

药用植物质量标志物多糖生物合成通路及关键酶研究进展

李晓岗¹, 张雪¹, 俞捷¹, 王希付¹, 代红洋¹, 陈嘉伟¹, 许均博¹, 曹冠华^{1,2*}, 贺森^{1,2*}

1. 云南中医药大学中药学院暨云南省南药可持续利用重点实验室, 云南昆明 650500

2. 云南中医药大学 云南省傣医药与彝医药重点实验室, 云南昆明 650500

摘要: 多糖是众多药用植物中重要的质量标志物, 在免疫调节、抗肿瘤等方面具有显著的药理作用。多糖是一类结构复杂、种类繁多、组合多样的生物大分子, 其生物合成通路主要包括蔗糖转化、尿苷二磷酸葡萄糖(uridine diphosphate, UDP)-葡萄糖至其他 NDP 单糖的转化、多糖聚合 3 个部分。在这一合成过程中涉及的关键酶主要包括蔗糖合成酶(sucrose synthase, SUS)、果糖-6 磷酸酯在蔗糖磷酸合成酶(sucrose phosphate synthase, SPS)、蔗糖由转化酶(invertase, INV)、己糖激酶(hexokinase, HK)、果糖激酶(fructokinase, FRK)、UDP-葡萄糖脱氢酶(UGDH)、UDP-葡萄糖焦磷酸化酶(UDP-glucose pyrophosphorylase, UGPase)、UDP-鼠李糖合成酶(UDP-rhamnose synthase, RHM)、磷酸甘露糖突变酶(phosphomannose isomerase, PMM)、GDP-甘露糖焦磷酸化酶(GDP-mannose pyrophosphorylase, GMPP)、糖基转移酶(glycosyl transferases, GTs)等。选取以多糖为主要质量标志物的药用植物为探讨对象, 对其多糖生物合成通路、关键酶作用机制及单糖组成进行归纳分析, 并对研究中存在的问题和可能的解决思路进行了梳理和展望。对明确药用植物质量标志物多糖生物合成通路, 了解关键酶作用机制具有一定的参考价值。

关键词: 药用植物; 多糖; 生物合成通路; 蔗糖合成酶; 蔗糖磷酸合成酶; 转化酶; 己糖激酶; 果糖激酶; UDP-葡萄糖脱氢酶; UDP-葡萄糖焦磷酸化酶; UDP-葡萄糖-4,6-脱氢酶; 磷酸甘露糖异构酶; GDP-甘露糖焦磷酸化酶; 糖基转移酶

中图分类号: R286 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2021)15-4752-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.15.034

Research progress on biosynthesis pathway of quality marker polysaccharide and involved key enzymes for medicinal plants

LI Xiao-gang¹, ZHANG Xue¹, YU Jie¹, WANG Xi-fu¹, DAI Hong-yang¹, CHEN Jia-wei¹, XU Jun-bo¹, CAO Guan-hua^{1,2}, HE Sen^{1,2}

1. Yunnan Key Laboratory of Southern Medicine Sustainable Utilization, School of Chinese Materia Medica, Yunnan University of Chinese Medicine, Kunming 650500, China

2. Yunnan Key Laboratory for Dai and Yi Medicines, Yunnan University of Chinese Medicine, Kunming 650500, China

Abstract: Polysaccharide is a critical quality marker for many medicinal plants, of which plays important roles in regulating immunity and enhancing tumor resistance. Plant polysaccharide is a kind of biological macromolecules composed of a variety of monosaccharides with complex structure. The biosynthesis pathway could be divided into three parts, sucrose conversion, the conversion of other NDP-sugars from UDP-glucose polysaccharides, in which many key enzymes were involved, e.g. sucrose synthase (SUS), sucrose phosphate synthase (SPS), invertase (INV), hexokinase (HK), fructokinase (FRK), UDP-glucose hydrogenase (UGDH), UDP-glucose pyrophosphorylase (UGPase), UDP-glucose rhamnose synthase (RHM), phosphomannose isomerase (PMM), GDP-mannose pyrophosphorylase (GMPP) and glycosyltransferase (GTs). In this paper, medicinal plants with polysaccharide as the quality marker were taken as objects for discussion, the biosynthesis pathway of polysaccharides, monosaccharide composition of polysaccharides and the roles of involved key enzymes were analyzed. Besides, deficiency in current study of polysaccharide and possible solution are sorted out and prospected. The paper has a certain reference value for clarifying the biosynthesis pathway of quality marker polysaccharide in medicinal plants and understanding the roles of key enzymes.

Key words: medicinal plants, polysaccharide; biosynthetic pathways; sucrose synthase; sucrose phosphate synthase; invertase; hexokinase; fructokinase; UDP-glucose hydrogenase; UDP-glucose pyrophosphorylase; UDP-glucose 4,6-dehydrogenase; phosphomannose isomerase; GDP-mannose pyrophosphorylase; glycosyltransferase

收稿日期: 2021-02-09

基金项目: 云南省科技厅应用基础研究面上项目(202001AT070109, 2019FB122); 云南省教育厅项目(2021Y464); 云南省科技厅重点研发计划(2019IB009); 云南省南药可持续利用重点实验室项目(202005AG070158)

作者简介: 李晓岗(1999—), 男, 在读研究生, 主要从事中药资源与质量评价的研究。E-mail: amazing0428@163.com

*通信作者: 贺森, 博士, 副教授, 主要从事中药资源与分子生物学的研究。E-mail: sunbelt123@163.com

曹冠华, 博士, 高级实验师, 主要从事中药资源与菌根微生物的研究。E-mail: cgh20031695@163.com

多糖即多聚糖，广泛存在于药用植物中，如百合科、兰科、五加科、茄科、唇形科、菊科等高等植物。作为中药的重要质量标志物（quality marker, Q-Markers），在组织分布中，药用植物的果实、根、茎和花中均存在多糖及其衍生物^[1]。多糖结构较为复杂，一级结构主要由主链和支链组合而成，而主链的基本结构通常是葡聚糖、果聚糖、木聚糖、甘露聚糖、半乳聚糖等，或者是2种及以上单糖的聚合物，支链则更为复杂多样，故形成了多糖的复杂多样性^[2]。根据多糖异头碳构型，多糖可以分为 α 、 β 构型，研究表明，能够在人体内发挥药理活性的主要为 β -多糖^[3]。多糖在植物体中扮演着重要的角色，在能量储存、结构支撑、信息存储与识别、生理调节与免疫调控等方面发挥着重要作用。研究显示，植物多糖具有抗氧化、抗肿瘤、抗衰老、免疫调节、降血糖、调血脂等药理作用^[4]。

目前对植物多糖的研究主要集中在多糖提取工艺、结构解析、药理等方面，而对多糖生物合成通

路研究相对较少，主要集中在关键酶基因的克隆、表达特性及功能鉴定方面，对多糖结构修饰、调控机制的研究尚处于起步阶段。本文对药用植物多糖合成通路及关键酶的研究进展进行了综述，解析了植物多糖生物合成分子机制，不仅有益于了解药用植物多糖的代谢通路，还可为多糖关键酶的研究提供理论参考。

1 多糖 Q-Marker 多样性分析

多糖的基本结构单元为单糖，单糖与单糖之间通过糖苷键相连接，形成线性或者分支的聚糖结构。单糖的组成、比例及聚合形式决定了多糖的多样性。即使是同科属植物，其多糖中单糖的组成与比例也存在一定的差异，使植物多糖的质量控制与品质鉴定产生很大区别。“Q-Markers”一词的提出，掀起了药用植物多糖的研究热潮，多糖定性、定量成为其质量研究的重要方式。本文列举了部分以多糖为主要 Q-Markers 的药用植物多糖分布部位、单糖组成和常见的药理作用，见表1。

表1 部分药用植物 Q-Markers 多糖分布部位、单糖组成及药理作用

Table 1 Distribution, monosaccharide composition and pharmacological effects of quality markers polysaccharides of some medicinal plants

植物名	主要部位	多糖质量标志物组成	药理作用	文献
黄精 <i>Polygonatum sibiricum</i>	块茎	鼠李糖、半乳糖、阿拉伯糖、木糖、葡萄糖	提高免疫力、降血糖、调血脂、抗氧化以及抗动脉粥样硬化	5
麦冬 <i>Ophiopogon japonicus</i>	根	果糖、葡萄糖	抗心肌缺血、降血糖、耐缺氧、促进免疫功能、延缓衰老、抗疲劳、抑制肿瘤	6
玉竹 <i>Polygonatum odoratum</i>	块茎	阿拉伯糖、半乳糖、葡萄糖、甘露糖、半乳糖	降血糖、调血脂、抗菌作用、抗突变及抗癌作用、肝保护作用、镇咳及促有丝分裂作用、抗衰老作用	7
黄芪 <i>Astragalus membranaceus</i>	根	鼠李糖、半乳糖、葡萄糖	抗氧化、抗心血管疾病、增强免疫力	8
甘草 <i>Glycyrrhiza uralensis</i>	根	L-鼠李糖、L-阿拉伯糖、D-半乳糖	抗肿瘤、抗炎、抗病毒、免疫调节、抗氧化、抗粘附	9
党参 <i>Codonopsis pilosula</i>	根	半乳糖、阿拉伯糖、鼠李糖	调节免疫力、抗衰老、抗缺氧、抗应激、抗氧化	10
铁皮石斛 <i>Dendrobium officinale</i>	茎	甘露糖、葡萄糖	抗肿瘤、抗氧化、降低血糖、增强免疫	11
白及 <i>Bletilla striata</i>	根茎	葡萄糖、甘露糖	抗疲劳、降血糖、增强免疫力、促进凝血、保护胃黏膜	12
五味子 <i>Schisandra sphenanthera</i>	果实	半乳糖、阿拉伯糖、葡萄糖、半乳糖醛酸	保护肝脏、增强免疫、抗疲劳、抗肿瘤和镇痛止咳	13
枸杞 <i>Lycium barbarum</i>	果实	鼠李糖、阿拉伯糖、木糖、甘露糖、葡萄糖、半乳糖	降血糖、调血脂、抗衰老、抗氧化、调节免疫	14
玛咖 <i>Lepidium meyenii</i>	根	D-半乳糖醛酸、D-葡萄糖、L-阿拉伯糖、D-甘露糖、D-半乳糖、L-鼠李糖	抗氧化、抗疲劳、调节免疫、抗衰老	15
刺五加 <i>Eleutherococcus senticosus</i>	根茎	半乳糖、葡萄糖、鼠李糖、半乳糖醛酸	调控炎症因子对免疫性肝损伤的保护作用，抗肿瘤、抗氧化、抗疲劳	16
牛膝 <i>Achyranthes bidentata</i>	根	果糖、葡萄糖	促进细胞增殖、免疫调节、抗病毒、抗氧化、抗肿瘤	17

2 多糖生物合成

尽管植物多糖的结构千变万化，但合成通路基本保持一致。通过总结已发表的文献，发现植物多糖生物合成途径主要包括3个步骤：第1步

为蔗糖经过一系列转化生成尿苷二磷酸葡萄糖（uridine diphosphate, UDP）-葡萄糖、鸟苷二磷酸甘露糖（guanosine diphosphate, GDP）-甘露糖和鸟苷二磷酸岩藻糖（guanosine diphosphate fucose，

GDP)-岩藻糖;第2步为UDP-葡萄糖转化为其他NDP单糖;最后通过不同的糖基转移酶(glycosyl transferases, GTs)将单糖从糖核苷酸供体结合到生长中的多糖聚合物中,随后这些重

复单元被聚合和输出,形成植物多糖(图1)[18-20]。UDP-葡萄糖是多糖合成途径中其他NDP单糖合成的基础,在整个合成的过程中起着至关重要的作用。

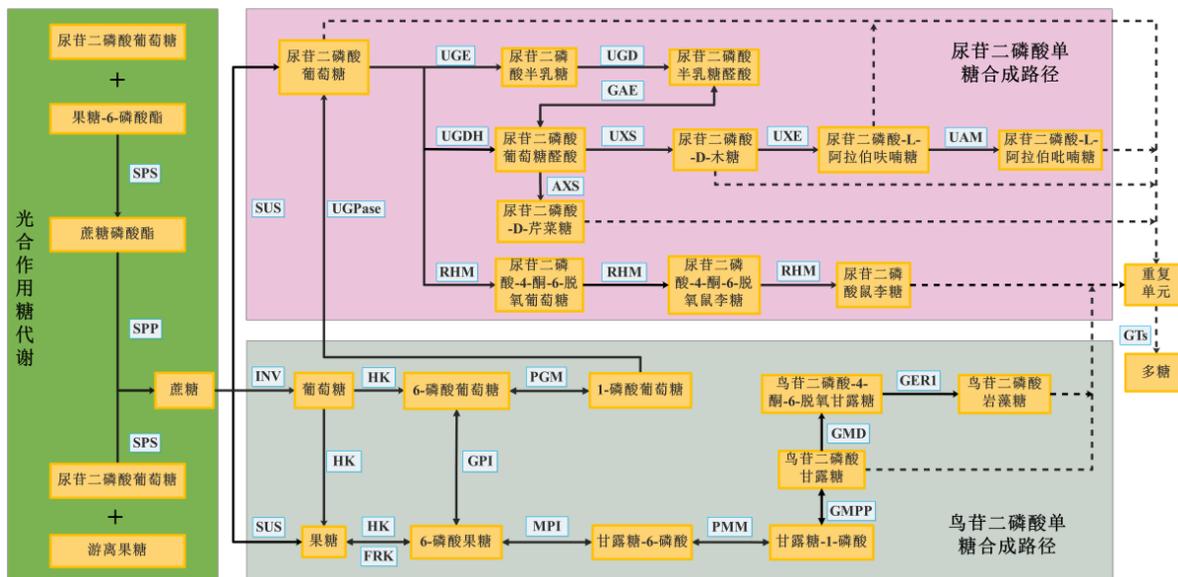


图1 药用植物多糖生物合成通路

Fig. 1 Biosynthetic pathway diagram of medicinal plant polysaccharides

2.1 蔗糖转化步骤

药用植物体内蔗糖主要通过光合作用形成。UDP-葡萄糖与果糖-6磷酸酯在蔗糖磷酸合成酶(sucrose phosphate synthase, SPS)作用下合成蔗糖磷酸酯,再经过蔗糖磷酸酯酶(sucrose phosphate phosphatase, SPP)催化生成蔗糖或由游离果糖与UDP-葡萄糖在SPS催化下直接生成蔗糖。在多糖生物合成过程中,蔗糖转化部分包括3个不同方向:一个方向为在蔗糖合成酶(sucrose synthase, SUS)的作用下直接生成UDP-葡萄糖;另一个方向为蔗糖由转化酶(invertase, INV)催化生成葡萄糖,经己糖激酶(hexokinase, HK)催化生成6-磷酸葡萄糖,在磷酸葡萄糖变位酶(phosphoglucosmutase, PGM)的作用下生成1-磷酸葡萄糖,再经UDP-葡萄糖焦磷酸化酶(UDP-glucose pyrophosphorylase, UGPase)生成UDP-葡萄糖;第3个方向为蔗糖由SUS催化生成果糖,经果糖激酶(fructokinase, FRK)转化为6-磷酸果糖,再由葡萄糖-6-磷酸异构酶(glucose-6-phosphate isomerase, GPI)转化为6-磷酸葡萄糖,然后在PGM的作用下转化为1-磷酸葡萄糖,最后由UGPase转化生成UDP-葡萄糖[21]。

此外,由蔗糖到GDP-甘露糖和GDP-岩藻糖的生物合成途径亦基本清楚。首先,由SUS催化蔗糖生成果糖,再经HK转化生成6-磷酸果糖。而后6-磷酸果糖经甘露糖-6-磷酸异构酶(mannose-6-phosphate isomerase, MPI)催化生成6-磷酸甘露糖,再由磷酸甘露糖突变酶(phosphomannose isomerase, PMM)转化为1-磷酸甘露糖,最后在GDP-甘露糖焦磷酸化酶(GDP-mannose pyrophosphorylase, GMPP)的作用下形成GDP-甘露糖。研究发现,GDP-甘露糖可以通过2个步骤形成GDP-岩藻糖,首先在GDP-D-甘露糖-4,6-脱水酶(GDP-D-mannose-4,6-dehydratase, GMD)的作用下将GDP-D-甘露糖转化为GDP-4-酮-6-脱氧甘露糖,随之由GDP-4-酮-6-脱氧甘露糖-3,5-表观酶-4-还原酶(GDP-4-keto-6-deoxy-D-mannose-3,5-epimerase-4-reductase, GER1)催化形成GDP-岩藻糖[22]。值得注意的是,GDP-甘露糖也可以作为合成UDP-鼠李糖、UDP-岩藻糖、UDP-半乳糖、UDP-木糖等的前体物质[23]。

2.2 UDP-葡萄糖至其他NDP单糖转化步骤

2.2.1 UDP-半乳糖合成途径 在UDP-葡萄糖-4-差向异构酶(UDP-glucose-4-epimerase, UGE)作用下,

UDP-葡萄糖直接转化生成 UDP-半乳糖。而 UDP 半乳糖又可经过半乳糖脱氢酶 (UDP-D-galactose dehydrogenase, UGD) 催化生成尿苷二磷酸半乳糖醛酸, 形成另一分支^[24]。

2.2.2 UDP-阿拉伯糖合成途径 UDP-葡萄糖经葡萄糖脱氢酶 (UDP-glucose dehydrogenase, UGDH) 催化作用生成 UDP-葡萄糖醛酸之后再由 UDP-木糖合酶 (UDP-D-xylose synthase, UXS) 作用下生成 UDP-D-木糖, 随后继续由 UDP-D-木糖差向异构酶 (UDP-D-xylose-4-epimerase, UXE) 和阿拉伯吡喃糖变位酶 (UDP-arabinopyranose mutase, UAM) 催化生成 UDP-L-阿拉伯吡喃糖, 并可进一步催化为 UDP-L-阿拉伯吡喃糖。在该过程中, UDP-葡萄糖醛酸也可经木糖合成酶 (UDP-D-apiose/UDP-D-Xylose synthase, AXS) 催化生成 UDP-D-芹菜糖。此外, 由于 UDP-葡萄糖醛酸和 UDP-半乳糖醛酸之间能够通过 UDP-葡萄糖醛酸异构酶 (UDP-glucose A-4-epimerase, GAE) 相互转化^[25], 故进一步增加了多糖构成的复杂性。

2.2.3 UDP-鼠李糖合成途径 以 UDP-葡萄糖为底物, NAD⁺和 NADPH 为辅因子, 分 3 步反应催化 UDP-鼠李糖^[26], 首先经鼠李糖合成酶 (UDP-rhamnose synthase, RHM) 催化生成 UDP-葡萄糖-4-酮-6-脱氧葡萄糖, 再由 RHM 催化生成 UDP-4-酮-6-脱氧鼠李糖, 最后在 RHM 催化下形成 UDP-鼠李糖。

2.3 多糖聚合步骤

目前植物体内已知 NDP 单糖有尿苷二磷酸单糖、鸟苷二磷酸单糖、胞苷二磷酸单糖等^[27]。在天然产物生物合成的关键时刻, 植物细胞质内形成 UDP 单糖以及 GDP 单糖之后, 被核苷酸糖转运蛋白转运到高尔基体, 在 GTs 的作用下将这些单糖残基从活性核苷酸糖转移到延伸的多糖链上脱水、缩合从而形成多聚糖, 并通过分泌囊泡的形式输送到不同部位进行积累^[28-29]。

3 多糖生物合成关键酶及作用机制

酶在多糖的合成途径中发挥着至关重要的作用, 根据多糖合成通路步骤可将关键酶对应的分成 3 个部分: 第 1 部分主要包括 SUS、SPS、INV、HK、FRK、UGPase、MPI、PMM、GMPP; 第 2 部分主要包括 UGE、UGDH、URHM; 最后一部分主要是 GTs, 其主要作用见表 2。

3.1 SUS

SUS 是植物体内参与蔗糖代谢的关键酶之一,

表 2 植物多糖合成主要关键酶及其作用

Table 2 Main key enzymes in synthesis of plant polysaccharides and their functions

关键酶	类型	功能与作用
SUS	合成酶	催化蔗糖转化为 UDP-葡萄糖及果糖
SPS	合成酶	催化 UDP-葡萄糖转化为蔗糖
INV	水解酶	催化蔗糖转化为葡萄糖
HK	转移酶	催化果糖磷酸化, 介导糖信号的关键性作用
FRK	异构酶	催化果糖磷酸化, 起主导作用
UGPase	转移酶	催化葡萄糖-1-磷酸转化为 UDP-葡萄糖
UGE	异构酶	催化 UDP-葡萄糖转化为 UDP-半乳糖
UGDH	氧化还原酶	催化 UDP-葡萄糖转化为 UDP-葡萄糖醛酸
RHM	氧化还原酶	催化 UDP-葡萄糖转化为 UDP-4-酮-6-脱氧葡萄糖
MPI	异构酶	催化 6-磷酸果糖转化为 1-磷酸果糖
PMM	转移酶	催化甘露糖-6-磷酸转化为甘露糖-1-磷酸
GMPP	转移酶	催化甘露糖-1-磷酸转化为 GDP-甘露糖
GTs	转移酶	催化活化的糖基供体转移到特定的受体分子, 形成糖苷键

在调控多糖合成中起到关键作用。SUS 能够催化蔗糖可逆裂解为果糖和 UDP-葡萄糖或腺苷二磷酸葡萄糖^[30]。植物 SUS 多肽链由 N 端的细胞靶向结构域 (cellular targeting domain, CTD), 早期结瘤素 (early nodulin, ENOD) 40 多肽结合结构域, 典型的糖基转移酶折叠结构 (GT-B) 和 C 末端组成^[31]。目前已从 8 种药用植物中克隆出了蔗糖合成酶基因, 其开放阅读框约为 2400 bp, 相对分子质量约为 92 000, 所编码的氨基酸序列为 737~815 aa, 部分生物学信息见表 3。Zhang 等^[32]从甘草中分别克隆出了 *GuSUS1*、*GuSUS2*, 结合 UDP 葡萄糖含量变化, 说明两条基因编码的酶对蔗糖的裂解有催化作用, 并且不同生长时期 2 个基因的表达量存有差异。张园等^[33]对铁皮石斛幼苗及二年生植株进行 SUS 家族基因克隆, 发现 SUS 的结构和功能并未改变; 二年生铁皮石斛 SUS 基因表达量存在组织差异性, 相对丰度为茎>叶>根。SUS 稳定性一直是该基因的关注点, 对其进行稳定性进行分析, 发现药用植物 SUS 稳定性远低于细菌 SUS, 原因可能是因为细菌 N-端截断所引起的^[32], 这为药用植物 SUS 的应用提供了良好的思路。

3.2 SPS

蔗糖磷酸合成酶被证明是多糖合成途径的第一个限速酶, 在光合作用产物向蔗糖和淀粉的分配中起到关键调控作用^[74]。目前已从 5 种药用植物中克隆获得了 SPS 基因, 其开放阅读框约为 3100 bp, 所编码的氨基酸序列长度在 758~1061 aa, 相对分子质量约为 110 000, 见表 3。王丽君

表3 药用植物多糖合成关键酶基因生物信息学汇总

Table 3 Bioinformatics information of key enzyme genes for polysaccharide biosynthesis in medicinal plants

关键酶	物种名	基因名	全长/bp	ORF/bp	相对分子质量	等电点(IP)	氨基酸	GenBank 编号	文献	
SUS	甘草 <i>G. uralensis</i>	<i>GuSUS1</i>	2418	2418	92 350	5.96	805	MK420465	32	
		<i>GuSUS2</i>	2418	2418	92 520	6.18	805	MK420466		
	铁皮石斛 <i>D. officinale</i>	<i>DoSUS</i>	2813	2424	91 990	5.83	807	HQ856835	33	
	菊芋 <i>Helianthus tuberosus</i>	<i>HtSUS1</i>	2433	2433	92 270	6.09	810	MK386943	34	
		<i>HtSUS2</i>	2424	2424	92 560	5.93	807	MK386944		
	虎眼万年青 <i>Ornithogalum caudatum</i>	<i>OcSUS1</i>	3130	2448	93 350	6.02	815	KT833617	35	
		<i>OcSUS2</i>	2863	2442	92 510	5.84	813	KT833618		
		<i>OcSUS3</i>	2893	2418	92 000	6.01	805	KT833619		
	百合 <i>Lilium davidii</i>	<i>LdSUSy1</i>	2887	2424	92 170	5.88	807	KF982842	36	
		<i>LdSUSy2</i>	2865	2433	92 210	6.09	810	KJ093302		
郁金香 <i>Tulipa gesneriana</i>	<i>TgSUS1</i>	2759	2418	92 260	6.12	805	X96938	37		
	<i>TgSUS2</i>	2885	2463	93 810	5.99	820	X96939			
	紫花苜蓿 <i>Medicago sativa</i>	<i>MtSUSy</i>	2728	2418	92 290	5.86	805	AF049487	38	
	枸杞 <i>L. barbarum</i>	<i>LbSusy</i>	2926	2418	92 460	6.00	805	KC907702	39	
SPS	枸杞	<i>LbSPS</i>	3677	3165	118 460	6.05	1033	KC834608	40	
	铁皮石斛	<i>DoSPS</i>	3502	3186	118 700	5.72	1061	JF423929	41	
	菊芋	<i>HtSPS</i>	3120	3120	116 730	6.37	1039	MK386946.1	42	
		<i>HtSPS</i>	3057	3057	115 680	6.09	1018	MK386945.1		
	鼓槌石斛 <i>Dendrobium chrysotoxum</i>	<i>DcSPS</i>	2411	2277	89 550	5.72	758	KP696500.1	43	
	紫花苜蓿	<i>MsSPSA</i>	3579	3177	117 890	6.40	1058	AF322116	44	
INV	菊芋	<i>HtINV1</i>	1719	1719	65 050	6.37	572	MK386947	45	
		<i>HtINV2</i>	1869	1869	70 270	5.43	622	MK386948		
		<i>HtINV3</i>	1935	1935	71 010	5.21	644	MK386949		
		<i>HtINV4</i>	1938	1938	71 770	5.09	645	MK386950		
		<i>HtINV5</i>	1761	1761	67 010	9.38	586	MK386951		
		<i>HtINV6</i>	1659	1659	62 970	6.07	552	MK386952		
		<i>HtINV7</i>	1824	1424	70 030	6.36	613	MK386953		
	枸杞	<i>LbNI</i>	1653	1653	63 670	6.77	550	KR026955	46	
	小桐子 <i>Jatropha curcas</i>	<i>JcC-INVA</i>	2611	2037	77 120	7.13	678	105647406	47	
		<i>JcC-INVB</i>	2094	1686	64 420	6.09	561	105643788		
		<i>JcC-INVC</i>	2677	2067	78 000	8.23	688	105643586		
		<i>JcC-INVD</i>	2101	1683	63 690	6.18	560	105644032		
		<i>JcC-INVE</i>	2612	1947	73 300	6.66	648	105637086		
		<i>JcC-INVF</i>	2562	2145	80 110	7.05	714	105643330		
		<i>JcC-INVG</i>	2283	1695	64 610	6.31	564	105635343		
		<i>JcC-INVH</i>	2874	1998	74 620	5.89	665	105648005		
		铁皮石斛	<i>DoSAI</i>	1595	1368	50.70	5.32	455	KU598852	48
			<i>DoNII</i>	2231	1665	62.88	6.30	554	KP742351	
			<i>DoNI2</i>	2397	1836	69.05	6.38	611	KY794404	
龙眼 <i>Dimocarpus longan</i>		<i>DINI-1</i>	2092	1770	66.54	6.18	589	KP769773	49	
	<i>DINI-2</i>	2558	2130	79.91	7.92	709	KP769774			
	<i>DINI-3</i>	2444	2037	76.09	5.77	678	KP769775			
HK	枸杞	<i>LbHXX</i>	1494	1494	53.88	5.96	497	KX584483	50	
	龙眼	<i>DlHXX</i>	2101	1488	53.70	6.20	495	KF776906.1	51	
	枇杷 <i>Eriobotrya japonica</i>	<i>EjHXX1</i>	1839	149	53.69	6.17	497	ADZ96378.1	52	
	小桐子	<i>JcHXX1</i>	2293	1498	53.81	5.68	498	LOC105637848	53	
		<i>JcHXX2</i>	1956	1485	53.52	5.92	494	LOC105635349		
	<i>JcHXX3</i>	2060	1500	54.52	5.57	499	LOC105648314			
FRK	枸杞	<i>LbFRK7</i>	1060	1044	37.44	5.05	348	KX584482	54	
	枇杷	<i>EjPPFPb</i>	1876	1710	61.74	5.92	569	JF414122	55	
	龙眼	<i>DIFRK</i>	850	525	19.42	5.03	180	EU600093	56	
	<i>DIFRK</i>	1661	1011	36.20	5.61	336	JN166014.1	57		
UGPase	铁皮石斛	<i>DoUGPase1</i>	1643	1419	52.05	5.08	472	KF711982.1	58	
	紫穗槐 <i>Amorpha fruticosa</i>	<i>AfUGPase</i>	1831	1416	51.58	6.07	471	AF435969.1	59	
	黄芪 <i>A. membranaceus</i>	<i>AMUPase</i>	1831	1578	51.55	5.92	471	AF281081.1	60	
	党参 <i>C. pilosula</i>	<i>CpUGPase</i>	1612	1413	51.40	5.99	470	AJA91184.1	61	

续表 3

关键酶	物种名	基因名	全长/bp	ORF/bp	相对分子质量	等电点(IP)	氨基酸	GenBank 编号	文献
UGDH	苎麻 <i>Boehmeria nivea</i>	<i>BnUGDH</i>	1837	1443	52 700	5.90	480	EF178294.3	62
	龙眼	<i>DIUGD6</i>	1860	1443	52 870	6.16	480	KU198438	63
	紫花苜蓿	<i>MtUGD6</i>	1877	1443	52 970	5.70	480	XM_003621355.3	64
	土肉桂 <i>Cinnamomum obtusifolium</i>	<i>CoUGDH</i>	1443	1443	52 930	5.99	480	AY496079.1	
	蓖麻 <i>Ricinus communis</i>	<i>RcUGDH</i>	1766	1443	52 790	5.97	480	XM_002514640.3	
PMM	白及 <i>B.striata</i>	<i>BsPMM</i>	1062	759	28 610	5.92	252		65
	铁皮石斛	<i>DoPMM</i>	943	759	28 640	5.75	252	KF195558	66
	党参	<i>CpPMM</i>	1066	741	27 900	5.60	246		67
GMPP	铁皮石斛	<i>DoGMP1</i>	1528	1086	39 350	6.03	362	KF195559	68
		<i>DoGMP2</i>	1492	1248	45 880	6.18	416	KF195560	
	霍山石斛 <i>D. huoshanense</i>	<i>DhGMP</i>	1248	1248	45 780	6.33	415	LC422838	69
	白及	<i>BsGMP</i>	1523	1086	39 350	6.03	361		70
RHM	何首乌 <i>Fallopia multiflora</i>	<i>FmRHM1</i>		2013	75 600	6.20	670		71
				2013	75 600	7.19	670		
GTs	铁皮石斛	<i>DoCSLA1</i>	1746	1509	58 390	8.68	502	KM980199	72
		<i>DoCSLA2</i>	2121	1695	64 760	8.76	564	KM980200	
		<i>DoCSLA3</i>	2153	1719	64 670	6.58	572	KP003920	
		<i>DoCSLA4</i>	1749	1694	64 680	9.13	559	KM980201	
		<i>DoCSLA5</i>	1967	1671	63 590	8.56	556	KM980202	
		<i>DoCSLA6</i>	2093	1611	61 120	9.08	536	KF195561	
		<i>DoCSLA7</i>	2027	1800	67 290	9.15	599	KP205040	
		<i>DoCSLA8</i>	2060	1650	62 960	8.95	549	KP205041	
	<i>DoGALT2</i>	2362	1029	39 300	8.95	342	MH409953	73	

等^[40]从宁夏枸杞中获得了 1 个 SPS 基因(*LbSPS*), qRT-PCR 结果显示, 该基因在枸杞花中表达量最高, 叶中表达水平较低。Aleman 等^[44]对紫花苜蓿中 SPS 基因进行了克隆及表达分析, 发现 *MsSPSA* 表达增强在根瘤碳氮代谢中发挥着重要的作用。

3.3 INV

INV 又称为 β-呋喃果糖苷酶, 在药用植物中起到催化蔗糖降解为果糖和葡萄糖的作用, 并参与细胞的渗透调节和贮藏器官中糖分的积累^[75], 为下游合成多糖提供底物, 因此 INV 是植物体内多糖合成的关键酶之一。目前已从 5 种药用植物中克隆获得了 *INV* 基因, 其开放阅读框约为 1900 bp, 所编码的氨基酸长度介于 455~714 aa, 相对分子质量约为 70 000。INV 不可或缺的保守结构域有 NDPNG、RDP、WECVD^[76], 相关生物学信息见表 3。苗小荣等^[48]从铁皮石斛中克隆出 *DoNI2* 基因, qRT-PCR 结果发现 *DoNI2* 基因在铁皮石斛根、茎和叶中均有表达, 在茎中表达量最高, 根中最低; 且不同生长年限根茎中 *DoNI2* 基因表达量与 INV 酶活性呈显著正相关。Huang 等^[77]研究表明通过 Cu 胁迫中药羊蹄, 发现根部酸性转化酶基因表达量与非胁迫条件

下相比存在显著差异, 且酸性转化酶活性与重金属耐性存在着一定关系。

3.4 HK 和 FRK

HK 和 FRK 是植物体内催化果糖磷酸化的 2 个关键酶。HK 和 FRK 在植物体是调节控制植物生长和发育的信号分子^[78-79], 是植物体内不可或缺的双功能酶^[80], 参与糖的信号传导, 它对糖的调控贯穿了整个生长发育的过程, 对植物体内许多基因的表达起到激活或阻遏的作用。目前报道的药用植物 HK 共有 4 种, 多数 *HK* 基因含有 9 个外显子, 开放阅读框约为 1490 bp, 共编码 494~498 aa, 相对分子质量在 53 000 左右, 相对稳定。关于 FRK, 目前已从枸杞、龙眼、琵琶克隆获得, 其放阅读框在 1000~2000 bp, 共编码 180~569 aa 氨基酸, 相对分子质量约为 36 000。部分生物学信息见表 3。

Niu 等^[12]对不同磷水平处理下的滇黄精进行了 HiSeq2500 转录组测序, 共筛选出 20 种与黄精多糖生物合成相关的基因, 其中黄精多糖含量与 HK 基因的表达呈负相关。赵建华等^[54]从枸杞中克隆获得了果糖激酶基因 *LbFRK7*, 发现 *LbFRK7* 在不同组织中均有表达, 果实中的表达量最高, 根中最低;

随着果实的发育,果实中 *LbFRK7* 基因的表达量呈先升后降的变化趋势,这与果糖的磷酸化和积累密切相关。这些结果表明 HK 和 FRK 对药用植物多糖合成与积累发挥着重要作用。

3.5 UGPase

UGPase 是植物、动物和真菌体内葡萄糖代谢的关键酶,能够催化 1-磷酸葡萄糖与尿苷三磷酸反应生成 UDP-葡萄糖和焦磷酸盐,从而为药用植物合成纤维素、半纤维素、果胶、糖脂、糖蛋白等提供前体物质,因此也是多糖合成途径关键酶之一^[81]。目前共从 4 种药用植物中克隆获得了 *UGPase* 基因,开放阅读框约为 1500 bp,编码 465~510 aa,相对分子质量在 51 000 左右,部分生物学信息见表 3。孙晶等^[58]研究了铁皮石斛不同组织部位中 *UGPase* 基因的表达量,结果显示,石斛根和茎中 *UGPase* 基因的表达量远高于叶中,且该基因的表达量在高年生石斛中随着木质化和糖分累积基本停止而降低。Wu 等^[60]从膜荚黄芪中克隆了 *UGPase* 基因 *AmUGPase*,并通过大肠杆菌异源表达功能验证发现,该酶能够在大肠杆菌中大量表达,表达量约为总细菌蛋白的 40%,Northern blotting 杂交结果表明 *AmUGPase* 在黄芪的根、茎、叶及毛状根中均有表达,且在根和毛状根中的表达量较高。截至目前为止,*UGPase* 在多糖合成和积累中的作用机制仍不清楚,需进一步研究。

3.6 UGDH

UGDH 广泛存在于动物、植物细胞中,是合成多种核苷酸糖的关键酶。UGDH 能够催化 UDP-葡萄糖转化为 UDP-葡萄糖醛酸,为细胞质膜上透明质酸、高尔基体中 UDP-木糖和蛋白多糖的合成及高等动物体内激素的葡萄糖醛酸化提供前体物质^[82]。就药用植物而言,UGDH 的缺失会导致 UDP-木糖合成受限,进而影响 UDP-阿拉伯糖合成,导致严重的细胞壁组成缺陷,阻碍根系的发育。经统计,目前共从 5 种药用植物中克隆获得了 *UGDH* 基因,相对比较保守,其开放阅读框均为 1443 bp,由 480 aa 编码而成,相对分子质量相对保持在 52 000,相关生物学信息见表 3。刘峰等^[62]、徐小萍等^[63]分别从苎麻和龙眼中克隆了 *UGDH* 基因 *BnUGDH* 和 *DIUGD6*,组织表达特性分析显示,*BnUGDH* 在根、茎、叶、皮中均有表达,且茎中的表达量最高;*DIUGD6* 在龙眼非胚性愈伤组织中表达量相对较高,推断 *DIUGD6* 基因可能与龙眼生长发育各个阶

段中细胞壁多糖合成密切相关。

3.7 PMM 和 GMPP

PMM 和 GMPP 是植物体内合成 GDP-甘露糖的关键酶,为 GDP-甘露糖的合成提供前体物质,在植物多糖合成中发挥着重要作用^[83]。目前共从 5 种药用植物中克隆了 *PMM* 家族基因,其开放阅读框在 1000 bp 左右,编码 246~258 aa,相对分子质量约为 28 000,相关生物学信息见表 3。He 等^[66]从铁皮石斛中克隆了 *PMM* 基因 *DoPMM*,其在根、茎、叶、花中均有表达,且处于营养期和生殖期时,茎中表达丰度较高,表明 *DoPMM* 与石斛多糖合成密切相关;通过拟南芥中过表达实验发现,转基因拟南芥中的多糖含量明显增加;此外,*DoPMM* 在响应非生物胁迫中同样发挥着重要作用。曹守波等^[67]发现霍山石斛 *PMM* 基因 *CpPMM*,具有时空差异性,结果期表达量最高,且表达量与多糖含量呈显著相关性。

研究显示,目前已从白及、铁皮石斛、霍山石斛 3 种药用植物中克隆出了 *GMPP* 基因,开放阅读框在 1086~1248 bp,编码 361~415 aa,相对分子质量约为 40 000,相关生物学信息见表 3。韩荣春等^[69]从霍山石斛中克隆了 *DhGMP* 基因,qPCR 实验结果显示,*DhGMP* 在霍山石斛根、茎、叶、花中均有表达,且茎中表达量最高,根中最低,且 *DhGMP* 表达量与多糖的含量高度相关。以上结果表明 *PMM* 和 *GMPP* 基因在药用植物多糖生物合成中发挥着重要作用,但其作用机制仍需进一步研究。

3.8 RHM

在药用植物细胞内,RHM 是调控鼠李糖合成的关键酶之一,主要负责催化 UDP-葡萄糖转化为 UDP-鼠李糖。目前,关于植物 RHM 研究报道较少,刘露等^[71]从何首乌中克隆了 RHM 基因 *FmRHM1* 和 *FmRHM2*,其开放阅读框均为 2013 bp,编码 670 aa,相对分子质量为 75 000,qRT-PCR 实验结果显示,*FmRHM1* 和 *FmRHM2* 基因在根中的表达量最低,与茎和叶相比均存在显著差异,说明 *FmRHM* 基因可能与何首乌茎、叶中糖类生物代谢相关。

3.9 GTs

糖基化是大部分植物质量标志物生物合成的最后一步,GTs 作为该部分的关键酶,共有上百种酶参与了植物体内多糖的合成,起到催化形成糖苷键的作用。目前,CAZY 数据库(<http://www.cazy.org/>)共注释了 115 个 *GTs* 基因家族,参与多糖的生物合

成的 GTs 主要有 2 种类型：一种为含有单个跨膜结构域的 GTs，另一种为含有多个跨膜结构域的 GTs^[84]。药用植物多糖合成相关 GTs 的研究主要集中于兰科植物石斛，先后克隆了 9 条 GTs 家族基因，开放阅读框为 1000~2000 bp，编码 342~599 aa，相对分子质量约为 50 000，见表 3。He 等^[72]克隆了 8 条类纤维素合酶家族基因，其中将 *DoCSLA6* 导入拟南芥之后，与野生型植株相比甘露糖的含量得到显著提高。Yu 等^[73]所克隆的 GT31 家族基因 *DoGALT2*，在不同开花期该基因表达量与铁皮石斛花粉黏液多糖含量呈正相关，与野生型植株相比，*DoGALT2* 过表达植株半乳糖和含半乳糖的醇不溶性残基明显增高，并增强了对非生物胁迫的耐受性，表明该基因可能参与了半乳糖多糖的生物合成^[73]。

4 结语与展望

基于现有研究可知，光合作用糖代谢产物是植物多糖的合成基础物质，之后选择性的进入多糖合成通路，其中 SUS、INV、UGPase、FRK、GTs 等关键酶在多糖聚合过程中发挥着重要作用；UGE、UGDH、RHM 在 UDP-葡萄糖的分配上作用显著；PMM、PGM 则是鸟苷二磷酸单糖合成部分的关键酶。多糖作为诸多药用植物的质量标志物，因组成单糖的种类和组成方式不同，其相对分子质量和功能也大相径庭，相应的对关键酶基因的研究也不尽相同。横向比较发现，目前对以根茎为主要药用部位（黄精、玉竹、党参、白及、铁皮石斛等）植物多糖生物合成下游部分关键酶的研究多集中在 GMPP、PMM。

质量标志物多糖是药用植物体内重要的代谢产物之一，具有显著的药理活性。由于难以从药用植物中获得足量且结构均一的多糖，满足生产和实践需求，通过化学合成、生物工程或者植物组织培养的方法来促进多糖生产已成为当下思考和研究的热点。比较发现生物代谢工程是发展多糖合成最具可行性的方法，但由于物质的合成是一个复杂的蛋白网络调控结果，故明确多糖生物合成中每一关键酶的作用机制和催化活性成为目前首要解决的问题。受限于技术手段和研究偏好，目前对多糖合成关键酶的研究多集中于基因生物信息学的分析、目标基因克隆和组织表达特性分析，对诸多关键酶的作用机制则鲜有报道。在后续研究中，可以通过异源表达、体外酶促催化、基因敲除、RNA 干扰等技术来明确多糖合成关键酶的作用机制和催化活性，为人

工合成目标多糖奠定基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Zeng P, Li J, Chen Y, *et al.* The structures and biological functions of polysaccharides from traditional Chinese herbs [J]. *Prog Mol Biol Transl Sci*, 2019, 163: 423-444.
- [2] 吴梦琪, 夏玮, 徐志珍, 等. 植物多糖的分离纯化、结构解析及生物活性研究进展 [J]. *化学世界*, 2019, 60(11): 737-747.
- [3] 谭西, 周欣, 陈华国. 植物多糖构效关系研究进展 [J]. *中国中药杂志*, 2017, 42(21): 4104-4109.
- [4] Yu Y, Shen M, Song Q, *et al.* Biological activities and pharmaceutical applications of polysaccharide from natural resources: A review [J]. *Carbohydr Polym*, 2018, 183: 91-101.
- [5] 王艳, 董鹏, 金晨钟, 等. 黄精多糖组成及其抗氧化活性分析 [J]. *基因组学与应用生物学*, 2019, 38(5): 2191-2199.
- [6] 胡坪, 乔晚芳, 沈骏文, 等. 麦冬多糖单糖组成的分析方法研究 [J]. *药物分析杂志*, 2013, 33(1): 50-56.
- [7] Hui H P, Jin H, Li X Z, *et al.* Purification, characterization and antioxidant activities of a polysaccharide from the roots of *Lilium davidii* var. *unicolor* Cotton [J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 135: 1208-1216.
- [8] 刘卫宝, 余讯, 徐静静, 等. 黄芪多糖的分离、结构表征及益生活性研究 [J]. *食品与发酵工业*, 2020, 46(7): 50-56.
- [9] 帕丽达·阿不力孜, 米仁沙·牙库甫, 陈橙, 等. 胀果甘草多糖 GiP-3 的结构分析及免疫活性测定 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(4): 66-71.
- [10] Zhang Y J, Zhang L X, Yang J F, *et al.* Structure analysis of water-soluble polysaccharide CPPS₃ isolated from *Codonopsis pilosula* [J]. *Fitoterapia*, 2010, 81(3): 157-161.
- [11] 高云霄, 胡小龙, 王月荣, 等. 铁皮石斛多糖的初级结构分析 [J]. *高等学校化学学报*, 2018, 39(5): 934-940.
- [12] Niu J F, Zhao G M, Mi Z Y, *et al.* De novo sequencing of *Bletilla striata* (Orchidaceae) transcriptome and identification of genes involved in polysaccharide biosynthesis [J]. *Genet Mol Biol*, 2020, 43(3): e20190417.
- [13] Niu J M, Xu G Y, Jiang S, *et al.* In vitro antioxidant activities and anti-diabetic effect of a polysaccharide from *Schisandra sphenanthera* in rats with type 2 diabetes [J]. *Int J Biol Macromol*, 2017, 94: 154-160.
- [14] Tian X J, Liang T S, Liu Y L, *et al.* Extraction, structural characterization, and biological functions of *Lycium barbarum* polysaccharides: A review [J]. *Biomolecules*,

- 2019, 9(9): E389.
- [15] Tang W, Jin L, Xie L, *et al.* Structural characterization and antifatigue effect *in vivo* of maca (*Lepidium meyenii* walp) polysaccharide [J]. *J Food Sci*, 2017, 82(3): 757-764.
- [16] Hu H B, Liang H P, Wu Y. Isolation, purification and structural characterization of polysaccharide from *Acanthopanax brachypus* [J]. *Carbohydr Polym*, 2015, 127: 94-100.
- [17] 陈晓明, 徐愿坚, 田庚元. 牛膝多糖的理化性质研究及结构确证 [J]. *药学学报*, 2005, 40(1): 32-35.
- [18] Wang S Q, Wang B, Hua W P, *et al.* De novo assembly and analysis of *Polygonatum sibiricum* transcriptome and identification of genes involved in polysaccharide biosynthesis [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(9): E1950.
- [19] Niu J F, Zhao G M, Mi Z Y, *et al.* De novo sequencing of *Bletilla striata* (Orchidaceae) transcriptome and identification of genes involved in polysaccharide biosynthesis [J]. *Genet Mol Biol*, 2020, 43(3): e20190417.
- [20] Zhang S X, Shi Y Y, Huang L Q, *et al.* Comparative transcriptomic analysis of rhizomes, stems, and leaves of *Polygonatum odoratum* (Mill.) Druce reveals candidate genes associated with polysaccharide synthesis [J]. *Gene*, 2020, 744: 144626.
- [21] Lunn J E, MacRae E. New complexities in the synthesis of sucrose [J]. *Curr Opin Plant Biol*, 2003, 6(3): 208-214.
- [22] Wang W Y, Zhang F, Wen Y Y, *et al.* Cell-free enzymatic synthesis of GDP-L-fucose from mannose [J]. *AMB Express*, 2019, 9(1): 74.
- [23] Reiter W D. Biochemical genetics of nucleotide sugar interconversion reactions [J]. *Curr Opin Plant Biol*, 2008, 11(3): 236-243.
- [24] Wang S L, Ito T, Uehara M, *et al.* UDP-D-galactose synthesis by UDP-glucose 4-epimerase 4 is required for organization of the trans-Golgi network/early endosome in *Arabidopsis thaliana* root epidermal cells [J]. *J Plant Res*, 2015, 128(5): 863-873.
- [25] Gu X G, Lee S G, Bar-Peled M. Biosynthesis of UDP-xylose and UDP-arabinose in *Sinorhizobium meliloti* 1021: First characterization of a bacterial UDP-xylose synthase, and UDP-xylose 4-epimerase [J]. *Microbiology*, 2011, 157(Pt 1): 260-269.
- [26] Dai X, Zhao G, Jiao T, *et al.* Involvement of three CsRHM genes from *Camellia sinensis* in UDP-rhamnose biosynthesis [J]. *J Agric Food Chem*, 2018, 66(27): 7139-7149.
- [27] Temple H, Saez-Aguayo S, Reyes F C, *et al.* The inside and outside: Topological issues in plant cell wall biosynthesis and the roles of nucleotide sugar transporters [J]. *Glycobiology*, 2016, 26(9): 913-925.
- [28] Thibodeaux C J, Melançon C E 3rd, Liu H W. Natural-product sugar biosynthesis and enzymatic glycodiversification [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2008, 47(51): 9814-9859.
- [29] Gutmann A, Lepak A, Diricks M, *et al.* Glycosyltransferase cascades for natural product glycosylation: Use of plant instead of bacterial sucrose synthases improves the UDP-glucose recycling from sucrose and UDP [J]. *Biotechnol J*, 2017, 12(7): 23-32.
- [30] Stein O, Granot D. An overview of sucrose synthases in plants [J]. *Front Plant Sci*, 2019, 10: 95.
- [31] Xu X Y, Yang Y H, Liu C X, *et al.* The evolutionary history of the sucrose synthase gene family in higher plants [J]. *BMC Plant Biol*, 2019, 19(1): 566.
- [32] Zhang L, Gao Y N, Liu X F, *et al.* Mining of sucrose synthases from *Glycyrrhiza uralensis* and their application in the construction of an efficient UDP-recycling system [J]. *J Agric Food Chem*, 2019, 67(42): 11694-11702.
- [33] 张园, 刘正杰, 徐绍忠, 等. 铁皮石斛蔗糖合成酶基因序列特征与表达模式分析 [J]. *分子植物育种*, 2018, 16(20): 6631-6638.
- [34] 闻奋亮, 隆小华, 岳杨, 等. 菊芋蔗糖代谢相关产物与关键酶基因对高温的响应 [J]. *生态学杂志*, 2020, 39(1): 82-92.
- [35] 李丽娜. 虎眼万年青中蔗糖合酶基因的克隆、表达及功能鉴定 [D]. 北京: 北京协和医学院, 2016.
- [36] 程金云. 兰州百合蔗糖代谢关键酶基因的克隆及原核表达 [D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2017.
- [37] Balk P A, de Boer A D. Rapid stalk elongation in tulip (*Tulipa gesneriana* L. cv. *apeldoorn*) and the combined action of cold-induced invertase and the water-channel protein gammaTIP [J]. *Planta*, 1999, 209(3): 346-354.
- [38] Hohnjec N, Becker J D, Pühler A, *et al.* Genomic organization and expression properties of the MtSucS1 gene, which encodes a nodule-enhanced sucrose synthase in the model legume *Medicago truncatula* [J]. *Mol Gen Genet MGG*, 1999, 261(3): 514-522.
- [39] 王丽娟, 石晶, 王彦才. 枸杞蔗糖合成酶基因 cDNA 分离及表达分析 [J]. *北方园艺*, 2013(21): 105-109.
- [40] 王丽娟, 丁向真, 王彦才, 等. 枸杞蔗糖磷酸合成酶基因的克隆及组织表达分析 [J]. *西北植物学报*, 2013, 33(8): 1516-1520.
- [41] 孟衡玲, 杨生超, 查应洪, 等. 铁皮石斛蔗糖磷酸合成酶基因的克隆与原核表达 [J]. *西北植物学报*, 2013, 33(4): 692-696.
- [42] 闻奋亮, 隆小华, 岳杨, 等. 菊芋蔗糖代谢相关产物与关键酶基因对高温的响应 [J]. *生态学杂志*, 2020,

- 39(1): 82-92.
- [43] 康莹莹. 鼓槌石斛的离体快繁及 SPS 基因的克隆与表达分析 [D]. 郑州: 河南农业大学, 2015.
- [44] Aleman L, Ortega J L, Martinez-Grimes M, et al. Nodule-enhanced expression of a sucrose phosphate synthase gene member (MsSPSA) has a role in carbon and nitrogen metabolism in the nodules of alfalfa (*Medicago sativa* L.) [J]. *Planta*, 2010, 231(2): 233-244.
- [45] 闻奋亮, 隆小华, 岳杨, 等. 菊芋蔗糖代谢相关产物与关键酶基因对高温的响应 [J]. *生态学杂志*, 2020, 39(1): 82-92.
- [46] 王婷婷, 赵紫涵, 张雅彬, 等. 枸杞中性转化酶NI基因的克隆及组织表达分析 [J]. *基因组学与应用生物学*, 2020, 39(7): 3159-3167.
- [47] 王海波, 辛胡, 刘潮, 等. 小桐子转化酶基因家族的生物信息学分析及表达特性 [J]. *生物技术通报*, 2017, 33(9): 172-178.
- [48] 苗小荣, 牛俊奇, 莫昭展, 等. 铁皮石斛中性/碱性转化酶(DoNI2)基因的克隆和表达分析 [J]. *中草药*, 2018, 49(15): 3659-3666.
- [49] 帅良, 廖玲燕, 韩冬梅, 等. 龙眼中性转化酶基因(DINI)的克隆及分析 [J]. *西南农业学报*, 2017, 30(10): 2202-2209.
- [50] 李浩霞, 杨斌, 尹跃, 等. 枸杞己糖激酶基因 LbHXK 的克隆及表达分析 [J]. *西北植物学报*, 2019, 39(6): 1009-1015.
- [51] 帅良, 李静, 韩冬梅, 等. 龙眼己糖激酶基因的克隆及原核表达 [J]. *华南农业大学学报*, 2015, 36(3): 91-97.
- [52] 蒋黎. 枇杷己糖激酶调控糖积累的分子机制研究 [D]. 杭州: 浙江农林大学, 2013.
- [53] Wang H B, Xin H, Guo J Y, et al. Genome-wide screening of hexokinase gene family and functional elucidation of HXK2 response to cold stress in *Jatropha curcas* [J]. *Mol Biol Rep*, 2019, 46(2): 1649-1660.
- [54] 赵建华, 尹跃, 李浩霞, 等. 枸杞果糖激酶基因 LbFRK7 的克隆及表达分析 [J]. *西北植物学报*, 2018, 38(5): 816-822.
- [55] 郭艳利. 枇杷磷酸果糖激酶基因的分离及表达分析 [D]. 杭州: 浙江农林大学, 2013.
- [56] 章希娟. 龙眼胚胎发育相关基因 F3H 和 FRK 的克隆与分析 [D]. 福州: 福建农林大学, 2008.
- [57] 帅良, 薛晓清, 牛佳佳, 等. 龙眼果实发育过程中果糖激酶活性及其基因表达分析 [J]. *华南农业大学学报*, 2015, 36(5): 99-104.
- [58] 孙晶, 何涛, 万闰兰, 等. 铁皮石斛尿苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶基因(UGP)的密码子偏好性分析 [J]. *应用与环境生物学报*, 2014, 20(5): 759-766.
- [59] 刘文哲. 紫穗槐 UGPase 和 4CL 基因的克隆及在植物中的转化与表达 [D]. 大连: 大连理工大学, 2002.
- [60] Wu XJ, Du M, Weng YQ, et al. UGPase of *Astragalus membranaceus*: cDNA cloning, analyzing and expressing in *Escherichia coli* [J]. *J Integr Plant Biol*, 2002, 44(6): 689-693.
- [61] 李晶, 郭琼琼, 孙海峰, 等. 党参 CpUGPase 基因的克隆、序列分析与原核表达 [J]. *中草药*, 2016, 47(21): 3876-3883.
- [62] 刘峰, 黄好, 郭清泉, 等. 苳麻 UDPGDH 基因的 cDNA 克隆及表达分析 [J]. *中国农业科学*, 2008, 41(11): 3542-3548.
- [63] 徐小萍, 赖瑞联, 林玉玲, 等. 龙眼 UGD6 基因克隆及其表达特性分析 [J]. *西北植物学报*, 2017, 37(4): 636-645.
- [64] 郭秀. 兴安落叶松尿苷二磷酸葡萄糖脱氢酶基因的克隆及特性分析 [D]. 呼和浩特: 内蒙古大学, 2017.
- [65] 许娟, 石云平, 苏祖祥, 等. 白及 PMM 基因 cDNA 序列克隆及甘露糖合成相关基因的表达特性分析 [J]. *南方农业学报*, 2019, 50(9): 1913-1921.
- [66] He C M, Zeng S J, Teixeira da Silva J A, et al. Molecular cloning and functional analysis of the phosphomannomutase (PMM) gene from *Dendrobium officinale* and evidence for the involvement of an abiotic stress response during germination [J]. *Protoplasma*, 2017, 254(4): 1693-1704.
- [67] 曹守波, 王晓林, 吉姣姣, 等. 党参 CpPMM 基因的克隆与表达分析 [J]. *中国中药杂志*, 2020, 45(18): 4382-4391.
- [68] 何春梅. 铁皮石斛多糖生物合成分子机制研究 [D]. 北京: 中国科学院大学, 2015.
- [69] 韩荣春, 刘路路, 刘峻麟, 等. 霍山石斛 GDP-甘露糖焦磷酸化酶基因克隆及表达分析 [J]. *中国中药杂志*, 2019, 44(8): 1552-1557.
- [70] 许娟, 石云平, 韦绍龙, 等. 白及 GMP 基因 cDNA 全长克隆及生物信息学分析 [J]. *西南农业学报*, 2018, 31(6): 1104-1110.
- [71] 刘露, 周良云, 张春荣, 等. 何首乌中 UDP-鼠李糖合成酶基因 FmRHM1/2 的克隆与鉴定 [J]. *药学学报*, 2019, 54(8): 1515-1523.
- [72] He C M, Wu K L, Zhang J X, et al. Cytochemical localization of polysaccharides in *Dendrobium officinale* and the involvement of DoCSLA6 in the synthesis of mannan polysaccharides [J]. *Front Plant Sci*, 2017, 8: 173.
- [73] Yu Z M, Zhang G H, Teixeira da Silva J A, et al. The β -1, 3-galactosyltransferase gene DoGALT2 is essential for stigmatic mucilage production in *Dendrobium officinale* [J]. *Plant Sci*, 2019, 287: 110179.
- [74] Winter H, Huber S C. Regulation of sucrose metabolism in

- higher plants: Localization and regulation of activity of key enzymes [J]. *Crit Rev Biochem Mol Biol*, 2000, 35(4): 253-289.
- [75] Wang L, Zheng Y, Ding S, *et al.* Molecular cloning, structure, phylogeny and expression analysis of the invertase gene family in sugarcane [J]. *BMC Plant Biol*, 2017, 17(1): 109.
- [76] Yao Y, Wu X H, Geng M T, *et al.* Cloning, 3D modeling and expression analysis of three vacuolar invertase genes from cassava (*Manihot esculenta* Crantz) [J]. *Mol Basel Switz*, 2014, 19(5): 6228-6245.
- [77] Huang W X, Cao Y, Huang L J, *et al.* Differential expression of acid invertase genes in roots of metallicolous and non-metallicolous populations of *Rumex japonicus* under copper stress [J]. *Chemosphere*, 2011, 84(10): 1432-1439.
- [78] Hanson J, Smeeckens S. Sugar perception and signaling: An update [J]. *Curr Opin Plant Biol*, 2009, 12(5): 562-567.
- [79] 张超, 王彦杰, 付建新, 等. 高等植物己糖激酶基因研究进展 [J]. *生物技术通报*, 2012(4): 19-26.
- [80] Claeysen E, Rivoal J. Isozymes of plant hexokinase: Occurrence, properties and functions [J]. *Phytochemistry*, 2007, 68(6): 709-731.
- [81] Yang Z, Wang T, Wang H, *et al.* Patterns of enzyme activities and gene expressions in sucrose metabolism in relation to sugar accumulation and composition in the aril of *Litchi chinensis* Sonn [J]. *J Plant Physiol*, 2013, 170(8): 731-740.
- [82] Yang Y, Kang L, Wu R, *et al.* Genome-wide identification and characterization of UDP-glucose dehydrogenase family genes in moso bamboo and functional analysis of PeUGDH4 in hemicellulose synthesis [J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 10124.
- [83] Qian W Q, Yu C M, Qin H J, *et al.* Molecular and functional analysis of phosphomannomutase (PMM) from higher plants and genetic evidence for the involvement of PMM in ascorbic acid biosynthesis in *Arabidopsis* and *Nicotiana benthamiana* [J]. *Plant J*, 2007, 49(3): 399-413.
- [84] Zabolina O A, Zang N, Weerts R. Polysaccharide biosynthesis: Glycosyltransferases and their complexes [J]. *Front Plant Sci*, 2021, 12: 625307.

[责任编辑 时圣明]