

• 应用领域 •

新本草计划——基于合成生物学的药用植物活性代谢物研究

王勇

中国科学院上海生命科学研究院植物生理生态研究所 中国科学院分子植物科学卓越创新中心 中国科学院合成生物学重点实验室, 上海 200032

王勇. 新本草计划——基于合成生物学的药用植物活性代谢物研究. 生物工程学报, 2017, 33(3): 478–485.

Wang Y. New materia medica project: synthetic biology based bioactive metabolites research in medicinal plant. Chin J Biotech, 2017, 33(3): 478–485.

摘 要: 经过近十年的发展, 合成生物学研究的对象从单细胞的生物元件和装置的研究, 逐渐过渡到多细胞的复杂体系。植物合成生物学被称为合成生物学研究的“下一篇章”。从复杂而多样的植物代谢切入进行植物合成生物学研究, 有助于人类在更复杂的层面上理解生命运行的本质规律, 及更深入地认知复杂人造生命的设计和构建的科学及工程原理; 也有望在药用植物活性代谢物的合成生物学设计和创新生产方面实现突破。本文综述了该领域的国内外进展, 并提出新本草计划的研究设想, 通过基于合成生物学的药用植物活性代谢物研究, 使数千年传统的本草学研究焕发新生。

关键词: 新本草计划, 合成生物学, 活性代谢物, 药用植物

Received: October 27, 2016; **Accepted:** December 28, 2016

Supported by: The Deployment Project of CAS Center for Excellence in Molecular Plant Sciences (No. CEMPS2016004), National Basic Research Program of China Program (973 Program) (No. 2012CB721104), National Natural Science Foundation of China (No. 31170101).

Corresponding author: Yong Wang. Tel/Fax: +86-21-54924295; E-mail: yongwang@sibs.ac.cn

中国科学院分子植物科学卓越创新中心部署项目 (No. CEMPS2016004), 国家重点基础研究发展计划 (973 计划) (No. 2012CB721104), 国家自然科学基金 (No. 31170101) 资助。

网络出版时间: 2017-01-17

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1998.Q.20170117.0853.001.html>

New materia medica project: synthetic biology based bioactive metabolites research in medicinal plant

Yong Wang

Key Laboratory of Synthetic Biology, CAS Center for Excellence in Molecular Plant Sciences, Institute of Plant Physiology and Ecology, Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200032, China

Abstract: In the last decade, synthetic biology research has been gradually transited from monocellular parts or devices toward more complex multicellular systems. The emerging plant synthetic biology is regarded as the “next chapter” of synthetic biology. The complex and diverse plant metabolism as the entry point, plant synthetic biology research not only helps us understand how real life is working, but also facilitates us to learn how to design and construct more complex artificial life. Bioactive compounds innovation and large-scale production are expected to be breakthrough with the redesigned plant metabolism as well. In this review, we discuss the research progress in plant synthetic biology and propose the new materia medica project to lift the level of traditional Chinese herbal medicine research.

Keywords: new materia medica project, synthetic biology, bioactive metabolites, medicinal plant

1 合成生物学的下一篇章

合成生物学是基于工程化的原理，设计和改造自然界已有的生命系统，或从头构建自然界没有的人造生命装置或体系。基于对生物系统运行规律的认识，合成生物学使我们有可能以更优化的方式对自然生命重新设计和编程。合成生物学可以作为一项重要的工具和研究手段，以设计和构建的方式提升人类对生命工作原理的理解与操控能力，揭示生命的本质及生命活动的基本规律；同时，通过更优化的方式重新设计生物体，创建超越自然功能的人造生命，推动生物技术颠覆式创新，为解决人类可持续发展过程中所面临的资源、能源、健康、环境和国防等领域的重大挑战提供新的解决方案。

在过去的十年，美国、英国、欧洲和中国等世界主要科学经济强国均在合成生物学上投入了大量人力、物力，并在人工染色体从头合

成和拼装、复杂代谢体系的改造和创建、基因回路设计和构建等领域取得了迅速发展；在高端制造、精准医疗、农业生产等领域展现了巨大的应用前景。经过近十年的发展，合成生物学研究的对象从生物元件、简单装置、基因组到单细胞，逐渐过渡到多细胞的复杂体系。随着研究的发展与深入，植物合成生物学应运而生。

植物合成生物学被称为合成生物学研究的“下一篇章 (Next chapter)”，这是合成生物学发展合乎逻辑的自然结果。与单细胞的微生物相比，多细胞的植物体系富含内膜系统和各种细胞器，植物表面的腺毛是代谢物合成和贮存的重要场所，这一复杂的时空特性，为不同类型的酶和代谢物的合成提供了所需的最适的环境。多细胞植物体系的复杂性，也为我们进行合成生物学研究提供了绝佳的模式体系：从复杂而多样的植物代谢为切入点进行植物合成生物学研究，通过设计获得可定向合成目标代谢

物的植物体系,对理解复杂生命设计的基本原理,具有独特的优势。

2 植物合成生物学的研究进展

植物合成生物学领域在国际上已然引起发达国家的关注。例如,2014年2月,英国生物技术和生物科学研究理事会(BBSRC)和工程与自然科学研究理事会(EPSC)两家机构拨款4000万英镑资助创建3个多学科交叉研究的合成生物学新中心,旨在建立英国国家合成生物学战略的重要组成部分,增强英国在合成生物学领域的研究实力和工业化能力。其中,剑桥大学(Cambridge)和BBSRC旗下的约翰英纳斯中心(John Innes Centre)获得1200万英镑建立了开放植物合成生物学研究中心(Open plant synthetic biology research centre),以开发在植物合成生物学中使用的开放技术。该中心将推出面向国际的DNA注册系统,以共享关于植物特定元器件的信息,并提供简单的测试平台。这项举措通过开发和交换新的基础工具和植物元器件,直接有助于针对植物新性状的遗传操作。此外,该中心还将提供相关论坛,以方便技术交流和开展植物合成生物学对保护自然资源和可持续发展潜在影响等方面的更广泛的讨论。

植物合成生物学的研究也取得了许多进展。如Marillonet等建立了基于Golden Gate的模块化克隆体系^[1-2],可以将多个DNA片段按指定顺序和方向拼接成一个大分子,同时他还将植物研究中常用的启动子、终止子、UTR元件标准化^[2]。除了传统的转基因技术,植物基因组编辑技术也发展迅速,一系列基于TALEN和CRISPR/CAS9的工具载体已经公开,可以对植

物基因组进行精准修饰^[3-6]。另外John Innes Centre的George Lomonosoff建立了基于CPMV-HT的高效瞬时表达系统,可在植物侵染后5d内获得高水平的重组蛋白,已成功应用于代谢途径解析和重构^[7]。美国科罗拉多州立大学Medford等建立的可检测环境中一些特定小分子(例如TNT)的哨兵植物传感器^[8],在拟南芥和玉米中感受细胞分裂素的传感器系统^[9],在烟草中利用拟南芥phytochrome B和PIF6构建的可受红光控制的开关^[10]以及感受病菌侵袭的传感器等^[11]。

对植物活性代谢物的研究,一直是合成生物学领域的热点。通过合成生物技术,在微生物细胞中快速高效地获得珍稀植物的稀有活性成分,这一想法已经得到了验证,青蒿酸合成生物技术前期所取得的成功,为天然产物的研究和开发开辟了一条新的途径。这不仅大大降低了天然药物的生产成本,也为保护珍稀植物资源、药用植物开发和药物开发提供了新的途径。但是青蒿素在后期的产业化过程中也面临着前所未有的挑战。Peplow等2016年在*Nature*上发文指出酵母发酵合成青蒿酸虽然是微生物合成生物学的里程碑之一,但在产业化过程中,实际的生产成本与青蒿种植提取法相比竞争力不足^[12],也从一个侧面说明植物底盘的优势及植物合成生物学的必要性。近年来,研究人员已经开始尝试在植物体内通过重组代谢途径合成有价值的复杂代谢物中间体或终产物。2011年Zhang等将青蒿紫穗槐二烯合酶(Amorphadiene synthase, ADS)和细胞色素P450单加氧酶CYP71AV1转入烟草,检测到紫穗槐二烯和青蒿醇积累,但是没有检测到青蒿酸;而表达青蒿醛双键还原酶(Artemisinic aldehyde $\Delta 11$ (13)

double-bond reductase, DBR2) 可进一步得到二氢青蒿醇^[13]。Farhi 等将 ADS、青蒿 P450 还原酶、CYP71AV1 以及 DBR2 构建在同一载体上转入烟草, 实现了青蒿素的异源合成, 并且通过过表达 MVA 途径限速酶 HMGR、将 ADS 定位到线粒体上的方式, 使青蒿素含量达到 6.8 μg/g 干重^[14]。虽然低于青蒿中的青蒿素含量, 但这是首次在异源植物中重构青蒿素代谢途径, 是植物合成生物学中的重大突破。2016 年, 德国马普所的研究人员开发了一种新的合成生物学方法: COSTREL (Combinatorial supertransformation of transplastomic recipient lines)。他们将青蒿酸的完整合成途径基因整合到烟草叶绿体的基因组中, 在筛选出的最佳的叶绿体转化烟草中, 在细胞核 DNA 中再导入一系列可调节物质代谢的其他基因, 最终获得了 120 mg 青蒿酸/kg 生物量^[15]。Malhotra 等则通过将青蒿素合成途径分区化地定位于烟草细胞的叶绿体、细胞核及线粒体中, 获得了 0.8 mg/g 干重的青蒿素。部分纯化的烟草提取物可在体外抑制恶性疟原虫感染的红细胞的生长。在小鼠模型中, 与商业化的药物相比, 通过口服饲喂完整的烟草植物细胞可减少寄生虫血症的水平^[16]。

植物源活性代谢物研究的一个难点在于解析这些次生代谢物的生物合成途径, 所有合成生物学的设计也正是基于这一过程和机制的解析。微生物中的次生代谢合成途径往往以基因簇的形式存在于染色体上, 这种成簇的排列非常利于对某一代谢物生物合成途径的解析、生物元器件的挖掘或后续的工程化设计。因此, 基于元件挖掘、元件的模块化设计和操作的组合生物合成研究在微生物来源的次生代谢物中已有许多成功的先例。近年来随着植物基因组

研究的深入, 发现在植物来源的次生代谢物中, 某些特定产物的生物合成基因在染色体上也存在成簇排列的现象^[17]。这一发现也为植物次生代谢物合成途径的解析和工程化设计提供了新的可能性。

高通量测序技术快速发展, 产生了植物基因组和转录组的大量信息, 为解析植物次生代谢途径提供了有力工具, 推动了植物活性代谢物合成生物学的发展。例如在抗肿瘤生物碱 noscapine 的合成途径解析过程中, Winzer 等通过分析不同品种罂粟的转录组数据, 从 noscapine 高产的罂粟 *Papaver somniferum* 品种 HN1 中, 发现在编码 5 个酶家族的 10 个基因显著高表达, 且在基因组中以基因簇的形式存在^[18]。利用病毒诱导的基因沉默技术, 作者证明了这 10 个基因编码组成了 noscapine 的生物合成途径。Lau 等分析了损伤叶片的转录组数据, 筛选得到 29 个候选基因, 利用烟草鉴定了 6 个 etoposide 合成途径中的新基因, 并进一步在烟草中成功地重建了 etoposide 合成途径^[19]。Ignea 等在酵母中建立了植物源二萜鼠尾草酸的片段化生物合成途径, 并以酵母作为功能筛选平台, 鉴定了鼠尾草酸生物合成所需要的 4 个细胞色素羟化酶基因, 阐明了鼠尾草酸的生物合成途径^[20]。Qu 等通过分析长春花叶片表皮细胞 EST 数据并结合病毒诱导的基因沉默技术鉴定了长春新碱生物合成途径中的 3 个酶编码基因, 并证明了不同的中间体在植物叶片的不同组织中合成^[21]。

植物次生代谢物种类繁多且结构复杂, 虽然大多具有共同的前体合成途径, 但后修饰则高度特异性和多样性, 因此需要逐个解析。植物的基因组庞大, 且修饰酶如 P450 单加氧酶、

醇脱氢酶、糖基转移酶、氧化还原酶等通常有数十个或数百个序列相似度很高,但功能高度分化的基因编码。这些酶的编码基因通常不是成簇存在于植物的基因组。因此,从大量基因中快速找到特定合成途径基因并鉴定催化功能是植物合成学领域的重点之一,也是该领域的难点。到目前为止,生物合成途径完全得以解析的植物活性代谢物还很少,即使一些著名的化合物,其合成途径仍然存在未知,如一线抗肿瘤药物紫杉醇的途径上还缺少 4-5 步关键酶基因;青蒿素的过氧桥的形成仍然未知等。这些关键合成酶编码基因的缺失,正成为药用植物活性次级代谢物合成生物学设计的最大障碍。

3 基于合成生物学的药用植物活性代谢物研究

植物来源的次级代谢产物一直是药物开发的重要源泉,世界上的药品绝大多数直接或间接地来源于植物,药用植物占药用资源的比例达 87%。药用植物中所蕴含的活性成分类型多种多样,涉及到的次生代谢途径也十分复杂。传统的药用植物研究和开发多利用植物提取物进行植物化学和药理学研究,这一方式严重依赖于植物资源的获取和消耗,面临着野生植物资源匮乏、生长缓慢、难于人工栽培、遗传操作困难等诸多难题,无论是传统的植物资源,还是一些特别珍稀、濒危的植物资源,都不能满足需求。合成生物学将为植物源天然产物的研究、开发、植物资源的可持续利用和发展,开辟一条全新而高效的途径。

我国是药用植物资源和生产大国,有数千年的药用植物研究、开发和应用的传统和历史,历代本草学著作延绵不断,有深厚的理论与实

践积累。近年来,植物来源的天然产物提取物发展迅猛,已成为我国中医药产品出口的主力,占我国中药产品出口总额的 47%,品种涵盖了色素、天然甜味剂、膳食补充剂、药用原料以及化妆品用精油等诸多类别。可以说,植物源的活性代谢物在中国生物制造、医药、食品等行业中具有特别重要的地位。与此同时,目前我国列入保护范围的野生植物有 300 多种,其中药用植物占了一半以上;而另一方面,临床经常使用的 700 多种植物药材中,绝大多数仍来自于野生资源。通过合成生物技术,迅速提升我国药用植物资源的开发利用能力,实现传统天然产物产业的技术升级换代,提升行业水平,提高其国际竞争力已势在必行。

在全球范围内已发现的 42 万种植物中,具有药用价值的植物约为 5 万余种。虽然经过数百年的努力,但经现代科学系统研究和开发的植物尚不足 2%。尽管人类已知的天然产物的数量已经超过 50 万种,但绝大多数天然产物的生物合成途径没有得到解析。即使是许多已广泛应用的植物源活性天然产物,我们对其活性分子的生物合成、转运和调控的过程及分子机制知之甚少。这不仅是阻碍药用植物活性产物开发的瓶颈,也是合成生物学设计的一大障碍。合成生物学要应用于药用植物小分子活性产物的开发和制造,使得传统的本草学研究重新焕发生机,希望和挑战并存,迫切需要解决这些问题。立足于药用植物中天然产物生物合成过程的认知,利用不断发展的信息学及生物技术,丰富合成生物学工具箱、开发和改造更合适的底盘,方能实现植物天然产物的合成生物学愿景。基于此,药用植物合成生物学的基础研究与工程化研究迫在眉睫,我们提出新本草计划

的研究设想,通过基于合成生物学的药用植物活性代谢物研究,回答两个关键科学和技术问题:1)植物活性代谢物生物合成、转运及其调控的机制是什么?2)如何通过合成生物学的设计及工程化方法实现植物体系中活性代谢物的高效定向合成?

通过药用植物合成生物学的研究,不但有助于人类在更复杂的层面上理解生命运行的本质规律,更深入地认知复杂人造生命的设计和构建的科学及工程原理;同时,通过该项研究,有望在药用植物活性代谢物的生物合成过程解析及合成生物学设计和创新生产方面实现突破,为药用植物活性代谢物的进一步研究和开发提供方法、材料和技术支撑,也为药物开发、植物生理和生物工程制造等相关学科奠定研究基础。

在建国以来数十年的研究开发中,我国已经积累了一大批具有自主知识产权的药用植物活性代谢物以及天然产物物种和基因资源。随着技术的发展,我国科学家在药用植物基因组研究和次生代谢途径解析方面已经取得了一些进展。如中国医学科学院药用植物研究所陈士林课题组已完成赤芝、茯苓、紫芝、丹参、人参和三七等药用植物物种的基因组精细图绘制或转录组学研究^[22-24];中国中医科学院黄璐琦等课题组部分解析了丹参酮的生物合成途径中的 miltiradiene 合成酶 (SmKSL)、CYP76AH1、CYP76AH3、CYP76AK1 等基因,并获得了中间体^[25-27]。中国农业科学院蔬菜花卉研究所黄三文课题组通过对黄瓜全基因组关联分析,发现黄瓜中葫芦素 (Cucurbitacins) 合成途径基因簇,以及调控葫芦素合成途径的转录因子 B1 和 Bt^[28]。在棉酚代谢途径解析过程中,中国科学

院植物生理生态研究所的陈晓亚研究员团队在烟草中重构棉酚代谢途径。通过在本氏烟草中表达 Farnesyl pyrophosphate synthase (FPS), (+)-delta-cadinene synthase (CDN), CYP706B1, D24 (alcohol dehydrogenase), CQ1 (P450) 以及 TX10 (P450), 已成功获得一系列代谢中间体,并通过改变 FPS、CDN 等蛋白的亚细胞定位显著提高了化合物含量 (未发表数据)。

2010 年以来,我国科技部“973”、“863”计划均部署了与合成生物学相关的研究项目,并在合成生物技术的应用研究方面取得了一系列突破。其中,与植物天然产物合成有关的成果包括,中国科学院大连化物所利用前期建立的“模块途径工程策略”重新组装代谢途径,构建了新型酿酒酵母工程菌,提高了丹参酮前体次丹参酮二烯的产量^[29]。中国科学院合成生物学重点实验室通过解析和挖掘贝壳杉烯母核四环二萜类化合物生物合成途径中的未知基因,重构了甜菊苷类化合物的合成途径,实现了该类化合物的合成生物学制造^[30];通过挖掘鉴定 UDP-糖基转移酶元件,在酵母底盘细胞实现了从单糖到稀有人参皂苷 CK 的生物合成,并开始进行药物转化相关研究^[31-33]。但这些研究均是以单细胞的微生物为底盘,取得了有限的突破。但仍然存在许多问题,如对特定化合物的生物合成途径的解析不够,尚未能解析最终活性产物的合成途径;由于微生物底盘的局限性,如对植物来源的细胞色素 P450 酶系表达性差、对活性产物的耐受性差等原因,多数体系不能获得最终的活性产物或产量很低。植物细胞中存在复杂的膜结构和细胞器,其中的代谢途径高度区域化,同一途径中的酶经常分布在不同的内膜系统中,代谢中间产物需要运输

和扩散到其他结构中才能完成代谢过程。目前对于植物细胞内中间体化合物的运输和扩散机制, 以及不同细胞器中的酶如何协同高效地进行催化了解很少。另外, 不同细胞器和内膜系统中的 pH 值、氧化还原环境、离子环境、辅酶种类和浓度都不完全相同, 在代谢网络分析和建模时不仅需要优化基因表达强度和蛋白丰度, 还要考虑酶的亚细胞定位以及周围环境, 增加了植物合成生物学设计和建模的难度, 这些都是目前迫切需要解决的问题。

综上所述, 立足于中国数千年药用植物研究的传统, 面向未来, 如何使传统的本草学研究焕发新生, 与时俱进? 基于合成生物学的植物活性代谢物研究, 有望全面提升我国的合成生物学研究和植物活性代谢物开发水平; 也有机会使我国在合成生物学和药用植物研究方面取得引领性的突破。我们急需通过这类研究, 全面提升植物合成生物学使能技术 (Enabling technology) 水平, 并突破一批重要天然产物产品的合成生物创制, 实现我国相关领域的转型和技术升级。

REFERENCES

- [1] Engler C, Kandzia R, Marillonnet S. A one pot, one step, precision cloning method with high throughput capability. *PLoS ONE*, 2008, 3(11): e3647.
- [2] Engler C, Youles M, Gruetzner R, et al. A golden gate modular cloning toolbox for plants. *ACS Synth Biol*, 2014, 3(11): 839–843.
- [3] Feng ZY, Zhang BT, Ding WN, et al. Efficient genome editing in plants using a CRISPR/Cas system. *Cell Res*, 2013, 23(10): 1229–1232.
- [4] Xie KB, Yang YN. RNA-guided genome editing in plants using a CRISPR-Cas system. *Mol Plant*, 2013, 6(6): 1975–1983.
- [5] Xing HL, Dong L, Wang ZP, et al. A CRISPR/Cas9 toolkit for multiplex genome editing in plants. *BMC Plant Biol*, 2014, 14: 327.
- [6] Woo JW, Kim J, Kwon SI, et al. DNA-free genome editing in plants with preassembled CRISPR-Cas9 ribonucleoproteins. *Nat Biotechnol*, 2015, 33(11): 1162–1164.
- [7] Sainsbury F, Lomonosoff GP. Extremely high-level and rapid transient protein production in plants without the use of viral replication. *Plant Physiol*, 2008, 148(3): 1212–1218.
- [8] Antunes MS, Morey KJ, Smith JJ, et al. Programmable ligand detection system in plants through a synthetic signal transduction pathway. *PLoS ONE*, 2011, 6(1): e16292.
- [9] Zürcher E, Tavor-Deslex D, Lituiev D, et al. A robust and sensitive synthetic sensor to monitor the transcriptional output of the cytokinin signaling network in planta. *Plant Physiol*, 2013, 161(3): 1066–1075.
- [10] Müller K, Siegel D, Rodriguez Jahnke F, et al. A red light-controlled synthetic gene expression switch for plant systems. *Mol Bio Syst*, 2014, 10(7): 1679–1688.
- [11] Liu WS, Mazarei M, Rudis MR, et al. Bacterial pathogen phytosensing in transgenic tobacco and *Arabidopsis* plants. *Plant Biotechnol J*, 2013, 11(1): 43–52.
- [12] Peplow M. Synthetic biology's first malaria drug meets market resistance. *Nature*, 2016, 530(7591): 389–390.
- [13] Zhang YS, Nowak G, Reed DW, et al. The production of artemisinin precursors in tobacco. *Plant Biotechnol J*, 2011, 9(4): 445–454.
- [14] Farhi M, Marhevka E, Ben-Ari J, et al. Generation of the potent anti-malarial drug artemisinin in tobacco. *Nat Biotechnol*, 2011, 29(12): 1072–1074.
- [15] Fuentes P, Zhou F, Erban A, et al. A new synthetic biology approach allows transfer of an entire metabolic pathway from a medicinal plant to a biomass crop. *eLife*, 2016, 5: e13664.
- [16] Malhotra K, Subramanian M, Rawat K, et al. Compartmentalized metabolic engineering for artemisinin biosynthesis and effective malaria treatment by oral delivery of plant cells. *Mol Plant*, 2016, 9(11): 1464–1477.
- [17] Boycheva S, Daviet L, Wolfender JL, et al. The rise of operon-like gene clusters in plants. *Trends Plant*

- Sci, 2014, 19(7): 447–459.
- [18] Winzer T, Gazda V, He Z, et al. A *Papaver somniferum* 10-gene cluster for synthesis of the anticancer alkaloid noscapine. *Science*, 2012, 336(6089): 1704–1708.
- [19] Lau W, Sattely ES. Six enzymes from mayapple that complete the biosynthetic pathway to the etoposide aglycone. *Science*, 2015, 349(6253): 1224–1228.
- [20] Ignea C, Athanasakoglou A, Ioannou E, et al. Carnosic acid biosynthesis elucidated by a synthetic biology platform. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113(13): 3681–3686.
- [21] Qu Y, Easson ML, Forese J, et al. Completion of the seven-step pathway from tabersonine to the anticancer drug precursor vindoline and its assembly in yeast. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112(19): 6224–6229.
- [22] Chen SL, Xu J, Liu C, et al. Genome sequence of the model medicinal mushroom *Ganoderma lucidum*. *Nat Commun*, 2012, 3: 913
- [23] Xu ZC, Peter RJ, Weirather J, et al. Full-length transcriptome sequences and splice variants obtained by a combination of sequencing platforms applied to different root tissues of *Salvia miltiorrhiza* and tanshinone biosynthesis. *Plant J*, 2015, 82(6): 951–961.
- [24] Chen SL, Song JY, Sun C, et al. Herbal genomics: examining the biology of traditional medicines. *Science*, 2015, 347(6219): S27–S29.
- [25] Gao W, Hillwig ML, Huang LQ, et al. A functional genomics approach to tanshinone biosynthesis provides stereochemical insights. *Org Lett*, 2009, 11(22): 5170–5173.
- [26] Guo J, Zhou YJ, Hillwig ML, et al. CYP76AH1 catalyzes turnover of miltiradiene in tanshinones biosynthesis and enables heterologous production of ferruginol in yeasts. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110(29): 12108–12113.
- [27] Guo J, Ma XH, Cai Y, et al. Cytochrome P450 promiscuity leads to a bifurcating biosynthetic pathway for tanshinones. *New Phytol*, 2016, 210(2): 525–534.
- [28] Shang Y, Ma YS, Zhou Y, et al. Plant science. Biosynthesis, regulation, and domestication of bitterness in cucumber. *Science*, 2014, 346(6213): 1084–1088.
- [29] Zhou YJ, Gao W, Rong QX, et al. Modular pathway engineering of diterpenoid synthases and the mevalonic acid pathway for miltiradiene production. *J Am Chem Soc*, 2012, 134(6): 3234–3241.
- [30] Wang JF, Li SY, Xiong ZQ, et al. Pathway mining-based integration of critical enzyme parts for *de novo* biosynthesis of steviol glycosides sweetener in *Escherichia coli*. *Cell Res*, 2016, 26(2): 258–261.
- [31] Yan X, Fan Y, Wei W, et al. Production of bioactive ginsenoside compound K in metabolically engineered yeast. *Cell Res*, 2014, 24(6): 1–4.
- [32] Wei W, Wang PP, Wei YJ, et al. Characterization of *Panax ginseng* UDP-glycosyltransferases catalyzing protopanaxatriol and biosynthesis of bioactive ginsenosides F1 and Rh1 in metabolically engineered yeasts. *Mol Plant*, 2015, 8(9): 1412–1424.
- [33] Wang PP, Wei YJ, Fan Y, et al. Production of bioactive ginsenosides Rh2 and Rg3 by metabolically engineered yeasts. *Metab Eng*, 2015, 29: 97–105.

(本文责编 陈宏宇)

王勇 博士，中国科学院上海生命科学研究院植物生理生态研究所研究员，中科院“百人计划”，博士生导师，中科院合成生物学重点实验室副主任，上海市生物工程学会常务理事，中国微生物学会分子微生物与生物工程专业委员会委员。主要研究方向为天然产物的合成生物学，研究内容涉及天然产物生物合成途径的解析、合成生物学设计与异源合成等。近年来发表论文 60 余篇，申请专利 8 项。

