



综述 Reviews

薯蓣皂苷元生物合成途径及其关键基因研究进展

李文砚¹, 黄静丽¹, 李长洲¹, 黄金梅¹, 肖冬^{1,2,3}, 詹洁^{1,2,3}, 王爱勤^{1,2,3}, 张平刚⁴, 何龙飞^{1,2,3,4,*}

¹广西大学农学院, 南宁530004

²广西农业环境与农产品安全重点实验室, 南宁530004

³广西高校作物栽培与生理重点实验室, 南宁530004

⁴广西大学农牧产业发展研究院, 南宁530004

*通信作者(lfhe@gxu.edu.cn)

摘要: 薯蓣皂苷元属甾体皂苷类化合物, 是薯蓣属植物中代表性的药用成分, 具多重药理学活性, 也是300多种甾体激素类药物的重要前体物质。本文简要概述了薯蓣皂苷元在植物中的分布, 薯蓣皂苷元生物合成过程及关键酶基因角鲨烯环氧酶、环阿屯醇合酶、细胞色素P450酶和尿苷二磷酸糖基转移酶的研究进展, 并解读它们参与薯蓣皂苷元合成途径的催化机制, 以便为提高植物中薯蓣皂苷元含量, 促进薯蓣遗传育种与栽培提供参考。

关键词: 薯蓣皂苷元; 甾体皂苷; 生物合成; 次生代谢物

Advances on diosgenin biosynthesis pathways and their key genes

LI Wenyan¹, HUANG Jingli¹, LI Changzhou¹, HUANG Jinmei¹, XIAO Dong^{1,2,3}, ZHAN Jie^{1,2,3}, WANG Aiqin^{1,2,3}, ZHANG Pinggang⁴, HE Longfei^{1,2,3,4,*}

¹College of Agronomy, Guangxi University, Nanning 530004, China

²Guangxi Key Laboratory for Agro-Environment and Agro-Product Safety, Nanning 530004, China

³Key Laboratory of Crop Cultivation and Physiology, Guangxi University, Education Department of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530004, China

⁴Agricultural and Animal Husbandry Industry Development Research Institute, Guangxi University, Nanning 530004, China

*Corresponding author (lfhe@gxu.edu.cn)

Abstract: Diosgenin, a steroid saponin compound, is a representative medicinal component in *Dioscorea*. It plays a direct role in multiple pharmacological activities. Diosgenin is also an important precursor substance to produce more than 300 steroid hormones. In this paper, the research progresses on the distribution, biosynthesis process, function, and its catalytic mechanism of diosgenin biosynthesis key enzyme genes are reviewed, including squalene epoxidase, cycloartenol synthase, cytochrome P450 enzyme and uridine diphosphate glycosyltransferase etc. It provides the reference for improving the content of diosgenin in plants and promoting genetic breeding and cultivation of *Dioscorea*.

Key words: diosgenin; steroid saponin; biosynthesis; secondary metabolite

收稿 2023-08-22 修定 2024-06-10

资助 财政部和农业农村部: 国家现代农业产业技术体系资助(CARS-21)、国家自然科学基金(81860670)、广西自然科学基金重点项目(2018GXNSFDA281029)和国家现代农业产业技术体系-广西创新团队首席专家项目(nycytxgxcxd-11-01)。

1 薯蓣皂苷元理化特性及在植物中的分布

1.1 理化特性与结构

薯蓣皂苷元(diosgenin)又名薯蓣皂素, 化学名(25*R*)-异螺甾烯-3β醇(25*R*-spirost-5-en-3β-ol), 化学结构见图1, 分子式C₂₇H₄₂O₃, 相对分子质量414.626, 为白色或微黄色针状、片状结晶, 熔点195~204℃, 易溶于氯仿、乙醇、石油醚和醋酸等有机溶剂, 难溶于水(宋伟2019)。

1.2 分布及含量

薯蓣皂苷元广泛存在于薯蓣科(Dioscoreaceae)薯蓣属(*Dioscorea*)等植物中, 其中盾叶薯蓣(*Dioscorea zingiberensis*)、穿龙薯蓣(*D. nipponica*)、菊叶薯蓣(*D. composita*)、日本薯蓣(*D. japonica*)零余子含量较高, 百合科七叶一枝花(*Paris polyphylla*)、豆科葫芦巴(*Trigonella foenum-graecum*)、闭鞘姜科闭鞘姜(*Costus speciosus*)、百合科华东菝葜(*Smilax sieboldii*)及鞘柄菝葜(*S. stans*)、茄科黄果茄(*Solanum xanthocarpum*)等中也有分布(表1)。

2 薯蓣皂苷元的生物合成

薯蓣皂苷元的生物合成主要分为乙酰辅酶A

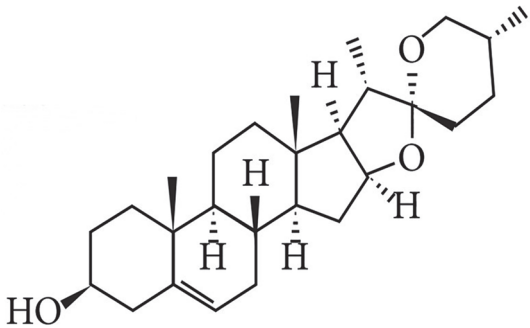


图1 薯蓣皂苷元的化学结构式

Fig. 1 The chemical structure of diosgenin

本图引自Semwal等(2022)文献。

至2,3-氧化角鲨烯(2,3-oxidosqualene)合成阶段、2,3-氧化鲨烯至胆固醇(cholesterol)合成阶段、胆固醇至薯蓣皂苷元合成阶段等3个阶段(图2; Li等2022; Zhou等2022)。

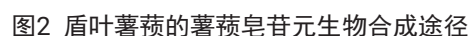
2.1 2,3-氧化角鲨烯的生物合成

乙酰辅酶A经甲羟戊酸途径或D-甘油醛-3-磷酸经甲基-赤藓醇-4-磷酸途径分别生成互为同分异构体的异戊烯基焦磷酸和二甲基烯丙基焦磷酸。异戊烯基焦磷酸在法尼基焦磷酸合酶催化下生成

表1 薯蓣皂苷元的植物分布及含量

Table 1 Lists of plants distribution and contents of diosgenin

序号	植物种类	组织部位	薯蓣皂苷元含量/%	文献
1	盾叶薯蓣	根茎	1.85~16.15	周继铭等1985; Huang等2008; Ye等2017
2	菊叶薯蓣	根茎	4.21~4.44	李俊2013
		幼苗	0.02~0.45	Diarra等2015
3	穿龙薯蓣	根茎	0.93~4.68	周继铭等1985; 李红月2021
4	日本薯蓣	零余子	0.26	Onoda等2023
		块茎	0.05	
5	七叶一枝花	根茎	1.38	杨亚利等2016
		果皮	1.14	
6	葫芦巴	植株	0.43~0.77	Chaudhary等2018
7	闭鞘姜	根茎	0.15~0.49	乔春峰等2000
		根	0.04~0.15	
		叶	0.07	
8	华东菝葜	根茎	0.02~0.03	钱芳芳和张长林2014
9	鞘柄菝葜	根茎	0.01~0.03	赵春晓等2022
10	黄果茄	根	0.013	Chaudhary等2021
		茎	0.011	
		叶	0.011	



通过MVA和MEP途径合成异戊烯焦磷酸;3种酶(牻牛儿基焦磷酸合酶、法尼基焦磷酸合成酶、角鲨烯合酶)参与角鲨烯的合成;11种酶[角鲨烯环氧化酶、环阿屯醇合酶、甾醇C-24甲基转移酶、C-4甾醇甲基氧化酶、环丙基甾醇异构酶1、甾醇C-14脱甲基酶、甾醇C-14还原酶、 Δ 8,7甾醇异构酶、甾醇C-5(6)去饱和酶、7-脱氢胆固醇还原酶、 δ -(24)-甾醇还原酶]参与植物甾醇(胆固醇和 β -谷甾醇)生物合成。3种关键酶(甾醇22- α -羟化酶、甾醇16- α -羟化酶、甾醇26- α -羟化酶)参与薯蓣皂苷元生物合成。2种酶(甾醇3- β -葡萄糖基转移酶、呋甾烷醇苷26-O- β -葡萄糖苷酶)分别参与呋喃甾醇型皂苷和螺甾烷醇型皂苷生物合成。实线箭头表示路径中的单一步骤;虚线箭头表示路径中的多个步骤。参考Li等(2022)和Zhou等(2022)修改。

2,3-氧化角鲨烯是合成甾醇类和三萜类的共同前体。2,3-氧化角鲨烯经不同的氧化鲨烯环化

酶(oxidosqualene cyclase, OSCs)催化, 形成不同结构的次生代谢产物前体(Yao等2020)。环阿屯醇是甾醇类物质的合成前体, 由环阿屯醇合酶(cycloartenol synthase, CAS)催化形成。环阿屯醇再经多步酶促反应使碳链延长, 形成胆固醇。目前, 环阿屯醇合成胆固醇的9个酶促步骤已在植物分子水平上得到表征(Sonawane等2017; 孙忠义等2021; Yin等2023)。这一途径的关键步骤是甾醇侧链还原酶

2催化环阿屯醇合成环木菠萝烷醇(Sawai等2014),但也有研究认为 δ -(24)-脱氢胆固醇还原酶为这一催化反应的关键酶(Li等2022);甾醇C4-甲基氧化酶3、 3β -羟类甾醇脱氢酶/C-4脱羧酶2和侧链氧化还原酶形成复合体,催化环木菠萝烷醇C4位甲基的移除生成31-norcycloartanol; 31-norcycloartanol再经环丙基甾醇异构酶催化,其C-9发生去甲基化反应,生成31-nor-24(25)-dihydrolanosterol; 31-nor-24(25)-dihydrolanosterol经甾醇C-14脱甲基酶作用生成4 α -methylcholesta-8,14-dien-3 β -ol; 4 α -methylcholesta-8,14-dien-3 β -ol再经甾醇C-14还原酶催化,生成4 α -methyl-24(25)-dihydrozymosterol; 4 α -methyl-24(25)-dihydrozymosterol经 Δ 8,7甾醇异构酶催化后生成4 α -methyl-5 α -cholest-7-en-3 β -ol; 4 α -methyl-5 α -cholest-7-en-3 β -ol再由甾醇C4-甲基氧化酶3作用生成Cholesta-7-en-3 β -ol; Cholesta-7-en-3 β -ol经甾醇C-5(6)去饱和酶2催化生成7-脱氢胆固醇; 7-脱氢胆固醇最后经7-脱氢胆固醇还原酶作用生成胆固醇(宋伟2019; Li等2022)。

2.3 薯蓣皂苷元的生物合成

胆固醇经多步氧化和成环反应,生成薯蓣皂苷元(Li等2018; Zhou等2019)。首先,由类固醇22- α -羟化酶(CYP90B)催化胆固醇C22,16-羟基化得到16S,22S-二羟基胆固醇(Li等2022),但也有研究发现,与CYP90B50单一催化C22,16-氧化不同的是,盾叶薯蓣中已演化出2种独立的酶即DzCYP90B71特异地催化C22-氧化, DzCYP90G6特异催化C16-氧化,并认为DzCYP90B71/DzCYP90G6对是单子叶植物中参与薯蓣皂苷元生物合成的更广泛存在且保守的催化酶(Zhou等2022)。随着C22位的羟基氧化成酮并伴随E环闭合,甾醇26- α -羟化酶CYP72A/CYP94催化胆固醇C-26羟基化。之后,一种特异性的C-26 UDP-葡萄糖基转移酶(UDP-glucosyltransferase, UGTs)催化C26位糖基化形成E环,随后26-O- β -葡糖苷酶催化去除葡萄糖基,形成薯蓣皂苷元F环(Nakayasu等2015; Ciura等2017a)。薯蓣属植物中参与这步反应的相关基因还在挖掘。

3 薯蓣皂苷元生物合成关键基因

薯蓣皂苷元的生物合成通路长,涉及基因多,

迄今为止,其最终合成过程还存在大量未知信息,尤其是由胆固醇合成薯蓣皂苷元的相关基因尚未完全阐明(Miettinen等2017; 孙忠义等2021)。

3.1 角鲨烯环氧酶

角鲨烯环氧酶,也称角鲨烯单加氧酶(squalene monooxygenase, SM),是一种黄素蛋白酶,多数位于真核细胞的内质网,能够催化角鲨烯C=C双键处环氧化,生成2,3-氧化角鲨烯,是藻类、植物、酵母、动物三萜和甾醇合成途径中的共同前体物质(赵欢等2018)。*SQLE*的转录水平影响多种植物甾醇和皂苷的合成,通过整合表型、转录组学及代谢组学发现*SQLE*等是蒙古黄芪中三萜皂苷物质积累的主要原因(Li等2024);利用RNAi干扰*PgSQLE1*的表达后,人参皂苷的生物合成量降低(Han等2010; Cao等2015),MeJA处理提高人参中角鲨烯合成酶、角鲨烯环氧酶的表达;*PgWRKY4X*通过激活人参中的*SQLE*转录正向调节人参皂苷生物合成(Yao等2020)。Razdan等(2013)克隆了南非醉茄(*Withania somnifera*)中*WsSQLE*基因全长,并分离出一个513 bp的启动子序列,存在几个与各种生物和非生物植物胁迫有关的关键顺式调控元件,*WsSQLE*在叶片中的转录水平高于茎和根。在紫花苜蓿中过表达*MsSQLE1*能增加苜蓿总皂甙含量(康俊梅等2020)。*SgSQLE1*和*SgSQLE2*在罗汉果果实中均有表达,均能与配基2,3-氧化角鲨烯相互作用,表明二者在罗汉果次生代谢产物甜苷合成中发挥鲨烯环氧酶的功能(赵欢等2018)。在盾叶薯蓣及菊叶薯蓣中亦克隆出*SQLE*,其组织表达量与薯蓣皂苷元含量变化呈正相关(宋伟2019; 许娃丽2017)。有些植物如莱茵绿藻(Kajikawa等2015)和橡胶草(Unland等2018)的甾醇水平可能不受*SQLE*基因表达影响,推测可能存在未知途径的催化反应。因此,*SQLE*对甾醇合成的影响仍需要进一步研究。

3.2 环阿屯醇合酶

CAS是植物甾醇及甾体类物质合成过程中的第一个关键酶,催化2,3-氧化角鲨烯在C-20位脱质子,形成原甾醇碳正离子,之后C⁺-20重新排布到C-9位,并在此位发生成环反应,形成环阿屯醇(孙忠义等2021)。植物CAS序列高度保守,具有保守结构域Asp-Cys-Thr-Ala-Glu (DCTAE),DCTAE序列

可影响CAS与底物的结合与环化(Ito等2013; Souza-Moreira等2016)。拟南芥*AtCAS1*是首个从OSC家族中克隆得到的基因(Corey等1993), 通过定向进化与随机诱变, 发现Tyr410、His477和Ile481是其催化功能的关键残基(Lodeiro等2005; Kolesnikova等2006)。Mohammadi等(2020)在葫芦巴中克隆出14个参与薯蓣皂苷元生物合成的*TfCAS*基因, 具有保守结构域DCTAE序列。刘梦迪等(2019)在葫芦巴中过量表达*TfCAS*基因, 一定程度上促进葫芦巴中甾醇类物质的生物合成。涂碧梦等(2010)发现CAS在盾叶薯蓣中为单拷贝, 上调CAS可提高薯蓣皂苷元在盾叶薯蓣中的积累量(Diarra等2013)。王双双等(2023)克隆到白芨*BsCAS*全长, 编码758个氨基酸, 具典型的DCTAE结构域和QW (QXXXXXW)结构域, 调控白芨甾醇类物质生物合成。这些结果都表明CAS基因参与植物甾醇和三萜类物质的合成过程。

3.3 细胞色素P450

细胞色素P450s (CYPs)是一个超基因家族, 其编码的CYPs是含有血红素的加氧酶, 具有初级单加氧酶活性, 将氧原子引入疏水底物特异性位点, 产生更多的水溶性产物(Urlacher和Girhard 2012)。由CYPs引入的氧原子为产物进一步的装饰提供了锚点, 大大扩展了骨架的多样性(Bathe和Tissier 2019), 这是皂苷结构多样性的重要原因。已有大量植物CYP450s被分离鉴定, 但参与薯蓣皂苷元生物合成的报道仍很少。在薯蓣皂苷元生物合成中, 特定的CYP450s对胆固醇C-22、C-16和C-26位置氧化修饰(Ciura等2017b; Zhou等2019)。Christ等(2019)发现重楼中*PpCYP90G4*与*PpCYP94D108*、*PpCYP94D109*或*PpCYP72A616*共表达, 以及葫芦巴中*TfCYP90B50*与*TfCYP72A613*或*TfCYP82J17*共表达, 催化胆固醇5,6-螺基酮化, 参与薯蓣皂苷元生物合成。Cheng等(2021)发现由正向选择驱动的P450基因复制和新功能化在薯蓣皂苷元生物合成途径的起源中起着重要作用, 薯蓣属植物中薯蓣皂苷元的富集受CpG岛的调控, CpG岛可调节薯蓣皂苷元通路中的基因表达, 以平衡薯蓣皂苷元生物合成与淀粉之间的碳通量。Wang等(2023)在盾叶薯蓣中鉴定到DzCYP72A12-4为甾醇C26-羟化

酶, 正向调控薯蓣皂苷元生物合成, 且具有较强的抗旱性相关的功能。

3.4 尿苷二磷酸糖基转移酶

糖基转移酶(glucosyltransferase, GTs)是一个蛋白质超家族, 催化糖基转移到甾醇、三萜等。尿苷二磷酸糖基转移酶(UGTs)属于GTs家族1, 它将以尿苷二磷酸(UDP)活化的糖分子如葡萄糖、鼠李糖、半乳糖、阿拉伯糖、木糖和葡萄糖醛酸等添加至受体分子的特定位置(Thimmappa等2014)。植物中存在大量UGT基因, 在拟南芥中鉴定出107个UGT基因(Li等2001)。Zhou等(2019)从葫芦巴中获得可能参与薯蓣皂苷元生物合成的C-26- β 葡萄糖苷酶的候选基因*cluster-2140.60643*和*cluster-2140.23403*; Song等(2022)鉴定了3种参与七叶一枝花甾体皂苷元糖基化的UGTs, PpUGT73CR1能糖基化甾体皂苷元和甾体生物碱, 对薯蓣皂苷元亲和力最高, 其残基His27和Asp129对激活受体底物的C-3 OH至关重要; PpUGT80A33和PpUGT80A34对胆固醇的亲和力高于其他类固醇, UGT80s具有更大的活性口袋, 可使它们能够容纳甾醇的侧链; Hua等(2022)也证实七叶一枝花中PpUGT73CR1发挥薯蓣皂苷元和偏诺皂苷元(Pennogenin) C-3位置的糖转移酶的作用。然而, 参与生成薯蓣皂苷元E环、F环的特定糖基转移酶的报道仍然较少, 仍需进一步研究。

4 总结与展望

薯蓣皂苷元是薯蓣属等多种植物中代表性的药用成分, 具有抗炎症、抗肿瘤、抗病毒等多重药理学活性, 也是生产300多种甾体激素类药物的重要前体物质, 在农业生产及日化方面也发挥重要作用。

薯蓣皂苷元属于次级代谢产物, 具有合成量少、合成途径复杂、合成不稳定、涉及修饰酶种类多等特点。当前薯蓣皂苷元的上游合成途径关键基因如*SQLE*、*CAS*等已在分子水平上得到表征, 下游合成途径由特定的CYP450s和UGT参与胆固醇氧化和成环修饰, 但参与薯蓣皂苷元生物合成的CYP450和UGT仅在少数植物中被分离鉴定, 多数植物中的相关基因仍待解析; 此外, 它们参与胆

固醇骨架氧化、羟基化、糖基化等修饰的具体机制还知之甚少。因此, 需要从以下多个方面加强研究。第一, 通过基因组、转录组、代谢组、蛋白组等多组学联合分析, 鉴定、挖掘参与薯蓣皂苷元下游生物合成的关键基因, 通过基因过表达、基因沉默等技术手段验证基因功能, 通过关键酶的三维晶体结构解析其结构域特征, 分析参与催化反应的重要氨基酸位点, 再通过定点突变验证该酶的活性, 阐明该酶基因的具体催化调控机制。第二, 薯蓣皂苷元主要存在于薯蓣属植物的根茎, 利用分子生物学技术, 进行薯蓣分子育种, 提高栽培管理水平, 从而提高植物薯蓣皂苷元含量和产量, 满足生产需要。第三, 利用代谢工程和合成生物学等新技术对薯蓣皂苷元的生物合成进行系统研究, 如选用经改造的生长快、易培养的宿主如酿酒酵母进行异源合成薯蓣皂苷元(Cheng等2021), 提高酶活性及催化效率, 进而增加薯蓣皂苷元的合成量。Yin等(2023)在植物底盘烟草中建立一种高效生产环阿屯醇、胆固醇及薯蓣皂苷元的体系。这些研究将降低薯蓣皂苷元的生产成本, 为后续能够更深入地研究薯蓣皂苷元药理活性与新药开发提供充足的物质基础。

参考文献(References)

- Bathe U, Tissier A (2019). Cytochrome P450 enzymes: a driving force of plant diterpene diversity. *Phytochemistry*, 161: 149–162
- Cao H, Nuruzzaman M, Xiu H, et al (2015). Transcriptome analysis of methyl jasmonate-elicited *Panax ginseng* adventitious roots to discover putative ginsenoside biosynthesis and transport genes. *Int J Mol Sci*, 16 (2): 3035–3057
- Chaudhary MK, Misra A, Srivastava S (2021). Phytochemical analysis and simultaneous quantification of solasodine and diosgenin content in different parts of *Solanum xanthocarpum* Schrad. & Wendl. by a validated high-performance thin-layer chromatography method. *J Planar Chromatography – Modern TLC*, 34: 95–102
- Chaudhary SA, Chaudhary PS, Syed BA, et al (2018). Validation of a method for diosgenin extraction from fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.). *Acta Sci Polon-Techn Alimenta*, 17 (4): 377–385
- Cheng J, Chen J, Liu X, et al (2021). The origin and evolution of the diosgenin biosynthetic pathway in yam. *Plant Commun*, 2 (1): 100079
- Christ B, Xu C, Xu M, et al (2019). Repeated evolution of cytochrome P450-mediated spiroketal steroid biosynthesis in plants. *Nat Commun*, 10 (1): 3206
- Ciura J, Szeliga M, Grzesik M, et al (2017a). Next-generation sequencing of representational difference analysis products for identification of genes involved in diosgenin biosynthesis in fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*). *Planta*, 245 (5): 977–991
- Ciura J, Szeliga M, Grzesik M, et al (2017b). Changes in fenugreek transcriptome induced by methyl jasmonate and steroid precursors revealed by RNA-Seq. *Genomics*, 110 (4): 267–276
- Corey EJ, Matsuda SP, Bartel B (1993). Isolation of an *Arabidopsis thaliana* gene encoding cycloartenol synthase by functional expression in a yeast mutant lacking lanosterol synthase by the use of a chromatographic screen. *Proc Natl Acad Sci USA*, 90 (24): 11628–11632
- Diarra ST, He J, Wang J, et al (2013). Ethylene treatment improves diosgenin accumulation in *in vitro* cultures of *Dioscorea zingiberensis* via up-regulation of *CAS* and *HMGR* gene expression. *Electron J Biotechn*, 16 (5): 1–10
- Diarra ST, Li H, Wang LJ, et al (2015). Effect of salicylic acid on biosynthesis of diosgenin in *Dioscorea composita*. *Biotic Res*, 37 (2): 29–34, 37 (in Chinese with English abstract) [Diarra ST, 李恒, 王丽娟等(2015). 水杨酸对菊叶薯蓣中薯蓣皂素生物合成的影响. *生物资源*, 37 (2): 29–34, 37]
- Han JY, In JG, Kwon YS, et al (2010). Regulation of ginsenoside and phytosterol biosynthesis by RNA interferences of squalene epoxidase gene in *Panax ginseng*. *Phytochemistry*, 71 (1): 36–46
- Hua X, Song W, Wang K, et al (2022). Effective prediction of biosynthetic pathway genes involved in bioactive polyphyllins in *Paris polyphylla*. *Commun Biol*, 5: 50
- Huang HP, Gao SL, Chen LL, et al (2008). In vitro induction and identification of autotetraploids of *Dioscorea zingiberensis*. *In Vitro Cell Dev Biol Plant*, 44 (5): 448–455
- Ito R, Masukawa Y, Hoshino T (2013). Purification, kinetics, inhibitors and CD for recombinant β -amyrin synthase from *Euphorbia tirucalli* L. and functional analysis of the DCTA motif, which is highly conserved among oxidosqualene cyclases. *FEBS J*, 280 (5): 1267–1280
- Kajikawa M, Kinohira S, Ando A, et al (2015). Accumulation of squalene in a microalga *Chlamydomonas reinhardtii* by genetic modification of squalene synthase and squalene epoxidase genes. *PLOS One*, 10 (3): e0120446
- Kang JM, Zhang QY, Jiang X, et al (2020). Cloning *MsSQE1* from alfalfa and functional analysis in saponin synthesis. *Sci Agri Sin*, 53 (2): 247–260 (in Chinese with English

- abstract) [康俊梅, 张俏燕, 蒋旭等(2020). 紫花苜蓿*Ms-SQE1*的克隆及对皂甙合成的功能分析. 中国农业科学, 53 (2): 247–260]
- Kolesnikova MD, Xiong QB, Lodeiro S, et al (2006). Lanosterol biosynthesis in plants. *Arch Biochem Biophys*, 447 (1): 87–95
- Li HY (2021). Effects of light intensity on growth and diosgenin content in rhizome of *Dioscorea nipponica* (dissertation). Taiyuan: Shanxi Agriculture University (in Chinese with English abstract) [李红月(2021). 光照强度对穿龙薯蓣生长及其根状茎薯蓣皂苷元含量的影响(学位论文). 太原: 山西农业大学]
- Li J (2013). Effects of combined application of nitrogen, phosphorus and potassium on physiological ecology, yield and quality of *Dioscorea chrysanthemi* (dissertation). Xi'an: Shaanxi Normal University (in Chinese with English abstract) [李俊(2013). 氮磷钾配施对菊叶薯蓣生理生态和产量品质的影响研究(学位论文). 西安: 陕西师范大学]
- Li J, Liang Q, Li C, et al (2018). Comparative transcriptome analysis identifies putative genes involved in dioscin biosynthesis in *Dioscorea zingiberensis*. *Molecules*, 23 (2): 454
- Li X, Mu Y, Hua M, et al (2024). Integrated phenotypic, transcriptomics and metabolomics: growth status and metabolite accumulation pattern of medicinal materials at different harvest periods of *Astragalus Membranaceus Mongholicus*. *BMC Plant Biol*, 24: 358
- Li Y, Baldauf S, Lim EK, et al (2001). Phylogenetic analysis of the UDP-glycosyltransferase multigene family of *Arabidopsis thaliana*. *J Biol Chem*, 276 (6): 4338–4343
- Li Y, Tan C, Li Z, et al (2022). The genome of *Dioscorea zingiberensis* sheds light on the biosynthesis, origin and evolution of the medicinally important diosgenin saponins. *Hortic Res*, 9: uhac165
- Liu MD, Li CF, Zhang YS (2019). Molecular cloning of cycloartenol synthase from *Trigonella foenum-graecum* L. and its effect on diosgenin biosynthesis. *Plant Sci J*, 37 (1): 87–92 (in Chinese with English abstract) [刘梦迪, 李长福, 章焰生(2019). 葫芦巴环阿屯醇合酶基因的分离及其对薯蓣皂素合成的影响. 植物科学学报, 37 (1): 87–92]
- Miettinen K, Pollier J, Buyst D, et al (2017). The ancient CYP716 family is a major contributor to the diversification of eudicot triterpenoid biosynthesis. *Nat Commun*, 8 (1): 14153
- Mohammadi M, Mashayekh T, Rashidi-Monfared S, et al (2020). New insights into diosgenin biosynthesis pathway and its regulation in *Trigonella foenum-graecum* L. *Phytochem Anal*, 31 (2): 229–241
- Nakayasu M, Kawasaki T, Lee HJ, et al (2015). Identification of furostanol glycoside 26-O- β -glucosidase involved in steroidal saponin biosynthesis from *Dioscorea esculenta*. *Plant Biotech J*, 32: 299–308
- Onoda K, Kato M, Tsunematsu Y, et al (2023). Biosynthetic gene expression and tissue distribution of diosgenin in *Dioscorea japonica*. *J Agric Food Chem*, 71: 4292–4297
- Qian FF, Zhang CL (2014). Determination of the diosgenin in *Smilax sieboldii* Miq by HPLC. *J Med Res*, 43 (9): 83–85 (in Chinese with English abstract) [钱芳芳, 张长林(2014). HPLC法测定华东菝葜中薯蓣皂苷元的含量. 医学研究杂志, 43 (9): 83–85]
- Qiao CF, Tan AM, Dong H, et al (2000). Quantitative analysis of diosgenin in Chinese *Costus* species by colorimetric and GC. *J China Pharm Univ*, (2): 78–80 (in Chinese with English abstract) [乔春峰, 檀爱民, 董辉等(2000). 国产闭鞘姜属植物中薯蓣皂甙元的含量测定. 中国药科大学学报, (2): 78–80]
- Razdan S, Bhat WW, Rana S, et al (2013). Molecular characterization and promoter analysis of squalene epoxidase gene from *Withania somnifera* (L.) Dunal. *Mol Bio Rep*, 40 (2): 905–916
- Sawai S, Ohyama K, Yasumoto S, et al (2014). Sterol side chain reductase 2 is a key enzyme in the biosynthesis of cholesterol, the common precursor of toxic steroidal glycoalkaloids in potato. *Plant Cell*, 26 (9): 3763–3774
- Semwal P, Painuli S, Abu-Izneid T, et al (2022). Diosgenin: an updated pharmacological review and therapeutic perspectives. *Oxid Med Cell Longev*, 29: e1035441
- Sonawane PD, Pollier J, Panda S, et al (2017). Plant cholesterol biosynthetic pathway overlaps with phytosterol metabolism. *Nat Plants*, 3 (1): 16205
- Song W (2019). Functional analysis of *DzSE*, *DzCAS* and *DzDXR* involved in diosgenin biosynthesis in *Dioscorea zingiberensis* (dissertation). Wuhan: Wuhan University (in Chinese with English abstract) [宋伟(2019). 盾叶薯蓣中薯蓣皂素合成基因*DzSE*、*DzCAS*和*DzDXR*的功能研究(学位论文). 武汉: 武汉大学]
- Song W, Zhang C, Wu J, et al (2022). Characterization of three paris polyphylla glycosyltransferases from different UGT families for steroid functionalization. *ACS Synth Biol*, 11 (4): 1669–1680
- Souza-Moreira TM, Alves TB, Pinheiro KA, et al (2016). Friedelin synthase from *Maytenus ilicifolia*: leucine 482 plays an essential role in the production of the most rearranged pentacyclic triterpene. *Sci Rep*, 6: e36858
- Sun ZY, Zhao P, Ge XZ, et al (2021). Pathway design and key enzyme analysis of diosgenin biosynthesis. *Chin J Biotech*, 37 (4): 1178–1188 (in Chinese with English abstract) [孙忠义, 赵鹏, 葛喜珍等(2021). 生物合成薯蓣

- 皂素的途径设计及关键酶分析. 生物工程学报, 37 (4): 1178–1188]
- Thimmappa R, Geisler K, Louveau T, et al (2014). Triterpene biosynthesis in plants. *Annu Rev Plant Biol*, 65 (1): 225–257
- Tu BM, Chen YQ, Yang ZF (2010). Molecular cloning and analysis of the full length cycloartenol synthase gene from *Dioscorea zingiberensis* Wright. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*, 30 (1): 8–13 (in Chinese with English abstract) [涂碧梦, 陈永勤, 杨之帆(2010). 盾叶薯蓣环阿屯醇合酶全长基因的克隆与分析. 西北植物学报, 30 (1): 8–13]
- Unland K, Pütter KM, Vorwerk K, et al (2018). Functional characterization of squalene synthase and squalene epoxidase in *Taraxacum koksaghyz*. *Plant Direct*, 2 (6): e00063
- Urlacher VB, Girhard M (2012). Cytochrome P450 monooxygenases: an update on perspectives for synthetic application. *Trends Biotechnol*, 30: 26–36
- Wang SS, Dou QL, Liu T, et al (2023). Cloning and sequence analysis of cycloartenol synthase gene *BsCAS* from *Bletilla striata*. *Mol Plant Breed*, 21 (18): 6003–6009 (in Chinese with English abstract) [王双双, 窦全丽, 刘婷等(2023). 白芨环阿屯醇合酶基因*BsCAS*的克隆及序列分析. 分子植物育种, 21 (18): 6003–6009]
- Wang W, Hou L, Li S, et al (2023). The functional characterization of *DzCYP72A12-4* related to diosgenin biosynthesis and drought adaptability in *Dioscorea zingiberensis*. *Int J Mol Sci*, 24: 8430
- Xu WL (2017). Cloning of genes related to diosgenin biosynthesis and preliminary analysis of WRKY transcription factors in *Dioscorea composita* (dissertation). Guangzhou: South China Agricultural University (in Chinese with English abstract) [许娃丽(2017). 菊叶薯蓣皂素合成相关基因的克隆及WRKY转录因子的初步分析(学位论文). 广州: 华南农业大学]
- Yang LY, Liu J, Zhang P, et al (2016). Analysis of the content of saponin and diosgenin elements in the different parts of four species of *Paris polyphylla*. *Lishizhen Med Mater Med Res*, 27 (5): 1035–1038 (in Chinese) [杨亚利, 刘佳, 张鹏等(2016). 4种重楼不同部位薯蓣皂苷及皂苷元含量的分析. 时珍国医国药, 27 (5): 1035–1038]
- Yao L, Wang J, Sun J, et al (2020). A WRKY transcription factor, PgWRKY4X, positively regulates ginsenoside biosynthesis by activating squalene epoxidase transcription in *Panax ginseng*. *Ind Crop Prod*, 154: 112671
- Ye T, Song W, Zhang JJ, et al (2017). Identification and functional characterization of DzS3GT, a cytoplasmic glycosyltransferase catalyzing biosynthesis of diosgenin 3-O-glucoside in *Dioscorea zingiberensis*. *Plant Cell Tiss Org Cul*, 129 (3): 399–410
- Yin X, Liu J, Kou C, et al (2023). Deciphering the network of cholesterol biosynthesis in *Paris polyphylla* laid a base for efficient diosgenin production in plant chassis. *Metab Eng*, 76 (3): 232–246
- Zhao CX, Li HW, Su XH, et al (2022). Quality standard of *Smilax stans*. *Guihaia*, 42 (9): 1612–1622 (in Chinese with English abstract) [赵春晓, 李汉伟, 苏秀红等(2022). 鞘柄菝葜药材质量标准研究. 广西植物, 42 (9): 1612–1622]
- Zhao H, Guo J, Tang Q, et al (2018). Cloning and expression analysis of squalene epoxidase genes from *Siraitia grosvenorii*. *China J Chin Materia Medica*, 43 (16): 3255–3262 (in Chinese with English abstract) [赵欢, 郭娟, 唐其等(2018). 罗汉果角鲨烯环氧化酶基因的克隆及表达分析. 中国中药杂志, 43 (16): 3255–3262]
- Zhou C, Li X, Zhou Z, et al (2019). Comparative transcriptome analysis identifies genes involved in diosgenin biosynthesis in *Trigonella foenum-graecum* L. *Molecules*, 24 (1): 140
- Zhou C, Yang Y, Tian J, et al (2022). 22R- but not 22S-hydroxycholesterol is recruited for diosgenin biosynthesis. *Plant J*, 109 (4): 940–951
- Zhou JM, Yang JZ, Zhou ZQ (1985). Contents of diosgenin in *Dioscorea* from Sichuan. *J Chin Med Mat*, 8 (3): 20–21 (in Chinese) [周继铭, 杨家珍, 周泽清(1985). 四川地区薯蓣属植物中薯蓣皂甙元的含量. 中药材, 8 (3): 20–21]