



DOI:10.14188/j.ajsh.20251223002

过表达山豆根 *StLDC* 基因对烟草生物碱含量的影响

梁莹,秦双双,何弘,韦桂丽,梁细妹,韦范*

(广西壮族自治区药用植物园 国家中医药传承创新中心 广西药用资源保护与遗传改良重点实验室/广西壮族自治区中药资源智慧创制工程研究中心, 广西南宁 530023)

摘要: 赖氨酸脱羧酶(lysine decarboxylase, LDC)基因是喹诺里西啶类生物碱生物合成途径的首个关键酶基因。为探究山豆根 *StLDC* 基因的生物学功能,在获得其全长序列的基础上,构建了 *StLDC* 的过表达载体 pBWA(V)HS-*StLDC*,并通过农杆菌介导法转化 K326 烟草。对获得的转基因阳性植株进行分子与代谢分析显示,qRT-PCR 证实 *StLDC* 在烟草中成功过表达;高效液相色谱-电喷雾串联质谱(HPLC-ESI-MS/MS)检测表明,转基因植株中苦参碱与氧化苦参碱含量极显著升高,其中苦参碱含量最高为野生型的 29.11 倍,氧化苦参碱含量最高为野生型的 69.43 倍。综上所述,*StLDC* 基因能够显著提高烟草中苦参碱和氧化苦参碱含量,为培育生产高生物碱含量的山豆根提供了重要的基因资源。

关键词: 山豆根;赖氨酸脱羧酶基因;生物碱;功能验证

中图分类号: R282

文献标志码: A

文章编号: 2096-3491(2026)01-0021-08

Effect of overexpression of *StLDC* gene from *Sophora tonkinensis* on alkaloid content in tobacco

LIANG Ying, QIN Shuangshuang, HE Hong, WEI Guili, LIANG Ximei, WEI Fan*

(Guangxi Key Laboratory of Medicinal Resources Protection and Genetic Improvement/ Guangxi Engineering Research Center of TCM Resource Intelligent Creation, National Center for TCM Inheritance and Innovation, Guangxi Botanical Garden of Medicinal Plants, Nanning 530023, Guangxi, China)

Abstract: Lysine decarboxylase (LDC) is the first key enzyme gene in the biosynthetic pathway of quinolizidine alkaloids. Based on the obtained full-length sequence of *StLDC* gene from *Sophora tonkinensis*, an overexpression vector, pBWA(V)HS-*StLDC*, was constructed. This vector was subsequently introduced into K326 tobacco via *Agrobacterium*-mediated transformation to elucidate the biological function of *StLDC*. Molecular and metabolic analyses of the obtained transgenic plants revealed that qRT-PCR confirmed the successful overexpression of *StLDC* in tobacco. High performance liquid chromatography-electrospray ionization-mass/mass spectrometry (HPLC-ESI-MS/MS) detection indicated that the contents of matrine and oxymatrine in transgenic plants were significantly higher than those in wild-type (WT) plants, with the highest matrine content reaching 29.11 times and the highest oxymatrine content reaching 69.43 times that of the WT. These results indicate that the *StLDC* gene can significantly increase the contents of matrine and oxymatrine in tobacco, providing important genetic resources for the cultivation of plants with high alkaloid content, especially *S. tonkinensis*.

Key words: *Sophora tonkinensis* Gagnep.; lysine decarboxylase gene; alkaloids; functional verification

收稿日期: 2025-12-23 修回日期: 2026-01-15 接受日期: 2026-02-11

作者简介: 梁莹(1985-),女,副研究员,研究方向为药用植物保育学原理与技术研究,E-mail:198yingzi@163.com

* 通信作者: 韦范(1984-),女,副研究员,研究方向为药用植物保育学原理与技术研究,E-mail:fanwei_gx@163.com

基金项目: 国家自然科学基金项目(82560744);广西自然科学基金项目(2023GXNSFAA026487)

引用格式:梁莹,秦双双,何弘,等. 过表达山豆根 *StLDC* 基因对烟草生物碱含量的影响[J]. 生物资源, 2026, 48(1): 21-28.

Liang Y, Qin S S, He H, et al. Effect of overexpression of *StLDC* gene from *Sophora tonkinensis* on alkaloid content in tobacco [J]. Biotic Resources, 2026, 48(1): 21-28.

0 引言

山豆根是广西著名的道地药材和常用中药,又称广豆根,为豆科(*Fabaceae*)植物越南槐(*Sophora tonkinensis* Gagnep.)的干燥根和根茎,味苦,寒,具有清热解毒和消肿利咽的功效^[1]。其药效物质基础主要为喹诺里西啶类生物碱(苦参碱、氧化苦参碱等)及异戊烯基黄酮类成分^[2]。现代药理研究表明,山豆根具有抗肿瘤、抗炎、抗菌、抗病毒、抗氧化等生物活性^[3],且其活性成分苦参碱对多发性硬化症、阿尔茨海默症等神经系统疾病具有潜在的治疗作用^[4]。随着市场需求持续增长,野生山豆根资源因过度采挖而日趋枯竭,人工栽培又面临有效成分含量不稳定、质量可控性差等问题,导致优质药材供应日趋紧张。基于此,采用合成生物学策略,在模式植物或微生物底盘中对苦参碱等关键药效成分进行异源重构与高效合成,有望缓解资源压力并保障药材的可持续供应。

喹诺里西啶类生物碱是一类源自 *L*-赖氨酸的次生代谢产物,其生物合成途径已初步阐明。该途径起始于赖氨酸脱羧酶(lysine decarboxylase, LDC)催化的第一步关键反应:LDC将 *L*-赖氨酸脱羧,生成中间体尸胺;随后,尸胺在铜胺氧化酶(copper amine oxidase, CAO)的作用下,氧化为 5-氨基戊醛,并经过一系列自发或酶促的环化、修饰步骤,最终形成苦参碱、氧化苦参碱等产物^[5-6]。LDC 被公认为该合成途径的起始限速酶。多项研究表明, *LDC* 基因在不同物种的生物碱合成中具有重要功能,如花桐木 *OhpLDC*^[7]、蛇足石杉 *HsLDC-LI*^[8]、桑树 *MaLDC*^[9]、黑胡椒 *PnLDC*^[10]等基因均被证实参与生物碱的生物合成。此外,过表达 *CgLDC* 能够正向调控石杉碱甲生物合成基因的表达^[11];苦豆子 *SaLDC* 基因的表达量与氧化苦参碱的积累量呈正相关^[12],这些都强有力地提示了 *LDC* 基因在调控生物碱合成中的核心作用。

课题组前期构建了干旱胁迫下山豆根转录组数据库,并从中筛选出 7 个编码 LDC 酶的 Unigenes,其中 Unigene(c87510. graph_c0)的表达在干旱胁迫下显著上调,且其表达模式与同期检测到的苦参碱和氧化苦参碱含量呈正相关^[13]。为进一步解析该基因在山豆根生物碱合成中的功能,课题组以 c87510. graph_c0 序列为基础,通过 RT-PCR 克隆获得其全长编码序列,命名为 *StLDC*,并对其编码蛋白进行了系统的生物信息学分析^[14]。本研究在此基础上,成功构建了 *StLDC* 的过表达载体 pBWA(V)HS-*StLDC*,将其遗传转化至模式植物烟草 K326 中,进

一步研究 *StLDC* 基因在喹诺里西啶类生物碱生物合成中的功能及其对苦参碱和氧化苦参碱含量的影响。通过分析过表达 *StLDC* 基因的烟草植株中苦参碱和氧化苦参碱的含量变化,验证 *StLDC* 基因在促进生物碱合成与积累中的功能,为通过基因工程手段改良药用植物提供新的基因资源。

通过解决上述关键问题,本研究旨在为山豆根中喹诺里西啶类生物碱的生物合成机制提供新的见解,并为相关药用植物的遗传改良和活性成分的高效生产奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料山豆根和烟草 K326(*Nicotiana tabacum* L. cv. K326)由广西药用植物园广西药用资源保护与遗传改良重点实验室提供。

1.2 主要仪器与试剂

① 主要仪器:基因扩增仪(A48141, Eppendorf)、通用电泳仪电源(JY300C, Thermo Fisher)、离心机(Thermo Sorvall ST16R, Thermo Fisher)、微量紫外可见分光光度计(Q6000, Nano drop)、超净工作台(BCM-1300-A, 苏州安泰)、高效液相色谱仪(LC-30AD, 日本岛津)、Qtrap6500 质谱仪(SCIEX-Qtrap6500, 美国 AB)等。

② 主要试剂:大肠杆菌 DH5 α 菌株、根癌农杆菌 GV3101 感受态细胞、2 $\times$ BioRun Magic PCR Mix、2 $\times$ Biorun Pfu PCR Mix、BioRun Seamless Cloning Kit、MS 培养基、Magic Ruler DNA marker、2 $\times$ Taq PCR Mix 等均购买于武汉伯远生物科技有限公司;标准品苦参碱(货号 BWC9032-2016, 纯度 $\geq 98\%$)、氧化苦参碱(货号 110780, 纯度 $\geq 98\%$)购自北方伟业计量集团有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 pBWA(V)HS-*StLDC* 表达载体的构建

用带有 *BsaI* 和 *Eco31I* 酶切位点的 *StLDC* 基因引物(正向引物: CAGTGGTCTCACAACATGCCTACACTAGTAACTGA;反向引物: CAGTGGTCTCATACATGGTTTtaggtgttg - CAAAAC)扩增山豆根总 cDNA, PCR 产物经电泳检测与目标基因片段大小符合后进行胶回收,并与 *BsaI* 和 *Eco31I* 双酶切后的过表达载体 pBWA(V)HS 连接,然后转化至大肠杆菌 DH5 α 感受态细胞。使用引物(正向引物: GACTTTGCAACATGCCTACACT,反向引物: GAGTCAAACGTTGTAACGTTGA)对单菌落进行 PCR 验证,将阳性克

隆进行测序,将测序正确的载体质粒转入农杆菌GV3101中。

1.3.2 转基因烟草的获取

采用农杆菌介导叶盘法将 pBWA(V) HS-*StLDC* 过表达载体转化至烟草叶片。挑取农杆菌于侵染液中,制备 OD₆₀₀=0.2 的农杆菌重悬液,将预培养 2~3 d 的烟草叶片接种于农杆菌悬浮液中侵染 10~15 min,将侵染后的烟草叶片在滤纸上晾干,接种于共培养基上,暗培养 48~72 h。将共培养后的叶片转入诱导培养基上诱导愈伤组织,培养约 10 d。挑选能够持续增殖、颜色浅绿、质地致密的愈伤组织转移到对应该抗性的筛选培养基上,培养时间 15~30 d,温度:(23±2)℃;将经过筛选后的愈伤组织转入分化培养基上,每个培养皿 4~5 个愈伤组织,23℃光照培养 15~30 d;分化过程中,愈伤组织如有幼苗形成,将其接种至根诱导培养基上生长。

1.3.3 转基因烟草的分子鉴定

提取再生烟草叶片的基因组 DNA,以 pBWA(V)HS-*StLDC* 载体质粒为阳性对照,野生型(WT)烟草叶片 DNA 为阴性对照,进行 PCR 鉴定。从每个独立转化株系中采收成熟的转基因种子,播种于含潮霉素的固体培养基上继续筛选至 T₂ 代。阴性对照:以未插入目的片段的空载体转基因烟草为阴性对照。

1.3.4 转基因烟草 *StLDC* 表达量测定

利用 Trizol 法提取烟草总 RNA,并使用 DNase I 处理以去除可能的基因组 DNA 污染。以 *Actin* 为内参基因(正向引物:CGGAATCCAC-GAGACTACATAC;反向引物:GGGAAGCCAA-GATAGAGC),使用引物(正向引物:ACTG-GAACTTGATGATTGGCTTGTC;反向引物:AGGTAGGTAGCGATAGCAGAAGTG)进行 qRT-PCR 检测转基因烟草株系及 K326 野生型烟草(WT)幼苗 *StLDC* 基因的表达水平。采用 2^{-ΔΔCT} 方法计算 *StLDC* 基因的相对表达量。所有样品各重复 3 次。

1.3.5 转基因烟草苦参碱和氧化苦参碱含量测定

取生长至 8~10 片真叶期的转基因及野生型烟草植株的全株,利用高效液相色谱-电喷雾串联质谱

(high performance liquid chromatography-electrospray ionization-mass/mass spectrometry, HPLC-ESI-MS/MS)方法对目的基因 *StLDC* 表达水平较高的烟草植株的苦参碱和氧化苦参碱含量进行定量分析,用岛津 LC-30AD 高效液相色谱仪串联 AB 公司 Qtrap6500 质谱仪,测定烟草苦参碱和氧化苦参碱含量。准确称取 0.1 g 样品,加入 10 mL 样品提取液(三氯甲烷:甲醇:浓氨试液=40:10:1,V/V/V),静置 30 min,超声提取 30 min;12 000 g 离心 5 min,取上清 5 mL;真空离心浓缩至干,加入 0.6 mL 甲醇(色谱纯)复溶;过 0.22 μm 滤膜,放入 -20℃ 冰箱备用。

液相条件:poroshell 120 SB-C18 反相色谱柱(2.1 mm×150 mm,2.7 μm),流动相 A 为甲醇,流动相 B 为甲酸水溶液。梯度洗脱程序见表 1,流速:0.3 mL/min;进样量:2 μL,柱温:30℃。

表 1 梯度洗脱程序 Table 1 Gradient elution procedure			
时间/min	流速/(mL·min ⁻¹)	流动相(A)/%	流动相(B)/%
0	0.3	30	70
1	0.3	30	70
10	0.3	10	90
11	0.3	30	70
12	0.3	30	70

电喷雾电离质谱(ESI-MS/MS)的分析条件(表 2):ESI 正离子模式分别监测;扫描类型:MRM;气帘气:35 psi;喷雾电压:+5 500 V;雾化气压力:50 psi;辅助气压力:55psi;雾化温度:500℃。所有样品各重复 3 次。

1.4 数据统计与分析

采用 Microsoft Excel 2019 和 SPSS19.0 软件对数据进行分析处理,数据均为平均值±标准误差。

2 结果与分析

2.1 过表达载体 pBWA(V)HS-*StLDC* 的构建与鉴定

通过 PCR 扩增、酶切连接成功构建了重组表达载体 pBWA(V)HS-*StLDC*。菌液 PCR 验证结果显

表 2 质子化或去质子化的选择反应监测条件([M+H] ⁺ /[M-H] ⁻) Table 2 Selection reaction monitoring conditions for protonation or deprotonation ([M+H] ⁺ /[M-H] ⁻)					
分析物	极性	母离子(m/z)	子离子(m/z)	解簇电压(V)	碰撞能量(V)
苦参碱	+	249.2	148.3 [*] /176.3	82/80	43/45
氧化苦参碱	+	265.3	205.2 [*] /136.1	80/86	39/42

(标记*的为定量离子)

示(图1),阳性克隆可扩增出与预期大小相符的特异性条带。测序结果进一步证实了 *StLDC* 基因的正确插入和阅读框的完整性。

2.2 转 *StLDC* 烟草苗的筛选和鉴定

利用烟草成熟的遗传转化体系获得转基因烟草植株,PCR 鉴定结果如图2所示,转基因植株扩增出一条约 1 400 bp 的特征条带,与阳性对照一致;野生型烟草(阴性对照)未扩增出该特征条带,初步证明外源基因 *StLDC* 已成功整合到烟草基因组中。PCR 鉴定共获得 10 株阳性植株。

qRT-PCR 检测结果显示,10 株转基因烟草植株中 *StLDC* 基因均成功表达。由于野生型(WT)烟草中 *StLDC* 的本底表达量极低(C_t 值 >30),基于 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 法计算的相对表达量在不同转基因株系间差异较大。统计分析表明,所有过表达株系(OE-

1~OE-10)中 *StLDC* 基因的表达水平均较 WT 有极显著升高($P<0.01$),其中 OE-7 株系的表达量上调最为显著(图3)。这一结果证实了过表达载体在烟草中的成功整合。

2.3 转基因烟草苦参碱和氧化苦参碱含量测定

选取目的基因表达量最高的 5 个 *StLDC* 过表达株系 OE-3、OE-5、OE-7、OE-8 和 OE-9,以及野生型烟草(WT)进行苦参碱和氧化苦参碱含量测定,结果如表3所示。

StLDC 转基因烟草 OE-3、OE-5、OE-7、OE-8、OE-9 的苦参碱含量分别是野生型植株(WT)的 7.26 倍、1.41 倍、29.11 倍、2.26 倍、1.81 倍;氧化苦参碱含量分别是野生型植株(WT)的 13.63 倍、1.67 倍、69.43 倍、2.20 倍、2.51 倍;此结果说明过表达 *StLDC* 基因可以提高植物苦参碱和氧化苦参碱

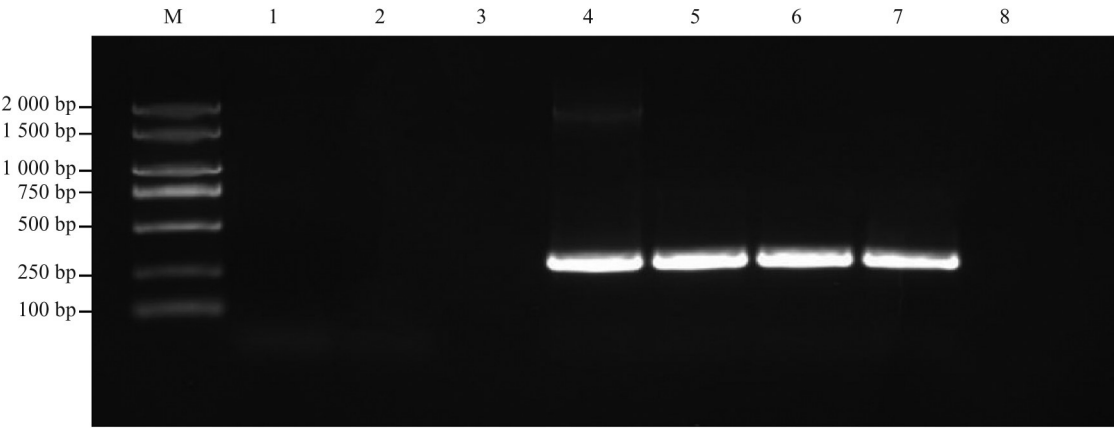


图1 pBWA(V)HS-*StLDC* 菌液电泳图

Figure 1 Electrophoretogram of verification of pBWA(V)HS-*StLDC* colonies

1~6: 菌液;7: 阳性对照;8: 阴性对照(水)
1—6: bacterial solution; 7: positive control; 8: negative control (water)

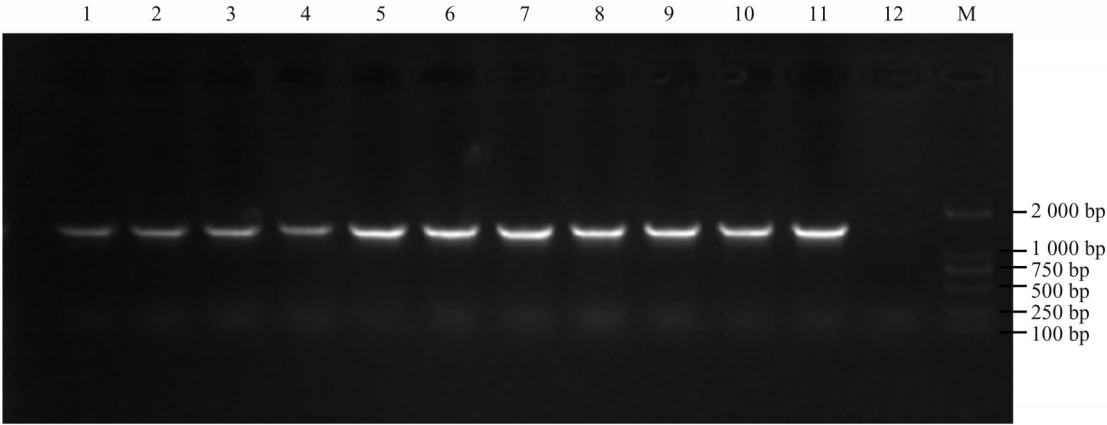


图2 转 *StLDC* 基因植株的检测

Figure 2 Identification of *StLDC* transgenic plants

1~10: 阳性转化株 PCR 产物;11: 阳性对照;12: 阴性对照(野生型烟草)
1—10: PCR products of positive transformed strains; 11: positive control; 12: negative control (wild-type strain)

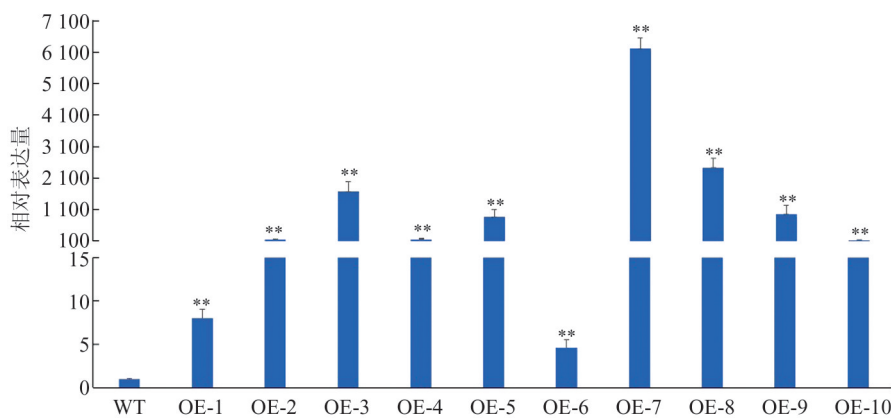


图3 转基因烟草目的基因表达水平

Figure 3 Expression levels of target genes in transgenic tobacco

WT:野生型株系;OE-1~OE-10:10个过表达*SaLDC*株系;**表示差异极显著($P < 0.01$)
WT: the wild-type strain; OE-1—OE-10: 10 overexpression strains; ** indicate extremely significant differences ($P < 0.01$)

含量。

表3 转基因烟草中苦参碱和氧化苦参碱含量分析
Table 3 Analysis of matrine and oxymatrine content in transgenic tobacco

样品编号	苦参碱含量/(ng·g ⁻¹)	氧化苦参碱含量/(ng·g ⁻¹)
WT	12.02±0.49 ^d	13.39±0.61 ^e
OE-3	87.24±1.73 ^b	182.57±1.64 ^b
OE-5	16.98±0.75 ^e	22.40±0.44 ^d
OE-7	349.95±3.38 ^a	929.73±12.64 ^a
OE-8	27.22±0.31 ^c	29.44±0.71 ^d
OE-9	22.04±0.24 ^d	33.66±0.47 ^e

注:同列数据后不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。
Note: Different lowercase letters within the same column indicate significant differences ($P < 0.05$).

3 讨论

3.1 LDC在喹诺里西啶类生物碱生物合成途径中的重要生物学功能

山豆根是中国喀斯特山区代表性药用植物,其抗肿瘤、抗肝损伤、增强免疫力等药理活性已获研究证实^[15]。其中,喹诺里西啶类生物碱作为其关键活性成分,在代谢工程领域备受关注。LDC是喹诺里西啶类生物碱生物合成途径中的起始酶与关键限速步骤^[16-18]。本研究构建了pBWA(V)HS-O-*SaLDC*过表达载体,将山豆根来源的*SaLDC*基因导入烟草中实现异源表达,并通过分子与代谢分析证实,*SaLDC*的过表达显著促进了烟草中苦参碱与氧化苦参碱的积累(如OE-7株系中苦参碱含量提升至野生型的29.11倍)。这一结果与已有研究类似:在苦豆子中,*SaLDC*的表达与喹诺里西啶类生物碱积

累呈正相关^[19];在狭叶羽扇豆中,检测到的所有喹诺里西啶类生物碱均能通过前体*L*-赖氨酸合成^[20],沉默*LaLDC*显著抑制其生物碱合成^[21];在通常不产生尸胺的拟南芥中异源表达*LaLDC*,也能观察到尸胺及其衍生物的产生^[22]。本研究进一步证实了LDC在喹诺里西啶类生物碱生物合成中具有不可替代的核心地位。

3.2 外源遗传转化在药效物质生物合成中的重要作用

外源遗传转化技术为突破传统植物提取法的局限性(如低含量、长周期和气候敏感性)提供了根本解决方案^[23]。该技术通过将完整的生物合成途径导入工程微生物(如大肠杆菌、酵母)或模式植物体系,能够构建稳定、可控的替代生产平台,这在青蒿素^[24]、紫杉醇^[25]和糖苷^[26]的可持续生产中已得到证实。同时,该技术为关键生物合成元件的发掘与功能验证提供了直接工具。例如,从绞股蓝中鉴定的糖基转移酶*GpUGT74A1*,通过在大肠杆菌中异源表达验证了其催化功能,为稀有人参皂苷合成提供了新元件^[27]。类似地,通过在大豆毛状根中表达*LsSAT2*基因,明确了其对含硫代谢的调控作用^[28],这些研究丰富了合成生物学所需的遗传工具库。此外,外源遗传转化还可通过导入抗逆基因,增强生产体系抵御环境波动的能力,从而保障其在非生物胁迫下的稳定性。例如,在模式植物中表达耐盐基因*CrPDC1*^[29]、耐镉基因*BvHSP18.2*^[30]或抗旱基因*SaPEPC2*^[31],均可显著提高宿主对非生物胁迫的耐受性,为在逆境条件下保障生物合成稳定性或培育抗逆药用资源奠定了基础。本研究通过外源遗传转

化技术,在烟草中构建了源自山豆根的喹诺里西啶类生物碱生物合成途径,结果表明,烟草内源性酶系统能够有效支持从尸胺至苦参碱的下游转化过程。这与 Bagni 等^[32]在光烟草中检测到 LDC 及其产物尸胺的研究结果相一致,共同证实了模式植物底盘在承接并延伸外源代谢途径方面具有显著潜力。

3.3 研究局限与未来展望

本研究通过异源表达验证了 *StLDC* 基因在植物体内合成喹诺里西啶类生物碱的功能,但对其酶学性质的解析尚需在更受控的体外系统中完成。在原核或酵母系统中进行 *StLDC* 蛋白的体外表达与酶动力学分析,是直接验证其催化活性、测定关键酶学参数的有力证据,这将使基因功能的解析更为严谨和深入^[33-34]。因此,后续工作的首要方向是完成该蛋白的体外生化表征。未来研究可进一步采用合成生物学策略,在微生物中构建并优化该生物碱合成途径。通过融合共表达网络分析^[35-36]与人工智能辅助的代谢工程^[24],有望实现从基因到产品的全链条精准设计与高效生产。

4 结 论

本研究通过将 *StLDC* 过表达载体转化至 K326 烟草中,成功筛选出阳性植株。结果显示, *StLDC* 的过表达显著促进了烟草中苦参碱及氧化苦参碱的生物合成与积累。本研究不仅深入阐述了 *StLDC* 在生物碱合成途径中的关键调控作用,还为提升山豆根生物碱的高效生产提供了新的遗传资源。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典——一部 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 28-29.
Pharmacopoeia Commission of the People's Republic of China. Pharmacopoeia of People's Republic of China: Part I [M]. Beijing: China Medical Science and Technology Press, 2020: 28-29.
- [2] 聂安政, 赵雪睿, 高梅梅, 等. 山豆根安全问题探讨与合理用药思考[J]. 中草药, 2018, 49(17): 4152-4161.
Nie A Z, Zhao X R, Gao M M, et al. Discussion and consideration on safety of *Sophorae Tonkinensis Radix et Rhizoma* and its rational use[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2018, 49(17): 4152-4161.
- [3] 王浩宇, 夏中尚, 刘娇娇, 等. 基于数据挖掘技术分析含山豆根组方的配伍用药规律研究[J]. 亚太传统医药, 2024, 20(10): 179-185.
Wang H Y, Xia Z S, Liu J J, et al. Study on the law of compatibility of prescription containing *Radix Sophorae Subprostratae* based on data mining technology [J]. Asia-Pacific Traditional Medicine, 2024, 20 (10) : 179-185.
- [4] Chhabra S, Mehan S. Matrine exerts its neuroprotective effects by modulating multiple neuronal pathways [J]. Metabolic Brain Disease, 2023, 38 (5) : 1471-1499.
- [5] Gerdes H J, Leistner E. Stereochemistry of reactions catalysed by l-lysine decarboxylase and diamine oxidase [J]. Phytochemistry, 1979, 18(5): 771-775.
- [6] Bunsupa S, Yamazaki M, Saito K. Lysine-derived alkaloids: overview and update on biosynthesis and medicinal applications with emphasis on quinolizidine alkaloids [J]. Mini Reviews in Medicinal Chemistry, 2017, 17(12): 1002-1012.
- [7] 王佳琦, 王欣, 邓小梅, 等. 花榈木生物碱合成关键酶基因 *OhpLDC* 和 *OhpCAO1* 的克隆与分析[J]. 江苏农业学报, 2023, 39(8): 1646-1657.
Wang J Q, Wang X, Deng X M, et al. Cloning and analysis of key enzyme genes *OhpLDC* and *OhpCAO1* for al-kaloid synthesis in *Ormisia henryi* Prain [J]. Jiangsu Journal of Agricultural Sciences, 2023, 39(8): 1646-1657.
- [8] 李赛男, 王雯静, 张蓓蓓, 等. 蛇足石杉中赖氨酸脱羧酶基因的克隆表达及功能鉴定[J]. 药科学报, 2022, 57(11): 3437-3445.
Li S N, Wang W J, Zhang B B, et al. Gene cloning and functional characterization of a lysine decarboxylase from *Huperzia serrata* [J]. Acta Pharmaceutica Sinica, 2022, 57(11): 3437-3445.
- [9] Wang D J, Zhao L, Jiang J Y, et al. Cloning, expression, and functional analysis of lysine decarboxylase in mulberry (*Morus alba* L.) [J]. Protein Expression and Purification, 2018, 151: 30-37.
- [10] Lü Y Y, Zhu J J, Huang S H, et al. Metabolome profiling and transcriptome analysis filling the early crucial missing steps of piperine biosynthesis in *Piper nigrum* L. [J]. The Plant Journal, 2024, 117(1): 107-120.
- [11] Zhang X M, Wang Z Q, Jan S, et al. Expression and functional analysis of the lysine decarboxylase and copper amine oxidase genes from the endophytic fungus *Colletotrichum gloeosporioides* ES026 [J]. Scientific Reports, 2017, 7(1): 2766.
- [12] 杨毅, 田蕾, 刘萍, 等. 苦豆子赖氨酸脱羧酶基因表达与苦参碱和氧化苦参碱含量的关系[J]. 中国药理学杂志, 2015, 50(10): 846-849.
Yang Y, Tian L, Liu P, et al. Relationship between gene expression of lysine decarboxylase and accumulation of matrine and oxymatrine in *Sophora alopecuroides* [J]. Chinese Pharmaceutical Journal, 2015, 50 (10) :

- 846-849.
- [13] Liang Y, Wei K H, Wei F, et al. Integrated transcriptome and small RNA sequencing analyses reveal a drought stress response network in *Sophora tonkinensis* [J]. BMC Plant Biology, 2021, 21(1): 566.
- [14] 陈浩, 汤丹峰, 唐忠玉, 等. 山豆根 LDC 基因克隆、生物信息学分析及过表达载体构建[J/OL]. 分子植物育种, (2022-05-09). <https://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.s.20220506.1158.004.html>.
Chen H, Tang D F, Tang Z Y, et al. Cloning, bioinformatics analysis and overexpression vector construction of lysine decarboxylase from *Sophora tonkinensis* [J/OL]. Molecular Plant Breeding, (2022-05-09). <https://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.s.20220506.1158.004.html>.
- [15] 郝俊霄, 靳文戈, 李良波, 等. 四种药用植物在喀斯特生境下的生理特征及适生性[J]. 湖北农业科学, 2020, 59(9): 77-82.
Hao J X, Jin W G, Li L B, et al. Physiological characteristics and adaptability of four medicinal plants in karst environment[J]. Hubei Agricultural Sciences, 2020, 59(9): 77-82.
- [16] Mancinotti D, Frick K M, Geu-Flores F. Biosynthesis of quinolizidine alkaloids in lupins: mechanistic considerations and prospects for pathway elucidation [J]. Natural Product Reports, 2022, 39(7): 1423-1437.
- [17] Li J C, Zhang Z J, Liu D, et al. Quinolizidine alkaloids from the roots of *Sophora flavescens* [J]. Natural Product Research, 2022, 36(7): 1781-1788.
- [18] Pancaldi F, Gulisano A, Severing E I, et al. The genome of *Lupinus mutabilis*: evolution and genetics of an emerging bio-based crop [J]. The Plant Journal, 2024, 120(3): 881-900.
- [19] Huang X, Rong W W, Zhang X X, et al. Transcriptome and metabolome analysis reveal the dynamic changes and biosynthesis pathways of alkaloids in *Sophora alopecuroides* L. under drought stress [J]. Industrial Crops and Products, 2024, 212: 118365.
- [20] Namdar D, Mulder P, Ben-Simchon E, et al. New analytical approach to quinolizidine alkaloids and their assumed biosynthesis pathways in lupin seeds [J]. Toxins, 2024, 16(3): 163.
- [21] Mancinotti D, Rodriguez M C, Frick K M, et al. Development and application of a virus-induced gene silencing protocol for the study of gene function in narrow-leaved lupin [J]. Plant Methods, 2021, 17(1): 131.
- [22] Shimizu Y, Rai A, Okawa Y, et al. Metabolic diversification of nitrogen-containing metabolites by the expression of a heterologous lysine decarboxylase gene in *Ara-*
bidopsis [J]. The Plant Journal, 2019, 100 (3) : 505-521.
- [23] Leibetseder L, Bindics J, Buyel J F. Benzylisoquinoline alkaloid production: moving from crop farming to chemical and biosynthesis [J]. Biotechnology Advances, 2025, 85: 108700.
- [24] Zeinali M, Sabzehzari M, Ménard D, et al. A systematic review of alternative artemisinin production strategies [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2025, 26(24): 12095.
- [25] Chen Q Q, Xin Q, Dong S, et al. Recent advances and perspectives in biosynthesis of paclitaxel: key enzymes and intermediates [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2025, 331: 148049.
- [26] 文超, 欧阳文虹, 黄伟, 等. 植物 UGTs 的功能、应用与分子改造研究进展 [J]. 生物资源, 2022, 44(2): 122-129.
Wen C, Ouyang W H, Huang W, et al. Research progress on the function, application and molecular modification of plant UDP-glycosyltransferase [J]. Biotic Resources, 2022, 44(2): 122-129.
- [27] Wu Q X, Chen Y Y, Ye M X, et al. A new UDP-glycosyltransferase for rare ginsenoside biosynthesis from *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) [J]. Carbohydrate Research, 2025, 558: 109703.
- [28] 唐艳妮, 尚天雪, 苗智博, 等. *LsSAT2* 在大豆毛状根中的异源表达分析 [J]. 西北农业学报, 2025, 34(8): 1484-1490.
Tang Y N, Shang T X, Miao Z B, et al. Analysis of ectopic expression of *LsSAT2* in hairy roots of soybean [J]. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 2025, 34(8): 1484-1490.
- [29] Cui H T, Ma C Z, Wang L Y, et al. Heterologous expression of *Carex rigescens* *PDC1* enhances salt tolerance in transgenic *Arabidopsis thaliana* seedlings [J]. Plant Science, 2026, 362: 112810.
- [30] 仲维婷, 张琼, 兴旺, 等. 异源表达甜菜 *BvHSP18.2* 基因增强拟南芥对镉胁迫的耐受性研究 [J]. 中国农学通报, 2024, 40(29): 14-20.
Zhong W T, Zhang Q, Xing W, et al. Heterologous expression of *BvHSP18.2* gene in sugar beet enhancing tolerance to cadmium of *Arabidopsis thaliana* [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2024, 40 (29) : 14-20.
- [31] 廖星鑫, 牛祎, 多兴武, 等. 异源表达异子蓬 *Sa-PEPC2* 基因提高烟草抗旱性和光合特性 [J]. 植物学报, 2024, 59(4): 585-599.
Liao X X, Niu Y, Duo X W, et al. Heterologous expression of *Suaeda aralocaspica* *SaPEPC2* gene im-

- proves drought resistance and photosynthesis in transgenic tobacco[J]. Chinese Bulletin of Botany, 2024, 59(4): 585-599.
- [32] Bagni N, Creus J, Pistocchi R. Distribution of cadaverine and lysine decarboxylase activity in *Nicotiana glauca* plants[J]. Journal of Plant Physiology, 1986, 125(1/2): 9-15.
- [33] Bunsupa S, Katayama K, Ikeura E, et al. Lysine decarboxylase catalyzes the first step of quinolizidine alkaloid biosynthesis and coevolved with alkaloid production in Leguminosae[J]. The Plant Cell, 2012, 24(3): 1202-1216.
- [34] Nielsen J, Keasling J D. Engineering cellular metabolism[J]. Cell, 2016, 164(6): 1185-1197.
- [35] Kroc M, Koczyk G, Kamel K A, et al. Transcriptome-derived investigation of biosynthesis of quinolizidine alkaloids in narrow-leaved lupin (*Lupinus angustifolius* L.) highlights candidate genes linked to iucundus locus[J]. Scientific Reports, 2019, 9: 2231.
- [36] Yang T, Nagy I, Mancinotti D, et al. Transcript profiling of a bitter variety of narrow-leaved lupin to discover alkaloid biosynthetic genes[J]. Journal of Experimental Botany, 2017, 68(20): 5527-5537.