

# 植物花色素合成的转录调控研究进展

史倩倩, 周琳, 李奎, 王雁\*

(中国林业科学研究院林业研究所, 国家林业局林木培育重点实验室, 北京 100091)

**摘要:**花色素是由植物类黄酮代谢途径产生的次生代谢产物,决定了花、果实和种子的颜色。随着类黄酮代谢途径的研究不断地深入,多种植物编码合成花色素的结构基因也已得到克隆,并研究证明花色素合成结构基因与转录因子(MYB、bHLH和WD40)有着极其复杂的相互作用模式。本文主要对花青素合成相关的MYB、bHLH和WD40转录因子及其在调节结构基因表达和花青素合成中的作用进行了综述。

**关键词:**花色素;MYB;bHLH;WD40;转录因子

**中图分类号:**S718.46

**文献标识码:**A

## Transcriptional Regulation Involved in Anthocyanin Biosynthesis in Plants

SHI Qian-qian, ZHOU Lin, LI Kui, WANG Yan

(Key Laboratory of Tree Breeding and Cultivation, State Forestry Administration, Research Institute of Forestry,  
Chinese Academy of Forestry, Beijing 100091, China)

**Abstract:** Anthocyanin is a kind of secondary products during the process of flavonoid metabolizing and determine the colors of flowers, fruits and seeds. With the research on flavonoids biosynthesis, many structural genes synthesized anthocyanins of various plants have been cloned, and the previous studies showed that the structural genes were activated by transcription factors (MYB, bHLH and WD40) with complex interaction patterns. In this paper, MYB transcription factors, bHLH transcription factors and WD40 repeat protein involved in anthocyanin biosynthesis and their roles in the regulation of structural gene expression and anthocyanin synthesis are reviewed.

**Key words:** anthocyanin; MYB; bHLH; WD40; transcription factor

花色素是由类黄酮代谢通路产生的。随着对拟南芥(*Arabidopsis thaliana* L.)等模式植物类黄酮分子调控研究的不断深入,人们发现除结构基因外,还有一类调节基因可通过调控结构基因的表达,在转录水平上参与花色的形成<sup>[1]</sup>。转录调节是植物花色素苷生物合成途径中调节其结构基因表达的重要环节之一。转录因子通过与结构基因启动子中含有的能被其识别的顺式作用元件发生特异性结合,单独或协同调节花色素苷生物合成途径中一个或多个结构基因的表达,从而有效控制植物体内花色素苷的合成。因此,研究植物花色素苷生物合成途径的转

录调控,是揭示花色形成分子调控机制的根本,具有重要意义。

### 1 花色素

花色素又称花青素,是一类水溶性类黄酮色素,使植物的花、果实、种子和根呈现红色、蓝色和紫色等不同颜色,还能保护植物免受紫外线损伤,抵御各种环境胁迫及微生物病原体的侵害<sup>[2]</sup>。

花色素在细胞质中合成,在液泡中累积。花色素生物合成主要受两类基因的共同控制,一类是结构基因,另一类是转录因子。花色素生物合成酶由

一系列结构基因编码而成,主要包括 *PAL*、*CHS*、*CHI*、*F3H*、*F3' H*、*F3' 5' H*、*DFR*、*LDOX/ANS*、*UFGT* 和 *AOMT* <sup>[3,4]</sup>。这些花色素生物合成基因的表达水平随着花色素的积累不断地提高,且它们的 mRNAs 水平也随着花色素含量的变化不断变化,如一些葡萄品种中的 *CHS3* 的表达缺失导致花青素无法合成<sup>[5]</sup>。转录因子能够通过特异的 DNA-蛋白质和蛋白质-蛋白质相互作用激活或者抑制结构基因的表达,从而调节花色素的合成。大多数植物花色素的合成是通过 MYB-bHLH 复合物或者 MYB-bHLH-WD40 复合物(MBW 复合物)进行调节<sup>[6]</sup>。

## 2 调控花色素合成基因的转录因子

### 2.1 MYB 转录因子

MYB 蛋白是植物转录因子中最大的家族之一,也是花色素生物合成中涉及最广泛的调节因子。MYB 类转录因子编码的蛋白具有一个碱性 N 端,含有 1~3 个保守的 DNA 结合区域(Myb 结构域)。

根据蛋白质中 Myb 结构域的个数,MYB 转录因子可以分为 3 类:单一结构域(R3)蛋白、2 个重复结构域(R2R3)蛋白和 3 个重复结构域(R1R2R3)蛋白,其中,R2R3MYB 家族主要参与类黄酮和花色素苷生物合成途径调控作用。如玉米(*Zea mays* L.)的 C1 是植物中第 1 个被分离鉴定的与花色素合成相关的 MYB 转录因子<sup>[7]</sup>,与玉米中 bHLH 蛋白类的 R 或 B 基因互作,激活花青素合成途径的 *DFR* 启动子和 *3GT* 基因<sup>[8]</sup>。随后,从矮牵牛<sup>[9]</sup>、非洲菊(*Gerbera jamesonii* Bolus)<sup>[10]</sup>、番茄(*Lycopersicon esculentum* Mill)<sup>[11]</sup>、葡萄<sup>[12]</sup>、金鱼草(*Antirrhinum majus* L.)<sup>[13]</sup>、番薯(*Dioscorea esculenta* (Lour.) Burkill)<sup>[14]</sup>、苹果(*Malus pumila* Mill.)<sup>[15]</sup>、龙胆(*Gentian scabra* Bunge)<sup>[16]</sup>、杨梅(*Myrica rubra* (Lour.) S. et Zucc)<sup>[17]</sup>、百合(*Lilium brownii* F. E.)<sup>[18]</sup>等多种植物中都分离到参与调控类黄酮生物的合成,进而影响植物花器官或果实着色的 MYB 基因(表 1)。

表 1 部分已被克隆的与花青素合成相关的 MYB 转录因子

MYB 转录因子	植物	被调节的基因	文献来源
C1/P1	玉米	<i>CHS</i> 、 <i>DFR</i> 、 <i>3GT</i>	[7]
PAP1	拟南芥	<i>CHS</i>	[19]
u3		<i>DFR</i>	
u5		<i>CHI</i>	
u6		<i>F3H</i>	
u7		<i>F3' H</i>	
MYB12		<i>CHS</i> 、 <i>FLS</i>	[20]
An2	矮牵牛	未报道	[21]
An4		未报道	
PH4		未报道	
NtMYBS1	烟草	<i>PAL</i>	[22]
Ant1	番茄	<i>CHS</i> 、 <i>DFR</i>	[11]
Rpsea1/2	金鱼草	<i>F3H</i> 、 <i>DFR</i> 、 <i>ANS</i> 、 <i>3GT</i>	[13]
MYB305、MYB340		<i>PAL</i> 、 <i>CHI</i> 、 <i>F3H</i>	[23]
PlMYB	紫苏	<i>DFR</i>	[24]
LhMYB12	百合	未报道	[18]
IbMYB1	番薯	<i>ANS</i> 、 <i>F3' H</i>	[14]
IpMYB1	牵牛	<i>CHS</i> 、 <i>CHI</i> 、 <i>F3H</i>	[25]
IpMYB/C-1			
VvMYBA2	葡萄	<i>ANS</i>	[5]
VlMYBA1-1		<i>3GT</i>	[26]
MdMYBA	苹果	<i>ANS</i>	[27]
MdMYB10		<i>DFR</i>	[15]
GtMYB2a	龙胆	<i>CHS</i> 、 <i>CHI</i> 、 <i>FNS2</i> 、 <i>F3H</i>	[16]
GtMYB2b		<i>F3' H</i> 、 <i>F3' 5' H</i> 、 <i>DFR</i>	
GtMYB3		<i>ANS</i> 、 <i>3GT</i> 、 <i>5AT</i>	
MrMYB1	杨梅	<i>DFR</i>	[17]
PcMYB10	西洋梨	<i>DFR</i>	[28]
PpMYB10	红色沙梨	未报道	[29]

注:西洋梨(*Pyrus communis*(Roxb. ex Wild.) DC.),红色沙梨(*Pyrus pyrifolia*(Burm. f.))。

## 2.2 bHLH 转录因子

bHLH (basic helix-loop-helix, 碱性螺旋-环-螺旋) 转录因子编码的蛋白结构中含有保守的 bHLH 基序, 每个 bHLH 基序约由 60 个氨基酸残基组成, 含有 2 个亚功能区, 即位于 C 末端的 HLH 区域和 N 末端的碱性氨基酸区域。HLH 区域之间可依赖疏水氨基酸的相互作用形成同型或异型二聚体, 碱性区域负责与 DNA 顺式元件 (E-box 等) 结合<sup>[30]</sup>。在植物的花青素合成、花器官发育、光形态建成、激素应答、金属离子体内平衡等方面发挥重要作用。目前, 拟南芥 *TT8*、玉米 (*Lc*、*B*、*R/B*)、水稻 (*Oryza sativa* L.) *OSB1*、矮牵牛 (*AN1*、*AN4*、*AN11*)、金鱼草 *Delila*、牵牛 (*Ipomoea purpurea* L.) (*InDEL*、*InIVS*、*InbHLH3*)、非洲菊 *gmyc1*、龙胆 *GtbHLH1*、亚洲杂交百合 *LhbHLH2*、苹果 (*MdbHLH3*、*MdbHLH33*) 等多种植物的调控花色素合成相关基因的 bHLH 转录因子已被克隆并进行功能鉴定<sup>[15-16, 18, 28, 32-34]</sup>。

## 2.3 WD40 蛋白

WD40 蛋白非常保守, 通常含有 4~16 个串联重复的 WD 基元, 核心区域由 40 个氨基酸残基组成 (色氨酸和天冬氨酸重复单一序列), 序列 N 末端 11~24 个残基处以 GH 开始, C 末端结尾为 WD<sup>[35]</sup>。矮牵牛的 *AN11* 是第 1 个在植物中发现的 WD40 蛋白, 在矮牵牛 *AN11* 突变体中发现, *DFR* 的表达量受到影响并下降, 进而对花青素的合成起到调控作用<sup>[36]</sup>。随后在拟南芥 *TTG1*、玉米 *PAC*、紫苏 *PtWD*、牵牛 (*IpWDR1*、*IpWDR2*)、紫花苜蓿 (*Medicago sativa* L.) *MtWD40* 等植物的 WD40 蛋白也都相继被发现与花青素的合成有关<sup>[25, 37-41]</sup>。

# 3 花色素合成的相关调控研究

## 3.1 转录因子独立调控作用

在 MBW 复合体对花色素生物合成调控的研究中, MYB 转录因子的作用最重要, 已在拟南芥、苹果、葡萄、梨及其他蔷薇科植物中得到证实<sup>[17]</sup>。一些 MYB 蛋白也可以不依靠其他因子的辅助, 独立起转录调控作用, 如拟南芥 *AtPAP1* 和 *AtPAP2*、矮牵牛 *PhAN2*、番茄 *LeANT1*、非洲菊 *GMYP10* 以及葡萄 *VvMYB1* 等能够直接活化花色素苷代谢途径上的某个 (些) 基因, 并且将它们单独转化多种植物, 都能得到结构基因表达增强或花色素大量积累<sup>[1]</sup>。葡萄的 *VvMYBA1* 由于转座子的插入而无法表达, 产生白色品种<sup>[26]</sup>; *MrMYB1* 的突变产生白色杨梅和 MYB

的超表达提高了苹果和橙子果肉的花色素含量<sup>[42]</sup>。

MYB 转录因子可以通过影响结构基因的表达间接调控花青素的合成。Schwinn 等<sup>[13]</sup>从金鱼草花瓣中分离到 3 个 R2R3 MYB 转录因子 *Rosea1*、*Rosea2* 和 *Venosa*, 并发现它们可以通过激活花青素合成过程中不同关键酶基因的表达影响花色素的积累, 如 *Rosea1* 高度调节 *F3H*、*F3'H*、*FLS*、*DFR* 和 *UFGT* 的表达; *Rosea2* 仅对 *F3'H* 进行表达诱导; *Venosa* 对 *F3H*、*F3'H* 和 *UFGT* 表达有强诱导, 对 *ANS* 和 *CHI* 表达也有作用, 对 *DFR* 表达无作用。

近年来, 通过超表达 MYB 基因促使花器官或果实中花青素积累的报道不断增多。Ban 等<sup>[27]</sup>和 Espley 等<sup>[15]</sup>几乎同时分离出 2 个分别与苹果果皮和果肉着红色紧密相关的 MYB 类转录因子 *MdMYB10* 和 *MdMYBA*, 其中, *MdMYBA* 受低温和 UV-B 的诱导, 在不同组织和不同品种中表达水平差异明显。Ban 等<sup>[27]</sup>将 *MdMYBA* 引入到苹果幼苗中瞬时表达能产生红斑, 转入烟草中能增加花色素苷的积累<sup>[27]</sup>。Espley<sup>[15]</sup>等发现 *MdMYB10* 也能在烟草叶片中诱导出红斑。番茄中的 *ANT1* 能激活调控 *CHS*、*CHI*、*DFR*、*UFGT*、*GST* 等 5 个结构基因控制花青素的合成<sup>[11]</sup>。

在花色素合成过程中, MYB 基因的表达体现组织特异性和时空差异。同一合成途径在不同的发育阶段, 花色素合成受控于不同的转录因子。如葡萄浆果发育的早期阶段, 由 *VvMYB5a* 调节体内的 *CHI*、*CHS* 和 *F3H* 酶活性, 而在浆果成熟过程中, 则是由 *VvMYB5b* 和 *VvMYBA1*、*VvMYBA2* 共同作用调控果皮内花青素的合成<sup>[43]</sup>。Pattanaik 等<sup>[44]</sup>采用同源克隆的方法从烟草中分离了 1 个 R2R3 MYB 基因 *Nt-An2*, RT-PCR 分析发现其表达量在花朵发育早期达到最高, 随后迅速下降; 除在花冠中大量表达外, *Nt-An2* 在花冠筒、雄蕊和子房中仅有少量表达, 在叶片、萼片中均检测不到其转录本。紫色番薯的 *Ib-MYB1* 特异地调控紫色番薯的地下块根果肉的结构基因 *CHS*、*F3H*、*DFR*、*ANS* 的表达导致了花色素的形成<sup>[14]</sup>。另外, 一些研究证明, 植物体内 MYB 蛋白除了具有正调控作用以外, 还存在负调控作用, 如 Luo 等<sup>[45]</sup>将拟南芥 *AtMYB12* 转入烟草中会抑制花瓣中花青素和黄酮类物质的积累; 苹果 *MdMYB6* 在拟南芥中超表达可抑制植株中 *CHS*、*CHI* 和 *DFR* 等基因的表达, 进而减少花青素的合成<sup>[46]</sup>。

bHLH 转录因子对植物花色素合成基因的表达

也有调控作用,同样具有组织特异性,如金鱼草的bHLH 转录因子 *DELILA* 的表达具有较强的组织特异性,主要在花冠、萼片、子叶和茎中起作用<sup>[13]</sup>。大丽花 (*Dahlia variabilis*) 纯黄色突变体是由于 Tdv1 插入导致部分 *DvIVS* 正常表达,使花色素合成结构基因无法正常表达,不能合成花色素而只能合成黄酮和紫柳花素<sup>[47]</sup>。

3.2 MBW 复合物的调控作用

在花色素的转录调控中,转录因子之间相互作用,存在着共表达效应。对模式植物的研究表明,花色素合成由 R2R3-MYB、bHLH 和 WD40 蛋白组成 R2R3MYB-bHLH-WD40 (MBW) 复合物调控<sup>[6]</sup>,例如拟南芥的 TT2-TT8-TTG1 形成的 MBW 复合物促进拟南芥种子原花青素合成,PAP1-GL3-TTG1 形成的 MBW 复合物共同调控结构基因 *PAL*、*CHS*、*DFR* 和 *GST*<sup>[37]</sup>。Zimmermann 等<sup>[48]</sup> 用烟草 (*Nicotiana tabacum* L.) 作材料,验证了从苹果、梨、桃等蔷薇科植物中分离得到的 11 个 MYB10 与 bHLH (*AtbHLH2*、*AtbHLH42*、*MdbHLH3*、*MdbHLH33*) 对色素形成的协同调控,发现 *MYB10* 与 *AtbHLH2* 或 *AtbHLH42* 组合效果最好。Wang 等<sup>[43]</sup> 也表明,苹果的 *MYB10* 与 *MdbHLH3* 或 *MdbHLH33* 协同调控的效果非常明显<sup>[28]</sup>。在番茄中,只有当 MYB 和 bHLH 同时超表达时,果实的花色素含量才达到较高水平。35S:

MrMYB1 转基因拟南芥和烟草分析结果表明,植物组织中花青素合成需要内源 bHLH 较高水平的表达<sup>[49]</sup>。矮牵牛花药中 *AN1* 的表达依赖于 *AN4* (R2R3-MYB),在 *AN4* 功能缺失的叶片和花药中 *AN2* (R2R3-MYB)能够重新激活 *AN1* 的表达,表明 *AN2* 和 *AN4* 均是 *AN1* 表达的激活因子<sup>[34]</sup>。由于组成的 R2R3-MYB 蛋白不同,矮牵牛的 MBW 复合物能调节不同组织的花青素合成,即在光照下,*AN1-AN2-AN11* 调控花瓣着色,*AN1-AN4-AN11* 调控花筒和花药着色,*AN1-DPL-AN11* 调控花筒脉络着色,*AN1-PHZ-AN11* 调控发育中的花芽表面着色<sup>[50]</sup>。矮牵牛中也存在着正负调节机制,在暗处时 MBW 复合物表达受抑制而 *PhMYB27* (R2R3-MYB) 基因和 *PhMYBx* (R3-MYB) 基因表达量大大增加<sup>[7,50]</sup>。Yamazaki 等<sup>[40]</sup>通过酵母双杂交推测紫苏 (*Perilla frutescens*)转录因子的作用是 2 个 bHLH 蛋白 MYC-RP 和 MYC-GP,能够与 MYB-P1 和 P1WD 相互作用形成 MBW 复合物,从而激活花色素合成结构基因表达。

MYB 转录因子与 bHLH 转录因子在不依赖于 WD40 蛋白的条件下或 bHLH 转录因子和 WD40 蛋白共同协作调控花色素合成基因的表达,进而起到影响花色素的合成。非洲菊的 R2R3-MYB 蛋白 GMYB10 与 bHLH 蛋白 GMYC1 相互作用共同激活 *DFR* 表达,且 GMYC1 具有较强的器官、组织和花类

表 2 花青素合成相关的 MBW 转录复合物及其调控的结构基因

植物	MYB 转录因子	bHLH 转录因子	WD40 转录因子	受调控的基因	文献来源
拟南芥	PAP1、PAP2、MYB113、MYB114、 TT2、MYB12、MYB111、MYB4	TT8、GL3、EGL3、MYC1	TTG1	PAL、CHS、F3' H、DFR、ANS、 UFGT、GST	[37]
玉米	C1 PL1	R1 B1、SN1	PAC1 PAC1	CHS、CHI、F3H DFR、ANS、UFGT	[38]
矮牵牛	AN2、AN4、DPL、PHZ、PhMYBx	AN1、JAF13	AN11	CHS-J、DFR、AN13、RT、AOMT	[34、50]
葡萄	VvMYB5a、VvMYB5b、VvMY- BA1、VvMYBA2、VvMYBPA1	VvMYC1、VvMYCA1	VvWDR1、VvWDR2	CHI、ANR、UFGT	[51]
紫苏	P1	RP/GP、F3G1	<i>PfWD</i>	DFR	[40]
圆叶牵牛	MYB1	bHLH2	<i>WDR1</i>	CHS、CHI、F3H、DFR、ANS、UFGT	[33]
花菜	PURPLE	BobHLH1	<i>BoWD40</i>	F3' H、DFR、ANS	[53]
烟草	NtAn2	NtAn1		CHS、DFR	[58]
苹果	MdMYB10	MdbHLH3、MdbHLH33		CHS、CHI、ANS、UFGT	[28、43、54]
山竹	GmMYB10	AtbHLH2		DFR	[8、56]
非洲菊	GMYB10	GMYC1		DFR	[32]
龙胆	GtbHLH1	GtMYB3		F3' 5' H、5AT	[16]
百合	LhMYB6、LhMYB12	LhbHLH1、LhbHLH2		CHSa、CHSb、DFR	[18]
红叶卷心菜	BoMYB2	BoTT8		CHS、F3H、F3' H、DFR、ANS、GST	[52]
紫背天葵	GbMYB1	GbMYC1		DFR、ANS	[57]
杨梅	MrMYB1	MrbHLH1		CHI、F3' H、DFR1、ANS、UFGT	[17]
金鱼草	<i>Rosea1</i> 、 <i>Venosa</i>	<i>Delia</i> 、 <i>Mutabil</i>		<i>F3H</i> 、 <i>DFR</i> 、 <i>ANS</i> 、 <i>UFGT</i>	[13]

型特异性,如其调节花冠和心皮中的 *DFR* 表达,对冠毛和雄蕊中的却不调节<sup>[32]</sup>。在龙胆中 *GtbHLH1* 与 *GtMYB3* 相互作用能增强 *F3'5'H* 和 *5AT* 启动子活性,却不能影响 *CHS* 的活性<sup>[16]</sup>。亚洲杂交百合的 *LhbHLH2* 与 *LhMYB6*、*LhMYB12* 相互作用,能够激活 *DFR*、*CHSa*、*CHSb* 的表达<sup>[18]</sup>。Matus 等<sup>[51]</sup>通过亚细胞定位试验证明, *VvMYCA1* 和 *VvWDR1* (WD40) 能够共定位于细胞质和细胞核内,且它们的表达模式与葡萄浆果中的花色素积累,高盐胁迫下幼苗花色素积累以及 *VvMYBA1/A2*、*UFGT*、*ANR* 的表达模式一致。MBW 复合物对植物花色素合成的调控还在圆叶牵牛<sup>[33]</sup>、红心卷心菜 (*Brassica oleracea* L. var. *capitata*)<sup>[52]</sup>、花菜 (*Brassica oleracea* L. var. *botrytis*)<sup>[53]</sup>、苹果<sup>[54]</sup>、梨 (*Pyrus pyrifolia* (Burm. f.))<sup>[55]</sup>、山竹 (*Garcinia mangostana* L.)<sup>[56]</sup>、杨梅<sup>[17]</sup>、紫背天葵 (*Gynura bicolor* (Roxb. ex Wild.) DC.)<sup>[57]</sup>、烟草<sup>[58]</sup>等植物研究中得到证实。

## 4 展望

MYB、bHLH 转录因子和 WDR 蛋白在植物花青素生物合成中起重要调控作用,但以往研究大多集中在拟南芥、玉米和金鱼草等模式植物及果实、蔬菜中,对其他花色繁多、遗传背景更加复杂的观赏植物,如牡丹、芍药、月季等及其一些具有奇异花色植物的转录因子的分离及转录因子间的互作,以及对花色素合成基因的调控作用的研究仍处于初期阶段。因此,需要借助基因组测序技术和蛋白组学技术,对木本和具有奇异花色观赏植物的转录因子进行鉴定,并利用瞬时表达方法、酵母双杂交及转基因技术对转录因子间以及转录因子与结构基因间的调控模式进行研究,并对其遗传功能进行验证,为实现人工调控花色素合成,进而定向改变观赏植物的花色、叶色,提高观赏价值提供科学依据和理论基础。

## 参考文献:

- [1] Hichri I, Barrieu F, Bogs J, *et al.* Recent advances in the transcriptional regulation of the flavonoid biosynthetic pathway[J]. J Exp Bot, 2011, 62(8): 2465–2483.
- [2] Harborne J B, Williams C A. Anthocyanins and other flavonoids[J]. Nat Prod Rep, 2001, 18(3): 310–333.
- [3] Grotewold E. The genetics and biochemistry of floral pigments[J]. Annu Rev Plant Biol, 2006, 57(1): 761–780.
- [4] Hugueney P, Provenzano S, Verries C, *et al.* A novel cation-dependent O-Methyltransferase involved in anthocyanin methylation in grapevine[J]. Plant Physiol, 2009, 150(4): 2057–2070.
- [5] Bogs J, Jaffe F W, Takos A M, *et al.* The grapevine transcription factor *VvMYBPA1* regulates proanthocyanidin synthesis during fruit development[J]. Plant Physiology, 2007, 143(3): 1347–1361.
- [6] Broun P. Transcriptional control of flavonoid biosynthesis: a complex network of conserved regulators involved in multiple aspects of differentiation in Arabidopsis[J]. Curr Opin Plant Biol, 2005, 8(3): 272–279.
- [7] Paz-Ares, Ghosal D, Wienand U, *et al.* The regulatory c1 locus of *Zea mays* encodes a protein with homology to myb photo-oncogene products and with structural similarities to transcriptional activators[J]. EMBO J, 1987, 6: 3553–3558.
- [8] Hernandez J M, Heine G F, Irani N G, *et al.* Different mechanisms participate in the R-dependent activity of the R2R3MYB transcription factor C1[J]. J Biol Chem, 2004, 279(46): 48205–48213.
- [9] Quattrocchio F, Baudry A, Lepiniec L, *et al.* The regulation of flavonoid biosynthesis[M]// Grotewold E. The science of flavonoids. New York: Springer, 2006: 97–122.
- [10] Elomaa P, Uimari A, Mehto M, *et al.* Activation of anthocyanin biosynthesis in *Gerbera hybrida* (Asteraceae) suggests conserved protein-protein and protein-promoter interactions between the anciently diverged monocots and eudicots[J]. Plant Physiol, 2003, 133(4): 1831–1842.
- [11] Mathews H, Clendennen S K, Caldwell C G, *et al.* Activation tagging in tomato identifies a transcriptional regulator of anthocyanin biosynthesis, modification, and transport[J]. Plant Cell, 2003, 15(8): 1689–1703.
- [12] Kobayashi S, Goto-Yamamoto N, Hirochika H. Retrotransposon-induced mutations in grape skin color[J]. Science, 2004, 304(5673): 982.
- [13] Schwinn K, Venail J, Shang Y, *et al.* A small family of MYB-regulatory genes controls floral pigmentation intensity and patterning in the genus *Antirrhinum*[J]. Plant Cell, 2006, 18: 831–851.
- [14] Mano H, Ogasawara F, Sato K, *et al.* Isolation of a regulatory gene of anthocyanin biosynthesis in tuberous roots of purple-fleshed sweet potato[J]. Plant Physiol, 2007, 143(3): 1252–1268.
- [15] Espley R V, Hellens R P, Putterill J, *et al.* Red colouration in apple fruit due to the activity of the MYB transcription factor, *Md-MYB10*[J]. Plant J, 2007, 49: 414–427.
- [16] Nakatsuka T, Haruta K S, Pitaksutheepong C, *et al.* Identification and characterization of R2R3-MYB and bHLH transcription factors regulating anthocyanin biosynthesis in gentian flowers[J]. Plant Cell Physiol, 2008, 49: 1818–1829.
- [17] Liu X F, Yin X R, Andrew C, *et al.* The role of *MrbHLH* and *MrMYB1* in regulating anthocyanin biosynthetic genes in tobacco and Chinese bayberry (*Myrica rubra*) during anthocyanin biosynthesis[J]. Plant Cell Tiss Organ Cult, 2013, 115: 285–298.
- [18] Yamagishi M, Shimoyamada Y, Nakatsuka T, *et al.* Two R2R3-MYB genes, homologs of petunia AN2, regulate anthocyanin biosyntheses in flower tepals, tepal spots and leaves of Asiatic hybrid lily[J]. Plant Cell Physiol, 2010, 51: 463–474.
- [19] Nesi N, Jond C, Debeaujon I, *et al.* The *Arabidopsis* *TT2* gene encodes an R2R3 MYB domain protein that acts as a key determinant

- for proanthocyanidin accumulation in developing seed[J]. *Plant Cell*, 2001, 13(9):2099–2114.
- [20] Mehrtens F, Kranz H, Bednarek P, *et al.* The *Arabidopsis* transcription factor *MYB12* is a flavonol-specific regulator of phenylpropanoid biosynthesis[J]. *Plant Physiol*, 2005, 138(2):1083–1096.
- [21] Quattrocchio F, Wing J, van der Woude K, *et al.* Analysis of bHLH and MYB domain proteins: species-specific regulatory differences are caused by divergent evolution of target anthocyanin genes[J]. *Plant Journal*, 1998, 13(4):475–488.
- [22] Yang J, Huang J, Gu H, *et al.* Duplication and adaptive evolution of the chalcone synthase genes of *Dendranthema* (Asteraceae)[J]. *Molecular biology and evolution*, 2002, 19(10):1752–1759.
- [23] Jackson D, Culianez-Macia F, Preseott A G, *et al.* Expression patterns of myb genes from antirrhinum flowers[J]. *Plant Cell*, 1991, 3(2):115–125.
- [24] Gong Z Z, Yamagishi E, Yamazaki M, *et al.* A constitutively expressed Myc-like gene involved in anthocyanin biosynthesis from *Perilla frutescens*: molecular characterization, heterologous expression in transgenic plants and transactivation in yeast cells[J]. *Plant Molecular Biology*, 1999, 41(1):33–44.
- [25] Morita Y, Saitoh M, Hoshino A, *et al.* Isolation of cDNAs for R2R3-MYB, bHLH and WDR transcriptional regulators and identification of c and ca mutations conferring white flowers in the Japanese morning glory[J]. *Plant Cell Physiol*, 2006, 47:457–470.
- [26] Kobayashi S, Ishimaru M, Hiraoka K, *et al.* Myb-related genes of the Kyoho grape (*Vitis labruscana*) regulate anthocyanin biosynthesis[J]. *Planta*, 2002, 215(6):924–933.
- [27] Ban Y, Honda C, Hatsuyama Y, *et al.* Isolation and functional analysis of a MYB transcription factor gene that is a key regulator for the development of red coloration in apple skin[J]. *Plant J*, 2007, 48(7):958–970.
- [28] Wang K L, Bolitho K, Grafton K, *et al.* An R2R3 MYB transcription factor associated with regulation of the anthocyanin biosynthetic pathway in Rosaceae[J]. *BMC Plant Biology*, 2010, 10: 50.
- [29] 俞波. 红色砂梨花青苷生物合成相关基因分离及表达研究[D]. 杭州:浙江大学, 2012: 36–49.
- [30] 张全琪, 朱家红, 倪燕妹, 等. 植物 bHLH 转录因子的结构特点及其生物学功能[J]. *热带亚热带植物学报*, 2011, 19(1):84–90.
- [32] Elomaa P, Mehto M, Kotilainen M, *et al.* A bHLH transcription factor mediates organ, region and flower type specific signals on *di-hydrofl avonol-4-reductase (dfr)* gene expression in the inflorescence of *Gerbera hybrida* (Asteraceae)[J]. *Plant J*, 1998, 16(1):93–99.
- [33] Park K, Ishikawa N, Morita Y, *et al.* A bHLH regulatory gene in the common morning glory, *Ipomoea purpurea*, controls anthocyanin biosynthesis in flowers, proanthocyanidin and phytolnelanin pigmentation in seeds, and seed trichome formation[J]. *The Plant Journal*, 2007, 49(4):641–654.
- [34] Spelt C, Quattrocchio F, Mol J N M, *et al.* anthocyanin1 of petunia encodes a basic helix-loop-helix protein that directly activates transcription of structural anthocyanin genes[J]. *Plant Cell*, 2000, 12(9):1619–1631.
- [35] 闵远琴, 闫海芳, 李玉花. 花色素合成中的 WD40 蛋白[J]. *植物生理学通讯*, 2010, 46(9):863–870.
- [36] de Vetten N, Quattrocchio F, Mol J, *et al.* The an11 locus controlling flower pigmentation in petunia encodes a novel WD-repeat protein conserved in yeast, plants, and animals[J]. *Genes & Development*, 1997, 11:1422–1434.
- [37] Baudry A, Heim M A, Dubreucq B, *et al.* *TT2*, *TT8* and *TTG1* synergistically specify the expression of BANYULS and proanthocyanidin biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*[J]. *The Plant Journal*, 2004, 39:366–380.
- [38] Carey C C, Strahle J T, Selinger D A, *et al.* Mutations in the pale aleurone color 1 regulatory gene of the *Zea mays* anthocyanin pathway have distinct phenotypes relative to the functionally similar *TRANSPARENT TESTA GLABRA1* gene in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Plant Cell*, 2004, 16(2):450–464.
- [39] Ramsay N A, Glover B J. MYB-bHLH-WD40 protein complex and the evolution of cellular diversity[J]. *Trends in Plant Science*, 2005, 10(2):63–70.
- [40] Yamazaki M, Makita Y, Springob K, *et al.* Regulatory mechanisms for anthocyanin biosynthesis in chemotypes of *Perilla frutescens* var *Crispa*[J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2003, 14(3):191–197.
- [41] Pang Y, Wenger J P, Saathoff K, *et al.* A WD40 repeat protein from *Medicago truncatula* is necessary for tissue-specific anthocyanin and proanthocyanidin biosynthesis but not for trichome development[J]. *Plant Physiology*, 2009, 151(3):1114–1129.
- [42] Butelli E, Licciardello C, Zhang Y, *et al.* Retrotransposons control fruit-specific, cold-dependent accumulation of anthocyanins in blood oranges[J]. *Plant Cell*, 2012, 24(3):1242–1255.
- [43] Deluc L, Bogs J, Walker A R, *et al.* The transcription factor *VvMYB5b* contributes to the regulation of anthocyanin and proanthocyanidin biosynthesis in developing grape berries[J]. *Plant Physiol*, 2008, 147(4):2041–2053.
- [44] Pattanaik S, Kong Q, Zaitlin D, *et al.* Isolation and functional characterization of a floral tissue-specific R2R3 MYB regulator from tobacco[J]. *Planta*, 2010, 231:1061–1076.
- [45] Luo J, Butelli E, Hill L, *et al.* *AtMYB12* regulates caffeoyl quinic acid and flavonol synthesis in tomato: expression in fruit results in very high levels of both types of polyphenol[J]. *Plant J*, 2008, 56:316–326.
- [46] Gao J J, Shen X F, Zhang Z, *et al.* The myb transcription factor *MdMYB6* suppresses anthocyanin biosynthesis in transgenic *Arabidopsis*[J]. *Plant Cell Tiss Organ Cult*, 2011, 106:235–242.
- [47] Ohno S, Hosokawa M, Hoshino A, *et al.* A bHLH transcription factor, Dv1VS, is involved in regulation of anthocyanin synthesis in dahlia (*Dahlia variabilis*)[J]. *J Exp Bot*, 2011, 62(14):5105–5116.
- [48] Zimmermann I M, Heim M A, Weissshaar B, *et al.* Comprehensive identification of *Arabidopsis thaliana* MYB transcription factors interacting with R/B-like BHLH proteins[J]. *Plant J*, 2004, 40(1):

22–34.

- [49] Huang Y J, Song S, Allan A C, *et al.* Differential activation of anthocyanin biosynthesis in *Arabidopsis* and tobacco over-expressing an R2R3 MYB from Chinese bayberry [J]. *Plant Cell Tiss Org Cult*, 2013, 113 (3): 491–499.
- [50] Albert N W, Lewis D H, Zhang H, *et al.* Members of an R2R3-MYB transcription factor family in petunia are developmentally and environmentally regulated to control complex floral and vegetative pigmentation patterning [J]. *Plant J*, 2011, 65 (5): 771–784.
- [51] Matus J T, Poupin M J, Cañón P, *et al.* Isolation of WDR and bHLH genes related to flavonoid synthesis in grapevine (*Vitis vinifera* L.) [J]. *Plant Mol Biol*, 2010, 72 (6): 607–620.
- [52] Yuan Y, Chiu L W, Li L. Transcriptional regulation of anthocyanin biosynthesis in red cabbage [J]. *Planta*, 2009, 230 (6): 1141–1153.
- [53] Chiu L W, Zhou X, Burke S, *et al.* The purple cauliflower arises from activation of a MYB transcription factor [J]. *Plant Physiol*, 2010, 154 (3): 1470–1480.
- [54] Brueggemann J, Weisshaar B, Sagasser M. A WD40-repeat gene from *Malus × domestica* is a functional homologue of *Arabidopsis thaliana* *TRANSPARENT TESTA GLABRA1* [J]. *Plant Cell Rep*, 2010, 29 (3): 285–294.
- [55] Feng S, Wang Y, Yang S, *et al.* Anthocyanin biosynthesis in pears is regulated by a R2R3-MYB transcription factor *PyMYB10* [J]. *Planta*, 2010, 232 (1): 245–255.
- [56] Palapol Y, Ketsa S, Lin-Wang K, *et al.* A MYB transcription factor regulates anthocyanin biosynthesis in mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) fruit during ripening [J]. *Planta*, 2009, 229 (6): 1323–1334.
- [57] Shimizu Y, Maeda K, Kato M, *et al.* Co-expression of *GbMYB1* and *GbMYC1* induces anthocyanin accumulation in roots of cultured *Gynura bicolor* D C. plantlet on methyl jasmonate treatment [J]. *Plant Physiol Bioch*, 2011, 49 (2): 159–167.
- [58] Bai Y, Pattanaik S, Patra B, *et al.* Flavonoid-related basic helix-loop-helix regulators, *NtAn1a* and *NtAn1b*, of tobacco have originated from two ancestors and are functionally active [J]. *Planta*, 2011, 234 (2): 363–375.