

综述

植物尿苷二磷酸糖基转移酶超家族晶体结构

吕鹤书, 薛飞燕, 柳春梅, 杨明峰, 马兰青

北京农学院 农业部都市农业(北方)重点开放实验室, 北京 102206

吕鹤书, 薛飞燕, 柳春梅, 等. 植物尿苷二磷酸糖基转移酶超家族晶体结构. 生物工程学报, 2014, 30(6): 838–847.

Lü HS, Xue FY, Liu CM, et al. Crystal structures of plant uridine diphosphate-dependent glycosyltransferases. Chin J Biotech, 2014, 30(6): 838–847.

摘要: 糖基转移酶 (Glycosyltransferases, GTs) 催化的糖基化反应几乎是植物中最为重要的反应。GTs 家族 I 中的植物 UGTs (UDP-dependent glycosyltransferases) 成员主要运用尿苷二磷酸活化的糖作为糖基供体, 因其成员众多、生物功能多样, 仅仅通过序列比较和进化分析不能够精确预测其复杂的底物专一性和特有的催化机制, 需要后续生化实验的进一步验证。文中主要总结了目前在蛋白结构数据库 (Protein Data Bank, PDB) 中报道的 5 种植物 UGTs 的晶体三维结构和定点突变功能研究进展。详细介绍了植物 UGTs 整体结构的特点以及蛋白与底物相互作用的细节, 为更有效地生化定性 UGTs 以便深入理解底物专一性提供了有力的工具, 从而为植物 UGTs 在酶工程和基因工程中的应用奠定基础。

关键词: 尿苷二磷酸糖基转移酶 (UGT), 晶体结构, 底物专一性

Received: September 16, 2013; **Accepted:** January 2, 2014

Supported by: National Natural Science Foundation of China (Nos. 31300620, 31370674), Key Natural Science Foundation of Beijing Municipality (No. 5111001), Foundation of Beijing Municipal Education Committee (Nos. KM201310020002, KM201310020015, KM201110020001, KM201210020009), Funding Project for Academic Human Resources Development in Institutions of Higher Learning Under the Jurisdiction of Beijing Municipality (No. PHR201108279).

Corresponding author: Lanqing Ma. Tel/Fax: +86-10-80797305; E-mail: lanqingma@gmail.com

国家自然科学基金 (Nos. 31300620, 31370674), 北京市自然科学基金重点项目 (No. 5111001), 北京市教委面上项目 (Nos. KM201310020002, KM201310020015, KM201110020001, KM201210020009), 北京市属高校人才强教深化计划项目 (No. PHR201108279) 资助。

Crystal structures of plant uridine diphosphate-dependent glycosyltransferases

Heshu Lü, Feiyan Xue, Chunmei Liu, Mingfeng Yang, and Lanqing Ma

Key Laboratory of Urban Agriculture (North) of Ministry of Agriculture China, Beijing University of Agriculture, Beijing 102206, China

Abstract: Glycosyltransferases (GTs) catalyze the transfer of a sugar residue of an activated sugar donor to an acceptor molecule. Many families 1 GTs utilize an uridine diphosphate (UDP) activated sugar as donor in the glycosylation reaction, and most of these belong to a group of GTs referred to as the UGTs. The relationship between the degree of amino acid sequence identity and substrate specificity of the plant UGTs is highly complicated, and the prediction of substrate specificity based on phylogenetic analyses need to be improved by more biochemical characterization. This review summarizes the three dimensional structures of plant UGTs published in the Protein Data Bank (PDB), including the detailed substrate interactions with the sugar and receptor binding pockets and mutational analyses of some critical amino acids. It will be helpful for biochemical characterization the substrate specificity of the individual UGT, and lay the foundation for the enzymatic and genetic manipulation of plant UGTs in the future.

Keywords: Uridine diphosphate glycosyltransferases (UGTs), crystal structure, substrate specificity

糖基化反应几乎是植物中最为重要的反应之一。糖基转移酶 (Glycosyltransferases, GTs) 负责催化活化的糖基供体的糖基团转移到受体分子上。糖基化反应会改变受体分子的稳定性、可溶性和糖苷的生物活性,因此在天然产物的生物合成、亚细胞定位、外来化合物的脱毒、促进生物活性物质在植物液泡中的储存等过程中发挥至关重要的作用^[1-4]。

根据氨基酸序列相似度可将 GTs 家族划分为至少 92 个超家族^[5]。GT 家族 1 中的一些成员在糖基化反应中能够运用尿苷二磷酸 (Uridine diphosphate, UDP) 活化的糖作为糖基供体,因此大部分属于 UGTs (UDP-dependent Glycosyltransferases)。植物 UGTs 的一个重要特征是在 C-端具有一个高度保守的 PSPG (Plant Secondary Product Glycosyltransferase motif) 序列。具有 PSPG 的植物 UGTs 是可溶性的酶,区

别于哺乳动物的膜结合蛋白。植物 UGTs 成员众多、生物功能复杂,例如在模式植物拟南芥 *Arabidopsis thaliana* 已发现了超过 120 种编码 UGT 的基因^[6-7]。

植物 UGTs 底物专一性体现在糖基供体分子和受体底物分子的专一性两个方面。除了最常见的糖基供体 UDP-葡萄糖以外^[8],其他多种糖也能被植物 UGTs 所使用,其中包括 UDP-半乳糖、UDP-鼠李糖、UDP-甘露糖和 UDP-葡萄糖醛酸等。大多数 UGTs 通常对于糖基供体专一性要求严格,但也有植物 UGTs 可以利用多种 UDP-糖,而且以一种糖的活性为主。针对受体分子专一性有人提出了区域选择性 (Regioselective) 的观点^[9]。专一性较广泛的 UGT 可以催化在结构上差别很大的不同种受体分子。但这些受体位点的差别从区域选择性的角度上被认为是具有相似的结构。同时,有的研

究认为整个受体分子的结构同样重要,受体分子待糖基化的位点本身的差异不足以确保正确的酶催化底物专一性^[10]。

确定 UGTs 底物专一性定性是一个复杂的工程。有些 UGTs 在进化分析中属于同一群体,但催化的可能是完全不同类的底物分子。因此仅仅通过序列比较和进化分析不能够精确预测底物专一性和特有的催化机制,还需要后续生化实验的进一步验证,尤其是针对具广泛底物专一性的 UGTs 需要进行大范围的底物筛选和测定。当单个 UGT 的底物专一性被阐明后,通过突变分析能够进一步阐明某些氨基酸序列对于供体、受体专一性以及催化功能的影响。X-射线三维结构分析能够提供蛋白与底物相互作用的细节,为更有效地生化定性 UGTs 以便深入理解底物专一性提供了有力的工具。从而为植物 UGTs 在酶工程、基因工程上的应用奠定基础。以下主要总结了目前在 NCBI 结构数据库中报道的植物 UGTs 晶体三维结构和定点突变功能研究的进展。

表 1 植物 UGTs 超家族成员三维结构

Table 1 Summary of the three-dimensional structures of plant UGTs in PDB

Name of UGT	PDB Code	Apo/Complex	Reference
<i>MtUGT71G1</i>	2ACV	UDP	[11]
	2ACW	UDP-glucose	[11]
<i>VvGT1</i>	2C1X	UDP	[13]
	2C1Z	UDP-2-fluoro-glucose, kaempferol	[13]
	2C9Z	UDP, quercetin	[13]
<i>MtUGT85H2</i>	2PQ6	Apo	[14]
<i>AtUGT72B1</i>	2VCE	UDP-2-fluoro glucose, TCP	[15]
	2VCH	UDP-Tris buffer	[15]
	2VG8	UDP-glucose	[15]
<i>MtUGT78G1</i>	3HBJ	UDP	[16]
	3HBF	UDP, myricetin	[16]

1 植物 UGT 结构研究概况

目前在蛋白结构数据库 (<http://www.rcsb.org/pdb>) 中发表了至少 3 种植物的 11 个 UGTs 晶体结构 (表 1), 分别来自 4 种不同的 UGT 超家族, 它们之间具有 21%–47% 的氨基酸序列同一性 (图 1)。尽管它们大部分之间的序列同一性较低仅为 21%–33%, 但是其二级和三级结构高度保守。

2005 年发表的紫花苜蓿 *Medicago truncatula* UGT71G1 是第一个被发表植物 UGT 的晶体结构^[11]。*MtUGT71G1* 与 UDP 或 UDP-葡萄糖复合物的结构揭示了酶与其糖基供体底物相互作用的详尽信息, 尤其是对于保守性的 PSPG 结构单元在底物识别和催化活性中的功能作了较为详尽的阐明, 揭示了 His22 和 Asp121 在糖基转移反应中的至关重要的作用^[12]。另外几种植物 UGTs 被陆续报道, 它们分别是葡萄 *Vitis vinifera* *VvGT1*、紫花苜蓿 *MtUGT85H2*、拟南芥 *Arabidopsis thaliana* *AtUGT72B1* 和紫花苜蓿 *MtUGT78G1*^[13-16](表 1)。

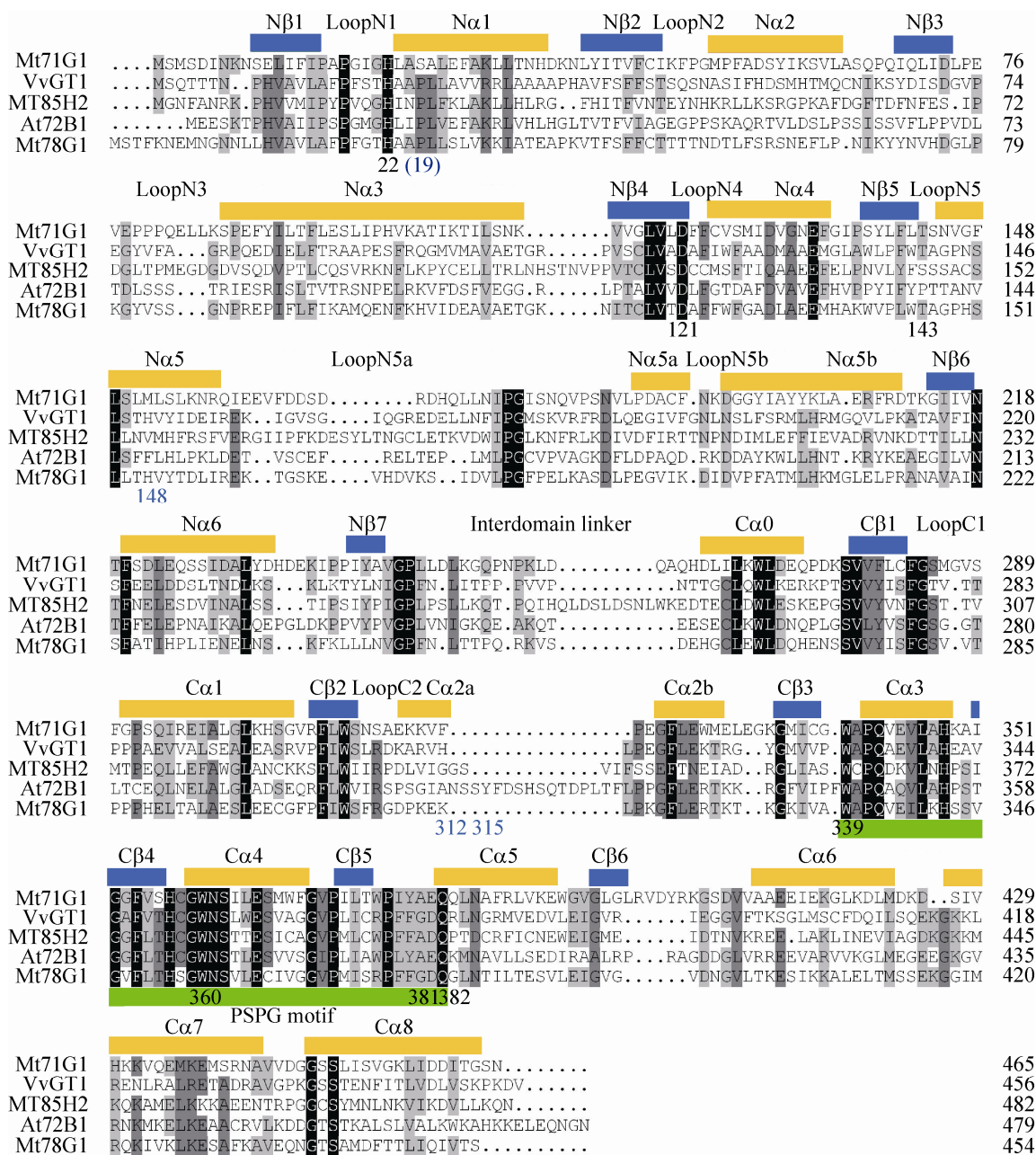


图1 五种植物UGTs家族成员氨基酸序列比较(关键催化残基(His22、Asp121)和重要糖基供体受体结合位点残基参照MtUGT71G1序列被黑色字体标出(重要AtUGT72B1氨基酸残基为蓝色字体)。在序列上方分别用蓝色和黄色实心框标出二级结构 β 折叠和 α 螺旋,序列下方绿色实心框为保守PSPG区域。序列比较使用DNAMAN)

Fig. 1 Sequence alignment of five plant UGTs. The critical catalytic residues (His22 and Asp121), and the important residues lining the substrate binding sites are marked in black and blue and numbered in MtUGT71G1 and AtUGT72B1, respectively. The secondary structure, β strands (blue) and α helices (yellow) are marked by solid box above the sequences. The conserved PSPG motif is highlighted by solid box under the sequences in green. The sequence alignment was prepared with DNAMAN.

经 Blast 搜索 *At*UGTs 时发现 *Vv*GT1 蛋白序列与 *At*UGT78D2 具有 55% 的序列同一性因此被划分为 UGT78 家族。*Vv*GT1 参与植物花青素形成反应, 与花、果实中色素的合成有关。*At*UGT72B1 是一个双功能酶, 同时具有形成 O-苷和 N-苷的催化活性, 即具有 OGT/NGT (O-glucosyltransferase/N-glucosyltransferase) 的活性。针对其与糖基供体类似物、受体 TCP 复合物结构的研究, 结合突变研究的结果阐明了 D312N 和 F315Y (在 *Mt*UGT71G1 序列中无对应序列) 在 NGT 催化形成 N-苷活性中的关键作用。*Mt*UGT85H2 具有催化 (异) 黄酮类糖基转移反应的多种功能, 其底物专一性相对广泛, 是已发表结构中唯一一个未与底物复合的结构。结构比较的结果显示了 Trp360 (对应于 *Mt*UGT71G1 序列的 Trp339) 在糖结合之后发生了构象上的变化。*Mt*UGT78G1 催化多种类黄酮的糖基化反应。它同样参与催化糖基从糖苷上移除的可逆反应。通过结构比较和突变实验鉴定出 Glu192 为糖基化可逆反应中的关键氨基酸残基。

我们分别从高山红景天根茎和愈伤组织中分离得到了 *UGT73B6*、*UGT72B14* 和 *UGT74R1* 3 种 UGT^[17-20]。*UGT72B14* 具有调控酪醇合成红景天甙的功能, 是红景天属植物中首个被成功分离的与酪醇糖基化相关的 UGT 基因。*UGT73B6* 和 *UGT74R1* 的功能还有待于进一步被确认。针对以上 3 个高山红景天 UGTs 的晶体学三维结构研究工作正在进行中。

2 植物 UGTs 整体三维晶体结构

植物 UGTs 采用 GT-B 折叠的双结构域结构, 区别于能同时识别供体底物和受体底物的

GT-A 单结构域结构 (图 2A)。GT-B 的每个结构域都采用 $\alpha/\beta/\alpha$ 折叠 (通常被引用为 Rossmann 折叠)。C-末端主要参与接触糖基供体, 与糖基受体相互作用主要由 N-端提供。

在图 2A 中标出了三维折叠以及保守的二级结构单元。N-结构域折叠成一个七链平行 β -折叠并被 8 个 α 螺旋所围绕 (分别命名为 $N\alpha_1$ 、 $N\alpha_2$ 、 $N\alpha_3$ 、 $N\alpha_4$ 、 $N\alpha_5$ 、 $N\alpha_{5a}$ 、 $N\alpha_{5b}$ 和 $N\alpha_6$)。C-结构域折叠成一个六链平行 β -折叠并被 8 个 α 螺旋所围绕 (命名为 $C\alpha_0$ 、 $C\alpha_1$ 、 $C\alpha_{2a}/C\alpha_{2b}$ 、 $C\alpha_3$ 、 $C\alpha_4$ 、 $C\alpha_5$ 、 $C\alpha_6$ 和 $C\alpha_7$)。第 9 个 α 螺旋 ($C\alpha_8$) 折叠回 N-结构域。相对保守性差的环区将保守的二级结构单元连接起来。环区的命名方式参照其所跟随的 β -折叠 (除了跟随 $N\alpha_{5a}$ 和 $N\alpha_{5b}$ 螺旋的环区外)。长度和序列差别最大的环区来自于 N-端结构域的 N3、N5 和 $N5a$, 以及连接 N-、C-结构域的环区 7 (铰链区, interdomain linker)。铰链区在有的结构中包含不保守的二级结构单元 (图 2B)。

植物 UGTs 晶体结构中, 两个结构域各自紧密堆积, 并在两者之间形成一个深的缝隙构成了底物结合口袋。结合口袋入口狭窄, 提示底物结合需要入口张开的过程。结构域之间的运动可以由连接两者之间柔性的铰链区所介导。在 *Mt*UGT71G1 结构中, 两个晶体学不对称分子在缝隙部位具有小的构象差别, 并且在其他结构中处于无序状态难以被解析。

在 *Mt*UGT71G1 复合 UDP-葡萄糖与未与底物复合的 *Mt* UGT85H2 结构比较中发现, 绝大多数的二级和三级结构保守存在。较大结构差异主要来自各个环区和铰链区 (图 2B)。铰链区的一级序列和二级结构在长度上和序列上具有较大差别。除了连接两个结构域的铰链区的柔

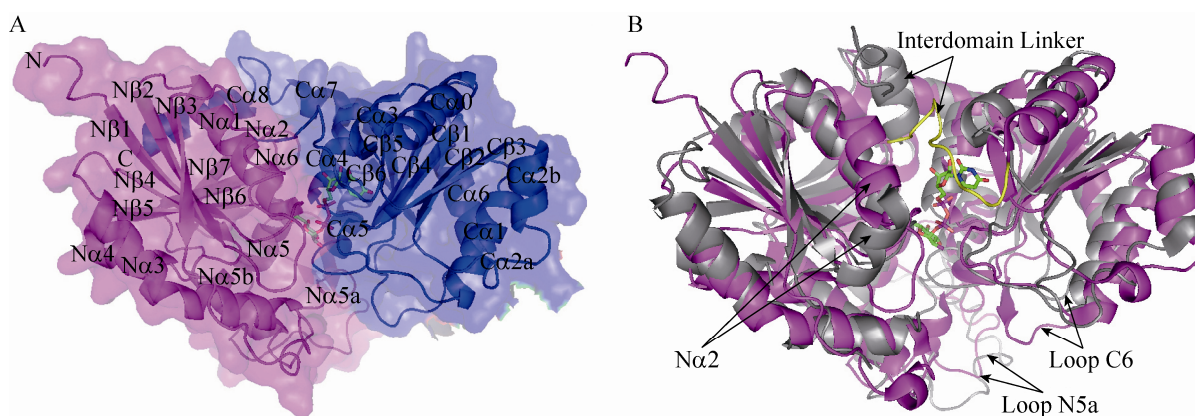


图2 植物 UGT 整体三维结构 (供体和受体的结合部位位于双结构域交界处, 复合的 UDP-葡萄糖分子以 Stick 模型表示)。(A) *Mt* UGT71G1 Ribbon 和 Surface 示意图。双结构域分别以粉色和蓝色标出。N、C-结构域末端, 以及各个二级结构单元被标出名称。(B) *Mt* UGT71G1 与未与底物复合的 *Mt* UGT85H2 结构比较: *Mt* UGT71G1 以紫色标出, 黄色为铰链区序列。 *Mt* UGT85H2 以灰色标出。结构差异较大部位被标出名称并用箭头指明位置)

Fig. 2 Ribbon and Surface diagrams of the overall structure of plant UGT. The substrate binding sites are located in the cleft formed by the two domains. The complexed UDP-glucose donor was shown as Stick diagrams. (A) *Mt* UGT71G1 overall structure. The N-terminal domain (pink) and the C-terminal domain (blue) are shown with the secondary structures and the N and C-termini labeled. The α helices and β strands in the N and C-terminal domains are numbered separately. (B) Comparison of *Mt* UGT71G1 and apo *Mt* UGT85H2 structures. The remarkable differences between *Mt* UGT71G1 (in pink) and *Mt* UGT85H2 (in grey) structures are labeled.

性外, 与底物结合相关的环区在结构上也具有较大柔性, 其中包括了环区 N5a 和 C6。而二者比较中出现较大差异的 N α 2 螺旋结构, 在 *Mt* UGT85H2 结构中这一区域的一些氨基酸残基缺失处于无序状态, 提示在未复合时具有较大柔性。

3 植物 UGTs 糖基供体和受体结合口袋结构

3.1 糖基供体结合口袋

供体结合口袋主要来自 C-结构域的 C1 环区、构成 Rossmann 特征折叠的几个 α 螺旋 (C α 3, C α 4, C α 5) 的 N-端和 PSPG 结构单元构成 (图 3B)。

保守的 PSPG 结构单元构成了与糖基供体主要的相互作用, 构成了结合口袋的一面。PSPG 无

论在长度还是氨基酸序列上都高度保守 (图 1)。除了 *Mt* UGT85H2 未与底物复合的结构外, 其余晶体结构 PSPG 的 44 个氨基酸残基中, 至少 10 个高度保守氨基酸残基与 UDP-糖发生直接相互作用, 其中有的与糖部分形成氢键。例如, *MT* UGT71G1 结构中参与供体分子接触的氨基酸残基 Trp339、Gln342、His357 和 Glu365 在已知的 39 种植物 UGTs 一级序列中保守存在。Glu381 在有的分子中被 Asp 所代替。Gln382 在葡萄糖糖基转移酶中保守, 而 His382 在半乳糖糖基转移酶中保守。Glu381 和 Gln382 两个位点被推测对于糖基专一性至关重要。Trp360、Glu381 和 Gln382 三个残基与糖形成氢键在几个结构中保守存在, 定点突变为 Ala 时活性完全丧失^[11]。

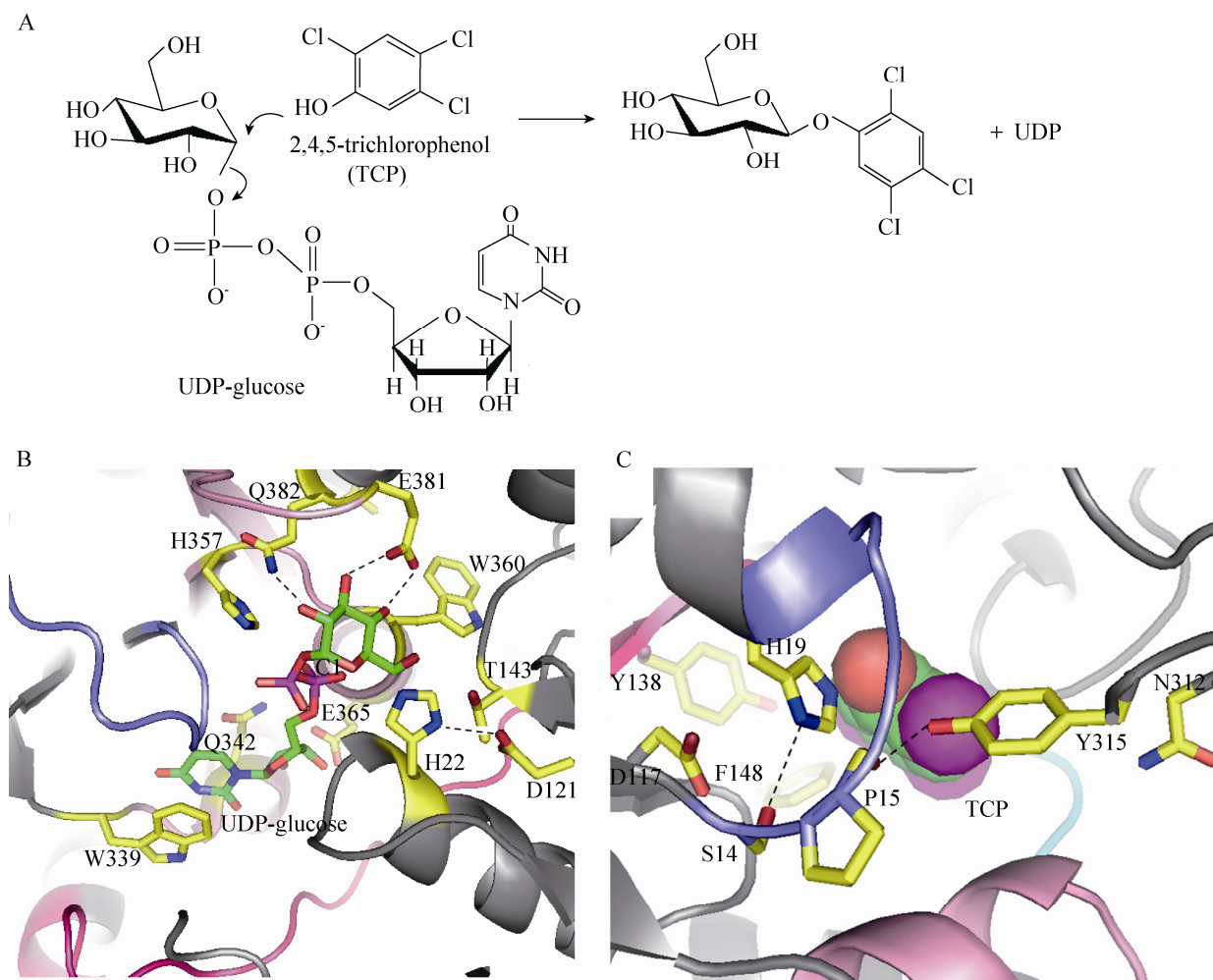


图3 植物 UGTs 底物结合口袋示意图 (A: 糖基供体受体化学结构; B: *Mt* UGT71G1 糖基供体结合口袋 Ribbon 示意图: 复合的 UDP-葡萄糖分子、关键催化残基 (His22、Asp121) 和重要结合位点残基 (Thr143、Trp339、Gln342、His357、Trp360、Glu365、Glu381、Gln382) 以 Stick 模型表示, 碳原子分别为绿色和黄色表示。PSPG 区段为浅粉色, 铰链区为深粉色, C1 区段为浅蓝色; C: *At* UGT72B1 糖基受体结合口袋 Ribbon 示意图: 复合的 TCP 分子以 SPHERE 模型表示, 碳原子为绿色。关键催化残基 (His19、Asp117) 和重要结合位点残基 (Ser14、Pro15、Tyr138、Phe148、Asn312、和 Tyr315) 以 Stick 模型表示, 碳原子黄色表示。N1 环区为浅蓝色, N3 环区为浅粉色, N4 环区为深粉色, N5 环区为青色。与糖基供体和受体部分相互作用以虚线表示)

Fig. 3 Ribbon and Surface diagrams of structures of plant UGTs binding pockets. (A) Reactions catalyzed by *At* UGT72B1; (B) *Mt* UGT71G1 UDP-sugar donor binding pocket: The UDP-glucose and the critical residues lining the substrate binding sites are shown as Stick diagrams with Carbons in green and yellow, respectively. The conserved PSPG motif is highlighted in light pink, interdomain linker in dark pink, and loop C1 in light blue. (C) *At* UGT72B1 sugar receptor pocket: The complexed TCP is shown as SPHERE with carbons in green. The critical residues are shown as Stick models with carbons in yellow. The segments linking the receptor binding pocket is highlighted with loop N1 in light blue, loop N3 in light pink, loop N4 in dark pink, and loop N5 in cyan.

除此之外,来自双结构域间的铰链区氨基酸构成了结合口袋的另一侧面。在 *MTUGT71G1* 结构中,这一部位与尿嘧啶部位接近但并未直接接触。C-端结构域的 C1 环区保守的 Ser/Thr 与供体的 β -磷酸相互作用。*MTUGT71G1* 的位于 C1 环区的 M286L 突变导致了以 UDP-半乳糖和 UDP-葡萄糖醛酸作为底物时活力的增加^[12]。

来自 N-端结构域的 N1、N5 环区也参与供体的相互作用。其中来自 N1 环区的 His22 被认为是对于 UGTs 催化至关重要的氨基酸残基^[11]。V_vGT1 的 T141A (对应于 UGT71G1 的 Thr143) 突变也导致的活性一定程度的丧失^[13]。因此,尽管 C-结构域构成了与供体作用的主要作用,一些重要的底物作用来自于 N-结构域。

3.2 糖基受体结合口袋

与糖基供体结合不同的是,植物 UGTs 与受体的作用几乎都来自于 N-结构域中连接各个二级结构单元的环区 (图 3C)。主要包括了环区 N1、N2、N3、N4、N5 (N α 5, N α 5a, N α 5b, N5a, N5b)。参与受体接触的 C-结构域部分主要包括 C1 和 C5 环区。N-结构域在一级序列上相对于 C-结构域保守性更差,但大部分的骨架结构还是高度保守的。

N2 区残基距离受体分子相对较远,排除了直接形成接触的可能。而几种 UGTs 的 N3/N α 3 区在长度和序列上都差别较大,这个区域参与了受体的直接接触。在细菌的 6 个家族 1GTs 结构中,这个区域同样高度可变,被认为决定了受体底物的专一性^[21-25]。因此,在植物 UGTs 中, N3/N α 3 区被认为决定了受体分子的专一性。

除此之外,有 3 个环区 (包括 N4 环区、N5/N α 5) 的差别,尤其是指向受体结合口袋的大侧链氨基酸残基被认为参与决定了受体结合

口袋的大小和形状,包括 N4 环区的 Leu118 和 Phe119, N5/N α 5 的 Tyr138 和 Phe148。它们有的与底物形成氢键作用有利于特定位点糖苷的形成,进而决定了受体结合口袋不同受体结合特性。*MtUGT71G1* 中双突变 Y202A/F148V 改变了对于槲皮素 quercetin 的专一性,使糖基化的方式由 3'-OH 变为 3-OH。其他突变包括了 *AtUGT74F1/F2* 中对应于 His150^{V_vGT1} 的 N142Y 同样改变了对于 quercetin 的区域专一性 (Regiospecificity)^[26]。该残基与其他 UGT 对应的序列分别为 Met152^{MtUGT71G1}、Val156^{MtUGT85H2}、Phe148^{AtUGT72B1} 和 His153^{MtUGT78G1}。

在 *AtUGT72B1* 与受体分子 TCP 复合物的晶体结构中,未形成任何可见的氢键作用,主要的作用力为疏水作用。因此稳定受体的氢键和疏水相互作用,以及受体结合口袋与受体切合的程度共同决定了对受体分子的特定活性。除此之外,不参与底物分子直接接触的氨基酸残基也会通过蛋白分子内相互作用间接影响酶的催化活性。例如在 *AtUGT72B1* 结构中,位于 C2 环区的 Asn312 和 Tyr315 决定了 N-苷形成活性。Tyr315 被认为能够与包括 Ser14/Pro15 在内的 N1 环区接触,通过苯羟基与 Pro15 的羰基氧原子形成氢键,而 Ser14 与 His19 的 ND1 基团相作用,从而影响同样位于 N1 的催化关键氨基酸 His19 的正确定位和催化^[15](图 3A, 3C)。

4 植物 UGTs 催化机制

在 GTs 的催化过程中,受体的-OH、-NH₂ 或-SH 等被糖基化的功能基团的正确定位是重要前提^[11](图 3A)。受体的功能基团与供体葡萄糖的 C1 位相接近,同时与作为广义碱利于受体去质子化的氨基酸相接近。在大部分的植物

UGTs 中这个广义碱为 His。不同的主链和侧链构象将决定不同受体与 UGT 发生有利的相互作用还是会发生空间位阻, 最终决定一个受体分子是否为一个特定的 UGT 所容纳。

以 UGT71G1 晶体结构为代表提出的植物 UGTs 催化糖基转移反应的催化机理的模型中^[11], 决定酶活性的关键氨基酸 Asp121 与 His22 的距离相近 (约为 3.0 Å) 可能形成电子传递, His22 与糖基供体的葡糖糖环 C1 位距离约为 4.7 Å 并和受体分子相接近。His22 的咪唑基作为广义碱使受体分子的羟基去质子化并将质子传递至 Asp121。去质子化的受体分子作为亲核氧离子从糖环的相反方向对 UDP-葡萄糖的 C1 碳原子进行亲核攻击, 从而取代 UDP 基团。为了进一步验证可能的关键残基的重要性, 基于结构的定点突变研究中, H22A、D121A 和 E381A 的突变都会导致了酶活力的丧失。

5 展望

植物 UGTs 的糖基供体和受体结合于由 N-、C-结构域构成的缝隙中。确定植物 UGTs 的糖基供体专一性、受体专一性以及 UGTs 催化活性是非常复杂的过程。为了更精确的理解这一过程, 解析 UDP-葡萄糖以外的糖基供体分子复合物的结构会很有帮助。同样, 植物 UGTs 家族中具有更宽泛的受体分子专一性的结构也会帮助我们更好地理解这类酶的催化机制。随着更多的对野生型和突变体的结构和生化研究, 更多的结构被解析, 将会有助于利用现有的结构对于底物进行预测。

REFERENCES

- [1] Jones P, Vogt T. Glycosyltransferases in secondary plant metabolism: tranquilizers and stimulant controllers. *Planta*, 2001, 213(2): 164–174.
- [2] Bowles D, Isayenkova J, Lim E, et al. Glycosyltransferases: managers of small molecules. *Curr Opin Plant Biol*, 2005, 8(3): 254–263.
- [3] Wang J, Hou BK. Glycosylation and glycosyltransferase of small molecular compounds of plant. *Plant Physiol Commun*, 2008, 44(5): 997–1003 (in Chinese).
王军, 侯丙凯. 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*, 2008, 44(5): 997–1003.
- [4] Wang J, Yu M. Research progress on UDP-glycosyltransferases in grape secondary metabolism pathway. *Acta Horticult Sin*, 2010, 37(1): 141–150 (in Chinese).
王军, 于淼. 葡萄次生代谢 UDP-糖基转移酶研究进展. *园艺学报*, 2010, 37(1): 141–150.
- [5] Cantarel BL, Coutinho PM, Rancurel C, et al. The Carbohydrate-Active EnZymes database (CAZy): an expert resource for glycogenomics. *Nucleic Acids Res*, 2009, 37: 233–238.
- [6] Ross J, Li Y, Lim E, et al. Higher plant glycosyltransferases. *Genome Biol*, 2001, 2(2): 3004.1–3004.6.
- [7] Paquette S, Moller BL, Bak S. On the origin of family 1 plant glycosyltransferases. *Phytochemistry*, 2003, 62(3): 399–413.
- [8] Bowles D, Lim EK, Poppenberger B, et al. Glycosyltransferases of lipophilic small molecules. *Annu Rev Plant Biol*, 2006, 57: 567–597.
- [9] Vogt T, Jones P. Glycosyltransferases in plant natural product synthesis: characterization of a supergene family. *Trends Plant Sci*, 2000, 5(9): 380–386.
- [10] Kogawa K, Kato N, Kazuma K, et al. Purification and characterization of UDP-glucose: anthocyanin 30,50-O-glucosyltransferase from *Clitoria ternatea*. *Planta*, 2007, 226(6): 1501–1509.
- [11] Shao H, He X, Achnine L, et al. Crystal structures of a multifunctional triterpene/flavonoid glycosyltransferase from *Medicago truncatula*. *Plant Cell*, 2005, 17(11): 3141–3154.

- [12] He XZ, Wang X, Dixon RA. Mutational analysis of the *Medicago* glycosyltransferase UGT71G1 reveals residues that control regioselectivity for (iso) flavonoid glycosylation. *J Biol Chem*, 2006, 281(45): 34441–34447.
- [13] Offen W, Martinez-Fleites C, Yang M, et al. Structure of a flavonoid glucosyltransferase reveals the basis for plant natural product modification. *EMBO J*, 2006, 25(6): 1396–1405.
- [14] Li L, Modolo LV, Escamilla-Trevino LL, et al. Crystal structure of *Medicago truncatula* UGT85H2-insights into the structural basis of a multifunctional (iso) flavonoid glycosyltransferase. *J Mol Biol*, 2007, 370(5): 951–963.
- [15] Brazier-Hicks M, Offen WA, Gershtater MC, et al. Characterization and engineering of the bifunctional N- and O-glucosyltransferase involved in xenobiotic metabolism in plants. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(51): 20238–20243.
- [16] Modolo LV, Li L, Pan H, et al. Crystal structures of glycosyltransferase UGT78G1 reveal the molecular basis for glycosylation and deglycosylation of (iso) flavonoids. *J Mol Biol*, 2009, 392(5): 1292–1302.
- [17] Ma LQ, Liu CM, Yu HS, et al. Salidroside biosynthesis pathway: the initial reaction and glycosylation of tyrosol. *Chin J Biotech*, 2012, 28(3): 282–294 (in Chinese).
马兰青, 柳春梅, 于寒松, 等. 红景天甙生物合成途径: 酪醇合成的起始反应及其糖基化. *生物工程学报*, 2012, 28(3): 282–294.
- [18] Xu JF, Su ZG, Feng PS. Activity of tyrosol glucosyltransferase and improved salidroside production through biotransformation of tyrosol in *Rhodiola sachalinensis* cell cultures. *J Biotechnol*, 1998, 61: 69–73.
- [19] Ma LQ, Liu BY, Gao DY, et al. Molecular cloning and overexpression of a novel UDP-glucosyltransferase elevating salidroside levels in *Rhodiola sachalinensis*. *Plant Cell Rep*, 2007, 26(7): 989–999.
- [20] Yu HS, Ma LQ, Zhang JX, et al. Characterization of glycosyltransferases responsible for salidroside biosynthesis in *Rhodiola sachalinensis*. *Phytochemistry*, 2011, 72(9): 862–870.
- [21] Bolam DN, Roberts S, Proctor MR, et al. The crystal structure of two macrolide glycosyltransferases provides a blueprint for host cell antibiotic immunity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(13): 5336–5341.
- [22] Mittler M, Bechthold A, Schulz GE. Structure and action of the C–C bondforming glycosyltransferase UrdGT2 involved in the biosynthesis of the antibiotic urdamycin. *J Mol Biol*, 2007, 372(1): 67–76.
- [23] Mulichak AM, Losey HC, Lu W, et al. Structure of the TDP-epi-vancosaminyltransferase GtfA from the chloroeremomycin biosynthetic pathway. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(16): 9238–9243.
- [24] Mulichak AM, Losey HC, Walsh CT, et al. Structure of the UDPglucosyltransferase GtfB that modifies the heptapeptide aglycone in the biosynthesis of vancomycin group antibiotics. *Structure*, 2001, 9(7): 547–557.
- [25] Mulichak AM, Lu W, Losey HC, et al. Crystal structure of vancosaminyltransferase GtfD from the vancomycin biosynthetic pathway: interactions with acceptor and nucleotide ligands. *Biochemistry*, 2004, 43(18): 5170–5180.
- [26] Cartwright AM, Lim EK, Kleanthous C, et al. A kinetic analysis of regiospecific glucosylation by two glycosyltransferases of *Arabidopsis thaliana*: domain swapping to introduce new activities. *J Biol Chem*, 2008, 283(23): 15724–15731.

(本文责编 陈宏宇)