联复制 (46/308, 14.9%) 和全基因组复制 (16/308, 5.2%)。71 Clan 成员 (173/214, 80.8%) 中存在频繁的分散复制和邻近复制事件，可能是其扩张的主要驱动力。



A 图为黄连 CYP 基因家族染色体定位，红色字体表示串联重复的黄连 CYP 基因家族成员；B 图为黄连 CYP 基因家族共线性图。

Figure A shows the chromosomal localization of the CYP gene family in *C. chinensis*, with red font indicating tandem repeats of CYP gene family members in *C. chinensis*; Figure B shows the collinearity of the CYP gene family in *C. chinensis*.

图 5 黄连 CYP 基因家族成员染色体分布

Fig. 5 Chromosomal distribution map of CYP gene family members in *C. chinensis*

3.5 CYP 基因家族成员表达分析

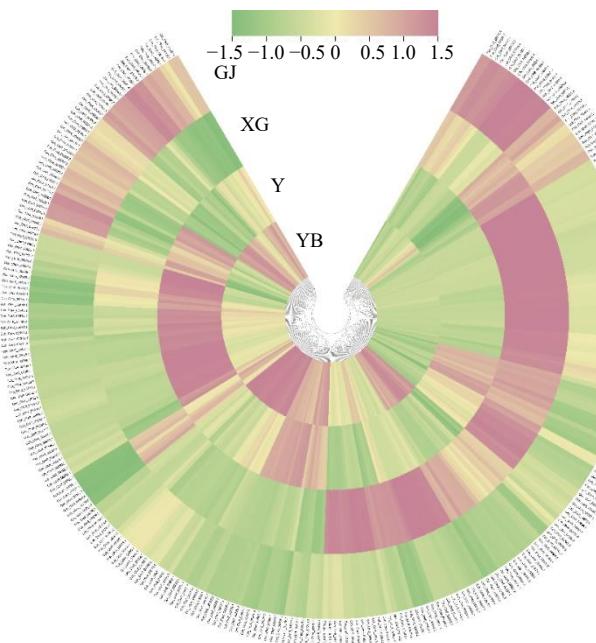
黄连的入药部位根茎和非药用部位须根均富含生物碱活性成分^[28]。对黄连的根茎、须根、叶片和叶柄的转录组测序数据进行差异基因表达分析表明，黄连 CYP 基因在这 4 个组织中的表达模

式明显不同 (图 6)。所有的 CYP 基因中，有 290 个至少在一个组织中有表达，有 11 个在黄连根茎中特异性表达，有 41 个在须根中特异性表达。同时，9 个 CYP 基因的相对表达量在根茎和须根中显著性上调，推测其可能与黄连的生物碱合成与

积累相关。

为进一步探索在黄连根茎和须根中特异性表

达的 *CYP* 基因涉及的生物学过程, 对 43 个差异表达基因进行了 GO 和 KEGG 富集分析 (图 7)。GO

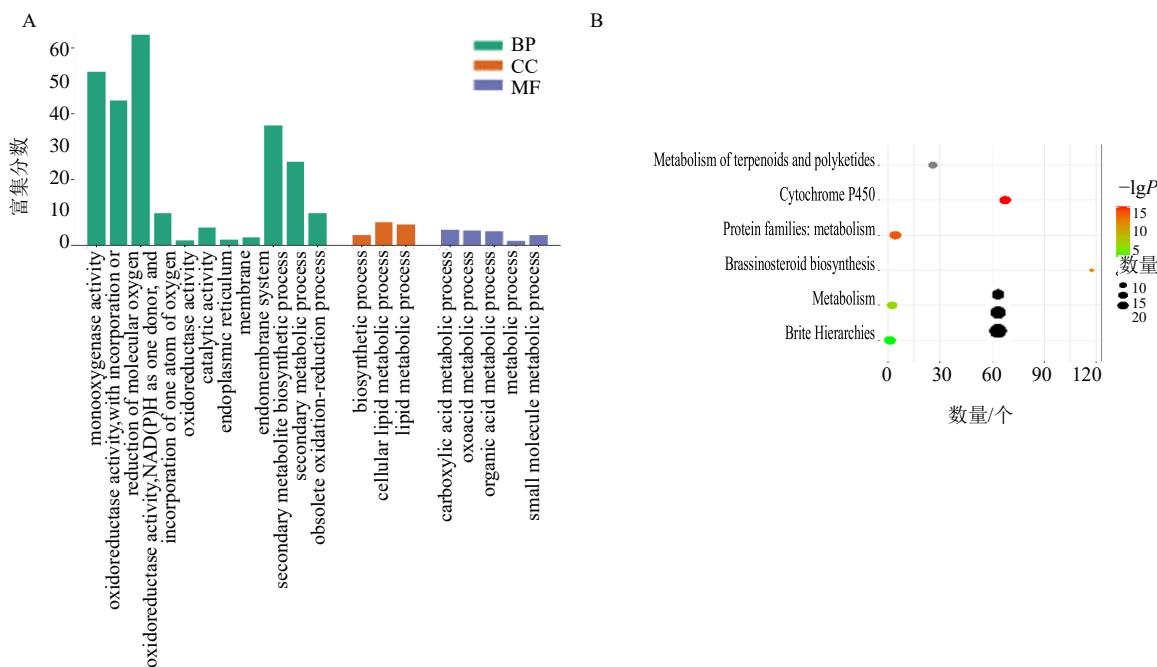


GJ、XG、Y 和 YB 分别为黄连根茎、须根、叶片和叶柄部位。

GJ, XG, Y, and YB refer to the rhizomes, fibrous roots, leaves, and petioles of *C. chinensis*, respectively.

图 6 黄连 *CYP* 基因家族表达模式分析

Fig. 6 Analysis of expression pattern of *CYP* gene family in *C. chinensis*



A 图为差异表达的黄连 *CYP* 家族成员 GO 富集分析, B 图为差异表达的黄连 *CYP* 家族成员 KEGG 富集分析。

Figure A shows GO enrichment analysis of differentially expressed *CYP* family members in *C. chinensis*, while Figure B shows KEGG enrichment analysis of differentially expressed *CYP* family members in *C. chinensis*.

图 7 黄连 *CYP* 基因家族差异表达基因功能富集分析

Fig. 7 Functional enrichment analysis of differentially expressed genes in *CYP* gene family of *C. chinensis*

富集分析的生物学过程结果展示,黄连 *CYP* 基因主要富集于次生代谢产物生物合成通路、氧化还原反应以及脂质代谢过程等功能中。KEGG 通路富集分析表明, *CYP* 基因显著富集于萜类化合物和聚酮类化合物的代谢、细胞色素 P450、甾体类植物激素的生物合成以及新陈代谢等通路。

3.6 *CYP* 基因家族顺式作用元件分析

参考 Jin 等^[29]的研究方法,对黄连 *CYP* 基因家族成员上游 2 000 bp 长度的启动子区域顺式作用元件进行了统计分析,并将结果分类为发育响应、激素响应和胁迫响应 3 种类型。不同家族簇之间未观察到明显差异,所有黄连 *CYP* 基因的启动子区域均

包含这 3 种类型的顺式作用元件(图 8)。在胁迫响应分类中,出现频率最高的响应元件是 MYB 转录因子结合元件(1 566/3 152, 49.7%)。发育响应分类中,包含常见的参与玉米醇溶蛋白代谢调控的作用元件(863/2 884, 29.9%)、参与分生组织表达相关的元件(635/2 884, 22.0%)和参与黄酮生物合成的元件(466/2 884, 16.2%)。共预测到 18 种激素响应元件,其中频率最高的 5 个元件为脱落酸响应元件(559/2 130, 26.2%)、生长素响应元件(292/2 130, 13.7%)、茉莉酸甲酯响应元件(256/2 130, 12.0%)、赤霉素响应元件(223/2 130, 10.5%)和水杨酸响应元件(172/2 130, 8.1%)。



图 8 黄连 *CYP* 基因家族启动子区域的顺式作用元件数量堆叠图

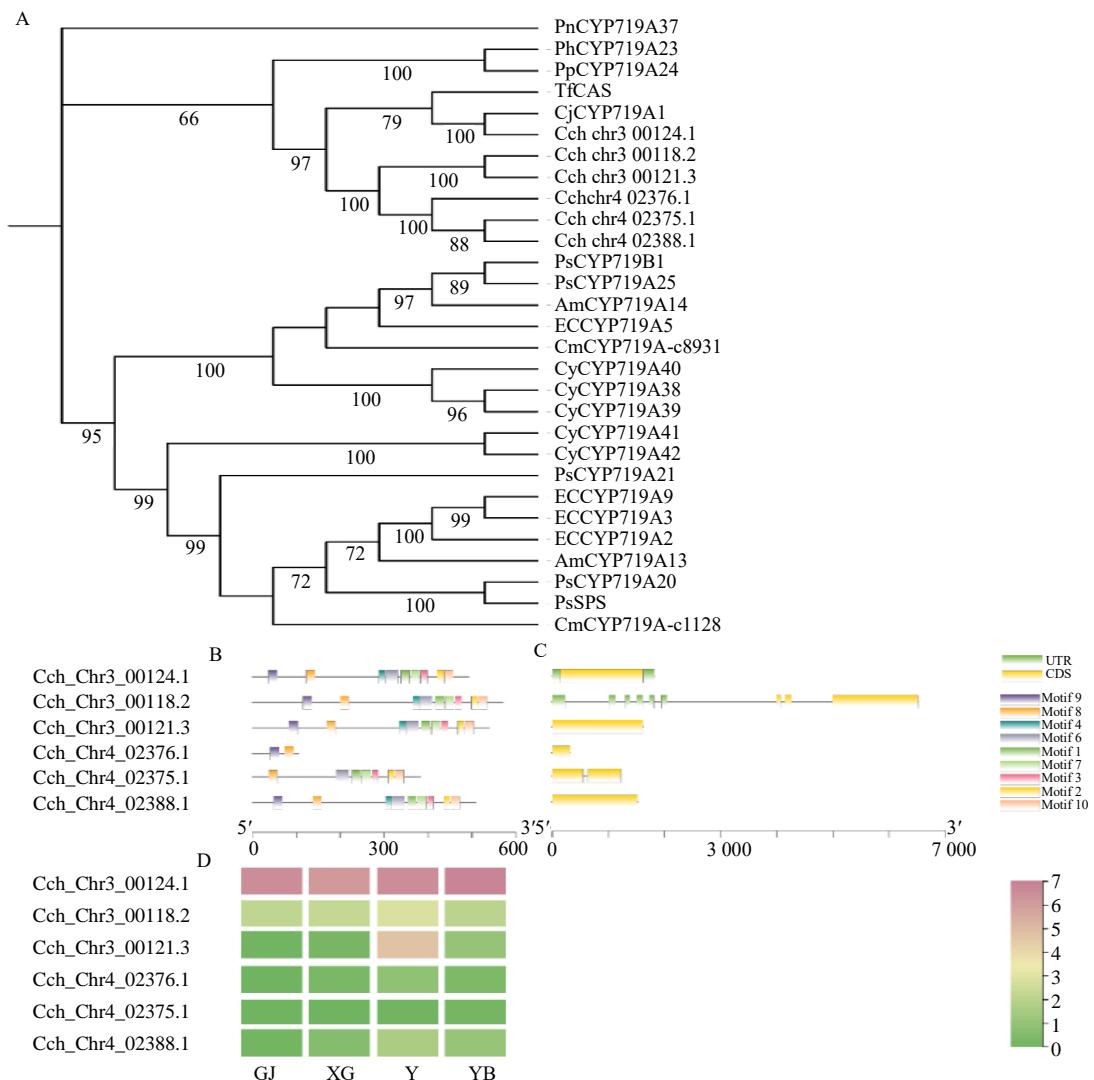
Fig. 8 Stacking diagram of *cis*-acting elements in promoter region of *CYP* gene family in *C. chinensis*

3.7 CYP719 家族成员结构特异性分析

在黄连中共鉴定到属于 71 Clan 的 6 个 CYP719 基因, 其中 5 个与拟南芥和水稻存在基因同源性, 另外 1 个 (Cch_Ch4_02376.1) 与其他 CYP719 基因所编码的蛋白显示出显著的序列特异性, 包括氨基酸长度 (103 aa) 和相对分子质量 (11 020)。同时, Cch_Ch4_02376.1 为酸性蛋白, 而其他的均为碱性蛋白; 结构稳定性评估显示, Cch_Ch4_02376.1 不稳定指数为 21.98, 脂肪族指数为 121.17, 平均疏水

性指数为 0.65。相比于 CYP719 家族其他成员, Cch_Ch4_02376.1 可能具有较好的稳定性和溶解性。

为进一步了解黄连 CYP719 家族成员的系统进化地位, 本实验使用植物中已报道的 23 个 CYP719 基因共同构建系统发育树 (图 9-A), 结果表明 6 个黄连 CYP719 基因与已报道的日本黄连中的 CYP719A1, 以及唐松草属 *Thalictrum* L. 和鬼臼属 *Podophyllum* L. 的相关基因优先聚类。黄连 CYP719 基因之间具有一定的遗传分化, 其中 Cch_Ch3_00



A-CYP719 基因系统进化树, B-黄连中 CYP719 基因 motif 特征, C-黄连中 CYP719 基因结构特征, D-黄连中 CYP719 基因表达模式, GJ、XG、Y 和 YB 分别为黄连根茎、须根、叶片和叶柄部位。

A-evolutionary tree of the CYP719 gene system, B-motif characteristics of the CYP719 gene in *C. chinensis*, C-structural characteristics of the CYP719 gene in *C. chinensis*, D-expression pattern of the CYP719 gene in *C. chinensis*, and GJ, XG, Y, and YB represent the rhizomes, fibrous roots, leaves, and petioles of *C. chinensis*, respectively.

图 9 黄连 CYP719 家族基因结构特异性分析

Fig. 9 Structural specificity analysis of CYP719 family genes in *C. chinensis*

124.1 与 *CYP719A1* 的进化关系最近, 其余的 5 个黄连 *CYP* 基因则聚为另一亚支。黄连 *CYP719* 基因均具有 Heme-binding 保守结构域, 且均缺失 motif 5 (图 9-B)。同时, 与大部分黄连 71 Clan 成员相似, *CYP719* 基因外显子数量为 1~10 个 (图 9-C)。其中, *Cch_Ch3_00121.3* 和 *Cch_Ch4_02376.1* 具有单外显子结构, 而 *Cch_Ch4_02388.1* 外显子数目最多为 10 个。黄连 *CYP719* 家族成员集中分布于 3 号 (*Cch_Ch3_00124.1*、*Cch_Ch3_00118.2* 和 *Cch_Ch3_00121.3*) 和 4 号 (*Cch_Ch4_02388.1*、*Cch_Ch4_02375.1* 和 *Cch_Ch4_02376.1*) 染色体上。基因复制分析显示, 分布于 3 号染色体的基因复制类型为串联重复, 而 4 号染色体的 *CYP719* 基因为分散重复, 与之前报道的结果一致^[21]。转录组分析表明, 6 个 *CYP719* 基因在根茎、须根、叶片和叶柄中呈现差异表达 (图 9-D)。其中, *Cch_Ch3_00124.1* 在 4 个组织中相对表达量显著高于其他 *CYP719* 基因。顺式作用元件分析显示, 不同黄连 *CYP719* 基因并不存在明显差异, 均具有胁

迫响应、发育响应和激素响应元件。

3.8 *CYP719* 基因特异性进化分析

为了探究黄连 *CYP719* 基因的起源进化关系, 本课题组建立了黄连与拟南芥等其他 12 个代表性植物的共线性图谱 (图 10)。跨物种比较揭示, 不同物种中黄连 *CYP719* 家族成员的同源基因的数量具有差异。具体而言, 毛茛科中, 6 个黄连 *CYP719* 家族成员与耧斗菜均具有同源性, 与黄草鸟均不具有同源性, 显示出毛茛科中 *CYP719* 基因的差异性分布; 5 个黄连 *CYP719* 家族成员 (*Cch_Ch3_00118.2*、*Cch_Ch3_00124.1*、*Cch_Ch4_02375.1*、*Cch_Ch4_02376.1* 和 *Cch_Ch4_02388.1*) 在毛黄堇中具有同源性; 4 个黄连 *CYP719* 家族成员 (*Cch_Ch3_00124.1*、*Cch_Ch4_02375.1*、*Cch_Ch4_02376.1* 和 *Cch_Ch4_02388.1*) 在罂粟中具有同源性; 马兜铃与 3 个黄连 *CYP719* 家族成员 (*Cch_Ch3_00118.2*、*Cch_Ch3_00124.1* 和 *Cch_Ch3_00121.3*) 有同源性; 在拟南芥、大豆和桃等其他 7 个物种中没有检测到与黄连 *CYP719* 家族成员具有同源基因。

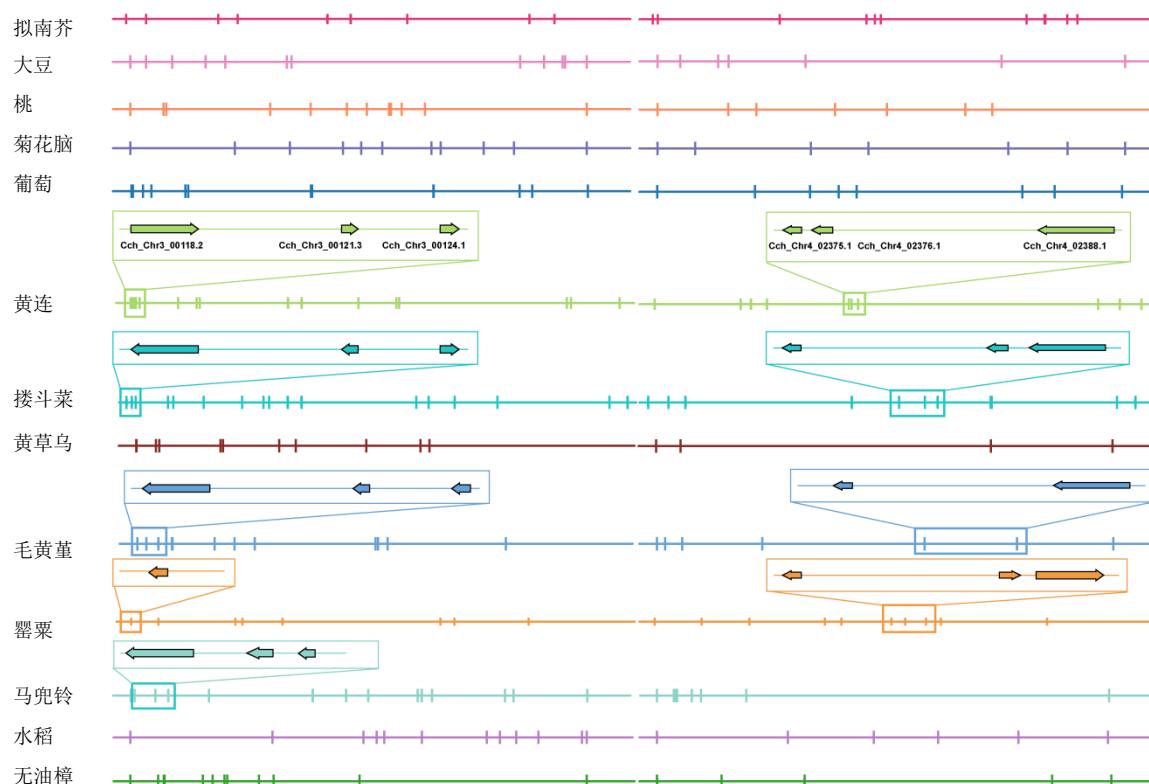


图 10 *CYP719* 基因及周围 *CYP* 基因的分布

Fig. 10 Distribution of *CYP719* genes and its surrounding *CYP* genes

4 讨论

黄连作为传统大宗中药材, 富含生物碱等多种天然药用成分^[30-31]。随着黄连药材市场需求量的持

续增长以及野生资源的减少^[32], 规模化人工种植成为药材供给的主要手段, 而培育满足生产需求的黄连优质新品种、保障药材品质成为当务之急。黄连

多样化生物碱是其药材品质的重要体现,理解这些生物碱成分的生物合成通路及关键基因成为首先需要解决的问题。先前的研究表明, *CYP* 基因在黄连原小檗碱型生物碱的多样化形成中具有重要作用^[21]。本研究确定的黄连 308 个 *CYP* 家族成员,相较于之前研究^[21]增加了 30 个新成员,体现了基因组的质量差异。黄连中 *CYP* 基因的数量超过拟南芥(246 个)^[33]、葡萄(236 个)^[34]和甘薯(95 个)^[35],而略低于水稻(326 个)^[36]和大豆(317 个)^[37]。

植物 *CYP* 基因分为 A 型(71 Clan)和非 A 型(非 71 Clan)2 种。非 A 型 *CYP* 基因比 A 型 *CYP* 基因更古老,且被认为有更多时间进行结构重排和基因复制,导致非 A 型 *CYP* 基因在基因结构和 motif 中往往更具差异^[38]。在黄连中,2 种 *CYP* 基因类型均具有 K-helix (motif 1),对 *CYP* 基因的催化功能具有重要作用^[39],而在非 A 型 *CYP* 基因中,motif 的数量和分布在不同 Clan 中各不相同,反映了一定程度的进化差异。在黄连中观察到大量的基因复制事件,其中 A 型成员(173/214, 80.8%)中存在频繁的分散复制和邻近复制事件,可能是其扩张的主要驱动力。而非 A 型成员在基因结构和保守基序上比 A 型 *CYP* 基因更多样化。

植物 *CYP* 基因参与多种生化途径,并在多种生物进程中发挥重要作用,包括生长发育、激素传导和胁迫反应等^[40-41]。黄连 *CYP* 基因启动子区域各种顺式作用元件的存在也表明黄连 *CYP* 基因能够响应外界中的各类信号,尤其是对茉莉酸甲酯的响应,有研究表明,施加茉莉酸甲酯可在短时间内显著促进黄连幼苗中生物碱的积累^[42]。在本研究中,观察到有 144 个黄连 *CYP* 基因具有茉莉酸甲酯响应元件。表明这些基因在受到生物和非生物胁迫时,茉莉酸类(jasmonates, JAs)作为信号分子可能会诱导其表达而引起黄连中 BIAs 含量的变化。同时,对黄连 *CYP* 基因在根茎、须根、叶片和叶柄中的差异表达进行分析发现,有 41 个基因在须根中特异性表达;有 11 个基因在黄连根茎中特异性表达;有 9 个基因在根茎和须根中特异性表达。这些基因可能参与黄连生物碱的生物合成和运输积累过程。

CYP719 基因家族作为木兰类和早期分化的双子叶植物中特有的支系,在系统进化上显示出一定的支系特异性。本研究对黄连的 *CYP719* 基因与其他植物基因的共线性分析表明,其展示出与毛茛目

物种更好的同源性和较近的亲缘关系,特别的是,毛茛科中黄草乌与黄连中 *CYP719* 基因均不具有同源性,可能由于黄草乌中主要积累二萜类生物碱。在拟南芥、大豆、桃等其他 7 个物种中没有检测到与黄连 *CYP719* 家族成员的同源基因。本研究鉴定的黄连中的 *Cch_Chromosome_00124.1* 基因是日本黄连中已经报道的 *CjCYP719A1* 的同源基因,并在耧斗菜、毛黄堇、罂粟和马兜铃等积累 BIAs 的物种中均具有同源基因,显示出进化的保守性。在黄连中,该基因相较于其他 *CYP719* 基因在根茎、须根等不同组织中均具有更高的表达,其编码的蛋白具有亚甲二氧基桥酶的活性,是小檗碱、黄连碱、表小檗碱等重要天然产物生物合成的关键酶。此外, *Cch_Chromosome_02388.1*、*Cch_Chromosome_02375.1* 和 *Cch_Chromosome_02376.1* 可能具有(S)-碎叶紫堇碱合成酶活性,促进黄连生物碱的多样化。

综上所述,本研究对黄连 *CYP* 基因超家族的全基因组鉴定共获得了 308 个完整的 *CYP* 基因,分别属于 9 个家族簇的 45 个家族。不同家族簇间及同一家族簇内的 *CYP* 基因其 motif 和外显子数量呈现一定的变化规律,反应了 *CYP* 基因广泛的结构差异。同时,黄连 *CYP* 超家族中频繁发生基因复制事件,其中分散重复和邻近重复可能是黄连 *CYP* 基因家族成员扩增的主要驱动力。比较基因组分析表明,黄连 *CYP719* 家族成员在黄连及其他 12 个物种中呈现支系特异性分布。假设 *CYP* 家族成员在黄连生物碱多样化合合成中的重要作用,本研究结果可促进黄连更多 *CYP* 基因的功能研究,为未来黄连药材的品质提升和开发利用提供重要的理论依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 王雨欣,徐浩然,张鹏,等.黄连与根际微生物互作关系及机制的研究进展[J].中草药,2025,56(11): 4158-4164.
- [2] 杨念云,张启春,朱华旭,等.黄连生物碱类资源性化学成分研究进展与利用策略[J].中草药,2019,50(20): 5080-5087.
- [3] 中国药典 [S].一部.2025: 325-326.
- [4] 武鑫华,荀思佳,吴文轩,等.黄连的化学成分及药理作用研究进展[J].中医药学报,2024,52(7): 110-116.
- [5] Wu Y, Wang H L, Liu H C, et al. Genome-wide identification and analysis of the cytochrome P450 family elucidate flavonoid biosynthesis in safflower [J]. *BMC Plant Biol*, 2025, 25(1): 1045.

- [6] Yang S, Wang L, Wu J Y, et al. Recent advances in structure, biofunction, detection, and disease therapeutic targeting of cytochrome P450 [J]. *Chembiochem*, 2025, 26(14): e202500278.
- [7] 孔建强, 黄勇, 沈君豪, 等. 紫穗槐-4, 11-二烯合酶及其代谢工程研究进展 [J]. 药学学报, 2009, 44(12): 1320-1327.
- [8] Liu J W, Hu H M, Shen H M, et al. Insights into the cytochrome P450 monooxygenase superfamily in *Osmanthus fragrans* and the role of *O/CYP142* in linalool synthesis [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(20): 12150.
- [9] 谢泽昊. 茜草三萜修饰相关细胞色素P450酶及短链脱氢酶的挖掘 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2024.
- [10] Ikezawa N, Tanaka M, Nagayoshi M, et al. Molecular cloning and characterization of CYP719, a methylenedioxy bridge-forming enzyme that belongs to a novel P450 family, from cultured *Coptis japonica* cells [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(40): 38557-38565.
- [11] Ikezawa N, Iwasa K, Sato F. Molecular cloning and characterization of CYP80G2, a cytochrome P450 that catalyzes an intramolecular C-C phenol coupling of (S)-reticuline in magnoflorine biosynthesis, from cultured *Coptis japonica* cells [J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(14): 8810-8821.
- [12] Tian Y, Kong L Z, Li Q, et al. Structural diversity, evolutionary origin, and metabolic engineering of plant specialized benzylisoquinoline alkaloids [J]. *Nat Prod Rep*, 2024, 41(11): 1787-1810.
- [13] Gesell A, Rolf M, Ziegler J, et al. CYP719B1 is salutaridine synthase, the C-C phenol-coupling enzyme of morphine biosynthesis in opium poppy [J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(36): 24432-24442.
- [14] Mizutani M, Sato F. Unusual P450 reactions in plant secondary metabolism [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2011, 507(1): 194-203.
- [15] Ikezawa N, Iwasa K, Sato F. CYP719A subfamily of cytochrome P450 oxygenases and isoquinoline alkaloid biosynthesis in *Eschscholzia californica* [J]. *Plant Cell Rep*, 2009, 28(1): 123-133.
- [16] Chávez M L D, Rolf M, Gesell A, et al. Characterization of two methylenedioxy bridge-forming cytochrome P450-dependent enzymes of alkaloid formation in the Mexican prickly poppy *Argemone mexicana* [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2011, 507(1): 186-193.
- [17] Liu X Y, Jiao X, Cheng Y T, et al. Structure-function analysis of CYP719As involved in methylenedioxy bridge-formation in the biosynthesis of benzylisoquinoline alkaloids and its *de novo* production [J]. *Microb Cell Fact*, 2023, 22(1): 23.
- [18] Schnabel A, Cotinguiba F, Athmer B, et al. *Piper nigrum* CYP719A37 catalyzes the decisive methylenedioxy bridge formation in piperine biosynthesis [J]. *Plants*, 2021, 10(1): 128.
- [19] 赵力. 莲叶片生物碱合成基因的挖掘及功能鉴定 [D]. 福州: 福建农林大学, 2019.
- [20] Nelson D R, Schuler M A. Cytochrome P450 genes from the sacred *Lotus* genome [J]. *Trop Plant Biol*, 2013, 6(2): 138-151.
- [21] Liu Y F, Wang B, Shu S H, et al. Analysis of the *Coptis chinensis* genome reveals the diversification of protoberberine-type alkaloids [J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 3276.
- [22] Wu L, Zhao B, Deng Z, et al. A biosynthetic network for protoberberine production in *Coptis chinensis* [J]. *Hortic Res*, 2024, 11(1): uhad259.
- [23] Chen C J, Chen H, Zhang Y, et al. TBtools: An integrative toolkit developed for interactive analyses of big biological data [J]. *Mol Plant*, 2020, 13(8): 1194-1202.
- [24] Nelson D R, Koymans L, Kamataki T, et al. P450 superfamily: Update on new sequences, gene mapping, accession numbers and nomenclature [J]. *Pharmacogenetics*, 1996, 6(1): 1-42.
- [25] 李翔宇, 王助乾, 孙春玉, 等. 植物细胞色素P450s及其在植物新陈代谢中的作用 [J]. 安徽农业科学, 2016, 44(13): 129-134.
- [26] 宋展, 高鑫, 吴冕, 等. 细胞色素P450酶的结构、功能与应用研究进展 [J]. 微生物学通报, 2020, 47(7): 2245-2254.
- [27] Xu G X, Guo C C, Shan H Y, et al. Divergence of duplicate genes in exon-intron structure [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(4): 1187-1192.
- [28] 李彩虹, 周克元. 黄连活性成分的作用及机制研究进展 [J]. 时珍国医国药, 2010, 21(2): 466-468.
- [29] Jin X Y, Liu Y H, Hou Z M, et al. Genome-wide investigation of SBT family genes in pineapple and functional analysis of AcoSBT1.12 in floral transition [J]. *Front Genet*, 2021, 12: 730821.
- [30] 盖晓红, 刘素香, 任涛, 等. 黄连的化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中草药, 2018, 49(20): 4919-4927.
- [31] 李淑萍, 陈丽, 贺飞, 等. 基于HPLC指纹图谱和6种指标成分的经典名方黄连膏基准样品量值传递分析 [J]. 中草药, 2025, 56(17): 6196-6206.
- [32] 赵楠, 李隆云, 白志川. 中药材黄连的研究现状与展望 [J]. 重庆理工大学学报: 自然科学, 2015, 29(1): 53-58.
- [33] Nelson D, Werck-Reichhart D. A P450-centric view of plant evolution [J]. *Plant J*, 2011, 66(1): 194-211.
- [34] Jiu S T, Xu Y, Wang J Y, et al. The cytochrome P450 monooxygenase inventory of grapevine (*Vitis vinifera* L.):

- Genome-wide identification, evolutionary characterization and expression analysis [J]. *Front Genet*, 2020, 11: 44.
- [35] Lin X J, Tang B Q, Li Z Q, et al. Genome-wide identification and expression analyses of CYP450 genes in sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) [J]. *BMC Genomics*, 2024, 25(1): 58.
- [36] Wei K F, Chen H Q. Global identification, structural analysis and expression characterization of cytochrome P450 monooxygenase superfamily in rice [J]. *BMC Genomics*, 2018, 19(1): 35.
- [37] Khatri P, Wally O, Rajcan I, et al. Comprehensive analysis of cytochrome P450 monooxygenases reveals insight into their role in partial resistance against *Phytophthora sojae* in soybean [J]. *Front Plant Sci*, 2022, 13: 862314.
- [38] Hansen C C, Nelson D R, Møller B L, et al. Plant cytochrome P450 plasticity and evolution [J]. *Mol Plant*, 2021, 14(8): 1244-1265.
- [39] Manikandan P, Nagini S. Cytochrome P450 structure, function and clinical significance: A review [J]. *Curr Drug Targets*, 2018, 19(1): 38-54.
- [40] Xu J, Wang X Y, Guo W Z. The cytochrome P450 superfamily: Key players in plant development and defense [J]. *J Integr Agric*, 2015, 14(9): 1673-1686.
- [41] Pandian B A, Sathishraj R, Djanaguiraman M, et al. Role of cytochrome P450 enzymes in plant stress response [J]. *Antioxidants*, 2020, 9(5): 454.
- [42] 刘微, 刘义飞, 陈士林, 等. 茉莉酸甲酯对黄连生物碱含量积累的影响 [J]. 世界中医药, 2022, 17(13): 1813-1818.

[责任编辑 时圣明]