

# Comparison of *HDS* Genes and Functions in MEP Pathway among Different Plants

Shinan Liu, Mingcong Chen, Ruofei Lv, Jie Na\*

School of Life Sciences, Liaoning Normal University, Dalian Liaoning  
Email: [jienalnnu@126.com](mailto:jienalnnu@126.com)

Received: Jul. 1<sup>st</sup>, 2020; accepted: Jul. 17<sup>th</sup>, 2020; published: Jul. 24<sup>th</sup>, 2020

## Abstract

*HDS* belongs to GcpE protein family, with 4Fe-4S activation center. *HDS* is the key enzyme of terpenoid substances precursor IPP synthesis, monoterpene and double terpenoids aromatic substances, carotenoids, VE and important material such as chlorophyll synthesis of key control site. The MEP pathways that regulate the catalysis of synthesis of TIAs for pollinating plants against predators, metabolic regulation plays an important role in such aspects, the *HDS* for cloning genes and carries on the correlation analysis to study the effect of the synthesis of TIAs has great significance. In this paper, *HDS* genes in MEP pathway were compared among different plants from gene cloning, gene function and gene expression characteristics mainly to try to understand the role of *HDS* gene playing in MEP pathway.

## Keywords

*HDS* Gene, MEP Pathway, Biosynthesis of Terpenoid Substances

# 不同植物MEP途径中*HDS*基因及其功能的比较

刘诗楠, 陈明聪, 吕若飞, 那杰\*

辽宁师范大学生命科学学院, 辽宁 大连  
Email: [jienalnnu@126.com](mailto:jienalnnu@126.com)

收稿日期: 2020年7月1日; 录用日期: 2020年7月17日; 发布日期: 2020年7月24日

## 摘要

*HDS*属于GcpE蛋白家族, 具4Fe-4S活化中心。植物*HDS*既是萜类物质前体IPP合成的关键酶, 也是单萜

\*通讯作者。

和双萜类芳香物质、类胡萝卜素、VE和叶绿素等重要物质合成的关键调控位点。其催化调节的MEP途径所合成的萜类化合物对于植物传粉、对抗天敌、代谢调控等方面具有重要作用。本文主要从基因克隆、基因功能以及基因表达特性比较三个方面来分析比较不同植物MEP途径中的HDS基因，以期深入了解该基因对萜类化合物合成的作用。

## 关键词

HDS基因, MEP途径, 萜类化合物生物合成

Copyright © 2020 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

MEP 途径又称质体途径(plastid pathway), 存在于真细菌以及进行光合作用的生物中(如高等植物、藻类、光合细菌等)。该途径产生的萜类吡啶生物碱是类异戊二烯生物合成的前体物质。类异戊二烯及其衍生物在生物代谢和细胞壁合成中至关重要, 目前许多植物类异戊二烯化合物如有价值次生代谢产物香精油、药品、膳食补充剂、生物聚合物和农药已被广泛应用于工业、医药和农业。MEP 途径中 HDS 蛋白是植物萜类物质合成 MEP 途径中催化第六步反应所需的酶, 催化 ME-cPP 转化生成 HMBPP, 最后生成 IPP 和 DMAPP 后经异戊烯基转移酶类的延伸反应以及萜类合酶的修饰作用, 合成种类繁多且功能各异的萜类化合物。本文拟对植物中克隆出的 HDS 基因及其功能进行比较, 以期了解该基因在不同植物 MEP 途径中作用的特性, 丰富对 HDS 基因及其功能的认识。

## 2. 不同植物 HDS 基因的克隆与序列分析

### 2.1. 不同植物中分离克隆的 HDS 基因

植物、藻类、微生物均具有 HDS 基因。系统进化分析表明, 三者的 HDS 基因分属不同的分支。目前已经从黄花蒿、多花水仙等多种被子植物中克隆出 HDS 基因[1]-[10] (表 1), 其中既有单子叶植物, 也有双子叶植物; 既有草本植物, 也有木本植物; 既有是一年生植物, 也有多年生植物, 说明由 HDS 基因调节的 MEP 途径广泛存在于被子植物中。亲缘关系分析表明 HDS 基因在同科同纲植物中亲缘关系最近(表 2)。

**Table 1.** Phytogroups in which the HDS genes were cloned till now

**表 1.** 目前克隆获得 HDS 基因的植物类群

植物	门	纲	目、科	生命周期
黄花蒿[1] ( <i>Artemisia annua</i> Linn)	被子植物	双子叶植物	桔梗目菊科	一年生草本植物
萝芙木[2] ( <i>Rauvolfia verticillata</i> (Lour.) Baill.)	被子植物	双子叶植物	龙胆木夹竹桃科	多年生木本植物
杜仲[3] ( <i>Eucommia ulmoides</i> Oliver)	被子植物	双子叶植物	杜仲目杜仲科	多年生木本植物
茶树[4] ( <i>Camellia sinensis</i> (L.) O. Ktze.)	被子植物	双子叶植物	杜鹃花目山茶科	多年生木本植物
白花丹参[5] ( <i>Salvia miltiorrhiza</i> Bge.f.alba C.Y. Wu et H.W. Li)	被子植物	双子叶植物	管状花目唇形科	多年生木本植物

## Continued

多花水仙[6] ( <i>Narcissus tazetta</i> L. var. <i>chinensis</i> Roem.)	被子植物	单子叶植物	百合目石蒜科	多年生草本植物
铁皮石斛[7] ( <i>Dendrobium officinale</i> Kimura et Migo)	被子植物	单子叶植物	微子目兰科	多年生草本植物
毛果杨[8] ( <i>Populus trichocarpa</i> )	被子植物	双子叶植物	杨柳目杨柳科	多年生木本植物
盾叶薯蓣[9] ( <i>Dioscorea zingiberensis</i> C. H. Wright)	被子植物	单子叶植物	百合目薯蓣科	多年生草本植物
新塔花[10] ( <i>Ziziphora bungeana</i> Juz.)	被子植物	双子叶植物	管状花目唇形科	多年生芳香半灌木

**Table 2.** Evolutionary relationship of *HDS* genes among different plants**表 2.** 不同植物中 *HDS* 基因进化关系

植物种类	基因名称	亲缘关系
黄花蒿	<i>AaHDS</i>	与甜菊的 <i>HDS</i> 亲缘关系最接近, 这与黄花蒿和甜菊同属菊科植物的事实相符
萝芙木	<i>RvHDS</i>	与植物长春花的 <i>HDS</i> 亲缘关系最接近, 这也符合萝芙木与长春花同属夹竹桃科植物的事实
白花丹参	<i>smHDS</i>	与紫花丹参 <i>HDS</i> 关系最近, 其次与库洛胡黄连的关系较近, 与植物类聚为一大支, 与苔藓和绿藻关系最远
多花水仙	<i>NtHDSY</i>	与单子叶植物铁皮石斛进化最为相近, 与双子叶植物甜橙、可可、苹果、梅和葡萄距离较远
茶树	<i>CsHDS</i>	与杨树的亲缘关系最为接近
铁皮石斛	<i>DoHDS</i>	蛋白与同为单子叶植物的海枣 <i>Phoenix dactylifera</i> L. <i>HDS</i> 蛋白聚为一类
杜仲	<i>EuHDS</i>	蛋白序列与葡萄的亲缘关系最为接近
毛果杨	<i>PtHDS</i>	与葡萄、三叶胶分支的亲缘关系比最近
盾叶薯蓣	<i>DzHDS</i>	与菠萝一致性最高
新塔花	<i>zbHDS</i>	与丹参具有较近的亲缘关系

**2.2. 不同植物中 *HDS* 基因序列与蛋白质结构特征**

比较不同植物 *HDS* 基因发现, *HDS* 基因的序列长度一般都在 2000~3000 bp, 开放阅读框长度大多约为 2200 bp, 生物信息学预测 *HDS* 基因编码氨基酸在 740 个左右(表 3)。

**Table 3.** Characteristics of *HDS* gene and protein in different plants**表 3.** 不同植物中 *HDS* 基因序列与蛋白结构特征

基因名称	序列长度 /bp	开放阅读框 /bp	编码氨基酸数 /个	<i>HDS</i> 蛋白二级结构
<i>AaHDS</i>	2324	1854	617	随机卷曲占 45.38%, $\alpha$ -螺旋占 40.19%, 延伸链占 14.42%
<i>smHDS</i>	2529	2229	742	$\alpha$ -螺旋占 37.32%, $\beta$ -折叠结构占 20%, 反转结构占 42.68%
<i>CsHDS</i>	2603	2226	741	$\alpha$ -螺旋占 35.49%, $\beta$ -转角结构占 7.15%, 延伸链占 20.38%, 无规卷曲占 36.98%
<i>EuHDS</i>	2786	2232	743	$\alpha$ -螺旋占 37.55%, $\beta$ -折叠结构占 19.25%, 螺旋结构占 43.20%
<i>NtHDSY</i>	2592	2178	745	-
<i>NtHDS</i>	2599	2178	745	-
<i>RvHDS</i>	2645	2223	740	随机卷曲占 45.54%, $\alpha$ -螺旋占 38.38%, 片层结构占 16.08%
<i>DoHDS</i>	2666	2238	745	$\alpha$ -螺旋占 35.03%, $\beta$ -转角结构占 10.87%, 无规卷曲占 31.01%
<i>DzHDS</i>	2488	2250	749	未给出
<i>ZbHDS</i>	2465	2229	742	$\alpha$ -螺旋占 36.12%, $\beta$ -转角结构占 11.19%, 延伸链 22.51%, 无规则卷曲 30.9%

*HDS* 蛋白在不同植物中的理化性质比较一致。蛋白 N 端比藻类和细菌多大约 80 个氨基酸残基。重要的是, *HDS* 蛋白序列中均预测出在质体转运中发挥作用的转运肽序列[1]。植物 *HDS* 蛋白的氨基酸序列中含有 3 个高度保守的半胱氨酸位点, 被认为可能是蛋白转运金属离子结合位点的一部分[2]。多序列比对得出罗芙木和茶树的 3 个半胱氨酸残基活性位点分别处于不同位置[2] [4], 茶树 CsHDS 中相应位置为 CsHDS-632、CsHDS-644、CsHDS-647, 而罗芙木 RvHDS 中相应位置为 Cys-644、Cys-647、Cys-678。*HDS* 蛋白二级结构中以  $\alpha$  螺旋、 $\beta$ -折叠和  $\beta$ -转角较多, 一般地,  $\alpha$ -螺旋是 *HDS* 蛋白多肽链中比较丰富的结构元件, 散布于整个肽链。成熟蛋白序列具有 2 个保守结构域——N 端的延伸区域 PSN 和约 30 KD 的中心结构域 PSI [11]。*HDS* 晶体结构分析显示了 *HDS* 蛋白中的 4Fe-4S 活性中心蛋白与底物的结合位点 [12]。

### 2.3. 不同植物 *HDS* 基因克隆技术上的差异

在黄花蒿、罗芙木等已有报道中可知 *HDS* 基因的 cDNA 全长克隆均采用 RT-PCR 和 RACE 技术[1]-[9], 但对于第一步提取 RNA 的技术有所不同, 黄花蒿、罗芙木、茶树、多花水仙、铁皮石斛、毛果杨中使用多种 RNA 提取试剂盒提取 RNA [1] [2] [4] [6] [7] [8], 对杜仲则使用改良的 CTAB-LiCl 法提取[3], 而白花丹参利用 Trizol 试剂提取[5]。新塔花的研究中借助了转录组数据库的相关信息[10]。

## 3. 不同植物 *HDS* 基因功能的多样性

### 3.1. 不同植物 *HDS* 基因表达特性

实时荧光定量 PCR 测定分析表明, 不同植物中 *HDS* 基因表达具有组织器官差异。茶树中 *HDS* 的表达量在成熟叶中最高, 嫩茎中最低, 这与在罗芙木、新塔花中发现的规律相似[1] [10]。铁皮石斛 *DoHDS* 在茎中表达量最高, 说明了同一基因在不同植物中, 基因表达量不同; 在同一植物不同组织中, 基因表达量亦不相同[7]。多花水仙中, 盛花期 *HDS* 基因无论是在花瓣还是副冠中的表达量都明显高于花蕾期, 推测 *NiHDS* 表达水平的高低可能与花香物质的合成量有关[6]。茉莉酸甲酯(MeJA)和紫外(uv)可使得 MEP 途径中 *HDS* 上游的一个诱导子——MECs 酶基因的表达上调, 但包含茉莉酸甲酯(MeJA)、紫外(uv)、脱落酸(ABA)和丙烯腈(ASA)在内的诱导子对于 *HDS* 基因的表达均无直接影响。因此, 需进一步研究能够使 *HDS* 表达上调的诱导子, 再利用基因工程的手段, 以期增加萜类化合物的产量。

### 3.2. 不同植物 *HDS* 基因功能的比较

植物体通过 MEP 途径合成各种对人类工业、农业、医药起重要作用的萜类物质, 其对生物自身生长发育也非常关键, *HDS* 在植物中的功能主要是调节 MEP 途径, 影响萜类化合物的产量, 但是在不同植物中的功能具有多样性, 如参与植物防御和早期发育调节等, 具体见表 4。

**Table 4.** *HDS* gene functions in different plants

**表 4.** 不同植物 *HDS* 基因的功能

植物种类	<i>HDS</i> 基因功能
黄花蒿	MEP 途径调节黄花蒿中青蒿素的合成
罗芙木	MEP 途径合成利血平类、育亨宾类等重要的有医药作用的萜类[咪唑生物碱]
多花水仙	扩充多花水仙的基因库; 利用 <i>HDS</i> 基因改善其他植物的花香
拟南芥	参与拟南芥叶绿体的早期发育[2]; 调控代谢流; 在植物质体中起到转录后相关调控作用
拟南 CSB3 突变体	参与植物防御, 调节了 MEP 途径与植物 SA 影响的相关抗性因子

## Continued

长春花	<i>HDS</i> 的启动子可以与具有 cis-元件的转录因子特异性的结合,进而调控萜类物质前体的合成
铁皮石斛	影响萜类代谢产物的产量
丹参	MEP 途径合成丹参酮类化合物
茶树	MEP 途径可合成挥发性有机化合物吸引害虫的天敌,从而提高茶叶的生产量和质量
新塔花	MEP 途径合成萜类物质

## 4. 讨论

本研究比较分析表明,从黄花蒿多种植物中分离克隆的 *HDS* 基因序列有较高的同源性,但功能具有多样性。已知大肠杆菌 *HDS* 基因是生长必需基因[13],植物 *HDS* 基因除作为萜类化合物 MEP 合成途径中的关键酶基因[14],还具有参与植物防御等作用,其基因表达模式和调控特征尚需通过实验进一步了解。

## 5. 展望

萜类化合物是植物中比较丰富的次生代谢产物,对 *HDS* 基因及其功能的认识将有利于深入了解萜类化合物合成的机制和调控特征,为进一步促进药用植物的利用提供理论支撑。

## 参考文献

- [1] 张祖荣, 廖志华, 彭梅芳. 黄花蒿 *HDS* 基因的克隆与功能分析[J]. 中草药, 2012, 43(1): 148-154.
- [2] 郑月. 罗芙木 MCT、*HDS*、*SGD* 基因的克隆与遗传转化体系的建立[D]: [硕士学位论文]. 重庆: 西南大学, 2011.
- [3] 刘攀峰, 杜红岩, 杜兰英, 等. 杜仲 1-羟基-2-甲基-2-E-丁烯基-4-二磷酸合酶基因 cDNA 全长克隆与序列分析[J]. 植物研究, 2012, 32(4): 444-451.
- [4] 蒋正中. 茶树 MEP 途径中 *HDS* 与 *HDR* 基因的 cDNA 全长克隆、功能分析与表达特征研究[D]: [硕士学位论文]. 合肥: 安徽农业大学, 2013.
- [5] 姜丹, 荣齐仙, 袁庆军. 白花丹参 *HDS* 基因的全长克隆与原核表达分析[J]. 药学学报, 2014(11): 1614-1620.
- [6] 吴用, 何炎森, 李科. 多花水仙 *HDS* 基因 cDNA 全长克隆与序列分析[J]. 热带作物学报, 2015, 36(10): 1825-1830.
- [7] 王翔, 吴林松, 吴秋菊. 铁皮石斛 *HDS* 基因的克隆与初步表达分析[J]. 中草药, 2016, 47(5): 803-809.
- [8] Liu, L.H., Li, C.H., Yang, J.L. and Xia, D.A. (2012) Deprotection of Acetyl Group on Amino Group Nith Thionyl Chloride and Pyridine. *Agricultural Science & Technology*, **13**, 24-28.
- [9] 乔洋洋. 盾叶薯蓣 *CMK* 基因和 *HDS* 基因的克隆与功能验证[D]: [硕士学位论文]. 武汉: 湖北大学, 2017.
- [10] 程波, 何江, 地力努尔, 等. 维药新塔花(*Ziziphora bungeana*) *zbHDS* 基因克隆及组织表达分析[J]. 基因组学与应用生物学, 2019, 38(6): 2686-2691.
- [11] Campos, N., Rodriguez-Concepcion, M., Seemann, M., *et al.* (2001) Identification of *gcpE* as a Novel Gene of the 2-C-Methyl-D-Erythritol 4-Phosphate Pathway for Isoprenoid Biosynthesis in *Escherichia coli*. *FEBS Letters*, **488**, 170-173. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(00\)02420-0](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(00)02420-0)
- [12] Querol, J., Campos, N., Imperial, S., *et al.* (2002) Functional Analysis of the *Arabidopsis thaliana* GCPE Protein Involved in Plastid Isoprenoid Biosynthesis. *FEBS Letters*, **514**, 343-346. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(02\)02402-X](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(02)02402-X)
- [13] Altincicek, B., Kollas, A.K., Sanderbrand, S., *et al.* (2001) GcpE Is Involved in the 2-C-Methyl-D-Erythritol 2-C-Methyl-D-Erythritol 4-Phosphate Pathway of Isoprenoid Biosynthesis in *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology*, **183**, 2411-2416. <https://doi.org/10.1128/JB.183.8.2411-2416.2001>
- [14] Sauret-Gueto, S., Botella-Pavia, P., Flores-Perez, U., *et al.* (2006) Plastid Cues Posttranscriptionally Regulate the Accumulation of Key Enzymes of the Methylerythritol Phosphate Pathway in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, **141**, 75-84. <https://doi.org/10.1104/pp.106.079855>