

## 黄芩 *ARF* 基因家族生物信息学及表达分析

陈媿颖, 刘娟\*, 袁媛\*, 周骏辉, 黄璐琦

(中国中医科学院中药资源中心, 北京 100700)

**摘要:** *ARF* 转录因子在植物的生长发育中具有重要意义, 是生长素信号传导途径中的重要转录因子。该研究通过生物信息学方法, 从黄芩转录组中获得 9 个具有全长的 *ARF* 基因, 分别对其核苷酸特性、蛋白质理化性质、亚细胞定位、二级结构、系统发育和基因表达情况进行分析。系统进化树结果显示, 这 9 个黄芩的 *ARF* 分别与拟南芥、烟草、水稻中的 *ARF* 转录因子聚在一起。*ARF* 基因相对表达分析发现: 100  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  赤霉素处理后, *ARF1*、*ARF3*、*ARF4*、*ARF8*、*ARF20*、*ARF24* 表达量升高, *ARF6*、*ARF18* 表达量降低; *ARF* 基因在黄芩的花中具有较高的表达量; *ARF* 基因与黄芩中黄酮类合成及调控基因的表达具有一定的相关性。本研究为进一步探讨 *ARF* 基因在黄芩中黄酮类成分积累的调控机制提供依据。

**关键词:** 黄芩; *ARF* 转录因子; 生物信息学; 表达分析

中图分类号: R931

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2017) 11-1770-07

## Bioinformatics analysis and expressed level of Auxin response factor genes in *Scutellaria baicalensis*

CHEN Ti-ying, LIU Juan\*, YUAN Yuan\*, ZHOU Jun-hui, HUANG Lu-qi

(National Resource Center for Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

**Abstract:** Auxin response factor (ARF) is an important transcription factor for auxin signal transduction pathway, which regulates virtually every aspect of plant growth and development from embryogenesis to senescence. Nine full-length genes of ARF transcription factors were obtained from transcriptome dataset of *Scutellaria baicalensis* Georgi using the bioinformatics methods. The nucleotide and protein characteristics, subcellular localization, senior structural domains and conservative forecasts of those ARF transcription factors were analyzed. The phylogenetic tree showed that the nine ARFs in *S. baicalensis* were clustered together with ARF transcription factors in *Arabidopsis thaliana*, *Oryza sativa* subsp. *Japonica* and *Nicotiana attenuate*. The results of gene expression showed that: ① The expression levels of *ARF1*, *ARF3*, *ARF4*, *ARF8*, *ARF20* and *ARF24* were upregulated after 100  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  GA<sub>3</sub> treatment. However, the expression levels of *ARF6* and *ARF18* were downregulated; ② Those *ARF* genes were mainly expressed in the flowers of *S. baicalensis*; ③ There was a significant correlation between *ARF* genes and the genes involved in flavonoid biosynthesis. Our results provide a basis for further understanding the molecular regulation mechanism of flavonoid biosynthesis in *S. baicalensis*.

**Key words:** *Scutellaria baicalensis*; ARF transcription factor; bioinformatics; expression analysis

收稿日期: 2017-05-18; 修回日期: 2017-06-22.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81573522); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金资助项目 (ZZ10-008).

\*通讯作者 Tel: 86-10-64014411-2956,

E-mail: y\_yuan0732@163.com; juanliu126@126.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2017-0499

中药黄芩为临床常用药材, 来源于唇形科多年生草本植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 的干燥根, 其主要活性成分为黄芩苷、黄芩素等黄酮类化合物。研究表明, 高温、光照、缺水等适度的环境胁迫均能促进黄芩活性成分的积累<sup>[1-4]</sup>, 且与植物内源激

素赤霉素和生长素的调控密切相关。光照条件下, 悬浮细胞中黄芩苷的含量随生长素 IAA (indole-3-acetic acid) 含量的降低而降低; 水分胁迫下, 黄芩中黄芩素的含量随着生长素 IAA 含量的升高而升高, 且外源赤霉素 (gibberellin A<sub>3</sub>, GA<sub>3</sub>) 影响黄芩中内源生长素及活性成分的含量<sup>[5-7]</sup>。

转录因子在调控苯丙烷类次生代谢产物积累与植物抗逆反应中发挥重要作用, 然而苯丙烷类化合物基因调控网络中转录因子之间的相互作用和协同作用却鲜见报道。前期研究发现, 黄芩中 MYB 蛋白可以激活类黄酮合成途径下游关键酶基因的表达, 多种转录因子 (eg: *ARF* bHLH 等) 参与调控过程。*ARF* (auxin response factor) 是一类较新发现的转录因子家族, 对生长素响应基因的表达起到激活或抑制作用, 广泛参与调控生长素及其他植物激素信号转导途径<sup>[8]</sup>。同时, *ARF* 转录因子参与植物多途径信号的协同作用, 如番茄中的 *SIARF7* 基因是生长素和赤霉素信号途径的关键结合位点<sup>[9]</sup>, 拟南芥中的 MYB77 转录因子通过与 *ARF7* 协同作用, 控制环境变化对于侧根生长发育的影响<sup>[10]</sup>。

近年来, 对于 *ARF* 转录因子的功能研究逐渐增多, 主要集中在拟南芥、烟草、水稻、丹参等植物中<sup>[11-13]</sup>, 黄芩中 *ARF* 转录因子的功能及理化性质却未见报道。本文通过黄芩 *ARF* 转录因子的生物信息学分析, 同时比较 *ARF* 与黄芩次生代谢产物合成相关基因的表达, 为进一步研究黄芩中 *ARF* 转录因子的生物学功能奠定基础, 为完善黄芩中黄酮类成分的分子调控网络提供依据。

## 材料与方法

**材料** 黄芩种子为中国中医科学院中药资源中心实验室保存, 将黄芩种子于湿润的滤纸上萌发, 萌发苗两周后移栽至花盆中, 25 °C、16 h 光照室温条件下培养。以 100 μmol·L<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub> 喷施黄芩叶片, 并分别于喷施后的 0、1、2、3 h 取样, -80 °C 冰箱保存备用。夏季黄芩花期时, 于同一植株不同部位分别取花、根、茎、叶, 清水清洗后以滤纸除去多余水分, -80 °C 冰箱保存备用。

**黄芩 *ARF* 基因序列获取** 从 TAIR 数据库中下载拟南芥 *ARF* 核酸序列, 以此作为探针, 通过 BLAST 比对, 在黄芩转录组数据库中搜寻同源序列, 识别标准为  $e \leq 10^{-15}$ , Score  $\geq 100$ , 匹配数  $b=1$ 。

**生物信息学分析** 通过 ORF Finder 在线工具

(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/gorf/>) 预测 *ARF* 基因序列的开放阅读框序列。运用在线软件 ProtParam ([expasy.ch/tools/protparam.html](http://expasy.ch/tools/protparam.html)) 预测 *ARF* 编码蛋白的理化性质; 采用 ExPASyPROSITE (<http://www.expasy.ch/prosite>) 和 CDD (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>) 进行蛋白质结构域分析; 使用 WOLF PSORT (<http://wolfsort.org/>) 进行蛋白质亚细胞定位信号的预测; 使用 SignalP 4.1 Server (<http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP>) 进行分泌蛋白的预测; 使用 CFSSP (<http://swissmodel.expasy.org/>) 进行蛋白质二级结构的分析; 使用 MEGA 5.0 构建系统进化树 (Neighbor-joining tree, NJ tree) (bootstrap 值设为 1000)。

**RNA 提取和 cDNA 合成** 样品总 RNA 采用植物总 RNA 提取试剂盒 (TIANGEN 公司) 提取, 经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测确定 RNA 完整性后, 用核酸定量仪测定 RNA 浓度, 按照 cDNA 合成试剂盒 (TaKaRa 公司) 说明书进行反转录。

**基因克隆** 在黄芩 *ARF* 基因序列的基础上设计 PCR 引物, 由生工生物工程 (北京) 有限公司合成, 见表 1。反应体系按照 Trans Start<sup>®</sup> Fast Pfu DNA Polymerase 高保真酶 (全式金公司) 说明书配制, 50 μL 反应体系, 包括 5×Trans Start<sup>®</sup> Fast Pfu Buffer 10 μL、dNTP 4 μL、正反向引物各 1 μL、Trans Start<sup>®</sup> Fast Pfu DNA Polymerase 高保真酶 1 μL、cDNA 模板 1 μL 和 ddH<sub>2</sub>O 32 μL。反应程序为 95 °C 预变性 1 min; 95 °C 变性 20 s, 55 °C 退火 20 s, 72 °C 延伸 1 min, 40 个循环; 72 °C 复性 5 min。

**Real-time 荧光定量 PCR** 依照黄芩 *ARF* 序列设计 Real-time 荧光定量 PCR 引物, 扩增产物长度在 100~250 bp 之间, 由生工生物工程 (北京) 有限公司合成, 见表 2。反应体系按照 SYBR Premix Ex Taq<sup>™</sup> Kit (TaKaRa 公司) 说明书配制, 10 μL 反应体系, 包括正反向引物各 0.5 μL、SYBR Premix Ex Taq 5 μL、cDNA 模板 1 μL、ddH<sub>2</sub>O 3 μL。每个反应重复 3 次 (包括阴性对照), 在 Light Cycler 480 II 型实时荧光定量 PCR 仪 (Roche 公司) 上进行, 结束后进行熔解曲线分析, 扩增程序如下: 94 °C 预变性 2 min; 94 °C 变性 5 s, 60 °C 退火延伸 34 s (每次循环后采集荧光信号), 40 个循环; 94 °C 变性 10 s, 65~95 °C 做熔解曲线分析, 每个温度以每步 0.5 °C 上升, 停留 5 s, 获得每个基因的 Ct 值进行相对定量分析。

**基因相对表达量的计算** 100 μmol·L<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub> 处理

**Table 1** Sequences of primers used in *ARF* cloning

Gene name	Forward primer sequence (5'–3')	Reverse primer sequence (5'–3')	Product long/bp
<i>ARF1</i>	GGGGCTCCCAAATAGTGCCTCT	GATAACAAACTCAGCAGCATCCGCA	746
<i>ARF3</i>	GCAGGCTTGTGCGTGACGG	AATTTTCCAATTTACAAATTGGTGG	828
<i>ARF4</i>	TTGGCCGGAGATCCCTTTAGC	GCAAAAAGGTGAAGACAGCAACATAG	762
<i>ARF6</i>	GGGAGCAAGCAAAGGATCCAGAC	CAAGACAATGCTCGTCTGCTCAT	1 242
<i>ARF8</i>	GGCAATTTCTAAGCGACAAACAC	AGTGTCAAAACCTCAATGGTTCAAT	1 556
<i>ARF12</i>	GGGTCCACAATTAATGATGGTAGCT	TGGTAAGCTTTCCAATTGGCAA	480
<i>ARF18</i>	TCCTGCCGCTAGTTTACTGTTTCAC	GCACCATCCATGCTCACCTTCACAA	819
<i>ARF20</i>	GTTGGTGTGAGTCGACAACCTC	CATTACCATTCTTTCAAGCTTAGTT	779
<i>ARF24</i>	CATCCCTATACGCACATCGGC	GTAAGTTTTCTTAGCACCTAGCCC	717

**Table 2** Real-time PCR primer sequences

Gene name	Forward primer sequence (5'–3')	Reverse primer sequence (5'–3')	Product long/bp
<i>ARF1</i>	CAGTTTGGGATGTTGGGGG	CGTGTCTGAGTGAGTGATAGGC	262
<i>ARF3</i>	TGTGTGGGATGTTGGGGG	GCGTTAAGCATGGTTGGGTC	165
<i>ARF4</i>	CAGTGTAATCAGCCCCACACT	TATCCACCACCCAAACCAAC	155
<i>ARF6</i>	TAGTGTGGTGATGTTGAGGGC	CTGCATAGTGGAGAGGGGTGT	197
<i>ARF8</i>	GCATGGTATCTGCCACGAAC	GAAAATGCCAAACCCAAATC	257
<i>ARF12</i>	AGATCTGGCTCGTAGATTTGGTAT	TTGCTGGACTTCTTGGGGA	178
<i>ARF18</i>	CTGGCTTCTCAACCTCCTT	GACCATGTTCTGAATCCCTCC	214
<i>ARF20</i>	AACGTGGAGTGTGGAGAAGTG	GTTCCAAGTCTGCATACCCT	193
<i>ARF24</i>	CTCCAGTCTTCCCTACCTCAT	CCCTGTCTTCCAGTTCTCTTT	203
<i>PAL1</i>	GCGAATAGTGTTCATGATGAGGAT	CAATGGCTGCCTTTCCAGTT	148
<i>PAL2</i>	GATTCTGCGTCCAACCTCAGTGA	GCGTCGGCATTATCCCTG	182
<i>PAL3</i>	GGCCACCAAGATGATCGA	CAATGGCCAATCTTGCATTG	143
<i>CHS</i>	GCAGTCCACTTATGCTGATTAC	GTGAAGTTGTCGTTCTCCTTC	156
<i>MYB2</i>	GTAGTCCAAAAGCACTACC	TCCAAAAAATAAACTAAGCA	233
<i>MYB8</i>	GATGAAAATCCCAAGAGCAACA	GCGTCGTCACCTCCACTATCC	174
<i>Sb18S</i>	CGTTGACTACGTCCCTGCCCTT	GTTACCTACGGAAACCTTGTTACGAC	130

下黄芩基因表达量的计算是以 0 h 作为参比基准，计算不同基因在 GA<sub>3</sub> 处理下相对表达量的变化；不同部位黄芩基因表达量的计算是以茎作为基准参比部位。各基因表达量以内参基因 *Sb18S* 作为标准进行相对定量<sup>[14]</sup>，目的基因表达量采用 2<sup>-ΔΔCt</sup> 法计算，计算公式为 2<sup>-ΔΔCt</sup> = 2<sup>-[(Ct 目的基因-Ct 管家基因)待测组-(Ct 目的基因-Ct 管家基因)对照组]</sup>。

**基因表达相关性分析** 利用 SPSS 23.0 软件对黄芩 *ARF* 基因及与黄芩黄酮类合成相关基因的表达进行 Pearson 相关性分析，|r| > 0.7 说明两者呈现高度线性相关，0.7 ≥ |r| ≥ 0.5 说明两者呈现中度线性相关，0.5 ≥ |r| ≥ 0.3 则两者呈现低度相关，|r| < 0.3 两者相关性极低，P ≤ 0.05 为显著水平，P ≤ 0.01 为极显著水平<sup>[15]</sup>。

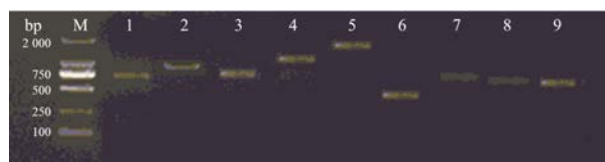
**结果**

**1 黄芩 ARF 转录因子特性分析**

通过 BLAST 比对并对所得基因片段进行拼接，从黄芩转录组中共得到 24 个 *ARF* 基因序列。ORF

Finder 预测表明，*ARF1*、*ARF3*、*ARF4*、*ARF6*、*ARF8*、*ARF12*、*ARF18*、*ARF20*、*ARF24* 为全长 cDNA，其余基因读码框均不完整，对全长基因进行克隆并测序验证，产物电泳图如图 1 所示。使用 ProtParam 预测具有全长 cDNA 的 9 个黄芩 *ARF* 转录因子的理化性质，结果如表 3 所示。使用 CDD 数据库分析结构域，结果表明 *ARF1*、*ARF3*、*ARF4*、*ARF6*、*ARF8*、*ARF12*、*ARF18*、*ARF20*、*ARF24* 均具有 *ARF* 家族所特有的 Aux-IAA 结构域。

使用 WOLF PSORT 对黄芩含有全长 cDNA 的



**Figure 1** Electrophoresis chart of *S. baicalensis* *ARF* PCR products. M: DL2000 DNA marker; 1–9: PCR products of *ARF1*, *ARF3*, *ARF4*, *ARF6*, *ARF8*, *ARF12*, *ARF18*, *ARF20* and *ARF24*

**Table 3** The characteristics of *S. baicalensis* ARFs

Gene name	Length /bp	Full length cDNA	Molecular mass/kDa	Amino acid number	Isoelectric point
ARF1	840	Yes	20.693	181	6.43
ARF3	908	Yes	20.987	186	8.48
ARF4	843	Yes	21.249	185	5.94
ARF6	1 242	Yes	37.176	346	4.51
ARF8	1 556	Yes	34.679	312	5.30
ARF12	531	Yes	14.563	128	5.39
ARF18	879	Yes	23.935	226	6.16
ARF20	851	Yes	18.807	165	6.15
ARF24	777	Yes	22.994	208	8.56

9 个转录因子进行蛋白质亚细胞定位的信号预测, 结果表明, ARF4、ARF8、ARF18、ARF24 被定位至细胞核中, ARF1 定位于线粒体和细胞核中, ARF3 定位于细胞质、叶绿体及细胞核中, ARF6 定位于线粒体、细胞质及细胞核中, ARF12 定位于叶绿体和线粒体中, ARF20 定位于细胞核及细胞质中。SignalP 4.1 Server 软件分析表明, 黄芩含有全长 cDNA 的 9 个 ARF 转录因子均为非分泌蛋白。

## 2 黄芩 ARF 转录因子二级结构分析

使用 CFSSP 软件对黄芩中含有全长 cDNA 的 9 个黄芩 ARF 转录因子进行二级结构预测,  $\alpha$ -螺旋 (H)、 $\beta$ -折叠 (E)、 $\beta$ -转角 (T) 所占比例如图 2 所示。对于大部分黄芩 ARF 转录因子而言,  $\alpha$ -螺旋在二级结构中所占比例最高,  $\beta$ -转角所占比例相对较低, 但 ARF20 中  $\beta$ -折叠在二级解构中所占比例最高, 同时  $\alpha$ -螺旋也占有很高比例,  $\beta$ -转角所占比例仍旧较低。

## 3 系统进化树分析

选取黄芩中具全长 cDNA 的 9 个 ARF 转录因子氨基酸序列与拟南芥、烟草、水稻和葡萄中的 ARF

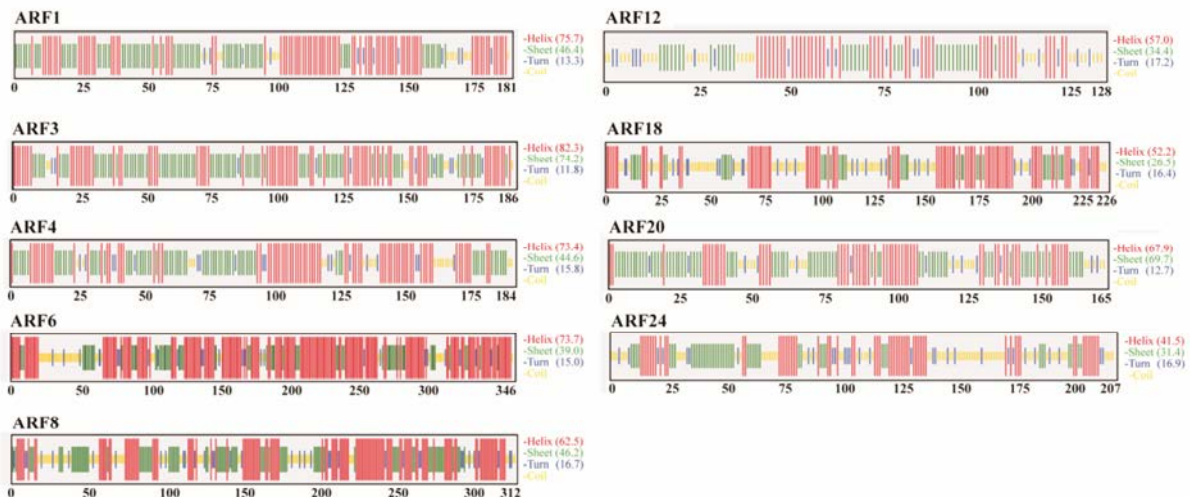
转录因子序列, 使用 MEGA5.0 Neighbor-joining 法构建黄芩 ARF 转录因子系统进化树, 见图 3。系统进化树结果表明, 黄芩中的 ARF8、ARF12 与拟南芥中的 At5g20730、At1g19220 及烟草中的 A4A49\_25919、水稻中的 OsARF1、OsARF16 等聚为一支, 可能作为转录激活因子参与调控生长素应答基因的表达及促进根系发育<sup>[16]</sup>; 黄芩中的 ARF20 与烟草中的 A4A49\_40149 聚为一支, 可能与生长素信号通路的激活有关<sup>[17]</sup>; 黄芩中的 ARF1、ARF3、ARF4、ARF6、ARF18、ARF24 与拟南芥中的 At2g18390、At2g47170 聚为一支, 可能与植物种子的发育与蛋白质的运输有关<sup>[18,19]</sup>。

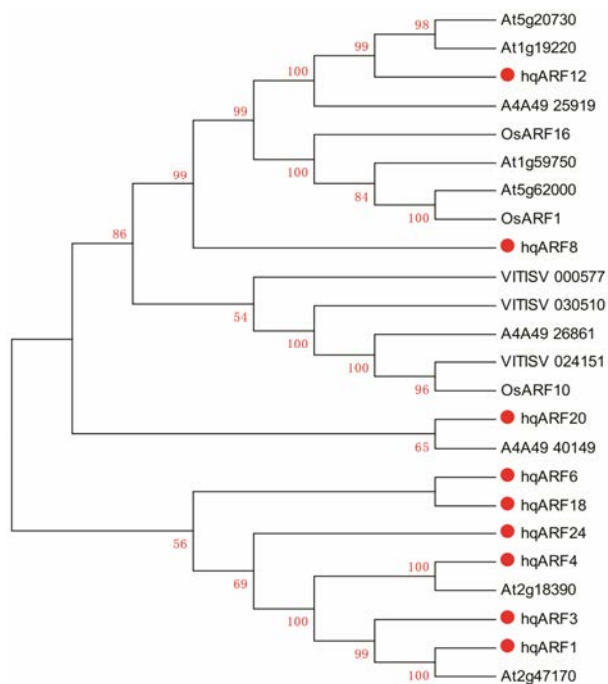
## 4 基因表达分析

为了进一步了解黄芩 ARF 基因的表达模式和表达水平, 通过 Realtime-PCR 分别分析了含全长 cDNA 的 9 个黄芩 ARF 基因以及与黄芩黄酮类合成相关的 *CHS*、*PAL1*、*PAL2*、*PAL3*、*MYB2* 和 *MYB8* 基因在  $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  GA<sub>3</sub> 处理下 0、1、2 和 3 h 的表达量, 以及比较其在根、茎、叶和花 4 个部位之间表达量的差异。

$100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  GA<sub>3</sub> 处理下, ARF1、ARF3、ARF4、ARF12 和 PAL2 基因表达量在处理 1 h 显著升高, ARF6、ARF18 和 CHS 在处理 1 h 后表达量首先下降, 3 h 后又逐渐升高, ARF8 和 ARF20 处理后 1 h 表达量升高, 随后又逐渐降低, 3 h 后表达量再次升高, 见图 4。经简单相关及偏相关分析后发现  $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  GA<sub>3</sub> 处理下, ARF3、ARF12 和 PAL2 相对表达水平呈显著正相关 ( $r=0.9006$ 、 $0.9108$ ); ARF20 与 PAL1 相对表达水平显著负相关 ( $r=-0.8536$ )。

黄芩中含完整读码框的 9 个 ARF 转录因子在花、

**Figure 2** Secondary structure predictions of ARF TFs

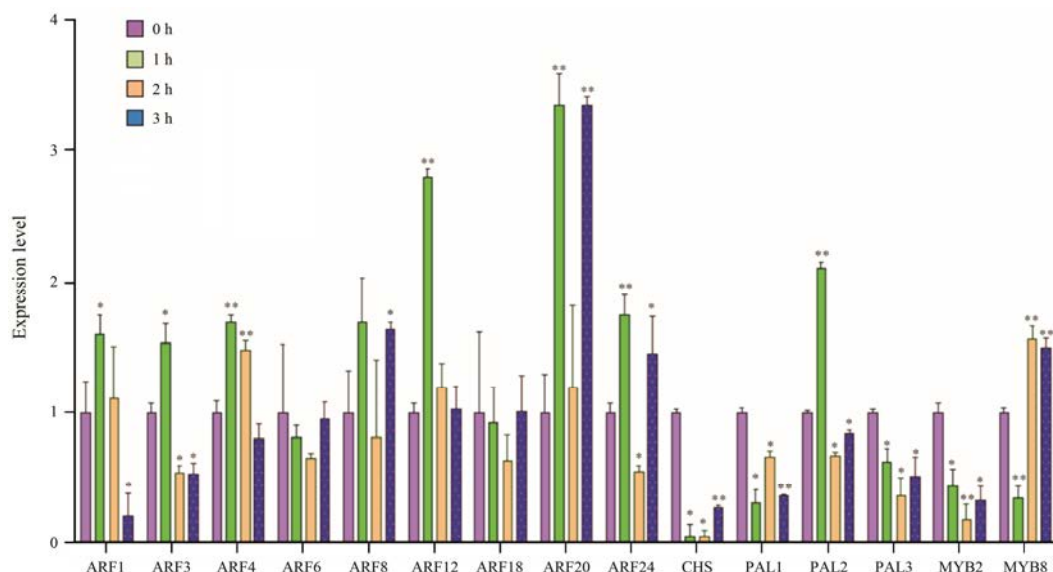


**Figure 3** Analysis of the phylogenetic relationships of ARF gene members in *S. baicalensis*, *Arabidopsis thaliana*, *Oryza sativa subsp. Japonica*, *Vitis vinifera* and *Nicotiana attenuate*. Reddot: *S. baicalensis*; At: *A. thaliana*. GenBank Number of AtARFs: At5g20730-NP\_568400.2, At1g19220-NP\_173356, At1g59750-NP\_849830, At5g62000-NM\_125438, At2g18390-NP\_179430, At2g47170-NP\_001324310.1; A4A49: *N. attenuate*. GenBank Number of NaARFs: A4A49\_25919-OIS99983.1, A4A49\_26861-OIS98057.1, A4A49\_40149-OIT19819.1; VITISV: *V. vinifera*. GenBank Number of VvARFs: VITISV\_024151-CAN63853.1, VITISV\_030510-CAN80533.1, VITISV\_000577-CAN70219.1; Os: *O. sativa*. GenBank Number of OsARFs: OsARF1-XP\_015617187.1, OsARF10-XP\_015644138.1, OsARF16-XP\_015622435.1

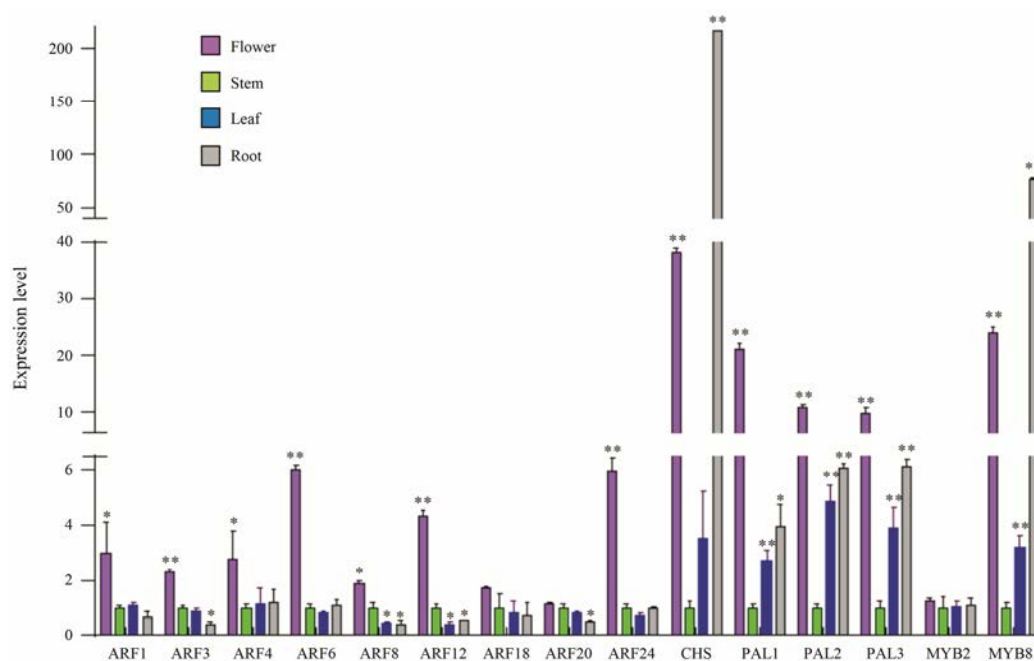
茎、叶和根 4 个部位中的表达量差异明显，由图 5 可见，黄芩大部分相关基因在花中均有最高的表达量，高于茎和叶中的表达量。经简单相关及偏相关分析后发现 *ARF1*、*ARF3*、*ARF4*、*ARF6*、*ARF12*、*ARF18* 和 *ARF24* 均与 *PAL1* 在黄芩不同部位中相对表达水平显著正相关 ( $r=0.9291$ 、 $0.8175$ 、 $0.9987$ 、 $0.9830$ 、 $0.9362$ 、 $0.8498$ 、 $0.9789$ )。

### 讨论

ARF 转录因子是一类较新发现的转录因子家族，广泛参与植物体内生长素等激素信号传导途径。本项目组前期研究证明，温度、光照、缺水等适度环境胁迫能够增加黄芩有效成分的积累，且黄芩活性成分的积累与 *PAL*、*CHS* 等关键酶基因有关。本文基于已获得的黄芩 cDNA 文库序列，用生物信息学的方法结合基因表达分析，研究黄芩中 ARF 转录因子的功能及与类黄酮物质合成相关基因之间的关系。本文共获得了 9 个含全长 cDNA 的 ARF 基因，分别命名为 *ARF1*、*ARF3*、*ARF4*、*ARF6*、*ARF8*、*ARF12*、*ARF18*、*ARF20* 和 *ARF24*。基因表达分析结果表明，黄芩中 ARF 基因与黄酮次生代谢相关基因 *PAL* 关系密切，苯丙氨酸解氨酶 (*PAL*) 能够催化苯丙烷类代谢第 1 步反应，是黄芩苷合成途径中的关键酶<sup>[20]</sup>。GA<sub>3</sub> 处理条件下，黄芩中 *ARF3*、*ARF12* 基因与 *PAL2* 基因在表达水平上显示出较强的协同性，据此推测黄芩中 ARF 基因可能参与调控黄酮类化合物的次生代谢。系统进化树结果显示，黄芩中的 *ARF12* 与拟南芥中的



**Figure 4** Effect of GA<sub>3</sub> treatment on ARF and flavonoids biosynthetic related gene expression in *S. baicalensis* (n=3). Expression in 0 h after treatment was set as 1 (\*  $P \leq 0.05$ , \*\*  $P \leq 0.01$ )



**Figure 5** The expression levels of ARF and flavonoid biosynthetic related gene expression in *S. baicalensis* from different organs ( $n=3$ ). Expression in the stem was set as 1 (\*  $P \leq 0.05$ , \*\*  $P \leq 0.01$ )

At5g20730、At1g19220 等聚为一支, At5g20730、At1g19220 在拟南芥中参与激活生长素应答反应与促进根系发育<sup>[21]</sup>, 且生长素在黄芩中参与调控黄酮素和黄芩苷的积累, 由此推断 ARF12 可能参与调控黄芩中的生长素信号通路, 进而影响黄芩中活性成分的积累。本研究结果为进一步了解转录因子调控黄芩活性成分生物合成分子机制奠定基础, 并为完善黄芩中黄酮类活性成分分子调控网络提供了依据。

## References

- [1] Yuan Y, Hao JD, Yang B, et al. Climate change affected the best producing area of Chinese herbal medicine *Scutellaria baicalensis* Georgi [J]. *J Tradit Med (Russia)*, 2010, 3s: 241.
- [2] Yuan Y, Qi L, Yang J, et al. A *Scutellaria baicalensis* R2R3-MYB gene, *SbMYB8*, regulates flavonoid biosynthesis and improves drought stress tolerance in transgenic tobacco [J]. *Plant Cell Tiss Org*, 2015, 120: 961–969.
- [3] Yuan Y, Wu C, Liu Y, et al. The *Scutellaria baicalensis* R2R3-MYB transcription factors modulates flavonoid biosynthesis by regulating GA metabolism in transgenic tobacco plants [J]. *PLoS One*, 2013, 8: e77275.
- [4] Yuan Y, Zhou JH, Huang LQ. Experimental verification and prospect on stress effect of Dao-di herbs *Scutellaria baicalensis* [J]. *China J Chin Mater Med (中国中药杂志)*, 2016, 41: 139–143.
- [5] Chen SQ, Huang LQ, Yuan Y, et al. Effects of light on the correlation between endogenous hormones and active ingredients in suspension cells of *Scutellaria baicalensis* Georgi [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form (中国实验方剂学杂志)*, 2010, 16: 72–74.
- [6] Qin SS, Chen SQ, Huang LQ, et al. Effects of water stress on the correlation between endogenous hormones and active ingredients in *Scutellaria baicalensis* Georgi [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form (中国实验方剂学杂志)*, 2010, 16: 99–101.
- [7] Yuan Y, Liu Y, Wu C, et al. Water deficit affected flavonoid accumulation by regulating hormone metabolism in *Scutellaria baicalensis* Georgi roots [J]. *PLoS One*, 2012, 7: e42946.
- [8] Wei H, Cui B, Ren Y, et al. Research progresses on auxin response factors [J]. *J Integr Plant Biol*, 2006, 48: 622–627.
- [9] Li J, Dai X, Zhao Y. A role for auxin response factor 19 in auxin and ethylene signaling in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiol*, 2006, 140: 899.
- [10] Shin R, Burch AY, Huppert KA, et al. The *Arabidopsis* transcription factor MYB77 modulates auxin signal transduction [J]. *Plant Cell*, 2007, 19: 2440–2453.
- [11] Li SB, Xie ZZ, Hu CG, et al. A review of auxin response factors (ARFs) in plants [J]. *Front Plant Sci*, 2016, 7: 47.
- [12] Hagen G, Guilfoyle T. Auxin-responsive gene expression: genes, promoters and regulatory factors [J]. *Plant Mol Biol*, 2002, 49: 373–385.
- [13] Xu Z, Ji A, Song J, et al. Genome-wide analysis of auxin response factor gene family members in medicinal model plant

- Salvia miltiorrhiza* [J]. Biol Open, 2016, 5: 848–857.
- [14] Hui X, Park NI, Li X, et al. Molecular cloning and characterization of phenylalanine ammonia-lyase, cinnamate 4-hydroxylase and genes involved in flavone biosynthesis in *Scutellaria baicalensis* [J]. Bioresour Technol, 2010, 101: 9715–9722.
- [15] Hazra A, Gogtay N. Biostatistics series module 6: correlation and linear regression [J]. Indian J Dermatol, 2016, 61: 593.
- [16] Ito J, Fukaki H, Onoda M, et al. Auxin-dependent compositional change in mediator in ARF7- and ARF19-mediated transcription [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2016, 113: 6562–6567.
- [17] Lee MH, Sano H. Attenuation of the hypersensitive response by an ATPase associated with various cellular activities (AAA) protein through suppression of a small GTPase, ADP ribosylation factor, in tobacco plants [J]. Plant J, 2007, 51: 127–139.
- [18] Okushima Y, Overvoorde PJ, Arima K, et al. Functional genomic analysis of the *AUXIN RESPONSE FACTOR* gene family members in *Arabidopsis thaliana*: unique and overlapping functions of *ARF7* and *ARF19* [J]. Plant Cell, 2005, 17: 444–463.
- [19] McElver J, Meinke D. The *TITAN5* gene of *Arabidopsis* encodes a protein related to the ADP ribosylation factor family of GTP binding proteins [J]. Plant Cell, 2000, 12: 1379–1392.
- [20] Wang W, Chen JK, Zhou TS. CHS and UBGAT expression and baicalin accumulation in the roots of *Scutellaria baicalensis* Georgi during cultivation seasons [J]. J Fudan Univ (Nat Sci) (复旦学报自然科学版), 2006, 45: 674–678.
- [21] Lee MH, Min MK, Lee YJ, et al. ADP-ribosylation factor 1 of *Arabidopsis* plays a critical role in intracellular trafficking and maintenance of endoplasmic reticulum morphology in *Arabidopsis* [J]. Plant Physiol, 2002, 129: 1507–1520.