

## · 药材与资源 ·

## 鱼腥草 1-脱氧-D-木酮糖-5-磷酸合成酶 1 基因克隆与表达分析

魏麟, 伍贤进\*, 李胜华, 刘胜贵, 唐玉莲, 贺安娜, 王丹, 宁鹏飞, 李昭君  
怀化学院 生命科学系 民族药用植物资源研究与利用湖南省重点实验室 湘西药用植物与民族植物学  
湖南省高校重点实验室, 湖南 怀化 418008

**摘要:** 目的 克隆鱼腥草 1-脱氧-D-木酮糖-5-磷酸合成酶 1 (*DXS1*) 基因并分析其表达差异。方法 根据已经获得的鱼腥草 *DXS1* 转录本序列设计 1 对引物, 采用 RT-PCR 方法获得 *DXS1* 基因 cDNA 序列并对 *DXS1* 蛋白进行理化性质、蛋白二级结构及三维结构预测分析, 并预测了该蛋白功能; 利用实时荧光定量 PCR 方法检测了 *DXS1* 基因在鱼腥草的地下茎、地上茎、叶、花中的表达情况。结果 克隆获得的 *DXS1* 基因长为 2 172 bp, 编码 723 个氨基酸。生物信息学预测 *DXS1* 蛋白不含跨膜区, 不含信号肽, 具有定位肽。*DXS1* 基因在鱼腥草的花中表达丰度最高, 其次是叶片, 再次是地下茎, 地上茎中表达量最低。结论 首次从鱼腥草中克隆了 *DXS1* 基因, 为进一步阐明该基因在鱼腥草萜类化合物代谢途径中的重要作用奠定基础。

**关键词:** 鱼腥草; 1-脱氧-D-木酮糖-5-磷酸合成酶; RT-PCR; cDNA 序列; 克隆

中图分类号: R282.12 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2014)11-1607-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.11.020

## Cloning and expression analysis of 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate synthase 1 gene in *Houttuynia cordata*

WEI Lin, WU Xian-jin, LI Sheng-hua, LIU Sheng-gui, TANG Yu-lian, HE An-na, WANG Dan, NING Peng-fei, LI Zhao-jun

Key Laboratory of Research and Utilization of Ethnomedicinal Plant Resources of Hunan Province, Key Laboratory of Xiangxi Medicinal Plant and Ethnobotany of Hunan Higher Education, Department of Life Sciences, Huaihua University, Huaihua 418008, China

**Abstract: Objective** To clone the 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate synthase 1 (*DXS1*) gene from *Houttuynia cordata* and to analyze the expression difference. **Methods** The cloning primers were designed based on the transcriptome dataset of *H. cordata*, one unique sequence encoding *DXS1* was discovered. The sequence of *DXS1* was cloned from *H. cordata* by RT-PCR. The physicochemical properties, secondary structure, and three-dimensional structure of the *DXS1* protein were forecasted and analyzed, and its structure and function were predicted. And the different expression levels of *DXS1* gene in rhizome, stems, leaves, and flowers were analyzed by fluorescent quantitative PCR. **Results** The cDNA (named as *DXS1*) contains a 2 172 bp open reading frame and encodes a predicted protein of 723 amino acids. No transmembrane region and signal peptide were present in *DXS1*. The conserved domain of *DXS* was present in *DXS1*. Relative real-time PCR analysis indicated that *DXS1* showed the highest transcript abundance in the flowers, moderate level in the leaves, lower level in the rhizomes, and the lowest level in the stems. **Conclusion** This study cloned the *DXS1* gene from *H. cordata* for the first time. The results will lay a foundation for exploring the mechanism of terpenoid biosynthesis in *H. cordata* plants.

**Key words:** *Houttuynia cordata* Thunb.; 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate synthase; RT-PCR; cDNA sequence; clone

鱼腥草 *Houttuynia cordata* Thunb. 是传统中草药, 具有抗菌<sup>[1]</sup>、抗炎<sup>[2]</sup>、抗病毒<sup>[3]</sup>、抗癌<sup>[4]</sup>、抗氧化<sup>[5]</sup>、抗过敏<sup>[6]</sup>等功效, 广泛应用于治疗炎症和感染性疾病<sup>[7]</sup>。其注射液曾一度暂停使用, 而后又恢复生

产, 说明其药效非其他药物所能替代, 凸显鱼腥草的重要药用价值。研究表明, 萜类化合物是鱼腥草挥发油中的主要有效成分之一<sup>[8]</sup>。植物萜类化合物合成分为 MEP (2-C-methyl-D-erythritol-4-phosphate)

收稿日期: 2013-12-16

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30870230); 湖南省高校创新平台开放基金项目 (12K132); 湖南省科技计划重点项目 (2013FJ6090)

作者简介: 魏麟, 男, 博士, 副教授, 研究方向为分子遗传学。Tel: (0745)2851037 E-mail: hhweilin@163.com

\*通信作者 伍贤进, 博士, 教授, 硕士研究生导师, 主要从事药用植物学与分子生物学研究。Tel: 13607459358 E-mail: hhwuxianjin@163.com

途径 (质体途径, plastid pathway) 和 MVA (mevalonate) 途径 (又称细胞质途径, cytosolic pathway)。1-脱氧-D-木酮糖-5-磷酸 (1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate, DXP) 是 MEP 途径中的重要前体, 由丙酮酸和 3-磷酸甘油醛, 在 1-脱氧-D-木酮糖-5-磷酸合成酶 (1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate synthase, DXS) 作用下催化生成, DXS 是 MEP 途径中的第一个关键酶, 在萜类化合物合成过程中发挥重要作用<sup>[9]</sup>。DXS 基因序列已在拟南芥 *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.<sup>[10]</sup>、橡胶树 *Hevea brasiliensis* Muell. Arg.<sup>[11]</sup>、长春花 *Catharanthus roseus* (L.) G. Don.<sup>[12]</sup>、油棕 *Elaeis guineensis* Jacq.<sup>[13]</sup>、番茄 *Lycopersicon esculentum* Miller<sup>[14]</sup> 等植物中成功克隆。除番茄中 DXS 以单基因形式存在外, 其他植物中普遍存在 2~4 个不等的家族成员。迄今药用植物鱼腥草 DXS 基因还未见有任何报道。

本研究拟应用 RT-PCR 方法克隆鱼腥草 DXS 基因 cDNA 片段, 将此克隆片段命名为 DXSI 基因, 并对其序列进行生物信息学分析及检测其在不同组织器官中的差异表达, 为有效利用该基因及合理开发鱼腥草的药用价值奠定理论基础。

## 1 材料

### 1.1 材料与试剂

鱼腥草 *Houttuynia cordata* Thunb. 样品经中央民族大学龙春林教授鉴定, 种植于怀化学院鱼腥草种植园, 采集同一株鱼腥草的地下茎、地上茎、叶片、花等样品, 洗净后, 经乙醇擦拭及焦碳酸二乙酯 (DEPC) 水处理, 立即放入液氮中保存, 带回实验室, 于 -80 °C 冰箱保存备用。

RNA 提取试剂盒、cDNA 合成试剂盒、Taq 酶、克隆载体 pMD 18-T Vector、质粒提取试剂盒、DNA 回收纯化试剂盒、菌种 JM109、DNA 相对分子质量标记, T4 DNA 连接酶、荧光定量试剂盒 SYBR Prime Script<sup>TM</sup> RT-PCR Kit 及电泳类试剂等, 均购自 TaKaRa 公司。

## 2 方法

### 2.1 RNA 的提取

鱼腥草地下茎、地上茎、叶片及花 RNA 提取方法按照 Trizol 试剂说明书进行, 提取后进行电泳检测和纯度及浓度测定; 并于 -80 °C 保存备用。

### 2.2 cDNA 链合成

根据试剂盒说明书进行, 反转录产物分离纯化后置于 -20 °C 保存备用。

### 2.3 引物设计

通过分析鱼腥草高通量转录组数据, 发现 1 个被注释为 1-脱氧-D-木酮糖-5-磷酸合成酶 (DXS) 的转录本 (Contig4), 长度为 2 700 bp。利用 Bioedit 软件预测其含有一个完整的开放阅读框 (open reading frame, ORF), 并依此开放阅读框序列设计引物 (F 和 R), 上游引物 (F): 5'-ATGGCTCAGTGC-GGGGCTGC-3'; 下游引物 (R): 5'-TCAAGCAA-GAAATCTCAGAG-3'[由生工生物工程 (上海) 有限公司合成]。

### 2.4 PCR 扩增

反应体系和反应条件参照文献方法<sup>[15]</sup>, 其中退火温度为 57 °C。

### 2.5 扩增片段的克隆测序、序列分析及 DXSI 生物信息学分析

对 PCR 产物进行回收, 连接载体 pMD 18-T Vector, 并转化感受态细胞 JM109, 蓝白筛选后, 过夜培养白色菌落, 提取质粒并鉴定, 然后送上海生工生物工程公司测序。采用 DNASTar 软件包分析与处理序列, 在 NCBI 网站上 Blast 比对及 BioEdit 软件进行分析, 并用 Mega 4 软件进行 UPMAG 聚类分析。采用 ExPASy Proteomics Server 提供的在线工具对鱼腥草 DXSI 基因编码蛋白的理化性质及结构与功能进行预测。

### 2.6 荧光定量 PCR 表达分析

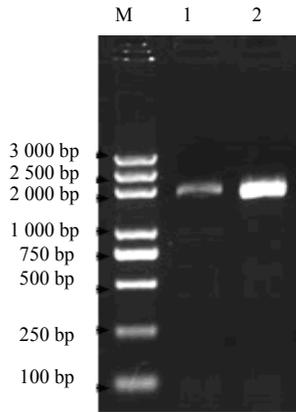
利用实时荧光定量 PCR 的方法检测 DXSI 基因在鱼腥草根 (地下茎)、茎 (地上茎)、叶、花中的相对表达量, 采用美国 ABI7500 实时 PCR 检测系统, 上游引物 qDXSI-F 序列为: 5'-CCTCTGCCCA-TTGTC-3', 下游引物 qDXSI-R 序列为: 5'-CAGG-CTCTGCGTCTGT-3'。实时 PCR 检测的反应体系如下: 10 μL 2×SYBR<sup>®</sup> PremixEx Taq<sup>TM</sup>, 正反向引物均为 0.4 μL, cDNA 模板 2 μL; 加 ddH<sub>2</sub>O 至 25 μL, 反应程序: 95 °C 30 s; 95 °C 30 s, 48 °C 38 s, 35 个循环, 实时 PCR 反应以鱼腥草 18 S rDNA 为内参, 18 S rDNA 序列设计引物 18 S-F: 5'-CCTCCG-GCGTTGTTACTTTG-3' 和 18 S-R: 5'-CCCGACTG-TCCCTGTAATCA-3', 每个反应重复 3 次。

## 3 结果与分析

### 3.1 鱼腥草 DXSI 基因克隆

以总 RNA 反转录所得到的第一链 cDNA 为模板, 用引物 F 和 R 进行 PCR 扩增。扩增产物经电泳发现约在 2 200 bp 处有一条亮带 (图 1), 且上下无杂带,

推测此条带为目的片段。对于扩增所得序列进行测序后获得正确序列，经 NCBI 的 ORF Finder 预测该序列含有一个完整的开放阅读框，长 2 172 bp，该基因命名为 *DXS1*，推测编码 723 个氨基酸（图 2）。



M-Marker 1、2-PCR 产物 二者的 DNA 浓度差异是由于 DNA 模板浓度差异所致  
M-Marker Lanes 1, 2-PCR products; Lanes 1 band 2-DNA quantity inconsistency was caused by template concentration difference

图 1 鱼腥草 *DXS1* 的 PCR 扩增

Fig. 1 PCR amplification of *DXS1* in *H. cordata*

```

ATGGCTCAAGTGGGGGCTGCTTTGAGGACTGCTTTCTTCCAGCCAACTTCCCATGCTCA
M A Q C C G A A L R T A F F Q C S
TCCACAAAGATTAACCTCAATGCTTTTTTTTTTACGTGGCAACAAAGTACCAGTCAATTCGC
S H K I N S N A F F F T W G Q V P V I R
GGCTGCTGCTGGCAGGGAGCATTATCTAGATATGAGAAATTAGTCOTCATGAGCAAAGCA
G C C W Q G A L S R Y E K L V V M S K A
CAGGAGAAACCCAAACAGAGTTGGATTTCTCTGGGGAGAAACCGTCCACGGCCATCCTG
Q E K P K T E L D F S G E K P S T P I L G
GATACTATCAACTACCCAAATTCACATGAAGAATCTCTCTGTGCGAAGAGCTTGAGAAGCTG
D T I N Y P I H M K N L S V E L E K L G
OCCAATGAACTGCGCGTGGAGATTGTATATACCGTATCGAAAACAGGTGGACATTTGAGT
A N E L R V E I V Y T V S K T G G H L S
GCTAGCCTTGGGACGGCAGAGCTCTCTGTAGCACTTCACCATGTATTCAACGCTCCAGAG
A S L G T A E L S V A L H H V F N A P E
GACAGGATCATATGGGACGTCGGGCACCAAAACATACGGCCATAAGATTTTACGGGAAGG
D R I I W D V G H Q T Y G H K I L T G R
AGTCCGAAATGCATACAATCAGGCAAACTCCGGATTGGCAGGCTTCCCAAGGGGAT
R S R A M H T I R Q T S G L A G F P K R D
GAGAGCGTGTATGATGCTTTGGAGCGGCCACAGTTCTACCAGCATATCCGCGGGCCTA
E S V D A F F G A G H S I S A G L G
GGCATGGCGGTGGGGAGAGACTTCCAAAGGAAAGGCTAACCCAGTCCAGTGGATGGG
G M A V G R D L Q G K A N H V I A V I G
GATGGGGCCATGACCGCGGGTCAAGCCATGAAACAAACCGCGTTACTGGCTGGAC
D G A M T A G G E A M N N A G Y L D
TCCAACTCATCATCGTCTCCTCAACGACAACCGCCAAAGTCTCCCTCCCAACTGCCACAATG
S N L I I V L N D N R Q V S L P T A T M
GATGGCCCCGCTCCACCGGTCGGAGCCCTCAGCAAGGCCCTCACCGCCCTCCAAAGCCAGC
D G P A P P V G A L S K A L T R L Q G A S
ACCAAATTCGCGCCAGCTCCGGGAGCGCCGCAAAAGGTATTACTAAGCAATCGGGGCTCA
T K A T T C G C Q L R E A A K G I T K Q I G G S
CGCAAGAAAGTCCGCGGCAAGGTGGACCAAGTATGCCAGGGGAATGATGTCTGCTCGGGG
A G E V A A K V D Q Y A R G M S A P G
CCCTCTCTTTTTGAGGAGCTTGGGCTCTACTATATTTGGGCTGTGGATGGCCACAGCATT
A S L F E E L G L Y Y I G P V D G H S I
GAAGACCTCGTCCACATATTCAGAAGCTCAAGTCCATGCGCGGCGCTGGGCCAGTCTCTC
E D L V H I F K N V K S M P A F G P V L
ATCCACATTGTACCGAGAGAGGCAAGGGCTACGCCCCGGCCGAAAGCCGCCACAGACAGA
I H I V T E K G K Y A P A E A A P D R
ATGCATGGTGTGCGTGAAGTTTGATCCGAAAGTCAAGGAAAGCAAAATGAAGGCTAAGAGCGTG
M H G V V K F D P K S G K Q M K A K T L A
ACTCTATCCTACACACAATYFFAEGAGTCTCTGATAGCGGGAGCCGACAGACTGACGAC
T L S Y T Q Y F A E S L I A E A Q T D D
AAGGTTGTGGCCATCCAGCGCTGCGATGGGTTGGGGGACCGGCGCTCAATCTTTTCCAGAAA
K V V A I H A A M G G G T G L N L F A K
CAATTCCTGAGCGTTGCTTTGACGTGGGGATAGCGGGAGCAACATCGCGTTACGTTTGCC
Q F P E R C F D V G I A E Q H A V T F A
CGAGGATGGCCGCTGAGGGCCCAAGCCTTTCTGTGCAATCTACTCTTTTCTTCCAG
A G M A A E G L K P F C A I Y S S F L Q
    
```

图 2 鱼腥草 *DXS1* 基因的核苷酸序列及推测的氨基酸序列

Fig. 2 Nucleic acid sequence and supposed amino acid sequence of *DXS1* gene fragment in *H. cordata*

### 3.2 鱼腥草 *DXS1* 基因编码蛋白特性分析

**3.2.1 理化性质** *DXS1* 基因预测编码 723 个氨基酸，利用 ExPASy 的在线软件对其蛋白的理化性质进行预测分析。推测其的分子式为  $C_{3443}H_{5456}N_{958}O_{1022}S_{35}$ ，相对分子质量是 77 745.1，等电点 pI 为 6.57。该蛋白的不稳定系数 (instability index) 为 40.22，说明 *DXS1* 不稳定。脂肪系数 (aliphatic index) 为 87.36，*DXS1* 的亲水性系数 (grand average of hydropathicity, GRAVY) 为 -0.059。应用 Prosite 软件预测该蛋白为转酮酶。

**3.2.2 *DXS1* 的二级结构及三级结构预测** 预测 *DXS1* 蛋白的二级结构见图 3，该蛋白的二级结构中  $\alpha$ -螺旋占 38.45%、 $\beta$ -折叠占 6.92%、无规则卷曲占 38.73%、自由延伸 15.91%。由 SWISS-MODEL 预测 *DXS1* 的三级结构见图 4。

**3.2.3 鱼腥草 *DXS1* 的信号肽和亚细胞定位预测** 应用在线软件分析结果表明鱼腥草 *DXS1* 不含信号肽。对该蛋白的亚细胞定位预测表明，其在叶绿体的定位系数为 8.0 和线粒体的定位系数为 6.0。

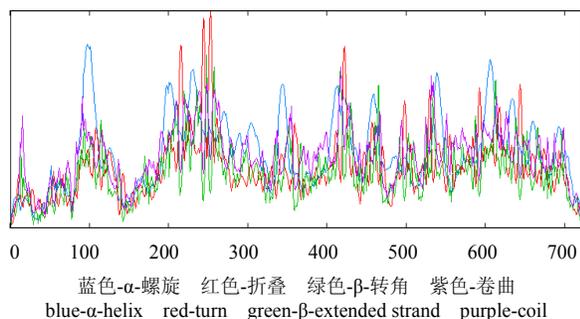


图 3 DXS1 蛋白二级结构预测图

Fig. 3 Two-dimensional structure prediction of DXS1 protein

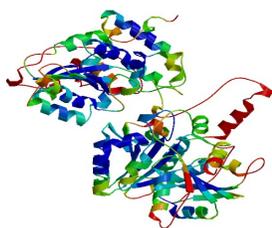


图 4 DXS1 蛋白三级结构预测图

Fig. 4 Three-dimensional model prediction of DXS1 protein

**3.2.4 鱼腥草 DXS1 转运肽分析** 应用在线软件 iPSORT (<http://ipsort.hgc.jp/>) 分析发现, 鱼腥草 DXS1 含有一个定位肽 MAQCGAALRTAFFQPTSP-CSSHKINSNAFF。该序列具有转运肽的共同点: 富含含有羟基的丝氨酸和苏氨酸, 含有少量的疏水性氨基酸丙氨酸, 不富含酸性氨基酸。

### 3.3 鱼腥草 DXS1 氨基酸序列的同源性及其亲缘关系分析

推导氨基酸序列比较结果表明, 鱼腥草 DXS1 (Hct DXS1) 与蓖麻 (XP\_002533688)、葡萄 (XP\_002271585)、金鱼草 (AAW28999)、甜菊 (ACI43010)、可可 (EOY31729)、水仙 (CAC08458)、长春花 (CAA09804)、橡胶树 (BAF98289)、杜仲 (AFU93069) 和烟草 (AFM78321) 的 DXS 蛋白质分子的相似度分别为 77.0%、75.9%、75.5%、75.7%、75.0%、76.0%、75.3%、75.9%、75.6% 和 75.5%, 表明 DXS 氨基酸序列一致性较高, 说明其在进化过程中, 具有一定的保守性 (图 5)。这可能与其在植物体内的功能有关, 用 Mega 4 软件进行 UPMAG 聚类分析, 见图 6。

### 3.4 鱼腥草 DXS1 基因的表达分析

利用实时荧光定量 PCR 检测 DXS1 的组织差异表达, 检测了该基因在鱼腥草根、茎、叶、花中的表达量。结果表明该基因在花中的表达量最高, 其次是叶 (图 7)。

## 4 讨论

萜类化合物是绝大部分中药材的重要药用成分。DXS 在萜类化合物合成质体途径中发挥关键作用, DXS 催化 MEP 途径 (质体途径) 的第一步反应, 将丙酮酸和 3-磷酸-甘油醛缩合生成该途径的重要前体物质 DXP<sup>[9]</sup>, 是萜类化合物在质体合成中的关键酶。在植物中以基因家族形式广泛存在, 在植物生理生化活动中发挥着重要作用, 是近年来植物生理生化和分子生物学研究的热点之一。作为萜类化合物合成 MEP 途径前体物质 DXP 的关键酶, 其活性高低与量的多少决定着后续产物量的多少。随着植物萜类合成 MEP 途径中相关酶的分离与鉴定, 利用酶表达改变萜类物质在植株中的量, 必将是改变中药材品质的有效手段之一。

本研究利用 RT-PCR 技术首次克隆了鱼腥草 DXS1 基因的全长 cDNA 序列。所克隆的 DXS1 基因含一个完整的开放阅读框 (ORF), 编码 723 个氨基酸。对推导的氨基酸序列的结构和功能进行生物信息学分析, 发现其没有信号肽序列, 亚细胞定位于叶绿体和线粒体, 含有转运肽序列, 这提示该蛋白由细胞核基因编码, 其蛋白 N 端存在转运肽序列并可能定位于质体等细胞器中。与其他植物的氨基酸序列进行比较, 结果显示, 鱼腥草 DXS1 蛋白同其他植物 DXS 蛋白具有较高的相似性, 说明该蛋白在进化过程中比较保守。这可能与其在植物生命活动过程中所发挥的作用有关。

不同生物的 DXS 蛋白被认为是一种依赖焦磷酸硫胺素 (thiaminpyrophosphate, TPP) 的转酮酶<sup>[16]</sup>。通过对鱼腥草 DXS1 蛋白分子的预测, 证明鱼腥草 DXS1 蛋白是一种转酮酶, 这与 Eubanks 等<sup>[16]</sup>的这研究结果相似。该蛋白质分子具有引导成熟蛋白定位的转运肽序列, 证实了鱼腥草 DXS1 蛋白与其他植物 DXS 蛋白一样, 由细胞核基因编码, 其蛋白 N 端存在转运肽序列并可能定位于质体中。通过转录组数据分析, 鱼腥草 DXS 存在 2 个家族成员 DXS1 和 DXS2, 和其他大部分植物如拟南芥<sup>[10]</sup>、橡胶树<sup>[11]</sup>、长春花<sup>[12]</sup>、油棕<sup>[13]</sup>等的研究结果相似。研究表明, 植物 DXS 家族成员可分为 2 类, 分别编码 2 种不同类型的 DXS 酶, 各自在不同类别萜类产物的合成中发挥功能<sup>[17]</sup>, 同时, 也有学者认为这 2 种不同类型的酶, 是在萜类合成不同过程中发挥作用, 一类与植物初生代谢过程中所需要的萜类合成有关, 而



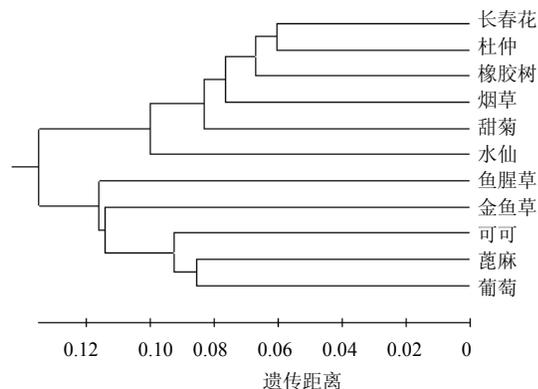


图 6 鱼腥草与其他植物 DXS 氨基酸的 UPGMA 进化树

Fig. 6 UPGMA dendrogram of DXS in *H. cordata* and other plants

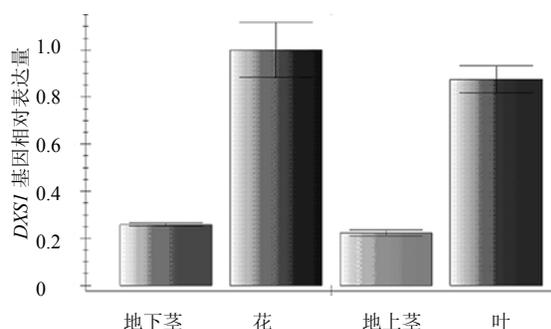


图 7 鱼腥草不同组织中 DXSI 基因的相对表达量

Fig. 7 Relative expression quantity of DXSI expression in different organs of *H. cordata*

另一类与植物次生代谢过程中所需要的萜类合成有关<sup>[18]</sup>。DXS 家族成员在鱼腥草植物体中是否行使与其他植物 DXS 家族成员相似的功能，还有待研究。

本研究首次成功克隆了鱼腥草 DXSI 基因 cDNA 序列，将为构建其过表达载体和遗传转化体系，进一步实现萜类成分在植株中高效表达提供理论基础，并为开展鱼腥草及类似以萜类化合物为主要活性成分植物的遗传改良、提高药材品质具有十分重要的理论意义和实践价值。

参考文献

[1] Kim G S, Kim D H, Lim J J, et al. Biological and antibacterial activities of the natural herb *Houttuynia cordata* water extract against the intracellular bacterial pathogen salmonella within the RAW 264. 7 macrophage [J]. *Biol Pharm Bull*, 2008, 31(11): 2012-2017.  
 [2] Kim D, Park D, Kyung J, et al. Anti-inflammatory effects of *Houttuynia cordata* supercritical extract in carrageenan-air pouch inflammation model [J]. *Lab Anim Res*, 2012, 28(2): 137-140.  
 [3] Chen X, Wang Z, Yang Z, et al. *Houttuynia cordata* blocks HSV infection through inhibition of NF-κB

activation [J]. *Antiviral Res*, 2011, 92(2): 341-345.  
 [4] Zhou N N, Tang J, Chen W D, et al. Houttuyninum, an active constituent of Chinese herbal medicine, inhibits phosphorylation of HER2/neu receptor tyrosine kinase and the tumor growth of HER2/neu-overexpressing cancer cells [J]. *Life Sci*, 2012, 90(19/20): 770-775.  
 [5] Toda S. Antioxidative effects of polyphenols in leaves of *Houttuynia cordata* on protein fragmentation by copper-hydrogen peroxide *in vitro* [J]. *J Med Food*, 2005, 8(2): 266-268.  
 [6] Lee J S, Kim I S, Kim J H, et al. Suppressive effects of *Houttuynia cordata* Thunb (Saururaceae) extract on Th2 immune response [J]. *J Ethnopharmacol*, 2008, 117(1): 34-40.  
 [7] 刘冬梅. 鱼腥草注射液致不良反应及文献分析 [J]. 天津中医药, 2004, 21(5): 437-438.  
 [8] 伍贤进. 鱼腥草种质资源与规范化栽培技术研究 [M]. 北京: 科学出版社, 2011.  
 [9] Song X, Gerlinde U, Gudrun, et al. Crystal structure of 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate synthase, a crucial enzyme for isoprenoids biosynthesis [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(4): 2676-2682.  
 [10] Laule O, Fürholz A, Chang H S, et al. crosstalk between cytosolic and plastidial pathways of isoprenoid biosynthesis in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100: 6866-6871.  
 [11] Yortytot S, Thomas D S, Wallie S. Molecular cloning and characterization of two cDNAs encoding 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate from *Hevea brasiliensis* [J]. *J Plant Physiol*, 2008, 165: 991-1002.  
 [12] Christie A M P, Guy W S, Erik H H, et al. The expression of 1-deoxy-D-xylulose synthase and geraniol-10-hydroxylase or anthranilate synthase increases terpenoid indole alkaloid accumulation in *Catharanthus Roseus* hairy roots [J]. *Metab Eng*, 2011, 13: 234-240.  
 [13] Khemvong S, Suvachittanont W. Molecular cloning and expression of a cDNA encoding 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate synthase from oil palm *Elaeis Guineensis* Jacq [J]. *Plant Sci*, 2005, 169: 571-578.  
 [14] Rodriguez-Concepcion M, Ahumada I, Diez-Juez E, et al. 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate and plastid isoprenoid biosynthesis during tomato fruit ripening [J]. *Plant J*, 2001, 27: 213.  
 [15] 付明, 魏麟, 余娟, 等. 显齿蛇葡萄查耳酮合成酶基因 cDNA 克隆及蛋白质序列分析 [J]. 中草药, 2013, 44(1): 85-89.  
 [16] Eubanks L M, Poulter C D. Rhodobacter capsulatus 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate synthase: steady state kinetics and substrate binding [J]. *Biochemistry*, 2003, 42: 1140-1149.  
 [17] Zhang M, Li K, Zhang C H, et al. Identification and characterization of class 1 DXS gene encoding 1-Deoxy-D-Xylulose-5-Phosphate synthase, the First committed enzyme of the MEP Pathway from Soybean [J]. *Mol Biol Rep*, 2009, 36: 879-887.  
 [18] Daisuke M, Holger J K, Yohei S, et al. The single cellular green microalga botryococcus braunii, race B possesses three distinct 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate synthases [J]. *Plant Sci*, 2012, 10: 185-186.