

# 香鳞毛蕨 *DfMYC2* 基因的克隆及表达分析

赵宗宝 冯 鹏 张常旭 陈玲玲 李 杰 刘守银 常 纓

东北农业大学生命科学学院, 哈尔滨 150036

**摘要** 基于香鳞毛蕨转录组数据克隆香鳞毛蕨 MYC 类转录因子 MYC2 的基因序列, 获得其全长, 并命名为 *DfMYC2*, NCBI 基因登录号为 MK193871, 对其蛋白序列进行生物信息学分析、不同部位荧光定量分析及 0.4 mmol/L 茉莉酸甲酯 (MeJA) 处理下的表达分析。结果显示: *DfMYC2* 基因全长为 3 130 bp, 开放阅读框 (ORF) 的长度为 2 496 bp, 编码 831 个氨基酸, 相对分子质量为 261 041.86; 用 0.4 mmol/L MeJA 溶液喷洒香鳞毛蕨植株叶片, 在处理 0、2、4、6、8、12、24、36 h 时取样, 实时荧光定量 PCR 检测结果显示, *DfMYC2* 在处理 4 h 时表达量最高。

**关键词** 香鳞毛蕨; MYC2; 茉莉酸甲酯; 表达分析

**中图分类号** Q 943.2 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2019)04-0027-06

香鳞毛蕨是鳞毛蕨科 (Dryopteridaceae) 鳞毛蕨属 (*Dryopteris*) 多年生蕨类植物。将新鲜的叶片揉碎会出现特殊的香味, 所以就有了香鳞毛蕨之称。香鳞毛蕨生长环境比较特殊, 主要生长在纬度高且较为寒冷的地区, 多处在岩石及岩缝之中。它的生长期相对较长, 在 -20 °C 的低温条件下依然保持活性。香鳞毛蕨在世界各地的高纬度地区呈零星分布状, 生长数量相对较少。在我国主要以黑龙江省为分布中心, 河北、吉林、辽宁、内蒙和新疆等也有少量分布<sup>[1]</sup>。香鳞毛蕨在民间经常被用于治疗各种皮肤病, 包括痤疮、皮疹、牛皮癣等。香鳞毛蕨富含三萜、黄酮、木脂素、萜、芳香族类等化合物, 有着抗氧化、抑菌、抗银屑病和抗肿瘤等多种功效。对香鳞毛蕨药用成分的研究显示香鳞毛蕨具有很大的应用价值和开发空间。

前期研究已经从香鳞毛蕨中发现并提取到了倍半萜类物质, 但对于其内部的萜类代谢途径还不甚了解。植物中髓细胞组织增生蛋白 (myelocytomatosis proteins, MYCs) 即 MYC 类转录因子, 是植物茉莉酸类激素响应途径中的核心转录因子。MYCs 转录因子具有多种调节功能, 并广泛存在于动植物中<sup>[2]</sup>。茉莉酸甲酯 (MeJA) 是茉莉酸类激素中的一种, 外源应用能够激发植物防御基因的表达, 诱导植

物的化学防御, 产生与机械损伤和昆虫取食相似的效果<sup>[3]</sup>。近几年的研究表明, 转录因子 MYC2 对倍半萜等萜类物质的生物合成具有一定的调控作用。Hong 等<sup>[4]</sup>发现拟南芥中 MYC2 的过表达能够增加挥发性倍半萜的含量, 进一步的实验证实转录因子 MYC2 正调控倍半萜合酶基因 *TPS11* 和 *TPS21* 的表达; Kazan 等<sup>[5]</sup>发现对拟南芥进行茉莉酸类和赤霉素类激素处理后, 转录因子 MYC2 表达量发生明显变化, 从而影响萜类物质的代谢; 张文娟等<sup>[6]</sup>发现茉莉酸类激素茉莉酸甲酯 MeJA 外源处理能够影响大戟中 *hmgr*、*sqs* 与 *fps* 等萜类代谢关键酶基因的相对表达, 进而促进三萜类物质的代谢合成; 任昂<sup>[7]</sup>发现外源 MeJA 处理灵芝, 能够显著提高三萜类物质的含量, 主要影响 *Gl-rho* 基因的表达, 从而影响萜类代谢途径; 李春晓<sup>[8]</sup>发现 MeJA 的外源处理同样对白桦树的三萜类物质的合成具有调控作用; 王焕<sup>[9]</sup>发现 MeJA 能够调控阳春砂萜类化合物生物合成途径 3 个关键酶基因 *HMGR*、*DXR*、*DXS* 的表达, 影响挥发性萜类物质代谢合成。

本研究以香鳞毛蕨植株转录组数据为基础, 克隆得到 *DfMYC2* 基因, 获得其全长 (NCBI 基因登录号为 MK193871), 并对其蛋白的氨基酸和核酸序

收稿日期: 2019-01-07

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31570189)

赵宗宝, 硕士研究生。研究方向: 植物资源学与分子生物学。E-mail: 1099213735@qq.com

通信作者: 常纓, 博士, 教授。研究方向: 植物资源学与分子生物学。E-mail: changyingnew@163.com

列进行生物信息学分析;同时,采用 MeJA 外源处理香鳞毛蕨植株,对 *DfMYC2* 基因进行表达分析,以期为进一步研究香鳞毛蕨倍半萜合成途径及蕨类植物萜类物质代谢途径奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

试验材料选用笔者所在实验室人工快繁的香鳞毛蕨孢子体植株。

### 1.2 试剂及引物

产物纯化试剂盒购自爱思进生物技术有限公司(中国杭州),质粒提取试剂盒和胶回收试剂盒购自

OMEGA BIO-TEK(美国),Race 试剂盒购自赛默飞世尔科技(中国),RNA 提取试剂盒购自天根生化科技有限公司(中国北京),RNA 反转录试剂盒和荧光定量试剂盒购自全式金生物技术有限公司(中国北京)。

载体 pMD18-T vector(TaKaRa,中国大连)购自宝生物工程(大连)有限公司,大肠杆菌 Trans1-T1 购自全式金生物技术有限公司(中国北京)。

根据转录组数据利用 primer 5.0 软件设计引物;根据 *DfMYC2*(GenBank 登录号:MK193871)核苷酸序列设计引物。引物均由吉林省库美生物科技有限公司合成(表 1)。

表 1 本研究所用引物

Table 1 Primers used in this study

编号 Code	序列 Sequence(5'→3')	用途 Usage
DfMYC2-5'RACE	CCCATTTATCAAATCTTCGCCTATG	<i>DfMYC2</i> 基因全长
DfMYC2-3'RACE	AAGATGGAATACTCCATGGCAT	Full length of <i>DfMYC2</i> gene
qDfMYC2-F	GCCTCTCCAATCTTAGATGGCTGCT	RT-PCR
qDfMYC2-R	GTTGCAAATGATGTGGCAACCTAAC	
18sRNA-F	GCTTTCGCAGTAGTTCGTCTTTC	内参基因 Reference gene
18sRNA-R	TGGTCTATTATGTTGGTCTTCGG	

### 1.3 香鳞毛蕨总 RNA 提取及 cDNA 合成

将香鳞毛蕨植株放入液氮中研磨成粉末,按照植物总 RNA 提取试剂盒说明书时进行操作。提取后用琼脂糖凝胶电泳和浓度仪检测 RNA 的质量和浓度,将完整且浓度合适的 RNA 置于 -80 °C 冰箱中保存备用。用反转录试剂盒进行 cDNA 第一链合成,按照说明书进行具体操作。反转录产物保存于 -20 °C 冰箱中备用。

### 1.4 香鳞毛蕨 *DfMYC2* 基因全长的获得及氨基酸序列的生物信息学分析

根据之前对香鳞毛蕨进行高通量测序所获得的香鳞毛蕨转录组数据库,在测序结果中选择 4 个候选基因片段(comp27629\_c0、comp33203\_c0、comp34982\_c0、comp38109\_c0)。通过一系列的筛选及 Blast 分析,其中 comp27629\_c0 与其他植物的 MYC2 基因序列表现出很高的相似性。以 comp27629\_c0 序列为准,运用 SnapGene 软件设计 5' 和 3' 端引物,以香鳞毛蕨 cDNA 为模板,使用 RACR 试剂盒进行 5'-RACE 和 3'-RACE 的 PCR 扩增。PCR 反应体系均为:模板 DNA 40 ng、正反向引物各 1 pmol、*Taq* 酶 5 U,用灭菌双蒸水补足至 20  $\mu$ L。PCR 反应条件均为:94 °C 预变性 5 min;94 °C 30 s,56 °C 30 s,72 °C 3 min,30 个循环;72 °C 延伸 5 min;最后 4 °C 保温。采用琼脂糖凝胶

电泳将扩增产物纯化回收后,将扩增产物连接到克隆载体 pEASY-T<sub>18</sub> 上,经过菌落和菌液 PCR 检测后送往吉林省库美生物科技有限公司进行测序,将 5'-RACE 和 3'-RACE 的测序结果与核心片段进行拼接,获得基因全长。运用 Expasy(<https://www.expasy.org>)等在线软件对 MYC2 氨基酸序列进行蛋白质性质和结构的分析。

### 1.5 香鳞毛蕨不同部位及 MeJA 处理下不同时间段 *DfMYC2* 的表达量变化分析

提取香鳞毛蕨叶片、叶柄及根的 RNA 反转录成 cDNA 进行 *DfMYC2* 荧光定量分析。

通过预实验筛选 MeJA 的最适处理浓度,最终选用 0.4 mmol/L MeJA 来处理香鳞毛蕨。将配置好的 0.4 mmol/L MeJA 溶液加入到喷壶中,充分喷洒在香鳞毛蕨植株地上部分,之后用塑料袋套住整盆植株,防止 MeJA 挥发导致浓度下降。在处理 0、2、4、6、8、12、24、36 h 时取样提取 RNA 并进行 cDNA 合成。运用 SnapGene 软件设计荧光定量引物,以各个时间点提取获得的 cDNA 为模板,使用荧光定量试剂盒进行实时荧光定量分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 *DfMYC2* 基因全长的获得

以 comp27629\_c0 序列作为 *DfMYC2* 基因的

核心片段,分别在 5' 和 3' 端设计引物,使用 RACE 试剂盒,对两端进行扩增,获得 5' 端和 3' 端序列(图 1),并与核心片段进行拼接,最后得到 *DfMYC2* 基因全长 3 183 bp,开放阅读框(ORF) 的长度为 2 496 bp。

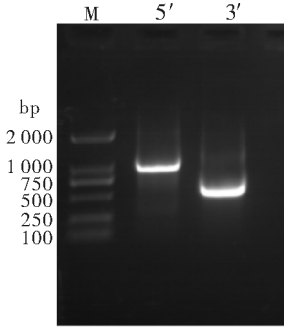


图 1 *DfMYC2* 基因 5' 端和 3' 端序列

Fig.1 Sequence of the 5' and 3' of the *DfMYC2* gene

## 2.2 *DfMYC2* 蛋白序列的生物信息学分析

1)香鳞毛蕨 MYC2 蛋白一级结构的预测及分析。运用 ExPasy 在线软件(<https://www.expasy.org>)对 *DfMYC2* 基因序列进行蛋白质性质和结构的分析。结果显示:转录因子 MYC2 编码 831 个氨基酸残基,分子量 91.768 8 ku,理论等电点(pI) 5.02,分子式为 C<sub>3973</sub> H<sub>6262</sub> O<sub>1112</sub> N<sub>1297</sub> S<sub>44</sub>,原子总数 12 688。定位蛋白 67 个,匹配 PDB 数据库结构蛋白 9 个。氨基酸分布如图 2 所示。

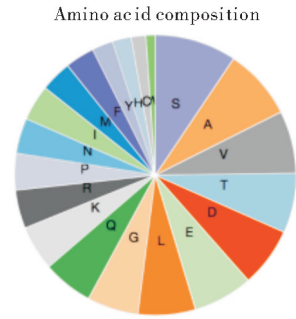
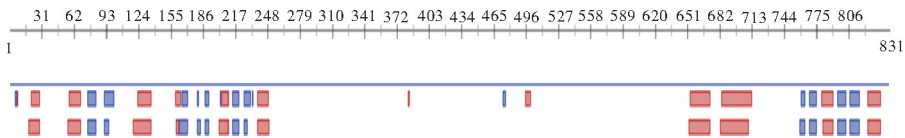


图 2 香鳞毛蕨 MYC2 蛋白氨基酸分布

Fig.2 Amino acid distribution of *Dryopteris fragrans* MYC2 protein

2)香鳞毛蕨 MYC2 蛋白二级结构的预测及分析。使用在线工具(<http://zhanglab.ccmh.med.umich.edu/PSSpred/>),对香鳞毛蕨 MYC2 蛋白二级结构进行预测。结果表明,香鳞毛蕨 MYC2 蛋白的二级结构中,包括  $\alpha$ -螺旋(alpha helix)、伸展链(extended strand)和无规则卷曲(random coil)3 种结构类型, $\alpha$ -螺旋占 38.39%,伸展链 16.97%,无规则卷曲 37.06%。

3)香鳞毛蕨 MYC2 蛋白三级结构的预测及分析。使用 ExPASy GOR4 工具(<http://swissmodel.expasy.org/>),对香鳞毛蕨 MYC2 蛋白三级结构进行预测,结果如图 4 所示,有两段螺旋型结构呈十字交叉型排列,尾部还有一个单环螺旋式结构。



图中红色部分为  $\alpha$ -螺旋,蓝色部分为伸展链,其余未标注空白部分为无规则卷曲。In the figure,the red part is  $\alpha$ -helix,the blue part is extended strand,and the remaining unmarked blank parts is random coil.

图 3 香鳞毛蕨 MYC2 蛋白二级结构

Fig.3 Secondary structure of *Dryopteris fragrans* MYC2 protein



图 4 香鳞毛蕨 MYC2 蛋白三级结构

Fig.4 Tertiary structure of *Dryopteris fragrans* MYC2 protein

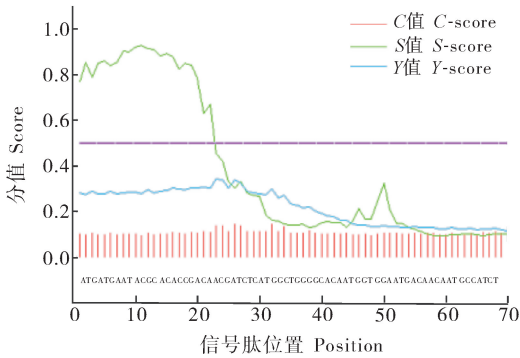
4)香鳞毛蕨 MYC2 蛋白质的信号肽预测。利用 ExPASy Signal(<http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP>)在线分析软件对香鳞毛蕨 MYC2 的蛋白信号肽进行预测,对信号肽概率以及可能的裂解位点进行分析,结果表明 MYC2 蛋白具有信号肽,且信号肽的酶切位点位于第 22 和第 23 号氨基酸之间,属于分泌性蛋白。

5)香鳞毛蕨 MYC2 蛋白卷曲螺旋预测分析。采用 EMBNET(<http://www.ch.embnet.org/>)的 COILS 程序对香鳞毛蕨 MYC2 蛋白卷曲螺旋进行预测。结果发现,*DfMYC2* 蛋白质中卷曲螺旋存在

的可能小于 5%，没有显著性。因此，可以认为没有卷曲螺旋结构的存在。

6) 香鳞毛蕨 MYC2 蛋白跨膜区分析。通过 ExPASy 的在线跨膜区结构预测软件 TMHMM2.0 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/>) 对香鳞毛蕨 MYC2 蛋白进行跨膜区分析,图 6 结果显示香鳞毛蕨 MYC2 蛋白不存在跨膜区。

7) 香鳞毛蕨 MYC2 蛋白遗传进化分析。对获得的香鳞毛蕨 MYC2 基因的氨基酸序列进行推测,与其他公开发表的植物 MYC2 氨基酸序列进行比对,通过 MEGA6.0 软件构建遗传进化树。通过比对发现,香鳞毛蕨 *DfMYC2* 氨基酸序列与番茄 (*Solanum lycopersicum*) 物种关系较为接近(图 7)。



图中的 S 值代表信号肽可能出现的区域, C 值代表未经优化的裂解位点, Y 值是综合了 S 值和 C 值所得出的优化裂解位点。此外还有 S 平均值和 D-score (discrimination score) 值: 前者是从氨基酸 N 端到剪切位点处各氨基酸 S 值的平均值, D-score 是 S 和 Y 平均值的加权平均值。The S value in the figure represents the region where the signal peptide may appear, the C value represents the unoptimized cleavage site, and the Y value is the optimized cleavage site obtained by combining the S value and the C value. There are also values of mean S and D-score (discrimination score): the former is the average of the S values of the amino acids from the N-terminus to the cleavage site, and D-score is the weighted average of the mean S and Y values.

图 5 香鳞毛蕨 MYC2 蛋白信号肽预测

Fig.5 Signal P-HMM prediction of *Dryopteris fragrans* MYC2 protein

### 2.3 香鳞毛蕨不同部位 *DfMYC2* 的表达量变化

提取香鳞毛蕨叶片、叶柄及根的 RNA 反转录成 cDNA 进行 *DfMYC2* 荧光定量分析。结果如图 8 所示, *DfMYC2* 在叶片中含量最高, 叶柄次之, 根部最低。

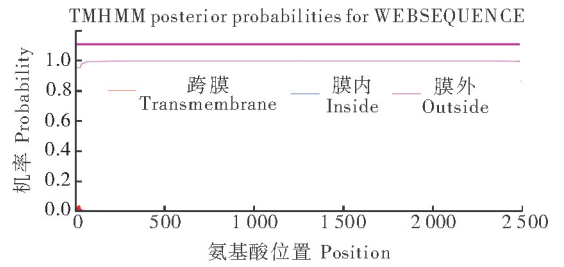


图 6 香鳞毛蕨 MYC2 蛋白跨膜结构分析结果

Fig.6 Analysis result of the transmembrane construction of *Dryopteris fragrans* MYC2 protein

### 2.4 MeJA 处理下 *DfMYC2* 的表达量变化

实时荧光定量 PCR 检测 *DfMYC2* 基因在 0.4 mmol/L MeJA 处理下不同时间的表达情况(图 9), 结果显示, 该基因在 MeJA 处理 4 h 时表达量最高, 6 h 下降, 8 h 又升高, 之后逐渐趋于平缓。

## 3 讨论

香鳞毛蕨作为一种民间广泛流传的药用资源植物, 探究其活性成分的代谢途径, 能够为其药用分析及开发利用提供强有力的理论依据<sup>[10-11]</sup>。

萜类是普遍存在于植物界的一类化合物, 在动物界为数甚少。除以萜烃的形式存在外, 还存在各种含氧衍生物, 包括醇、醛、酮、羧酸、酯类以及甙的形式。其次, 还有含氮的衍生物、少数含硫的衍生物存在。萜类化合物在植物体内的生命活动中具有重要的作用, 如调控赤霉素、脱落酸、茉莉酸等重要激素的代谢途径, 类胡萝卜素和叶绿素是重要的光合色素, 质体醌和泛醌为光合链和呼吸链中重要的电子递体, 甾醇是生物膜的组成成分等<sup>[12]</sup>。笔者所在课题组之前的研究数据表明, 香鳞毛蕨中的萜类化合物含量丰富, 其中的倍半萜含量较高并已经成功从香鳞毛蕨中提取。目前关于蕨类植物的萜类代谢途径还没有统一的定论, 对于蕨类植物的萜类代谢途径研究还不够深入。为了进一步探究蕨类植物的萜类代谢途径, 我们选择通过研究香鳞毛蕨倍半萜的代谢来探索蕨类植物的萜类代谢途径。对香鳞毛蕨进行高通量测序, 得到香鳞毛蕨转录组数据库。通过对转录组数据的分析, 选择在拟南芥等植物中与萜类代谢尤其是倍半萜代谢密切相关的 MYC2 转录因子, 通过 RACE 技术获得其全长, 并对其氨基酸序列进行了生物信息学分析。

MYCs 转录因子在植物中广泛分布并具有多种调节功能, 对植物的生长发育起到至关重要的作用<sup>[13]</sup>。



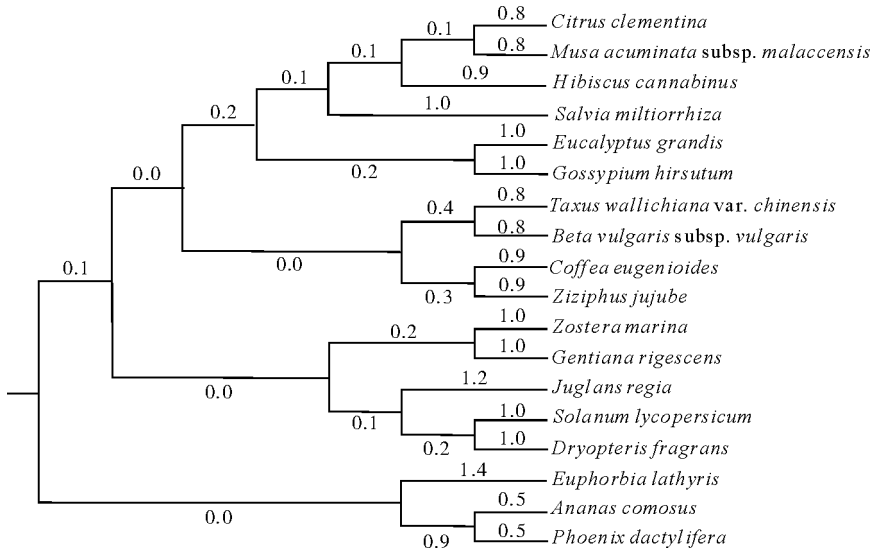


图 7 香鳞毛蕨和其他植物的 MYC2 氨基酸序列的遗传进化分析

Fig.7 Phylogenetic tree illustrating the genetic relationships between MYC2 from *D. fragrans* and other plants

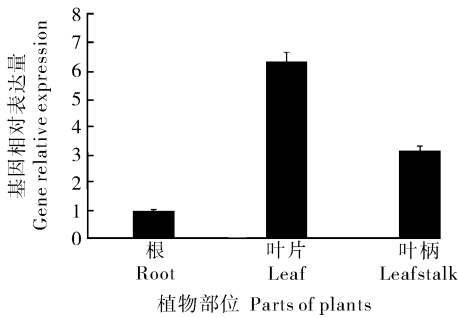


图 8 不同部位 MYC2 基因的表达量差异  
Fig.8 Difference in expression of MYC2 gene in different parts

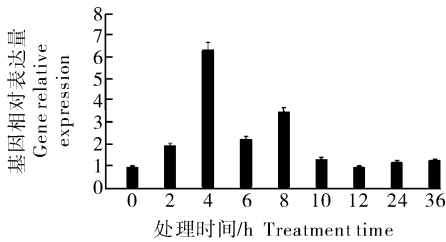


图 9 MeJA 处理下不同时间 *DfMYC2* 基因的表达量变化  
Fig.9 Changes in expression of *DfMYC2* gene under different time of MeJA treatment

研究表明,MYC 类转录因子是植物茉莉酸类激素响应途径中的核心转录因子。尤其是 MYC2 能够直接影响植物中萜类物质的代谢,与植物的防御体系密切相关<sup>[14-15]</sup>。MYC2 转录因子通过形成 COI1/JAZs/MYC2 复合物发挥调控作用,参与 JA、ABA 等激素信号转导过程<sup>[16-17]</sup>。

MeJA 作为茉莉酸类激素中的一种,外源应用

能够以模拟机械损伤和昆虫侵袭方式来影响植物体内萜类物质的积累<sup>[18]</sup>。通过对香鳞毛蕨不同部位 *DfMYC2* 的荧光定量分析,发现其在叶片中表达量最高,表明 MYC2 转录因子发生部位主要在叶片。并且多年的研究发现,MeJA 与萜类物质代谢也有着十分密切的关系。为了进一步验证 MeJA、MYC2 转录因子与萜类代谢三者之间的关系,我们选用 MeJA 对香鳞毛蕨进行外源处理来观察 MYC2 的表达量变化,研究结果从侧面验证了 *DfMYC2* 与香鳞毛蕨的萜类代谢途径的确存在着联系,为进一步研究蕨类植物的萜类代谢奠定基础。

### 参 考 文 献

[1] 常纓.香鳞毛蕨国内外研究进展[J].北方园艺,2009(4):113-115.

[2] 沈乾,陆续,张凌,等.植物中 MYC2 转录因子功能研究进展[J].上海交通大学学报(农业科学版),2012,30(6):51-57.

[3] 桂连友,刘树生,陈宗懋.外源茉莉酸和茉莉酸甲酯诱导植物抗虫作用及其机理[J].昆虫学报,2004,47(4):507-514.

[4] HONG G J,XUE X Y,MAO Y B,et al.*Arabidopsis* MYC2 interacts with DELLA proteins in regulating sesquiterpene synthase gene expression[J].Plant cell,2012,24(6):2635-2648.

[5] KAZAN K,MANNERS J M.MYC2: the master in action[J].Molecular plant,2013,6(3):686-703.

[6] 张文娟,曹小迎,蒋继宏.茉莉酸甲酯诱导大戟三萜类代谢的研究[J].广西植物,2015(4):591-597.

[7] 任昂.茉莉酸甲酯对灵芝三萜生物合成的影响及其灵芝应答基因的差异表达研究[D].南京:南京农业大学,2012.

[8] 李春晓.MeJA 和 SA 对白桦幼树三萜合成调控及 FPS 基因克

- 隆[D].哈尔滨:东北林业大学,2012.
- [9] 王焕.MeJA影响阳春砂挥发性萜类和转录组变化的研究[D].广州:广州中医药大学,2015.
- [10] LI J, CHEN K, WANG F, et al. Methyl jasmonate leads to necrosis and apoptosis in hepatocellular carcinoma cells via inhibition of glycolysis and represses tumor growth in mice[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(28):45965-45980.
- [11] PENG Z, ZHANG Y. Methyl jasmonate induces the apoptosis of human colorectal cancer cells via downregulation of EZH2 expression by microRNA-101[J]. *Molecular medicine reports*, 2017, 15(2):957-962.
- [12] LIU Y, LUO S H, SCHMIDT A, et al. A geranyl farnesyl diphosphate synthase provides the precursor for sesterterpenoid (C25) formation in the glandular trichomes of *Leucosceptum canum*[J]. *Plant cell*, 2016, 28(3):804-822.
- [13] HEDHILI S, DE MATTEI M V, COUDERT Y, et al. Three non-autonomous signals collaborate for nuclear targeting of CrMYC2, a *Catharanthus roseus* bHLH transcription factor[J]. *BMC research notes*, 2010, 3(1):1-9.
- [14] WOLDEMARIAM M G, DINH S T, OH Y, et al. NaMYC2 transcription factor regulates a subset of plant defense responses in *Nicotiana attenuata* [J]. *BMC plant biology*, 2013, 13(1):73 [2019-01-07]. <http://www.biomedcentral.com/1471-2229/13.73>.
- [15] CUI H T, QIU J D, ZHOU Y, et al. Antagonism of transcription factor MYC2 by EDS1/PAD4 complexes bolsters salicylic acid defense in *Arabidopsis* effector-triggered immunity[J]. *Molecular plant*, 2018, 11(8):1053-1066.
- [16] ALFIERI M, VACCARO M C, CAPPETTA E, et al. Coactivation of MEP-biosynthetic genes and accumulation of abietane diterpenes in *Salvia sclarea* by heterologous expression of WRKY and MYC2 transcription factors[J/OL]. *Scientific reports*, 2018, 8(1):11009 [2019-01-07]. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-29389-4>.
- [17] ZHANG M, JIN X, CHEN Y, et al. TcMYC2a, a basic helix-loop-helix transcription factor, transduces ja-signals and regulates taxol biosynthesis in *Taxus chinensis* [J/OL]. *Frontiers in plant science*, 2018, 9:863 [2019-01-07]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6021540/pdf/fpls-09-00863.pdf> doi:10.3389/fpls.2018.00863.
- [18] ADEBESIN A, ADEOLUWA O A, EDUVIERE A T, et al. Methyl jasmonate attenuated lipopolysaccharide-induced depressive-like behaviour in mice[J]. *Journal of psychiatric research*, 2017, 94:29-35.

## Cloning and expression of *DfMYC2* gene from *Dryopteris fragrans*

ZHAO Zongbao FENG Peng ZHANG Changxu  
CHEN Lingling LI Jie LIU Shouyin CHANG Ying

*College of Life Sciences, Northeast Agricultural University, Harbin 150036, China*

**Abstract** Based on the transcriptome data of *Dryopteris fragrans*, the gene sequence of MYC2 transcription factor MYC2 was cloned and named as DfMYC2. The gene accession number was MK193871. Bioinformatics analysis of the protein sequence, fluorescence quantitative analysis of different parts and expression analysis of 0.4 mmol/L methyl jasmonate (MeJA) were performed. The results showed that the DfMYC2 gene was 3 130 bp in full length and the open reading frame (ORF) was 2 496 bp in length, encoding 831 amino acids with a relative molecular weight of 261 041.86. The leaves of *D. fragrans* were sprayed with 0.4 mmol/L MeJA solution, and samples were taken at 0 h, 2 h, 4 h, 6 h, 8 h, 12 h, 24 h and 36 h after treatment. The results of real-time quantitative PCR showed that *DfMYC2* had the highest expression at 4 h after treatment. It will provide the foundation for further studying the biological function of DfMYC2 gene in *D. fragrans*.

**Keywords** *Dryopteris fragrans*; MYC2; MeJA; expression analysis

(责任编辑:张志钰)