

三七 *SBP* 转录因子基因家族鉴定与生物信息学分析

潘建英¹，张诗焉¹，郭宜欣¹，唐诗成¹，邓伟^{2*}，张子龙^{1*}

(1. 北京中医药大学, 北京 102488; 2. 重庆大学, 重庆 401331)

摘要: 目的 鉴定三七 *SBP* (*PnSBP*) 家族, 并分析其蛋白序列特征、功能特性及表达模式。方法 采用生物信息学方法, 从三七基因组文件中鉴定出具有完整开放阅读框的 *PnSBP* 基因, 对其蛋白理化性质、亚细胞定位、保守基序 (motif)、启动子顺式元件、蛋白互作网络、表达模式进行分析。结果 共鉴定出 33 个 *PnSBP* 基因, 均具有 SBP-box 结构域, 系统进化树将拟南芥、水稻、三七的 *SBP* 基因共分为 8 个亚家族, *PnSBP* 启动子有许多激素响应元件及 MYB 转录因子结合位点, 表达分析发现摘蕾会引起 6 个 *PnSBP* 基因在芦头与主根中的表达升高, 推测 *PnSBP* 家族可能参与调控三七皂苷的生物合成。结论 本研究对 *PnSBP* 转录因子家族进行全基因组鉴定, 初步筛选了在摘蕾后在主根与芦头表达升高的, 转录调控皂苷生物合成过程的 *PnSBP* 基因。

关键词: 三七; *SBP* 转录因子; 基因家族鉴定; 生物信息学; 保守结构域

中图分类号: R282

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2023)06-2073-07

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2023.06.057

转录因子通常指由核基因编码的一类蛋白质, 其可与目的基因启动子部位的元件产生特异性结合, 进而调节目的基因表达^[1]。转录因子在生物的生长发育、激素信号转导、次生代谢产物合成和逆境胁迫应答中发挥着调控作用。鳞状芽孢子启动子结合蛋白 (SQUAMOSA promoter binding protein, *SBP*) 基因家族首次发现于金鱼草^[2], 又称为 *SPL* 转录因子, 属于植物特有的转录因子, 能特异识别 SQUAMOSA (SQ-UA) 启动子。该基因家族通常含有 76 个氨基酸残基的高度保守 DNA 结构域, 包含 3 个特征性结构、2 个锌指结构、1 个核定位信号结构^[3]。

在金鱼草中, *SBP* 蛋白在花发育早期调节 *MADS-box* 基因的功能^[4]。近年来, *SBP* 基因家族在各种物种中被广泛鉴定和报道, 如拟南芥^[5]、水稻^[6]、小麦^[7]、黄瓜^[8]、杜仲^[9]、人参^[3]等。*SBP* 基因家族在植物生长发育、逆境胁迫信号转导中发挥着重要作用, 在拟南芥中 *AtSPL10*、*AtSPL11*、*AtSPL12* 控制侧向器官发育^[10], *AtSPL8* 影响花药和胚珠内的微孢子发生和巨孢子发生, 并影响拟南芥中赤霉素介导的发育过程^[10-11]。在水稻中, *OsSPL12* 与 *OsGW5* 协同决定水稻种子粒形^[12], *OsmiR156* 调节的 *OsSPL3* 和 *OsSPL12* 通过 *OsmiR156*-*OsSPL3*/*OsSPL12* 模块下游转录因子 *OsMADS50* 的活性来抑制水稻冠根系发育^[13]。杜仲中 *EuSBP-box08* 和 *EuSBP-box09* 基因参与了低温及干旱等非生物胁迫时的响应^[9]。

三七 *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen 为五加科人属多年生植物, 具有化瘀止血、活血定痛的功效, 是复方丹参滴丸、复方血栓通、云南白药等的主要成分。三

七的药用成分为达玛烷型四环三萜型皂苷, 包括人参皂苷 Rg1、Re、Rb1、Rd, 三七皂苷 R1 等七十余种单体皂苷^[14]。本研究基于已有的三七全基因组数据及课题组摘蕾与留籽三七的转录组学数据, 采用生物信息学鉴定三七 *PnSBP* 基因家族成员, 并进行基本理化性质、保守结构域、保守基序、启动子顺式作用元件、蛋白互作网络分析, 系统进化树构建, 及表达谱分析, 以期为深入研究 *PnSBP* 基因家族在三七的生长发育、激素信号转导、代谢产物生产方面的作用机制提供基础。

1 方法

1.1 三七 *SBP* 基因序列的获得与鉴定 本研究基于课题组转录组测序数据 (NCBI 登录号 PRJNA758433) 及三七全基因组数据^[15] (NCBI 登录号 PRJNA658419), 以人参 *SBP* CDs 为查询序列, 通过本地 blast 进行同源搜索, 在 Pfam 网站 (<http://pfam.xfam.org/>) 下载 *SBP* 结构域的隐马可夫模型 (PF03110), 通过 hmmsearch 软件筛选出具有 SBP-box 结构域的基因, 并且通过 NCBI-CDD (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/bwrpsb/bwrpsb.cgi>)、SMART (<http://smart.embl.de/>) 网站对得到的序列进行鉴定。

1.2 三七 *SBP* 蛋白序列理化性质分析及亚细胞定位预测 三七 *SBP* 蛋白理化性质基本参数通过 ExPasy 网站 (<https://www.expasy.org/resources/protparam>) 进行在线计算, 亚细胞定位由 WoLF PSORT (<https://wolfsort.hgc.jp/>) 进行预测。

1.3 三七 *SBP* 蛋白保守结构域及系统发育分析 将三七 *SBP* 蛋白序列通过 Clustal X 进行多序列比对分析, 结果通

收稿日期: 2022-12-05

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82274090)

作者简介: 潘建英 (1997—), 女, 硕士, 从事中药资源开发与分子生物学研究。E-mail: xiyanpjy@163.com

* 通信作者: 邓伟 (1977—), 男, 博士, 教授, 从事植物基因工程研究。E-mail: dengwei1977@cqu.edu.cn

张子龙 (1976—), 男, 博士, 副研究员, 从事中药材质量调控研究。E-mail: zhangzilong76@163.com

过 Jalview 软件进行可视化。从 TAIR 数据库 (<https://www.arabidopsis.org/>) 与 RAP 数据库 (<https://rapdb.dna.affrc.go.jp/>) 下载得到拟南芥与水稻的 SBP 家族蛋白序列, 通过 MEGA 7.0 软件中 MUSCLE 进行多序列比对, 将比对结果通过 Neighbor-Joining 法 (Bootstrap method 设置为 1 000, p-distance 模型) 构建系统进化树, 通过在线工具 iTOL (<https://itol.embl.de/>) 对进化树进行美化。

1.4 三七 SBP 基因家族保守基序及保守位点分析 采用 MEME 软件 (<https://meme-suite.org/meme/tools/meme/>) 分析三七 SBP 基因家族的保守基序, 将 Motif 数目设置为 10, 其余参数为默认, 将此结果与 NCBI-CDD 网站的分析结果一同通过 TBtools 进行可视化。

1.5 三七 SBP 基因家族启动子区顺式作用元件分析 采用 TBtools 从三七基因组文件中提取 SBP 基因正向 1 500 bp 片段作为三七 SBP 基因的启动子序列, 提交至 PlantCARE (<https://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>) 预测顺式作用元件, 并用 TBtools 对其结果进行可视化。

1.6 三七 SBP 基因家族蛋白互作网络预测 将三七 SBP 蛋白采用 String 数据库 (<http://string-db.org/>) 对蛋白之间的互作网络进行预测, 参考物种选择拟南芥, 同时 String 数据库可以对相关蛋白的功能进行 GO 注释。

1.7 三七 SBP 基因家族表达分析 2019 年 8 月从云南省文山州的三七种植基地 (23°30'22.63" N, 104°02'45.92" E, 海拔 1 400 m) 采集活力与生长水平相近的 3 年生三七

30 株, 将其分为 2 组, 每组 15 株。一组在花期进行摘蕾处理 (A 组), 另一组留籽 (B 组) 作为对照, 10 月收集每株三七的叶子 (L)、主根 (R)、芦头 (J), 进行转录组学分析, 转录组测序、数据的拼接与分析由嘉兴迈维代谢生物科技有限公司完成 (完整的数据分析及结果已发表^[16])。选出 PnSBP 家族的转录本定量数据, 对 FPKM 值进行 log2 转化, 通过上海美吉生物医药科技有限公司生信云分析平台 (<https://cloud.majorbio.com/page/tools/>) 绘制聚类热图。

2 结果

2.1 三七 SBP 基因的鉴定及其编码蛋白的理化性质 从三七中鉴定出 33 个 PnSBP 基因, 将其命名为 PnSBP1 ~ PnSBP33, 基本理化性质见表 1。ExPasy 网站的预测结果表明, PnSBP 基因家族编码的蛋白氨基酸数量在 1 088 (PnSBP6) ~ 133 aa (PnSBP12) 之间; 蛋白分子量在 123 687.02 (PnSBP12) ~ 152 14.09 kDa (PnSBP26) 之间; 理论等电点在 10.05 (PnSBP11) ~ 6.57 (PnSBP22) 之间; 稳定性方面, 33 个 PnSBP 蛋白的稳定系数都大于 40, 为不稳定蛋白; 从脂溶性指数看, PnSBP 家族的蛋白脂溶性系数都大于 40, 均为脂溶性蛋白; 亲水性方面, PnSBP33、PnSBP13 为亲水性蛋白, 其余为疏水性蛋白。亚细胞定位的预测结果来看, PnSBP 家族中, PnSBP4 定位在内质网、PnSBP24 定位在叶绿体, PnSBP33、PnSBP13、PnSBP29、PnSBP12、PnSBP6 定位在质膜上, 其余都定位在细胞核上。

表 1 三七 PnSBP 蛋白的理化性质与亚细胞定位

| 基因 | 蛋白长度/bp | 分子量/kDa | 理论等电点 | 脂溶性指数 | 不稳定系数 | 平均疏水系数 | 亚细胞定位 |
|---------|---------|------------|-------|--------|-------|--------|-------|
| PnSBP1 | 133 | 15 214.09 | 9.24 | 43.38 | 79.44 | -1.253 | 细胞核 |
| PnSBP2 | 430 | 48 201.71 | 9.10 | 67.58 | 51.67 | -0.525 | 细胞核 |
| PnSBP3 | 311 | 34 727.98 | 8.82 | 50.51 | 63.56 | -0.930 | 细胞核 |
| PnSBP4 | 421 | 46 109.33 | 7.40 | 65.68 | 46.90 | -0.508 | 内质网 |
| PnSBP5 | 293 | 32 949.04 | 8.98 | 66.59 | 53.72 | -0.613 | 细胞核 |
| PnSBP6 | 1 088 | 119 822.53 | 8.45 | 81.99 | 55.06 | -0.368 | 质膜 |
| PnSBP7 | 488 | 53 835.00 | 8.77 | 68.11 | 47.45 | -0.592 | 细胞核 |
| PnSBP8 | 1 010 | 112 800.20 | 8.87 | 75.65 | 58.73 | -0.432 | 细胞核 |
| PnSBP9 | 774 | 87 724.51 | 7.77 | 69.63 | 54.54 | -0.233 | 细胞核 |
| PnSBP10 | 186 | 21 333.32 | 9.86 | 61.83 | 71.18 | -0.829 | 细胞核 |
| PnSBP11 | 318 | 35 905.62 | 10.05 | 77.58 | 43.47 | -0.400 | 细胞核 |
| PnSBP12 | 1082 | 123 687.02 | 9.41 | 92.36 | 54.03 | -0.090 | 质膜 |
| PnSBP13 | 702 | 80 805.05 | 9.72 | 104.25 | 48.36 | 0.203 | 质膜 |
| PnSBP14 | 991 | 110 122.30 | 7.98 | 85.07 | 49.15 | -0.328 | 细胞核 |
| PnSBP15 | 468 | 51 042.84 | 8.42 | 58.59 | 52.56 | -0.581 | 细胞核 |
| PnSBP16 | 387 | 42 600.57 | 7.67 | 64.24 | 50.42 | -0.619 | 细胞核 |
| PnSBP17 | 215 | 24 146.84 | 9.80 | 57.16 | 74.51 | -0.831 | 细胞核 |
| PnSBP18 | 141 | 16 143.08 | 9.01 | 42.91 | 79.47 | -1.164 | 细胞核 |
| PnSBP19 | 308 | 34 042.84 | 9.03 | 58.25 | 61.35 | -0.738 | 细胞核 |
| PnSBP20 | 187 | 21 032.55 | 9.17 | 56.79 | 59.03 | -0.874 | 细胞核 |
| PnSBP21 | 182 | 20 404.76 | 8.87 | 45.66 | 61.34 | -1.051 | 细胞核 |
| PnSBP22 | 752 | 84 165.95 | 6.57 | 82.55 | 52.35 | -0.318 | 细胞核 |
| PnSBP23 | 383 | 42 079.00 | 7.63 | 65.69 | 52.52 | -0.590 | 细胞核 |
| PnSBP24 | 267 | 30 283.18 | 8.85 | 63.48 | 44.76 | -0.779 | 叶绿体 |
| PnSBP25 | 383 | 40 989.11 | 8.88 | 46.34 | 61.68 | -0.754 | 细胞核 |
| PnSBP26 | 133 | 15 214.09 | 9.24 | 43.38 | 79.44 | -1.253 | 细胞核 |
| PnSBP27 | 294 | 32 880.12 | 8.80 | 67.04 | 56.31 | -0.584 | 细胞核 |
| PnSBP28 | 195 | 21 585.12 | 9.44 | 62.51 | 69.27 | -0.579 | 细胞核 |
| PnSBP29 | 797 | 91 116.45 | 9.20 | 92.70 | 59.05 | -0.087 | 质膜 |
| PnSBP30 | 198 | 21 582.87 | 8.56 | 45.86 | 59.43 | -1.075 | 细胞核 |
| PnSBP31 | 533 | 58 797.36 | 8.45 | 66.02 | 46.93 | -0.597 | 细胞核 |
| PnSBP32 | 1 003 | 112 903.82 | 9.32 | 87.24 | 50.21 | -0.280 | 细胞核 |
| PnSBP33 | 294 | 32 025.86 | 9.49 | 111.46 | 45.32 | 0.332 | 质膜 |

2.2 三七 SBP 蛋白保守结构域及系统发育分析 通过对33个PnSBP蛋白的保守结构域进行对比分析,结果见图1,大部分PnSBP蛋白都具有较完整且保守的SBP结构域,该结构域包括2个锌指结构(C_3H 和 C_2HC)和1个核定位信号(NLS),大部分PnSBP成员N端的锌指结构为Cys-Cys-Cys-His(C_3H)型,而PnSBP9、PnSBP23、PnSBP13、

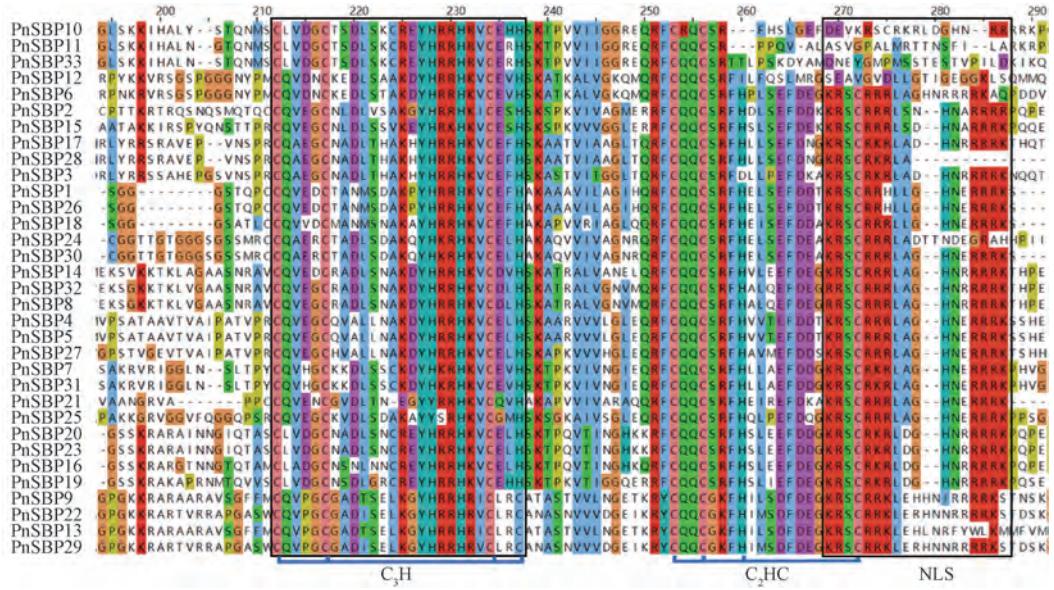


图1 三七 *PnSBP* 基因的蛋白保守结构域

通过MEME网站分析PnSBP蛋白的Motif结果见图2a,10个Motif的序列见图2b,其中最保守的是Motif3、Motif1、Motif2,分别为 C_2HC 锌指结构域、核定位信号NLS、 C_3H 锌指结构域,这3个Motif共同构成SBP-box保守结构域。同时,进化树每个分支上的Motif位置与组成都较为相似。NCBI-CDD网站提取的三七PnSBP蛋白的保守位点结果用TBtools进行可视化见图2c,每个PnSBP蛋白都只有1个SBP-box,表明得到的33个PnSBP蛋白都具有较高的保守性。

为了解PnSBP家族各成员的进化关系,通过MEGA软件Neighbor-Joining法对15个*AtSBP*基因、19个*OsSBP*基因、33个*PnSBP*基因的氨基酸序列构建系统发育进化树,并进行聚类分析见图3。以上SBP蛋白共被聚类为8个亚家族,进化树中相距较近的蛋白功能往往是相似的,可据此预测PnSBP蛋白的功能。PnSBP家族的33个成员中,在I~VII亚家族中分别占有3、5、7、4、2、3、3、6个。

2.3 三七 SBP 基因家族启动子区顺式作用元件分析 获取三七SBP33个基因起始密码子正向1500 bp的序列,经在线工具PlantCARE分析的结果用TBtools进行可视化见图4,结果表明,除了PnSBP16、PnSBP33外,其余的PnSBP启动子均具有光响应元件;其中12个基因启动子具有生长素响应元件,21个基因的启动子含有茉莉酸甲酯响应元件,17个基因启动子含有脱落酸响应元件,19个基因启动子具有赤霉素响应元件,23个基因启动子具有水杨酸响应元件;30个基因启动子含有厌氧响应元件,14个基因启动子具有

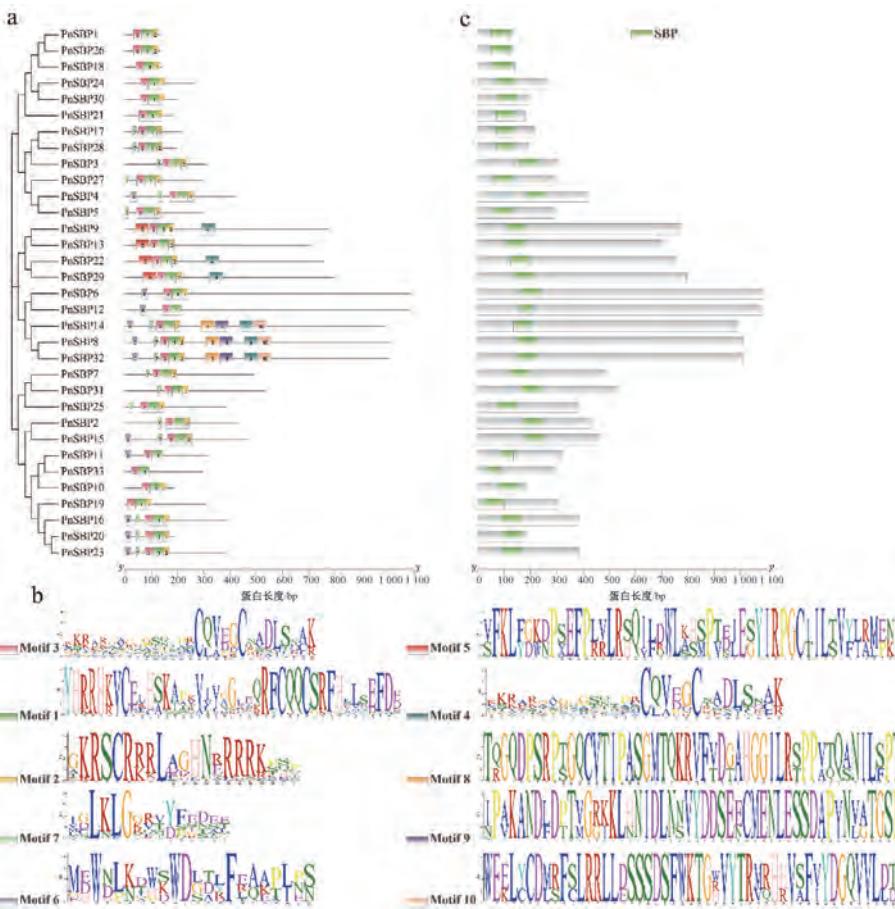
PnSBP29的锌指结构为Cys-Cys-Cys-Cys(C_4)型;C端的锌指结构为Cys-Cys-His-Cys(C_2HC)型,但PnSBP10、PnSBP11、PnSBP12、PnSBP3、PnSBP33的C端锌指结构有缺失或突变;核定位信号结构与C端的锌指结构有重合,PnSBP10、PnSBP11、PnSBP12、PnSBP33、PnSBP2、PnSBP28、PnSBP24的核定位信号末端有突变或缺失。

防御与压力的响应元件,12个基因启动子具有低温响应元件,4个基因启动子具有受伤响应元件;5个基因启动子具有昼夜节律控制响应元件;21个基因启动子具有MYB结合位点。这些顺式作用元件在PnSBP基因家族参与调控三七的生长发育过程及抗逆、响应胁迫的过程中发挥着重要作用。

2.4 三七 SBP 家族蛋白的互作网络分析 String网站分析得到的蛋白互作网络显示见图5,PnSBP家族有8个蛋白之间存在互作关系,存在15条互作关系,分别为PnSBP15-PnSBP31、PnSBP31-PnSBP27、PnSBP31-PnSBP25、PnSBP31-PnSBP12、PnSBP29-PnSBP31、PnSBP23-PnSBP27、PnSBP23-PnSBP25、PnSBP23-PnSBP12、PnSBP27-PnSBP25、PnSBP29-PnSBP27、PnSBP29-PnSBP25、PnSBP29-PnSBP12、PnSBP29-PnSBP28、PnSBP31-PnSBP23、PnSBP25-PnSBP12,其中线条颜色越深,互作强度越强,颜色越浅,互作强度越弱。

GO富集分析结果,可预测PnSBP基因家族的蛋白功能见图6。在分子功能方面,PnSBP蛋白主要参与DNA结合转录因子活性、金属离子结合、基因结合等方面;在细胞组成方面,PnSBP蛋白参与宿主细胞核、核、细胞内膜结合细胞器等部位的组成;在生物过程方面,PnSBP蛋白参与调节细胞过程、转录调控、DNA模板化、发芽系统发育、发育过程的调节、花药发育等过程。

2.5 摘蓄对三七 SBP 基因家族的表达影响 SBP基因家族在留籽三七不同部位的表达见图7。由此可知,同一基因在不同部位的表达有差异,PnSBP基因在三七的3个部位中



注: a 为保守基序分析结果, b 为保守位点分析结果, c 为保守基序的序列。

图2 三七 *PnSBP* 基因的保守基序与保守位点分析

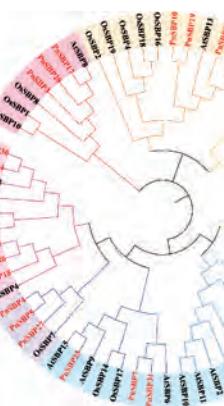


图3 三七、拟南芥、水稻 SBP 蛋白的系统进化树

的表达依次为芦头 > 主根 > 叶片。其中, *PnSBP12*、*PnSBP19*、*PnSBP8*、*PnSBP6*、*PnSBP14* 在各部位中的表达都较高。少数基因在叶中的表达高于芦头与根部, 如 *PnSBP6*、*PnSBP7*、*PnSBP31*。对比摘蕾与留籽处理, 部分 *PnSBP* 基因在摘蕾后, 其在主根与芦头中的表达升高, 如 *PnSBP5*、*PnSBP32*、*PnSBP15*、*PnSBP18*、*PnSBP1*、*PnSBP25*。

3 讨论

近年已有一些药用植物陆续完成全基因组测序, 如铁

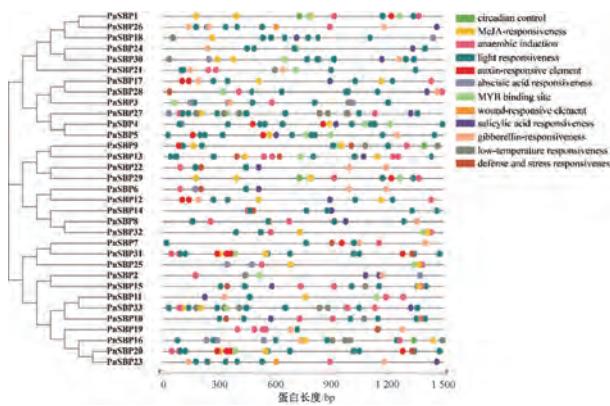
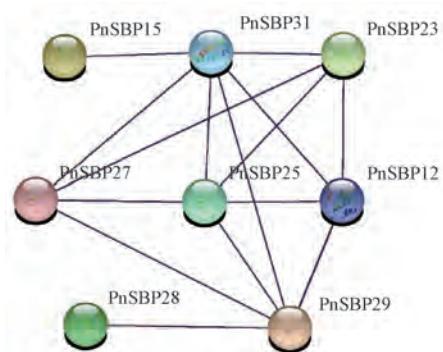
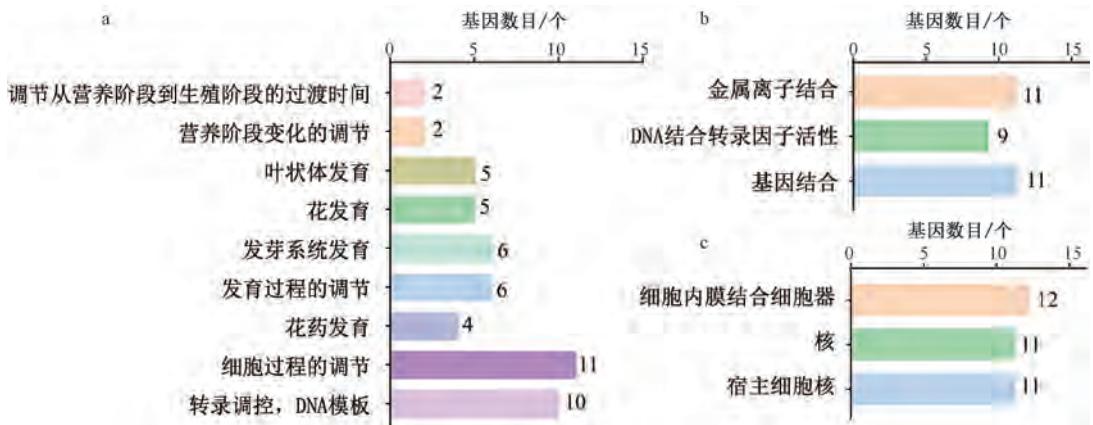


图4 三七 *PnSBP* 基因启动子顺式作用元件分析

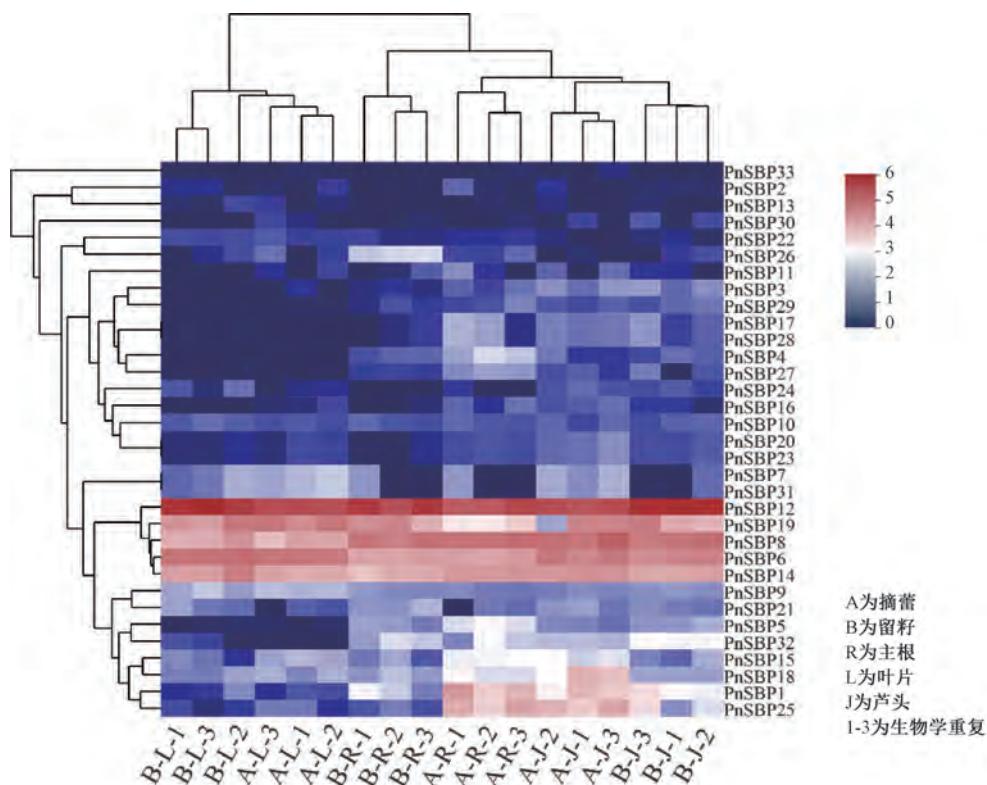
皮石斛^[17]、甘草^[18]、人参^[19]、天麻^[20]、红景天^[21]、菊花^[22], 三七是在 2017 年首次完成全基因组测序^[23], 2020 年高伟团队完成第一个染色体水平的三七基因组测序^[15], 得到了 2.66 GB 的三七参考基因组, 为三七的分子生物学研究奠定基础。本研究鉴定出 33 个 *PnSBP* 基因家族成员, 同科的人参^[3] *SBP* 家族成员有 30 个, 拟南芥^[24] 有 16 个, 水稻^[6] 有 20 个, 小麦^[25] 58 个, 谷子^[26] 20 个, *SBP* 家族在不同物种中的数目各异, 这可能与各物种发生的全基因组复制事件不同有关。*PnSBP* 家族的 33 个基因, 均含有较保守的 SBP-box 结构域, 与其他物种一致。

图5 三七 *PnSBP* 基因家族的蛋白互作网络

根据进化分析,三七、拟南芥和水稻的 *SBP* 基因家族被分为 8 个亚家族。同一亚家族的基因亲缘关系较近,基因功能也较为相似。I 亚家族中拟南芥 *AtSBP8* 参与调节孢子发生、萼片上的毛状体形成和雄蕊花丝伸长^[11], 水稻 *OsSBP8* 控制叶舌和叶耳的发育^[27], 该亚族可能主要调控植物的营养生长, 推测 *PnSBP3*、*PnSBP17*、*PnSBP28* 主要与三七叶片的生长发育有关; VIII 亚族中, 拟南芥 *AtSBP3*、*AtSBP4*、*AtSBP5* 参与花的发育, 调控成花转变^[28], *OsSBP13* 调控水稻粒径大小, 从而影响水稻的产量^[29-30], 该亚家族可能主要调控植物生殖器官的生长发育, 推测 *PnSBP1*、*PnSBP18*、*PnSBP21*、*PnSBP24*、*PnSBP26*、



注: a 为生物功能, b 为分子功能, c 为细胞组成。

图6 三七 *PnSBP* 基因家族的 GO 功能注释及富集分析图7 摘蕾对三七 *PnSBP* 基因家族在不同部位的表达影响

PnSBP30 参与三七花、果实、种子的生长发育；VI亚家族中 *AtSBP9* 和 *AtSBP15* 促进拟南芥营养生长向生殖生长的转变以及调控开花时间等方面^[24]，*OsSBP17* 影响花序出现早花的表型，并使叶片增大，数量减少^[31]，此亚族成员调控植物器官的形成与发育，推测 *PnSBP7*、*PnSBP25*、*PnSBP31* 参与调控三七叶、花的形成及发育。

摘蕾是三七栽培过程中重要的农艺措施，据课题组前期研究，摘蕾会升高 *CYP716A447*、*CYP716A53V2*、*UGTPg1* 基因在芦头中的表达^[16]，代谢组结果表明，摘蕾会使三七芦头中的原人参三醇、人参皂苷 K 含量升高；此外，分析 *PnSBP* 启动子顺式作用元件发现，*PnSBP1*、*PnSBP5*、*PnSBP25*、*PnSBP32* 的启动子上有 MYB 结合位点，研究表明，摘蕾会升高 *PnMYB* 家族的表达，*PnSBP1*、*PnSBP5*、*PnSBP25*、*PnSBP32* 的表达升高可能与 *PnMYB* 家族的表达升高有关。本研究初步推测，*PnMYB* 与部分 *PnSBP* 家族之间有互作，协同调控三七皂苷在芦头中的生物合成过程，但此推论仍需后续试验进一步验证。而 *PnSBP15* 的启动子有防御与胁迫响应元件，摘蕾对于三七植株而言是个非生物胁迫，因此表达会升高。

4 结论

综上所述，本研究通过生物信息学手段对三七 *PnSBP* 转录因子基因家族进行了初步探索。验证了 SBP-box 结构域在 *PnSBP* 家族基因中高度保守，启动子上许多激素响应元件及 MYB 结合位点，挖掘出 *PnSBP* 基因家族中 6 个基因在摘蕾后在主根与芦头中的表达升高，结合课题组先前的转录组与代谢组学研究及本研究结果，初步推测 *PnSBP1*、*PnSBP5*、*PnSBP25*、*PnSBP32* 与 *PnMYB* 家族有互作关系，协同参与调控三七皂苷的生物合成。本研究结果为深入探索 *PnSBP* 基因家族的功能及参与三七生长发育、胁迫响应、代谢产物合成的作用机制提供了理论基础。

参考文献：

- [1] Franco-zorrilla J M, López-vidriero I, Carrasco J L, et al. DNA-binding specificities of plant transcription factors and their potential to define target genes [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111(6): 2367-2372.
- [2] Salinas M, Xing S P, Höhmann S, et al. Genomic organization, phylogenetic comparison and differential expression of the SBP-box family of transcription factors in tomato [J]. *Planta*, 2012, 235(6): 1171-1184.
- [3] Li S K, Li L, Jiang Y, et al. SQUAMOSA promoter binding protein-like (SPL) gene family: TRANSCRIPTOME-wide identification, phylogenetic relationship, expression patterns and network interaction analysis in *Panax ginseng* C. A. Meyer [J]. *Plants (Basel)*, 2020, 9(3): 354.
- [4] Cheng H T, Hao M Y, Wang W X, et al. Genomic identification, characterization and differential expression analysis of SBP-box gene family in *Brassica napus* [J]. *BMC* *Plant Biol*, 2016, 16(1): 196.
- [5] 姚远, 马勇. 拟南芥 SBP 基因家族生物信息学分析 [J]. *安徽农业科学*, 2020, 48(15): 112-115; 121.
- [6] Agarwal P R, Lahiri A. Comparative study of the SBP-box gene family in rice siblings [J]. *J Biosci*, 2020, 45: 83.
- [7] 吕亮杰, 陈希勇, 胡梦芸, 等. 小麦 SBP 基因家族生物信息学分析 [J]. *华北农学报*, 2018, 33(6): 8-16.
- [8] 高东菊, 张琴, 许太白, 等. 黄瓜 SBP 家族基因鉴定与表达分析 [J]. *分子植物育种*, 2021, 19(11): 3542-3548.
- [9] 韦德兰, 张宝会, 姚新转, 等. 杜仲 SBP-box 基因家族鉴定及非生物胁迫下表达分析 [J]. *分子植物育种*, 2022, 20(5): 1505-1513.
- [10] Preston J C, Hileman L C. Functional evolution in the plant SQUAMOSA-promoter binding protein-like (SPL) gene family [J]. *Front Plant Sci*, 2013, 4: 80.
- [11] Unte U S, Sorensen A M, Pesaresi P, et al. SPL8, an SBP-box gene that affects pollen sac development in *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell*, 2003, 15(4): 1009-1019.
- [12] Zhang X F, Yang C Y, Lin H X, et al. Rice SPL12 coevolved with GW5 to determine grain shape [J]. *Sci Bull (Beijing)*, 2021, 66(23): 2353-2357.
- [13] Shao Y L, Zhou H Z, Wu Y R, et al. OsSPL3, an SBP-domain protein, regulates crown root development in rice [J]. *Plant Cell*, 2019, 31(6): 1257-1275.
- [14] 张诗焉, 潘建英, 郭宜欣, 等. 摘蕾对三七中皂苷类成分的影响 [J]. *中南药学*, 2022, 20(11): 2537-2541.
- [15] Jiang Z Q, Tu L C, Yang W F, et al. The chromosome-level reference genome assembly for *Panax notoginseng* and insights into ginsenoside biosynthesis [J]. *Plant Commun*, 2021, 2(1): 100113.
- [16] Bai Y, Liu H J, Pan J Y, et al. Transcriptomics and metabolomics changes triggered by inflorescence removal in *Panax notoginseng* (Burk.) [J]. *Front Plant Sci*, 2021, 12(5): 226-229.
- [17] Zhang G Q, Xu Q, Bian C, et al. The *Dendrobium catenatum* Lindl. genome sequence provides insights into polysaccharide synthase, floral development and adaptive evolution [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 19029.
- [18] Mochida K, Sakurai T, Seki H, et al. Draft genome assembly and annotation of *Glycyrrhiza uralensis*, a medicinal legume [J]. *Plant J*, 2017, 89(2): 181-194.
- [19] Kim N H, Jayakodi M, Lee S C, et al. Genome and evolution of the shade-requiring medicinal herb *Panax ginseng* [J]. *Plant Biotechnol J*, 2018, 16(11): 1904-1917.
- [20] Yuan Y, Jin X, Liu J, et al. The *Gastrodia elata* genome provides insights into plant adaptation to heterotrophy [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 1615.

- [21] Fu Y Y, Li L W, Hao S J, et al. Draft genome sequence of the Tibetan medicinal herb *Rhodiola crenulata* [J]. *Gigascience*, 2017, 6(6): 1-5.
- [22] Nakano M, Hirakawa H, Fukai E, et al. A chromosome-level genome sequence of *Chrysanthemum seticuspe*, a model species for hexaploid cultivated chrysanthemum [J]. *Commun Biol*, 2021, 4(1): 1167.
- [23] Chen W, Kui L, Zhang G H, et al. Whole-genome sequencing and analysis of the Chinese herbal plant *Panax notoginseng* [J]. *Mol Plant*, 2017, 10(6): 899-902.
- [24] Yang Z F, Wang X F, Gu S L, et al. Comparative study of SBP-box gene family in *Arabidopsis* and rice [J]. *Gene*, 2008, 407(1-2): 1-11.
- [25] Wang B N, Geng S F, Wang D, et al. Characterization of squamosa promoter binding protein-LIKE genes in wheat [J]. *J Plant Biol*, 2015, 58(4): 220-229.
- [26] 张昊, 邵青, 王凯, 等. 谷子SBP转录因子的鉴定与表达分析 [J/OL]. 分子植物育种: 1-9 (2021-07-22) [2023-04-10]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20210722.1535.026.html>.
- [27] 李明, 李长生, 赵传志, 等. 植物SPL转录因子研究进展 [J]. 植物学报, 2013, 48(1): 107-116.
- [28] Lal S, Pacis L B, Smith H M. Regulation of the SQUAMOSA PROMOTER-BINDING PROTEIN-LIKE genes/microRNA156 module by the homeodomain proteins PENNYWISE and POUND-FOOLISH in *Arabidopsis* [J]. *Mol Plant*, 2011, 4(6): 1123-1132.
- [29] Si L Z, Chen J Y, Huang X H, et al. OsSPL13 controls grain size in cultivated rice [J]. *Nat Genet*, 2016, 48(4): 447-456.
- [30] Liu Q, Harberd N P, Fu X D. SQUAMOSA promoter binding protein-like transcription factors: targets for improving cereal grain yield [J]. *Mol Plant*, 2016, 9(6): 765-767.
- [31] Wang L, Sun S Y, Jin J Y, et al. Coordinated regulation of vegetative and reproductive branching in rice [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112(50): 15504-15509.

白及不同部位无机元素分布特征及其健康风险评估

陈宏降¹, 罗益远¹, 彭昕², 舒慧云³, 薛平^{4*}

(1. 浙江药科职业大学, 浙江宁波315100; 2. 浙江大学宁波研究院, 浙江宁波315000; 3. 衢州市益年堂农林科技有限公司, 浙江衢州324009; 4. 常州市食品药品纤维质量监督检验中心, 江苏常州213001)

摘要: 目的 探究白及不同部位无机元素分布特征, 并对其重金属进行健康风险评估。方法 采用ICP-MS法测定白及不同部位中26种无机元素含量。采用人工胃肠消化模型测定无机元素转移率, 采用靶标危害系数法(THQ)和致癌风险(CR)进行健康风险评估。结果 白及不同部位中无机元素存在显著差异; Pb、Cd、Hg、As等含量均符合《中医药-中药材重金属限量》ISO国际标准, 重金属Cu、As、Cd、Hg、Pb、Cr在人工胃肠液中转移率分别为56.27%、30.63%、82.62%、0、27.61%、6.35%。白及块茎和须根对成人和儿童的THQ和CR值均低于安全阈值。结论 该方法准确高效, 可用于白及标准建立、质量控制和安全评价。

关键词: 白及; 无机元素; 风险评估; 电感耦合等离子体质谱法 (ICP-MS)

中图分类号: R282

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2023)06-2079-07

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2023.06.058

白及为兰科植物白及 *Bletilla striata* (Thunb.) Reichb. f. 的干燥块茎, 始载于《神农本草经》^[1], 具有收敛止血、消肿生肌的功效, 临床广泛用于治疗咯血、吐血、外伤出

血、烧烫伤、消化道溃疡、皮肤皲裂等。现代研究表明其具有止血、抗肿瘤、抗菌、抗炎等活性^[2]。白及中含有多种多糖、双苄类、二氢菲类、联苯类、无机元素等多种成

收稿日期: 2022-05-20

基金项目: 浙江省中医药优秀青年人才项目(2020ZQ049); 浙江省基础公益研究计划(LTGN23H280004); 浙江省药品监管科技计划项目(2023014); 宁波市自然科学基金(2021J187); 宁波市公益性科技计划项目(2021S144)

作者简介: 陈宏降(1983—), 男, 博士, 副教授, 从事中药活性成分及质量控制。Tel: (0574) 88839206, E-mail: chhj1228@163.com

***通信作者:** 薛平(1987—), 男, 硕士, 副主任中药师, 从事中药质量控制研究。Tel: (0519) 86629692, E-mail: xueponggo@163.com