

植物萜类生物合成中的后修饰酶

李军玲^{1,2}, 罗晓东¹, 赵沛基¹, 曾英¹

(1 中国科学院昆明植物研究所植物化学与西部植物资源持续利用国家重点实验室,
云南 昆明 650204; 2 中国科学院研究生院, 北京 100049)

摘要: 萜类化合物由于其结构类型丰富多样而被称为“terpenome”。除了参与植物生长发育、环境应答等生理过程, 萜类化合物还应用于医药、有机化工等领域。萜类的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数以万计的萜类化合物。结合我们对香茶菜二萜生物合成的初步研究结果, 本文主要针对近年来植物萜类生物合成中的一些有代表性的后修饰酶包括 P450 单氧酶、双键还原酶、酰基转移酶和糖基转移酶, 进行研究现状分析与展望。

关键词: 萜类合酶; 后修饰; P450 单氧酶; 双键还原酶; 酰基转移酶; 糖基转移酶

中图分类号: Q 946

文献标识码: A

文章编号: 0253-2700 (2009) 05-461-08

Post-modification Enzymes Involved in the Biosynthesis of Plant Terpenoids

LI Jun-Ling^{1,2}, LUO Xiao-Dong¹, ZHAO Pei-Ji¹, ZENG Ying^{1**}

(1 State Key Laboratory of Phytochemistry and Plant Resources in West China, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204, China; 2 Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: Terpenoids are called “terpenome” for their structural diversities. Besides their important roles in plant growth, development and environmental responses, terpenoids have been widely used in medicine and organic chemicals. The biosynthesis of terpenoids in plants can be conceptually divided into three discrete processes: the formation of terpene precursors, the construction of terpene skeletons, followed by the complex post-modifications. After the skeleton construction by terpene synthases (TPS), diverse reactions catalyzed by the responsible post-modification enzymes result in tens of thousands of terpenoids. In this paper, with our preliminary studies on the biosynthesis of *Isodon* diterpenes, a number of representative post-modification enzymes of plant terpenoids formation reported in recent years are reviewed, which include P450 monooxidases, double-bond reductases, acyltransferases and glycosyltransferases.

Key words: Terpene synthases; Post-modification; P450 monooxidases; Double-bond reductases; Acyltransferases; Glycosyltransferases

萜类是自然界中种类最多、结构多样的一类天然产物, 人们已经从各种生物中分离鉴定了 55 000 多种萜类化合物 (Christianson, 2008), 大部分是从植物中分离获得。有的萜类是植物生长发育所必须, 如赤霉素等植物激素、参与光合作

用的类胡萝卜素、组成细胞膜成分中的甾体及参与电子传递的醌类等; 有的则在植物与环境的相互作用中起着重要的作用, 如以植物抗毒素的形式直接参与植物的防御体系, 或作为植物受到动物和病原菌侵袭后的信号物质间接参与; 此外萜

基金项目: 国家重点实验室专项经费资助 (0807F01211)

通讯作者: Author for correspondence; E-mail: biochem@mail.kib.ac.cn

收稿日期: 2009-06-01, 2009-07-13 接受发表

作者简介: 李军玲 (1983-) 女, 在读硕士研究生, 主要从事植物二萜合酶研究。

类化合物还有广泛的商业价值，可以用作香料、药物（如：抗癌药物紫杉醇，抗疟疾的青蒿素），也可以用作杀虫剂、甜味剂、工业原料等（Gershenson and Dudareva, 2007）。

植物萜类的生物合成途径已基本阐明，一条是位于细胞质中的甲羟戊酸途径（mevalonate pathway, MVA）（Newman and Chappell, 1999），主要合成倍半萜、甾体、泛醌侧链、三萜；一条位于质体的脱氧木酮糖-5-磷酸途径（1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate pathway, DXP）（Lichtenthaler, 1999），主要合成半萜、单萜、某些倍半萜、二萜、类胡萝卜素、叶绿素侧链、质体醌。拟南芥中进行的代谢阻断实验表明这两条途径之间并不是隔绝的，而是存在 cross-talk，IPP 作为两条途径的共同中间体很可能是传递者（Laule 等, 2003），这种 cross-talk 现象在烟草和金鱼草等许多其它植物中也有发现（Hemmerlin 等, 2003；Dudareva 等, 2005），但 IPP 如何跨膜传递的机理仍不清楚。萜类生物合成可分为 3 个阶段：（1）前体形成（包括起始单元 IPP（isopentenyl diphosphate）及其异构体 DMAPP（dimethylallyl diphosphate）、直接前体 GPP（geranyl diphosphate），FPP（farnesyl diphosphate），GGPP（geranylgeranyl diphosphate），GFPP（geranylgeranyl diphosphate））；（2）骨架构建（单萜、倍半萜、二萜、二倍半萜、三萜等萜类骨架的形成）；（3）后修饰（氧化还原、酰化、糖基化等）。当前，与萜类合成相关酶类的研究主要集中在前两个阶段的萜类合酶，后修饰阶段的后修饰酶种类繁多，其作用机制复杂，目前研究较少。

起始单元 IPP 和 DMAPP，加上前体 GPP、FPP、GGPP 和 GFPP 共 6 个结构单元，却能形成千差万别的萜类化合物，这主要是因为萜类生物合成途径中关键酶萜类合酶基因超家族的进化以及后修饰酶的存在。植物合成的萜类化合物，并不是由前体简单环化或经一步反应得到的产物，大多都含有特殊的基团修饰甚至其骨架结构发生重排，包括羟化、糖基化、甲基化、异构化、环氧化、加成和还原、卤化等反应，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。本文结合我们对香茶菜二萜生物合成的初步研究结果，以氧化酶为重点综述萜类生物合成中后修饰类型及其相应的酶。

1 氧化酶

氧化是萜类后修饰中最常见的方式，在单萜、倍半萜、二萜、三萜的生物合成中都有相关氧化酶报道，其中绝大部分是细胞色素 P450 依赖的单加氧酶（CYPs, cytochrome P450-dependent mono-oxygenases），定位于内质网；部分是依赖 2-酮戊二酸的双加氧酶（2-oxoglutarate-dependent dioxygenase），少数是短链脱氢酶（short-chain dehydrogenase reductase）。

1.1 单萜氧化酶

单萜的进一步修饰通常起始于由特异的 P450 催化完成单萜骨架不同部位发生的羟基化反应。薄荷是研究单萜的模式植物，其挥发油中的主要成分是薄荷醇，其生物合成前期修饰步骤如下（图 1）：GPP 经 (-)-limonene synthase 环化后

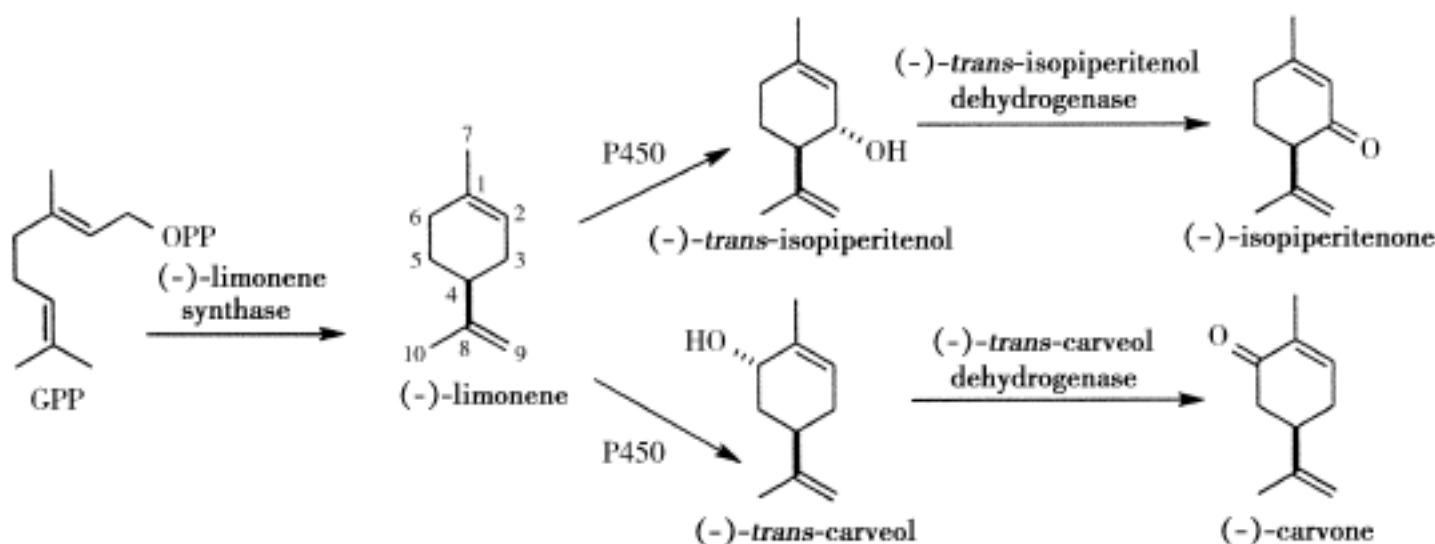


图 1 薄荷醇生物合成中的 P450 单氧酶和脱氢酶（Ringer 等, 2005）

Fig. 1 P450 mono-oxidases and dehydrogenases in the biosynthesis of menthol

形成(-)-limonene (Colby 等, 1993), 其后胡椒薄荷 (*Mentha × piperita*) 中第一步反应就是(-)-limonene 在 3-allylic hydroxylase 催化下 C-3 被羟基化, 生成(-)-*trans*-isopiperitenonol, 然后由(-)-*trans*-isopiperitenonol dehydrogenase 催化生成(-)-isopiperitenone; 在荷兰薄荷 (*Mentha spicata*) 中(-)-limonene 在 6-allylic hydroxylase 催化下 C-6 被羟基化, 生成(-)-*trans*-carveol, 再由(-)-*trans*-carveol dehydrogenase 催化生成(-)-carvone。上述两种羟化酶都是 P450 单氧酶, 一级序列相似度为 70%; 两种脱氢酶氨基酸相似度达到 99%, 属于短链脱氢酶家族, 但与合成(-)-menthol 途径中的双键还原酶相似度很低 (Lupien 等, 1999; Haudenschild 等, 2000; Ringer 等, 2005)。

1.2 倍半萜氧化酶

青蒿素 (artemisinin) 是从黄花蒿 (*Artemisia annua* L.) 中分离得到的抗疟疾的倍半萜过氧化物, 详细的生物合成途径尚不完全清楚。从黄花

蒿腺毛簇 cDNA 文库筛选得到一多功能的 P450 氧化酶 (CYP71AV1), 可以催化 FPP 环化产物 amorpha-4, 11-diene 到 artemisinic acid 的多步氧化反应 (Teoh 等, 2006; Covello 等, 2007) (图 2)。

亚洲棉 (*Gossypium arboreum* L.) 中与棉籽酚合成相关的一个 P450 单氧酶 (CYP706B1) 是 CYP706 蛋白家族第一个功能确定的酶, 基因组中只存在一个拷贝, 可以催化(+)- δ -cadinene 生成 8-hydroxy-(+)- δ -cadinene (Luo 等, 2001) (图 3)。

1.3 二萜氧化酶

在裸子植物中存在多种萜类化合物, 参与植物抵抗病虫害, 这与植物 TPS 家族和 CYPs 的关系密切。目前发现的裸子植物 P450 酶局限于红豆杉和火炬松, 而在被子植物萜类生物合成中有 P450 酶参与的主要是植物激素赤霉素 (gibberellin, GA) 的合成。

松科植物中 P450 酶参与了 DRAs (diterpene resin acid) 的生物合成。Ro 等首次从火炬松 (*Pinus*

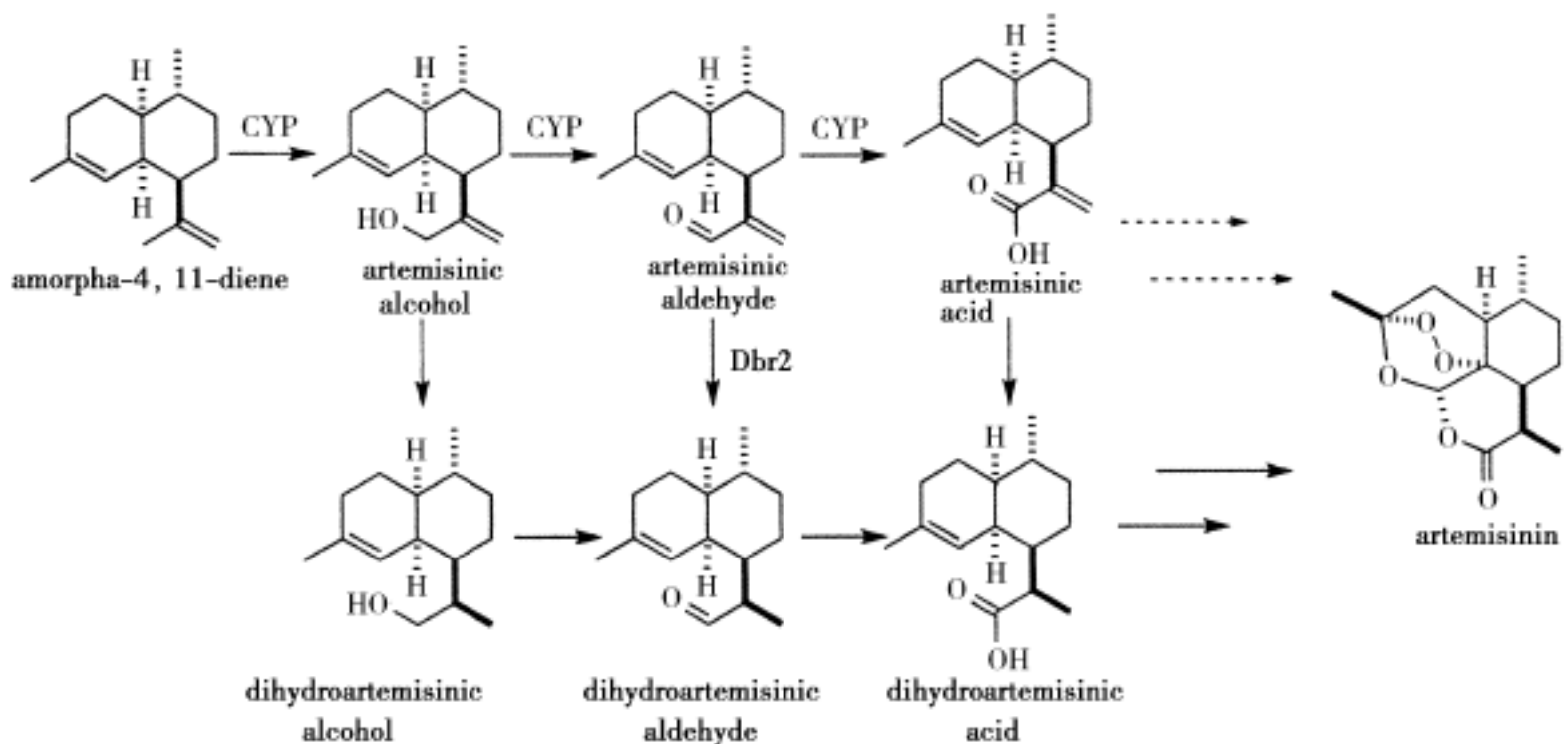


图 2 从 amorpha-4, 11-diene 起始的理论上青蒿素生物合成途径 (Covello 等, 2007)

Fig. 2 Theoretical pathways for the biosynthesis of artemisinin from amorpha-4, 11-diene



图 3 CYP706B1 催化的羟化反应

Fig. 3 The hydroxylation catalyzed by CYP706B1

taeda) 中克隆鉴定了一个多功能多产物的 P450 氧化酶 (CYP720B1, abietadienol abietadienal oxidase (PtAO)), 可以催化火炬松 DRAs 合成过程几种中间产物的连续氧化反应 (Ro 等, 2005; Ro and Bohlmann, 2006) (图 4)。

紫杉醇 (图 5) (paclitaxel, 商品名 Taxol) 是从红豆杉属植物中提取分离出来的一种紫杉烷类

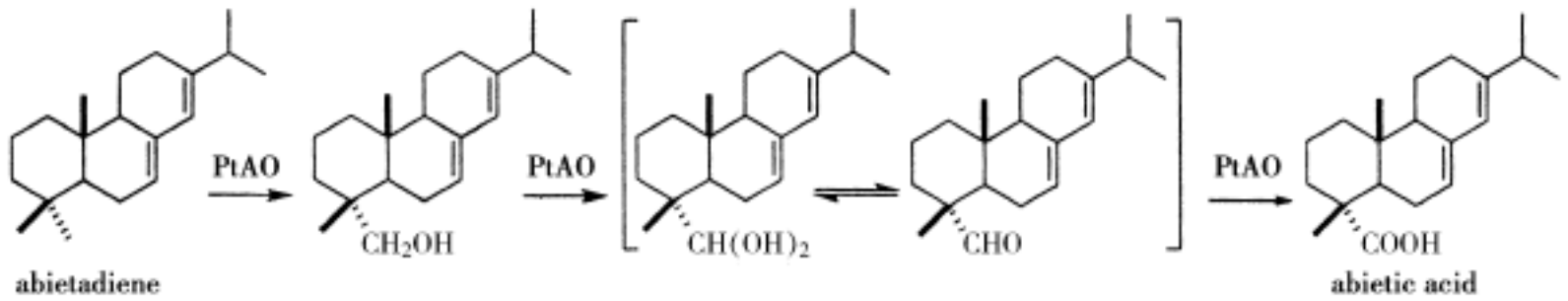


图 4 PtAO 催化的反应 (Ro 等, 2005)

Fig .4 Reactions catalyzed by PtAO

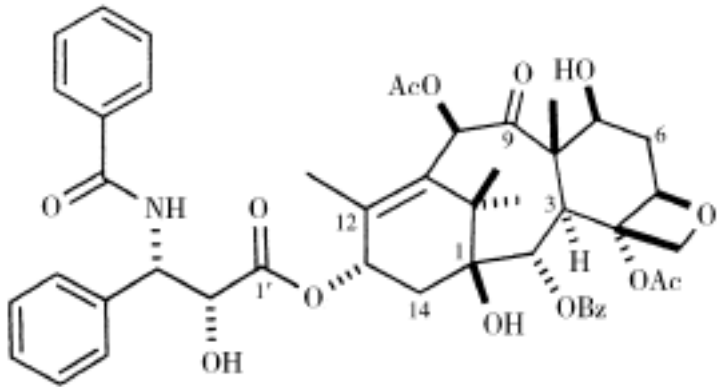


图 5 紫杉醇结构

Fig .5 The structure of paclitaxel

二萜化合物，是治疗肿瘤的重要药物。在紫杉醇天然生物合成途径中总共存在 8 次由 P450 酶介导的氧化反应，包括 C - 5、C - 10、C - 2、C - 9、C - 13、C - 7、C - 1 共 7 次羟基化反应和 C4, C20 环氧化反应。其中 C5 -hydroxylase、C10 -hydroxylase、C2 -hydroxylase、C9 -hydroxylase、C13 -hydroxylase、C7 -hydroxylase 已经得到成功地克隆和

表达，并表现出相应的催化活性；C1 -hydroxylase 和 C4, C20-epoxidase 还没有克隆到相应的基因，而 C - 9 酮基和 D 环的形成仍不清楚 (Croteau 等, 2006)。

赤霉素 (GAs) 是高等植物体内调控发育的重要二萜类激素，其表达调控研究较深入。GAs 是由 TPS、P450 单氧酶和依赖 2-酮戊二酸的双加氧酶催化形成 (图 6)。其中 C - 19、C - 7 的连续氧化是由 P450 单氧酶催化完成，形成的 GAs 之间的相互转化则是由依赖 2-酮戊二酸的双加氧酶 (GA 20-oxidase、GA 3-oxidase、GA 2-oxidase) 催化完成 (Yamaguchi, 2006)。

唇形科 (Labiatae) 香茶菜属 (*Isodon*) 植物富含对映 - 贝壳杉烷类二萜 (*ent*-kauranoids) 化合物，具有抗菌、消炎、抗肿瘤等生物活性 (Sun 等, 2006)，但其生物合成途径尚不清楚。香茶菜二萜的生物合成后修饰主要是氧化 (C - 1、C - 3、

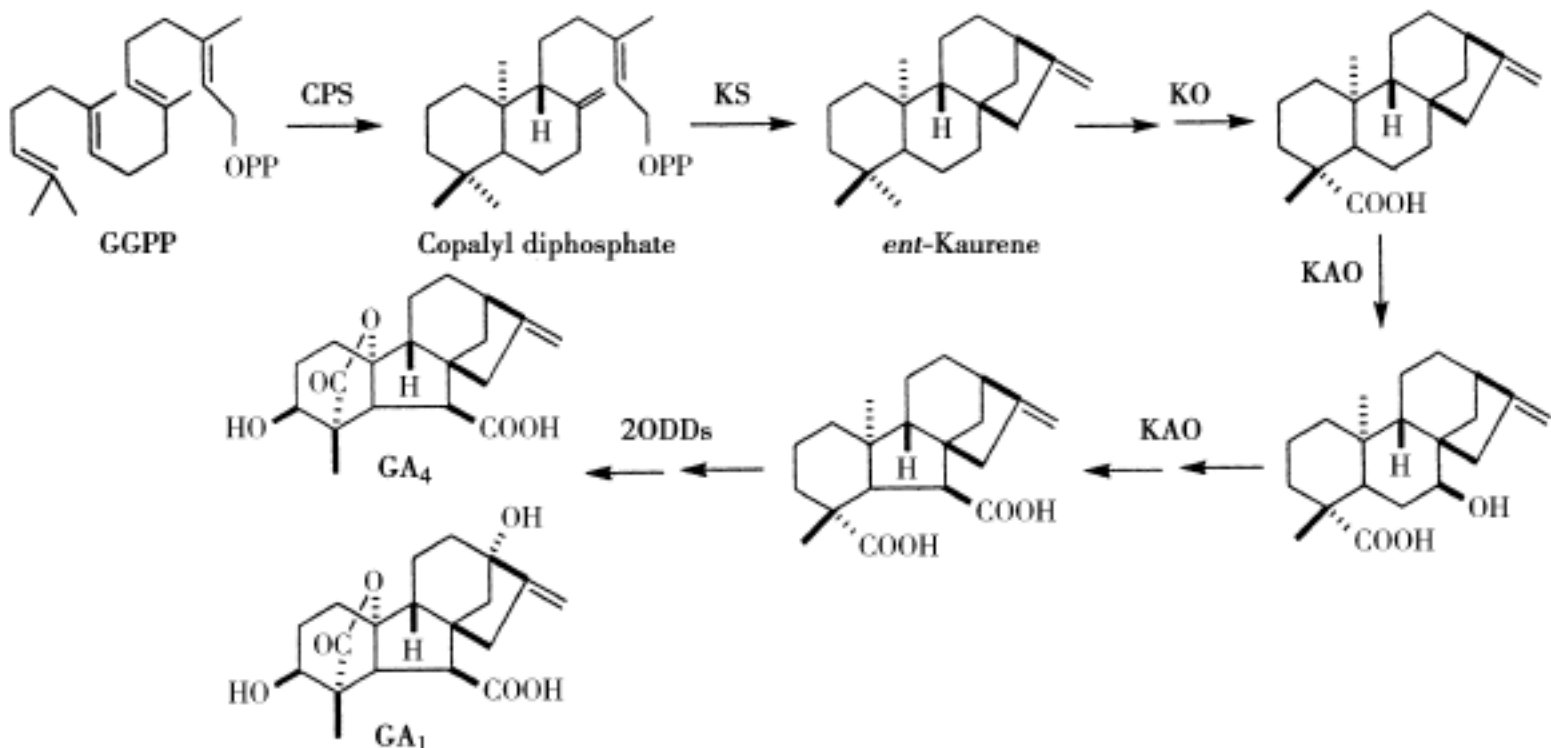


图 6 植物中赤霉素生物合成途径

Fig .6 GA biosynthesis pathway in plants (CPS: copalyl pyrophosphate synthase; KS: kaurene synthase; KO: kaurene oxidase; KAO: kaurene acid oxidase; 2ODDs: 2-oxoglutarate-dependent dioxygenase)

C-6、C-7、C-11、C-14、C-15 等) 与环氧化 (C3, C20 环氧、C7, C20 环氧化、C14, C20 环氧化或双环氧化等), 推测需要不同的氧化酶参与完成。本实验室利用基因同源克隆的方法, 首次从毛萼香茶菜 (*Isodon eriocalyx* (Dunn) Kudo) 叶片中克隆得到一新的贝壳杉烯氧化酶 (kaurene oxidase, KO) 类似基因 (IeKO), 经在线 Blastx 比对发现, IeKO 与甜叶菊 (*Stevia rebaudiana* Bert.) 贝壳杉烯氧化酶 (accession: AY995178.1) 的氨基酸序列相似度为 70%, 推测该酶可能参与香茶菜二萜生物合成中的一个或多个氧化步骤 (图 7)。此外, 我们还获得了两个 CPS (copalyl pyrophosphate synthase) 类似基因, KS (kaurene synthase) 基因克隆正在实验中。

1.4 三萜氧化酶

甘草甜素 (glycyrrhizin) 是具有重要经济和药用价值的三萜皂苷, 其早期骨架合成的两个关键酶 squalene synthase (SQS) 和 β -amyrin synthase (β -AS) 已被成功克隆鉴定 (Hayashi 等, 1999, 2001)。Seki 等 (2008) 利用 EST 技术首次从欧

亚甘草 (licorice) 的匍匐枝中成功克隆了一个 P450 单氧酶 CYP88D6 (AB433179), 体外实验证明该酶可能催化 β -amyrin 经 11-hydroxy- β -amyrin 生成 11-oxo- β -amyrin 的两步氧化反应 (图 8)。该基因在根和匍匐枝中表达, 但在叶片和茎检测不到, 而催化 C-30 的连续氧化和 C-3 羟基糖基化的基因尚未得到克隆。

2 双键还原酶

Ringer 等 (2003) 通过构建胡椒薄荷油腺分泌细胞 cDNA 文库, 分离得到薄荷醇合成过程中的两个关键双键还原酶基因, 这是萜类代谢中第一次对还原酶的描述。这两种酶都依赖于 NADPH, 序列相似性只有 12%, (-)-isopiperitenone reductase 属短链脱氢酶家族, 而 (+)-pulegone reductase 属中链脱氢酶家族, 因此这两种脱氢酶的起源是不同的。Davis 等 (2005) 从胡椒薄荷中分离到的 (-)-menthol reductase 和 (+)-neomenthol reductase 同样是依赖 NADPH 的还原酶 (图 9)。

Zhang 等 (2008) 通过酶蛋白分离、质谱分析

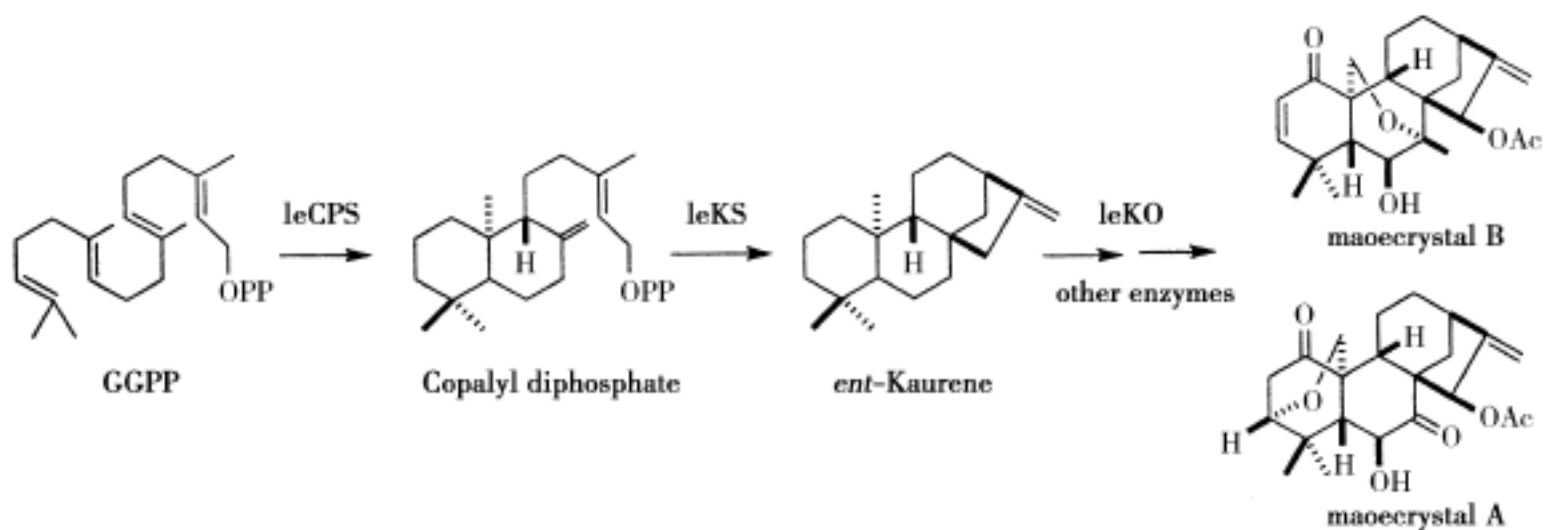


图 7 香茶菜对映-贝壳杉烷类二萜的生物合成推测途径

Fig. 7 The deduced biosynthesis pathway of *Isodon ent-kauranoids*

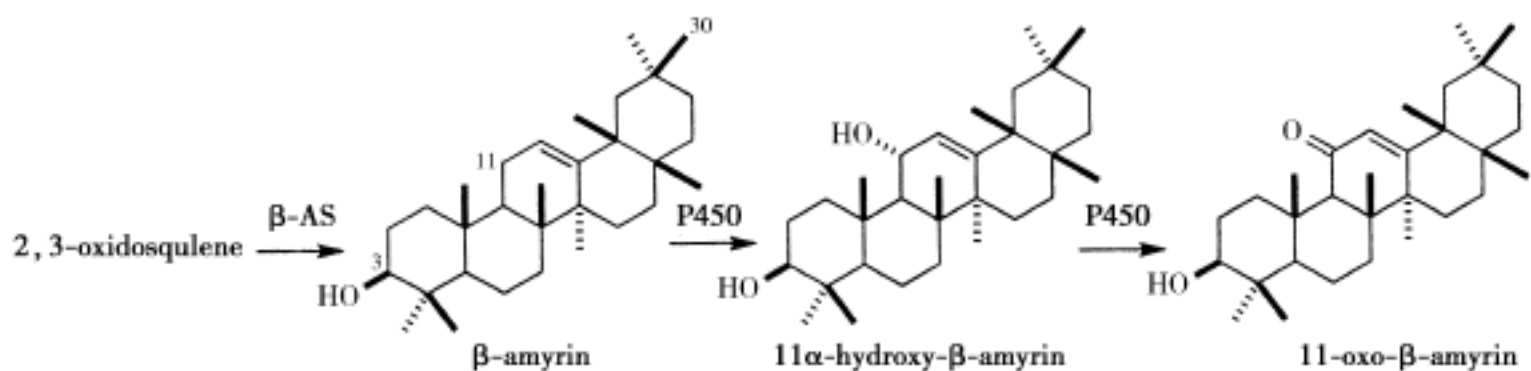


图 8 甘草甜素生物合成中 P450 催化的氧化反应 (Seki 等, 2008)

Fig. 8 Reactions catalyzed by P450 in the biosynthesis of glycyrrhizin

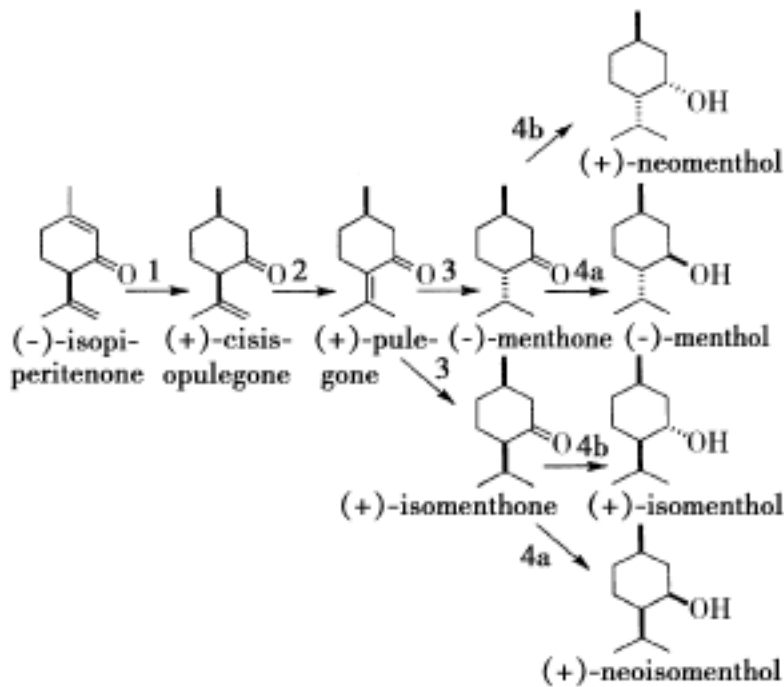


图 9 薄荷醇生物合成中双键还原酶催化的反应 (Davis 等, 2005)

Fig. 9 Reactions catalyzed by double-bond reductases in the biosynthesis of menthol

- 1: (-)-isopiperitenone reductase; 2: (+)-cis-isopulegone isomerase;
- 3: (+)-pulegone reductase; 4a: (-)-menthol reductase;
- 4b: (+)-neomenthol reductase

及 EST 分析, 从黄花蒿中克隆到一双键还原酶 (Dbr2), 它属于烯醇还原酶家族, 催化 artemisinic aldehyde 生成 dihydroartemisinic aldehyde (图 2)。

3 酰基转移酶

紫杉醇生物合成途径的后修饰过程存在 5 次酰基转移反应。通过对天然紫杉烷类化合物含量分析和化学结构推测, 酰基化反应是与羟基化交

错进行的, 即羟基上的一些酰基化反应可先于新的羟基化反应发生。2000 年以来, 紫杉醇生物合成中 5 个酰基化反应的酶 taxadien-5 -ol-O-acetyl transferase、taxoid-2 -O-benzoyl transferase、taxoid-10 -O-acetyl transferase、3-amino-3-phenylpropanoyl transferase 和 3 -N-debenzoyl-2 -deoxytaxol N-benzoyl transferase 先后被成功的克隆和表达 (Croteau 等, 2006)。这几条酰基转移酶氨基酸序列相似性在 56% 左右。

4 糖基转移酶

萜类与糖形成苷是常见的后修饰方式, 单萜、二萜、三萜都有成苷的化合物。已克隆的糖基转移酶基因大都与二萜、三萜的糖基化相关, 预测植物中多数糖基转移酶是细胞质可溶性酶, 所发现的糖基转移酶氨基酸序列相似度在 20% ~ 36% 间。

甜叶菊叶片中含有以对映 - 贝壳杉烯 (ent-kaurene) 骨架为母核, 与不同糖基组成的至少 8 种甜菊苷, 其生物合成途径起始与赤霉素相同, 但在形成 kaurene acid 之后出现分歧, kaurene acid 经羟化反应生成甜菊醇 (steviol), 此后经过 4 次糖基化最终形成甜菊苷 A (rebaudioside A)。Humphrey 等从甜叶菊中克隆得到 3 个糖基转移酶——UGT85C2, UGT74G1, UGT76G1。UGT85C2 催化 C - 13 位-OH 糖基化, UGT74G1 催化 C - 19 位-COOH 糖基化, 而 UGT76G1 催化 13-O-Glucose 上的 C - 2 和 C - 3 糖基化 (图 10), GFP 融合表达

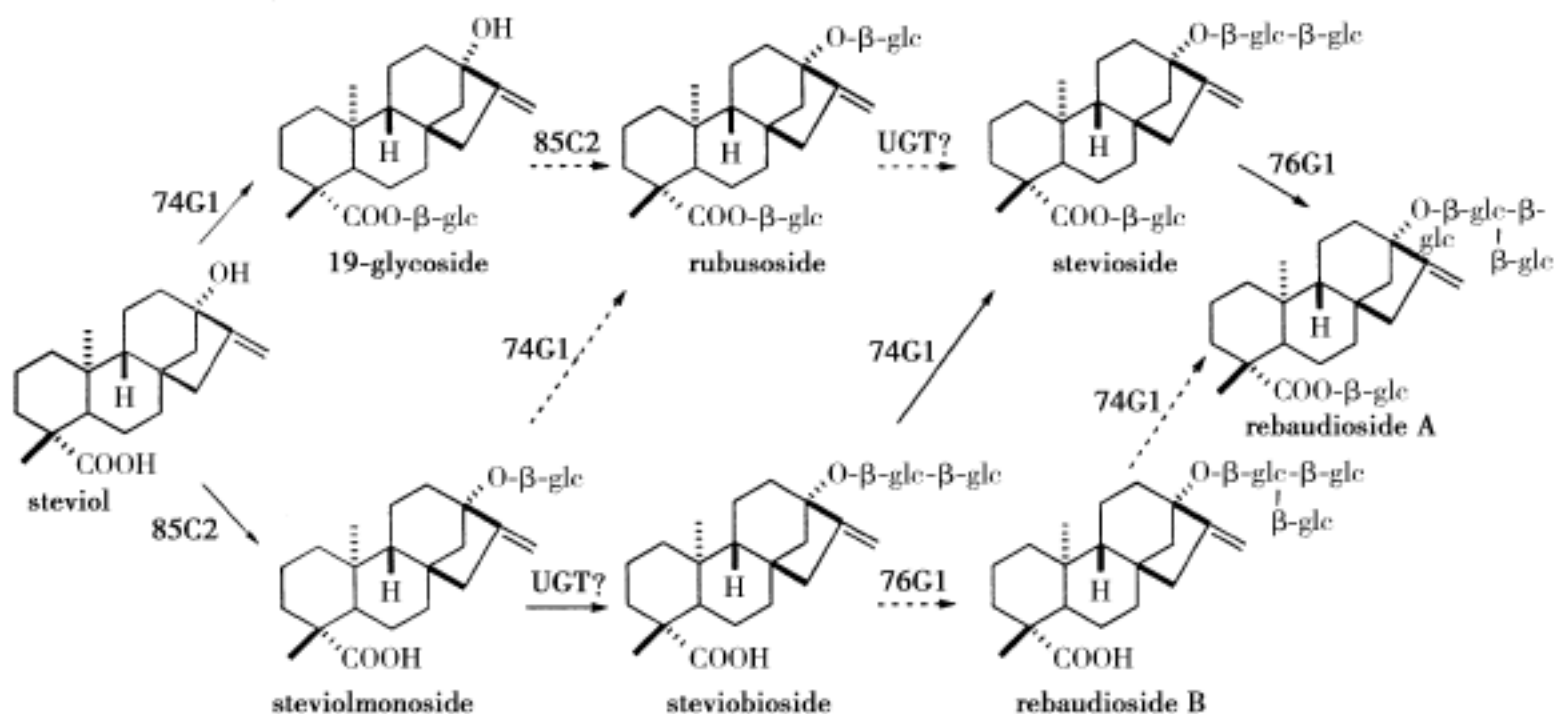


图 10 甜菊苷生物合成途径 (Humphrey 等, 2006)

Fig. 10 Biosynthetic pathway of the steviol glycosides

蛋白和细胞学实验证明其存在于细胞质中 (Richman 等, 2005; Humphrey 等, 2006)。

三萜化合物糖基化现象很常见, 如人参皂苷、酸枣仁皂苷、黄芪皂苷等。从豆科模式植物苜蓿 (*Medicago truncatula*) 中分离鉴定了两个糖基转移酶, UGT73K1 和 UGT71G1, 前者催化常春藤皂苷元 (hederagenin) 和人豆皂醇 B、E (soyasapogenols B、E) 的糖基化, 后者催化苜蓿酸 (medicagenic acid) 糖基化 (Achnine 等, 2005)。此外, Kohara 等 (2005) 从刺茄 (*Solanum aculeatissimum*) 中首次克隆得到了一个与类固醇皂苷 (steroidal saponin) 生物合成相关的糖基转移酶 SaGT4A, Meesapyodsuk 等 (2007) 从肥皂草 (*Saponaria vaccaria*) 中也分离鉴定了一个三萜羧基糖基转移酶 UGT74M1, Kita 等 (2000) 从温州蜜橘 (*Citrus unshiu* Marc.) 中分离得到了柠檬苷 UDP - 葡萄糖基转移酶 (CitLGT)。

5 展望

综上所述, 植物中后修饰酶有以下特点: (一) 种类多样。已经分离得到的萜类结构多样, TPS 催化其前体化合物形成基本骨架, 之后作为各种后修饰酶的底物, 有些酶甚至是多底物, 经过几次级联扩大, 萜类化合物数量将成倍增长; (二) 在细胞内是呈区域分布的。每种酶都有其特殊的细胞定位, 如糖基转移酶定位于胞质, CYPs 多定位于内质网; (三) 表达调控机制不清楚, 研究困难。后修饰酶调控网络复杂, 而且分离克隆相应的基因难度大。

目前获得后修饰酶基因主要是利用反向遗传学 (构建突变株) 和 EST 技术 (大规模测序, 发现新基因), 结合酶活性追踪实验克隆得到目的基因; 或者从分离纯化酶开始, 获得相关的氨基酸信息, 然后再设计引物或者探针, 利用 cDNA 文库技术获得目的基因; 基于同源克隆的方法对某些已经有研究经验积累的酶 (如 kaurene oxidase) 也是可行的。

TPS 是合成萜类的关键酶, 但通常其直接反应产物是没有活性的, 这些初产物需要经过一定的后修饰才转变成活性物质, 因此研究后修饰酶的意义重大。萜类化合物数量巨大, 但真正能大量生产的不多。如青蒿素虽然是很好的抗疟疾药

物, 但受资源限制, 导致供不应求, 有人尝试用微生物转化的方法大量获得青蒿素, 但目前只能检测到中间产物 (Zeng 等, 2008)。如果搞清楚整条代谢途径, 那么采取全部微生物转化或者半合成的方法可制备大量青蒿素, 满足人类需求。许多有特殊应用价值的萜类都可以采取相同的办法获得。随着生物工程技术的成熟, 可以直接将某个物种的代谢途径, 转入工程菌实现工业化生产, 前提是要将代谢途径和调控研究透彻, 而后修饰酶因其多样性和复杂性将是难点。

〔参 考 文 献〕

- Achnine L, Huhman DV, Farag MA *et al.*, 2005. Genomics-based selection and functional characterization of triterpene glycosyltransferases from the model legume *Medicago truncatula* [J]. *Plant Journal*, 41 (6): 875—887
- Christianson DW, 2008. Unearthing the roots of the terpenome [J]. *Current Opinion in Chemical Biology*, 12 (2): 141—150
- Colby SM, Alonso WR, Katahira EJ *et al.*, 1993. 4S-limonene synthase from the oil glands of spearmint (*Mentha spicata*). cDNA isolation, characterization, and bacterial expression of the catalytically active monoterpene cyclase [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 268 (31): 23016—23024
- Covello PS, Teoh KH, Polichuk DR *et al.*, 2007. Functional genomics and the biosynthesis of artemisinin [J]. *Phytochemistry*, 68 (14): 1864—1871
- Croteau R, Ketchum R, Long R *et al.*, 2006. Taxol biosynthesis and molecular genetics [J]. *Phytochemistry Reviews*, 5 (1): 75—97
- Davis EM, Ringer KL, McConkey ME *et al.*, 2005. Monoterpene metabolism. Cloning, expression, and characterization of menthone reductases from peppermint [J]. *Plant Physiology*, 137 (3): 873—881
- Dudareva N, Andersson S, Orlova I *et al.*, 2005. The nonmevalonate pathway supports both monoterpene and sesquiterpene formation in snapdragon flowers [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102 (3): 933—938
- Gershenzon J, Dudareva N, 2007. The function of terpene natural products in the natural world [J]. *Nature Chemical Ecology*, 3 (7): 408—414
- Haudenschield C, Schalk M, Karp F *et al.*, 2000. Functional expression of regiospecific cytochrome P450 limonene hydroxylases from mint (*Mentha* spp.) in *Escherichia coli* and *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 379 (1): 127—136
- Hayashi H, Hirota A, Hiraoka N *et al.*, 1999. Molecular cloning and characterization of two cDNAs for *Glycyrrhiza glabra* squalene synthase [J]. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 22 (9): 947—950

- Hayashi H, Huang P, Kirakosyan A *et al.*, 2001. Cloning and characterization of a cDNA encoding beta-amyrin synthase involved in glycyrrhizin and soyasaponin biosyntheses in licorice [J]. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 24 (8): 912—916
- Hemmerlin A, Hoeffler JF, Meyer O *et al.*, 2003. Cross-talk between the cytosolic mevalonate and the plastidial methylerythritol phosphate pathways in tobacco bright yellow-2 cells [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 278 (29): 26666—26676
- Humphrey TV, Richman AS, Menassa R *et al.*, 2006. Spatial organization of four enzymes from *Stevia rebaudiana* that are involved in steviol glycoside synthesis [J]. *Plant Molecular Biology*, 61 (1-2): 47—62
- Kita M, Hirata Y, Moriguchi T *et al.*, 2000. Molecular cloning and characterization of a novel gene encoding limonoid UDP-glucosyltransferase in *Citrus* [J]. *FEBS Letters*, 469 (2-3): 173—178
- Kohara A, Nakajima C, Hashimoto K *et al.*, 2005. A novel glucosyltransferase involved in steroid saponin biosynthesis in *Solanum aculeatissimum* [J]. *Plant Molecular Biology*, 57 (2): 225—239
- Laule O, Furholz A, Chang HS *et al.*, 2003. Crosstalk between cytosolic and plastidial pathways of isoprenoid biosynthesis in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100 (11): 6866—6871
- Lichtenthaler HK, 1999. The 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate pathway of isoprenoid biosynthesis in plant [J]. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 50: 47—65
- Luo P, Wang YH, Wang GD *et al.*, 2001. Molecular cloning and functional identification of (+)-delta-cadinene-8-hydroxylase, a cytochrome P450 mono-oxygenase (CYP706B1) of cotton sesquiterpene biosynthesis [J]. *Plant Journal*, 28 (1): 95—104
- Lupien S, Karp F, Wildung M *et al.*, 1999. Regiospecific cytochrome P450 limonene hydroxylases from mint (*Mentha*) species: cDNA isolation, characterization, and functional expression of (-)-4S-limonene-3-hydroxylase and (-)-4S-limonene-6-hydroxylase [J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 368 (1): 181—192
- Meesapyodsuk D, Balsevich J, Reed DW *et al.*, 2007. Saponin biosynthesis in *Saponaria vaccaria* cDNAs encoding beta-amyrin synthase and a triterpene carboxylic acid glucosyltransferase [J]. *Plant Physiology*, 143 (2): 959—969
- Newman JD, Chappell J, 1999. Isoprenoid biosynthesis in plants: carbon partitioning within the cytoplasmic pathway [J]. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 34 (2): 95—106
- Richman A, Swanson A, Humphrey T *et al.*, 2005. Functional genomics uncovers three glucosyltransferases involved in the synthesis of the major sweet glucosides of *Stevia rebaudiana* [J]. *Plant Journal*, 41 (1): 56—67
- Ringer KL, Davis EM, Croteau R *et al.*, 2005. Monoterpene metabolism. Cloning, expression, and characterization of (-)-isopiperitenol (-)-carveol dehydrogenase of peppermint and spearmint [J]. *Plant Physiology*, 137 (3): 863—872
- Ringer KL, McConkey ME, Davis EM *et al.*, 2003. Monoterpene double-bond reductases of the (-)-menthol biosynthetic pathway: isolation and characterization of cDNAs encoding (-)-isopiperitenone reductase and (+)-pulegone reductase of peppermint [J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 418 (1): 80—92
- Ro DK, Arimura G, Lau SY *et al.*, 2005. Loblolly pine abietadienol abietadienal oxidase PtAO (CYP720B1) is a multifunctional, multi-substrate cytochrome P450 monooxygenase [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102 (22): 8060—8065
- Ro DK, Böhlmann J, 2006. Diterpene resin acid biosynthesis in loblolly pine (*Pinus taeda*): functional characterization of abietadiene levopimaradiene synthase (PtTPS-LAS) cDNA and subcellular targeting of PtTPS-LAS and abietadienol abietadienal oxidase (PtAO, CYP720B1) [J]. *Phytochemistry*, 67 (15): 1572—1578
- Seki H, Ohyama K, Sawai S *et al.*, 2008. Licorice beta-amyrin 11-oxidase, a cytochrome P450 with a key role in the biosynthesis of the triterpene sweetener glycyrrhizin [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105 (37): 14204—14209
- Sun HD, Huang SX, Han QB *et al.*, 2006. Diterpenoids from *Isodon* species and their biological activities [J]. *Natural Product Reports*, 23 (5): 673—698
- Teoh KH, Polichuk DR, Reed DW *et al.*, 2006. *Artemisia annua* L. (Asteraceae) trichome-specific cDNAs reveal CYP71AV1, a cytochrome P450 with a key role in the biosynthesis of the antimalarial sesquiterpene lactone artemisinin [J]. *FEBS Letters*, 580 (5): 1411—1416
- Yamaguchi S, 2006. Gibberellin biosynthesis in *Arabidopsis* [J]. *Phytochemistry Reviews*, 5 (1): 39—47
- Zeng Q, Qiu F, Yuan L *et al.*, 2008. Production of artemisinin by genetically-modified microbes [J]. *Biotechnology Letters*, 30 (4): 581—592
- Zhang Y, Teoh KH, Reed DW *et al.*, 2008. The molecular cloning of artemisinic aldehyde Delta11 (13) reductase and its role in glandular trichome-dependent biosynthesis of artemisinin in *Artemisia annua* [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 283 (31): 21501—21508