

DOI:10.3969/j.issn.1003-5060.2025.08.012

番茄 *APR1* 基因在硫代谢通路中的功能研究

王思月, 张 华, 郭文通, 余 越, 胡康棣, 姚改芳

(合肥工业大学 食品与生物工程学院, 安徽 合肥 230601)

摘 要:文章对不同植物物种中 *APR* 基因家族成员进行生物信息学分析,以番茄为实验材料,利用 CRISPR-Cas9 基因编辑技术成功构建 *SlAPR1* 基因编辑载体,并转入农杆菌感受态细胞 EHA105。采用组培技术成功构建 *SlAPR1* 基因编辑植株,检测发现该植株根部含内源硫化氢量明显低于野生型番茄植株,说明 *SlAPR1* 基因表达量降低会抑制内源硫化氢的产生。该结果为研究 *SlAPR1* 基因在番茄硫代谢通路中的功能及作用机制奠定了基础。

关键词:番茄; *SlAPR1* 基因; 生物信息学; 基因编辑技术; 硫化氢

中图分类号:Q943.2 **文献标志码:**A **文章编号:**1003-5060(2025)08-1085-07

Functional study of tomato *APR1* gene in sulfur metabolic pathway

WANG Siyue, ZHANG Hua, GUO Wentong, YU Yue, HU Kangdi, YAO Gaifang

(School of Food and Biological Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230601, China)

Abstract:In this paper, bioinformatics analysis of *APR* gene family members in different plant species was conducted. Using tomato as experimental material, *SlAPR1* gene editing vector was successfully constructed by CRISPR-Cas9 gene editing technology and transferred into *Agrobacterium tumefaciens* receptor cells EHA105. *SlAPR1* gene editing plants were successfully constructed using histopathogenesis technology, and it was found that the endogenous hydrogen sulfide content in their roots was significantly lower than that of wild-type tomato plants, indicating that the reduced expression of *SlAPR1* gene inhibits the production of endogenous hydrogen sulfide, which is an important basis for studying the function and mechanism of *SlAPR1* gene in tomato sulfur metabolic pathway.

Key words:tomato; *SlAPR1* gene; bioinformatics; gene editing technology; hydrogen sulfide

0 引 言

番茄 (*Solanum lycopersicum* L.) 是世界上最重要的蔬菜作物之一,具有适应性广、产量高、易栽培、营养价值高等特点^[1]。番茄的果实含有丰富的维生素 A、维生素 C、糖类、有机酸、类胡萝卜素等多种营养素,并且具有口感酸甜、味道佳的特性^[2]。番茄遗传背景清晰、生长周期短,是一种可用于各种研究调查的模式植物,因其突变体材料易于获得且可用于生产研究,使得番茄成为基

因编辑材料的理想候选者,CRISPR-Cas9 介导的基因编辑已在包括番茄在内的多种粮食作物中得到证实,因此,番茄被广泛用于基因功能的研究^[3-4]。

硫元素是生物体必需的营养元素,硫在环境中广泛存在,微生物、动物和植物的硫基础代谢途径之间存在着紧密联系^[5-6]。硫是植物体内含硫氨基酸的重要组成部分^[7-8],如半胱氨酸(Cys)、蛋氨酸(Met)等;同时硫也是参与构成维生素、辅酶因子和 Fe-S 簇等活性物质的活性中心^[9]。除

收稿日期:2023-04-21;修回日期:2023-05-16

基金项目:国家自然科学基金资助项目(32170315)

作者简介:王思月(1999—),女,安徽霍邱人,合肥工业大学硕士生;

张 华(1973—),男,江苏徐州人,博士,合肥工业大学教授,博士生导师,通信作者,E-mail:hzhanglab@hfut.edu.cn.

此之外,硫还以无机物硫化氢(H_2S)的形式存在于植物体内,研究证实硫化氢改善了种子萌发和多种作物(如豌豆、玉米和小麦^[10])的产量。

硫酸盐是环境中硫元素存在的最主要状态,同时也是植物吸收利用硫的主要形式。部分进入到植物细胞的硫酸盐被储存在液泡中,待需要时再释放出来,但更多的硫酸盐则被转运到质体或叶绿体中以开始同化途径^[11-12]。在硫同化之前,硫酸盐首先被 ATP 硫酸化酶催化成腺苷 5'-磷酸硫酸(APS)^[13],APS 可以被 APS 激酶进一步磷酸化为 3'-磷酸腺苷-5'-磷酸硫酸,为细胞硫酸化反应提供了硫酸盐供体^[14-16]。

A 腺苷 5'-磷酸硫酸还原酶(APR)是植物硫同化通路中的限速酶。在拟南芥中有 3 个 APR 亚型,其中 APR2 发挥重要作用^[17]。通过对蛋白结构域分析可知,APR 具有 2 个结构域,一个是 C 端电子转移结构域,另一个是 APS 还原酶催化中心的氨基(N)端结构域。硫酸盐的吸收和 APR 对 APS 的还原过程受植物硫营养状况的控制。拟南芥中 3 种亚型 APR 的表达和活性水平受环境硫水平、半胱氨酸、GSH、O-乙酰丝氨酸、氮供应、糖以及植物激素的影响^[18]。

APR 是硫同化通路中的关键限速酶,为探究其在植物硫代谢中的具体功能和作用机制,本文对不同物种中 APR 基因家族成员进行生物信息学分析,并以番茄为实验材料,利用 CRISPR-Cas9 基因编辑技术和组培技术构建 *SlAPR1* 基因编辑植株。本文工作为研究 *SlAPR1* 基因在番茄硫代谢通路中的功能和作用机制奠定了基础。

1 材料与方法

1.1 材料和试剂

实验所用材料有 Ailsa Craig 番茄种子、CRISPR-Cas9 载体。

实验所用试剂有:TransStart[®] FastPfu DNA Polymerase(北京全式金生物技术有限公司); $2\times$ Taq Mix、感受态细胞 DH5 α 和 EHA105(上海维地生物有限公司);普通琼脂糖凝胶回收试剂盒、质粒小提试剂盒(天根生化科技有限公司);*Bsa* I、T4 连接酶(NEB 公司);TB Green[®] Premix Ex Taq、PrimeScript[™] RT Master Mix(宝日生物技术有限公司);Plant total RNA isolation Kit Plus(福际生物科技有限公司)。

1.2 主要仪器

实验所用仪器有:数显恒温水浴锅(江苏金坛市金城国胜实验仪器厂);Thermal Cycler 聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)仪(美国 Applied Biosystems);全自动数码凝胶图像分析系统(上海天能科技有限公司);SW-CJ-1Cu 超净工作台(北京全式金生物技术有限公司);CT14RD 台式高速冷冻离心机(上海天美生化仪器设备工程有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 APR 同源蛋白进化树构建

利用 Phytozome (<https://phytozome-next.jgi.doe.gov/>)网站下载拟南芥、番茄和大豆中已鉴定的 25 条蛋白序列作为参考。其中:拟南芥 8 条;番茄 7 条;大豆 10 条。利用 MEGA7.0 软件,并使用 Neighbr-Joining 法构建 APR 同源蛋白的系统进化树。

1.3.2 APR 同源蛋白氨基酸序列比对

从进化树中选择同源性最高的分支,利用 MultAlin (<http://multalin.toulouse.inra.fr/multalin/>)网站进行氨基酸序列比对分析。

1.3.3 *SlAPR1* 基因靶点接头的制备

从 NCBI 数据库中获取番茄 APR1 基因序列,利用 Crispr 靶点设计网站设计靶点接头引物,靶点尽量靠近序列前端或后端。用双蒸水将引物稀释成 10 μ mol/L 母液,取 F、R 引物各 1 μ L 加到 8 μ L 双蒸水中混合稀释到 1 μ mol/L。PCR 仪程序设为 90 $^{\circ}$ C 30 s,完成退火即完成靶点接头连接。

1.3.4 *SlAPR1* 表达盒的扩增

根据引物的设计选择 U3-或者 U6-质粒,边切边连是用限制性内切酶 *Bsa*I 将质粒(即 gRNA 载体)切开,再用 T4 DNA 连接酶将质粒和接头连接。边切边连体系为 10.0 μ L,其中 *Bsa*I 酶 0.5 μ L、Cutsmart buffer 1.0 μ L、T4 DNA 连接酶 1.0 μ L、T4 DNA buffer 0.5 μ L、U3-/U6-质粒 1.0 μ L、靶点接头 0.5 μ L、双蒸水 5.5 μ L。PCR 反应体系为 37 $^{\circ}$ C 5 min,20 $^{\circ}$ C 5 min,共 5 个循环。

为了更稳定地得到特异性目标产物且避免产生空载产物,采用两轮轮巢式 PCR。第 1 轮扩增中每个靶点 2 个 PCR 反应,每个反应体系 15.0 μ L。靶点 1 的反应 1 体系为:上述靶点 1 连接产物 1.0 μ L、引物 U-F 和接头反向引物 R1 各 1.5 μ L、KOD 酶 1.0 μ L、 $10\times$ KOD buffer 5.0 μ L、 $MgSO_4$ 3.0 μ L、dNTPs 5.0 μ L、双蒸水 32.0 μ L。靶点 1 反应 2 体系为:上述连接产物 1.0 μ L、引物 gRNA-R

和接头正向引物 F1 各 1.5 μL 、KOD 酶 1.0 μL 、 $10\times\text{KOD}$ buffer 5.0 μL 、 MgSO_4 3.0 μL 、dNTPs 5.0 μL 、双蒸水 32.0 μL 。靶点 2 的反应体系只需将靶点 1 中的连接产物和引物换成靶点 2 的连接产物和引物。PCR 反应体系为:95 $^\circ\text{C}$ 1 min,95 $^\circ\text{C}$ 10 s,60 $^\circ\text{C}$ 15 s,68 $^\circ\text{C}$ 20 s;72 $^\circ\text{C}$ 10 min,25 个循环。PCR 结束后,取 5.0 μL 产物跑琼脂糖凝胶,检查条带大小是否正确。

第 2 轮 PCR 扩增:2 个靶点的 PCR 扩增体系为 30.0 μL ,4 个靶点的扩增体系为 20.0 μL 。将第 1 轮 PCR 反应 1、反应 2 产物稀释 10 倍,选用位置特异引物对 B1' + B2 (PT1)、B2' + BL (PT2L)、B2' + B3 (PT2)、B3' + B4 (PT3)、B4' + BL (PT4L) 混合成 10 倍工作液,每种引物浓度为 1.5 $\mu\text{mol/L}$ 。

1.3.5 *SIAPR1* 扩增产物的纯化

取反应 1 和反应 2 稀释后的产物各 1.0 μL ,取 PT1 3.0 μL 、KOD 酶 0.6 μL 、 $10\times\text{KOD}$ buffer 3.0 μL 、 MgSO_4 1.8 μL 、dNTPs 3.0 μL 、双蒸水 16.6 μL 。PCR 程序体系为:95 $^\circ\text{C}$ 1 min,95 $^\circ\text{C}$ 10 s,55 $^\circ\text{C}$ 15 s,68 $^\circ\text{C}$ 20 s,18 个循环;72 $^\circ\text{C}$ 10 min。取 2.0 μL 产物和 1.0 μL 6 \times DNA buffer 进行琼脂糖凝胶电泳实验,检查条带大小是否正确。根据条带的亮度估算产物的浓度,将各靶点反应产物大致等量混合,使用普通 DNA 产物纯化试剂盒对混合产物进行纯化。

1.3.6 *SIAPR1*-gRNA 与 Cas9 连接及鉴定

取纯化后的上述连接产物和 Cas9 空载质粒各 2.0 μL ,使用 Nana Drop 2000 分光光度仪对连接产物和 Cas9 载体浓度进行检测,确定反应体系中其加入的量。15.0 μL 反应体系中,加入纯化后的产物 0.3 μL 、适量 Cas9 质粒、*Bsa*I 内切酶 0.5 μL 、 $10\times\text{Cutsmart}$ buffer 1.5 μL ,剩下的用双蒸水补足至 15.0 μL ;放入 PCR 仪(37 $^\circ\text{C}$ 10 min),待反应结束后,向反应体系中继续加入 0.2 μL T4 DNA ligase、0.4 μL T4 ligase buffer,再放入 PCR 仪中。此时 PCR 反应体系为:37 $^\circ\text{C}$ 2 min,10 $^\circ\text{C}$ 3 min,20 $^\circ\text{C}$ 5 min,13 个循环;37 $^\circ\text{C}$ 2 min。

将 gRNA 表达盒与 Cas9 质粒连接后的产物转入 DH5 α 大肠感受态细胞中,涂布至含有卡那抗性的固体 LB 培养基,37 $^\circ\text{C}$ 过夜倒置培养以筛选阳性克隆,提质粒送测序。

1.3.7 *SIAPR1* 基因编辑植株的筛选与鉴定

将测序成功的 *APR*-Cas9 质粒转入 EHA105 农杆菌感受态中,涂布至含有卡那和利福平抗性的 LB 固体培养基,28 $^\circ\text{C}$ 过夜倒置培养。挑取单

克隆,利用菌落 PCR 分段鉴定,鉴定引物用 SP-DL/R1、F1/R2、F2/SP-R,将鉴定成功的阳性菌落扩大培养,进行保菌。

待移栽进土里的番茄苗长到一定高度,取番茄叶片提取番茄全基因组 DNA,同时提取野生型番茄苗叶片 DNA 作为对照,并以此为模板,使用载体上的序列设计的引物 Cas9-RTF、Cas9-RTR 来鉴定 Cas9 载体是否导入植株中,用设计的靶点引物 *APR*-F、*APR*-R 将靶点序列扩增出来,以野生型番茄苗作为对照,将扩增产物送公司进行测序检测。利用 DSDecode 网站鉴定分析植株是否出现碱基替换、碱基突变、碱基缺失的突变。

1.3.8 植株根部含内源硫化氢量的测定

称取 0.1~0.5 g 番茄根部于研钵中磨碎,加入 5 mL 含 0.1 mol/L EDTA 和 pH 值为 6.8 的 0.2 mol/L 抗坏血酸的 50 mmol/L 磷酸盐缓冲液进行萃取;将装有 0.5 mL 的 1% 乙酸锌的捕集器粘在锥形瓶底部,再将萃取好的匀浆倒入锥形瓶底部,向底部加入 0.5 mL 1 mol/L 盐酸,立刻将锥形瓶口用锡纸封住,轻晃锥形瓶使匀浆与盐酸混合均匀以释放 H_2S ,最后被吸收在乙酸锌捕集器中;反应 30 min 后,向捕集器中加入 0.3 mL 含 5 mmol/L 二甲基对苯胺的 3.5 mmol/L H_2SO_4 ,再加入 0.3 mL 含 50 mmol/L 硫酸铁铵的 100 mmol/L 硫酸,室温混合放置 15 min,在 667 nm 下测定吸光度值。空白对照是在没有乙酸锌的情况下通过相同的步骤操作。

2 结果与分析

2.1 同源 *APR* 蛋白进化树和氨基酸序列分析

从 Phytozome 网站上获得 8 条拟南芥蛋白序列、7 条番茄蛋白序列和 10 条大豆蛋白序列,利用 MEGA7.0 软件绘制进化树。同源 *APR* 蛋白进化树及氨基酸序列比对结果如图 1 所示。从图 1a 可以看出:同源 *APR* 蛋白有 2 个分支,第 1 个分支中 *APR1*、*APR2*、*APR3*、Glyma.15G108700、Glyma.15G108700(2)、Glyma.15G108700(3)、Glyma.09G004400、Glyma.09G004400(2)和 Glyma.07G261500 这 9 个蛋白同源性较高,其他 5 个蛋白之间亲缘性较高;第 2 个分支包括 11 个拟南芥、番茄和大豆基因。

选择进化树第 1 个分支中与 *APR* 同源性更高的 9 个蛋白进行氨基酸序列比对,如图 1b 所示。分析发现存在高度相似的氨基酸序列,说明它们之间高度同源,可能具有相同的基因功能。

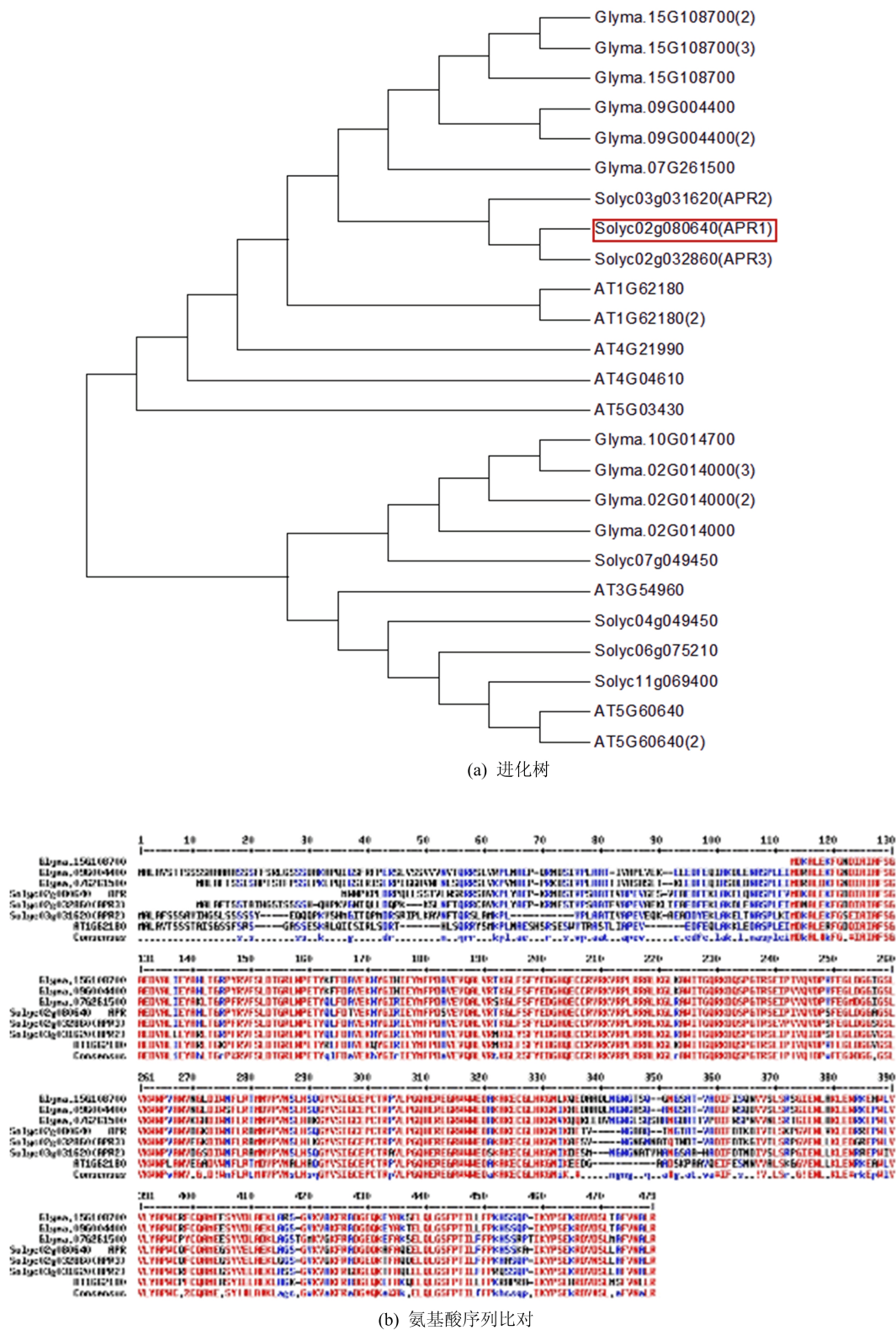


图 1 同源 APR 蛋白进化树及氨基酸序列比对

2.2 *SlAPR1* 表达盒扩增分析

引物按照说明书稀释后进行 *SlAPR1* 基因靶点接头制备,同时进行 gRNA 表达盒的酶切以及 gRNA 表达盒与靶点接头连接,将连接好的 gRNA 载体与 *SlAPR1* 基因靶点接头进行两轮

巢式 PCR 扩增,结果如图 2 所示。图 2 中:M 为 DNA Marker;泳道 1、2 分别表示靶点 1 的反应 1 和反应 2 产物;泳道 3、4 分别表示靶点 2 的反应 1 和反应 2 产物;泳道 5、6 分别表示靶点 1 和靶点 2 的扩增产物。

由图 2a 可知,反应 1、反应 2 目标条带分别在 400、200 bp 左右,位置正确,说明 *SIAPR1* 表达盒第 1 轮 PCR 扩增成功。由图 2b 可知,扩增条带大小为 500 bp,大小与理论值符合,说明第 2 轮 PCR 扩增成功。

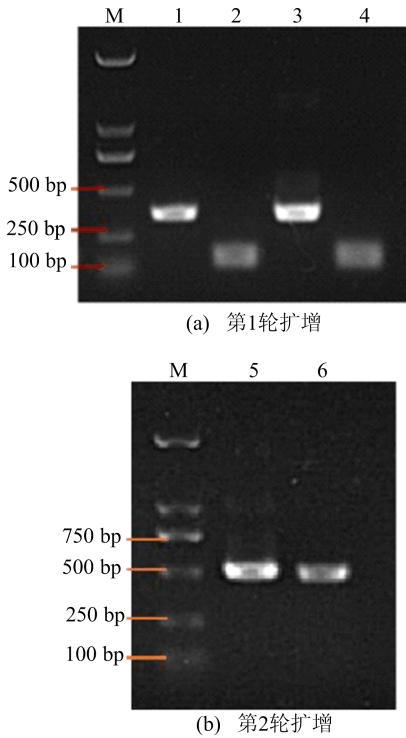


图 2 *SIAPR1* 表达盒扩增结果

2.3 *SIAPR1* 扩增产物的纯化结果

第 2 轮 PCR 扩增的产物使用天根普通 DNA 纯化试剂盒进行普通 DNA 纯化,结果如 3 所示。图 3 中:M 表示 DNA Marker;泳道 1~泳道 3 为纯化后产物。由图 3 可知,纯化产物条带位置正确,表明纯化成功。

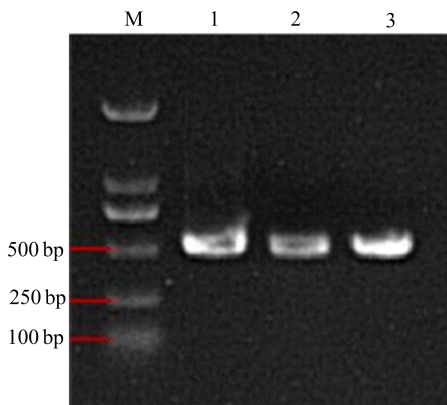


图 3 *SIAPR1* 表达盒扩增 2 轮产物纯化结果

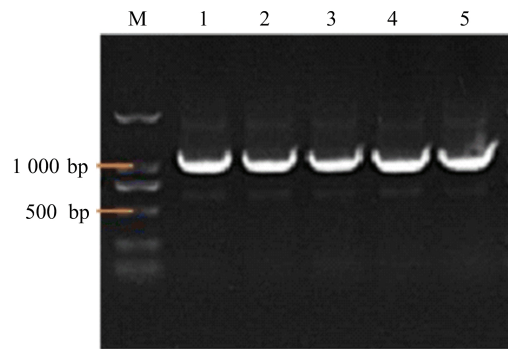
2.4 *SIAPR1*-gRNA 与 Cas9 连接及测序分析

将纯化后的产物与 Cas9 质粒采用边切边连

的方法进行连接,将连接产物转入到 DH5 α 大肠杆菌感受态,并进行菌落 PCR 鉴定,结果如图 4a 所示。图 4a 中:M 表示 DNA Marker;泳道 1~泳道 5 表示单克隆(*SIAPR1* 基因 PCR 产物)。由图 4a 可知,上述单克隆均为阳性单克隆菌落,并且条带位置正确。

将鉴定正确的单克隆菌体扩大培养,提质粒并测序,结果如图 4b 所示,图 4b 中:红色标注为靶点序列;绿色标注为表达盒序列。

测序结果显示靶点与表达盒序列都在,并且没有任何碱基替换以及突变,因此 *APR1*-Cas9 载体构建成功。



(a) *APR1*-Cas9 菌落 PCR 鉴定



(b) *APR1*-Cas9 重组质粒测序结果

图 4 *APR1*-Cas9 菌落 PCR 鉴定及测序结果

将测序成功的重组质粒转入到农杆菌感受态 EHA105,于 28 °C 过夜培养并保菌进行后续实验。

2.5 *SIAPR1* 基因编辑植株的鉴定及表型图

T1 代的植株不需要再进行 Cas9 蛋白的鉴定,直接将靶点扩增出来后测序,利用 DSDecode 网站比对结果,*SIAPR1* T1 代植株的 2 种鉴定结果如图 5 所示。图 5a 为 1 个等位基因出现 17 个碱基的缺失和替换;图 5b 为 1 个等位基因出现 224 个碱基的缺失和替换。

T1 代 *SIAPR1* 基因编辑植株表型图如图 6 所示。图 6 中,WT 为野生型植株,下同。



图 5 T1 代 *SIAPR1* 基因编辑植株的鉴定



图 6 T1 代 *SIAPR1* 基因编辑植株表型图

2.6 植株根部含内源硫化氢量

为了进一步鉴定 *SIAPR1* 基因的缺失是否会影响硫代谢中气体信号分子 H_2S 的产生,本文测定了 *SIAPR1* 基因编辑番茄植株(第 4 株)中含内源硫化氢的量,结果如图 7 所示。

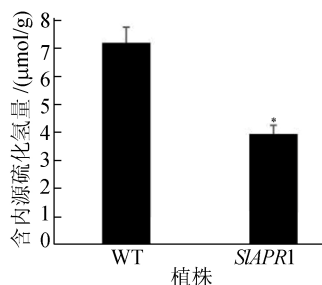


图 7 T1 代 *SIAPR1* 基因编辑植株根部含内源硫化氢量

图 7 中,* 表示 $P < 0.05$ 具有显著性。从图

7 可以看出,野生型植株含内源硫化氢量比 *SIAPR1* 基因编辑植株高近 1 倍,结果表明 *SIAPR1* 基因表达量降低会抑制内源硫化氢的产生,说明 *SIAPR1* 基因在硫酸盐的还原和硫化氢的生成过程中发挥着重要作用。

3 结 论

植物是自然界硫同化的主要还原者,在硫同化途径中,APR 是硫同化通路中的关键限速酶,控制着无机硫向有机硫的转化,但其在植物硫代谢中的具体功能及作用机制尚不清楚。本文通过对不同物种中 APR 基因家族成员进行生物信息学和氨基酸序列比对分析,发现 APR1、APR2、APR3、Glyma. 15G108700、Glyma. 15G108700(2)、Glyma. 15G108700(3)、Glyma. 09G004400、Glyma. 09G004400(2)和 Glyma. 07G261500 这 9 个蛋白高度同源。以番茄为实验材料,利用 CRISPR/Cas9 基因编辑技术成功构建 *SIAPR1* 基因编辑载体,并成功获得 *SIAPR1* 基因编辑植株。*SIAPR1* 基因编辑植株根部含内源硫化氢量显著低于野生型番茄植株,说明 *SIAPR1* 基因表达量降低会抑制内源硫化氢的产生,这为深入研究 *SIAPR1* 在硫代谢通路中的功能及作用机制奠定了基础。

[参 考 文 献]

[1] 陈浩,李煜博,邵志勇,等. 壳寡糖和油菜素甾醇处理对番茄产量和品质的影响[J]. 核农学报,2023,37(2):389-396.

- [2] 牛艳,王晓静,陈翔,等. 中国番茄产业发展的现状问题和对策及宁夏番茄产业发展成效[J]. 黑龙江农业科学, 2022(12):70-74.
- [3] GARCIA D, NARVÁEZ-VÁSQUEZ J, OROZCO-CÁRDENAS M L. Tomato (*Solanum lycopersicum*) [J]. Methods Mol Biol, 2015, 1223:349-361.
- [4] REEM N T, VAN ECK J. Application of CRISPR/Cas9-Mediated gene editing in tomato [J]. Methods Mol Biol, 2019, 1917:171-182.
- [5] 张宏,李颖杰,王文颖,等. 微生物硫循环网络的研究进展[J]. 微生物学报, 2021, 61(6):1567-1581.
- [6] 王亚鑫,吴玉,张洪琳,等. 微生物硫代谢及其驱动下建立的生物生态关系[J]. 微生物学报, 2022, 62(3):930-948.
- [7] DAOU C, ZHANG H. Functional and physiological properties of total, soluble, and insoluble dietary fibres derived from defatted rice bran [J]. J Food Sci Technol, 2014, 51(12):3878-3885.
- [8] RAUSCH T, WACHTER A. Sulfur metabolism: a versatile platform for launching defence operations [J]. Trends Plant Sci, 2005, 10(10):503-509.
- [9] LABIDI J, CARTIGNY P, HAMELIN C, et al. Sulfur isotope budget (^{32}S , ^{33}S , ^{34}S and ^{36}S) in pacific-antarctic ridge basalts: a record of mantle source heterogeneity and hydrothermal sulfide assimilation [J]. Geochimica et Cosmochimica Acta, 2014, 133(8):47-67.
- [10] DOOLEY F D, NAIR S P, WARD P D. Increased growth and germination success in plants following hydrogen sulfide administration [J]. PLoS ONE, 2013, 8(4):e62048.
- [11] MARZLUF G A. Molecular genetics of sulfur assimilation in filamentous fungi and yeast [J]. Annu Rev Microbiol, 1997, 51(7):73-96.
- [12] GOTOR C, LAUREANO-MARIN A M, MORENO I, et al. Signaling in the plant cytosol: cysteine or sulfide? [J]. Amino Acids, 2015, 47(10):2155-2164.
- [13] HATZFELD Y, LEE S M, LEE M S, et al. Functional characterization of a gene encoding a fourth ATP sulfurylase isoform from *Arabidopsis thaliana* [J]. Gene, 2000, 248(1/2):51-58.
- [14] RAVILIOUS G E, NGUYEN A, FRANCOIS J A, et al. Structural basis and evolution of redox regulation in plant adenosine-5'-phosphosulfate kinase [J]. Proceedings of National Academy of Sciences, 2012, 109(1):309-314.
- [15] WU Z L. Phosphatase-coupled universal kinase assay and kinetics for first-order-rate coupling reaction [J]. PLoS ONE, 2011, 6(8):21-32.
- [16] BROMKE M A, HOEFGEN R, HESSE H. Phylogenetic aspects of the sulfate assimilation genes from *Thalassiosira pseudonana* [J]. Amino Acids, 2013, 44:1253-1265.
- [17] GRANT K, CAREY N M, MENDOZA M, et al. Adenosine 5'-phosphosulfate reductase (*APR2*) mutation in *Arabidopsis* implicates glutathione deficiency in selenate toxicity [J]. Biochemical Journal, 2011, 438(2):325-335.
- [18] HESSE H, TRCHSEL N, SUTER M, et al. Effect of glucose on assimilatory sulphate reduction in *Arabidopsis thaliana* roots [J]. Journal of Experimental Botany, 2003, 54(388):1701-1709.

(责任编辑 闫杏丽)

(上接第 1084 页)

- [20] LI Y X, XU L, KANG S M, et al. Helicity-and molecular-weight-driven self-sorting and assembly of helical polymers towards two-dimensional smectic architectures and selectively adhesive gels [J]. Angew Chem, 2021, 60(13):7174-7179.
- [21] LIU N, ZHOU L, WU Z Q. Alkyne-palladium(II)-catalyzed living polymerization of isocyanides: an exploration of diverse structures and functions [J]. Acc Chem Res, 2021, 54(20):3953-3967.
- [22] SONG X, LI Y X, ZHOU L, et al. Controlled synthesis of one-handed helical polymers carrying achiral organoiodine pendants for enantioselective synthesis of quaternary all-carbon stereogenic centers [J]. Macromolecules, 2022, 55(11):4441-4449.
- [23] XU L, GAO B R, XU X H, et al. Controlled synthesis of cyclic-helical polymers with circularly polarized luminescence [J]. Angew Chem, 2022, 61(28):e202204966.
- [24] KAJITANI T, OKOSHI K, SAKURAI S, et al. Helix-sense controlled polymerization of a single phenyl isocyanide enantiomer leading to diastereomeric helical polyisocyanides with opposite helix-sense and cholesteric liquid crystals with opposite twist-sense [J]. J Am Chem Soc, 2006, 128(3):708-709.

(责任编辑 闫杏丽)