

引用格式: 王子玥, 杨锋, 王红燕, 等. 三叶青 *ThMYBPAR* 基因的克隆及组织差异表达分析[J]. 浙江农林大学学报, 2025, 42(2): 273–280. WANG Ziyue, YANG Feng, WANG Hongyan, *et al.* Cloning and analysis of tissue-specific expression patterns of *ThMYBPAR* gene in *Tetrastigma hemsleyanum*[J]. *Journal of Zhejiang A&F University*, 2025, 42(2): 273–280.

三叶青 *ThMYBPAR* 基因的克隆及组织差异表达分析

王子玥^{1,2}, 杨 锋^{1,2}, 王红燕^{1,2}, 邢巧月^{1,2}, 白 岩^{1,2}

(1. 浙江农林大学 浙江省中药资源保护与创新重点实验室, 浙江 杭州 311300; 2. 浙江农林大学 食品与健康学院, 浙江 杭州 311300)

摘要: 【目的】黄酮类成分是三叶青 *Tetrastigma hemsleyanum* 药材品质的物质基础, 探究 *ThMYBPAR* 基因对三叶青块根和叶片中黄酮类成分的合成调控作用, 可为三叶青药材品质形成的分子机制提供理论依据。【方法】以近3年生的三叶青块根及叶片为材料, 测定总黄酮和原花青素的质量浓度以及抗氧化能力, 设计引物克隆 *ThMYBPAR* 基因, 利用生物信息学分析 *ThMYBPAR* 蛋白的序列特征和系统进化关系, 通过激光共聚焦显微镜观察其亚细胞定位, 采用实时荧光定量PCR (RT-qPCR) 分析 *ThMYBPAR* 基因在三叶青块根和叶片中的表达模式, 并分析 *ThMYBPAR* 基因表达水平与黄酮类成分的相关性。【结果】三叶青块根中总黄酮及原花青素质量浓度分别是 0.55 和 1.77 g·L⁻¹, 显著高于叶片 ($P<0.05$), 而且块根提取物的 ABTS 自由基清除率高达 90%, 说明三叶青块根和叶片间的药材品质存在差异。根据前期转录组数据克隆得到 1 个长度为 888 bp 的 *ThMYBPAR* 基因, 可编码产生 310 个氨基酸组成的蛋白, 与葡萄 *Vitis vinifera* 基因中的 *VvMYBPAR* 基因高度相似, 具有典型的 R2 和 R3 DNA 结合功能结构域。系统进化分析结果表明: 三叶青中的 *ThMYBPAR* 属于 R2R3-MYB 第 5 亚家族转录因子, 且主要定位在细胞核中。RT-qPCR 分析结果显示: *ThMYBPAR* 基因主要在三叶青块根中表达, 且表达量与总黄酮和原花青素质量浓度呈极显著正相关 ($P<0.01$)。【结论】*ThMYBPAR* 基因参与调控三叶青中原花青素的合成机制, 推测不同表达水平可能是影响三叶青块根和叶片品质的主要原因。图 5 表 2 参 22

关键词: 三叶青; 基因克隆; *ThMYBPAR* 基因; 原花青素

中图分类号: S718.3 文献标志码: A 文章编号: 2095-0756(2025)02-0273-08

Cloning and analysis of tissue-specific expression patterns of *ThMYBPAR* gene in *Tetrastigma hemsleyanum*

WANG Ziyue^{1,2}, YANG Feng^{1,2}, WANG Hongyan^{1,2}, XING Qiaoyue^{1,2}, BAI Yan^{1,2}

(1. Zhejiang Provincial Key Laboratory of Resources Protection and Innovation of Traditional Chinese Medicine, Zhejiang A&F University, Hangzhou 311300, Zhejiang, China; 2. College of Food and Health, Zhejiang A&F University, Hangzhou 311300, Zhejiang, China)

Abstract: [Objective] Flavonoids are essential components that determine the quality of *Tetrastigma hemsleyanum*. This study aims to investigate the regulatory role of the *ThMYBPAR* gene in flavonoid biosynthesis in both the tuberous root and leaves of *T. hemsleyanum*, thereby providing a theoretical foundation for understanding the molecular mechanisms underlying quality formation in this plant species. [Method] The tuberous root and leaves of 3-year-old *T. hemsleyanum* plants were analyzed by determining their content of proanthocyanidins, total flavonoids, and antioxidant capacity. Primers were designed for the cloning of the *ThMYBPAR* gene. The sequence characteristics and evolutionary relationships of the *ThMYBPAR* protein were assessed through bioinformatics analysis. Additionally, the expression patterns of the *ThMYBPAR* gene in both

收稿日期: 2024-07-22; 修回日期: 2024-12-20

基金项目: 浙江农林大学人才启动项目 (2024LFR011); 浙江省“尖兵”“领雁”研发攻关计划项目 (2023C02054)

作者简介: 王子玥 (ORCID: 0009-0002-0958-8560), 从事中药资源的收集、保护与开发研究。E-mail: wangziyue@stu.zafu.edu.cn。通信作者: 白岩 (ORCID: 0000-0002-0068-2174), 教授, 博士, 从事林下中药资源挖掘和品质调控等研究。E-mail: hzbaiyan@zafu.edu.cn

tuberous root and leaves were examined using real time fluorescence quantitative PCR (RT-qPCR), alongside an investigation into the correlation between *ThMYBPAR* gene expression levels and flavonoid content. [Result] The content of total flavonoids and proanthocyanidins in the tuberous root were 0.55 and 1.77 g·L⁻¹ respectively, which were significantly higher than those in the leaves ($P < 0.05$). Moreover, the ABTS free radical scavenging rate of the tuberous root extract reached 90%, indicating notable differences in the quality of herbal material between the tuberous root and leaf samples. Previous transcriptomic analyses had demonstrated that the *ThMYBPAR* gene, which consisted of 888 bp and encoded a protein comprising 310 amino acids, showed a significant degree of similarity to the *VvMYBPAR* gene found in grapevines (*Vitis vinifera*). The protein contained distinctive DNA-binding functional domains, R2 and R3, and was classified within the R2R3-MYB transcription factor subfamily 5, with a preferential localization in the nucleus. RT-qPCR analysis revealed that the expression of the *ThMYBPAR* gene was primarily detected in the tubers of *T. hemsleyanum*, exhibiting a positive correlation with the content of total flavonoids and proanthocyanidins ($P < 0.01$). [Conclusion] The *ThMYBPAR* gene plays a crucial role in the regulation of proanthocyanidin synthesis in *T. hemsleyanum*. The differential expression levels of *ThMYBPAR* in the tuberous root and leaves may account for the observed variations in quality between these two plant parts. [Ch, 5 fig. 2 tab. 22 ref.]

Key words: *Tetrastigma hemsleyanum*; gene clone; *ThMYBPAR* gene; proanthocyanidins

三叶青 *Tetrastigma hemsleyanum* 为葡萄科 Vitaceae 崖爬藤属 *Tetrastigma* 植物, 学名为三叶崖爬藤, 是中国特有药材, 也是新“浙八味”之一^[1]。三叶青全株均可药用, 具有清热解毒、消肿止痛、祛风化痰等功效, 常用于治疗发烧、小儿热惊厥、哮喘、肝炎、风湿等疾病^[2], 还可用于饲料绿色添加剂, 改善动物健康, 预防疾病^[3], 被称为“植物抗生素”^[4]。研究表明: 三叶青的主要化学成分为黄酮类物质, 如二氢黄酮、黄酮和黄酮醇, 包括柚皮素、芦丁、山奈酚、异槲皮素和原花青素等^[5]。这些成分具有良好的药理活性, 是三叶青药材品质的物质基础。

黄酮类成分作为药用植物的次生代谢产物, 生物合成过程受到诸多转录因子的调控, 如 MYB、bHLH、WRKY 等。有研究发现: 参与调控黄酮生物合成途径的 MYB 转录因子多为 R2R3-MYB 的第 4、5、6、7 亚家族成员^[6]。其中, 第 4 亚家族的 R2R3-MYB 转录因子是公认的苯丙烷途径及木质素生物合成途径的转录抑制因子, 如蓝莓 *Vaccinium corymbosum* 中的 VcMYB4a 作为 R2R3-MYB 第 4 亚家族的转录因子, 抑制蓝莓木质素的生物合成, 起到负调控作用^[7]。第 5 亚家族或第 6 亚家族的 R2R3-MYB 基因成员作为 MYB-bHLH-WDR (MBW) 转录复合物的一个组成部分, 参与花青素或原花青素的合成^[8], 如胡萝卜 *Daucus carota* 中的 DcMYB6 可诱导花青素的生物合成^[9]; 拟南芥 *Arabidopsis thaliana* 中第 5 亚家族的 AtMYB123/TT2 可以与 TT8 和 TTG1 蛋白形成复合物, 激活 *DFR*、*ANS* 和 *ANR* 基因表达, 共同促进种皮中原花青素的合成^[10]; 葡萄 *Vitis vinifera* 中的转录因子 VvMYBPA1、VvMYBPA2 和 VvMYB5a 等均参与原花青素调控^[11]。第 7 亚家族的 R2R3-MYB 因子则一般具有调控黄酮醇的功能^[12], 如拟南芥中的 AtMYB11、AtMYB12 和 AtMYB111 转录因子被归类为第 7 亚家族, 通过调节 *AtFLS1* 基因表达冗余调节黄酮醇的生物合成^[13]。

BAI 等^[14]研究发现: 三叶青地上和地下部分的品质有所差异, 特别是黄酮类成分含量有明显变化。但关于三叶青地上和地下部分黄酮类成分差异的形成机制却鲜有报道。因此, 本研究通过对前期转录组分析发现的 *MYBPAR* 基因进行克隆, 从 *ThMYBPAR* 的基因结构、蛋白定位、系统发育关系、表达量等方面, 探究 *ThMYBPAR* 基因对三叶青块根和叶片中黄酮类成分的合成调控作用, 以期三叶青药材品质调控提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

在浙江省丽水市遂昌县种植基地, 选取生长健壮、无病虫害、苗高大小近似的近 3 年生三叶青苗,

种植于浙江省中药资源保护与创新重点实验室试验基地 (30°15'30.39"N, 119°43'26.92"E)。于 2024 年 5 月取三叶青块根及叶片放入密封袋, 立即液氮冷冻并放置在超低温冰箱保存 (-80 ℃) 备用。

1.2 总黄酮及原花青素测定

1.2.1 总黄酮测定 总黄酮的测定选用芦丁作为标准品。分别称取三叶青块根及叶片样品各 0.1 g, 置于锥形瓶中, 加入体积分数为 70% 的甲醇 3.0 mL, 在 60 ℃ 水温超声 30 min, 离心 10 min 取上清, 即为供试样品溶液。吸取三叶青块根及叶片供试样品溶液 1.0 mL 于 10.0 mL 量瓶中, 用体积分数为 70% 的甲醇定容至刻度, 分别吸取 2.0 mL 于 10.0 mL 试管中, 加质量分数为 5% 的亚硝酸钠溶液 0.3 mL, 振荡摇匀, 黑暗放置 6 min, 加质量分数为 10% 的硝酸铝 0.3 mL, 振荡摇匀, 黑暗放置 6 min, 再加质量分数为 4% 的氢氧化钠 4.0 mL, 振荡摇匀, 用体积分数为 70% 的甲醇定容至刻度, 振荡摇匀, 黑暗放置 15 min 后置比色皿中, 测定波长 510 nm 处的吸光度。以体积分数为 70% 的甲醇溶液作为空白对照。

1.2.2 原花青素测定 提取方法同 1.2.1。采用香草醛-盐酸法测定提取液中的原花青素含量。将 4.0 g 香兰素溶于 100.0 mL 甲醇中, 得质量分数为 4% 的香草醛-甲醇溶液。取 1.0 mL 三叶青块根及叶片样品于试管中, 加入质量分数为 4% 的香草醛-甲醇溶液, 混合后再加入 1.5 mL 浓盐酸, 立即摇匀。室温避光 30 min, 测定波长 500 nm 处的吸光度, 以质量分数为 4% 的香草醛-甲醇溶液作为空白对照。

1.3 ABTS 阳离子自由基清除能力测定

称取 3.785 g 过硫酸钾于 100 mL 容量瓶中, 加水超声溶解后定容, 配制成 140 mmol·L⁻¹ 的过硫酸钾溶液; 称取 0.384 g ABTS 于 100 mL 棕色容量瓶中, 加水定容, 配制成 7 mmol·L⁻¹ 的 ABTS 溶液。量取 88 μL 过硫酸钾与 5 mL 的 ABTS 混合, 摇匀避光 12 h。12 h 后用无水乙醇稀释, 使其在波长 734 nm 处的吸光度为 0.7±0.2。在 96 孔板中加入 100 μL 反应液和 100 μL 三叶青块根及叶片样品, 室温避光震荡反应 6 min 后, 测量 734 nm 处的吸光度, 以抗坏血酸作为阳性对照, 将测量值代入, 计算 ABTS 自由基清除率 (*A*): $A=(1-A_i/A_0) \times 100\%$ 。其中: *A*₀ 为混合液的吸光度, *A_i* 为样品 *i* 的吸光度。

1.4 总 RNA 提取

取三叶青的块根、叶片, 分别在液氮中研磨后, 用 FastPure Universal Plant Total RNA Isolation Kit 提取总 RNA, 经凝胶电泳和超微量核酸分析仪检测, 获得高质量的 RNA, 用于后续研究。

1.5 目的基因克隆

使用 PrimeScript™ II 1st Strand cDNA Synthesis Kit 试剂盒将 RNA 反转录成 cDNA。根据转录组数据库中 *MYBPAR* 基因的 CDS 序列, 设计基因克隆引物 (表 1), 根据 PrimeSTAR® Max DNA Polymerase 使用说明书对 *ThMYBPAR* 基因进行 PCR 扩增。经电泳检测后, 目的片段被纯化回收, 经载体连接及大肠埃希菌 *Escherichia coli* DH5α 转化测序后获得阳性单菌落, 并在 -80 ℃ 条件下保存。

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequences	
引物名称	序列(5'→3')
<i>ThMYBPAR</i> -F	ATGGGGAGAAGCCCTTGTTGT
<i>ThMYBPAR</i> -R	TTATTCTCCAAACCAGTCACCGC
<i>MDH</i> -F	TGTTGCTACGACTGATGT
<i>MDH</i> -R	CCTGAGACTTGTAGATGGAA
<i>qThMYBPAR</i> -F	GCTGGCCGGAGCAAGAACAA
<i>qThMYBPAR</i> -R	GTGGTGTTTCCGTCGGTCGT
<i>qThLAR</i> -F	CGACAGCCGACGCTGGTATT
<i>qThLAR</i> -R	TCAAGCGCAGGTTGCAGTGA
<i>ThMYBPAR</i> -GFP-F	gctcggtaccggggtaccATGGGGAGAAGCCCTTGTTGT
<i>ThMYBPAR</i> -GFP-R	gcccttgctcaccatgtcgacTTATTCTCCAAACCAGTCACCGC

1.6 亚细胞定位

根据植物表达载体 *pCAMBIA1300-GFP* 及 *ThMYBPAR* 基因序列, 设计含有限制性酶切位点的引物 (表 1), PCR 扩增得到的产物经纯化回收后与 *GFP* 表达载体连接, 转化农杆菌 *Agrobacterium tumefaciens* GV3101 (pSoup), 注射接种本氏烟草 *Nicotiana benthamiana* 的幼嫩叶片, 2 d 后用激光共聚焦显微镜观察

荧光信号。

1.7 实时荧光定量 PCR (RT-qPCR) 分析

使用 PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser (Perfect Real Time) 试剂盒对样品的 RNA 进行反转录, 设计荧光定量 PCR 引物 (表 1), 后用 ChamQ Universal SYBR qPCR Master Mix 试剂盒进行荧光定量 PCR 试验。基因的相对表达量用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法表示。

1.8 统计学分析

采用 Excel 整理数据, 通过 SPSS 进行 Pearson 相关性分析, 显著性水平为 0.05。每个实验重复 3 次。

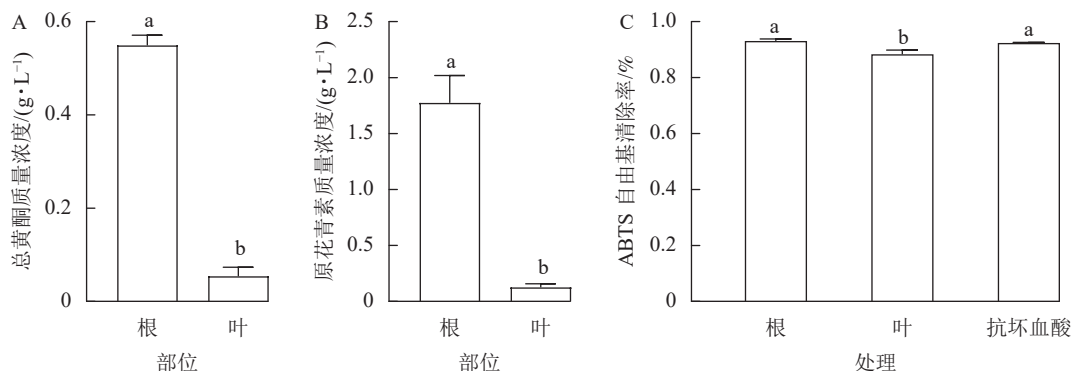
2 结果与分析

2.1 总黄酮和原花青素质量浓度

从图 1A 和图 1B 可见: 三叶青块根及叶片中的总黄酮质量浓度分别为 0.55 和 $0.05 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 原花青素质量浓度分别为 1.77 和 $0.13 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 三叶青块根中总黄酮的质量浓度是叶片的 11 倍, 块根中原花青素的质量浓度是叶片中的 13 倍。可以看出三叶青块根中的总黄酮和原花青素质量浓度均显著高于叶片 ($P < 0.05$)。

2.2 ABTS 自由基清除率

由图 1C 可以看出: 三叶青块根及叶片对 ABTS 均具备清除能力, 且块根的清除能力高于叶片, 块根的 ABTS 自由基清除率高达 90%。



不同小写字母表示不同部位(处理)间差异显著($P < 0.05$)。

图 1 三叶青块根及叶片中的总黄酮质量浓度、原花青素质量浓度和 ABTS 自由基清除率

Figure 1 Contents of total flavonoids and proanthocyanidins, ABTS free radical scavenging rate in root and leaf of *T. hemsleyanum*

2.3 ThMYBPAR 蛋白的序列分析及系统进化分析

本研究发现了 1 个属于 R2R3-MYB 第 5 亚家族的 MYB 转录因子, 命名为 ThMYBPAR。ThMYBPAR 基因的序列长度为 888 bp, 预测编码产生 310 个氨基酸组成的蛋白。将 ThMYBPAR 蛋白与美国国家生物技术信息中心 (NCBI) 数据库中收录的 VvMYBPAR、VvMYBPA1、VvMMYBPA2 和 AtTT2 进行序列比对 (图 2), 结果发现 ThMYBPAR 具有典型的 R2 和 R3 DNA 结合功能结构域, 说明 ThMYBPAR 为 R2R3-MYB 家族。且本研究进一步分析了 ThMYBPAR 与数据库中的 VvMYBPAR、VvMYBPA1、VvMMYBPA2 和 AtTT2 序列上的差异。从系统进化分析结果 (图 3) 可以明显看出: ThMYBPAR 可以与 VvMYBPAR、CsMYB5e、CsMYB5b 等 R2R3-MYB 第 5 亚家族的成员聚为一类, 且 ThMYBPAR 与 VvMYBPAR 更相近。

2.4 ThMYBPAR 蛋白亚细胞定位

蛋白质在细胞中的定位一定程度上能够反映其潜在的功能, 为了探究 ThMYBPAR 编码蛋白在细胞中的定位, 构建基因 ThMYBPAR 与 GFP 融合表达载体, 与植物细胞核定位 Marker 在烟草叶片中共定位。如图 4 所示: ThMYBPAR 蛋白的荧光信号仅出现在烟草的细胞核中, 呈现出明显的绿色荧光信号, 与植物细胞核定位 Marker 定位一致, 说明 ThMYBPAR 属于核定位。

2.5 RT-qPCR 验证

对 ThMYBPAR 及 ThLAR 基因进行 RT-qPCR 验证 (图 5) 显示: 块根中 ThMYBPAR 及 ThLAR 表达量

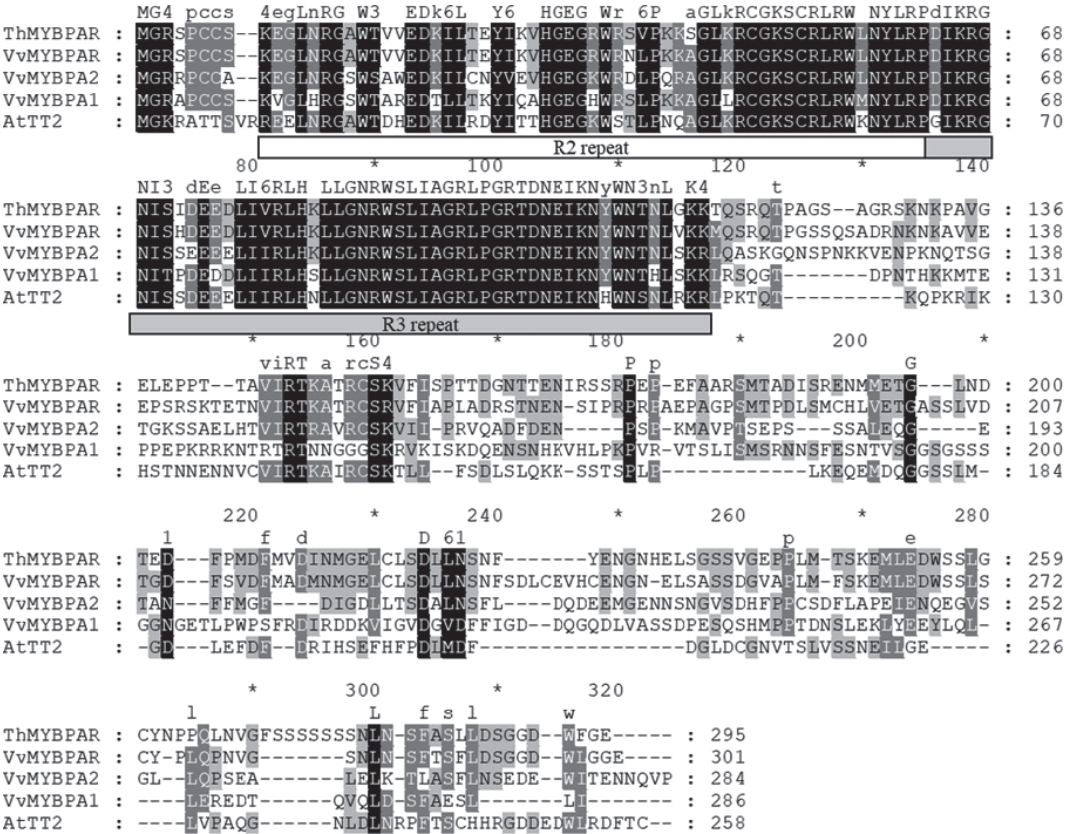


图 2 *ThMYBPAR* 蛋白序列比对
Figure 2 Sequence alignment of *ThMYBPAR* proteins

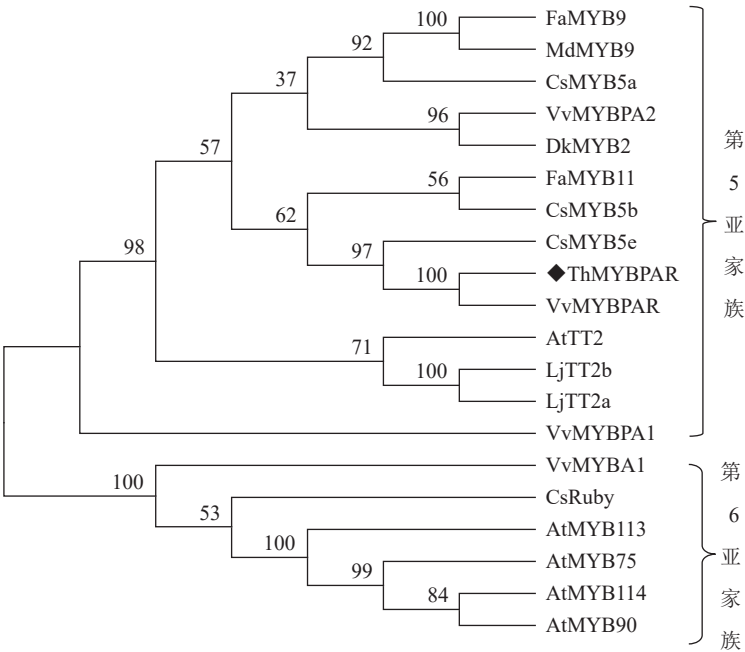
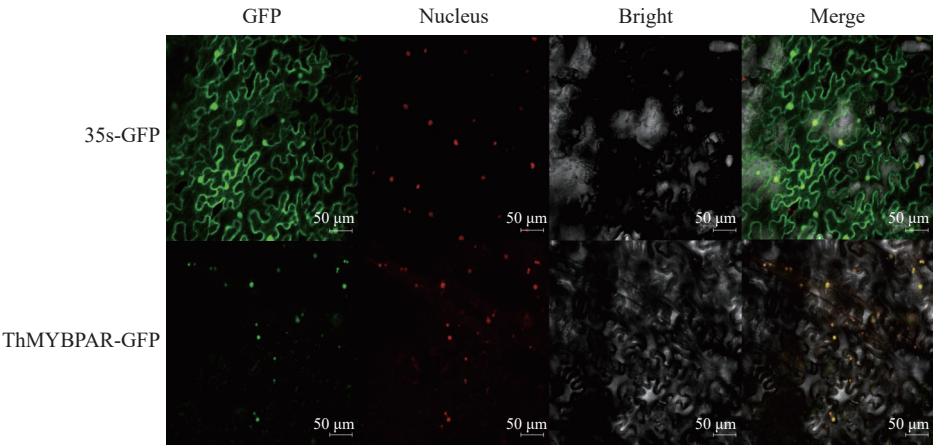


图 3 *ThMYBPAR* 蛋白系统进化分析
Figure 3 Phylogenetic analysis of *ThMYBPAR* proteins

显著高于叶片 ($P<0.05$)。其中三叶青块根中 *ThLAR* 的表达量是叶片中的 4 倍，而块根中 *ThMYBPAR* 的表达量是叶片的 20 倍。

2.6 相关性分析

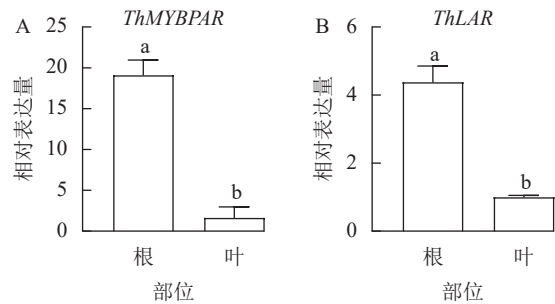
由表 2 可知：三叶青中总黄酮与原花青素呈极显著正相关 ($P<0.01$)，与 *ThMYBPAR*、*ThLAR* 基因表



GFP. 绿色荧光通道; Nucleus. 细胞核mCherry荧光通道; Bright. 明场; Merge. 融合场。

图 4 ThMYBPAR 蛋白的亚细胞定位

Figure 4 Subcellular localization of ThMYBPAR



不同小写字母表示不同部位间差异显著($P<0.05$)。

图 5 三叶青块根和叶片的基因相对表达量

Figure 5 Relative expression levels of genes in root and leaf

表 2 三叶青活性成分与基因表达量之间的相关性

Table 2 Correlation between active ingredients and gene expression of <i>T. hemsleyanum</i>				
活动成分	总黄酮	原花青素	<i>ThMYBPAR</i>	<i>ThLAR</i>
总黄酮	1.000			
原花青素	1.000**	1.000		
<i>ThMYBPAR</i>	0.983**	0.983**	1.000	
<i>ThLAR</i>	0.989**	0.989**	0.994**	1.000

说明: **表示极显著相关($P<0.01$)。

量也均呈极显著正相关 ($P<0.01$); 原花青素与 *ThMYBPAR*、*ThLAR* 基因表达量也呈极显著正相关 ($P<0.01$)。

3 讨论

MYB 转录因子是一类 DNA 结合蛋白, 由高度保守的 MYB 结构域构成, 每个结构域由一系列高度保守的氨基酸序列及间隔序列拼接而成。这些氨基酸可以使 MYB 蛋白折叠成螺旋—螺旋—转角—螺旋 (HHTH) 结构^[15]。作为植物中最大的转录因子家族, MYB 结构域由 1~4 个重复序列构成。根据 MYB 结构域的数量和位置, 可以分为 4 类: 1R(R1/2, R3-MYB)、2R(R2R3-MYB)、3R(R1R2R3-MYB) 和 4R(R1R2R2R1/2MYB)^[16]。其中与类黄酮代谢相关的 MYB 通常为 R2R3-MYB, 并且在原花青素合成调控模式中起着重要作用^[17]。本研究从三叶青中克隆得到 1 个 *MYBPAR* 基因, 从基因编码的氨基酸序列结构上来看, *ThMYBPAR* 的 N 端具有高度保守的 R2R3 结构域, 并对其进行生物信息学分析, 得出 ThMYBPAR 蛋白序列具有 2 个典型的 MYB 转录因子结构域, 表明 ThMYBPAR 属于 R2R3-MYB 转录因子, 且在三叶青块根中的表达量高于叶片。

系统进化树分析显示: ThMYBPAR、AtTT2、VvMYBPA1 和 VvMYBPA2 等参与原花青素调控的转录因子共聚到 SG5-MYB 亚组, 因此推测 *ThMYBPAR* 基因可能也参与原花青素的生物合成。花青素还原酶 (ANR) 及无色花青素还原酶 (LAR) 是原花青素单体生物合成过程中 2 个关键限速酶, 对原花青素的生物合成及积累具有重要作用^[18]。有研究发现: 葡萄 *VvLAR* 基因还可通过时空特异性表达影响原花青素的种类和积累^[19]; 如 *VvMYBPAR* 通过激活原花青素 (PA) 特异性分支基因, 以及与 PA 单体前体修饰和运输相关的候选基因的启动子, 参与调控原花青素的合成途径^[20]; *VvMYBPA1*、*ANR* 和 *LAR* 基因的高表达促进了葡萄中原花青素的合成^[21-22]。因此, 推测三叶青块根中 *ThLAR* 与 *ThMYBPAR* 的高表达, 可能

促进三叶青中原花青素的合成, 从而导致三叶青块根中的原花青素质量浓度显著高于叶片。

三叶青具有广阔的药用价值和经济价值, 而原花青素作为植物重要的次生代谢产物之一, 不仅是植物应对生物和非生物胁迫的一种重要防御手段, 还能影响植物发育和品质。虽然原花青素生物合成途径在模式植物中已有研究, 但在三叶青中的调控机制研究相对较少。基于以上研究结果, 可以进一步探究三叶青中黄酮类物质的生物合成途径及其调控机制, 为药用植物资源的利用和品质调控提供新的思路和方法。

4 结论

本研究从三叶青中克隆了 1 个 *ThMYBPAR* 基因, 基因的序列长度为 888 bp, 编码 310 个氨基酸, *ThMYBPAR* 属于 R2R3-MYB 转录因子家族, 定位于细胞核, 与葡萄、拟南芥等 R2R3-MYB 转录因子有较高的同源性。系统进化分析表明: *ThMYBPAR* 转录因子与葡萄中的 *VvMYBPAR*、拟南芥中的 *AtTT2* 等参与调控原花青素的转录因子聚为一类, 且与原花青素调控相关的基因 *ThLAR* 在三叶青块根中显著上调, *ThMYBPAR* 与 *ThLAR* 呈显著正相关。因此推测 *ThMYBPAR* 转录因子参与了三叶青中原花青素的合成, 且主要通过 *ThLAR* 来调控。

5 参考文献

- [1] 徐琳煜, 刘守赞, 白岩, 等. 不同光强处理对三叶青光合特性的影响[J]. *浙江农林大学学报*, 2018, **35**(3): 467–475.
XU Linyu, LIU Shouzan, BAI Yan, *et al.* Effects of light intensity treatments on photosynthetic characteristics in *Tetrastigma hemsleyanum* [J]. *Journal of Zhejiang A&F University*, 2018, **35**(3): 467–475.
- [2] LU Jingjing, ZHU Bingqi, ZHOU Fangmei, *et al.* Polysaccharides from the aerial parts of *Tetrastigma hemsleyanum* Diels et Gilg induce bidirectional immunity and ameliorate LPS-induced acute respiratory distress syndrome in mice [J/OL]. *Frontiers in Pharmacology*, 2022, **13**: 838873 [2024-07-10]. DOI: [10.3389/fphar.2022.838873](https://doi.org/10.3389/fphar.2022.838873).
- [3] 王晶, 刘滔, 赵敏洁, 等. 三叶青地上部分对肉鸡肠道菌群、免疫功能和生长性能的影响[J]. *浙江大学学报(农业与生命科学版)*, 2023, **49**(6): 863–872.
WANG Jing, LIU Tao, ZHAO Minjie, *et al.* Effects of aboveground parts of *Tetrastigma hemsleyanum* on the intestinal microflora, immune function and growth performance of broilers [J]. *Journal of Zhejiang University (Agriculture & Life Sciences)*, 2023, **49**(6): 863–872.
- [4] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志: 第 48 卷第 2 分册[M]. 北京: 科学出版社, 2004: 122.
Editorial Committee of Flora of China, Chinese Academy of Sciences. *Flora of China: Vol 48, Issue 2* [M]. Beijing: Science Press, 2004: 122.
- [5] LI Yonglu, FENG Xinyu, ZHANG Yiru, *et al.* Dietary flavone from the *Tetrastigma hemsleyanum* vine triggers human lung adenocarcinoma apoptosis via autophagy [J]. *Food & Function*, 2020, **11**(11): 9776–9788.
- [6] XIE Dongwei, LI Jing, ZHANG Xiaoyu, *et al.* Systematic analysis of MYB transcription factors and the role of LuMYB216 in regulating anthocyanin biosynthesis in the flowers of flax (*Linum usitatissimum* L.) [J]. *Journal of Integrative Agriculture*, 2023, **22**(8): 2335–2345.
- [7] YANG Bofei, LI Yuening, SONG Yan, *et al.* The R2R3-MYB transcription factor VcMYB4a inhibits lignin biosynthesis in blueberry (*Vaccinium corymbosum*) [J/OL]. *Tree Genetics & Genomes*, 2022, **18**(3): 27 [2024-07-10]. DOI: [10.1007/s11295-022-01560-z](https://doi.org/10.1007/s11295-022-01560-z).
- [8] RAMSAY N A, GLOVER B J. MYB-Bhlh-WD40 protein complex and the evolution of cellular diversity [J]. *Trends in Plant Science*, 2005, **10**(2): 63–70.
- [9] XU Zhisheng, YANG Qingqing, FENG Kai, *et al.* Changing carrot color: insertions in *DcMYB7* alter the regulation of anthocyanin biosynthesis and modification [J]. *Plant Physiology*, 2019, **181**(1): 195–207.
- [10] NESI N, JOND C, DEBEAUJON I, *et al.* The *Arabidopsis* TT2 gene encodes an R2R3 MYB domain protein that acts as a key determinant for proanthocyanidin accumulation in developing seed [J]. *The Plant Cell*, 2001, **13**(9): 2099–2114.
- [11] TERRIER N, TORREGROSA L, AGEORGES A, *et al.* Ectopic expression of *VvMybPA2* promotes proanthocyanidin biosynthesis in grapevine and suggests additional targets in the pathway [J]. *Plant Physiology*, 2009, **149**(2): 1028–1041.

- [12] ZHANG Xueying, HE Yuqing, LI Linying, *et al.* Involvement of the R2R3-MYB transcription factors MYB21 and its homologs in regulating the stamen flavonols accumulation in *Arabidopsis* stamen[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2021, **72**(12): 4319–4332.
- [13] STRACKE R, ISHIHARA H, HUEP G, *et al.* Differential regulation of closely related R2R3-MYB transcription factors controls flavonol accumulation in different parts of the *Arabidopsis thaliana* seedling[J]. *The Plant Journal*, 2007, **50**(4): 660–677.
- [14] BAI Yan, JIANG Lingtai, LI Zhe, *et al.* Flavonoid metabolism in *Tetrastigma hemsleyanum* Diels et Gilg based on metabolome analysis and transcriptome sequencing[J/OL]. *Molecules*, 2022, **28**(1): 83[2024-07-10]. DOI: [10.3390/molecules28010083](https://doi.org/10.3390/molecules28010083).
- [15] ZHAO Lei, GAO Liping, WANG Hongxue, *et al.* The R2R3-MYB, bHLH, WD40, and related transcription factors in flavonoid biosynthesis[J]. *Functional & Integrative Genomics*, 2013, **13**(1): 75–98.
- [16] DUBOS C, STRACKE R, GROTEWOLD E, *et al.* MYB transcription factors in *Arabidopsis*[J]. *Trends in Plant Science*, 2010, **15**(10): 573–581.
- [17] LIU Jingying, OSBOURN A, MA Pengda. MYB transcription factors as regulators of phenylpropanoid metabolism in plants[J]. *Molecular Plant*, 2015, **8**(5): 689–708.
- [18] 李军, 王崇敏, 周涛, 等. 血人参原花青素合成关键酶基因 IsANR、IsLAR 的鉴定及分析[J]. 分子植物育种, 2024, **22**(24): 8048–8056.
- LI Jun, WANG Chongmin, ZHOU Tao, *et al.* Identification and analysis of IsANR and IsLAR as key enzyme gene in biosynthesis of procyanidins in *Indigofera stachyoides*[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2024, **22**(24): 8048–8056.
- [19] KOYAMA K, NUMATA M, NAKAJIMA I, *et al.* Functional characterization of a new grapevine MYB transcription factor and regulation of proanthocyanidin biosynthesis in grapes[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2014, **65**(15): 4433–4449.
- [20] BOGS J, DOWNEY M O, HARVEY J S, *et al.* Proanthocyanidin synthesis and expression of genes encoding leucoanthocyanidin reductase and anthocyanidin reductase in developing grape berries and grapevine leaves[J]. *Plant Physiology*, 2005, **139**(2): 652–663.
- [21] ZHANG Xiaoqian, MA Wanyun, GUAN Xueqiang, *et al.* VvMYB14 participates in melatonin-induced proanthocyanidin biosynthesis by upregulating expression of VvMYBPA1 and VvMYBPA2 in grape seeds[J]. *Horticulture Research*, 2023, **10**(2): 368–380.
- [22] KOBAYASHI S, ISHIMARU M, HIRAOKA K, *et al.* Myb-related genes of the Kyoho grape (*Vitis labruscana*) regulate anthocyanin biosynthesis[J]. *Planta*, 2002, **215**(6): 924–933.