

• 药材与资源 •

虎杖 *PKS III* 基因家族全基因组鉴定及表达分析

胡 磔¹, 陈丽娜¹, 张云婷¹, 陈庆梅², 罗 超³, 邓爱平^{1*}, 余 坤^{1,4*}

1. 湖北中医药大学药学院, 湖北 武汉 430070
2. 湖北省中医院, 湖北 武汉 430061
3. 湖北福人药业股份有限公司, 湖北 通城 437400
4. 湖北中医药大学 中药资源与中药化学湖北省重点实验室, 湖北 武汉 430060

摘要: **目的** 鉴定虎杖 *Polygonum cuspidatum* *PKS III* 基因组家族成员, 对其进行生物信息学分析、表达特征分析, 并明确其表达量与虎杖药材有效成分含量的关系。 **方法** 依据虎杖基因组数据, 鉴定虎杖 *PKS III* 基因家族成员, 分析其蛋白理化性质、二级结构、系统发育和保守基序等特征, 利用转录组数据分析其表达特征, 研究表达量与药材有效成分相关性。 **结果** 虎杖全基因组中共鉴定出 73 个 *PKS III* 成员, 不均匀地分布在 20 条染色体上; 亚细胞定位预测显示, 大部分 *PKS III* 定位于细胞质中, 小部分定位于质膜上。系统发育分析表明, 73 个 *PKS III* 被分为 3 大类, 同一类中的 *PKS III* 拥有相同的保守结构域。通过启动子顺式作用元件分析, 虎杖 *PKS III* 基因具有多种激素响应、光响应和生长发育响应元件。表达特征分析显示, *PKS III* 基因在虎杖药材根及根茎的 5 个组织中存在较大表达差异, *PKS32*、*PKS42* 在所有组织中的表达量均显著高于其他基因, 在根茎髓部表达量最高; 相关性分析发现 *PKS3*、*PKS8*、*PKS21*、*PKS44*、*PKS58*、*PKS61* 与虎杖苷、大黄素甲醚含量呈显著正相关; *PKS27*、*PKS56*、*PKS69* 与白藜芦醇和大黄素含量呈显著正相关; *PKS32* 和 *PKS42* 与大黄素甲醚含量呈显著正相关。 **结论** 鉴别出 73 个虎杖 *PKS III* 家族成员, 部分成员基因表达量与虎杖药材有效成分含量具有显著相关性, 为后续研究虎杖 *PKS III* 基因功能、阐明虎杖蒽醌类、二苯乙烯类及黄酮类成分的生物合成机制提供基础。

关键词: 虎杖; 基因家族; 聚酮合酶; 生信分析; 基因表达; 白藜芦醇; 大黄素

中图分类号: R282.12 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2026)05-1841-12

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.05.021

Genome-wide identification and expression analysis of *PKS III* gene family in *Polygonum cuspidatum*

HU Die¹, CHEN Lina¹, ZHANG Yunting¹, CHEN Qingmei², LUO Chao³, DENG Aiping¹, YU Kun^{1,4}

1. College of Pharmacy, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430070, China
2. Hubei Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Wuhan 430061, China
3. Hubei Furen Pharmaceutical Co., Ltd., Tongcheng 437400, China
4. Hubei Key Laboratory of TCM Resources and Chemistry, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430060, China

Abstract: Objective To identify the genome-wide family members of type III polyketide synthase (*PKS III*) and conduct bioinformatics analysis and expression profile analysis and clarify the relationship between their expression and the content of active components of Huzhang (*Polygonum cuspidatum*). **Methods** Based on the genome data of *P. cuspidatum*, the members of *PKS III* gene family were identified. Subsequently, the characteristics of these members were analyzed, including the physicochemical properties of their encoded proteins, secondary structure, phylogeny, and conserved motifs. Transcriptome data were further used to analyze their expression profiles, and the correlation between the expression levels of these *PKS III* genes and the active components was investigated. **Results** A total of 73 *PKS III* members were identified in the whole genome of *P. cuspidatum*, which were unevenly distributed on 20 chromosomes. Subcellular localization prediction indicated that most *PKS III* members were localized in the cytoplasm, while a small portion were localized on the plasma membrane.

收稿日期: 2025-10-02

基金项目: 湖北省自然科学基金资助项目 (2023AFD122); 湖北省高等学校优秀中青年科技创新团队计划 (T2022020)

作者简介: 胡 磔 (1999—), 女, 湖北黄冈, 硕士研究生, 研究方向为中药资源与品质研究。E-mail: Dhu_sim@163.com

*通信作者: 邓爱平, 女, 博士, 讲师, 从事中药资源与品质研究。E-mail: apdeng3337@hbucm.edu.cn

余 坤 (1980—), 男, 博士, 教授, 从事中药资源与品质研究。E-mail: yukun_hbctcm@163.com

Phylogenetic analysis revealed that they were clustered into three major groups, and members within the same group shared identical conserved domains. Analysis of promoter cis-acting elements demonstrated that the *PKS III* genes contained various elements responsive to hormones, light, and growth and development. Expression profile analysis showed significant differences in the expression of *PKS III* genes among five tissues of roots and rhizomes of *P. cuspidatum*. Specifically, the expression levels of *PKS32* and *PKS42* were significantly higher than those of other genes in all tissues, with the highest expression detected in the rhizome pith. Correlation analysis indicated that *PKS3*, *PKS8*, *PKS21*, *PKS44*, *PKS58*, and *PKS61* exhibited a significant positive correlation with the contents of polydatin and physcion, and *PKS27*, *PKS56*, and *PKS69* showed a significant positive correlation with the contents of resveratrol and emodin; and *PKS32* and *PKS42* displayed a significant positive correlation with the content of physcion. **Conclusion** A total of 73 *PKS III* family members were identified, and the expression levels of some members correlated significantly with the contents of active components in *P. cuspidatum* roots and rhizomes. This study provides a foundation for subsequent research on the functions of *PKS III* genes and for elucidating the biosynthetic mechanisms of anthraquinones, stilbenes, and flavonoids in *P. cuspidatum*.

Key words: *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc.; gene family; polyketide synthase; bioinformatics analysis; gene expression; resveratrol; emodin

聚酮类化合物(polyketides, PK)是一类由细菌、真菌、植物等产生的结构复杂且具有显著生理活性的天然次生代谢产物,被广泛应用于抗真菌、抗肿瘤和免疫抑制等方面^[1]。聚酮合酶(polyketide synthases, PKS)是催化聚酮化合物合成的关键酶,可分为I、II和III型。I型PKS为模块化多功能酶复合体,主要合成大环内酯类抗生素;II型PKS主要由离散蛋白组成,通常负责合成芳香类化合物,I型和II型PKS仅存在于细菌与真菌中;III型PKS(PKS III)多存在于植物中,是相对分子质量为40 000~45 000的同源二聚体蛋白^[2]。当前大部分聚酮化合物生物合成途径虽尚未明确,但可以确定III型PKS常催化丙二酰辅酶A与起始底物辅酶A中的乙酰基缩合形成聚酮骨架结构,是植物体内聚酮化合物合成的关键酶^[3-4]。当前在植物中鉴定与分离得到的III型PKS已有20多种,根据其催化产物的结构可分为查尔酮合酶(chalcone synthase, CHS)和类CHS超家族(chalcone synthase-like, CHSL),CHSL包括芪类合酶(stilbene synthase, STS)、八聚酮合酶(octaketide synthase, OKS)、联苄合酶(bibenzyl synthase, BBS)和橄榄醇合成酶(olivetol synthases, OLS)等,其中CHS的催化途径研究的较为透彻,主要参与植物体内类黄酮类化合物的合成^[4-6]。PKS III的功能因起始底物和环化反应的差异而有所不同。CHS以4-香豆酰辅酶A为起始底物,随后通过克莱森型环化反应生成芳香族聚酮化合物柚皮素查耳酮,其为类黄酮化合物生物合成的前体;STS同样以4-香豆酰辅酶A为起始底物,但后续环化反应为分子内醛醇缩合反应,最后生成白藜芦醇^[6-7]。

虎杖 *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc.是蓼

科多年生草本植物,以干燥根茎和根入药,具有利湿退黄、清热解毒、散瘀止痛、止咳化痰之功效。现代研究认为虎杖主要包含蒽醌类、黄酮类、苯丙素类和萜类等化学成分,这些化学成分在虎杖中发挥抗炎、抗病毒、抗菌的药理作用^[8]。蒽醌类化合物是虎杖主要的醌类成分之一,虎杖体内常见的蒽醌类化合物有大黄素、大黄素甲醚、大黄酚等^[9-10]。一般认为甲羟戊酸(mevalonate pathway, MVA)途径、2-C-甲基-D-赤藓醇-4-磷酸(2-C-methyl-D-erythritol-4-phosphate, MEP)途径和莽草酸途径是虎杖中蒽醌类化合物的主要合成途径。作为PKS III超家族的一员,OKS被认为是虎杖中蒽醌类化合物合成的关键酶,能在体外催化八分子丙二酰辅酶A缩合生成非生理折叠的芳香族八酮混合物^[11]。此外,虎杖中的III型PKS还参与虎杖体内黄酮类化合物和苯丁烷类化合物的生物合成^[12]。

目前虎杖 *PKS III* 基因家族研究较少,成员信息不清。本研究在虎杖全基因组水平上鉴定并分析该家族成员,对其蛋白理化性质、系统发育关系、染色体定位等信息进行系统分析,并对其在虎杖药材不同组织的表达模式及其与虎杖药材有效成分含量进行关联分析,以揭示其对药材有效成分生物合成的可能贡献,为后续阐明虎杖蒽醌类、二苯乙烯类及黄酮类成分的生物合成机制提供基础。

1 材料与仪器

1.1 材料

本研究使用的样品采于湖北中医药大学药植园,经湖北中医药大学余坤教授鉴定为蓼科植物虎杖 *P. cuspidatum* Sieb. et Zucc., 采集后迅速冷冻于液氮中,随后保存于-80 °C冰箱中。

1.2 仪器

Nanodrop 2000 超微量分光光度计 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司); StepOnePlus 荧光定量 PCR 仪 (美国 Applied Biosystems 公司); SteadyPure 植物 RNA 提取试剂盒 (湖南艾科瑞生物工程有限公司); ABScript Neo RT Master Mix for qPCR with gDNA Remover (武汉爱博泰克生物有限公司); BrightCycle Universal SYBR Green qPCR Mix with UDG (武汉爱博泰克生物有限公司)。

2 方法

2.1 基因家族鉴定

虎杖基因组数据为本课题组自测 (NGDC 登录号 PRJCA032970)。使用 HMM 搜索和本地 Blast 相结合的方式对基因家族成员的鉴定。在 Pfam 数据库 (<https://pfam.xfam.org>) 中下载 PKS III 的隐马尔可夫模型 (hidden Markov model, HMM) 文件 (PF02797), 使用 TBtools 的 Simple HMM Search 工具对虎杖基因组所有蛋白序列进行保守序列筛选 (E 值 < 0.05), 获得候选基因家族成员。本地 Blast 以当前已发表的虎杖 PKS III 基因 (MN708050) 为种子序列, E 值阈值设定为 1×10^{-10} , 经 BLASTp 搜索比对后获得同源蛋白序列。结合 hmmsearch 与 BLASTp 结果, 利用 SMART 和 CDD 数据库进行 PKS III 结构域确认后获得基因家族成员。

2.2 基因家族理化性质分析

使用 ExPASy 在线工具 (<http://web.expasy.org/protparam/>) 对虎杖 PKS III 蛋白的理化性质, 包括等电点、氨基酸数和不稳定系数等进行分析; 通过 Cell-Ploc 网站 (<http://www.csbio.sjtu.edu.cn/bioinf/Cell-PLoc-2/>) 对蛋白进行亚细胞分布预测; 使用 SOPM 网站 (<https://npsa-prabi.ibcp.fr/>) 预测蛋白质二级结构; 使用 TMHMM v2.0 网站 (<http://www.Services.healthtech.dtu.dk/services/TMHMM-2.0/>) 预测跨膜结构域。

2.3 染色体定位及共线性分析

基于虎杖全基因组注释信息, 利用 TBtools 中 Gene Location Visualize 工具进行染色体位置可视化分析。利用 TBtools 中 Advanced Circos 和 Multiple Synteny Plot 工具分析虎杖物种内及其与拟南芥物种间的共线性关系。

2.4 基因家族系统进化分析

使用 MEGA 软件对虎杖、拟南芥、水稻和香蕉等 5 种的 PKS III 蛋白序列进行多重序列比对, 通

过邻接法进行系统进化分析, 并利用在线软件 iTOL (<https://itol.embl.de/>) 对系统进化树进行可视化分析。

2.5 基因结构分析

使用在线网站 MEME (<https://meme-suite.org>) 进行保守基序分析, 使用 TBtools 中 Visualize Motif Pattern 工具进行保守基序位置及分布的可视化。利用 TBtools 中 Visualize Gene Structure 工具将基因编码区及非编码区进行可视化。使用在线工具 Conserved Domain (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>) 进行蛋白保守结构域分析, 利用 TBtools 中 Visualize Domain Pattern 进行蛋白保守结构域可视化。

2.6 顺式作用元件分析

利用 TBtools 中 Gtf/Gff3 Sequences Extract 工具提取 PKS III 基因起始密码子上游 2 000 bp 序列, 利用在线网站 PlantCARE (<https://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>) 对其进行顺式作用元件预测分析。

2.7 表达模式分析

结合虎杖药材不同部位转录组数据, 分析虎杖药材根皮部、根木部、根茎皮部、根茎木部、根茎髓部 5 个部位的 FPKM 值, 并计算出各部位 3 个生物学重复的平均值, 随后利用 TBtools 中 HeatMap Illustrator 工具绘制 PKS III 的表达模式热图。

2.8 基因家族成员基因表达与药材有效成分含量相关性分析

虎杖药材不同部位有效成分含量数据来自课题组前期研究, 结合虎杖 PKS III 基因在虎杖药材不同部位表达量进行 Pearson 分析 ($P < 0.05$ 时认为显著相关)。利用 TBtools 中 HeatMap Illustrator 工具绘制 PKS III 与虎杖药材有效成分含量的相关性热图。

通过实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 验证 PKS III 基因表达模式。引物由 Primer 6.0 设计 (表 1), 选取 *EF-1 γ* 为内参基因。采用 10 μ L 的 qRT-PCR 反应体系: Bright Cycle Universal SYBR Green q PCR Mix with UDG 5.0 μ L, cDNA 1.0 μ L, 正反引物各 0.2 μ L, 用 ddH₂O 补至 10 μ L。反应程序: 37 $^{\circ}$ C 进行 UDG 反应 2 min, 95 $^{\circ}$ C 预变性 3 min, 95 $^{\circ}$ C 变性 5 s, 60 $^{\circ}$ C 延伸 30 s, 40 个循环。每组设 3 个生物学重复, 采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法进行计算得到 PKS III 的相对表达量。

表1 qRT-PCR引物
Table 1 qRT-PCR primers

引物	序列 (5'-3')
<i>EF-1γ-F</i>	GTCATCCCTGATTGATTACGC
<i>EF-1γ-R</i>	GTGGGCAATAAAGCCAAGAC
<i>PKS27-Q-F</i>	CCAGACTATCCAGGTGGTCC
<i>PKS27-Q-R</i>	CTTCTCCAGTGGTTGCTTGAC
<i>PKS56-Q-F</i>	CAATTGCACGTACCAAGCCGA
<i>PKS56-Q-R</i>	CTTGACATGTTTCCATAGTCGTTT

3 结果与分析

3.1 虎杖 *PKS III* 基因家族鉴定与理化性质分析

参考已报道的虎杖 *PKS III* 基因序列，基于本地 Blast 和已报道的 *PKS* 家族保守结构域 (PF02797) 分析，从虎杖全基因组中共鉴定出 73 个

成员，将其命名为 *PKS1~PKS73* (表 2)。理化性质分析显示 73 个 *PKS III* 蛋白的氨基酸数目在 155~699 aa，相对分子质量在 17 460~76 780，蛋白理论等电点介于 5.12~10.42。蛋白的不稳定指数为 24.97~60.89，脂肪系数在 36.17~104.96，亲水性总平均范围为-0.763~0.30，其中 67 个为亲水性蛋白。亚细胞定位预测结果显示 38 个成员定位于质膜上，其它定位于细胞质中。二级结构主要由 α -螺旋、延伸链、 β -折叠和无规则卷曲组成，依次平均占比为 45.33%、12.48%、4.90%和 36.94%。其中 *PKS18* 以 α -螺旋占比最高 (55.70%)，*PKS45* 以延伸链和 β -折叠占比最高 (分别为 18.72%和 7.76%)，*PKS39* 以无规则卷曲占比最高 (51.36%)。对虎杖 *PKS III* 进行跨膜结构域预测，41 个 *PKS III* 基因有跨膜结构域 (表 2)。

表2 虎杖 *PKS III* 基因家族成员理化性质

Table 2 Physicochemical properties of *PKSIII* gene family members in *P. cuspidatum*

基因	氨基酸数/aa	相对分子质量	理论等电点	不稳定指数	脂肪指数	总平均亲水系数	亚细胞定位	跨膜结构域
<i>PKS1</i>	352	39.09	6.47	40.11	81.73	-0.171	细胞质	0
<i>PKS2</i>	462	51.89	9.42	45.76	92.06	-0.064	质膜	1
<i>PKS3</i>	393	43.25	5.83	34.02	36.17	-0.165	细胞质	0
<i>PKS4</i>	393	43.42	7.64	46.51	95.78	-0.095	细胞质	0
<i>PKS5</i>	389	42.81	8.06	34.35	90.93	-0.117	质膜	0
<i>PKS6</i>	484	53.96	8.83	47.32	91.47	-0.040	细胞质	1
<i>PKS8</i>	392	43.15	5.71	35.95	87.32	-0.137	细胞质	1
<i>PKS9</i>	513	57.66	9.42	38.06	91.38	-0.063	质膜	0
<i>PKS7</i>	462	51.49	9.31	42.27	98.59	0.008	质膜	2
<i>PKS10</i>	292	32.57	9.22	29.20	89.18	-0.236	质膜	0
<i>PKS11</i>	397	44.40	8.92	31.08	93.30	-0.132	质膜	1
<i>PKS12</i>	388	42.38	5.79	30.89	93.04	0.019	细胞质	0
<i>PKS13</i>	391	43.35	5.90	36.48	85.55	-0.118	细胞质	0
<i>PKS14</i>	699	76.78	9.38	42.44	89.41	-0.041	质膜	3
<i>PKS15</i>	371	43.50	6.33	39.67	83.30	-0.164	细胞质	0
<i>PKS16</i>	244	26.86	5.34	39.96	100.74	-0.047	细胞质	0
<i>PKS17</i>	513	57.71	9.04	44.83	92.18	-0.111	质膜	2
<i>PKS18</i>	465	52.81	9.64	28.32	98.56	-0.089	细胞质	2
<i>PKS19</i>	468	54.26	8.43	41.48	91.92	-0.104	质膜	2
<i>PKS20</i>	347	37.90	6.52	43.28	98.91	-0.027	质膜	0
<i>PKS21</i>	393	43.25	5.96	35.81	86.08	-0.172	细胞质	0
<i>PKS22</i>	462	51.87	9.42	44.40	92.27	-0.058	质膜	1
<i>PKS23</i>	397	44.35	8.92	30.59	93.30	-0.127	质膜	1
<i>PKS24</i>	391	43.31	6.28	38.87	89.77	-0.124	细胞质	0
<i>PKS25</i>	514	57.78	9.34	38.79	92.16	-0.049	质膜	2
<i>PKS26</i>	397	44.35	8.82	30.21	93.55	-0.125	质膜	1
<i>PKS27</i>	255	28.55	9.20	43.68	55.49	-0.763	细胞质	0
<i>PKS28</i>	503	56.98	9.32	44.90	92.84	-0.154	质膜	3
<i>PKS29</i>	456	51.24	27.00	35.49	95.37	-0.037	细胞质	2
<i>PKS30</i>	465	52.47	8.75	40.99	93.74	-0.146	质膜	0
<i>PKS31</i>	155	17.46	7.73	51.71	85.03	-0.374	质膜	0
<i>PKS32</i>	392	43.03	5.79	40.29	85.79	-0.165	细胞质	0
<i>PKS33</i>	514	57.78	9.34	39.11	92.33	-0.043	质膜	2
<i>PKS34</i>	381	41.60	5.98	41.10	91.39	-0.162	细胞质	0

表 2 (续)

基因	氨基酸数/aa	相对分子质量	理论等电点	不稳定指数	脂肪指数	总平均亲水系数	亚细胞定位	跨膜结构域
PKS35	499	55.78	9.46	33.94	91.28	0.005	质膜	3
PKS36	520	57.54	9.28	42.20	87.23	-0.277	质膜	0
PKS37	458	52.42	8.74	36.44	91.53	-0.191	质膜	0
PKS38	480	53.55	9.17	36.73	90.60	-0.074	质膜	2
PKS39	220	24.72	10.42	60.89	87.27	-0.490	细胞质	0
PKS40	522	58.67	9.29	34.51	91.76	-0.122	质膜	3
PKS41	318	34.68	6.20	36.44	92.67	-0.109	细胞质	0
PKS42	404	44.53	5.63	34.02	91.91	-0.161	细胞质	0
PKS43	510	57.11	9.42	28.34	94.82	-0.036	质膜	2
PKS44	393	43.27	5.91	39.71	87.61	-0.138	细胞质	0
PKS45	219	24.17	6.85	49.27	87.67	-0.339	细胞质	0
PKS46	512	57.93	9.18	37.44	94.08	-0.048	质膜	2
PKS47	469	52.50	8.75	43.28	91.68	-0.173	质膜	0
PKS48	415	46.10	6.07	41.99	99.69	0.300	细胞质	1
PKS49	515	57.71	9.14	41.79	95.25	-0.031	质膜	3
PKS50	391	43.35	5.90	36.85	86.06	-0.121	细胞质	0
PKS51	389	42.93	6.51	36.81	95.78	-0.044	细胞质	0
PKS52	457	51.07	9.20	26.91	90.44	-0.077	质膜	1
PKS53	567	63.67	9.24	42.81	92.86	-0.033	质膜	3
PKS54	512	57.89	9.30	37.45	94.45	-0.063	质膜	2
PKS55	446	50.62	8.64	32.22	93.77	-0.085	质膜	3
PKS56	253	28.02	10.04	34.29	68.26	-0.452	细胞质	0
PKS57	391	43.32	6.09	34.37	84.78	-0.136	细胞质	0
PKS58	392	43.11	6.61	37.23	88.83	-0.126	细胞质	0
PKS59	397	42.78	5.80	40.82	91.18	-0.113	细胞质	0
PKS60	232	43.25	5.12	24.97	104.96	0.212	细胞质	0
PKS61	393	43.25	5.83	36.17	76.34	-0.165	细胞质	0
PKS62	515	58.18	9.37	45.85	90.29	-0.201	质膜	3
PKS63	503	55.46	9.02	44.02	102.35	0.138	质膜	2
PKS64	385	42.39	6.36	33.04	94.73	-0.050	细胞质	0
PKS65	530	59.13	9.06	41.30	94.19	-0.067	质膜	2
PKS66	672	75.13	9.47	37.79	87.40	-0.293	质膜	2
PKS67	321	35.33	5.27	33.17	90.22	-0.030	细胞质	0
PKS68	391	43.31	6.09	34.69	83.30	-0.147	细胞质	0
PKS69	365	40.92	9.51	40.78	71.59	-0.481	细胞质	0
PKS70	352	39.23	9.32	29.25	92.53	-0.089	质膜	0
PKS71	321	35.32	5.27	32.94	90.53	-0.035	细胞质	0
PKS72	464	52.45	8.56	42.09	92.24	-0.152	质膜	0
PKS73	515	57.65	9.14	42.16	94.25	-0.038	质膜	3

3.2 虎杖 PKS III 染色体定位及共线性分析

染色体定位分析结果表明 73 个 *PKS III* 基因不均匀分布在 1~4 号、6~16 号、18~22 号染色体上 (图 1), 其中 1 号染色体上分布最多, 有 9 个; 10、20、21、22 号染色体上均只有 1 个。物种内共线性分析结果表明, *PKS III* 家族基因在全基因组范围内存在 24 对共线性对, 其中 1、2、3、4、6、11、

12 和 13 号染色体上均有串联复制基因对 (图 2-A)。物种间共线性分析显示, 虎杖共有 21 个 *PKS III* 基因分别与 11 个拟南芥 *PKS III* 基因存在共线性关系, 其中有 4 个 *PKS III* 基因分别与拟南芥中的 2 个基因存在共线性关系, 推测这 4 个基因可能在虎杖 *PKS III* 基因家族进化过程中具有重要作用 (图 2-B)。

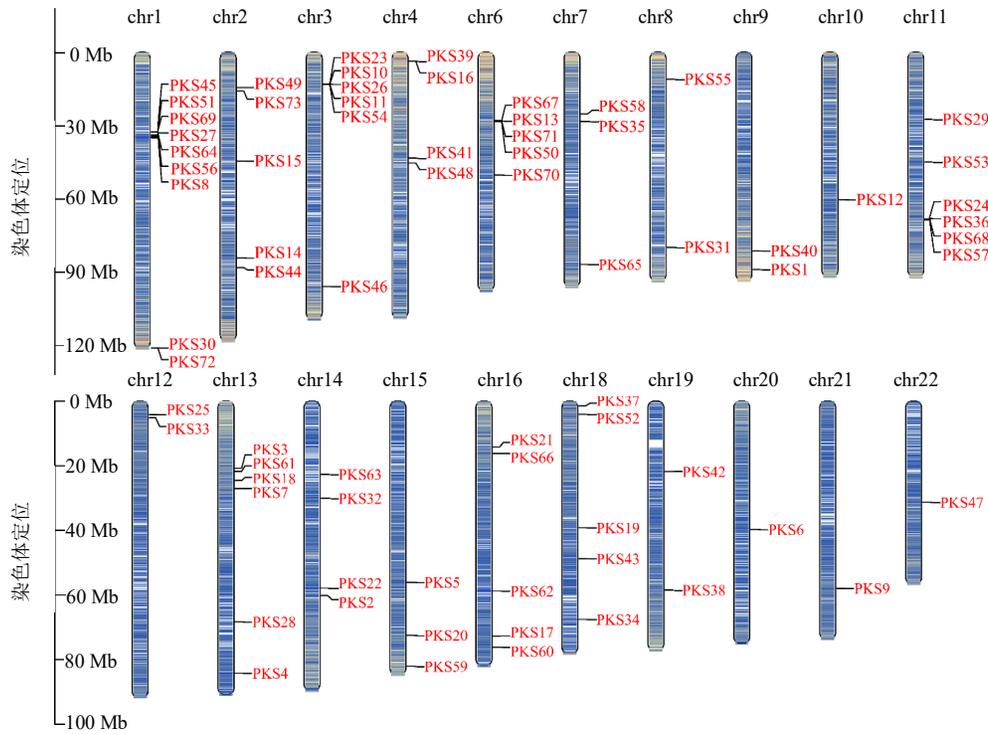


图 1 虎杖 PKS III 基因家族染色体定位

Fig. 1 Chromosomal localization of PKS III gene family in *P. cuspidatum*

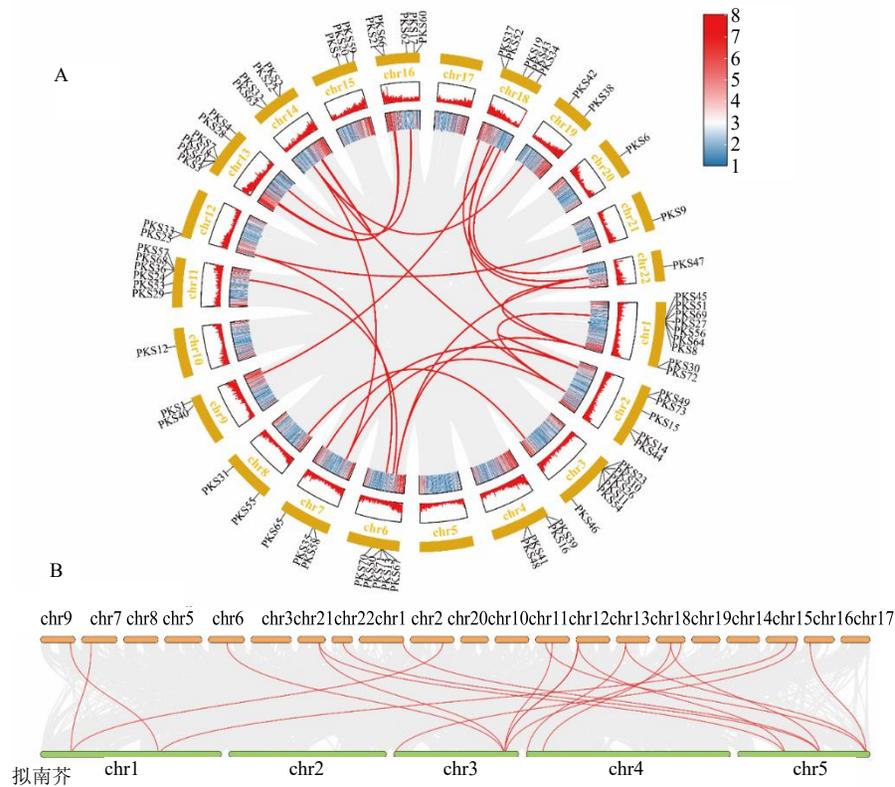


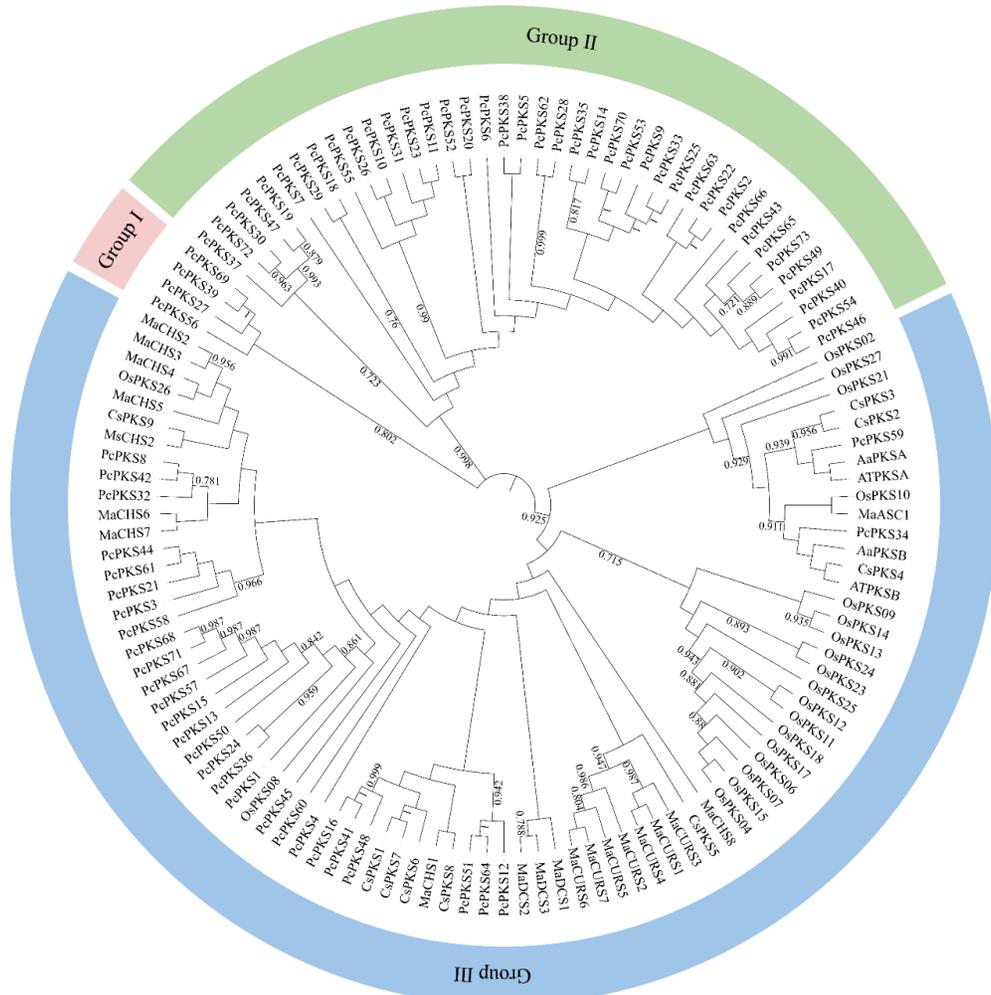
图 2 虎杖 PKS III 基因家族种内 (A) 及种间 (B) 共线性分析

Fig. 2 Collinearity of PKS III gene family in *P. cuspidatum* within species (A) and between species (B)

3.3 虎杖 *PKS III* 基因家族系统进化分析

为明确 *PKS III* 与其他植物物种 *PKS III* 之间的进化关系，将鉴定出的 73 条 *PKS III* 蛋白序列与目前已被报道的拟南芥、水稻、香蕉等物种中的 *PKS III* 蛋白序列^[5,13-14]进行序列比对并构建系统进化树（图 3）。结果表明，*PKS III*

基因可被划分为 3 组，分别命名为 Group I、Group II 和 Group III。其中 Group II 和 Group III 均为 *PKS III* 单独聚为 1 个分支，Group II 中有 40 个 *PKS III* 基因，Group III 中有 4 个 *PKS III* 基因，Group I 中 *PKS III* 基因多与 MaCHS 和 MsCHS 聚为 1 个亚支。



At-拟南芥；Os-水稻；Ma-香蕉；Cs-汉麻；Aa-猕猴桃；MS-紫花苜蓿。

At-*Arabidopsis thaliana*, Os-*Oryza sativa*, Ma-*Musa acuminata*, Cs-*Cannabis sativa*, Aa-*Actinidia arguta*, Ms-*Medicago sativa*.

图 3 虎杖 *PKS III* 基因家族系统进化树

Fig. 3 Phylogenetic tree of *PKS III* gene family in *P. cuspidatum*

3.4 虎杖 *PKS III* 基因家族基因结构分析

对鉴定得到的 73 个 *PKS III* 进行保守基序分析，结果显示在 *PKS III* 蛋白中，共鉴定出 10 个不同的基序，将其命名为 motif1~motif10（图 4-A、B）。所有 *PKS III* 都包含 motif1 结构，说明 motif1 是 *PKS III* 基因家族成员发挥功能的重要结构。*PKS III* 蛋白保守基序的组成具有一定差异，不同的 *PKS III* 蛋白含有不同的保守基序，但同源性较高的蛋白具有相同的保守基序，如

Group I 中除 *PKS10*、*PKS11*、*PKS23*、*PKS26*、*PKS54*（均缺少 motif8 和 motif10）和 *PKS31*（缺少 motif6）外，其他蛋白质均含有相同的保守基序。保守结构域分析发现，73 个 *PKS III* 均具有 *PKS* 的保守结构域（Ketoacyl_synt_C superfamily）（图 4-A）。外显子、内含子分析发现，*PKS III* 内含子数目介于 1~6 个，外显子数目介于 2~7 个，同一组基因中内含子和外显子数量也各不相同（图 4-A）。

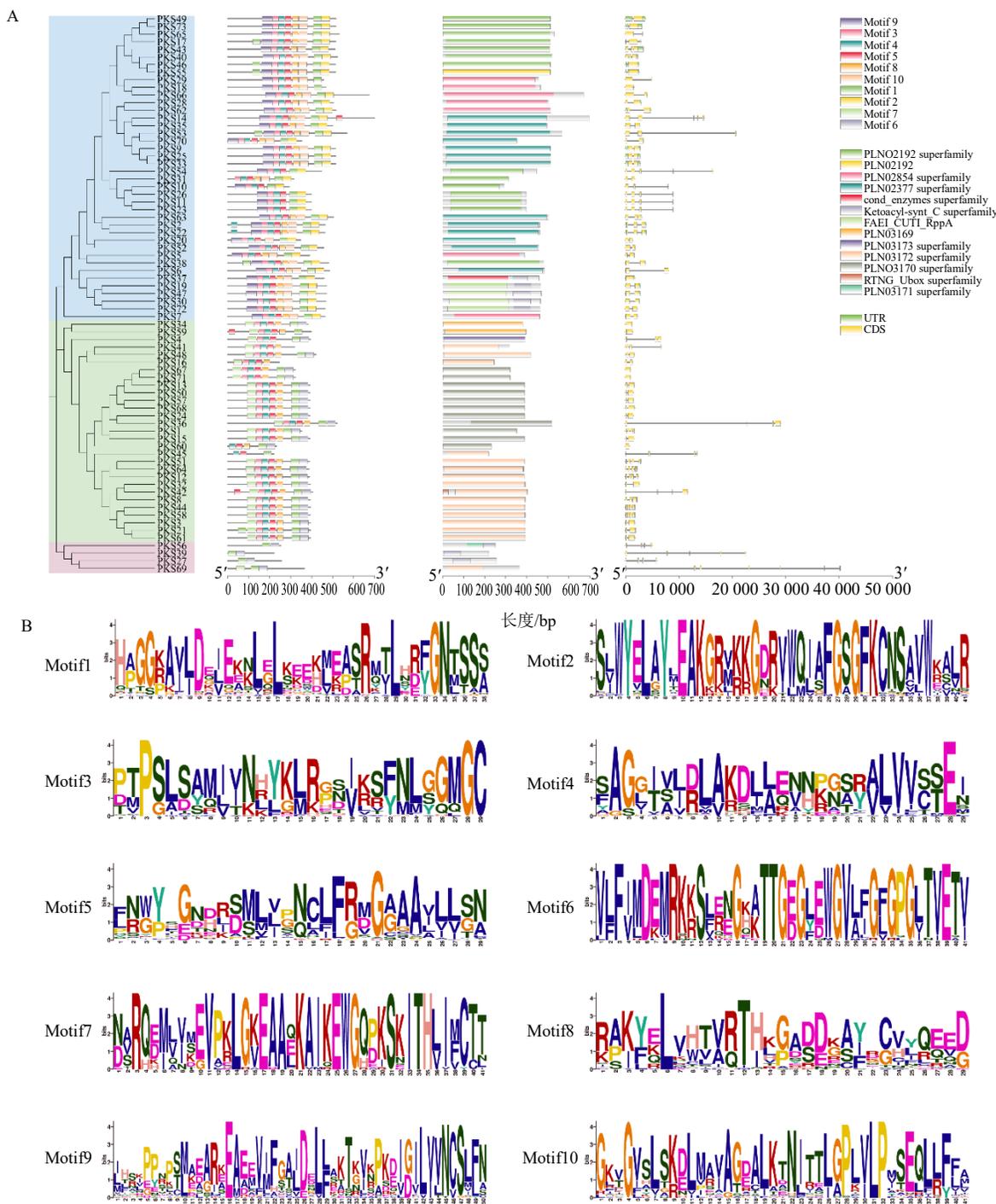


图4 虎杖 *PKS III* 基因家族保守结构域与基因结构 (A) 和保守基序 (B)

Fig. 4 Conserved domains and gene structures (A) and conservation motifs (B) of *PKS III* gene family in *P. cuspidatum*

3.5 虎杖 *PKS III* 基因家族顺式作用元件分析

对虎杖 *PKS III* 基因家族成员的启动子上游 2 000 bp 序列进行顺式作用元件分析 (图 5), 按照顺式作用元件的功能可将其分为 4 类, 分别是光响应元件、植物激素响应元件 (包括脱落酸响应元件、水杨酸响应元件、生长素响应元件、赤霉素响应元

件、茉莉酸甲酯响应元件等)、胁迫响应元件 (包括厌氧响应调控元件、低温响应元件、干旱响应元件等)、生长发育响应元件 (包括分生组织相关表达调控元件、昼夜节律调控元件等)。上述 4 类响应元件中, *PKS III* 启动子中光响应元件数量最多, 其次为植物激素响应元件和胁迫响应元件。

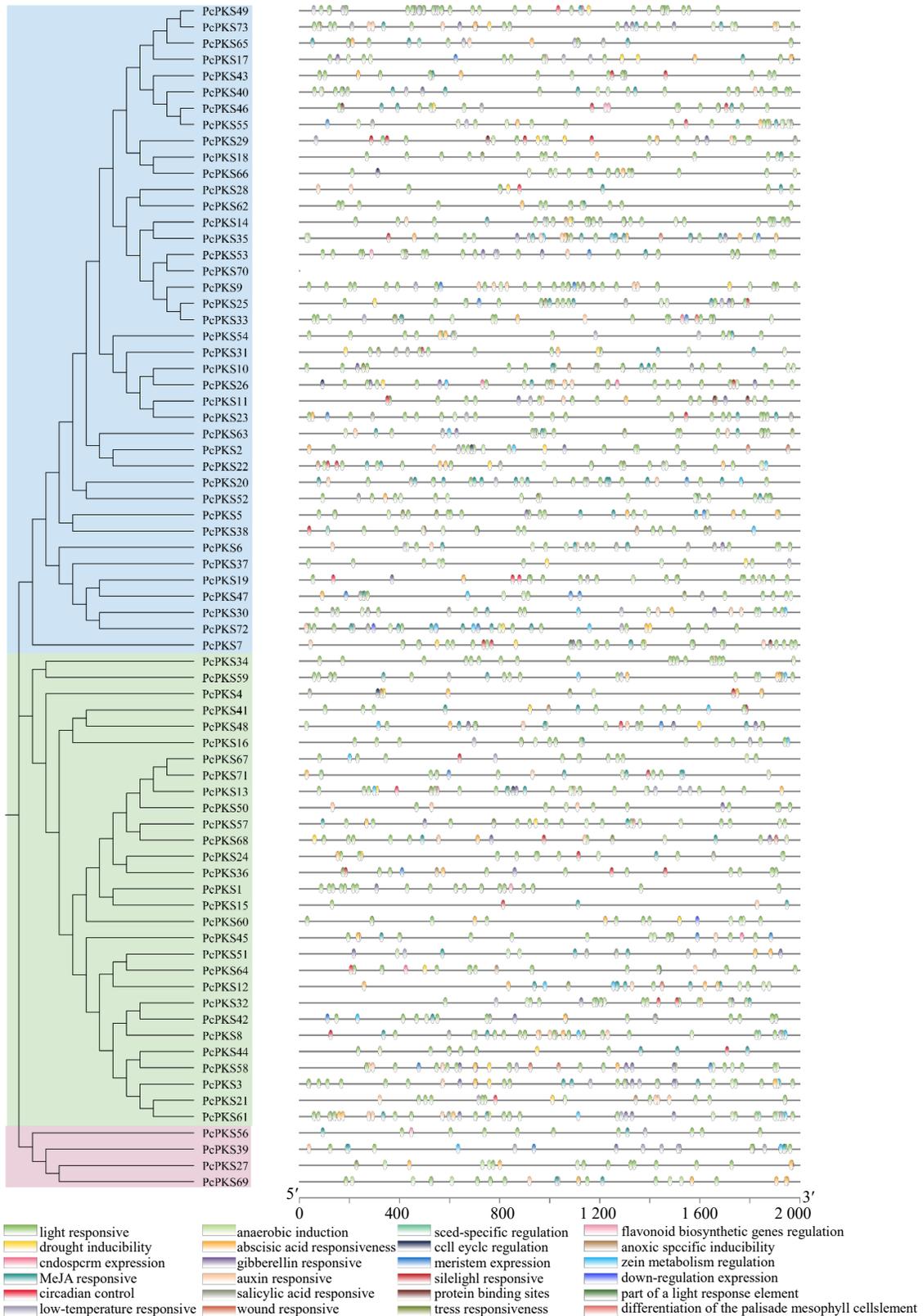


图5 虎杖 *PKS III* 基因家族启动子顺势元件分析

Fig. 5 Cis-element analysis of promoters of *PKS III* gene family in *P. cuspidatum*

3.6 虎杖 *PKS III* 基因表达模式分析

结合转录组数据对虎杖 *PKS III* 基因在虎杖药

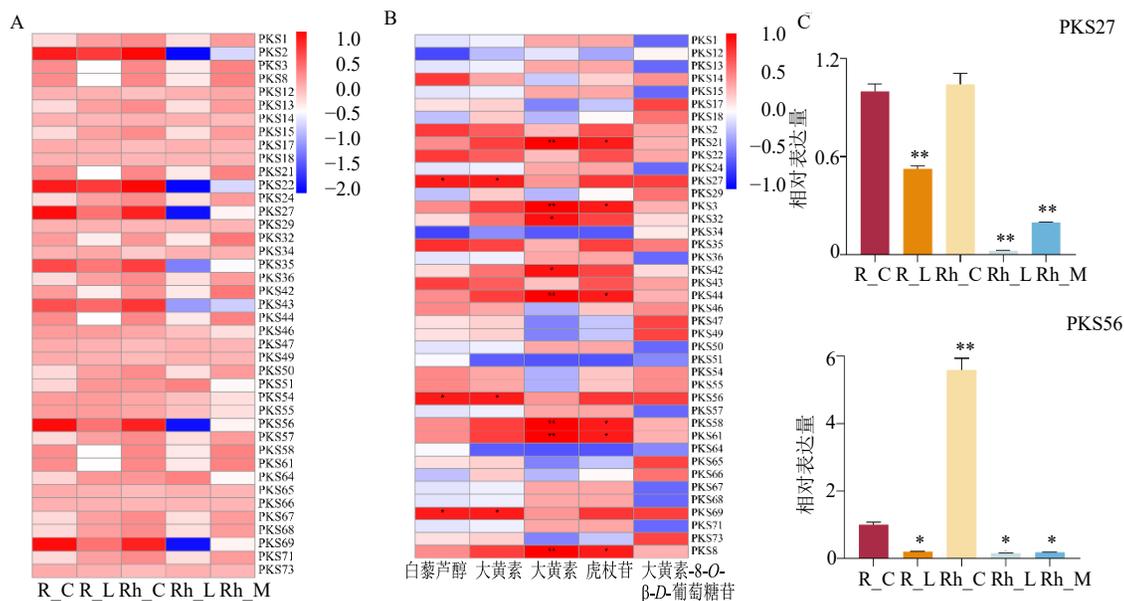
材 5 个不同组织（根皮部、根木部、根茎皮部、根茎木部、根茎髓部）的表达模式进行分析，结果发

现仅有 44 个 PKS III 在虎杖药材不同组织中表达，且表达量差异较大（图 6-A）。44 个 PKS III 基因在根皮部、根木部和根茎皮部中均表达，PKS28、PKS40 和 PKS62 在根茎木部中不表达，PKS28 和 PKS62 在根茎髓部中不表达，PKS32、PKS42 在虎杖药材所有组织中均为最高表达基因。同时，相较于其他组织，PKS III 在根茎皮部中表达量较高。

3.7 虎杖 PKS III 基因家族表达与药材有效成分含量的相关性分析

结合虎杖药材不同有效成分含量与 PKS III 基因表

达量进行相关性分析（图 6-B），结果显示 PKS3、PKS8、PKS21、PKS44、PKS58、PKS61 与虎杖苷、大黄素甲醚含量呈显著正相关；PKS27、PKS56、PKS69 与白藜芦醇和大黄素含量呈显著正相关；PKS32 和 PKS42 与 大黄素甲醚含量呈显著正相关。利用 qRT-PCR 检测 PKS27、PKS56 在虎杖药材 5 个不同组织的表达情况，结果显示 PKS27 与 PKS56 均在根茎皮部中表达量最高，其次为根皮部、根木部、根茎髓部，在根茎木部中表达量最低。该结果与 PKS27 与 PKS56 在虎杖药材 5 个不同组织的转录组结果相符。



R_C-根皮部，包括周皮、次生韧皮部和形成层；R_L-根木部，为根的木质部；Rh_C-根茎皮部，包括周皮、皮层、次生木质部和形成层；Rh_L-根茎木部，为根茎的木质部；Rh_M-根茎髓部；与 R_C 比较：* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ 。

R_C-periderm, phloem and cambium of root, R_L-xylem of root, Rh_C-periderm, phloem and cambium of rhizome, Rh_L-xylem of rhizome, Rh_M-pith of rhizome; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs R_C.

图 6 虎杖 PKS III 基因家族在虎杖药材不同组织的表达模式分析 (A)、有效成分相关性分析 (B) 与 qRT-PCR 检测 PKS27 与 PKS56 基因在虎杖药材不同组织的相对表达量 (C)

Fig. 6 Expression pattern analysis of PKS III gene family in different tissues of *P. cuspidatum* medicinal materials (A), correlation analysis with active components (B) and qRT-PCR detection of relative expression levels of PKS27 and PKS56 in different tissues (C)

4 讨论

植物 PKS III 参与多种植物特有代谢产物生物合成，在植物生长发育及逆境胁迫响应等方面发挥着重要作用^[15]。基于全基因组水平，多个植物中的 PKS III 基因已被鉴定与克隆，成员数量主要处于 4~39 个^[13, 16]。木薯中鉴定出了 39 个 PKS III 成员，是目前报道的 PKS III 数量最多的植物。本研究在全基因组水平上共鉴定筛选出 73 个虎杖 PKS III 基因，在数量上远多于其他植物，说明不同物种中的 PKS III 功能和数量具有多样性。PKS III 数量可能与全基因组

复制或者是串联重复复制有关，虎杖 1、2、3、4、6、11、12、13 号染色体上均有串联复制事件发生，而 Zhang 等^[17]发现虎杖共经历了 2 次全基因组复制事件，说明全基因组复制可能是导致串联重复事件发生和虎杖 PKS III 成员扩张的主要原因。

通过邻接法将虎杖 PKS III 蛋白序列与目前已被报道的拟南芥、水稻等物种的 PKS III 蛋白序列进行系统进化分析，Group I 中 PKS III 基因多与 MaCHS 和 MsCHS 聚为 1 个亚枝（图 4），推测其有相似的蛋白结构。对 PKS III 进行结构分析，共

鉴定出 10 个 motif, 其中 motif1 存在于所有 PKS III 中, 推测 motif1 在 PKS III 基因家族中存在重要生物学意义; 除此之外, 同一亚族中的大部分 PKS III 具有相同的保守基序, 这与何梦媛等^[18]的研究结果相似。启动子顺势元件在调控植物生长发育过程中起着重要作用。为了了解 PKS III 的功能, 对其启动子进行顺式作用元件分析, 发现其启动子区域含有多个植物激素响应、光响应、胁迫响应等作用元件, 其中光响应的作用元件最多, 说明 PKS III 基因家族在虎杖生长发育过程中, 尤其是光响应中可能具有重要的调控作用^[19]。

本研究对虎杖 PKS III 进行基因表达模式分析, 揭示了 PKS III 在虎杖药材不同组织中表达水平存在显著差异。多项研究认为调节 PKS III 基因的表达水平会影响植物中有效成分的积累, 因此可以认为调节 PKS III 在虎杖药材不同组织中表达水平能够影响虎杖有效成分在虎杖药材不同组织中的含量^[20-21]。类黄酮类化合物和二苯乙烯类化合物是虎杖中主要化学成分^[22], 研究认为 PKS III 基因在类黄酮类化合物和二苯乙烯类化合物的生物合成中发挥着重要作用, 万丽云等^[23]发现 AhCHS 是参与花生中白藜芦醇合成的关键酶基因, Xie 等^[24]认为 BrCHS 参与调控大白菜中花青素等类黄酮物质的积累, 本研究结合虎杖药材不同有效成分含量与 PKS III 基因表达量进行分析, 发现绝大部分 PKS III 基因与虎杖中二苯乙烯类化合物和类黄酮类化合物呈显著正相关, 说明 PKS III 基因参与虎杖中类黄酮类化合物和二苯乙烯类化合物的生物合成。

本研究通过全基因组分析在虎杖中鉴定了 73 个虎杖 PKS III 基因, 不均匀分布在 20 条染色体上。系统进化分析将 PKS III 基因分为 3 组, 组内成员在序列特征上较为保守。虎杖 PKS III 基因启动子区存在大量光响应、激素响应和生长胁迫顺势作用元件。基因表达分析表示 44 个 PKS III 在虎杖药材不同组织中表达, 其中 PKS32、PKS42 在虎杖药材所有组织中均为最高表达基因。结合虎杖药材不同部位有效成分含量进行相关性分析, 发现 PKS3 等 11 个成员的差异表达可能造成了虎杖药材不同部位有效成分差异分布。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] Leadlay P F. Combinatorial approaches to polyketide

biosynthesis [J]. *Curr Opin Chem Biol*, 1997, 1(2): 162-168.

[2] Guo D M, Wang H Y, Zhang S M, *et al.* The type III polyketide synthase supergene family in plants: Complex evolutionary history and functional divergence [J]. *Plant J*, 2022, 112(2): 414-428.

[3] Funo N, Ohnishi Y, Fujii I, *et al.* A new pathway for polyketide synthesis in microorganisms [J]. *Nature*, 1999, 400(6747): 897-899.

[4] 王彬彬, 魏建和, 宋振巧, 等. 植物 III 型聚酮合酶研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2018, 43(13): 2639-2647.

[5] Hu L F, He H H, Zhu C L, *et al.* Genome-wide identification and phylogenetic analysis of the Chalcone synthase gene family in rice [J]. *J Plant Res*, 2017, 130(1): 95-105.

[6] 马兰青, 师光禄, 叶和春, 等. 植物类型 III 聚酮合酶超家族基因结构、功能及代谢产物 [J]. 生物工程学报, 2010, 26(11): 1482-1492.

[7] Schröder J. A family of plant-specific polyketide synthases: Facts and predictions [J]. *Trends Plant Sci*, 1997, 2(10): 373-378.

[8] 侯淇允, 张林林, 郝艳琦, 等. 虎杖研究进展及质量标志物预测 [J]. 中国现代中药, 2024, 26(5): 912-926.

[9] 时圣明, 潘明佳, 王文倩, 等. 虎杖的化学成分及药理作用研究进展 [J]. 药物评价研究, 2016, 39(2): 313-317.

[10] 张云婷, 黄晓, 陈运中, 等. 虎杖主要化学成分及其生物合成机制研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2020, 45(18): 4364-4372.

[11] Guo Y W, Nassar S, Ma L Q, *et al.* Octaketide synthase from *Polygonum cuspidatum* implements emodin biosynthesis in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant Cell Physiol*, 2021, 62(3): 424-435.

[12] 贺志敏, 马文瑞, 于丽平, 等. 定点突变提高虎杖聚酮合酶的苯亚甲基丙酮合酶活性 [J]. 生物工程学报, 2023, 39(7): 2806-2817.

[13] 朱雪雯, 米要磊, 孟祥霄, 等. 汉麻聚酮合酶基因家族成员鉴定与表达分析 [J]. 中草药, 2023, 54(3): 886-897.

[14] Pothiraj R, Ravikumar M J, Suthanthiram B, *et al.* Genome-scale analyses of polyketide synthases in banana: Phylogenetics and expression profiling forecast their candidacy in specialized metabolism [J]. *Gene*, 2021, 778: 145472.

[15] Sharma A, Shahzad B, Rehman A, *et al.* Response of phenylpropanoid pathway and the role of polyphenols in plants under abiotic stress [J]. *Molecules*, 2019, 24(13): 2452.

[16] Su S Y, Xuan X Y, Tan J Q, *et al.* Analysis of the CHS gene

- family reveals its functional responses to hormones, salinity, and drought stress in moso bamboo (*Phyllostachys edulis*) [J]. *Plants*, 2025, 14(2): 161.
- [17] Zhang Y H, Zheng L L, Zheng Y, *et al.* Assembly and annotation of a draft genome of the medicinal plant *Polygonum cuspidatum* [J]. *Front Plant Sci*, 2019, 10: 1274.
- [18] 何梦媛, 姚华, 李国治, 等. 甘草 CHS 基因家族鉴定、表达特性分析及其与甘草查尔酮 A 积累的关系研究 [J]. *植物生理学报*, 2022, 58(1): 141-154.
- [19] 赖恭梯, 阙秋霞, 潘若, 等. 刺葡萄查尔酮合成酶基因 CHS 对不同光质的响应及转录因子调控分析 [J]. *生物技术通报*, 2022, 38(11): 129-139.
- [20] Wang Z B, Yu Q B, Shen W X, *et al.* Functional study of CHS gene family members in *Citrus* revealed a novel CHS gene affecting the production of flavonoids [J]. *BMC Plant Biol*, 2018, 18(1): 189.
- [21] Wang Y Y, Xiao Y Q, Sun Y T, *et al.* Two B-box proteins, PavBBX6/9, positively regulate light-induced anthocyanin accumulation in sweet cherry [J]. *Plant Physiol*, 2023, 192(3): 2030-2048.
- [22] 梁春晓, 王珊珊, 陈淑静, 等. 虎杖化学成分及药理活性研究进展 [J]. *中草药*, 2022, 53(4): 1264-1276.
- [23] 万丽云, 任伟芳, 王斯健, 等. 花生白藜芦醇和查尔酮合成酶基因的鉴定与表达分析 [J]. *中国油料作物学报*, 2023, 45(1): 102-110.
- [24] Xie Z W, Yang L, Fan M, *et al.* Genome-wide identification, characterization and expression analysis of the *Chalcone* synthase gene family in Chinese cabbage [J]. *BMC Genomics*, 2025, 26(1): 168.

[责任编辑 时圣明]