

山黧豆 β -脲基丙氨酸合成酶基因 *LsCAS* 的原核表达及蛋白聚合状态分析

贾海燕¹, 李辰浩², 宋瑶瑶², 刘凤娟², 焦成瑾³, 徐全乐²

(1 陇东学院 生命科学与技术学院, 甘肃庆阳 745000; 2 西北农林科技大学 生命科学院, 陕西杨陵 712100; 3 天水师范学院 生物工程与技术学院, 甘肃天水 741000)

摘要: 该研究从山黧豆种子萌发 6 d 后的幼苗根中扩增到 β -脲基丙氨酸合成酶基因 (*LsCAS*) 的 CDS 序列, 并构建 pGEX2T-*LsCAS* 表达载体; 经诱导表达后, 通过 GST 亲和层析进行 *LsCAS* 蛋白纯化, 并利用 GST 标签抗体和大豆半胱氨酸合成酶 (Cysteine synthase, CS) 抗体对纯化蛋白进行 Western-blot 验证; 纯化后的 *LsCAS* 蛋白经凝血酶切除 GST 标签抗体后, 利用凝胶过滤预装柱 Superdex 200 Increase 10/300 GL 分析判断分子量。结果显示: (1) 山黧豆 *LsCAS* 基因的 CDS 序列为 1 035 bp, 编码 344 个氨基酸; 其编码的蛋白质具有典型的 CBS-like 蛋白功能结构域胱硫醚 β -合酶 (CBS) 和半胱氨酸合成酶 (CS)。(2) 成功构建 *LsCAS* 基因的原核表达载体 pGEX2T-*LsCAS* 并进行蛋白纯化; SDS-PAGE 检测表明, 所获融合蛋白条带单一, 大小在 64 kD 左右; Western-blot 分析发现, 诱导后的菌体蛋白和纯化后的重组蛋白中均能检测到特征条带, 说明所获融合蛋白为山黧豆 *LsCAS* 蛋白。(3) 纯化的山黧豆 *LsCAS* 蛋白在 412 nm 的特征吸收峰显示, *LsCAS* 隶属于磷酸吡哆醛 (PLP) 依赖的半胱氨酸合成酶家族; 分子排阻试验证实山黧豆 *LsCAS* 为 PLP 依赖性蛋白酶, 可能以四聚体方式发挥作用。研究结果为进一步探讨山黧豆 *LsCAS* 的调控及其功能奠定了基础。

关键词: 山黧豆; β -脲基丙氨酸合成酶; 原核表达; 蛋白纯化; 磷酸吡哆醛

中图分类号: Q785; Q814.1; S529

文献标志码: A

Prokaryotic Expression and Protein Polymerization Analysis of β -cyanoalanine Synthase in *Lathyrus sativus*

JIA Haiyan¹, LI Chenhao², SONG Yaoyao², LIU Fengjuan², JIAO Chengjin³, XU Quanle²

(1 College of Life Science & Technology, Longdong University, Qingyang, Gansu 745000, China; 2 College of Life Sciences, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China; 3 College of Bioengineering and Biotechnology, Tianshui Normal University, Tianshui, Gansu 741000, China)

Abstract: CDS sequence of β -cyanoalanine synthase gene (*LsCAS*) was amplified from the roots of seedlings of *Lathyrus sativus* germinated for 6 days and expression vector pGEX2T-*LsCAS* was constructed. *LsCAS* was purified by GST affinity chromatography after induced expression and detected by Western-blot with GST tag antibody and soybean cysteine synthase antibody. The purified *LsCAS* was digested by thrombin to remove the GST-tag and then the molecular weight was estimated by Superdex 200 Increase 10/300 GL. The results showed that: (1) CDS sequence of *LsCAS* was 1 035 bp and encoded 344 amino

收稿日期: 2021-06-19; 修改稿收到日期: 2021-08-20

基金项目: 陕西省自然科学基金 (2020JM-167); 大学生创新创业训练计划 (S202010712196); 中央高校基本科研业务费专项资金重点研究基地建设项目 (lzujbky-2021-kb05)

作者简介: 贾海燕 (1983—), 女, 硕士, 讲师, 从事植物细胞与生理生化研究。E-mail: yan19831985@163.com

acids; the protein possessed typical CBS-like protein functional domains of cystathionine beta-synthase and cysteine synthase. (2) Expression vector pGEX2T-*LsCAS* was successfully constructed and the purified target protein showed a single band with a molecular weight of 64 kD when detected via SDS-PAGE; and also, a characteristic band was detected in both induced bacterial proteins and purified recombinant proteins using Western-blot techniques. So, the fusion protein obtained is *LsCAS*. (3) *LsCAS* belongs to pyridoxal phosphate-dependent cysteine synthetase family because of its characteristic absorption peak at 412 nm; the size exclusion chromatography determining the apparent molecular mass of recombinant *LsCAS* suggested that *LsCAS* is tetramer and PLP-dependent protease. These results laid a solid foundation for the understanding of *LsCAS* activity regulation and further functional investigation.

Key words: *Lathyrus sativus*; β -ODAP; prokaryotic expression; protein purification; phosphopyridoxal

β -N-草酰-L- α , β -二氨基丙酸 (β -N-oxalyl-L- α , β -diaminopropionic acid, β -ODAP) 在山黧豆 (*Lathyrus sativus*) 中首次获得分离和鉴定^[1], 并被发现广泛存在于三七 (*Panax notoginseng*)、西洋参 (*Panax quinquefolium*) 和人参 (*Panax ginseng*) 等物种^[2-3]。研究表明, β -ODAP 是传统中药材三七止血的活性成分, 被命名为三七素 (dencichine)^[2], 并在神经保护、糖尿病及肾病防治等过程中发挥重要作用^[3-8]。因而, β -ODAP 生物合成的调控是山黧豆、三七等作物品质形成机理研究的重要内容。

β -ODAP 的生物合成在山黧豆种子萌发期和成熟期形成 2 个显著高峰^[9]。对萌发期种子的代谢组学和转录组学分析表明, β -ODAP 的生物合成与硫代谢等基础代谢途径密切相关^[10-12]。其中, β -腈基丙氨酸合成酶 (β -cyanoalanine synthase, β -CAS) 负责催化异噁唑-5-酮与半胱氨酸 (Cys) 反应生成 β -异噁唑-5-酮-丙氨酸 [β -(isoxazolin-5-on-2-yl) alanine, BIA]。BIA 进一步通过两步反应生成 β -ODAP^[13-14]。

在拟南芥和大豆等物种中的研究表明, β -CAS 隶属于磷酸吡哆醛 (pyridoxal phosphate, PLP) 依赖的 β 基取代的丙氨酸合成酶家族 (β -substituted alanine synthase, Bsas), 可形成二聚体, 分子量范围为 50~70 kD^[15-16]。在山黧豆中, 将 *LsCAS* 的 PLP 附着关键位点 Lys 突变后导致突变体酶活丧失^[14,17], 说明 *LsCAS* 也是 PLP 依赖性蛋白酶。该蛋白可通过与丝氨酸乙酰基转移酶 (serine acetyltransferase, SAT) 互作起到 β -ODAP 生物合成调控分子开关的作用^[14]。

植物硫代谢途径调控的一个典型特征是 2 个 CS 同源二聚体与 2 个 SAT 同源三聚体共同形成半胱氨酸调控复合物十聚体 (cysteine regulatory complex, CRC), 并通过聚合/解聚状态调节 CS 与 SAT 酶活^[18-20]。为进一步研究 *LsCAS* 功能及聚合

状态, 本研究克隆了 *LsCAS* 基因的 CDS 序列, 构建了 pGEX2T-*LsCAS* 原核表达载体, 通过蛋白纯化和 Western-blot 分析进行了 *LsCAS* 功能验证, 并利用分子排阻初步解析山黧豆 *LsCAS* 蛋白的聚合状态, 深入了解 *LsCAS* 的功能。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验所用山黧豆 (*Lathyrus sativus*) 种子为西北农林科技大学生命学院实验室保存。种子在含腐殖土、蛭石、珍珠岩 (1:1:1) 的混和基质中于 23 °C 萌发 6 d, 取其根部提取 RNA。GST 亲和柱购自碧云天生物技术公司, GST 标签抗体购自美国 Affinity 公司, 大豆 CS 抗体为美国农业部 Hari Krishnan 教授惠赠, 牛凝血酶购自上海翊圣生物科技有限公司, 10 kD 超滤管等购自 Millipore。

1.2 试验方法

1.2.1 *LsCAS* 基因克隆 采用 Invitrogen 公司的总 RNA 提取试剂盒 (Trizol 法) 提取山黧豆 6 d 龄幼苗的根部 RNA, 利用 TaKaRa 公司的反转录试剂盒 (PrimeScript™ II 1st Strand cDNA Synthesis Kit) 进行反转录合成 cDNA。采用 50 μ L 反应体系进行 PCR 扩增, 其中 5 $\times$ PrimeSTAR 缓冲液 10 μ L, dNTP 混合液 (2.5 mmol/L) 4 μ L, 模板 2 μ L, PrimeSTAR HS DNA 聚合酶 (2.5 U/ μ L) 0.5 μ L; 上下游引物 (10 μ mol/L) 各 1.5 μ L。PCR 程序为: 98 °C 1 min; 98 °C 10 s, 57 °C 5 s, 72 °C 1 min 15 s, 30 个循环; 最后 72 °C 延伸 5 min。引物序列为 F (ATCACCTTCCTCAAGCGAACCTC) 和 R (CTC-GGAAGCTCGTGGAAGAAAT)。PCR 产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测后, 送北京擎科生物科技有限公司测序。

1.2.2 原核表达载体构建 利用 *EcoR* I 和 *Bam* H I 对 pGEX2T 载体进行双酶切, 经 1% 琼脂

糖凝胶电泳检测后采用天根 DNA 纯化试剂盒 (Tiagen) 进行切胶回收,利用 T_4 DNA 连接酶 (TaKaRa) 和带有 *EcoR* I 和 *Bam* H I 酶切位点的 *LsCAS* 片段连接。重组产物转化到 DH5 α 后,经菌落 PCR、双酶切和测序鉴定。

1.2.3 *LsCAS* 蛋白纯化 将 pGEX2T-*LsCAS* 重组质粒利用 KCM 法转化入感受态 BL21(DE3) 中。挑取单克隆于 5 mL 含 Amp 的 LB 液体培养基中,37 $^{\circ}$ C、180 r/min 培养 12 h 后;取 2 mL 菌液转接于 200 mL 含有 Amp 的 LB 液体培养基中培养至 OD_{600} 为 0.4~0.6,加入终浓度为 0.2 mmol/L IPTG,25 $^{\circ}$ C 培养 10~12 h。收集菌体后用 PBS 缓冲液重悬,超声破碎后收集上清液。使用碧云天 GST 亲和柱 (BeyoGoldTM GST-tag Purification Resin) 进行亲和层析,用 PBS 缓冲液平衡 GST 亲和柱并洗去未结合杂蛋白,用含有 10 mmol/L GSH 的 GST 洗脱缓冲液洗脱目的蛋白。通过 SDS-PAGE 对纯化蛋白进行鉴定。

1.2.4 Western-blot 分析 上述纯化蛋白使用 12.5% 的 SDS-PAGE 分离后,转移到 NC 膜上,用 GST 标签抗体和大豆 CS 抗体分别进行验证。

1.2.5 分子排阻 将纯化的 *LsCAS* 用牛凝血酶切割 GST 标签,用 10 kD 超滤管浓缩至蛋白终浓度为 3 mg/mL。取 1 mL 样品,使用 AKTA 蛋白纯化系统,Superdex 200 Increase 10/300 GL 凝胶柱分析纯化的 *LsCAS* 分子量。检测条件为:柱温室温,流速 0.5 mL/min,流动相 0.1 mol/L Tris-HCl 缓冲液 (pH 7.5,含 200 mmol/L NaCl),检测波长为 280 nm 和 412 nm。

2 结果与分析

2.1 山黧豆 *LsCAS* 基因 CDS 序列克隆

利用 RT-PCR 从山黧豆萌发 6 d 的幼苗根部 RNA 中进行 *LsCAS* 基因 CDS 序列的特异性扩增。结果表明,PCR 扩增产物在 1 000 bp 左右,与预期相符,且条带单一(图 1)。PCR 产物的测序结果与转录组数据序列完全一致,表明所获序列为 β -脲基丙氨酸合成酶基因。*LsCAS* 基因的 CDS 序列为 1 035 bp,编码 344 个氨基酸。编码的蛋白质具有典型的 CBS-like 蛋白功能结构域 (Cystathionine beta-synthase,CBS) 和半胱氨酸合成酶 (CS),表明 *LsCAS* 基因克隆成功。

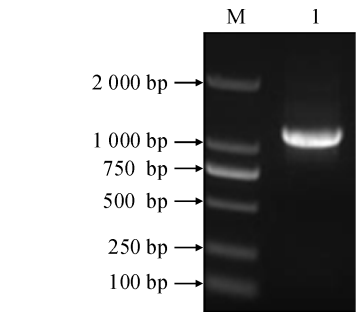
2.2 *LsCAS* 表达载体构建

采用酶切连接法构建 *LsCAS* 基因的原核表达

载体。经菌液 PCR 验证后(图 2,A),挑取阳性克隆进行质粒提取及 *EcoR* I 和 *Bam* H I 双酶切验证(图 2,B)。琼脂糖凝胶电泳检测结果表明,重组质粒的电泳迁移率略小于 pGEX2T 空载体;重组质粒经双酶切后在 5 kb 和 1 kb 左右呈 2 条条带,其电泳迁移率分别与 pGEX2T 空载体和 *LsCAS* 基因扩增产物大小相当。这表明重组载体构建成功。经测序证实后,将其命名为 pGEX2T-*LsCAS*。

2.3 *LsCAS* 蛋白纯化

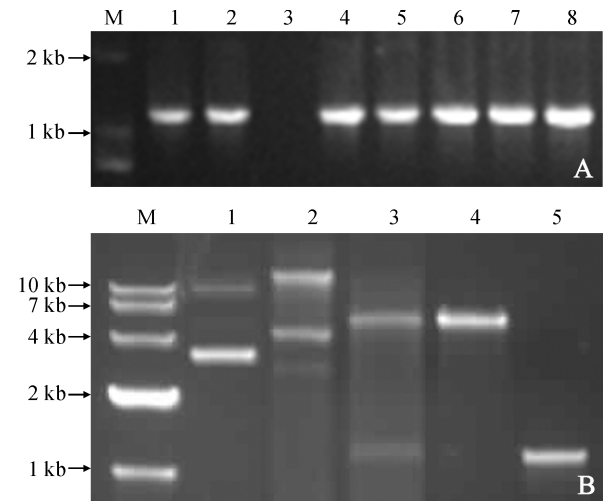
利用 IPTG 进行重组质粒诱导表达后,采用 GST



M, DL2000;1. RT-PCR

图 1 *LsCAS* 基因的 RT-PCR 扩增结果

Fig.1 RT-PCR amplification result of *LsCAS*



A. 菌液 PCR 验证:1—8. 菌落 PCR; B. *Bam* H I 和 *Eco* R I 双酶切验证:1. pGEX2T;2. pGEX2T-CAS;3. pGEX2T-CAS 酶切产物;4. pGEX2T 酶切产物;5. *LsCAS* 基因 PCR 产物;

M, DNA marker

图 2 重组质粒验证

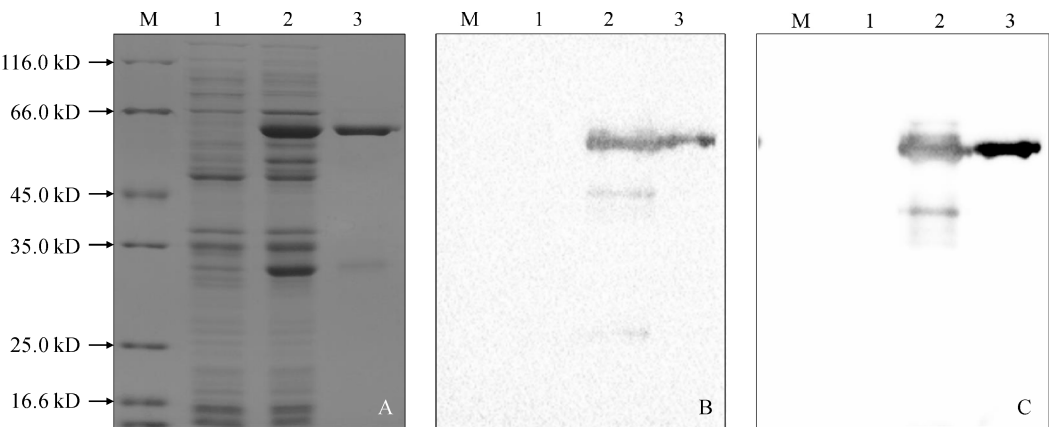
A. Colony PCR; 1—8. Colony PCR of randomly selected colonies;

B. Double enzyme digestion by *Bam* H I and *Eco* R I :

1. Plasmid pGEX2T; 2. Plasmid pGEX2T-*LsCAS*; 3. Enzyme digested fragments of pGEX2T-*LsCAS*; 4. Enzyme digested fragments of pGEX2T; 5. Cloned *LsCAS* gene via RT-PCR;

M, DNA marker

Fig.2 Identification of recombinant plasmid



A. SDS-PAGE;B. 利用大豆 CS 抗体检测;C. 利用 GST 标签抗体进行检测;M. 蛋白质分子量标准;1. IPTG 诱导前总蛋白质;
2. IPTG 诱导后总蛋白质;3. 纯化后的 LsCAS 蛋白

图 3 LsCAS 蛋白纯化的 SDS-PAGE 及 Western-blot 检测

A. SDA-PAGE; B. CS antibody; C. GST antibody; M. Regular range protein marker; 1. Total protein before IPTG induction;
2. Total protein after IPTG induction; 3. The purified LsCAS

Fig. 3 SDA-PAGE and Western-blot analysis of purified LsCAS

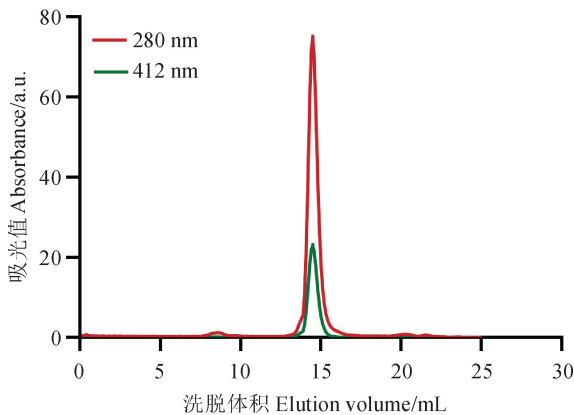


图 4 分子排阻验证 LsCAS 分子量及聚合方式

Fig. 4 Molecular weight analysis of LsCAS via size-exclusion chromatography

亲和层析法对 LsCAS 融合蛋白进行纯化。SDS-PAGE 检测表明,所获融合蛋白条带单一,大小在 64 kD 左右,符合预期大小。进一步利用 GST 标签抗体和大豆 CS 抗体进行 Western-blot 分析,在诱导后的菌体蛋白和纯化后的重组蛋白中均能检测到特征条带,说明所获融合蛋白为山黧豆 LsCAS 蛋白(图 3)。

2.4 分子排阻分析

使用 Superdex 200 Increase 10/300 GL 凝胶柱判断 LsCAS 在离体条件下的分子量。结果表明(图 4),纯化的 LsCAS 在 412 nm 下具有特征吸收峰。由于 412 nm 是磷酸吡哆醛 PLP 的特征吸收波长^[21],说明 LsCAS 属于 PLP 依赖的蛋白酶家族。在 280 nm 检测波长下,LsCAS 在洗脱体积为

14.56 mL 处有最大吸收值。根据标准蛋白分子的排阻体积进行计算,对应的分子量为 145 kD 左右。由于 LsCAS 蛋白单体分子量为 36 kD,说明 LsCAS 在离体条件下可能以四聚体方式存在。

3 讨论

在山黧豆中,LsCAS 是 β -ODAP 生物合成途径的关键酶,负责催化异噁唑-5-酮与 Cys 合成关键中间化合物 BIA^[13-14]。研究表明, β -CAS 隶属于磷酸吡哆醛 PLP 依赖的半胱氨酸合成酶 CS 家族^[16,21]。因而,PLP 附着的关键位点 Lys(K)对 CS 功能的行使至关重要^[21]。例如,拟南芥 *AtOASSK46A* 突变体表现为 Cys 合成酶活性丧失^[22]。在山黧豆中,将 PLP 附着关键位点的 Lys 突变后,进行 *E. coli* NK3 功能互补分析和酶活检测均表明,LsCS 及 LsCAS 突变体酶活丧失^[14,17]。本研究在分子排阻试验中,检测到 LsCAS 蛋白在 412 nm 波长下具有 PLP 的特征吸收峰,进一步证实了上述结论。

拟南芥、大豆等作物中的研究表明,植物硫代谢途径调控的一个典型特征是 2 个 CS 同源二聚体与 2 个 SAT 同源三聚体共同形成半胱氨酸调控复合物 CRC,并通过复合物的聚合/解聚状态调节 CS 与 SAT 酶活^[18-20]。当形成 CRC 复合物时,会降低 CS 的活性而升高 SAT 活性^[23]。山黧豆 LsCAS 在发挥功能时,可通过与 LsSAT2 互作起到 β -ODAP 生物合成调控分子开关的作用^[14],这暗示 LsCAS 与 LsSAT2 可能通过 CRC 复合物的形成调控二者酶

活。将 LsCAS 与 LsSAT2 采用梯度摩尔比例混合后,在降低 LsCAS 酶活的同时确实会增加 LsSAT2 活性^[14]。本研究利用分子排阻法证实,LsCAS 可能以四聚体方式存在,说明 LsCAS 可能以两个二聚体方式参与 CRC 复合物的形成。

CRC 的聚合与解聚状态由细胞内的硫含量决定^[24]。在硫充足情况下,山黧豆 LsCAS 和 LsSAT2 形成 CRC 调控复合物,增强了 SAT 活性;充足的硫供应保证了 Cys 的合成,进而在游离 LsCAS 作用下合成 BIA 及 β -ODAP。在低硫情况下,OAS 的积累促使 CRC 解聚,降低了 SAT 活性;低水平的 Cys 限制了以其为底物的 BIA 及 β -ODAP 合成。

参考文献:

[1] RAO S L, ADIGA P R, SARMA P S. The isolation and characterization of beta-N-oxalyl-L-alpha, beta-diaminopropionic acid: A neurotoxin from the seeds of *Lathyrus sativus*[J]. *Biochemistry*, 1964, 3: 432-436.

[2] KOH H L, LAU A J, CHAN E C Y. Hydrophilic interaction liquid chromatography with tandem mass spectrometry for the determination of underivatized dencichine (β -N-oxalyl-L- α , β -diaminopropionic acid) in *Panax* medicinal plant species[J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2005, 19 (10): 1 237-1 244.

[3] LAMBEIN F, TRAVELLA S, KUO Y H, *et al.* Grass pea (*Lathyrus sativus* L.): Orphan crop, nutraceutical or just plain food? [J]. *Planta*, 2019, 250(3): 821-838.

[4] 赵 钢. 三七素在制备治疗神经变性病药物中的应用的制作方法:中国,CN 102579418A[P]. 2012-01-12.

ZHAO G. The application of dencichine in the preparation of drugs for treating neurodegenerative diseases: China, CN 102579418A[P]. 2012-01-12.

[5] DONG T T X, CUI X M, SONG Z H, *et al.* Chemical assessment of roots of *Panax notoginseng* in China: Regional and seasonal variations in its active constituents[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003, 51(16): 4 617-4 623.

[6] LAN G, CHEN P, SUN Q, *et al.* Methods for treating hemorrhagic conditions, No. US 8,362,081 B2. [P]. United States Patent, 2013.

[7] LI J, QIU P C, WANG S W, *et al.* β -N-oxalyl-L- α , β -diaminopropionic acid from *Panax notoginseng* plays a major role in the treatment of type 2 diabetic nephropathy[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2019, 114: 108 801.

[8] WANG T, GUO R X, ZHOU G H, *et al.* Traditional uses, botany, phytochemistry, pharmacology and toxicology of *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen: A review[J]. *Journal*

of *Ethnopharmacology*, 2016, 188: 234-258.

[9] JIAO C J, XU Q L, WANG C Y, *et al.* Accumulation pattern of toxin β -ODAP during lifespan and effect of nutrient elements on β -ODAP content in *Lathyrus sativus* seedlings[J]. *The Journal of Agricultural Science*, 2006, 144 (4): 369-375.

[10] 宋瑶瑶,曾 鹏,蒋景龙,等. 山黧豆 β -ODAP 与硫代谢关系研究进展[J]. 草业科学, 2020, 37(5): 963-974.

SONG Y Y, ZENG P, JIANG J L, *et al.* Research progress on β -ODAP and sulfur metabolism of *Lathyrus sativus* [J]. *Pratacultural Science*, 2020, 37(5): 963-974.

[11] XU Q L, LIU F J, QU R H, *et al.* Transcriptomic profiling of *Lathyrus sativus* L. metabolism of β -ODAP, a neuroexcitatory amino acid associated with neurodegenerative lower limb paralysis[J]. *Plant Molecular Biology Reporter*, 2018, 36(5-6): 832-843.

[12] LIU F J, JIAO C J, BI C X, *et al.* Metabolomics research related to β -ODAP metabolism in *Lathyrus sativus* L. [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2017, 65: 10 206-10 213.

[13] XU Q L, LIU F J, CHEN P, *et al.* β -N-oxalyl-L- α , β -diaminopropionic acid (β -ODAP) content in *Lathyrus sativus*: The integration of nitrogen and sulfur metabolism through β -cyanoalanine synthase[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2017, 18(3): 526.

[14] SONG Y Y, WANG L, LIU F J, *et al.* β -cyanoalanine synthase regulates the accumulation of β -ODAP via interaction with serine acetyltransferase in *Lathyrus sativus* [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2021, 69(6): 1 953-1 962.

[15] HATZFELD Y, MARUYAMA A, SCHMIDT A, *et al.* Beta-Cyanoalanine synthase is a mitochondrial cysteine synthase-like protein in spinach and *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiology*, 2000, 123(3): 1 163-1 171.

[16] WATANABE M, KUSANO M, OIKAWA A, *et al.* Physi-

ological roles of the beta-substituted alanine synthase gene family in *Arabidopsis*[J]. *Plant Physiology*, 2008, **146**(1): 310-320.

[17] 申 肖,宋瑶瑶,陈 红,等. 山黧豆半胱氨酸合成酶基因的克隆及功能分析[J]. 农业生物技术学报, 2021, **29**(8): 1 443-1 452.

XIAO X, SONG Y Y, CHEN H, *et al.* Cloning and functional analysis of the cysteine synthase genes in grass pea (*Lathyrus sativus*)[J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2021, **29**(8): 1 443-1 452.

[18] WIRTZ M, BEARD K F M, LEE C P, *et al.* Mitochondrial cysteine synthase complex regulates O-acetylserine biosynthesis in plants[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2012, **287**(33): 27 941-27 947.

[19] YI H, DEY S, KUMARAN S, *et al.* Structure of soybean serine acetyltransferase and formation of the cysteine regulatory complex as a molecular chaperone[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2013, **288**(51): 36 463-36 472.

[20] JEZ J M. Structural biology of plant sulfur metabolism: From sulfate to glutathione[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2019, **70**(16): 4 089-4 103.

[21] YI H, JUERGENS M, JEZ J M. Structure of soybean β -cyanoalanine synthase and the molecular basis for cyanide detoxification in plants[J]. *The Plant Cell*, 2012, **24**(6): 2 696-2 706.

[22] BONNER E R, CAHOON R E, KNAPKE S M, *et al.* Molecular basis of cysteine biosynthesis in plants: Structural and functional analysis of O-acetylserine sulfhydrylase from *Arabidopsis thaliana*[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2005, **280**(46): 38 803-38 813.

[23] DROUX M, RUFFET M L, DOUCE R, *et al.* Interactions between serine acetyltransferase and O-acetylserine (thiol) lyase in higher plants[J]. *European Journal of Biochemistry*, 1998, **255**(1): 235-245.

[24] WIRTZ M, HELL R. Functional analysis of the cysteine synthase protein complex from plants: Structural, biochemical and regulatory properties[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2006, **163**(3): 273-286.

[25] GARCIA I, CASTELLANO J M, VIOQUE B, *et al.* Mitochondrial β -cyanoalanine synthase is essential for root hair formation in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Plant Cell*, 2010, **22**(10): 3 268-3 279.

[26] GARCIA I, ROSAS T, BEJARANO E R, *et al.* Transient transcriptional regulation of the CYS-C1 gene and cyanide accumulation upon pathogen infection in the plant immune response[J]. *Plant Physiology*, 2014, **162**(1): 2 015-2 027.

(编辑:宋亚珍)

山 黧 豆 —— 未 来 智 慧 食 物 (Future Smart Food,FSF)

少数主流作物的盛行以及依赖单一作物作为主食的饮食习惯造成了许多人口健康问题。在联合国粮农组织提出的零饥饿计划(Zero Hunger in Asia and the Pacific)中,未来智慧食物(Future Smart Food,FSF)代表了农业生产及消费的新方向。

FSF 又被称为“被忽视和未充分利用的作物”(neglected and underutilizedspecies, NUS)、“孤儿作物”(orphan crops)、“有希望的作物”(promising crops)等,可以提供丰富的营养元素(nutritiondensity)、具有一定气候适应性(climateresilience)、低成本(economicviability)以及易栽培(locallyavailability oradaptability)等特征。山黧豆因为较高的蛋白含量、广谱的抗逆性、以及对环境友好等特征而名列其中。

西澳大学 Kadambot H. M. Siddique 教授团队综述了包含山黧豆、小扁豆、绿豆、蚕豆等亚洲特色作物的潜在应用价值。