

海南不同成熟期诺丽果的蛋白鉴定及功能分析

邱 静¹, 宋 媛¹, 王 妮¹, 王佳人¹, 陈 静¹, 陈光英¹, 赵振东^{2*}, 何文英^{1*}

1. 热带药用资源化学教育部重点实验室, 海南海口 571127; 2. 海南大学分析测试中心, 海南海口 570228

摘 要: 诺丽果 (noni) 是海南的一种特色水果, 具有多种药效价值, 但关于其植物蛋白的研究却很少。本研究采用基于 BPP+酚提取法的双向电泳技术, 通过优化实验条件, 对花蕾期、半成熟及成熟期等 3 个时期产自海南的诺丽果实进行蛋白质的提取分离, 获得其植物蛋白指纹图谱; 利用 Image Master 5.0 软件分析凝胶图像筛选出高表达蛋白; 再利用 MALDI-TOF-MS 技术对这些蛋白酶解产物进行质谱鉴定; 通过生物信息学手段对 3 种诺丽果实的高表达蛋白初步进行蛋白功能分析。结果表明: 花蕾期、半成熟及成熟诺丽果实分别有 44、49 和 40 个高表达蛋白, 通过质谱鉴定, 确定了其中分别有 33、22 和 39 个蛋白, 从属不同植物功能的蛋白种类; 不同成熟期的高表达蛋白差异较大, 涉及叶绿体连接酶、半胱氨酸蛋白酶、蛋白激酶、泛素连接酶、生长素反应因子等多种蛋白质。该研究为进一步开发利用诺丽果的植物蛋白提供科学合理的理论指导。

关键词: 诺丽果; 不同成熟期; 蛋白; 功能分析

中图分类号: S759.83 文献标识码: A

Identification and Functional characterization of Protein in Hainan Noni (*Morinda citrifolia* L.) Fruit at Different Ripening Stages

QIU Jing¹, SONG Yuan¹, WANG Ni¹, WANG Jiaren¹, CHEN Jing¹, CHEN Guangying¹, ZHAO Zhendong^{2*}, HE Wenying^{1*}

1. Key Laboratory of Tropical Medicinal Resource Chemistry of Ministry of Education, Haikou, Hainan 571127, China; 2. Analytical and Testing Center, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China

Abstract: Noni fruit is a characteristic fruit of Hainan with a variety of medicinal effects, but there are few studies on its plant proteins. In the present study, two-dimensional gel electrophoresis (2-DE gel) technology based on the BPP+phenol extraction method was used to extract and separate the proteins of noni fruits at different ripening stages including bud stage, half ripe stage, and mature stage by optimizing the experimental conditions to obtain the fingerprint of plant proteins. The gel images were analyzed by Image Master 5.0 software and some proteins with high expression were screened out. The enzymatic hydrolysates of the proteins were further identified by using MALDI-TOF-MS technology. The functional analysis of the highly expressed proteins of three kinds of noni fruits were preliminarily carried out by bioinformatics methods. The results indicated that there were respectively forty four, forty nine, and forty highly expressed proteins at three maturites noni fruits. Among the proteins, there were respectively thirty three, twenty two and thirty nine proteins by mass spectrum identification, which subordinated to various types of protein with different plant functions. Moreover, significant difference existed in the highly expressed proteins of different maturity stages, which involved in a variety of proteins such as chloroplastic ligase, cysteine proteinase, protein kinase, ubiquitin ligase, and auxin response factors. It could provided a scientific and reasonable theoretical guidance for the further development and utilization of the plant protein of noni fruits.

Keywords: noni (*Morinda citrifolia* L.) fruit; different maturites; protein; functional analysis

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2023.07.005

收稿日期 2022-09-16; 修回日期 2022-11-18

基金项目 海南省院士创新平台科研专项-海南省科技厅“海南黎药资源化学成分与药理活性研究”(No. YSPTZX202030)。

作者简介 邱 静(2000—), 女, 本科生, 研究方向: 植物蛋白质组学。*通信作者 (Corresponding author): 赵振东 (ZHAO Zhendong), E-mail: zhaozhd898@126.com; 何文英 (HE Wenying), E-mail: hewenying@hainnu.edu.cn。

诺丽(Noni)即海巴戟(*Morinda citrifolia* L.), 又名热带海巴戟、海巴戟天、四季果等, 属茜草科巴戟天属植物, 是一种生长于热带及亚热带的多年生常绿阔叶灌木或小乔木, 波利尼西亚土著将诺丽作为民间药物使用已有 2000 多年历史, 民间多用于治疗发烧、腹泻、便秘、哮喘、恶心呕吐、蚊虫叮咬及动物咬伤引起的感染等疾病^[1-2]。诺丽植株的多部位含有多种活性成分, 近年来已从诺丽的根、茎、叶、花、果实、树皮、芯材等部位分离鉴定了 300 余种化合物, 主要包括黄酮、多糖、香豆素、蒽醌、环烯醚萜、生物碱、木脂素、香豆素、三萜、甾醇等化学成分^[3]。现代药理学研究表明, 诺丽具有抗炎、抗癌、抗氧化、抗焦虑、抗抑郁、降血脂、降血糖、肝保护、改善记忆、提高耐力、提高免疫力、减轻骨质疏松症、改善关节疼痛及活动度、对缺血性神经元损伤的保护作用、多巴胺双向调节等作用^[4]。作为一种传统药食同源的植物, 诺丽果实也是一种特色的热带水果, 据报道, 其中含有 275 种以上的营养成分, 除含抗氧化物、东莨菪碱、多醣体、及罕见的对人体健康非常重要的 17 种虹苡类(环烯醚萜类)等化学成分以外, 还包括人体所需的 20 种必需氨基酸、9 种人体内无法自行生成的必需氨基酸; 另含有丰富维生素 B₁、维生素 B₂、维生素 B₆、维生素 B₃、叶酸等 14 种维生素, 含有钾、钠、锌、钙、铁、镁、磷、铜和硒等 16 种矿物质, 硒含量为其他水果的 10 倍以上^[5-7]。

由于诺丽的高营养价值, 早在 2010 年诺丽果浆被中华人民共和国卫生部列入了新资源食品名单, 诺丽种植在我国海南省和云南省已具备一定规模^[3]。通过追踪不同产地诺丽果关键发育期主要活性物质的动态变化, 不仅为诺丽果原材料的

实时采收、质量控制以及缩短诺丽产品生产成本与周期提供科学依据^[8], 也可对不同成熟度诺丽果进行主要活性成分分析。国内最新报道了云南产诺丽果不同成熟度诺丽果中多糖、总黄酮、总酚、总蒽醌、莨菪亭、总皂苷、桃叶珊瑚苷、蛋白质含量测定的研究, 结果表明成熟度与活性成分间具有一定的相关性^[8]。

国外也有较多关于诺丽果实及种子的种植、营养价值、药理活性及机制的研究^[9-11]。通过查阅国内外文献, 发现虽然有较多关于诺丽化学成分提取及其生物或药理活性的研究, 但还未见有诺丽不同成熟度的蛋白提取及其指纹图谱的建立或其中功能蛋白发现分析的报道。作为一种有较高营养价值及药理活性的药食同源植物, 研究其所含植物蛋白名称、发现与其药物活性相关的关键蛋白, 对深度了解诺丽果实、指导育种、进一步开发诺丽果实均具有非常重要的理论和实际意义。本研究利用蛋白质组学的双向电泳技术^[12], 获得海南不同成熟期的诺丽果蛋白图谱, 并利用物质谱及生物信息学技术, 鉴定分析诺丽果关键发育期主要蛋白质的动态变化, 为进一步深入研究和开发诺丽果提供科学合理的指导。

1 材料与方法

1.1 材料

花蕾期、半成熟及成熟诺丽果果实样品, 均采集于海南海口东山镇诺丽果种植园(20°02'45.97"N, 110°11'38.39"E), 经海南师范大学生命科学院的陈玉凯副教授鉴定确为花蕾期、半成熟及成熟诺丽果果实(图 1)。将采集回来的花蕾期、半成熟及成熟诺丽果样品用超纯水清洗干净, 用锡箔纸包裹住放入保鲜袋中, 于-80℃的冰箱中保存备用。



图 1 诺丽果样品

Fig. 1 Noni fruit sample

蛋白提取仪器及试剂: 台式恒温振荡器(精宏); QL-866 涡旋混合器; SIGMA3-18K 低温超

速离心机(德国 SIGMA); 超纯水系统(上海和泰); EYELA 摇床(东京理化); 蛋白质等电聚

焦仪 (Ettan IPGphor3), 固相 pH 梯胶条 (pH 3~10); Image scanner III 扫描仪 (美国通用公司 GE Healthcare); Image Master 5.0 凝胶图像分析软件; MultiTemp IV 恒温循环器; UV-2700 紫外分光光度计 (日本岛津); KQ2200E 型超声波清洗仪 (曙峰企业); GM-0.33A 型隔膜真空泵 (津腾); Voyager-DE PRO ABI4700 时间飞行质谱仪 (美国 ABI 公司)。所有试剂均为国产分析纯试剂, 所有实验用水为超纯水。

1.2 方法

1.2.1 BPP+酚抽提法提取蛋白 (1) 取出样品, 切成小块, 置于预冷的干净研钵中, 加入少许 PVPP 粉末和少许二氧化硅粉末, 在液氮环境中研磨到粉末状; 称取 3 g 研磨好的样品粉末, 加入至 10 mL 离心管中, 再加入 10 mL BPP 提取缓冲液, 充分涡旋震荡 10 min; 再加入 10 mL Tris 饱和酚, 涡旋 10 min; 在 SIGMA3-18K 低温超速离心机中离心 15 min (4 °C, 转速: 16000 × g); 移取上层清液转移至干净离心管中, 加入 5 mL BPP 提取缓冲液, 涡旋震荡 10 min 后离心 15 min; 再移取 3 mL 上层清液转移至干净离心管中, 加入 15 mL 预冷过饱和硫酸铵甲醇溶液 (AM 沉淀剂), 置于 -20 °C 冰箱中沉淀 12 h 以上; 从冰箱中取出离心管, 用 AM 沉淀剂配平后离心 15 min 弃上清液; 每管再加入 2 mL 预冷甲醇, 去上清液, 涡旋均匀, 重复 2 次; 再分别加入 2 mL 预冷丙酮, 重复 2 次转移及离心步骤; 去除上清液, 分别加入适量 DTT, 混合均匀, 按 10 mg/mL 加入适量裂解液, 于 20 °C 恒温溶解 2 h 以上; 待蛋白完全溶解到裂解液后, 离心, 取上清液, 测定蛋白浓度。

(2) 标准曲线法测定蛋白质含量。称取 1 mg 牛血清蛋白充分溶解于 1 mL 超纯水中, 配制成 1 mg/mL 的标准牛血清蛋白储备液。分别准确量取 1 mg/mL 的标准牛血清蛋白储备液若干体积, 用超纯水配制成 0、2、4、6、8、10 μg/mL 的牛血清蛋白标准溶液。利用紫外分光光度计, 测定在 595 nm 处的吸光度值, 根据朗伯-比尔定律, 以牛血清蛋白标准溶液的浓度为横坐标, 吸光度值为纵坐标, 制作标准曲线。

1.2.2 蛋白质含量测定 采用 Bradford 法测定样品的蛋白浓度^[13], 使用紫外分光光度计, 在 595 nm 的波长下测定花蕾期、半成熟及成熟诺丽

果蛋白提取液的紫外吸光度值, 根据标准曲线方程, 计算样品中蛋白质的含量。

1.2.3 单向电泳实验 根据吴秀丽等^[14]的方法进行单向电泳实验, 确定双向电泳的最佳上样浓度。

1.2.4 双向电泳实验 移取含有 1.3 mg 蛋白质的提取液, 用蛋白裂解液稀释至样品体积为 455 μL, 加 5 μL IPG Buffer 于离心管中, 轻轻震荡使其混合均匀, 转移至 IPG 胶条 (pH 3~10) 上, 20 °C 恒温水化 18 h 以上; 保持室温 20 °C 左右, 设置聚焦极限电流为每根胶条 50 μA, 电压参数如表 1 所示, 进行一向等电聚焦; 再将胶条放置在摇床上平衡 15 min; 在制备好的聚丙烯酰胺凝胶上进行二向垂直电泳操作, 设置参数为: 每张胶片 5 W 进行预电泳 1 h, 每张胶片 7 W 至电泳结束; 再进行凝胶染色和脱色、凝胶扫描和用 Image Master 软件分析凝胶图谱^[14], 筛选出高表达的蛋白并进行编号。

表 1 等电聚焦参数

Tab. 1 The parameters of isoelectric focusing

步骤 Procedure	电压 Voltage/V	花蕾期时间 Time of bud stage/h	半成熟期时间 Time of half ripe stage/h	电压 Voltage /V	成熟期时间 Time of ripe stage/h
1	250	4	3	250	5
2	500	2	2	500	5
3	1000	1	1	1000	3
4	1000~8000	3	3	3000	2
5	8000	8	8	8000	14
6	1000	任意时间	任意时间	1000	任意时间

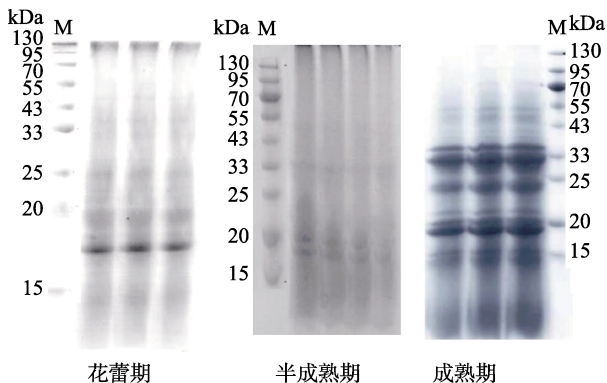
1.2.5 生物质谱鉴定及分析 挖取高表达蛋白质, 分别用 150 μL 超纯水、150 μL 脱色液和 100 μL 乙腈处理, 放置在摇床上摇荡 30 min, 转速设置为 150 r/min, 摇荡后吸出离心管中的水, 以上步骤重复 3 次, 直至蛋白粒变为无色, 置于室温下风干; 将蛋白样品离心后加入适量胰蛋白酶, 放置在 4 °C 冰箱中 1 h 左右; 再将其放置在 PCR 仪上酶解蛋白 (37 °C, 13 h); 设置转速 7000 × g, 离心 5 min (20 °C), 备用; 利用 MALDI-TOF-MS 进行蛋白鉴定; 将所得的质谱数据通过 Mascot Distiller 软件进行分析, 再利用 Matrix Science (<http://www.matrixscience.com>) 网站进行搜库比对, 确定蛋白的名称、种类及其他信息。

2 结果与分析

2.1 不同成熟期诺丽果蛋白提取

通过 Bradford 法测定 3 种诺丽果的蛋白浓度, 在波长为 595 nm 处通过测定系列梯度浓度的标准牛血清蛋白溶液的吸光度值, 建立标准曲线方程 (未显示), 计算得出花蕾期、半成熟及成熟诺丽果蛋白溶液的浓度分别为 6.808、11.30、5.89 mg/mL。

为获得双向电泳合适的上样浓度, 进行单向电泳实验, 结果如图 2 所示。不同成熟期诺丽果的蛋白分子量介于 15~130 kDa 之间, 花蕾期的蛋白主要在 17、20、25 kDa 左右, 半成熟期的蛋白主要在 17、20、33 kDa 左右, 而成熟期的蛋白则主要集中在 15、20、25、33 kDa 左右。另外, 从图 2 可以清晰看出样品的蛋白条带, 说明不同成熟期诺丽果实蛋白质未降解, 可以进行后续双向电泳实验操作。



M: 彩虹预染蛋白 (10~260 kDa)。
M: Rainbow prestain protein (10~260 kDa)。
图 2 诺丽果蛋白单向电泳图

Fig. 2 The unidirectional electrophoretograms of noni fruits

在优化实验条件下, 通过双向电泳实验可以得到清晰明显、分离效果很好的蛋白凝胶图谱, 再经 ImageMaster 软件分析在蛋白凝胶图谱上标记高表达的蛋白点。花蕾期、半成熟及成熟诺丽果实分别有 44、49 和 40 个高表达蛋白 (图 3)。

2.2 不同成熟期诺丽果蛋白质谱鉴定

将不同成熟期诺丽果中的若干高丰度蛋白质点, 经过挖点、酶解和提取处理后, 利用基质辅助激光解吸附电离飞行时间质谱仪 (MALDI-TOF-MS) 对其进行分析和鉴定, 并设置参数以基质峰、酶自切峰进行校正, 测定各蛋白肽段的质谱数据, 再通过植物蛋白质数据库进行对比来确

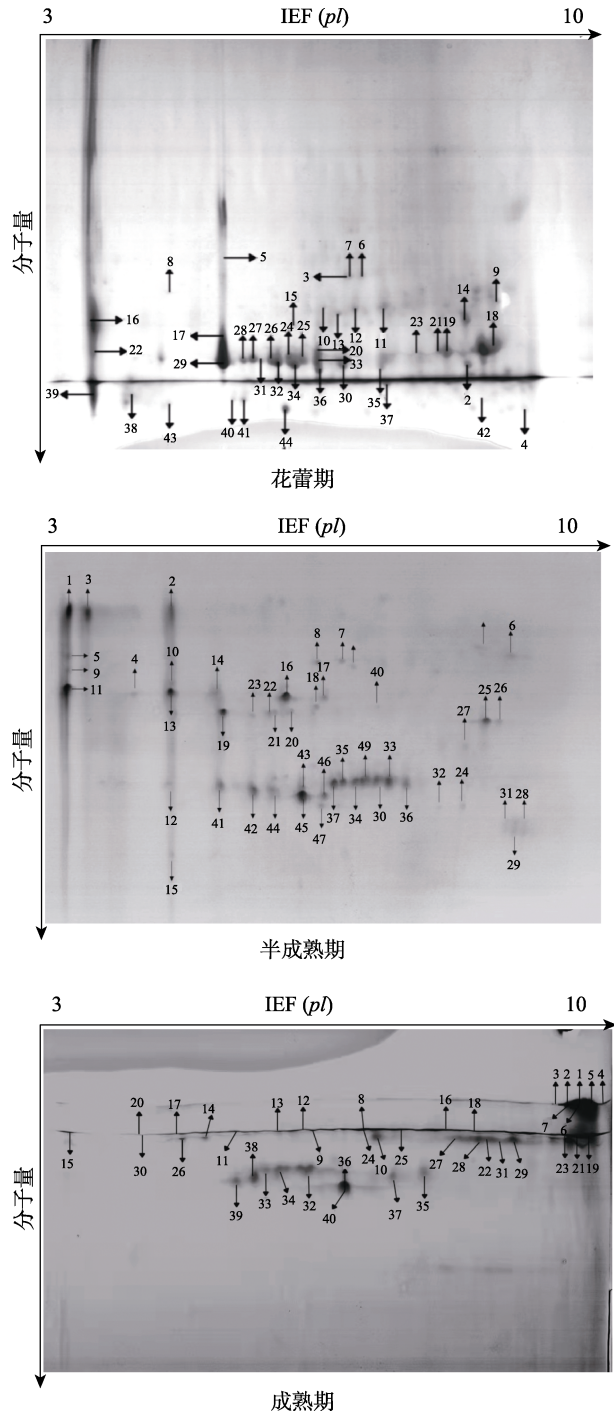


图 3 诺丽果蛋白双向电泳图

Fig. 3 The dimensional electrophoretograms of Noni fruits.

定这些蛋白的名称、种类等信息, 最终成功鉴定出花蕾期有 33 个蛋白点、半成熟期有 23 个蛋白点、成熟期有 39 个蛋白点, 结果分别如表 2、表 3 及表 4 所示。

2.3 不同成熟期诺丽果蛋白功能分析

以上通过利用双向电泳实验和 MALDI-TOF-MS 生物质谱技术, 对海南不同成熟期的诺丽果

表 2 花蕾期蛋白质鉴定信息
Tab. 2 The identifying information of bud stage

编号 No.	蛋白名称 Protein name	等电点 Isoelectric point	分子量 Molecular weight/Da	得分 Score	覆盖率 Fraction of coverage/%	物种名称 Species name
1	硫氧还蛋白 M2, 叶绿体	9.35	20 300	49	9	拟南芥
2	驱动蛋白 KIN-12D	5.13	314 865	43	0	拟南芥
3	翻译因子 GUF1 同源物, 叶绿体	5.05	66 940	37	1	绿色鞭毛藻
4	染色质重塑蛋白 At4g04260	6.51	27 105	39	4	拟南芥
5	果胶乙酰酯酶 10	9.07	46 532	48	5	拟南芥
6	可能的 E3 泛素蛋白连接酶 WAVH2	9.63	78 530	43	1	拟南芥
7	谷氨酸受体 2.8	6.45	107 121	40	1	拟南芥
8	枯草杆菌蛋白酶 SBT1.5	6.74	82 532	46	1	拟南芥
9	类成束蛋白的阿拉伯半乳糖蛋白 15	6.22	48 043	55	3	拟南芥
10	蛋白质单秆突变体 1	6.79	45 721	45	3	水稻亚种粳稻
11	G 型凝集素 S 受体样丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 At1g61490	7.20	89 877	37	1	拟南芥
12	转录终止因子 MTERF4, 叶绿体	5.70	55 196	66	3	玉蜀黍
13	Dol-P-Man: Man (6) GlcNAc (2) -PP-Dola-1,2-甘露糖基转移酶	8.96	65 041	53	2	拟南芥
14	木葡聚糖半乳糖基转移酶 XLT2	8.67	59 608	53	3	拟南芥
15	Squamosa 启动子结合样蛋白 10	9.15	44 263	64	4	水稻亚种籼稻
16	赖氨酸特异性脱甲基酶 JMJ703	7.81	137 295	48	0	水稻亚种粳稻
17	推定的 F-box 蛋白 At2g33190	5.86	43 955	42	3	拟南芥
18	可能的抗病蛋白 RPP1	6.34	136 045	41	1	拟南芥
19	乙烯反应性转录因子 ERF027	5.12	20 757	48	6	拟南芥
20	E3 泛素蛋白连接酶 ATL15	6.04	42 199	44	3	拟南芥
21	肉桂醇脱氢酶 1	5.93	38 487	46	4	水稻亚种粳稻
22	阳离子过氧化物酶 3 的蛋白过表达	4.77	39 088	60	5	拟南芥
23	根向光蛋白 2	7.49	65 813	57	2	拟南芥
24	生物素蛋白连接酶 2	6.02	37 129	49	3	拟南芥
25	咖啡酸 3-O-甲基转移酶 2	5.83	39 587	54	3	罗勒
26	转录因子 BHLH094	6.80	27 567	47	6	水稻亚种粳稻
27	可能的转录因子 MYB58	7.68	37 087	56	4	水稻亚种粳稻
28	硫氧还蛋白样蛋白 CXXS1	5.28	13 326	70	9	拟南芥
29	生物素蛋白连接酶 2	6.02	37 129	41	3	拟南芥
30	50S 核糖体蛋白 L16, 叶绿体	11.66	15 261	47	8	天竺葵
31	丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 SRK2C	5.37	38 225	42	3	拟南芥
32	富含甘氨酸的结构域蛋白 1	6.62	89 430	44	2	拟南芥
33	泛素	6.56	8 520	276	38	燕麦

表 3 半成熟期蛋白质鉴定信息
Tab. 3 The identifying information of half ripe stage

编号 No.	蛋白名称 Protein name	等电点 Isoelectric point	分子量 Molecular weight/Da	得分 Score	覆盖率 Fraction of coverage/%	物种名称 Species name
1	吡啶-3-乙醛氧化酶	6.02	14 9459	67	1	拟南芥
2	蛋白短梗 2	5.71	41 837	59	4	拟南芥
3	蛋白短梗 2	5.71	41 837	59	4	拟南芥
7	E3 泛素蛋白连接酶 BRE1 样 1	8.14	100 336	36	1	水稻亚种籼稻
8	鳞片启动子结合样蛋白 10	9.15	44 263	45	2	水稻亚种
10	半胱氨酸蛋白酶 3	8.59	38 920	58	5	番茄茄

续表 3 半成熟期蛋白质鉴定信息

Tab. 3 The identifying information of half ripe stage (continued)

编号 No.	蛋白名称 Protein name	等电点 Isoelectric point	分子量 Molecular weight/Da	得分 Score	覆盖率 Fraction of coverage/%	物种名称 Species name
11	CASP 样蛋白 4A2	11.25	33 085	76	7	水稻亚种梗稻
13-22	半胱氨酸蛋白酶 3	8.59	38 920	58	5	番茄
31	光敏色素	5.63	125 986	60	1	挪威云杉
33	蛋白质 Ycf2	9.07	273 406	62	0	松叶蕨
34	硫氧还蛋白样蛋白 CXXS1	5.28	13 326	70	9	拟南芥
35	DNA 定向 RNA 聚合酶 α 亚单位	6.23	39 395	59	4	毛茛属植物
36	线粒体输入受体亚单位 TOM20-3	4.94	22 551	43	9	拟南芥
37	含五三肽重复序列的蛋白质 At5g04810, 叶绿体	6.71	106 671	76	2	拟南芥
41	可能的 LRR 受体样丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 At1g53430	5.63	114 873	39	0	拟南芥
42	(-)-异戊醇/(-)-卡维素脱氢酶, 线粒体	6.99	27 174	53	4	洋薄荷
43	非生氰 β -葡萄糖苷酶	5.85	55 925	59	3	白三叶草
44	尿卟啉原 III 合酶, 叶绿体	8.84	32 103	52	3	水稻亚种梗稻
45	14-3-3 样蛋白 GF14	4.83	30 526	51	7	拟南芥
46	真核翻译起始因子 4B2	8.69	59 289	64	3	拟南芥
47	含 B3 结构域的蛋白质 REM9	5.98	51 425	74	3	拟南芥
49	核酮糖二磷酸羧化酶大链 (片段)	6.34	48 828	55	4	毛核木雪果

表 4 成熟期蛋白质鉴定信息

Tab. 4 The identifying information of ripe stage

编号 No.	蛋白名称 Protein name	等电点 Isoelectric point	分子量 Molecular weight/Da	得分 Score	覆盖率 Fraction of coverage/%	物种名称 Species name
1	推定 pumilio 蛋白同系物 25	9.00	15 788	60	11	拟南芥
2	9 号因子蛋白质, 线粒体 OS	9.09	45 180	57	3	拟南芥
3	DNA 引导的 RNA 聚合酶亚基 β OS	8.85	11 9219	55	1	环脊双星藻
4	染色体蛋白 5 OS 的结构维持	6.52	12 1365	54	1	拟南芥
5	蛋白质短梗 2 型	5.71	41 837	49	4	拟南芥
6	丙氨酸-tRNA 连接酶, 叶绿体/线粒体 OS	5.09	96 418	56	1	绿色鞭毛藻 CCE9901
7	(S)-2-羟酸氧化酶 GLO1 OS	9.16	40 316	54	3	拟南芥
8	肽-N4-(N-乙酰基- β -氨基葡萄糖)天冬酰胺酰胺酶 AOS	8.61	64 440	52	2	巴旦杏
9	岩藻糖转移酶 23os	9.24	50 616	48	2	拟南芥
10	钙依赖性蛋白激酶 31 OS	5.99	54 662	44	2	拟南芥
11	番茄红素 ϵ 环化酶, 叶绿体 OS	5.71	58 454	61	2	拟南芥
12	钙依赖性蛋白激酶 31 OS	5.99	54 662	50	2	拟南芥
13	开花时间控制蛋白 FCA OS	9.00	79 541	43	2	水稻籼稻组
14	香叶基香叶基转移酶 2 亚基 β 1os	5.35	35 473	47	4	拟南芥
15	可能的受体样蛋白激酶 At1g49730 OS	8.36	72 896	36	1	拟南芥
16	豆球蛋白类 B 型 OS	5.87	54 415	48	2	蚕豆
17	转录终止因子 MTERF4, 叶绿体 OS	5.70	55 196	66	3	玉米
18	蛋白质 Ycf2 OS	9.07	273 406	57	0	松叶蕨
19	抗病蛋白 Pik-1 OS	5.94	126 720	63	1	水稻亚种梗稻组
20	乙酰乳酸合酶小亚基 1, 叶绿体 OS	6.78	52 298	67	3	拟南芥
21	受体样蛋白 26 OS	5.50	89 061	51	1	拟南芥

续表 4 成熟期蛋白质鉴定信息

Tab. 4 The identifying information of ripe stage (continued)

编号 No.	蛋白名称 Protein name	等电点 Isoelectric point	分子量 Molecular weight/Da	得分 Score	覆盖率 Fraction of coverage/%	物种名称 Species name
22	NADH 脱氢酶[泛醌]1 α 亚基复合物 8-b os	7.51	11 960	79	20	拟南芥
23	可能的醛氧化酶 4 OS	6.32	91 313	40	2	水稻亚种粳稻组
24	驱动蛋白样蛋白 KIN-14L OS	9.11	106 943	52	1	拟南芥
25	生长素反应因子 3 OS	8.16	79 533	54	1	水稻亚种粳稻组
26	Remorin 蛋白 OS	6.15	21 756	39	5	马铃薯
27	生长素反应因子 3 OS	8.16	79 533	56	1	水稻亚种粳稻组
28	tRNase Z TRZ4, 线粒体 OS	8.04	104 660	60	2	拟南芥
29	半胱氨酸蛋白酶 3 OS	8.59	38 920	60	5	番茄
30	胍胍质合酶 9 OS	8.71	216 949	41	0	拟南芥
31	解旋酶蛋白 MOM1 OS	5.24	218 433	57	0	拟南芥
32	胚胎蛋白 DC-8 OS	5.77	60 223	52	2	胡萝卜
33	3-乙酸吡啶 β -葡萄糖基转移酶 OS	5.75	49 679	45	2	玉米
34	推定的 F-box 蛋白 At3g22710OS	8.69	38 911	54	3	拟南芥
35	ATP 合酶亚基 α , 叶绿体 OS	5.48	54 999	65	2	猪鬃草
36	果胶酯酶抑制剂 8 OS	5.67	18 955	70	5	水稻亚种粳稻组
37	酰基脂质 (8-3) -去饱和酶 OS	7.10	54 232	53	3	小立碗蕨
38	25S rRNA (胞嘧啶-C (5)) -甲基转移酶 NOP2A OS	4.99	76 729	55	2	拟南芥
39	bZIP 转录因子 17 OS	5.96	78 389	67	2	拟南芥

实中植物蛋白的提取和鉴定实验,成功匹配了花蕾期、半成熟及成熟诺丽果实分别有 44、49 和 40 个高表达蛋白,通过质谱鉴定,相应确定了分别有 33、49 及 39 个蛋白,从属不同植物功能的蛋白种类,对这些差异表达的蛋白进行了简单的生物学功能分析,详见表 5~表 7。花蕾期和半成熟期相同的蛋白有:硫氧还蛋白、驱动蛋白、叶绿体、丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶、蛋白连接酶、Squamosa 启动子结合样蛋白、转录因子;花蕾期和成熟期相同的蛋白有:转移酶、可能的抗病蛋白、F-box 蛋白;半成熟期和成熟期相同的蛋白有:蛋白短梗、半胱氨酸蛋白酶、转移酶、叶绿体、蛋白质 Ycf2。

3 讨论

诺丽果不同成熟期的蛋白相差较大,表现在众多的生长、发育及遗传功能方面。花蕾期的 23 号根向光蛋白与半成熟期的 31 号光敏色素均与植物的光感应相关,由于开花是植物从营养生长到生殖生长的一个重要转折点,直接影响着种子植物生育期的早晚、授粉及种子发育的最佳时期,这暗示不仅可通过人为调节光的某些特性来调控

花蕾期诺丽果的根向光蛋白,从而促使花蕾期诺丽果尽快开花,也可从不同成熟的诺丽果提取根向光蛋白并用于科学培植诺丽果^[91]。此外,发现花蕾期的 8 号蛋白枯草杆菌蛋白酶^[92]、18 号蛋白可能的抗病蛋白 RPP1^[93]与成熟期的 19 号抗病蛋白 Pik-1^[94],均与植物抵抗病菌相关,也表明这 3 种抗病蛋白可有望开发为高效、低毒的生物农药。

本研究发现部分蛋白与动物体内的蛋白相同,具有不同的生物学或药理学功能,如花蕾期的 1、28 号蛋白和半成熟期的 34 为硫氧还原蛋白,作为一种小的热稳定酸性蛋白,是细胞中重要的氧化还原蛋白,具有调节细胞抗氧化、抗胁迫、细胞凋亡、DNA 结合转录因子活性等功能,说明在诺丽果花蕾期到半成熟期的发育过程中,可能在抗氧化应激、阻止线粒体介导的细胞死亡、调节某些基因的表达等方面起关键作用^[15];作为人体重要的内源性抗氧化系统之一,硫氧还原蛋白被研究证明具有出色的抗氧化活性或调节众多细胞生存相关信号通路,从而抵抗活性氧损伤^[95]。花蕾期的 2 号、成熟期的 24 号蛋白为驱动蛋白,作为一类重要的微管调节蛋白,可能在诺丽果的神经元的发育、纺锤体的组装和染色体的分离过程

表 5 花蕾期诺丽果主要蛋白功能分析

Tab. 5 The functional analysis of main proteins of bud stage

编号 No.	蛋白质名称 Protein name	生物学作用 Biological function
1、28	硫氧还蛋白 M2, 叶绿体	具有调节细胞抗氧化、抗胁迫、细胞凋亡、DNA 结合转录因子活性等功能 ^[15]
2	驱动蛋白	在神经元的发育、纺锤体的组装和染色体的分离过程中起着重要的作用 ^[16]
3、12、30	叶绿体	编号 3 为对肽链合成的起始、延伸和终止有重要作用的蛋白质因子 ^[17-18] 。编号 12 为定位叶绿体的 mTERF 蛋白, 广泛参与到拟南芥逆境响应及叶绿体基因的转录及转录后加工的各个过程 ^[19] 。编号 30 与植物生长素系统之间存在相互协调机制, 生长素信号可能在核糖体应激通路中发挥重要作用 ^[20]
4	染色质重塑蛋白	染色质重塑蛋白通过调控基因组稳定性和基因表达影响细胞生长与发育, 具有激活或抑制转录因子转录的双重活性作用 ^[21]
5	果胶乙酰酯酶	参与植物生长发育繁殖过程、果实硬度变化及植物防御生物和非生物胁迫; 参与植物细胞壁对重金属等的富集和解毒 ^[22]
6、20、24、2、	蛋白连接酶	编号 6 及 20 蛋白为 E3 泛素蛋白连接酶, 其广泛参与细胞内的代谢过程 ^[23] 。编号 24 及 29 蛋白为生物素蛋白连接酶, 通过调节微生物的乙酰辅酶 A 羧化酶和丙酮酸羧化酶, 控制重要代谢途径的关键反应 ^[24]
7	谷氨酸受体	在调控植物信号转导、在抵御非生物胁迫如干旱、低温、盐胁迫等以及生物胁迫如真菌、细菌、线虫侵染的过程中发挥着重要的作用 ^[25]
8	枯草杆菌蛋白酶	可调控植物发育, 在许多植物应对环境胁迫和病菌侵染过程中发挥重要作用 ^[26]
9	类成束蛋白阿拉伯半乳糖蛋白 15	能够促进根和花粉管的伸长; 某些在植物激素存在的情况下其表达量快速下调; 可能在细胞伸长、细胞粘连和次生壁成熟的过程中起作用 ^[27]
10	蛋白质单秆突变体	表达与否直接决定水稻能不能分蘖, 表达量的高低也在一定程度上决定分蘖数目的多少, 而且 MOC1 突变还会影响花序的分枝状况 ^[28]
11、31	蛋白激酶	在不同植物中参与调节酵母盐胁迫适应、构成 Ca ²⁺ 结合蛋白、对植物激素 ABA 的耐受性、响应冷胁迫等多种植物逆境胁迫过程中起到重要作用 ^[29]
13、14、25	转移酶	编号 13 为甘露糖基转移酶, 其功能表现在酿酒酵母缺失复合酶后, 导致菌体出现不同程度的缺陷表型, 包括细胞骨架起始或延长受阻、生长减慢、细胞周期停滞、细胞壁结构脆弱、对杀菌剂和渗透胁迫敏感性增加 ^[30] 。编号 14 对细胞壁的结构组织和生长发育具有重要的调控作用; 在维持细胞壁结构和拉伸强度中具有重要作用 ^[31]
15	Squamosa 启动子结合样蛋白	在植物的胚胎、芽、叶片、花、果实等器官生长发育过程中起着重要作用 ^[32]
16	赖氨酸特异性脱甲基酶	非组蛋白赖氨酸特异性脱甲基酶, 在调控众多细胞过程中起非常关键的作用, 比如可影响干细胞在自我恢复和发挥多潜能的过程中调控其形态等 ^[33]
17	F-box 蛋白	植物中的 F-box 蛋白参与许多信号传导体系, 在信号通路中起着非常重要的作用 ^[34]
18	可能的抗病蛋白	能够特异地识别病原微生物分泌的效应蛋白, 触发免疫响应以对抗病原微生物的侵扰 ^[35]
19、26、27、12	转录因子	编号 19 为乙烯反应性转录因子, 参与植物发育、植物应答逆境胁迫应答过程、与乙烯反应或盐反应过程, 能调控植物耐盐性 ^[36] 。编号 26 及 27 为植物中的两种重要转录因子, 参与调控植物生长发育、生理代谢和响应逆境等 ^[37-38]
21	肉桂醇脱氢酶	在木质素途径中起到关键的作用; 能够在还原型辅酶 II 的还原作用下将肉桂醛还原生成相应的肉桂醇; 在裸子植物中, 其对松柏醛的活性更高; 被子植物中, 可将醛催化还原为相应的醇 ^[39]
22	阳离子过氧化物酶 3 的蛋白	在植物生长发育中起至关重要的作用, 植株的株高或者根长与阳离子过氧化物酶呈负相关的关系 ^[40]
23	根向光蛋白	向光蛋白参与植物向光性、叶绿体运动、孔开放等; 可参与植物光诱导激活细胞中的某些离子通道; 向光蛋白可控制有性生殖过程中的多个步骤; 且作为蓝光诱导的蛋白激酶在受蓝光处理后在其 PAS 域内形成一个与 FMN 共价结合的蛋白复合物 ^[41]
32	富含甘氨酸的结构域蛋白	此类基因编码的蛋白都具有细胞壁结构蛋白的功能, 可能对细胞壁中其他组分的分布起到支架作用 ^[42]
33、6、20	泛素	其主要作用是调控泛素化过程中的底物蛋白修饰, 并涉及通过泛素蛋白酶体系的蛋白降解; 以及修复损伤的 DNA, 参与蛋白质的膜泡运输; 在植物免疫信号通路中有微调的重要作用等 ^[43]

表 6 半成熟期诺丽果主要蛋白功能分析

Tab. 6 The functional analysis of main proteins of half ripe stage

编号 No.	蛋白质名称 Protein name	生物学作用 Biological function
1	吡啶-3-乙醛氧化酶	是催化吡啶乙酸合成过程中最关键的一种酶 ^[44]
2、3	蛋白短梗 2	在控制细胞增殖和根尖生长延伸的范围有重要作用 ^[45]
7	蛋白连接酶	同花蕾期 6、20 号蛋白
8	Squamosa 启动子结合样蛋白	同花蕾期 15 号蛋白
10、13、14、16、18、19、20、21、22	半胱氨酸蛋白酶	是植物中重要的蛋白酶家族之一，广泛参与种子萌发、幼苗发育，胁迫响应和组织分化衰老等过程 ^[46]
11	CASP 样蛋白	对控制生物间相互作用、植物根部选择性吸收水分、矿物质及营养供给嫩芽新枝有非常重要的作用 ^[47]
31	光敏色素	在植物抗逆生长中，光敏色素主要通过激素途径介导植物做出适应性反应发挥着重要作用 ^[48] ；在植物种子发芽、开花、发育转变、趋光性、避阴反应等适应性应答中发挥着重要作用 ^[49]
33	蛋白质 Ycf2	在植物的质体系产生，主要功能表现在基因表达和光合成方面 ^[50]
34	硫氧还蛋白样蛋白	同花蕾期 1、28 蛋白
35	DNA 定向 RNA 聚合酶 α 亚单位	主要生产转录 RNA，在所有生物的基因表达过程中起非常重要的作用 ^[51]
36	线粒体输入受体亚单位	Tom20 是预合成经典 N 端亲水脂前序列蛋白的初步识别位点，即可提供基质或膜间空间 ^[52]
37	含五三肽重复序列的蛋白质	通过调控所有线粒体 DNA 编码的 mRNAs，在调控线粒体功能方面发挥重要作用 ^[53]
37	叶绿体	同花蕾期 3、12、30 蛋白
41	丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶	同花蕾期 11、31 蛋白
42	(-)-异戊醇/(-)-卡维素脱氢酶，线粒体	可催化反式异戊醇的氧化反应，在植物中薄荷醇的微生物合成过程中发挥重要作用 ^[54]
43	非生氰 β -葡萄糖苷酶	β -葡萄糖苷酶是植物在长期进化过程中所演变的一种自我保护机制，可激活植物抗菌素如生氰糖甙等，具有降解生氰糖苷的作用 ^[55-56]
44	尿卟啉原 III 合酶	UROS 在高等植物叶绿素合成途径中有重要作用，比如小麦胆色素原脱氨酶和尿卟啉原 III 合酶表达调控异常可导致小麦返白系的返白现象 ^[57]
45	14-3-3 样蛋白	在植物生理机能方面发挥非常重要的作用 ^[58]
46	真核翻译起始因子	保证蛋白质翻译的正常进行；还参与植物的抗病性 ^[59]
47	含 B3 结构域的蛋白质	涉及植物激素的合成以及信号转导、种子发育、开花调控、生物和非生物的胁迫应答等，在植物生长发育及胁迫应答中发挥着重要的调控作用 ^[60]
49	核酮糖二磷酸羧化酶大链	核酮糖二磷酸羧化酶是高等植物叶片中含量极丰富的一种酶，它同时具有羧化与加氧双重功能，是光合作用与光呼吸作用的分水岭 ^[61]

表 7 成熟期诺丽果主要蛋白功能分析

Tab. 7 The functional analysis of main proteins of ripe stage

编号 No.	蛋白质名称 Protein name	生物学作用 Biological function
1	推定 pumilio 蛋白同系物	在调控真核生物 mRNA 代谢的多方面发挥作用 ^[62]
2、6、28	线粒体	是生命活动所需能量的主要生产场所；执行如三羧酸循环、部分尿素循环及铁-硫复合体的生物合成等多条重要的生物化学通路；负责控制胞浆内钙离子浓度和调节细胞凋亡等 ^[63]
3	DNA 引导的 RNA 聚合酶	其主要功能表现在对 DNA 的转录特异性方面 ^[64]
4	染色体蛋白的结构维持	染色体结构维持蛋白在维持染色体形态特征结构中有主要作用 ^[65]
5	蛋白质短梗	同半成熟期的蛋白 2、3
7	羧酸氧化酶	可催化一系列 α -羧酸氧化生成相应的 α -酮酸，生成过氧化氢 ^[66]
8	天冬酰胺酰胺酶	人类天冬酰胺参与并调节恶性肿瘤细胞的侵袭及转移，并可介导抗肿瘤免疫反应 ^[67]
9	转移酶	编号 9 为墨角藻糖基转移酶，可催化向底物中添加岩藻糖单元形成寡糖的过程，在蛋白质糖基化异常过程中起着重要的作用 ^[68]

续表 7 成熟期诺丽果主要蛋白功能分析
Tab. 7 The functional analysis of main proteins of ripe stage (continued)

编号 No.	蛋白质名称 Protein name	生物学作用 Biological function
10、12	钙依赖性蛋白激酶	在 Ca^{2+} 介导的信号转导中起重要作用。参与调控植物根、茎、叶的发育；参与调控植物激素信号通路；参与植物生物胁迫反应等 ^[69]
11	番茄红素 ϵ 环化酶,	可催化番茄红素向 α 类胡萝卜素的转化 ^[70]
13	开花时间控制蛋白	直接影响着种子植物生育期的早晚、授粉及种子发育的最佳时期 ^[71]
14	香叶基香叶基转移酶	对羟基苯甲酸香叶基转移酶 (PGT) 在紫草素类化合物的生物合成途径中起重要作用 ^[72]
15	受体样蛋白激酶	类受体蛋白激酶是一个庞大的基因家族,在植物逆境反应中具有重要作用 ^[73]
16	豆球蛋白类	豆科和非豆科植物种子中主要的贮存蛋白 ^[74]
17	转录终止因子 MTERF4	参与线粒体基因复制、转录及翻译的调控；可能与线粒体基因表达的稳定性或线粒体功能密切相关 ^[75]
18	蛋白质 Ycf2	同半成熟期蛋白 33
19	抗病蛋白 Pik-1	能够特异地识别病原微生物分泌的效应蛋白, 触发免疫响应以对抗病原微生物的侵袭 ^[76]
20	乙酰乳酸合酶	是植物、真菌和细菌细胞内支链氨基酸 Val、Leu、Ile 生物合成过程中关键酶,是乙酰乳酸合酶抑制剂类除草剂如磺酰脲类、咪唑啉酮类、嘧啶水杨酸和磺酰氨基类的作用靶标 ^[77]
21	受体样蛋白	对植物的生长发育起着重要调节作用, 参与激素反应、信号转导及干旱等非生物逆境胁迫的响应 ^[78]
22	NADH 脱氢酶	可调控线粒体的氧化磷酸化过程, 进而影响真核细胞的产能 ^[79]
23	醛氧化酶	可将机体内形成的有毒醛类物质氧化为无毒酸, 以缓解醛类物质对机体的毒害作用; 可参与细胞内电子传递以及在代谢和繁殖等相关的生理活动中发挥重要作用 ^[80]
24	驱动蛋白 KIN-14L	Kin-I 驱动蛋白 (Kin-I kinesins) 具有依赖 ATP 的微管解聚活性, 在神经元的发育、纺锤体的组装和染色体的分离过程中起着重要的作用 ^[16]
25、27	生长素反应因子	植物生长和发育的重要调节因子 ^[81]
26	Remorin 蛋白	在植物生长发育、信号转导、抗病性和胁迫应答方面起着至关重要的作用 ^[82]
29	半胱氨酸蛋白酶	同半成熟期的 10、13、14、16、18、19、20、21、22 蛋白
30	胍胍质合酶	在植物的生长过程中有抵御各种生物和非生物因素的胁迫的作用 ^[83]
31	解旋酶蛋白	参与 RNA 多方面代谢, 对植物生长发育尤其在非生物胁迫应答中发挥重要作用 ^[84]
32	胚胎蛋白	参与如染色质重编程、基因组印记、胚胎干细胞干性维持及体细胞克隆等许多重要的生物学事件 ^[85]
33、38	转移酶	编号 33 为 3-乙酸吡啶 β -葡萄糖基转移酶主要参与植物的抗逆境反应、次级代谢物的合成, 调节植物激素平衡等 ^[86] 。编号 38 为 25S rRNA (胞嘧啶-C(5))-甲基转移酶, DNA 的胞嘧啶甲基化在植物转座子的沉默与失活、印记基因的表达中非常重要 ^[87]
34	F-box 蛋白	同花蕾期的 17 号蛋白
35	ATP 合酶亚基 α	利用光合电子传递过程中产生的跨膜质子动力势催化 ADP 与无机磷合成 ATP, 实现光能向化学能的转化 ^[88]
36	果胶酯酶抑制剂	果胶酯酶对细胞壁的组成与降解、种子萌发、果实成熟以及花粉发育和花粉管的生长等植物的生长发育过程起重要的作用 ^[89]
37	酰基脂质-去饱和酶	其功能是通过与膜键合接受在甘油糖脂中醚化了的脂肪酸作为底物, 完成单不饱和脂肪酸的去饱和 ^[90]
39	bZIP 转录因子 17 OS	在植物的生长发育中发挥重要调控作用, 是参与调控植物生长发育、生理代谢和响应逆境等的一类重要转录因子 ^[38]

中起着重要的作用^[16], 人体驱动蛋白是分子马达的一种, 其通过结合和水解 ATP, 导致颈部发生构象变化, 促使驱动蛋白沿着微管“行走”, 完成细胞中货物运输的工作, 能为细胞生命活动提供动力^[96]。花蕾期中编号 6、20、24 和 29 均为蛋白连接酶, 其中编号 6 和 20 为 E3 泛素蛋白连

接酶, 其广泛参与细胞内的代谢过程, 比如细胞增殖、细胞周期调控、细胞的凋亡, 人体这些酶的调节异常与多种疾病有关, 如神经系统疾病与恶性肿瘤等^[23]。编号 24 和 29 为生物素蛋白连接酶, 通过调节微生物的乙酰辅酶 A 羧化酶和丙酮酸羧化酶, 控制重要代谢途径的关键反应, 从而

有效控制微生物生长,也是极具开发前景的抗菌新靶点^[24];花蕾期的 18、成熟期的 19 抗病蛋白能识别病原体及微生物,并触发免疫,对抗病原体以及微生物的侵扰^[35]。花蕾期 17、成熟期的 34 号为 F-box 蛋白,作为泛素连接酶复合物 SCF 的重要组成部分,可能参与调控诺丽果的整个细胞周期,对人体诊治肿瘤以及生殖方面的疾病也有重要的作用^[34]。成熟期的 8 号天冬酰胺酰 β-羟化酶是一种能催化 L-天冬酰胺水解生成 L-天冬氨酸和氨的酰胺基水解酶,广泛存在于植物、动物和微生物中;人类天冬氨酸参与并调节恶性肿瘤细胞的侵袭及转移,在多种恶性肿瘤中过表达,参与并调节恶性肿瘤细胞的侵袭及转移,并可介导抗肿瘤免疫反应,在肿瘤靶向治疗、免疫治疗中的作用逐渐受到重视^[67]。成熟期的 10 级 12 号蛋白为钙依赖性蛋白激酶,在 Ca²⁺介导的信号转导中起重要作用,可能参与调控成熟期诺丽果的植物激素信号通路、生物胁迫反应及其根、茎、叶或种子发育等过程^[69];人体钙依赖性蛋白激酶对胆管癌细胞 HuCCT1 血管的生成有一定的影响和调控^[97]。半成熟期的 10、13、14、16、18、19、20、21、22 和成熟期的 29 号为半胱氨酸蛋白酶,是植物中重要的蛋白酶家族之一,可能参与半成熟期和成熟期诺丽果种子萌发、幼苗发育、胁迫响应和组织分化衰老等过程^[46];人体半胱氨酸蛋白酶抑制剂 S 对于胃癌的鉴别具有重要作用,对极有可能作为新的肿瘤标志物以及它对于胃肠癌诊断具有极其重要的参考价值^[98]。

诺丽果是一种药食同源的植物,虽然大部分现有的研究是关于诺丽果不同部位化学成分的提取及在营养食品等方面的应用,但从蛋白质组学的方法挖掘诺丽果的科学及实用价值的国内外研究却很少有。本研究用蛋白质组学揭示了不同成熟期果实的蛋白种类及功能,以上结果表明在不同成熟期的诺丽果中大多数蛋白、激素以及酶均存在着药理学作用,在一定程度上可补充说明诺丽果的药理活性,对后续深入了解诺丽果实、指导育种以及进一步开发诺丽果实提供理论依据。

参考文献

- [1] DE LA CRUZ-SÁNCHEZ N G, GÓMEZ-RIVERA A, ALVAREZ-FITZ P, VENTURA-ZAPATA E, PÉREZ-GARCÍA M D, AVILÉS-FLORES M, GUTIÉRREZ-ROMÁN A S, GONZÁLEZ-CORTAZAR M. Antibacterial activity of *Morinda citrifolia* Linneo seeds against Methicillin-Resistant *Staphylococcus* spp[J]. *Microbial Pathogenesis*, 2019, 128: 347-353.
- [2] 晏永球,童应鹏,陆雨,江石平,江瑜,左丽敏,杨君,邵云东,王平. 诺丽的化学成分及药理活性研究进展[J]. *中草药*, 2017, 48(9): 1888-1905.
YAN Y Q, TONG Y P, LU Y, JIANG S P, JIANG Y, ZUO L M, YANG J, SHAO Y D, WANG P. Research progress on chemical constituents of *Morinda citrifolia* and their pharmacological activities[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2017, 48(9): 1888-1905. (in Chinese)
- [3] 李戈,张丽霞,牛迎风,元超,李小花,赵俊凌. 不同来源地诺丽果质量分析[J]. *中华中医药杂志*, 2016, 31(9): 3766-3769.
LI G, ZHANG L X, NIU Y F, YUAN C, LI X H, ZHAO J L. Quality analysis of noni fruit from different regions[J]. *China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy*, 2016, 31(9): 3766-3769. (in Chinese)
- [4] 刘金莲,张睿,刘晔斌,侯燕,王林元,王淳,张建军,高学敏. 诺丽的文献研究及中药药性理论探讨[J]. *中国中药杂志*, 2020, 45(5): 984-990.
LIU J L, ZHANG R, LIU Y B, HOU Y, WANG L Y, WANG C, ZHANG J J, GAO X M. Literature research and discussion of Chinese medicinal properties of *Morinda citrifolia*[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2020, 45(5): 984-990. (in Chinese)
- [5] 李法营,蓝增全,刘昌芬,李青红. 诺丽研究进展(一)—国内外研究进展[J]. *安徽农业科学*, 2009, 37(32): 15819-15821.
LI F Y, LAN Z Q, LIU C F, LI Q H. Study progress of *Morinda citrifolia*[J]. *Journal of Anhui agricultural sciences*, 2009, 37(32): 15819-15821. (in Chinese)
- [6] 王丽. 诺丽果的营养与保健功能[J]. *中国妇幼健康研究*, 2017, 28(4): 139-140.
WANG L. Nutrition and health function of *Morinda citrifolia*[J]. *Chinese Journal of Woman and Child Health Research*, 2017, 28(4): 139-140. (in Chinese)
- [7] 周城,王根女. 诺丽功能活性和应用研究进展[J]. *农业研究与应用*, 2019, 32(Z1): 38-43.
ZHOU C, WANG G N. Research progress in activity and application of noni (*Morinda citrifolia*)[J]. *Agricultural Research and Application*, 2019, 32(Z1): 38-43. (in Chinese)
- [8] 景瑞雪,孔凡,白沙沙,田亮,崔亚娟,刘洋. 西沙诺丽果关键发育期主要活性物质及其含量变化分析[J]. *中国食物与营养*, 2020, 26(12): 51-55.
JING R X, KONG F, BAI S S, TIAN L, CUI Y J, LIU Y. Content determination on the main active substances of

- Xisha noni fruit in key developmental stage[J]. Food and Nutrition in China, 2020, 26(12): 51-55. (in Chinese)
- [9] 徐荣, 许木果, 姜士, 杨焱, 付稼榕, 岩利. 不同成熟度诺丽果主要活性成分分析[J]. 热带农业科技, 2022, 45(2): 30-35, 40.
- XU R, XU M G, JIANG S, YANG Y, FU J R, YAN L. The main active ingredients in *Morinda citrifolia* at different maturity stages[J]. Tropical Agriculture Science & Technology, 2022, 45(2): 30-35, 40. (in Chinese)
- [10] JAHURUL M H A, PATRICIA M, SHIHABUL A, NORAZLINA M R, GEORGE M R, NOORAKMAR A W, LEE J S, JUMARDI R, JINAP S, ZAIDUL I S M. A review on functional and nutritional properties of noni fruit seed (*Morinda citrifolia* L.) and its oil[J]. Food Bioscience, 2021, 41: 101000.
- [11] HAN H S, SONG K B. Noni (*Morinda citrifolia*) fruit polysaccharide films containing blueberry (*Vaccinium corymbosum*) leaf extract as an antioxidant packaging material[J]. Food Hydrocolloids, 2021, 112: 106372.
- [12] 邱智敏, 郑碧娟, 陈辉, 何艺凡, 陈世品. 油茶雌蕊蛋白双向电泳分离体系的建立[J]. 热带作物学报, 2016, 37(3): 548-554.
- QIU Z M, ZHENG B J, CHEN H, HE Y F, CHEN S P. Establishment of two-dimensional electrophoresis system for *Camellia oleifera* Abel. pistil proteins[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2016, 37(3): 548-554. (in Chinese)
- [13] BRADFORD M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. Analytical Biochemistry, 1976, 72(1/2): 248-254.
- [14] 吴秀丽, 王旭初, 段红叶, 李建玲, 何文英. 海南不同产地草豆蔻的差异蛋白分析[J]. 热带农业科学, 2018, 38(1): 53-61.
- WU X L, WANG X C, DUAN H Y, LI J L, HE W Y. Analysis of differential expressed proteins of Hainan *Alpinia katsumadai* in different habitats[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2018, 38(1): 53-61. (in Chinese)
- [15] 谢婧. 豌豆根瘤菌硫氧还蛋白基因 *trxs* 的功能研究[D]. 武汉: 中南民族大学, 2019.
- XIE J. Study of the function of thioredoxin genes *trxs* in *Rhizobium leguminosarum*[D]. Wuhan: South-Central University for Nationalities, 2019. (in Chinese)
- [16] 蒋蕾蕾, 吴作基, 王春光. 微管解聚型驱动蛋白的结构与功能(英文)[J]. 细胞生物学杂志, 2008(2): 137-141.
- JIANG L L, WU Z J, WANG C G. Structure and function of microtubule-depolymerizing Kin-I kinesins[J]. Chinese Journal of Cell Biology, 2008(2): 137-141. (in Chinese)
- [17] 吴新辉, 郭钰滢, 夏楠, 唐杨, 郭泓伯, 王洋, 杜恩在. 中国东部城市森林阔叶树种叶绿素含量空间特征及其影响因素[J]. 北京师范大学学报(自然科学版), 2022, 58: 1-8.
- WU X H, GUO Y Y, XIA N, TANG Y, GUO H B, WANG Y, DU E Z. Spatial patterns and drivers of leaf chlorophyll content of broad-leaved woody plants across urban forests in eastern China[J]. Journal of Beijing Normal University (Natural Science), 2022, 58: 1-8. (in Chinese)
- [18] 闫凯歌. 核糖体翻译因子 EF-G 和 EF4 的结构和功能研究[D]. 北京: 清华大学, 2016.
- YAN K G. Study on structures and functions of ribosome translation factor EF-G and EF4[D]. Beijing: Tsinghua University, 2016. (in Chinese)
- [19] 何晓芳. 拟南芥叶绿体定位的mTERFs家族蛋白的功能分析[D]. 上海: 上海师范大学, 2016.
- HE X F. Functional analysis of chloroplast-localized mTERFs family proteins in *Arabidopsis thaliana*[D]. Shanghai: Shanghai Normal University, 2016. (in Chinese)
- [20] 王静文, 王兴军, 马长乐, 李彭昱. 植物核糖体应激响应机制研究进展[J]. 植物学报, 2022, 57(1): 80-89.
- WANG J W, WANG X J, MA C L, LI P C. A review on the mechanism of ribosome stress response in plants[J]. Chinese Bulletin of Botany, 2022, 57(1): 80-89. (in Chinese)
- [21] 刘萌. 青霉木质纤维素酶转录调控互作蛋白初探[D]. 济南: 山东大学, 2017.
- LIU M. Preliminary study on the interacting proteins in the lignocellulase transcriptional regulation of *Penicillium oxalicum*[D]. Jinan: Shandong University, 2017. (in Chinese)
- [22] 刘艳丽, 马林龙, 曹丹, 金孝芳, 冯琳, 龚自明. 茶树果胶乙酰酯酶家族成员的鉴定和生物信息学分析[J]. 茶叶科学, 2019, 39(5): 521-529.
- LIU Y L, MA L L, CAO D, JIN X F, FENG L, GONG Z M. Identification and bioinformatic analysis of pectin acetyltransferases from tea plant[J]. Journal of Tea Science, 2019, 39(5): 521-529. (in Chinese)
- [23] 谢少利, 幸天勇, 邓世山. 泛素蛋白连接酶 E3 介导的 EMT 在肿瘤浸润与转移中的作用[J]. 川北医学院学报, 2015, 30(5): 732-737, 742.
- XIE S L, XING T Y, DENG S S. The role of EMT mediated by ubiquitin protein ligase E3 in invasion and metastasis of cancer[J]. Journal of North Sichuan Medical College, 2015, 30(5): 732-737, 742. (in Chinese)
- [24] 杨朝福, 张奶玲, 王菊, 贺艳斌. 新型抗菌靶点 BPL 抑制剂的研究进展[J]. 中国药物化学杂志, 2022, 32(7): 538-547.
- YANG C F, ZHANG N L, WANG J, HE Y B. The review of biotin protein ligase inhibitors as new antibiotics[J]. Chinese Journal of Medicinal Chemistry, 2022, 32(7): 538-547. (in Chinese)
- [25] 张启平. NbGLRs 基因家族鉴定及其调控烟草系统性抗性

- 防御 TMV 侵染的机制[D]. 扬州: 扬州大学, 2022.
- ZHANG Q P. Identification of NbGRLs gene family and its regulation mechanism on tobacco systemic resistance to TMV infection[D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2022. (in Chinese)
- [26] 彭帅. 地衣芽孢杆菌 W10 枯草杆菌蛋白酶 Sp1 抗菌和诱导植物抗病性机理研究[D]. 扬州: 扬州大学, 2021.
- PENG S. Mechanism of *Bacillus licheniformis* W10 Subtilisin Sp1 antifungal effects and inducing plant disease resistance[D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2022. (in Chinese)
- [27] 李家宝. 棉花类成束蛋白阿拉伯半乳糖蛋白基因 (*GhFLA*) 的克隆与功能分析[D]. 重庆: 西南大学, 2007.
- LI J B. Cloning and function analysis of a fasciclin-like arabinogalactan protein gene (*GhFLA*) from cotton (*Gossypium hirsutum* L.)[D]. Chongqing: Southwest University, 2007. (in Chinese)
- [28] 孙玉芬. 水稻分蘖基因 *MONOCULMI* 的多态性研究[D]. 北京: 中国科学院遗传与发育生物学研究所, 2008.
- SUN Y F. Polymorphism of rice tiller gene *MONOCULMI*[D]. Beijing: Institute of Genetics and Developmental Biology, 2008. (in Chinese)
- [29] 赵永, 温李, 谢志明, 高金秋, 柴泽斌, 汪雨琪, 李涵冰, 李洋, 丛建民. 蓖麻丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 *RcPK2* 基因克隆及蛋白纯化[J]. 分子植物育种: 1-10[2023-05-15]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20220722.0824.002.html>.
- ZHAO Y, WEN L, XIE Z M, GAO J Q, CHAI Z B, WANG Y Q, LI H B, LI Y, CONG J M. Gene cloning and protein purification of *Ricinus communis* L. serine/threonine protein kinase *RcPK2*[J]. Molecular Plant Breeding: 1-10 [2023-05-15]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20220722.0824.002.html>. (in Chinese)
- [30] 刘叩哈. 禾谷镰刀菌中甘露糖基转移酶复合体的功能研究[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2021.
- LIU K H. Functional study of mannosyltransferase complex in *Fusarium graminearum*[D]. Hefei: Anhui Agricultural University, 2021. (in Chinese)
- [31] 解敏敏, 晁江涛, 孔英珍. 参与木葡聚糖合成的糖基转移酶基因研究进展[J]. 植物学报, 2015, 50(5): 644-651.
- XIE M M, CHAO J T, KONG Y Z. Glycosyltransferase genes involved in *xyloglucan biosynthesis*[J]. Chinese Bulletin of Botany, 2015, 50(5): 644-651. (in Chinese)
- [32] 汪先菊, 张绍宇, 徐泽, 石佩, 康同洋, 李琴, 赵彩平. 桃 SPL 基因家族成员鉴定及其基因表达与果实发育的相关性分析[J]. 农业生物技术学报, 2020, 28(9): 1521-1534.
- WANG X J, ZHANG S Y, XU Z, SHI P, KANG T Y, LI Q, ZHAO C P. Identification of SPL gene family members and correlation analysis between gene expression and fruit development in Peach (*Prunus persica*) [J]. Journal of Agricultural Biotechnology, 2020, 28(9): 1521-1534. (in Chinese)
- [33] MARTINEZ-GAMERO C, MALLA S, AGUILO F. LSD1: Expanding functions in stem cells and differentiation[J]. Cells, 2021, 10(11): 3252.
- [34] LIU Q, GUO X H, CHEN G P, ZHU Z G, YIN W C. Silencing SIGID2, a putative F-box protein gene, generates a dwarf plant and dark-green leaves in tomato[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2016, 109: 491-501.
- [35] 闫佳, 刘雅琼, 侯岁稳. 植物抗病蛋白研究进展[J]. 植物学报, 2018, 53(2): 250-263.
- YAN J, LIU Y Q, HOU S W. Recent advances in disease resistance proteins in plant immunity[J]. Chinese Bulletin of Botany, 2018, 53(2): 250-263. (in Chinese)
- [36] 黄荣峰, 张执金, 王娟, 张丽霞. 乙烯反应因子(ERF)调控植物耐盐性的分子基础[C]//全国植物生物学大会论文集, 2013: 240-241.
- HUANG R F, ZHANG Z J, WANG J, ZHANG L X. Molecular basis of ethylene response factor (ERF) regulation of plant salt tolerance[C]//Proceedings of the National Congress of Plant Biology, 2013: 240-241. (in Chinese)
- [37] LACHAGARI V R, BODANAPU R, CHAKRAVARTTY N, LEKKALA S P, LALAM K, KURIAKOSE B, VEMIREDDY L R, VELAYUTHAM D, THOMAS G, GUPTA S. Uncovering genome wide novel allelic variants for eating and cooking quality in a popular Indian rice cultivar, Samba Mahsuri[J]. Current Plant Biology, 2019, 18: 100111.
- [38] 任思齐, 蔚丽慧, 魏美玲, 郑佳敏, 何茂硕, 郑恺, 范桂枝. 罗布麻 MYB 转录因子家族生物信息学分析[J]. 分子植物育种, 2021, 20(19): 6371-6381.
- REN S Q, WEI L H, WEI M L, ZHENG J M, HE M S, ZHENG K, FAN G Z. Bioinformatics analysis of the MYB transcription factor family in *Apocynum Venetum*[J]. Molecular Plant Breeding, 2021, 20(19): 6371-6381. (in Chinese)
- [39] 蓝雨纯. 灰霉菌胁迫下小立碗藓肉桂醇脱氢酶 1 基因功能初探[D]. 贵阳: 贵州师范大学, 2020.
- LAN Y C. Preliminary study on the gene function of Cinnamyl Alcohol Dehydrogenase 1 in *Physcomitrella patens* under the stress of *Botrytis cinerea*[D]. Guiyang: Guizhou Normal University, 2020. (in Chinese)
- [40] 何之常, 朱英国. 粳、粳两系杂交水稻幼根中吡啶乙酸氧化酶和阳离子过氧化物酶的初步研究[J]. 江苏农业学报, 1996(1): 52-55.
- HE Z C, ZHU Y G. A study on indole-3-acetic acid oxidase and cationic peroxidase in the seeding roots of indica-japonica

- ponica hybrid rice[J]. Jiangsu Journal of Agricultural Sciences, 1996(1): 52-55. (in Chinese)
- [41] 常立, 文国琴. 植物蓝光受体研究进展[J]. 生物技术通讯, 2004(2): 169-171.
CHANG L, WEN G Q. Current progress of blue-light photoreceptors of plant[J]. Letters in Biotechnology, 2004(2): 169-171. (in Chinese)
- [42] SHOWALTER A M. Structure and function of plant wall protein[J]. Plant Cell, 1993, 5: 9-23.
- [43] GAO C Y, TANG D Z, WANG W. The role of ubiquitination in plant immunity: fine-tuning immune signaling and beyond[J]. Plant and Cell Physiology, 2022, 63(10): 1405.
- [44] 王金祥. 绿豆下胚轴不定根形成不同时期的激素调控[D]. 广州: 华南师范大学, 2002.
WANG J X. Study on the hormonal control of adventitious root formation at different stages in mung bean hypocotyl cuttings[D]. Guangzhou: South China Normal University, 2002. (in Chinese)
- [45] MOUCHEL C F, BRIGGS G C, HARDTKE C S. Natural genetic variation in *Arabidopsis identifies* BREVIS RADIX, a novel regulator of cell proliferation and elongation in the root[J]. Genes & Development, 2004, 18(6): 700-714.
- [46] 闫龙凤, 杨青川, 韩建国, 刘志鹏. 植物半胱氨酸蛋白酶研究进展[J]. 草业学报, 2005(5): 11-19.
YAN L F, YANG Q C, HAN J G, LIU Z P. Summary of cysteine protease in plants[J]. Acta Prataculturae Sinica, 2005(5): 11-19. (in Chinese)
- [47] REYT G, CHAO Z, FLIS P, SALAS-GONZÁLEZ I, CASTRILLO G, CHAO D Y, SALT D E. Uclacyanin proteins are required for lignified nanodomain formation within casparian strips[J]. Current Biology, 2020, 30(20): 4103-4111.
- [48] 岳玲琦, 邢巧娟, 张晓兰, 梁雪, 王乾, 齐红岩. 光敏色素互作因子在植物抵御逆境胁迫中的作用进展[J]. 园艺学报, 2021, 48(4): 632-646.
YUE L Q, XING Q J, ZHANG X L, LIANG X, WANG Q, QI H Y. Research progress on the effect of phytochrome-interacting factors in plant resistance to abiotic stress[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2021, 48(4): 632-646. (in Chinese)
- [49] 张媛媛. 光敏色素的结构及其信号调控机制[J]. 湖北农业科学, 2020, 59(4): 5-10.
ZHANG Y Y. Structure and signal regulation mechanism of phytochrome[J]. Hubei Agricultural Sciences, 2020, 59(4): 5-10. (in Chinese)
- [50] PETER E, WALLNER T, WILDE A, GRIMM B. Comparative functional analysis of two hypothetical chloroplast open reading frames (ycf) involved in chlorophyll biosynthesis from *Synechocystis* sp. PCC6803 and plants[J]. Journal of Plant Physiology, 2011, 168(12): 1380-1386.
- [51] HO T H, HONG M K, NGO H P T, KANG L W. Expression, crystallization and preliminary X-ray crystallographic analysis of DNA-directed RNA polymerase subunit L from *Thermococcus omurineus* NA1[J]. Acta Crystallographica Section F: Structural Biology Communications, 2014, 70(5): 639-642.
- [52] FAN A C, KOZLOV G, HOEGL A, MARCELLUS R C, WONG M J, GEHRING K, YOUNG J C. Interaction between the human mitochondrial import receptors Tom20 and Tom70 *in vitro* suggests a chaperone displacement mechanism[J]. Journal of Biological Chemistry, 286(37): 32208-32219.
- [53] TIAN T, IKEDA J I, WANG Y, MAMAT S, LUO W, AOZASA K, MORII E. Role of leucine-rich pentatricopeptide repeat motif-containing protein (LRPPRC) for anti-apoptosis and tumorigenesis in cancers[J]. European Journal of Cancer, 2012, 48(15): 2462-2473.
- [54] ZHAN J R, SHOU C, ZHENG Y C, CHEN Q, PAN J, LI C X, XU J H. Discovery and engineering of bacterial(-)-isopiperitenol dehydrogenases to enhance (-)-menthol precursor biosynthesis[J]. Advanced Synthesis & Catalysis, 2021, 363(16): 3973-3982.
- [55] 李晨辉. 产 β -葡萄糖苷酶菌株的筛选鉴定及亚麻籽饼粕脱毒工艺的研究[D]. 兰州: 兰州大学, 2017.
LI C H. Isolation and identification of β -glucosidase-producing strains and study on detoxification technology of faxseed cake[D]. Lanzhou: Lanzhou University, 2017. (in Chinese)
- [56] MORANT A V, JØRGENSEN K, JØRGENSEN C, PAQUETTE S M, SÁNCHEZ-PÉREZ R, MØLLER B L, BAK S. β -Glucosidases as detonators of plant chemical defense[J]. Phytochemistry, 2008, 69(9): 1795-1813.
- [57] 曹凤. 小麦尿卟啉原III合酶基因克隆、序列分析及其在大肠杆菌中的表达[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2007.
CAO F. Cloning sequence analysis and expression of wheat uroporphyrilinogen III synthase in *E. Coli*[D]. Yangling: Northwest A & F University, 2007. (in Chinese)
- [58] ORMANCEY M, THULEAU P, MAZARS C, COTELLE V. CDPKs and 14-3-3 proteins: emerging duo in signaling[J]. Trends in Plant Science, 2017, 22(3): 263-272. (in Chinese)
- [59] 周红. 水稻 *Pip2-1* 基因在 RSV 侵染过程中的功能研究[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2013.
ZHOU H. Function of *Pip2-1* gene of rice in the process of RSV infection[D]. Hefei: Anhui Agricultural University, 2013. (in Chinese)
- [60] 王莲哲, 向丽君, 李建康, 王渊, 周帅, 李冰冰. 小麦 B3 类转录因子 *REM-1* 基因的克隆与表达分析[J]. 分子植物育种, 2019, 17(15): 4853-4858.

- WANG L Z, XIANG L J, LI J K, WANG Y, ZHOU S, LI B B. Cloning and expression analysis of B3 group transcription factor *REM-1* gene in wheat[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2019, 17(15): 4853-4858. (in Chinese)
- [61] 董尚胜, 童启庆. 茶树叶片内核酮糖二磷酸羧化酶蛋白水平的研究[J]. *浙江农业大学学报*, 1992, 18(S): 40-44.
DONG S S, TONG Q Q. Study on the content of ribulose-1,5-bisphosphare carboxylase protein in tea leaf[J]. *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 1992, 18(S): 40-44. (in Chinese)
- [62] RYDER S P. Pumilio RNA recognition: the consequence of promiscuity[J]. *Structure*, 2011, 19(3): 277-279.
- [63] 王硕. 植物细胞器基因组变异与进化机制研究[D]. 昆明: 昆明理工大学, 2016.
WANG S. Mechanisms of plant organelle genome variation and evolution[D]. Kunming: Kunming University of Science and Technology, 2016.
- [64] 王斌, 刘连瑞. RNA 聚合酶的模板特异性[J]. *遗传学报*, 1986(4): 254-258.
WANG B, LIU L R. Template specificity of RNA polymerase[J]. *Acta Genetica Sinica*, 1986(4): 254-258. (in Chinese)
- [65] 计文. 水稻染色体结构维持蛋白 SMC1 及 SMC3 在 DSB 修复中的功能研究[D]. 扬州: 扬州大学, 2019.
JI W. Functional study of rice chromosome structure maintenance proteins SMC 1 and SMC3 in DSB repair[D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2019. (in Chinese)
- [66] 苏晨, 余露山, 姚彤炜, 曾苏. 重组大鼠长链 2-羟酸氧化酶的克隆与表达[J]. *中国药理学杂志*, 2013, 48(5): 331-336.
SU C, YU L S, YAO T W, ZENG S. Cloning and expression of recombinant rat long-chain 2-hydroxy acid oxidase[J]. *Chinese Pharmaceutical Journal*, 2013, 48(5): 331-336. (in Chinese)
- [67] 怀琪琳, 韩连奎, 许川, 梅宏. 天冬氨酰-(天冬酰胺酰) β -羟化酶在肿瘤中的作用研究进展[J]. *中国医刊*, 2021, 56(3): 253-257.
HUAI Q L, HAN L K, XU C, MEI H. Research progress in the role of aspartyl/asparaginyl β -hydroxylase in tumor[J]. *Chinese Journal of Medicine*, 2021, 56(3): 253-257. (in Chinese)
- [68] 徐佳璐, 庞秀秀, 燕小梅. 岩藻糖基转移酶在肝癌中的作用[J]. *生命的化学*, 2020, 40(9): 1564-1570.
XU J L, PANG X X, YAN X M. The role of fucosyltransferase in liver cancer[J]. *Chemistry of Life*, 2020, 40(9): 1564-1570. (in Chinese)
- [69] 何乐平, 张蕾. 植物钙依赖性蛋白激酶及其相关蛋白激酶 (CDPKs/CRKs) 的研究进展[J]. *安徽农业科学*, 2020, 48(18): 26-30, 51.
HE L P, ZHANG L. Research progress of plant calcium-dependent protein kinases (CDPKs) and cdpk-related kinases (CRKs)[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2020, 48(18): 26-30, 51. (in Chinese)
- [70] 王春菲, 贾倩云, 贾真真, 郭玉涛, 许锐, 孙露, 高书文, 梁智慧, 郭敬功. 番茄红素 ϵ -环化酶调节烟草抗旱性的研究[J]. *河南大学学报(自然科学版)*, 2019, 49(4): 444-449.
WANG C F, JIA Q Y, JIA Z Z, GUO Y T, XU R, SUN L, GAO S W, LIANG Z H, GUO J G. The study of lycopene ϵ -cyclase in drought adaption in tobacco[J]. *Journal of Henan University (Natural Science)*, 2019, 49(4): 444-449. (in Chinese)
- [71] 李浩杰. 芸薹属基因组中开花时间基因的鉴定和进化分析[D]. 成都: 四川农业大学, 2013.
LI H J. Genome-wide identification and evolutionary analysis of flowering-time genes in brassica species[D]. Chengdu: Sichuan Agricultural University, 2013. (in Chinese)
- [72] 刘谈, 吕朝耕, 王升, 杨婉珍, 郭兰萍. 基于新疆紫草转录组的对羟基苯甲酸香叶基转移酶(*PGT*)基因的挖掘及生物信息学分析[J]. *中国中药杂志*, 2016, 41(8): 1422-1429.
LIU T, LYU C G, WANG S, YANG W Z, GUO L P. Transcriptome-based gene mining and bioinformatics analysis of p-hydroxybenzoate geranyltransferase genes in *Arnebia euchroma*[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2016, 41(8): 1422-1429. (in Chinese)
- [73] 才晓溪, 沈阳, 胡冰霜, 王研, 陈悦, 孙明哲, 贾博为, 孙晓丽. 野生大豆类受体蛋白激酶基因 *GsCBRLK* 超量表达提高水稻耐盐碱性[J]. *植物生理学报*, 2020, 56(12): 2683-2694.
CAI X X, SHEN Y, HU B S, WANG Y, CHEN Y, SUN M Z, JIA B W, SUN X L. Overexpression of a glycine soja receptor-like protein kinase gene *GsCBRLK* in rice increases salt-alkaline tolerance[J]. *Plant Physiology Journal*, 2020, 56(12): 2683-2694. (in Chinese)
- [74] 百度百科. 豆球蛋白[EB/OL]. [2023-05-09]. <https://baike.baidu.com/item/%E8%B1%86%E7%90%83%E8%9B%8B%E7%99%BD/5600985?fr=aladdin>.
Baidu Baike. legumin[EB/OL]. [2023-05-09]. <https://baike.baidu.com/item/%E8%B1%86%E7%90%83%E8%9B%8B%E7%99%BD/5600985?fr=aladdin>. (in Chinese)
- [75] 黄淑颜, 丘式浚, 陈家逸, 陈健璞, 李晓云, 李玲. 线粒体转录终止因子(mTERF)蛋白家族的研究进展[J]. *生命科学研究*, 2016, 20(5): 455-459.
HUANG S Y, QIU S J, CHEN J Y, CHEN J P, LI X Y, LI L. Advances of mTERF protein family[J]. *Life Science Research*, 2016, 20(5): 455-459. (in Chinese)
- [76] 杨程惠子, 唐先宇, 李威, 夏石头. NLR 及其在植物抗病中的调控作用[J]. *植物学报*, 2020, 55(4): 497-504.
YANG C H Z, TANG X Y, LI W, XIA S T. NLR and its

- regulation on plant disease resistance[J]. Chinese Bulletin of Botany, 2020, 55(4): 497-504. (in Chinese)
- [77] 孙笑非, 黄星, 陈博, 李顺鹏, 何健. 抗甲磺隆假单胞菌的分离及其乙酰乳酸合酶的大小亚基 *ilvIH* 基因的克隆和表达[J]. 微生物学报, 2008(11): 1493-1498.
- SUN X F, HUANG X, CHEN B, LI S P, HE J. Isolation of a metsulfuron-methyl-resistant bacteria and cloning and expression of the acetohydroxyacid synthase genes *ilvIH*[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2008(11): 1493-1498. (in Chinese)
- [78] 杨诗勤, 张灵芝, 王旭东, 蒋涛, 敖雁, 彭运鹏, 姚骅珊, 任胜杰. 水稻类受体蛋白激酶基因 *OsBDGI* 的克隆及功能初步分析[J/OL]. 分子植物育种, 2022:1-9[2023-05-15]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20220512.1529.026.html>
- YANG S Q, ZHANG L Z, WANG X D, JIANG T, AO Y, PENG Y P, YAO H S, REN S J. Cloning and functional analysis of rice receptor-like protein kinase gene *OsBDGI* online first[J/OL]. Molecular Plant Breeding, 2022: 1-9 [2023-05-15]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20220512.1529.026.html>. (in Chinese)
- [79] 孙悦. NADH脱氢酶调控丝状真菌 *Podospora anserina* 降解木质纤维素及子实体发育研究[D]. 深圳: 深圳大学, 2020.
- SUN Y. NADH dehydrogenase is required to the degradation of lignocellulose and fruiting body development of filamentous fungus *Podospora anserina*[D]. Shenzhen: Shenzhen University, 2020. (in Chinese)
- [80] 杨从文, 杨瑜, 王艳霞, 费纪涛, 林英. 昆虫醛氧化酶研究进展[J]. 蚕业科学, 2010, 36(4): 656-666.
- YANG C W, YANG Y, WANG Y X, FEI J T, LIN Y. Research progress in insect aldehyde oxidase[J]. Science of Sericulture, 2010, 36(4): 656-666. (in Chinese)
- [81] 刘瑞娥, 胡长贵, 孙玉强. 植物生长素反应因子研究进展[J]. 植物生理学报, 2011, 47(7): 669-679.
- LIU R E, HU C G, SUN Y Q. Advances in plant auxin response factors[J]. Plant Physiology Journal, 2011, 47(7): 669-679. (in Chinese)
- [82] 胡小倩, 张颖翌, 李鑫, 闫海芳. 植物中 Remorin 蛋白的研究进展[J]. 生物技术通报, 2020, 36(8): 136-143.
- HU X Q, ZHANG Y Y, LI X, YAN H F. Research progress of remorin protein in plants[J]. Biotechnology Bulletin, 2020, 36(8): 136-143. (in Chinese)
- [83] 童彬. 青霉菌灭活菌丝体多肽提取物诱导植物抗病过程中脱落酸对胼胝质沉积的影响初探[D]. 昆明: 云南大学, 2019.
- TONG B. Preliminary study on the effect of aba on enamel during the induction of plant by penicillium inactivated mycelium polypeptide[D]. Kunming: Yunnan University, 2019. (in Chinese)
- [84] 孔荣荣. 水稻 DEAD-box RNA 解旋酶蛋白基因 *TCD33* 功能研究[D]. 上海: 上海师范大学, 2019.
- KONG R R. Functional research of a DEAD-box RNA helicase gene *TCD33* in rice (*Oryza sativa* L.)[D]. Shanghai: Shanghai Normal University, 2019. (in Chinese)
- [85] 孙莹莹, 马雪山, 苏迎春. 早期胚胎组蛋白 H3K9me3 与 H3K27me3 的研究进展[J]. 中华医学遗传学杂志, 2020, 37(11): 1296-1300.
- SUN Y Y, MA X S, SHU Y C. Research progress on methylation of histones H3K9 and H3K27 in early-stage embryos[J]. Chinese Journal of Medical Genetics, 2020, 37(11): 1296-1300. (in Chinese)
- [86] 吴子豪. UDP-葡萄糖基转移酶基因 *EDRI* 调控水陆稻胚乳发育和非生物胁迫抗性[D]. 合肥: 中国科学技术大学, 2021. (in Chinese)
- WU Z H. Natural alleles of A UDP-glucosyltransferase gene responsible for differential endosperm development and abiotic stress tolerance between upland rice and paddy rice[D]. Hefei: University of Science and Technology of China, 2021. (in Chinese)
- [87] 汪晗. 表观遗传与橡胶树自根幼态无性系和其供体之间的差异产生的分子机制初探[D]. 海口: 海南大学, 2014.
- WANG H. Study on epigenetic and the molecular mechanism underlying the difference between *Hevea brasiliensis* self-rooting juvenile and donor clones[D]. Haikou: Hainan University, 2014. (in Chinese)
- [88] 张琳, 彭连伟. 叶绿体 ATP 合酶生物发生的研究进展[J]. 植物生理学报, 2019, 55(6): 703-710.
- ZHANG L, PENG L W. Research progress on regulation mechanisms of biogenesis of chloroplast ATP synthase[J]. Plant Physiology Journal, 2019, 55(6): 703-710. (in Chinese)
- [89] 唐佳佳. 枇杷果胶酯酶基因克隆及表达特性分析[D]. 重庆: 西南大学, 2014.
- TANG J J. Gene cloning and expression analysis of PME from *Eriobotrya japonica*[D]. Chongqing: Southwest University, 2014.
- [90] GERASYMENKO I M, SAKHNO L A, KYRPA T N, OSTAPCHUK A M, HADJIEV T A, Goldenkova-Pavlova I V, Sheludko Y V. Characterization of *Nicotiana tabacum* plants expressing hybrid genes of cyanobacterial $\Delta 9$ or $\Delta 12$ acyl-lipid desaturases and thermostable lichenase[J]. Russian Journal of Plant Physiology, 2015, 62(3): 283-291.
- [91] ZHAO F, LYU X G, JI R H, LIU J, ZHAO T, LI H Y, LIU B, PEI YA X. CRISPR/Cas9-engineered mutation to identify the roles of phytochromes in regulating photomorphogenesis and flowering time in soybean[J]. The Crop Journal, 2022, 10(6): 1654-1664.

- [92] EKCHAWENG K, KHUNJAN U, CHURNGCHOW N. Molecular cloning and characterization of three novel subtilisin-like serine protease genes from *Hevea brasiliensis*[J]. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 2017, 97: 79-95.
- [93] ZHANG X, DONG X N. Life-or-death decisions in plant immunity[J]. *Current Opinion in Immunology*, 2022, 75: 102169.
- [94] ZHOU Y, WAN TAO, YUAN B, LEI F, CHEN M J, WANG Q, HUANG P, KOU S Y, QIU W X, LIU L. Improving rice blast resistance by mining broad-spectrum resistance genes at Pik locus[J]. *Rice Science*, 2022, 29(2): 133-142.
- [95] 孙伊人, 杨子琪, 王欣然, 钱永军. 硫氧还蛋白-1: 预防心脏相关活性氧损伤的潜在靶点[J/OL]. *中国胸心血管外科临床杂志*, 2022: 1-5. [2023-05-15]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/51.1492.R.20221101.1122.026.html>.
- SUN Y R, YANG Z Q, WANG X R, QIAN Y J. Thioredoxin-1: A potential target for prevention of heart-related reactive oxygen species injury[J/OL]. *Chinese Journal of Clinical Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 2022: 1-5. [2023-05-15]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/51.1492.R.20221101.1122.026.html>. (in Chinese)
- [96] 张婷. 驱动蛋白侧向运动机制研究[D]. 呼和浩特市: 内蒙古大学, 2021.
- ZHANG T. Study on the mechanism of kinesin lateral movement[D]. Hohhot: Inner Mongolia University, 2021.
- [97] 陆路, 黎东明, 吴晓勇, 王学国, 王太成, 赵红岩, 宋文渊. 胆管癌组织钙依赖性蛋白激酶表达及其对 HuCCT1 血管生成的调控机制[J]. *中华实用诊断与治疗杂志*, 2021, 35(4): 335-339.
- LU L, LI D M, WU X Y, WANG X G, WANG T C, ZHAO H Y, SONG W Y. Expression of CaMK II in cholangiocarcinoma and its regulatory mechanism on HuCCT1 angiogenesis[J]. *Journal of Chinese Practical Diagnosis and Therapy*, 2021, 35(4): 335-339. (in Chinese)
- [98] 吴明兰, 林美花, 翟优, 吕朵, 张乔, 吴国兰, 冯立民, 申屠建中. 半胱氨酸蛋白酶抑制剂 S 在胃肠癌中的诊断价值研究[J]. *中国临床药理学杂志*, 2021, 37(5): 503-506.
- WU M L, LIN M H, ZHAI Y, LYU D, ZHANG Q, WU G L, FENG L M, SHENTU J Z. Value of cysteine proteinase inhibitor S in the diagnosis of gastrointestinal cancer[J]. *The Chinese Journal of Clinical Pharmacology*, 2021, 37(5): 503-506. (in Chinese)