

药用植物裂环烯醚萜苷类化合物生物合成 途径关键酶基因研究进展

戴欣怡^{1,2}, 朱锦峰^{1,2}, 韦善屹², 朱雄智², 李竞舸², 刘越^{1,2*}

(1 民族地区生态环境国家民委重点实验室[中央民族大学], 北京 100081; 2 中央民族大学 生命与环境科学学院, 北京 100081)

摘要:裂环烯醚萜苷类化合物是植物体内产生的具有保肝、消炎、降血糖血脂等多重生物活性的次级代谢产物, 在临床上应用广泛。该文依据近年来国内外有关裂环烯醚萜苷类化合物生物合成途径及关键酶基因的挖掘与调控机理研究进展, 主要对药用植物裂环烯醚萜苷类化合物生物合成途径、关键酶(GPPS、GES、G10H、8HGO、IS、IO、7DLGT、DL7H、LAMT、SLS)与编码基因的研究进展进行综述, 为进一步阐明其生物合成途径机制与关键酶调控作用、提高有效活性成分积累、减缓药用植物野生资源紧张等问题提供参考。

关键词:裂环烯醚萜苷; 药用植物; 关键酶基因; 生物合成途径

中图分类号: Q949.95

文献标志码: A

Research Progress of Key Enzyme Genes in Biosynthetic Pathway of Schizoiridoid Glycosides in Medicinal Plants

DAI Xinyi^{1,2}, ZHU Jinfeng^{1,2}, WEI Shanyi², ZHU Xiongzhi², LI Jingge², LIU Yue^{1,2*}

(1 Key Laboratory of Ecology and Environment in Minority Areas [Minzu University of China], National Ethnic Affairs Commission, Beijing 100081, China; 2 College of Life and Environmental Sciences, Minzu University of China, Beijing 100081, China)

Abstract: Schizoiridoid glycosides are secondary metabolites produced in plants with multiple biological activities such as liver protection, anti-inflammatory, hypoglycemic and blood lipids, and are widely used in clinical practice. Based on the research progress on the biosynthesis pathway of schizoiridoid glycosides and the mining and regulation mechanism of key enzyme genes at home and abroad in recent years, this paper mainly reviews the research progress of the biosynthesis pathway of schizoiridoid glycosides in medicinal plants, key enzymes (GPPS, GES, G10H, 8HGO, IS, IO, 7DLGT, DL7H, LAMT, SLS) and coding genes. It provides a basis for further elucidating the mechanism of its biosynthesis pathway and the regulation of key enzymes, improving the accumulation of effective active ingredients, and easing the tension of wild resources of medicinal plants.

Key words: schizoiridoid glycosides; medicinal plant; key enzyme genes; biosynthetic pathway

环烯醚萜类化合物是一种具有二元环、烯键、醚键等结构的单萜化合物, 天然存在状态下常与糖相

收稿日期: 2022-05-28; 修改稿收到日期: 2023-02-20

基金项目: 国家重点研发计划“政府间国际科技创新合作重点专项”(2022YFE0119300); 国家自然科学基金(81274185, 81373765); 国家民委中青年英才项目(2016-3-01); 中央民族大学硕士研究生自主科研项目(SZKY2022042); 中央民族大学一流大学一流学科建设; 中央民族大学创新项目(BEIJ2020110021, U RTP2020110065, BEIJ2021110107, BEIJ2021110128)

作者简介: 戴欣怡(1999-), 女, 在读硕士研究生, 主要从事民族药物遗传多样性和功能基因组学研究。E-mail: dxy3199691633@163.com
* 通信作者: 刘越, 博士, 教授, 硕士生导师, 主要从事民族药物遗传多样性和功能基因组学研究。E-mail: liuyue_muc@163.com

连形成环烯醚萜苷类结构^[1]。根据其骨架不同可分为环烯醚萜苷类、裂环烯醚萜苷类、环烯醚萜酯类三种主要类型。其中,裂环烯醚萜苷类化合物是环烯醚萜基本骨架环戊烷 C7-C8 键断裂衍生而成的一类次生代谢物^[2]。在龙胆科的滇龙胆(*Gentiana rigescens* Franch.)、川西獐牙菜(*Swertia mussotii* Franch.)、秦艽(*Gentiana macrophylla* Pall.)等药用植物中广泛存在,其代表性化合物有獐牙菜苷(sweroside)、獐牙菜苦苷(swertiamarin)和龙胆苦苷(gentiopicrin)等。药理实验研究显示该类化合物具有保肝抗癌^[3-4]、消炎镇痛^[5-6]、降血糖血脂^[7-8]等多重药理活性,因而在临床上应用广泛。为解决药用植物资源紧张与天然有效活性成分短缺而导致的市场供需矛盾等问题,次生产物代谢途径与调控机制就显得十分必要。随着高通量测序技术与代谢组学的发展,植物次生代谢途径解析、功能基因挖掘、基因功能预测等方面的研究越来越深入^[9-10],并逐渐成为药用植物领域的研究热点。裂环烯醚萜苷类化合物作为植物体内一种重要次级代谢产物,近年来已积累不少研究成果,主要集中在化学成分鉴定与药理作用研究方面,而鲜有针对其生物合成途径及关键酶基因研究方面的综述。本文以近年来的研究成果为依据,对裂环烯醚萜苷类化合物生物合成途径以及关键酶基因研究现状进行概述,以期对相关功能基因的挖掘、裂环烯醚萜苷类成分积累与调控提供参考。

1 裂环烯醚萜苷类化合物生物合成途径

生物合成途径及调控机制的阐明是利用合成生物学方法获得大量有效活性成分积累的前提。本文以裂环烯醚萜苷的代表性化合物——龙胆苦苷为例,阐述该途径下生物合成主要过程与相关调控酶。整个过程可大致分为两阶段:前体物焦磷酸异戊烯酯 IPP(Isopentenyl diphosphate)的生成与裂环烯醚萜的生成(图 1)。

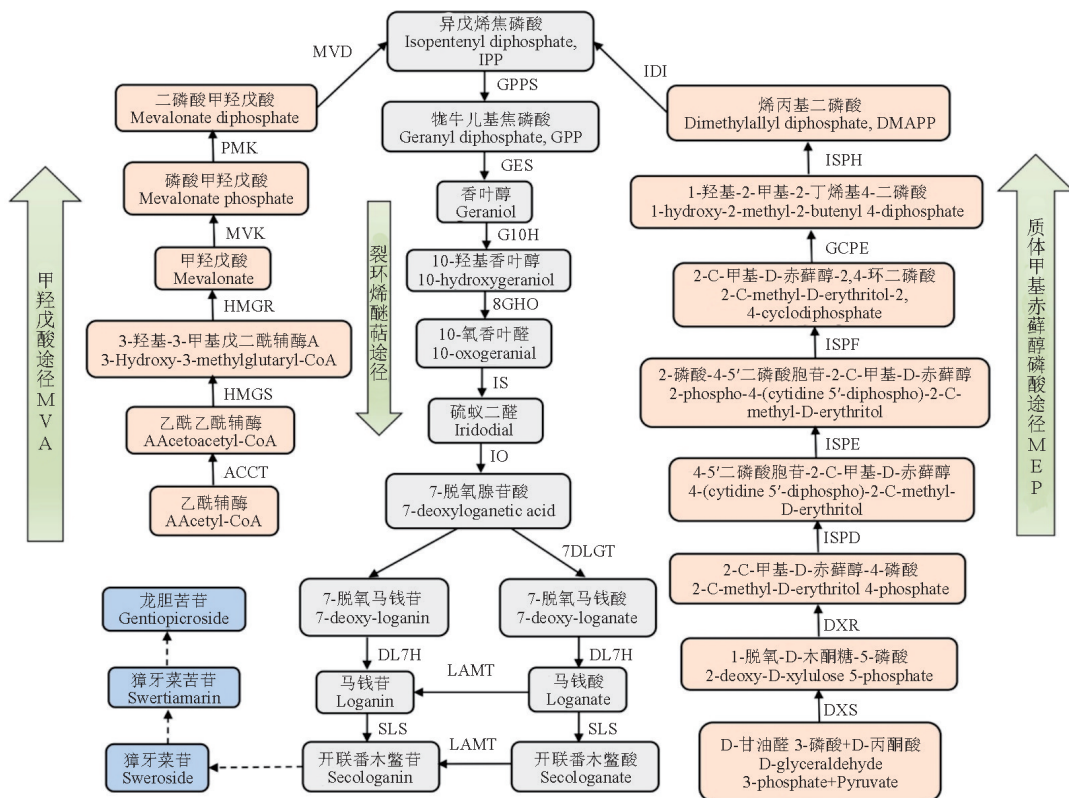
1.1 关键中间体 IPP 的生成

萜类化合物的前体物 IPP 的合成途径有两条,分别是细胞质中的甲羟戊酸途径(mevalonate pathway, MVA)^[10]与质体中的甲基赤藓醇磷酸途径(methylerythritol phosphate pathway, MEP)^[11],这两个途径都比较清楚。MVA 途径起始物质是乙酰辅酶 A(acetyl-CoA),共有 6 个酶参与到 IPP 的生成中,分别是乙酰辅 A 酰基转移酶碱基对(acetyl-

CoAC-acetyltransferase, ACCT)、羟甲基戊二酰辅酶 A 合酶(hydroxymethylglutaryl-CoAsynthase, HMGS)、羟甲基戊二酰辅酶 A 还原酶(hydroxymethylglutaryl-CoA reductase, HMGR)、甲羟戊酸激酶(mevalonate kinase, MK/MVK)、磷酸甲羟戊酸激酶(phosphomevalonate kinase, PMK)、二磷酸甲羟戊酸脱羧酶(diphosphomevalonate decarboxylase, MVD)。MEP 途径由 D-甘油醛 3-磷酸(D-glyceraldehyde3-phosphate)与 D-丙酮酸(pyruvate)缩合开始,共涉及 8 个酶分别是 1-脱氧-D-木酮糖-5-磷酸合酶(1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate synthase, DXS)、1-脱氧-D-木酮糖-5-磷酸异构酶(1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate reductoisomerase, DXR)、2-C-甲基-D-赤藓醇-4-磷酸脱氨酰转移酶(2-C-methyl-D-erythritol 4-phosphate cytidylyltransferase, ISPD)、4-二磷酸胞苷-2-C-甲基赤藓醇激酶(4-diphosphocytidyl-2-C-methyl-D-erythritol kinase, ISPE)、2-C-甲基-D-赤藓醇 2,4-环二磷酸合酶(2-C-methyl-D-erythritol 2,4-cyclodiphosphate synthase, ISPF)、(E)-4-羟基-3-甲基丁烯-2-烯基-二磷酸合酶[(E)-4-hydroxy-3-methylbut-2-enyl diphosphate synthase, GCPE]、4-羟基-3-甲基丁烯-2-烯基-二磷酸还原酶(4-hydroxy-3-methylbut-2-enyldiphosphatereductase, ISPH)、异戊烯基焦磷酸异构酶(isopentenyl-diphosphate delta-isomerase, IDI)。有研究结果显示 MEP 途径是龙胆苦苷的生物合成主要来源^[12]。

1.2 裂环烯醚萜的生成

第二阶段从前体物 IPP 与二甲烯丙基焦磷酸 DMAPP(dimethylallyl diphosphate)在牻牛儿基焦磷酸合酶(geranyl diphosphate synthase, GPPS)的催化作用下缩合形成牻牛儿基焦磷酸(geranyl-diphosphate, GPP)。GPP 是萜类沿着各自代谢途径形成单萜、二萜、三萜、生物碱等不同化合物的分界点^[13]。香叶醇(geraniol)是裂环烯醚萜途径的起始物,由 GPP 在香叶醇合酶(geraniol synthase, GES)的催化作用下得到,并引导开联番木鳖酸的形成功^[14]。接着香叶醇在香叶醇-10 羟化酶(geraniol 10-hydroxylase, G10H)的催化作用下羟基化形成 10-羟基香叶醇(10-hydroxygeraniol)。10-羟基香叶醇被氧化生成 10-氧香叶醛(10-oxogeraniol),此过程由 8 羟基香叶醇氧化还原酶(8-hydroxygeraniol oxidoreductase, 8GHO)催化(在已报道文献中也简称为 10GHO)。10-氧香叶醛在环烯醚萜合酶(iridoid synthase, IS)的催化以及 NADPH 的辅助下发

图 1 裂环烯醚萜苷类化合物生物合成途径示意图^[16]Fig. 1 Schematic diagram of biosynthetic pathway of schizoidiridoid^[16]

生关键的环化反应,形成环烯醚萜的骨架硫蚁二醛(iridodial)。通常一种植物体内会存在多种萜类化合物,这是由于细胞色素 P450 单加氧酶、糖基转移酶、酰基转移酶等后修饰酶的存在^[15],通过羟化、糖基化、甲基化、异构化等修饰作用,极大地丰富了植物体内萜类化合物的种类^[14]。

在后续的修饰阶段,硫蚁二醛经 7-脱氧腺苷酸(7-deoxyloganetic acid)、7-脱氧马钱苷(7-deoxyloganin)、7-脱氧马钱酸(7-deoxyloganate)、马钱酸(loganate)和马钱苷(loganin)等转化过程,最终形成开联番木鳖苷(secologanin)。这一过程共涉及 5 种酶,分别为环烯醚萜氧化酶(iridoid oxidase, IO)、7-脱氧腺苷酸葡萄糖转移酶(7-deoxyloganetic acid glucosyl transferase, 7DLGT)、7-脱氧腺苷酸羟化酶(7-deoxyloganic acid hydroxylase, DL7H)、马钱苷酸氧甲基转移酶(loganic acid O-methyltransferase, LAMT)、开联番木鳖苷合酶(secologanin synthase, SLS)。最后开联番木鳖苷经过一系列衍化,转化为獐牙菜苷、獐牙菜苦苷、龙胆苦苷和其他环烯醚萜类化合物。目前环烯醚萜成分生物合成途径的完善主要通过同位素示踪和合成途径反推等方法,并且完整的龙胆苦苷合成途径解析还并不完全^[12]。

2 裂环烯醚萜苷生物合成途径中的关键酶

随着裂环烯醚萜苷类代谢通路研究的增多,其生物合成途径与关键酶基因功能逐渐明晰。其中 MVA 和 MEP 途径已经被广泛深入地研究且在植物中相对保守,所以以下主要对裂环烯醚萜途径中的关键酶基因展开综述。裂环烯醚萜途径中共涉及 10 个限速酶,通过 NCBI (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>) 数据库文献检索与整理得到已发表文献中各植物中分离的酶基因如表 1 所示。长春花作为该方向研究最为深入的药用植物之一,10 个基因均已被成功克隆。GPPS、G10H 相比其他酶类发现较早相比于其他基因分离的物种更多。LAMT、IO、8HGO、7DLGH、DL7H 被鉴定的相对较晚,主要在龙胆目植物中分离得到。总体来看,裂环烯醚萜苷生物合成途径及关键酶在药用植物中开展的研究尚不广泛,有待继续深入。

2.1 牻牛儿基焦磷酸合成酶(GPPS)

环烯醚萜类化合物合成的前体物 IPP 与 DMAPP 在细胞质或质体中通过牻牛儿基焦磷酸合成酶(GPPS)的催化作用生成牻牛儿基焦磷酸。GPPS 是

表 1 NCBI 文献检索中裂环烯醚萜合成途径 10 个关键酶基因在植物中的分离情况

Table 1 Isolation of 10 key enzyme genes of secoiridoid synthesis pathway in plants in NCBI literature search

基因 Gene	物种总数 Species number	物种 Species
GPPS	38	大冷杉 (<i>Abies grandis</i>) ^[17] ; 金鱼草 (<i>Antirrhinum majus</i>) ^[18-19] ; 拟南芥 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) ^[20] ; 黄花蒿 (<i>Artemisia annua</i>) ^[21] ; 芦竹 (<i>Arundo donax</i>) ^[22] ; 印楝 (<i>Azadirachta indica</i>) ^[23] ; 圆果牛角瓜 (<i>Calotropis procera</i>) ^[24] ; 喜树 (<i>Camptotheca acuminata</i>) ^[25] ; 大麻 (<i>Cannabis sativa</i>) ^[26] ; 长春花 (<i>Catharanthus roseus</i>) ^[27-29] ; 大花胡麻草 (<i>Centranthera grandiflora</i>) ^[30] ; 甜橙 (<i>Citrus sinensis</i>) ^[31] ; <i>Clarkia breweri</i> ^[32] ; 滇龙胆草 (<i>Gentiana rigescens</i>) ^[33] ; 大豆 (<i>Glycine max</i>) ^[34] ; 啤酒花 (<i>Humulus lupulus</i>) ^[35] ; 山鸡椒 (<i>Litsea cubeba</i>) ^[36] ; 紫草 (<i>Lithospermum erythrorhizon</i>) ^[37] ; 紫苜蓿 (<i>Medicago sativa</i>) ^[38] ; 胡椒薄荷 (<i>Mentha × piperita</i>) ^[39] ; 桑 (<i>Morus alba</i>) ^[40] ; <i>Perilla frutescens</i> var. <i>hirtella</i> ^[41] ; 荧光蝴蝶兰 (<i>Phalaenopsis bellina</i>) ^[42] ; 欧洲云杉 (<i>Picea abies</i>) ^[43] ; 白云杉 (<i>Picea glauca</i>) ^[44] ; 马尾松 (<i>Pinus massoniana</i>) ^[45] ; <i>Pistacia terebinthus</i> subsp. <i>palaestina</i> ^[46] ; 广藿香 (<i>Pogostemon cablin</i>) ^[47] ; <i>Populus trichocarpa</i> ^[48] ; 扁桃 (<i>Prunus dulcis</i>) ^[49] ; 丹参 (<i>Salvia miltiorrhiza</i>) ^[50] ; 鼠尾草 (<i>Salvia officinalis</i>) ^[51] ; 江南卷柏 (<i>Selaginella moellendorffii</i>) ^[52] ; 独脚金 (<i>Striga asiatica</i>) ^[53] ; 川西獐牙菜 (<i>Swertia mussotii</i>) ^[54] ; 可可 (<i>Theobroma cacao</i>) ^[55] ; 雷公藤 (<i>Tripterygium wilfordii</i>) ^[56] ; 大叶藻 (<i>Zostera marina</i>) ^[57]
GES	13	大花胡麻草 (<i>Centranthera grandiflora</i>) ^[30] ; 长春花 (<i>Catharanthus roseus</i>) ^[58-60] ; 沉水樟 (<i>Cinnamomum micranthum</i>) ^[61] ; 滇龙胆 (<i>Gentiana rigescens</i>) ^[62] ; 罗勒 (<i>Ocimum basilicum</i>) ^[63] ; 油橄榄 (<i>Olea europaea</i>) ^[64] ; 广藿香 (<i>Pogostemon cablin</i>) ^[65] ; 荆芥 (<i>Nepeta cataria</i>) ^[66] ; 总花猫薄荷 (<i>Nepeta racemosa</i>) ^[66] ; 突厥蔷薇 (<i>Rosa × damascena</i>) ^[67] ; 川西獐牙菜 (<i>Swertia mussotii</i>) ^[68] ; 蜘蛛香 (<i>Valeriana jatamansi</i>) ^[69]
G10H	22	深圳拟兰 (<i>Apostasia shenzhenica</i>) ^[70] ; 蔓花生 (<i>Arachis duranensis</i>) ^[71] ; 落花生 (<i>Arachis hypogaea</i>) ^[71] ; <i>Arachis ipaensis</i> ^[71] ; 黄花蒿 (<i>Artemisia annua</i>) ^[21] ; 喜树 (<i>Camptotheca acuminata</i>) ^[72] ; 风铃辣椒 (<i>Capsicum baccatum</i>) ^[73] ; 黄灯笼辣椒 (<i>Capsicum chinense</i>) ^[73] ; 长春花 (<i>Catharanthus roseus</i>) ^[74] ; 沉水樟 (<i>Cinnamomum micranthum</i>) ^[61] ; 椰子 (<i>Cocos nucifera</i>) ^[75] ; <i>Cucurbita argyrosperma</i> subsp. <i>sororia</i> ^[76] ; 旋刺草 (<i>Genlisea aurea</i>) ^[77] ; 野大豆 (<i>Glycine soja</i>) ^[78] ; 神香草 (<i>Hyssopus officinalis</i>) ^[66] ; 杨梅 (<i>Myrica rubra</i>) ^[79] ; 荆芥 (<i>Nepeta cataria</i>) ^[66] ; 总花猫薄荷 (<i>Nepeta racemosa</i>) ^[66] ; 短小蛇根草 (<i>Ophiorrhiza pumila</i>) ^[80] ; 欧洲栓皮栎 (<i>Quercus suber</i>) ^[81] ; 独脚金 (<i>Striga asiatica</i>) ^[53] ; 川西獐牙菜 (<i>Swertia mussotii</i>) ^[82] ; 葡萄 (<i>Vitis vinifera</i>) ^[83]
8HGO	5	长春花 (<i>Catharanthus roseus</i>) ^[84] ; 大花胡麻草 (<i>Centranthera grandiflora</i>) ^[30] ; 荆芥 (<i>Nepeta cataria</i>) ^[66] ; 总花猫薄荷 (<i>Nepeta racemosa</i>) ^[66] ; <i>Nepeta rtanjensis</i> ^[85]
IS	11	金鱼草 (<i>Antirrhinum majus</i>) ^[86] ; 深圳拟兰 (<i>Apostasia shenzhenica</i>) ^[70] ; 喜树 (<i>Camptotheca acuminata</i>) ^[87] ; 长春花 (<i>Catharanthus roseus</i>) ^[88] ; 大花胡麻草 (<i>Centranthera grandiflora</i>) ^[30] ; 大豆 (<i>Glycine max</i>) ^[89] ; 荆芥 (<i>Nepeta cataria</i>) ^[66] ; 总花猫薄荷 (<i>Nepeta racemosa</i>) ^[66] ; 欧洲栓皮栎 (<i>Quercus suber</i>) ^[81] ; 簸箕柳 (<i>Salix suchowensis</i>) ^[90] ; 葡萄 (<i>Vitis vinifera</i>) ^[83]
IO	5	长春花 (<i>Catharanthus roseus</i>) ^[94] ; 大花胡麻草 (<i>Centranthera grandiflora</i>) ^[30] ; 油橄榄 (<i>Olea europaea</i>) ^[92] ; 麻花苋 (<i>Gentiana straminea</i>) ^[93]
7DLGT	2	长春花 (<i>Catharanthus roseus</i>) ^[94] ; 大花胡麻草 (<i>Centranthera grandiflora</i>) ^[30]
DL7H	3	长春花 (<i>Catharanthus roseus</i>) ^[95] ; 滇龙胆 (<i>Gentiana rigescens</i>) ^[96] ; 川西獐牙菜 (<i>Swertia mussotii</i>) ^[97]
LAMT	3	长春花 (<i>Catharanthus roseus</i>) ^[94] ; 油橄榄 (<i>Olea europaea</i>) ^[98] ; 大花胡麻草 (<i>Centranthera grandiflora</i>) ^[30]
SLS	13	深圳拟兰 (<i>Apostasia shenzhenica</i>) ^[70] ; 木豆 (<i>Cajanus cajan</i>) ^[99] ; 风铃辣椒 (<i>Capsicum baccatum</i>) ^[73] ; 黄灯笼辣椒 (<i>Capsicum chinense</i>) ^[73] ; 长春花 (<i>Catharanthus roseus</i>) ^[100] ; 大花胡麻草 (<i>Centranthera grandiflora</i>) ^[30] ; 黄石斛 (<i>Dendrobium catenatum</i>) ^[101] ; 臭味假紫龙树 (<i>Nothapodytes nim moniana</i>) ^[102] ; 油橄榄 (<i>Olea europaea</i>) ^[98] ; 短小蛇根草 (<i>Ophiorrhiza pumila</i>) ^[103] ; 稷 (<i>Panicum miliaceum</i>) ^[104] ; 簸箕柳 (<i>Salix suchowensis</i>) ^[90] ; 乌拉尔图小麦 (<i>Triticum urartu</i>) ^[105]

短链异戊烯基合成酶家族成员, 在植物种广泛存在, 已在滇龙胆^[33]、长春花^[27-29]、雷公藤^[56]等药用植物中克隆得到并开展功能研究。研究显示同二聚体 GPPS 存在于被子植物和裸子植物中^[106-107], 而异二聚体 GPPS 只在一些被子植物中发现, 如金鱼草^[18-19]、啤酒花^[35]。MA 等^[50]从丹参基因组中鉴定出 5 个 GPPS 基因, 且同时具有 GPPS 同二聚体与异二聚体参与不同萜类物质的合成, 预示 GPPS 在参与生物合成途径调控的复杂性。BURKE 等^[39]对辣薄荷的 GPPS 基因的克隆与共表达研究显示 GPPS 是一种异二聚体, 且亚基单独存在时不具有

酶活性。ZHAO 等^[36]对山鸡椒中 GPPS 小亚基 1 (LcGPPS. SSU1) 的功能研究发现 LcGPPS. SSU1 的过表达能够提高单萜物质含量, 同时可以通过负反馈调节机制提高植物的生物量。向蓓蓓等^[54]从川西獐牙菜中克隆得到 SmGPPS 基因全长序列, 长 1 119 bp, 编码 372 个氨基酸, 组织特异性表达结果显示其在叶中的表达量最高, 此结论与陈刚等^[108]关于獐牙菜属植物中獐牙菜昔在叶中含量较高的研究结果一致。

2.2 香叶醇合成酶 (GES)

香叶醇合成酶 (GES) 属于萜烯合酶家族, 催化

牻牛儿基焦磷酸转变为香叶醇。香叶醇是产生环烯醚萜类化合物的关键底物,同时具有较高医药价值。*GES* 基因已在罗勒^[63]、长春花^[58-60]、滇龙胆^[62]、广藿香^[65]、蜘蛛香^[69]等多种药用植物中分离得到,并开展相关功能研究。长春花中 *CrGES* 基因在大肠杆菌中过表达后,纯化的重组蛋白具有催化活性,并且茉莉酸甲酯诱导长春花细胞培养物使 *CrGES* 的转录水平增加^[58]。KUMAR 等^[59] 研究显示 *G(G)PPS* 基因与 *GES* 基因的共表达能提高长春花中吡啶生物碱积累。刘倩倩等^[62] 从滇龙胆中获得 *CrGES* 基因长 1 767 bp,编码 588 个氨基酸。李晓雪等^[68] 首次在川西獐牙菜中克隆出 *SmGES* 基因,开放阅读框长 1 761 bp,编码 586 个氨基酸,其基因内部存在叶绿体转运肽,推测其位于叶绿体中的稳定性较差的亲水蛋白,这与滇龙胆^[62]、广藿香^[65] 预测结果一致。

2.3 香叶醇-10 羟化酶(G10H)

香叶醇-10 羟化酶(G10H)属于细胞色素 P450 基因家族,是催化香叶醇转化为 10-羟基香叶醇的限速酶,此反应是形成开联番木鳖苷的第一个专属的步骤,发挥着关键性的调控作用^[11]。2001 年 COLLU 等^[109] 从长春花中克隆得到第一个 *CrG10H* 基因,并验证了在长春花和酵母细胞中表达的 *CrG10H* 蛋白具有酶活性,进一步证明了 G10H 在萜类物质中的重要调节作用。近些年关于 G10H 的研究已在多种药用植物中开展,但在长春花中的研究更深入,已进行异源表达与蛋白纯化,体内与体外的蛋白功能鉴定、启动子分析及功能验证、表达调控等研究。WANG 等^[82] 从川西獐牙菜中克隆得到 *SmG10H* 基因,开放阅读框长 1 488 bp,编码 496 个氨基酸,异源表达与体外酶活实验成功验证 G10H 蛋白功能,在愈伤组织过表达研究中发现转基因植株中检测到 10-羟基香叶醇与獐牙菜苦苷的量要高于野生植株,进一步证明 G10H 是关键调控位点之一,对裂环烯醚萜的合成具有上调作用。组织特异性表达结果显示 *G10H* 基因在叶中表达最丰富^[29,59];激素诱导表达结果显示 *SmG10H* 在 50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ MeJA 处理 6 h 被强烈诱导表达,有效增加了獐牙菜苦苷的积累,并且增加的速率在 24 和 36 h 之间达到峰值。因此采用现代分子生物学技术提高药用植物中环烯醚萜成分含量是解决有效性成分短缺的方向之一。除此之外在滇龙胆^[110-111]、黑紫獐牙菜^[112]、广藿香^[113]、秦艽^[114]、蜘蛛香^[115] 等药用植物中也成功分离出该蛋白。

2.4 环烯醚萜合酶(IS)

环烯醚萜合酶(IS)是孕酮 5 β -还原酶(P5 β R)家族成员,属于短链脱氢酶/还原酶(SDR)超基因家族成员,在 NADPH 存在的条件下催化 10-氧香叶醛转化为硫蚁二醛。HU 等^[116] 首次解析出环烯醚萜合酶的结构,并指出其催化机制有顺式与反式两种。QIN 等^[117] 对从长春花中克隆、表达、纯化、结晶的 IS 蛋白的催化机制进行研究,进一步阐明 IS 的底物特异性。杨超飞等^[118] 对地黄 IS 基因的克隆与分析实验中发现 RgIS1、RgIS2 和 RgIS3 在茉莉酸甲酯处理后的地黄毛状根均显著上调表达。XIANG 等^[119] 在川西獐牙菜中克隆出 *SmIS1* 与 *SmIS2* 基因,通过体外酶活实验验证了 *SmIS1* 与 *SmIS2* 蛋白功能,*SmIS2* 对 8-氧香叶醛的亲合力要低于 *SmIS1*,但对 NADPH 的亲合力要更高,组织特异性表达结果显示川西獐牙菜 IS 在叶中表达量最高^[16,119],与滇龙胆^[96]、大花胡麻草^[120] 结果一致。

2.5 7-脱氧番木鳖酸 7-羟化酶(DL7H)

7-脱氧番木鳖酸 7-羟化酶(DL7H)是细胞色素 P450 氧化酶家族的成员,催化 7-脱氧马钱子酸的 C-7 位羟基化产生马钱子酸^[11]。SALIM 等^[121] 对病毒诱导长春花 *CrDL7H* 基因沉默研究发现长春花植株中开联番木鳖苷成分积累减少 70%。KATANO 等^[122] 从金银花细胞悬浮培养物中检测到 *DL7H* 基因酶活性,进一步证明 7-脱氧番木鳖酸 7-羟化酶的底物特异性。李晓雪等^[123] 在川西獐牙菜中克隆出 *SmDL7H* 基因,其开放阅读框长 1 554 bp,编码 517 个氨基酸。组织分析特异性结果显示该基因在根、茎、叶、花、愈伤组织中均有表达,但在根的表达量最少,叶最高,这与郭凤仙^[16] 研究结果一致。除此之外,长春花与滇龙胆的 *DL7H* 基因也均在叶中的表达量最高^[96,121]。

2.6 开联番木鳖酸合成酶(SLS)

开联番木鳖酸合成酶(SLS)是裂环烯醚萜合成途径中关键限速酶之一,催化马钱酸转换为开联番木鳖酸,马钱苷转化为开联番木鳖苷。VETTER 等^[124] 从长春花中克隆得到 *SLS* 基因并证明该基因属于细胞色素 P450 家族。CONTIN 等^[125] 关于马钱苷喂饲长春花悬浮细胞实验表明,马钱苷转化为开联番木鳖苷的过程发生在液泡中。MERIRL 等^[126] 原位杂交与免疫组织化学研究显示 *SLS* 基因在长春花未成熟的叶片中表达存在表皮特异性。李文静等^[127] 从川西獐牙菜中克隆得到 *SmSLS2* 全长 cDNA,其开放阅读框长度为 1 566 bp,编码 521 个

氨基酸,组织特异性表达结果表明 *SmSLS1* 基因在所有组织中的表达较低,而 *SmSLS2* 则更高,特别是在花组织表达量最高。郭凤仙^[16] 研究结果川西獐牙菜中 *SLS* 基因有 *SmSLS1* 与 *SmSLS2* 两种形式,二者相似性仅达为 63%。而长春花^[128] 中这两种亚型核苷酸的相似性高达 94%,说明两基因之间存在一定分化。张晓东等^[129] 从滇龙胆幼叶中克隆得到 *GrSLS1* 基因,开放阅读框长 1 560 bp,编码 519 个氨基酸。

2.7 8HGO、IO、7DLGT、LAMT

8 羟基香叶醇氧化还原酶(8HGO)在裂环烯醚萜途径中催化 10-羟基香叶醇到 10-氧香叶醛之间的转化,属于含锌醇脱氢酶家族。ZHU 等^[130] 研究 UV-B 照射与暗培养双重胁迫下长春花叶中 *10HGO* 基因表达情况,结果显示一定强度紫外线照射后长春花生物碱的含量增加,UV-B 辐射 1 h 再暗培养 72 h 是最佳诱导条件。CAO 等^[131] 对秦艽幼苗使用 $250 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 茉莉酸甲酯诱导后发现 *8HGO* 基因表达上调。不同物种不同的活性成分与累积模式,必然导致基因组织特异性表达存在差异。滇龙胆^[132] 中主要在叶中表达,张晓东等^[133] 研究主要在茎和叶中表达,喜树^[134] 在花中表达量高,大花胡麻草^[30] 中根茎叶中均高表达,川西獐牙菜^[16] 在各组织中表达差异不大。

环烯醚萜氧化酶(IO)催化硫蚁二醛与 7-脱氧腺苷酸之间的转化。研究显示茉莉酸甲酯能强烈诱导长春花悬浮培养细胞的 *CrIO* 基因表达,茉莉酸甲酯诱导 24 h 后长春花幼苗 *CrIO* 基因轻微表达;过表达转录因子 *ORCA3* 对 *CrIO* 基因表达具有一定抑制作用^[134]。张晓东等^[133] 扩增得到滇龙胆 *GrIDO* 基因,且 *GrIDO* 蛋白属于细胞色素 P450 家族,是 E 类家族成员;启动子序列分析表明 *GrIDO* 基因表达受光脱落酸、茉莉酸甲酯、胁迫、*MYB* 转录因子等因素调控。滇龙胆^[133]、大花胡麻草^[30] 的 *IO* 基因均在叶中表达量最高,麻花苻^[93] 在根中表达量相对更高,川西獐牙菜^[16] 的 *IO* 基因在叶、茎、花中均高表达。

7-脱氧腺苷酸葡萄糖转移酶(7DLGT)催化 7-脱氧腺苷酸与 7-脱氧马钱酸之间的转化,属于 UDP 糖基转移酶家族。ASADA 等^[94] 采用病毒诱导基因沉默的方法证实长春花中的 *7DLGT* 对其唯一环烯醚萜类底物 7-脱氧马钱酸的高催化效率,病毒诱导基因沉默降低基因表达后开联番木鳖苷与单萜吡

啉生物碱的累积大量减少;并且长春花中 *7DLGT* 基因的表达主要在根、茎、叶中检测得到,在花中表达水平较低。川西獐牙菜的 *7DLGT* 基因与该途径下其他基因相比在各组织中的表达水平较低,它也是唯一在根组织中具有最高表达量的基因,其低表达的现象表明其可能是关键限速酶之一。

马钱苷酸氧甲基转移酶(LAMT)在马钱酸转化为马钱苷、开联番木鳖酸转化为开联番木鳖苷的过程中发挥催化作用,属于甲基转移酶超家族,Type-7 甲基转移酶家族。研究表明 *LAMT* 的转录物优先在叶表皮中表达,因此它也被认为是一种位于表皮的酶^[134-135]。大花胡麻草^[30] 中 *LAMT* 基因主要在根和叶中表达,而川西獐牙菜中 *LAMT* 基因在各组织中呈微表达^[16]。

3 展 望

我国传统中医药学历史悠久,具有丰富的中药材使用经验。随着生物技术相关领域的进步,药用植物资源的研究与开发也取得了长足发展。裂环烯醚萜苷类化合物是药用植物中一类具有多重生物活性的次生代谢产物,其生物合成途径是受多种限速酶调控的动态变化过程。近些年来随着基因工程与代谢组学的发展,裂环烯醚萜苷类化合物完整生物合成途径框架逐渐明晰,部分关键酶基因的研究也取得了一定进展。但该生物合成途径与关键酶基因仍有一些问题亟待解决:1)针对裂环烯醚萜苷类化合物代谢途径开展研究的药用植物并不多,主要集中在夹竹桃科、龙胆科、唇形科、列当科等部分药用植物中,仅长春花研究最为深入。2)裂环烯醚萜苷完整生物合成途径酶促反应步骤仍不清楚。如龙胆苦苷生物合成途径中,从开联番木鳖苷到獐牙菜苷,再到獐牙菜苦苷与龙胆苦苷的酶还未见报道,相关酶促反应步骤还需进一步实验揭示。3)该途径下已知的关键酶基因功能研究还有待加强。除 MEP 与 MVA 途径中的关键酶以及细胞色素 P450、G10H 等调控酶被广泛研究外,IS、IO、LAMT 等酶被鉴定较晚,关于酶基因功能的研究也有限。而进一步阐明裂环烯醚萜苷类化合物完整生物合成途径以及调控机制,为后续筛选高效表达工程菌,体外大规模培养提高萜类有效成分积累,实现工业化生产,解决因药用植物资源紧张而导致的市场供应不足等问题至关重要。

参考文献:

- [1] 孔媛芳, 杨彬, 胡玉龙, 等. 环烯醚萜类化合物的结构及构效关系研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2021, **33**(7): 1 236-1 250.
KONG Y F, YANG B, HU Y L, *et al.* Research advance on structural modification and structure-activity relationship of iridoids[J]. *Nat. Prod. Res. Dev.*, 2021, **33**(7): 1 236-1 250.
- [2] 张慧娟, 李菊, 马晓慧, 等. 裂环环烯醚萜苷类化合物的药理作用研究进展[J]. 药学研究, 2018, **37**(11): 659-663.
ZHANG H J, LI J, MA X H, *et al.* Research progress on pharmacological effects of secoiridoid glycosides[J]. *Journal of Pharmaceutical Research*, 2018, **37**(11): 659-663.
- [3] HAN X L, LI J D, WANG W L, *et al.* Sweroside eradicated leukemia cells and attenuated pathogenic processes in mice by inducing apoptosis [J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2017, **95**: 477-486.
- [4] 余翠翠, 魏建和. 环境因子对植物萜类化合物生物合成的影响研究进展[J]. 西北植物学报, 2019, **39**(9): 1 701-1 710.
YU C C, WEI J H. Research advance on the effect of environmental factors on the biosynthesis of terpenoids in plants[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2019, **39**(9): 1 701-1 710.
- [5] JAISHREE V, BADAMI S, KUMAR M R, *et al.* Antinociceptive activity of swertiamarin isolated from *Enicostemma axillare*[J]. *Phytomedicine*, 2009, **16**(2-3): 227-232.
- [6] HAIRRUL-ISLAM M I, SARAVANAN S, THIRUGNASAMBANTHAM K, *et al.* Swertiamarin, a natural steroid, prevent bone erosion by modulating RANKL/RANK/OPG signaling [J]. *International Immunopharmacology*, 2017, **53**: 114-124.
- [7] VAIDYA H, RAJANI M, SUDARSANAM V, *et al.* Swertiamarin; a lead from *Enicostemma littorale* Blume. for anti-hyperlipidaemic effect[J]. *European Journal of Pharmacology*, 2009, **617**(1-3): 108-112.
- [8] VAIDYA H, PRAJAPATI A, RAJANI M, *et al.* Beneficial effects of swertiamarin on dyslipidaemia in streptozotocin-induced type 2 diabetic rats[J]. *Phytotherapy Research*, 2012, **26**(8): 1 259-1 261.
- [9] 刘春生, 刘颖. 药用植物功能基因的研究思路与展望——以甘草为例[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, **21**(1): 1-6.
LIU C S, LIU Y. Research ideas and prospects of functional genes involved in medicinal plants, such as *Glycyrrhizae radix* Rhizoma[J]. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 2015, **21**(1): 1-6.
- [10] 赵利, 钞建宾, 郭捷, 等. 基于代谢组学技术的植物抗病相关代谢物研究进展[J]. 西北植物学报, 2021, **41**(6): 1 071-1 078.
ZHAO L, CHAO L B, GUO J, *et al.* Study on plant resistance-related metabolites against pathogenic fungi based on metabolomics[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2021, **41**(6): 1 071-1 078.
- [11] 吴昕怡, 刘小莉. 环烯醚萜类成分生物合成途径及关键酶基因研究进展[J]. 中国民族民间医药, 2017, **26**(8): 44-48.
WU X Y, LIU X L. Progress of biosynthetic pathway and the key enzyme genes of iridoids[J]. *Chinese Journal of Ethnomedicine and Ethnopharmacy*, 2017, **26**(8): 44-48.
- [12] CHAPPELL J, WOLF F, PROULX J, *et al.* Is the reaction catalyzed by 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme a reductase a rate-limiting step for isoprenoid biosynthesis in plants? [J]. *Plant Physiology*, 1995, **109**(4): 1 337-1 343.
- [13] LI J L, LUO X D, ZHAO P J, *et al.* Post-modification enzymes involved in the biosynthesis of plant terpenoids[J]. *Acta Botanica Yunnanica*, 2009, **31**(5): 461-468.
- [14] 王凌健, 方欣, 杨长青, 等. 植物萜类次生代谢及其调控[J]. 中国科学: 生命科学, 2013, **43**(12): 1 030-1 046.
WANG L J, FANG X, YANG C Q, *et al.* Biosynthesis and regulation of secondary terpenoid metabolism in plants[J]. *Scientia Sinica Vitae*, 2013, **43**(12): 1 030-1 046.
- [15] 马徐, 刘越, 冯晓晓, 等. 藏茵陈川西獐牙菜的生物学研究进展[J]. 中华中医药杂志, 2016, **31**(3): 948-950.
MA X, LIU Y, FENG X X, *et al.* Biological research progress of *Swertia mussotii* Franch. as a famous Tibetan medicine[J]. *China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy*, 2016, **31**(3): 948-950.
- [16] 郭凤仙. 藏茵陈川西獐牙菜环烯醚萜类生物合成相关基因表达研究[D]. 北京: 中央民族大学, 2017.
- [17] BURKE C, CROTEAU R. Geranyl diphosphate synthase from *Abies grandis*: cDNA isolation, functional expression, and characterization [J]. *Arch Biochem. Biophys.*, 2002, Sep 1; **405**(1): 130-136.
- [18] BURKE C, WILDUNG M R, CROTEAU R. Geranyl diphosphate synthase; cloning, expression, and characterization of this prenyltransferase as a heterodimer [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1999, **96**(23): 13 062-13 067.
- [19] THOLL D, KISH C M, ORLOVA I, *et al.* Formation of monoterpenes in *Antirrhinum majus* and *Clarkia breweri* flowers involves heterodimeric geranyl diphosphate synthases [J]. *The Plant Cell*, 2004, **16**(4): 977-992.
- [20] LIN X, KAUL S, ROUNSLEY S, *et al.* Sequence and analysis of chromosome 2 of the plant *Arabidopsis thaliana* [J]. *Nature*, 1999, **402**(6 763): 761-768.
- [21] SHEN Q, ZHANG L, LIAO Z, *et al.* The Genome of *Artemisia annua* provides insight into the evolution of asteraceae family and artemisinin biosynthesis [J]. *Mol. Plant*, 2018, **11**(6): 776-788.
- [22] BARRERO R A, GUERRERO F D, MOOLHIJZEN P, *et al.* Shoot transcriptome of the giant reed, *Arundo donax* [J]. *Data Brief*, 2015, **3**: 1-6.
- [23] PANDEKA A, DANDEKAR D S, HALDAR S, *et al.* Tritrpenoid profiling and functional characterization of the initial genes involved in isoprenoid biosynthesis in neem (*Azadirachta indica*) [J]. *BMC Plant Biol.*, 2015, **15**: 214.
- [24] HASSAN S, ATEF A, ALI H M, *et al.* First report of trit-

- erpenes pathway in *Calotropis procera* revealed to accumulate beta-amyrin[J]. *Saudi J. Biol. Sci.*, 2022, **29**(5): 3 647-3 653.
- [25] YANG L, JIANG L, LI W, *et al.* A homomeric geranyl diphosphate synthase-encoding gene from *Camptotheca acuminata* and its combinatorial optimization for production of geraniol in *Escherichia coli*[J]. *J. Ind. Microbiol Biotechnol*, 2017, **44**(10): 1 431-1 441.
- [26] BOOTH J, PAGE J, BOHLMANN J. Terpene synthases from *Cannabis sativa*[J]. *PLoS One*, 2017, **12**(3): e0173911.
- [27] RAI A, SMITA S S, SINGH A K, *et al.* Heteromeric and homomeric geranyl diphosphate synthases from *Catharanthus roseus* and their role in monoterpene indole alkaloid biosynthesis[J]. *Molecular Plant*, 2013, **6**(5): 1 531-1 549.
- [28] KUMAR S R, RAI A, BOMZAN D P, *et al.* A plastid-localized bona fide geranylgeranyl diphosphate synthase plays a necessary role in monoterpene indole alkaloid biosynthesis in *Catharanthus roseus*[J]. *The Plant Journal*, 2020, **103**(1): 248-265.
- [29] KUMAR S R, SHILPASHREE H B, NAGEGOWDA D A. Terpene moiety enhancement by overexpression of geranyl (geranyl) diphosphate synthase and geraniol synthase elevates monomeric and dimeric monoterpene indole alkaloids in transgenic *Catharanthus roseus* [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2018, **9**: 942.
- [30] ZHANG X, LI C, WANG L, *et al.* Analysis of *Centranthera grandiflora* Benth. transcriptome explores genes of catalpol, acteoside and azafrin biosynthesis [J]. *Int. J. Mol. Sci.*, 2019, **20**(23): 6 034.
- [31] BOUVIER F, SUIRE C, HARLINGUE A, *et al.* Molecular cloning of geranyl diphosphate synthase and compartmentation of monoterpene synthesis in plant cells[J]. *Plant J.*, 2000, **24**(2): 241-252.
- [32] THOLL D, KISH C M, ORLOVA I, *et al.* Formation of monoterpenes in *Antirrhinum majus* and *Clarkia breweri* flowers involves heterodimeric geranyl diphosphate synthases [J]. *Plant Cell*, 2004, **16**(4): 977-992.
- [33] 王彩云, 李富生, 李涛, 等. 滇龙胆 *GrGPPS* 基因的克隆及其序列分析与原核表达 [J]. *中草药*, 2014, **45**(14): 2 060-2 068.
- WANG C Y, LI F S, LI T, *et al.* Cloning, sequence analysis, and prokaryotic expression of *GrGPPS* gene in *Gentiana rigescens*[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2014, **45**(14): 2 060-2 068.
- [34] KINKEMA M, GRESSHOFF P M. Investigation of downstream signals of the soybean autoregulation of nodulation receptor kinase GmNARK[J]. *Mol. Plant Microbe Interact*, 2008, **21**(10): 1 337-1 348.
- [35] WANG G, DIXON R A. Heterodimeric geranyl (geranyl) diphosphate synthase from hop (*Humulus lupulus*) and the evolution of monoterpene biosynthesis[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2009, **106**(24): 9 914-9 919.
- [36] ZHAO Y, CHEN Y, GAO M, *et al.* Overexpression of geranyl diphosphate synthase small subunit 1 (LcGPPS. SSU1) enhances the monoterpene content and biomass[J]. *Industrial Crops and Products*, 2020, **143**: 111 926.
- [37] UEOKA H, SASAKI K, MIGAWAKI T, *et al.* A cytosol-localized geranyl diphosphate synthase from *Lithospermum erythrorhizon* and its molecular evolution[J]. *Plant Physiology*, 2020, **182**(4): 1 933-1 945.
- [38] SUN Y, LONG R, KANG J, *et al.* Molecular cloning and characterization of three isoprenyl diphosphate synthase genes from alfalfa[J]. *Mol Biol Rep*, 2013, **40**(2): 2 035-2 044.
- [39] BURKE C C, WILDUNG M R, CROTEAU R. Geranyl diphosphate synthase: cloning, expression, and characterization of this prenyltransferase as a heterodimer[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1999, **96**(23): 13 062-13 067.
- [40] ZHAO S, PARK C H, LI X, *et al.* Accumulation of rutin and betulinic acid and expression of phenylpropanoid and triterpenoid biosynthetic genes in mulberry (*Morus alba* L.) [J]. *J. Agric Food Chem*, 2015, **63**(38): 8 622-8 630.
- [41] ZHANG Y, SHEN Q, LENG L, *et al.* Incipient diploidization of the medicinal plant *Perilla* within 10 000 years[J]. *Nat. Commun.*, 2021, **12**(1): 5 508.
- [42] HSIAO Y Y, JENG M F, TSAI W C, *et al.* A novel homodimeric geranyl diphosphate synthase from the orchid *Phalaenopsis bellina* lacking a DD(X)2-4D motif[J]. *Plant J.*, 2008, **55**(5): 719-733.
- [43] SCHMIDT A, GERSHENZON J. Cloning and characterization of two different types of geranyl diphosphate synthases from Norway spruce (*Picea abies*) [J]. *Phytochemistry*, 2008, **69**(1): 49-57.
- [44] WARREN R L, KEELING C I, YUEN M M, *et al.* Improved white spruce (*Picea Glauca*) genome assemblies and annotation of large gene families of conifer terpenoid and phenolic defense metabolism [J]. *Plant J.*, 2015, **83**(2): 189-212.
- [45] 陈好. 马尾松 GPPS 基因及其启动子功能分析[D]. 南京: 南京林业大学, 2021.
- [46] DAVIDOVICH-RIKANATI R, BAR E, Hivert G, *et al.* Transcriptional up-regulation of host-specific terpene metabolism in aphid-induced galls of *Pistacia palaestina* [J]. *J. Exp. Bot.*, 2022, **73**(2): 555-570.
- [47] 张宏意, 陈思颖, 卢昌华, 等. 广藿香香叶基二磷酸合酶基因的克隆及生物信息学分析[J]. *时珍国医国药*, 2020, **31**(5): 1 234-1 237.
- ZHANG H Y, CHEN S Y, LU C H, *et al.* Cloning and bioinformatics analysis of leaf base diphosphate synthase Gene from *Pogostemon cablin* [J]. *Lishizhen Medicine and Materia Medica Research*, 2020, **31**(5): 1 234-1 237.
- [48] LACKUS N D, PETERSEN N P, NAGEL R, *et al.* Identification and characterization of trans-isopentenyl diphosphate

- synthases involved in herbivory-induced volatile terpene formation in *Populus trichocarpa* [J]. *Molecules*, 2019, **24** (13): 2 408.
- [49] SÁNCHEZ-PÉREZ R, PAVAN S, MAZZEO R, *et al.* Mutation of a bHLH transcription factor allowed almond domestication[J]. *Science*, 2019, **364**(6 445): 1 095-1 098.
- [50] MA Y, YUAN L, WU B, *et al.* Genome-wide identification and characterization of novel genes involved in terpenoid biosynthesis in *Salvia miltiorrhiza* [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2012, **63**(7): 2 809-2 823.
- [51] ALI M, LI P, SHE G, *et al.* Transcriptome and metabolite analyses reveal the complex metabolic genes involved in volatile terpenoid biosynthesis in garden sage (*Salvia officinalis*) [J]. *Sci. Rep.*, 2017, **7**(1): 16 074.
- [52] BANKS J A, NISHYAMA T, HASEBE M, *et al.* The selaginella genome identifies genetic changes associated with the evolution of vascular plants[J]. *Science*, 2011, **332**(6 032): 960-963.
- [53] YOSHIDA S, KIM S, WAFULA E K, *et al.* Genome sequence of *Striga asiatica* provides insight into the evolution of plant parasitism[J]. *Curr. Biol.*, 2019, **29**(18): 3 041-3 052.
- [54] 向蓓蓓, 李晓雪, 王 勇, 等. 川西獐牙菜牻牛儿基焦磷酸合成酶基因的克隆及表达分析[J]. *中草药*, 2017, **48**(5): 962-970.
- XIANG B B, LI X X, WANG Y, *et al.* Cloning and expression of geranyl pyrophosphate synthase gene in *Swertia mussoitii* [J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2017, **48** (5): 962-970.
- [55] MOTAMAYOR J C, MOCKAITIS K, SCHMUTZ J, *et al.* The genome sequence of the most widely cultivated cacao type and its use to identify candidate genes regulating pod color[J]. *Genome Biol.*, 2013, **14**(6): r53.
- [56] 屠李婵, 张逸风, 苏 平, 等. 雷公藤牻牛儿基焦磷酸合酶基因 TwGPPS 克隆与表达分析[J]. *中国中药杂志*, 2017, **42**(2): 220-225.
- TU L C, ZHANG Y F, SU P, *et al.* Cloning and protein expression analysis of geranyl diphosphate synthase genes in *Tripterygium wilfordii* [J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2017, **42**(2): 220-225.
- [57] OLSEN J L, ROUZÉ P, VERHELST B, *et al.* The genome of the seagrass *Zostera marina* reveals angiosperm adaptation to the sea[J]. *Nature*, 2016, **530**(7 590): 331-335.
- [58] SIMKIN A J, MIETTINEN K, CLAUDEL P, *et al.* Characterization of the plastidial geraniol synthase from *Madagascar periwinkle* which initiates the monoterpenoid branch of the alkaloid pathway in internal phloem associated parenchyma[J]. *Phytochemistry*, 2013, **85**: 36-43.
- [59] KUMAR K, KUMAR S R, DWIVEDI V, *et al.* Precursor feeding studies and molecular characterization of geraniol synthase establish the limiting role of geraniol in monoterpene indole alkaloid biosynthesis in *Catharanthus roseus* leaves[J]. *Plant Science*, 2015, **239**: 56-66.
- [60] LEE-PARSONS C W T, ROYCE A J. Precursor limitations in methyl jasmonate-induced *Catharanthus roseus* cell cultures[J]. *Plant Cell Reports*, 2006, **25**(6): 607-612.
- [61] CHAW S M, LIU Y C, WU Y W, *et al.* Stout camphor tree genome fills gaps in understanding of flowering plant genome evolution[J]. *Nat Plants*, 2019, **5**(1): 63-73.
- [62] 刘倩倩, 李彩霞, 赵 静, 等. 滇龙胆香叶醇合酶基因的克隆与表达分析[J]. *广东农业科学*, 2017, **44**(9): 48-55.
- LIU Q Q, LI C X, ZHAO J, *et al.* Cloning and expression analysis of geraniol synthase gene in *Gentiana rigescens* [J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2017, **44**(9): 48-55.
- [63] IJIMA Y, GANG D R, FRIDMAN E, *et al.* Characterization of geraniol synthase from the peltate glands of sweet basil[J]. *Plant Physiology*, 2004, **134**(1): 370-379.
- [64] ALAGNA F, MARIOTTI R, PANARA F, *et al.* Olive phenolic compounds: metabolic and transcriptional profiling during fruit development[J]. *BMC Plant Biol.*, 2012, **12**: 162.
- [65] 欧阳蒲月, 曾少华, 莫小路. 广藿香香叶醇合酶基因克隆及表达分析[J]. *西北植物学报*, 2016, **36**(5): 896-901.
- OUYANG P Y, ZENG S H, MUO X L. Clone and expression analysis of geraniol synthase gene in *Pogostemon cablin* [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2016, **36** (5): 896-901.
- [66] LICHMAN B R, GODDEN G T, HAMILTON J P, *et al.* The evolutionary origins of the cat attractant nepetalactone in catnip[J]. *Sci. Adv.*, 2020, **6**(20): eaba0721.
- [67] PEHRSSON E C, TSUKAYAMA P, PATELS, *et al.* Interconnected microbiomes and resistomes in low-income human habitats[J]. *Nature*, 2016, **533**(7 602): 212-216.
- [68] 李晓雪, 孙继奇, 王天宇, 等. 川西獐牙菜 SmGES 基因的克隆、生物信息学分析与原核表达[J]. *中国农学通报*, 2020, **36**(25): 19-25.
- LI X X, SUN J Q, WANG T Y, *et al.* Cloning, bioinformatics analysis and prokaryotic expression of SmGES gene in *Swertia mussotii* [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2020, **36**(25): 19-25.
- [69] 赵 爽, 董婷婷, 唐 红. 蜘蛛香 GES 基因的克隆与生物信息学及基因表达分析[J]. *时珍国医国药*, 2019, **30**(8): 1 972-1 975.
- ZHAO S, DONG T T, TANG H. Cloning of GES gene from *Valeriana jatamansi* and analysis on its bioinformatics and gene expression[J]. *Lishizhen Medicine and Materia Medica Research*, 2019, **30**(8): 1 972-1 975.
- [70] ZHANG G Q, LIU K W, LI Z, *et al.* The *Apostasia* genome and the evolution of orchids[J]. *Nature*, 2017, **549** (7 672): 379-383.
- [71] BERTIOLI D J, CANNON S B, FROENICKE L, *et al.* The genome sequences of *Arachis duranensis* and *Arachis ipaensis*, the diploid ancestors of cultivated peanut[J]. *Nat. Genet.*, 2016, **48**(4): 438-446.
- [72] KUSARI S, ZÜHLKE S, SPITELLER M. Effect of artificial

- reconstitution of the interaction between the plant *Camptotheca acuminata* and the fungal endophyte *Fusarium solani* on camptothecin biosynthesis[J]. *J. Nat. Prod.*, 2011, **74**(4): 764-775.
- [73] KIM S, PARK J, YEOM S I, *et al.* New reference genome sequences of hot pepper reveal the massive evolution of plant disease-resistance genes by retroduplication[J]. *Genome Biol.*, 2017, **18**(1): 210.
- [74] COLLU G, UNVER N, PL A M, *et al.* Geraniol 10-hydroxylase, a cytochrome P450 enzyme involved in terpenoid indole alkaloid biosynthesis[J]. *FEBS Lett.*, 2001, **508**(2): 215-220.
- [75] XIAO Y, XU P, FAN H, *et al.* The genome draft of cocunut (*Cocos nucifera*) [J]. *Gigascience*, 2017, **6**(11): 1-11.
- [76] BARRERA-REDONDO J, SANCHEZ-DE L V G, AGUIEEW-LIGUORI JA, *et al.* The domestication of *Cucurbita argyrosperma* as revealed by the genome of its wild relative [J]. *Hortic. Res.*, 2021, **8**(1): 109.
- [77] LEUSHKIN E V, SUTORMIN R A, NABIEVA E R, *et al.* The miniature genome of a carnivorous plant *Genlisea aurea* contains a low number of genes and short non-coding sequences[J]. *BMC Genomics*, 2013 Jul 15; **14**: 476.
- [78] XIE M, CHUNG C Y, LI M W, *et al.* A reference-grade wild soybean genome [J]. *Nat. Commun.*, 2019, **10**(1): 1 216.
- [79] JIA H M, JIA H J, CAI Q L, *et al.* The red bayberry genome and genetic basis of sex determination [J]. *Plant Biotechnol J.*, 2019, **17**(2): 397-409.
- [80] ASANO T, KOBAYASHI K, KASHIHARA E, *et al.* Suppression of camptothecin biosynthetic genes results in metabolic modification of secondary products in hairy roots of *Ophiorrhiza pumila* [J]. *Phytochemistry*, 2013, **91**: 128-139.
- [81] RAMOS AVM, USIE A, BARBOSA P, *et al.* The draft genome sequence of cork oak [J]. *Sci. Data.*, 2018, **5**: 180 069.
- [82] WANG J, LIU Y, CAI Y, *et al.* Cloning and functional analysis of geraniol 10 - hydroxylase, a cytochrome P450 from *Swertia mussotii* Franch [J]. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 2010, **74**(8): 1 583-1 590.
- [83] VENTURINI L, FERRARINI A, ZENONI S, *et al.* De novo transcriptome characterization of *Vitis vinifera* cv. *corvina* unveils varietal diversity [J]. *BMC Genomics*, 2013, **14**: 41.
- [84] MIETTINEN K, DONG L, NAVROT N, *et al.* The secoiridoid pathway from *Catharanthus roseus* [J]. *Nat. Commun.*, 2014, **5**: 3 606.
- [85] ANICIC NMATEKALO D, SKORIC M, *et al.* Alterations in nepetalactone metabolism during polyethylene glycol (PEG)-induced dehydration stress in two *Nepeta* species [J]. *Phytochemistry*, 2020, **174**: 1 123-1 140.
- [86] KRIES H, KELLNER F, KAMILEENM, *et al.* Inverted-stereocontrol of iridoid synthase insnapdragon [J]. *J BiolChem*, 2017, **292**(35): 14 659-14 667.
- [87] SADRE R, MAGALLANES-LUNDBACK M, PRADHAN S, *et al.* Metabolite Diversity in Alkaloid Biosynthesis: A Multilane (Diastereomer) Highway for Camptothecin Synthesis in *Camptotheca acuminata* [J]. *Plant Cell*, 2016, **28**(8): 1 926-1 944.
- [88] QIN L, ZHU Y, DING Z, *et al.* Structure of iridoid synthase in complex with NADP +/8-oxogeraniol reveals the structural basis of its substrate specificity [J]. *Journal of Structural Biology*, 2016, **194**(2): 224-230.
- [89] KIM MS, LEE T, BAEK J, *et al.* Genome assembly of the popular Korean soybean cultivar Hwangkeum [J]. *G3 (Bethesda)*, 2021, **11**(10): jkab272.
- [90] WEI S, YANG Y, YIN T. The chromosome-scale assembly of the willow genome provides insight into Salicaceae genome evolution [J]. *Hortic Res*, 2020, **7**: 45.
- [91] GEU-FLORES F, SHERDEN N, COURDAVAULT V, *et al.* An alternative route to cyclic terpenes by reductive cyclization in iridoid biosynthesis [J]. *Nature*, 2012, **492**(7 427): 138-142.
- [92] ALAGNA F, GF F, KRIES H, *et al.* Identification and characterization of the iridoid synthase involved in Oleuropein biosynthesis in Olive (*Olea europaea*) fruits [J]. *J. Biol. Chem.*, 2016, **291**(11): 5 542-5 554.
- [93] ZHOU D, GAO S, WANG H, *et al.* De novo sequencing transcriptome of endemic *Gentiana straminea* (Gentianaceae) to identify genes involved in the biosynthesis of active ingredients [J]. *Gene*, 2016, **575**(1): 160-170.
- [94] ASADA K, SALIM V, MA S, *et al.* A 7-deoxyloganetic acid glucosyltransferase contributes a key step in secologanin biosynthesis in *Madagascar periwinkle* [J]. *Plant Cell*, 2013, **25**(10): 4 123-4 134.
- [95] VAN M A, STEENSMA P, SCHWEIZER F, *et al.* The bHLH transcription factor BIS1 controls the iridoid branch of the monoterpenoid indole alkaloid pathway in *Catharanthus roseus* [J]. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 2015, **112**(26): 8 130-8 135.
- [96] 周 伟. 滇龙胆胆苦苷生物合成三个基因克隆、表达及与龙胆苦苷积累的相关性研究 [D]. 昆明: 云南中医药大学, 2017.
- [97] 李晓雪, 王 勇, 孙继奇, 等. 川西獐牙菜 SmDL7H 基因原核表达及组织表达 [J]. 西北植物学报, 2018, **38**(8): 1 375-1 381.
- LI X X, WANG Y, SUN J Q, *et al.* Prokaryotic expression and tissue-specific expression of SmDL7H in *Swertia mussotii* Franch [J]. *Acta Botanica Boreali - Occidentalia Sini-ca*, 2018, **38**(8): 1 375-1 381.
- [98] ALAGNA F, MARIOTTI R, PANARA F, *et al.* Olive phenolic compounds: metabolic and transcriptional profiling during fruit development [J]. *BMC Plant Biol.*, 2012, **12**: 162.
- [99] VARSHNEY R K, CHEN W, LI Y, *et al.* Draft genome se-

- quence of pigeonpea (*Cajanus cajan*), an orphan legume crop of resource-poor farmers[J]. *Nat. Biotechnol.*, 2011, **30**(1): 83-89.
- [100] SCHWEIZER F, COLINAS M, POLLIER J, *et al.* An engineered combinatorial module of transcription factors boosts production of monoterpenoid indole alkaloids in *Caltharanthus roseus*[J]. *Metab Eng.*, 2018, **48**: 150-162.
- [101] ZHANG G Q, XU Q, BIAN C, *et al.* The *Dendrobium catenatum* Lindl. genome sequence provides insights into polysaccharide synthase, floral development and adaptive evolution[J]. *Sci. Rep.*, 2016, **6**: 19 029.
- [102] MANJUNATHA B L, SINGH H R, RAVIKANTH G, *et al.* Transcriptome analysis of stem wood of *Nothapodytes nimmoniana* (Graham) Mabb. identifies genes associated with biosynthesis of camptothecin, an anti-carcinogenic molecule[J]. *J. Biosci.*, 2016, **41**(1): 119-131.
- [103] YANG M, WANG Q, LIU Y, *et al.* Divergent camptothecin biosynthetic pathway in *Ophiorrhiza pumila*[J]. *BMC Biol.*, 2021, **19**(1): 122.
- [104] ZOU C, LI L, MIKI D, *et al.* The genome of broomcorn millet[J]. *Nat. Commun.*, 2019, **10**(1): 436.
- [105] LING H Q, ZHAO S, LIU D, *et al.* Draft genome of the wheat A-genome progenitor *Triticum urartu*[J]. *Nature*, 2013, **496**(7 443): 87-90.
- [106] BOUVIER F, SUIRE C, dHARLINGUE A, *et al.* Molecular cloning of geranyl diphosphate synthase and compartmentation of monoterpene synthesis in plant cells[J]. *The Plant Journal*, 2000, **24**(2): 241-252.
- [107] BURKE C, CROTEAU R. Geranyl diphosphate synthase from *Abies grandis*: cDNA isolation, functional expression, and characterization[J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2002, **405**(1): 130-136.
- [108] 陈刚, 张元忠, 田华咏, 等. 獐牙菜植物器官獐牙菜苦苷含量分布规律研究[J]. 中国民族医药杂志, 2010, **16**(1): 58-59.
- CHEN G, ZHANG Y Z, TIAN H Y, *et al.* Study on the distribution of swertiamarin content in *Swertia* plant organs[J]. *Journal of Medicine & Pharmacy of Chinese Minorities*, 2010, **16**(1): 58-59.
- [109] COLLU G, UNVER N, PELTENBURG-LOOMAN A M G, *et al.* Geraniol 10-hydroxylase1, a cytochrome P450 enzyme involved in terpenoid indole alkaloid biosynthesis[J]. *FEBS Letters*, 2001, **508**(2): 215-220.
- [110] 周伟, 李媛, 吴昕怡, 等. 滇龙胆香叶醇-10-羟化酶基因克隆、生物信息学分析和表达[J]. 中草药, 2017, **48**(3): 546-549.
- ZHOU W, LI Y, WU X Y, *et al.* Molecular cloning, differential expression, and bioinformatics analysis of G10H gene in *Gentiana rigescens*[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2017, **48**(3): 546-549.
- [111] 张晓东, 李彩霞, 赵静, 等. 滇龙胆香叶醇-10-羟化酶基因的克隆与表达分析[J]. 西南农业学报, 2017, **30**(7): 1 499-1 506.
- ZHANG X D, LI C X, ZHAO J, *et al.* Cloning and expression analysis of geraniol 10-hydroxylase gene in *Gentiana rigescens*[J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2017, **30**(7): 1 499-1 506.
- [112] 熊勇, 赵春艳, 杨青松, 等. 藏药黑紫獐牙菜香叶醇-10-羟化酶基因克隆及生物信息学分析[J]. 生物技术, 2016, **26**(4): 318-324.
- XIONG Y, ZHAO C Y, YANG Q S, *et al.* Molecular cloning, bioinformatics analysis of geraniol-10-hydroxylase gene from tibetan medicine *Swertia atrovioleacea*[J]. *Biotechnology*, 2016, **26**(4): 318-324.
- [113] 欧阳蒲月, 李亚萍, 梁永枢, 等. 广藜香香叶醇-10-羟化酶基因克隆及在不同栽培种中的表达分析[J]. 中药材, 2017, **40**(2): 315-319.
- OUYANG P Y, LI Y P, LIANG Y S, *et al.* Cloning of geraniol-10 hydroxylase gene from *Pogostemon cablin* and its expression in different cultivars[J]. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 2017, **40**(2): 315-319.
- [114] 化文平, 王喆之. 秦艽香叶醇-10-羟化酶(G10H)基因的克隆及序列分析[J]. 基因组学与应用生物学, 2013, **32**(4): 510-515.
- HUA W P, WANG Z Z. Cloning and sequence analysis of G10H gene from *Gentiana macrophylla*[J]. *Genomics and Applied Biology*, 2013, **32**(4): 510-515.
- [115] 赵爽, 董婷婷, 唐红. 蜘蛛香香叶醇-10-羟化酶基因的克隆及表达分析[J]. 中药材, 2019, **42**(5): 1 007-1 011.
- ZHAO S, DONG T T, TANG H. Cloning of geraniol-10-hydroxylase gene from *Valeriana jatamansi* and expression analysis[J]. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 2019, **42**(5): 1 007-1 011.
- [116] HU Y, LIU W, MALWAL S R, *et al.* Structures of iridoid synthase from *Cantharanthus roseus* with bound NAD⁺, NADPH, or NAD⁺/10-Oxogeraniol: reaction mechanisms[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2015, **54**(51): 15 478-15 482.
- [117] QIN L, ZHU Y, DING Z, *et al.* Structure of iridoid synthase in complex with NADP⁺/8-oxogeraniol reveals the structural basis of its substrate specificity[J]. *Journal of Structural Biology*, 2016, **194**(2): 224-230.
- [118] 杨超飞, 李欣容, 智惊宇, 等. 地黄环烯醚萜合酶基因的克隆、序列特征与表达分析[J]. 中国中药杂志, 2019, **44**(12): 2 472-2 479.
- YANG C F, LI X R, ZHI J Y, *et al.* Molecular cloning and expression analysis of iridoid synthase genes from *Rehmannia glutinosa*[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2019, **44**(12): 2 472-2 479.
- [119] XIANG B, LI X, WANG Y, *et al.* Cloning and characterization of two iridoid synthase homologs from *Swertia musotii*[J]. *Molecules*, 2017, **22**(8): 1 387.
- [120] 李玉萍, 邓梅, 飞亚宏, 等. 大花胡麻草环烯醚萜合酶基因的克隆与表达分析[J]. 中草药, 2020, **51**(3): 741-747.

- LI Y P, DENG M, FEI Y H, *et al.* Cloning and expression analysis of iridoid synthase gene in *Centranthera grandiflora*[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2020, **51**(3): 741-747.
- [121] SALIM V, YU F, ALTAREJOS J, *et al.* Virus-induced gene silencing identifies *Catharanthus roseus* 7-deoxyloganic acid-7-hydroxylase, a step in iridoid and monoterpene indole alkaloid biosynthesis[J]. *The Plant Journal*, 2013, **76**(5): 754-765.
- [122] KATANO N, YAMAMOTO H, IIO R, *et al.* 7-Deoxyloganic acid 7-hydroxylase in *Lonicera japonica* cell cultures[J]. *Phytochemistry*, 2001, **58**(1): 53-58.
- [123] 李晓雪, 王 勇, 孙继奇, 等. 川西獐牙菜 *SmDL7H* 基因原核表达及组织表达[J]. 西北植物学报, 2018, **38**(8): 1 375-1 381.
- LI X X, WANG Y, SUN J Q, *et al.* Prokaryotic expression and tissue-specific expression of *SmDL7H* in *Swertia musotii* Franch[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2018, **38**(8): 1 375-1 381.
- [124] VETTER H P, MANGOLD U, SCHRÖDER G, *et al.* Molecular analysis and heterologous expression of an inducible cytochrome P-450 protein from periwinkle (*Catharanthus roseus* L.)[J]. *Plant Physiology*, 1992, **100**(2): 998-1 007.
- [125] CONTIN A, VAN DER HEIJDEN R, VERPOORTE R. Accumulation of loganin and secologanin in vacuoles from suspension cultured *Catharanthus roseus* cells[J]. *Plant Science*, 1999, **147**(2): 177-183.
- [126] IRMLER S, SCHRÖDER G, ST-PIERRE B, *et al.* Indole alkaloid biosynthesis in *Catharanthus roseus*: new enzyme activities and identification of cytochrome P450 CYP72A1 as secologanin synthase[J]. *The Plant Journal*, 2000, **24**(6): 797-804.
- [127] 李文静, 冯 雨, 侯晓强, 等. 川西獐牙菜 *SmSLS2* 基因的克隆、生物信息学及表达分析[J]. 植物研究, 2019, **39**(3): 431-440.
- LI W J, FENG Y, HOU X Q, *et al.* Cloning, bioinformatics and expression of *SmSLS2* gene in *Swertia musotii*[J]. *Bulletin of Botanical Research*, 2019, **39**(3): 431-440.
- [128] DUGÉ DE BERNONVILLE T, FOUREAU E, PARAGE C, *et al.* Characterization of a second secologanin synthase isoform producing both secologanin and secoxyloganin allows enhanced de novo assembly of a *Catharanthus roseus* transcriptome[J]. *BMC Genomics*, 2015, **16**(1): 1-19.
- [129] 张晓东, 李彩霞, 王连春, 等. 滇龙胆 GrSLS1 基因的克隆与原核表达[J]. 西北植物学报, 2014, **34**(7): 1 311-1 317.
- ZHANG X D, LI C X, WANG L C, *et al.* Cloning and prokaryotic expression of CrSLS1 gene in *Gentiana rigescens* [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2014, **34**(7): 1 311-1 317.
- [130] ZHU W, YANG B, KOMATSU S, *et al.* Binary stress induces an increase in indole alkaloid biosynthesis in *Catharanthus roseus* [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2015, **6**: 582.
- [131] CAO X, GUO X, YANG X, *et al.* Transcriptional responses and gentiopicroside biosynthesis in methyl jasmonate-treated *Gentiana macrophylla* seedlings[J]. *PLoS One*, 2016, **11**(11): e0166493.
- [132] 王伟妍, 李彩霞, 李 湫, 等. 滇龙胆 8-羟香叶醇氧化还原酶基因的克隆与表达分析[J]. 广西植物, 2020, **40**(2): 200-209.
- WANG W Y, LI C X, LI Q, *et al.* Cloning and expression analysis of 8-hydroxygeraniol oxidoreductase gene in *Gentiana rigescens*[J]. *Guihaia*, 2020, **40**(2): 200-209.
- [133] 张晓东, 李彩霞, 赵青蓉, 等. 滇龙胆环烯醚萜氧化酶基因及启动子的克隆与生物信息学分析[J]. 中草药, 2018, **49**(18): 4 386-4 392.
- ZHANG X D, LI C X, ZHAO Q R, *et al.* Cloning and bioinformatics analysis of iridoid oxidase gene in *Gentiana rigescens* [J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2018, **49**(18): 4 386-4 392.
- [134] GUIRIMANG G, GUIHUE A, GINIS O, *et al.* The subcellular organization of strictosidine biosynthesis in *Catharanthus roseus* epidermis highlights several trans-tonoplast translocations of intermediate metabolites[J]. *The FEBS Journal*, 2011, **278**(5): 749-763.
- [135] MURATA J, ROEPKE J, GORDON H, *et al.* The leaf epidermome of *Catharanthus roseus* reveals its biochemical specialization[J]. *The Plant Cell*, 2008, **20**(3): 524-542.

(编辑:潘新社)