

## 中药火麻仁基原植物大麻全基因组 YABBY 转录因子分析

孙嘉莹<sup>1</sup>, 王震<sup>1</sup>, 米要磊<sup>2</sup>, 孟祥霄<sup>2</sup>, 万会花<sup>2</sup>, 闫贇<sup>3</sup>, 孙伟<sup>2\*</sup>, 马伟<sup>1\*</sup>

(1. 黑龙江中医药大学药学院, 哈尔滨 150040;

2. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700;

3. 贵州百灵企业集团制药股份有限公司, 贵州 安顺 561000)

**[摘要]** 目的:分析大麻(*Cannabis sativa*)YABBY转录因子家族序列特征、染色体定位、基因结构、保守基序、系统进化和基因的差异表达;为深入研究YABBY基因功能提供分子基础,为工业大麻优良品种选育提供理论支撑。方法:通过生物信息学手段对火麻仁基原植物大麻YABBY基因家族进行鉴定和分析,使用PlantTFDB, ExPASy, MEME, WoLFPSORT, PLANTCARE等在线网站及TBtools, MEGA, DNAMAN等软件进行YABBY预测和分析并进行可视化作图。结果:大麻中含有6个YABBY基因成员,分布在5条染色体上,其中5个定位在细胞核,1个定位在胞外;氨基酸数目185~235个,等电点介于5.05和9.34,相对分子质量在20 582.45~26 282.7 Da;所有CsYABBY蛋白都包含有锌指结构和YABBY两个保守结构域,CsYABBY基因启动子区具有多种与胁迫相关的顺式作用元件,并且在不同部位和不同品种的表达量存在差异。结论:该基因家族的表达可能会受到激素和外界环境因素影响,大麻YABBY基因具有组织表达特异性,花中特异性高表达的基因可能对大麻雌花的发育有重要调控作用,YAB1和YAB5亚族的CsYABBY可能参与大麻素的合成过程。

**[关键词]** 生物信息学; 大麻; YABBY基因; 保守分析; 进化分析

**[中图分类号]** R284.2;R289;R22;R2-031 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2021)05-0124-08

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20202115

**[网络出版地址]** <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20200810.0928.001.html>

**[网络出版日期]** 2020-8-10 13:22

### Analysis on YABBY Transcription Factor Family of Original Plant *Cannabis sativa* of Traditional Chinese Medicine *Cannabis Fructus*

SUN Jia-ying<sup>1</sup>, WANG Zhen<sup>1</sup>, MI Yao-lei<sup>2</sup>, MENG Xiang-xiao<sup>2</sup>, WAN Hui-hua<sup>2</sup>, YAN Yun<sup>3</sup>, SUN Wei<sup>2\*</sup>,  
MA Wei<sup>1\*</sup>

(1. College of Pharmaceutical Sciences, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China; 2. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China; 3. Guizhou Bailing Group Pharmaceutical Co. Ltd., Anshun 561000, China)

**[Abstract]** **Objective:** To analyze the sequence characteristics, chromosomal location, gene structure, conserved motifs, phylogenetic evolution and differential gene expressions of the *Cannabis sativa* YABBY transcription factor family, in order to provide a molecular basis for in-depth study of YABBY gene function and theoretical support for the selection and breeding of superior hemp varieties. **Method:** The bio-informatics method was used to identify and analyze the CsYABBY gene family of the original hemp seed plant. PlantTFDB, ExPASy, MEME, CELLO, PLANTCARE and other online websites and TBtools, MEGA, DNAMAN and other

**[收稿日期]** 20200518(016)

**[基金项目]** 国家重点研发计划项目(2018YFC1706500);国家自然科学基金地区科学基金项目(U1812403-1);专家服务基层重点服务项目(20181201)

**[第一作者]** 孙嘉莹,在读硕士,从事药用植物生物工程研究,E-mail:jysun057@qq.com

**[通信作者]** \*马伟,研究员,从事药用植物生物工程研究,E-mail:88788891@qq.com;

\*孙伟,副研究员,从事药用植物技术研究,E-mail:wsun@icmm.ac.cn

software were used for prediction, visualization and analysis. **Result:** *C. sativa* contains 6 *YABBY* gene members distributed on 5 chromosomes, in which 5 members are localized in the nucleus and 1 in extracellular, they consist of 185-235 amino acids, and the isoelectric point is between 5.05 and 9.34, the molecular weight is between 20 582.45-26 282.7 Da. All of *CsYABBY* proteins contain two conserved domains, namely Zinc finger domain and *YABBY* domain. *CsYABBY* genes have multiple cis-acting elements, and their expressions differ in different tissues and cultivars. **Conclusion:** The expressions of *CsYABBY* may be affected by hormones and externally environmental factors. *CsYABBY* gene expressions are tissue-specific. In addition, *YABBY* transcription factor family may play an important role in regulating the development of *C. sativa* female flowers, and subfamilies *YAB1* and *YAB5* may be involved in the synthesis of cannabinoids.

**[Key words]** bioinformatics; *Cannabis sativa*; *YABBY* gene; conservative analysis; evolutionary analysis

*YABBY*基因是植物特有的一类转录因子家族,该家族具有两个保守结构域,N端的锌指结构域和C端的*YABBY*结构域<sup>[1]</sup>。*YABBY*转录因子在植物中与多种生物过程有关,在一定程度上可以调控植物的侧生器官远轴面细胞分化,进而影响花和叶器官的生长<sup>[2-3]</sup>。目前,已经在多种植物中发现*YABBY*家族基因,在拟南芥中有6个*YABBY*基因,*YABBY1*(*FIL*),*YABBY2*,*YABBY3*,*YABBY4*(*INO*),*YABBY5*以及*CRC*(*CRABS CLAW*)<sup>[4-5]</sup>;紫花苜蓿中鉴定出8个*YABBY*基因<sup>[6]</sup>,桃含有5个*YABBY*基因<sup>[7]</sup>,番茄、水稻、小麦和玉米中分别含有9,8,7,13个*YABBY*基因<sup>[8-11]</sup>。在拟南芥中,*YABBY1*(*FIL*)不仅参与花器官的形成和叶的发育过程<sup>[12]</sup>,还可以调控花青素<sup>[13]</sup>; *YABBY2*,*YABBY3*以及*YABBY5*在营养组织中特异性表达<sup>[2,14]</sup>; *INO*对外部珠被产生作用,*CRC*作用于蜜腺和心皮远轴发育<sup>[15-16]</sup>。留兰香的*MsYABBY5*会反向调节植物体内单萜和其他萜烯化合物<sup>[17]</sup>,黄花蒿中*AaYABBY5*对青蒿素(倍半萜内酯类)有积极调节作用<sup>[18]</sup>。据前期研究,*YABBY*基因被分为*YAB1*(*FIL*)/*YAB3*,*YAB2*,*CRC*,*INO*,*YAB5*5个亚家族<sup>[19-20]</sup>。

大麻 *Cannabis sativa* 又名火麻、线麻,是大麻科大麻属一年生草本植物<sup>[21]</sup>。火麻仁为大麻的种子,具有抗氧化、抗疲劳、护肝、改善记忆力、增强免疫力、降低血脂等作用,是我国传统的中药材<sup>[22]</sup>。大麻中含有多种药用活性成分,如萜类、黄酮类、酚萜类和生物碱等<sup>[23]</sup>,其中大麻素主要聚集在大麻雌花的腺毛中,为酚萜类化合物,主要由单萜部分和酚类化合物部分组成。前期的研究发现大麻素的生物合成途径主要来自脂肪酸途径和萜类途。其中在萜类 2-甲基-D-赤藻糖醇-4-磷酸(MEP)途径,顺式-二甲基烯丙基二磷酸(IPP)在 IPP 异构酶以及香

叶基焦磷酸(GPP)合成酶作用下形成了GPP;脂肪酸途径中己酰辅酶A(hexanoyl-CoA)和丙二酰辅酶A(malonyl-CoA)在2,4-二羟基-6-戊基苯甲酸环化酶(OAC)和橄榄醇合成酶(OLS)的作用下形成2,4-二羟基-6-戊基苯甲酸(OA)。两底物OA和GPP在大麻萜酚酸合成酶(CBGAS)的作用下合成的大麻萜酚酸(CBGA)即大麻素生物合成的主要前体,CBGA在大麻萜酚酸合成酶(cCBDAS)和四氢大麻酚酸合成酶(tTHCAS)的作用下分别形成了大麻二酚(CBD)和四氢大麻酚(THC)<sup>[24]</sup>。这2种大麻素是现代大麻的研究重点,THC为精神性化合物,是致幻作用的主要成分,可以抗炎、抗癌、镇痛、抗痉挛,但也会导致焦虑,胆碱能障碍和免疫抑制<sup>[25]</sup>,所以一直被认为是大麻中的毒品成分。CBD是非精神性化合物,不但可以消除THC对人体的消极作用,还能够抗炎、抗焦虑、抗癫痫,在治疗精神分裂、阿尔兹海默症以及类风湿性关节炎等也有一定的作用<sup>[26-29]</sup>。

由于大麻具有特殊的经济性状属性(纤维、种子)和代谢成分属性(非致幻性成分CBD等和致幻性成分THC等),针对大麻不同性状的育种工作,行业、政府及学者都提出针对大麻的划分标准。例如《中华人民共和国农业行业标准》中明确了工业大麻的定义即植株群体花期顶部叶片及花穗干物质中的THC质量分数<0.3%,是不能直接作为毒品利用的大麻作物品种类型。《黑龙江省工业用大麻品种》认定标准中,针对工业大麻进一步按照育种方向提出了纤维用大麻、籽用大麻、籽纤兼用大麻及药用大麻品种认定标准。其中药用大麻指的是CBD≥0.5%的品种。李秋实等<sup>[30]</sup>明确了大麻种质资源管理三级分类体系,分别为医用大麻(THC>0.3%),药用大麻(THC<0.3%,CBD含量高)和工业

大麻(THC<0.3%,CBD含量低),其中医用大麻属于麻醉品和精神药品管制对象之一。我国现行法律框架下THC质量分数>0.3%的大麻品种严禁种植和使用。大麻生长迅速,种植简单<sup>[31]</sup>,近年来,相关产业发展迅速。同时,大麻具有多种药用价值以及潜在医疗价值<sup>[25-29]</sup>,低THC高CBD含量的工业大麻(药用大麻)是当前研究的重点。

利用生物信息学技术在全基因组层面鉴定植物基因家族能够为挖掘重要生物学功能相关基因提供有效手段<sup>[32]</sup>。YABBY转录因子对植物生长发育有重要的调控作用,首次对大麻YABBY基因家族全序列进行研究,共鉴定了6个YABBY基因,分析其染色体定位、系统发育和基因结构,并利用转录组数据绘制了大麻YABBY基因的表达谱,分析该家族的表达模式。YABBY基因在拟南芥<sup>[13]</sup>、留兰香<sup>[17]</sup>和黄花蒿<sup>[18]</sup>中分别参与了酚类化合物和萜类化合物的合成过程,而酚类和萜类化合物又是大麻素生物合成的重要前体<sup>[24]</sup>,因此和FIL, MsYABBY5, AaYABBY5同源的CsYABBY基因可能对大麻素的生物合成过程起重要的调控作用。探索大麻的YABBY基因家族信息有助培育高产籽用工业大麻和高CBD品种的工业大麻,对大麻YABBY基因的生物信息学分析可以为深入研究该家族功能提供分子基础,为工业大麻优良品种选育提供理论支撑。

## 1 材料

该研究采用的大麻为CRBRx品种的雌株,基因组数据来自NCBI(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)数据库<sup>[33]</sup>,拟南芥YABBY基因的数据来自PlantTFDB(<http://plantfdb.cbi.pku.edu.cn/>)数据库,留兰香YABBY5(KT372781)和黄花蒿YABBY5(MK675289)蛋白序列信息来自NCBI(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)数据库。转录组数据分为两部分,9个不同品种的雌性花序RNA-seq数据(PRJNA498707)<sup>[34]</sup>,同一品种ZYS雌性植株的茎、叶和花的RNA-seq数据是由课题组通过测序获得。

## 2 方法

**2.1 YABBY基因的鉴定和分析** 用TBtools软件<sup>[35]</sup>提取大麻全部数据的蛋白序列,将蛋白序列文件在PlantTFDB网站进行转录因子预测,对获得的目的家族基因成员进行筛选去除可变剪切导致的重复转录本,下载经筛选去重得到的YABBY基因家族成员ID,利用TBtools软件获取大麻YABBY的蛋白序列。ExPASy网站(<https://web.expasy.org/protparam/>)在线预测大麻YABBY蛋白序列的大

小、相对分子质量、理论等电点及亲水平均系数等。使用TBtools软件进行染色体分布可视化,利用WoLFPSORT网站(<http://www.genscript.com/wolfpsort.html>)分析YABBY亚细胞定位情况。

**2.2 YABBY蛋白多重序列对比和系统进化分析** 使用DNAMAN软件对大麻YABBY蛋白进行保守结构域的比对分析。在PlantTFDB数据库获取拟南芥的YABBY蛋白数据,将其与大麻YABBY蛋白文件合并,使用MUSCLE程序进行多序列比对,利用MEGA-X软件采用邻接法(neighbor joining, NJ),Bootstrap值设置为1 000次重复,构建系统进化树。

**2.3 大麻YABBY基因结构和基序分析** 使用TBtools软件分析基因结构,利用在线软件MEME(<http://meme-suite.org/tools/meme>)预测保守基序(Motif),最大基序数目设置为10,其他设置默认参数,把基因结构和基序结合大麻YABBY转录因子的进化树用TBtools进行可视化处理。

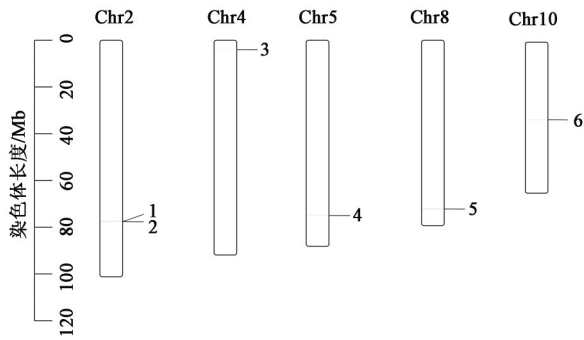
**2.4 大麻YABBY基因顺式作用元件预测** 用TBtools软件提取大麻YABBY基因上游2 000 bp序列,作为启动子区域的顺式元件序列,把序列提交至PLANTCARE(<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>)进行顺式作用元件预测,将结果文件进行筛选归类可视化。

**2.5 大麻YABBY基因表达分析** 利用数据库获得的9个不同品种花<sup>[31]</sup>和课题组自测的ZYS品种茎、叶和花转录组数据,9个不同品种分别为Mama Thai(MT), White Cookies(WC), Canna Tsu(CT), Black Lime(BL), Terple(T), Cherry Chem(CC), Black Berry Kush(BB), Sour Diesel(SD)和Valley Fire(VF),使用TBtools软件绘制热图,进行聚类 and 差异表达分析。

## 3 结果

**3.1 大麻YABBY基因家族信息以及理化性质** 通过BLAST和结构域确认,鉴定出6个大麻YABBY基因家族成员。根据YABBY基因染色体定位依次将这6个成员进行为CsYABBY1-CsYABBY6,在大麻YABBY家族中,每个YABBY基因都能找到匹配的染色体信息,整体分布情况比较均匀,共分布在5条染色体上,分别是染色体2, 4, 5, 8和10号,见图1。CsYABBY1和CsYABBY2集中在2号染色体上, CsYABBY3, CsYABBY4, CsYABBY5, CsYABBY6分别分布在4, 5, 8, 10号染色体上。

由大麻YABBY基因家族的基本信息发现,氨基



Chr2. NC\_044371.1; Chr4. NC\_044373.1; Chr5. NC\_044374.1; Chr8. NC\_044377.1; Chr10. NC\_044379.1; 1. *CsYABBY1*; 2. *CsYABBY2*; 3. *CsYABBY3*; 4. *CsYABBY4*; 5. *CsYABBY5*; 6. *CsYABBY6*

图1 大麻 *YABBY* 基因的染色体定位

Fig. 1 Chromosome locations of *CsYABBY* genes

酸数目最小为 185 aa, 最大为 235 aa, 见表 1。亚细胞定位结果显示, 除 *CsYABBY5* 定位在胞外和细胞核, 其余成员均定位在细胞核。等电点的范围 5.05~9.34, 相对分子质量 20 582.45~26 282.7 Da, 并且蛋白质疏水性 GRAVY 值均为是负数, 说明所有的大麻 *YABBY* 蛋白都是亲水蛋白, 但亲水程度不同。以上分析结果可以为研究大麻 *YABBY* 基因家族的功能等研究提供理论基础。

### 3.2 大麻 *YABBY* 蛋白多重序列对比和基因进化关

表 1 大麻 *YABBY* 基因家族信息和特征

Table 1 Information and characteristics of *CsYABBY* genes

基因名称	基因号	转录本登录号	染色体/个	位置	氨基酸数目/aa	亚细胞定位	pI	MW/Da	GRAVY
<i>CsYABBY1</i>	LOC115704942	rna-XM_030632159.1	2	77645177-77648477	229	细胞核	8.28	25 571.14	-0.463
<i>CsYABBY2</i>	LOC115704995	rna-XM_030632219.1	2	77300423-77303760	229	细胞核	8.28	25 566.13	-0.472
<i>CsYABBY3</i>	LOC115712472	rna-XM_030640748.1	4	3976036-3977940	227	细胞核	5.05	25 592.81	-0.483
<i>CsYABBY4</i>	LOC115715807	rna-XM_030644478.1	5	74950773-74953506	235	细胞核	7.78	26 282.70	-0.419
<i>CsYABBY5</i>	LOC115724567	rna-XM_030653871.1	8	72212734-72217384	202	胞外, 细胞核	8.82	22 781.72	-0.485
<i>CsYABBY6</i>	LOC115699020	rna-XM_030626229.1	10	33163087-33165704	185	细胞核	9.34	20 582.45	-0.535

注: pI. 等电点; MW. 相对分子质量。

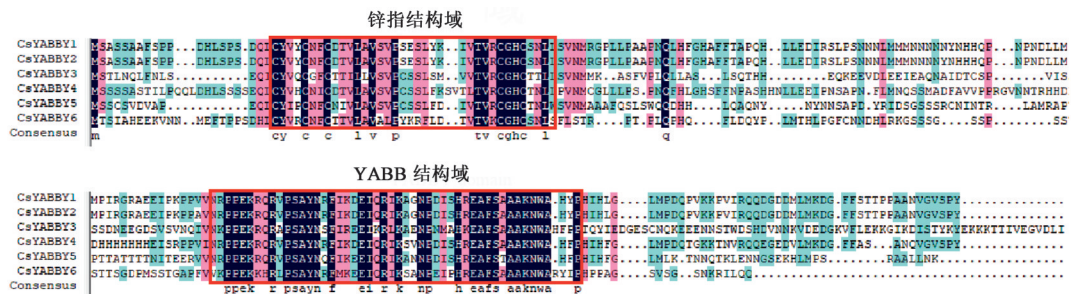


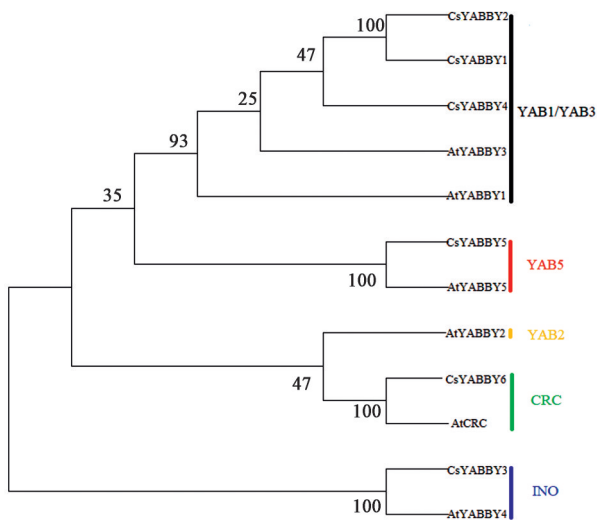
图2 大麻 *YABBY* 蛋白氨基酸序列对比

Fig. 2 Amino acid sequence alignment of *CsYABBY*

系 为了解大麻 *YABBY* 蛋白序列的特征, 使用 DNAMAN 软件对大麻 *YABBY* 蛋白的氨基酸进行序列比对, 大麻 *YABBY* 蛋白都具有 2 个高度保守的结构域, 即位于 N 端的锌指结构域和位于 C 端的 *YABBY* 结构域, 保守氨基酸有半胱氨酸、脯氨酸、丙氨酸等。见图 2。

为了研究大麻中 *YABBY* 转录因子的系统进化关系, 基于拟南芥和大麻共 12 个 *YABBY* 蛋白, 利用 MEGA 软件以 NJ 法构建系统进化树, 见图 3。由图 4 发现, *YABBY* 家族可分成 5 个亚家族, 分别为 *YAB1/YAB3*, *YAB5*, *YAB2*, *CRC* 和 *INO*, 其中 *YAB1/YAB3* 亚族包含 3 个大麻 *YABBY* 成员, *CsYABBY2*, *CsYABBY1* 以及 *CsYABBY4*, *CsYABBY1* 和 *CsYABBY2* 为平行同源基因对; *YAB5*, *CRC* 和 *INO* 亚族分别只包含 1 个大麻 *YABBY* 成员, 在 *YAB2* 中未发现大麻 *YABBY* 成员。

3.3 大麻 *YABBY* 保守基序和基因结构 使用 MEME 网站对大麻 *YABBY* 蛋白进行保守基序搜索, 发现 *CsYABBY* 保守基序个数为 3~9 个, 其中 Motif 1, Motif 2 和 Motif 4 在所有成员中都存在, Motif 3 和 Motif 6 只存在于 *YAB1/YAB3* 亚家族成员 (*CsYABBY1*, *CsYABBY2* 和 *CsYABBY4*) 中,



At. 拟南芥;Cs. 大麻

图3 拟南芥和大麻 YABBY 转录因子系统进化树

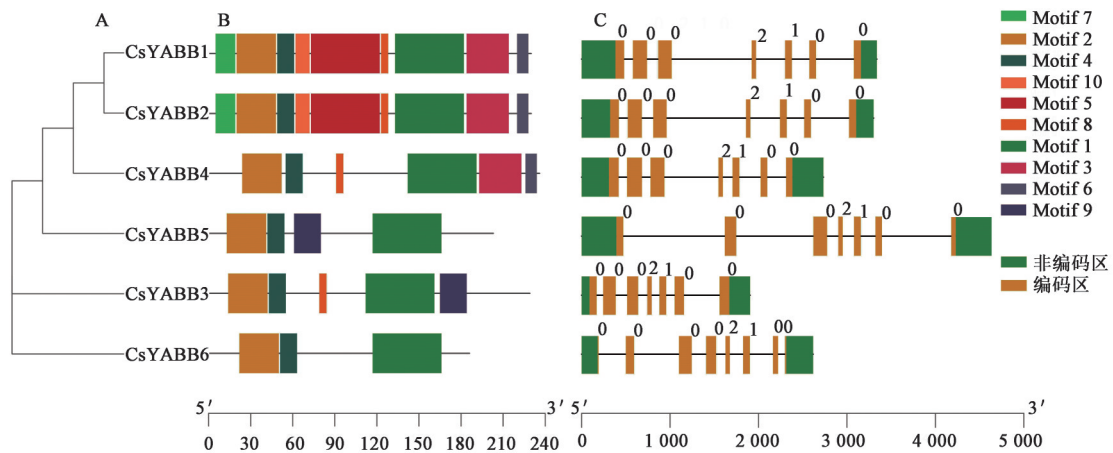
Fig. 3 Phylogenetic tree of YABBY transcription factors in *Arabidopsis thaliana* and *C. sativa*

Motif 5, Motif 7 和 Motif 10 仅存在于 CsYABBY1 和 CsYABBY2 中, CsYABBY5 和 CsYABBY6 不含

Motif 8, 而 Motif 9 只存在于 CsYABBY3 和 CsYABBY5 中。另外, CsYABBY1 和 CsYABBY2 基序类型相同且排列顺序一致。

使用 TBtools 软件对大麻 YABBY 基因结构进行可视化现, 大麻 YABBY 基因结构比较保守, 内含子的数量为 6~7 个, 其中只有 CsYABBY6 含有 7 个内含子比较特殊, 其余成员均含 6 个内含子, 而且 CsYABBY1, CsYABBY2 以及 CsYABBY5 的单个内含子长度较大。见图 4。

3.4 大麻 YABBY 基因顺式元件预测 顺式作用元件和反式作用因子相互作用可以调控基因表达, 对启动子及其上游的顺式作用元件进行分析, 可以对基因功能做相应的预测。在大麻 YABBY 基因家族中, 每个基因启动子区都含有 6~7 种顺式元件, 光响应元件的数量最多, 其次是一些激素类(赤霉素、脱落酸、水杨酸、生长素、茉莉酸甲酯)顺式元件。CsYABBY1 和 CsYABBY2 含有的顺式元件类型高度相似, 另外 CsYABBY4 特异性含有胚乳表达相关元件, CsYABBY6 特异性含有干旱诱导元件。见表 2。



A. 进化树; B. CsYABBY 蛋白保守基序; C. CsYABBY 基因结构; intron. 内含子

图4 CsYABBY 蛋白基序与基因结构

Fig. 4 Conserved motifs of CsYABBY proteins and gene structures of CsYABBY genes

3.5 大麻 YABBY 基因表达分析 为了研究大麻 YABBY 基因的表达模式, 利用数据库以及课题组自测的两组转录组数据使用 TBtools 软件进行热图的绘制, 通过热图聚类发现, YABBY 基因在品种 ZYS 的茎中几乎不表达, 见表 3; 除 CsYABBY5, 其他基因在花中表达量显著高于在叶片中的表达量, 处在 YAB1/YAB3 亚家族的 CsYABBY4 在花中表达量最高, FPKM 值为 67.76, CsYABBY6 在花中特异性表达, 叶中 YABBY 基因普遍表达量较低, 仅 CsYABBY5 表达量显著高于其他基因, FPKM 值为 44.77, 见表 4。在 9 个不同品种花中, CsYABBY3 几乎不表达, 其

他基因均有不同程度表达。CsYABBY4 表达量较高尤其是在 MT, CC, BB 和 SD 品种中, 此外, 在 WC 品种中, 各基因的表达量明显较低。

#### 4 讨论

YABBY 基因成员在不同物种间的数量均较少, 是一类小基因家族。根据大麻和拟南芥的系统进化关系推测 YABBY 转录因子在大麻中行使与在拟南芥中相似的功能。在大麻 YABBY 基因家族中, 6 个内含子为主要结构形式, CsYABBY 基因家族在基因结构和蛋白保守基序都具有一定的保守性。

表2 大麻 YABBY 基因启动子区顺式作用分布

Table 2 cis-Acting elements within promoters of CsYABBYs

个

元件	CsYABBY1	CsYABBY2	CsYABBY3	CsYABBY4	CsYABBY5	CsYABBY6
光响应元件	7	8	10	15	19	13
防御和胁迫响应元件	1	1	3		1	1
赤霉素响应元件	2	1			3	1
脱落酸响应元件		1		2	1	1
水杨酸响应元件			1	1	1	1
厌氧诱导元件			4	2	2	1
玉米醇溶蛋白代谢调控	2	2	1			
生长素诱导响应元件	3	3				
茉莉酸甲酯诱导响应元件	4	2				
昼夜节律调控			1			
胚乳表达				1		
干旱诱导元件						1

表3 大麻 YABBY 基因在品种 ZYS 中茎、叶和花中的表达

Table 3 Expression of CsYABBY in stem, leaf and flower of cultivar ZYS

基因	花	叶	茎
CsYABBY1	6.85	1.74	0
CsYABBY2	7.69	2.07	0
CsYABBY3	0.37	0	0.1
CsYABBY4	67.76	12.33	0.3
CsYABBY5	27.24	44.77	0.22
CsYABBY6	11.94	0.05	0

表4 大麻在不同品种雌花中的表达

Table 4 Expression of C. sativa in female flowers of different cultivars

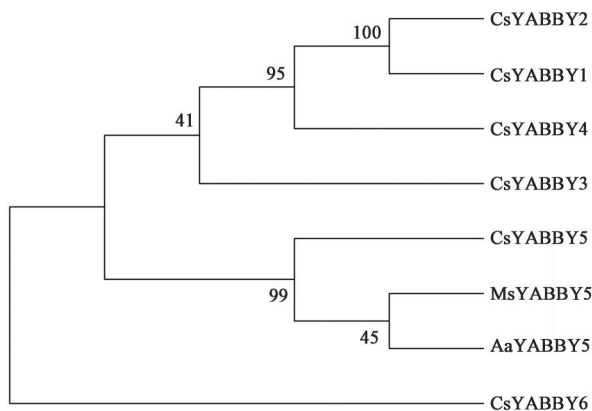
基因	SD	CT	BL	VF	CC	T	BB	WC	MT
CsYABBY1	2.28	0.52	1.34	2.76	4	1.24	3.13	0.1	1.95
CsYABBY2	2.44	1.85	1.51	1.98	1.97	0.50	3.8	0.54	9.23
CsYABBY3	0	0	0	0	0.06	0.07	0	0	0
CsYABBY4	11.78	2.5	3.94	5.17	16.1	3.72	18.82	0.53	16.13
CsYABBY5	7.87	1.68	3.42	4.81	3.87	2.71	3.65	0.33	9.24
CsYABBY6	4.09	1.61	1.42	4.44	6.38	2.05	6.57	0	19.26

在大麻 YABBY 基因启动子区发现多种顺式作用元件,其中光响应元件和激素诱导类元件数量较多,表明该基因广泛地参与了大麻植物生长发育的过程,并且表达可能会受到外界环境及激素影响。在拟南芥中, FIL 的 N 端结构域和 JAZ 蛋白(茉莉酸途径的抑制因子,是调节茉莉酸激素应答的关键因子)相互作用,参与花青素的积累<sup>[13]</sup>,大麻 CsYABBY1 和 CsYABBY2 和 FIL 处在同一亚族,二者

都含有茉莉酸甲酯响应元件,推测在大麻中可能受到茉莉酸信号介导调节花青素的合成。根据表达谱推测高表达和特异性表达的 YABBY 基因对大麻花和叶器官的生长发育发挥一定的作用,在 9 个不同品种以及 ZYS 品种的雌花中, CsYABBY4 表达量显著高于其他基因,可能对大麻雌花的发育起重要调控作用。

植物的次生代谢在植物生长发育,适应外界环境变化、生物间相互作用以及胁迫反应中具有非常重要的作用<sup>[36]</sup>,次生代谢产物既是植物在进化过程中适应环境的结果又是大多数药用植物中的有效成分<sup>[37]</sup>,腺毛和腺体是植物次生代谢产物的重要器官,可以合成、分泌和储藏次生代谢产物<sup>[36]</sup>。转录因子可以调控植物的次生代谢,根据研究, YABBY 转录因子具有双功能,可以充当次生代谢产物的激活剂和阻遏物<sup>[38]</sup>。在大麻中,大麻素主要聚集在大麻雌花的腺毛<sup>[24]</sup>,大麻素的生物合成涉及萜类和酚类化合物,萜类化合物是植物次生代谢产物中非常丰富的一类多功能化合物<sup>[36]</sup>,酚类化合物也是极具其具有代表性的一类次生代谢产物,有独特的生理功能<sup>[39]</sup>。花青素属于酚类化合物中最普遍的类黄酮物质<sup>[39]</sup>,在拟南芥中, FIL 可以正向调节花青素,尤其是由 JAZ 蛋白诱导的花青素在组织中的积累依赖于 YABBY 基因的活性<sup>[13]</sup>。在留兰香中, MsYABBY5 会反向调节植物体内单萜和其他萜烯化合物<sup>[17]</sup>,黄花蒿的 AaYABBY5 对青蒿素(倍半萜内酯类)有积极调节作用<sup>[18]</sup>。CsYABBY5, AaYABBY5 和 MsYABBY5 处在同一亚族中,推测

CsYABBY5可能参与大麻中萜类化合物的生物合成过程,但具体机制还有待研究,见图5。CsYABBY1, CsYABBY2, CsYABBY4与FIL处在同一亚族,推测在植物体内酚类化合物合成时具有相似的正向调节功能,以上基因的功能及作用机制还有待验证。



Ms. 留兰香, Aa. 黄花蒿, Cs. 大麻

图5 留兰香 YABBY5, 黄花蒿 YABBY5 与 大麻 YABBY 转录因子系统进化树

Fig. 5 Unrooted neighbor-joining phylogenetic tree of MsYABBY5, AaYABBY5 and CsYABBYs

通过生物信息学手段对大麻 YABBY 转录因子进行全基因组鉴定分析,预测 YABBY 转录因子在大麻素生物合成中的作用,有助于深入研究 YABBY 基因功能,为工业大麻优良品种选育提供一定理论基础。

#### [参考文献]

[1] KANAYA E, NAKAJIMA N, OKADA K. Non-sequence-specific DNA binding by the filamentous flower protein from *Arabidopsis thaliana* is reduced by EDTA[J]. J Biol Chem, 2002, 277(14):11957-11964.

[2] ECKARDT N A. YABBY genes and the development and origin of seed plant leaves[J]. Plant Cell, 2010, 22(7):2103.

[3] YAMADA T, YOKOTA S, HIRAYAMA Y, et al. Ancestral expression patterns and evolutionary diversification of YABBY genes in angiosperms [J]. Plant J, 2011, 67(1):26-36.

[4] SIEGFRIED K R, ESHED Y, BAUM S F, et al. Members of the YABBY gene family specify abaxial cell fate in *Arabidopsis* [J]. Development, 1999, 126(18):4117-4128.

[5] BALASUBRAMANIAN S, SCHNEITZ K. Nozzle links proximal-distal and adaxial-abaxial pattern

formation during ovule development in *Arabidopsis thaliana* [J]. Development, 2002, 129(18):4291-4300.

[6] 尹航,袁玉莹,宋婷婷,等. 紫花苜蓿 (*Medicago sativa*) YABBY 基因家族的生物信息学分析及其对逆境胁迫的响应 [J]. 分子植物育种, 2020, 18(2):416-424.

[7] 韩继红,刘金凤,刘慧敏. 桃 YABBY 转录因子家族的生物信息学分析 [J]. 山东农业大学学报:自然科学版, 2020, 51(6):992-997.

[8] 陈秀玲,刘思源,孙婷,等. 番茄 YABBY 基因家族的生物信息学分析 [J]. 东北农业大学学报, 2017, 48(10):11-19.

[9] 董皓,李懿星,王天抗,等. 水稻 YABBY 家族的全基因组鉴定与表达分析 [J]. 分子植物育种, 2020, 18(5):4845-4854.

[10] 葛川,杨荣,李刘军,等. 小麦全基因组中 YABBY 基因家族的筛选与特征分析 [J]. 中国农业科技导报, 2019, 21(8):11-18.

[11] 曹宇,郎志宏,王磊. 玉米 YABBY 转录因子家族的特征及表达分析 [J]. 中国农业科技导报, 2015, 17(1):32-41.

[12] STAHL M I, KUEHICH J, STARON L, et al. YABBYs and the transcriptional corepressors leunig and leunig\_homolog maintain leaf polarity and meristem activity in *Arabidopsis* [J]. Plant Cell, 2009, 21(10):3105-3118.

[13] BOTER M, GOLZ J F, GIMÉNEZIBAÑEZ S, et al. Filamentous flower is a direct target of JAZ3 and modulates responses to jasmonate [J]. Plant Cell, 2015, 27(11):3160-3174.

[14] SAROJAM R, SAPPL P G, GOLDSCHMIDT A, et al. Differentiating *Arabidopsis* shoots from leaves by combined YABBY activities [J]. Plant Cell Online, 2010, 22(7):2113-2130.

[15] BOWMAN J L, SMYTH D R. CRABS CLAW, a gene that regulates carpel and nectary development in *Arabidopsis*, encodes a novel protein with zinc finger and helix-loop-helix domains [J]. Development, 1999, 126(11):2387-2396.

[16] ZHANG X L, YANG Z P, ZHANG J, et al. Ectopic expression of BraYAB1-702, a member of YABBY gene family in *Chinese cabbage*, causes leaf curling, inhibition of development of shoot apical meristem and flowering stage delaying in *Arabidopsis thaliana* [J]. Int J Mol Sci, 2013, 14(7):14872-14891.

[17] WANG Q, AMARR R V, DEEPA P, et al. Metabolic engineering of terpene biosynthesis in plants using a trichome-specific transcription factor MsYABBY5

- from spearmint (*Mentha spicata*) [J]. *Plant Biotechnol J*, 2016, 14(7):1619-1632.
- [18] KAYANI S I, SHEN Q, MA Y Y, et al. The YABBY family transcription factor AaYABBY5 directly targets cytochrome P450 monooxygenase (CYP71AV1) and double-bond reductase 2 (DBR2) involved in artemisinin biosynthesis in *Artemisia Annua* [J]. *Plant Sci*, 2019, doi: 10. 3389/fpls. 2019. 01084.
- [19] BOWMAN J L. The YABBY gene family and abaxial cell fate [J]. *Curr Opin Plant Biol*, 2000, 3(1):17-22.
- [20] TOSHIHIRO YAMADA, HIROSHI TOBE, RYOKO IMAICHI, et al. Developmental morphology of the ovules of *Amborella trichopoda* (Amborellaceae) and *Chloranthus serratus* (Chloranthaceae) [J]. *Bot J Linn Soc*, 2001, 137(3):277-290.
- [21] 颜红宇. 中国大麻育种历史进程、现状与未来发展方向 [J]. *现代园艺*, 2014(15):45-46.
- [22] 张乔会, 殷红清, 问小龙, 等. 大麻仁研究概述 [J]. *湖北农业科学*, 2019, 58(21):10-14.
- [23] JOSEFINA F S I, CHOI Y H, ROBERT V. Metabolite Analysis of *Cannabis sativa* L. by NMR Spectroscopy [J]. *Methods Mol Biol*, 2012, 815(2):363-375.
- [24] DEGENHARDT F, STEHLE O. *The Biosynthesis of Cannabinoids. Handbook of Cannabis and Related Pathologies* [M]. San Diego: Academic Press, 2017: 13-23.
- [25] 王双, 宋艳秋. 橘黄裸伞子实体中的多异戊二烯多醇类化合物分离鉴定 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2019, 25(20):121-124.
- [26] 宁康, 董林林, 李孟芝, 等. 非精神活性药用大麻的应用及开发 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2020, 26(8): 228-240.
- [27] 曹焜, 王晓楠, 孙宇峰, 等. 中国工业大麻品种选育研究进展 [J]. *中国麻业科学*, 2019, 41(4):187-192.
- [28] 成亮, 吕峰, 孔德云, 等. 大麻二酚抗类风湿关节炎作用研究 [J]. *世界临床药物*, 2013, 34(9):527-530.
- [29] SUMNER B. Cannabidiol (CBD) and its analogs: a review of their effects on inflammation [J]. *Bioorg Med Chem*, 2015, 23(7):1377-1385.
- [30] 李秋实, 孟莹, 陈士林. 药用大麻种质资源分类与研究策略 [J]. *中国中药杂志*, 2019, 44(20):4309-4316.
- [31] 孙福来, 王绪芬, 张秀慧. 高效环保型经济作物工业大麻及栽培技术 [J]. *中国种业*, 2004(10):49-50.
- [32] 张珍珠, 陈秀玲, 王沛文, 等. 番茄 *bZIP* 基因家族的系统进化分析 [J]. *东北农业大学学报*, 2014, 45(9): 47-55.
- [33] GRASSA C J, WENGER J, DABNEY C, et al. A complete *Cannabis* chromosome assembly and adaptive admixture for elevated cannabidiol (CBD) content [J]. *BioRxiv*, 2018, doi:org/10. 1101/458083.
- [34] ZAGER J J, LANGE I, SRIVIDYA N, et al. Gene networks underlying cannabinoid and terpenoid accumulation in *Cannabis* [J]. *Plant Physiol*, 2019, 180(4):1877-1897.
- [35] CHEN C J, XIA R, CHEN H, et al. TBtools, a Toolkit for Biologists integrating various HTS-data handling tools with a user-friendly interface. [J]. *BioRxiv*, 2018, doi:org/10. 1101/289660.
- [36] 陈晓亚, 王凌健, 毛颖波, 等. 植物萜类生物合成与抗虫反应 [J]. *生命科学*, 2015, 27(7):813-818.
- [37] 王升, 蒋待泉, 康传志, 等. 药用植物次生代谢在中药材生态种植中的作用及利用 [J]. *中国中药杂志*, 2020, doi: org/10. 19540/j. cnki. cjcm. 20200304. 102.
- [38] BONACCORSO O, LEE J E, PUAH L, et al. *Filamentous flower* controls lateral organ development by acting as both an activator and a repressor [J]. *BMC Plant Biol*, 2012, doi:org/10. 1186/1471-2229-12-176.
- [39] 华晓雨, 陶爽, 孙盛楠, 等. 植物次生代谢产物-酚类化合物的研究进展 [J]. *生物技术通报*, 2017, 33(12):22-29.

[责任编辑 顾雪竹]