

# 利用 cDNA 微阵列分离津田芜菁花青素生物合成相关基因

许志茹, 李玉花

(东北林业大学生命科学学院, 哈尔滨 150040)

**摘要:** 花色苷是植物的重要次生代谢产物, 在植物体内行使多种生理功能。利用 UV-A 处理 48 h 后津田芜菁块根变红, 以黑暗处理条件下的白色块根为对照, 与削减文库特异基因片段制备的 cDNA 微阵列进行杂交。UV-A 处理条件下津田芜菁中表达上调的基因为 81 个, 表达下调的基因为 47 个, 表达上调的基因中包括与花青素生物合成直接相关的基因片段 *cytochrome P450*, *PAL*, *F3H*, *ANS*, *CHS*, *DFR* 和 *GST* 等。Northern 杂交结果显示, UV-A 处理 48 h 的津田芜菁试材中, *PAL*、*CHS*、*F3H*、*DFR* 和 *ANS* 基因的表达量明显高于黑暗条件下白色块根中这些基因的表达量, 进一步验证了芯片杂交结果的可靠性。

**关键词:** 花色苷; 津田芜菁; 块根; UV-A; cDNA 微阵列; 基因表达

中图分类号: Q74; S603 文献标识码: A

文章编号: 0253-9772(2006)09-1101-06

## Screening the Genes Associated with Anthocyanin Biosynthesis in Roots of 'Tsuda' Turnip Using cDNA Microarray

XU Zhi-Ru, LI Yu-Hua

(Life Science College, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China)

**Abstract:** Anthocyanins are important secondary metabolites in plants, which are involved in many functions. The white peel of an enlarged root in 'Tsuda' plants turned red after irradiated with UV-A light for 48h, but remained white when held in the dark. Red earthnuts and white peels were hybridized with cDNA microarray made by unique gene fragments of subtraction library. The expression of 81 genes were up-regulated including *cytochrome P450*, *PAL*, *F3H*, *ANS*, *CHS*, *DFR* and *GST* gene fragments related to anthocyanidin biosynthesis. The expression of 47 genes was down-regulated after irradiated with UV-A light. The northern blotting results showed that the expression of *PAL*, *CHS*, *F3H*, *DFR* and *ANS* in red root peels was more in 'Tsuda' turnip after irradiation with UV-A light than in white ones held in a dark condition. The results of northern blotting verified the reliability of cDNA microarray.

**Key words:** Anthocyanin; 'Tsuda' turnip; root; UV-A; cDNA microarray; gene expression

花色、果色是花卉和果实的重要遗传性状, 同时也决定其商品价值和观赏价值。目前对花色的研究和改造, 已成为花卉基因工程研究的重要方向和花卉品种改良的重要目标。

花的主要色素是类黄酮(flavonoids)和胡萝卜素,

积累在维管植物液泡中, 行使各种各样的生理功能<sup>[1-3]</sup>。花色苷是类黄酮的一个亚类, 包括花青素、花葵素和翠雀素, 分别与配糖体结合后可决定花、果实和种子的红色、砖红色和蓝色。目前对花色苷的合成途径研究已较为深入<sup>[4]</sup>, 多种植物编码合成花色素

收稿日期: 2005-09-16; 修回日期: 2005-12-12

基金项目: 国家自然科学基金项目(编号: 30170785, 30571510); 黑龙江省博士后政府资助经费[Supported by Chinese National Natural Science Foundation (No. 30170785, 30571510) and Postdoctor Foundation of Heilongjiang Province Government]

作者简介: 许志茹(1972—), 女, 黑龙江人, 副教授, 博士, 研究方向: 植物分子生物学。Tel: 0451-82191783; E-mail: xuzhiru2003@126.com

通讯作者: 李玉花(1961—), 女, 吉林人, 朝鲜族, 教授, 博士, 博士生导师, 研究方向: 植物发育生物学。Tel: 0451-82191783; E-mail: lyhshen@126.com

昔的酶基因已被克隆<sup>[5]</sup>。在此基础上采用反义RNA技术、共抑制技术及过量表达新基因等技术手段已实现了对花色的修饰<sup>[6,7]</sup>。目前已知的花青素生物合成过程中的主要催化酶有: 苯丙氨酸解氨酶(phenylalanine ammonialyase, PAL); 苯基苯乙烯酮合成酶(chalcone synthase, CHS); 苯基苯乙烯酮黄烷酮异构酶(chalcone-flavanone isomerase, CHI); 黄烷酮-3-羟化酶(flavanone 3-hydroxylase, F3H); 二氢黄酮醇-4-还原酶(dihydroflavonol-4-reductase, DFR); 花色素合成酶(anthocyanidin synthase, ANS)和类黄酮-3-O-葡萄糖基转移酶(UDP glucose-flavonoid 3-O-glucosyl-transferase, UFGT)。

植物花和果实的着色过程除了受内在因素影响外, 外界环境尤其是光照条件也起着特别重要的作用<sup>[8,9]</sup>, 其中蓝光和紫外光对花色素昔生物合成相关酶基因的表达具有调节作用<sup>[10-13]</sup>。近年来基因芯片在植物研究中的应用正在逐渐开展<sup>[14,15]</sup>, Casati P等<sup>[16]</sup>和Ulm R等<sup>[17]</sup>利用微阵列杂交以玉米和拟南芥为试材研究了植物适应紫外线照射的应答情况。

芜菁(*Brassica campestris* L. ssp. *rapa*)别名小蔓菁、园根, 十字花科芸苔属芜菁亚种, 二年生草本植物。在栽培生产中发现花青素生物合成, 依光型津田芜菁块根着色时必须要有光存在, 受光一侧呈紫红色, 背阴一侧不着色。本实验以津田芜菁为试材, 利用削减文库中的特异基因片段制备 cDNA 微阵列, 大规模并行检测依光型花青素合成的相关基因群体, 同时利用 Northern 杂交技术, 以已知的花青素生物合成关键酶基因片段为探针研究相关基因在光处理条件下表达量的变化情况。这些工作将为依光型花青素生物合成的研究奠定基础。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

取温室种植的津田芜菁自交纯系, 块根始终在土中避光生长, 块根开始膨大时用锡纸遮蔽整个栽培钵, 进一步避光。块根膨大两个月以后可进行光照处理。

UV-A(352 nm)光照处理白色膨大块根 48 h, 取处理的块根和未光照的白色对照块根进行实验。

### 1.2 引物序列与试剂

削减文库特异基因片段 PCR 扩增引物序列为: T7 引物, 5'-AATACGACTCACTATA G-3'; SP6 引物, 5'-TAGGTGACACTATAGAA-3'。

Northern 杂交的引物序列为: F3H F-5'-AAG-CGGATACACGGTTGC-3', R-5'-ACACGAGACGAT-GGGAAG-3'; MYB F-5'-TATCAATCTGTCAGCCT-CT-3, R-5'-CTGCTTTCAGCAACC-3'; DFR F-5'-TT-TGTCCGTGCCACTGTTC-3', R-5'-TCCATTCACTG-TCG GTTTT-3'; PAL, F-5'-TGGTCGCGGTTGAGG-TAC-3', R-5'-CTCGCAGAAGCGTGAT GG-3'; ANS, F-5'-CTTGGAGGTCGATGGTGG-3', R-5'-CAGGGT-GACAGACATCTTAA-3'。

Ex-Taq 聚合酶及 DNA Marker 等购自宝生物工程(大连)有限公司。96-well PCR Clean-up Kit 购自 V-GENE Biotechnology Limited 公司。mRNA purification kit 购自 Amersham Biosciences 公司。CyScribe™ GFX™ Purification Kit 试剂盒和 CyScribe™ First-Strand cDNA Labelling Kit 购自 Amersham Biosciences 公司。Cyanine labeled deoxynucleotide(cy5-dCTP 和 cy3-dCTP)购自 PerkinElmer 公司。Northren 杂交部分试剂购自 Roche 公司。

Trizol RNA 提取液: 0.8 mol/L 盐酸胍, 0.4 mol/L 硫氢酸铵, 0.1 mol/L 醋酸钠(pH5.0), 5%甘油, 38% Tris-饱和酚。

### 1.3 总 RNA 的制备

在 1 mL Trizol 提取液中加入研磨的块根皮粉末, 迅速混匀, 摇床振荡 15 min。加入 0.3 mL 氯仿, 振荡 5 min, 12 000 r/min 离心 10 min。取上清, 加入 0.7 mL 氯仿, 振荡 5 min, 12 000 r/min 离心 10 min。取上清, 加入 1/2 体积的 1.2 mol/L 氯化钠和等体积异丙醇, 室温静置沉淀 10 min。12 000 r/min 离心 10 min, 弃上清液。75%乙醇洗涤沉淀, 加入 20 μL 无菌去离子水溶解 RNA。

### 1.4 削减文库特异基因片段的扩增和纯化

在 96 孔 PCR 板中扩增削减文库的特异基因片段, 反应 Tm 值为 40℃(由 T 7 和 SP 6 引物决定)。利用 96-well PCR Clean-up Kit 纯化扩增产物。纯化后的扩增产物可以制备 cDNA 微阵列。

### 1.5 芯片杂交

#### 1.5.1 mRNA 的纯化及荧光标记

利用 mRNA purification kit 纯化 mRNA。逆转录制备荧光标记的 cDNA, 对照 cDNA 样品用 Cy 5-dUTP 标记, UV-A 处理试材的 cDNA 样品用 Cy 3-dUTP 标记。

混合标记产物, 利用 CyScribe™ GFX™ Purification Kit 纯化后, 溶解液中加入 1.5 μL A80、7.5 μL hybridization buffer 和 1.5 μL 甲酰胺, 混匀<sup>[18]</sup>。

### 1.5.2 杂交及洗涤

将上述杂交液滴加到芯片上, 盖好盖片, 42℃ 杂交 14~16 h。55℃, 10 min 洗涤杂交过的芯片, 依次经 1×SSC, 0.2% SDS; 0.1×SSC, 0.2% SDS; 0.1×SSC, 0.2% SDS 和无菌超纯水洗涤, 然后 500 r/min 短暂离心, 甩干芯片。

### 1.5.3 检测及分析

利用 PerkinElmer 公司的 Scan-Array™ Express Microarray Scanner 扫描仪对芯片进行双波长扫描并提取、分析数据。

### 1.5.4 Northern 杂交

探针用地高辛标记。以质粒为模板进行一次 PCR 合成目的片段, 利用地高辛标记的 dNTP 以一次 PCR 产物为模板进行二次 PCR, 合成探针。

低电压长时间(50 v, 5 h)电泳总 RNA, 每个点样孔 RNA 上样量为 15 μg。检测电泳效果, 利用吸印法转膜。50℃ 烘干膜, 短波紫外线固定 30 s。50℃ 预杂交 1 h。加入变性的探针, 杂交过夜。洗膜, X 光片显影定影。检测杂交结果。

## 2 结果

### 2.1 特异基因片段的扩增和纯化结果

对削减文库中的 1 424 个特异基因片段进行 PCR 扩增和纯化, 电泳检测结果良好之后即可制备 cDNA 微阵列。PCR 产物纯化部分结果见图 1。

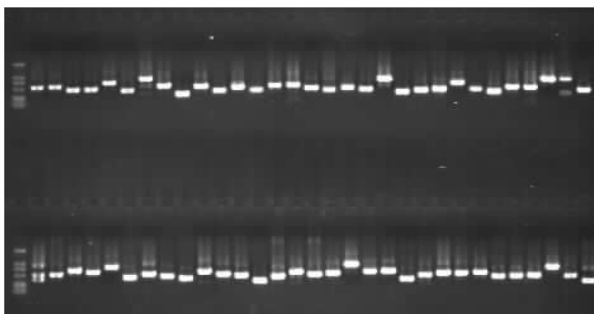


图 1 特异基因片段的 PCR 纯化物

Fig. 1 PCR purification product of singleness gene

### 2.2 芯片杂交结果

#### 2.2.1 cDNA 荧光标记结果

提取 UV-A 和黑暗条件处理的津田芜菁块根皮

总 RNA, 纯化 mRNA, 反转录过程中用 cy 3 和 cy 5 标记 cDNA 的第一条链。混合两种标记物, 过柱纯化后取 1 μL 进行曲线扫描, 在 550 nm 和 650 nm 可以测定 cy 3 和 cy 5 标记的 cDNA 的含量(数据未显示)。

#### 2.2.2 芯片杂交结果

利用削减文库特异基因片段的 PCR 纯化产物制备 cDNA 微阵列, 一张芯片上每个样品重复点样 3 次, 样品及对照 cDNA 荧光标记后与芯片杂交。芯片杂交结果如图 2。

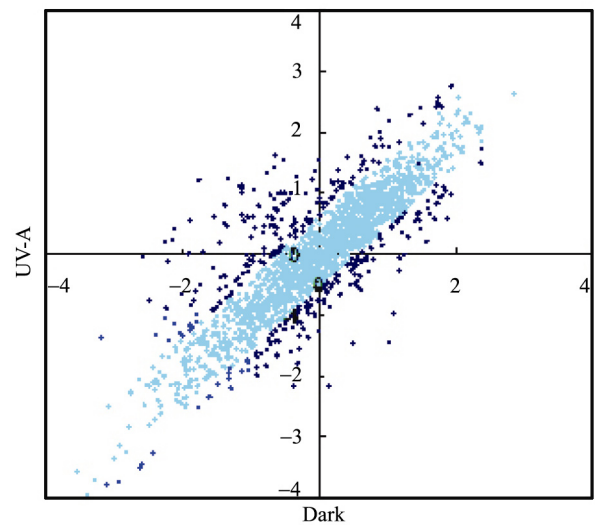


图 2 芯片扫描数据回归分析

Fig. 2 Scanning datas regression analysis of cDNA microarray

从图 2 可以看出, 津田芜菁在 UV-A 处理条件下特异表达的基因数量比黑暗处理条件下特异表达的基因数量多。UV-A 照射下表达显著的基因有 81 个, 其中表达极显著的基因有 23 个, 包括花青素生物合成的相关基因片段(naringenin, phenylalanine ammonia-lyase, flavonone-3-hydroxylase, dihydroflavonol 4-reductase, cytochrome P450 family protein, chalcone synthase, glutathione S-transferase, anthocyanidin synthase)。黑暗条件下表达显著的基因有 47 个, 其中表达极显著的有 7 个。某些显著表达基因的功能还有待于进一步研究。表 1 列举了部分 UV-A 照射下表达上调和下调的基因片段。

### 2.3 Northern 杂交结果

#### 2.3.1 探针制备

探针制备结果如图 3, 地高辛标记的探针比对应

表 1 UV-A 处理条件下表达发生变化的部分基因  
Table 1 Genes showing changes in their expression in response to UV-A

基因地址 Gene ID	基因描述 Gene description	$\log_2(\text{黑暗/UV-A})$ $\log_2(\text{Dark/UV-A})$
gi: 15225914	细胞色素 P450 Cytochrome P450	-2.561794
gi: 20260116	苯丙氨酸解氨酶 Phenylalanine ammonia-lyase	-1.738958
gi: 729506	黄酮-3-羟化酶 Flavonone-3-hydroxylase	-2.440301
gi: 29423729	花色素合酶 Anthocyanidin synthase	-2.085897
gi: 3420729	苯基苯乙烯酮合成酶 Chalcone synthase	-3.550372
gi: 29423733	二氢黄酮醇-4-还原酶 Dihydroflavonol 4-reductase	-2.461981
gi: 15228723	ADP 核糖基化因子 ADP-ribosylation factor	-3.066608
gi: 5487875	过氧化氢酶 Catalase	-2.921929
gi: 30684587	叶绿体类囊体加工肽酶 Chloroplast thylakoidal processing peptidase	-1.992870
gi: 15231715	果糖磷酸盐醛缩酶 Fructose-bisphosphate aldolase	-2.261564
gi: 18417073	糖基水解酶家族蛋白 1 Glycosyl hydrolase family 1 protein	-2.663293
gi: 27372775	脂肪氧化酶 2 Lipoxigenase 2	-1.897458
gi: 7488462	硫葡萄糖戴忒结合蛋白 Myosinase-binding protein	-1.832905
gi: 15224581	谷胱甘肽 S 转移酶 Glutathione S-transferase	-1.520043
gi: 30688003	磷酸肌醇磷酸酶家族蛋白 Phosphoinositide phosphatase family protein	-2.000040
gi: 14009294	6-磷酸葡萄糖酸内酯酶 6-phosphogluconolactonase	-1.376754
gi: 21593104	JUN 激酶催化蛋白 JUN kinase activator protein	-1.042483
gi: 20140684	翻译调控的瘤蛋白同系物 Translationally controlled tumor protein homolog	-1.738958
gi: 15218423	胰蛋白酶和蛋白酶抑制剂家族蛋白 Trypsin and protease inhibitor family protein	-2.099237
gi: 1747310	Myb 样 DNA 结合蛋白 Myb-like DNA binding protein	-1.144814
gi: 18401338	泛素共轭酶 Ubiquitin-conjugating enzyme	-1.572243
gi: 15218699	WD-40 家族蛋白 WD-40 repeat family protein	1.034744
gi: 15235714	木葡聚糖: 葡糖基转移酶 Xyloglucan: xyloglucosyl transferase	1.515856
gi: 15224803	ACC 氧化酶 ACC oxidase	1.714526
gi: 7488440	铝诱导蛋白 Aluminum-induced protein	1.023808
gi: 15241799	胶质甲基酯酶抑制剂家族蛋白 Pectin methylesterase inhibitor family protein	2.293073
gi: 15239146	苹果酸盐氧化还原酶 Malate oxidoreductase	1.746043
gi: 629544	分裂素活性蛋白激酶 Mitogen-activated protein kinase	1.562310
gi: 18423748	蛋白酶抑制剂 Protease inhibitor	1.051310

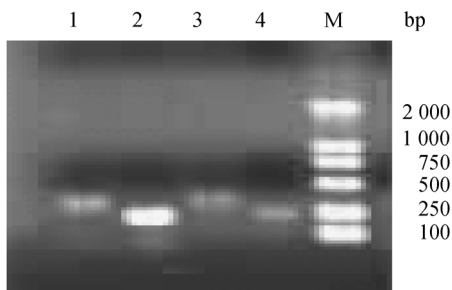


图 3 一次 PCR 产物和地高辛标记的探针

1: *F3H* 探针; 2: *F3H* 一次 PCR 产物; 3: *DFR* 探针; 4: *DFR* 一次 PCR 产物; M: 分子量标记(DL 2000)。

Fig. 3 The first PCR product and probe labeled by dig-dUTP

1: Probe of *F3H*; 2: First PCR product of *F3H*; 3: Probe of *DFR*; 4: First PCR product of *DFR*; M: Molecular weight marker (DL 2000).

的一次 PCR 的电泳条带滞后, 这是由于地高辛标记

的探针比未标记的 PCR 产物的分子量大的缘故。

### 2.3.2 Northern 杂交结果

利用 UV-A 处理津田芜菁块根 48 h, 以未见光白色块根为对照。Northern 杂交结果显示(图 4): *PAL* 和 *CHS* 基因在未见光试材中的表达量低于光照 48 h 后

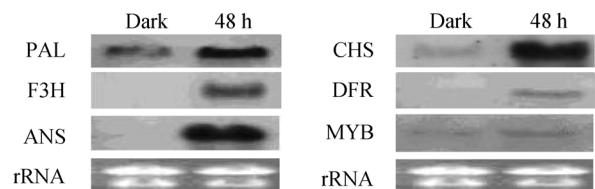


图 4 津田芜菁未见光和 UV-A 处理 48 h 块根中部分基因的表达

Fig. 4 Expression of genes in peels of 'Tsuda' turnips held in the dark and treated with UV-A radiation for 48 h

的表达量; *F3H*、*DFR* 和 *ANS* 基因在未见光试材中不表达, 光照 48 h 后这些基因的表达量增加。*MYB* 基因在未见光试材中的表达量略低于 UV-A 照射 48 h 试材中的表达量。

### 3 讨 论

削减文库中特异基因片段的 PCR 纯化物可以制备 cDNA 微阵列。由于芯片上的样品应符合一定的质量和浓度, PCR 纯化物需测定浓度后以一定量交联于玻片上, 以此保证芯片杂交结果的一致性和可靠性。另外在筛选的特异基因片段中包括已知的花青素生物合成相关基因, 茺菁样品经过不同的处理后检测这些基因的表达变化, 可以作为芯片杂交结果的佐证。

不同处理的津田茺菁试材纯化 mRNA 后在合成 cDNA 的第一链时标记 cy 3 和 cy 5。两种标记物混合纯化后测定 cy 3 和 cy 5 的含量, 以此为依据调整荧光扫描器的增益值, 扫描后的复合图才会更精确地显示每一个基因表达量的变化。

在太阳辐射中包括一些对生物体有害的射线, 如 UV-B(280~320 nm)。植物在进化过程中产生了一些减轻 UV-B 伤害的方法, 其中之一就是积累一些能够吸收 UV-B 的色素物质, 包括花青素在内的类黄酮类化合物就是这样的保护性色素。它们常常分布于叶子和根的表皮层细胞中, 能削弱 UV-B 辐射对内部细胞的伤害<sup>[19]</sup>。有研究表明, 光照诱导的类黄酮类化合物积累之前, 几种类苯丙醇(phenylpropanoid)和类黄酮合成途径的酶类基因, 如 *PAL* 和 *CHS*, 就开始被诱导表达<sup>[20,21]</sup>。然而在某些植物种类中, 防御 UV-B 辐射的功能并不是由花青素来实现的<sup>[22-25]</sup>。本实验室的相关研究证明, 在用日光、红光、远红光、蓝光、UV-B 和 UV-A 处理津田茺菁块根时, 只有日光和 UV-A 可以导致津田茺菁块根皮中花青素的积累(文章正在投稿中)。同时由于 UV-A(320~400 nm)的光波长区段位于日光的光波长区段内, 因此本实验选用 UV-A 作为唯一光源研究津田茺菁块根中花青素生物合成相关基因的诱导表达情况。

对津田茺菁块根进行 UV-A 和黑暗处理, 芯片杂交结果显示 UV-A 处理条件下特异表达的基因数量比暗中表达的基因数量多, 并且大部分基因参与花青素的生物合成。津田茺菁 UV-A 处理条件下表达明显上调的基因中包括花青素生物合成关键酶的编码基

因, 如 *PAL*, *F3H*, *DFR*, *cytochrome P450*, *CHS*, *ANS* 等。另外表达上调的基因中还包括编码谷胱甘肽 S 转移酶(glutathione-S-transferase, GST)的基因, 此酶在进行光合作用的植物细胞中占可溶性蛋白的 1%, 是解除外源底物(药物或除草剂)的毒性所必须的<sup>[26]</sup>。另外欧芹细胞培养物的研究数据表明, 谷胱甘肽和一个新的 glutathione-S-transferase(*PcGST1*)基因在 UV 诱导 *CHS* 表达的早期信号传导中是必需的<sup>[27]</sup>。以上所述的在 UV-A 处理条件下特异表达的基因与抵抗紫外线辐射和控制花青素的生物合成直接相关。芯片杂交结果中表达明显上调和下调的其他基因的功能还有待于进一步验证, 以确定这些基因与花青素生物合成的相关关系, 从而筛选与花青素合成相关的代谢途径、结构基因和调节基因。

另外, 表达发生变化的基因中有可能还包含与抵抗紫外线辐射相关而与花青素生物合成无关的基因, 可以采用一定实验加以排除, 如分别利用 UV-A 和 UV-B 照射津田茺菁, 然后与芯片杂交, 分析杂交结果和本实验结果, 在一定程度上可以滤除本实验中筛选到的与花青素合成无关的基因。

选择芯片杂交实验中表达上调、花青素生物合成关键酶和转录因子的基因片段进行 Northern 杂交实验, UV-A 处理 48 h 后, 这些基因的表达量都有所提高, 其中 *CHS*、*DFR* 和 *ANS* 基因的表达量是大量增加的。Sze-Chung 等用恒定光照处理高粱(*Sorghum bicolor* L. Moench)白化苗, 研究中胚轴花青素积累过程中 *F3H*、*DFR*、*ANS* 的表达量, 所给出的数据也有类似现象<sup>[28]</sup>。果实成熟过程及防御紫外线反应中, 花青素生物合成关键酶基因的表达也有相关报道<sup>[29,30]</sup>。由此 Northern 杂交结果进一步验证了芯片杂交实验方法和实验结果的可靠性。

本实验中津田茺菁块根在 UV-A 作用下可以着色, 证明了 UV-A 与控制津田茺菁花青素的生物合成存在相关关系, 然而除了 UV-A 之外是否还存在使津田茺菁块根皮着色的诱导波长等问题还有待于进一步研究。同时, 本实验结合基因芯片和分子杂交技术, 获取了大量表达发生变化的基因, 这将为研究花青素生物合成机理奠定基础。

### 参 考 文 献(References):

- [1] Stapleton A E, Walbot V. Flavonoids can protect maize DNA from the induction of ultraviolet radiation damage. *Plant Physiol*,

- 1994, 105(3): 881~889. [\[DOI\]](#)
- [2] Head K A. Natural therapies for ocular disorders, part two: cataracts and glaucoma. *Altern Med Rev*, 2001, 6(2): 141~166.
- [3] Dixon P, Weinig C, Schaitt J. Susceptibility to UV damage in *Impatiens Capensis*(Balsaminaceae): testing for opportunity costs to shade-avoidance and population differentiation. *Am J Bot*, 2001, 88(8): 1401~1408.
- [4] Forkmann G, Dangelmayr B. Genetic control of isomerase activity in flowers of *Dianthus caryophyllus*. *Biochem Genet*, 1980, 18(5-6): 519~527. [\[DOI\]](#)
- [5] ZHAO Yun-Peng, CHEN Fa-Di, GUO Wei-Ming. Advances in genetic engineering of flower color of ornamental plants. *Chinese Bull Bot*, 2003, 20(1): 51~58.  
赵云鹏, 陈发棣, 郭维明. 观赏植物花色基因工程研究进展. *植物学通报*, 2003, 20(1): 51~58.
- [6] CHAI Ming-Liang, WANG Bing-Lian. The status and prospects of genetic transformation in several flowers. *Act Hort Sin*, 2002, 29(Suppl.): 664~670.  
柴明良, 汪炳良. 若干花卉转基因研究的现状和前景. *园艺学报*, 2002, 29(增刊): 664~670.
- [7] Suzuki K, Xue H, Tanaka Y, Fukui Y, Fukuchi-Mizutani M, Murakami Y, Katsumoto Y, Tsuda S, Kusumi T. Flower color modifications of *Torenia hybrida* by cosuppression of anthocyanin biosynthesis genes. *Mol Breed*, 2000, 6(3): 239~246. [\[DOI\]](#)
- [8] Zhang W, Seki M, Furusaki S. Anthocyanin synthesis, growth and nutrient uptake in suspension cultures of strawberry cells. *J Ferment Bioeng*, 1998, 86(1): 72~78. [\[DOI\]](#)
- [9] Weiss D, Halevy A H. The role of light reactions in the regulation of anthocyanin synthesis in *Petunia corollas*. *Physiol Plant*, 1991, 81(1): 127~133. [\[DOI\]](#)
- [10] Loyall L, Uchida K, Braun S, Furuya M, Frohnmeyer H. Glutathione and a UV light-induced glutathione S-transferase are involved in signaling to chalcone synthase in cell cultures. *Plant Cell*, 2000, 12(10): 1939~1950. [\[DOI\]](#)
- [11] Christie J M, Jenkins G I. Distinct UV-B, UV-A/blue light signal transduction pathways induce chalcone synthase gene expression in *Arabidopsis* Cells. *Plant Cell*, 1996, 8(9): 1555~1567. [\[DOI\]](#)
- [12] Frohnmeyer H, Staiger D. Ultraviolet-B radiation-mediated responses in plants. Balancing damage and protection. *Plant Physiol*, 2003, 133(4): 1420~1428. [\[DOI\]](#)
- [13] Bieza K, Lois R. An *Arabidopsis* mutant tolerant to lethal Ultraviolet-B levels shows constitutively elevated accumulation of flavonoids and other phenolics. *Plant Physiol*, 2001, 126(3): 1105~1115. [\[DOI\]](#)
- [14] XU Zhi-Ru, LI Yu-Hua, YANG Chuan-Ping. Application of gene-chip technology in analysis of *Arabidopsis*. *Lett Biotech*, 2004, 15(5): 509~512.  
许志茹, 李玉花, 杨传平. 基因芯片技术在拟南芥研究中的应用. *生物技术通讯*, 2004, 15(5): 509~512.
- [15] WANG Zhen, CHONG Kang, XU Zhi-Hong. An effective approach to assay plant response to environmental factors—DNA microarray. *Acta Genetica Sinica*, 2005, 32(2): 210~218.  
王珍, 种康, 许智宏. 分析植物应答环境因子的一种有效平台—DNA 微阵列. *遗传学报*, 2005, 32(2): 210~218.
- [16] Casati P, Walbot V. Gene expression profiling in response to ultraviolet radiation in maize genotypes with varying flavonoid content. *Plant Physiol*, 2003, 132(4): 1739~1754. [\[DOI\]](#)
- [17] Ulm R, Baumann A, Oravec A, Mate Z, Adam E, Oakeley E J, Schafer E, Nagy F. Genome-wide analysis of gene expression reveals function of the bZIP transcription factor HY5 in the UV-B response of *Arabidopsis*. *Proc Nat Acad Sci USA*, 2004, 101(5): 1397~1402. [\[DOI\]](#)
- [18] HUANG Bao-Jun, ZHAO Yu-Jie, XU Hui-Mian, HE Qun, ZHANG Yu-Kui, XU Ying-Ying, MA Jia-Ming. Optimization of cDNA microarray fabrication. *Hereditas*(Beijing), 2003, 25(5): 591~595.  
黄宝骏, 赵雨杰, 徐惠绵, 何群, 张玉魁, 徐莹莹, 马佳明. cDNA 微阵列制作的优化. *遗传*, 2003, 25(5): 591~595.
- [19] Braun J, Tevini M. Regulation of UV-protective pigment synthesis in the epidermal layer of rye seedlings (*Secale cereale* L. cv. Kustro). *Photochem Photobiol*, 1993, 57(2): 318~323.
- [20] Hahlbrock K, Scheel D. Physiology and molecular biology of phenylpropanoid metabolism. *Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1989, 40(6): 347~369. [\[DOI\]](#)
- [21] Schmelzer E, Jahnen W, Hahlbrock K. In situ localization of light-induced chalcone synthase mRNA, chalcone synthase, and flavonoid end products in epidermal cells of parsley leaves. *Proc Nat Acad Sci USA*, 1988, 85(9): 2989~2993. [\[DOI\]](#)
- [22] Woodall G, Stewart G. Short communication. Do anthocyanins play a role in UV protection of the red juvenile leaves of *Syzygium*? *J Exp Bot*, 1998, 49(325): 1447~1450. [\[DOI\]](#)
- [23] Casati P, Walbot V. Crosslinking of ribosomal proteins to RNA in maize ribosomes by UV-B and its effects on translation. *Plant Physiol*, 2004, 136(2): 3319~3332. [\[DOI\]](#)
- [24] Solovchenko A, Schmitz-Eiberger M. Significance of skin flavonoids for UV-B-protection in apple fruits. *J Exp Bot*, 2003, 54(389): 1977~1984. [\[DOI\]](#)
- [25] Chiphango S B M, Musil C F, Dakora F D. Effect of UV-B radiation on plant growth, Symbiotic function and concentration of metabolites in three tropical grain legumes. *Funct Plant Biol*, 2003, 30(3): 309~318. [\[DOI\]](#)
- [26] Mueller L A, Goodman C D, Silady R A, Walbot V. AN9, a *Petunia* glutathione S-transferase required for anthocyanin sequestration, is a flavonoid-binding protein. *Plant Physiol*, 2000, 123(4): 1561~1570. [\[DOI\]](#)
- [27] Loyall L, Uchida K, Braun S, Furuya M, Frohnmeyer H. Glutathione and a UV light-induced glutathione S-transferase are involved in signaling to chalcone synthase in cell cultures. *Plant Cell*, 2000, 12(10): 1939~1950. [\[DOI\]](#)
- [28] Lo S C, Nicholson R L. Reduction of light-induced anthocyanin accumulation inoculated sorghum mesocotyls. *Plant Physiol*, 1998, 116(3): 979~989. [\[DOI\]](#)
- [29] Jaakola L, Maatta K, Pirttila A M, Torronen R, Karenlampi S, Hohtola A. Expression of genes involved in anthocyanin biosynthesis in relation to anthocyanin, proanthocyanidin, and flavonol levels during bilberry fruit development. *Plant Physiol*, 2002, 130(2): 729~739. [\[DOI\]](#)
- [30] Wade H K, Sohal A K, Jenkins G I. *Arabidopsis* ICX1 is a negative regulator of several pathways regulating flavonoid biosynthesis genes. *Plant Physiol*, 2003, 131(2): 707~715. [\[DOI\]](#)