

• 药材与资源 •

绞股蓝 *GpUGT74A2* 基因克隆及催化功能验证吴桥香¹, 袁晓煊¹, 刘小芬¹, 徐 伟¹, 许少华^{1,2*}

1. 福建中医药大学 药学院, 福建 福州 350122

2. 道地药材品质保障与资源持续利用全国重点实验室, 北京 100706

摘要: 目的 对绞股蓝 *Gynostemma pentaphyllum* 糖基转移酶基因 *GpUGT74A2* 进行克隆, 并对其生物信息学分析及催化功能验证。方法 从绞股蓝的转录组学数据中筛选获得 *GpUGT74A2* 基因; 通过在线分析网站对该序列进行生物信息学分析, 运用 MEGA11 软件构建系统发育树; 利用大肠杆菌体外表达, 高效液相色谱检验该酶对底物 20(S)-原人参二醇 [20(S)-protopanaxadiol, PPD]、20(S)-原人参三醇 [20(S)-protopanaxatriol, PPT] 是否有催化活性。结果 通过 PCR 扩增对 *GpUGT74A2* 基因进行全长克隆 (GenBank: PQ272699.1), 该基因的 CDS 序列为 1 386 bp, 编码 461 个氨基酸。GpUGT74A2 蛋白相对分子质量为 52 248, 理论等电点为 6.49, 无信号肽和跨膜区, 具有端结构域 PSPG (putative secondary plant glycosyltransferase) 结构域。比对已报道具有催化人参皂苷活性的氨基酸序列, 显示 GpUGT74A2 蛋白与拟南芥中 UGT76E11 蛋白的同源性最高, 为 46.58%。色谱结果显示 GpUGT74A2 蛋白对 PPT 具有显著的催化活性, 表明该基因参与绞股蓝皂苷生物合成, 提出绞股蓝来源糖基转移酶有望成为稀有人参皂苷定向生物合成新的工具酶。结论 成功克隆获得 *GpUGT74A2* 基因, 并进行生物信息学分析和体外催化功能验证。为进一步探究 *GpUGT74A2* 基因功能及绞股蓝来源糖基转移酶成为稀有人参皂苷定向生物合成新的工具酶提供实验依据。

关键词: 绞股蓝; *GpUGT74A2* 基因; 生物信息学分析; 定向生物合成; 体外催化

中图分类号: R286.12 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)22-8315-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.22.021

Cloning and catalytic function verification of *GpUGT74A2* in *Gynostemma pentaphyllum*WU Qiaoxiang¹, YUAN Xiaoxuan¹, LIU Xiaofen¹, XU Wei¹, XU Shaohua^{1,2}

1. School of Pharmacy, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350122, China

2. State Key Laboratory for Quality Ensurance and Sustainable Use of Dao-di Herbs, Beijing 100706, China

Abstract: **Objective** To clone the glycosyltransferase gene *GpUGT74A2* from *Gynostemma pentaphyllum* and perform bioinformatics analysis to verify its catalytic function. **Methods** The *GpUGT74A2* gene was identified from the transcriptomic data of *G. pentaphyllum*. Bioinformatics analysis of the sequence was performed using online analysis website, and a phylogenetic tree was constructed using MEGA 11 software. The gene was expressed in *Escherichia coli*, and high-performance liquid chromatography (HPLC) was used to assess the enzyme's catalytic activity toward substrates 20(S)-protopanaxadiol (PPD) and 20(S)-protopanaxatriol (PPT). **Results** Full-length cloning of *GpUGT74A2* (GenBank: PQ272699.1) was achieved through PCR amplification. The coding sequence CDS (CDS) of *GpUGT74A2* is 1 386 bp long, encoding 461 amino acids. The encoded protein has a relative molecular weight of 52 248 and a theoretical isoelectric point of 6.49. Structural analysis showed that the protein lacked signal peptides and transmembrane regions but contains a plant secondary product glycosyltransferase (PSPG) domain. Sequence comparison with reported amino acid sequences involved in ginsenoside catalysis revealed that GpUGT74A2 shared the highest homology (46.58%) with the UGT76E11 protein from *Arabidopsis thaliana*. Chromatographic analysis revealed that GpUGT74A2 exhibited significant catalytic activity toward PPT, indicating its role in the biosynthesis of *G. pentaphyllum* saponins. It was proposed that the glycosyltransferase derived from *G. pentaphyllum* was expected to become a new tool enzyme for the targeted biosynthesis of rare ginsenosides.

收稿日期: 2025-05-02

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82104321); 中央本级重大增减支项目 “名贵中药资源可持续利用能力建设项目” (2060302); 福建中医药大学基础类学科科研提升计划项目 (XJC2023009); 福建中医药大学校管重点项目 (X2022003)

作者简介: 吴桥香, 女, 硕士研究生, 研究方向为中药资源开发与利用。E-mail: 15860839465@163.com

*通信作者: 许少华, 男, 副教授, 硕士生导师, 研究方向为中药资源开发与利用。E-mail: xushaohua@fjtcu.edu.cn

Conclusion *GpUGT74A2* has been successfully cloned, and both bioinformatics analysis and *in vitro* catalytic function verification have been conducted. This study provides experimental evidence for further exploration of its function and *G. pentaphyllum* derived glycosyltransferase to become a new tool enzyme for the directed biosynthesis of rare ginsenosides.

Key words: *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino.; *GpUGT74A2* gene; bioinformatics analysis; directed biosynthesis; *in vitro* catalysis

绞股蓝 *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino. 是葫芦科绞股蓝属植物, 主要产地在陕西南部 and 长江以南各省区, 是福建省地方特色药材“福九味”之一。绞股蓝以全草入药, 具有清热解毒、止咳清肺祛痰、养心安神、补气生精的功效^[1]。在我国绞股蓝的药用历史非常之悠久, 可为蔬, 可为茶, 亦可为药^[2]。民间有语: “北有长白参, 南有绞股蓝”, 称其为神奇的“不老长寿药草”^[2]。

人参皂苷为人参主要活性成分, 在保护心血管、抗肿瘤、抗衰老等方面具有良好的药理作用, 且稀有人参皂苷的活性更甚^[3-4]。然而, 在天然植物中稀有人参皂苷的含量普遍较低, 远不能满足市场的需求, 迫切需要其他途径来提高产量。随着生物合成与代谢工程的发展, 通过发掘人参皂苷生物合成途径相关酶, 定向异源合成人参皂苷是一种极具潜力的方法, 也是近年来的热门研究方向^[5-6]。

UDP-糖基转移酶作为人参皂苷生物合成的下游关键酶, 能够在 C-3、C-6、C-20、C-28 等主要位点上形成长短不一的糖链, 对于人参皂苷的结构多样性以及药理活性具有重要意义^[7-8]。近年来, 也报道了不少人参皂苷 UDP-糖基转移酶, 例如来自人参的 PgUGT71A27、UGTPg71A29、PgUGT1 等^[9-10]; 来自三七的 PnUGT1、PnUGT35 等^[11-12]; 来自西洋参的 Pq-PPT-6,20-O-UGT、GT95 等^[13-14]。但已明催化功能的人参皂苷糖基转移酶并不多, 且大多源于同科属植物, 为丰富体系, 迫切需要挖掘更多有催化活性的糖基转移酶, 从富含人参皂苷的非同属植物的绞股蓝切入, 希望挖掘更多新的可催化人参皂苷糖基化的酶。

研究发现, 绞股蓝是目前除五加科以外唯一发现含有达玛烷型人参皂苷的植物^[15-17]。有研究者对其结构展开研究, 发现绞股蓝皂苷与人参皂苷的结构度高相似, 其中人参皂苷 Re、Rg₂、F₁、Rd、Rf 等为绞股蓝和人参共有成分^[18]。目前, 已报道的具有催化活性的绞股蓝糖基转移酶约 8 种, 多数能催化 20(S)-原人参二醇 [20(S)-protopanaxadiol, PPD]、20(S)-原人参三醇 [20(S)-protopanaxatriol, PPT] 产生相应的糖苷^[7, 19-22]。然而, 绞股蓝糖基转移酶的研究还有很大的发展空间, 为了挖掘更多新的绞股蓝糖基转移

酶, 对福建绞股蓝进行转录组学分析, 从中挖掘到 1 个序列新颖的绞股蓝糖基转移酶, 并对该基因进行生物信息学分析和催化功能验证, 为深入研究该基因的功能及绞股蓝糖基转移酶的挖掘奠定基础, 以期为人参皂苷的高效转化提供新的酶元件, 同时对推进绞股蓝良种选育的研究具有重要意义。

1 材料与仪器

1.1 材料

绞股蓝样品均采自福建省福州市闽侯县福建中医药大学时珍园植物园, 经福建中医药大学高级实验师徐惠龙鉴定为葫芦科绞股蓝属植物绞股蓝 *G. pentaphyllum* (Thunb.) Makino。取其叶片纯水洗净, 控干水分, 液氮速冻并保存至 -80 °C 备用。

1.2 试剂与仪器

氨苄青霉素 (ampicillin, AMP)、异丙基-β-D-硫代半乳糖苷 (isopropyl-β-D-thiogalactopyranoside, IPTG)、SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒、50×TAE Buffer、LAB2000 DNA Marker (L2000) 等试剂购于兰博利德有限公司; PPD (B21619)、PPT (B21760)、人参皂苷 F₁ (ginsenoside F₁, F₁, B21046)、人参皂苷 CK (compound K, CK, B21045) 均购于上海源叶有限公司, 质量分数大于 98%; 无水乙醇 (013580790)、甲醇 (01104351)、乙腈 (01111812)、冰醋酸 (016790282) 购于上海泰坦有限公司; 三羟甲基氨基甲烷 (兰博利德有限公司)、Gel Red 核酸染料 (兰博利德有限公司); 无氯仿 RNA 提取试剂盒 (南京诺唯赞生物科技股份有限公司)、快捷型琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒 (翌圣生物科技股份有限公司)、KOD One™ PCR Master Mix (东洋纺生物科技股份有限公司)、Goldenstar®RT6 cDNA Synthesis Kit Ver.2 (擎科生物科技有限公司)、DP118 型高纯度质粒小量快速提取试剂盒 (天根生化科技有限公司)。

Eppendorf 5418R 型高速冷冻离心机 (德国艾本德股份公司)、BIO-RAD 型化学发光成像仪 (厦门宝诚生物技术有限公司)、电泳仪 (韦克斯科技有限公司)、Nanodrop 2000 型紫外可见分光光度计 (赛默飞世尔科技公司)、TGRADIENT 型梯度 PCR 仪 (北京宝杰罗生物科技有限公司)、BL-20 型蓝光切胶仪 (北

京兰杰柯科技有限公司)、SLK-O3000-S 型水平摇床(美国赛洛捷克公司)、LC-20A 型岛津液相色谱仪(日本岛津公司)、JY92-IIDN 型超声波细胞破碎仪(宁波新芝生物科技股份有限公司)、Vanquish 超高效液相(赛默飞世尔科技公司)、Orbitrap Exploris 120 高分辨质谱(赛默飞世尔科技公司)。

2 方法

2.1 生物信息学分析

将筛选出的 *GpUGT74A2* 基因上传至 NCBI 网站,获得该基因登录号 PQ272699。搜集并整理已报道绞股蓝皂苷糖基转移酶和人参皂苷糖基转移酶序列的氨基酸序列,利用 MEGA11 软件以邻接法(neighbor-joining, NJ),bootstrap 为 1 000 构建系统发育树,对本研究新挖掘的绞股蓝糖基转移酶的归属进行分析。同时对 *GpUGT74A2* 基因的开放阅读框、编码氨基酸个数、蛋白相对分子质量大小、蛋白等电点、亲水性、蛋白二级和三级结构等进行分析。利用 NCBI-CDD 预测 GpUGT74A2 蛋白结构域,MEME 分析 GpUGT74A2 蛋白和已报道的绞股蓝糖基转移酶的保守结构域,推测 GpUGT74A2 蛋白可能的催化功能。

2.2 过表达质粒构建

以绞股蓝 cDNA 为模板获得基因 GpUGT74A2。PCR 扩增程序:98 ℃ 预变性 2 min,98 ℃ 变性 10 s,50~60 ℃ 梯度退火 5 s,68 ℃ 延伸 7 s,循环 35 次,4 ℃ 保存。引物(GpUGT74A2-F:5'-AATGGGTCGCGGATCCGAATTCATGGA-GAAAGAAAGGCAAAAGCAAACACC-3';GpUGT74A2-R:5'-GTGCGGCCGCAAGCTTGTCGACT-TACGGTGAACCTTAACAAGCTCACAAGCTC-3'),以同源重组的方式将目的片段连接到 pET28a 上,获得重组产物。转化重组产物到感受态细胞大肠杆菌 *E. coli* DH5 α ,涂布于含有氨苄青霉素(100 μ g/mL)的 LB 平板,37 ℃ 过夜培养。挑取平板上的单菌落培养,用质粒小提试剂盒提取质粒,通过质粒酶切实验初步验证阳性克隆质粒。阳性结果质粒送到北京擎科生物科技股份有限公司测序,将测序正确的重组质粒命名为 pET28a-GpUGT74A2。

2.3 GpUGT74A2 蛋白的原核表达

将正确质粒 pET28a-GpUGT74A2 转化至感受态细胞大肠杆菌 *E. coli* BL21 (ED3),涂布于含有氨苄青霉素(100 μ g/mL)的 LB 平板,37 ℃ 过夜培养。挑取单菌落于含氨苄青霉素的培养基中培

养,以 37 ℃、200 r/min 的条件下培养 8~12 h;当菌液 OD 达到 0.6~0.8 时降低温度至 16 ℃,降低转速至 180 r/min,加入 IPTG (终浓度 0.1 mol/L),低温诱导 16 h。4 ℃、5 000 r/min,离心 10 min,收集菌体,加入 1 mL 100 mmol/L Tris-HCl (pH 7.5)重悬菌体,于超声波细胞破碎仪中低温破碎;破碎液于 4 ℃、13 000 r/min,离心 10 min,收集上清,沉淀用 1 mL 100 mmol/L Tris-HCl (pH 7.5)重悬。取适量上清和沉淀用于 SDS-PAGE 凝胶电泳,通过考马斯亮蓝染色观察目的蛋白的表达情况。

2.4 GpUGT74A2 蛋白的体外酶促反应

2.4.1 酶促反应体系 300 μ L 体系,包括细胞破碎液 150 μ L、50 mmol/L 尿苷二磷酸葡萄糖(Uridine diphosphate glucose, UDPG)30 μ L、10 mmol/L (PPT 和 PPD)30 μ L、100 mmol/L Tris-HCl (pH=7.5)90 μ L。

2.4.2 反应条件 37 ℃,200 r/min,12 h,5 倍体积醋酸乙酯萃取 3 次,合并上层液,真空干燥,50% 甲醇复溶。

2.4.3 色谱条件 色谱柱 Ultimate XB-C₁₈,流动相为水(A)-乙腈(B),体积流量 1.0 mL/min,柱温 30 ℃,检测波长 203 nm,上样体积 10 μ L。梯度洗脱:0~5 min,0~30% B;5~25 min,30%~70% B;25~30 min,70%~90% B;30~35 min,90%~95% B;35~40 min,95%~60% B;40~50 min,60%~30% B;50~50.01 min,30% B。

2.4.4 质谱条件 柱色谱柱 Waters ACQUITY UPLC BEH Amide (50 mm $\times$ 2.1 mm,1.7 μ m)。流动相包括 0.1%磷酸水(A)和乙腈-甲醇(1:1,B)。梯度洗脱:0~1.5 min,60%~45% A;1.5~2.5 min,45%~35% A;2.5~6 min,35% A;6~8 min,35%~25% A;8~10 min,25%~20% A;10~12 min,20%~10% A;12~14 min,10%~60% A;14~16 min,60% A。体积流量 0.2 mL/min,柱温 40 ℃,进样量 2 μ L。质谱采用 ESI 离子源,正离子模式扫描, m/z 50~1 500;毛细管电压 3 kV;喷雾器压力 700 kPa;脱溶剂气体 N₂,脱溶剂温度 400 ℃,体积流量 800 L/h,锥孔气流 N₂,体积流量 50 L/h;离子源温度 120 ℃。

3 结果与分析

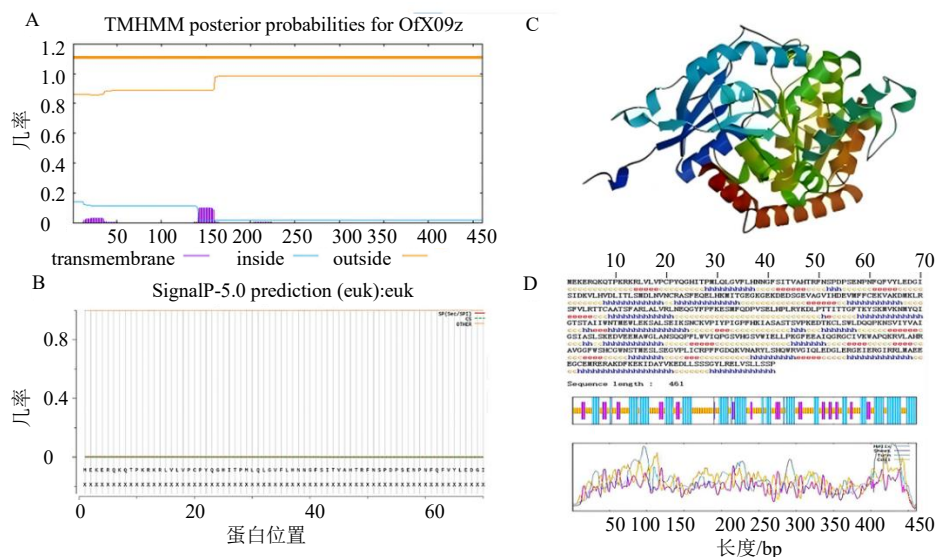
3.1 生物信息学分析结果

以绞股蓝 cDNA 为模板克隆 GpUGT74A2 基因,经分析 GpUGT74A2 的开放阅读框为 1 386 bp,

共编码461个氨基酸,蛋白相对分子质量约为52 250,理论蛋白等电点为 6.49,不稳定指数 39.77<40(提示该蛋白为稳定蛋白)。跨膜区预测发现其不存在跨膜区域(图 1-A);信号肽预测结果显示该蛋白不存在信号肽(图 1-B);蛋白二级结构预测显示 GpUGT74A2 蛋白二级结构中 α -螺旋(蓝色)结构占比40.35%,无 β -折叠(绿色),延伸链占比14.10%,随机卷曲(黄色)占比45.55%(图 1-C);在 SWISS-

MODEL 上对 GpUGT74A2 蛋白的 3D 结构进行预测(图 1-D),全局模型质量评估得分(global model quality estimation, GMQE)为 0.89,说明预测的 3D 结构模型质量较好。

根据系统发育树的结果来看,本次发现的纹股蓝皂苷糖基转移酶 GpUGT74A2 可归属于 UGT74 家族(图 2)。经序列比对后发现,GpUGT74A2 蛋白与 UGT76E11 蛋白同源性最高,



A-GpUGT74A2 蛋白跨膜区预测; B-GpUGT74A2 蛋白信号肽预测; C-GpUGT74A2 蛋白 3D 结构预测; D-GpUGT74A2 蛋白二级结构预测。
A-transmembrane region prediction of GpUGT74A2 protein; B-signal peptide prediction of GpUGT74A2 protein; C-3D structure prediction of GpUGT74A2 protein; D-secondary structure prediction of GpUGT74A2 protein.

图 1 GpUGT74A2 生物信息学分析

Fig. 1 Bioinformatics analysis of GpUGT74A2

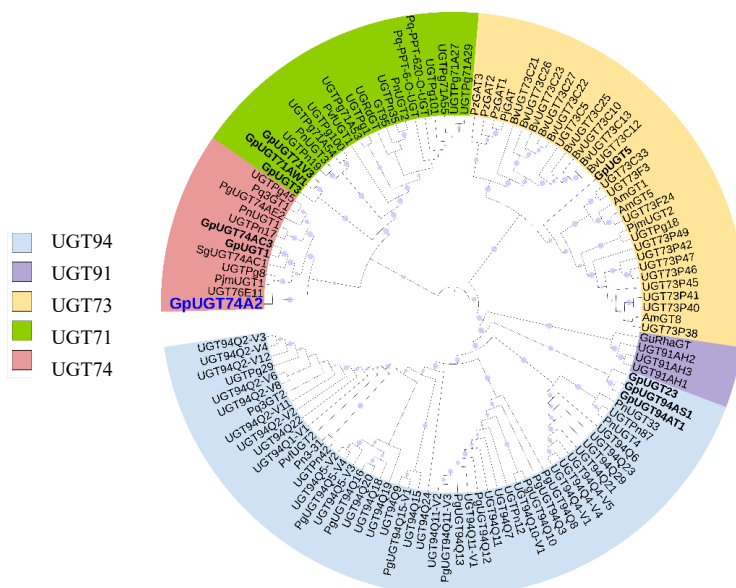


图 2 GpUGT74A2 系统发育树构建

Fig. 2 Phylogenetic tree construction of GpUGT74A2

为 46.58%，该蛋白具有催化槲皮素 3 位和 7 位葡萄糖基化活性^[23]。又进一步将其与已知的绞股蓝糖基转移酶序列比对，同源性最高是 GpUGT5 蛋白，为 36.32%。CDD 蛋白结构预测显示 GpUGT74A2 蛋白与其他已发现的绞股蓝糖基转移酶一样都具有 Glycosyltransferase GTB-type superfamily 结构域（图

3-A）。Motif 预测发现，GpUGT74A2 蛋白与 GpUGT5、GpUG71V3 蛋白具有相同的 Motif 结构，这预示着他们之间存在类似的催化活性（图 3-B）。文献报道，GpUG71V3 对 PPT、PPD、CK 以及 Rg₃ 的 C₂₀-OH 或 C₃-OH 具有催化活性^[24]，GpUGT5 对 PPD 的 C₂₀-OH 具有催化活性^[20]。

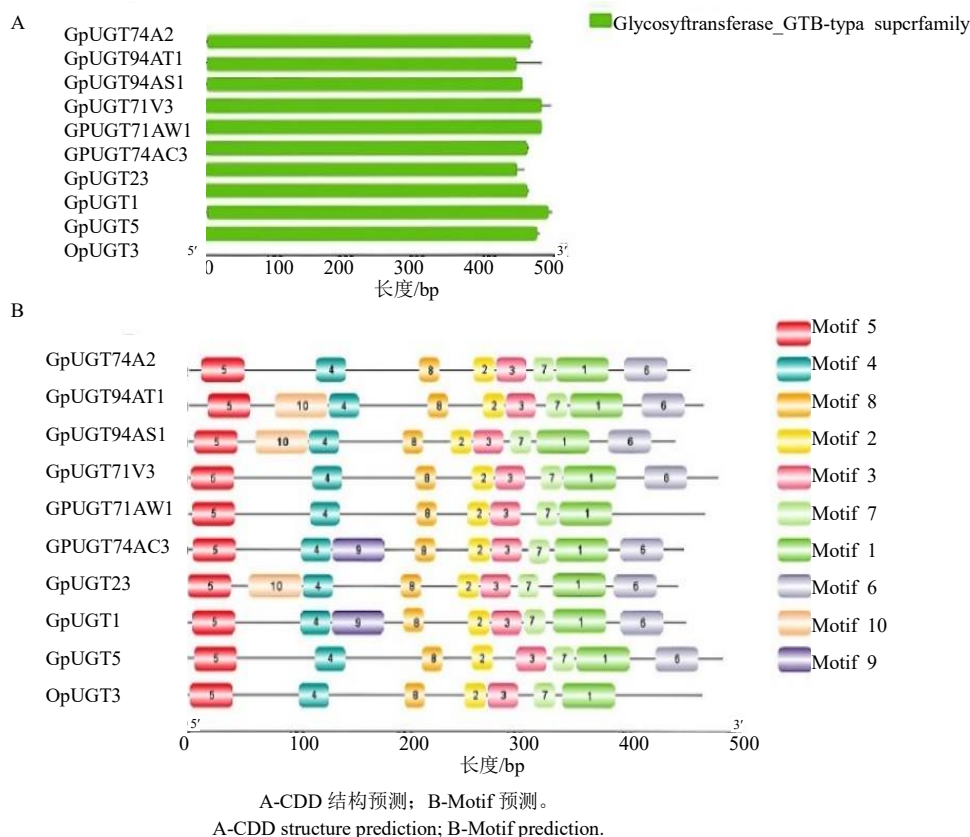


图 3 GpUGT74A2 蛋白结构预测

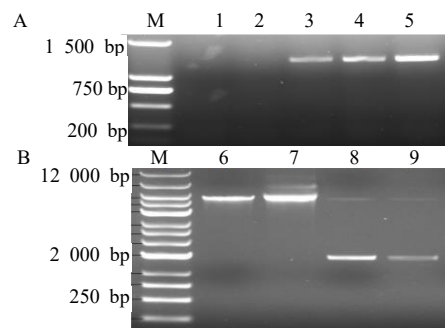
Fig. 3 Structure prediction of GpUGT74A2 protein

3.2 GpUGT74A2 基因克隆和过表达质粒构建

以绞股蓝 cDNA 为模板克隆得到目的基因 *GpUGT74A2*，于 1.0% 琼脂糖凝胶上有明显且符合目的片段大小的单一条带（图 4-A）。挑取单菌落培养并提取其质粒，用 *EcoR* I 和 *Sal* I 酶进行酶切，由图可知泳道 8、9 均有 2 条清晰可见的条带，其中 1 个条带在 1 000~1 500 bp 靠近 1 500 bp，符合目的条带大小，即质粒构建成功（图 4-B）。

3.3 GpUGT74A2 蛋白的原核表达

GpUGT74A2 蛋白在大肠杆菌 BL21 中的表达情况见图 5，5 泳道为 IPTG 诱导后沉淀重悬，在蛋白 Marker 的 55 000 条带处可见明显特异性条带，且符合重组蛋白 GpUGT74A2 相对分子质量（52 250），但却是以包涵体的形式在沉淀中表达，提示该蛋白的可溶性较差。

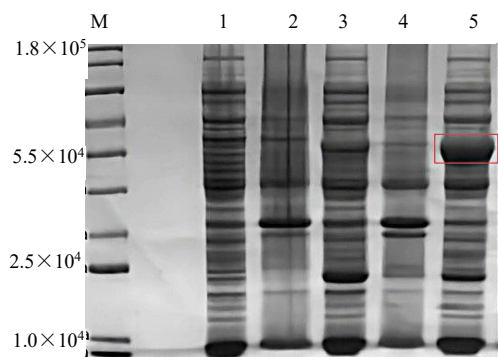


A-*GpUGT74A2* 基因克隆；B-质粒双酶切；M-Marker；1~5-50~60 °C；6~7-原质粒；8~9-质粒双酶切。

A-*GpUGT74A2* cloning; B-plasmid double digestion; M-Marker; 1—5-50—60 °C; 6—7-original plasmid; 8—9-plasmid double digestion.

图 4 1.0% 琼脂糖凝胶电泳图

Fig. 4 1.0% Agarose gel electrophoresis plot



1-空载; 2-未诱导菌液; 3-IPTG 诱导菌液; 4-诱导后上清液; 5-诱导后沉淀; M-Marker。

1-empty load; 2-uninduced bacterial fluid; 3-IPTG-induced bacterial fluid; 4-post-induced supernatant; 5-post-induced precipitate; M-Marker.

图 5 GpUGT74A2 蛋白 SDS-PAGE 凝胶电泳

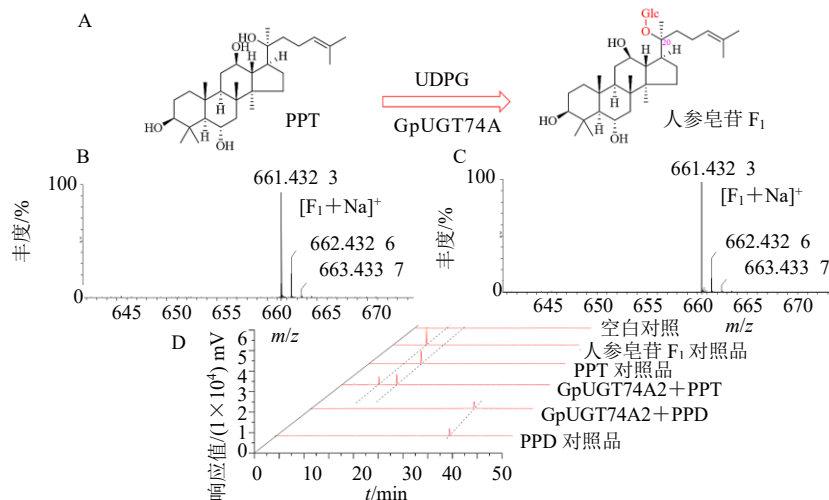
Fig. 5 GpUGT74A2 protein SDS-PAGE gel electrophoresis

3.4 pET-28a-GpUGT74A2 的催化活性验证

根据序列比对和蛋白结构预测结果, 推测 GpUGT74A2 蛋白有极大概率能催化 PPD、PPT 产生相应的糖苷。但由于该蛋白在原核表达系统中可溶性差, 因此以细胞破碎混悬液作为酶液, 以 PPT、PPD 为底物, UDPG 为糖供体进行酶促反应, 反应液经处理后用于液相色谱检测, 结果见图 6。由图可知, GpUGT74A2 蛋白与底物 PPT 发生反应, 峰图显示酶促反应液于 8.96 min 处出现 1 个明显的产物峰, 通过比对对照品的保留时间和质谱检测相对分子质量确认该峰为人参皂苷 F₁ (HR-ESI-MS m/z : 661.432 3 [$M+Na$]⁺), 而以 PPD 为底物时未发现明显产物峰。

4 讨论

本研究从绞股蓝转录组中挖掘并鉴定得到 1 条



A-GpUGT74A2 催化 PPD 生成 F₁; B、C-产物与 F₁ 对照品质谱离子峰; D-酶促反应液液相色谱峰。

A-conversion of PPD to F₁ catalyzed by GpUGT74A2; B, C-MS ion chromatograms of product and F₁ reference substance; D-HPLC profile of enzymatic reaction solution.

图 6 GpUGT74A2 蛋白体外催化活性验证

Fig. 6 Verification of *in vitro* catalytic activity of GpUGT74A2

糖基转移酶序列 GpUGT74A2, 通过系统进化分析确定其归属于 UGT74 蛋白家族。在生物信息学分析下, 结合体外酶促反应验证结果, 证实了 GpUGT74A2 基因编码的蛋白能明显催化底物 PPT 上 C₂₀-OH 糖基化生成 F₁, 具有一定的位点选择性。

比对已报道能够催化 PPT 上 C₂₀-OH 糖基化的糖基转移酶序列 (UGTPg71A29、UGTPg71A27、UGTPg101、UGTPg1、Pq-PPT-6,20-O-UGT、GT95、PnUGT1、UGTPn35、GpUGT71V3、GpUGT71AW1) [9-14,24-25], 同源性最高的序列为 GpUGT71V3^[24], 相似度仅有

30.9%。从 GpUGT74A2 蛋白的体外酶活性实验结果上来看, GpUGT74A2 与 GpUGT71V3 一样都能催化 PPT 上 C₂₀-OH 糖基化生成 F₁, 但是 GpUGT74A2 却不能同 GpUGT71V3 一样催化 PPD 上 C₂₀-OH 以及人参皂苷 CK 和人参皂苷 Rg₃ 上 C₃-OH 发生糖基化反应。结合系统发育树可知, 该条序列是一条全新的绞股蓝糖基转移酶序列。

蛋白结构对于理解酶催化机制至关重要, 但参与人参皂苷合成的 UGTs 晶体结构极其有限, 近期有一项研究取得突破, 解析了人参皂苷糖基转移酶

Pq3-O-UGT2 与底物复合物的晶体结构, 揭示了糖基转移酶家族新的底物识别机制, 并构建了 Pq3-O-UGT2 突变体, 显著提高了对合成稀有人参皂苷反应的选择性^[26]。本研究中 GpUGT74A2 对 PPT 的 C-20 羟基具有一定的位点选择性, 其催化机制值得进一步探索, 但现有表达体系中, 该蛋白的可溶性表达较差, 未来可以通过表达载体结构的优化, 来提高蛋白可溶性表达为后续酶学性质的探讨以及基于晶体结构的催化机制研究奠定基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Xu S Q, Yao S C, Huang R S, *et al.* Transcriptome-wide analysis of the AP2/ERF transcription factor gene family involved in the regulation of gypenoside biosynthesis in *Gynostemma pentaphyllum* [J]. *Plant Physiol Biochem*, 2020, 154: 238-247.
- [2] 潘春华. 长寿草绞股蓝 [J]. *林业与生态*, 2024(7): 37.
- [3] 袁松竹, 王斌, 周旋, 等. 稀有人参皂苷生物转化的研究进展 [J]. *食品工业科技*, 2023, 44(12): 480-489.
- [4] 线小云, 李葵秀, 李满桥, 等. 人参属药用植物种质资源研究进展 [J]. *中草药*, 2025, 56(1): 360-373.
- [5] Xiao J, Chen D, Lin X X, *et al.* Screening of drug metabolizing enzymes for the ginsenoside compound K *in vitro*: An efficient anti-cancer substance originating from *Panax ginseng* [J]. *PLoS One*, 2016, 11(2): e0147183.
- [6] Fan W X, Fan L H, Wang Z Y, *et al.* Rare ginsenosides: A unique perspective of ginseng research [J]. *J Adv Res*, 2024, 66: 303-328.
- [7] Yuan X X, Li R Q, He W S, *et al.* Progress in identification of UDP-glycosyltransferases for ginsenoside biosynthesis [J]. *J Nat Prod*, 2024, 87(4): 1246-1267.
- [8] 童婧, 杨德盈, 张倩, 等. 人参皂苷生物合成相关的尿苷二磷酸依赖的糖基转移酶研究进展 [J]. *中草药*, 2024, 55(9): 3202-3216.
- [9] Lu J, Yao L, Li J X, *et al.* Characterization of UDP-glycosyltransferase involved in biosynthesis of ginsenosides Rg₁ and Rb₁ and identification of critical conserved amino acid residues for its function [J]. *J Agric Food Chem*, 2018, 66(36): 9446-9455.
- [10] Wang P P, Wang J L, Zhao G P, *et al.* Systematic optimization of the yeast cell factory for sustainable and high efficiency production of bioactive ginsenoside compound K [J]. *Synth Syst Biotechnol*, 2021, 6(2): 69-76.
- [11] Li Y T, Li J X, Diao M X, *et al.* Characterization of a group of UDP-glycosyltransferases involved in the biosynthesis of triterpenoid saponins of *Panax notoginseng* [J]. *ACS Synth Biol*, 2022, 11(2): 770-779.
- [12] Jiang Z Q, Tu L C, Yang W F, *et al.* The chromosome-level reference genome assembly for *Panax notoginseng* and insights into ginsenoside biosynthesis [J]. *Plant Commun*, 2021, 2(1): 100113.
- [13] 冯鹏程. 西洋参 Pq-PPT-6, 20-O-UGT 和 Pq-PPT-6-O-UGT 糖基转移酶基因的克隆与功能分析 [D]. 长春: 吉林大学, 2019.
- [14] Yu L, Chen Y, Shi J, *et al.* Biosynthesis of rare 20(R)-protopanaxadiol/protopanaxatriol type ginsenosides through *Escherichia coli* engineered with uridine diphosphate glycosyltransferase genes [J]. *J Ginseng Res*, 2019, 43(1): 116-124.
- [15] Chen J, Qin L, Wu X D, *et al.* Identification of human UDP-glucuronosyltransferase involved in gypensapogenin C glucuronidation and species differences [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(2): 1454.
- [16] Ye S, Feng L, Zhang S Y, *et al.* Integrated metabolomic and transcriptomic analysis and identification of dammarenediol-II synthase involved in saponin biosynthesis in *Gynostemma longipes* [J]. *Front Plant Sci*, 2022, 13: 852377.
- [17] Huang D, Ming R H, Xu S Q, *et al.* Chromosome-level genome assembly of *Gynostemma pentaphyllum* provides insights into gypenoside biosynthesis [J]. *DNA Res*, 2021, 28(5): dsab018.
- [18] Nguyen N H, Ha T K Q, Yang J L, *et al.* Triterpenoids from the genus *Gynostemma*: Chemistry and pharmacological activities [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 268: 113574.
- [19] 周志华, 王平平, 李超静, 等. 绞股蓝糖基转移酶及其应用: 中国, CN111926000A [P]. 2020-11-13.
- [20] 王磊, 刘斌, 许莹莹, 等. 绞股蓝糖基转移酶在合成稀有人参皂苷中的应用: 中国, CN106701647B [P]. 2019-12-24.
- [21] 王磊, 刘斌, 许莹莹, 等. 一种绞股蓝糖基转移酶的工程菌及其构建方法与应用: 中国, CN106544310A [P]. 2017-03-29.
- [22] 金善昌, 崔吉柱, 郑硕采, 等. 源自绞股蓝的新型葡萄糖基转移酶及其用途: 中国, CN105441522A [P]. 2016-03-30.
- [23] Salanoubat M, Lemcke K, Rieger M, *et al.* Sequence and analysis of chromosome 3 of the plant *Arabidopsis thaliana* [J]. *Nature*, 2000, 408(6814): 820-822.
- [24] Le D D, Kim W, Lim S, *et al.* Identification of three groups of ginsenoside biosynthetic UDP-glycosyltransferases from *Gynostemma pentaphyllum* [J]. *Plant Sci*, 2021, 313: 111069.
- [25] Wei W, Wang P P, Wei Y J, *et al.* Characterization of *Panax ginseng* UDP-glycosyltransferases catalyzing protopanaxatriol and biosyntheses of bioactive ginsenosides F1 and Rh1 in metabolically engineered yeasts [J]. *Mol Plant*, 2015, 8(9): 1412-1424.
- [26] Ji Q S, Liu Y R, Zhang H Y, *et al.* Structural insights into the substrate recognition of ginsenoside glycosyl transferase Pq3-O-UGT2 [J]. *Adv Sci*, 2025, 12(11): e2413185.

[责任编辑 时圣明]