地黄环烯醚萜合成后修饰相关基因的挖掘与分析

朱昀昊，赵乐，董诚明，郑晓珂，冯卫生

（河南中医学院药学院,河南中医学院呼吸疾病诊疗与新药研发河南省协同创新中心，河南郑州 450046）

摘要：本研究采用 Illumina HiSeq 2500 技术对地黄脱毒苗进行转录组测序，获得了地黄转录组信息，并对构建好的地黄基因 Unigene 库进行蛋白功能注释、KEGG 代谢通路分析等生物信息学分析，以期大规模挖掘与地黄环烯醚萜类成分生物合成及后修饰相关的基因。应用高通量测序技术对地黄组培苗进行转录组测序，得到 13.61Gb 的干净数据，De novo 组装后共获得 70778 条 Unigene，其中 33.428(47.23%)条 unigenes 能被 Nr、Swiss-Prot、Pfam、KOG、KEGG、GO 和 COG 等公共数据库注释。进一步对被注释的地黄萜类生物合成及后修饰相关基因进行挖掘发现，地黄转录组中共有 81 个 Unigene 参与萜类骨架合成；共有 226 个 Unigene 可能参与 CYP450 介导的环烯醚萜骨架的氧化修饰；共有 102 个 Unigene 与糖基转移酶相关。地黄转录组数据库的获得为探索地黄环烯醚萜类成分的生物合成研究奠定了基础，为后续基因功能的分析等研究提供分子水平依据。

关键词：转录组；地黄；细胞色素氧化酶 p450；糖基转移酶

文章篇号：1673-9078(2016)10-84-89 DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.10.014

Analysis of Genes Involved in the Synthesis and Modification of Iridoids of *Rehmannia glutinosa*

ZHU Yun-hao, ZHAO Le, DONG Cheng-ming, ZHENG Xiao-ke, FENG Wei-sheng

(School of Pharmacy, Henan University of Traditional Chinese Medicine, Collaborative Innovation Center for Respiratory Disease Diagnosis and Treatment & Chinese Medicine Development of Henan Province, Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China)

Abstract: The Illumina HiSeq 2500 sequencing (RNA-Seq) method was used to analyze the transcriptome of *Rehmannia glutinosa* virus-free seedlings in this paper. The transcriptome information was obtained, and protein functional annotation, Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) metabolic pathway analysis, and other bioinformatics analyses were conducted on the constructed *R. glutinosa* Unigene database, in order to deeply explore the genes related to biosynthesis and modification of iridoids in *R. glutinosa*. High-throughput sequencing technology was used for transcriptome sequencing analysis in *R. glutinosa* seedlings, generating 13.61 GB of clean data, and 70,778 unigenes were obtained after de novo assembly. Among them, 33,428 unigenes (47.23%) could be annotated in public non-redundant (Nr) databases, including the Swiss protein database (Swiss-Prot), protein families (Pfam), eukaryotic orthologous groups (KOG), KEGG, gene ontology (GO), and cluster of orthologous groups (COG). The transcripts encoding known enzymes involved in biosynthesis and post modification of terpenoids were discovered in the Illumina dataset, and 81 unigenes involved in terpenoid backbone biosynthesis were identified. Additionally, 226 unigenes might be involved in the cytochrome P450 (CYP450)-mediated oxidative modification of iridoid backbones, and 102 unigenes were associated with uridine diphosphate (UDP)-glycosyltransferases (UGTs). The transcriptome data from this study lays a basis for the study of the biosynthesis of iridoids and provides a reference for the follow-up analysis of gene functions and other studies.

Key words: transcriptome; *Rehmannia glutinosa*; cytochrome P450; uridine diphosphate glycosyltransferases

地黄(*Rehmannia glutinosa* Libosch. ex Fisch)为玄参科(Scrophulariaceae)多年生草本植物，块根及其加工品分别作为鲜地黄、生地黄和熟地黄入药，为历代中医常用中药。环烯醚萜类化学成分是地黄发挥疗效的主要物质基础。环烯醚萜属于臭乙二醛的缩醛衍生物，在植物体内常以与糖形成苷的形式存在。由于苷元以及糖基的不同，因此环烯醚萜苷类的存在形式也是多样的，目前已分离鉴定出30余种化合物[1]，如梓醇、

收稿日期：2015-11-13

基金项目：国家自然科学基金项目（81603232）；国家“十二五”科技支撑计划项目(2011BAI06802)；河南省高等学校重点科研项目计划(15A360036)；河南中医学院博士科研基金（BSJJ2011-07）；社会发展领域河南科技攻关计划项目（122101310400）

作者简介：朱昀昊(1986-)，男，博士，讲师，主要从事药用植物分子生物学研究

通讯作者：冯卫生，博士，教授，研究方向：中草药活性成分及新药开发

益母草苷、桃叶珊瑚苷、蜜力特苷、地黄苷A、D、E等。

地黄在药效物质基础、药理作用[2]、连作障碍[3]等方面已有广泛研究，但其主要活性成分生物合成途径的报道较少。环烯醚萜苷类生物合成途径的研究，仅限于上游萜类骨架形成相关酶的研究[4,5]，而参与地黄环烯醚萜合成后修饰的酶，如细胞色素P450酶C（Cytochrome P450，P450)和糖基转移酶(Uridine diphosphate UDP glycosyltransferase，UGT)等的基因克隆和功能分析还未见报道。高通量测序技术（High-Throughput Sequencing)由于测序通量大，价格低廉，极大降低了测序所需时间和成本，使药用植物次生代谢功能基因的批量挖掘变得更加方便[6]。丹参、钩藤、灯盏花、珠子参等重要药用植物已经利用高通量测序技术完成了转录组分析，获得了大量与药用有效成分合成调控的相关基因[7]。本研究利用Illumina HiSeq 2500技术对地黄组培苗进行转录组测序，试图获得一批与地黄环烯醚萜类成分的生物合成相关的基因，为进一步探讨其基因功能提供基础数据，也为从基因水平调控地黄次生代谢产物含量提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

本研究所使用样品为怀地黄品种北京3号组织培养脱毒苗，并经河南中医学院董诚明教授鉴定为玄参科植物地黄(*Rehmannia glutinosa*)。无菌条件下，取地黄脱毒苗样品，立即投入液氮中速冻。

1.2 RNA提取与检测

从地黄根、茎、叶不同组织混合样品中取总RNA，分别采用Nanodrop、Aglient 2100方法检测RNA样品的纯度、浓度和完整性等，以保证使用合格的样品进行转录组测序。

1.3 文库构建及质控

样品检测合格后，用带有Oligo（dT）的磁珠富集真核生物mRNA。加入fragmentation buffer将mRNA打断成短片段，以mRNA为模板，用六碱基随机引物合成一链cDNA，随后合成二链cDNA并纯化双链cDNA。纯化的双链cDNA先进行末端修复、加A尾并连接测序接头，再用AMPure XP beads进行片段大小选择。最后通过PCR富集得到cDNA文库。文库构建完成后，先使用Qubit 2.0进行初步定量，随后使用Agilent 2100对文库的插入片段大小进行检测，以保证文库质量。

1.4 上机测序

样品库检合格后，用HiSeq 2500进行高通量测序，测序读长为PE125。

1.5 Unigene功能注释

使用BLAST软件将Unigene序列与NR（Non-redundant Protein Sequence Database in GenBank）、Swiss-Prot（Swiss-Prot Protein Sequence Database）、GO（Gene ontology）、COG（Clusters of Orthologous Groups）、KOG（Cluster of Orthologous Groups of proteins）、KEGG（Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes）数据库比对。预测完Unigene的氨基酸序列之后使用HMMER软件与Pfam数据库比对，GO功能注释基于NR和Pfam两部分的蛋白注释结果，在Blast2GO软件上进行分析。使用MEGA 5.1软件基于Neighbor-joining法建立系统发育树。

1.6 地黄转录组SSR分析

利用MISA软件[8]对筛选得到的1 kb以上的Unigene做SSR位点分析筛选的标准为：二核苷酸重复次数至少6次以上；三、四核苷酸重复次数至少5次；五、六核苷酸重复次数至少4次。

2 结果与讨论

2.1 RNA提取

表1 RNA样品检测结果

Table 1 Result of the RNA sample measurement

样品名称	浓度/(ng/μL)	体积/μL	总量/μg	$OD_{260/280}$	$OD_{260/230}$	初检结果	RIN值	28S/18S
DH1	540.2	22	11.9	2.15	1.52	合格	8.0	2.2

如表1所示，RNA样品经Agilent 2100检测，$OD_{260/280}$等各项指标均合格，所提取的RNA质量较好，符合后续测序文库构建要求。

2.2 地黄转录组测序产出与序列组装

采用Illumina HiSeq 2500高通量测序技术对地黄转录组进行测序，共获得54017550个reads片段，包含了13608547609的序列信息。经过测序质量控制，得到13.61 GB干净数据，Q30碱基百分比到达91.14%，GC%

含量平均值为45.76%。使用Trinity软件对地黄转录组进行组装。组装共得到154129条Transcript和70778条Unigene（表2）。Transcript与Unigene的N50分别为1578和1179，平均长度分别达到了963.71和674.60组装完整性较高。

表 2 地黄转录组拼接结果统计

Table 2 Statistical results of the *R. glutinosa* transcriptome assembly

Length Range	Transcript	Unigene
200~300	38,201 (24.79%)	28,786 (40.67%)
300~500	29,136 (18.90%)	16,483 (23.29%)
500~1000	33,717 (21.88%)	11,834 (16.72%)
1000~2000	34,529 (22.40%)	9,015 (12.74%)
2000+	18,546 (12.03%)	4,660 (6.58%)
总数	154,129	70,778
总长度	148,536,336	47,746,911
N50长度	1,578	1,179
平均长度	963.71	674.60

2.3 功能注释

通过选择BLAST参数E-value不大于10^{-5}和HMMER参数E-value不大于10^{-10}，最终获得33428（47.23%）个有注释信息的Unigene(表3)，其中能被Nr数据库注释的有32885个（46.46%）；能被Swiss-Prot数据库注释的有21331个(30.14%)；被Pfam数据库注释的有21382个(30.21%)；能被KOG数据库注释的有19063个(26.93%)；能被KEGG数据库注释的有6394个(8.97%)；能被KEGG数据库注释的有6394个(8.97%)；能被GO数据库注释的有24381个(34.45%)；能被COG数据库注释的有9545个(13.49%)。

表 3 地黄转录组 unigenes 注释统计

Table 3 Statistical results of the functional annotation for the *R. glutinosa* transcriptome

Annotated databases	Number of unigenes	Annotation percentage/%
Nr	32,885	46.46
Swiss-Prot	21,331	30.14
Pfam	21,382	30.21
KOG	19,063	26.93
KEGG	6,349	8.97
GO	24,381	34.45
COG	9,545	13.49
All	33,428	47.23
Total	70778	100

2.4 GO分类

为了对所获得的地黄转录组数据进行功能分析，将基因进行GO注释之后，将注释成功的基因再进行Gene Ontology（GO）分类。共有24381个Unigene获得至少一个注释结果，这些Unigene被分为生物学过程（Biological process，BP）；细胞组分（Cellular component，CC）；分子功能（Molecular Function，MF）3个大类，53个小类（图1），其中69066个Unigene被注释为生物学过程；33390个Unigene被注释为细胞组分，38355个Unigene被注释为分子功能。

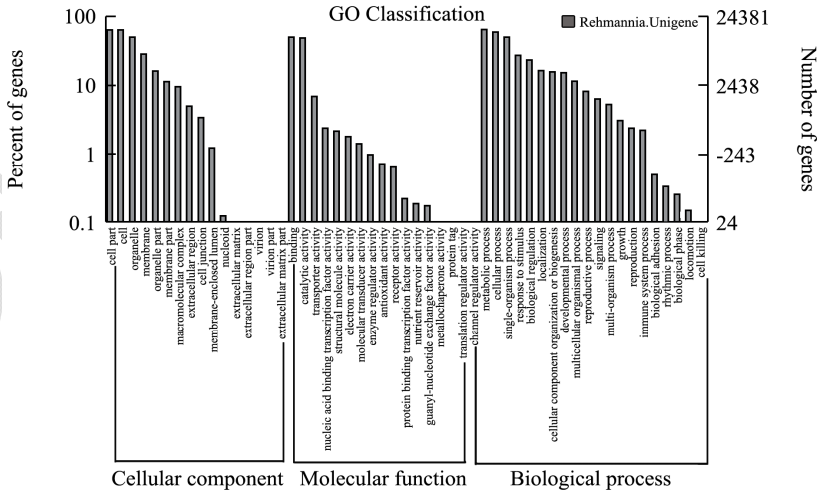


图 1 Unigene 的 GO 分类

Fig.1 Gene ontology classification of unigenes

2.5 KEGG分类

为了识别转录组中Unigene所参与的代谢路径，将获得KO注释的Unigene进行KEGG代谢通路的分析。共6349个Unigene归入116个代谢通路，包含Unigene最多的是核糖体途径（KO03010），共有272个

（4.28%），其次是植物激素信号转导途径（KO04075），共有236个。地黄环烯醚萜类成分的生物合成途径研究主要集中在萜类骨架合成的上游阶段[5]，地黄转录组中共有81个Unigene映射到该代谢通路上（KO00900），其中包括羟甲基戊二酰辅酶A还原酶(3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme Areductase，HMGR)、1-脱氧木酮糖-5-磷酸合成酶(1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate synthase，DXS)、1-脱氧-D-木酮糖-5-磷酸还原异构酶(1-Deoxy-D-Xylulose-S-Phosphate Reductoisomerase，DXR)等多种萜类骨架合成中的关键酶。

2.6 地黄环烯醚萜苷合成中的后修饰酶相关基因

地黄体内存在着多种不同形式的环烯醚萜类物质，主要是因为萜类生物合成途径中后修饰酶的存在。植物合成的萜类化合物，大部分都包含基团修饰甚至骨架结构重排，包括羟基化、糖基化、甲基化、环氧化等多种反应，这些后修饰反应大幅度地增加了萜类化合物的种类及其结构的多样性[5,9]。

表 4 地黄 CYP 基因统计

Table 4 Statistical results of the *R. glutinosa* CYPs

家族名称	Unigene数目	百分比/%	家族名称	Unigene数目	百分比/%
CYP71	51	22.57	CYP90	3	1.33
CYP72	5	2.21	CYP93	7	3.10
CYP76	21	9.29	CYP94	10	4.42
CYP77	6	2.65	CYP97	1	0.44
CYP78	5	2.21	CYP98	4	1.77
CYP81	16	7.08	CYP704	13	5.75
CYP82	12	5.31	CYP710	2	0.88
CYP83	3	1.33	CYP711	1	0.44
CYP84	5	2.21	CYP714	7	3.10
CYP85	1	0.44	CYP716	8	3.54
CYP86	14	6.19	CYP724	3	1.33
CYP87	9	3.98	CYP734	15	6.64
CYP89	1	0.44	CYP750	3	1.33
总计				226	

表 5 地黄 UGTs 基因统计

Table 5 Summary of the *R. glutinosa* UGTs

家族名称	Unigene数目	百分比/%	家族名称	Unigene数目	百分比/%
UGT71	1	0.98	UGT85	27	26.47
UGT72	3	2.94	UGT86	15	14.71
UGT73	9	8.82	UGT87	4	3.92
UGT74	9	8.82	UGT88	1	0.98
UGT76	6	5.88	UGT89	3	2.94
UGT79	2	1.96	UGT90	3	2.94
UGT82	1	0.98	UGT91	6	5.88
UGT83	10	9.80	UGT92	2	1.96
总计				102	

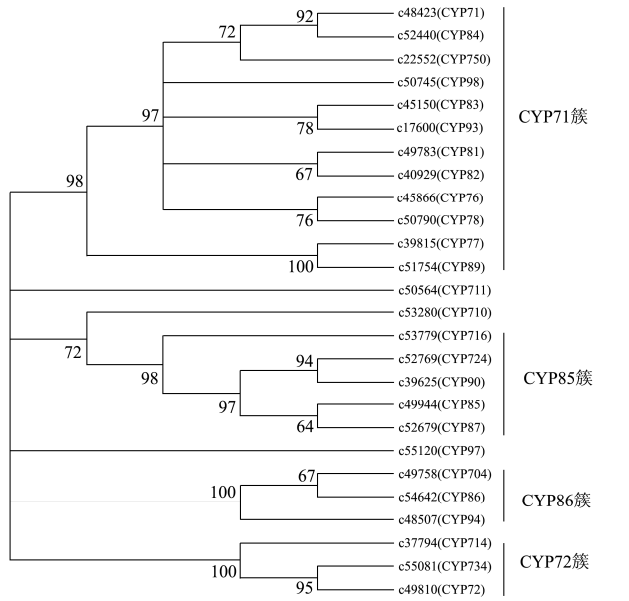


图 2 地黄 CYP 基因系统发育树

Fig.2 Phylogenetic tree of the *R. glutinosa* CYPs

地黄中环烯醚萜苷合成的后修饰反应，推测主要包括对环烯醚萜骨架的修饰及苷元糖基化两大部分。其中细胞色素 P450（CytochromeP450，CYP450）可能参与其中的氧化反应[10]，通过搜索地黄转录组数据在 Swiss-Prot 数据库的注释结果，共找到 226 条可能的 CYP450，隶属于 26 个 CYP450 家族(表 4)，属于 CYP71 家族的 Unigene 最多，有 22.57%其次是 CYP76 和 CYP81，分别为 9.29%和 7.08%。依据 Nelson 等的报道，陆生植物细胞色素 P450 可分为 11 个簇(clans)，归为 2 类：单家族簇（CYP51、CYP74、CYP97、CYP710、CYP711、CYP727、CYP746）和多家族簇（CYP71、CYP72、CYP85、CYP86）。在归属于每个 CYP450 家族的 Unigene 中选取一条作为代表序列，利用 MEGA5.1 软件构建 NJ 系统发育树，如图 2 所示，在地黄转录组中，CYP71 簇共有 134 条 Unigene，其中包括 CYP71，CYP76，CYP77，CYP78，CYP81，CYP82，CYP83，CYP84，CYP89，CYP93，CYP98，CYP750 等 12 个家族；CYP72 簇共有 27 条 Unigene，其中包括 CYP72，CYP714，CYP734 等 3 个家族；CYP85 簇共有 24 条 Unigene，其中包括 CYP85，CYP87，CYP90，CYP716，CYP724 等 5 个家族；CYP86

簇共有 37 条 Unigene，其中包括 CYP86，CYP94，CYP704 等 3 个家族，还包括 CYP97、CYP710、CYP711 等 3 个单家族簇。

萜类与糖形成苷是常见的后修饰方式，大多数的环烯醚萜以苷的形式存在。糖基转移酶（glycosyltransferases，GT）能催化糖基转移反应，将糖基从活化的供体分子转移到受体分子上。根据底物识别和系统进化分析，GT 被分为 91 个基因家族[11]。其中，与植物次生代谢相关的基因大部分都属于家族 1，都能够催化糖基从 UDP 糖转移到多种受体，一般被称为尿苷二磷酸—糖基转移酶 (UDP-glycosyltransferases，UGT)。如表 5 所示，在地黄转录组中共发现 102 个 UGTs，其中包括 1 个 UGT71，3 个 UGT72，9 个 UGT73，9 个 UGT74，6 个 UGT76，2 个 UGT79，1 个 UGT82，10 个 UGT83，27 个个 UGT85，15 个 UGT86，4 个 UGT87，1 个 UGT88，3 个 UGT89，3 个 UGT90，6 个 UGT91，2 个 UGT92。地黄转录组中大量 UGTs 的发现为我们进一步具体分析 UGT 的催化功能，阐述地黄环烯醚萜的糖基化反应机理打下良好的基础。

表 6 SSR 结果统计

Table 6 Statistical results of SSR

重复基元长度	重复次数									总计	百分比
	5	6	7	8	9	10	11	12	>12		
Di-nuleotide	0	332	245	160	145	185	84	6	1	1158	57.10
Tri-nucleotide	549	202	80	9	1	1	0	0	1	843	41.57
Tetra-nucleotide	15	2	0	0	0	0	0	0	0	17	0.84
Penta-nucleotide	3	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0.15
Hexa-nucleotide	3	1	2	0	1	0	0	0	0	7	0.35
总计	570	537	327	169	147	186	84	6	2	2028	100
百分比	28.11	26.48	16.12	8.33	7.25	9.17	4.14	0.30	0.10	100	

2.7 SSR分析

利用 MISA 软件对筛选得到的 1 kb 以上的 Unigene 做 SSR 分析，共检出 2028 个 SSR。如表 6 所示，地黄转录组 SSR 种类丰富，二至六核苷酸重复类型均存在，但各类型出现的频率存在较大差异。地黄转录组 SSR 种类中二核苷酸重复和三核苷酸重复最多，分别占总 SSR 数量的 57.10%和 41.57%。在检出 SSR 中，共发现 83 种重复基元，其中 AG/CT、AC/GT、AT/AT 等 3 种二核苷酸重复基元出现最多，分别有 617 个（30.42%）、351 个（17.31%）和 188 个（9.27%）。在三核苷酸重复基元中，AAG/CTT 和 ACC/GGT 出现最多，分别为 185 个（9.1%2）和 139 个（6.85%）。对以上 SSR 的鉴定，将为进一步筛选和开发地黄 SSR 标记奠定了基础，对地黄遗传多样性分析、分子标记辅助育种等研究提供帮助。

3 结论

3.1 地黄的主要药用成分为环烯醚萜类物质，但关于地黄环烯醚萜代谢的基因报道较少。Sun等[4]利用高通量测序技术454 GS FLX Titanium对地黄营养器官及花的混合样品的转录组进行测序，测序通量为88.4 MB，共获得平均长度为397 bp的unigene58822条，经BLAST比对后，其中23953 unigenes能被Nr数据库注释。本研究利用Illumina HiSeq 2500技术对地黄组培苗进行了转录组测序，测序通量达到13.61 GB，转录组数据饱和度较高，共获得70778条Unigene，平均长度达到了674.60 bp，其中能被Nr数据库注释的有32885个。与454技术相比，HiSeq技术具有通量更高、成本更低、测序准确度更高等优点，可以更好的满足转录组测序的要求，也为更高效的批量挖掘药用植物功能基因提供了技术支撑。

3.2 环烯醚萜生物合成大致可分为前体形成、骨架构建以及后修饰三部分，基本骨架通常由萜类合酶催化形成，进一步在后修饰酶的作用下产生种类繁多的萜类化合物。当前，环烯醚萜生物合成关键酶的研究主要集中在甲羟戊酸途径(mevalonate pathway，MVA)[12]和2-甲基赤藓糖-4-磷酸途径(2-C-methyl-D-erythritol-4-phos-phate MEP)[13]上一系列关键酶及催化环烯醚萜骨架形成的萜类合酶等，而后修饰酶研究较少。通过对地黄转录组中unigene的进行KEGG代谢通路的分析，共有81个Unigene映射萜类骨架合成通路上（KO00900），找到81个unigene可能编码萜类骨架合成途径的22个关键酶，包括6个MVA途径的酶、8个MEP途径的酶。此外，通过搜索地黄转录组数据在Swiss-Prot数据库的注释结果，共找到隶属于26个CYP450家族的226条可能的CYP450和102个UGT，这为后续研究环烯醚萜类物质的后修饰机理，筛选参与

次生代谢的P450和UGT基因提供了充足的候选序列。

3.3 高通量测序技术对深入开展药用植物功能基因的批量挖掘提供了巨大的促进作用，也为全面研究药用植物次生代谢产物的生物合成机理提供了新思路。地黄转录组数据库的补充和建立，获得了大量的转录本信息，并对大量的基因进行功能预测，这对于发掘地黄环烯醚萜类物质的生物合成途径及其调控机理奠定了深厚的基础，也可为地黄的遗传改良，次生代谢产物含量的调节提供理论依据。

参考文献

[1] 刘彦飞,梁东,罗桓,等.地黄的化学成分研究[J].中草药,2014, 45(1):16-21
LIU Yan-fei, LIANG Dong, LUO Huan, et al. Chemical constituents from root tubers of *Rehmannia glutinosa* [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2014, 45(1): 16-21

[2] 李慧芬.地黄药理作用和临床应用概况[J].药学研究,2014,6: 345-347
LI Hui-fen. Summary on pharmacological action and clinical usage of *Rehmanniae radix* [J]. Journal of Pharmaceutical Research, 2014, 6:345-347

[3] Li M, Yang Y, Li X, et al. Analysis of integrated multiple 'omics' datasets reveals the initiation and determination mechanisms of tuberous root formation in *R. glutinosa* [J]. Journal of Experimental Botany, 2015, 66(19): 5837-5851

[4] Sun P, Song S, Zhou L. Transcriptome analysis reveals putative genes involved in iridoid biosynthesis in *Rehmannia glutinosa* [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2012, 10(13): 13748-13763

[5] 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, 12: 1030-1046
WANG Ling-jian, FANG Xin, YANG Chang-qing, et al. Biosynthesis and regulation of secondary terpenoid metabolism in plants [J]. Scientia Sinica Vitae, 2013, 12: 1030-1046

[6] Hao D C, Gu X, Xiao P G. High-throughput sequencing in medicinal plant transcriptome studies [M]. Medicinal Plants, Woodhead Publishing, 2015

[7] Guo Q, Ma X, Wei S, et al. De Novo Transcriptome sequencing and digital gene expression analysis predict biosynthetic pathway of rhynchophylline and isorhynchophylline from *Uncaria Rhynchophylla*, a non-model plant with potent anti-alzheimer's properties [J]. BMC Genomics, 2014, 15: 676

[8] Park S K, Arens P, Esselink D, et al. Analysis of inheritance mode in chrysanthemum using EST-derived SSR markers [J]. Scientia Horticulturae, 2015, 192: 80-88

[9] 李军玲,罗晓东,赵沛基,等.植物萜类生物合成中的后修饰酶[J].云南植物研究,2009,5:461-468
LI Jun-ling, LUO Xiao-dong, ZHAO Pei-ji, et al. Post-modification enzymes involved in the biosynthesis of plant terpenoids [J]. Acta Botanica Yunnanica, 2009, 5: 461-468

[10] 徐洁森,魏建和,陶韵文,等.植物细胞色素 P450 在三萜皂苷生物合成中的功能研究进展[J].中草药,2012,8:1635-1640
XU Jie-sen, WEI Jian-he, TAO Yun-wen, et al. Advances in studies on functions of plant cytochrome p450 in triterpenoid saponin biosynthesis [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2012, 8: 1635-1640

[11] 郭溆,罗红梅,宋经元,等.糖基转移酶在植物次生代谢途径中的研究进展[J].世界科学技术(中医药现代化),2012,6: 2126-2130
GUO Xu, LUO Hong-mei, SONG Jing-yuan, et al. Advances in the study of glycosyltransferases involved in plant secondary metabolite biosynthesis [J]. World Science and Technology (Modernization of Traditional Chinese Medicine), 2012, 6: 2126-2130

[12] Newman J D, Chappell J. Isoprenoid biosynthesis in plants: Carbon partitioning within the cytoplasmic pathway [J]. Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol., 1999, 34(2): 95-106

[13] Lichtenthaler H K. The 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate pathway of isoprenoid biosynthesis in plant [J]. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol., 1999, 50: 47-65