

## 转录因子对丹参酮类物质调控作用及机制研究进展

白艳红<sup>1</sup>, 辛林林<sup>1</sup>, 曾婷<sup>1,2</sup>, 韩凤霞<sup>1</sup>, 张永清<sup>1</sup>, 蒲高斌<sup>1</sup>, 陈雪<sup>1\*</sup>, 刘谦<sup>1,2\*</sup>

(1. 山东中医药大学药学院, 山东 济南 250355; 2. 黄冈师范学院李时珍中医学院, 湖北 黄冈 438000)

**摘要:** 丹参是临床常用的活血化瘀药, 主要用于心脑血管疾病的治疗, 其关键活性物质丹参酮的合成和调控机制一直为研究热点。本文对近年来有关转录因子 (AP2/ERF、bHLH、MYB、bZIP、WRKY 等) 调节丹参酮类成分生物合成的研究成果进行了归纳总结, 指出了丹参转录调控研究存在的问题, 探讨了转录因子在丹参酮类活性成分生物合成调控中的研究方向, 为进一步发现和利用丹参酮类活性物质调控功能基因提供理论依据。

**关键词:** 转录因子; 丹参酮; 调控作用; 分子机制

中图分类号: R931 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2024)05-1218-11

## Research progress in regulation and mechanism of transcription factors on tanshinones

BAI Yan-hong<sup>1</sup>, XIN Lin-lin<sup>1</sup>, ZENG Ting<sup>1,2</sup>, HAN Feng-xia<sup>1</sup>, ZHANG Yong-qing<sup>1</sup>, PU Gao-bin<sup>1</sup>, CHEN Xue<sup>1\*</sup>, LIU Qian<sup>1,2\*</sup>

(1. College of Pharmacy, Shandong University of Chinese Medicine, Jinan 250355, China; 2. LiShizhen College of Traditional Chinese Medicine, Huanggang Normal University, Huanggang 438000, China)

**Abstract:** *Salvia miltiorrhiza*, a commonly used traditional Chinese medicine, has been widely recognized for its blood-activating and stasis-removing properties in the clinical treatment of cardiovascular and cerebrovascular diseases. The synthesis and regulatory mechanism of tanshinones, the key active constituents of *Salvia miltiorrhiza*, have been a hot topic of research. The paper summarized the research findings on the regulation of tanshinone biosynthesis by transcription factors such as AP2/ERF, bHLH, MYB, bZIP, and WRKY in recent years. The review identifies the existing issues in the transcriptional regulation studies of *Salvia miltiorrhiza* and discusses the research direction of transcription factors in the regulation of tanshinone biosynthesis, providing a theoretical basis for the further discovery and utilization of functional genes involved in the regulation of tanshinone bioactive constituents.

**Key words:** transcription factor; tanshinone; regulation; molecular mechanism

丹参为唇形科植物丹参 (*Salvia miltiorrhiza* Bunge) 的干燥根及根茎, 具有活血祛瘀、通经止痛、清心除烦、凉血消痈等功效, 主要用于心脑血管疾病的治疗, 是临床常用的活血化瘀药<sup>[1-3]</sup>。丹参主要包含两类

生物活性成分: 丹参酮类成分和酚酸类成分<sup>[4,5]</sup>, 其中丹参酮类成分, 如隐丹参酮、二氢丹参酮I、丹参酮I和丹参酮II<sub>A</sub>, 具有抗炎、抗肿瘤、抗心肌纤维化等药理作用<sup>[6,7]</sup>。天然资源中丹参酮类化合物含量较低, 丹参酮是决定丹参药材发挥临床疗效的关键活性成分, 其合成积累备受广泛关注。转录因子可以通过激活或抑制一条或多条代谢途径中多个关键酶基因的表达, 实现丹参酮类成分高效合成和定向积累。关于转录因子对丹参酮类成分生物合成调控的研究一直受到国内外学

收稿日期: 2023-09-26; 修回日期: 2023-12-14.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82003892); 国家现代农业产业技术体系 (CARS-21); 山东省自然科学基金资助项目 (ZR2021QH202).

\*通讯作者 E-mail: xchenaylli@sina.com; cleanlq@163.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2023-1110

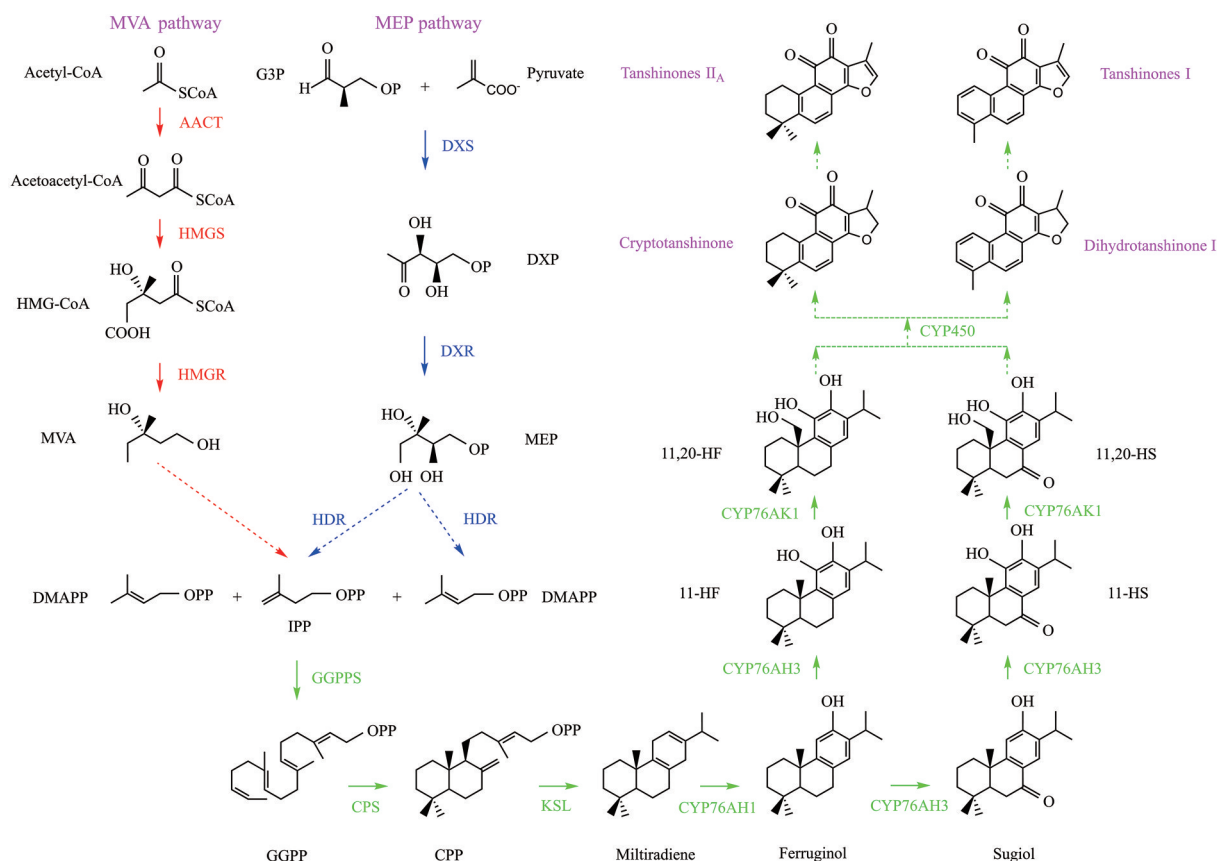
者的广泛关注, AP2/ERF、bHLH、MYB、bZIP、WRKY等转录因子家族已被证实参与此过程, 本文就这些转录因子对丹参酮类物质调控作用及机制研究进行了综述, 旨在为相关研究提供参考。

### 1 丹参酮类物质生物合成途径

丹参酮代谢途径以萜类化合物共同合成前体异戊烯基焦磷酸 (isopentenyl pyrophosphate, IPP) 及其异构体二甲基烯丙基焦磷酸 (dimethylallyl pyrophosphate, DMAPP) 为起始, 通过两个独立的途径合成: 位于细胞质中的甲羟戊酸 (mevalonate, MVA) 途径和位于质体中的 2-*C*-甲基-*D*-赤藓糖醇-4-磷酸 (2-*C*-methyl-*D*-erythritol 4-phosphate, MEP) 途径<sup>[8,9]</sup> (图1)。

MVA 合成途径鉴定到的关键酶有乙酰乙酰辅酶 A 硫解酶 (aceto-acetyl-CoA thiolase, AACT)、3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A 合成酶 (3-hydroxy-3-methyl-

glutaryl CoA synthase, HMGS)、3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A 还原酶 (3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase, HMGR) 等; MEP 合成途径鉴定到的关键酶有 1-脱氧-*D*-木酮糖合成酶 (1-deoxy-*D*-xylulose 5-phosphate synthase, DXS)、1-脱氧-*D*-木酮糖-5-磷酸还原酶 (1-deoxy-*D*-xylulose 5-phosphate reductoisomerase, DXR)、1-羟基-2-甲基-2-(*E*)-丁烯基-4-二磷酸还原酶 [1-hydroxy-2-methyl-2-(*E*)-butenyl-4-diphosphate reductase, HDR] 等; 下游合成途径鉴定到的关键酶有牻牛儿苗萜基焦磷酸合酶 (geranylgeranyl diphosphate synthase, GGPPS)、柯巴基焦磷酸合酶 (copalyl diphosphate synthase, CPS)、类贝壳杉烯合酶 (kaurene synthase-like, KSL) 以及 CYP450 家族成员。其中, HMGR 是 MVA 途径第一个限速酶<sup>[10]</sup>, 目前已经从丹参基因组中鉴定出 HMGR1、HMGR2、HMGR3、HMGR4<sup>[8]</sup>, *SmHMGR2*



**Figure 1** Biosynthetic pathways of tanshinones. Solid and dashed arrows indicate single and multiple enzymatic steps, respectively. The key enzyme genes in the MVA pathways, MEP pathways, and downstream pathways are represented by red, blue, and green, respectively. MVA: Mevalonate; MEP: 2-*C*-Methyl-*D*-erythritol 4-phosphate; HMG-CoA: 3-Hydroxy-3-methylglutaryl-CoA; G3P: 3-Phosphoglyceraldehyde; AACT: Acetyl-CoA C-acetyltransferase; HMGS: 3-Hydroxy-3-methylglutaryl CoA synthase; HMGR: 3-Hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase; DXS: 1-Deoxy-*D*-xylulose 5-phosphate synthase; DXR: 1-Deoxy-*D*-xylulose 5-phosphate reductoisomerase; HDR: 1-Hydroxy-2-methyl-2-(*E*)-butenyl-4-diphosphate reductase; GGPPS: Geranylgeranyl diphosphate synthase; CPS: Copalyl diphosphate synthase; KSL: Kaurene synthase-like; DXP: 1-Deoxy-*D*-xylulose-5-phosphate; IPP: Isopentenyl pyrophosphate; DMAPP: Dimethylallyl pyrophosphate; GGPP: Geranylgeranyl diphosphate; CPP: Copalyl diphosphate; 11-HF: 11-Hydroxy ferruginol; 11-HS: 11-Hydroxy sugiol; 11,20-HF: 11,20-Dihydroxy ferruginol; 11,20-HS: 11,20-Dihydroxy sugiol; CYP450: Cytochrome P450

基因过表达可以提高丹参酮含量<sup>[11]</sup>。DXS是MEP途径第一个限速酶<sup>[12]</sup>，在丹参基因组中已鉴定到5个DXS，*SmDXS2*在根中表达水平高于其他基因，该基因过表达可提高丹参酮含量<sup>[13,14]</sup>。

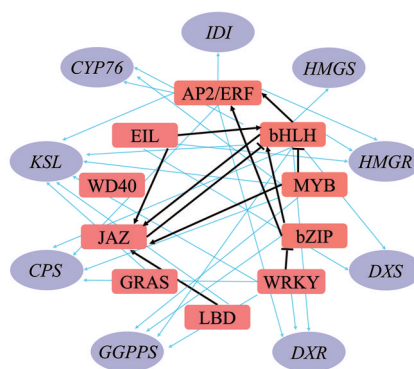
在下游途径中，二萜类化合物前体牻牛儿基牻牛儿基焦磷酸 (geranylgeranyl diphosphate, GGPP) 是由GGPPS催化IPP和DMAPP生成的，GGPPS是联系丹参酮上游和下游途径的关键酶，*SmGGPPS1*和*SmGGPPS3*启动子内的转录因子结合位点的变异与丹参酮类成分含量之间具有显著相关性<sup>[15]</sup>。另外，丹参酮积累与*SmCPS*、*SmKSL*关键酶基因表达呈正相关<sup>[16]</sup>。已被鉴定的CYP76AH1、CYP76AH3、CYP76AK1参与到丹参酮类化合物结构修饰，丹参酮二烯在CYP76AH1催化作用下生成铁锈醇 (ferruginol)，进一步在CYP76AH3和CYP76AK1作用下催化形成11,20-二羟基铁锈醇 (11,20-dihydroxy ferruginol, 11,20-HF) 和11,20-二羟基柳杉酚 (11,20-dihydroxy sugiol, 11,20-HS)<sup>[17-19]</sup>。最后，丹参酮类成分在CYP450家族作用下催化合成，但其具体的催化反应步骤仍不清楚，有待进一步研究。

## 2 调节丹参酮类成分生物合成的转录因子

转录因子作为一类重要调控因子，在调节次级代谢产物合成网络中起关键作用。转录因子调控丹参酮合成主要在两方面起作用，一是转录因子通过激活或抑制丹参酮生物合成途径中单个或者多个基因的表达，进而正向或负向调控丹参酮生物合成，比如*SmERF73*通过激活*DXR1*、*CPS1*、*KSL1*、*CYP76AH3*基因表达正调控丹参酮合成<sup>[20]</sup>，*SmMYB4*通过激活*GGPPS3*基因表达负调控丹参酮合成<sup>[21]</sup>。二是单个转录因子可以与其他转录因子形成复合物共同发挥作用，调节靶基因表达，比如JAZ蛋白与*SmbHLH59*或*SmMYB97*发生相互作用，抑制靶基因表达，进而抑制丹参酮合成<sup>[22]</sup>。目前已经报道了多个转录因子家族参与调控丹参酮类成分生物合成，AP2/ERF、bHLH、MYB、bZIP、WRKY等转录因子与关键酶基因之间的转录调控网络如图2所示。

### 2.1 转录因子的组织特异性

丹参以皮色红者为佳，皮部红色物质主要为丹参



**Figure 2** The transcription factor-enzyme gene regulation network. The orange squares represent transcription factors. The purple ovals represent key enzyme genes. Blue arrows indicate interactions between transcription factors and key enzyme genes. Black arrows and black T-lines indicate up-regulation and inhibition between transcription factors

酮类次生代谢产物，尤其是周皮木栓层，红色越深，丹参酮含量越高<sup>[23]</sup>。根据目前研究表明，丹参*GRAS*在根周皮的表达量均显著高于其他部位，说明*GRAS*转录因子在丹参酮的合成调控中发挥重要作用<sup>[24]</sup>。其他类型的转录因子大多也在丹参根中表达较高，比如属于ERF亚家族*SmERF73*<sup>[20]</sup>、*SmERF72*<sup>[25]</sup>、*SmAP2/ERF82*<sup>[26]</sup>等在根中表达量最高 (表1<sup>[20-22,24-63]</sup>)。因此，挖掘具有组织特异性的转录因子，可能揭示其在丹参酮合成积累方面的作用。

### 2.2 诱导子对转录因子的调控

AP2/ERF、bHLH、MYB、bZIP、WRKY等转录因子家族受茉莉酸甲酯 (methyl jasmonate, MeJA)、水杨酸 (salicylic acid, SA)、脱落酸 (abscisic acid, ABA)、赤霉素 (gibberellins, GA)、茉莉酸 (jasmonic acid, JA)、酵母提取物 (yeast extract, YE) 等诱导子的诱导，表现出对丹参酮合成的调控能力 (表1)。比如外源施加MeJA，毛状根中*SmJAZ*表达水平被显著诱导或抑制<sup>[27]</sup>；*GRAS*转录因子作为GA信号通路的关键调控因子，GA诱导后*SmGRAS*表达量显著上调或下调<sup>[24]</sup>。因此，系统分析转录因子家族受诱导表达模式，有助于了解其对丹参酮合成的调控能力。

**Table 1** Characterization of transcription factors. ORF: Open reading frame; aa: Amino acid; CDS: Coding sequence; GA: Gibberellins; ET: Ethylene; YE: Yeast extract; MeJA: Methyl jasmonate; SA: Salicylic acid; ABA: Abscisic acid; NAA: 1-Naphthaleneacetic acid; PEG: Polyethylene glycol

Family	Number	Member	GenBank accession	Bioinformation	Tissue expression	Elicitor	Reference
AP2/ERF	179	<i>SmERF72</i>	-	699 bp	Periderm	-	[25,28]
		<i>SmERF98</i>	-	891 bp	Xylem	-	[25]
		<i>SmERF73</i>	QRQ89295.1	780 bp ORF, 259 aa	Root	YE+Ag <sup>+</sup> , MeJA	[20]
		<i>SmERF128</i>	MG897156	633 bp, 210 aa	Periderm	-	[29]

Continued

Family	Number	Member	GenBank accession	Bioinformation	Tissue expression	Elicitor	Reference
		<i>SmERF1L1</i>	MH006594	741 bp ORF, 246 aa	Stem	MeJA, YE, SA, ET	[30]
		<i>SmERF2</i>	-	741 bp ORF, 246 aa	Stem	YE, MeJA, ET, SA	[31]
		<i>SmERF6</i>	KY988300	561 bp ORF, 186 aa	Root	ET	[32]
		<i>SmERF8</i>	MH006600	654 bp ORF, 217 aa	Root head	ET	[33]
		<i>SmAP2/ERF82</i>	-	582 bp CDS, 193 aa	Root	-	[26]
		<i>SmERF1</i>	KC405081.1	549 bp ORF, 182 aa	-	YE, MeJA	[34]
bHLH	127	<i>SmbHLH61</i>	-	1 008 bp ORF, 335 aa	Root	MeJA, SA	[35,36]
		<i>SmbHLH74</i>	KP257507.1	696 bp CDS, 231 aa	Root	MeJA	[37]
		<i>SmbHLH92</i>	KP257525.1	681 bp ORF, 226 aa	Root	-	[38]
		<i>SmbHLH7</i>	-	1 911 bp ORF, 636 aa	Xylem	MeJA, GA	[39]
		<i>SmbHLH10</i>	-	972 bp ORF, 323 aa	Flower	GA, ABA	[39]
		<i>SmbHLH130</i>	-	1 185 bp ORF, 394 aa	Leaf	MeJA, GA, ABA	[39]
		<i>SmbHLH148</i>	-	675 bp ORF, 224 aa	Fibrous root	MeJA, GA, ABA	[39]
		<i>SmbHLH3</i>	-	1 476 bp ORF, 491 aa	Fibrous root	MeJA	[39]
		<i>SmbHLH59</i>	KP257492	1 146 bp CDS, 381 aa	Leaf	MeJA	[22]
MYB	110	<i>SmMYB9b</i>	JX113685	1 207 bp	Blooming flowers	ABA, GA, MeJA	[40,41]
		<i>SmMYB98</i>	AGN52122.1	699 bp ORF, 232 aa	Lateral roots	-	[42]
		<i>SmMYB1</i>	-	1 071 bp full length, 356 aa	Leaf	MeJA, SA	[43]
		<i>SmMYB36</i>	KF059390.1	160 aa	-	-	[44]
		<i>SmMYB4</i>	-	696 bp ORF	-	-	[21]
		<i>SmMYB97</i>	KF059451	825 bp, 274 aa	Leaf	MeJA	[45]
bZIP	70	<i>SmbZIP1</i>	-	474 bp ORF	Periderm	ABA, YE, ET, SA	[46,47]
		<i>SmbZIP3</i>	-	807 bp ORF, 268 aa	-	ABA	[48]
		<i>SmHY5</i>	MT408030	474 bp ORF, 157 aa	Leaf	-	[49]
WRKY	61	<i>SmWRKY1</i>	-	789 bp ORF, 262 aa	Stem	MeJA, SA, NO	[50,51]
		<i>SmWRKY2</i>	-	1 476 bp ORF, 491 aa	Leaf	MeJA	[52]
		<i>SmWRKY14</i>	KM823137	732 bp CDS, 243 aa	Root	MeJA	[22]
		<i>SmWRKY44</i>	KM823167.1	798 bp CDS, 265 aa	Stem	MeJA, SA, 4°C, PEG, NaCl	[53]
		<i>SmWRKY40</i>	-	1 059 bp CDS, 352 aa	Root	MeJA, SA	[54]
		<i>SmWRKY34</i>	-	930 bp ORF, 309 aa	Stem	ABA	[48]
		<i>SmWRKY54</i>	-	861 bp ORF	Taproot	SA, ABA, MeJA, GA3, ET, YE	[55]
		<i>SmWRKY61</i>	-	507 bp full length	-	MeJA	[56]
LBD	51	<i>SmLBD44</i>	-	687 bp CDS, 228 aa	-	MeJA	[57,58]
GRAS	35	<i>SmGRAS1</i>	KY435886	1 470 bp ORF, 489 aa	Periderm	GA, SA, NAA, MeJA, ABA	[24]
		<i>SmGRAS2</i>	KY435887	1 380 bp ORF, 459 aa	Periderm	GA, SA, NAA, MeJA, ABA	[24,59]
		<i>SmGRAS3</i>	KY435888	2 247 bp ORF, 748 aa	Periderm	GA, SA, NAA, MeJA, ABA	[24]
		<i>SmGRAS4</i>	KY435889	1 581 bp ORF, 526 aa	Periderm	GA, SA, NAA, MeJA, ABA	[24]
		<i>SmGRAS5</i>	KY435890	1 041 bp ORF, 346 aa	Periderm	GA, SA, NAA, MeJA, ABA	[24]
JAZ	9	<i>SmJAZ1</i>	-	543 bp ORF, 180 aa	Stem	ABA, ET, GA, YE, MeJA	[27,60]
		<i>SmJAZ2</i>	-	642 bp ORF, 213 aa	Leaf	ABA, SA, ET, GA, YE, NAA, PEG, MeJA	[27,60]
		<i>SmJAZ5</i>	-	825 bp ORF, 274 aa	Leaf	ABA, SA, ET, GA, YE, NAA, Ag <sup>+</sup> , MeJA	[27,60]
		<i>SmJAZ6</i>	-	720 bp ORF, 239 aa	Leaf	ABA, SA, GA, YE, NAA, PEG, Ag <sup>+</sup> , MeJA	[27,60]
		<i>SmJAZ9</i>	-	921 bp ORF, 306 aa	Leaf	ABA, GA, SA, YE, NAA, PEG, Ag <sup>+</sup> , MeJA	[27,60]
		<i>SmJAZ3</i>	-	1 011 bp ORF, 336 aa	Periderm	ABA, SA, ET, GA, YE, NAA, PEG, MeJA	[60]
		<i>SmJAZ4</i>	-	945 bp ORF, 314 aa	Root	ABA, SA, GA, YE, NAA, PEG, Ag <sup>+</sup> , MeJA	[27,60]
		<i>SmJAZ8</i>	-	372 bp ORF, 123 aa	Leaf	ABA, SA, ET, GA, YE, NAA, PEG, Ag <sup>+</sup> , MeJA	[61]
		<i>SmJAZ10</i>	-	540 bp ORF, 179 aa	Stem	ABA, SA, ET, GA, YE, NAA, PEG, Ag <sup>+</sup> , MeJA	[27]
WD40	225	<i>SmWD40-170</i>	-	972 bp full length, 323 aa	Root	Mechanical damage, MeJA, GA	[62]
EIL		<i>SmEIN3</i>	-	1 797 bp ORF, 598 aa	Leaf	ABA, GA, SA, MeJA, YE	[63]

### 2.3 转录因子对丹参酮合成的调控作用

表 2<sup>[20-22,24-27,29-34,36-39,41-45,47-49,51-56,58-63]</sup>总结了转录因子对丹参酮正向或负向调控以及调控丹参酮合成途径上的目标基因。

**2.3.1 AP2/ERF 转录因子** AP2/ERF 转录因子是一类主要存在于植物中被认为是最大的转录因子家族之一,包含长约 60 个氨基酸的 AP2 结构域,可直接与顺式元件相互作用。根据 AP2 结构域数量及结合序列,可分为 AP2、ERF、DREB、RAV、Soloist 五个亚家族<sup>[64]</sup>,其中响应乙烯信号通路的 ERF 亚族对丹参酮的调控研究较为深入。Ji 等<sup>[28]</sup>从丹参基因组中鉴定出 179 个 AP2/ERF 转录因子,根据 AP2 结构域数量和序列特征可分为 5 个亚家族,结合基因表达分析、共表达网络分析、顺式调控元件分析,推测 *SmERF128* 和 *SmERF152* 调节丹参酮的生物合成。

目前研究表明,ERF 类转录因子对丹参酮的调控多为正向调控,比如: *SmERF72*<sup>[25]</sup>、*SmERF98*<sup>[25]</sup>、*SmERF73*<sup>[20]</sup>、*SmERF128*<sup>[29]</sup>、*SmERF1L1*<sup>[30]</sup>、*SmERF2*<sup>[31]</sup>、

*SmERF6*<sup>[32]</sup>、*SmERF8*<sup>[33]</sup>、*SmAP2/ERF82*<sup>[26]</sup>、*SmERF1*<sup>[34]</sup>。进一步机制研究表明, *SmERF72* 结合靶基因 *HMGR*、*KSL1*、*CYP76AH3*、*IDII* 启动子序列中的 GCC-box, *SmERF98* 结合靶基因 *KSL1*、*CYP76AH3*、*IDII* 启动子序列中的 GCC-box<sup>[25]</sup>, *SmERF73* 结合 *DXR1*、*CPS1*、*KSL1*、*CYP76AH3* 启动子序列中的 GCC-box<sup>[20]</sup>,从而激活靶基因的转录。 *SmERF128* 则是通过结合 GCC-box、CBF2、RAA 基序激活 *SmCPS1*、*SmKSL1*、*SmCYP76AH1* 的表达正调控丹参酮合成<sup>[29]</sup>。 *SmERF1L1* 以 *SmDXR* 为靶点正向调控丹参酮生物合成<sup>[30]</sup>。另外, *SmERF2* 过表达显著提高毛状根中丹参酮含量, *SmERF2* 干扰株系与对照株系相比丹参酮含量没有明显变化,但 *SmDXS2*、*SmDXR*、*SmHMGS*、*SmKSL* 基因表达显著上调,说明 *SmERF2* 对丹参酮的合成起一定的正调控作用<sup>[31]</sup>。

ERF 类转录因子不仅正向调控丹参酮的合成,而且在生长发育和非生物胁迫方面发挥重要作用。 *SmERF6/8* 与 *SmKSL1*、*SmCPS1* 启动子的乙烯反应元

**Table 2** Transcription factor positively or negatively regulate tanshinone in *Salvia miltiorrhiza*

Family	Member	Positive/negative	Target gene	Reference	Family	Member	Positive/negative	Target gene	Reference	
AP2/ERF	<i>SmERF72</i>	Positive	<i>HMGR, CYP76AH3, KSL1, IDII</i>	[25]	WRKY	<i>SmWRKY1</i>	Positive	<i>DXR</i>	[51]	
	<i>SmERF98</i>	Positive	<i>CYP76AH3, KSL1, IDII</i>	[25]		<i>SmWRKY2</i>	Positive	<i>CPS</i>	[52]	
	<i>SmERF73</i>	Positive	<i>DXR1, CPS1, KSL1, CYP76AH3</i>	[20]		<i>SmWRKY14</i>	Positive	<i>CPS1</i>	[22]	
	<i>SmERF128</i>	Positive	<i>CYP76AH1, CPS1, KSL1</i>	[29]		<i>SmWRKY44</i>	Positive	<i>CPS1, CPS5, KSL1</i>	[53]	
	<i>SmERF1L1</i>	Positive	<i>DXR</i>	[30]		<i>SmWRKY40</i>	Negative	<i>CPS1, CPS5</i>	[54]	
	<i>SmERF2</i>	Positive	<i>CPS1</i>	[31]		<i>SmWRKY34</i>	Negative	<i>GGPPS</i>	[48]	
	<i>SmERF6</i>	Positive	<i>KSL1, CPS1</i>	[32]		<i>SmWRKY54</i>	Positive	<i>KSL</i>	[55]	
	<i>SmERF8</i>	Positive	<i>KSL1</i>	[33]		<i>SmWRKY61</i>	Positive	-	[56]	
	<i>SmAP2/ERF82</i>	Positive	<i>IDII, CPS1, CYP76AH3</i>	[26]		LBD	<i>SmLBD44</i>	Negative	<i>KSL1</i>	[58]
	<i>SmERF1</i>	Positive	-	[34]			GRAS	<i>SmGRAS1</i>	Positive	<i>KSL1</i>
<i>SmbHLLH61</i>	Positive	-	[36]	<i>SmGRAS2</i>	Positive			-	[24,59]	
<i>SmbHLLH74</i>	Negative	<i>HMGR1, GGPPS1, CYP76AH1</i>	[37]	<i>SmGRAS3</i>	Positive			<i>KSL1</i>	[24]	
<i>SmbHLLH92</i>	Positive/negative	<i>DXR, HMGR4</i>	[38]	<i>SmGRAS4</i>	Positive	<i>KSL1</i>		[24]		
bHLH	<i>SmbHLLH7</i>	Positive	<i>DXS2, CPS1, KSL1, CYP76AH1</i>	[39]	JAZ	<i>SmGRAS5</i>	Positive	<i>KSL1</i>	[24]	
	<i>SmbHLLH10</i>	Positive	<i>DXS2, CPS1, CPS5</i>	[39]		<i>SmJAZ1</i>	Positive	-	[27,60]	
	<i>SmbHLLH130</i>	Positive	<i>CPS1, DXS2, KSL1, CYP76AH1</i>	[39]		<i>SmJAZ2</i>	Positive	-	[27,60]	
	<i>SmbHLLH3</i>	Negative	<i>KSL1, CYP76AH1</i>	[39]		<i>SmJAZ5</i>	Positive	-	[27,60]	
	<i>SmbHLLH148</i>	Positive	<i>DXS2, CPS1, CYP76AH1</i>	[39]		<i>SmJAZ6</i>	Positive	-	[27,60]	
	<i>SmbHLLH59</i>	Positive	<i>CPS1, KSL1</i>	[22]	<i>SmJAZ9</i>	Positive	-	[27,60]		
	MYB	<i>SmMYB9b</i>	Positive	-	[41]	<i>SmJAZ3</i>	Negative	-	[60]	
		<i>SmMYB98</i>	Positive	<i>GGPPS1</i>	[42]	<i>SmJAZ4</i>	Negative	-	[27,60]	
		<i>SmMYB1</i>	Positive	-	[43]	<i>SmJAZ8</i>	Negative	-	[61]	
		<i>SmMYB36</i>	Positive	<i>HMGS1, GGPPS, DXR, CMK, MCT</i>	[44]	WD40	<i>SmWD40-170</i>	Positive	-	[62]
<i>SmMYB4</i>		Negative	-	[21]	EIL		<i>SmEIN3</i>	Positive	<i>HMGR, DXS2</i>	[63]
<i>SmMYB39</i>	Negative	-	[39]	bZIP		<i>SmbZIP1</i>	Negative	<i>GGPPS</i>	[47]	
<i>SmMYB97</i>	Positive	<i>CPS1, KSL1</i>	[45]			<i>SmbZIP3</i>	Positive	-	[48]	
<i>SmbZIP5</i>	Positive	-	[49]		<i>SmHY5</i>	Positive	-	[49]		

件 GCC-box 结合并激活转录正调节丹参酮生物合成, 过表达 *SmERF6*、*SmERF8* 会抑制丹参毛状根生长<sup>[32,33]</sup>。*SmAP2/ERF82* 通过调控丹参酮生物合成途径中关键酶基因 *ID11*、*CPS1*、*CYP76AH3* 表达正向调控丹参酮类化合物的生物合成。此外, *SmAP2/ERF82* 过表达株系生长矮小, 根系稀疏, RNAi 株系生长健壮, 根系发达, 这可能是由于 *SmAP2/ERF82* 负向调控 GA 的生物合成<sup>[26]</sup>。*SmERF1* 虽然对丹参酮类物质合成的调节效果较弱, 但能提高丹参的耐盐性<sup>[34]</sup>。

**2.3.2 bHLH 转录因子** bHLH 转录因子家族是真核转录因子中最大的家族之一, 具有高度保守的碱性/螺旋环-螺旋特殊结构域, 总共约有 50~60 个氨基酸, 由两部分组成, 一部分是碱性氨基酸区, 另一部分是螺旋-环-螺旋区, 这两部分在功能上完全不同。碱性氨基酸区位于 N 端, 主要功能是识别并特异性结合靶基因启动子的 DNA 序列; 螺旋-环-螺旋区域位于 C 端, 主要功能是促进蛋白质的相互作用并形成同二聚体或异二聚体复合物控制基因转录<sup>[65,66]</sup>。Zhang 等<sup>[35]</sup>在丹参基因组中鉴定出 127 个 bHLH 转录因子, 根据系统发育分为 25 个亚家族, MeJA 处理后, 发现 7 个 bHLH 基因 (*SmbHLH37/51/53/60/74/92/103*) 可能参与丹参酮代谢调控。

bHLH 转录因子可正负双向参与调节丹参酮类成分合成。首先, *SmbHLH61*<sup>[36]</sup>、*SmbHLH7*<sup>[39]</sup>、*SmbHLH10*<sup>[39]</sup>、*SmbHLH130*<sup>[39]</sup>、*SmbHLH148*<sup>[39]</sup>、*SmbHLH59*<sup>[22]</sup> 参与丹参酮正向调控。Xing<sup>[39]</sup> 研究发现 *SmbHLH7*、*SmbHLH10*、*SmbHLH130*、*SmbHLH148* 通过结合丹参酮类物质合成途径中关键酶基因启动子区 E/G-box 元件调节基因的转录; *SmbHLH59* 结合启动子区内的 E/G-box 元件激活 *CPS1*、*KSL1* 表达<sup>[22]</sup>。其次, *SmbHLH3*<sup>[39]</sup>、*SmbHLH74*<sup>[37]</sup> 负向调控丹参酮合成, *SmbHLH3* 结合 *KSL1*、*CYP76AH1* 启动子区元件抑制丹参酮类物质的代谢<sup>[39]</sup>; *SmbHLH74* 直接抑制 *SmHMGR1*、*SmGGPPS1*、*SmCYP76AH1* 的转录负调控丹参酮生物合成<sup>[37]</sup>。另外, *SmbHLH92* 对丹参酮积累具有双重调节作用, 负调控二氢丹参酮 I 和隐丹参酮, 正调控丹参酮 I 和丹参酮 II<sub>A</sub>, 进一步转录组数据结果表明, *SmbHLH92* 可能通过直接结合 *SmHMGR4*、*SmGGPPS.LSU*、*SmGGPPS.SUII.2*、*SmDXR* 启动子的 G-box 调控基因表达<sup>[38]</sup>。

bHLH 受其他转录因子的调控, 动态调节丹参酮类成分的合成, 比如 *SmMYC2* 直接抑制 *SmbHLH74* 的转录, 削弱了 *SmbHLH74* 对丹参酮积累的抑制作用<sup>[37]</sup>; *SmJAZ1/8* 蛋白抑制 *SmbHLH59* 的转录活性, 从而抑制丹参酮生物合成<sup>[22]</sup>。*SmbHLH7* 和 *SmMYB39* 调控丹参酮类物质代谢的靶基因具有重叠, 竞争性结合靶基

因, 当二者形成复合体时, 使得 *SmbHLH7* 与其他正调控的 MYB 转录因子无法形成复合体, 进而协同调控丹参中次生代谢的动态平衡<sup>[39]</sup>。

**2.3.3 MYB 转录因子** MYB 转录因子家族数量庞大、功能多样, 是植物生长发育过程中重要的调控因子, N 端是高度保守 DNA 结合域, 具有 1~3 个重复序列 (R1、R2、R3), 每个重复序列由 51~52 个氨基酸残基组成, 折叠成三个  $\alpha$ -螺旋, 第二螺旋和第三螺旋可形成螺旋-转角-螺旋结构。根据结构域数量和位置, MYB 家族分为 1R (R1/2, R3-MYB)、2R (R2R3-MYB)、3R (R1R2R3-MYB)、4R (R1R2R2R1/2-MYB), 大多数 MYB 蛋白属于 R2R3-MYB 亚家族<sup>[67,68]</sup>。Li 等<sup>[40]</sup>从丹参基因组中鉴定分析出 110 个 R2R3-MYB 转录因子, 基于系统发育和拟南芥的研究结果, 分为 37 个亚组, 预测亚组 4、5、20 中的成员是丹参萜类化合物合成的潜在调控因子。

MYB 转录因子不仅对丹参酮的积累起正向调控作用, 而且影响丹参根系的发育, 比如 *SmMYB9b*<sup>[41]</sup>、*SmMYB98*<sup>[42]</sup>、*SmMYB1*<sup>[43]</sup>。*SmMYB9b* 通过激活丹参 MEP 通路相关基因 *SmDXS2*、*SmDXR*、*SmGGPPS*、*SmKSL1* 转录水平发挥正向调控作用, *SmMYB9b* 过表达毛状根比对照组长得更细、侧根更少、更易形成愈伤组织<sup>[41]</sup>。*SmMYB98* 过表达后毛状根相对于对照组长得更短更粗, GA 含量降低, 丹参酮含量增加, 说明 *SmMYB98* 影响丹参毛状根生长, 负向调控 GA 生物合成, 正向调控丹参酮合成<sup>[42]</sup>。*SmMYB1* 作为重要的反馈调节因子, 促进了丹参毛状根的生长和毛状根中丹参酮类物质的积累<sup>[43]</sup>。*SmMYB36* 通过提高 *DSX1*、*DXS2*、*DXR*、*MCT*、*MDS*、*HDS*、*CMK*、*HDR1*、*GGPPS1*、*CPS1*、*CYP76AH1*、*KSL1* 转录水平促进丹参酮积累<sup>[44]</sup>。MYB 类转录因子也可负调控丹参酮合成。相比于对照, *SmMYB4* 过表达株系隐丹参酮和丹参酮 II<sub>A</sub> 含量下降, *SmMYB4* 干扰株系中隐丹参酮和丹参酮 II<sub>A</sub> 含量增加, 丹参酮合成途径下游关键酶基因 *GGPPS3* 表达受显著影响, 推测 *SmMYB4* 通过调控 *GGPPS3* 负调控丹参酮合成<sup>[21]</sup>。

另外, MYB 转录因子会和 bHLH 及 WD40 蛋白形成 MBW 蛋白复合体协同调控次生代谢。Xing<sup>[39]</sup> 研究发现 *SmMYB39* 过表达抑制毛状根中丹参酮类物质含量和丹参酮生物合成途径基因 *DXS2*、*DXR*、*HMGR1*、*GGPPS*、*KSL1* 表达。*SmMYB39* 和 *SmbHLH7* 相互作用, 过表达 *SmbHLH7* 促进 *SmMYB39* 的转录, 沉默 *SmbHLH7* 后 *SmMYB39* 的转录受到抑制, 二者协同调控丹参酮积累的动态平衡。Li 等<sup>[45]</sup> 研究发现 *SmMYB97* 过表达增加了丹参酮含量, 上调丹参酮合成路径基因

*SmDXS1*、*SmHMGR1*、*SmFPPS*、*SmGPPS*、*SmGGPPS*、*SmCPS1*、*SmKSL1*、*SmCYP76AH1* 表达。酵母单杂交和瞬时转录活性测定表明, *SmMYB97* 结合 *CPS1* 和 *KSL1* 启动子区域激活表达。酵母双杂交和双分子荧光互补实验表明, *SmMYB97* 与 *SmJAZ8* 相互作用, 共同抑制 *SmCPS1* 和 *SmKSL1* 的表达, 说明 *SmMYB97* 与 *SmJAZ8* 参与丹参酮积累过程。

**2.3.4 bZIP 转录因子** bZIP 转录因子也是一个庞大而多样的家族, 包含一个由 60~80 个氨基酸残基组成的 bZIP 结构域, N 端为碱性区域相对保守, 含有一个核定位信号和一个 N-X7-R/K 基序; C 端为亮氨酸拉链区域, 由亮氨酸或其他疏水氨基酸组成, 可形成同源或异源二聚体发挥作用<sup>[69,70]</sup>。Zhang 等<sup>[46]</sup>首次对丹参 bZIP 基因家族进行全基因组分析, 根据与拟南芥的系统发育关系, 共鉴定出 70 个 SmbZIP 转录因子, 分为 11 个亚群, *SmbZIP7*、*SmbZIP20* 可能参与丹参酮生物合成的调控。

bZIP 转录因子通过不同的途径直接或者间接地影响丹参酮的生物合成, 比如 ABA 处理丹参毛状根后, *bZIP3/6/10/18/19/36/37/68/71* 与丹参酮生物合成途径上的一个或多个关键酶基因显著相关, 推测 bZIP 转录因子可能通过与丹参酮生物合成途径中基因启动子结合激活基因转录, 进而调控丹参有效成分的生物合成<sup>[71]</sup>; *SmbZIP1* 与 G-Box 元件结合直接抑制 *GGPPS* 基因表达降低丹参酮含量<sup>[47]</sup>。*SmbZIP3* 通过调节转录因子 *SmERF128* 和 *SmMYB9b* 间接促进丹参酮生物合成<sup>[48]</sup>。另外, *SmHY5* 对丹参根系形态发育和有效成分积累多重调控作用, 过表达 *SmHY5* 降低丹参的一级侧根数、二级侧根数和鲜重, 增加了丹参的一级侧根直径、根长, 提高丹参酮含量, 沉默 *SmHY5* 基因结果相反<sup>[49]</sup>。

**2.3.5 WRKY 转录因子** WRKY 家族是高等植物中最大的转录因子家族之一, 其 DNA 结合域包含大约 1 个或 2 个由 60 个氨基酸组成的 WRKY 结构, N 端含七肽序列 WRKYGQK 的保守区, C 端为 C2H2 型或 C2HC 型的锌指结构<sup>[72]</sup>。WRKY 蛋白质通过特异性结合靶基因启动子的 W-box 实现生物学功能, W-box 的特定序列为 (C/T)TGAC(C/T), TGAC 是其核心序列<sup>[73]</sup>。Li 等<sup>[50,74]</sup>从丹参基因组中鉴定出 61 个 *SmWRKY* 转录因子, 多重序列比对表明, *SmWRKY* 可分为 3 个类群, 有 42 个响应 YE 和 Ag<sup>+</sup> 胁迫, 推测 *SmWRKY1/3/7/9/12/19/25/29/30/35/42/52/56/58/63/68* 参与丹参酮合成。

WRKY 转录因子通过结合丹参酮合成途径的关键酶编码基因启动子中 W-box 元件调控靶基因转录, 比如 *SmWRKY1*<sup>[51]</sup>、*SmWRKY2*<sup>[52]</sup>、*SmWRKY14*<sup>[22]</sup>、

*SmWRKY44*<sup>[53]</sup>、*SmWRKY40*<sup>[54]</sup>。Cao 等<sup>[51]</sup>研究发现 *SmWRKY1* 过表达显著提高 MEP 途径中关键酶基因表达, 尤其是 *SmDXR*, 双荧光素酶实验证明 *SmWRKY1* 通过直接结合启动子区域转录激活 *SmDXR* 表达, 正调控丹参酮生物合成。*SmWRKY2* 结合 *SmCPS*<sup>[52]</sup>、*SmWRKY14* 结合 *SmCPS1*<sup>[22]</sup>、*SmWRKY44* 结合 *SmCPS1*、*SmCPS5*、*SmKSL1* 基因启动子中的 W-box 元件激活基因的转录促进丹参酮生物合成<sup>[53]</sup>, 另一个成员 *SmWRKY40* 结合 *SmCPS1* 和 *SmCPS5* 启动子中的 W-box, 抑制丹参酮合成<sup>[54]</sup>。*SmWRKY54* 与 *SmKSL* 结合增加丹参酮产量的同时, 还通过 W-box 与 SA 信号转导途径中的相关基因相互作用, 增强拟南芥抗旱性<sup>[55]</sup>。*SmWRKY61* 对丹参酮的积累具有较强的调节作用, 主要通过调控 MEP 通路 (*DXS2*、*CMK*、*HMGS2*) 和下游通路 (*CPS*、*KSL*、*KSL2*、*CYP76AH1*、*CYP76AK3*) 基因表达, 促进丹参酮积累<sup>[56]</sup>。*SmWRKY34* 则是通过直接调控 *SmGGPPS* 负调控丹参酮合成<sup>[48]</sup>。

**2.3.6 其他转录因子** LBD 转录因子由 N 端的 LOB 结构域和可变 C 端组成, 可分为 class I 和 class II<sup>[75]</sup>。MeJA 对 class II 成员 *SmLBD44* 有明显的诱导作用, *SmLBD44* 对丹参酮合成起抑制作用。进一步研究证明 *SmLBD44* 抑制了 *SmKSL1* 的活性, 但 *SmJAZ1* 可以消除 *SmLBD44* 对 *SmKSL1* 抑制作用, 表明 *SmLBD44* 可能参与 JA 信号通路介导的丹参酮合成调控过程<sup>[58]</sup>。

GRAS 蛋白含有一个 N 端保守性较低的可变区和一个 C 端保守 GRAS 结构域, 典型的 GRAS 结构域包含 5 个保守序列基序: LHRI、VHIID、LHRII、PFYRE、SAW<sup>[76]</sup>。*SmGRAS1/2/3/4/5* 作为正调节剂影响丹参酮合成, 其作用机制有所不同, *SmGRAS1/3/4/5* 通过直接与 *SmKSL1* 启动子中的 GARE-motif 结合激活基因表达促进丹参酮合成, *SmGRAS2* 可能通过与 *SmGRAS1* 相互作用调节丹参酮合成<sup>[24,59]</sup>。

JAZ 抑制因子是 JA 途径中的一类阻遏蛋白, 响应 JA 刺激, 可与其他转录因子互作发挥调控作用, 是 JA 信号途径调控次级代谢产物合成的关键环节之一<sup>[77]</sup>。在 MeJA 处理下, *SmJAZ1/2/5/6/9* 过表达显著增加毛状根中丹参酮的积累, 而 *SmJAZ3/4/8* 过表达降低毛状根中丹参酮的积累。另外, *SmJAZs* 可与 *SmMYC2a*、*SmMYC2b*、*SmMYB39*、*SmPAP1* 形成复杂的调控网络, 在 JA 诱导的丹参酮合成中表现出功能多效性、多样性和冗余性<sup>[27,61]</sup>。

除上述转录因子, *SmWD40-170* 过表达提高了丹参酮 II<sub>A</sub> 和隐丹参酮含量, 显著上调关键酶基因 *SmDXS*、*SmHMGR*、*SmFPPS*、*SmGGPPS*、*SmCPS*、*SmKSL* 表达水平<sup>[62]</sup>。*SmEIN3* (乙烯信号途径的关键转录因子) 通

过直接激活 *SmHMGR*、*SmDXS2* 等关键酶基因的表达, 正调控丹参酮合成。此外, *SmEIN3* 还可与 *SmMYC2* (JA 信号途径的关键转录因子) 互作, 将乙烯信号通路和 JA 信号通路联系起来, 共同调节丹参酮合成<sup>[63]</sup>。目前关于丹参 WD40、EIL 家族转录因子参与丹参酮类成分生物合成的研究报道较少, 其调控作用及机制有待深入研究。

### 3 总结与展望

转录因子作为丹参酮生物合成途径中的高效调节因子, 可以同时激活或抑制一条或多条合成途径中的多个基因, 其功能受到研究者的广泛关注。本综述讨论了 AP2/ERF、bHLH、MYB、bZIP、WRKY 等转录因子家族在提高丹参酮含量方面的潜力和局限性, 并对未来研究方向做出展望。

转录因子是基因表达调控网络中的一部分, 调控机制通常是复杂的, 涉及到多个转录因子、共调控因子和底物基因。在研究转录因子对丹参酮类物质调控时, 很难完全了解所有调控因素之间的相互作用和调控网络的整体机制。首先, 转录因子家族数量庞大, 但只有家族中少数转录因子被证实参与丹参酮的生物合成, 且有正负调控之分; 其次, 植物中存在大量的转录因子家族和亚家族, 它们在功能上可能存在重叠和互补性, 这使得确定特定的转录因子在丹参酮类物质调控中的作用变得更加复杂, 需要进行更多功能基因组学研究; 最后, 丹参中转录因子数量众多、同一转录因子家族成员功能是否相同、转录因子之间是否互作、不同类型的转录因子是否在转录层面发挥作用等问题增加了调控机制研究的难度。目前, 关于转录因子对丹参酮类物质调控关系的认识还不完全, 需要更多研究来揭示其详细的调控网络。

在今后的研究中, 一方面, 通过整合转录组学、代谢组学、蛋白质组学等技术, 全面鉴定和分析参与丹参酮类物质合成调控的转录因子家族, 利用外源激素诱导转录因子的表达、比对与已报道植物中转录因子的同源性等方法来筛选调控丹参酮关键转录因子。最近, 单细胞组学技术在基因网络中筛选关键作用的核心转录因子、解析转录因子对植物组织成分等方面拥有巨大潜力<sup>[78]</sup>, 随着该技术的发展应用, 将会加快筛选在丹参酮合成方面起作用的转录因子。另一方面, 对挖掘到的核心转录因子, 结合基因过表达、CRISPR/Cas9 基因编辑等技术, 对丹参酮类物质合成调控的转录因子进行功能验证和定点突变, 深入解析其调控机制, 增加对丹参酮合成转录调控网络的认识。这些研究方向有望提供更多关于丹参酮类物质合成调控的重要信息, 为植物次生代谢工程等领域的发展提供理论

和实践指导。

丹参酮的主要来源是从丹参中直接提取, 培育丹参酮含量高的丹参新品种仍是未来的研究目标。转录因子作为丹参酮合成的高效调控因子, 具有调控关键酶基因表达和根系生长发育等作用, 在提高丹参酮含量和产量方面显示出广阔的发展前景。转录因子对丹参酮类物质调控作用机制大多集中在分析与靶基因结合位点, 因此后续研究可以注重转录因子表观遗传研究, 进而为丹参等药用植物的栽培及分子育种提供新的思路与方法。此外, 利用异源宿主植物 (烟草、小立碗藓) 作为生物反应器可以稳定地生产青蒿素<sup>[79]</sup>, 将此方法结合组织培养、代谢工程等技术应用到丹参酮的生物合成, 有助于提高丹参酮的含量, 获得优质的丹参药材, 这可能开启转录因子调控丹参酮生物合成途径研究的新领域。

总之, 通过多种方法构建丹参酮合成调控网络, 筛选提高丹参酮含量的核心转录因子, 有助于丰富丹参酮代谢调控理论, 加速分子育种进程, 完善丹参资源的可持续利用, 为丹参产业的发展提供技术支持。

**致谢:** 山东省高教厅青年创新团队和山东中医药大学可持续利用青年创新团队对本文提供了支持。

**作者贡献:** 白艳红负责参考文献的整理及完成初稿撰写; 辛林林、曾婷、韩凤霞负责表格和图片整理; 张永清、蒲高斌负责提供部分参考资料; 陈雪负责对文章的修改提供建议; 刘谦负责提出文章构思、修改及审核。所有作者都认可手稿的最终版本。

**利益冲突:** 所有作者均声明不存在利益冲突。

### References

- [1] Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China (中华人民共和国药典) [S]. 2020 Ed. Vol 1. Beijing: Chinese Medical Science and Technology Press, 2020: 78.
- [2] Ding F, Wang YJ, Zhang Y. Research advances in pharmacological effect and clinical application of active ingredients of Danshen [J]. China J Tradit Chin Med Pharm (中华中医药杂志), 2021, 36: 659-662.
- [3] Han JJ, Ji YY, Liang XY, et al. Analysis of digital gene expression in *Salvia miltiorrhiza* under drought-stress [J]. Genomics Appl Biol (基因组学与应用生物学), 2018, 37: 4439-4448.
- [4] Zhan ZG, Li X. Biosynthesis and transcriptional regulation of tanshinones and salvianolic acids [J]. Acta Pharm Sin (药理学学报), 2020, 55: 2110-2121.
- [5] Lai L, Jiang ZY, Feng YP, et al. Bioaccessibility analysis of active components in *Salvia miltiorrhiza* [J]. Acta Pharm Sin (药理学学报), 2022, 57: 2435-2444.

- [6] Shan XX, Hong BZ, Liu J, et al. Review of chemical composition, pharmacological effects, and clinical application of *Salvia miltiorrhizae* Radix et Rhizoma and prediction of its Q-markers [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2021, 46: 5496-5511.
- [7] Ma XJ, Yang JJ, Ma GR, et al. Modernization of Chinese medicine *Salvia miltiorrhizae* Radix et Rhizoma: a review [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2022, 47: 5131-5139.
- [8] Jiang ZQ, Gao W, Huang LQ. Tanshinones, critical pharmacological components in *Salvia miltiorrhiza* [J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 202.
- [9] Cui GH, Wang XY, Feng H, et al. Molecular cloning and SNP analysis of a acetyl-CoA C-acetyltransferase gene (*SmAAC1*) from *Salvia miltiorrhiza* [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2010, 45: 785-790.
- [10] Yang DF, Du XH, Liang X, et al. Different roles of the mevalonate and methylerythritol phosphate pathways in cell growth and tanshinone production of *Salvia miltiorrhiza* hairy roots [J]. *PLoS One*, 2012, 7: e46797.
- [11] Dai ZB, Cui GH, Zhou SF, et al. Cloning and characterization of a novel 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme a reductase gene from *Salvia miltiorrhiza* involved in diterpenoid tanshinone accumulation [J]. *J Plant Physiol*, 2011, 168: 148-157.
- [12] Estevez JM, Cantero A, Reindl A, et al. 1-Deoxy-D-xylulose-5-phosphate synthase, a limiting enzyme for plastidic isoprenoid biosynthesis in plants [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276: 22901-22909.
- [13] Ma YM, Yuan LC, Wu B, et al. Genome-wide identification and characterization of novel genes involved in terpenoid biosynthesis in *Salvia miltiorrhiza* [J]. *J Exp Bot*, 2012, 63: 2809-2823.
- [14] Kai GY, Xu H, Zhou CC, et al. Metabolic engineering tanshinone biosynthetic pathway in *Salvia miltiorrhiza* hairy root cultures [J]. *Metab Eng*, 2011, 13: 319-327.
- [15] Wang QR. Characterization of SmGGPPS Gene Family in Medicinal Plant *Salvia miltiorrhiza* Bge. (药用植物丹参 SmGGPPS 基因家族的研究) [D]. Chengdu: Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, 2019.
- [16] Bai ZQ. Study on the Transcriptional Regulation of *SmCPS1* and *SmKSL1* are Involved in Tanshinone Biosynthesis (丹参酮合成关键基因 *SmCPS1* 与 *SmKSL1* 转录调控的研究) [D]. Yangling: Northwest A&F University, 2018.
- [17] Cao XQ, Ma XH, Cheng YT, et al. Modification of C20 oxidase in tanshinone biosynthesis pathway [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2023, 48: 2298-2306.
- [18] Lv HZ. Functional Identification of AP2/ERF Transcription Factor Involved in the Regulation of Bioactive Compound Biosynthesis in *Salvia miltiorrhiza* (AP2/ERF 转录因子调控丹参活性成分生物合成的功能研究) [D]. Beijing: Peking Union Medical College, 2017.
- [19] Guo J, Ma XH, Cai Y, et al. Cytochrome P450 promiscuity leads to a bifurcating biosynthetic pathway for tanshinones [J]. *New Phytol*, 2016, 210: 525-534.
- [20] Zheng H, Jing L, Jiang XH, et al. The ERF-VII transcription factor SmERF73 coordinately regulates tanshinone biosynthesis in response to stress elicitors in *Salvia miltiorrhiza* [J]. *New Phytol*, 2021, 231: 1940-1955.
- [21] Zhu XY. Study on Regulation of Secondary Metabolism by Transcription Factor SmMYB4 in *Salvia miltiorrhiza* (丹参转录因子 SmMYB4 调控次生代谢物质合成的研究) [D]. Xi'an: Shaanxi Normal University, 2016.
- [22] Li L. Functional Study of *Salvia miltiorrhiza* Transcription Factors SmbHLH59, SmMYB97 and SmWRKY14 Mediated by JA Signaling (基于茉莉素信号介导的丹参转录因子 SmbHLH59、SmMYB97 和 SmWRKY14 的功能研究) [D]. Xi'an: Shaanxi Normal University, 2021.
- [23] Zhan ZG. Advances in biosynthesis and regulation of the active ingredient of *Salvia miltiorrhiza* based on multi-omics approach [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2020, 55: 2892-2903.
- [24] Li WR. The Function of Five SmGRAS Transcription Factors in Regulating the Biosynthesis of Tanshinones and Phenolic Acids in *Salvia miltiorrhiza* (丹参 5 个 SmGRAS 转录因子在调控丹参酮类和酚酸类物质合成中的功能) [D]. Beijing: University of Chinese Academy of Sciences, 2020.
- [25] Li YJ. Biosynthesis Regulation, Transport Mechanism and Physiological Activity of Tanshinones in *Salvia miltiorrhiza* Root (丹参根中丹参酮类成分生物合成调控、转运机制及生理活性研究) [D]. Shanghai: Naval Medical University, 2022.
- [26] Zhang JH. Function Characterization of *SmAP2/ERF82* in Regulation the Biosynthesis of Tanshinones and the Growth and Development of *Salvia miltiorrhiza* (*SmAP2/ERF82* 调控丹参酮生物合成及丹参生长发育的功能研究) [D]. Beijing: Peking Union Medical College, 2020.
- [27] Pei TL. The Function of *SmJAZ* in Regulating the Biosynthesis of Salvianolic Acids and Tanshinones in *Salvia miltiorrhiza* (*SmJAZ* 基因在调控丹参酮类和酚酸类物质合成中的功能研究) [D]. Yangling: Northwest A&F University, 2019.
- [28] Ji AJ, Luo HM, Xu ZC, et al. Genome-wide identification of the AP2/ERF gene family involved in active constituent biosynthesis in *Salvia miltiorrhiza* [J]. *Plant Genome*, 2016, 9: 77-87.
- [29] Zhang Y, Ji AJ, Xu ZC, et al. The AP2/ERF transcription factor SmERF128 positively regulates diterpenoid biosynthesis in *Salvia miltiorrhiza* [J]. *Plant Mol Biol*, 2019, 100: 83-93.
- [30] Huang Q, Sun MH, Yuan TP, et al. The AP2/ERF transcription factor SmERF1L1 regulates the biosynthesis of tanshinones and phenolic acids in *Salvia miltiorrhiza* [J]. *Food Chem*, 2019, 274: 368-375.
- [31] Huang Q. Isolation and Functional Analysis of Two ERF Transcription Factors in *Salvia miltiorrhiza* (丹参两个 ERF 类转录因子的克隆与功能分析) [D]. Shanghai: Shanghai Normal University, 2015.

- [32] Bai ZQ, Li WR, Jia YY, et al. The ethylene response factor SmERF6 co-regulates the transcription of *SmCPS1* and *SmKSL1* and is involved in tanshinone biosynthesis in *Salvia miltiorrhiza* hairy roots [J]. *Planta*, 2018, 248: 243-255.
- [33] Bai ZQ, Huang WL, Jiao J, et al. The ethylene response factor SmERF8 regulates the expression of *SmKSL1* and is involved in tanshinone biosynthesis in *Salvia miltiorrhiza* hairy roots [J]. *J Plant Physiol*, 2020, 244: 153006.
- [34] Hua WP, Li SQ, Kong WW, et al. Overexpression of *SmERF1* improves salt tolerance in *Salvia miltiorrhiza* [J]. *Genomics Appl Biol* (基因组学与应用生物学), 2021, 40: 1786-1792.
- [35] Zhang X, Luo HM, Xu ZC, et al. Genome-wide characterisation and analysis of bHLH transcription factors related to tanshinone biosynthesis in *Salvia miltiorrhiza* [J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 11244.
- [36] Wei X. Research on the Technology of Improving Tanshinone Content by Transcription Factor SmbHLH61 (利用转录因子 SmbHLH61 提高丹参酮含量的技术研究) [D]. Jinan: Shandong Agricultural University, 2023.
- [37] Zhang R. Molecular Mechanism of SmbHLH74 in Regulation of Tanshinone Biosynthesis in *Salvia miltiorrhiza* Bunge (丹参转录因子 SmbHLH74 调控丹参酮生物合成的分子机制) [D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2019.
- [38] Li MK. Molecular Cloning, Identification and Transgenic Studies of SmbHLH92 in *Salvia miltiorrhiza* (丹参 SmbHLH92 转录因子编码基因克隆、鉴定及转基因研究) [D]. Chengdu: University of Electronic Science and Technology of China, 2022.
- [39] Xing BC. Molecular Mechanism of bHLH7 Interacting with MYB39 to Regulate Phenolic Acids and Tanshinones Biosynthesis in *Salvia miltiorrhiza* (丹参转录因子 bHLH7 与 MYB39 互作调控酚酸类及丹参酮类物质代谢分子机制研究) [D]. Beijing: University of Chinese Academy of Sciences, 2019.
- [40] Li CL, Lu SF. Genome-wide characterization and comparative analysis of R2R3-MYB transcription factors shows the complexity of MYB-associated regulatory networks in *Salvia miltiorrhiza* [J]. *BMC Genomics*, 2014, 15: 277.
- [41] Zhang JX, Zhou LB, Zheng XY, et al. Overexpression of *SmMYB9b* enhances tanshinone concentration in *Salvia miltiorrhiza* hairy roots [J]. *Plant Cell Rep*, 2017, 36: 1297-1309.
- [42] Hao XL, Pu ZQ, Cao G, et al. Tanshinone and salvianolic acid biosynthesis are regulated by *SmMYB98* in *Salvia miltiorrhiza* hairy roots [J]. *J Adv Res*, 2020, 23: 1-12.
- [43] Huang C. Technical Research of Regulation of Tanshinone Synthesis Based on SmMYB1 Transcription Factor (基于 SmMYB1 转录因子调控丹参酮合成的技术研究) [D]. Jinan: Shandong Agricultural University, 2023.
- [44] Ding K, Pei TL, Bai ZQ, et al. SmMYB36, a novel R2R3-MYB transcription factor, enhances tanshinone accumulation and decreases phenolic acid content in *Salvia miltiorrhiza* hairy roots [J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 5104.
- [45] Li L, Wang DH, Zhou L, et al. JA-responsive transcription factor SmMYB97 promotes phenolic acid and tanshinone accumulation in *Salvia miltiorrhiza* [J]. *J Agric Food Chem*, 2020, 68: 14850-14862.
- [46] Zhang Y, Xu ZC, Ji AJ, et al. Genomic survey of bZIP transcription factor genes related to tanshinone biosynthesis in *Salvia miltiorrhiza* [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2018, 8: 295-305.
- [47] Deng CP, Shi M, Fu R, et al. ABA-responsive transcription factor bZIP1 is involved in modulating biosynthesis of phenolic acids and tanshinones in *Salvia miltiorrhiza* [J]. *J Exp Bot*, 2020, 71: 5948-5962.
- [48] Shi M, Zhu RY, Zhang Y, et al. A novel WRKY34-bZIP3 module regulates phenolic acid and tanshinone biosynthesis in *Salvia miltiorrhiza* [J]. *Metab Eng*, 2022, 73: 182-191.
- [49] Wang N. The Regulatory Roles of *SmHY5* in the Biosynthesis of Bioactive Compounds and Lateral Root Development in *Salvia miltiorrhiza* (*SmHY5* 对丹参有效成分生源合成及侧根发育的调控作用研究) [D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2020.
- [50] Li CL, Li DQ, Shao FJ, et al. Molecular cloning and expression analysis of WRKY transcription factor genes in *Salvia miltiorrhiza* [J]. *BMC Genomics*, 2015, 16: 200.
- [51] Cao WZ, Wang Y, Shi M, et al. Transcription factor SmWRKY1 positively promotes the biosynthesis of tanshinones in *Salvia miltiorrhiza* [J]. *Front Plant Sci*, 2018, 9: 554.
- [52] Deng CP, Hao XL, Shi M, et al. Tanshinone production could be increased by the expression of *SmWRKY2* in *Salvia miltiorrhiza* hairy roots [J]. *Plant Sci*, 2019, 284: 1-8.
- [53] Yin XC. Molecular Mechanism of SmWRKY44 Promotes Tanshinone Biosynthesis in *Salvia miltiorrhiza* Bunge (丹参转录因子 SmWRKY44 促进丹参酮生物合成的分子机制) [D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2020.
- [54] Wu KW. Molecular Mechanism of SmWRKY40 Inhibits the Biosynthesis of Tanshinone in *Salvia miltiorrhiza* (丹参转录因子 SmWRKY40 抑制丹参酮生物合成的分子机制) [D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2020.
- [55] Li LL. The Functional Study of SmWRKY54 Transcription Factor in *Salvia miltiorrhiza* (丹参 WRKY 转录因子 SmWRKY54 的功能初步研究) [D]. Shanghai: Shanghai Normal University, 2016.
- [56] Chen Y, Wang YT, Guo J, et al. Integrated transcriptomics and proteomics to reveal regulation mechanism and evolution of *SmWRKY61* on tanshinone biosynthesis in *Salvia miltiorrhiza* and *Salvia castanea* [J]. *Front Plant Sci*, 2022, 12: 820582.
- [57] Lu XY, Liang XY, Li X, et al. Genome-wide characterisation and expression profiling of the LBD family in *Salvia miltiorrhiza* reveals the function of *LBD50* in jasmonate signaling and phenolic biosynthesis [J]. *Ind Crops Prod*, 2020, 144: 112006.
- [58] Zhou L. Cloning and Functional Study of Transcription Factor SmLBD44 from *Salvia miltiorrhiza* (丹参转录因子 SmLBD44 的克隆及功能研究) [D]. Xi'an: Shaanxi Normal University, 2021.

- [59] Li WR, Bai ZQ, Pei TL, et al. *SmGRAS1* and *SmGRAS2* regulate the biosynthesis of tanshinones and phenolic acids in *Salvia miltiorrhiza* [J]. *Front Plant Sci*, 2019, 10: 1367.
- [60] Ma PD, Pei TL, Lv BB, et al. Functional pleiotropism, diversity and redundancy of *Salvia miltiorrhiza* Bunge JAZ family proteins in jasmonate-induced tanshinone and phenolic acid biosynthesis [J]. *Hortic Res*, 2022, 9: 166.
- [61] Pei TL, Ma PD, Ding K, et al. SmJAZ8 acts as a core repressor regulating JA-induced biosynthesis of salvianolic acids and tanshinones in *Salvia miltiorrhiza* hairy roots [J]. *J Exp Bot*, 2018, 69: 1663-1678.
- [62] Ma W. Identification of WD40 Gene Family and Function of *SmWD40-170* Gene in *Salvia miltiorrhiza* (丹参WD40基因家族鉴定及*SmWD40-170*基因功能研究) [D]. Xian: Shaanxi Normal University, 2019.
- [63] Wang Y. Cloning and Functional Analysis of EIL Transcription Factor Gene *EIN3* from *Salvia miltiorrhiza* (丹参EIL类转录因子*EIN3*基因的克隆与功能分析) [D]. Shanghai: Shanghai Normal University, 2018.
- [64] Gou YL, Zhang L, Guo H, et al. Research progress on the AP2/ERF transcription factor in plants [J]. *Pratac Sci (草业科学)*, 2020, 37: 1150-1159.
- [65] Sun X, Wang Y, Sui N. Transcriptional regulation of bHLH during plant response to stress [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 503: 397-401.
- [66] Zhang X, Song JY, Hu YL, et al. Research progress of the regulation on active compound biosynthesis by the bHLH transcription factors in plants [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2014, 49: 435-442.
- [67] Wang XP, Niu YL, Zheng Y. Multiple functions of MYB transcription factors in abiotic stress responses [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22: 6125.
- [68] Liu JY, Osbourn A, Ma PD. MYB transcription factors as regulators of phenylpropanoid metabolism in plants [J]. *Mol Plant*, 2015, 8: 689-708.
- [69] Cui RX, Zhang YW, Chen XQ, et al. The latest research progress on the stress responses of bZIP involved in plants [J]. *Biotechnol Bull (生物技术通报)*, 2019, 35: 143-155.
- [70] Zhang JY, Qu SC, Guo ZR, et al. Biology function of bZIP transcription factors in plants [J]. *Acta Bot Boreali-Occident Sin (西北植物学报)*, 2011, 31: 1066-1075.
- [71] Li H. Molecular Mechanism of bZIP Transcription Factors in Regulating the Biosynthesis of Bioactive Ingredients in *Salvia miltiorrhiza* (bZIP转录因子调控丹参有效成分生物合成的分子机制研究) [D]. Shanghai: Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, 2020.
- [72] Wang B, Chen MD, Lin L, et al. Signal pathways and related transcription factors of drought stress in plants [J]. *Acta Bot Boreali-Occident Sin (西北植物学报)*, 2020, 40: 1792-1806.
- [73] Si AJ, Chen H, Yu Y, et al. Application of WRKY transcription factor in plant abiotic stress resistance breeding [J]. *Jiangsu Agric Sci (江苏农业科学)*, 2019, 47: 9-13.
- [74] Yu HZ. Transcriptional Profiles of WRKY Family Genes and Their Putative Roles in the Biosynthesis of Secondary Metabolites in *Salvia miltiorrhiza* (丹参WRKY转录组分析及其在次生代谢物生物合成途径上的调控研究) [D]. Hangzhou: Zhejiang Sci-Tech University, 2016.
- [75] Lu H, Shi ZY. Research progress on the molecular function of plant-specific *LBD* gene [J]. *Plant Physiol J (植物生理学报)*, 2013, 49: 833-846.
- [76] Niu YL, Jiang XM, Xu XY, et al. Research progress of transcription factors GRAS proteins in plant [J]. *Genomics Appl Biol (基因组学与应用生物学)*, 2016, 35: 2519-2524.
- [77] Sun C, Zhou XJ, Chen RM, et al. Comprehensive overview of JAZ proteins in plants [J]. *Biotechnol Bull (生物技术通报)*, 2014, (06): 1-8.
- [78] Chen JY, Guo QY, Xu CC, et al. A new research paradigm in modernization of traditional Chinese medicine: single cell pharmacology [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2021, 56: 3300-3312.
- [79] Zhang C, Zhu Y, Yin XP. Advances in synthesis of artemisinin based on plant genetic engineering [J]. *China J Chin Mater Med (中国中药杂志)*, 2019, 44: 4285-4292.