

引用格式: 张杨, 诸燕, 韩之刚, 等. 过表达紫花苜蓿 *ChOMT* 基因创制高异黄酮营养强化番茄[J]. 浙江农林大学学报, 2025, 43(X): 1-7. ZHANG Yang, ZHU Yan, HAN Zhigang, et al. Overexpression of *Medicago sativa* *ChOMT* gene in constructing homoisoflavone-enriched tomatoes[J]. Journal of Zhejiang A&F University, 2025, 43(X): 1-7.

过表达紫花苜蓿 *ChOMT* 基因创制高异黄酮营养强化番茄

张 杨¹, 诸 燕¹, 韩之刚¹, 杨美森², 斯金平¹, 陈东红¹

(1. 浙江农林大学 森林食物资源挖掘与利用全国重点实验室/黄精产业国家创新联盟, 浙江 杭州 311300; 2. 重庆市秀山县中药材产业中心, 重庆 409000)

摘要: 【目的】基于紫花苜蓿 *Medicago sativa* 高异黄酮合成酶基因 *ChOMT*, 构建转基因高异黄酮番茄 *Solanum lycopersicum* 植株, 从而实现番茄的营养强化。【方法】利用农杆菌 *Agrobacterium tumefaciens* 介导法将 *ChOMT* 转入番茄, 通过聚合酶链式反应 (PCR) 和荧光检测进行转基因鉴定, 进一步采用植物广泛靶向代谢组学技术和多元统计分析方法, 对高异黄酮相对含量进行精准定量分析。【结果】经 PCR 和荧光检测获得 *ChOMT* 转基因阳性植株, 与野生型相比, 高异黄酮相对含量显著提升, 其中 (3R)-5,7-dihydroxy-3-(2-hydroxy-4-methoxybenzyl)-chroman-4-one(HIF1) 在转基因番茄叶片中的相对含量为 57 019, 对比野生型叶片中的相对含量 (220) 增加了 260 倍, 5,7-dihydroxy-3-(4-hydroxybenzyl)-chroman-4-one(HIF2) 在转基因番茄果实中的相对含量为 15 849 985, 对比野生型的相对含量 (3 849) 更是提高了 4 000 余倍。【结论】成功获得了 *ChOMT* 转基因番茄, 不仅为解析 *ChOMT* 在植物体内的催化功能提供了理论依据, 同时也为培育高异黄酮遗传改良番茄品种奠定了重要的种质资源基础。图 7 参 28

关键词: 高异黄酮; 番茄; 农杆菌介导法; *ChOMT*; 代谢组; 分子农场

中图分类号: S641.2 文献标志码: A 文章编号: 2095-0756(2025)00-0001-07

Overexpression of *Medicago sativa* *ChOMT* gene in constructing homoisoflavone-enriched tomatoes

ZHANG Yang¹, ZHU Yan¹, HAN Zhigang¹, YANG Meisen², SI Jinping¹, CHEN Donghong¹

(1. State Key Laboratory of Forest Food Resources Exploration and Utilization/National Innovation Alliance of Polygonatum Industry, Zhejiang A&F University, Hangzhou 311300, Zhejiang, China; 2. Xiushan Chinese Medicinal Materials Industry Center of Chongqing, Chongqing 409000, China)

Abstract: [Objective] This study aims to construct transgenic homoisoflavones tomato (*Solanum lycopersicum*) plants based on the homoisoflavones synthase gene *ChOMT* from alfalfa (*Medicago sativa*), thereby achieving nutritional fortification of tomatoes. [Method] *ChOMT* gene was introduced into tomatoes using *Agrobacterium*-mediated transformation. Transgenic identification was carried out through PCR and fluorescence detection. Furthermore, plant-wide targeted metabolomics technology and multivariate statistical analysis methods were employed for precise quantitative analysis of homoisoflavones content. [Result] Through PCR and fluorescence detection, positive transgenic plants of *ChOMT* were obtained. Compared with the wild type, the content of homoisoflavonoids significantly increased. Among them, the relative content of (3R)-5,7-dihydroxy-3-(2-hydroxy-4-methoxybenzyl)-chroman-4-one (HIF1) in the leaves of transgenic tomatoes was 57 019, which was 260 times higher than the relative content of 220 in the leaves of the wild type. The relative content of 5,7-dihydroxy-3-(4-hydroxybenzyl)-chroman-4-one (HIF2) in the fruits of transgenic

收稿日期: 2025-03-10; 修回日期: 2025-10-20

基金项目: 浙江省重点研发专项 (2022C02009)

作者简介: 张杨 (ORCID: 0009-0005-5837-3998), 从事分子生物学研究。E-mail: 1836098274@qq.com。通信作者: 陈东红 (ORCID: 0000-0003-0380-3661), 教授, 博士, 从事药用植物遗传育种研究。E-mail: chendh212@163.com

tomatoes was 15 849 985, which was over 4 000 times higher than the relative content of 3 849 in the wild type. [Conclusion] *ChOMT* transgenic tomatoes are obtained, which not only provides a theoretical basis for analyzing the catalytic function of *ChOMT* in plants, but also lays an important foundation of germplasm resources for breeding genetically improved tomato varieties with high homoisoflavonoid content. [Ch, 7 fig. 28 ref.]

Key words: homoisoflavones; tomato; *Agrobacterium*-mediated method; *ChOMT*; metabolome; molecular farm

高异黄酮是类黄酮化合物中结构特殊的一类, 其母体结构 (C6-C3-C1-C6) 比异黄酮 (C6-C3-C6) 多 1 个碳原子, 具有独特的 9 号碳骨架。这种特殊的结构使高异黄酮表现出显著的抗氧化^[1] 和抗糖尿病活性^[2-4], 在医药和功能性食品领域具有重要应用潜力^[5]。然而, 高异黄酮在植物中的分布较为有限, 主要在天门冬科 *Asparagaceae* 和豆科 *Fabaceae* 植物中被发现, 在蓼科 *Polygonaceae*、马齿苋科 *Portulacaceae* 等植物中仅有少量存在^[6-8]。目前, 已从植物中分离鉴定出 300 多种高异黄酮, 其中从豆科植物中分离出 92 种, 尤以苏木属 *Caesalpinia* 植物最为丰富, 已经分离出近 30 种高异黄酮; 从天门冬科植物中分离出 200 多种, 其中麦冬 *Ophiopogon japonicus* 是高异黄酮的重要天然来源^[9], 已鉴定出近 60 种高异黄酮; 从黄精属 *Polygonatum* 植物中分离出 39 种高异黄酮, 其中以多花黄精 *Polygonatum cyrtonema* 最多, 已鉴定出 17 种高异黄酮^[10-11]。

尽管高异黄酮的分离鉴定研究已取得一定进展, 但其生物合成途径的研究仍较为匮乏。现有研究表明, 查尔酮可能是高异黄酮生物合成的前体物质^[12-13]。紫花苜蓿 *Medicago sativa* 的 *ChOMT* (*Chalcone O-methyltransferase*) 基因在大肠埃希菌 *Escherichia coli* 外源表达系统中能够催化 2',4',4'-三羟基查尔酮的 2'-OH 甲基化, 生成 4,4'-二羟基-2'-甲氧基查尔酮^[14]。这一发现为 *ChOMT* 基因的功能研究奠定了基础, 同时也为利用合成生物学手段高效异源合成高异黄酮提供了可能。

在植物合成生物学研究中, 选择合适的宿主生物 (即“底盘”) 是设计阶段的关键之一^[15]。目前, 已开发的底盘植物包括烟草 *Nicotiana tabacum*^[16]、水稻 *Oryza sativa*^[17]、番茄 *Solanum lycopersicum*^[18]、拟南芥 *Arabidopsis thaliana* 等多种植物。其中, 番茄因其丰富的遗传资源、成熟的遗传转化体系以及完善的基因组数据库^[19-21], 成为合成生物学的理想底盘植物。此外, 番茄在商业化种植中具有广泛的应用基础, 因此, 本研究选择番茄作为高异黄酮的合成底盘, 旨在构建高异黄酮营养强化的番茄植株, 为高异黄酮的高效生产和应用提供新的途径。

1 材料与方法

1.1 材料

番茄品种 ‘Micro Tom’ 于 2023 年种植于植物生长发育培养室, 种子由浙江农林大学森林药材课题组扩繁保存, 大肠埃希菌 *Escherichia coli* DH5 α 和农杆菌 *Agrobacterium tumefaciens* GV3101 购自上海唯地生物技术有限公司, MS 来自于 phytotech 公司的 M519 系列。LB 培养基: 质量分数为 1.0% 胰蛋白胨, 质量分数为 0.5% 酵母提取物, 质量分数为 1.0% 氯化钠; 酵母膏肉汤培养基 (YEP): 质量分数为 1.0% 胰蛋白胨, 质量分数为 1.0% 酵母提取物, 质量分数为 0.5% 氯化钠; 1/2MS0 培养基: MS2.21g, 琼脂 7.2g, 水 1 000 mL, pH 5.8~6.0; MS0-AS 溶液: MS 4.43 g, 蔗糖 30 g, 水 1 000 mL, pH 5.8~6.0, 高温灭菌后, 加 1 mL 乙酰丁香酮 (AS)。MS0 培养基: MS 4.43 g, 蔗糖 30 g, 琼脂 7.2 g, 水 1 000 mL, pH 5.8~6.0。

1.2 植物表达载体的构建

植物表达载体为改造过的 pCAMBIA1380 质粒, 由森林食物资源挖掘与利用全国重点实验室保存。紫花苜蓿 *ChOMT* 基因目的序列来自美国国家生物技术信息中心 (NCBI) 网站 (登录号 L10211), 以紫花苜蓿 cDNA 为模板, 设计在 5' 端引入酶切位点及保护碱基的特异引物 *ChOMT*-F-*Xba*I: 5'-TCAGATCTGAGAGAACACGGGGGACTGTTCGAC-3', *ChOMT*-R-*Sa*II: 5'-TCGTCGACGTTTGTGCCGCTGCCCTTGTCATC-3' 进行扩增, 得到的目的片段经双酶切法装入 pCAMBIA1380, 并测序验证。构建的表达载体如图 1。

图 1 pCambia1380-*ChOMT* 质粒图谱Figure 1 Plasmid Map of pCambia1380-*ChOMT*

1.3 农杆菌介导法转化番茄

1.3.1 将目的基因转入农杆菌 将重组质粒 pCambia1380-*ChOMT* 采用热击法转到农杆菌菌株 GV3101 中。具体转化步骤如下：取 2 μL 重组质粒加入到 GV3101 感受态细胞中；迅速放入液氮中冷冻 5 min，37 $^{\circ}\text{C}$ 热击 5 min，冰浴 5 min；加入 600 μL LB 培养基，28 $^{\circ}\text{C}$ 振荡培养 3~4 h；吸取上述菌液 100 μL 涂布于 YEP+25 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 利福平+100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 卡那霉素的固体培养基上，30 $^{\circ}\text{C}$ 培养 2~3 d。挑取单克隆，用基因特异性检测引物进行聚合酶链式反应 (PCR) 鉴定，得到的阳性克隆用于番茄转化。

1.3.2 农杆菌转化番茄 ①种子灭菌。在超净工作台中，将称量好的番茄种子倒入灭过菌的 100 mL 锥形瓶中，加体积分数为 75% 的乙醇，摇晃 30 s，用无菌水洗 2 遍，质量分数为 2.0% 次氯酸钠溶液浸泡，在摇床上摇 1 h，用无菌水洗 5 遍，放 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱过夜。②外植体的获取。将灭菌后的种子在超净工作台上播到 1/2MS0 培养基中，播种 5 d 后，番茄 2 片子叶完全展开且没有真叶长出，即可剪下子叶，置于 MS0-AS 溶液的玻璃皿中，待所有子叶剪完后，转移到铺有滤纸的 A1 共培养培养基 [(MS0 + 2.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ZT + 0.1 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 吲哚乙酸 (IAA))] 上，叶面朝上，锡纸包裹后置于黑暗条件下预培养 2 d。③农杆菌侵染。将携带目的基因的农杆菌 GV3101(pCambia1380-*ChOMT*) 震荡培养过夜，4 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min，收集菌体，用 MS0-AS 溶液重悬至 $D(600)=0.3$ ，与上述预培养的外植体共孵育 15 min，叶背朝上转接到 A1 共培养培养基上，黑暗过夜共培养。④脱分化与再分化。将 A1 中的叶片转接到 A2 愈伤诱导培养基 [MS0 + 2.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 玉米素 (ZT) + 0.1 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ IAA + 100.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 卡那霉素 + 300.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 替门汀 (Timentin)] 中，叶面朝上培养 50 d，待愈伤长出后，转移至 A3 芽诱导培养基 (MS0 + 1.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ZT + 0.1 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ IAA + 50.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 卡那霉素 + 50.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 替门汀) 中，在 A3 培养基中培养 30 d 左右，待小苗长到 5 cm，转移到 A4 根诱导培养基 (1/2MS0 + 0.3 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ IAA + 30.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 卡那霉素 + 150.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 替门汀) 中进行生根培养，10 d 左右即可生根，进行土壤移栽。

1.4 代谢组样品准备与分析

分析叶片和果实品质时，每个样品的果肉各用 5 mL 冻存管取样，装好样品后，将其快速放入液氮中，然后移至 -80 $^{\circ}\text{C}$ 超低温箱保存。代谢组学分析样品的提取流程参照王莎等^[22]的方法，将提取好的样品保存于进样瓶中，利用超高效液相色谱 (UPLC, Shim-pack UFLC SHIMADZU CBM30A) 和串联质谱 (MS/MS, Applied Biosystems 4 500 QTRAP) 对样本进行物质分离和鉴定。

1.5 代谢组质控样本与数据分析

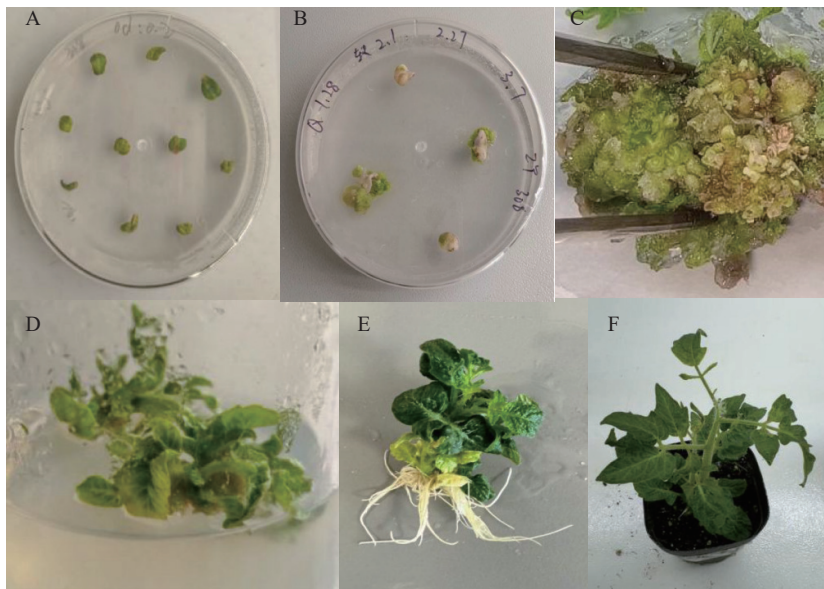
质控样本 (QC) 为 3 组分析样品提取物的等量混合物。检测分析时，每 10 个分析样本中插入 1 个质控样本。代谢组数据分析基于京都基因和基因组数据库 (KEGG) 化合物数据库和 MetWare 数据库，以及多反应监测 (MRM) 开展样品代谢物的定性和定量质谱分析，代谢物鉴定 MS 容差和 MS2 容差设置为 20 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ，代谢物的定量利用三重四极杆质谱的多反应监测模式分析完成。获得不同样本的代谢物质谱分析数据后，对所有物质质谱峰进行峰面积积分，并对其中同一代谢物在不同样本中的质谱出峰进行积分校正。利用 Analyst 1.6.3 软件处理质谱数据，每个色谱峰的峰面积代表对应物质的相对含量。采用多元统计分析，对 3 组样品进行主成分分析和聚类分析，根据正交偏最小二乘法判别分析法 (OPLS-DA) 预测模型的可靠性。采取将变化倍数和 OPLS-DA 模型的变量重要性投影 (VIP) 相结合的方法筛选差异代谢物，变化倍数为 2 倍以上或 0.5 倍以下，OPLS-DA 的 VIP_{z1} 则认为差异显著。

2 结果与分析

2.1 番茄遗传转化苗的获得

将构建好的重组质粒 pCAM1380-*ChOMT* 活化后，利用农杆菌介导的叶盘转化法转化 MicroTom 番茄叶片。经农杆菌侵染的番茄叶片在 MS 培养基上暗培养 2~3 d 后，转到筛选培养基上 (图 2A)。经历

2~4 周培养后番茄叶缘开始分化出愈伤组织 (图 2B), 期间通过更换新的培养基确保愈伤组织不断分化长大 (图 2C), 培养 7~8 周开始产生抗性丛苗 (图 2D)。切下完整抗性丛苗接种到生根培养基, 经过 2~3 周的培养丛苗开始生根并正常生长 (图 2E)。当番茄生根 2 周后可进行移栽 (图 2F)。共得到 6 株转化番茄。



A. 使用农杆菌处理完的番茄外植体; B. 长出愈伤组织的番茄外植体; C. 外植体的愈伤组织不断分化变大的形态; D. 愈伤组织分化出丛苗; E. 诱导丛苗生根; F. 将生根的转基因苗移栽到土壤。

图 2 转基因番茄幼苗获取过程

Figure 2 Acquisition process of the transgenic tomato seedlings

2.2 转化番茄植株 PCR 鉴定

以转化的 6 株番茄 DNA 为模板, 未转化番茄 DNA 为阴性对照, 对目的基因进行 PCR 检测, 发现转化番茄扩增出的条带略大于 1 000 bp, 与目的基因 1 119 bp 大小一致 (图 3A)。



M. DNA marker, 1~6. 6株转基因番茄, ck. 野生型(对照)。

图 3 转基因植株的 PCR 及荧光鉴定

Figure 3 PCR and fluorescence identification of the transgenic plants

2.3 转化番茄植株荧光鉴定

转化的质粒中携带有 *GFP* 报告基因, 所以转化的番茄在 450~490 nm 蓝光波长下会发出绿色的荧光, 将转化长大的番茄放在析浦手持式单波长荧光手电筒 GFPfinder-2 101 照射下, 发出绿色荧光, 野生型番茄无绿色荧光 (图 3B)。因此, 荧光检测进一步证明 *ChOMT* 转基因番茄构建成功。

2.4 转基因 *ChOMT* 番茄中高异黄酮的相对含量

图 4 为混样质控 (QC) 样本的总离子流图 (TIC) 及多反应监测模式 (MRM) 代谢物检测多峰图 (XIC), 横坐标为代谢物检测的保留时间 (RT), 纵坐标为离子检测的离子流强度 (单位为 cps, count per second)。MRM 代谢物检测多峰图展示了样本中能够检测到的物质, 每个不同颜色的色谱峰代表检测到的 1 个代谢物。通过三重四极杆筛选出每个物质的特征离子, 在检测器中获得特征离子的信号强度, 用 MultiQuant 软件打开样本下机质谱文件, 进行色谱峰的积分和校正工作, 每个色谱峰的峰面积代表对应物质的相对含量, 最后导出所有色谱峰面积积分。

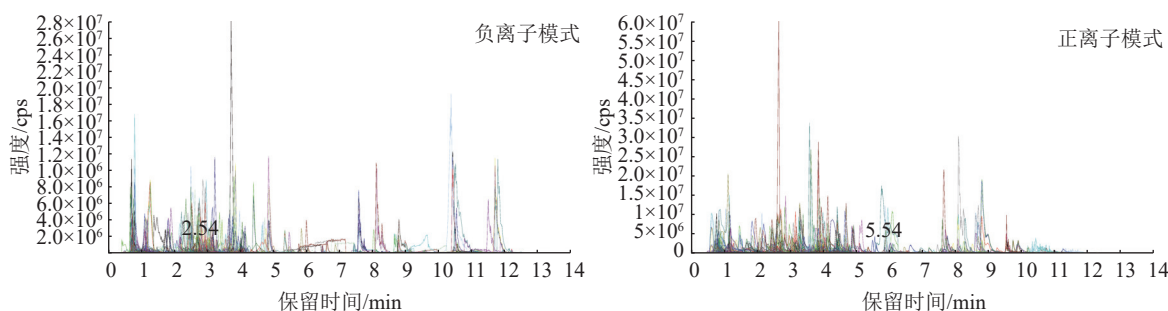


图 4 MRM 代谢物检测正负离子多峰图

Figure 4 Multi-peak diagrams of positive and negative ions for MRMg metabolite detection

基于本地高异黄酮代谢数据库,通过三重四极杆筛选出高异黄酮的特征离子,根据代谢物二级质谱信息,鉴定出 *ChOMT* 转基因番茄苗中新产生的 2 种高异黄酮 (3*RS*)-5,7-dihydroxy-3-(2-hydroxy-4-methoxybenzyl)-chroman-4-one (HIF1) 和 5,7-dihydroxy-3-(4-hydroxybenzyl)-chroman-4-one (HIF2)。结构如图 5 所示。

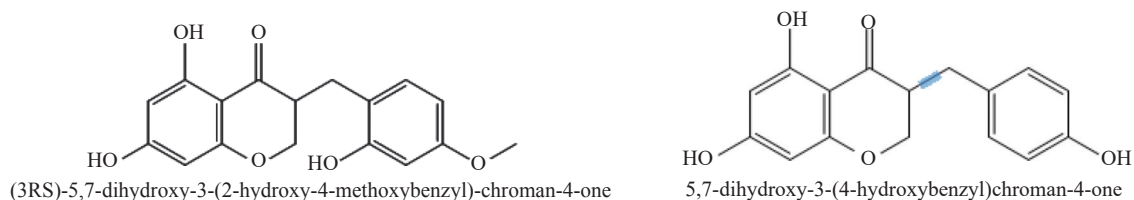


图 5 2 种高异黄酮化学结构式

Figure 5 Chemical structural formulas of two kinds of homoisoflavones

根据代谢物保留时间与峰型的信息,并对高异黄酮 HIF1 和 HIF2 检测到的色谱峰进行校正,进行相对含量测定。高异黄酮 HIF1 和 HIF2 在番茄野生株系中相对含量极低,在 *ChOMT* 转基因植株中相对含量均显著升高。其中, HIF1 在转基因番茄叶片中的相对含量为 57 019,比野生型叶片中的相对含量 (220) 增加了 260 倍,转基因番茄叶片与果实中的 HIF1 都显著高于野生型 ($P < 0.05$, 图 6A)。HIF2 在转基因番茄果实中的相对含量为 15 849 985,对比野生型的相对含量 (3 849) 更是提高了 4 000 余倍,转基因番茄叶片与果实中的 HIF2 都极显著高于野生型 ($P < 0.001$, 图 6B)。上述研究结果充分证实了紫花苜蓿 *ChOMT* 基因的导入,成功构建了高异黄酮营养强化番茄。

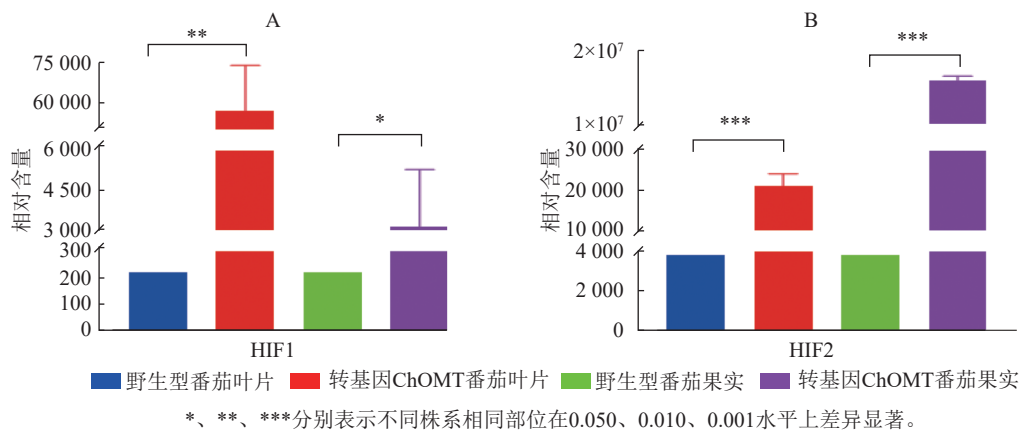


图 6 野生型与转基因番茄中高异黄酮相对含量

Figure 6 Relative contents of homoisoflavones in wild-type and transgenic tomatoes

3 讨论

随着“健康中国”战略的深入推进,“药补不如食补”“食物即药物”的理念已深入人心,通过日

常饮食改善健康状况、预防甚至治疗疾病已成为社会与市场的关注热点。已有研究发现：天然高异黄酮是一种结构特殊的黄酮类化合物，其碳骨架比常见黄酮多1个碳原子，具有显著的降血糖^[2-4]、调节免疫、抗氧化^[1]、抗肿瘤^[23-24]、抗病毒等多种生物活性。然而，天然高异黄酮在植物中含量较低且提取成本高昂，严重制约了其营养价值开发和综合利用。近年来，番茄因其丰富的遗传资源和高效的遗传转化体系，已成为合成生物学研究的重要底盘植物，已被成功用于生产辣椒素、甜菜碱、迷迭香酸等多种天然产物^[25]。如通过异源转入 *CYP76AD6* 基因，在番茄中合成了帕金森药物 L-DOPA^[18]；通过启动 *BCAT*、*CS* 基因及多个辣椒素生物合成关键基因 (如 *C4H*、*COMT*、*Kas* 和 *AMT*)，实现了辣椒素的高效、低成本生产^[25]。在医学应用领域，番茄也展现出巨大潜力。如利用转基因番茄作为生物反应器，成功表达并正确折叠具有活性的人胰岛素分子，为口服胰岛素预防 I 型糖尿病提供了新途径^[26]。从葡萄‘雷司令’ *Vitis vinifera* ‘Riesling’ 中克隆到芪合酶基因，利用农杆菌介导法成功转化出富含白藜芦醇的番茄，其果实白藜芦醇含量显著提高，可用于抗癌、抗炎等^[27]。此外，在改善番茄果实品质方面也取得了显著进展。如在番茄中过表达番茄 *SIMYB75* 基因使鲜果花青素质量分数达到 $1.86 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ，同时显著提高了酚类物质、类黄酮和可溶性固形物，分别为野生型的 2.6、4.0 和 1.2 倍^[28]，为提升番茄的感官和营养品质提供了快速改良方案。由此可见，通过引入外源或内源基因定向遗传改良番茄品质或作为底盘合成关键功效物质展现出广泛的应用前景。高异黄酮作为一种具有重要生物活性的成分，仅在豆科和天门冬科等少数植物中特异存在，本研究通过利用紫花苜蓿高异黄酮合成通路基因 *ChOMT*，成功培育出高异黄酮营养强化的转基因番茄。与野生型相比，转基因番茄中高异黄酮的相对含量显著提升，为番茄及其他粮食作物的高异黄酮遗传改良提供了重要范例。

4 结论

本研究通过转化外源高异黄酮合成关键基因提高其在番茄中的含量来改善果实品质，不仅能够满足消费者对高营养价值食品的需求，还能为人类健康带来积极影响。同时，研究结果也进一步验证了 *ChOMT* 在高异黄酮生物合成中的关键角色，为未来高异黄酮的高效生产和综合利用提供了理论支撑。

5 参考文献

- [1] CALVO M I. Three new homoisoflavanones from the bulbs of *Ledebouria floribunda* [J]. *Fitoterapia*, 2009, **80**(7): 394–398. DOI: [10.1016/j.fitote.2009.05.010](https://doi.org/10.1016/j.fitote.2009.05.010).
- [2] KHIL L Y, HAN S S, KIM S G, *et al.* Effects of brazilin on GLUT4 recruitment in isolated rat epididymal adipocytes [J]. *Biochemical Pharmacology*, 1999, **58**(11): 1705–1712. DOI: [10.1016/S0006-2952\(99\)00275-0](https://doi.org/10.1016/S0006-2952(99)00275-0).
- [3] YOU E J, KHIL L Y, KWAK W J, *et al.* Effects of brazilin on the production of fructose-2, 6-bisphosphate in rat hepatocytes [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2005, **102**(1): 53–57. DOI: [10.1016/j.jep.2005.05.020](https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.05.020).
- [4] WANG Huijun, FOWLER M I, MESSENGER D J, *et al.* Homoisoflavonoids are potent glucose transporter 2 (GLUT2) inhibitors: a potential mechanism for the glucose-lowering properties of *Polygonatum odoratum* [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2018, **66**(12): 3137–3145. DOI: [10.1021/acs.jafc.8b00107](https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b00107).
- [5] LIN Ligen, LIU Qianyu, YE Yang. Naturally occurring homoisoflavonoids and their pharmacological activities [J]. *Planta Medica*, 2014, **80**(13): 1053–1066. DOI: [10.1055/s-0034-1383026](https://doi.org/10.1055/s-0034-1383026).
- [6] MOTTAGHIPISHEH J, STUPPNER H. A comprehensive review on chemotaxonomic and phytochemical aspects of homoisoflavonoids, as rare flavonoid derivatives [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, **22**(5): 2735. DOI: [10.3390/ijms22052735](https://doi.org/10.3390/ijms22052735).
- [7] PECIO Ł, PECIO S, MROCZEK T, *et al.* Spiro-flavonoids in nature: a critical review of structural diversity and bioactivity [J]. *Molecules*, 2023, **28**(14): 5420. DOI: [10.3390/molecules28145420](https://doi.org/10.3390/molecules28145420).
- [8] LIU Jianbo, WANG Hongqing, SHAO Hongjie, *et al.* Isolation and characterization of dihydrohomoisoflavonoids from *Portulaca oleracea* L. [J]. *Phytochemistry*, 2024, **222**: 114071. DOI: [10.1016/j.phytochem.2024.114071](https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2024.114071).
- [9] PU Hangyi, CAO Yu, JIANG Xilang, *et al.* Steroidal saponins and homoisoflavonoids from the fibrous roots of *ophiopogon japonicus* and their anti-pulmonary fibrosis activities [J]. *Natural Product Research*, 2025, **39**(14): 4055–4065. DOI: [10.1080/14786419.2024.2331044](https://doi.org/10.1080/14786419.2024.2331044).

- [10] SHI Yan, SI Dun, CHEN Donghong, *et al.* Bioactive compounds from *Polygonatum* genus as anti-diabetic agents with future perspectives[J]. *Food Chemistry*, 2023, **408**: 135183. DOI: [10.1016/j.foodchem.2022.135183](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.135183).
- [11] 任洪民, 邓亚玲, 张金莲, 等. 药用黄精炮制的历史沿革、化学成分及药理作用研究进展[J]. *中国中药杂志*, 2020, **45**(17): 4163–4182. REN Hongmin, DENG Yaling, ZHANG Jinlian, *et al.* Research processing history evolution, chemical components and pharmacological effects of polygonati rhizome [J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2020, **45**(17): 4163–4182. DOI: [10.19540/j.cnki.cjcmm.20200522.601](https://doi.org/10.19540/j.cnki.cjcmm.20200522.601).
- [12] SAITOH T, SAKASHITA S, NAKATA H, *et al.* 3-Benzylchroman derivatives related to brazilin from Sappan Lignum [J]. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 1986, **34**(6): 2506–2511. DOI: [10.1248/cpb.34.2506](https://doi.org/10.1248/cpb.34.2506).
- [13] LIN Ligen, XIE Hua, LI Honglin, *et al.* Naturally occurring homoisoflavonoids function as potent protein tyrosine kinase inhibitors by c-Src-based high-throughput screening [J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2008, **51**(15): 4419–4429. DOI: [10.1021/jm701501x](https://doi.org/10.1021/jm701501x).
- [14] MAXWELL C A, HARRISON M J, DIXON R A. Molecular characterization and expression of alfalfa isoliquiritigenin 2'-O-methyltransferase, an enzyme specifically involved in the biosynthesis of an inducer of *Rhizobium meliloti* nodulation genes [J]. *Plant Journal*, 1993, **4**(6): 971–981. DOI: [10.1046/j.1365-313X.1993.04060971.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.1993.04060971.x).
- [15] MOLINA-HIDALGO F J, VAZQUEZ-VILAR M, D'ANDREA L, *et al.* Engineering metabolism in *Nicotiana* species: a promising future [J]. *Trends in Biotechnology*, 2021, **39**(9): 901–913. DOI: [10.1016/j.tibtech.2020.11.012](https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2020.11.012).
- [16] LI Jianhua, MUTANDA I, WANG Kaibo, *et al.* Chloroplastic metabolic engineering coupled with isoprenoid pool enhancement for committed taxanes biosynthesis in *Nicotiana benthamiana* [J]. *Nature Communications*, 2019, **10**(1): 4850. DOI: [10.1038/s41467-019-12879-y](https://doi.org/10.1038/s41467-019-12879-y).
- [17] ZHU Qinlong, ZENG Dongchang, YU Suize, *et al.* From golden rice to aSTARice: bioengineering astaxanthin biosynthesis in rice endosperm [J]. *Molecular Plant*, 2018, **11**(12): 1440–1448. DOI: [10.1016/j.molp.2018.09.007](https://doi.org/10.1016/j.molp.2018.09.007).
- [18] BREITEL D, BRETT P, ALSEEKH S, *et al.* Metabolic engineering of tomato fruit enriched in L-DOPA [J]. *Metabolic Engineering*, 2021, **65**: 185–196. DOI: [10.1016/j.ymben.2020.11.011](https://doi.org/10.1016/j.ymben.2020.11.011).
- [19] ZHU Guangtao, WANG Shouchuang, HUANG Zejun, *et al.* Rewiring of the fruit metabolome in tomato breeding [J]. *Cell*, 2018, **172**(1/2): 249–261. DOI: [10.1016/j.cell.2017.12.019](https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.12.019).
- [20] TIEMAN D, ZHU Guangtao, RESENDE M F R Jr, *et al.* A chemical genetic roadmap to improved tomato flavor [J]. *Science*, 2017, **355**(6323): 391–394. DOI: [10.1126/science.aal1556](https://doi.org/10.1126/science.aal1556).
- [21] 张博, 马永硕, 尚轶, 等. 植物合成生物学研究进展[J]. *合成生物学*, 2020(2): 121–140. ZHANG Bo, MA Yongshuo, SHANG Yi, *et al.* Recent advances in plant synthetic biology [J]. *Synthetic Biology Journal*, 2020(2): 121–140. DOI: [10.12211/2096-8280.2020-016](https://doi.org/10.12211/2096-8280.2020-016).
- [22] 王莎, 杜致辉, 陈之林. 基于 GC-MS 代谢组学技术 2 种香型美花石斛代谢物的对比分析[J]. *分子植物育种*, 2021, **19**(9): 3081–3089. WANG Sha, DU Zhihui, CHEN Zhilin, *et al.* Comparison of metabolites of two aromatic *Dendrobium loddigesii* species based on GC-MS metabonomics [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2021, **19**(9): 3081–3089. DOI: [10.13271/j.mpb.019.003081](https://doi.org/10.13271/j.mpb.019.003081).
- [23] CONSTANTINESCU T, MIHIS A G. Two important anticancer mechanisms of natural and synthetic chalcones[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, **23**(19): 11595. DOI: [10.3390/ijms231911595](https://doi.org/10.3390/ijms231911595).
- [24] ZHOU Changxin, ZOU Li, MO Jianxia, *et al.* Homoisoflavonoids from *Ophiopogon japonicus* [J]. *Helvetica Chimica Acta*, 2013, **96**(7): 1397–1405. DOI: [10.1002/hlca.201200493](https://doi.org/10.1002/hlca.201200493).
- [25] NAVES E R, de ÁVILA SILVA L, SULPICE R, *et al.* Capsaicinoids: pungency beyond *Capsicum* [J]. *Trends in Plant Science*, 2019, **24**(2): 109–120. DOI: [10.1016/j.tplants.2018.11.001](https://doi.org/10.1016/j.tplants.2018.11.001).
- [26] SOLTANMOHAMMADI B, JALALI-JAVARAN M, RAJABI-MEMARI H, *et al.* Cloning, transformation and expression of proinsulin gene in Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) [J]. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*, 2014, **9**(1): 9–15. DOI: [10.17795/jjnpp-7779](https://doi.org/10.17795/jjnpp-7779).
- [27] 谭琳, 康由发, 马兵刚, 等. 芪合酶基因转化番茄产生白藜芦醇的研究[J]. *生命科学研究*, 2003, **7**(3): 262–266. TAN Lin, KANG Youfa, MA Binggang, *et al.* Resveratrol production of tomato transformed with a *Vitis* stilbene synthase gene [J]. *Life Science Research*, 2003, **7**(3): 262–266. DOI: [10.16605/j.cnki.1007-7847.2003.03.015](https://doi.org/10.16605/j.cnki.1007-7847.2003.03.015).
- [28] JIAN Wei, CAO Haohao, YUAN Shu, *et al.* SIMYB75, an MYB-type transcription factor, promotes anthocyanin accumulation and enhances volatile aroma production in tomato fruits[J]. *Horticulture Research*, 2019, **6**: 22. DOI: [10.1038/s41438-018-0098-y](https://doi.org/10.1038/s41438-018-0098-y).