

药用植物的基因组测序及其生物活性物质合成途径的研究进展

祁增兴^{1,2,3} 黎俊伶^{1,2,3} 何其邹洪^{1,2,3} 鲁良^{1,2,3} 李瑞丽^{1,2,3*}

¹北京林业大学生物科学与技术学院, 林木育种国家工程实验室, 北京 100083;

²北京林业大学生物科学与技术学院, 林木、花卉遗传育种教育部重点实验室, 北京 100083;

³北京林业大学生物科学与技术学院, 树木花卉育种生物工程国家林业和草原局重点实验室, 北京 100083)

摘要 药用植物因其生物活性物质种类众多, 具有广泛的药用价值, 其资源的保护和开发日益受到重视。众多药用植物基因组测序的完成, 使得从分子水平上深入研究药用活性物质的生物合成途径以及催化各个步骤所需的关键酶基因成为可能。该文主要介绍了基因组测序技术的发展史及其在药用植物中的研究现状, 并着重阐述了药用植物中的重要生物活性物质及其合成通路中的关键酶基因, 以期为今后深入研究生物活性物质合成和调控的分子机制提供依据, 为充分开发和利用药用植物的药用功能奠定理论基础。

关键词 药用植物; 基因组测序; 生物活性物质; 关键酶基因

Research Progress on Genome Sequencing and Biosynthesis Pathway of Bioactive Substances in Medicinal Plants

QI Zengxing^{1,2,3}, LI Junling^{1,2,3}, HE Qizouhong^{1,2,3}, LU Liang^{1,2,3}, LI Ruili^{1,2,3*}

(¹National Engineering Laboratory for Tree Breeding, College of Biological Sciences and Technology, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China; ²Key Laboratory of Genetics and Breeding in Forest Trees and Ornamental Plants, Ministry of Education, College of Biological Sciences and Technology, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China;

³The Tree and Ornamental Plant Breeding and Biotechnology Laboratory of National Forestry and Grassland, College of Biological Sciences and Technology, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China)

Abstract Medicinal plants have a wide range of medicinal values due to various types of bioactive substances. The protection and development of their resources have been paid more and more attention. With the completion of genome sequencing of many medicinal plants, it is possible to further study the biosynthesis pathway of medicinal active substances and the key enzyme genes at the molecular level. This review mainly introduced the development history of genome sequencing technologies and its research status in medicinal plants, with special emphasis on the important bioactive substances of medicinal plants and their key enzyme genes in synthesis pathway. This will provide valuable information for further clarifying the molecular mechanism of bioactive substances synthesis and regulation in the future, and lay a perfect foundation for fully exploiting and utilizing the medicinal

收稿日期: 2021-08-05 接受日期: 2021-10-15

中央高校基本科研业务费专项(批准号: 2021ZY57)、国家自然科学基金(批准号: 31970182、31670182、31761133009)、大学生创新创业训练计划(批准号: 202110022019、202110022069)和“十三五”国家重点研发计划(批准号: 2016YFD0600102)资助的课题

*通讯作者。Tel: 13426330885, E-mail: liruili@bjfu.edu.cn

Received: August 5, 2021 Accepted: October 15, 2021

This work was supported by the Fundamental Research Funds for the Central Universities (Grant No.2021ZY57), the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31970182, 31670182, 31761133009), the National Training Program of Innovation and Entrepreneurship for Undergraduates (Grant No.202110022019, 202110022069) and the State ‘13.5’ Key Research Program of China (Grant No.2016YFD0600102)

*Corresponding author. Tel: +86-13426330885, E-mail: liruili@bjfu.edu.cn

functions of medicinal plants.

Keywords medicinal plants; genome sequencing; bioactive substances; key enzyme genes

2003年,人类基因组计划(Human Genome Project, HGP)的目标全部完成,标志着“后基因组时代(Post Genome Era, PGE)”的来临。进入后基因组时代后,测序技术飞速发展,功能基因组学成为近年来的研究热点。过去十年中,完成全基因组测序的药用植物数量急剧增加,基因资源研究逐渐成为中医药领域关注的焦点,高质量的基因组序列为传统中药产业提供了巨大的创新资源。通过基因组、转录组和代谢组联合分析,建立药用植物的功能基因库和基因-代谢调控网络,不仅能阐明生物合成途径中基因表达与活性代谢物积累的相关性,还能揭示基因表达与药用植物生命现象之间的潜在联系,为药用植物的分子育种提供基础,以改善药用植物的药理特性,进而推动中医药产业的可持续发展。

1 基因组测序技术的发展

20世纪70年代中期以来,基因组测序技术飞速发展,现已发展到第三代,并成为分子生物学领域的重要技术研究手段。由于测序试剂及测序原理的差异,不同的测序平台在读长、通量、成本、精确度和运行时间等方面有所不同,下文论述了各代测序技术的发展历程及其优缺点。

1.1 第一代测序技术

1977年,MAXAM等^[1]发明了化学降解法,标志着第一代DNA测序技术的诞生。同年,Sanger提出了双脱氧链终止法^[2]。相对于化学降解法繁琐的操作步骤,双脱氧链终止法操作更简便、更适合于光学自动探测,因此大多数DNA自动测序仪都采用双脱氧链终止法降解DNA链。以Sanger测序法为代表的第三代基因组测序技术的测序读长较长,可达1 000 bp,每个碱基的读取准确率高达99.999%,测序精度极高^[3]。但耗时长、通量小、成本高的劣势限制了它的应用,目前该技术被用作基因组测序中的辅助方法。20世纪80年代,ABI公司基于集束化的毛细管电泳技术和荧光自动测序技术,代替放射性同位素标记,研制了第一款测序仪ABI 370,该测序仪是20世纪90年代应用最广泛的测序平台^[4]。

1.2 第二代测序技术

21世纪以来,测序技术迅速发展,第二代测

序技术应运而生。二代测序平台主要包括Roche 454 GS FLX Titanium、ABI公司的SOLID和Illumina公司的HiSeq 2000^[5]。454公司推出的基于焦磷酸测序法的高通量测序系统GS20,开创了边合成边测序的先河。2008年,Roche 454公司推出性能更优的GS FLX Titanium测序平台,Roche 454 GS FLX Titanium具有测序周期短、通量高、读长更长(可达到700~1 000 bp)、运行速度快、精确度更高等突出特点。ABI公司的SOLID测序平台是二代测序中准确度(可以达到99.999%)最高的,且其测序通量可达100 Gb。由于SOLID测序平台相对较低的价格,因此其在基因组重测序中被广泛应用。但是SOLID测序周期长,测序读长(只有50 bp)短。Illumina/Solexa公司首次推出的高通量测序仪Illumina/Solexa's GAII存在运行周期长、速度慢、测序读长短(只有75 bp)等劣势。2010年初,Illumina将其升级到HiSeq 2000,HiSeq 2000具有成本低、精确性高等优势,并且超高的测序通量(可达200 Gb)使HiSeq 2000在物种基因组重测序中占据了较大优势^[6]。目前HiSeq 2000也是世界上使用量最大的二代测序平台。

1.3 第三代测序技术

Heli Scope公司的真正单分子测序(true single-molecule sequencing, tSMSTM)技术、Nanopore公司的纳米孔测序技术(oxford nanopore technologies, ONT)和Pacific Biosciences公司的单分子实时测序(single-molecule real-time sequencing, SMRT)技术都是在单分子水平读取核苷酸序列,统称为第三代测序技术^[7]。第三代测序技术与前两代测序技术相比,虽然在一定程度上牺牲了测序的准确率(第三代测序技术准确率仅有85%~90%),但在测序读长上较前两代测序技术取得了数十倍的增长,具有实时测序、读长更长、测序速度更快、无需扩增模板、成本低等优点,并且可以直接检测表观修饰位点^[8]。目前,研究者通常将第三代测序技术和第二代测序技术相结合,第二代测序技术可以修正第三代测序技术的长读长片段,弥补第三代测序技术通量低、错误率高的缺陷^[9]。第三代测序技术在基因序列的突变检测、拼接、比对中占据优势。

2 已完成基因组测序的药用植物

2000年人类利用 Sanger 测序法对拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 基因组进行测序, 这是世界上第一个完成基因组测序的高等植物, 开创了植物基因组测序的先河^[10]。近 20 年来, 随着测序技术的快速发展和测序成本的显著降低, 迄今已通过全基因组测序来解析众多种类药用植物的药用成分的合成通路, 表 1 列出了部分代表性的药用植物, 其中主要通过第二代测序技术完成基因组测序的物种有人参 (*Panax ginseng*)、蛹虫草 (*Cordyceps militaris*)、柴胡 (*Bupleuri Radix*)、灵芝 (*Ganoderma lucidum*)、玛卡 (*Lepidium meyenii*)、大花红景天 (*Rhodiola crenulata*) 和三七 (*Panax notoginseng*), 联合第二代和第三代测序技术完成基因组测序的药用植物包括青蒿 (*Artemisia annua*)、穿心莲 (*Andrographis paniculate*)、雷

公藤 (*Tripterygium wilfordii*)、决明 (*Senna tora*)、丹参 (*Salvia miltiorrhiza*)、红豆杉 (*Taxus wallichiana*)、枇杷 (*Eriobotrya japonica*)、黄芩 (*Scutellaria baicalensis*)、罂粟 (*Papaver somniferum*) 和苦荞 (*Tartary Buckwheat*) 等, 而金银花 (*Lonicera japonica*) 和杜仲 (*Eucommia ulmoides*) 分别利用第三代技术中的纳米孔测序技术和 SMRT 来完成全基因组测序, 这将有助于阐明药用植物中药用成分合成的分子机制。

例如, 传统药材人参含有生物活性成分达玛烷型人参皂苷, 但有关其遗传背景的研究甚少, 其生物合成酶和调节模式未知。Illumina 测序平台与 Roche 454 相比, 虽然测序读长较短, 但超高的测序通量使 Illumina HiSeq 2000 在基因组重测序研究中占据优势, 随着组装技术的进步, HiSeq 2000 也被广泛应用于基因组从头测序^[30]。2018 年, KIM 等^[20]利用 Illu-

表 1 已完成基因组测序的药用植物

Table 1 Summary of medicinal plants that have completed genome sequencing

物种 Species	基因组大小 Genome size	测序方法 Sequencing methods	出版时间 Publication time	药用成分 Medicinal component
<i>Cordyceps militaris</i> ^[11]	32.2 Mb	Roche 454 GS FLX	2011	Cordycepin
<i>Ganoderma lucidum</i> ^[12]	43.3 Mb	Roche 454 GS FLX+Illumina GAII	2012	Triterpene
<i>Salvia miltiorrhiza</i> ^[13]	645.78 Mb	Illumina+PacBio RSII	2015	Tanshinone
<i>Lepidium meyenii</i> ^[14]	751 Mb	Illumina HiSeq 2500	2016	Glucosinolate, Imidazole alkaloids
<i>Rhodiola crenulata</i> ^[15]	344.5 Mb	Illumina HiSeq 2000/4000	2017	Salidroside
<i>Panax notoginseng</i> ^[16]	2.39 Gb	Illumina	2017	Ginsenoside, Notoginsenoside
<i>Tartary Buckwheat</i> ^[17]	489.3 Mb	Illumina+PacBio	2017	Rutin
<i>Papaver somniferum</i> ^[18]	2.72 Gb	Illumina+10X Genomics+PacBio+Nanopore	2018	Morphinan, Codeine
<i>Artemisia annua</i> ^[19]	1.74 Gb	Illumina +Roche 454 +PacBio RSII	2018	Artemisinin
<i>Panax ginseng</i> ^[20]	2.98 Gb	HiSeq 2000+MiSeq	2018	Ginsenoside
<i>Andrographis paniculate</i> ^[21]	269 Mb	Illumina+SMRT	2018	Diterpenoid, Neoandrographolide
<i>Scutellaria baicalensis</i> ^[22]	386.63 Mb	Illumina+PacBio	2019	Wogonin
<i>Bupleuri Radix</i> ^[23]	989.80 Mb	HiSeq Xten	2019	Saponin
<i>Lonicera japonica</i> ^[24]	843.2 Mb	Nanopore	2020	Chlorogenic acid, Luteolin, Rutin
<i>Eucommia ulmoides</i> ^[25]	947.86 Mb	SMRT	2020	Chlorogenic acid
<i>Tripterygium wilfordii</i> ^[26]	348.53 Mb	Illumina HiSeq Xten+SMRT	2020	Triptolide
<i>Senna tora</i> ^[27]	547 Mb	SMRT+HiSeq TM 2500	2020	Anthraquinone
<i>Taxus</i> ^[28]	10.23 Gb	SMRT+Illumina HiSeq 2500	2021	Paclitaxel
<i>Eriobotrya japonica</i> ^[29]	761 Mb	Illumina+SMRT	2021	Triterpene

mina HiSeq 2000和MiSeq对人参进行测序, 通过从头组装揭示了ChP四倍体人参约为2.98 Gb大小的全基因组结构, 共注释出59 352个基因, 为了筛选人参皂苷合成途径中的基因, 共鉴定出31个参与甲羟戊酸途径的基因, 这些基因中有8个被注释为3-羟基-3-甲基戊二酰-辅酶A还原酶(3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase, HMGR); 共鉴定出225个糖基转移酶, 这些糖基转移酶是人参中最大的基因家族之一。基因组测序提供了人参皂苷生物合成的代谢网络, 为通过分子育种和代谢工程提高人参的药用价值提供了宝贵的资源。

雷公藤甲素是卫矛属(*Euonymus*)药用植物雷公藤的主要药用成分, 雷公藤甲素已被证明具有抗炎、免疫抑制和抗肿瘤活性的重要治疗潜力^[31]。TU等^[26]通过整合雷公藤的基因组学、转录组学和代谢组学数据绘制了基因-代谢物网络图, 筛选出了57个可能参与雷公藤甲素生物合成的CYP基因, 并从中鉴定出了一种细胞色素P450(*CYP728B70*), 抑制该基因表达可导致雷公藤甲素积累量减少, 而在植物悬浮细胞培养中过表达*CYP728B70*可导致雷公藤甲素水平相对于对照显著提高, 这表明*CYP728B70*的活性影响雷公藤甲素的生物合成。这项工作提供的雷公藤基因组资源和候选基因, 有助于阐明雷公藤甲素生物合成的分子机制。

虽然二代测序平台可以在短时间内获取大量高质量的数据, 但是在复杂的植物基因组中, 二代测序技术往往存在高重复、高杂合等特点, Illumina测序技术由于读长短的原因, 不能完全避免GC含量的影响, 使得植物的复杂基因组组装遇到巨大障碍。与第二代边合成边测序的核心原理完全不同, 第三代测序技术基于单分子测序, 无需PCR扩增, 从而避免了错误的引入, 同时第三代测序具有更高的通量和效率, 超长测序读长以及免去GC偏好性的特征, 使其在基因组组装及相关挖掘方面表现出明显优势^[32]。作为一种传统的草药, 杜仲在其叶子和树皮中积累了主要的酚类化合物——绿原酸(chlorogenic acid, CGA)。绿原酸具有抗菌、抗病毒和抗肿瘤活性^[33], LI等^[25]采用PacBio长测序和Hi-C技术获得了长度约为947.86 Mb的基因组序列, 鉴定并注释出26 001个蛋白编码基因, 其中92.87%的基因锚定到17条染色体上。高质量的染色体级基因组和基因功能注释有助于解析绿原酸的两条生物合成途径及该途径中所涉及的关键酶, 包

括羟基肉桂酰辅酶A奎宁酸/莽草酸羟基肉桂酰转移酶(hydroxycinnamoyl-CoA:quinic/shikimate hydroxycinnamoyl transferase, HCT)和对-香豆酸3-羟化酶(*p*-coumarate 3-hydroxylase, C3H)等。这些信息为杜仲次生代谢产物的进一步研究提供了有价值的信息。

决明是一种用途广泛的药用植物, 它对人类健康的益处被归因于含有大量的蒽醌^[34]。KANG等^[27]为了鉴定参与蒽醌生物合成的基因, 在染色体水平上揭示了决明的基因组序列, 并结合基因组学、转录组学、代谢组学和生物化学, 系统地筛选和鉴定了类查尔酮(*CHS-L*)基因, *CHS-L*对蒽醌支架的合成具有重要生物学功能。决明基因组将加速药用植物中生物活性成分蒽醌的生物合成途径研究。

3 药用植物生物活性物质的合成路径

药用植物的次生代谢物质种类繁多, 分布广泛, 大量研究主要集中在药用植物生物活性成分的测定、生理功能鉴定、药理作用等方面, 但随着基因组测序技术的发展, 越来越多的研究将化学成分分析与基因表达分析结合起来, 从功能基因组和转录组等分子水平上深入研究药用代谢物的合成通路、催化各个步骤所需的酶和基因。建立在高通量基因组测序基础上的转录组研究已逐步成为目前从全基因组水平研究基因表达的主流方法。下文综述了通过基因组和转录组测序分析的各类药用植物, 药用植物中的次生代谢物, 以及代谢物合成通路中所需的关键酶、关键基因, 并着重介绍了酚类化合物的生物合成路线。

3.1 酚类化合物

3.1.1 类黄酮类 类黄酮类物质(flavonoids)主要包括花色素(anthocyanins)、黄酮类(flavones)、异黄酮(isoflavonoids)和黄酮醇(flavonols)四大亚类, 黄酮是类黄酮类中最大的亚类之一, 大多与糖类结合后以糖苷的形式存在^[35]。黄酮类物质在植物中发挥的功能包括调节果实风味、改变花果色泽、提高植物抗逆性等, 此外, 黄酮类物质对于人体也具有广泛的药用价值^[36]。

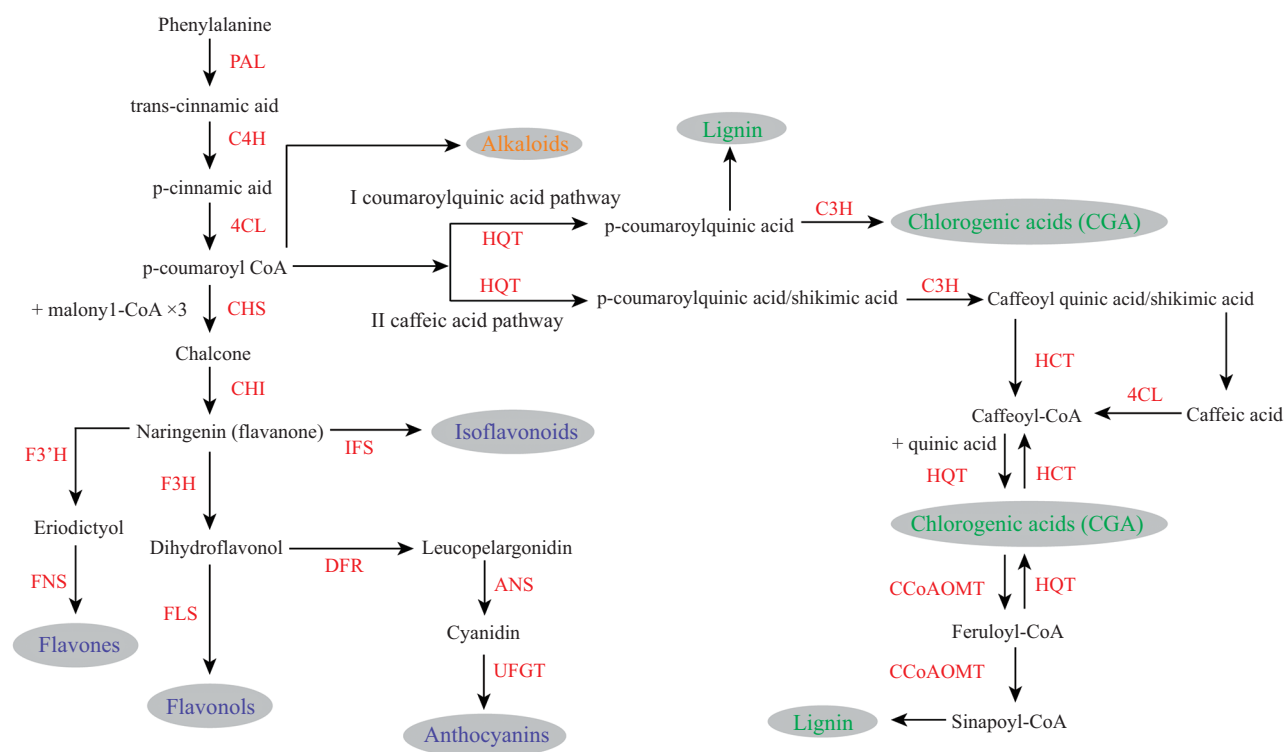
红花(*Carthamus tinctorius*)是一种富含黄酮类物质和高亚油酸的菊科植物, 其花中的黄酮种类和含量丰富, 尤其是羟基红花黄色素A, 具有抗肿瘤、活血化瘀、缓解炎症等医用功效。WU等^[37]结合PacBio、Hi-C及连锁图谱等综合手段绘制了红花参考基因组, 并鉴定了控制类黄酮合成的7个CHS成

员, 它们在花的不同发育阶段的表达对类黄酮种类和丰度起着不同的作用, 尤其是 **CarCHS4** 的调控对于红花独有的类黄酮——羟基红花黄色素 A 的合成至关重要。红花 **CHS** 的遗传改良为进一步提高红花食用和药用价值奠定了基础。许明等^[38]通过 Illumina HiSeq™ 4000 高通量测序平台完成了藤茶叶片的转录组测序, 对组装后的序列在 7 个数据库进行了功能注释和筛选, 发现了 98 个类黄酮类化合物合成相关的基因, 包括编码苯丙烷代谢途径和类黄酮代谢途径所需酶的基因。图 1 和表 2 展示了类黄酮类化合物的合成途径及该途径中的关键酶。

类黄酮和绿原酸、木质素(lignin)的生物合成通路有一个共同的前体阶段——苯丙烷代谢途径^[39]。对-香豆酰辅酶A(p-coumaroyl CoA)作为分支将类黄酮生物合成途径与绿原酸合成途径联系起来^[40], 既

可以通过查尔酮合成酶(chalcone synthase, **CHS**)进入类黄酮生物合成途径, 也可以通过香豆酰奎尼酸途径和咖啡酸途径生成绿原酸和木质素这些酚类物质。

3.1.2 非类黄酮类 2020年, 中国医学科学院破译了第一个川续断目植物金银花的全基因组^[24], 金银花全基因组的公布为该传统药材未来特定性状改良的分子育种提供了研究基础。金银花是忍冬科(Caprifoliaceae)忍冬属(*Lonicera*)植物, 具有抗炎、抗氧化、抗病毒等药理功效, 其主要活性成分是绿原酸和木犀草素(luteolin)^[41]。绿原酸又称咖啡鞣酸, 是一种苯丙素类物质, 绿原酸在植物体中主要以咖啡酰奎尼酸(caffeoyl-quinic acid, **CQA**)、二咖啡酰奎尼酸(dicaffeoyl-quinic acid, **diCQA**)和阿魏酰奎尼酸(feruloyl-quinic acid, **FQA**)的形式存在^[42]。在金银



PAL: 苯丙氨酸解氨酶; C4H: 肉桂酸羟化酶; 4CL: 4-香豆酰辅酶A连接酶; CHS: 查尔酮合成酶; CHI: 查尔酮异构酶; IFS: 异黄酮合成酶; F3H: 黄酮3-羟化酶; FLS: 黄酮醇合成酶; F3'H: 类黄酮3'-羟化酶; FNS: 黄酮合成酶; DFR: 二氢黄酮醇4-还原酶; ANS: 花青素合成酶; UFGT: 类黄酮糖基转移酶; HQT: 羟基肉桂酰辅酶A:奎尼酸羟基肉桂酰转移酶; HCT: 羟基肉桂酰辅酶A:奎宁酸/莽草酸羟基肉桂酰转移酶; C3H: 对-香豆酸3-羟化酶; CCoAOMT: 咖啡酰辅酶A氧甲基转移酶。

PAL: phenylalanine ammonia lyase; C4H: cinnamate 4-hydroxylase; 4CL: 4-coumarate CoA ligase; CHS: chalcone synthase; CHI: chalcone isomerase; IFS: isoflavone synthase; F3H: flavanone 3-hydroxylase; FLS: flavonol synthase; F3'H: flavonoid 3'-hydroxylase; FNS: flavone synthase; DFR: dihydroflavonol 4-reductase; ANS: anthocyanidin synthase; UFGT: UDP-glucose:flavonoid 3-O-glucosyltransferase; HQT: hydroxycinnamoyl-CoA:quinic acid hydroxycinnamoyl transferase; HCT: hydroxycinnamoyl-CoA: quinate/shikimate hydroxycinnamoyl transferase; C3H: p-coumarate 3-hydroxylase; CCoAOMT: caffeoyl-CoA oxygen methyltransferase.

图1 酚类化合物的生物合成路线(根据参考文献[43-45]修改)

Fig.1 The biosynthesis route of phenolic compounds (modified from the references [43-45])

花中发现了几乎所有的参与绿原酸生物合成的酶,其中包括羟基肉桂酰辅酶A:奎尼酸羟基肉桂转移酶(hydroxycinnamoyl-CoA:quinic acid hydroxycinnamoyl transferase, HQT)、羟基肉桂酰辅酶A:莽草酸/奎尼酸羟基肉桂转移和对-香豆酸-3-羟化酶等。

绿原酸是对-香豆酰奎尼酸和咖啡酸的反应产物^[43],其主要生物合成途径有2种: I香豆酰奎尼酸途径和II咖啡酸途径。香豆酰奎尼酸途径是绿原酸合

成的主要途径,香豆酰奎尼酸在对-香豆酸-3-羟化酶的作用下,直接生成咖啡酰奎尼酸。在咖啡酸途径中,对-香豆酰辅酶A经过一系列关键酶的作用,生成中间产物——咖啡酰辅酶A,然后咖啡酰辅酶A在HQT的作用下,和奎尼酸发生酯化反应,生成绿原酸^[44]。咖啡酰辅酶A是咖啡酸途径上的中间产物,除了合成绿原酸外,这些关键酶还参与木质素的合成过程^[45](图1和表2)。

表2 酚类化合物生物合成途径中的关键酶
Table 2 Key enzymes in phenolic compounds biosynthesis

生物合成途径 Biosynthesis pathway	关键酶名称 Key enzyme name	主要功能 Major function	参考文献 References
Phenylpropanoid metabolism pathway	PAL (phenylalanine ammonia lyase)	PAL catalyzes the formation of trans-cinnamic acid from phenylalanine	[46]
	C4H (cinnamate 4-hydroxylase)	C4H catalyzes the formation of coumaric acid from cinnamic acid	[47]
	4CL (4-coumarate CoA ligase)	4CL catalyzes the production of p-coumaric acid to p-coumaroyl-CoA; 4CL isomer catalyzes caffeic acid to generate caffeoyl-CoA; Class I 4CLs are involved in the biosynthesis of lignin, while Class II 4CLs are involved in the biosynthesis of flavonoids and sinapylmalic acid	[48]
	CHS (chalcone synthase)	CHS combines malonyl-CoA and p-coumaroyl CoA to form chalcone	[49]
Flavonoids biosynthesis pathway	CHI (chalcone isomerase)	CHI quickly catalyzes the formation of a naringenin (flavonone) from chalcone	[50]
	IFS (isoflavone synthase)	IFS catalyzes the dehydrogenation of flavanones to form isoflavones	[51]
	FLS (flavonol synthase)	FLS catalyzes the hydroxylation of the C-3 position in the dihydroflavonol structure to form flavonols such as quercetin and kaempferol	[52]
	DFR (dihydroflavonol-4-reductase)	DFR catalyzes the production of leucocyanidin such as cyanidin, pelargonidin and delphinidin by dihydroflavonols	[53]
Non-flavonoids biosynthesis pathway	HQT (hydroxycinnamoyl-CoA:quinic acid hydroxycinnamoyl transferase)	I coumaroylquinic acid pathway: HQT catalyzes the production of p-Coumaroyl CoA to p-coumaroylquinic acid; II caffeic acid pathway: HQT catalyzes the transesterification of quinic acid and caffeoyl-CoA to produce chlorogenic acid	[54]
	HCT (hydroxycinnamoyl-CoA:quinic acid/shikimate hydroxycinnamoyl transferase)	The key enzyme in the biosynthetic pathway of lignin monomer, catalyzes the caffeoyl quinic acid/shikimic acid to convert into caffeoyl-CoA	[55]
	C3H (p-coumarate 3-hydroxylase)	C3H is located in the xylem, the rate-limiting enzyme of the lignin synthesis pathway, which controls the flow of lignin monomer carbon source; C3H catalyzes the formation of caffeoyl quinic acid/shikimic acid from p-coumaroylquinic acid/shikimic acid	[56-57]
	CCoAOMT (caffeoyl-CoA oxygen methyltransferase)	CCoAOMT catalyzes the production of caffeoyl-CoA to feruloyl-CoA, which then continues to undergo methylation to produce sinapoyl-CoA; Reversible reaction: CCoAOMT catalyzes feruloylquinic acid to feruloyl-CoA	[58]

3.2 萜类化合物和甾体皂苷

萜类化合物是一类由异戊二烯组成的烃类化合物, 根据异戊二烯的数量不同, 分为单萜、倍半萜、双萜、三萜、四萜和多萜等^[59]。萜类化合物既可以在植物体中防御病虫害, 又具有降糖、抗肿瘤、免疫抑制等药理活性^[60]。志远 (*Polygala tenuifolia*) 为志远科 (Polygalaceae) 多年生草本植物, 从志远中可分离出志远皂苷、酮类、糖酯等物质, 其中志远皂苷是主要的药用活性物质, 多达 50 多种, 而且都是齐墩果烷型五环三萜化合物。彭亮等^[61]对茉莉酸甲酯 (methyl jasmonate, MeJA) 处理后的志远幼苗进行转录组测序分析, 筛选出 59 个和志远三萜骨架生物合成相关的关键酶, 包括羟甲基戊二酰辅酶 A 还原酶 (hydroxymethylglutaryl CoA reductase, HMGR)、鲨烯合成酶 (squalene synthetase, SQS)、细胞色素 P450 单加氧酶 (cytochrome P450 monooxygenase, CYP450) 等, 并且在茉莉酸甲酯诱导后, 这些基因的表达量明显上调。转录组测序为后期解析远志三萜皂苷化合物的代谢途径提供了先决条件。

黄精 (*Polygonatum cyrtonema*) 为百合科 (Liliaceae) 黄精属 (*Polygonatum*) 多年生草本植物, 作为传统药材可以抗衰老、调节免疫、降血糖血脂、改善记忆力等^[62]。前人通过对黄精的深入研究, 已经分离出甾体皂苷、糖类、黄酮类等化学成分, 其中甾体皂苷是黄精的主要药用成分^[63]。廖荣俊等^[64]为了从基因水平上解析黄精甾体皂苷的次生代谢途径, 以多花黄精组培幼苗期的根茎为材料, 基于 Illumina 深度测序平台, 鉴定出了 113 条关键基因序列, 其分别编码 27 个与活性成分甾体皂苷生物合成相关的代谢酶。第二代测序技术有助于从分子水平上全面解析多花黄精次生代谢物的合成与调控机制。

萜类化合物和甾体皂苷的生物合成都要经历 3 个阶段: 前体供应、骨架合成、萜类或甾体皂苷的合成。萜类化合物和甾体皂苷的合成途径中前 2 个阶段相同, 第一阶段的最终产物是异戊烯焦磷酸 (isopentenyl pyrophosphate, IPP)。第二阶段最终合成 2,3-氧化角鲨烯 (2,3-oxidosqualene, OS), 2,3-氧化角鲨烯是甾体皂苷与萜类化合物的分支和前体物质, 被称为“下游代谢总开关”^[65]。第三阶段在不同的关键酶作用下, 2,3-氧化角鲨烯分别合成萜类化合物和甾体皂苷。第一阶段前体供应途径主要包括甲羟戊酸途径 (MVA) 和 2-C-甲基-4-D-赤藓糖醇-4-磷酸

途径 (MEP)。甲羟戊酸途径发生在细胞质中, 主要参与倍半萜和三萜等物质的合成; 2-C-甲基-4-D-赤藓糖醇-4-磷酸途径发生在质体中, 主要参与单萜、二萜等次生代谢物质的生物合成, 其中 MVA 途径起主导作用^[66]。

3.3 生物碱

生物碱类化合物在药用植物中广泛存在, 是人类最早认识的生物活性成分之一, 其中很多种类具有抗肿瘤活性。

延胡索 (*Corydalis yanhusuo*) 是罂粟科 (Papaveraceae) 紫堇属 (*Corydalis*) 的经典药材, 具有活血、扶正、止痛的功效^[67]。苜蓿基异喹啉生物碱 (benzylisoquinoline alkaloids, BIAs) 是延胡索中的主要生物活性成分, 能抑制肿瘤细胞增殖, 减轻急性、炎性和神经性疼痛。XU 等^[68]在高通量 Illumina HiSeq 平台上对延胡索进行了全长转录组学分析, 鉴定到了 101 个可能参与苜蓿基异喹啉生物碱生物合成途径的候选基因, 并根据这些发现构建了延胡索完整的苜蓿基异喹啉生物碱生物合成途径。全长转录组学研究明确了延胡索中镇痛成分的生物合成机制, 为后期功能基因组研究奠定了基础。

石蒜科植物因存在特有的石蒜科生物碱 (amaryllidaceae alkaloids, AAs) 代谢物而具有药用特性^[69]。石蒜科生物碱具有很强的药理活性, 其在石蒜科植物水仙的鳞茎中表现出很丰富的多样性。为了阐明石蒜科生物碱的生物合成途径, 发现新的生物合成酶, SINGH 等^[70]通过 Illumina HiSeq 2000 测序技术构建了‘金叶水仙’ (*Narcissus pseudonarcissus* ‘King Alfred’) 鳞茎组织的转录组数据集, 其中 73 081 603 个 reads 被组装成 195 347 个转录本。该转录组数据中包含编码 AAs 生物合成酶的所有基因及其完整序列, 其中酪氨酸脱羧酶 (tyramine decarboxylase, TYDC) 和去甲颠茄碱 4'-O-甲基转移酶 (norbelladine 4'-O-methyltransferase, N4OMT) 的表达水平高, 这与鳞茎中生物碱含量高呈正相关。转录组测序技术的应用不仅增进了对石蒜科药用植物‘金叶水仙’代谢途径的认识, 也对深入理解石蒜科生物碱生物合成的分子机制和寻找新的生物合成酶至关重要。

异喹啉类生物碱 (isoquinoline alkaloids, IQAs) 是粉防己 (*Stephania tetrandra*) 中最重要和最有效的药用成分。粉防己根中异喹啉类生物碱的含量远高于叶, 所以其根常被用作传统中药药材, 但是目前

对IQAs生物合成的分子机制还知之甚少。ZHANG等^[71]通过Illumina Hiseq X Ten测序对粉防己的根和叶进行比较转录组测序和分析,共获得了79个异喹啉生物碱相关的关键基因,其中42个差异表达基因在根中表达上调,这与异喹啉生物碱在根中的积累量增加一致。基于KEGG富集分析鉴定了编码IQAs前体生物合成酶的基因,包括*TAT*、*TYDC*、*NCS*、*6OMT*、*CNMT*和下游*CYP450*等候选基因。粉防己根和叶的比较转录组分析,揭示了粉防己中与异喹啉生物碱生物合成相关的候选基因,并为进一步研究该药用植物中IQAs生物合成的分子机制奠定了基础。

4 总结与展望

近30年来,随着高通量测序技术和其他组学技术的日益革新与发展,越来越多的药用植物全基因组测序已完成。随着测序技术的不断发展和完善,未来的基因测序将会实现更高的准确率、更低廉的成本、更长的读长、更短的运行时间、更高的通量等一系列目标,人们对药用植物的生物活性成分合成的分子机制等重大问题将会有更深刻细致的了解。此外,近年来广泛应用于药用植物研究的质谱成像(mass spectrometry imaging, MSI)技术可在组织或细胞水平上同时检测样本表面多种代谢物的分布及变化情况,未来若与基因组测序技术相结合,将有利于更准确地研究药用植物的生理生化功能。而对于药用植物活性物质合成途径的研究,需要鉴定其途径中的关键酶和基因并且验证其发挥的作用。这些基础研究成果可应用于药用植物的育种改良,必将会降低传统育种方法中存在的盲目性,有助于提高药用成分的产量与活性,为解决分子遗传育种改良、质量控制、优良功能基因的筛选等问题提供技术支撑。相比较于传统的植物提取或者化学合成方法获取药用植物的生物活性物质,这种方法避免了环境破坏、污染以及资源的过度开采等恶劣问题。可以预见,随着基因组学、转录组学和代谢组学等众多新兴组学的综合研究的开展,借助高通量与高效率相结合的优势,药用植物的现代生物学意义将会进一步被揭示,药用植物的研究也将被推入空前繁荣的新时代。此外,高质量基因组序列有助于植物研究者开展细胞生物学研究,LIU等^[72]通过裸子植物水青树(*Tetracentron sinense*)全基因组和细胞生

物学等分析,证实了珍稀濒危物种水青树中存在导管及导管发育的相关基因和调控途径,从而理清了百年来关于水青树中是否存在导管的争议。未来研究者有望通过基因组测序技术开展更深入的科学研究,从而解决更多的细胞生物学问题。

参考文献 (References)

- [1] MAXAM A M, GILBERT W. A new method for sequencing DNA [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1977, 74(2): 560-4.
- [2] SANGER F, NICKLEN S, COULSON A R. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1977, 74(12): 5463-7.
- [3] ANSORGE W J. Next-generation DNA sequencing techniques [J]. *New Biotechnol*, 2009, 25(4): 195-203.
- [4] MARGULIES M, EGHOLM M, ALTMAN W E, et al. Genome sequencing in microfabricated high-density picolitre reactors [J]. *Nature*, 2005, 437(7057): 376-80.
- [5] STEPHAN C S. Next-generation sequencing transforms today's biology [J]. *Nat Methods*, 2008, 5(1): 16-8.
- [6] BURGE C, KARLIN S. Prediction of complete gene structures in human genomic DNA [J]. *J Mol Biol*, 1997, 268(1): 78-94.
- [7] CIARKE J, WU H C, JAYASINGHE L, et al. Continuous base identification for single-molecule nanopore DNA sequencing [J]. *Nat Nanotechnol*, 2009, 4(4): 265.
- [8] MUNROE D J, HARRIS T. Third-generation sequencing fireworks at Marco Island [J]. *Nat Biotechnol*, 2010, 28(5): 426-8.
- [9] RHOADS A, AU K F. PacBio sequencing and its applications [J]. *Genom Proteom Bioinf*, 2015, 13(5): 278-89.
- [10] 刘海琳, 尹佟明. 全基因组测序技术研究及其在木本植物中的应用[J]. *南京林业大学学报(LIU H L, YIN T M. Progress on the whole genome sequencing and the application in woody plants [J]. Journal of Nanjing Forestry University)*, 2018, 42(5): 172-8.
- [11] PENG Z, XIA Y, XIAO G, et al. Genome sequence of the insect pathogenic fungus *Cordyceps militaris*, a valued traditional chinese medicine [J]. *Genome Biol*, 2011, 12(11): R116.
- [12] CHEN S L, XU J, LIU C, et al. Genome sequence of the model medicinal mushroom *Ganoderma lucidum* [J]. *Nat Commun*, 2012, 3(1): 717-42.
- [13] ZHANG G, TIAN Y, JING Z, et al. Hybrid *de novo* genome assembly of the Chinese herbal plant danshen (*Salvia miltiorrhiza* Bunge) [J]. *Gigascience*, 2015, 4(1): 62.
- [14] ZHANG J, TIAN Y, YAN L, et al. Genome of plant maca (*Lepidium meyenii*) illuminates genomic basis for high-altitude adaptation in the central andes [J]. *Mol Plant*, 2016, 9(7): 1066-77.
- [15] FU Y, LI L, HAO S, et al. Draft genome sequence of the Tibetan medicinal herb *Rhodiola crenulate* [J]. *GigaScience*, 2017, 6(6): 1-5.
- [16] DAN Z, XU J H, GAG L Z, et al. The medicinal herb *Panax notoginseng* genome provides insights into ginsenoside biosynthesis and genome evolution [J]. *Mol Plant*, 2017, 10(6): 903-7.
- [17] ZHANG L, LI X, MA B, et al. The tartary buckwheat genome provides insights into rutin biosynthesis and abiotic stress tolerance [J]. *Mol Plant*, 2017, 10(9): 1224-37.

- [18] LI G, THILO W, YANG X, et al. The opium poppy genome and morphinan production [J]. *Science*, 2018, 362(6412): 343-7.
- [19] QIAN S, 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): 776-88.
- [20] KIM N H, JAYAKODI M, LEE S C, et al. Genome and evolution of the shade-requiring medicinal herb *Panax ginseng* [J]. *Plant Biotechnol J*, 2018, 16(11): 1904-17.
- [21] WEI S, LIANG L, YIN Q, et al. The medicinal plant *Andrographis paniculata* genome provides insight into biosynthesis of the bioactive diterpenoid neoandrographolide [J]. *Plant J*, 2018, 97(5): 841-57.
- [22] ZHAO Q, YANG J, CUI M Y, et al. The reference genome sequence of *Scutellaria baicalensis* provides insights into the evolution of wogonin biosynthesis [J]. *Mol Plant*, 2019, 12(7): 935-50.
- [23] ZHANG F, YANG Z, WANG Z, et al. The complete chloroplast genome sequence of *Bupleurum scorzonerifolium* Willd. (Apiaceae) [J]. *Mitochondrial DNA B*, 2020, 5(2): 1998-9.
- [24] PU X, LI Z, TIAN Y, et al. The honeysuckle genome provides insight into the molecular mechanism of carotenoid metabolism underlying dynamic flower coloration [J]. *New Phytol*, 2020, 227(3): 930-43.
- [25] LI Y, WEI H, YANG J, et al. High-quality de novo assembly of the *Eucommia ulmoides* haploid genome provides new insights into evolution and rubber biosynthesis [J]. *Hortic Res*, 2020, 7(1): 183.
- [26] TU L, SU P, ZHANG Z, et al. Genome of *Tripterygium wilfordii* and identification of cytochrome P450 involved in triptolide biosynthesis [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 971.
- [27] KANG S H, PANDEY R P, LEE C M, et al. Genome-enabled discovery of anthraquinone biosynthesis in *Senna tora* [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 5875.
- [28] XIONG X, GOU J, LIAO Q, et al. The *Taxus* genome provides insights into paclitaxel biosynthesis [J]. *Nat Plants*, 2021, 10(6): 1026-36.
- [29] SU W, JING Y, LIN S, et al. Polyploidy underlies co-option and diversification of biosynthetic triterpene pathways in the apple tribe [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2021, 118(20): e2101767118.
- [30] JIANG P, XU G, HE Y, et al. Complete chloroplast genome of *Alternanthera philoxeroides* by *de novo* sequencing [J]. *Mitochondrial DNA B*, 2021, 6(7): 1826-8.
- [31] ZHENG Y, ZHANG W J, WANG X M. Triptolide with potential medicinal value for diseases of the central nervous system [J]. *Cns Neurosci Ther*, 2013, 19(2): 76-82.
- [32] ENGLISH A C, SALERNO W J, HAMPTON O A, et al. Assessing structural variation in a personal genome—towards a human reference diploid genome [J]. *BMC Genomics*, 2015, 16(1): 286.
- [33] TAJIK N, TAJIK M, MACK I, et al. The potential effects of chlorogenic acid, the main phenolic components in coffee, on health: a comprehensive review of the literature [J]. *Eur J Nutr*, 2017, 56(7): 2215-44.
- [34] FERNAND V E, DINH D T, WASHINGTON S J, et al. Determination of pharmacologically active compounds in root extracts of *Cassia alata* L. by use of high performance liquid chromatography [J]. *Talanta*, 2008, 74(4): 896-902.
- [35] 诸姮, 胡宏友, 卢昌义, 等. 植物体内的黄酮类化合物代谢及其调控研究进展 [J]. *厦门大学学报 (ZHU Y, HU H Y, LU C Y, et al. Progresses on flavonoid metabolism in plants and its regulation [J]. Journal of Xiamen University)*, 2007(S1): 136-43.
- [36] YANG L, FANG S, YANG W, et al. Light quality affects flavonoid production and related gene expression in *Cyclocarya paliurus* [J]. *J Photochem Photobiol B*, 2018, 179: 66-73.
- [37] WU Z, LIU H, ZHAN W, et al. The chromosome-scale reference genome of safflower (*Carthamus tinctorius*) provides insights into linoleic acid and flavonoid biosynthesis [J]. *Plant Biotechnol J*, 2021, 19(9): 1725-42.
- [38] 许明, 杨志坚, 黄学敏, 等. 藤茶高通量转录组分析及黄酮类化合物合成相关基因挖掘 [J]. *南方农业学报 (XU M, YANG Z J, HUANG X M, et al. Transcriptome analysis of *Ampelopsis grossedentata* (Hand.Mazz.) W. T. Wang and mining of putative genes involved in flavonoid biosynthesis [J]. Journal of Southern Agriculture)*, 2020, 51(8): 1797-805.
- [39] PENG X, LIU H, CHEN P, et al. A chromosome-scale genome assembly of paper mulberry (*Broussonetia papyrifera*) provides new insights into its forage and papermaking usage [J]. *Mol Plant*, 2019, 12(5): 661-77.
- [40] YAO R L, ZHAO Y C, LIU T T, et al. Identification and functional characterization of a p-coumaroyl CoA 2'-hydroxylase involved in the biosynthesis of coumarin skeleton from *Peucedanum praeruptorum* Dunn [J]. *Plant Mol Biol*, 2017, 95(1/2): 199-213.
- [41] LIU T, YANG J, LIU S, et al. Regulation of chlorogenic acid, flavonoid, and iridoid biosynthesis by histone H3K4 and H3K9 methylation in *Lonicera japonica* [J]. *Mol Biol Rep*, 2020, 47(12): 1-11.
- [42] XIONG J, LI S, WANG W, et al. Screening and identification of the antibacterial bioactive compounds from *Lonicera japonica* Thunb. Leaves [J]. *Food Chemistry*, 2013, 138(1): 327-33.
- [43] 杨银菊, 陈爱国, 刘光亮, 等. 烟草绿原酸生物合成途径关键酶基因的研究进展 [J]. *现代农业科技 (YANG Y J, CHEN A G, LIU G L, et al. Research progress on key enzyme genes in chlorogenic acid biosynthesis pathway [J]. Modern Agricultural Science and Technology)*, 2018(13): 5-8,10.
- [44] CADENA-ZAMUDIO J D, NICASIO-TORRES M, MONRIBOT-VILLANUEVA J L, et al. Integrated analysis of the transcriptome and metabolome of *Cecropia obtusifolia*: a plant with high chlorogenic acid content traditionally used to treat diabetes mellitus [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(20): 7572.
- [45] TIAN X M, XIE J, ZHAO Y L, et al. Sense-, antisense- and RNAi-4CL1 regulate soluble phenolic acids, cell wall components and growth in transgenic *Populus tomentosa* Carr [J]. *Plant Physiol Bioch*, 2013, 65: 111-9.
- [46] TSAI C J, HARDING S A, TSCAPLINSKI T J, et al. Genome-wide analysis of the structural genes regulating defense phenylpropanoid metabolism in *Populus* [J]. *New Phytol*, 2010, 172(1): 47-62.
- [47] HOUARI I E, BEIRS C V, ARENTS H E, et al. Seedling developmental defects upon blocking CINNAMATEYDROXYLASE are caused by perturbations in auxin transport [J]. *New Phytol*, 2021, 230(6): 2275-91.
- [48] LI Y, KIM J I, PYSH L, et al. Four isoforms of Arabidopsis 4-coumarate CoA ligase have overlapping yet distinct roles in phenylpropanoid metabolism [J]. *Plant Physiol*, 2015, 169(4):

- 2409-21.
- [49] KONG X, KHAN A, LI Z, et al. Identification of chalcone synthase genes and their expression patterns reveal pollen abortion in cotton [J]. *Saudi J of Biol Sci*, 2020, 27(12): 3691-9.
- [50] ZHU J, ZHAO W, LI R, et al. Identification and characterization of chalcone isomerase genes involved in flavonoid production in *Dracaena cambodiana* [J]. *Front Plant Sci*, 2021, 12: 616396.
- [51] POKHREL S, PONNIAH S K, JIA Y, et al. Transgenic rice expressing isoflavone synthase gene from soybean shows resistance against blast fungus (*Magnaporthe oryzae*) [J]. *Plant Dis*, 2021, doi: 10.1094/PDIS-08-20-1777-RE.
- [52] HOU M, ZHANG Y, MU G, et al. Molecular cloning and expression characterization of flavonol synthase genes in peanut (*Arachis hypogaea*) [J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 17717.
- [53] XUE Q, FAN H, YAO F, et al. Transcriptomics and targeted metabolomics profilings for elucidation of pigmentation in *Lonicera japonica* flowers at different developmental stages—ScienceDirect [J]. *Ind Crop Prod*, 2020, 145: 111981.
- [54] HOFFMANN L, BESSEAU S, GEOFFROY P, et al. Silencing of hydroxycinnamoyl-coenzyme a shikimate/quinic acid hydroxycinnamoyltransferase affects phenylpropanoid biosynthesis [J]. *Plant Cell*, 2004, 16(6): 1446-65.
- [55] NIGGEWEG R, MICHAEL A J, MARTIN C. Engineering plants with increased levels of the antioxidant chlorogenic acid [J]. *Nat Biotechnol*, 2004, 22(6): 746-54.
- [56] 李高, 杨杞, 张烨, 等. 柠条锦鸡儿香豆酸-3-羟化酶基因克隆及其功能初步研究 [J]. *中国生物工程杂志* (LI G, YANG Q, ZHANG Y, et al. Cloning and sequence analysis of the CkC3H gene from *Caragana korshinskii* Kom. and preliminary studies of its function [J]. *China Biotechnology*), 2013, 33(4): 61-7.
- [57] ZHANG H, STEPHANOPOULOS G. Engineering *E. coli* for caffeic acid biosynthesis from renewable sugars [J]. *Appl Microbiol Biot*, 2013, 97(8): 3333-41.
- [58] 朱胜琪, 徐德宝, 王永鑫, 等. 水芹咖啡酰辅酶A-O-甲基转移酶基因的克隆与表达特性分析 [J]. *南京农业大学学报* (ZHU S Q, XU D B, WANG Y X, et al. Cloning and expression characteristics analysis of caffeoyl-CoA O-methyltransferase gene in *Oenanthe javanica* [J]. *Journal of Nanjing Agricultural University*), 2019, 42(1): 51-8.
- [59] LI J, WANG Y, DONG Y, et al. Correction: the chromosome-based lavender genome provides new insights into Lamiaceae evolution and terpenoid biosynthesis [J]. *Hortic Res*, 2021, 8(1): 53.
- [60] 时敏, 王瑶, 周伟, 等. 药用植物萜类化合物的生物合成与代谢调控研究进展 [J]. *中国科学: 生命科学* (SHI M, WANG Y, ZHOU W, et al. Research progress in terms of the biosynthesis and regulation of terpenoids from medicinal plants [J]. *Scientia Sinica, Vitae*), 2018, 48(4): 352-64.
- [61] 彭亮, 颜永刚, 陈莹, 等. 茉莉酸甲酯诱导下远志幼苗转录组分析及三萜类生物合成途径关键酶基因挖掘 [J]. *中草药* (PENG L, YAN Y G, CHEN Y, et al. Transcriptome analysis of *Polygala tenuifolia* seedlings induced by methyl jasmonate and key genes mining for triterpenoid biosynthetic pathway [J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*), 2020, 668(9): 250-62.
- [62] XIE Y, JIANG Z, YANG R, et al. Polysaccharide-rich extract from *Polygonatum sibiricum* protects hematopoiesis in bone marrow suppressed by triple negative breast cancer [J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 137(6): 111338.
- [63] 宁火华, 袁铭铭, 邬秋萍, 等. 多花黄精化学成分分离鉴定 [J]. *中国实验方剂学杂志* (NING H H, YUAN M M, WU Q P, et al. Identification of chemical constituents from *Polygonatum cyrtoneuma* [J]. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*), 2018, 24(22): 77-82.
- [64] 廖荣俊, 杨阳, 叶碧欢, 等. 多花黄精根茎的转录组分析与甾体皂苷生物合成相关基因发掘 [J]. *中国中药杂志* (LIAO R J, YANG Y, YE B H, et al. Transcriptome analysis of rhizome of *Polygonatum cyrtoneuma* and identification of candidate genes involved in biosynthetic pathway of steroidal saponin [J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*), 2020, 45(7): 1648-56.
- [65] 王黎, 胡静, 赵宏光, 等. 药用植物萜类化合物代谢合成途径及相关功能基因研究进展 [J]. *中兽医医药杂志* (WANG L, HU J, ZHAO H G, et al. Research progress on terpenoid metabolic synthesis pathway and related function genes in medicinal plants [J]. *Journal of Traditional Chinese Veterinary Medicine*), 2018, 37(5): 38-41.
- [66] CHENG A X, LOU Y G, MAO Y B, et al. Plant terpenoids: biosynthesis and ecological functions [J]. *J Integr Plant Biol*, 2010, 49(2): 179-86.
- [67] HUANG W, PAN Y, JIANG H, et al. A comprehensive quality evaluation method of *Corydalis yanhusuo* by HPLC fingerprints, chemometrics and correlation analysis [J]. *J Sep Sci*, 2021, 44(10): 2054-64.
- [68] XU D, LIN H, TANG Y, et al. Integration of full-length transcriptomics and targeted metabolomics to identify benzyloisoquinoline alkaloid biosynthetic genes in *Corydalis yanhusuo* [J]. *Hortic Res*, 2021, 8(1): 16.
- [69] SZLÁVIK L, GYURIS A, MINÁROVITS J, et al. Alkaloids from *Leucojum vernum* and antiretroviral activity of Amaryllidaceae alkaloids [J]. *Planta Med*, 2004, 70(9): 871-3.
- [70] SINGH A, DESGAGNE-PENIX I. Transcriptome and metabolome profiling of *Narcissus pseudonarcissus* 'King Alfred' reveal components of Amaryllidaceae alkaloid metabolism [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 17356.
- [71] ZHANG Y, KANG Y, XIE H, et al. Comparative transcriptome analysis reveals candidate genes involved in isoquinoline alkaloid biosynthesis in *Stephania tetrandra* [J]. *Planta Med*, 2020, 86(17): 1258-68.
- [72] LIU P, ZHANG X, MAO J, et al. The Tetracentron genome provides insight into the early evolution of eudicots and the formation of vessel elements [J]. *Genome Biol*, 2020, 21(1): 291.