



MYB转录因子调控植物萜类生物合成的研究进展

蓝卡尔^{1,2}, 刘宇阳^{1,2}, 吴诗怡^{1,2}, 殷晓浦^{1,2}, 卫秋慧^{1,2,*}

¹杭州师范大学药学院, 杭州311100

²浙江省榄香烯类抗癌中药研究重点实验室, 浙产中药材资源开发与应用浙江省工程实验室, 浙江省中药协同创新中心, 杭州311100

*通信作者(weiqiuhui@hznu.edu.cn)

摘要: 萜类化合物是天然产物中数量最多的一类, 广泛应用于医药、食品、化妆品等多个领域。MYB家族是植物最大的转录因子家族之一, 在植物次生代谢调控方面起着重要作用。本文总结了MYB转录因子参与植物萜类生物合成调控的研究。MYB不仅直接调控萜类合成途径酶基因的表达, 还可以与其他转录因子协同或拮抗调控萜类生物合成。此外, MYB蛋白介导光、激素、低磷等环境诱导的萜类合成调控。通过深入探讨MYB调控萜类合成的机制, 旨在为进一步研究萜类生物合成调控奠定基础。

关键词: MYB转录因子; 萜类化合物; 生物合成; 转录调控机制

Research progress of MYB transcription factors regulating terpenoid biosynthesis in plants

LAN Kaer^{1,2}, LIU Yuyang^{1,2}, WU Shiyi^{1,2}, YIN Xiaopu^{1,2}, WEI Qiuhui^{1,2,*}

¹College of Pharmacy, Hangzhou Normal University, Hangzhou 311100, China

²Key Laboratory of Elemene Class Anti-Cancer Chinese Medicines of Zhejiang Province, Engineering Laboratory of Development and Application of Traditional Chinese Medicines from Zhejiang Province, Collaborative Innovation Center of Traditional Chinese Medicines of Zhejiang Province, Hangzhou 311100, China

*Corresponding author (weiqiuhui@hznu.edu.cn)

Abstract: Terpenoids are the most abundant natural products, which are widely used in various fields such as medicine, food, and cosmetics. MYB family is one of the largest transcription factor families, playing an important role in the regulation of secondary metabolism in plants. In this study, we reviewed the researches of MYB transcription factors in the regulation of terpenoids biosynthesis in plants. MYB not only directly regulates the expression of enzyme genes in the terpenoid biosynthesis pathway, but also cooperates or antagonizes with other transcription factors to regulate terpenoid biosynthesis. In addition, MYB proteins mediate the regulation of terpenoid biosynthesis induced by light, hormones, low phosphate, etc. In-depth exploration of the transcriptional regulation mechanism of MYB is aimed to lay a foundation for further research on terpenoid biosynthesis regulation.

Key words: MYB transcription factor; terpenoids; biosynthesis; transcription regulation mechanism

萜类化合物又称类异戊二烯, 是一类由两个或两个以上异戊二烯以头头或头尾方式相连的化合物及其衍生物, 其在植物中广泛存在, 是重要的

收稿 2023-04-27 修定 2023-06-29
资助 国家自然科学基金(81903742)和浙江省自然科学基金(LQ19C020002)。

植物源天然化合物。目前,已有80 000多种萜类化合物被鉴定,约占天然产物词典(<http://dnpc.chemnetbase.com>)中所有化合物的三分之一(Christianson 2017; Zhou和Pichersky 2020)。萜类在人类生活的许多领域如医药(Kamran等2022)、化妆品(Lim等2015)、食品(O'Connor等2022)、能源(Wang等2015)等都有着重要的作用。现代药理研究表明萜类化合物具有抗癌(Zhai等2018)、抗菌(Baglyas等2023)、抗氧化(Mei等2019)、抗焦虑(Agatonovic-Kustrin等2020)、抗虫(Block等2019)等多种生物活性。然而,大部分的萜类物质在植物体内的含量较低,难以满足生活、生产等方面的需求,如抗疟疾药青蒿素的含量仅占黄花蒿(*Artemisia annua*)叶片干重的0.1%~1% (Zheng等2023); 抗癌药物 β -榄香烯的含量仅占温郁金(*Curcuma wenyujin*)块根干重的0.4%~0.99% (姜程曦等2019)。随着生物技术的快速发展,通过基因工程技术提高植物中萜类化合物的生物合成成为行之有效的手段。转录因子(transcription factors)是植物生理生化过程中的重要调节因子,在物种进化过程中,逐渐形成了复杂的转录调控网络。V-myb avian myeloblastosis viral oncogene homolog (MYB)转录因子家族是植物中最大的转录因子家族之一。研究发现,MYB转录因子对类黄酮、有机酸、萜类等次生代谢产物生物合成均具有转录调控作用(Cao等2020)。本文将重点讨论MYB转录因子参与植物萜类生物合成的调控机制,为运用基因工程技术提高植物萜类化合物合成提供分子基础。

1 萜类化合物的生物合成途径

植物萜类化合物前体由两种途径合成,即发生在胞质中的甲羟戊酸(mevalonic acid, MVA)途径和发生在质体中的甲基赤藓醇磷酸(methylerythritol phosphate, MEP)途径(Huang等2021b)。如图1-A所示, MVA合成途径包括6步酶催化反应。首先由乙酰乙酰辅酶A硫解酶(AACT)催化乙酰辅酶A生成乙酰乙酰辅酶A,再通过3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶A合成酶(HMGS)转化为3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶A (HMG-CoA)。在限速酶3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶A还原酶(HMGR)的催化下, HMG-CoA通过两

个还原步骤转化为MVA, 两个步骤都需要辅因子NADPH的参与, 是MVA途径重要的限速反应。之后MVA在甲羟戊酸激酶(MK)、磷酸甲羟戊酸激酶(PMK)和甲羟戊酸二磷酸脱羧酶(MVD)的催化下, 经两步磷酸化和一步脱羧化形成异戊烯基二磷酸(isoprene, IPP)。MEP合成途径由7步酶催化反应完成, 始于3-磷酸甘油醛和丙酮酸的缩合, 该反应由限速酶1-脱氧-D-木酮糖-5-磷酸合成酶(DXS)催化形成1-脱氧-D-木酮糖5-磷酸(DXP)并释放二氧化碳。DXP在1-脱氧-D-木酮糖-5-磷酸还原异构酶(DXR)的作用下, 经分子内重排还原成MEP。在4-磷酸胞苷-2-C-甲基-D-赤藓糖醇酰基转移酶(MCT)催化下, MEP和CTP的胞苷部分结合, 形成4-二磷酸胞苷-2-C-甲基-D-赤藓糖醇(CDP-ME)。之后CDP-ME上的羟基在4-磷酸胞苷-2-C-甲基-D-赤藓糖醇激酶(CMK)作用下磷酸化形成4-二磷酸胞苷-2-C-甲基-D-赤藓糖醇-2-磷酸(CDP-ME2P), 再由2-C-甲基-D-赤藓醇-2,4-环二磷酸合酶(MDS)催化, 环化成2-C-甲基-D-赤藓醇-2,4-环二磷酸(MEcPP)。MEcPP被4-羟基-3-甲基-2-丁烯基-焦磷酸合成酶(HDS)催化还原为4-羟基-3-甲基-2-丁烯基-焦磷酸(HMBPP), 最终在4-羟基-3-甲基-2-丁烯基焦磷酸还原酶(HDR)作用下转化为IPP和二甲基烯丙基焦磷酸(dimethylallyl pyrophosphate, DMAPP)的混合物。

IPP是萜类生物合成的重要前体, 经异戊烯基焦磷酸异构酶(isopentenyl diphosphate isomerase, IDI)催化生成其异构体DMAPP。IPP和DMAPP通过反式缩合得到香叶基焦磷酸(geranyl pyrophosphate, GPP), 一分子GPP与一分子IPP反式缩合生成(*E,E*)-法尼基二磷酸(*E,E*-farnesyl pyrophosphate, FPP), 一分子FPP与一分子IPP反式缩合形成(*E,E,E*)-香叶基香叶基焦磷酸(*E,E,E*-geranylgeranyl pyrophosphate, GGPP)。此外, DMAPP通过与不同单位的IPP顺式缩合反应, 分别生成橙花基焦磷酸(neryl diphosphate, NPP)、*Z,Z*-FPP和(*Z,Z,Z*)-橙花基橙花基焦磷酸(*Z,Z,Z*-nerylneryl pyrophosphate, NNPP)。萜类合酶(terpene synthase, TPS)催化前体GPP、NPP、FPP、*Z,Z*-FPP、GGPP或者NNPP分子内部的环化, 形成各种各样的萜类化合物基核, 再经细胞色素P450

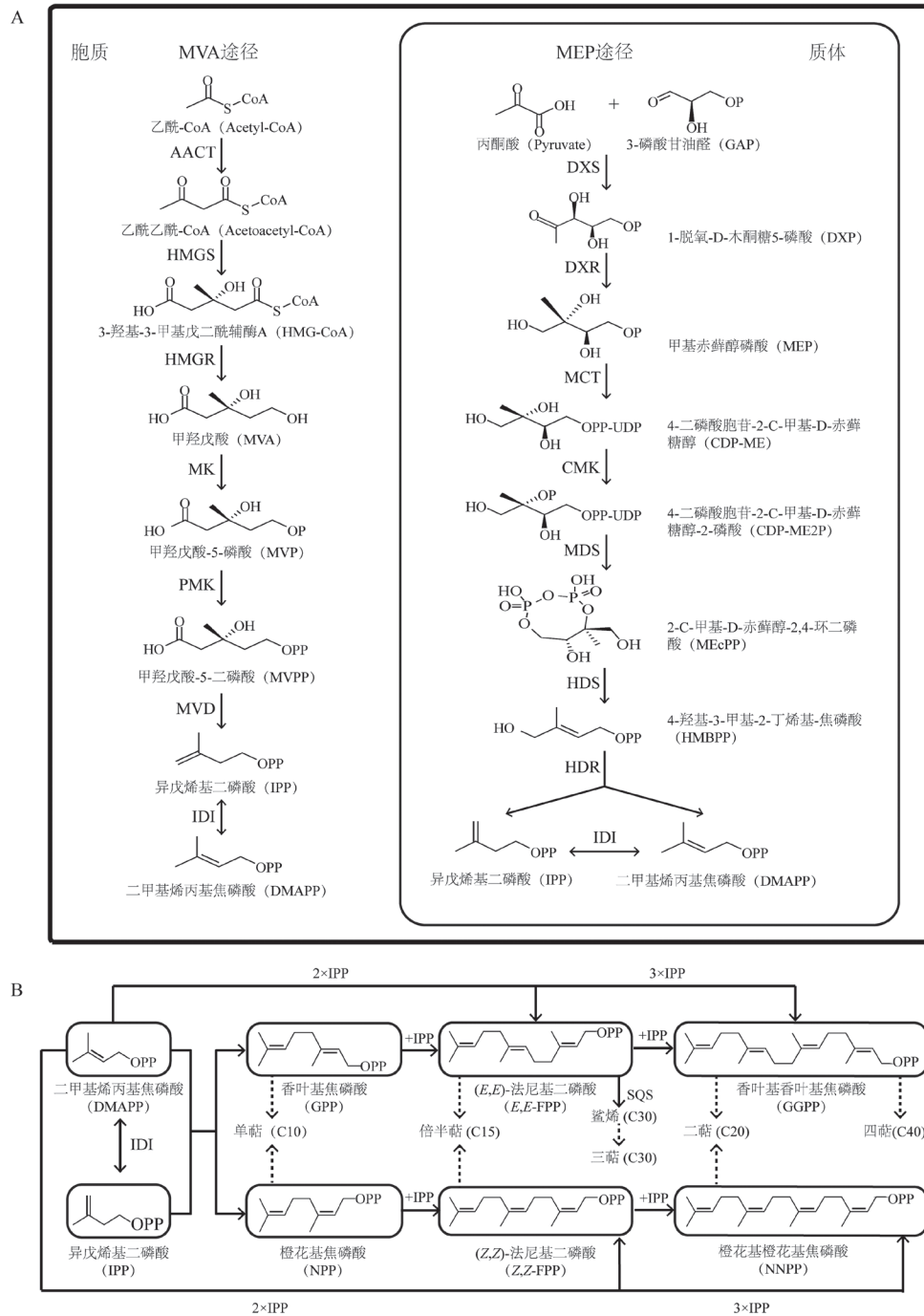


图1 萜类生物合成途径示意图

Fig. 1 Schematic diagram of terpenoid biosynthesis pathway

A: MVA途径和MEP途径合成萜类前体; B: 萜类合成。AACT: 乙酰乙酰辅酶A硫解酶; HMGS: 3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶A合成酶; HMGR: 3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶A还原酶; MK: 甲羟戊酸激酶; PMK: 磷酸甲羟戊酸激酶; MVD: 甲羟戊酸二磷酸脱羧酶; DXS: 1-脱氧-D-木酮糖-5-磷酸合成酶; DXR: 1-脱氧-D-木酮糖-5-磷酸还原异构酶; MCT: 4-磷酸胞苷-2-C-甲基-D-赤藓糖醇酰基转移酶; CMK: 4-磷酸胞苷-2-C-甲基-D-赤藓糖醇激酶; MDS: 2-C-甲基-D-赤藓醇-2,4-环二磷酸合酶; HDS: 4-羟基-3-甲基-2-丁烯基-焦磷酸合酶; HDR: 4-羟基-3-甲基-2-丁烯基焦磷酸还原酶; IDI: 异戊烯基焦磷酸异构酶; SQS: 鲨烯合酶。

加氧酶(CYP)、脱氢酶和甲基转移酶等的催化, 发生氧化、还原、异构化, 形成更多的萜类基核(图 1-B) (Nagegowda和Gupta 2020; Tholl等2023)。

2 MYB转录因子参与植物萜类化合物生物合成的调控

MYB是植物中最大的转录因子家族之一。MYB 转录因子N端包含一段高度保守的DNA结合域(DNA binding domain, DBD)——MYB 结构域。MYB 结构域通常由1~4个相邻的不完全重复序列(repeat, R) 组成。每个R由大约52个氨基酸残基组成, 包含3 个规则间隔的色氨酸残基(W), 每个W之间间隔18 或19个氨基酸残基。有时W会被某个芳香族氨基酸或疏水氨基酸所代替。根据该结构域中R结构的 数量, 可将MYB转录因子分为四个亚类: 1R-MYB、 2R-MYB、3R-MYB、4R-MYB。与高度保守的MYB 结构域相比, MYB蛋白C端的非MYB结构域高度 可变, 决定了MYB的功能多样性(Cao等2020; Dubos 等2010) (图2)。

MYB家族成员众多, 功能多样, 如调控植物初 级和次级代谢、应答生物和非生物胁迫、调控生 长发育等。本文综述了MYB转录因子参与萜类化 合物生物合成调控的研究(表1), 并深入探讨其调 控机制(图3)。

2.1 MYB转录因子直接参与萜类化合物生物合成 调控

研究发现, MYB转录因子主要通过直接调控 萜类合成通路中结构基因的转录表达从而调节萜 类化合物的合成。如图3-A所示, MYB转录因子正

向调控萜类合成途径酶基因的表达, 从而促进萜 类化合物的生物合成。例如, *AaMYB1*在黄花蒿中 过量表达, 能激活青蒿素生物合成途径关键酶如 紫穗槐二烯氧化酶(CYP71AV1)、紫穗槐二烯合成 酶(ADS)、法尼基二磷酸合成酶(FDS)、青蒿醛 $\Delta 11(13)$ 还原酶(DBR2)和乙醛脱氢酶(ALDH1)编码 基因的表达, 特别是*ADS*和*CYP71AV1*, 从而增加青 蒿素的合成; 同时*AaMYB1*激活赤霉素(GA)生物合 成途径酶基因*GA3ox1*和*GA3ox2*的表达, 提高GA 的合成, 进而促进黄花蒿腺毛的发育, 腺毛的密度与 青蒿素的含量呈正相关(Matías-Hernández等2017)。 此外, 黄花蒿MYB转录因子*AaBPF1* (马嘉伟等 2019)、*AaMIXTA1* (Shi等2018)也正向调控青蒿素 的生物合成, 但作用机制不同, 前者促进青蒿素生 物合成途径酶基因的表达, 后者则通过提高腺毛 的生长密度提高黄花蒿中青蒿素含量。

二萜类化合物丹参酮和苯丙素类化合物丹酚 酸是中药丹参(*Salvia miltiorrhiza*)的有效成分, 分 别经萜类生物合成通路和苯丙烷/酪氨酸代谢途径 合成。丹参*SmMYB98*对丹参酮和丹酚酸的生物 合成起正向调控作用, *SmMYB98*能直接与萜类合 成途径关键酶基因*SmGGPPS1*和酚酸生物合成途 径关键酶基因*SmPAL1* (编码苯丙氨酸解氨酶)和 *SmRAS1* (编码迷迭香酸合酶)的启动子结合, 直接 调控其表达水平, 同时促进丹参酮及丹酚酸的合 成(Hao等2020)。Zhang等(2017)研究发现丹参*Sm- MYB9b*上调了*SmDXS2*、*SmDXR*、香叶基香叶 基焦磷酸合酶(*SmGGPPS*)和贝壳杉烯合酶(*SmK- SL1*)等萜类合成途径酶编码基因的表达水平, 通

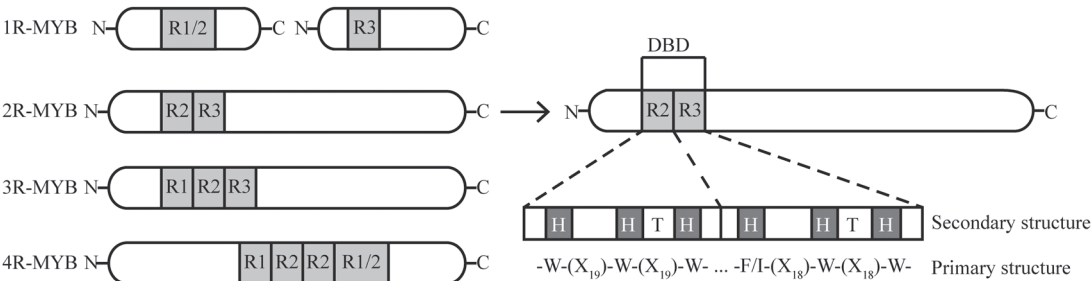


图2 MYB转录因子的结构与分类
Fig. 2 Structure and classification of MYB transcription factors

表1 MYB转录因子调控植物萜类化合物生物合成的研究
Table 1 Research on MYB transcription factors regulating terpenoid biosynthesis

物种	转录因子	生物学功能	参考文献
白桦(<i>Betula platyphylla</i>)	BpMYB21、 BpMYB61	参与白桦三萜类化合物的合成	Yin等2020
丹参(<i>Salvia miltiorrhiza</i>)	SmMYB98 SmMYB36	促进丹参酮和丹酚酸的合成 促进丹参酮的合成, 抑制酚酸的合成	Hao等2020 Ding等2017; 赵英2019
	SmMYB9b	促进丹参酮的合成	Zhang等2017
	SmMYB97	促进丹参酮和丹酚酸的合成	Li等2020b
	SmMYB98b	促进丹参酮的合成	Liu等2020
番茄(<i>Solanum lycopersicum</i>)	SIMYB72 SIMYB75	参与类胡萝卜素的合成 抑制 δ -榄香烯、 β -石竹烯和 α -葑草烯的合成	Wu等2020 Gong等2021
克莱门柚(<i>Citrus clementina</i>)	MYB42	促进类柠檬苦素的合成	Zhang等2020
柑橘(<i>Citrus reticulata</i>)	CrMYB68	抑制类胡萝卜素的合成	Zhu等2017
曼地亚红豆杉(<i>Taxus media</i>)	TmMYB3 TmMYB39	促进紫杉醇的合成 促进紫杉醇的合成	Yu等2020 Yu等2022
红豆杉(<i>Taxus chinensis</i>)	TcMYB29a	促进紫杉醇的合成	Cao等2022
黄花蒿(<i>Artemisia annua</i>)	AaMYB15 AaMIXTA1 AaMYB1	抑制青蒿素的合成 促进青蒿素的合成 促进青蒿素的合成	Wu等2021 Shi等2018 Matías-Hernández 等2017
	AaTAR2	促进青蒿素的合成	Zhou等2020
	AaBPF1	促进青蒿素的合成	马嘉伟等2019
	AaTLR1	抑制青蒿素的合成	Lv等2022
	AaMYB108	促进青蒿素的合成	Liu等2023
绞股蓝(<i>Gynostemma pentaphyllum</i>)	GpMYB81	促进绞股蓝皂苷的合成	Huang等2021a
留兰香(<i>Mentha spicata</i>)	MsMYB	抑制柠檬烯、香芹酮等单萜生物合成	Reddy等2017
猕猴桃(<i>Actinidia deliciosa</i>)	AdMYB7	参与类胡萝卜素的合成	Ampomah- Dwamena等2019
番木瓜(<i>Carica papaya</i>)	CpMYB1、 CpMYB2	抑制类胡萝卜素的生物合成	Fu等2020
人参(<i>Panax ginseng</i>)	PgMYB2	促进人参皂苷的合成	Liu等2019
三七(<i>Panax notoginseng</i>)	PnMYB1	促进三七皂苷的合成	雷君等2022
香雪兰(<i>Freesia hybrida</i>)	FhMYB21L1、 FhMYB21L2	参与单萜和倍半萜类物质的合成	Yang等2020
拟南芥(<i>Arabidopsis thaliana</i>)	AtMYB21	参与单萜和倍半萜的合成	Yang等2020
蒺藜苜蓿(<i>Medicago truncatula</i>)	WP1	促进类胡萝卜素的生物合成	Meng等2019
金鱼草(<i>Antirrhinum majus</i>)	AmMYB24	促进罗勒烯的合成	Han等2022
茉莉花(<i>Jasminum sambac</i>)	JsMYB108、 JsMYB305	参与单萜和倍半萜的合成	张月等2021
云木香(<i>Saussurea lappa</i>)	MYB	参与倍半萜内酯的合成	Thakur等2020
桂花(<i>Osmanthus fragrans</i>)	OfMYB19/20 OfMYB51/65/ 88/121/137/144	促进芳樟醇氧化物的合成 抑制芳樟醇氧化物的合成	Li等2020a

表1 (续)

物种	转录因子	生物学功能	参考文献
苹果树(<i>Malus × domestica</i>)	MdMYB88、 MdMYB124	干旱条件下参与脱落酸的合成	Xie等2021
水稻(<i>Oryza sativa</i>)	OsMYB102	抑制脱落酸的合成	Piao等2019
粳稻(<i>Oryza sativa</i> ssp. <i>japonica</i>)	MYB1	磷饥饿下参与赤霉酸的合成	Gu等2017
玉米(<i>Zea mays</i>)	ZmMYB3R	干旱和盐胁迫条件下促进脱落酸的合成	Wu等2019
枣(<i>Ziziphus jujuba</i>)	ZjMYB39、 ZjMYB4	促进科罗素酸等三萜类化合物的合成	Wen等2023
姜花(<i>Hedychium coronarium</i>)	HcMYB1、 HcMYB2	促进芳樟醇的合成	Ke等2021
除虫菊(<i>Tanacetum cinerariifolium</i>)	TcMYB8	促进除虫菊素的合成	Zhou等2022
番红花(<i>Crocus sativus</i>)	CstMYB1、 CstMYB1R2	促进类胡萝卜素的合成	Bhat等2021
百合(<i>Lilium</i>)	LiMYB108	促进罗勒烯和芳樟醇的合成	Yang等2023

过调控MEP生物合成途径促进丹参酮在丹参中的合成。在曼地亚红豆杉(*Taxus media*)中也发现了促进二萜合成的MYB, Yu等(2020)研究发现Tm-MYB3可直接结合紫杉烷2 α -O-苯甲酰基转移酶基因(*TmTBT*)和紫杉烷二烯合酶基因(*TmTS*)启动子的MYB识别元件并激活其表达, 促进紫杉醇在曼地亚红豆杉中的合成。

研究发现柑橘属克莱门柚(*Citrus clementina*)中的MYB42能与氧化鲨烯环化酶基因(*CiOSC*)启动子中II型MYB结合元件(TTGTT序列)结合, 促进三萜类衍生物柠檬苦素的生物合成(Zhang等2020)。另外, 在绞股蓝(*Gynostemma pentaphyllum*)、人参(*Panax ginseng*)、三七(*Panax notoginseng*)等植物中也发现了调控三萜化合物生物合成的MYB基因(Huang等2021a; Liu等2019; 雷君等2022)。同样, 在番茄(*Solanum lycopersicum*)、猕猴桃(*Actinidia deliciosa*)、番木瓜(*Carica papaya*)中也分离鉴定了调控四萜类化合物类胡萝卜素生物合成的MYB基因(Ampomah-Dwamena等2019; Fu等2020; Wu等2020)。

此外, MYB转录因子也可以负调控萜类合成途径酶基因的表达, 影响萜类化合物的生物合成, 如图3-B所示。例如, 研究发现留兰香(*Mentha spicata*) MsMYB可以抑制香叶基二磷酸合酶基因*GPPS*的表达, 从而减少其催化产物GPP在体内的积累;

单萜类化合物生物合成前体GPP的减少, 使留兰香中柠檬烯、香芹酮等单萜类物质的生物合成受阻(Reddy等2017)。柑橘(*Citrus reticulata*) CrMYB68能直接与类胡萝卜素生物合成途径酶基因*CrBCH2*和*CrNCED5*的启动子结合并显著抑制其表达, 从而抑制类胡萝卜素的合成(Zhu等2017)。

2.2 MYB与其他转录因子协同参与萜类化合物生物合成调控

MYB不仅可以单独发挥调控作用, 还可以与其他转录因子形成蛋白复合物共同参与萜类的合成调控。例如Lv等(2022)研究发现黄花蒿R2R3-MYB转录因子AaTLR1与腺毛发育正调控子GL3 (bHLH)相互作用, 抑制了腺毛的发育; 同时, AaTLR1通过招募WUSCHEL-like蛋白WOX1, 与LFY家族转录因子AaTLR2相互作用, 形成AaTLR1-WOX1-AaTLR2蛋白复合物, 抑制AaTLR2的转录激活活性; AaTLR2是GA合成的正调控因子, GA能够促进腺毛的发育; 最终AaTLR1与AaTLR2通过抑制GA的合成, 阻碍了腺毛的发育, 从而降低了青蒿素的合成(图3-C)。

香雪兰(*Freesia hybrida*) FhMYB21L1和FhMYB21L2可显著激活单萜烯合酶基因*FhTPS1*的表达, 促进芳樟醇的合成。然而, 当FhMYC2与FhMYB21L2相互作用形成蛋白复合物时, 干扰了FhMYB21L2与*FhTPS1*启动子的结合, 抑制*FhTPS1*基因

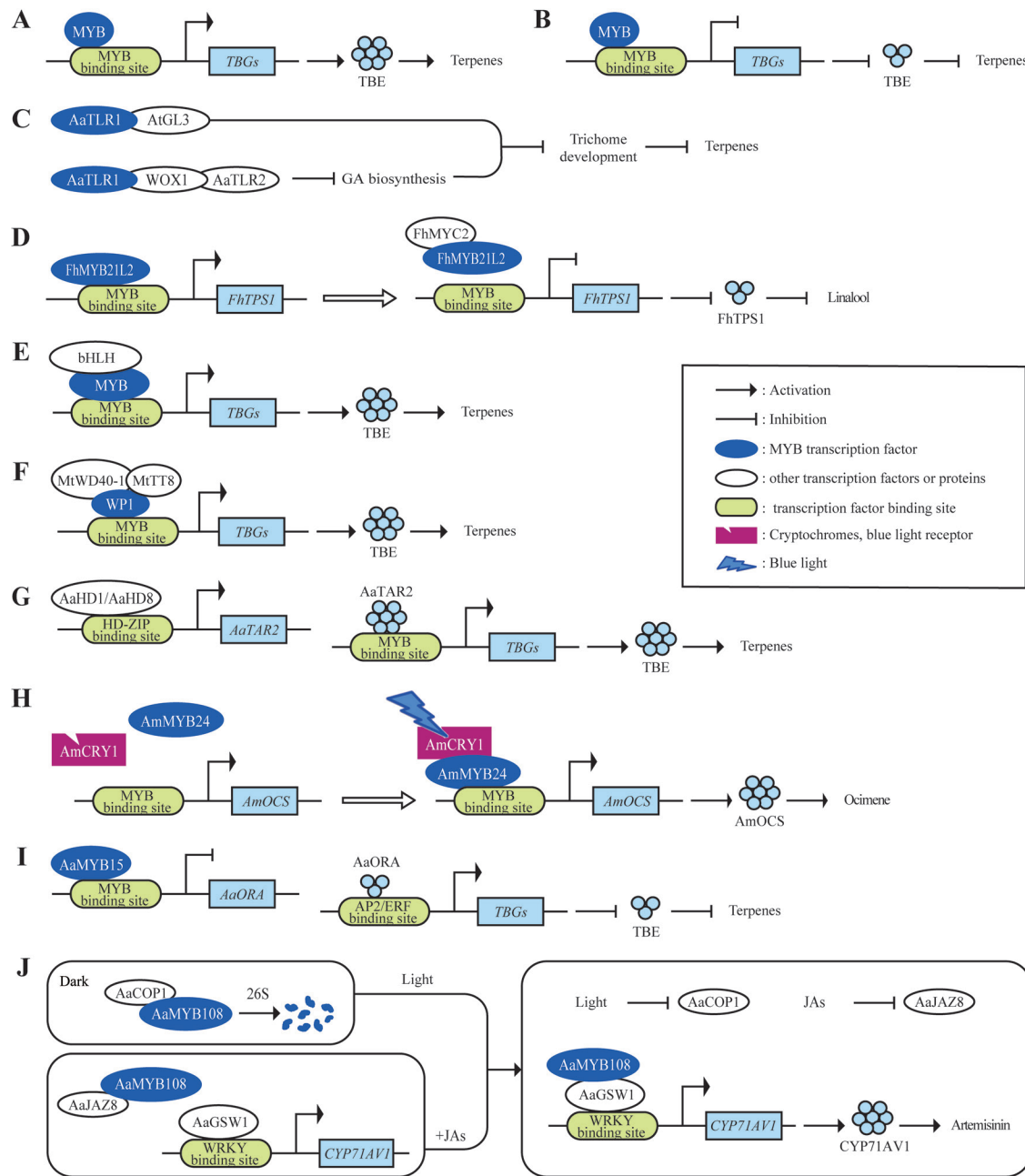


图3 MYB转录因子调控萜类生物合成的分子机制

Fig. 3 Molecular mechanism of MYB transcription factor regulating terpenoid biosynthesis

A和B: MYB直接调控萜类合成途径酶基因表达, 促进或抑制萜类物质合成; C~F: MYB与其他转录因子形成蛋白复合物调控萜类合成途径酶基因表达, 减少或提高萜类物质的合成; G: HD-ZIP转录因子AaHD1/AaHD8与MYB转录因子AaTAR2形成层级转录调控, 激活萜类合成途径酶基因表达, 促进萜类物质的合成; H: 蓝光激活光信号受体AmCRY1, 与AmMYB24互作增强其转录激活活性, 促进萜类物质合成; I: AaMYB15抑制萜类物质合成的正调节因子AaORA, 从而抑制萜类物质的合成; J: 光和JA诱导AaMYB108-AaGSW1复合物形成, 从而增强CYP71AV1基因的表达, 促进萜类物质合成。图中TBGs: 萜类物质合成相关酶基因; TBE: 萜类合成相关酶。

的表达,进而抑制了芳樟醇的合成(图3-D)。同样地,*FhMYC2*与*FhMYB21L2*在拟南芥中异源表达,也可以抑制萜类合酶基因*AtTPS14*的表达。该研究证明了MYB-bHLH蛋白复合物参与植物单萜生物合成的调控。*FhMYC2*和*FhMYB21L2*在拟南芥中的同源蛋白*AtMYC2*和*AtMYB21*也被证明可以形成MYB-bHLH蛋白复合物直接调控单萜烯合酶基因*AtTPS14*的表达,证明该调控机制的保守性(Yang等2020)。丹参*SmMYB36*可以上调MEP生物合成途径及下游丹参酮合成途径多个酶基因的表达;同时*SmMYB36*还抑制了苯丙烷代谢通路和酪氨酸衍生通路多个酶基因的表达,通过转录调控改变了碳代谢流的流向,从而改变代谢产物的合成,最终促进丹参酮的合成,抑制丹酚酸和类黄酮的合成;此外,研究发现*SmMYB36*能与bHLH转录因子超家族IIIe亚家族蛋白*SmbHLH128*互作,推测*SmMYB36*可能和*SmbHLH128*形成异源二聚体共同参与调控丹参中丹参酮和酚酸类物质的合成(图3-E)(Ding等2017;赵英2019)。曼地亚红豆杉*TmMYB39*能与*TmbHLH13*相互作用形成*TmMYB39-TmbHLH13*复合物,并显著激活了紫杉醇生物合成基因*GGPPS*和*T46OH*的表达,促进紫杉醇在曼地亚红豆杉中的合成(图3-E)(Yu等2022)。蒺藜苜蓿(*Medicago truncatula*) MYB转录因子WHITE PET-AL1(WP1)可直接调控或与MtTT8和MtWD40-1相互作用形成MYB-bHLH-WDR蛋白复合物调控四萜化合物类胡萝卜素生物合成基因番茄红素 ϵ -环化酶基因(*MtLYCe*)和番茄红素 β -环化酶基因(*MtLCYb*)的表达,提高蒺藜苜蓿中类胡萝卜素的产量(图3-F)(Meng等2019)。

MYB转录因子除了通过与其他蛋白形成复合物协同调控萜类合成外,还可与其他转录因子形成层级转录调控。例如,在黄花蒿中,HD-ZIP家族蛋白AaHD1和AaHD8直接激活MYB转录因子Aa-TAR2的表达,AaTAR2可以激活青蒿素生物合成途径酶基因*ADS*、*CYP71AV1*、*DBR2*和*ALDH1*的表达,最终AaTAR2和HD-ZIP协同促进青蒿素在黄花蒿中的生物合成(图3-G)(Zhou等2020)。

2.3 MYB介导环境诱导下萜类物质的生物合成

MYB蛋白可以响应环境信号的诱导,如光照、

黑暗、激素等,参与萜类生物合成调控。研究发现,蓝光可以显著诱导金鱼草(*Antirrhinum majus*) *AmMYB24*基因的表达,*AmMYB24*与罗勒烯合成酶基因(*AmOCS*)启动子中的MYBCORECYCATB1位点直接结合,激活*AmOCS*基因的表达,促进金鱼草中罗勒烯的合成;此外,*AmMYB24*可以与蓝光信号关键受体*AmCRY1*相互作用,当干扰*AmCRY1*蛋白表达时,*AmMYB24*的转录激活活性降低,以上结果揭示了蓝光诱导金鱼草中罗勒烯生物合成的调控机制,即蓝光首先激活金鱼草光信号受体*AmCRY1*,随后*AmCRY1*与*AmMYB24*相互作用增强*AmMYB24*的转录激活活性,直接激活*AmOCS*的表达,最终促进金鱼草中罗勒烯的合成(图3-H)(Han等2022)。R2R3-MYB转录因子AaMYB15受黑暗环境和茉莉酸(JA)的诱导表达上调,随后直接结合青蒿素生物合成的正向调节因子AaORA的启动子,抑制其正常表达,进而抑制了青蒿素合成途径酶基因*ADS*、*CYP71AV1*、*DBR2*和*ALDH1*的表达,减少了青蒿素的合成(图3-I)(Lu等2013;Wu等2021)。黄花蒿AaMYB108是整合光和JA信号调节青蒿素生物合成的核心因子(图3-J)。在光照条件下,茉莉酸甲酯(MeJA)处理黄花蒿,AaMYB108阻遏蛋白AaJAZ8被降解,植物体内产生大量AaMYB108-AaGSW1复合物,增强了青蒿素合成途径酶基因*CYP71AV1*的表达;而在黑暗条件下,泛素连接酶AaCOP1被激活并与AaMYB108相互作用,导致AaMYB108被降解,抵消了MeJA对AaMYB108的诱导作用,从而减弱了AaMYB108-AaGSW1对*CYP71AV1*的转录激活作用,影响青蒿素的合成(Liu等2023)。

人参PgMYB2受MeJA诱导,表达水平上调,能直接结合人参皂苷合成中关键酶基因达玛烯二醇合成酶(*PgDS*)的启动子并激活其表达,促进人参皂苷的合成(Liu等2019)。丹参*SmMYB97*响应外源MeJA信号诱导,表达水平提高,能够直接结合丹参酮和丹酚酸生物合成酶基因*SmPAL1*、*SmTAT1*、*SmCPS1*和*SmKSL1*的启动子,激活其表达,促进丹参酮和丹酚酸的合成。反之,当JA浓度较低时,JA信号通路抑制因子*SmJAZ8*与*SmMYB97*相互作用,抑制*SmMYB97*的转录激活活性,影响丹参酮和丹

酚酸的合成(Li等2020b)。此外,低磷条件可以诱导*SmMYB98b*的表达上调,促进丹参酮的生物合成(Liu等2020)。红豆杉(*Taxus chinensis*) TcMYB29a响应脱落酸(ABA)的诱导,表达水平上调,随后调控紫杉醇生物合成相关基因*TcTS*、*TcT5OH*和*TcD-BTNBT*的表达,提高了红豆杉细胞悬浮培养物中紫杉醇的合成(Cao等2022)。除此之外,Yin等(2020)发现白桦(*Betula platyphylla*) MYB转录因子BpMYB21和BpMYB61受多种激素如ABA、水杨酸(SA)、MeJA等的诱导,可以通过转录调控3-羟基-3-甲基戊二酸单酰辅酶A还原酶(HMGR)、角鲨烯环氧酶(SE)、鲨烯合酶(SS)、法尼烯焦磷酸合成酶(FPS)、羽扇豆醇合酶(BPW)、 β -香树素合酶(BPY)等三萜类化合物合成途径酶编码基因的表达,参与齐墩果酸、白桦醇、白桦酸的合成。

3 展望

综上,MYBs调控植物萜类合成的分子机制十分复杂多样,还需要不断探索。今后的研究中,应借助染色质免疫共沉淀技术联合测序技术(ChIP-seq)、酵母单杂交、双荧光素酶系统筛选获得更多MYB转录因子直接调控的下游基因,并挖掘能够与MYB形成层级转录调控模块的调控因子,解析更复杂的转录调控机制。同时,应借助酵母双杂交筛库系统、双分子荧光互补实验、pull down等蛋白互作的技术手段,挖掘更多与MYB转录因子形成蛋白复合物,协同或拮抗调控萜类生物合成的共调控因子。另外,植物作为固着生物,难免受到高温、寒冷、光、高盐、干旱等的影响。植物感应环境信号刺激,调控次级代谢产物的合成和积累,以抵御不利环境的影响。因此,研究MYB应答不同环境信号,调控萜类化合物合成的分子机制,也是今后研究工作的重点(Khoso等2022; Pratyusha和Sarada 2022)。

萜类合成和调控的研究,还应与实际应用相结合。如利用CRISPR-Cas9等工具对植物中萜类合成相关酶基因进行编辑,以提高目标萜类物质的合成和积累。研究植物生长调节剂的应用,如JA、ABA、GA等激素,可以诱导植物不同萜类化合物的合成。另外,随着农杆菌介导的毛状根遗传

转化技术的建立和广泛应用,毛状根成为重要的生物反应器,借助其激素自养、遗传稳定、增殖快速的特点,可以实现萜类目标产物的工业化生产,以满足社会需求。

参考文献(References)

- Agatonovic-Kustrin S, Kustrin E, Gegechkori V, et al (2020). Anxiolytic terpenoids and aromatherapy for anxiety and depression. *Adv Exp Med Biol*, 1260: 283–296
- Ampomah-Dwamena C, Thrimawithana AH, Dejnopratt S, et al (2019). A kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) R2R3-MYB transcription factor modulates chlorophyll and carotenoid accumulation. *New Phytol*, 221: 309–325
- Baglyas M, Ott PG, Schwarczinger I, et al (2023). Antimicrobial diterpenes from rough goldenrod (*Solidago rugosa* Mill.). *Molecules*, 28: 3790
- Bhat ZY, Mohiuddin T, Kumar A, et al (2021). *Crocus* transcription factors *CstMYB1* and *CstMYB1R2* modulate apocarotenoid metabolism by regulating carotenogenic genes. *Plant Mol Biol*, 107: 49–62
- Block AK, Vaughan MM, Schmelz EA, et al (2019). Biosynthesis and function of terpenoid defense compounds in maize (*Zea mays*). *Planta*, 249: 21–30
- Cao XY, Xu LX, Li LD, et al (2022). TcMYB29a, an ABA-responsive R2R3-MYB transcriptional factor, upregulates taxol biosynthesis in *Taxus chinensis*. *Front Plant Sci*, 13: 804593
- Cao YP, Li K, Li YL, et al (2020). MYB transcription factors as regulators of secondary metabolism in plants. *Biology*, 9: 61
- Christianson DW (2017). Structural and chemical biology of terpenoid cyclases. *Chem Rev*, 117: 11570–11648
- Ding K, Pei TL, Bai ZQ, et al (2017). SmMYB36, a novel R2R3-MYB transcription factor, enhances tanshinone accumulation and decreases phenolic acid content in *Salvia miltiorrhiza* hairy roots. *Sci Rep*, 7: 5104
- Dubos C, Stracke R, Grotewold E, et al (2010). MYB transcription factors in *Arabidopsis*. *Trends Plant Sci*, 15: 573–581
- Fu CC, Chen HJ, Gao HY, et al (2020). Two papaya MYB proteins function in fruit ripening by regulating some genes involved in cell-wall degradation and carotenoid biosynthesis. *J Sci Food Agric*, 100: 4442–4448
- Gong ZH, Luo YQ, Zhang WF, et al (2021). A SIMYB75-centred transcriptional cascade regulates trichome formation and sesquiterpene accumulation in tomato. *J Exp Bot*, 72: 3806–3820
- Gu M, Zhang J, Li HH, et al (2017). Maintenance of phosphate homeostasis and root development are coordinately

- regulated by MYB1, an R2R3-type MYB transcription factor in rice. *J Exp Bot*, 68: 3603–3615
- Han JN, Li T, Wang XL, et al (2022). AmMYB24 regulates floral terpenoid biosynthesis induced by blue light in snapdragon flowers. *Front Plant Sci*, 13: 885168
- Hao XL, Pu ZQ, Cao G, et al (2020). Tanshinone and salvianolic acid biosynthesis are regulated by *SmMYB98* in *Salvia miltiorrhiza* hairy roots. *J Adv Res*, 23: 1–12
- Huang D, Ming RH, Xu SQ, et al (2021a). Genome-wide identification of R2R3-MYB transcription factors: discovery of a “Dual-Function” regulator of gypenoside and flavonol biosynthesis in *Gynostemma pentaphyllum*. *Front Plant Sci*, 12: 796248
- Huang PW, Wang LR, Geng SS, et al (2021b). Strategies for enhancing terpenoids accumulation in microalgae. *Appl Microbiol Biotechnol*, 105: 4919–4930
- Jiang CX, Qin YW, Yuan W, et al (2019). Effect of different steaming processing methods on component content of *Curcuma wenyujin*. *J Chin Med Mater*, 42: 2277–2279 (in Chinese with English abstract) [姜程曦, 秦宇雯, 袁玮等 (2019). 不同蒸制加工方法对温郁金成分含量的影响. *中药材*, 42: 2277–2279]
- Kamran S, Sinniah A, Abdulghani MAM, et al (2022). Therapeutic potential of certain terpenoids as anticancer agents: a scoping review. *Cancers*, 14: 1100
- Ke YG, Abbas F, Zhou YW, et al (2021). Auxin-responsive R2R3-MYB transcription factors HcMYB1 and HcMYB2 activate volatile biosynthesis in *Hedychium coronarium* flowers. *Front Plant Sci*, 12: 710826
- Khoso MA, Hussain A, Ritonga FN, et al (2022). WRKY transcription factors (TFs): molecular switches to regulate drought, temperature, and salinity stresses in plants. *Front Plant Sci*, 13: 1039329
- Lei J, Chen Q, Deng B, et al (2022). Biosynthesis of *Panax notoginseng* saponins regulated by R2R3-MYB transcription factor PnMYB1. *Biotechnol Bull*, 38: 74–83 (in Chinese with English abstract) [雷君, 陈勤, 邓兵等 (2022). R2R3-MYB转录因子PnMYB1调控三七皂苷生物合成. *生物技术通报*, 38: 74–83]
- Li HY, Yue YZ, Ding WJ, et al (2020a). Genome-wide identification, classification, and expression profiling reveals R2R3-MYB transcription factors related to monoterpenoid biosynthesis in *Osmanthus fragrans*. *Genes*, 11: 353
- Li L, Wang DH, Zhou L, et al (2020b). JA-responsive transcription factor SmMYB97 promotes phenolic acid and tanshinone accumulation in *Salvia miltiorrhiza*. *J Agric Food Chem*, 68: 14850–14862
- Lim TG, Lee CC, Dong ZG, et al (2015). Ginsenosides and their metabolites: a review of their pharmacological activities in the skin. *Arch Dermatol Res*, 307: 397–403
- Liu H, Li L, Fu XQ, et al (2023). AaMYB108 is the core factor integrating light and jasmonic acid signaling to regulate artemisinin biosynthesis in *Artemisia annua*. *New Phytol*, 237: 2224–2237
- Liu L, Yang DF, Xing BC, et al (2020). SmMYB98b positive regulation to tanshinones in *Salvia miltiorrhiza* Bunge hairy roots. *Plant Cell*, 140: 459–467
- Liu T, Luo T, Guo XQ, et al (2019). PgMYB2, a MeJA-responsive transcription factor, positively regulates the dammarenediol synthase gene expression in *Panax ginseng*. *Int J Mol Sci*, 20: 2219
- Lu X, Zhang L, Zhang FY, et al (2013). AaORA, a trichome-specific AP2/ERF transcription factor of *Artemisia annua*, is a positive regulator in the artemisinin biosynthetic pathway and in disease resistance to *Botrytis cinerea*. *New Phytol*, 198: 1191–1202
- Lv ZY, Li JX, Qiu S, et al (2022). The transcription factors TLR1 and TLR2 negatively regulate trichome density and artemisinin levels in *Artemisia annua*. *J Integr Plant Biol*, 64: 1212–1228
- Ma JW, Wang YT, Yan ZN, et al (2019). Cloning and functional analysis of MYB transcription factor AaBPF1 in *Artemisia annua* L. *Curr Biotechnol*, 9: 35–45 (in Chinese with English abstract) [马嘉伟, 王宇婷, 严振宁等 (2019). 青蒿MYB类转录因子AaBPF1的克隆及功能研究. *生物技术进展*, 9: 35–45]
- Matías-Hernández L, Jiang WM, Yang K, et al (2017). AaMYB1 and its orthologue AtMYB61 affect terpene metabolism and trichome development in *Artemisia annua* and *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*, 90: 520–534
- Mei XD, Cao YF, Che YY, et al (2019). Danshen: a phytochemical and pharmacological overview. *Chin J Nature Med*, 17: 59–80
- Meng YY, Wang ZY, Wang YQ, et al (2019). The MYB activator WHITE PETAL1 associates with MtTT8 and MtWD40-1 to regulate carotenoid-derived flower pigmentation in *Medicago truncatula*. *Plant Cell*, 31: 2751–2767
- Nagegowda DA, Gupta P (2020). Advances in biosynthesis, regulation, and metabolic engineering of plant specialized terpenoids. *Plant Sci*, 294: 110457
- O'Connor C, Varshosaz P, Moise AR (2022). Mechanisms of feedback regulation of vitamin A metabolism. *Nutrients*, 14: 1312
- Piao WL, Kim SH, Lee BD, et al (2019). Rice transcription factor OsMYB102 delays leaf senescence by down-regulating abscisic acid accumulation and signaling. *J Exp Bot*, 70: 2699–2715
- Pratyusha DS, Sarada DVL (2022). MYB transcription factors—master regulators of phenylpropanoid biosynthesis and diverse developmental and stress responses. *Plant*

- Cell Rep, 41: 2245–2260
- Reddy VA, Wang Q, Dhar N, et al (2017). Spearmint R2R3-MYB transcription factor MsMYB negatively regulates monoterpene production and suppresses the expression of geranyl diphosphate synthase large subunit (*MsGPPS.LSU*). Plant Biotechnol J, 15: 1105–1119
- Shi P, Fu XQ, Shen Q, et al (2018). The roles of *AaMIXTA1* in regulating the initiation of glandular trichomes and cuticle biosynthesis in *Artemisia annua*. New Phytol, 217: 261–276
- Thakur V, Bains S, Pathania S, et al (2020). Comparative transcriptomics reveals candidate transcription factors involved in costunolide biosynthesis in medicinal plant-*Saussurea lappa*. Int J Biol Macromol, 150: 52–67
- Tholl D, Rebholz Z, Morozov AV, et al (2023). Terpene synthases and pathways in animals: enzymology and structural evolution in the biosynthesis of volatile infochemicals. Nat Prod Rep, 40: 766–793
- Wang X, Ort DR, Yuan JS (2015). Photosynthetic terpene hydrocarbon production for fuels and chemicals. Plant Biotechnol J, 13: 137–146
- Wen CP, Zhang Z, Shi QQ, et al (2023). Transcription factors *ZjMYB39* and *ZjMYB4* regulate farnesyl diphosphate synthase- and squalene synthase-mediated triterpenoid biosynthesis in jujube. J Agric Food Chem, 71: 4599–4614
- Wu JD, Jiang YL, Liang YN, et al (2019). Expression of the maize MYB transcription factor ZmMYB3R enhances drought and salt stress tolerance in transgenic plants. Plant Physiol Biochem, 137: 179–188
- Wu MB, Xu X, Hu XW, et al (2020). SlMYB72 regulates the metabolism of chlorophylls, carotenoids, and flavonoids in tomato fruit. Plant Physiol, 183: 854–868
- Wu ZKY, Li L, Liu H, et al (2021). AaMYB15, an R2R3-MYB TF in *Artemisia annua*, acts as a negative regulator of artemisinin biosynthesis. Plant Sci, 308: 110920
- Xie YP, Bao CN, Chen PX, et al (2021). Abscisic acid homeostasis is mediated by feedback regulation of *MdMYB88* and *MdMYB124*. J Exp Bot, 72: 592–607
- Yang YY, Zhang X, Han MZ, et al (2023). LiMYB108 is involved in floral monoterpene biosynthesis induced by light intensity in *Lilium* ‘Siberia’. Plant Cell Rep, 42: 763–773
- Yang ZZ, Li YQ, Gao FZ, et al (2020). MYB21 interacts with MYC2 to control the expression of terpene synthase genes in flowers of *Freesia hybrida* and *Arabidopsis thaliana*. J Exp Bot, 71: 4140–4158
- Yin J, Sun L, Li Y, et al (2020). Functional identification of *BpMYB21* and *BpMYB61* transcription factors responding to MeJA and SA in birch triterpenoid synthesis. BMC Plant Biol, 20: 374
- Yu CN, Huang JF, Wu QC, et al (2022). Role of female-predominant MYB39-bHLH13 complex in sexually dimorphic accumulation of taxol in *Taxus media*. Hortic Res, 9: uhac062
- Yu CN, Luo XJ, Zhang CC, et al (2020). Tissue-specific study across the stem of *Taxus media* identifies a phloem-specific TmMYB3 involved in the transcriptional regulation of paclitaxel biosynthesis. Plant J, 103: 95–110
- Zhai BT, Zeng YY, Zeng ZW, et al (2018). Drug delivery systems for elemene, its main active ingredient β -elemene, and its derivatives in cancer therapy. Int J Nanomed, 13: 6279–6296
- Zhang JX, Zhou LB, Zheng XY, et al (2017). Overexpression of *SmMYB9b* enhances tanshinone concentration in *Salvia miltiorrhiza* hairy roots. Plant Cell Rep, 36: 1297–1309
- Zhang P, Liu XF, Yu X, et al (2020). The MYB transcription factor *CiMYB42* regulates limonoids biosynthesis in citrus. BMC Plant Biol, 20: 254
- Zhang Y, Yuan Y, He X, et al (2021). Cloning of *JsMYB108* and *JsMYB305* and analysis of their activation on *TPS* gene in *Jasminum sambac*. Chin J Trop Crops, 42: 1539–1548 (in Chinese with English abstract) [张月, 袁媛, 何弦等(2021). 茉莉花*JsMYB108*和*JsMYB305*基因的克隆及其对*TPS*基因的激活作用. 热带作物学报, 42: 1539–1548]
- Zhao Y (2019). Terpenoids and phenylpropanoids metabolic regulation by *SmMYB36* in *Saivia miltiorrhiza* Bunge (dissertation). Yangling, Shaanxi: Northwest A&F University (in Chinese with English abstract) [赵英(2019). 丹参*SmMYB36*基因对萜类和苯丙烷代谢途径调控的研究(学位论文). 陕西杨凌: 西北农林科技大学]
- Zheng H, Fu XQ, Shao J, et al (2023). Transcriptional regulatory network of high-value active ingredients in medicinal plants. Trends Plant Sci, 28: 429–446
- Zhou F, Pichersky E (2020). More is better: the diversity of terpene metabolism in plants. Curr Opin Plant Biol, 55: 1–10
- Zhou L, Li JW, Zeng T, et al (2022). TcMYB8, a R3-MYB transcription factor, positively regulates pyrethrin biosynthesis in *Tanacetum cinerariifolium*. Int J Mol Sci, 23: 12186
- Zhou Z, Tan HX, Li Q, et al (2020). *TRICHOME AND ARTEMISININ REGULATOR 2* positively regulates trichome development and artemisinin biosynthesis in *Artemisia annua*. New Phytol, 228: 932–945
- Zhu F, Luo T, Liu CY, et al (2017). An R2R3-MYB transcription factor represses the transformation of α - and β -branch carotenoids by negatively regulating expression of *CrBCH2* and *CrNCED5* in flavedo of *Citrus reticulata*. New Phytol, 216: 178–192