

NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM VÀ SỰ BIỂU HIỆN CỦA CÁC GEN β -CYANOALANINE SYNTHASE CỦA CÂY Sắn (*MANIHOT ESCULENTA* CRANTZ) BẰNG CÁC PHƯƠNG PHÁP TIN SINH HỌC

RESEARCHING CHARACTERISTICS AND EXPRESSIONS OF β -CYANOALANINE SYNTHASE GENES IN THE CASSAVA (*MANIHOT ESCULENTA* CRANTZ) VIA BIOINFORMATIC METHODS

Cao Phi Bằng

Trường Đại học Hùng Vương, Phú Thọ; phibang.cao@hvu.edu.vn

Tóm tắt - Ở thực vật bậc cao, β -cyanoalanine synthase (CAS) là enzyme chia khóa trong sự giải độc HCN. Trong công trình này, chúng tôi xác định được hai gen mã hóa cho CAS trong hệ gen của cây sắn nhờ sử dụng các phương pháp tin sinh học. Các CAS của cây sắn có mức độ tương đồng cao với các CAS của một số loài thực vật đã biết. Cả hai CAS của cây sắn đều có chín intron. Các protein có khối lượng khoảng 40 kDa, có trị số pI cao, đều mang các tín hiệu khu trú ở ti thể. Các amino acid quan trọng với hoạt tính enzyme như vị trí gắn với PLP hay trung tâm phản ứng có tính bảo thủ cao ở cả hai CAS của cây sắn. Phân tích cây di truyền cho thấy các CAS của cây sắn rất gần gũi với gen tương đồng ở cây cao su. Kết quả khảo sát biểu hiện gen cho thấy cả hai gen đều có mã phiên trong mô sinh dưỡng ở điều kiện thường. Ngoài ra, gen MesCAS1 còn mã phiên ở mô sinh dưỡng của cây được đặt trong điều kiện thiếu nước.

Từ khóa - β -cyanoalanine synthase; cây sắn; biểu hiện gen; cấu trúc gen; cây di truyền; tin sinh học.

Abstract - β -cyanoalanine synthase (CAS) is a key enzyme in the detoxification of HCN in high-rank plants. In this study, we identified two genes encoded for CAS in the cassava genome by employing bioinformatics methods. The cassava CASs were highly similar to the CASs in other known plant species. Both cassava CAS genes had 9 introns in total. The predicted polypeptides encoded by cassava CAS genes had a mass of 40 kDa, a high pI value, and carried mitochondria localization signals. The important enzyme-like amino acids in PLP-bound sites or the reaction centre, were highly conservative in both CASs of the cassava. The phylogenetic tree analysis showed that the CASs of the cassava were very close to their orthologs in rubber trees. The survey results showed that both CAS genes of the cassava were encoded in its vegetative tissues under normal conditions. In addition, the MesCAS1 gene encoded in the vegetative tissues of plants under water shortage conditions.

Key words - β -cyanoalanine synthase; cassava; gene expression; gene structure; phylogenetic tree; bioinformatic.

1. Đặt vấn đề

Cây Sắn (*Manihot esculenta* Crantz) thuộc họ Euphorbiaceae, có nguồn gốc từ Nam Mỹ, được trồng khắp vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới châu Phi, châu Á và châu Mỹ. Sắn là cây trồng quan trọng thứ 6 trên thế giới chỉ sau cây lúa mì, cây lúa gạo, cây ngô, cây khoai tây và cây lúa mạch. Ở Việt Nam, cây sắn là một trong 4 cây lương thực chính, có diện tích trồng đứng thứ 3 sau lúa và ngô với sản lượng trung bình đạt trên 8 triệu tấn/năm (FAO 2008). Tất cả các bộ phận của sắn đều có thể sử dụng và sắn là nguồn cung cấp lương thực cho khoảng 800 triệu người trên toàn cầu. Sắn là cây chịu hạn và ít đòi hỏi về điều kiện canh tác [1]. Với hàm lượng tinh bột cao (20-40%), cây sắn là một nguồn năng lượng ước muốn cho nhu cầu của con người và đặc biệt là trong công nghiệp nhiên liệu sinh học. Do có vai trò lớn đối với con người, hệ gen của cây sắn đã được giải trình tự vào năm 2012 [11]. Tuy nhiên, sự có mặt với hàm lượng cao của cyanua là một trở ngại đối với việc sử dụng sắn [10].

Trong cơ thể thực vật, cyanua là đồng sản phẩm của quá trình sinh tổng hợp ethylene [2]. β -cyanoalanine synthase (CAS, EC 4.4.1.9) được biết là enzyme chia khóa trong sự giải độc HCN ở thực vật bậc cao. Enzyme này xúc tác cho phản ứng: L-cysteine + HCN $\rightarrow$ β -cyanoalanine + H₂S. Enzyme này là một enzyme phụ thuộc pyridoxal. Về mặt cấu trúc, enzyme này có chứa trung tâm hoạt động là một Lysine, ngoài ra còn có chứa nhiều amino acid quan trọng giữ vai trò tương tác với pyridoxal phosphat hoặc với amino acid. Gen mã hóa cho

enzyme này lần đầu được tách dòng vào năm 2000 [7], sau đó, gen này tiếp tục được nghiên cứu nhiều hơn bởi một số tác giả khác [3], [6], [15].

Trong công trình này, chúng tôi hướng tới việc xác định các gen mã hóa cho các CAS trong hệ gen của cây sắn. Cấu trúc và các đặc tính hóa-lí, cấu trúc cũng như sự biểu hiện của các gen CAS ở loài cây này cũng được chúng tôi nghiên cứu nhờ sử dụng các phương pháp tin sinh học. Kết quả nghiên cứu góp phần bổ sung những hiểu biết về nhóm gen tham gia vào sự giải độc cyanua của cây sắn.

2. Giải quyết vấn đề

2.1. Cơ sở dữ liệu về các trình tự hệ gen và EST ở cây sắn

Trình tự hệ gen của cây sắn được lấy từ Prochnik [11]. Dữ liệu gồm 85665 EST của cây sắn được lấy từ dữ liệu mở NCBI ([http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucest/?term=txid3983\[Organism:exp\]](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucest/?term=txid3983[Organism:exp]))

2.2. Xác định các gen thuộc họ β -cyanoalanine synthase ở cây sắn

Gen *AtcysC1* mã hóa CAS của cây *Arabidopsis thaliana* [7] được dùng làm khuôn dò để tìm kiếm các gen tương đồng trên dữ liệu nucleotide toàn hệ gen của cây sắn nhờ chương trình TBLASTN.

2.3. Xây dựng cây di truyền

Các protein CAS được sắp dãy bằng MAFFT [8]. Cây di truyền được xây dựng từ các CAS của cây sắn và của một số thực vật khác nhờ sử dụng phần mềm MEGA5 [12].

2.4. Phân tích các đặc điểm hóa - lí

Các đặc điểm vật lí, hóa học của các protein được phân tích bằng các công cụ của ExPASy [4]. Cấu trúc exon/intron được xây dựng nhờ GSDS 2.0 [5]. Cấu trúc không gian của phân tử protein được xây dựng nhờ Phyre2 [9].

2.5. Khảo sát sự biểu hiện gen

Sự biểu hiện của các gen được phân tích nhờ việc đếm các EST trong tập hợp EST mở của cây sắn.

3. Kết quả nghiên cứu và bàn luận

3.1. Xác định gen β -cyanoalanine synthase ở cây sắn

Bảng 1. Các gen thuộc họ CAS của cây sắn và đặc điểm của chúng

Tên gen	Tên locus	Kích thước gen (bp)	Chiều dài protein (aa)	Khối lượng protein (kDa)	pI	GRAVY	Chỉ số béo
MesCAS1	cassava4.1_009789m	2722	371	40,43	9,08	-0,157	81,78
MesCAS2	cassava4.1_010021m	2530	370	40,16	8,94	-0,153	85,92

Bảng 2. So sánh từng cặp protein CAS của cây sắn với các gen tương đồng của một số thực vật khác

Protein	MesCAS1	MesCAS2	MdCAS1	MdCAS2	BpCAS	HbCAS	AtcysC1	GmCAS
MesCAS1	-	87%	79%	79%	85%	91%	76%	82%
MesCAS2	87%	-	80%	80%	86%	91%	76%	84%

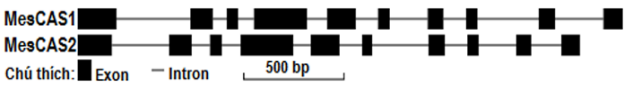
Chú thích: Md = *Malus domestica* (cây táo), Bp = *Betula pendula* (cây bulo), Hb = *Hevea brasiliensis* (cây cao su), At = *Arabidopsis thaliana*, Gm = *Glycine max* (cây đậu tương).

Để xác định các gen mã hóa CAS ở cây sắn, chúng tôi đã sử dụng phương pháp tìm gen tương đồng trên toàn hệ gen của cây sắn với protein CAS của cây *A. thaliana* (AtcysC1) [7] là khuôn dò. Kết quả chúng tôi đã xác định được hai gen mã hóa cho các CAS của cây sắn (Bảng 1).

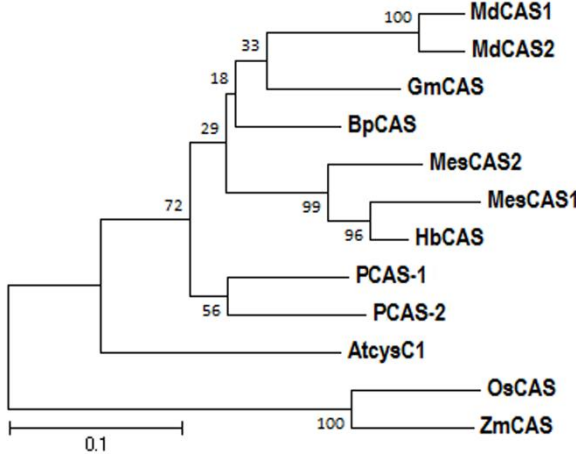
Các CAS của cây sắn có chứa trình tự amino acid tương ứng với vùng bảo thủ của họ các enzyme phụ thuộc pyridoxal phosphat (PF00291). Các CAS của cây sắn rất giống với các CAS được biết ở loài khác, mức độ giống nhau từ 76% tới 91% khi so sánh các protein (Bảng 2).

3.2. Đặc điểm các β -cyanoalanine synthase ở cây sắn

Hai CAS của cây sắn có đặc điểm rất tương đồng, gen có chiều dài 2722 và 2530 lần lượt đối với MesCAS1 và MesCAS2. Hai gen này mã hóa không liên tục với 9 intron (Hình 1), mã hóa cho hai protein có chiều dài 371 và 370 amino acid, tương ứng với khối lượng 40,43 và 40,16 kDa. Cả hai protein này đều có tính kiềm với giá trị pI lần lượt đạt 9,08 và 8,94, ưa nước (GRAVY < 0) và có chỉ số béo cao (Bảng 1). Các đặc điểm này tương tự như các CAS đã biết của một số thực vật khác như *A. thaliana* [7], cây đậu tương [15] hay cây táo [6].



Hình 1. Cấu trúc exon/intron của các gen β -cyanoalanine synthase của cây sắn



Hình 2. Cây di truyền được xây dựng từ các CAS của cây sắn và của một số thực vật khác

3.2. Phân tích cây di truyền và tiến hóa của các gen β -cyanoalanine synthase

Cây di truyền được xây dựng từ các protein CAS của một số loài thực vật hiện biết khẳng định mức độ giống nhau rất cao giữa hai CAS của cây sắn so với của các loài khác, giống nhất so với CAS của cây cao su. Hai CAS của cây sắn nằm trên cùng nhánh và có mức tương đồng cao cho phép đặt giả thuyết về một sự kiện nhân gen dẫn tới sự hình thành hai gen này. Hiện tượng này cũng thấy rõ đối với hai gen CAS của cây táo hay của cây khoai tây (Hình 2). Cây di truyền cũng thể hiện rằng các gen CAS của cây hai lá mầm và cây một lá mầm xếp thành hai nhóm riêng biệt.

3.3. Các motif bảo thủ và cấu trúc của các β -cyanoalanine synthase ở cây sắn

Khi sắp dãy các CAS của cây sắn cùng với của một số loài khác cho thấy cả hai CAS của cây sắn đều mang các motif bảo thủ và các amino acid giữ vai trò rất quan trọng đối với hoạt tính enzyme (Hình 3). Lysine (trung tâm phản ứng xúc tác), các amino acid gắn với PLP (motif PxxSV/IKDR) và gắn với cơ chất cystein đều có mặt ở cả hai CAS của cây sắn. Kết quả sắp dãy này hoàn toàn phù hợp với kết quả phân tích cây di truyền. Các kết quả này gợi ý về sự bảo thủ cao của các enzyme CAS trong thế giới thực vật bậc cao.

Cấu trúc không gian của cả hai enzyme CAS của cây sắn được chúng tôi xây dựng nhờ sử dụng phần mềm Phyre2 (Hình 4). Cấu trúc bậc hai của cả hai enzyme này có chứa nhiều xoắn α và nhiều chuỗi β . Cấu trúc bậc hai của các CAS của cây sắn tương đồng với của cây đậu tương [15]. Trong cấu trúc bậc hai dự đoán nhờ Phyre2, cả hai CAS của cây sắn có 12 xoắn α và 11 chuỗi β . Đầu N-terminal của cả hai MesCAS được bắt đầu bằng 2 xoắn α , kế tiếp là 2 chuỗi β . Ở vùng trung tâm, trung tâm phản ứng lysine (K) là một phần của xoắn α thứ 3. Vùng này gồm nhiều cấu trúc α/β (xoắn α được nối tiếp bởi chuỗi β). Cấu trúc α/β kéo lặp lại ở đầu C-terminal.

MesCAS1 MATL-RNLFTHKK-SFASNEIAMR-RFFT---PQAAAEAE-PSFAQRIRDLPLKPNLPATKIR
HbCAS MATL-RNLLKKK-SLTSNEIATR-RFVS---SE-AAAE-SPSFAQRIRDLPLKPNLPATKIR
MesCAS2 MASL-RNLLKKK-SLTSNEIATR-RFVS---SE-AAAE-SPSFAQRIRDLPLKPNLPATKIR
BpCAS ---MK-RMLS---TQ-PLADSDPSFAQRIRDLPLKPNLPATKIR
GnCAS MASIMSTILKQR-SCSSSSHAGR-LLFST-TTA-AIVDS-PSLAQRIRDLPLKPNLPATKIR
MdCAS1 MAAL-RSFLKGRSSVLN-GAMRKLSTEVQS-PLTDS-PSFAQRIRDLPLKPNLPATKIR
MdCAS2 MAAL-RSFLKGRSSVLNCGGAVRHRLFAQVQS-PIPDS-PSFAQRIRDLPLKPNLPATKIR
AtcysC1 MASVSRRLRLRE-TIPCFSTVR-KLFTS-----VGS-PSFAQRIRDLPLKPNLPATKIR
*** **

MesCAS1 TEVSHLIGRTPLVFLNKVNEGOGAYIAVKQEMQPTASIKRPFAMFMDAEKKNLISPG
HbCAS TEVSHLIGRTPLVFLNKVNEGOGAYIAVKQEMQPTASIKRPFAMFMDAEKKNLISPG
MesCAS2 PEVSQILGRTPLVFLNKVNEGOGAYIAVKQEMQPTASIKRPFAMFMDAEKKNLISPG
BpCAS NEVSQILGRTPLVFLNKVNEGOGAYIAVKQEMQPTASIKRPFAMFMDAEKKNLISPG
GnCAS KHSVQLIGRTPLVFLNKVNEGOGAYIAVKQEMQPTASIKRPFAMFMDAEKKNLISPG
MdCAS1 TVQSQILGRTPLVFLNKVNEGOGAYIAVKQEMQPTASIKRPFAMFMDAEKKNLISPG
MdCAS2 TVQSQILGRTPLVFLNKVNEGOGAYIAVKQEMQPTASIKRPFAMFMDAEKKNLISPG
AtcysC1 RDSALLIGRTPLVFLNKVNEGOGAYIAVKQEMQPTASIKRPFAMFMDAEKKNLISPG
***** **

MesCAS1 KTVLIEPTSGNMGISMAFMAAMKGYRMLTMSYTSLERRVIMRAFCAELIITDPTKMG
HbCAS KTVLIEPTSGNMGISMAFMAAMKGYRMLTMSYTSLERRVIMRAFCAELIITDPTKMG
MesCAS2 KTVLIEPTSGNMGISMAFMAAMKGYRMLTMSYTSLERRVIMRAFCAELIITDPTKMG
BpCAS KTVLIEPTSGNMGISMAFMAAMKGYRMLTMSYTSLERRVIMRAFCAELIITDPTKMG
GnCAS KTVLIEPTSGNMGISMAFMAAMKGYRMLTMSYTSLERRVIMRAFCAELIITDPTKMG
MdCAS1 ETLLIEPTSGNMGISMAFMAAMKGYRMLTMSYTSLERRVIMRAFCAELIITDPTKMG
MdCAS2 ETLLIEPTSGNMGISMAFMAAMKGYRMLTMSYTSLERRVIMRAFCAELIITDPTKMG
AtcysC1 KTVLIEPTSGNMGISMAFMAAMKGYRMLTMSYTSLERRVIMRAFCAELIITDPTKMG
***** **

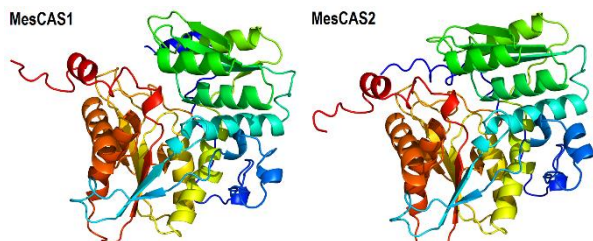
MesCAS1 GTVKKAYDLLETPNAFMLQFSPNPANKIHFEFTTGPETWEDTLGQVDIFVMGIGSGGTV
HbCAS GTVKKAYDLLETPNAFMLQFSPNPANKIHFEFTTGPETWEDTLGQVDIFVMGIGSGGTV
MesCAS2 GTVKKAYDLLETPNAFMLQFSPNPANKIHFEFTTGPETWEDTLGQVDIFVMGIGSGGTV
BpCAS GTVKKAYDLLETPNAFMLQFSPNPANTQGAFFETTGPETWEDTLGQVDIFVMGIGSGGTV
GnCAS GTVKKAYDLLETPNAFMLQFSPNPANTQGAFFETTGPETWEDTLGQVDIFVMGIGSGGTV
MdCAS1 GTVKKAYDLLETPNAFMLQFSPNPANTQGAFFETTGPETWEDTLGQVDIFVMGIGSGGTV
MdCAS2 GTVKKAYDLLETPNAFMLQFSPNPANTQGAFFETTGPETWEDTLGQVDIFVMGIGSGGTV
AtcysC1 GTVKKAYDLLETPNAFMLQFSPNPANTQGAFFETTGPETWEDTLGQVDIFVMGIGSGGTV
***** **

MesCAS1 TGVGYLKSQNPVNTKIYGVPEASNVINGGKPGPHQITGNVGGEKFDILDMVMKVLV
HbCAS TGVGYLKSQNPVNTKIYGVPEASNVINGGKPGPHQITGNVGGEKFDILDMVMKVLV
MesCAS2 TGVGYLKSQNPVNTKIYGVPEASNVINGGKPGPHQITGNVGGEKFDILDMVMKVLV
BpCAS TGVGYLKSQNPVNTKIYGVPEASNVINGGKPGPHQITGNVGGEKFDILDMVMKVLV
GnCAS TGVGYLKSQNPVNTKIYGVPEASNVINGGKPGPHQITGNVGGEKFDILDMVMKVLV
MdCAS1 TGVGYLKSQNPVNTKIYGVPEASNVINGGKPGPHQITGNVGGEKFDILDMVMKVLV
MdCAS2 TGVGYLKSQNPVNTKIYGVPEASNVINGGKPGPHQITGNVGGEKFDILDMVMKVLV
AtcysC1 TGVGYLKSQNPVNTKIYGVPEASNVINGGKPGPHQITGNVGGEKFDILDMVMKVLV
***** **

MesCAS1 SSEDATMARRLALEEGLMVGISSGANTVAALRLARPENKGLIVTVHPSFGERYLTSV
HbCAS SSEDATMARRLALEEGLMVGISSGANTVAALRLARPENKGLIVTVHPSFGERYLTSV
MesCAS2 SSEDATMARRLALEEGLMVGISSGANTVAALRLARPENKGLIVTVHPSFGERYLTSV
BpCAS SSEDATMARRLALEEGLMVGISSGANTVAALRLARPENKGLIVTVHPSFGERYLTSV
GnCAS SSEDATMARRLALEEGLMVGISSGANTVAALRLARPENKGLIVTVHPSFGERYLTSV
MdCAS1 SSEDATMARRLALEEGLMVGISSGANTVAALRLARPENKGLIVTVHPSFGERYLTSV
MdCAS2 SSEDATMARRLALEEGLMVGISSGANTVAALRLARPENKGLIVTVHPSFGERYLTSV
AtcysC1 SSEDATMARRLALEEGLMVGISSGANTVAALRLARPENKGLIVTVHPSFGERYLTSV
***** **

MesCAS1 LFEQLRNEAANMQPVVD--
HbCAS LFEQLRNEAANMQPVVD--
MesCAS2 LFEQLRNEAANMQPVVD--
BpCAS LFEQLRNEAANMQPVVD--
GnCAS LFEQLRNEAANMQPVVD--
MdCAS1 LFEQLRNEAANMQPVVD--
MdCAS2 LFEQLRNEAANMQPVVD--
AtcysC1 LFEQLRNEAANMQPVVD--
***** **

Hình 3. Kết quả sắp xếp các protein CAS của cây sắn
Dấu ★ đánh dấu các amino acid bảo thủ, amino acid giữ vai trò trung tâm phản ứng (K) được đánh dấu bằng nền xám và đồng trọng ô, các amino acid gần với PLP và amino acid lân cận được đánh dấu bằng kí tự béo đậm và béo nghiêng đậm, nền xám



Hình 4. Mô hình 3D cấu trúc không gian của các CAS của cây sắn với các cấu trúc xoắn α (cuộn xoắn) và chuỗi β (mũi tên)

3.4. Khảo sát sự biểu hiện gen β -cyanoalanine synthase ở cây sắn

Các EST tương ứng của các gen CAS của cây sắn được tìm kiếm bằng phương pháp TBLASTN từ tập hợp 85.665 EST của loài này. Chúng tôi thu được 5 EST tương ứng với mỗi gen. Cả hai gen CAS của cây sắn đều

có EST có nguồn gốc từ hỗn hợp mô sinh dưỡng (lá và rễ) của cây sắn được trồng trong điều kiện thường, trong đó *MesCAS1* có 2 EST và *MesCAS2* có 5 EST. Riêng gen *MesCAS1* còn có 3 EST có nguồn gốc từ hỗn hợp mô lá, mô phân sinh đỉnh, rễ và củ của cây sắn được đặt trong điều kiện thiếu nước (Bảng 3). Những nghiên cứu về sự biểu hiện các gen CAS ở thực vật hiện còn chưa nhiều. Sự biểu hiện của CAS có thể liên quan đến quá trình chín của quả táo. Ở cây táo, hai gen MdCAS1 và MdCAS2 biểu hiện ở các giai đoạn phát triển của quả [6]. Ở quả táo giai đoạn phát triển thứ hai, ethylene và vết thương cũng cảm ứng sự biểu hiện hai gen này [6]. Ở cây bulo, gen BpCAS cũng được cảm ứng bởi ethylene và ozone [13]. Tuy nhiên, sự biểu hiện của CAS lại không liên quan đến sự rụng lá cũng như các điều kiện bất lợi của môi trường ở cây *A. thaliana* [14].

Bảng 3. Sự biểu hiện của các gen β -cyanoalanine synthase của cây sắn

Gen	Số lượng EST	Mã số EST	Mô
<i>MesCAS1</i>	5	DB931394.1	Hỗn hợp lá và rễ ở các giai đoạn phát triển khác nhau
		DB948853.1	
		DV456106.1	Hỗn hợp lá, mô phân sinh đỉnh, rễ và củ ở cây thiếu nước
		DV457590.1	
		CK644310.1	
<i>MesCAS2</i>	5	DB929065.1	Hỗn hợp lá và rễ ở các giai đoạn phát triển khác nhau
		DB930779.1	
		DB920269.1	
		DB946819.1	
		DB948326.1	

4. Kết luận

Trong công trình này, nhờ sử dụng các phương pháp tin sinh học, chúng tôi đã xác định và phân tích hai gen CAS ở trong hệ gen của cây sắn. Chúng tôi đã xác định các đặc điểm lí-hóa và cấu trúc của gen và các protein suy diễn tương ứng. Các motif và các amino acid bảo thủ giữ vai trò quan trọng đối với hoạt tính enzym đã được tìm thấy trong cả hai protein CAS của cây sắn (như trung tâm phản ứng, vị trí gắn với PLP...). Cây di truyền cho thấy các CAS của cây sắn rất giống với gen tương đồng ở cây cao su. Khi khảo sát sự biểu hiện của các gen CAS ở cây sắn bằng cách đếm các EST trong ngân hàng EST hiện có của cây sắn, chúng tôi tìm thấy các EST tương ứng của cả hai gen CAS, các EST này có nguồn gốc từ hỗn hợp mô sinh dưỡng của cây sắn trồng trong điều kiện thường. Đặc biệt, chúng tôi tìm thấy 2 EST tương ứng với gen *MesCAS1* có nguồn gốc từ hỗn hợp các mô sinh dưỡng của cây sắn được trồng trong điều kiện thiếu nước. Kết quả nghiên cứu này sẽ mở đường cho việc tách dòng gen và phân tích chức năng của các gen CAS ở cây sắn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Ceballos H., Okogbenin E., Pérez J.C., López-Valle L.A.B., Debouck D. (2010), *Cassava Root and tuber crops*, Springer: 53-96.

- [2] Dorling S.J., McManus M.T. (2012), The Fate of ACC in Higher Plants *Annual Plant Reviews Volume 44* (pp. 83-115): Wiley-Blackwell.
- [3] García I., Castellano J.M., Vioque B., Solano R., Gotor C., Romero L.C. (2010), Mitochondrial beta-cyanoalanine synthase is essential for root hair formation in *Arabidopsis thaliana*, *Plant Cell*, 22(10), 3268-3279.
- [4] Gasteiger E., Hoogland C., Gattiker A., Wilkins M. R., Appel R.D., Bairoch A. (2005), Protein identification and analysis tools on the ExPASy server *The proteomics protocols handbook* (pp. 571-607): Springer.
- [5] Guo A.Y., Zhu Q.H., Chen X., Luo J.C. (2007), GSDS: a gene structure display server, *Yi Chuan*, 29(8), 1023-1026.
- [6] Han S., Seo Y., Kim D., Sung S.K., Kim W. (2007), Expression of MdCAS1 and MdCAS2, encoding apple β -cyanoalanine synthase homologs, is concomitantly induced during ripening and implicates MdCASs in the possible role of the cyanide detoxification in Fuji apple (*Malus domestica* Borkh.) fruits, *Plant Cell Reports*, 26(8), 1321-1331.
- [7] Hatzfeld Y., Maruyama A., Schmidt A., Noji M., Ishizawa K., Saito K. (2000), β -Cyanoalanine Synthase Is a Mitochondrial Cysteine Synthase-Like Protein in Spinach and *Arabidopsis*, *Plant Physiology*, 123(3), 1163-1172.
- [8] Katoh K., Standley D.M. (2013), MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability, *Mol Biol Evol*, 30(4), 772-780.
- [9] Kelley L.A., Sternberg M.J. (2009), Protein structure prediction on the Web: a case study using the Phyre server, *Nat Protoc*, 4, 363-371.
- [10] Padmaja G. (1995), Cyanide detoxification in cassava for food and feed uses, *Crit Rev Food Sci Nutr*, 35(4), 299-339.
- [11] Prochnik S., Marri P.R., Desany B., et al. (2012), The Cassava Genome: Current Progress, Future Directions, *Tropical Plant Biology*, 5(1), 88-94.
- [12] Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M., Kumar S. (2011), MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods, *Mol Biol Evol*, 28(10), 2731-2739.
- [13] Vahala J. Ruonala, R. Keinanen, M. Tuominen H., Kangasjarvi J. (2003), Ethylene insensitivity modulates ozone-induced cell death in birch, *Plant Physiol*, 132(1), 185-195.
- [14] Yamaguchi Y., Nakamura T., Kusano T., Sano H. (2000), Three *Arabidopsis* genes encoding proteins with differential activities for cysteine synthase and beta-cyanoalanine synthase, *Plant & cell physiology*, 41(4), 465-476.
- [15] Yi H., Juergens M., Jez J.M. (2012), Structure of soybean beta-cyanoalanine synthase and the molecular basis for cyanide detoxification in plants, *Plant Cell*, 24(6), 2696-2706.

(BBT nhận bài: 06/07/2015, phản biện xong: 27/07/2015)