

• 药材与资源 •

丹参 *SmABCG34* 基因的生物信息学与表达分析

林亚楠¹, 白艳红¹, 邱馨冉¹, 祖秀丽¹, 于娟¹, 刘红燕^{2,3,4}, 宫亚楠⁵, 陈雪^{1,2,3*}, 刘谦^{1,2,3*}

1. 山东中医药大学药学院, 山东 济南 250300

2. 山东中医药大学, 中医药经典理论教育部重点实验室, 山东 济南 250300

3. 山东中医药大学, 山东省数字中药重点实验室, 山东 济南 250300

4. 山东中医药大学实验中心, 山东 济南 250300

5. 济南市章丘区人民医院 心内一科, 山东 济南 250200

摘要:目的 从丹参 *Salvia miltiorrhiza* 基因组中克隆 *SmABCG34* 基因, 对其进行生物信息学和表达特异性分析。方法 基于丹参基因组筛选克隆 *SmABCG34* 基因, 利用生物信息学在线网站对该基因及其编码蛋白进行理化性质、保守结构域等分析。利用实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 检测 *SmABCG34* 基因的组织表达特性及对脱落酸 (abscisic acid, ABA)、反式玉米素 (trans-Zeatin, tZ)、聚乙二醇-6000 (polyethylene glycol-6000, PEG-6000) 胁迫的响应情况。结果 *SmABCG34* 基因 CDS 大小为 4 347 bp, 编码 1 448 个氨基酸; 该蛋白包含典型的结合域 (nucleotide-binding domain, NBD)-跨膜结构域 (transmembrane domain, TMD)-NBD-TMD 结构, 属于 ABCG 亚家族全分子转运蛋白; 亚细胞定位预测显示该蛋白定位于细胞膜。系统进化分析表明, *SmABCG34* 与西班牙鼠尾草 *Salvia hispanica* 亲缘关系较近, 蛋白同源性高达 91.23%。表达模式分析显示, *SmABCG34* 基因在丹参根、茎、叶、花中均有表达, 在花中表达量最高, 叶中次之。ABA、tZ、PEG-6000 处理后, 相比于 0 h, *SmABCG34* 基因在 12 h 时表达均显著上调。结论 *SmABCG34* 基因属于 ABCG 亚家族成员, 对激素和胁迫处理具有明显的响应, 为后续探究 *SmABCG34* 基因的功能提供了科学依据。

关键词: 丹参; *SmABCG34* 基因; 基因克隆; 生物信息学分析; 表达分析

中图分类号: R283

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2026)03-1054-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.03.022

Bioinformatics and expression analysis of *SmABCG34* gene in *Salvia miltiorrhiza*

LIN Yanan¹, BAI Yanhong¹, QIU Xinran¹, ZU Xiuli¹, YU Juan¹, LIU Hongyan^{2,3,4}, GONG Yanan⁵, CHEN Xue^{1,2,3}, LIU Qian^{1,2,3}

1. College of pharmacy, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250300, China

2. Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Classical Theory, Ministry of Education, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250300, China

3. Shandong Key Laboratory of Digital Traditional Chinese Medicine, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250300, China

4. Experiment Center, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250300, China

5. The First Department of Cardiology, Jinan Zhangqiu District People's Hospital, Jinan 250200, China

Abstract: Objective To clone the *SmABCG34* gene from the *Salvia miltiorrhiza* genome and analyze its bioinformatics and expression characteristics. **Methods** The *SmABCG34* gene was cloned from the *S. miltiorrhiza* genome, and the Conservative Domain and physicochemical properties of the gene and its encoded protein were analyzed by Bioinformatics Online Website. Quantitative real-time PCR (qRT-PCR) was used to detect the tissue expression specificity of *SmABCG34* gene and its response to stress induced by abscisic acid (ABA), trans-zeatin (tZ), and polyethylene glycol-6000 (PEG-6000). **Results** The CDS of the *SmABCG34* gene is 4

收稿日期: 2025-10-02

基金项目: 国家自然科学基金资助 (82404791); 山东省自然科学基金项目 (ZR2021QH202); 山东省自然科学基金项目 (ZR2023MH338); 国家现代农业产业技术体系资助项目 (CARS-21); 菏泽市黄河流域生态保护和高质量发展科技创新突破计划项目 (KJTP202308)

作者简介: 林亚楠 (1999—), 女, 山东东营人, 硕士研究生, 研究方向为中药资源学。E-mail: 18754621424@163.com

***通信作者:** 陈雪 (1990—), 硕士生导师, 从事中药资源质量控制研究。E-mail: xchenaylli@sina.com

刘谦 (1982—), 博士生导师, 从事中药资源质量控制研究。E-mail: cleanlq@163.com

347 bp in size and encodes 1 448 amino acids; This protein contains a typical NBD-TMD-NBD-TMD structure and belongs to the full-molecule transporter of the ABCG subfamily; subcellular localization shows that this protein was localized to the cell membrane. Phylogenetic analysis showed that SmABCG34 was closely related to *S. hispanica*, with a protein homology of up to 91.23 %. The expression pattern analysis revealed that the SmABCG34 gene was expressed in the roots, stems, leaves and flowers of *S. miltiorrhiza* with the highest expression in the flowers, followed by the leaves. After treatment with ABA, tZ, and PEG-6000, compared to 0 h, the expression of the SmABCG34 gene was significantly upregulated at 12 h. **Conclusion** The SmABCG34 gene belongs to the ABCG subfamily and shows a significant response to hormone and stress treatments, providing a scientific basis for further exploration of the function of the SmABCG34 gene.

Key words: *Salvia miltiorrhiza* Bge.; SmABCG34 gene; gene cloning; bioinformatics analysis; expression analysis

丹参为唇形科植物丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bunge 的干燥根及根茎, 具有活血祛瘀、通经止痛、清心除烦、凉血消痈等功效^[1]。大量研究表明, 丹参成分可预防血管疾病, 特别是动脉粥样硬化和心脏疾病, 包括心肌梗死、心肌缺血、心律失常等。丹参有效成分主要为亲水性丹酚酸类和亲脂性丹参酮类, 2 类成分协同参与对心血管的保护。其中丹酚酸类成分发挥抗氧化、护血管和抗血栓等作用; 丹参酮类成分则发挥抗炎、稳斑块和改善微循环等作用^[2]。此外, 丹参中的酚酸类物质还对抑郁症、脊髓损伤等疾病有保护作用^[3]; 丹参酮类物质对白血病、实体癌和肾相关疾病等有治疗作用^[4]。这些次生代谢产物在丹参的药用价值实现及药理活性中发挥关键作用, 其合成、积累及转运过程受多种酶、转录因子和转运蛋白的调控^[8]。随着丹参基因组及转录组数据的发布, 关于丹参次生代谢途径的研究不断深入, 但其代谢产物跨膜运输机制仍不清晰。

ABCG 亚家族是 ATP 结合盒 (ATP-binding cassette) 转运蛋白家族的一个重要分支, 亦是该家族内研究最为集中的亚群之一。该类亚家族主要定位于各种细胞器膜上, 少数存在细胞器内部^[7]。ABCG 转运蛋白通过水解 ATP 释放能量进行糖类、氨基酸、激素、代谢物等的跨膜转运^[8]。根据核苷酸结合域 (nucleotide-binding domain, NBD) 和跨膜结构域 (transmembrane domain, TMD) 的数量, 可将 ABCG 转运蛋白分为全分子蛋白 PDR 型和半分子蛋白 WBC 型。全分子转运蛋白由 2 个 NBD-TMD 排列组成, 可以单独发挥转运作用, 半分子转运蛋白由 1 个 NBD-TMD 排列组成, 需与自身或其他半分子转运蛋白结合, 形成同源或异源二聚体蛋白发挥作用。核苷酸结合域为亲水区, 由 3 个特征基序 Walker A、Walker B 和 Walker C 构成; 跨膜结构域为疏水区, 一般由 4~6 个跨膜 α 螺旋构成^[11]。ABCG 家族结构复杂, 且具

备多种功能。研究表明, ABCG 基因参与植物激素转导、次生代谢物转运、重金属、干旱、温度等非生物胁迫以及各种生物胁迫^[11]。如拟南芥 *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh 中 ABCG 1 和 ABCG 16 通过影响雌蕊中生长素的分布和流动来促进花粉管的生长^[12]; 外源施加 ABA 促进喜树 *Camptotheca acuminata* Decne 中编码 ABCG 转运蛋白的 CaABAT 基因表达显著上调, 同时沉默该基因导致环烯醚萜途径中的 4 个生物碱合成途径基因表达降低, 进而降低喜树碱的积累^[13]; 过表达毛竹 *PeABCG15* 会显著增加拟南芥中木质素的含量, 并提高单体木质素生物合成基因的表达水平^[14]。蒺藜苜蓿 *Medicago truncatula* Gaertn 中的转运蛋白基因 MtABCG59 能够将独脚金内酯转运到土壤中, 从而促进丛枝菌根真菌 (*Arbuscular mycorrhizal Fungi*, AMF) 与植物共生^[15]; 水稻 *OsaABCG18* 通过转运根源性细胞分裂素向地上部运输, 影响水稻植株高度、分蘖数、籽粒产量等农艺性状^[16]。此外, 已有研究表明, 在丹参中 SmABCG1 的过表达可以诱导丹参酮合成途径基因 CYP76AH3 的表达量升高, 导致丹参酮含量增加^[17], 表明 ABCG 家族基因可能参与丹参活性成分的合成和转运。但目前, 丹参 ABCG 家族多数成员的功能尚未得到系统研究。本研究从丹参中克隆了 ABCG 家族基因 SmABCG34, 对该基因进行了生物信息学及表达分析, 旨在为后续深入解析其生物学功能奠定基础。

1 材料与仪器

1.1 材料

本研究用于分析 SmABCG34 基因组织表达的丹参材料来自于山东中医药大学药用植物园, 经山东中医药大学张永清教授鉴定, 为唇形科植物丹参 *S. miltiorrhiza* Bunge。用于基因克隆和不同处理下 SmABCG34 基因表达研究的丹参幼苗为本实验室培养, 培养条件: 25 °C, 70%湿度, 14 h 光照/10 h

黑暗。

1.2 仪器

凝胶成像系统（武汉塞维尔生物科技有限公司），超微量分光光度计（美国 Biochorm 公司），小型台式高速离心机（德国 Eppendorf AG 公司），植物生长箱（宁波新励仪器设备有限公司），DYY-8C 型电泳仪（北京六一生物科技有限公司），漩涡混合器（Scientific Industries 公司），实时荧光定量 PCR 和 PCR 仪均购自伯乐生命医学产品（上海）有限公司。

1.3 试剂

FastPure Universal Plant Total RNA Isolation Kit 提取试剂盒、HiScript IV RT SuperMix for qPCR（gDNA wiper）反转录试剂、FastPure Plasmid Mini Kit-BOX 2 质粒提取试剂盒、FastPure Gel DN Extraction Mini Kit 产物纯化试剂盒均购自南京诺唯赞生物科技股份有限公司，Prime STAR Max、TB Green®Premix Ex Taq™ II 购自 TaKaRa 公司，Meilungreen 核酸电泳染料（10 000×DMSO）购自大连美仑生物技术有限公司，脱落酸（abscisic acid, ABA）、聚乙二醇 6000（polyethylene glycol-6000, PEG-6000）、反式玉米素（trans-Zeatin, tZ）均购自上海源叶生物科技

有限公司，大肠杆菌感受态细胞 DH5α 购自唯地生物，本实验所用引物以及序列测序均由生工生物工程（上海）股份有限公司提供。

2 方法

2.1 总 RNA 提取和 cDNA 的合成

按照 Total RNA Isolation Kit 提取试剂盒提取丹参植株总 RNA，利用 1%琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 完整度。按照反转录试剂盒 [HiScript IV RT SuperMix for qPCR（+gDNA wiper）]说明书进行 RNA 的反转录，获得 cDNA。

2.2 SmABCG34 基因的克隆与测序

根据基因组中 SmABCG34 的序列，使用 Primer Premier 6 软件，设计特异性引物 SmABCG34-F 和 SmABCG34-R（表 1）；以丹参 cDNA 为模板，扩增 SmABCG34 的 CDS 序列。PCR 反应体系：Prime STAR Max 12.5 μL，SmABCG34-F/R（10 μmol/L）各 1 μL，模板 cDNA 1 μL，ddH₂O 9.5 μL。反应程序：94℃、3 min，94℃、25 s，62℃、25 s，72℃、30 s，35 个循环；72℃、5 min。扩增完成后，取产物进行 1%琼脂糖凝胶电泳检测。切取目的条带并经胶回收试剂盒纯化后，将其连接至 T 载体，转化入 DH5α 感受态细胞。通过菌落 PCR 筛选出阳性克隆，送交测序。

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequences used

引物名称	引物序列（5'-3'）	用途
SmABCG34-F	ATGGCGGCAGCAGTGGCG	克隆
SmABCG34-R	TCTCCTTTGGAAATTCAAGACCTTGATGC	
qSmABCG34-F	GGCTCCCAACTTATGATCGG	qRT-PCR表达量检测
qSmABCG34-R	ACCCTGTCGATTCTCTCCC	
Actin-F	GGTGCCCTGAGGTCCTGTT	
Actin-R	AGGGAACCAACCGATCCAGACA	

2.3 SmABCG34 生物信息学分析

使用 ExPASy（<https://web.expasy.org/protparam/>）在线网站分析 SmABCG34 蛋白理化性质；使用 SMART（<https://smart.embl.de/>）在线网站分析 SmABCG34 蛋白保守结构域；使用 SOPMA（https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/secpred_sopma.pl）在线软件预测 SmABCG34 蛋白的二级结构；使用 SWISS MODEL（<https://swissmodel.expasy.org/interactive>）分析 SmABCG34 蛋白三级结构；使用 TMHMM 2.0（<https://services.healthtech.dtu.dk/services/TMHMM-2.0/>）在线网站预测 SmABCG34

蛋白跨膜结构域；使用 SignalP-5.0（<https://services.healthtech.dtu.dk/services/SignalP-5.0/>）分析 SmABCG34 基因信号肽；使用 Cell-PLoc 2.0（<http://www.csbio.sjtu.edu.cn/bioinf/Cell-PLoc-2/>）在线网站预测 SmABCG34 蛋白亚细胞定位；使用 NCBI（<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>）进行 SmABCG34 同源氨基酸序列检索；使用 DNAMAN 软件对其进行多重序列比对；使用 MEGA-X 软件构建系统进化树。

2.4 丹参幼苗处理

将生长状态良好、长势一致的丹参组培苗移栽

到育苗盆，在植物生长箱中培养 30 d，培养条件：温度 25 ℃，湿度 70%，光照 14 h，黑暗 10 h。分别外源施加 100 μmol/LABA、100 μmol/LtZ 和 20% PEG-6000，在处理 0、6、12 h 后分别取样，每组 10 个生物学重复，取样后保存于-80 ℃备用。

2.5 *SmABCG34* 基因表达分析

利用 qRT-PCR 检测 *SmABCG34* 基因表达水平。分别提取两年生丹参的根、茎、叶、花及各组处理后的丹参根部 RNA, 使用反转录试剂盒反转, 获得 cDNA。根据 *SmABCG34* 的 CDS 序列设计引物 q*SmABCG34*-F 和 q*SmABCG34*-R (表 1), 以 *Actin* 为内参基因, 检测目的基因表达水平。反应体系: TB Green Primeix EX Taq II 12.5 μ L, 上下游引物 (10 μ mol/L) 各 1 μ L, cDNA 2 μ L, ddH₂O 8.5 μ L。反应条件: 95 $^{\circ}$ C、30 s, 95 $^{\circ}$ C、10 s, 55 $^{\circ}$ C、30 s, 72 $^{\circ}$ C、1 min, 40 个循环, 采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法计算 *SmABCG34* 基因表达量^[18]。

3 结果与分析

3.1 *SmABCG34* 的克隆与序列分析

以丹参 cDNA 为模板, 利用特异性引物

[illegible]

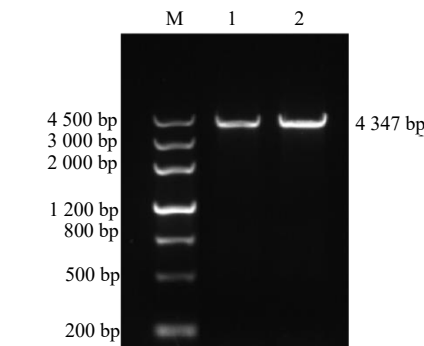
黄色-NBD, 红色-TMD。

Yellow-NBD, Red-TMD,

图 2 *SmABCG34* 核酸序列及对应氨基酸序列

Fig. 2 Nucleic acid sequence and corresponding amino acid sequence of *SmABCG34*

SmABCG34-F 和 *SmABCG34-R* 进行 PCR 扩增, 克隆得到一条清晰的特异性条带 (图 1)。测序结果表明 *SmABCG34* 基因 CDS 长 4 347 bp, 编码 1 448 个氨基酸 (图 2)。通过 SMART 在线网站对蛋白结构域进行预测, 结果显示, 该蛋白总体结构为 NBD-TMD-NBD-TMD, 属于 ABCG 家族典型的全分子转运蛋白 (图 3)。



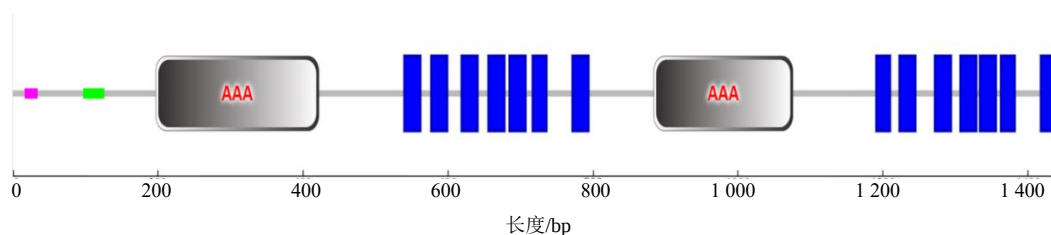
M-Marker: 1、2-*SmABC*G34 基因扩增产物。

M-Marker: 1, 2-*SmABC*G34

图 1 PCR 扩增 *SmABC34* 基因的电泳凝胶图

Fig. 1 Electrophoretic gel diagram of PCR amplification of

***SmABCG34* gene**



AAA 代表核苷酸结合域, 蓝色区域代表跨膜结构域。

AAA represents the nucleotide-binding domain, and the blue area represents the transmembrane domain.

图 3 SmABCG34 蛋白结构域

Fig. 3 SmABCG34 protein domain

3.2 SmABCG34 蛋白理化性质分析

通过 ExPASy-ProtParam 在线软件分析 SmABCG34 蛋白的理化性质, 结果表明, SmABCG34 蛋白的相对分子质量为 163 882.29, 理论等电点 (pI) 为 6.76, 带正电荷氨基酸残基 150 个, 带负电荷氨基酸残基 153 个, 不稳定性指数为 37.25, 该蛋白表现出较高的稳定性; 亲水性的平均值 (GRAVY) 为 0.042, 表明该蛋白整体具有疏水特性。对 SmABCG34 进行亚细胞定位预测, 结果

显示其定位在细胞膜。

3.3 SmABCG34 蛋白的二级、三级结构预测

SmABCG34 蛋白的二级结构预测分析表明(图 4), α -螺旋 (50.97%) 和无规则卷曲 (35.50%) 是其核心组成部分。此外, 其结构中还有 10.43% 的延伸链和 3.11% 的 β -折叠。使用 SWISS-MODEL 在线平台, 预测 SmABCG34 蛋白的三级结构 (图 5), 以 K7MZ72.1.A 为模板, SmABCG34 蛋白覆盖率 99%, 序列一致性为 72.54%。

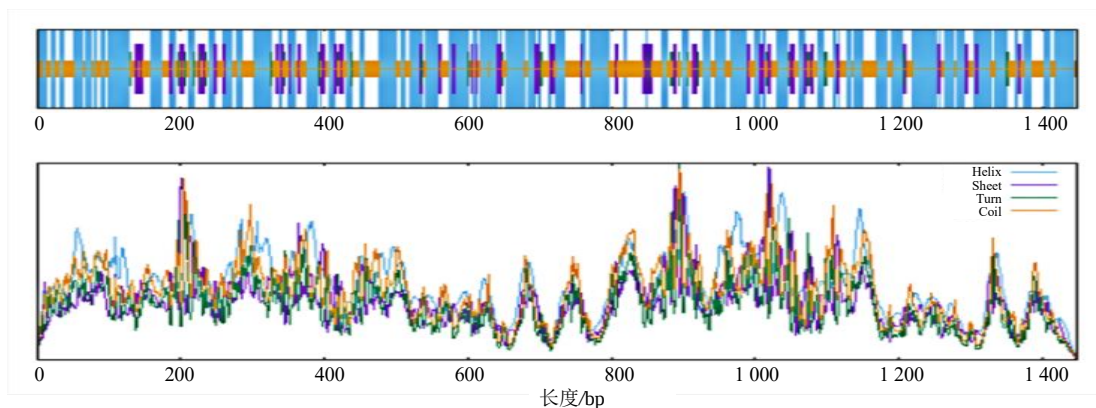


图 4 SmABCG34 蛋白二级结构

Fig. 4 Secondary structure of SmABCG34 protein

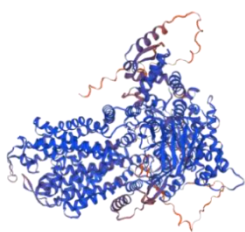


图 5 SmABCG34 蛋白三级结构

Fig. 5 Tertiary structure of SmABCG34 protein

3.4 SmABCG34 蛋白的跨膜结构域、信号肽分析

通过 TMHMM Server 在线网站预测 SmABCG34 蛋白跨膜区域, 结果显示 SmABCG34

蛋白包含 2 个跨膜结构域 (TMD), 第 1 部分跨膜区位于 540~794 氨基酸, 第 2 部分跨膜区位于 1 191~1 440 氨基酸, 每个跨膜结构域均由 7 个 α 螺旋组成, 这与该蛋白的保守结构域预测结果一致 (图 2、3), 是典型的 ABCG 家族特性 (图 6)。SmABCG34 蛋白信号肽的可能性为 0.000 4, 接近于 0, 推测 SmABCG34 没有信号肽 (图 7)。

3.5 SmABCG34 染色体分布和基因结构分析

对 SmABCG34 进行染色体定位分析, 发现该基因仅分布在 1 号染色体上 (图 8)。基因结构分析结果显示, SmABCG34 基因含有 20 个外显子 (图 9)。

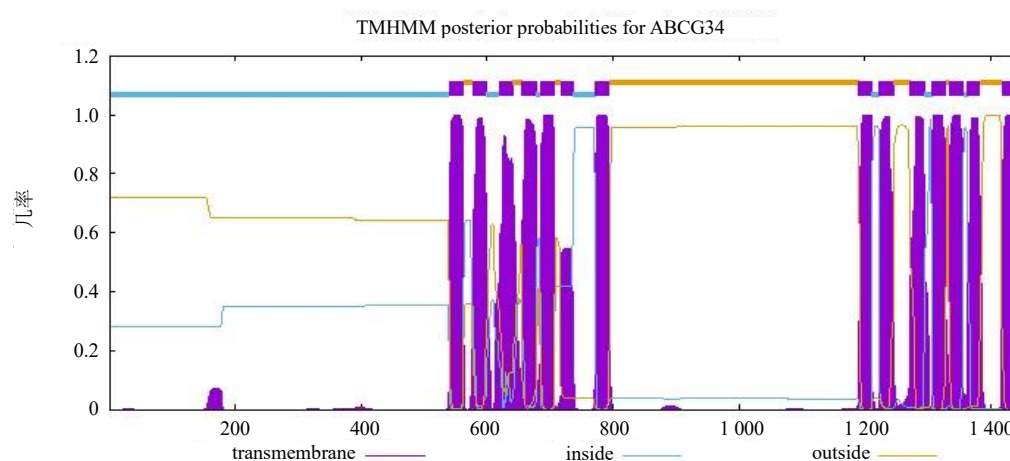


图 6 SmABCG34 蛋白跨膜结构域

Fig. 6 Transmembrane domain of SmABCG34 protein

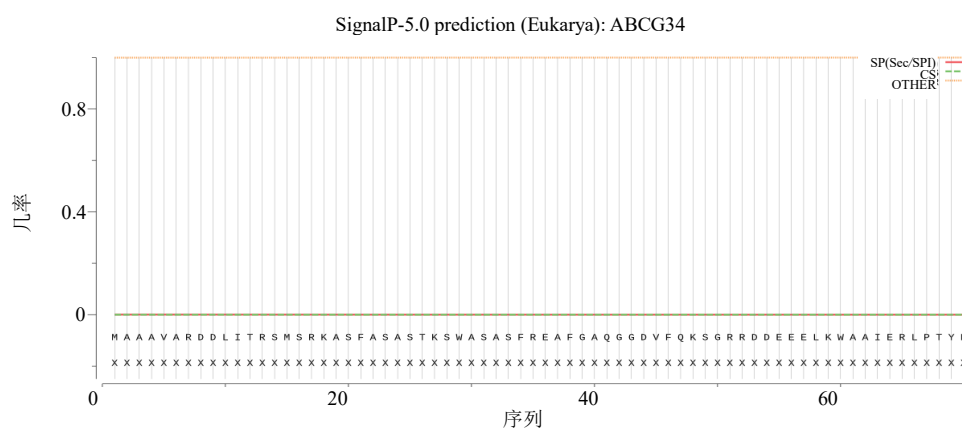


图 7 SmABCG34 蛋白信号肽

Fig. 7 Protein signal peptide of SmABCG34

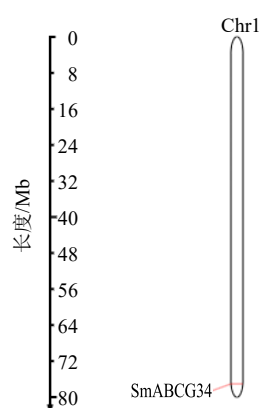


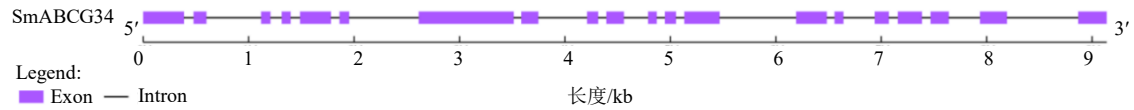
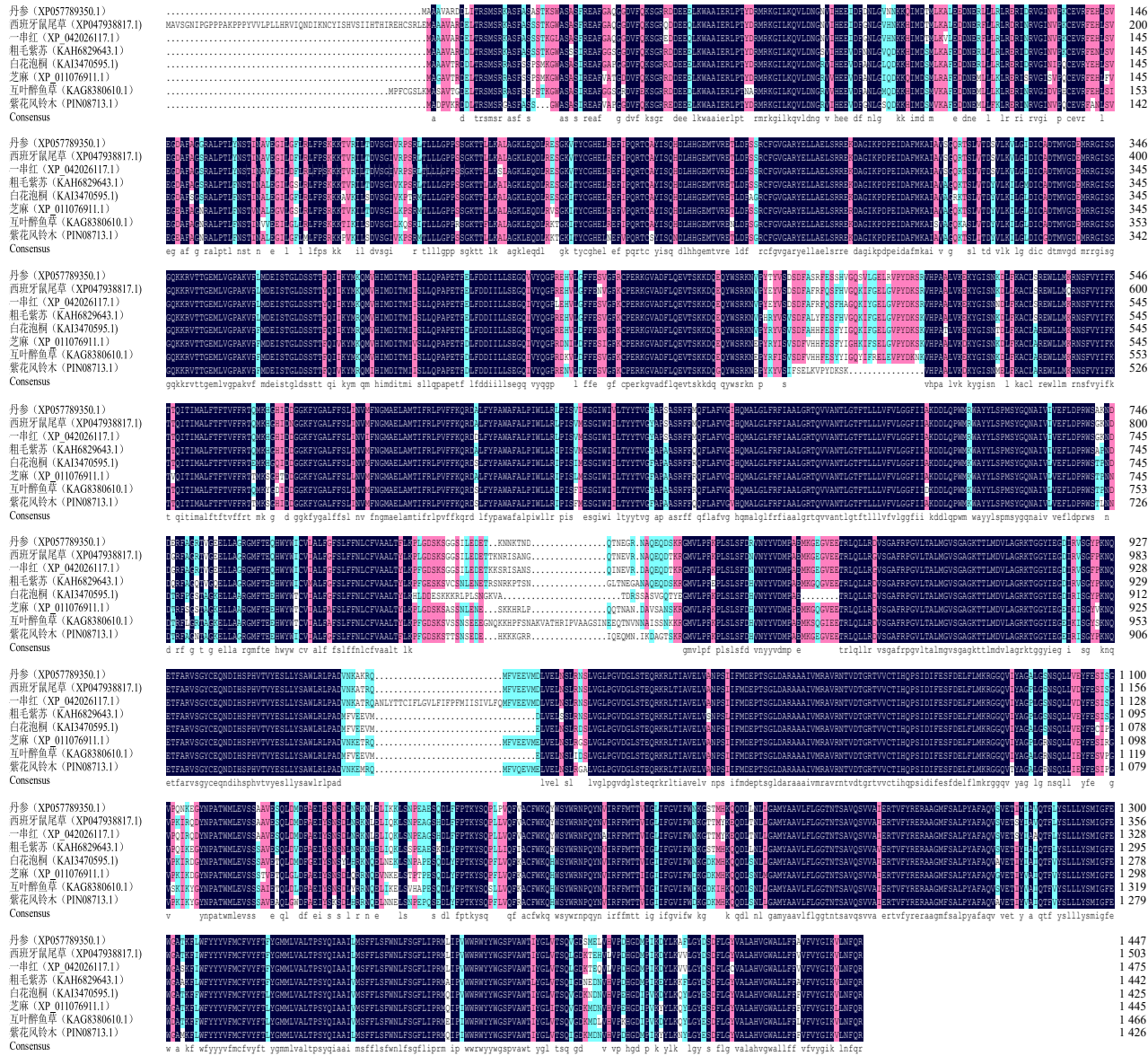
图 8 SmABCG34 的染色体分布

Fig. 8 Chromosomal distribution of SmABCG34

3.6 多重序列比对及系统进化树的构建

在 NCBI 数据库查找 SmABCG34 在其他植物中的同源氨基酸序列, 利用 DNAMAN 软件对包含

SmABCG34 在内的 8 个氨基酸序列进行同源性比对分析 (图 10)。结果显示 SmABCG34 与另外 7 个氨基酸序列具有较高的一致性, 其中与西班牙鼠尾草的一致性最高, 达 91.23%。利用 MEGA-X 软件对包含 SmABCG34 在内的 19 个氨基酸序列进行进化树分析, 结果显示丹参 SmABCG34 与西班牙鼠尾草 *Salvia hispanica* Ettling. ex Willk. & Lange 的 XP_047938817.1、一串红 *Salvia splendens* Ker Gawl 的 XP_042026117.1 和 XP_042026118.1、粗毛紫苏 *Perilla frutescens* var. *hirtella* (Nakai) Makino 的 KAH6829643.1 进化关系较近, 与拟绒毛烟草 *Nicotiana tomentosiformis* Goodsp 的 XP009628764.1、渐狭叶烟草 *Nicotiana attenuata* Torr. ex S. Watson 的 OIT30369.1、本氏烟草 *Nicotiana benthamiana* Domin 的 BAR94053.1、林烟草 *Nicotiana sylvestris* Speng 的 XP009763866.1 进化关系较远 (图 11)。

图 9 *SmABCG34* 的基因结构分析Fig. 9 Analysis of genetic structure of *SmABCG34*图 10 *SmABCG34* 氨基酸同源序列比对Fig. 10 Amino acid homologous sequence alignment of *SmABCG34*

3.7 *SmABCG34* 组织特异性表达分析

利用 qRT-PCR 检测 *SmABCG34* 基因在不同器官中的表达情况。结果表明 *SmABCG34* 基因在丹参的根、茎、叶和花中均有表达,说明 *SmABCG34* 可能在丹参的不同器官中均能发挥生物学功能。其中

SmABCG34 在花中的表达量最高,叶中次之,茎中最低,表明该基因具有组织表达特异性(图 12)。

3.8 *SmABCG34* 对不同植物激素和干旱胁迫的响应

通过分析 *SmABCG34* 启动子顺式作用元件发现,该基因启动子区域包含多个 ABA 响应元件、

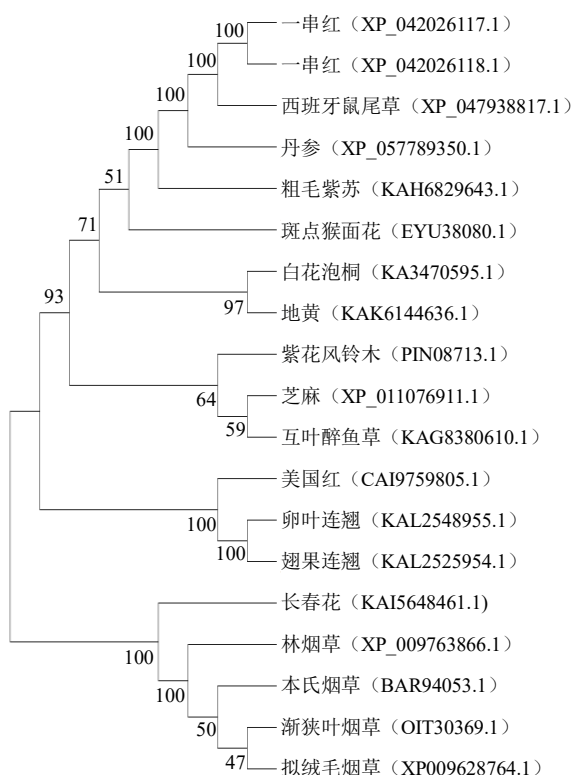


图 11 *SmABCG34* 与其他物种同源蛋白系统进化树分析
Fig. 11 Phylogenetic tree analysis of *SmABCG34* and homologous proteins of other species

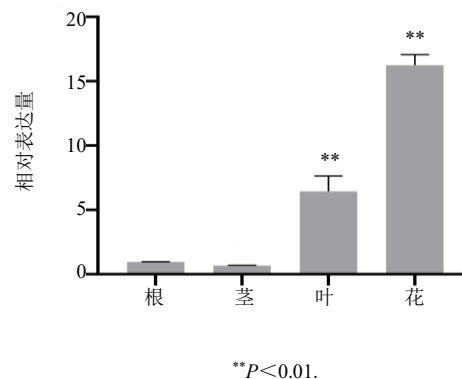
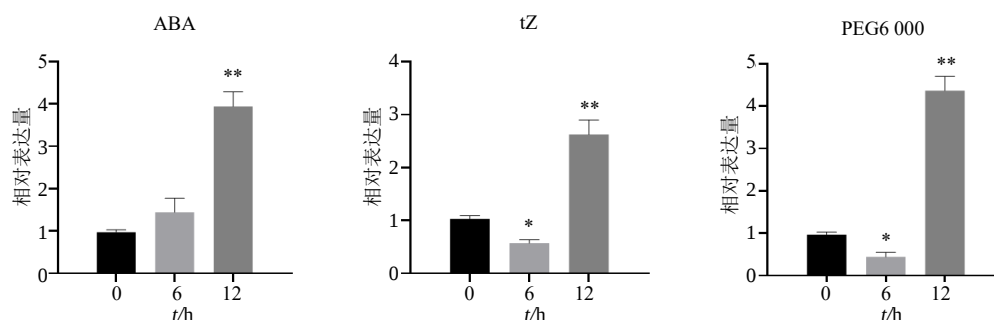


图 12 *SmABCG34* 基因在不同组织中的表达分析
Fig. 12 Expression analysis of *SmABCG34* gene in different tissues

参与玉米醇溶蛋白代谢和干旱胁迫调节顺式作用元件,表明该基因可能响应 ABA、tZ 和干旱胁迫。为了验证 ABA、tZ 和干旱对该基因的影响,以 100 $\mu\text{mol/L}$ 的 ABA、tZ 和 20% PEG-6000 分别处理丹参幼苗, qRT-PCR 检测处理 0、6、12 h 后该基因的表达情况。结果表明(图 13),随着 ABA 处理时间的增加, *SmABCG34* 的相对表达量呈逐渐上升的趋势。处理 12 h 时的相对表达量是 0 h 的 4 倍; tZ 处理后,其相对表达量在 0~6 h 显著下降, 6~12 h 显著上升,至 12 h 时表达量提升尤为显著(为 6 h 的 4.5 倍)。此外,该基因对 PEG-6000 的响应模式



与 0 h 比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ 。
* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$, vs 0 h.

图 13 不同植物激素和干旱胁迫处理下 *SmABCG34* 基因的表达分析

Fig. 13 Expression analysis of *SmABCG34* gene under different plant hormones and drought stress treatments

与对 tZ 的响应模式一致,都呈先下降后上升的趋势,处理 12 h 时相对表达量是 6 h 的 9.8 倍。结果表明, ABA、tZ、PEG-6000 处理均能显著影响 *SmABCG34* 的表达,提示该基因可能参与其诱导的生物学过程。

4 讨论

三磷酸腺苷结合盒转运蛋白 (ATP-binding

cassette, ABC) 是一类分布广、种类多、功能丰富的膜蛋白。在丹参中已鉴定出 114 个编码 ABC 的转运蛋白,并将他们分为 8 个亚家族,其中 ABCG 亚家族包含 46 个基因成员^[9],是 ABC 蛋白家族最庞大的亚族,可参与植物体内的代谢物质转运、介导激素类物质的运输,及逆境胁迫响应等过程^[11]。

本研究从丹参基因组中克隆获得 *SmABCG34* 基因, 该基因 CDS 长 4 347 bp, 编码 1 448 个氨基酸。对该基因的保守结构域进行分析, 结果表明, 其具有 2 个 NBD 和 2 个 TMD, 且按照 NBD-TMD-NBD-TMD 的顺序排列, 为 ABCG 家族中反式全分子转运蛋白的典型特征^{[19]-[20]}。蛋白质的生理功能通常与其在细胞内的位置具有相关性。研究表明, 烟草 NtPDR1 定位于细胞膜, 能够转运香紫苏醇、玛努醇和松柏烯等二萜类化合物^[21]; 青蒿中的 AaPDR12 也定位于细胞膜, 其过表达可通过提高内源 ABA 含量, 从而显著增加青蒿素的积累^[22]。丹参全分子转运蛋白 *SmABCG1*^[23] 被证实具有转运丹参酮II_A 和隐丹参酮的功能, 其亚细胞定位亦位于细胞膜。本研究中, *SmABCG34* 与以上 3 个全分子转运蛋白在亚细胞定位上具有一致性, 说明 *Sm ABCG34* 可能也参与丹参次生代谢产物的合成调控。

基因的组织差异表达与其功能密切相关。比如大豆 *GmABCG5L* 可能参与生殖与种子发育过程, 其在大豆各组织中均有表达, 但在花和荚中的表达量相对较高^[24]。拟南芥 *AtABCG5* 可以增强植物角质层渗透性, 减小角质层密度, 增加植物的抗逆性, 其在叶和花中表达较高^[25]。蒺藜苜蓿 *MtABCG56* 依靠 ATP 释放能量通过质膜运输细胞分裂素, 其主要在根中表达^[26]。矮牵牛花 *PhABCG1* 能促进芳香挥发物的分泌, 其主要在花瓣表皮中表达^[27]。本研究中 *SmABCG34* 在花中的表达最高, 丹参花中的主要活性成分之一为黄酮类, 且以黄酮类中的花青素为主^[28], 说明 *SmABCG34* 可能参与花器官的发育及其次生代谢物的合成。

ABA 是调控次生代谢网络的重要信号分子, 通过转录因子网络影响关键酶基因的表达^[29]。如外源施加 ABA 不仅显著抑制茶叶苯丙烷通路 *4CL*、*PAL* 基因的表达, 同时显著增加茶叶中黄酮类、花青素类等代谢产物的含量^[30]。在黄花蒿中, 过表达 *AaPDR4* 可提高内源 ABA 响应并显著增加青蒿素含量^[31]。本研究中, *SmABCG34* 在 ABA 处理下上调表达, 表明其可能响应 ABA 信号, 参与 ABA 介导的相关代谢物的合成调控。tZ 是主要的根源性细胞分裂素, 细胞分裂素类激素可与 ABA 信号通路交互影响次生代谢^[32]。本研究发现丹参幼苗受 tZ 处理后, *SmABCG34* 基因的表达量与对照组相比表现出明显变化, 说明 *SmABCG34* 可能参与脱落酸和细胞分裂素交互影响的次生代谢通路。ABCG 转运蛋

白家族在胁迫响应中具有重要作用, 部分成员可通过转运激素、抗氧化物质或次生代谢产物, 参与逆境信号传导与代谢调节^[33]。如拟南芥中转运蛋白 *AtABCG32* 可通过转运角质素前体参与角质层形成, 从而影响植物对干旱胁迫等的抵御能力^[34]。此外, 研究表明 ABA 水平在干旱胁迫响应中通常具有重要作用^[35], 如拟南芥 *AtABCG25* 可通过转运叶片细胞中的 ABA 提高水分利用率, 进而增强植物的抗旱性^[36]。本研究中, 干旱胁迫 12 h 时, *SmABCG34* 基因显著上调表达, 同时该基因也受 ABA 诱导, 提示该基因可能响应 ABA 信号通路调控次生代谢产物的合成, 增强植株的胁迫耐受性。本研究为后续进一步分析丹参 *SmABCG34* 转运蛋白与激素转运及活性成分积累之间的关系提供了重要依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 77.
- [2] Li Z M, Xu S W, Liu P Q. *Salvia miltiorrhiza* Burge (Danshen): A golden herbal medicine in cardiovascular therapeutics [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2018, 39(5): 802-824.
- [3] He G N, Chen G F, Liu W D, *et al.* Salvianolic acid B: A review of pharmacological effects, safety, combination therapy, new dosage forms, and novel drug delivery routes [J]. *Pharmaceutics*, 2023, 15(9): 2235.
- [4] Li Z B, Zou J, Cao D, *et al.* Pharmacological basis of tanshinone and new insights into tanshinone as a multitarget natural product for multifaceted diseases [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 130: 110599.
- [5] Ma X H, Ma Y, Tang J F, *et al.* The Biosynthetic Pathways of Tanshinones and Phenolic Acids in *Salvia miltiorrhiza* [J]. *Molecules*, 2015, 20(9): 16235-16254.
- [6] Wu S, Zhu B, Qin L, *et al.* Transcription Factor: A Powerful Tool to Regulate Biosynthesis of Active Ingredients in *Salvia miltiorrhiza* [J]. *Front Plant Sci*, 2021, 12: 622011.
- [7] Dhara A, Raichaudhuri A. ABCG transporter proteins with beneficial activity on plants [J]. *Phytochemistry*, 2021, 184: 112663.
- [8] Kotlyarov S, Kotlyarova A. Biological Functions and Clinical Significance of the ABCG1 Transporter [J]. *Biology (Basel)*, 2024, 14(1): 8.
- [9] Yan L, Zhang J H, Chen H Y, *et al.* Genome-wide analysis of ATP-binding cassette transporter provides insight to genes related to bioactive metabolite transportation in *Salvia miltiorrhiza* [J]. *BMC Genomics*, 2021, 22(1): 315-

- 315.
- [10] Huo X H, Pan A, Lei M Y, *et al.* Genome-wide characterization and functional analysis of ABCG subfamily reveal its role in cutin formation in cotton [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(3): 2379.
- [11] 孙洁婷, 敬雪皎, 赵丹妮, 等. 植物 ABCG 转运蛋白功能的研究进展 [J]. 科学通报, 2024, 69(14): 1866-1880.
- [12] Liu L P, Zhao L H, Chen P J, *et al.* ATP binding cassette transporters ABCG1 and ABCG16 affect reproductive development via auxin signalling in *Arabidopsis* [J]. *Plant J*, 2020, 102(6): 1172-1186.
- [13] Wang Y Y, Wang Y, Bai H F, *et al.* An ABCG-type transporter facilitates ABA influx and regulates camptothecin biosynthesis in *Camptotheca acuminata* [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(24): 16120.
- [14] Li H, Li Z Y, Yang K B, *et al.* Comparison analysis of ABCG subfamily in bamboo and the potential function of PeABCG15 in monolignol transport [J]. *Plant Physiol Biochem*, 2024, 217: 109278.
- [15] Banasiak J, Borghi L, Stec N, *et al.* The full-size ABCG transporter of *Medicago truncatula* is involved in strigolactone secretion, affecting arbuscular mycorrhiza [J]. *Front Plant Sci*, 2020, 11: 18.
- [16] Zhao J Z, Yu N N, Ju M, *et al.* ABC transporter OsABCG18 controls the shootward transport of cytokinins and grain yield in rice [J]. *J Exp Bot*, 2019, 70(21): 6277-6291.
- [17] Li Y J, Chen J F, Zhi J Y, *et al.* The ABC transporter SmABCG1 mediates tanshinones export from the peridermic cells of *Salvia miltiorrhiza* root [J]. *J Integr Plant Biol*, 2025, 67(1): 135-149.
- [18] Schmittgen T D, Livak K J. Analyzing real-time PCR data by the comparative C(T) method [J]. *Nat Protoc*, 2008, 3(6): 1101-1108.
- [19] Xiong J, Feng J M, Yuan D X, *et al.* Tracing the structural evolution of eukaryotic ATP binding cassette transporter superfamily [J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 16724.
- [20] 王梦龙, 翁灵灵, 吴淑英, 等. ABCG 转运蛋白参与植物雄性育性调控的研究进展 [J]. 植物科学学报, 2024, 42(3): 387-394.
- [21] Crouzet J, Roland J, Peeters E, *et al.* NtPDR1, a plasma membrane ABC transporter from *Nicotiana tabacum*, is involved in diterpene transport [J]. *Plant Mol Biol*, 2013, 82(1/2): 181-192.
- [22] 何倩. 青蒿转运蛋白基因 AaPDR12 的克隆与功能分析 [D]. 上海: 上海交通大学, 2018.
- [23] 李雅静. 丹参根中丹参酮类成分生物合成调控、转运机制及生理活性研究 [D]. 上海: 中国人民解放军海军军医大学, 2022.
- [24] 李彤. 大豆 GmABCG5L 基因铁转运的功能研究 [D]. 哈尔滨: 哈尔滨师范大学, 2023.
- [25] Lee E J, Kim K Y, Zhang J, *et al.* *Arabidopsis* seedling establishment under waterlogging requires ABCG5-mediated formation of a dense cuticle layer [J]. *New Phytol*, 2021, 229(1): 156-172.
- [26] Jarzyniak K, Banasiak J, Jamruszka T, *et al.* Early stages of legume-rhizobia symbiosis are controlled by ABCG-mediated transport of active cytokinins [J]. *Nat Plants*, 2021, 7(4): 428-436.
- [27] Adebisin F, Widhalm JR, Boachon B, *et al.* Emission of volatile organic compounds from petunia flowers is facilitated by an ABC transporter [J]. *Science*, 2017, 356(6345): 1386-1388.
- [28] 董润鑫, 徐芯, 李彦妮, 等. 丹参花总酚酸和花青素的含量测定 [J]. 四川农业科技, 2024, 43(9): 70-75.
- [29] Reshi ZA, Ahmad W, Lukatkin AS, *et al.* From Nature to Lab: A Review of Secondary Metabolite Biosynthetic Pathways, Environmental Influences, and In Vitro Approaches [J]. *Metabolites*, 2023, 13(8): 895.
- [30] Gai Z, Wang Y, Ding Y, *et al.* Exogenous abscisic acid induces the lipid and flavonoid metabolism of tea plants under drought stress [J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 12275.
- [31] Fu X, Liu H, Hassani D, *et al.* AaABCG40 Enhances Artemisinin Content and Modulates Drought Tolerance in *Artemisia annua* [J]. *Front Plant Sci*, 2020, 11: 950.
- [32] Huang X, Hou L, Meng J, *et al.* The Antagonistic Action of Abscissic Acid and Cytokinin Signaling Mediates Drought Stress Response in *Arabidopsis* [J]. *Mol Plant*, 2018, 11(7): 970-982.
- [33] Yazaki K. ABC transporters involved in the transport of plant secondary metabolites [J]. *FEBS Lett*, 2006, 580(4): 1183-1191.
- [34] Elejalde-Palmett C, Martinez San Segundo I, Garroum I, *et al.* ABCG transporters export cutin precursors for the formation of the plant cuticle [J]. *Curr Biol*, 2021, 31(10): 2111-2123.
- [35] Gupta A, Rico-Medina A, Caño-Delgado AI. The physiology of plant responses to drought [J]. *Science*, 2020, 368(6488): 266-269.
- [36] Kuromori T, Fujita M, Urano K, *et al.* Overexpression of *AtABCG25* enhances the abscisic acid signal in guard cells and improves plant water use efficiency [J]. *Plant Sci*, 2016, 251: 75-81.

[责任编辑 时圣明]