

# 鱼腥草糖基转移酶基因 *UGT75C1* 的克隆及原核表达

黎晓英, 伍贤进, 姚元枝, 付 明, 宁鹏飞, 李昭君, 魏 麟\*

(民族药用植物资源研究与利用湖南省重点实验室, 湘西药用植物与民族植物学湖南省高校重点实验室, 怀化学院生物与食品工程学院, 湖南怀化 418008)

**摘 要:** 根据已经获得的鱼腥草 *UGT75C1* 转录本序列设计 1 对引物, 采用 RT-PCR 方法获得 *UGT75C1* 基因 cDNA 序列, 并对 *UGT75C1* 蛋白进行理化性质分析, 并预测该蛋白功能; 利用实时荧光定量 PCR 方法检测了 *UGT75C1* 基因在鱼腥草的地下茎、地上茎、叶、花中的表达情况, 将克隆得到的 *UGT75C1* 基因完整开放阅读框连接到原核表达载体 pGEX4T-1 上, 转化大肠杆菌 *E. coli* BL21 (DE3), 通过 IPTG 诱导表达, SDS-PAGE 检测表达产物。克隆获得的 *UGT75C1* 基因长为 1 787 bp, 开放阅读框 1 461 bp, 编码 486 个氨基酸。生物信息学预测 *UGT75C1* 蛋白含跨膜区, 不含信号肽, 具有糖基转移酶的 PSPG motif。 *UGT75C1* 在鱼腥草的叶片中表达丰度最高, 其他器官中表达量相对较低, 花中表达量最低; 该基因原核表达产物与预期大小一致, 显示原核表达成功, 为下一步研究其功能奠定了基础。

**关键词:** 鱼腥草; *UGT75C1*; 克隆; 原核表达

**中图分类号:** S 567.2

**文献标志码:** A

**文章编号:** 0513-353X (2015) 11-2299-07

## Cloning and Prokaryotic Expression of Anthocyanidin 3-*O*-glucoside 5-*O*-glucosyltransferase Gene in *Houttuynia cordata*

LI Xiao-ying, WU Xian-jin, YAO Yuan-zhi, FU Ming, NING Peng-fei, LI Zhao-jun, and WEI Lin\*

(Key Laboratory of Research and Utilization of Ethnomedicinal Plant Resources of Hunan Province, Key Laboratory of Xiangxi Medicinal Plant and Ethnobotany of Hunan Higher Education, Department of Life Sciences, Huaihua University, Huaihua, Hunan 418008, China)

**Abstract:** To clone the anthocyanidin 3-*O*-glucoside 5-*O*-glucosyltransferase (*UGT75C1*) gene from *Houttuynia cordata* and analyse the prokaryotic expression. The cloning primers were designed based on the transcriptome dataset of *H. cordata*, one unique sequence encoding *UGT75C1* was discovered. The sequence of *UGT75C1* was cloned from *H. cordata* by RT-PCR. The physical and chemical properties, secondary structure and three-dimensional structure of the *UGT75C1* protein were forecasted and analyzed, and its structure and function were predicted. And the different expression levels of *UGT75C1* gene in rhizome, stems, leaves, and flowers of *Houttuynia cordata* were analyzed by fluorescent quantitative PCR. And then the cloned opening reading frame of *UGT75C1* gene was inserted into vector

收稿日期: 2015-06-09; 修回日期: 2015-10-31

**基金项目:** 国家自然科学基金项目 (30870230); 湖南省科技计划重点项目 (2013FJ6090, 2014FJ4207); 湖南省教育厅创新平台开放基金项目 (15K100); 湖南省生物类专业大学生创新训练中心资助项目

\* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: hhweilin@163.com)

pGEX4T-1. The recombinant plasmid pGEX4T- UGT75C1 was expressed in a prokaryotic expression system after they were transformed into *E. coli* BL21 (DE3). The fusion proteins were analyzed by SDS-PAGE. The cDNA contains a 1 461bp open reading frame and encodes a predicted protein of 486 amino acids. Transmembrane regions and no signal peptide were presented in UGT75C1. The PSPG motif domain of glycosyltransferases was presented in UGT75C1. Relative real-time PCR analysis indicated that *UGT75C1* showed the highest transcript abundance in the leaves, moderate level in the stems and rhizomes, and the lowest level in the flowers. The *UGT75C1* gene was expressed in a prokaryotic expression system. This study cloned the *UGT75C1* gene from *H. cordata* for the first time. It will provide a foundation for studying the function of the UGT75C1, and it provide a scientific basis for functional genomics research of *H. cordata* and mechanism research of flavonoids biosynthesis.

**Key words:** *Houttuynia cordata*; anthocyanidin 3-*O*-glucoside 5-*O*-glucosyltransferase; clone; prokaryotic expression

植物糖基转移酶(glycosyltransferases, GTs)催化体内小分子化合物的糖基化(Claire et al., 2005), 该过程既是植物细胞维持代谢平衡的主要机制之一(Weis et al., 2008), 也是植物自身防御反应的一个重要部分(Thomas & Patrik, 2000)。糖基转移酶改变植物小分子化合物(次级代谢物、激素、植物内外源毒性物质以及病原菌浸染物)的理化性质, 还能降低或除去内源外源物质的毒性(Lim & Bowle, 2004), 参与植物激素平衡(Fujioka & Yokota, 2003)、防御反应(Martin et al., 1999)、脱毒反应(Kristensen et al., 2005)、次生代谢(Tohge et al., 2005)、信号转导(O'Donnell et al., 1998)等等。Jackson 等(2002)在拟南芥中过表达糖基转移酶基因 *UGT84B1*, 发现植株表现出生长素缺陷; Poppenberger 等(2005)在拟南芥中过表达糖基转移酶基因 *M773C5*, 发现植物表现出固醇类激素油菜素内酯(brassinosteroid)的缺陷; Martin 等(2001)将糖基转移酶 *TOGT* 基因在烟草中过表达, 发现烟草对马铃薯 Y 病毒的抗性增加; Yamazaki 等(2002)成功获得矮牵牛黄酮类物质合成相关的糖基转移酶基因; Achnine 等(2005)和 Naoumkina 等(2010)成功克隆了疾藜苜蓿糖基转移酶基因并验证了其功能; 马凌波等(2002)成功克隆了一个甜菊糖基转移酶基因并验证了其功能; 邢爱佳等(2013)克隆了罗汉果葡萄糖基转移酶基因 *SgUDPGI* 和 *SgUDPG2*; 张传丽等(2012)成功克隆银杏类黄酮基因, 沈丹红等(2014)对糖基转移酶酶活性进行分析, 发现叶用银杏雄株 9 月份采叶可获得较高的黄酮糖苷含量。*UGT75C1* (anthocyanidin 3-*O*-glucoside 5-*O*-glucosyltransferase) 基因是参与类黄酮代谢的糖基转移酶基因(Tohge et al., 2005), 在类黄酮合成代谢途径中发挥重要作用。而类黄酮类化合物是药用植物鱼腥草的主要药用活性成分之一, 具有保护心血管、防动脉硬化、扩张毛细血管、疏通微循环、抗氧化、抗衰老、活化大脑及其它脏器细胞的功能(伍贤进, 2011)。类黄酮在生物体内存在两种状态, 即自由态和结合态, 糖苷是其最主要的存在形式(Bhattacharya & Sen-Mandi, 2011), 类黄酮糖苷主要是由类黄酮糖基转移酶(UDP-glycose: Flavonoidglycosyltransferase, UFGT)催化生成的(Masada et al., 2009)。研究鱼腥草糖基转移酶基因 *UGT75C1* 对于进一步研究类黄酮类化合物生物合成及生物活性具有重要意义。

本研究中拟应用 RT-PCR 方法克隆鱼腥草 *UGT75C1* 基因 cDNA 片段, 对其推导的氨基酸序列进行理化性质分析和结构预测, 检测该基因在不同组织器官中的差异表达, 构建原核表达载体, 进行原核表达, 以期构建该基因的过表达载体和遗传转化体系, 进一步有效利用该基因及合理开发鱼腥草的药用价值奠定理论基础。

# 1 材料与方法

## 1.1 材料与试剂

鱼腥草 (*Houttuynia cordata* Thunb.) 样品经中央民族大学龙春林教授鉴定, 种植于怀化学院鱼腥草种植园, 并于 2013 年 6 月采集同一株鱼腥草的地下茎、地上茎、叶片、花等器官, 洗净后经乙醇擦拭及焦碳酸二乙酯 (DEPC) 水处理, 放入液氮中保存, 带回实验室, 于  $-80^{\circ}\text{C}$  冰箱保存备用。

RNA 提取试剂盒、cDNA 合成试剂盒、高保真 *Taq* DNA 聚合酶、克隆载体 pMD 18-T Vector、荧光定量试剂盒 SYBR Prime Script<sup>TM</sup> RT-PCR Kit, 均购自 TaKaRa 公司。原核表达载体 pGEX4T-1 购自上海北诺生物科技有限公司、*E. coli* BL21 (DE3) 为本实验室保存, DNA 回收纯化试剂盒、质粒提取试剂盒、蛋白质分子量标记、T4 DNA 连接酶、菌种 JM109、DNA 相对分子质量标记等其他试剂购自生工生物工程 (上海) 股份公司。

## 1.2 基因克隆与检测

鱼腥草各器官 RNA 提取均按照 RNA 提取试剂盒说明书进行, 提取后进行电泳检测和纯度及浓度测定; 并于  $-80^{\circ}\text{C}$  保存备用。根据试剂盒说明书进行, 反转录合成 cDNA 链, 分离纯化后置于  $-20^{\circ}\text{C}$  保存备用。通过分析鱼腥草转录组数据, 发现一个被注释为 *UGT75C1* (anthocyanidin 3-*O*-glucoside 5-*O*-glucosyltransferase) 的转录本 (CL3072)。利用在线软件预测其含有一个完整的开放阅读框, 在开放阅读框序列两端设计引物。UGT75C1-F: 5'-GGATCTGCCCCGATCTGCTGG-3'; UGT75C1-R: 5'-CTTCTCCGTGGACGTGACGTAC-3'[由生工生物工程 (上海) 股份公司合成]。

PCR 扩增反应体系和反应条件参照付明等 (2013) 的方法, 其中退火温度为  $58^{\circ}\text{C}$ 。利用 DNA 回收纯化试剂盒对 PCR 产物进行回收 (严格按照试剂盒说明书进行操作), 将纯化产物连接载体 pMD 18-T Vector, 转化感受态细胞 JM109, 经蓝白筛选后, 过夜培养, 提取质粒并经 PCR 鉴定后, 送生工生物工程 (上海) 股份公司测序。采用 DNASTar 软件包对测序结果进行分析与处理, 在 NCBI 网站上 Blast 比对确定为 *UGT75C1* 基因后, 应用 BioEdit 软件进行分析。采用 ExPASy Proteomics Server 提供的在线工具对鱼腥草 *UGT75C1* 基因编码蛋白的理化性质、结构及功能进行预测。

利用实时荧光定量 PCR 的方法检测 *UGT75C1* 基因在鱼腥草地下茎、地上茎、叶、花等 4 个器官中的相对表达量。上游引物 qUGT75C1-F 序列为: 5'-GAGCGACGAATACGACACCT-3', 下游引物 qUGT75C1-R 序列为: 5'-CCTTATGACCCACATGAACG-3'。用 ABI7500 实时 PCR 检测系统, 反应体系如下:  $10\ \mu\text{L}$   $2\times$  SYBR<sup>®</sup> PremixEx *Taq*<sup>TM</sup>, 正反向引物均为  $0.4\ \mu\text{L}$ , cDNA 模板  $2\ \mu\text{L}$ ; 加 ddH<sub>2</sub>O 至  $25\ \mu\text{L}$ 。反应程序:  $95^{\circ}\text{C}$  3 min;  $95^{\circ}\text{C}$  10 s,  $60^{\circ}\text{C}$  20 s,  $72^{\circ}\text{C}$  30 s, 35 个循环, 实时 PCR 反应以鱼腥草 18S rDNA 为内参, 18S rDNA 序列设计引物 18S-F: 5'-CCTCCGCGCTTGTACTTTG-3' 和 18S-R: 5'-CCCGACTGTCCCTGTAATCA-3'。每个反应重复 3 次。

## 1.3 原核表达载体的构建和表达

根据克隆测序结果, 运用 Oligo 6.0 软件设计特异引物: F: 5'-AATGGATCCATGTCATCTCCTCCTCCTCAG-3' (含 *Bam*H I 酶切位点), R: 5'-CTAGTCGACCTCATCCTTTGCATTCATGCAC-3' (含 *Sal* I 酶切位点); PCR 扩增产物经 *Bam*H I 和 *Sal* I 双酶切后, 与经同样酶切后的质粒载体 pGEX4T-1 重组, 重组子转化 *E. coli* BL21 (DE3), 构建重组表达载体 pGEX4T-UGT75C1, 经 IPTG 诱导 4 h 后, 用 SDS-PAGE (15%) 检测目的蛋白的表达情况, 以空载体为参照。

利用 ExPASy 的在线软件对鱼腥草 *UGT75C1* 蛋白的理化性质进行预测分析, 推测其分子式为  $C_{2373}H_{3740}N_{638}O_{714}S_{17}$ , 相对分子量为 53176.6, 等电点 *pI* 为 5.22, 为典型的不稳定蛋白, 不稳定系数为 54.81。脂肪系数为 93.09, GRAVY (平均疏水系数) 为 -0.07。预测 UGT75C1 蛋白的二级结构中  $\alpha$ -螺旋占 38.48%、 $\beta$ -折叠占 7.82%、无规则卷曲占 37.65%、自由延伸 16.05%。应用 Prosite 软件预测该蛋白含有一段 44 个氨基酸功能区 PSPG motif: WCSQVQVLGHPSVGCFTVTHCGWNSTSEGLASGVPMVGMPOWTDQ (344 ~ 378 位), 确定为糖基转移酶家族成员。由 SWISS-MODEL

预测 *UGT75C1* 的三级结构如图 3。应用在线软件分析结果表明鱼腥草 *UGT75C1* 不含信号肽，属于跨膜蛋白（图 4）。对该蛋白的亚细胞定位预测表明，其在细胞质的定位系数为 0.65，线粒体基质的定位系数为 0.1，叶绿体类囊体膜的定位系数为 0.1，微体的定位系数为 0.05。

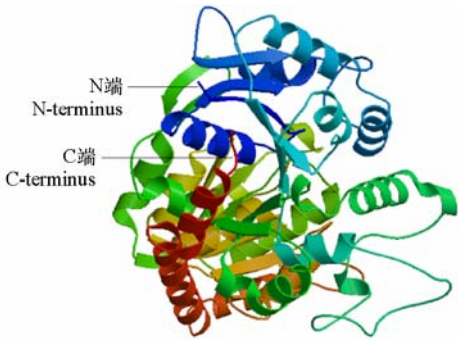


图 3 *UGT75C1* 蛋白三级结构预测图

Fig. 3 Three-dimensional model prediction of *UGT75C1* protein

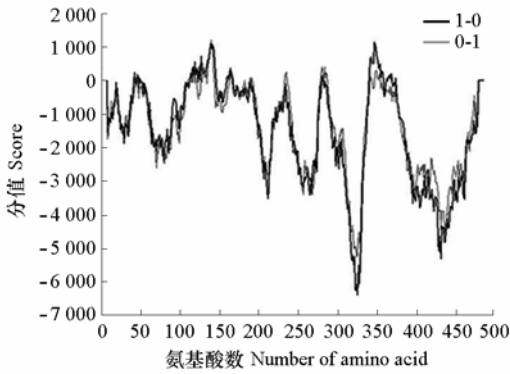


图 4 *UGT75C1* 蛋白跨膜预测图

Fig. 4 Transmembrane prediction of *UGT75C1* protein

### 2.3 鱼腥草 *UGT75C1* 的表达分析

经实时荧光定量 PCR 检测 *UGT75C1* 基因在鱼腥草地下茎、地上茎、叶、花中的表达量，结果表明在叶中的表达量最高，其它器官表达量相对较低，花中的表达量最低（图 5）。

### 2.4 鱼腥草 *UGT75C1* 编码产物的原核表达

将含重组质粒 pGEX4T-*UGT75C1* 或空质粒 pGEX4T-1 的大肠杆菌 *E. coli* BL21 (DE3) 分别进行诱导与未诱导，对其裂解产物 SDS-PAGE 电泳分析（图 6），其中泳道 2 为含有 pGEX4T-1 的菌体诱导 4 h，泳道 4 为含有 pGEX4T-*UGT75C1* 的菌体诱导 4 h，分别发现在大约 26 kD 和 79 kD 处有明显的蛋白带；泳道 1 为含有 pGEX4T-1 的菌体未诱导，泳道 3 为含有 pGEX4T-*UGT75C1* 的菌体未诱导，特异条带不明显。已知 GST 表达标签为 26 kD，*UGT75C1* 的预测分子量为 53.176 kD，诱导后含有 pGEX4T-*UGT75C1*/BL21 的菌体裂解产物电泳后明显出现 1 条大小约为 79 kD 的蛋白带。表明糖基转移酶 *UGT75C1* 基因在大肠杆菌中已成功表达。

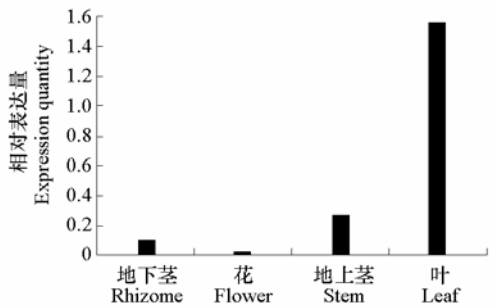


图 5 鱼腥草不同组织中 *UGT75C1* 基因的相对表达量

Fig. 5 Relative expression quantity of *UGT75C1* in different organs

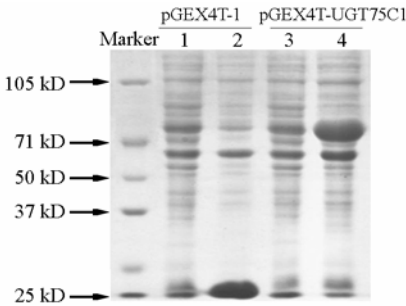


图 6 pGEX4T-*UGT75C1* 在大肠杆菌中表达蛋白 SDS-PAGE 分析

1、3：未诱导；2、4：诱导 4 h。

Fig. 6 SDS-PAGE analysis of products expressed pGEX4T-*UGT75C1* vector in *E. coli*

1, 3: Uninduced; 2, 4: Induced by IPTG for 4 h.

### 3 讨论

植物体中糖基转移酶能从有活性的供体转移一个糖基到受体分子,能积极参与植物生长发育多个过程(王军和侯丙凯,2008)。糖基转移酶基因大都以基因家族的形式存在,不同的糖基转移酶虽然同源性不明显,却具有相似的结构域——PSPG motif,能与底物(尿苷二磷酸葡萄糖或尿苷二磷酸半乳糖)结合,以便发挥其催化功能。作为多基因家族蛋白的糖基转移酶虽然在植物体中广泛存在,但是糖基转移酶基因在植物中被成功克隆的不多。鉴于糖基转移酶具有多种功能和生物学活性,对其进行广泛而深入的研究,十分必要。

本研究中利用 RT-PCR 技术首次克隆了鱼腥草糖基转移酶基因 *UGT75C1* 的全长 cDNA 序列。其完整的开放阅读框(ORF)为 1 461 bp,编码 486 个氨基酸。对推导的氨基酸序列进行生物信息学分析,发现其没有信号肽序列,有多次跨膜区域;具有糖基转移酶家族特征,含有一段 44 个氨基酸的 PSPG motif,亚细胞定位显示其分布于细胞质和细胞器中,这可能与其广泛参与植物生命活动,便于发挥其多种功能和生物学活性有关。

糖基化是植物次生代谢产物的修饰方式之一,这种修饰方式往往在最后一步进行(Haralampidis et al., 2002)。对于次生代谢产物的最终形成,糖基转移酶的作用特别重要。随着对糖基转移酶研究的不断深入,克隆其基因,验证其产物的生物学活性,是有效认识和全面掌握糖基转移酶基因在植株中作用的前提条件,本研究首次成功克隆了鱼腥草 *UGT75C1* 基因 cDNA 序列,构建了原核表达载体,并实现了成功表达,结果将为构建其过表达载体和遗传转化体系,通过转基因植株进一步验证 *UGT75C1* 功能直接提供理论依据,有助于更好地利用其生物功能,进行药用植物的遗传改良和品种培育。

### References

- Achnine L, Huhman D V, Farag M A, Sumner L W, Blount J W, Dixon R A. 2005. Genomics-based selection and functional characterization of triterpene glycosyltransferases from the model legume *Medicago truncatula*. *Plant Journal*, 41 (6): 875 - 887.
- Bhattacharya S, Sen-Mandi S. 2011. Variation in antioxidant and aroma compounds at different altitude: A study on tea (*Camellia sinensis* L. Kuntze) clones of Darjeeling and Assam, India. *Afr J of Biochem Res*, 5 (5): 148 - 159.
- Claire M M, Mathilde L M, Patrick S. 2005. Plant secondary metabolism glycosyltransferases: The emerging functional analysis. *Trends in Plant Science*, 10 (11): 542.
- Fu Ming, Wei Lin, Yu Juan, Yu xiao-lin. 2013. cDNA cloning and protein sequence analysis of chalcone synthase gene in leaves of *Ampelopsis grossedentata*. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 44 (1): 85 - 89. (in Chinese)
- 付明,魏麟,余娟,余小林. 2013. 显齿蛇葡萄查耳酮合成酶基因 cDNA 克隆及蛋白质序列分析. *中草药*, 44 (1): 85 - 89.
- Fujioka S, Yokota. 2003. Biosynthesis and metabolism of brassinosteroids. *Annu Rev Plant Biol*, 54: 137 - 164.
- Haralampidis K, Trojanowska M, Osbourn A E. 2002. Biosynthesis of triterpenoid saponins in plants. *Adv Biochem Eng Biotechnol*, 75: 31 - 49.
- Jackson R G, Kowalczyk M, Li Y, Higgins G, Ross J, Sandberg G, Bowles D J. 2002. Over-expression of an *Arabidopsis* gene encoding a glucosyltransferase of indole-3-acetic acid: Phenotypic characterisation of transgenic lines. *Plant Journal*, 32 (4): 573 - 583.
- Kristensen C, Morant M, Olsen C E, Ekström C T, Galbraith D W, Møller B L, Bak S. 2005. Metabolic engineering of dhurrin in transgenic *Arabidopsis* plants with marginal inadvertent effects on the metabolome and transcriptome. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102: 1779 - 1784.
- Lim E K, Bowles D J. 2004. A class of plant glycosyltransferases involved in cellular homeostasis. *The EMBO Journal*, 23: 2915 - 2922.
- Ma Ling-bo, Zhang Da-bing, Shen Ming-shan, Chen Liang, Chen Mu-chuan. 2002. Cloning and sequencing of the cDNA of UDPG-glucosyltransferase from *Stevia rebaudiana*. *Journal of Xiamen University: Natural Science*, 41 (5): 531 - 535. (in Chinese)

- 马凌波, 张大兵, 沈明山, 陈 亮, 陈睦传. 2002. 甜菊糖基转移酶基因的克隆及序列分析甜菊 UDPG 糖基转移酶基因的克隆和功能分析. 厦门大学学报: 自然科学版, 41 (5): 531 – 535.
- Martin R C, Mock M C, Mock D W S. 1999. A gene encoding the cytokinin enzyme zeatin O-xylosyltransferase of *Phaseolus vulgaris*. *Plant Physiol*, 1120: 553 – 557.
- Martin R C, Mock D W, Sniels R. 2001. Development of transgenic tobacco harboring a zeatin O-glucosyltransferase gene from *Phaseolus*. *In Vitro Cell Dev Biol Plant*, 37 (3): 354 – 360.
- Masada S, Terasaka K, Oguchi Y, Okazaki S, Mizushima T, Mizukami H. 2009. Functional and structural characterization of a flavonoid glucoside 1,6-glucosyltransferase from *Catharanthus roseus*. *Plant Cell Physiol*, 50 (8): 1401 – 1415.
- Naourakina M A, Modolo L V, Huhman D V, Urbanczyk-Wochniak E, Tang Y, Sumner L W, Dixon R A. 2010. Genomic and coexpression analyses predict multiple genes involved in triterpene saponin biosynthesis in *Medicago truncatula*. *Plant Cell*, 22 (3): 850 – 866.
- O'Donnell P J, Truesdale M R, Calvert C M, Dorans A, Roberts M R, Bowles D J. 1998. A novel tomato gene that rapidly responds to wound- and pathogen-related signals. *The Plant Journal*, 14: 137 – 142.
- Poppenberger B, Fujioka S, Soeno K, George G L, Vaistij F E, Hiranuma S, Seto H, Takatsuto S, Adam G, Yoshida S, Bowles D. 2005. The UGT73C5 of *Arabidopsis thaliana* glucosylates brassinosteroids. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102: 15253 – 15258.
- Shen Dan-hong, Chen Peng, Jiang Fei, Ma Jiang-li, Wang Jin-yan, Dai Yan. 2014. Study on flavonoid glycosyltransferases activity in leaves of *Ginkgo* male plants. *Journal of Fruit Science*, 31 (1): 782 – 784. (in Chinese)
- 沈丹红, 陈 鹏, 蒋 菲, 马江黎, 王金艳, 戴 燕. 2014. 银杏雄株叶片类黄酮糖基转移酶活性分析. *果树学报*, 31 (1): 782 – 784.
- Thomas V, Patrik J. 2000. Glycosyltransferases in plant natural product synthesis: Characterization of a supergene family. *Trends in Plant Science*, 5 (9): 380.
- Tohge T, Nishiyama Y, Hirai M Y, Yano M, Nakajima J, Awazu-hara M, Inoue E, Takahashi H, Goodenowe D B, Kitayama M, Noji M, Yamazaki M, Saito K. 2005. Functional genomics by integrated analysis of metabolome and transcriptome of *Arabidopsis* plants over-expressing an MYB transcription factor. *Plant Journal*, 42: 218 – 235.
- Wang Jun, Hou Bing-kai. 2008. Glycosylation and glycosyltransferase of small molecular compounds of plant. *Plant Physiology Communications*, 44 (5): 997 – 1003. (in Chinese)
- 王 军, 侯丙凯. 2008. 植物小分子化合物的糖基化与糖基转移酶. *植物生理学通讯*, 44 (5): 997 – 1003.
- Weis M, Lim E K, Bruce N C, Bowles D J. 2008. Engineering and kinetic characterisation of two glucosyltransferases from *Arabidopsis thaliana*. *Biochimie*, 90: 830 – 834.
- Wu Xian-jin. 2011. Research progress in germplasm and cultivation technique of *Houttuynia cordata* Thunb. Beijing: Science Press: 4 – 5. (in Chinese)
- 伍贤进. 2011. 鱼腥草种质资源与规范化栽培技术研究. 北京: 科学出版社: 4 – 5.
- Xing Ai-jia, Ma Xiao-jun, Mo Chang-ming, Pan Li-mei, Wei Peng-xiao, Tang Chun-feng, Tang Qi. 2013. Cloning and prokaryotic expression of UDP-glycosyltransferase in *Siraitia grosvenorii*. *Acta Horticulturae Sinica*, 40 (6): 1195 – 1204. (in Chinese)
- 邢爱佳, 马小军, 莫长明, 潘丽梅, 韦鹏霄, 唐春风, 唐 其. 2013. 罗汉果葡萄糖基转移酶基因的克隆及原核表达. *园艺学报*, 40 (6): 1195 – 1204.
- Yamazaki M, Yamagishi E, Gong Z, Fukuchi-Mizutani M, Fukui Y, Tanaka Y, Kusumi T, Yamaguchi M, Saito K. 2002. Two flavonoid glucosyltransferases from *Petunia hybrida*: Molecular cloning, biochemical properties and developmentally regulated expression. *Plant Mol Biol*, 48 (4): 401 – 411.
- Zhang Chuan-li, Chen Peng, Zhong Yue-ming, Zhou Chang-yuan, Liang Guo-hua, Sheng Dan-hong, Wu Qiu-yue. 2012. Full length cDNA cloning and expression analysis of *UGT* gene from *Ginkgo biloba*. *Acta Horticulturae Sinica*, 39 (10): 1903 – 1912. (in Chinese)
- 张传丽, 陈 鹏, 仲月明, 周长远, 梁国华, 沈丹红, 吴秋月. 2012. 银杏类黄酮糖基转移酶基因全长序列克隆及表达分析. *园艺学报*, 39 (10): 1903 – 1912.