

# 黄芩苷生物合成途径与生物技术研究进展

雷 桅<sup>1</sup>, 税 晓 容<sup>2</sup>, 胡 侃<sup>3</sup>

(1. 广东医学院 心血管疾病研究室, 广东 湛江 524001; 2. 广东医学院 血管外科研究室, 广东 湛江 524001;

3. 广东省农业厅 种子管理总站, 广东 广州 510500)

**摘 要:**黄芩苷是我国传统中药黄芩的主要黄酮类活性成分,具有很高的药用价值。近年来,随着植物次生代谢工程的发展,黄芩苷生物技术的研发也取得了重要成果。文章介绍了黄芩苷生物合成途径的关键酶,以及利用基因工程和生化技术进行代谢调控和遗传改良方面的最新进展,以期黄芩苷优质药源的种质创新和分子育种提供参考。

**关键词:**黄芩;黄芩苷;生物合成;生物技术;关键酶

**中图分类号:**S 567;Q 946 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)22-0185-05

黄芩(*Scutellaria baicalensis*)属唇形科黄芩属多年生草本植物,以根入药,为 40 种大宗药材品种之一,其临床应用已有 2000 余年历史,现在仍是清热燥湿、泻火解毒和止血安胎的要药。除中医配方外,黄芩还大量用作中成药原料。据《全国中成药产品目录》(第一部)统计显示,66 种蜜丸中 45 种用黄芩,64 种片剂有 46 种涉及

黄芩,而 36 种水丸则有 25 种用黄芩,可见 70% 中成药都含有黄芩,是制药工业的重要原料。黄芩植物约 300 多种,世界广布,我国有 101 种,可作药用者仅 9 种,其中黄芩为药典收录的正品,粘毛黄芩(*S. viscidula*)、甘肃黄芩(*S. rehderiana*)、滇黄芩(*S. amoena*)等则为逐步兴起的重要地方种<sup>[1]</sup>。黄芩以根入药,主要活性成分为黄酮类化合物,其中以黄芩苷为质量控制标准和有效物质基础。现代医学研究发现,黄芩苷具有广泛的药理作用,包括抗氧化、抗肿瘤、消炎抑菌、免疫调控、降压清脂、利尿利胆和保护心脑血管等,特别是配合其它中西疗法可有效防治癌症、艾滋病、糖尿病和冠心病,以及减轻组织缺血和修复皮肤病理性损伤,因此黄芩苷作为一种源于

**第一作者简介:**雷桅(1982-),男,湖北武汉人,博士,现主要从事天然药物生物技术与药理活性评价等研究工作。E-mail:thdmast@gmail.com.

**基金项目:**国家自然科学基金资助项目(81300035,81403044);广东省自然科学基金资助项目(S2013040012115)。

**收稿日期:**2014-07-24

## Development Problems and Countermeasure Research of Black-Fungus Industry in Wangqing County

LIN Yan-hui<sup>1</sup>, LIU De-kuan<sup>2</sup>

(1. Economic Management Academy, Jilin Institute of Agricultural Science and Technology, Jilin, Jilin 132101; 2. Recruitment and Employment Office, Jilin Institute of Agricultural Science and Technology, Jilin, Jilin 132101)

**Abstract:** It was very important that black-fungus industry in speeding up the agricultural industrialization, promoting the farmers' income and the rural rich, and developing agriculture. For the rural population accounts for the vast majority of agricultural county was very important too. However, in Wangqing county, there were some limitations such as weakness of strains, market chaos, the lack of funds and technology, the white pollution to the environment and other factors which became the bottleneck for the further development of black-fungus industry. This paper based on Wangqing county's black-fungus industry development present situation and problem analysis, put forward some countermeasures for black-fungus industry healthy and orderly development in Wangqing county, the government should be in policies and funding to support them, unified regulatory measures to cultivate leading enterprises, such as improving enterprise comprehensive strength and so on.

**Keywords:** Wangqing county; black-fungus industry; countermeasure

传统中药的天然产物,正受到越来越多的学术关注和市场需求,其开发前景十分广阔<sup>[2-4]</sup>。

由于黄芩苷的药效价值被日益重视,临床上对黄芩药材的需求量大增,导致其野生资源遭到严重破坏,黄芩已被列为国家三级濒危保护物种。虽然黄芩的人工种植技术已经基本成熟并获得推广应用,但生产周期较长、农药残留量较大、有效成分含量不高,因此该方式的商业前景并不明朗<sup>[5-6]</sup>。目前,国内外对黄芩的研究主要是人工栽培、生药鉴别、成分分离和组织培养等,对黄芩苷的研究则多集中于制备工艺、测定方法、生化特性和药理作用等,而对其生物合成的分子机理与代谢调控研究也日益受到人们的重视,并取得了一定进展<sup>[7]</sup>。近年来,利用现代生物技术手段改良和培育新型的黄芩苷药源已经引起学术界高度关注。然而,传统的细胞工程技术,包括组培快繁、悬浮细胞培养和毛状根培养,虽成功建立且在一定程度上促进了黄芩苷的合成和积累,但其含量增幅尚不稳定,因此定向优化植物重要性状的基因工程策略成为增加黄芩苷产量的理想途径之一<sup>[8-9]</sup>。特别是黄芩离体培养和遗传转化的成功以及黄芩苷生物合成途径的阐明,为利用基因工程技术遗传改良黄芩种质奠定了良好的实践基础<sup>[10-11]</sup>;同时黄芩苷代谢相关关键酶基因的生化功能获得鉴定,其分子调控体系也相

继建立<sup>[12-13]</sup>,因此代谢工程技术是将来生产黄芩苷药源的理想途径。

黄芩苷前体生物合成途径的分子遗传学和生物化学研究是开展黄芩苷代谢工程的必要前提。黄酮类化合物的合成途径可能是目前所了解的最清楚的植物次生代谢通路,目前已知的黄酮类化合物有上千种,但其生物合成途径十分保守,并且其中大部分代谢酶的基因及其功能已经获得克隆和验证,如拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)、矮牵牛(*Petunia hybrida*)、大豆(*Glycine max*)和苜蓿(*Medicago sativa*)等。

## 1 苯丙氨酸解氨酶

苯丙氨酸解氨酶(Phenylalanine ammonia-lyase, PAL)是苯丙烷途径的第一个关键酶。PAL普遍存在于植物和某些真菌、细菌和藻类中,其功能是催化L-苯丙氨酸非氧化性脱氨生成反式肉桂酸(cinnamic acid, CA),而肉桂酸是苯丙烷类次生物质(如黄酮、香豆素、木质素及某些酚类)生物合成的通用前体,因此该酶在植物次生代谢中具有极其重要的位置<sup>[14]</sup>。

多数被子植物中, PAL 是一个多基因家族,在一组染色体中含有一到多个 PAL 基因。PAL 亚基通常由小型基因家族编码(一般 2~5 个成员),这些基因家族又

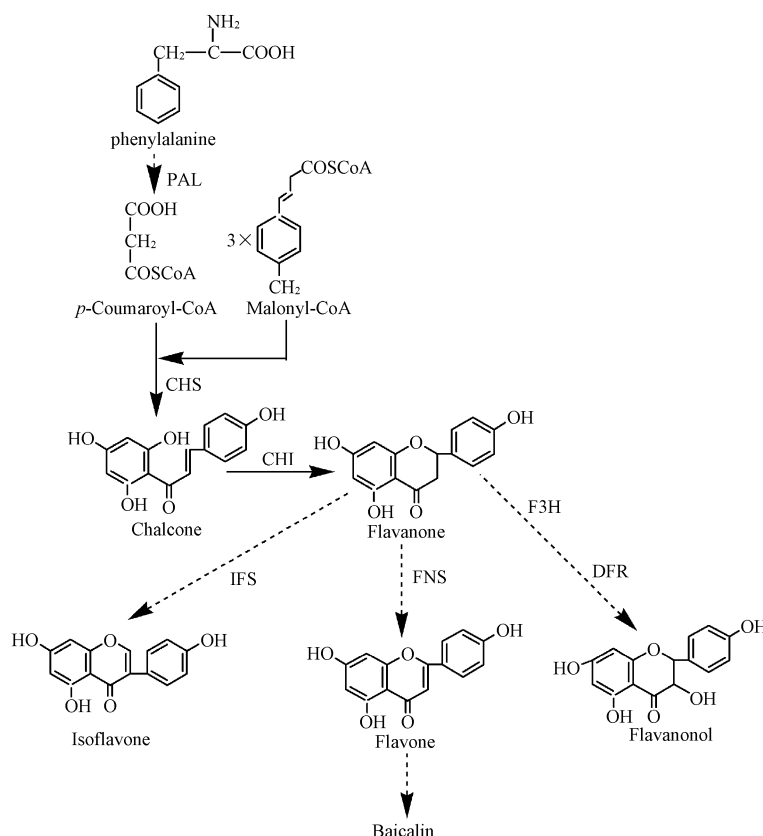


图1 黄芩苷生物合成途径

Fig.1 Biosynthetic pathway of baicalin

可分成 2 或 3 个亚族,随植物不同而异。烟草(*Nicotiana tabacum* L.)PAL 由 2~4 个独立基因编码,而欧芹(*Petroselinum crispum*)PAL 至少包含 4 个编码基因<sup>[15]</sup>,例外的是火炬松,仅有 1 个 *pal* 基因。Whetten 等<sup>[16]</sup>采用多克隆抗体识别火炬松 PAL 亚基,获得 cDNA,经 PCR 扩增后测定 *pal* 基因序列,发现其与水稻、豆、甘薯等被子植物的编码序列存在 60%~62% 同源性。欧芹中 *pal* 基因含有 6 个内含子,其上游含有一段富含 CT 的区段<sup>[17]</sup>。目前已在诸如马铃薯(*Solanum tuberosum* L.)、拟南芥、烟草、黄瓜(*Cucumis sativus* Linn.)和大麦(*Hordeum vulgare* Linn.)等植物中,克隆到了编码 PAL 酶的 cDNA 片段或基因组序列,其它多种植物的 *pal* 基因已测序并在 GenBank 注册<sup>[18]</sup>。课题组也已分离获得粘毛黄芩的 *pal* 编码基因,并进行了相应的序列和表达分析,发现黄芩 *pal* 基因与其它植物 *pal* 基因具有很高的同源性,从而证实了该基因具有高度的遗传保守性<sup>[9]</sup>。

## 2 查尔酮合成酶

包括黄芩在内的所有黄酮类化合物的直接通用前体物均是柚皮苷查尔酮,它是由 1 分子桂皮酰辅酶 A 与 3 分子丙二酸单酰辅酶 A 缩合而成,其中前者来自苯丙酸中间途径,后者经醋酸经乙酰辅酶 A 羧化酶催化生成。这个重要的缩合反应就是由查尔酮合成酶(Chalcone synthase, CHS)催化完成的,这是黄酮类化合物合成中第 1 个关键酶,具有限速作用<sup>[19]</sup>。

自从第 1 个荷兰芹的 *chs* 基因在 1983 年发布以来<sup>[20]</sup>,迄今已从多种植物中克隆了 *chs* 基因,如高粱(*Sorghum bicolor*)<sup>[21]</sup>、兰花(*Orchid Bromheadia finlaysoniana*)<sup>[22]</sup>和拟南芥<sup>[23]</sup>等。*chs* 基因在不同植物类群中保守性较高,一般都含有 2 个外显子和 1 个内含子,而金鱼草 *chs* 则含有 2 个内含子<sup>[24]</sup>。*chs* 基因的外显子 1 和 2 分别编码 60 个和 340 个左右氨基酸残基,但在序列长度和核苷酸组成方面外显子 2 的保守性高于外显子 1,而作为活性位点的 4 个保守氨基酸残基位于外显子 2 中。*chs* 基因内含子的大小及序列差异都较大。不同物种中查尔酮合成酶在氨基酸水平上的一致性很高,约 79%~91%,说明其具有高度的遗传保守性<sup>[25]</sup>。*chs* 基因启动子具有多个对环境感受的特异性元件,如接受激发子诱导的 ACE 元件(ACGT element)<sup>[26-27]</sup>和 H 区(H-box)<sup>[28]</sup>,富含 AT 元件区<sup>[29-30]</sup>、以及负调控的沉默子<sup>[31]</sup>和维持基因转录水平的 P 区<sup>[32]</sup>。

大部分植物的 CHS 编码基因是一个多基因家族,如矮牵牛、大豆和豌豆等,特别是双子叶植物的 *chs* 家族基因数目较多,如菜豆中已发现 8 个 *chs* 基因<sup>[33]</sup>,矮牵牛的 *chs* 基因家族包括 8~10 个成员<sup>[34]</sup>。虽然 *chs* 基因家族中数目较多,但各成员基因编码区的同源性较高。由

于 CHS 在植物外源基因的表达、细胞的发育和分化、花色素的积累和抗菌、抗胁迫生理过程等起着重要的作用,因此 *chs* 基因家族的不同成员往往受植物不同发育时期和组织特异性调控,对不同外源刺激的敏感程度也不同,这个特点与黄酮类物质的功能多样性相适应<sup>[35]</sup>。该课题组基于黄芩 *chs* 家族,利用同源性克隆方法,克隆获得了粘毛黄芩 *chs* 基因,并从分子水平上验证了所选植物的 *chs* 可能起源于同一个祖先,也反映出黄酮化合物为聚类指标的进化生物学意义,从而说明作为类黄酮代谢关键酶的 CHS 蛋白在自然演化进程中的遗传保守性和功能稳定性<sup>[36-37]</sup>。

*chs* 基因具有显著的时空差异性表达模式,如组织和发育时期的特异性表达,在一些植物发育的早期阶段 CHS 在叶片中表达,而成熟植株中主要仅限于花组织中存在;*chs* 基因接受诱导因子调控的特异性转录,在很多植物(如矮牵牛、菜豆等)中,外界刺激如胁迫、紫外线和病原体会诱导 CHS 的快速响应并表达,CHS 的这种对外界刺激的敏感程度的差异特点与 CHS 编码序列上游启动子中含有的特异性顺式作用元件有关<sup>[38]</sup>。此外,笔者也发现粘毛黄芩 *chs* 基因受到外源甲基茉莉酸的时间依赖性地调控,并建立了其诱导差异表达谱<sup>[37]</sup>。

在基因工程领域,对 *chs* 基因调控作用的研究主要集中于植物花色表型和抗逆性状的遗传改良,而这种改变实质上也是基于细胞和组织内黄酮类化合物的含量调节,例如通过对 *chs* 基因的反义或共抑制操作培育颜色变异的转基因花卉<sup>[39]</sup>,也可以正调节马铃薯中的 *chs* 基因增加花色素苷等黄酮类化合物的积累,从而改善其抗氧化能力<sup>[40]</sup>,而基于烟草转化系统的研究证实黄芩 *chs* 基因在驱动黄酮化合物生物合成的过程中发挥了重要作用<sup>[41]</sup>。

## 3 黄烷酮 3-羟化酶

黄烷酮 3-羟化酶(flavanone 3-hydroxylase, F3H)是黄烷酮分支点的一个核心酶,其作用是催化 5,7,4'-黄烷酮 C3 位的羟化,生成二氢山奈素(dihydrokaempferol, DHK),而该物质则是合成黄烷酮和花色素的重要中间产物<sup>[42]</sup>。因此 F3H 也是黄酮化合物生物合成途径中的关键酶,是控制黄酮合成与花青素苷积累的分流节点,被认为是整个类黄酮代谢途径的中枢。

1991 年,人们首次获得 *f3h* 基因序列,是从金鱼草中克隆出来<sup>[43]</sup>。目前已经在拟南芥<sup>[44]</sup>、苜蓿<sup>[45]</sup>和玉米(*Zea mays*)<sup>[46]</sup>中被陆续分离鉴定,且是以单拷贝形式存在,但在甘蓝型油菜和紫苏中则是以多基因家族形式存在,分别含有 5~7 个和 2~3 个成员。在这些植物中,*f3h* 基因一般具有 3 个外显子和 2 个内含子<sup>[45]</sup>。笔者首次克隆了粘毛黄芩的 *f3h* 基因,通过系统进化树分析,从分子水平上验证了所选植物的 *f3h* 可能起源于同

一个祖先,也反映出植物间的植物黄酮醇类化合物的含量与植物间亲缘关系有一定关系。

*f3h* 基因在一些植物中是独立表达的,如矮牵牛中的 *f3h* 基因,而在大多数的情况下,*f3h* 则是和其上游的 *chs*、*chi*(查尔酮异构酶)基因以及下游的 *dfr*(二氢黄酮醇还原酶)基因协同表达的,这在拟南芥和金鱼草中都有相关的报道。此外,矮牵牛和金鱼草中 *f3h* 基因突变失活则可在阻断花色素的合成通路,获得白花的矮牵牛或金鱼草<sup>[43,47]</sup>。

近期研究表明,通过调控 *f3h* 基因的表达能够有效改变植物花卉或种皮的颜色,基于该基因的遗传操作已成为花卉育种研究的重要手段<sup>[44,48]</sup>;而旨在高产黄酮和异黄酮的药物代谢工程领域,通过反义抑制 *f3h* 基因阻断花青素合成途径能够使通用前体柚皮苷更多地流向黄酮和异黄酮,从而获得促进目标产物的积累,该方式证明 F3H 是黄酮代谢工程的重要靶点<sup>[49]</sup>。由此可见,*f3h* 是黄酮生物合成途径上关键的限速基因,其催化反应是黄酮合成调控的重要步骤。

#### 4 小结

黄芩是中国传统的大宗药材,含有许多对人类健康有益的活性成分和疾病治疗的药用物质,而最重要的则是包括黄芩苷在内的黄酮类化合物<sup>[50]</sup>。因此在分子生物学水平上开展黄芩苷生物合成途径和代谢工程技术的研究具有十分重要的意义。文章结合笔者及其课题组在黄芩次生代谢与分子遗传学领域的长期工作积累,阐述了黄芩苷生物合成与基因调控的研究进展,旨在为以高产黄芩苷等黄酮类有效成分的新型优质黄芩种质创新提供参考依据。

#### 参考文献

- [1] Sun Y M, Lei W, Sun M, et al. Computational identification and characterization of UDP-glucose:Flavonoid 7-O-glucosyltransferase in *Scutellaria baicalensis* Georgi through bioinformatic analysis[J]. J Nanjing Univ Nat Sci, 2009, 45: 51-53.
- [2] Zhang Q, Ma Y M, Wang Z T, et al. Differences in pharmacokinetics and anti-inflammatory effects between decoction and maceration of Sanhuang Xiexin Tang in rats and mice[J]. Planta Med, 2013, 79(17): 1666-1673.
- [3] Zhu M L, Liang X L, Zhao L J, et al. Elucidation of the transport mechanism of baicalin and the influence of a *Radix angelicae* Dahuricae extract on the absorption of baicalin in a Caco-2 cell monolayer model[J]. J Ethnopharmacol, 2013, 150(2): 553-559.
- [4] Lei W, Zhang J D, Yao R X, et al. Bioinformatic data mining on *ubg* genes and their encoding proteins in two plants of genus *Scutellaria*[J]. Afr J Biotechnol, 2011a, 10(21): 4339-4346.
- [5] 吴晓玲, 邓光存, 姜晓慧. 黄芩细胞生长特性及次生代谢产物生产性能的研究[J]. 西北植物学报, 2005, 25(3): 557-561.
- [6] 孟庆刚, 洪志强, 高明, 等. 黄芩的人工栽培及质量研究述评(二)[J]. 中医药学刊, 2006, 24(1): 239-242.
- [7] Lei W, Tang S H, Zhou Y L, et al. Effects of Praseodymium on flavonoids production and its biochemical mechanism of *Scutellaria viscidula* hairy roots *in vitro*[J]. Pak J Bot, 2011b, 43(5): 2387-2390.
- [8] 王淑芳, 孙一铭, 雷桅, 等. 粘毛黄芩毛状根培养体系的建立及其黄芩苷的动态合成[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(13): 1669-1672.
- [9] Lei W, Yao R X, Tang S H, et al. Isolation and characterization of the anthocyanidin biosynthetic genes *pal*, *f3h* and *dfr* of *Scutellaria viscidula* Bunge[J]. Genet Mol Res, 2011c, 10(4): 3385-3402.
- [10] Kim Y B, Uddin M R, Kwon D Y, et al. Cloning and characterization of a cDNA encoding calcium/calmodulin-dependent glutamate decarboxylase from *Scutellaria baicalensis*[J]. Nat Prod Commun, 2013, 8(9): 1233-1236.
- [11] Kuzovkina I N, Guseva A V, Kovács D, et al. Flavoner in genetically transformes *Scutellaria buicalensis* roots and induction of their synthesis by elicitation with methyl jasmonate[J]. Russ J Plant Physiol, 2005, 52: 77-82.
- [12] Yuan Y, Wu C, Liu Y, et al. The *Scutellaria baicalensis* R2R3-MYB transcription factors modulates flavonoid biosynthesis by regulating GA metabolism in transgenic tobacco plants[J]. PLoS One, 2013, 8(10): e77275.
- [13] Tuan P A, Kim J K, Lee S, et al. Molecular characterization of carotenoid cleavage dioxygenases and the effect of gibberellin, abscisic acid, and sodium chloride on the expression of genes involved in the carotenoid biosynthetic pathway and carotenoid accumulation in the callus of *Scutellaria baicalensis* Georgi[J]. J Agric Food Chem, 2013, 61(23): 5565-5572.
- [14] 程水源, 陈昆松, 刘卫红, 等. 植物苯丙氨酸解氨酶(PAL)基因的表达调控与研究展望[J]. 果树学报, 2003(20): 351-357.
- [15] Lois R, Dietrich A, Hahlbrock K, et al. A phenylalanine ammonia-lyase gene from parsley structure, regulation and identification of elicitor and light responsive cis-acting elements[J]. EMBO J, 1989, 8: 1641-1648.
- [16] Whetten R W, Sederoff R R. Phenylalanine ammonia-lyase from loblolly pine: purification of the enzyme and isolation of complementary DNA clones[J]. Plant Physiol, 1992, 98: 380-386.
- [17] Chen Y F, Raney K D. Cloning and overexpression of phenylalanine ammonia lyase from *R. toruloides* in *E. Coli* BL21 (DE3)[J]. FASEB J, 2002, 16: 905-905.
- [18] 贺立红, 张进标, 宾金华. 苯丙氨酸解氨酶的研究进展[J]. 食品科技, 2006(7): 31-34.
- [19] Stich K, Eidenberger T, Wurst F, et al. Enzymatic conversion of dihydroflavonols to flavan-3, 4-diols using flower extracts of *Dianthus caryophyllus* L. (Carnation)[J]. Planta, 1992, 103-108.
- [20] Reimold U, Kröger M, Kreuzaler F, et al. Coding and 3' non-coding nucleotide sequence of chalcone synthase mRNA and assignment of amino acid sequence of the enzyme[J]. EMBO J, 1983, 2(10): 1801-1806.
- [21] Lo C, Ronald C C, Nicholson R L. Molecular characterization and in silico expression analysis of chalcone synthase gene family in *Sorghum bicolor*[J]. Physiol Mol Plant Pathol, 2002, 61(3): 179-188.
- [22] Liew C F, Chong J G, Loh C S, et al. Cloning and characterization of fulllength cDNA clones encoding chalcone synthase from the orchid *Bromheadia finlaysonian*[J]. Plant Physiol Biochem, 1998, 36(9): 647-655.
- [23] Saslowsky D E, Dana C D, Winkler-Shirley B. An allelic series for the chalcone synthase locus in *Arabidopsis*[J]. Gene, 2000, 255(2): 127-138.
- [24] Sommer H, Saedler H. Structure of the chalcone synthase gene of *Antirrhinum majus*[J]. Mol Gen Genetics, 1986, 202(3): 429-434.
- [25] Beerhues L, Robenek H, Wiermann R. Chalcone synthases from spinach (*Spinacia oleracea* L.); II. Immunofluorescence and immunogold localization[J]. Planta, 1988, 173(4): 544-553.
- [26] Austin M B, Noel J P. The chalcone synthase superfamily of type III polyketide synthases[J]. Nat Prod Rep, 2003, 20(1): 79-110.
- [27] Weisshaar B, Armstrong G A, Block A, et al. Light inducible and consti-

- tively expressed DNA binding proteins recognizing a plant promoter element with functional relevance in light responsiveness[J]. EMBO J, 1991, 10(7): 1777-1786.
- [28] Yu L M, Lamb C J, Dixon R A. Purification and biochemical characterization of proteins which bind to the H-box cis-element implicated in transcriptional activation of plant defense genes[J]. Plant J, 1993, 3(6): 805-810.
- [29] Kiba A, Toyoda K, Ichinose Y. Specific inhibition of cell wall bound ATPase by fungal suppressor from *Mycosphaera rellapiodes* [J]. Plant Cell Physiol, 1995, 36(4): 809-817.
- [30] Lawton M A, Dean S M, Dron M, et al. Silencer region of a chalcone synthase promoter contains multiple binding sites for a factor, SBF-1, closely related to GT-1[J]. Plant Mol Biol, 1991, 16(2): 235-249.
- [31] da Costa e Silva O, Klein L, Schmelzer E, et al. BPF1, a pathogen induced DNA binding protein involved in the plant defense response[J]. Plant J, 1993, 4(1): 125-135.
- [32] Yoshiyuki I, Hikaru S, Kazuhiro T, et al. Contrary operations of Box-I element of pea phenylalanine ammonia-lyase gene 1 promoter for organ-specific expression[J]. Plant Physiol Biochem, 2001, 39(5): 355-362.
- [33] Arioli T, Howles P A, Weinman J J, et al. In *Trifolium subterraneum*, chalcone synthase is encoded by a multigene family[J]. Gene, 1994, 138(1-4): 79-86.
- [34] Koes R E, Spelt C E, van den Elzen P J, et al. Clonig and molecular characterization of the chalcone synthase multigene family of *Retunio hybrida* [J]. Gene, 1989, 81(2): 157-245.
- [35] 张党权, 谭晓风, 王晓红. 查尔酮合酶与查尔酮异构酶基因特征及转基因应用[J]. 中南林业科技大学学报, 2007, 27(2): 87-108.
- [36] Lei W, Luo W, Shui X R, et al. Compute simulation to characterize structure and function of chalcone synthase from *Scutellaria baicalensis* Georgi[J]. Mol Biol+, 2009, 43(6): 1012-1017.
- [37] Lei W, Tang S H, Luo K M, et al. Molecular cloning and expression profiling of a chalcone synthase gene from hairy root cultures of *Scutellaria viscidula* Bung[J]. Genet Mol Biol, 2010, 33: 285-291.
- [38] Weisshaar B, Armstrong G A, Block A, et al. Light inducible and constitutively expressed DNA binding proteins recognizing a plant promoter element with functional relevance in light responsiveness[J]. EMBO J, 1991, 10(7): 1777-1786.
- [39] Ono E, Fukuchi-Mizutani M, Nakamura N, et al. Yellow flowers generated by expression of the aurone biosynthetic pathway[J]. PNAS, 2006, 103(29): 11075-11080.
- [40] Verhoeven M E, Bovy A, Collins G, et al. Increasing antioxidant levels in tomatoes through modification of the flavonoid biosynthetic pathway[J]. Exp Bot, 2002, 377: 2099-2106.
- [41] 饶灿, 雷桅, 李鹏, 等. 粘毛黄芩 CHS 基因的克隆分析及其正反义植物表达载体的构建[J]. 中药材, 2009, 32(11): 1661-1664.
- [42] Holton T A, Cornish E C. Genetics and biochemistry of anthocyanin biosynthesis[J]. Plant Cell, 1995, 7(7): 1071-1083.
- [43] Martin C, Prescott A, Mackay S, et al. Control of anthocyanin biosynthesis in flowers of *Antirrhinum majus*[J]. Plant J, 1991, 1(1): 37-49.
- [44] Pelletier M K, Shirley B W. Analysis of flavanone 3-hydroxylase in *Arabidopsis* seedlings. Coordinate regulation with chalcone synthase and chalcone isomerase[J]. Plant Physiol, 1996, 111(1): 339-345.
- [45] Charrier B, Coronado C, Kondorosi A, et al. Molecular characterization and expression of alfalfa (*Medicago sativa* L.) flavanone-3-hydroxylase and dihydroflavonol-4-reductase encoding genes[J]. Plant Mol Biol, 1995, 29(4): 773-786.
- [46] Deboo G B, Albertsen M C, Taylor L P. Flavanone 3-hydroxylase transcripts and flavonol accumulation are temporally coordinate in maize anthers [J]. Plant J, 1995, 7(5): 703-713.
- [47] Britsch L, Ruhnau-Brich B, Forkmann G. Molecular cloning, sequence analysis, and in vitro expression of flavanone 3 beta-hydroxylase from *Petunia hybrida*[J]. J Biol Chem, 1992, 267(8): 5380-5387.
- [48] Nesi N, Jond C, Debeaujon I. The *Arabidopsis* TT2 gene encodes an R2R3 MYB domain protein that acts as a key determinant for proanthocyanidin accumulation in developing seed[J]. Plant Cell, 2001, 13(9): 2099-2114.
- [49] Zuker A, Tzfira T, Ben-Meir H, et al. Modification of flower color and fragrance by antisense suppression of the flavanone 3-hydroxylase gene[J]. Mol Breeding, 2002, 9(1): 33-41.
- [50] 雷桅, 邹祥, 向阳, 等. 植物查尔酮异构酶的生物信息学分析[J]. 北方园艺, 2007(2): 193-197.

## Study Advance on Biosynthesis Pathway and Biotechnology of Baicalin

LEI Wei<sup>1</sup>, SHUI Xiao-rong<sup>2</sup>, HU Kan<sup>3</sup>

(1. Laboratory of Cardiovascular Diseases, Guangdong Medical College, Zhanjiang, Guangdong 524001; 2. Laboratory of Vascular Surgery, Guangdong Medical College, Zhanjiang, Guangdong 524001; 3. Seed Management Station, Guangdong Province Department of Agriculture, Guangzhou, Guangdong 510500)

**Abstract:** Baicalin is the main active ingredient belonging to flavonoids from the traditional Chinese medicine *Scutellaria* sp., which possesses high medicinal value. In recent years, with the development of plant secondary metabolic engineering, there were some important advances about the studies on the baicalin biotechnology. In this paper, the key enzymes involved in the biosynthesis pathway of baicalin, the last progress of metabolic regulation and genetic modification based on gene engineering and biochemical techniques were reviewed, aiming to provide theoretical references for germplasm innovation and molecular breeding of high-quality resource of baicalin.

**Keywords:** *Scutellaria* sp.; baicalin; biosynthesis; biotechnology; key enzyme