

# Advances in the Biosynthesis Research of Ginsenosides and Key Enzymes

Jia Liu, Zhonghua Tang\*

Key Laboratory of Forest Plant Ecology, Ministry of Education, Northeast Forestry University, Harbin  
Email: [tangzh@nefu.edu.cn](mailto:tangzh@nefu.edu.cn)

Received: Feb. 28<sup>th</sup>, 2014; revised: Mar. 29<sup>th</sup>, 2014; accepted: Apr. 11<sup>th</sup>, 2014

Copyright © 2014 by authors and Hans Publishers Inc.  
This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).  
<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## Abstract

Ginsenosides are the major bioactive ingredients of rare traditional Chinese herbs of *Panax ginseng* and belong to specific types of triterpene saponins. There is much evidence that ginsenosides exert beneficial effects in a wide range of pathological conditions such as cardiovascular diseases, cancer, immune deficiency, and aging. It was reported that about 20 key enzymes and the encoding genes related to the biosynthesis of ginsenosides from *Panax* genus plants have been identified. This paper summarizes new progress in ginseng secondary metabolic pathways and genes of the key enzyme, focusing on the biosynthesis pathway of ginsenosides. In addition, the newly cloned and functionally identified genes encoding those key enzymes in the ginsenosides biosynthesis pathway are introduced in detail.

## Keywords

Ginsenosides, Biosynthesis, *Panax Ginseng*, Key Enzymes

# 人参皂苷生物合成途径及关键酶的研究进展

刘 佳, 唐中华\*

东北林业大学森林植物生态学教育部重点实验室, 哈尔滨  
Email: [tangzh@nefu.edu.cn](mailto:tangzh@nefu.edu.cn)

收稿日期: 2014年2月28日; 修回日期: 2014年3月29日; 录用日期: 2014年4月11日

\*通讯作者。

## 摘要

人参皂苷是名贵药材人参中的主要有效成分，属于三萜类皂苷化合物，由于其具有改善记忆力、延缓衰老、抗氧化、抗炎作用以及抗肿瘤作用，近年来得到了广泛关注。在人参皂苷生物合成途径解析及其反应机制研究方面，目前已从人参属植物中克隆到20多个与人参皂苷生物合成相关的关键酶基因。本文综述了近年来国内外学者对人参次生代谢途径及关键酶基因研究的新进展，重点阐述了人参皂苷的生物合成途径，针对途径中新发现的关键酶及编码基因进行了详细的介绍。

## 关键词

人参皂苷，生物合成，人参，关键酶

## 1. 引言

人参(*Panax ginseng* C.A. Meyer)，属五加科人参属植物，是名贵的中草药材之一，被公认为药中之王[1]。主要分布于中国东北部，韩国、美国和日本[2]。由于人参的主要生物活性具有降血糖、调节免疫系统、提高免疫力、延缓衰老、抗癌、抗炎以及抗氧化的作用，因此在中国主要作为一种养生药材供给人们食用，甚至有的作为化妆品添加材料，而在美国、韩国和日本除了作为药材，还作为一种营养食品和饮品供人们食用[2]-[4]。人参会有如此广泛的生理和药理活性主要是由于它的次生代谢产物人参皂苷。到目前为止，已经有60余种的人参单体皂苷被分离出来并最终确定其结构。人参皂苷属于三萜类物质，是由糖和苷元相连而成的糖苷类化合物。由于苷元不同，人参皂苷可有3类组成：1) 皂苷元由齐墩果酸构成的齐墩果烷型皂苷 Ro；2) 人参二醇型皂苷 Rb1、Rb2、Rc、Rd、Rg3 和 Rh2 等；3) 人参三醇型皂苷 Re、Rg1、Rf 和 Rh1 等。人参二醇型皂苷与人参三醇型皂苷都属于达玛烷型皂苷[5] [6]。而每种单体皂苷的药性活性是不同的，如 Rb1 具有增强胆碱系统的功能，改善记忆力作用等[7]。Rc 是一种人参中的固醇类分子，具有抑制癌细胞的功能等[8]。Rd 对心脑血管、神经系统以及肾功能具有良好的药理作用[9]。Rg3 可调节疲劳、舒张血管、提高免疫力以及抗肿瘤等[10]。Rg1 可快速缓解疲劳、延缓衰老、改善学习记忆等[11]。尽管人参皂苷具有如此多的药物活性，但其在人参中的含量较低，有些皂苷的含量甚至微乎其微的[12]。为了满足日益增长的医药及研发要求，近年来国内外学者应用基因工程和分子生物学方法，重组药用次生代谢物生物合成途径的研究已有初步的研究和实践[13]。深入计时人参皂苷生物合成途径，对提高人参皂苷生产效率，是一个非常具有吸引力的策略。本文就针对人参皂苷生物合成研究进展进行了综述，并通过前人的研究与发现展望了人参皂苷生物合成的发展前景及意义。

## 2. 人参皂苷的生物合成途径

人参皂苷生物合成途径的上游是 IPP(异戊烯焦磷酸)和 DMAPP(二甲基烯丙基焦磷酸)的合成，其合成过程是有两分子乙酰辅酶 A 在其转移酶乙酰辅酶 A 酰基转移酶(AACT)的催化下通过缩合生成了乙酰辅酶 A，随后在(HMG-CoA)合成酶催化下继续与乙酰辅酶 A 缩合形成了 3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A (HMG-CoA)，此反应是需要  $Fe^{2+}$  和质体醌共同协助下才可完成[14]。MVA 途径中的第一个关键步骤就是在 NADPH 的协同下，通过 HMGR 催化 HMG-CoA 生成了具有 6 碳中间体甲羟戊酸(MVA)。随之而来的是在 ATP 存在下，MVA 被甲羟戊酸激酶(MVK)和磷酸甲羟戊酸激酶(PMK)依次催化生成磷酸甲羟戊酸(MVAP)和焦磷酸甲羟戊酸(MVAPP)。而异戊烯焦磷酸(IPP)的形成则是由焦磷酸甲羟戊酸(MVAPP)通过

脱羧酶(MVD)催化 MVAPP 使其脱羧而形成的。随后在 IPP 通过异戊烯焦磷酸异构酶(IDI)的催化下, 将 C-2 的质子转移到 C-4 形成具有活性异构体的二甲基烯丙基焦磷酸(DMAPP)[15]。总而言之, 人参皂苷生物合成途径的上游是通过糖酵解所得的乙酰辅酶 A 作为最初原供体, 经过甲羟戊酸中间物合成萜类成分在生物体内合成的真正前体 IPP 和 DMAPP。

人参皂苷生物合成途径的中游途径是三萜碳环骨架合成的途径, 达玛烷型和齐墩果酸型的碳环骨架的形成是将具有活性的二甲基烯丙基焦磷酸(DMAPP)作为起始单位, 通过萜类环化酶和烯丙基转移酶的催化后所构建的。C<sub>10</sub> = 牛儿基焦磷酸(GPP)合成酶、C<sub>15</sub> 法呢基焦磷酸(FPP)合成酶和 C<sub>20</sub> = 牛儿基 = 牛儿基焦磷酸(GGPP)合成酶均属于烯丙基转移酶, 它们的区别在于丙烯基底物的长度不同。C<sub>10</sub> = 牛儿基焦磷酸(GPP)是通过 DMAPP 的 C<sub>5</sub> 骨架和其异构体 IPP 在牻牛儿基焦磷酸合成酶(GPPS)的作用下按照头 - 尾方式缩合而生成。C<sub>15</sub> 法呢基焦磷酸(FPP)是在法呢基焦磷酸合成酶(FPPS)作用下, GPP 和第二个 IPP 缩合生成。然而 C<sub>20</sub> = 牛儿基 = 牛儿基焦磷酸(GGPP)则是通过 FPP 与第三个 IPP 缩合而成的一种烯丙基转移酶[15]。随后, 两分子的 C<sub>15</sub> 法呢基焦磷酸头 - 头还原偶联后生成 C<sub>30</sub> 骨架的角鲨烯, 这一过程是在角鲨烯合成酶(SS)催化的分子内进行的环化反应, 与烯丙基转移酶的作用方式是不同的, 它是首先通过头 - 头相接形成一个环丙基中间产物, 所谓的前角鲨烯, 然后再转化成 C<sub>30</sub> 的产物[16] [17]。最后经过鲨烯环氧酶(SE)催化转化形成是异戊二烯途径的终产物。

齐墩果酸型和达玛烷型人参皂苷的合成是人参皂苷生物合成途径的下游途径, 在人参皂苷生物合成的中游途径最终生成了甾醇和三萜等代谢产物生物合体的共同前体 2,3-氧化鲨烯[18]-[20]。2,3-氧化鲨烯在环化酶(OSC)的作用下生成植物甾醇和三萜类骨架, 在人参中, 氧化角鲨烯环化酶(OSC)家族包括  $\beta$ -香树酯合酶( $\beta$ -AB)、环阿屯醇合酶(CS)和达玛烷合酶(DS), 分别位于固醇和三萜生物合成途径的分支点上。根据三萜苷元存在的骨架结构不同, 导致人参皂苷存在两种型: 一种是达玛烷型, 而另一种则是齐墩果酸型两类, 此外达玛烷型无论是在含量上, 还是在结构多样性上均高于齐墩果酸型[21]-[23]。植物固醇的前体则是由 CAS 催化形成的环阿屯醇, 而人参皂苷的前体则是由  $\beta$ -香树酯合酶( $\beta$ -AS)和达玛烷合酶(DS)催化, 但是其中  $\beta$ -香树酯合酶( $\beta$ -AS)则为齐墩果烷型人参皂苷的合成提供了四环骨架, 与此同时达玛烷型人参皂苷合成则是由达玛烷合酶(DS)提供了达玛烷四环骨架并存在着细胞色素 P450 通过单加氧酶、糖基转移酶和糖苷酶等化学修饰[24]。

### 3. 人参皂苷生物合成途径中的关键酶

近年来, 由于人参皂苷在人参体内含量甚微, 科学家们对人参皂苷的生物合成途径进行了大量的研究, 目的是为了有效的利用系统生物技术大量生产人参中有药用价值的人参皂苷, 并取得了一些进展, 尽管目前对人参皂苷的生物合成途径已有了基本的认识[25] [26], 然而对于起到重要作用的关键酶的功能和调控机制仍处在研究和推测的阶段。人参皂苷的生物合成途径包括 20 多步的连续酶促反应。其中十分重要的几种关键酶为: 3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A 还原酶、法呢基焦磷酸合酶、角鲨烯合酶、鲨烯环氧酶、达玛烯二醇-II 合酶、 $\beta$ -香树素合酶、植物细胞色素 P450 和糖基转移酶[5]。

1) 3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A 还原酶(HMGR)是 MVA 途径中的关键酶之一, 通过催化 HMG-CoA 从而形成 MVA, HMGR 被认为是 MVA 途径中的第一个限速酶, 同时是萜类化合物合成过程中最先起作用的关键酶。Wu[27]等还发现该基因与从其他许多植物中克隆到的 HMGR 基因具有很高的同源性, 尤其是同源性可以达到 83.8%的喜树的 HMGR。而喜树中存在的喜树碱的生物合成是要通过 MVA 途径, 由此可推断 HMGR 基因与人参皂苷生物合成有着密切的相关性。虽然 HMGR 是人参皂苷生物合成途径中的一个上游酶, 但是作为一个可调节 MVA 途径的关键酶, HMGR 也可以通过影响人参皂苷两个前体(IPP 和 DMAPP)的产量而最终影响人参皂苷的生物合成。

2) 法呢基焦磷酸合酶(FPS)可作为一分子的 IPP 和 GPP 合成 FPP 的催化剂, Kim 等通过从人参根中克隆得到编码 FPS 的基因 PgFPS, 通过 Southern blot 分析表明, 人参中含有两个以上 FPS 编码基因。PgFPS 在大肠杆菌中的表达充分证明了重组蛋白具有 FPS 的活性。Kim[28] [29]等又通过将人参的 PgFPS 基因转移到积雪草毛状根中并在根中使其过量表达, 结果发现积雪草达玛烷合成酶的 mRNA 水平显著提高, 三萜皂苷羟基积雪草苷和积雪草皂苷的含量瞬时上升。上述结论表明, FPS 在三萜类化合物的生物合成中扮演着十分重要的角色, 是运用合成生物技术提高人参皂苷含量的一个关键酶。

3) 角鲨烯合酶(SS)作为类异戊二烯途径限制酶, 催化甾醇和三萜类化合物合成的起始步骤, 其含量和活性对于人参皂苷的最终产量起着非常重要的作用。国外学者 Lee[30]等将人参叶作为试验材料从构建的 cDNA 文库中克隆得到了 SS 基因 PgSS1, PgSS1 基因在人参中过度表达可导致甾醇和人参皂苷的合成, 这是首次报道 SS 基因是三萜类化合物生物合成的调节基因。Lee[16]等推测, SS 在转基因植物中过量的表达很有可能激发甾醇和人参皂苷生物合成中下游基因的转录, 从而提高人参皂苷的含量。Kim[30]等通过采用不定根作为试验材料构建的表达序列标签文库中克隆得到了与 PgSS1 为同源基因的另外两个基因: PgSS2 和 PgSS3。通过原位杂交分析表明, PgSS1、PgSS2 和 PgSS3 在人参不同器官中的转录水平是各不相同的, 其试验结果表明这三个 SS 基因虽然表达模式不同但都参与人参的鲨烯合成。综上所述, SS 可以利用合成生物学技术作为提高人参皂苷产量的一个非常重要的元器件。

4) 鲨烯环氧酶(SE)作为三萜类皂苷生物合成途径中的重要限速酶, 催化着甾醇和三萜类生物合成的第一步氧化反应, 相关试验研究认为, 三萜皂苷的生成量与 SQE 基因 mRNA 表达量呈正相关。研究发现人参 SQE 基因与刺五加、三七等植物 SQE 基因序列同源性达到了 90% 以上, 它们同属于对植物三萜类化合物形成与积累起到重要调控作用的鲨烯环氧酶家族。国外学者 Han 等从 cDNA 文库中克隆到了 PgSQE1 和 PgSQE2 两个 SE 基因, 在转基因人参根中利用 RNA 干扰(RNAi)技术 PgSQE1 的沉默导致 PgSQE2 和环阿屯醇合酶(cycloartenol synthase, CAS)的表达量上调, 从而导致甾醇的含量提高。于此同时沉默基因 SQE 导致了人参中三萜类皂苷含量急剧下降, 结果表明 PgSQE1 和 PgSQE2 具有不同的调控机制, 沉默基因 PgSQE1 只参与人参皂苷的合成, 而与甾醇的产生无关[31]。此外, 蒋世翠等针对西洋参 14 个组织器官中总皂苷和单体皂苷量的差异进行分析, 同时还分析了 SS 和 SE 基因在 14 个组织或器官的表达量, 结果发现 SS 和 SE 的基因表达量具有非常显著地差异, 并与人参皂苷 Re、Rg1、Rb1、Rd 和总皂苷量之间存在着正态分布[32]。由此可见, SS 和 SE 在人参皂苷生物合成途径中都起着极其重要的作用。

5) 达玛烯二醇-II 合酶(DS)在它的催化下 2,3-氧化角鲨烯环化为达玛烯二醇, 被认为是人参皂苷生物合成中最重要关键酶。Tansakul[18]等通过同源碱基 PCR 的方法突破性的克隆得到了 DS-II 的 cDNA 序列, 并使其在羊毛固醇合成酶的酵母中表达, LC-MS 和 NMR 的数据分析发现有大量的达玛烯二醇合成。最近, 有研究人员利用 RT-PCR 技术克隆出了 DS 的基因, 这个达玛烯-II 合酶包含一个 2310bp 的编码 770 个氨基酸的多肽 ORF。此外, DS 被 RNA 干扰在转基因人参根中可沉默 DS 的表达。从而导致了转基因人参根中皂苷产量减少至 84.5%。这些研究表明, DS 作为人参皂苷生物合成的一个重要元器件, 因此 DS 过度的表达, 可导致人参皂苷的生物合成大幅度提升。

6) 在  $\beta$ -香树酯合酶( $\beta$ -AS)的催化作用下 2,3-氧化角鲨烯可环化为 B-香树素, 是迄今为止发现的唯一一种合成齐墩果烷型人参皂苷 Ro 的关键酶。Kushiro[22]等采用同源碱基 PCR 的方法从人参毛状根中首次成功克隆出了  $\beta$ -AS 的 cDNA 序列 PNY, 其全长序列为 2289 个核苷酸, 编码 763 个氨基酸。赵寿经等利用 RT-PCR 技术从人参毛状根的总 RNA 中扩增出了  $\beta$ -AS 基因, 并成功的建造了人参  $\beta$ -AS 基因的反义植物表达载体。由于  $\beta$ -AS 作为合成齐墩果烷型人参皂苷 Ro 的关键酶, 因此通过采用遗传工程技术的专一性为获得人参皂苷 Ro 提供了有效手段。

7) 植物细胞色素 P450 是由少数几个超基因家族之一编码的含有血红素的氧化酶类, 参与多种生物过程, 包括三萜皂苷次生代谢的后修饰过程。其中在人参皂苷的生物合成中, 细胞色素 P450 主要对碳环骨架进行羟基化, 氧化和糖基化等复杂修饰作用, 在这种复杂的修饰过程后就是形成结构多样性的主要因素。近年来, 为了鉴定 CYP450 对人参皂苷生物合成途径中所起的重要作用, 不少课题组通过大量实验加以证明其功能[33]。Seki 和 Shibuya 等人通过 CYP88D6 催化甘草(*Glycyrrhizauralensis*) $\beta$ -AS C-11 位的氧化反应; 大豆(*Glycine max*) $\beta$ -AS 和 sophoradiol C-24 位被 CYP99E1 羟基化, 这一系列实验结果充分鉴定了 CYP450s 对于齐墩果烷型人参皂苷合成途径的重要性[34] [35]。Han 等得到了 9 个候选 CYP450 全长基因, 并发现其中一种基因不仅可以使茉莉酸甲酯诱导表达量增强, 而且还导致转入过量表达 SS 基因的转基因人参后能使人参根中皂苷的产量显著提高[36]。上述关于 CYP450 对人参皂苷合成相关性的研究进展, 极大的推动了人参皂苷合成途径的研究。

8) 糖基转移酶(GT)人参皂苷生物合成的最后一步就是由 GT 催化的糖基化反应, 其主要的反应过程是将核苷二磷酸活性的糖分子转化到人参皂苷苷元底物上, 最终形成糖苷键。糖基化的作用是可以增强人参皂苷的稳定性以及水溶性, 这一糖基化反应过程也决定了人参皂苷的多样性。因此, GT 是人参皂苷代谢途径上的一个十分重要的酶。Yue 等通过从三七悬浮细胞中获得了一种能将 Rd 转化为 Rb1 的 GT[37]。此外, 陈欣等通过采用酶学特征对从人参毛状根中提取分离得到的 GT 进行了初步研究[38]。但到目前为止人们尚未从人参属植物中克隆出 GT 基因。糖基化反应时人参皂苷生物合成途径中最下游的步骤, 对其进行深入研究对获取较高价值的人参皂苷具有非常重要的意义。

#### 4. 展望

人参植物可产生多种人参皂苷, 包括起到抗肿瘤作用的 Rh2、Rg3 和 Rc, 以及具有抗疲劳、延缓衰老、改善记忆力的 Rg、Rg1 和 Rb1, 人参皂苷的生物合成途径是受多种条件因素共同协调的非静止变化过程, 其合成途径中所涉及的多种中间产物、分支点和多种关键性的酶导致其合成过程的复杂性。此外还存在一些外界环境的因素同样可以导致人参皂苷合成产量的变化。因此对于人参皂苷生物合成研究备受关注。但应用生物工程技术想要大幅度提高人参皂苷含量仍没有取得突破性的进展。目前伴随着代谢组学和功能基因组学的快速发展, 将为阐明人参皂苷代谢途径中一些亟待解决的重要性问题提供了很好的帮助, 最终为人工调控人参皂苷生物合成提供了支持。相信随着科学技术的日益发展和完善, 人参基因工程终将发挥越来越重要的作用, 为增强药物来源和提高药用植物质量以及创造更多的经济效益发挥重要的作用。

#### 项目基金

感谢林业公益性行业科研专项经费(20120460108)、国家林业局林业科学技术推广项目([2012] 46)和东北林业大学青年拔尖人才支持计划(PYTT-1213-07)的资助。

#### 参考文献 (References)

- [1] Toh, D.F., Patel, D.N., Chan, E.C., et al. (2011) Anti-proliferative effects of raw and steamed extracts of *Panax notoginseng* and its ginsenoside constituents on human liver cancer cells. *Chinese Medicine*, **26**, 4.
- [2] Schlag, E.M. and McIntosh, M.S. (2006) Ginsenoside content and variation among and within American ginseng (*Panax quinquefolius L.*) populations. *Phytochemistry*, **67**, 1510-1519.
- [3] Briskin, D.P. (2000) Medicinal plants and phytomedicines. Linking plant biochemistry and physiology to human health. *Plant Physiology*, **124**, 507-514.
- [4] Park, J.D., Rhee, D.K. and Lee, Y.H. (2005) Biological activities and chemistry of saponins from *Panax ginseng* C.A. Meyer. *Phytochemistry Reviews*, **4**, 159-175.

- [5] Yang, J.L., Gao, L.L. and Zhu, P. (2013) Advances in the biosynthesis research of ginsenosides. *Acta Pharmaceutica Sinica*, **48**, 170-178.
- [6] Christensen, L.P. (2009) Ginsenosides: Chemistry, biosynthesis, analysis, and potential health effects. *Advances in Food and Nutrition Research*, **55**, 1-99.
- [7] Churchill, J.D., Gerson, J.L. and Hinton, K.A. (2002) The nootropic properties of ginseng sapoin Rb1 are linked to effects on anxiety. *Integrative Physiological & Behavioral Science*, **37**, 178-187.
- [8] Bae, E.A., Choo, M.K., Park, E.K., et al. (2002) Metabolism of ginsenoside R(c) by human intestinal bacteria and its related antiallergic activity. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, **25**, 743-747.
- [9] Zhang, C. and Zhao, G. (2001) Advances in the research of pharmacological effects of ginsenoside Rd. *Chinese Journal of New Drugs*, **20**, 953-958.
- [10] Iishi, H., Tatsuta, M., Baba, M., et al. (1997) Inhibition by ginsenoside Rg3 of bombesin-enhanced peritoneal metastasis of intestinal adenocarcinomas induced by azoxymethane in Wistar rats. *Clinical & Experimental Metastasis*, **15**, 603-611.
- [11] Zhang, J.W., Wang, G.J. and Sun, J.G. (2007) Progress in pharmacodynamics and pharmacokinetics of ginsenoside Rg1. *Journal of China Pharmaceutical University*, **38**, 283-288.
- [12] Shibata, S. (2001) Chemistry and cancer preventing activities of ginseng saponins and some related triterpenoid compounds. *Journal of Korean Medical Science*, **16**, S28-S37.
- [13] Liang, Y. and Zhao, S. (2008) Progress in understanding of ginsenoside biosynthesis. *Plant Biology*, **10**, 415-421.
- [14] Bach, T.J., Boronat, A., Caelles, C., et al. (1991) Aspects related to mevalonate biosynthesis in plants. *Lipids*, **26**, 637-648.
- [15] Ramos-Vaidivia, A.C., Heijden, R.V.D. and Verpoorte, R. (1997) Isopentenyl diphosphate isomerase a core enzyme in isoprenoid biosynthesis: A review of its biochemistry and function. *Natural Product Reports*, **14**, 591-603.
- [16] Lee, M.H., Jeong, J.H., Seo, J.W., et al. (2004) Enhanced triterpene and phytosterol biosynthesis in *Panax ginseng* overexpressing squalene synthase gene. *Plant & Cell Physiology*, **45**, 976-984.
- [17] Suzuki, H., Achimine, L., Xu, R., et al. (2002) A genomics approach to the early stages of triterpene saponin biosynthesis in *Medicago truncatula*. *Plant Journal*, **32**, 1033-1048.
- [18] Pinpinon, T., Masaaki, S., Tetsuo, K., et al. (2006) Dammarenediol-II synthase, the first dedicated enzyme for ginsenoside biosynthesis, in *Panax ginseng*. *FEBS Letters*, **580**, 5143-5149.
- [19] Choi, D.W., Jung, J., et al. (2005) Analysis of transcripts in methyl jasmonate-treated ginseng hairy roots to identify genes involved in the biosynthesis of ginsenosides and other secondary metabolites. *Plant Cell Reports*, **23**, 557-566.
- [20] Haralampidis, K., Trojanowska, M., et al. (2002) Biosynthesis of triterpenoid saponins in plants. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, **75**, 31-49.
- [21] Han, J.Y., Kwon, Y.S., Yang, D.C., et al. (2006) Expression and RNA interference-induced silencing of the dammarenediol synthase gene in *Panax ginseng*. *Plant & Cell Physiology*, **47**, 1653-1662.
- [22] Kushiro, T., Shibuya, M. and Ebizuka, Y. (1998) Beta-Amyrin synthase—Cloning of oxidosqualene cyclase that catalyzes the formation of the most popular triterpene among higher plants. *European Journal of Biochemistry*, **256**, 238-244.
- [23] Kushiro, T.S.M. and Ebizuka, Y. (1998) Molecular cloning of oxidosqualenecyclase cDNA from *Panax ginseng* the isogene that encodes beta-amyrin synthase. Towards natural medicine research in the 21<sup>st</sup> century. *Excerpta Medica International Congress Series*, **1157**, 421-428.
- [24] Kim, M.K., Lee, B.S., In, J.G., et al. (2006) Comparative analysis of expressed sequence tags (ESTs) of ginseng leaf. *Plant Cell Reports*, **25**, 599-606.
- [25] Wu, Q., Zhou, Y.Q., Sun, C., et al. (2009) Progress in ginsenosides biosynthesis and prospect of secondary metabolic engineering for the production of ginsenosides. *China Biotechnology*, **29**, 102-108.
- [26] Ming, Q.L., Han, T., Huang, F., et al. (2010) Advances in studies on ginsenoside biosynthesis and its related enzymes. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, **41**, 1913-1917.
- [27] Wu, Q., Sun, C. and Chen, S.L. (2012) Identification and expression analysis of a 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase gene from American ginseng. *Plant Omics*, **5**, 414-420.
- [28] Kim, O.T., Kim, S.H., Ohyama, K., et al. (2010) Upregulation of phytosterol and triterpene biosynthesis in *Centella asiatica* hairy roots overexpressed ginseng farnesyl diphosphate synthase. *Plant Cell Reports*, **29**, 403-411.
- [29] Kim, O.T., Yu, K.W., Hahn, E.J., et al. (2006) Methyl jasmonate and salicylic acid elicitation induces ginsenosides accumulation, enzymatic and non-enzymatic antioxidant in suspension culture *Panax ginseng* roots in bioreactors. *Plant Cell Reports*, **25**, 613-620.

- [30] Kim, T.D., Han, J.Y., Huh, G.H., et al. (2011) Expression and functional characterization of three squalene synthase genes associated with saponin biosynthesis in *Panax ginseng*. *Plant & Cell Physiology*, **52**, 125-137.
- [31] Han, J.Y., In, J.G., Kwon, Y.S., et al. (2010) Regulation of ginsenoside and phytosterol biosynthesis by RNA interferences of squalene epoxidase gene in *Panax ginseng*. *Phytochemistry*, **71**, 36-46.
- [32] Jiang, S.C., Liu, W.C., Wang, Y., et al. (2011) Correlation between ginsenoside accumulation and SQS and SQE gene expression in different organs of *Panax quinquefolius*. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, **42**, 579-584.
- [33] Niu, Y.Y., Luo, H.M. and Huang, L.F. (2012) Advances in the study of CYP450 involves in ginsenosides biosynthesis. *World Science and Technology-Modernization of Traditional Chinese Medicine*, **14**, 1177-1183.
- [34] Seki, H., Ohyama, K., Sawai, S., et al. (2008) Licorice beta-amyrin II-oxidase, a cytochrome P450 with a key role in the biosynthesis of the triterpene sweetener glycyrrhizin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **105**, 14204-14209.
- [35] Shibuya, M., Hoshino, M., Katsube, Y., et al. (2006) Identification of beta-amyrin and sophoradiol 24-hydroxylase by expressed sequence tag mining and functional expression assay. *FEBS Journal*, **273**, 948-959.
- [36] Han, J.Y., Hwang, H.S., Choi, S.W., et al. (2012) Cytochrome P450 CYP716A53v2 catalyzes the formation of protopanaxatriol from protopanaxadiol during ginsenoside biosynthesis in *Panax ginseng*. *Plant & Cell Physiology*, **53**, 1535-1545.
- [37] Yue, C.J. and Zhong, J.J. (2005) Purification and characterization of UDPG: Ginsenoside Rd glucosyltransferase from suspended cells of *Panax notoginseng*. *Process Biochemistry*, **40**, 3742-3748.
- [38] Chen, X., Xue, Y., Liu, J.H., et al. (2009) Purification and characterization of glucosyltransferase from *Panax Ginseng* hairy root cultures. *Pharmaceutical Biotechnology*, **16**, 50-54.