

植物花青素合成酶ANS基因的研究进展

李小兰, 张明生*, 吕享

贵州大学生命科学学院, 山地植物资源保护与种质创新省部共建教育部重点实验室, 贵阳550025

摘要: 花青素合成酶ANS是植物花青素生物合成途径末端的关键酶, 催化无色花色素转变为有色花青素。本文通过对ANS基因结构和功能进行综述, 旨在为更多植物ANS基因的克隆及功能分析、花青素合成分子调控机制探索、花青素的开发利用等提供参考资料。

关键词: 花青素合成酶; 基因功能; 表达调控; 花青素; 逆境胁迫

花青素是植物次生代谢产物, 属于黄酮类水溶性天然色素, 主要以糖苷形式存在于表皮细胞的液泡中, 使植物的花、果实、种皮等器官呈现红、蓝、紫等颜色(顾林等2007; 张彬2011)。花青素具有多种生理功能, 对植物自身方面, 能吸引昆虫传粉、防止植物受紫外辐射、保护DNA不受破坏、使细胞分化、抵御低温、防止病害以及使生命过程正常进行等; 对人类健康方面, 具有抗氧化、抗突变、预防心脑血管疾病、保护肝脏、抑制肿瘤细胞发生等多种生理功能(张彬2011)。无色花青素双加氧酶/花青素合成酶(leucoanthocyanidin dioxygenase/anthocyanidin synthase, LDOX/ANS)是植物花青素生物合成途径末端的关键酶, 催化无色花色素到有色花色素的转变(元希武等2013; Jaakola 2013; Nakajima等2001)。目前, 已经从多种植物中分离出了ANS基因, 如芜菁(*Brassica campestris* ssp. *rapa*) (许志茹等2009)、山药(*Dioscorea* spp.) (周生茂等2009)、桑树(*Morus atropurpurea*) (元希武等2013)、芥蓝(*Brassica alboglabra*) (赵蓉蓉等2010)、金荞麦(*Fagopyrum dibotrys*) (卜星星等2014)等。ANS基因的功能研究不仅对园艺、植物保护方面有重要的价值, 对人类的健康也具有显著意义。本文对植物花青素合成酶ANS的基因结构和功能进行介绍, 其中基因结构方面的内容可为克隆其他植物ANS基因提供参考依据, ANS基因的表达调控方面的内容可为ANS基因的功能研究提供线索和途径。此外, 通过本综述可发现目前ANS基因研究的薄弱环节, 为全面解析ANS基因的功能及调控机制提供更多有利思路, 从而为探索花青素合成分子调控机制及进行花青素的开发利用等提供参考资料。

1 ANS基因结构

植物ANS基因的开放阅读框ORF普遍大于

1 000 bp, 基因序列含有1个或2个内含子, 启动子区具有基本启动子元件、转录因子结合元件、环境影响结合元件等, 其蛋白具有依赖 Fe^{2+} 的2-酮戊二酸[2OG-Fe(II)]双加氧酶家族基因的结构域(表1)。从启动子区域具有的响应元件可以推知, ANS基因可能参与植物抵御逆境胁迫的应答和参与植物激素代谢通路, 其表达受MYB类转录因子的调控; 从保守结构域可知, ANS蛋白具有双加氧酶的功能, 是2OG-Fe(II)双加氧酶家族成员之一; 而ORF长度和基因序列特征可为其他植物的ANS基因克隆提供参考依据。

2 ANS基因功能

目前, 对ANS基因功能方面的研究主要集中在表达特性分析、过表达分析、miRNA介导的基因沉默以及ANS的表达调控等方面。

2.1 ANS的表达特性

经研究发现, ANS基因在多种植物中普遍存在, 其表达在植物的组织中、组织的不同发育时期及不同品种中都具有特异性, 分别为组织特异性、时期特异性和品种特异性。

ANS表达的组织特异性显示其在多个组织中均有表达, 但在各组织中的表达量各不相同。可可(*Theobroma cacao*)中TcANS在叶、花、豆荚皮及种子中均有较高的表达(Liu等2013)。而甘薯(*Ipomoea batatas*)的IbANS在所有组织中均有不同程度的表达, 但块根及周皮中表达量更高(Liu等2010); 金荞麦FdANS在花期不同组织中的表达量分析显示花>叶>茎>根(卜星星等2014); 结缕草(*Zoysia japonica*)

收稿 2016-04-14 修定 2016-05-28

资助 贵州省高层次创新型人才培养计划(黔科合人才[2015]4031号)和贵州省研究生教育创新基地建设(黔教研合CXJD字[2014]001)项目。

* 通讯作者(E-mail: mshzhang@163.com)。

表1 部分ANS基因
Table 1 Parts of ANS genes

植物名称	ANS缩写	ORF长度/bp	启动子	保守结构域	基因序列特征	参考文献
芜菁(<i>Brassica campestris</i> ssp. <i>rapa</i>)	<i>BrANS1</i> <i>BrANS2</i>	1 077	-	2OG-Fe(II)	-	许志茹等2009
田薯(<i>Dioscorea alata</i>)	<i>DaANS1</i>	1 077	TATA-box、CAAT-box、赤霉素响应元件、光响应顺式作用元件等	2OG-Fe(II)	-	周生茂等2009; 陈跃华2015
山药(<i>Dioscorea</i> spp.)	<i>DsANS</i>	1 077	-	2OG-Fe(II)	-	周生茂等2009
桑树(<i>Morus atropurpurea</i>)	<i>MarANS</i>	1 077	TATA-box, 多个光响应元件及MYB结合位点等	2OG-Fe(II)	2个外显子和1个内含子	元希武等2013; 安维忠等2015; 张琼予等2012
芥蓝(<i>Brassica albograbra</i>)	<i>BaANS</i>	1 077	-	2OG-Fe(II)	一个292 bp的内含子	赵蓉蓉等2010
黑加仑(<i>Ribes nigrum</i>)	<i>RnANS1</i>	1 074	-	2OG-Fe(II)	-	Li等2015
金荞麦(<i>Fagopyrum dibotrys</i>)	<i>FdANS</i>	1 077	-	2OG-Fe(II)	-	卜星星等2014
荔枝(<i>Litchi chinensis</i>)	<i>LcANS</i>	1 074	-	-	在504~708 bp之间有1个内含子	赵志常等2012
棕(<i>Prunus salicina</i> var. <i>cordata</i>)	<i>PsANS</i>	1 074	-	2OG-Fe(II)	-	姜翠翠等2011
葡萄风信子(<i>Muscari armeniacum</i>)	<i>MaANS</i>	1 065	TATA-box, CAAT-box, 厌氧诱导元件ARE, GC-motif, 光、MeJA、水杨酸响应元件, MYB结合元件, 胚乳表达调控元件	-	515~594 bp之间的内含子	安维忠等2015
参薯(<i>Dioscorea alata</i>)	<i>DaANS</i>	1 071	-	2OG-Fe(II)	含1个内含子	陈跃华2015
甘薯(<i>Ipomoea batatas</i>)	<i>IbANS</i>	1 086	-	-	-	Liu等2010
红叶大头芥 (<i>Brassica juncea</i> var. <i>megarrhiza</i>)	<i>BjANS</i>	1 004	-	2OG-Fe(II)	-	宋明等2012
银杏(<i>Ginkgo biloba</i>)	<i>GbANS</i>	1 062	TATA-box, 光、冷、水杨酸、乙烯和脱落酸应答等顺式作用元件	-	含有3个外显子和2个内含子	许锋2008
三色堇(<i>Viola×wittrockiana</i>)	<i>VwANS</i>	1 179	-	-	-	孙海燕2015
鹤望兰(<i>Strelitzia reginae</i>)	<i>SrANS</i>	1 083	-	2OG-Fe(II)	-	樊荣辉等2013
观赏向日葵(<i>Helianthus annuus</i>)	<i>HaANS</i>	-	-	2OG-Fe(II)	-	张剑亮2009
武当木兰(<i>Magnolia sprengeri</i>)	<i>MsANS</i>	1 080	-	2OG-Fe(II)	-	Li等2015; Shi等2015
洋葱(<i>Allium cepa</i>)	<i>AcANS</i>	-	TATA-box、CAAT-box、MYB转录因子结合元件、参与光响应、逆境、激素应答的顺式作用元件	-	-	刘畅等2013
菊花(<i>Chrysanthemum×morifolium</i>)	<i>CmANS</i>	-	TATA-box、CAAT-box、MYB结合元件、G-box等顺式作用元件, 具有驱动下游报告基因表达的功能	-	-	唐杏姣等2012

“-”表示无数据。

*ZjANS*在紫色穗尖及匍匐茎中高表达, 在绿色组织中表达量明显较低(Ahn等2015)。可以看出, 颜色较深或鲜艳的组织部位ANS基因的表达量较高, 这正说明了ANS是将无色花青素转变为有色花青素

的关键酶基因, 并可通过这种组织表达特异性有针对性选择提取花青素最佳的植物组织。

ANS表达的时期特异性显示其表达量会随着组织的不同发育时期而波动。如烟草(*Nicotiana*

tabacum) *NtANS1*和*NtANS2*在花成熟期表达量增加,在花发育的最后阶段稍微降低(Lim等2013);草莓(*Fragaria ananassa* cv. 'Maehyang') *FaANS*在开花后10 d开始表达,而早期表达量会有短暂的降低,到开花后22 d开始迅速上升,34 d时达到顶峰(Bae等2008);田薯*DaANS*在块茎生长的前期具有很高的表达量,8月份达到顶峰,随后急剧降低(陈跃华等2015);锦绣杜鹃花(*Rhododendron pulchrum* cv. 'Oomurasaki')叶中的*ANS*在开花过程中表达量降低(Nakatsuka等2008);蛇莓(*Duchesnea indica*) *DiANS*在白色果实中的表达量低于红色时的果实(Debes等2011)。所以,根据*ANS*在组织中表达的时期波动性,可选择组织中花青素提取的最佳时期,也可根据需要收获最佳时期的特定植物组织。

此外,*ANS*表达的品种特异性显示其表达水平为深色>浅色>白色/无色品种。如水母雪莲花(*Saussurea medusa*)白色系、绿色系和红色系愈伤组织中,*ANS*在红色系中表达水平高于另外两系(付婉艺2013);紫甘蓝(*Brassica oleracea* var. *capitata*) *ANS*的表达水平明显高于青甘蓝(张彬2011);粉色花瓣系桃(*Prunus persica*)中*ANS*的表达量显著高于白色花瓣系(Hassani等2015)。在选育富含花青素的优良作物或观赏植物品种时,可参考*ANS*表达的品种特异性,从而缩短选育周期和时限。

2.2 *ANS*的过表达

基因的过表达是研究基因功能的重要手段,为探索*ANS*的功能,其过表达方面也得到了一定程度的研究。

通过基因工程技术可将*ANS*转化到拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)、烟草等模式植物中并获得转基因植株。*DaANS*的正向过量表达载体PCX-SN-35S-*DaANS*通过叶盘转化法转入烟草中并获得了3株阳性转基因植株(陈跃华2015);三色堇*VwANS*通过农杆菌介导法转入拟南芥并获得了过表达转基因植株(孙海燕2015)。可以看出,*ANS*基因是可以通过转基因技术成功转化到其他植物中并超量表达的。

*ANS*的过表达一般情况下会增加转基因植株花青素的含量。桑树*MaANS*的转基因拟南芥与野生型相比,整个植株的茎都能表现出淡红色(元希武等2013)。可可*TcANS*在烟草中过表达提高了烟

草花瓣中花青素及原花青素的含量;其在拟南芥LDOX缺失突变体中过表达使种子中原花青素得以补充(Liu等2013)。水稻(*Oryza sativa*) *ANS*在水稻*NP* (*Nootripathu*)突变体中过表达,果皮中积累原花青素;Pro (35S): *ANS*在玉米(*Zea mays*) *a2*突变体中表达使糊粉层产生花青素;Pro (MAS): *ANS*在*NP*突变体中过表达使原花青素前体物在果皮中生成花青素;而且转基因植物中*ANS*转录水平增加10倍,酶活性增加4倍,增加了黄酮类及花青素的混合物积累,同时原花青素降低(Reddy等2007)。从*ANS*过表达转基因植株中花青素含量增加可得出的启示是,可在园艺植物研究中利用转基因技术获得色彩丰富的花卉等,同时也可利用分子育种手段选育富含花青素的农作物优良品种。

2.3 miRNA介导的*ANS*基因沉默

通过实施miRNA干扰技术,可使*ANS*表达水平降低甚至导致基因沉默。‘红星’苹果果实中*ANS*被干扰后,表达量下调98.1%,同时使花色苷合成途径中类黄酮物质的合成受阻(王丽辉2014)。基因沉默方面的研究更加证明了*ANS*是花青素合成途径中的关键酶基因之一,其表达调控的研究将有利于合理利用此基因功能使植物产生更多花青素。

2.4 *ANS*的表达调控

*ANS*的表达受多种因素影响,自身序列的甲基化修饰、编码区核苷酸插入与缺失、miRNA、转录因子以及多种环境因素等都对*ANS*的表达具有调控作用,这些调控包括正调控和负调控。

2.4.1 甲基化修饰对*ANS*表达的调控

*ANS*基因序列的甲基化水平影响其表达水平,甲基化水平越高其表达水平越低。‘白鸽’莲(*Nymphaea*)和‘野红莲’花瓣中*ANS*的开放阅读框及2 000 bp左右的启动子区之间无序列差异,但两者的启动子区甲基化位点和甲基化水平存在差异。‘白鸽’莲要比‘野红莲’的甲基化位点多出18处(包括14处CG, 2处CHH和2处CHG),总体的甲基化水平也比‘野红莲’高,推测‘野红莲’和‘白鸽’莲的红、白花色差异可能是由于花瓣中*ANS*启动子区不同水平的甲基化影响了其与转录因子的结合,进而影响*ANS*的表达水平及花青素的积累,从而导致红、白莲花的着色差异(邓娇2015; Deng等2015)。*ANS*基因序列甲基化水平与表达水平之间的关系研究,

揭示了对其结构和功能的研究过程中不能忽视基因序列的修饰环节,这极有可能是品种之间颜色差异的主要原因之一。

2.4.2 编码区插入或缺失核苷酸对ANS表达的调控

基因编码区出现核苷酸插入或缺失会改变读码框的顺序,从而使ANS的表达水平改变甚至不能正常表达。无花青素的石榴(*Punica granatum*) *PgANS* (也叫*PgLDOX*)编码区有一个插入位点及一个SNP位点,SNP位点没有改变其编码的氨基酸序列,而该插入位点与白色表型完全连锁,导致*PgANS*无法转录,花青素不能积累呈现白石榴的表型(Ben-Simhon等2015)。龙胆草(*Gentiana triflora*)中失活的*ans1*就是在第2个外显子中缺失了4 bp的核苷酸,从而导致终止密码提前,使基因失活(Nakatsuka等2012)。正确的读码框是基因表达正确蛋白质的关键因素之一,可见ANS基因也毫无例外,所以研究品种之间颜色差异的原因时除了考虑有无ANS基因、启动子区甲基化水平等,还需考虑ANS基因编码区有无SNP位点、是否有核苷酸序列的插入和缺失等因素。

2.4.3 miRNA对ANS表达的调控

miRNA可通过调控其他基因的表达间接调控ANS的表达。棉花(*Gossypium hirsutum*) GhmiR156在伸长期的纤维中通过抑制GhSPL9的表达,间接抑制了ANS的表达,最终抑制花青素的合成(王正明2012)。在正常供磷和缺磷条件下,miR828过表达的转基因番茄(*Solanum lycopersicum*)植株中ANS表达量和花青素含量均低于野生型(贾小云等2015)。番茄miR858负调控SIMYB7-like的转录,在构建的转基因植株中内源miR858被封闭后,SIMYB7-like转录显著提高,ANS的表达上调(Jia等2015)。众多有关miRNA的研究都表明,其广泛参与了基因的表达和调控,ANS基因的表达除直接受miRNA干扰外,这种间接调控作用给我们提供了更多基因表达调控研究的启示,说明特定基因的表达以及表达量的多少是多种因素的综合效应。

2.4.4 转录因子对ANS表达的调控

转录因子是调控基因表达的反式作用因子,一般与启动子区顺式作用元件相结合并调控靶基因的表达,其可以是一个转录因子也可以是多个转录因子相互结合形成复合体的形式起作用。研

究发现,MYB、bHLH、WD40类转录因子参与了ANS基因表达的调控,而这正好与ANS基因启动子区顺式作用元件分析结果相一致。

MYB类转录因子对ANS表达的调控体现在多个方面:(1) MYB转录因子与ANS启动子区DNA结合位点结合从而启动其表达。紫肉甘薯块茎IbMYB1 (R2R3-MYB)能与ANS启动子区的TAACCG box和TATCC box 基序在体外特异结合,当与完整的启动子结合时启动报告基因强烈表达,当与缺MYB DNA结合位点的启动子片段结合时报告基因表达很弱(Dong等2014)。菊花MYB可能与ANS启动子上的顺式作用元件结合从而调控其对光照的响应(唐杏姣等2012)。淫羊藿(*Herba epimedii*) R2R3-MYB转录因子EsMYBA1能激活ANS的启动子(Huang等2013)。(2) MYB转录因子对ANS的表达具有正调控作用。杨梅(*Myrica rubra*) R2R3-MYB转录因子MrMYB1在拟南芥中的过表达使ANS表达明显上调(Huang等2013)。甘薯IbMYB1a的异源表达诱导ANS上调(An等2015)。(3) MYB转录因子对ANS的表达具有负调控作用。日本龙胆草(*Japanese gentian*)的GtMYB1R1和GtMYB1R9 (R3-MYB)在烟草中过表达使转基因烟草花中ANS的表达被抑制(Nakatsuka等2013)。智利草莓(*Fragaria chiloensis* ssp. *chiloensis*) *FcMYB1* (R2R3-MYB)在RNAi干扰下短暂下调,使果实中ANS上调(Salvatierra等2013)。(4) MYB转录因子在植物有色组织调控ANS表达。芜菁有色叶子上的*BrANS*表达受*BrMYB2-2*调控(Ahmed等2014)。黑莓(*Rubus*) R1R2-MYB10基因表达模式与*RuANS*类似,在花青素积累高峰来临之前达到最高表达量(陈清2012)。(5) MYB转录因子在环境胁迫条件下调控ANS的表达。‘红鸽’羽衣甘蓝(*Brassica oleracea* var. *acephala* f. *tricolor*) R2R3-MYB转录因子BoPAP1在低温条件下促使ANS过量表达(张彬2011)。由此可见,调控ANS表达的MYB类转录因子有多种类型如R1R2-MYB、R2R3-MYB、R3-MYB等,其中R2R3-MYB既参与ANS的正调控又参与其负调控,说明同种类型的MYB类转录因子在不同植物中对ANS表达的调控作用不同,而R3-MYB主要起负调控作用。此外,MYB类转录因子可能是参与了逆境胁迫引起的信号转导网络来调控ANS基因表达的。

bHLH转录因子与ANS表达模式一致, 调控植物花青素积累。bHLH转录因子BrTT8与ANS的表达模式一致, 在红菜薹(*Brassica campestris* ssp. *chinensis* var. *purpurea*)花青素积累的组织中都有高丰度的表达, 而在没有花青素积累的组织以及小白菜中的表达量非常低(张彬2011; Ahmed等2014)。瓜叶菊(*Senecio cruentus*) ScbHLH17、ScbHLH21和ScbHLH22的表达模式同ScANS的表达模式一致, 通过调控ScDFR3和ScANS的表达模式, 从而决定瓜叶菊能否积累花青素苷(王璐2015)。编码bHLH转录因子的甜黑米黑色种皮基因Ra主要通过促进ANS表达来加强黑米种皮中花青素的积累(梁婷婷2013)。从表达模式上看, bHLH类转录因子主要对ANS表达起正调控作用。

WD40类转录因子调控ANS的表达。烟草WD40结构域的蛋白质NtTTG2通过调控ANS的表达从而影响花瓣着色(李宝燕2012)。

MYB、bHLH及WD40通过形成MBW复合体调控ANS的表达。水母雪莲花愈伤组织中MYB、bHLH、WD40转录因子在红色系中表达量极高, 绿色系次之, 白色系最低, 红色系中MYB的表达量为白色系和绿色系的19.7和7.6倍, 推测MYB与ANS的高表达有关, bHLH和WD40的表达水平比例接近1:1, 可能是形成了MBW (MYB-bHLH-WD40)复合体对类黄酮的生物合成进行调控(付婉艺2013)。而且草莓FaMYB9/FaMYB11、FabHLH3和FaTTG1形成MYB-bHLH-WD40复合体调控原花青素生物合成(Schaart等2013)。结合bHLH与ANS表达模式一致的情况, 可以推知, MYB、bHLH及WD40也可能形成复合体来调控ANS基因表达。但是, MYB、bHLH及WD40是否都是形成复合体, 或者有些形成复合体有些则是单独作用, 从而调控ANS表达? 这还需要更多的研究来加以证实。

2.4.5 各种环境因素对ANS表达的调控

各种环境因素常常能够通过激活细胞信号通路, 从而激活相应转录因子对适应环境的基因进行表达调控, 所以环境因素是调控ANS基因表达的重要因子。经研究发现, 光照、低温、高温、干旱、糖类等都对ANS的表达具有调控作用(图1)。

光照是调控ANS表达的重要环境因子。(1)光照可诱导ANS的表达。红菜薹幼苗中ANS在光诱

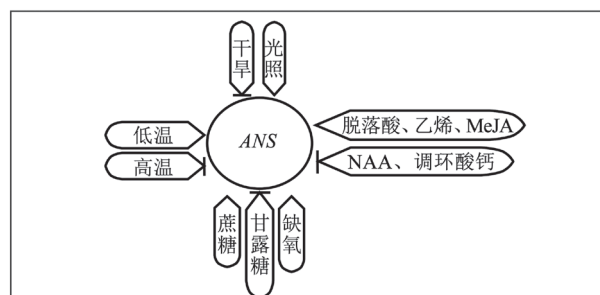


图1 部分环境因素对ANS表达的调控

Fig.1 The regulation of some environmental factors on the expression of ANS gene

箭头前无短横线表示对ANS表达起正调控作用, 有短横线表示负调控作用。

导下过量表达, 且只有光照时才能累积花青素而呈现紫红色(张彬2011)。野茶树(*Camellia sinensis*) ANS的表达水平在黑暗处理后下降(Hong等2014)。对‘新红星’和‘王林’两种苹果进行套袋处理发现, 果实中ANS的表达量在除袋后上调, 其中‘新红星’苹果成熟时比刚除袋时上调17倍, 且两种果实都更易着色, 说明ANS的表达对果实着色具有重要作用(王丽辉2014)。(2)光处理时间延长, ANS的表达量增加。‘津田芜菁’中ANS的表达量随着光处理时间的延长而增加(许志茹和李玉花2006a)。红叶根用芥(*Brassica juncea* var. *napiformis*) ANS基因光照胁迫下12 h后表达量开始上升, 处理96 h后达到最大值(孙梓健2010)。(3)紫外辐射可诱导ANS的表达。‘赤丸芜菁’ANS的表达受UV-A诱导, 且表达量与处理时间相关(许志茹等2009)。(4)紫外辐射对ANS的表达具有正调控作用。‘津田芜菁’ANS的表达量在UV-A处理48 h后明显高于黑暗条件下白色块根(许志茹和李玉花2006b)。银杏GbANS的表达水平在UV-B处理下上调(许锋2008)。茶树芽叶ANS的表达受紫外光的正调控(李智2014)。(5)伽马辐射可诱导ANS的表达。小麦(*Triticum aestivum*) ANS的表达水平在小剂量的慢性伽马辐射下上升(Hong等2014)。光照对ANS表达的影响表明, 对于有色花青素的合成, 光照是必不可少的条件, 这正与ANS启动子区普遍存在光响应元件相一致, 同时可看出ANS是光敏感型基因。此外, 可以通过紫外、伽马等射线辐射的方法, 对植物进行逆境胁迫, 使ANS的表达量上调, 获得较多花青素。

温度的高低对*ANS*的表达具有调控作用。(1)不同温度处理可改变*ANS*的表达水平。茶树*ANS*在5°C/10°C处理下,表达量最低;10°C/20°C处理下,表达量最高;在更高温度处理下,表达量下调(李智2014)。芜菁*BrANS*能响应冷害和冻害胁迫,且只在有色叶子上表达(Ahmed等2014)。(2)低温处理可使*ANS*的表达上调。‘红鸽’羽衣甘蓝*ANS*的表达水平在低温条件下明显高于室温条件,且低温可以诱导*ANS*过量表达(张彬2011;张彬等2014)。红叶根用芥*ANS*低温胁迫12 h后表达量开始上升,处理48 h后达到最大值(孙梓健2010)。红心橙(*Citrus sinensis*) *ANS*的转录水平在4°C低温下处理3~6 d后急剧升高(Crifo等2011)。(3)高温可使*ANS*的转录水平降低。在35°C高温下红酒葡萄(*Vitis vinifera*)皮中的*ANS*转录水平下降(Mori等2007)。低温胁迫下*ANS*基因表达上调,说明其参与了抵御低温胁迫的信号通路,这可能与MYB类转录因子在低温下对其的激活作用相关,也可根据此种特性为获取更多花青素而对植物采取适当的低温处理,但由于高温胁迫会使*ANS*表达下调,所以推测植物在高温下合成花青素可能比低温下少,而合成花青素也可能是植物用来抵御低温胁迫的途径之一。

温度和光照共同调控*ANS*的表达。苹果*ANS*的转录水平在高温下无论有无UV-B辐射都受抑制,低温无UV-B辐射时没有较高抑制(Ban等2009)。红叶大头芥*ANS*的表达量在低温和强光胁迫下随胁迫时间的延长而增加,其中强光胁迫下的表达量约为低温胁迫的2倍,推测低温和强光胁迫可能诱导了红叶大头芥中花青素合成途径不同的调控机制(宋明等2012)。光照和低温分别作用下*ANS*表达上调,而两者共同作用下上调幅度更大,同时光照的影响大于低温的,说明对于促进*ANS*表达上调的因素可以叠加,可通过多种环境因素共同处理的方式上调*ANS*表达并取得加倍的花青素积累。

其他环境因子如干旱、氮素、植物激素和糖类也对*ANS*的表达具有调节作用。(1)干旱胁迫可下调*ANS*的表达。红叶根用芥*ANS*在干旱胁迫下表达量较低(孙梓健2010);红肉苹果叶片中*ANS*的表达水平,在长期干旱胁迫条件下出现下调,短

期干旱胁迫条件下初期大幅下降,后期有小幅的增加(汪晓谦2015),说明干旱条件可能不利于植物花青素的积累。(2)缺氮处理可上调*ANS*的表达。茶树芽叶*ANS*的表达量缺氮处理后显著上调(李智2014),说明适当的氮肥控制可能有利于植物花青素的积累。(3)脱落酸、乙烯、MeJA等激素及蔗糖处理可上调*ANS*的表达。银杏*GbANS*在脱落酸、水杨酸、乙烯以及蔗糖处理下表达水平上调(许锋2008)。(4)‘蓝丰’蓝莓(*Vaccinium* spp.)白果期*ANS*在ABA (600 mg·L⁻¹)处理后转录水平明显提高(孙莹2013)。*PR::OSB2*转基因水稻在MeJA处理下*ANS*表达上调(Kawahigashi等2007)。萝卜(*Raphanus sativus*)幼苗下胚轴在5%的蔗糖处理下*ANS*表达量显著提高(贾晓琳2013)。从这些研究结果可推测,蔗糖可能为花青素的合成间接提供了反应底物,而与逆境相关的植物激素脱落酸及茉莉酸甲酯和促进果实成熟的乙烯可能参与了刺激花青素合成的信号通路。(4) NAA、调环酸钙等植物生长调节剂及甘露糖处理可下调*ANS*的表达。NAA (200 mg·L⁻¹)处理明显抑制‘蓝丰’蓝莓*ANS*的表达(孙莹2013)。苹果后熟时期喷施调环酸钙(prohexadione-calcium)后,*ANS*表达暂时下调(Bizjak等2013)。(5)‘洛阳红’牡丹(*Paeonia suffruticosa*)在甘露糖处理下*PsANS1*的表达下调(张超2014)。从植物生长调节剂NAA、调环酸钙对*ANS*的下调作用可推知,植物处于旺盛生长发育时期时花青素的合成可能受到抑制,这与*ANS*基因在组织成熟时期的表达量高以及与刺激组织成熟的激素作用正好一致,说明花青素在成熟时期合成量高。而甘露糖的抑制作用说明甘露糖与蔗糖之间可能存在拮抗作用,同时也说明不同的糖对花青素的合成具有不一样的效果。

此外,植物激素通过调节MYB、bHLH、WD40的表达调控*ANS*的表达。苹果(*Malus domestica*) MdMYB9和MdMYB11都与*ANS*的启动子结合,而MdbHLH3调控MdMYB9和MdMYB11的转录,茉莉酸ZIM结构域蛋白(MdJAZ)与MdbHLH3相互作用, MdJAZ2的过表达抑制MdbHLH3与MdMYB9、MdMYB11的启动子结合。MdMYB9和MdMYB11的过表达促进苹果愈伤组织花青素及原花青素的合成,茉莉酸甲酯进一步加强这种合

成(An等2015)。2,4-D、NAA和IAA通过调节拟南芥红色细胞中TT8、GL3及PAP1(组成WD40-bHLH-MYB复合体)的表达从而调控ANS和DFR的表达来控制花青素的合成(Liu等2014)。茉莉酸甲酯通过bHLH类转录因子调控MYB类转录因子表达从而调控ANS的表达和花青素的合成,而生长素类激素通过调控WD40-bHLH-MYB复合体来调控ANS的表达和花青素的合成,两者的调控机制可能存在差异。另外,也可看出MYB、bHLH、WD40类转录因子对ANS表达的调控可能是以多种方式进行的,三者形成复合体是其中的一种方式,而由bHLH调控MYB的表达后再由MYB来调控ANS表达也是其中的方式之一。

3 结语与展望

本文通过对植物花青素合成酶基因ANS的序列、功能及表达调控方面研究内容的总结和分析,可以看出,ANS基因具有保守的2OG-Fe(II)加氧酶家族的序列特征,其启动子区带有的多种环境胁迫响应元件暗示其与环境胁迫应答具有一定的相关性;ANS的表达具有组织特异性、时期特异性和品种特异性;通过基因工程技术可以获得ANS过表达的转基因植株;miRNA可以使ANS基因沉默,也可通过间接调控的方式调控ANS的表达;ANS启动子区的甲基化修饰水平及编码区核苷酸的插入或缺失直接影响其是否能够表达;MYB、bHLH、WD40类转录因子通过形成复合体或相互调控转录水平后调控ANS的表达,具有正调控和负调控两种作用;多种环境因素对ANS表达具有调控作用,其中光照是ANS表达上调并合成花青素必需的环境因子,低温可上调其表达,两者共同作用使其表达上调作用更强,激素通过调节转录因子的表达调控ANS表达等。

花青素合成酶在植物花青素合成过程中将无色花青素转变为有色花青素,为丰富园艺色彩、天然色素的生产研究提供了参考依据,而且花青素具有独特的保健功能,对人类的健康具有保护作用,所以ANS结构和功能的研究具有可观的价值。

但是,从目前的研究现状也可以看出,ANS基因的研究还处于一个需要继续深化的阶段,如miRNA对ANS的调控作用、ANS基因序列修饰后对不同品种花青素积累的影响、各种环境因子通

过怎样的信号通路启动的转录因子以哪些方式调节ANS表达和调控花青素合成、利用ANS基因功能研究成果进行分子育种等方面的研究都还较少,而这些领域的研究对于未来利用ANS基因功能为人类提供天然色素、健康食品等都是必需的,值得科研工作者对其进行更深入的研究。

参考文献

- Ahmed NU, Park JI, Jung HJ, Hur Y, Nou IS (2014). Anthocyanin biosynthesis for cold and freezing stress tolerance and desirable color in *Brassica rapa*. *Funct Integr Genomics*, 15: 383–394
- Ahn JH, Kim JS, Kim S, Soh HY, Shin H, Jang H, Ryu JH, Kim A, Yun KY, Kim S, et al (2015). *De novo* transcriptome analysis to identify anthocyanin biosynthesis genes responsible for tissue-specific pigmentation in zoysiagrass (*Zoysia japonica* Steud.). *PLoS ONE*, 10 (4): e0124497
- An CH, Lee KW, Lee SH, Jeong YJ, Woo SG, Chun H, Park YI, Kwak SS, Kim CY (2015). Heterologous expression of *IbMYB1a* by different promoters exhibits different patterns of anthocyanin accumulation in tobacco. *Plant Physiol Biochem*, 89: 1–10
- An WZ, Liu YL, Liu HL, Chen KL (2015). Isolation and analysis of *Muscari armeniacum* *MaANS* gene and its promoter. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*, 35 (9): 1728–1734 (in Chinese with English abstract) [安维忠, 刘雅莉, 刘红利, 陈凯利(2015). 葡萄风信子*MaANS*基因及启动子的克隆与分析. 西北植物学报, 35 (9): 1728–1734]
- An XH, Tian Y, Chen KQ, Liu XJ, Liu DD, Xie XB, Cheng CG, Cong PH, Hao YJ (2015). *MdMYB9* and *MdMYB11* are involved in the regulation of the JA-induced biosynthesis of anthocyanin and proanthocyanidin in apples. *Plant Cell Physiol*, 56 (4): 650–662
- Bae KS, Kih JY, Pyee JH (2008). A set of anthocyanin biosynthetic genes are differentially expressed in strawberry (*Fragaria×ananas* cv. Maehyang) during the fruit development process. *J Life Sci*, 18 (2): 234–240
- Ban Y, Kondo S, Ubi BE, Honda C, Bessho H, Moriguchi T (2009). UDP-sugar biosynthetic pathway: contribution to cyanidin 3-galactoside biosynthesis in apple skin. *Planta*, 230 (5): 871–881
- Ben-Simhon Z, Judeinstein S, Trainin T, Harel-Beja R, Bar-Ya'akov I, Borochoy-Neori H, Holland D (2015). A “White” anthocyanin-less pomegranate (*Punica granatum* L.) caused by an insertion in the coding region of the leucoanthocyanidin dioxygenase (*LDOX; ANS*) gene. *PLoS ONE*, 10 (11): e0142777
- Bizjak J, Weber N, Mikulic-Petkovsek M, Alam Z, Thill J, Stich K, Halbvirth H, Veberic R (2013). Polyphenol gene expression and changes in anthocyanins and polyphenols in the skin of ‘Braeburn’ apples after the autumn application of prohexadione-calcium. *Plant Growth Regul*, 71 (3): 225–233
- Chen Q (2012). The research of blackberry anthocyanin, proanthocyanidin synthesis metabolism and related genes cloning and expression (PhD thesis). Ya'an: Sichuan Agricultural University (in Chinese with English abstract) [陈清(2012). 黑莓花青素苷、原花色素的合成代谢及相关基因克隆和表达研究(博士论文).

- 雅安: 四川农业大学]
- Chen YH (2015). Cloning and expression analysis of *DaANS* gene in *Dioscorea alata* L. [Master's thesis]. Haikou: Hainan University (in Chinese with English abstract) [陈跃华(2015). 参薯*DaANS*基因的克隆及表达分析[硕士论文]. 海口: 海南大学]
- Chen YH, Xu Y, Wu WQ, Liu LY, Huang DY (2015). Cloning and analysis of differential expression of *DaANS* gene in *Dioscorea alata*. *Plant Physiol J*, 51 (6): 853–859 (in Chinese with English abstract) [陈跃华, 许云, 吴文婧, 刘林娅, 黄小龙, 黄东益 (2015). 参薯*DaANS*基因克隆及表达差异分析. 植物生理学报, 51 (6): 853–859]
- Crifò T, Petrone G, Lo Cicero L, Lo Piero AR (2011). Short cold storage enhances the anthocyanin contents and level of transcripts related to their biosynthesis in blood oranges. *J Agric Food Chem*, 60 (1): 476–481
- Debes MA, Arias ME, Grellet-Bournonville CF, Wulff AF, Martínez-Zamora MG, Castagnaro AP, Díaz-Ricci JC (2011). White-fruited *Duchesnea indica* (Rosaceae) is impaired in *ANS* gene expression. *Am J Bot*, 98 (12): 2077–2083
- Deng J (2015). The analysis of flavonoid pigments in lotus petals and the studies on the coloration mechanism of lotus petals [PhD thesis]. Wuhan: University of Chinese Academy of Sciences (Wuhan Botanical Garden) (in Chinese with English abstract) [邓娇(2015). 莲花瓣类黄酮色素分析及莲花瓣着色机理研究[博士学位论文]. 武汉: 中国科学院研究生院(武汉植物园)]
- Deng J, Fu Z, Chen S, Damaris RN, Wang K, Li T, Yang P (2015). Proteomic and epigenetic analyses of lotus (*Nelumbo nucifera*) petals between red and white cultivars. *Plant Cell Physiol*, 56 (8): 1546–1555
- Dong W, You Y, Niu L, Gao F (2014). Isolation and analysis of the promoter of an anthocyanin synthase gene from purple-fleshed sweet potato tubers. *Acta Physiol Plant*, 36 (10): 2637–2649
- Fan RH, Huang ML, Wu JS, Zhong HQ (2013). Cloning and expression of anthocyanidin synthase in *Strelitzia reginae* Banks. *Chin J Cell Biol*, 35 (11): 1620–1625 (in Chinese with English abstract) [樊荣辉, 黄敏玲, 吴建设, 钟淮钦(2013). 鹤望兰花青素合成酶基因*SrANS*的克隆及表达分析. 中国细胞生物学学报, 35 (11): 1620–1625]
- Fu WY (2013). Analysis of flavonoids component and gene expression in *Saussurea medusa* Maxim [Master's thesis]. Yangling: Northwest A & F University (in Chinese with English abstract) [付婉艺(2013). 水母雪莲类黄酮成分及基因表达分析[硕士论文]. 杨凌: 西北农林科技大学]
- Gu L, Zhu HM, Gu ZX (2007). Anthocyanin biosynthesis and the colour mechanism, and the ways to improve its stability. *Sci Tech Food Ind*, 11: 240–244 (in Chinese with English abstract) [顾林, 朱洪梅, 顾振新(2007). 花青素的生物合成和成色机理及提高其稳定性的途径. 食品工业科技, 11: 240–244]
- Hassani D, Liu HL, Chen YN, Wan ZB, Zhuge Q, Li SX (2015). Analysis of biochemical compounds and differentially expressed genes of the anthocyanin biosynthetic pathway in variegated peach flowers. *Genet Mol Res*, 14 (4): 13425
- Hong G, Wang J, Zhang Y, Hochstetter D, Zhang S, Pan Y, Shi Y, Xu P, Wang Y (2014). Biosynthesis of catechin components is differentially regulated in dark-treated tea (*Camellia sinensis* L.). *Plant Physiol Biochem*, 78: 49–52
- Hong MJ, Kim JB, Yoon YH, Kim SH, Ahn JW, Jeong IY, Kang SY, Seo YW, Kim DS (2014). The effects of chronic gamma irradiation on oxidative stress response and the expression of anthocyanin biosynthesis-related genes in wheat (*Triticum aestivum*). *Int J Radiat Biol*, 90 (12): 1218–1228
- Huang W, Sun W, Lv H, Luo M, Zeng S, Pattanaik S, Yuan L, Wang Y (2013). A R2R3-MYB transcription factor from *Epimedium sagittatum* regulates the flavonoid biosynthetic pathway. *PLoS ONE*, 8 (8): e70778
- Huang YJ, Song S, Allan AC, Liu XF, Yin XR, Xu CJ, Chen KS (2013). Differential activation of anthocyanin biosynthesis in *Arabidopsis* and tobacco over-expressing an R2R3 MYB from Chinese bayberry. *Plant Cell Tiss Organ Cult*, 113 (3): 491–499
- Jaakola L (2013). New insights into the regulation of anthocyanin biosynthesis in fruits. *Trends Plant Sci*, 18 (9): 477–483
- Jia X, Shen J, Liu H, Li F, Ding N, Gao C, Pattanaik S, Patra B, Li R, Yuan L (2015). Small tandem target mimic-mediated blockage of microRNA858 induces anthocyanin accumulation in tomato. *Planta*, 242 (1): 283–293
- Jia XL (2013). The primary research of exogenous sugar treatment in anthocyanin metabolism in radish seedlings [Master's thesis]. Xinxiang: Henan Normal University (in Chinese with English abstract) [贾晓琳(2013). 外源糖在心里美萝卜幼苗花青素代谢中作用初探[硕士论文]. 新乡: 河南师范大学]
- Jia XY, Liu H, Shen J, Li Fang, Ding N, Sun Y, Gao CY, Li RZ (2015). Negative regulation of anthocyanin biosynthesis in tomato by MicroRNA828 under phosphate deficiency. *Sci Agric Sin*, 15: 2911–2924 (in Chinese with English abstract) [贾小云, 刘慧, 沈洁, 李芳, 丁娜, 孙岩, 高昌勇, 李润植(2015). MicroRNA828负调控缺磷胁迫诱导的番茄花青素生物合成. 中国农业科学, 15: 2911–2924]
- Jiang CC, Chen GX, Pan DM, Lv SH (2011). Identification and prokaryotic expression of anthocyanidin synthase gene in *Prunus salicina*. *Chin J Trop Crops*, 11: 2088–2093 (in Chinese with English abstract) [姜翠翠, 陈桂信, 潘东明, 吕恃衡(2011). 棕果实中花青素合成酶基因*PsANS*的克隆及原核表达分析. 热带作物学报, 11: 2088–2093]
- Kawahigashi H, Hirose S, Iwai T, Ohashi Y, Sakamoto W, Maekawa M, Ohkawa Y (2007). Chemically induced expression of rice *OSB2* under the control of the *OsPRI.1* promoter confers increased anthocyanin accumulation in transgenic rice. *J Agric Food Chem*, 55 (4): 1241–1247
- Li BY (2012). Regulatory roles of WD40-domain protein TTG2 in growth, development and pathogen defense of tobacco [PhD thesis]. Nanjing: Nanjing Agricultural University (in Chinese with English abstract) [李宝燕(2012). 烟草WD40蛋白TTG2对生长发育和抗病性的调控作用[博士学位论文]. 南京: 南京农业大学]
- Li XG, Wang J, Yu ZY (2015). Cloning of an anthocyanidin synthase gene homolog from blackcurrant (*Ribes nigrum* L.) and its expression at different fruit stages. *Genet Mol Res*, 14 (1): 2726
- Li Z (2014). Effect of the main environmental factors on anthocyanin content and related genes expression of purple tea shoots [PhD

- thesis]. Tai'an: Shandong Agricultural University (in Chinese with English abstract) [李智(2014). 不同环境因子调控茶树紫色芽叶形成的分子机制研究[博士学位论文]. 泰安: 山东农业大学]
- Liang TT (2013). Function analysis of black pericarp gene in rice variety 'TIANHEMI' [Master's thesis]. Nanjing: Nanjing Agricultural University (in Chinese with English abstract) [梁婷婷(2013). 甜黑米黑色种皮基因的功能分析[硕士学位论文]. 南京: 南京农业大学]
- Lim SH, Kim JK, Lee JY, Kim YM, Sohn SH, Kim DH, Ha SH (2013). Petal-specific activity of the promoter of an anthocyanidin synthase gene of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.). *Plant Cell Tiss Organ Cult*, 114 (3): 373–383
- Liu C, Miao J, Huo YM, Yang YY, Liu BJ, Wang ZF, Liu B, Wang F, Wu X (2013). Cloning and transient expression assay of *ANS* promoters in onion. *Shandong Agric Sci*, 45 (5): 13–17 (in Chinese with English abstract) [刘畅, 缪军, 霍雨猛, 杨妍妍, 刘冰江, 王志峰, 刘波, 王富, 吴雄(2013). 洋葱*ANS*基因启动子的克隆与瞬时表达分析. *山东农业科学*, 45 (5): 13–17]
- Liu X, Chen M, Li M, Yang C, Fu Y, Zhang Q, Zeng L, Liao Z (2010). The anthocyanidin synthase gene from sweetpotato [*Ipomoea batatas* (L.) Lam]: cloning, characterization and tissue expression analysis. *Afr J Biotechnol*, 9 (25): 3748–3752
- Liu Y, Shi Z, Maximova S, Payne MJ, Guiltinan MJ (2013). Proanthocyanidin synthesis in *Theobroma cacao*: genes encoding anthocyanidin synthase, anthocyanidin reductase, and leucoanthocyanidin reductase. *BMC Plant Biol*, 13 (1): 202
- Liu Z, Shi MZ, Xie DY (2014). Regulation of anthocyanin biosynthesis in *Arabidopsis thaliana* red *pap1-D* cells metabolically programmed by auxins. *Planta*, 239 (4): 765–781
- Mori K, Goto-Yamamoto N, Kitayama M, Hashizume K (2007). Loss of anthocyanins in red-wine grape under high temperature. *J Exp Bot*, 58 (8): 1935–1945.
- Nakajima J, Tanaka Y, Yamazaki M, Saito K (2001). Reaction mechanism from leucoanthocyanidin to anthocyanidin 3-glucoside, a key reaction for coloring in anthocyanin biosynthesis. *J Biol Chem*, 276 (28): 25797–25803
- Nakatsuka A, Mizuta D, Kii Y, Miyajima I, Kobayashi N (2008). Isolation and expression analysis of flavonoid biosynthesis genes in evergreen azalea. *Sci Hortic*, 118 (4): 314–320
- Nakatsuka T, Saito M, Sato-Ushiku Y, Yamada E, Nakasato T, Hoshi N, Fujiwara K, Hikage T, Nishihara M (2012). Development of DNA markers that discriminate between white- and blue-flowers in Japanese gentian plants. *Euphytica*, 184 (3): 335–344
- Nakatsuka T, Yamada E, Saito M, Fujita K, Nishihara M (2013). Heterologous expression of gentian MYB1R transcription factors suppresses anthocyanin pigmentation in tobacco flowers. *Plant Cell Rep*, 32 (12): 1925–1937
- Pu XX, Luo XP, Bai YC, Li CL, Chen H, Wu Q (2014). Gene cloning of anthocyanin synthase in *Fagopyrum dibotrys* and correlation between its expression level and anthocyanin content. *Chin Trad Herb Drug*, 45 (7): 985–989 (in Chinese with English abstract) [卜星星, 雒晓鹏, 白悦辰, 李成磊, 陈惠, 吴琦(2014). 金荞麦花青素合酶基因的克隆及其表达与花青素量的相关性研究. *中草药*, 45 (7): 985–989]
- Qi XW, Shuai Q, Fan L, Zeng QW, Xiang ZH, He NJ (2013). Molecular cloning and expressional pattern of anthocyanidin synthase gene in two mulberry species with different fruit colors. *Sci Seric*, 39 (1): 5–13 (in Chinese with English abstract) [齐希武, 帅琴, 范丽, 曾其伟, 向仲怀, 何宁佳(2013). 桑树花青素合成酶(*ANS*)基因的克隆及在2种果色桑树中的表达特征. *蚕业科学*, 39 (1): 5–13]
- Reddy AM, Reddy VS, Scheffler BE, Wienand U, Reddy AR (2007). Novel transgenic rice overexpressing anthocyanidin synthase accumulates a mixture of flavonoids leading to an increased antioxidant potential. *Metab Eng*, 9 (1): 95–111
- Salvatierra A, Pimentel P, Moya-León MA, Herrera R (2013). Increased accumulation of anthocyanins in *Fragaria chiloensis* fruits by transient suppression of *FcMYB1* gene. *Phytochemistry*, 90: 25–36
- Schaart JG, Dubos C, Romero De La Fuente I, van Houwelingen AMML, de Vos RCH, Jonker HH, Xu WJ, Routaboul JM, Lepiniec L, Bovy AG (2013). Identification and characterization of MYB-bHLH-WD40 regulatory complexes controlling proanthocyanidin biosynthesis in strawberry (*Fragaria×ananassa*) fruits. *New Phytol*, 197 (2): 454–467
- Shi SG, Li SJ, Kang YX, Liu JJ (2015). Molecular characterization and expression analyses of an anthocyanin synthase gene from *Magnolia sprengeri* Pamp. *Appl Bioch Biotechnol*, 175 (1): 477–488
- Song M, Sun ZJ, Tang QL, Wang ZM, Ren XS (2012). Studies on anthocyanin accumulation and related gene expression in big-head mustard [*Brassica juncea* (L.) Czern. et Coss. var. *megarrhiza* Tsen et Lee] induced by environmental stress. *Chin Veg*, (6): 27–34 (in Chinese with English abstract) [宋明, 孙梓健, 汤青林, 王志敏, 任雪松(2012). 环境胁迫下大头芥花青素积累及其相关结构基因的表达. *中国蔬菜*, (6): 27–34]
- Sun HY (2015). Cloning of *VwANS*, *VwF3'H* and expression analysis of *VwANS*, *VwDFR* in pansy [Master's thesis]. Haikou: Hainan University (in Chinese with English abstract) [孙海燕(2015). 三色堇*VwANS*和*VwF3'H*基因克隆及*VwANS*和*VwDFR*基因表达分析[硕士学位论文]. 海口: 海南大学]
- Sun Y (2013). Study on anthocyanin biosynthetic and response to growth regulator in developing fruit of blueberry [Master's thesis]. Beijing: Beijing Forestry University (in Chinese with English abstract) [孙莹(2013). 蓝莓花青苷合成及对生长调节剂的响应[硕士学位论文]. 北京: 北京林业大学]
- Sun ZJ (2010). Cloning and expression analysis of anthocyanin biosynthesis genes in red-leaf mustard [Master's thesis]. Chongqing: Southwest University (in Chinese with English abstract) [孙梓健(2010). 红叶芥花青素合成途径结构基因的克隆及表达分析[硕士学位论文]. 重庆: 西南大学]
- Tang XJ, Han KT, Hu K, Meng L, Dai SL (2012). Cloning and transient expression assay of *CmDFR* and *CmANS* promoters in anthocyanin pathway from *Chrysanthemum×morifolium*. *Biotech Bull*, (5): 81–88 (in Chinese with English abstract) [唐杏姣, 韩科厅, 胡可, 孟丽, 戴思兰(2012). 菊花*CmDFR*与*CmANS*基因启动子序列克隆与瞬时表达分析. *生物技术通报*, (5): 81–88]
- Wang L (2015). Regulation mechanism of anthocyanin biosynthesis

- branch pathways in *Senecio cruentus* [Master's thesis]. Beijing: Beijing Forestry University (in Chinese with English abstract) [王璐(2015). 瓜叶菊花青素苷合成分支途径的调控机制[硕士论文]. 北京: 北京林业大学]
- Wang LH (2014). Study on the anthocyanins metabolism and the regulation of relative genes in the fruit of apple (*Malus pumila* Mill.) [PhD thesis]. Beijing: China Agricultural University (in Chinese with English abstract) [王丽辉(2014). 苹果果皮花色苷代谢及相关基因调控的研究[博士论文]. 北京: 中国农业大学]
- Wang XQ (2015). Phenolic metabolism of red-fleshed apples and its response to stress [PhD thesis]. Yangling: Northwest A & F University (in Chinese with English abstract) [汪晓谦(2015). 红肉苹果酚类代谢及其对逆境响应研究[博士论文]. 杨凌: 西北农林科技大学]
- Wang ZM (2012). Identification and functional analysis of miRNAs involved in cotton fiber initiation [PhD thesis]. Beijing: Tsinghua University (in Chinese with English abstract) [王正明(2012). 棉花纤维细胞起始期相关miRNA的鉴定与功能研究[博士论文]. 北京: 清华大学]
- Xu F (2008). Cloning and expression of *GbPAL* and *GbANS* genes and effect of ALA on the content of flavonoids in *Ginkgo biloba* [PhD thesis]. Tai'an: Shandong Agricultural University (in Chinese with English abstract) [许锋(2008). 银杏*GbPAL*和*GbANS*基因的克隆与表达及ALA对类黄酮含量的影响[博士论文]. 泰安: 山东农业大学]
- Xu ZR, Li CL, Cui GX, Sun Y, Li YH (2009). Cloning, sequence analysis and expression of anthocyanidin synthase gene in turnip. *Lett Biotechnol*, 20 (1): 66–68, 74 (in Chinese with English abstract) [许志茹, 李春雷, 崔国新, 孙燕, 李玉花(2009). 芜菁花青素合成酶基因的克隆、序列分析及表达. *生物技术通讯*, 20 (1): 66–68, 74]
- Xu ZR, Li YH (2006a). Expression of the genes involved in anthocyanidin biosynthesis of 'Tsuda' turnip. *J Plant Physiol Mol Biol*, 32 (5): 583–586 (in Chinese with English abstract) [许志茹, 李玉花(2006a). '津田芜菁'花色苷生物合成相关基因的表达. *植物生理与分子生物学学报*, 32 (5): 583–586]
- Xu ZR, Li YH (2006b). Screening the genes associated with anthocyanin biosynthesis in roots of 'Tsuda' turnip using cDNA microarray. *Hereditas*, 28 (9): 1101–1106 (in Chinese with English abstract) [许志茹, 李玉花(2006b). 利用cDNA微阵列分离津田芜菁花青素生物合成相关基因. *遗传*, 28 (9): 1101–1106]
- Zhang B (2011). Study on the mechanism of the regulation of the anthocyanin biosynthesis in *Brassica* [PhD thesis]. Chongqing: Chongqing University (in Chinese with English abstract) [张彬(2011). 芸薹属植物花青素生物合成代谢途径调控机制的研究[博士论文]. 重庆: 重庆大学]
- Zhang B, Yin MQ, Wen YY, Zhao J, Wang JP, Wang YG (2014). Expression features of the anthocyanin biosynthetic structural genes in kale. *J Shanxi Agric Sci*, 42 (4): 313–316 (in Chinese with English abstract) [张彬, 尹美强, 温银元, 赵娟, 王计平, 王玉国(2014). 羽衣甘蓝花青素合成途径结构基因的表达特性. *山西农业科学*, 42 (4): 313–316]
- Zhang C (2014). Molecular mechanism of glucose regulating anthocyanin biosynthesis of tree peony cut flower [PhD thesis]. Beijing: Beijing Forestry University (in Chinese with English abstract) [张超(2014). 葡萄糖调控牡丹切花花青素苷合成的分子机理[博士论文]. 北京: 北京林业大学]
- Zhang JL (2008). Study on the formation of flower color from ornamental sunflower (*Helianthus annuus*) [PhD thesis]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University (in Chinese with English abstract) [张剑亮(2008). 观赏向日葵花色形成的机理研究[博士论文]. 福州: 福建农林大学]
- Zhao RR, Jiang M, He CM, Zhu YQ, Zhou M (2010). Isolation and sequence analysis of anthocyanidin synthase gene *BaANS* from *Brassica albograbra*. *Acta Agric Zhejiangensis*, 22 (2): 161–166 (in Chinese with English abstract) [赵蓉蓉, 蒋明, 贺蔡明, 朱雅琴, 周敏(2010). 芥蓝*Brassica albograbra*花青素合成酶基因*BaANS*的克隆与序列分析. *浙江农业学报*, 22 (2): 161–166]
- Zhao ZC, Hu FC, Huang JF, Hu GB, Yang ZY, Xiao J (2012). Cloning and sequence analysis of *ANS* gene from *Litchi chinensis*. *Northern Hortic*, 19: 118–121 (in Chinese with English abstract) [赵志常, 胡福初, 黄建峰, 胡桂兵, 杨转英, 肖靖(2012). 荔枝*ANS*基因的克隆及其序列分析. *北方园艺*, 19: 118–121]
- Zhou SM, Wang LP, Xiang X, Wei BH, Li LZ, Li YR, Fang FX, Cao JS (2009). Cloning and molecular characteristics of *ANS* gene and its correlations with anthocyanin accumulation in yam. *Acta Hortic Sin*, 36 (9): 1317–1326 (in Chinese with English abstract) [周生茂, 王玲平, 向珣, 韦本辉, 李立志, 李杨瑞, 方锋学, 曹家树(2009). 山药*ANS*基因的克隆和分子特性及其与花青素积累的关系. *园艺学报*, 36 (9): 1317–1326]

The research progress on plant anthocyanin synthetase *ANS* gene

LI Xiao-Lan, ZHANG Ming-Sheng*, LÜ Xiang

School of Life Sciences, Key Laboratory of Plant Resources Conservation and Germplasm Innovation in Mountainous Region (Ministry of Education), Guizhou University, Guiyang 550025, China

Abstract: Anthocyanin synthase (ANS) is a key enzyme at the end of plant anthocyanin biosynthetic pathway, which catalyzes leucoanthocyanins into anthocyanins. In this paper, we review the structure and function of *ANS* genes, so that to provide some reference data for relate to *ANS* cloning and its functional analysis, to explore the molecular regulatory mechanism of anthocyanin synthesis, to develop and utilize anthocyanin based on a lot of plants.

Key words: anthocyanin synthetase; gene function; expression regulation; anthocyanin; adversity stress

Received 2016-04-14 Accepted 2016-05-28

This work was supported by the Project of High-level Innovative Talents in Guizhou (Grant No. [2015]4031) and the Project of Systemic Construction on Education Innovation Base of Graduate Student in Guizhou (Grant No. CXJD [2014]001).

*Corresponding author (E-mail: mshzhang@163.com).