



植物3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶A还原酶(HMGR)研究进展

郑婷, 魏灵珠, 程建徽, 向江, 吴江*

浙江省农业科学院园艺研究所, 杭州310021

*通信作者(wujiang@zaas.ac.cn)

摘要: 3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶A还原酶(3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase, HMGR)是甲羟戊酸途径(mevalonate pathway, MVA)的第一个限速酶, 在植物细胞质萜类化合物合成过程中起着关键作用, 不仅对植物的生长发育至关重要, 而且对植物适应苛刻的环境条件也很重要。本文就植物HMGR的结构特征、生物学功能及其调控机制的相关研究进展进行综述, 旨在为园艺植物的遗传改良及新品种的培育提供分子基础和理论依据。

关键词: 植物; 萜类化合物; 3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶A还原酶(HMGR); 结构特征; 生物学功能

Research progress of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase in plants

ZHENG Ting, WEI Lingzhu, CHENG Jianhui, XIANG Jiang, WU Jiang*

Institute of Horticulture, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021, China

*Corresponding author (wujiang@zaas.ac.cn)

Abstract: 3-Hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase (HMGR) is a key enzyme in the mevalonate (MVA) pathway, which regulates the metabolism of terpenoids in the cytoplasm and determines the type and content of downstream terpenoid metabolites, critical not only for normal plant development, but also for the adaptation to demanding environmental conditions. Here, the progress in the characteristics of structure, biological functions, and regulation mechanism of HMGR are reviewed. All these will provide molecular and theoretical basis for the genetic improvement of horticultural plants and the cultivation of new varieties.

Key words: plant; terpenoid; 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase (HMGR); structure characteristics; biological function

萜类化合物(terpenoid)是广泛存在于自然界的一种天然产物, 是由不同数量异戊二烯(C_5H_8)单元组成的化合物及其衍生物, 包括单萜(C_{10})、倍半萜(C_{15})、二萜(C_{20})、三萜(C_{30})、四萜(C_{40})和多萜($C>40$), 在植物生长发育和对环境的适应性方面起着重要作用(Suzuki等2009; Nisar等2015; Hou等2016)。有关萜类物质的生物合成及其代谢调控一直是植物研究的重要内容, 萜类物质含量也成为近年来植物育种的重要目标性状。目前发现的萜类有5万多种, 在高等植物中具有多

种重要作用, 包括调控植物生长发育的植物激素[脱落酸(ABA)、油菜素内酯(BR)、赤霉素(GA)、细胞分裂素(CTK)]、呼吸作用电子传递链中的泛醌、参与光合作用的光合色素(类胡萝卜素、叶绿素)、植物防御和交流化合物(植保素等)、具有重要商业价值的产品(青蒿素、橡胶、紫杉醇、香紫

收稿 2022-01-12 修定 2022-03-29

资助 现代农业产业技术体系建设专项(CARS-29-13)和国家自然科学基金(31801822)。

苏醇等) (Friesen和Rodwell 2004; Enfissi等2005)。

萜类化合物在植物中主要通过两种途径合成, 细胞质中的甲羟戊酸途径(mevalonate pathway, MVA)和质体中的2-甲基赤藓糖醇-4-磷酸途径(2-C-methyl-D-erythritol-4-phosphate pathway, MEP)。MVA途径主要合成倍半萜和三萜, 参与甾醇类化合物、BR和CTK的生成; MEP途径主要合成单萜、二萜和四萜, 影响类胡萝卜素、叶绿素、ABA和GA₃的生成(Hou等2016)。在萜类代谢途径中, 3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶A还原酶(3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase, HMGR, EC 1.1.1.34)和1-脱氧-D-木酮糖-5-磷酸还原异构酶(1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate reductoisomerase, DXR)分别是MVA和MEP途径关键酶, 在萜类化合物合成过程中起着关键作用。HMGR能够催化3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶A (3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA, HMG-CoA)形成MVA, 是MVA途径的重要调控位点, 对MVA途径乃至萜类物质的合成起到了至关重要的作用(Friesen和Rodwell 2004; Kim等2014)。HMGR活性高低影响甾醇、青蒿素、植保素、GA₃、ABA等物质合成, 决定着萜类代谢分支的流向(Kim等2014)。由于HMGR在催化青蒿素、皂苷等萜类物质生成, 影响植物生长发育的关键作用, 一直是植物研究的重要内容。

1 HMGR的结构和特征

HMGR于1958年被发现, 1986年被纯化, 被认定为是一种结合在膜上的疏水蛋白, 其编码基因于1989年首次在拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中被克隆(Bach 1986; Caelles等1989)。由于HMGR催化胆固醇生物合成中的限速反应, 是受调控程度最高的酶之一, 在动物和酵母中研究较多。与动物相比, 萜类化合物在植物中发挥的作用更多, 植物中HMGR活性的调节机制更为复杂(Leivar等2011; Morshedloo等2017; Kumar等2018)。而洛伐他丁(lovastatin)是HMGR的专一抑制剂, 它能与HMGR活性部位结合, 竞争性抑制HMG-CoA转变成MVA(Friesen和Rodwell 2004)。

HMGR蛋白由3个部分组成, 分别是跨膜结构域(N端)、催化结构域(C端)以及连接两者的连接

结构域(Friesen和Rodwell 2004; Darabi等2012)。跨膜结构域在进化中高度变异, 植物HMGR活性的负调控更多地由N端结构域决定(Leivar等2011; Darabi等2012)。催化结构域相对保守, 由N结构域、L结构域及S结构域构成, 其中L结构域包含2个HMG-CoA结合位点和1个NADPH结合位点, S结构域包含另一个NADP(H)结合位点(Darabi等2012; Devi等2017)。HMGR蛋白二级结构以 α 螺旋和无规则卷曲为主(Liao等2004)。所有植物HMGR基因的基因结构和蛋白质结构都高度保守, 源自一个祖先基因, 最终发展成4个不同的群体(Li等2014)。HMGR基因家族的功能和进化在各个物种中比较保守(Istvan和Deisenhofer 2000; Darabi等2012)。

迄今, HMGR基因已从拟南芥(Learned和Fink 1989)、马铃薯(*Solanum tuberosum*) (Choi等1992)、小麦(*Triticum aestivum*) (Aoyagi等1993)、水稻(*Oryza sativa*) (Ha等2001)、橡胶树(*Hevea brasiliensis*) (Venkatachalam等2009)、丹参(*Salvia miltiorrhiza*) (Ma等2012)、葡萄(*Vitis vinifera*) (Leng等2017)、棉花(*Gossypium* spp.) (Liu等2018)等80多种植物中被分离和克隆, 以至少2个成员的小基因家族存在(Enjuto等1995; Ha等2001; Wang等2007; Dai等2011; Kim等2014)。由于N端催化结构域底物识别和结合的差异, 同一物种中HMGR基因家族中不同成员表达具有较大的差异, 在植物代谢调控中扮演着不同的角色, 共同调控MVA代谢途径, 决定下游萜类代谢物的种类和含量。巴西橡胶树3个HMGRs表达模式不同, HMGR1主要参与橡胶生物合成, HMGR3主要参与类异戊二烯生物合成(Chye等1992); 马铃薯HMGR1主要参与甾醇合成, HMGR2/3主要影响倍半萜积累(Choi等1992)。另外, HMGR家族成员表达呈现时空和组织特异性, 以葡萄为例, *VvHMGR1*不受生长阶段和环境条件的影响, 体现出看家基因的特点, *VvHMGR2*在不同发育时期各个组织中一直处于低表达状态, *VvHMGR3*与果实生长发育过程相关, 其表达量在果实生长发育过程中逐渐降低(Li等2014; Leng等2017; Zheng等2020); 而丹参*SmHMGR1*和*SmHMGR4*在花中表达量较高, *SmHMGR2*主要在叶和茎中表达, *SmHMGR3*在花以外的其他组织中均高表达(Ma等2012)。

2 HMGR的生物学功能

2.1 HMGR影响萜类物质合成

HMGR催化的MVA合成是萜类物质合成的关键步骤。MVA途径起始于乙酰CoA, 在硫酸酶作用下形成乙酰乙酰CoA, 后被羟甲基戊二酰CoA合酶(3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA synthase, HMGS)催化形成HMG-CoA, 在HMGR和NADPH作用下生成MVA。MVA是萜类化合物合成最重要的中间产物。MVA在甲羟戊酸激酶、磷酸甲羟戊酸激酶和脱羧酶的催化下形成的异戊烯基焦磷酸(isopentenyl diphosphate, IPP)是合成萜类化合物的前体, 另外, MVA本身也是GA₃、ABA、异戊烯基焦磷酸等

萜类化合物的前体(Zheng等2021)。HMGR通过催化MVA生成影响萜类物质合成。

HMGR的功能在许多模式植物萜类物质合成中得到验证(Zheng等2021) (图1)。HMGR与萜类物质产量呈正相关, 通过生物学手段调节HMGR等关键酶基因的相对表达量, 可以提高相关萜类物质的产量(Alam和Abdin 2011; Nafis等2011; Wang等2011)。过表达HMGR基因分别提高了转基因烟草(*Nicotiana tabacum*) (Schaller等1995)、灰白银胶菊(*Parthenium argentatum*) (Dong等2013)、人参(*Panax ginseng*) (Kim等2014)、青花蒿(*Catharanthus roseus*) (Ayora-Talavera等2002)、马铃薯(Moehninsi

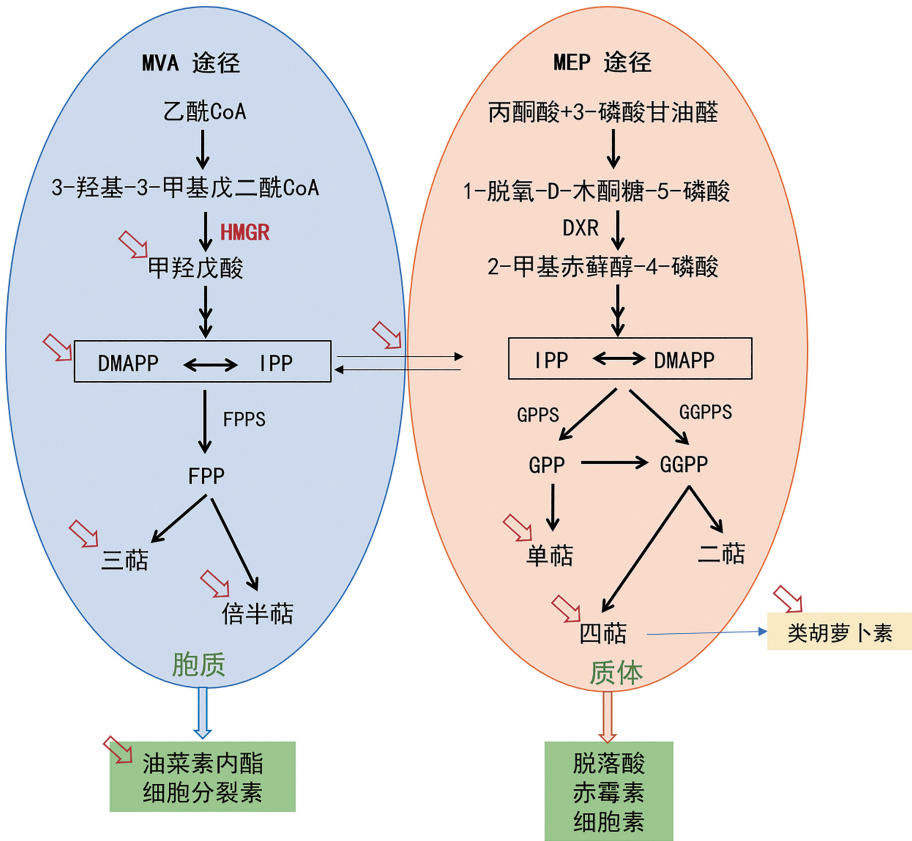


图1 萜类化合物的合成途径

Fig. 1 Synthetic pathways of terpenoids

MVA: 甲羟戊酸; MEP: 2-甲基-D-赤藓糖醇-4-磷酸; HMGR: 3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶A还原酶; DXR: 1-脱氧-D-木酮糖-5-磷酸还原异构酶; IPP: 异戊烯基焦磷酸; DMAPP: 二甲基丙烯基焦磷酸; GPP: 香叶基焦磷酸; FPP: 法尼基焦磷酸; GGPP: 香叶基香叶基焦磷酸; FPPS: 法尼基焦磷酸合酶; GPPS: 香叶基二磷酸合酶; GGPPS: 香叶基香叶基焦磷酸合成酶。红色箭头代表HMGR影响萜类化合物合成的研究结果, 根据Zheng等(2021)并略作修改。

等2020)中的甾醇、橡胶/树脂、皂苷、番茄红素、甾醇的含量。积雪草(*Centella asiatica*)中HMGR的沉默影响了三萜皂苷的合成(Kalita等2018), 而将拟南芥的HMGR1基因在番茄(*Solanum lycopersicum*)中异源表达可使植物甾醇含量提高2.4倍以上(Enfissi等2005)。众所周知, 青蒿素是治疗疟疾最有效的药物, 在青蒿(*Artemisia annua*)中超表达HMGR基因能显著提高青蒿素含量(Aquil等2009)。

2.2 HMGR影响植物生长发育和形态建成

MVA通路对细胞生长具有调控作用, 细胞生长依赖MVA及其衍生物(Leivar等2011)。HMGR能够触发植物细胞中内质网的形态建成(Ferrero等2015)。另外, HMGR对于植物生长发育的积极作用越来越受到重视。

HMGR的表达水平影响植物生长发育。HMGR蛋白在甜瓜(*Cucumis melo*)果实发育的初期在果皮的细胞分裂期快速积累, 通过参与调控早期的细胞分裂影响果实大小(Kobayashi等2002); 利用洛伐他丁抑制HMGR活性, MVA合成受阻, IPP合成不足, 造成番茄果实发育受到明显抑制, 也可使蒲公英(*Taraxacum mongolicum*)根的数量减少、长度缩短, 影响植株的正常生长, 添加HMGR催化得到MVA后恢复正常(Enfissi等2005; 褚蔚等2018); HMGR1的缺失导致拟南芥植株矮小、早衰、雄性不育, 且甾醇的含量比野生型植株低(Suzuki等2004); 马铃薯HMGR1的过表达使植物表现出花期提早、茎高增加、生物量增加和块茎总重增加的性状(Moehnins等2020); HMGR可以加速植物体内叶绿素的生物合成, 进而提高植物的光合效率, 增加植株可溶性糖和淀粉的积累, 提高产量(褚蔚等2018)。

2.3 HMGR影响植物香气组分

萜类化合物是许多植物主要香气物质合成的前体, HMGR可以通过影响萜类化合物合成从而影响植物的香气(Kim等2014)。其中, 园艺植物果实中萜类物质的特征香气成分包括萜烯、萜醇、萜醛、萜酮和萜酯等, 在葡萄中已鉴定到70余种萜类化合物, 主要属于单萜、双萜和倍半萜(Mateo和Jimenez 2000; Yang等2009)。MVA途径合成倍半萜和三萜香气成分, 受到HMGR的直接调控; 且MVA途径和MEP途径并不是完全独立, MVA途径产物可以

进入质体形成单萜和二萜(Ferrero等2015)。HMGR基因的表达对香气组成有影响, 过表达NtHMGR提高了烟草中倍半萜(t,t-法尼醇)、三萜(β -香树素)和部分二萜(植醇)的含量, 降低了某些二萜(松香醇、香紫苏醇)的含量(聂梦云2016); 在草莓(*Fragaria × ananassa*)中过量表达葡萄Vv-HMGR3, 不仅能够促进三萜角鲨烯和倍半萜 β -法尼烯等香气物质的生成, 还可以提高橙花叔醇的香气比例, 影响草莓的整体香气(Zheng等2020); 而在番茄中瞬时表达HMGR使橙花醇的含量增加了5.7倍, 芳樟醇的含量增加1.8倍(Gutensohn等2021)。另外, HMGR对不同香气类型的葡萄品种香气形成影响不同, HMGRs在玫瑰香型品种中的表达量明显高于草莓香型品种(Zheng等2021)。

2.4 HMGR影响植物色泽形成

HMGR通过影响MEP途径和花色苷的合成调控色泽形成。在印度苦楝树(*Azadirachta indica*)和睡茄(*Withania somnifera*)的研究中发现, HMGR基因能够编码功能蛋白, 加速类胡萝卜素的生物合成(Akhtar等2013; Bhambhani等2017)。Zheng等(2021)也发现黄色葡萄品种中VvHMGRs的表达量普遍高于红色品种, 这与黄色品种萜类代谢活跃, 类胡萝卜素合成旺盛有关。

另一方面, HMGR还通过影响激素的积累及信号转导参与调控植物体中花青素积累。HMGR等类萜生物合成基因的下调可以正向诱导AUX1 (auxin transporter-like 1)、SAUR (small auxin-up RNA)、GID2 (gibberellin-insensitive dwarf 2)、PP2C (protein phosphatase 2C)和SnRK2 (sucrose non-fermenting-1-related protein kinase 2)的表达, 从而正向调节生长素(auxin, IAA)和ABA的合成并负向调节GA₃的合成, 从而影响花色苷的积累(Li等2018)。Zheng等(2020)研究也证实了HMGR会抑制花色苷的合成, 影响草莓着色。而抑制VvHMGR3的表达能够提高果实中IAA、ABA、BR的含量, 降低了GA₃和反式玉米素核苷(trans-zeatin-riboside, ZR)的含量, 促进草莓果实着红色。此外, Kim等(2014)通过研究HMGR调控人参皂苷的生物合成规律发现, 光照可能通过调控光敏色素B (photoreceptor phytochrome B, phyB)和转录因子HYPOCOTYL5 (HY5)而下调HMGR

的表达量; 在*HMGR*启动子的G-box/ACE元件上发现PIF3 (phytochrome interacting factor 3)的结合基序, 而PIF3和HY5通过与花青素生物合成相关基因启动子结合来调节花青素的生物合成。尚未有研究直接证明萜类物质的代谢途径与花色苷代谢途径之间存在关联, *HMGR*对于花色苷积累的影响也有待进一步的探索。

3 *HGMR*的调控

3.1 *HMGR*的活性受多种因子的高度调节

*HMGR*的酶活性受到植物生长发育、光、温度、湿度、紫外线、病菌、外源生长调节剂、甾醇、机械损伤等多种因子的影响(Pu等2009; Kim等2014; Morshedloo等2017)。光照抑制*HMGR*的活性, 黑暗诱导*HMGR*基因的表达, *HMGR*对于光照的响应都是低水平表达, 这一过程受GATA元件和SORLIP元件的介导(Learned和Connolly 1997; Kawoosa等2014)。而紫外线可以上调*HMGR*的表达(Zheng等2021)。

适当的逆境能够提高*HMGR*的活性, 促进萜类物质的合成(Morshedloo等2017)。适当的盐胁迫可以有效促进*HMGR*的表达(Zheng等2021)。另外, 激素是影响*HMGR*活性的重要因素之一。*HMGR*基因受乙烯(ethylene, ETH)、茉莉酸甲酯(methyl jasmonate, MeJA)、水杨酸(salicylic acid, SA)、ABA、IAA等显著诱导(Lv等2016; Lv和Zhang 2017; Zheng等2021)。ABA能够抑制豌豆(*Pisum sativum*) *HMGR*的40%活性, 但玉米素(zeatin, ZT)和GA却增加其活性(Russell和Davidson 1982)。SA和MeJA的使用上调了*HMGR*的表达(Pu等2009; Ma等2012; Zheng等2021)。Zheng等(2020)通过利用BR处理葡萄果实, 证明了BR能够负调控*HMGR*的表达, 降低*HMGR*的活性, 在果实色泽、香气等品质性状的形成过程中与*HMGR*有协同作用。但是植物激素对于*HMGR*活性的影响是由于它们作为萜类化合物的反馈调节还是作为生长调节剂的作用, 目前尚不清楚。

3.2 *HMGR*活性变化受到磷酸化调节

*HMGR*的催化是一个复杂的调控系统, 受生长环境、内源代谢和翻译后修饰的协同作用(褚蔚等2018)。由于*HMGR*具备保守的丝氨酸位点, 它的

活性变化是一个被磷酸化调节的过程(Robertlee等2017)。植物*HMGR*催化结构域保守位点的可逆磷酸化对调节*HMGR*活性非常重要(Nieto等2009)。*HMGR*在植物体内普遍存在着磷酸化修饰, 这种磷酸化对*HMGR*功能起着重要的调控作用。其中, 在*HMGR*蛋白Ser577处的磷酸化在整个植物物种中普遍存在, Ser577处的磷酸化对于*HMGR*调节非常重要(Robertlee等2017)。拟南芥SnRK1蛋白之一AKIN10和哺乳动物AMPK (AMP-activated protein kinase)蛋白激酶都能够使*HMGR*磷酸化, 导致*HMGR*失活(Clarke和Hardie 1990; Robertlee等2017)。

植物*HMGR*由许多不同的内源信号和外部刺激来调节(Bohlmann和Keeling 2008)。其中, PP2A (protein phosphatase 2A)对植物*HMGR*进行多级调控, 参与ABA、IAA、BR、ETH的信号转导, 并介导植物激素对*HMGR*活性产生影响(Leivar等2011)。*HMGR*催化产生BR、CTK, PP2A将这些代谢的关键点与信号转导网络相连, 通过植物激素进行*HMGR*的反馈调节(Antolin-Llovera等2011) (图2)。PP2A通过 β 亚基在盐胁迫下发生*HMGR*去磷酸化, 但无法改变由SnRK1造成的磷酸化, 这表明*HMGR*的去磷酸化作用发生在Ser577以外的其他位点(Leivar等2011; Robertlee等2017)。因此, 挖掘*HMGR*的磷酸化位点, 筛选与*HMGR*互作的蛋白激酶, 是解析*HMGR*调控网络最有效的手段之一。

4 总结与展望

萜类物质对植物生长发育具有重要影响, 其含量与果实颜色、香气及抗逆性等密切相关, 萜类代谢在果实品质形成中发挥着重要作用。研究萜类物质合成与调控机理, 能够为提高果实萜类物质含量、提升优质果品率提供理论依据。虽然在大多数植物中, *HMGR*基因家族已经得到鉴定, 但是研究尚不深入, 还存在许多问题: (1)目前*HMGR*基因的研究都是针对单一基因, 对于家族内成员间的作用机制, 需要构建突变体或其他方法来明确; (2)虽然在拟南芥中已经鉴定到SnRK1在*HMGR*磷酸化调节中起作用, 但这在其他植物中是否适用, 磷酸化位点是否一致, 仍是空白。因此, 有必要挖掘*HMGR*的磷酸化位点, 筛选与*HMGR*互作的蛋白

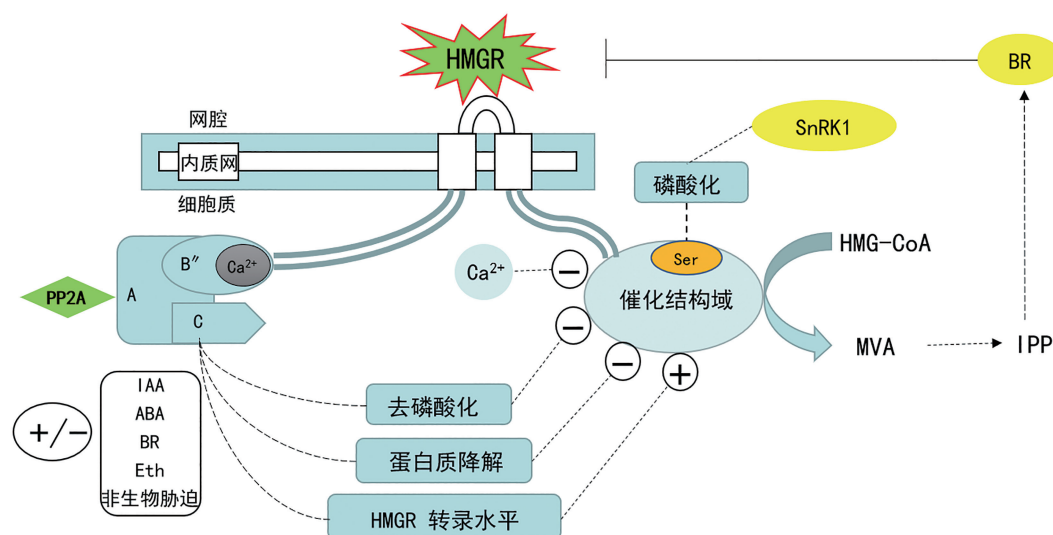


图2 PP2A调控植物HMGR的作用模型

Fig. 2 Working model on the modulation of plant HMGR by PP2A

根据Antolín-Llovera等(2011)和Zheng等(2021)修改。

激酶, 深入解析HMGR的磷酸化调节机制; (3) 目前关于HMGR对于植物调控的作用研究主要集中在其对MVA途径甾醇、倍半萜(青蒿素)、三萜(皂苷)乃至MEP途径中四萜(类胡萝卜素)、多萜(橡胶和树脂)等萜类物质合成的影响。HMGR在植物中的作用在很大程度上仍未知, 尤其对于果实发育的作用。与其他植物相比, HMGR对园艺植物果实香气、色泽等品质性状发育的影响及其调控作用还有待进一步探索。

参考文献(References)

- Akhtar N, Gupta P, Sangwan NS, et al (2013). Cloning and functional characterization of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase gene from *Withania somnifera*: an important medicinal plant. *Protoplasma*, 250 (2): 613–622
- Alam P, Abdin MZ (2011). Over-expression of HMG-CoA reductase and amorpha-4,11-diene synthase genes in *Artemisia annua* L. and its influence on artemisinin content. *Plant Cell Rep*, 30 (10): 1919–1928
- Antolín-Llovera M, Leivar P, Arró M, et al (2011). Modulation of plant HMG-CoA reductase by protein phosphatase 2A: positive and negative control at a key node of metabolism. *Plant Signal Behav*, 6 (8): 1127–1131
- Aoyagi K, Beyou A, Moon K, et al (1993). Isolation and characterization of cDNAs encoding wheat 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase. *Plant Physiol*, 102 (2): 623–628
- Aquil S, Husaini AM, Abdin MZ, et al (2009). Overexpression of the HMG-CoA reductase gene leads to enhanced artemisinin biosynthesis in transgenic *Artemisia annua* plants. *Planta Med*, 75 (13): 1453–1458
- Ayora-Talavera T, Chappell J, Lozoya-Gloria E, et al (2002). Overexpression in *Catharanthus roseus* hairy roots of a truncated hamster 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase gene. *Appl Biochem Biotechnol*, 97 (2): 135–145
- Bach TJ (1986). Hydroxymethylglutaryl-CoA reductase, a key enzyme in phytosterol synthesis? *Lipids*, 21 (1): 82–88
- Bhambhani S, Lakhwani D, Shukla T, et al (2017). Genes encoding members of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase (HMGR) gene family from *Azadirachta indica* and correlation with azadirachtin biosynthesis. *Acta Physiol Plant*, 39 (2): 65
- Bohlmann J, Keeling CI (2008). Terpenoid biomaterials. *Plant J*, 54: 656–669
- Caelles C, Ferrer A, Balcells L, et al (1989). Isolation and structural characterization of a cDNA encoding *Arabidopsis thaliana* 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase. *Plant Mol Biol*, 13 (6): 627–638
- Choi D, Ward BL, Bostock RM (1992). Differential induction and suppression of potato 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase genes in response to *Phytophthora infestans* and to its elicitor arachidonic acid. *Plant Cell*, 4 (10): 1333–1344
- Chu W, Liu YY, Li YB, et al (2018). Advances on plant 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase (HMGR)

- genes. *Curr Biotechnol*, 8 (2): 93–102 (in Chinese with English abstract) [褚蔚, 刘洋洋, 李永波等(2018). 植物3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶A还原酶基因研究进展. *生物技术进展*, 8 (2): 93–102]
- Chye ML, Tan CT, Chua NH (1992). Three genes encode 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase in *Hevea brasiliensis*: *hmg1* and *hmg3* are differentially expressed. *Plant Mol Biol*, 19 (3): 473–484
- Clarke PR, Hardie DG (1990). Regulation of HMG-CoA reductase: identification of the site phosphorylated by the AMP-activated protein kinase *in vitro* and in intact rat liver. *EMBO J*, 9: 2439–2446
- Dai Z, Cui G, Zhou SF, et al (2011). Cloning and characterization of a novel 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase gene from *Salvia miltiorrhiza* involved in diterpenoid tanshinone accumulation. *J Plant Physiol*, 168 (2): 148–157
- Darabi M, Masoudi-Nejad A, Nemat-Zadeh G (2012). Bioinformatics study of the 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase (HMGR) gene in Gramineae. *Mol Biol Rep*, 39 (9): 8925–8935
- Devi K, Patar L, Modi MK, et al (2017). An insight into structure, function, and expression analysis of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase of *Cymbopogon winterianus*. *Bioinform Biol Insights*, doi: 10.1177/1177932217701735
- Dong N, Ponciano G, McMahan CM, et al (2013). Overexpression of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase in *Parthenium argentatum* (guayule). *Ind Crop Prod*, 46: 15–24
- Enfissi EMA, Fraser PD, Lois LM, et al (2005). Metabolic engineering of the mevalonate and non-mevalonate isopentenyl diphosphate-forming pathways for the production of health-promoting isoprenoids in tomato. *Plant Biotechnol J*, 3 (1): 17–27
- Enjuto M, Lumbreras V, Marin C, et al (1995). Expression of the *Arabidopsis HMG2* gene, encoding 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase, is restricted to meristematic and floral tissues. *Plant Cell*, 7 (5): 517–527
- Ferrero S, Grados-Torrez RE, Leivar P, et al (2015). Proliferation and morphogenesis of the endoplasmic reticulum driven by the membrane domain of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase in plant cells. *Plant Physiol*, 168 (3): 899–914
- Friesen JA, Rodwell VW (2004). The 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme-A (HMG-CoA) reductases. *Genome Biol*, 5 (11): 248
- Gutensohn M, Henry LK, Gentry SA, et al (2021). Overcoming bottlenecks for metabolic engineering of sesquiterpene production in tomato fruits. *Front Plant Sci*, 12: 691754
- Ha SH, Lee SW, Kim YM, et al (2001). Molecular characterization of *Hmg2* gene encoding a 3-hydroxy-methylglutaryl-CoA reductase in rice. *Mol Cells*, 11 (3): 295–302
- Hou X, Rivers J, Leon P, et al (2016). Synthesis and function of apocarotenoid signals in plants. *Trends Plant Sci*, 21 (9): 792–803
- Istvan ES, Deisenhofer J (2000). The structure of the catalytic portion of human HMG-CoA reductase. *Biochim Biophys Acta*, 1529 (1–3): 9–18
- Kalita R, Modi MK, Sen P (2018). RNAi mediated silencing of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductases (HMGR) in *Centella asiatica*. *Gene Rep*, 11: 52–57
- Kawoosa T, Gahlan P, Devi AS, et al (2014). The GATA and SORLIP motifs in the 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase promoter of *Picrorhiza kurroa* for the control of light-mediated expression. *Funct Integr Genomic*, 14 (1): 191–203
- Kim YJ, Lee OR, Oh JY, et al (2014). Functional analysis of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase encoding genes in triterpene saponin-producing ginseng. *Plant Physiol*, 165 (1): 373–387
- Kobayashi T, Kato-Emori S, Tomita K, et al (2002). Detection of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase protein Cm-HMGR during fruit development in melon (*Cucumis melo* L.). *Theor Appl Genet*, 104 (5): 779–785
- Kumar MSS, Mawlong I, Ali K, et al (2018). Regulation of phytosterol biosynthetic pathway during drought stress in rice. *Plant Physiol Biochem*, 129: 11–20
- Learned RM, Connolly EL (1997). Light modulates the spatial patterns of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase gene expression in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*, 11 (3): 499–511
- Learned RM, Fink GR (1989). 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme-A reductase from *Arabidopsis thaliana* is structurally distinct from the yeast and animal enzymes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 86 (8): 2779–2783
- Leivar P, Antolín-Llovera M, Ferrero S, et al (2011). Multi-level control of *Arabidopsis* 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase by protein phosphatase 2A. *Plant Cell*, 23: 1494–1511
- Leng X, Wang P, Wang C, et al (2017). Genome-wide identification and characterization of genes involved in carotenoid metabolic in three stages of grapevine fruit development. *Sci Rep*, 7: 4216
- Li W, Liu W, Wei H, et al (2014). Species-specific expansion and molecular evolution of the 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase (HMGR) gene family in plants. *PLOS One*, 9 (4): e94172
- Li WF, Mao J, Yang SJ, et al (2018). Anthocyanin accumu-

- lation correlates with hormones in the fruit skin of 'Red Delicious' and its four generation bud sport mutants. *BMC Plant Biol*, 18 (1): 363
- Liao Z, Tan Q, Chai Y, et al (2004). Cloning and characterisation of the gene encoding HMG-CoA reductase from *Taxus media* and its functional identification in yeast. *Funct Plant Biol*, 31 (1): 73–81
- Liu W, Zhang Z, Li W, et al (2018). Genome-wide identification and comparative analysis of the 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase (HMGR) gene family in *Gossypium*. *Molecules*, 23 (2): 193
- Lv DM, Zhang TT, Deng S, et al (2016). Functional analysis of the *Malus domestica* MdHMGR2 gene promoter in transgenic *Arabidopsis thaliana*. *Biol Plantarum*, 60 (4): 667–676
- Lv DM, Zhang YH (2017). Isolation and functional analysis of apple MdHMGR1 and MdHMGR4 gene promoters in transgenic *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Tiss Org Cult*, 129 (1): 133–143
- Ma Y, Yuan L, Wu B, et al (2012). Genome-wide identification and characterization of novel genes involved in terpenoid biosynthesis in *Salvia miltiorrhiza*. *J Exp Bot*, 63 (7): 2809–2823
- Mateo JJ, Jimenez M (2000). Monoterpenes in grape juice and wines. *J Chromatogr A*, 881 (1–2): 557–567
- Moehninsi, Lange I, Lange BM, et al (2020). Altering potato isoprenoid metabolism increases biomass and induces early flowering. *J Exp Bot*, 71 (14): 4109–4124
- Morshedloo MR, Craker LE, Salami A, et al (2017). Effect of prolonged water stress on essential oil content, compositions and gene expression patterns of mono- and sesquiterpene synthesis in two oregano (*Origanum vulgare* L.) subspecies. *Plant Physiol Biochem*, 111: 119–128
- Nafis T, Akmal M, Ram M, et al (2011). Enhancement of artemisinin content by constitutive expression of the HMG-CoA reductase gene in high-yielding strain of *Artemisia annua* L. *Plant Biotechnol Rep*, 5 (1): 53–60
- Nie MY (2016). Cloning and functional analysis of the genes related to the metabolism of the terpenoids from *Nicotiana tobacco* (dissertation). Chongqing: Southwest University (in Chinese with English abstract) [聂梦云(2016). 烟草萜类代谢途径相关基因的克隆及功能分析(学位论文). 重庆: 西南大学]
- Nieto B, Forés O, Arró M, et al (2009). *Arabidopsis* 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase is regulated at the post-translational level in response to alterations of the sphingolipid and the sterol biosynthetic pathways. *Phytochemistry*, 70: 53–59
- Nisar N, Li L, Lu S, et al (2015). Carotenoid metabolism in plants. *Mol Plant*, 8 (1): 68–82
- Pu GB, Ma DM, Chen JL, et al (2009). Salicylic acid activates artemisinin biosynthesis in *Artemisia annua* L. *Plant Cell Rep*, 28 (7): 1127–1135
- Robertlee J, Kobayashi K, Tang J, et al (2017). Evidence that the *Arabidopsis thaliana* 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase 1 is phosphorylated at Ser577 in planta. *Plant Biotechnol*, 35 (1): 1–7
- Russell DW, Davidson H (1982). Regulation of cytosolic HMG-CoA reductase activity in pea seedlings: contrasting responses to different hormones, and hormone-product interaction, suggest hormonal modulation of activity. *Biochem Biophys Res Commun*, 104 (4): 1537–1543
- Schaller H, Grausem B, Benveniste P, et al (1995). Expression of the *Hevea brasiliensis* (H.B.K.) Mull. Arg. 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase 1 in tobacco results in sterol overproduction. *Plant Physiol*, 109 (3): 761–770
- Suzuki M, Kamide Y, Nagata N, et al (2004). Loss of function of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase 1 (HMGI) in *Arabidopsis* leads to dwarfing, early senescence and male sterility, and reduced sterol levels. *Plant J*, 37 (5): 750–761
- Suzuki M, Nakagawa S, Kamide Y, et al (2009). Complete blockage of the mevalonate pathway results in male gametophyte lethality. *J Exp Bot*, 60 (7): 2055–2064
- Venkatachalam P, Priya P, Jayashree R, et al (2009). Molecular cloning and characterization of a 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase 1 (*hmgr1*) gene from rubber tree (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.): a key gene involved in isoprenoid biosynthesis. *Physiol Mol Biol Plants*, 15 (2): 133–143
- Wang Y, Guo B, Zhang F, et al (2007). Molecular cloning and functional analysis of the gene encoding 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase from hazel (*Corylus avellana* L. Gasaway). *BMB Rep*, 40 (6): 861–869
- Wang YY, Jing FY, Yu SY, et al (2011). Co-overexpression of the HMGR and FPS genes enhances artemisinin content in *Artemisia annua* L. *J Med Plants Res*, 5 (15): 3396–3403
- Yang CX, Wang YJ, Liang ZC, et al (2009). Volatiles of grape berries evaluated at the germplasm level by headspace-SPME with GC-MS. *Food Chem*, 114 (3): 1106–1114
- Zheng T, Dong T, Haider MS, et al (2020). Brassinosteroid regulates 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase to promote grape fruit development. *J Agric Food Chem*, 68 (43): 11987–11996
- Zheng T, Guan L, Yu K, et al (2021). Expressional diversity of grapevine 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase (*VvHMGR*) in different grapes genotypes. *BMC Plant Biol*, 21 (1): 279