广西植物 Guihaia Aug. 2026, 46(8): 1303-1315 http://www.guihaia-journal.com

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202407035

李翠, 覃雯慧, 欧夏莲, 等, 2026. 岩黄连 *DELLA* 基因编码区的克隆及蛋白转录自激活能力检测 [J]. 广西植物, 46(8): 1303-1315.

Li C, Qin W H, Ou X L, et al., 2026. Cloning of coding region of the *DELLA* genes in *Corydalis saxicola* and their protein transcriptional autoactivation capacity test [J]. Guihaia, 46(8): 1303-1315.

岩黄连 *DELLA* 基因编码区的克隆及蛋白转录自激活能力检测

李　翠[1], 覃雯慧[1], 欧夏莲[1], 潘丽梅[2,3], 张占江[1,2], 陈晓英[1,2], 雷　明[1,2*]

(1. 广西壮族自治区药用植物园, 国家中医药传承创新中心, 广西药用资源保护与遗传改良重点实验室/广西壮族自治区中药资源智慧创制工程研究中心, 南宁 530023; 2. 西南濒危药材资源开发国家工程研究中心, 南宁 530023; 3. 广西道地药材高品质形成与应用重点实验室, 南宁 530023)

摘　要: 岩黄连为罂粟科紫堇属多年生草本药用植物,生长于喀斯特地区的岩缝中,也是国家二级保护植物。DELLA 蛋白是植物特有的一类转录因子,在植物生长发育中起重要作用。为探究 DELLA 蛋白在岩黄连生长发育中的功能,该研究基于岩黄连不同组织转录组及不同组织混样全长转录组数据,克隆获得 2 个 *DELLA* 类基因 *CsDELLA*1 和 *CsDELLA*2 的编码区序列(CDS),并进一步对其进行了理化性质、结构、转录本相对表达量,以及转录自激活核心区域的鉴定和分析。结果表明:(1) *CsDELLA*1 和 *CsDELLA*2 的 CDS 全长分别为 1 902 bp 和 1 614 bp,分别编码 633 个和 537 个氨基酸。(2)实时荧光定量 PCR 结果显示,2 个 *CsDELLA*s 转录本相对表达量具有显著的叶组织特异性。(3)氨基酸序列同源性比对及进化树分析结果显示,2 个 CsDELLAs 均具有保守的 DELLA 结构域和 GRAS 结构域,并且二者均与罂粟科 DELLA 家族成员具有较高的相似性。(4)蛋白质结构分析结果表明,α-螺旋是 CsDELLA1 和 CsDELLA2 的主要二级结构,并且二者的蛋白三维构象也相似。(5)2 个 CsDELLAs 均具有转录自激活能力,但激活结构域有差异。CsDELLA1 和 CsDELLA2,以及截断序列 CsDELLA1-$N_{52-119\ aa}$、CsDELLA1-$N_{120-259\ aa}$、CsDELLA1-$C_{260-633\ aa}$ 和 CsDELLA2-$C_{93-537\ aa}$ 均具有自激活能力;而二者的 N 端序列 CsDELLA1-$N_{1-51\ aa}$ 和 CsDELLA2-$N_{1-92\ aa}$ 则无自激活能力。该研究为后续进一步探究 CsDELLAs 与其他转录因子间的相互作用,以及在岩黄连生长发育中的生物学功能奠定了基础。

关键词: 岩黄连, DELLA 蛋白, 基因克隆, 生物信息学, 转录自激活

中图分类号: Q943　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1000-3142(2026)08-1303-13

Cloning of coding region of the *DELLA* genes in *Corydalis saxicola* and their protein transcriptional autoactivation capacity test

收稿日期: 2025-10-12　**接受日期:** 2026-01-13

基金项目: 广西重点研发计划项目(桂科 AB23026092); 中央引导地方科技发展资金项目(桂科 ZY24212031); 国家自然科学基金项目(32460105); 广西自然科学基金面上项目(2025GXNSFAA069814, 2025GXNSFBA069023, 2023GXNSFAA026509); 广西岐黄学者培养项目(GXQH202402)。

第一作者: 李翠(1982—),硕士,主任技师,主要从事珍稀濒危药用植物保育学研究,(E-mail)licui941@163.com。

*通信作者: 雷明,博士,副研究员,主要从事分子生药学研究,(E-mail)leiming@ gxyyzwy.com。

LI Cui[1], QIN Wenhui[1], OU Xialian[1], PAN Limei[2,3], ZHANG Zhanjiang[1,2], CHEN Xiaoying[1,2], LEI Ming[1,2*]

(1. *National Center for TCM Inheritance and Innovation*, *Guangxi Key Laboratory of Medicinal Resources Protection and Genetic Improvement/ Guangxi Engineering Research Center of TCM Resource Intelligent Creation*, *Guangxi Botanical Garden of Medicinal Plants*, Nanning 530023, China; 2. *National Engineering Research Center for Southwest Endangered Medicinal Materials Resources Development*, *Guangxi Botanical Garden of Medicinal Plants*, Nanning 530023, China; 3. *Guangxi Key Laboratory of High Quality Formation and Application of Authentic Medicinal Materials*, Nanning 530023, China)

Abstract: *Corydalis saxicola*, a perennial herbaceous plant of the Papaveraceae family in the genus *Corydalis*, grows exclusively in karst rock crevices. *C. saxicola* is also a Chinese national second-class protected plant. DELLA proteins, plant-specific transcriptional factors, play crucial regulatory roles in plant growth and development. In order to explore the function of DELLA proteins in the growth and development of *C. saxicola*, coding sequence (CDS) of two *DELLA-like* genes, *CsDELLA*1 and *CsDELLA*2, were identified and amplified based on full-length transcriptome and transcriptome data of different tissues of *C. saxicola*. Molecularly, the physical and chemical properties, structures, the relative expression levels of their transcripts, and key domain transcriptional autoactivation of the two DELLAs were analyzed. The results were as follows: (1) The length of *CsDELLA*1 and *CsDELLA*2 CDS were 1 902 bp and 1 614 bp, encoding 633 amino acids (aa) and 537 aa, respectively. (2) Quantitative real-time PCR results showed that the relative expression levels of the two *DELLA* transcripts were exclusively high in the leaves of *C. saxicola*. (3) Amino acid sequence homology alignment and phylogenetic tree analysis revealed that both CsDELLA1 and CsDELLA2 possessed conserved DELLA domain and GRAS domain, and both had high similarities with members of the DELLA family of Papaveraceae. (4) The analysis results of protein structures revealed that α-helices were important components of the protein structures of CsDELLA1 and CsDELLA2, and their three-dimensional spatial arrangements were similar, too. (5) Both CsDELLAs exhibited transcriptional autoactivation capacities, but the activation domain sites differed. Specifically, CsDELLA1, CsDELLA2, as well as truncated proteins CsDELLA1-$N_{52-119\ aa}$, CsDELLA1-$N_{120-259\ aa}$, CsDELLA1-$C_{260-633\ aa}$, and CsDELLA2-$C_{93-537\ aa}$, had transcriptional autoactivation capacities; while N-terminal sequence of the two CsDELLA1-$N_{1-51\ aa}$ and CsDELLA2-$N_{1-92\ aa}$ showed no autoactivation capacity. This study lays a foundation for further exploration of the interactions between CsDELLAs and other transcription factors, as well as their biological functions in the growth and development of *C. saxicola*.

Key words: *Corydalis saxicola*, DELLA protein, gene cloning, bioinformatics, transcriptional autoactivation

岩黄连 (*Corydalis saxicola*) 为罂粟科(Papaveraceae)紫堇属(*Corydalis*)植物,主要分布于广西、四川、贵州、云南等喀斯特山地,是传统的壮、瑶、苗等民族药(方鼎等,1985; 广西植物研究所科学院,1991;戴斌,2009)。据《贵州草药》记载,岩黄连可全草入药,具清热解毒、利湿、止痛止血等功效(贵州省中医研究所,1970;何志超等, 2014);在中医学理论中,其用途包括治疗急性腹痛、便血、肝炎、肝硬化和肝癌等(Zeng et al., 2013;Xie et al., 2021;Wu et al., 2022)。药理学研究证明,岩黄连不仅具有治疗肝脏疾病的疗效,还具有其他药理特性,如抗炎、抗菌、抗氧化、抗癌和保肝作用等(Yu et al., 2018;Li M M et al., 2018;Qiu et al., 2020;Qin et al., 2022)。野生岩黄连生存环境特殊,生长于海拔600~1 690 m的石灰岩缝中,分布零散,自然繁殖率低,长期不合理的开采已导致其野生资源日益匮乏(文和群等,1993;中国科学院中国植物志编辑委员会,1999)。为合理开发利用岩黄连种质资源,研究人员在栽培繁育、药理机制及临床疗效等方面做了很多工作(何志超等, 2014;Li M M et al., 2018;于尚平等,2022;Qin et al., 2023;马永鹏等, 2024),但对分子生物学方面的研究较少(Ren et al., 2021;Xu & Wang, 2021;Li et al., 2024)。

GRAS转录因子由最早发现的3个成员Gibberellic acid insensitive (GAI)、Repressor of GAI-3 mutant (RGA)和Scarecrow (SCR)的特征字母命名。GRAS转录因子在植物生长过程中具有关键的作用,参与赤霉素(gibberellins,GA)信号转导、维

持枝条分生组织、植物生长发育和协助植物应对胁迫等多种生理过程。目前，在拟南芥（*Arabidopsis thaliana*）和水稻（*Oryza sativa*）中发现的 GRAS 家族成员可分为 8 个亚族：Light signaling through interactions light-responsive transcription factor PIFs（LI-PIFs）、Scarecrow-like3（SCL3）、Short-root（SHR）、SCR、Lateral suppressor（LAS）、Hairy meristem（HAM）、DELLA 和 Phytochrome a signal transduction 1（PAT1）（Hirsch et al., 2009；Anfang & Shani，2021）。其中，DELLA 蛋白因其具有高度保守 N 端 DELLA 结构域而得名（Hirsch et al., 2009）。作为 GRAS 转录因子家族的一个重要亚家族，DELLA 蛋白特异性地分布于植物中，作为赤霉素（GA）信号通路的重要负调控因子，它在种子萌发、幼苗生长、叶片发育、根和茎伸长及果实成熟等植物生长发育过程中具有关键作用（Hedden & Sponsel，2015）。此外，DELLA 蛋白也在开花时间调控、成花时期转换及花器官发育中扮演重要的角色（Hedden & Sponsel，2015）。例如，拟南芥的 5 个 DELLA 蛋白 gibberellin-insensitive（GAI）、repressor of gal-3（RGA）、RGA-like 1（RGL1）、RGL2 和 RGL3 均可显著抑制开花（Galvão et al., 2012）。

DELLA 无 DNA 结合结构域，因此其通常需要与其他蛋白发生相互作用来参与生物学过程。在 GA 信号通路中，活性 GA 先被受体 GA-INSENSITIVE DWARF 1（GID1）识别，之后 GID1 与 DELLA 蛋白间的相互作用便开始形成（Xu & Wang, 2021）。一旦 GA-GID1-DELLA 复合体形成，其他 GA 信号蛋白（如 F-box 蛋白）便很快参与其中，通过泛素化-蛋白酶体途径降解 DELLA 蛋白，传递 GA 信号（Ariizumi et al., 2011），促进种子萌发、根与茎的伸长等（Sun, 2010）。此外，DELLA 也可以与其他蛋白发生相互作用。例如，水稻的 DELLA 蛋白可与组蛋白脱乙酰酶 HDA702 蛋白相互作用，抑制 GA 下游基因的表达（Li et al., 2023）。DELLA 还可与光敏色素相互作用因子（phytochrome interacting factor）和 BRASSINAZOLE RESISTANCE 1 相互作用，抑制其 DNA 结合活性，进而抑制下胚轴伸长（Fernández et al., 2016；Ito et al., 2018；Li et al., 2023）。有研究进一步发现，DELLA 蛋白 N 端的 DELLA 结构域（DELLA/TVHYNP 基序）不仅能与 GID1-GA 复合物结合，而且还能增强 SLEEPY 1（SLY1）/GID 之间的相互作用（Zhu et al., 2019；Blanco-Touriñán et al., 2020）。在开花调控方面，DELLA 蛋白可与促进开花的转录因子 SQUAMOSA PROMOTER BINDING PROTEIN-LIKE 发生蛋白水平上的相互作用，干扰后者的转录调控活性，进而延迟开花（Chorostecki et al., 2021）。此外，DELLA 蛋白的 LHRI 结构域还可与 FLOWERING LOCUS C 发生相互作用，进而下调成花促进因子 SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CONSTANS 1 及成花素 FLOWERING LOCUS T 的表达，延迟拟南芥开花（Li et al., 2016）。在长日照下，拟南芥的 RGA 可与 CONSTANS 发生蛋白水平上的相互作用，干扰后者与转录因子 NF-YB2 的相互作用，以延迟拟南芥开花（Fernández et al., 2016）。

截至目前，研究人员已在拟南芥（Wen & Chang, 2002）、水稻（Ikeda et al., 2001）、小麦（Peng et al., 1999）、草莓（Li W J et al., 2018）等多种植物中鉴定到了 DELLA 蛋白，并对它们的功能和调控机制进行了深入研究，但关于岩黄连中 DELLA 蛋白编码基因的挖掘及其蛋白功能的鉴定尚未有报道。

本研究基于转录组和全长转录组数据，从岩黄连中克隆到 2 个 DELLA 蛋白编码基因 *CsDELLA*1 和 *CsDELLA*2。采用 PCR、实时荧光定量 PCR（quantitative real-time PCR，qRT-PCR），以及基于 GAL4 系统的酵母双杂交等试验手段，利用分析软件，对这 2 个 *DELLA*s 基因及其编码的蛋白进行深入分析，拟探讨以下问题：（1）岩黄连 CsDELLA1 和 CsDELLA2 蛋白序列的保守性和进化特性；（2）*CsDELLA*1 和 *CsDELLA*2 转录本在不同组织中的表达特性；（3）CsDELLA1 和 CsDELLA2 在 Y2HGold 酵母细胞中的转录自激活能力。本研究旨在为阐释 CsDELLAs 在岩黄连生长发育中的功能提供数据支持，为进一步鉴定与其相互作用的蛋白奠定技术基础，丰富岩黄连分子生物学研究内容，并为解析 DELLA 蛋白在协助岩黄连对喀斯特生境高钙、干旱等逆境响应的分子机制奠定基础。

1　材料与方法

1.1 实验材料

研究材料由广西壮族自治区药用植物园种质资源圃保存，经广西壮族自治区药用植物园高级

工程师黄宝优鉴定为罂粟科紫堇属植物岩黄连。

实验所需的 2×Phanta Max Master Mix、2×Rapid Taq Master Mix、FastPure Universal Plant Total RNA Isolation Kit、5 min™ TA/Blunt-Zero Cloning Kit、FastPure Gel DNA Extraction Mini Kit、FastPure Plasmid Mini Kit、ClonExpress Ⅱ One Step Cloning Kit、HiScript Ⅱ 1st Strand cDNA Synthesis Kit(+gDNA Wiper)均购自南京诺唯赞生物科技股份有限公司(中国);大肠杆菌 Trans-T1 化学感受态细胞购自北京全式金生物技术股份有限公司(中国);FastDigest EcoR Ⅰ、10×FastDigest Green Buffer 购自赛默飞世尔科技公司(马萨诸塞州,美国);Y2HGold 化学感受态细胞购自上海唯地生物技术有限公司(中国);pGBKT7 载体由本实验室保存;引物合成和测序工作由广州天一辉远基因科技有限公司(中国)完成。

1.2 方法

1.2.1 *岩黄连总 RNA 提取及反转录* 取适量新鲜的岩黄连成熟叶片放入液氮中研磨,采用 FastPure Universal Plant Total RNA Isolation Kit 提取岩黄连叶片总 RNA。具体步骤:将 100 mg 充分研磨的组织加入 600 μL 裂解液中,充分裂解离心后取上清,用带滤膜的离心柱离心过滤,以去除基因组 DNA。再用带滤膜的离心柱富集 RNA,并用无水乙醇等去除杂质后,用 50 μL 无 RNA 酶污染的去离子水回收 RNA,即为岩黄连叶片总 RNA。其他组织的总 RNA 提取方法类似。

反转录采用 HiScript Ⅱ 1st Strand cDNA Synthesis Kit(+gDNA Wiper),基于说明书的步骤进行。具体如下:将上述提取的总 RNA 与 Oligo $(dT)_{23}$ VN(50 μmol·L^{-1})和 Random hexamers(50 ng·μL^{-1})在 65 ℃加热 5 min 以充分变性,打开二级结构。冰上静置 2 min 后,在上述混合物中加入 4×gDNA Wiper Mix,42 ℃反应 2 min,以充分去除可能残留的基因组 DNA。反应完毕后,再继续向上述混合物中加入适当比例的 10×RT Mix 以及 HiScript Ⅱ Enzyme Mix,依次 25 ℃反应 5 min、50 ℃反应 45 min,最后 85 ℃反应 2 min 以灭活反转录酶,所得溶液即为岩黄连组织 cDNA。其他组织的产物保存于-20 ℃冰箱备用。

1.2.2 *CsDELLA1、CsDELLA2 基因编码区序列及截断序列的克隆* 基于本实验室测定的岩黄连全长转录组信息,设计基因扩增引物,以岩黄连根、茎、叶、花、侧茎等不同组织的混样 cDNA 为模板扩增完整的 Cs*DELLA*1 和 *CsDELLA*2 基因编码区(表 1)。将纯化后的 PCR 产物与 Blunt-Zero 载体连接,转化至大肠杆菌 Trans-T1 化学感受态细胞,在 LB+卡那霉素平板上进行培养筛选。挑取若干菌落于 LB+卡那霉素液体培养基,摇菌培养至菌液浑浊。蘸取适量菌液,用 *CsDELLA*1 CDS-F、*CsDELLA*1 CDS-R 及 *CsDELLA*2 CDS-F、*CsDELLA*2 CDS-R 引物进行菌液 PCR 检测,将筛选到的阳性克隆菌液送至广州天一辉远基因科技有限公司进行测序。

基于生物信息学分析结果,将 CsDELLA1 和 CsDELLA2 序列分别进行 N 端和 C 端的截断,CsDELLA1-N 端共截成 3 段,即 CsDELLA1-$N_{1-51\ aa}$、CsDELLA1-$N_{52-119\ aa}$、CsDELLA1-$N_{120-259\ aa}$,CsDELLA1-C 端为 CsDELLA1-$C_{260-633\ aa}$。CsDELLA2-N 端为 CsDELLA2-$N_{1-92\ aa}$;CsDELLA2-C 端为 CsDELLA2-$C_{93-537\ aa}$。按照 CsDELLA1、CsDELLA2、截断序列及 pGBKT7 载体基于 EcoR Ⅰ限制性内切酶酶切位点设计同源重组引物(表 1)。CsDELLA1 和 CsDELLA2 的编码区序列(coding sequence,CDS)以岩黄连不同组织的混样 cDNA 为模板扩增并纯化,截断序列以 Sanger 测序正确且含有 CsDELLA1 和 CsDELLA2 的 CDS 的 TA 重组质粒为模板,PCR 扩增目的片段并纯化。

1.2.3 *CsDELLA1、CsDELLA2 基因表达分析* 设计 *CsDELLA*1 和 *CsDELLA*2 荧光定量 PCR 引物(表 1)对克隆的 *CsDELLA*1 和 *CsDELLA*2 基因进行分析。以 *CsGADPH*8 为内参基因,分析 *CsDELLA*1 和 *CsDELLA*2 基因在岩黄连侧茎、果荚、花、叶、茎和根中的相对表达量。实验设置 3 个生物学重复和 3 个技术重复,相对表达量采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算。

1.2.4 CsDELLA1、CsDELLA2 蛋白的生物信息学分析 应用 ExPASy ProtParam 在线软件(http://web.expasy.org/protparam/)进行蛋白相对分子质量、等电点等蛋白性质分析;应用在线软件 SOPMA(https://npsa-prabi.ibcp.fr/)和 SWISS-MODEL(https://www.expasy.org/resources/swiss-model)进行蛋白二级结构组分预测和三维结构预测;通过 BLAST(https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi)查找 DELLA 同源序列及 ORFfinder(https://www.ncbi.nlm.nih.gov/orffinder)查找 CsDELLA1、CsDELLA2 的开放阅读框;通过在线软件 MEME(http://meme-suite.org/tools/meme)进行保守结构

表 1　本研究所用引物

Table 1　Primers used in this study

引物用途 Primer usage	引物名称 Primer name	引物序列（5′-3′） Primer sequence（5′-3′）
*CsDELLA*1 的 CDS 全长验证 Verification of the full length of *CsDELLA*1 CDS	*CsDELLA*1 CDS-F	ATGAAGAGAGAACATCAAGAAACGA
	*CsDELLA*1 CDS-R	TCATTGAGTGATGGAATCGGTATCA
pGBKT7-*CsDELLA*1 载体无缝克隆 Seamless cloning of pGBKT7-*CsDELLA*1 vector	*CsDELLA*1 BD-F	tggccatggaggccgaattcATGAAGAGAGAACATCAAGAAACGA
	*CsDELLA*1 BD-R	cgacggatccccgggaattcTCATTGAGTGATGGAATCGGTATCA
*CsDELLA*2 的 CDS 全长验证 Verification of the full length of *CsDELLA*2 CDS	*CsDELLA*2 CDS-F	ATGGGACCTTACGATTCCGGCATCA
	*CsDELLA*2 CDS-R	TCATCGGAGTCGTGGTATCATTGGC
pGBKT7-*CsDELLA*2 载体无缝克隆 Seamless cloning of pGBKT7-*CsDELLA*2 vector	*CsDELLA*2 BD-F	tggccatggaggccgaattcATGGGACCTTACGATTCCGG
	*CsDELLA*2 BD-R	cgacggatccccgggaattcTCATCGGAGTCGTGGTATCATT
pGBKT7-*CsDELLA*1-$N_{1-51\ aa}$载体无缝克隆 Seamless cloning of pGBKT7-*CsDELLA*1-$N_{1-51\ aa}$ vector	*CsDELLA*1-$N_{1-51\ aa}$ BD-F	tggccatggaggccgaattcATGAAGAGAGAACATCAAGAAACGA
	*CsDELLA*1-$N_{1-51\ aa}$ BD-R	cgacggatccccgggaattcCACTCCTGCATCTGGTTGTG
pGBKT7-*CsDELLA*1-$N_{52-119\ aa}$载体无缝克隆 Seamless cloning of pGBKT7-*CsDELLA*1-$N_{52-119\ aa}$ vector	*CsDELLA*1-$N_{52-119\ aa}$ BD-F	tggccatggaggccgaattcGATGAGTTATTGGCTGTGTTAGGAT
	*CsDELLA*1-$N_{52-119\ aa}$ BD-R	cgacggatccccgggaattcAGAGGGATTAGCTTCAGTTAACATA
pGBKT7-*CsDELLA*1-$N_{120-259\ aa}$载体无缝克隆 Seamless cloning of pGBKT7-*CsDELLA*1-$N_{120-259\ aa}$ vector	*CsDELLA*1-$N_{120-259\ aa}$ BD-F	tggccatggaggccgaattcACAAATTTTGATGATCTTCCAATGA
	*CsDELLA*1-$N_{120-259\ aa}$ BD-R	cgacggatccccgggaattcACGAACACCTGTTTCTTGTGAATC
pGBKT7-*CsDELLA*1-$C_{260-633\ aa}$载体无缝克隆 Seamless cloning of pGBKT7-*CsDELLA*1-$C_{260-633\ aa}$ vector	*CsDELLA*1-$C_{260-633\ aa}$ BD-F	tggccatggaggccgCTCGTTCATACTTTAATGGCGTGT
	*CsDELLA*1-$C_{260-633\ aa}$ BD-R	cgacggatccccgggTCATTGAGTGATGGAATCGGTATCA
pGBKT7-*CsDELLA*2-$N_{1-92\ aa}$载体无缝克隆 Seamless cloning of pGBKT7-*CsDELLA*2-$N_{1-92\ aa}$ vector	*CsDELLA*2-$N_{1-92\ aa}$ BD-F	tggccatggaggccgaattcATGGGACCTTACGATTCCGG
	*CsDELLA*2-$N_{1-92\ aa}$ BD-R	cgacggatccccgggaattcTTGATGTAACTCGGAAAGAATGGAA
pGBKT7-*CsDELLA*2-$N_{93-537\ aa}$载体无缝克隆 Seamless cloning of pGBKT7-*CsDELLA*2-$N_{93-537\ aa}$ vector	*CsDELLA*2-$N_{93-537\ aa}$ BD-F	tggccatggaggccgGAAAATTTACCCCTACCGTCTGAT
	*CsDELLA*2-$N_{93-537\ aa}$ BD-R	cgacggatccccgggTCATCGGAGTCGTGGTATCATT
内参基因 *CsGADPH*8 克隆 Cloning of internal reference gene *CsGADPH*8	*CsGADPH*8 qF	GTCCAATCCCATAGTGCCTTC
	*CsGADPH*8 qR	TTGTCCATAGATACTTTCTTCCTGC
*CsDELLA*1 qPCR 验证 *CsDELLA*1 qPCR validation	*CsDELLA*1 qF	GAAACCCTCATCACCTCCAATC
	*CsDELLA*1 qR	GAAGAAGAAGCAGAAGAAGAAACAC
*CsDELLA*2 qPCR 验证 *CsDELLA*2 qPCR validation	*CsDELLA*2 qF	TTTGGTTGCGAATACTAGTGGG
	*CsDELLA*2 qR	AGTCTCGCCACGTTGCACT

注：小写字母为载体同源臂序列，大写字母为基因序列。

Note：The lowercase letters represent the homologous arm sequence of the vector，while the capital letters represent the gene sequence.

域分析；利用 Mafft 软件（Katoh & Standley，2013）进行 CsDELLA1、CsDELLA2 蛋白序列比对，再利用 MEGA 软件（Tamura et al.，2021）基于邻接（neighbor-joining，NJ）法构建系统进化树，bootstrap 次数设置为 1 000；通过 DNAMAN 软件进行氨基酸序列同源性比对。

1.2.5 重组质粒构建及鉴定　根据 *CsDELLA*1、*CsDELLA*2、截断序列及 pGBKT7 载体 EcoR Ⅰ酶切位点设计 *CsDELLA*1 BD-F/R、*CsDELLA*2 BD-F/R、*CsDELLA*1-$N_{1-51\ aa}$ BD-F/R、*CsDELLA*1-$N_{52-119\ aa}$ BD-F/R、*CsDELLA*1-$N_{120-259\ aa}$ BD-F/R、*CsDELLA*1-$C_{260-633\ aa}$ BD-F/R、*CsDELLA*2-$N_{1-92\ aa}$ BD-F/R 和 *CsDELLA*2-$C_{93-537\ aa}$ BD-F/R 引物（表 1），以 Sanger 测序正确的 CsDELLAs 重组质粒为模板，PCR 扩增目的片段并纯化。

使用限制性内切酶 EcoR Ⅰ对 pGBKT7 载体质

粒进行单酶切,通过同源重组方式,将纯化后得到的产物与目的片段进行连接,并转化至 Trans-T1 化学感受态细胞。将转化后的菌液涂布于 LB+卡那霉素平板上,37 ℃过夜培养。挑取菌落于 LB+卡那霉素液体培养基,摇菌至菌液浑浊。将菌落 PCR 筛选到的阳性克隆菌液送测序,测序正确的菌液进行质粒提取。

1.2.6 *重组质粒自激活效应检测* 根据 Y2HGold 化学感受态试剂盒说明书,将重组质粒 pGBKT7-*CsDELLA*1、pGBKT7-*CsDELLA*2、pGBKT7-*CsDELLA*1-$N_{1-51\ aa}$、pGBKT7-*CsDELLA*1-$N_{52-119\ aa}$、pGBKT7-*CsDELLA*1-$N_{120-259\ aa}$、pGBKT7-*CsDELLA*1-$C_{260-633\ aa}$、pGBKT7-*CsDELLA*2-$N_{1-92\ aa}$、pGBKT7-*CsDELLA*2-$C_{93-537\ aa}$、pGAL4 及 pGBKT7 空载体分别转化 Y2HGold 酵母感受态细胞。将菌液涂布至 SD/-Trp 平板上,放入 29 ℃培养箱培养 2~3 d。挑取重组酵母和对照酵母克隆摇菌后,分别点样于 SD/-Trp、SD/-Trp/+X-α-gal/+AbA 平板上,29 ℃培养 3~5 d,观察其自激活能力。

2 结果与分析

2.1 岩黄连 *CsDELLA*1、*CsDELLA*2 基因的克隆

基于岩黄连转录组和全长转录组测序结果,筛选出 2 个 *DELLA* 类基因。从岩黄连中提取总 RNA,反转录成 cDNA。以 *CsDELLA*1 CDS-F、*CsDELLA*1 CDS-R,以及 *CsDELLA*2 CDS-F、*CsDELLA*2 CDS-R 为引物,PCR 扩增 *CsDELLA*1 和 *CsDELLA*2 的 CDS。将目的片段连接到 Blunt-Zero 载体上,转化大肠杆菌(*Escherichia coli*)后进行测序,克隆得到的 *CsDELLA*1 和 *CsDELLA*2 基因无碱基突变,完整编码区长度分别为 1 902 bp 和 1 614 bp(*CsDELLA*1 和 *CsDELLA*2 的 GenBank 登录号分别为 PV176315 和 PV176316)。

以 Sanger 测序成功的 *CsDELLA*1 和 *CsDELLA*2 的 TA 重组质粒为模板,设计同源重组引物,扩增 *CsDELLA*1、*CsDELLA*2、*CsDELLA*1-$N_{1-51\ aa}$、*CsDELLA*1-$N_{52-119\ aa}$、*CsDELLA*1-$N_{120-259\ aa}$、*CsDELLA*2-$N_{1-92\ aa}$、*CsDELLA*1-$C_{260-633\ aa}$、*CsDELLA*2-$C_{93-537\ aa}$等序列,将扩增得到的产物进行纯化,测序鉴定序列正确的重组子(图 1)。

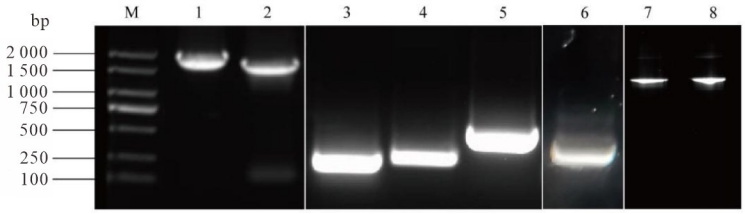
2.2 *CsDELLA*1 和 *CsDELLA*2 的转录本表达谱

以岩黄连根、茎、叶、花、侧茎等不同组织部位的 cDNA 为模板,检测 *CsDELLA*1 和 *CsDELLA*2 基因的表达水平。结果(图 2)表明,*CsDELLA*1 和 *CsDELLA*2 在不同组织中均有表达,并且具有相似的表达模式。二者在营养器官尤其是叶和侧茎中相对表达量较高,而在根和生殖器官花中相对表达量较低。

2.3 CsDELLA1 和 CsDELLA2 序列的生物信息学分析

蛋白性质分析结果表明,CsDELLA1 和 CsDELLA2 蛋白等电点分别为 5.10 和 5.19,相对分子质量分别为 68.30 kDa 和 59.30 kDa。CsDELLA1 带负电荷和正电荷的残基总数分别为 70 个和 47 个;CsDELLA2 带负电荷和正电荷的残基总数分别为 60 个和 40 个。CsDELLA1 和 CsDELLA2 蛋白质不稳定指数分别为 50.95 和 49.29,说明两者蛋白结构均不稳定。氨基酸多序列比对结果(图 3:A)表明,与拟南芥和水稻的 DELLA 蛋白类似,CsDELLA1 和 CsDELLA2 蛋白 N 端均具有保守的 DELLA 结构域,其中包括 DELLA 基序和 TVHYNP 基序;它们的 C 端也均具有保守的 GRAS 结构域,其中包含 VHVID 基序和 RVER 基序等。CsDELLA1 和 CsDELLA2 蛋白的二级结构分析结果表明,其二级结构合理,含有少部分 β-折叠和延伸链,大部分为 α-螺旋和无规则卷曲(图 3:B、C;表 2)。其中,CsDELLA1 和 CsDELLA2 的 DELLA 结构域分别在 52~119 aa 和 28~92 aa,CsDELLA1 和 CsDELLA2 的 GRAS 结构域分别在 260~622 aa 和 163~525 aa。蛋白保守基序分析结果(图 3:D)表明,CsDELLA1 和 CsDELLA2 蛋白均具有 N 端特有的 DELLA 基序、LEQLE 基序(motif 6)和 TVHYNP 基序(motif 8)。蛋白三级结构预测结果分析表明,CsDELLA1 与 CsDELLA2 三级结构特征相似(图 3:E、F)。

利用 NCBI 网站 BLAST 工具及参考相关文献筛选 CsDELLA1 和 CsDELLA2 相似性较高的同源序列和其他已有功能验证的 DELLA 序列进行进化树的绘制。结果(图 4)表明,CsDELLA1 与罂粟 GAI1 蛋白(XP_026386782.1)、博落回 DELLA1 蛋白(OVA01709.1)具有较高的相似性,而 CsDELLA2 与博落回的 DELLA2 蛋白(OVA06544.1)相似性较高,这与岩黄连、罂粟和博落回同属于罂粟科的分类相符。



M. DNA Marker (100 ~ 2 000 bp); **1**. *CsDELLA*1; **2**. *CsDELLA*2; **3**. *CsDELLA*1-$N_{1-51\ aa}$; **4**. *CsDELLA*1-$N_{52-119\ aa}$; **5**. *CsDELLA*1-$N_{120-259\ aa}$; **6**. *CsDELLA*2-$N_{1-92\ aa}$; **7**. *CsDELLA*1-$C_{260-633\ aa}$; **8**. *CsDELLA*2-$C_{93-537\ aa}$.

图 1　*CsDELLA*1、*CsDELLA*2 基因及其截断序列的克隆

Fig. 1　Cloning of *CsDELLA*1, *CsDELLA*2 genes and their truncated fragments

表 2　CsDELLA1 和 CsDELLA2 蛋白二级结构分析

Table 2　Secondary structure analysis of CsDELLA1 and CsDELLA2 proteins

蛋白名称 Protein name	α 螺旋 α-helix		β 折叠 β-fold		无规则卷曲 Random coil		延伸链 Extended strand	
	数量 Number	比例 Percentage(%)	数量 Number	比例 Percentage(%)	数量 Number	比例 Percentage(%)	数量 Number	比例 Percentage(%)
CsDELLA1	272	42.97	36	5.69	253	39.97	72	11.37
CsDELLA2	251	46.74	46	8.57	161	29.98	79	14.71

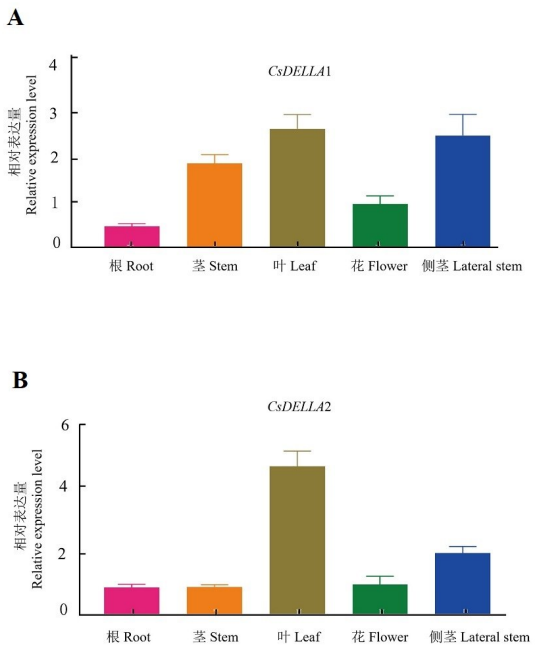
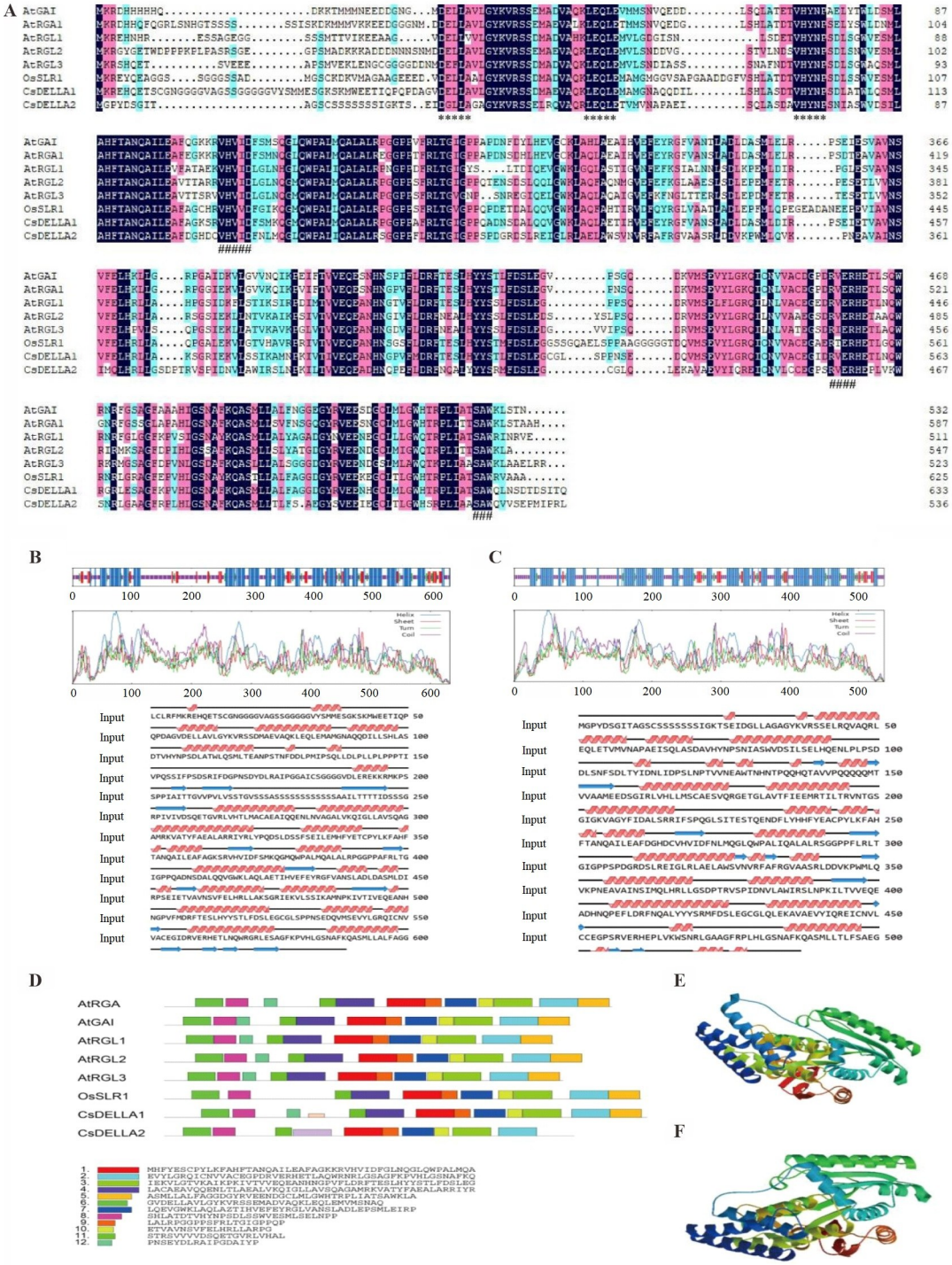


图 2　*CsDELLA*1 和 *CsDELLA*2 转录本在岩黄连不同组织中的相对表达量

Fig. 2　Relative expression levels of *CsDELLA*1 and *CsDELLA*2 transcripts in various tissues of *Corydalis saxicola*

2.4 重组质粒自激活能力检测

将构建成功的重组载体 pGBKT7-*CsDELLA*1、pGBKT7-*CsDELLA*2、pGBKT7-*CsDELLA*1-$N_{1-51\ aa}$、pGBKT7-*CsDELLA*1-$N_{52-119\ aa}$、pGBKT7-*CsDELLA*1-$N_{120-259\ aa}$、pGBKT7-*CsDELLA*1-$C_{260-633\ aa}$、pGBKT7-*CsDELLA*2-$N_{1-92\ aa}$、pGBKT7-*CsDELLA*2-$C_{93-537\ aa}$、pGAL4 及 pGBKT7 分别转化至 Y2HGold 酵母感受态细胞，分别涂布于 SD/−Trp 平板上，培养 2 ~ 3 d；分别挑取 3 个菌落点样于 SD/−Trp、SD/−Trp/+X-α-gal/+AbA 平板上，29 ℃ 培养 3 ~ 5 d。实验结果显示，含有 pGBKT7-*CsDELLA*1、pGBKT7-*CsDELLA*2、pGBKT7-*CsDELLA*1-$N_{1-51\ aa}$、pGBKT7-*CsDELLA*1-$N_{52-119\ aa}$、pGBKT7-*CsDELLA*1-$N_{120-259\ aa}$、pGBKT7-*CsDELLA*1-$C_{260-633\ aa}$、pGBKT7-*CsDELLA*2-$N_{1-92\ aa}$、pGBKT7-*CsDELLA*2-$C_{93-537\ aa}$、pGAL4 及 pGBKT7 的酵母菌均能在 SD/−Trp 平板上正常生长且菌落为白色；含有 pGBKT7-*CsDELLA*1、pGBKT7-*CsDELLA*2、pGBKT7-*CsDELLA*1-$N_{52-119\ aa}$、pGBKT7-*CsDELLA*1-$N_{120-259\ aa}$、pGBKT7-*CsDELLA*1-$C_{260-633\ aa}$、pGBKT7-*CsDELLA*2-$C_{93-537\ aa}$和 pGAL4 载体的酵母菌在 SD/−Trp/+X-α-gal/+AbA 平板上正常生长且菌落为蓝色，表明其具有转录自激活能力；pGBKT7、pGBKT7-*CsDELLA*1-$N_{1-51\ aa}$和 pGBKT7-*CsDELLA*2-$N_{1-92\ aa}$的酵

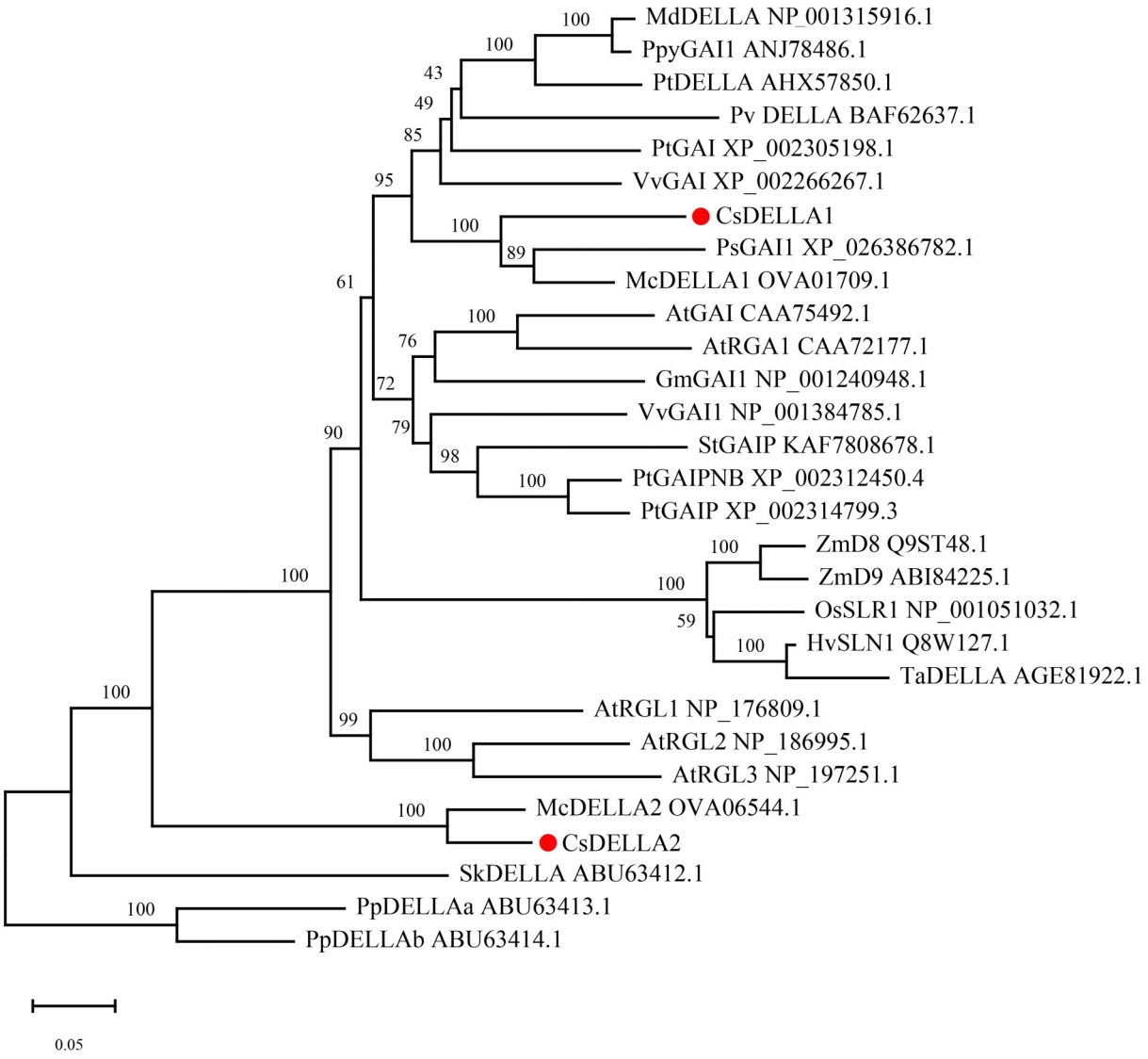


A. CsDELLA1、CsDELLA2 与其他物种中的 DELLA 氨基酸序列比对(*. DELLA 结构域; #. GRAS 结构域); **B**. CsDELLA1 蛋白二级结构预测; **C**. CsDELLA2 蛋白二级结构预测; **D**. 不同物种的 DELLA 蛋白保守基序及保守氨基酸序列; **E**. CsDELLA1 蛋白三级结构预测; **F**. CsDELLA2 蛋白三级结构预测。

A. Comparison of DELLA amino acid sequences between CsDELLA1, CsDELLA2 and other species (*. DELLA domain; #. GRAS domain); **B**. Secondary structure prediction of CsDELLA1 protein; **C**. Secondary structure prediction of CsDELLA2 protein; **D**. Conserved motifs and conserved amino acid sequences of DELLA proteins from different species; **E**. Tertiary structure prediction of CsDELLA1 protein; **F**. Tertiary structure prediction of CsDELLA2 protein.

图 3 CsDELLA1 和 CsDELLA2 的生物信息学分析

Fig. 3 Bioinformatic analysis of CsDELLA1 and CsDELLA2



At. 拟南芥；**Cs**. 岩黄连；**Gm**. 大豆；**Hv**. 大麦；**Mc**. 博落回；**Md**. 苹果；**Os**. 水稻；**Ps**. 罂粟；**Pv**. 菜豆；**Pp**. 小立碗藓；**Ppy**. 沙梨；**Pm**. 红梅；**Pt**. 毛果杨；**Sk**. 小翠云；**St**. 假花生；**Ta**. 小麦；**Vv**. 葡萄；**Zm**. 玉米。
At. *Arabidopsis thaliana*; **Cs**. *Corydalis saxicola*; **Gm**. *Glycine max*; **Hv**. *Hordeum vulgare*; **Mc**. *Macleaya cordata*; **Md**. *Malus domestica*; **Os**. *Oryza sativa*; **Ps**. *Papaver somniferum*; **Pv**. *Phaseolus vulgaris*; **Pp**. *Physcomitrium patens*; **Ppy**. *Pyrus pyrifolia*; **Pm**. *Prunus mume*; **Pt**. *Populus trichocarpa*; **Sk**. *Selaginella kraussiana*; **St**. *Senna tora*; **Ta**. *Triticum aestivum*; **Vv**. *Vitis vinifera*; **Zm**. *Zea mays*.

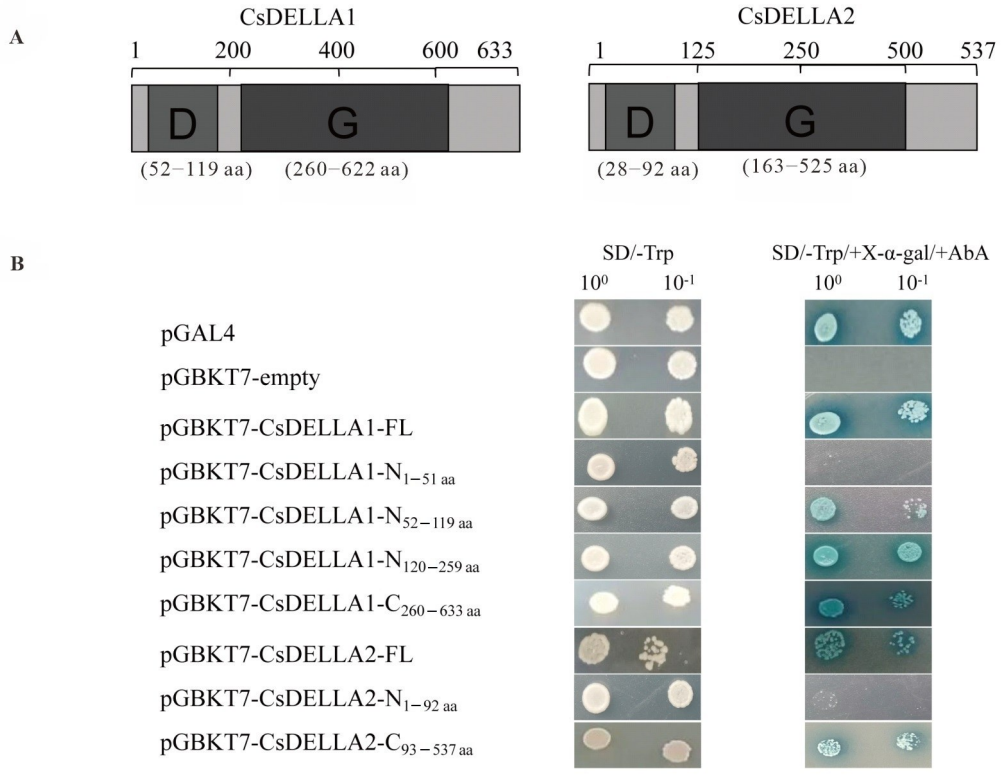
图 4　CsDELLA1 和 CsDELLA2 的分子进化树
Fig. 4　Molecular phylogenetic tree of CsDELLA1 and CsDELLA2

母菌在 SD/−Trp/+X-α-gal/+AbA 平板不能正常生长，表明其在 Y2HGold 酵母菌中无转录自激活能力（图 5）。

3　讨论与结论

GA 是植物中的一个移动信号，DELLA 蛋白作为 GA 信号转导的主要负调节因子，可以调节植物的种子发芽、茎伸长、开花过渡和繁殖力等（Binenbaum et al.，2018；Zhu et al.，2019）。

本研究中，我们从岩黄连中成功克隆了 2 个 *DELLA* 类基因 *CsDELLA*1 和 *CsDELLA*2。CsDELLA1 和 CsDELLA2 蛋白 N 端具有典型的 DELLA 结构域，包括 DELLA 基序、VHYNP 基序及



A. CsDELLA1、CsDELLA2 氨基酸及结构域分布模型(**D**. DELLA 结构域; **G**. GRAS 结构域); **B**. CsDELLA1、CsDELLA2 自激活结果。

A. CsDELLA1, CsDELLA2 amino acid and domain distribution model (**D**. DELLA domain; **G**. GRAS domain); **B**. Autoactivation results of CsDELLA1 and CsDELLA2.

图 5 CsDELLA1 和 CsDELLA2 在酵母菌上的转录自激活能力检测

Fig. 5 Transcriptional autoactivation capacity test of CsDELLA1 and CsDELLA2 in yeast cells

Ser/Thr/Val(多 S/T/V)基序。这些基序在已知所有的植物 DELLA 蛋白中都高度保守,为响应 GA 的必需元件(Xue et al., 2022)。此外,CsDELLA1 和 CsDELLA2 蛋白的 C 端也具有保守的 GRAS 结构域,包括 2 个亮氨酸重复 LHR1 和 LHR2、可能的核定位信号、VHIID 基序、Src-homology 2 like (SH2-like)基序及 SAW 基序(Xue et al., 2022)。已知 GRAS 结构域不仅在 DELLA 亚家族成员中具有很高的保守性,而且还是绝大多数 GRAS 家族蛋白的保守序列。就 DELLAs 亚族而言,GRAS 结构域对 DELLA 蛋白同源二聚体的形成、蛋白活性、GA 依赖的 DELLA 蛋白降解,以及 DELLA 蛋白与其他转录因子的相互作用至关重要(Hirano et al., 2010; Xue et al., 2022)。值得注意的是,尽管 DELLA 结构域和 GRAS 结构域均十分保守,但在一些植物中具有进化差异性(Wang et al., 2020)。本研究中,CsDELLA1 和 CsDELLA2 蛋白的 DELLA 基序、VHYNP 基序、VHIID 基序及 SAW 基序均完全保守。此外,系统进化树分析结果表明,CsDELLA1 与罂粟 GAI1 蛋白(XP 026386782.1)、博落回 DELLA1 蛋白(OVA01709.1)具有较高的相似性,而 CsDELLA2 与博落回的 DELLA2 蛋白(OVA06544.1)相似性较高。这表明罂粟科的这些 DELLA 蛋白具有种内和种间相似性,可能在 GA 信号通路中的功能也比较保守。

已知 DELLA 蛋白可以负调控 miRNA159 的表达,抑制 LEAFY 的活性,调节花器官的形成(Achard et al., 2004)。本研究中,qRT-PCR 结果表明,2 个 *CsDELLA*s 转录本在花中相对表达量都很低,表明 CsDELLAs 在岩黄连中可能也是成花时期转换的负调控信号。未来可通过瞬时表达或基于岩黄连稳定遗传转化体系进一步研究

CsDELLAs 在岩黄连花器官发育中的功能。此外，qPCR 结果还显示，2 个 *CsDELLA*s 转录本在岩黄连各组织中相对表达量最低的部位为根，这可能是岩黄连为适应喀斯特生境的高钙和干旱等逆境而做出的补偿机制。

因为 DELLA 无 DNA 结合结构域，所以它们常常需要与其他蛋白发生相互作用来参与生物学过程。酵母双杂交（yeast two hybrid，Y2H）是验证蛋白-蛋白相互作用应用最广泛的技术。在开展 Y2H 试验之前，对靶蛋白进行转录自激活检测是剔除假阳性结果的有效手段，也是必须开展的试验。本研究中，我们基于 GAL4 Y2H 系统检测了 CsDELLA1 和 CsDELLA2 的转录自激活能力。结果表明，二者全长序列均具有转录自激活能力，但 N 端序列均无自激活能力，说明转录自激活结构域在 DELLA 结构域及其 C 端位置。截断序列的检测结果表明，CsDELLA1 的 DELLA 结构域和 GRAS 结构域均具有自激活能力，而 CsDELLA2 的 DELLA 结构域无自激活能力，GRAS 结构域具有自激活能力。造成二者自激活位点差异的原因可能是保守结构域内的一些非保守氨基酸的存在。已知很多物种的 DELLA 蛋白均具有转录自激活能力，但自激活核心区域各有异同。例如，葡萄（*Vitis vinifera* cv. Chardonnay）VvGAI1 中的 DELLA 结构域和 GRAS 结构域均具有自激活能力（刘德帅等，2023）。参薯（*Dioscorea alata*）DELLA 自激活区域位于 N 端（吴晓龙等，2023）。拟南芥 5 个 DELLA 均具有自激活能力且自激活区域也在 N 端（Zhang et al.，2018）。鉴于 DELLA 蛋白与其他蛋白发生相互作用的核心区域位于 DELLA 结构域中的特点（Tan et al.，2018），未来我们在进行蛋白-蛋白相互作用鉴定以确定 CsDELLAs 生物学功能时，可采用将 CsDELLA1 和 CsDELLA2 构建在 pGADT7 载体上的策略，以避开其自激活的干扰，同时辅以双分子荧光互补（bimolecular fluorescence complementation）等其他实验方法多方面验证。

综上所述，本研究从岩黄连中克隆了 2 个 DELLA 蛋白编码基因，绘制了其转录本在不同组织中的表达谱，验证了其转录自激活核心区域，为进一步鉴定其在岩黄连生长发育中的功能奠定了基础，也为揭示 DELLA 蛋白是否协助岩黄连适应喀斯特生境的高钙和干旱等胁迫提供了数据支撑。

参考文献：

Achard P，Herr A，Baulcombe D C，et al.，2004. Modulation of floral development by a gibberellin-regulated microRNA［J］. Development，131（14）：3357-3365.

Anfang M，Shani E，2021. Transport mechanisms of plant hormones［J］. Current Opinion in Plant Biology，63：102055.

Ariizumi T，Lawrence P K，Steber C M，et al.，2011. The role of two F-box proteins，SLEEPY1 and SNEEZY，in Arabidopsis gibberellin signaling［J］. Plant Physiology，155：765-775.

Binenbaum J，Weinstain R，Shani E，2018. Gibberellin localization and transport in plants［J］. Trends in Plant Science，23（5）：410-421.

Blanco-Touriñán N，Serrano-Mislata A，Alabadí D，2020. Regulation of DELLA proteins by post-translational modifications［J］. Plant and Cell Physiology，61（11）：1891-1901.

Chorostecki C，Moro B，Rojas A M L，et al.，2017. Evolutionary footprints reveal insights into plant microRNA biogenesis［J］. The Plant Cell，29：1248-1261.

Dai B，2009. Chinese modern Yao medicine［M］. Nanning：Guangxi Science & Technology Publishing House.［戴斌，2009. 中国现代瑶药［M］. 南宁：广西科学技术出版社.］

Guizhou Institute of Traditional Chinese Medicine，1970. Guizhou herbal medicine：Vol. 1［M］. Guiyang：Guizhou People's Publishing House.［贵州省中医研究所，1970. 贵州草药：第一集［M］. 贵阳：贵州人民出版社.］

Editorial Committee of Flora of China，Chinese Academy of Sciences，1999. Flora Reipublicae Popularis Sinicae：Vol. 32.［M］. Beijing：Science Press.［中国科学院中国植物志编辑委员会，1999. 中国植物志：第 32 卷［M］. 北京：科学出版社.］

Fang D，Luo J Y，Su G X，et al.，1985. Selected medicines for Zhuang folk use：Vol. 1［M］. Nanning：Guangxi Ethnic Publishing House.［方鼎，罗金裕，苏广洵，等，1985. 壮族民间用药选编：上册［M］. 南宁：广西民族出版社.］

Fernández V，Takahashi Y，Le Gourrierec J，et al.，2016. Photoperiodic and thermosensory pathways interact through CONSTANS to promote flowering at high temperature under short days［J］. The Plant Journal，86（5）：426-440.

Galvão V C，Horrer D，Kütter F，et al.，2012. Spatial control of flowering by DELLA proteins in *Arabidopsis thaliana*［J］. Development，139：4072-4082.

Guangxi Institute of Botany，Guangxi Academy of Sciences，

1991. Flora of Guangxi: Vol. 1 [M]. Nanning: Guangxi Science & Technology Publishing House. [广西科学院广西植物研究所, 1991. 广西植物志: 第一卷 [M]. 南宁: 广西科学技术出版社.]

Hedden P, Sponsel V, 2015. A century of gibberellin research [J]. Journal of Plant Growth Regulation, 34: 740-760.

He Z C, Wang D M, Li G C, et al., 2014. Study on alkaloids from *Corydalis saxicola* and their anti-oxidative activities [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 45(11): 1526-1531. [何志超, 王冬梅, 李国成, 等, 2014. 岩黄连生物碱类成分及其抗氧化活性研究 [J]. 中草药, 45(11): 1526-1531.]

Hirano K, Asano K, Tsuji H, et al., 2010. Characterization of the molecular mechanism underlying gibberellin perception complex formation in rice [J]. The Plant Cell, 22: 2680-2696.

Hirsch S, Kim J, Muñoz A, et al., 2009. GRAS proteins form a DNA binding complex to induce gene expression during nodulation signaling in *Medicago truncatula* [J]. The Plant Cell, 21: 545-557.

Ikeda A, Ueguchi-Tanaka M, Sonoda K, et al., 2001. Slender rice, a constitutive gibberellin response mutant, is caused by a null mutation of the *SLR*1 gene, an ortholog of the height-regulating gene *GAI/RGA/RHT/D*8 [J]. The Plant Cell, 13: 999-1010.

Ito T, Okada K, Fukazawa J, et al., 2018. DELLA-dependent and -independent gibberellin signaling [J]. Plant Signaling & Behavior, 13(3): e1445933.

Katoh K, Standley D M, 2013. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability [J]. Molecular Biology and Evolution, 30 (4): 772-780.

Li C, Liu H, Qin M, et al., 2024. RNA editing events and expression profiles of mitochondrial protein-coding genes in the endemic and endangered medicinal plant, *Corydalis saxicola* [J]. Frontiers in Plant Science, 15: 1332460.

Li J J, Li Q, Wang W T, et al., 2023. DELLA-mediated gene repression is maintained by chromatin modification in rice [J]. The EMBO Journal, 42(21): e114220.

Li M M, Wang J Y, Mo B W, et al., 2018. Total alkaloids of *Corydalis saxicola* Bunting inhibits migration of A549 cells by suppressing Cdc42 or Vav1 [J]. Oncology Letters. 15: 475-482.

Li M Z, An F Y, Li W Y, et al., 2016. DELLA proteins interact with FLC to repress flowering transition [J]. Journal of Integrative Plant Biology, 58(7): 642-655.

Li W J, Zhang J X, Sun H Y, et al., 2018. *FveRGA*1, encoding a DELLA protein, negatively regulates runner production in *Fragaria vesca* [J]. Planta, 247: 941-951.

Liu D S, Feng M, Sun Y T, et al., 2023. Analysis of interaction between VvGAI1 and VvJAZ9 proteins in grape and its expression pattern under low temperature [J]. Agricultural Sciences in China, 56(15): 2977-2994. [刘德帅, 冯美, 孙雨桐, 等, 2023. 葡萄 VvGAI1 与 VvJAZ9 蛋白互作及低温下的表达模式分析 [J]. 中国农业科学, 56(15): 2977-2994.]

Ma Y P, Liu Y J, Long Y X, et al., 2024. Effect of plastic film mulching and shading degree on growth and yield of *Corydalis saxicola* [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 40(1): 60-65. [马永鹏, 刘元剑, 龙云星, 等, 2024. 覆膜和遮阴对岩黄连生长及产量的影响 [J]. 中国农学通报, 40(1): 60-65.]

Peng J R, Richards D E, Hartley N M, et al., 1999. 'Green revolution' genes encode mutant gibberellin response modulators [J]. Nature, 400(6741): 256-261.

Qin F, Chen Y, Wang F F, et al., 2023. *Corydalis saxicola* Bunting: A review of its traditional uses, phytochemistry, pharmacology, and clinical applications [J]. International Journal of Molecular Sciences, 24(2): 1626.

Qin F, Dai L M, Zhang B, et al., 2022. (±)-Corysaxicolaine A: A pair of antitumor enantiomeric alkaloid dimers from *Corydalis saxicola* [J] Organic & Biomolecular Chemistry, 20(7): 1396-1400.

Qiu Q Q, Wei Z P, Wu L M, et al., 2020. *In vitro* antibacterial activity of total alkaloids from *Corydalis saxicola* Bunting [J]. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 9: 43-44.

Ren F M, Wang L Q, Li Y, et al., 2021. Highly variable chloroplast genome from two endangered Papaveraceae lithophytes *Corydalis tomentella* and *Corydalis saxicola* [J]. Ecology & Evolution, 11(9): 4158-4171.

Sun T P, 2010. Gibberellin-GID1-DELLA: a pivotal regulatory module for plant growth and development [J]. Plant Physiology, 154(2):567-570.

Tamura K, Stecher G, Kumar S, 2021. MEGA11: Molecular evolutionary genetics analysis version 11 [J]. Molecular Biology and Evolution, 38 (7): 3022-3027.

Tan H J, Man M, Xie Y, et al., 2018. A crucial role of GA-regulated flavonol biosynthesis in root growth of *Arabidopsis* [J]. Molecular Plant, 12(4): 521-537.

Wang P W, Zhang Q Q, Chen Y C, et al., 2020. Comprehensive identification and analysis of DELLA genes throughout the plant Kingdom [J]. BMC Plant Biology, 20: 372-382.

Wen C K, Chang C, 2002. Arabidopsis *RGL*1 encodes a negative regulator of gibberellin responses [J]. The Plant Cell, 14: 87-100.

Wen H Q, Xu Z R, Villa-Lobos J, et al., 1993. A list of threatened limestone plants in southern China [J]. Guihaia, 13 (2): 110-127. [文和群, 许兆然, Villa-Lobos J, 等, 1993. 中国南部石灰岩稀有濒危植物名录 [J]. 广西植物, 13(2): 110-127.]

Wu J J, Chen P, Ju L J, et al., 2022. *Corydalis saxicola* Bunting total alkaloids ameliorate diet-induced non-alcoholic steatohepatitis by regulating hepatic PI3K/Akt and TLR4/NF-κB pathways in mice [J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 151: 113132.

Wu X L, Mei P F, Zhuang S W, et al., 2023. Identification and analysis of DELLA gene family greater yam (*Dioscorea alata* L.) [J]. Molecular Plant Breeding, 21(13): 4202-4208. [吴晓龙, 梅朋飞, 庄赛伟, 等, 2023. 参薯 DELLA 基因家族鉴定及分析 [J]. 分子植物育种, 21(13): 4202-4208.]

Xie G Y, Jin S Y, Li H T, et al., 2021. Chemical constituents and antioxidative, anti-inflammatory and anti-proliferative activities of wild and cultivated *Corydalis saxicola* [J]. Industrial Crops and Products, 169: 113647.

Xu X D, Wang D, 2021. Comparative chloroplast genomics of *Corydalis* species (Papaveraceae): evolutionary perspectives on their unusual large scale rearrangements [J]. Frontiers in Plant Science, 11: 600354.

Xue H D, Gao X, He P, et al., 2022. Origin, evolution, and molecular function of DELLA proteins in plants [J]. The Crop Journal, 10(2): 287-299.

Yu J J, Liu Q Y, Lu X Y, et al., 2018. Inhibitory and inductive effects of *Corydalis saxicola* Bunting total alkaloids (CSBTA) on cytochrome P450s in rats [J]. Phytotherapy Research, 32(9): 1818-1827.

Yu S P, Guo Q S, Zhao K J, et al., 2022. Physiology and germination characteristics of *Corydalis saxicola* seeds [J]. Modern Chinese Medicine, 24(12): 2432-2437. [于尚平, 郭巧生, 赵开军, 等, 2022. 石生黄堇种子生理及萌发特性 [J]. 中国现代中药, 24(12): 2432-2437.]

Zeng F L, Xiang Y F, Liang Z R, et al., 2013. Anti-hepatitis B virus effects of dehydrocheilanthifoline from *Corydalis saxicola* [J]. The American Journal of Chinese Medicine, 41: 119-130.

Zhang Y Q, Liu Z J, Wang X Y, et al., 2018. DELLA proteins negatively regulate dark-induced senescence and chlorophyll degradation in *Arabidopsis* through interaction with the transcription factor WRKY6 [J]. Plant Cell Reports, 37: 981-992.

Zhu Z G, Kang X J, Lor V S, et al., 2019. Characterization of a semidominant dwarfing *PROCERA* allele identified in a screen for CRISPR/Cas9-induced suppressors of loss-of-function alleles [J]. Plant Biotechnology Journal, 17(2): 319-321.

（责任编辑　李　莉　王登惠）