

DOI:10.12113/201910004

人 CSE 蛋白的结构与功能分析

袁小燕,王 焱,刘艳萍,雷媛娣,张朝晖*

(南华大学 公共卫生学院预防医学系,湖南 衡阳,421001)

摘要:胱硫醚- γ -裂合酶(Cystathionine- γ -lyase, CSE)是一种参与半胱氨酸合成并催化 H₂S 生成的关键性限速酶,具有信号传导和细胞保护作用。分析人 CSE 蛋白的结构及其功能对了解其调控机制具有重要意义。利用生物信息数据库和分析软件,对人 CSE 蛋白进行分子结构和理化性质分析。结果显示:人 CSE 蛋白位于人类 1 号染色体,含有 373 个氨基酸是稳定的亲水性蛋白,不具有跨膜结构,无信号肽属于非分泌性蛋白,蛋白二级结构以无规则卷曲为主,含有保守结构域、蛋白定位于细胞质的可能性大、具有大量的丝氨酸(Ser)磷酸化位点和较少的酪氨酸(Tyr)磷酸化位点、与 TST、TXNRD1 等蛋白有结合能力。对 CSE 蛋白的分子结构与功能分析为深入研究 CSE 蛋白的作用机制提供了研究基础。

关键词:胱硫醚- γ -裂合酶(CSE);生物信息学;分子结构;功能

中图分类号:Q71 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-5565(2020)03-141-08

Analysis of structure and function of human CSE protein

YUAN Xiaoyan, WANG Ye, LIU Yanping, LEI Yuandi, ZHANG Zhaohui*

(Department of Preventive Medicine, School of Public Health, University of South China, Hengyang 421001, Hunan, China)

Abstract: Cystathionine- γ -lyase (CSE) is an enzyme involved in cystine synthesis and a key rate-limiting enzyme for producing H₂S. which has signal transduction and cellular protective effects. Analyzing the structure and function of CSE protein is of great significance to understand its regulatory mechanism. The molecular structure and physicochemical properties of human CSE protein were analyzed by bioinformatics method. Results indicate that human CSE protein locates in the human chromosome 1, containing 373 amino acids, which is a stable, hydrophilic, protin, without signal peptide and transmembrane region. CSE is mainly located in the cytoplasm and the main secondary structure elements are random coil, which contains conserved domains. It has a large number of serine (Ser) phosphorylation sites and fewer tyrosine (Tyr) phosphorylation sites. Besides, it can bind to TST, TXNRD1 and other proteins. The molecular structure and function of CSE protein were analyzed in this work to provide a basis for further study the mechanism of CSE protein.

Keywords: Cystathionine- γ -lyase (CSE); Bioinformatics; Molecular structure; Function

硫化氢(H₂S)是第三个气体信号分子。大量研究表明, H₂S 参与心血管重构、细胞增殖、迁移和侵袭、氧化应激和炎症等生物学过程^[1-3]。内源性 H₂S 主要由 L-半胱氨酸经胱硫醚- β -合成酶(Cystathionine- β -synthase, CBS)、胱硫醚- γ -裂解酶(Cystathionine- γ -lyase, CSE)和 3-巯基-丙酮酸硫转移酶(3-mercaptopyruvate sulfurtransferase, 3-MST)^[4-5]三种酶催化生成。而肺组织内源性硫化

氢主要由胱硫醚- γ -裂解酶(CSE)在细胞浆里以 L-半胱氨酸为底物催化产生^[6]。有研究报道用 H₂S 进行预处理可以减轻氧化应激和内质网应激介导的肺损伤^[7], 当暴露于烟草烟雾时缺乏 CSE 的小鼠表现出气道阻塞、气道高反应性和肺部炎症等疾病^[8]。也有研究证实增加大鼠 CSE 表达和 H₂S 生成可促进机体抗氧化、抗炎作用的发挥进而减轻移植性肺损伤^[9]。本研究同样表明 H₂S 对大鼠肺组

收稿日期:2019-10-31;修回日期:2019-12-24.

基金项目:国家自然科学基金项目(No.81573193).

作者简介:袁小燕,女,在读硕士,研究方向:劳动卫生与环境卫生.E-mail:342964943@qq.com.

*通信作者:张朝晖,男,博士,教授,硕士生导师,研究方向:劳动卫生与环境卫生. E-mail:zhaohuizh@126.com.

织急性损伤具有保护作用^[10]。许多证据表明 CSE/H₂S 体系广泛参与了细胞的生物过程,通过调控 CSE 的表达从而增加肺部 H₂S 生成有可能减轻或治愈慢性肺部疾病。

鉴于 CSE 蛋白的重要功能,且对于 CSE 蛋白的结构和功能研究尚不完善。利用生物信息学方法对人 CSE 蛋白进行理化性质,结构及功能分析,为深入研究 CSE 的作用机制提供基础。

1 材料与方法

1.1 人 CSE 蛋白序列

在美国国立生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information, NCBI)的蛋白质数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)中以“cystathionine-γ-lyase+物种名”为关键词,搜索并下载人 CSE 蛋白的氨基酸序列(NCBI: CTH 序列号: NP_001177392.1 Gene ID: 1491)。

1.2 人 CSE 蛋白的理化性质预测

使用在线工具 ExPASy-ProtParam Tool (<https://web.expasy.org/protparam/>)对人 CSE 蛋白的分子式、等电点,酸碱性和稳定性等理化性质进行分析;利用 ProtScale (<https://web.expasy.org/protscale/>)对人 CSE 蛋白进行疏亲水性分析;使用 TMHMM Server v 2.0 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/>)在线分析人 CSE 蛋白跨膜结构;使用 SignalP-4.1 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP-4.0/>)在线预测人 CSE 蛋白有无信号肽及切割位点。

1.3 人 CSE 蛋白的结构域、亚细胞定位和磷酸化位点预测

利用 NCBI CDD (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/guide/domains-structures/>)在线预测人 CSE 蛋白结构域;使用 PSORT II Prediction (<https://www.genecards.com/psort.html>)及 Gene card (<https://www.genecards.org/>)在线预测人 CSE 蛋白亚细胞定位;利用 NetPhos3.1 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/NetPhos/>)和 Scansite 4.0 (<https://scansite4.mit.edu/4.0/#home>)在线预测人 CSE 蛋

白磷酸化位点。

1.4 人 CSE 蛋白的二级结构及高级结构分析

用 ExPASy-GOR IV4.0 在线工具(https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=npsa_gor4.html)和 PredictProtein (<https://www.predictprotein.org/>)预测人 CSE 蛋白的二级结构;用 SWISS-MODEL (<https://swissmodel.expasy.org/>)构建人 CSE 蛋白的三级结构。

1.5 人 CSE 蛋白的相互作用蛋白预测

使用 STRING 数据库(<https://string-db.org/>),设置为高置信度 0.7,不限制数量,在线预测人 CSE 蛋白互作网络。

2 结果与分析

2.1 人 CSE 蛋白理化性质结果分析

经 ExPASy-ProtParam Tool 预测发现:人 CSE 蛋白由 373 个氨基酸组成,位于人类 1 号染色体,分子质量为 41 260.23 ku,理论等电点为 6.38,负电荷氨基酸残基数为 39 个,正电荷氨基酸残基数为 34 个,分子式为 C₁₈₃₉H₂₈₈₃N₅₀₁O₅₄₂S₁₈,原子总数为 5 783 个,不稳定系数为 35.0(<40)属于稳定蛋白,脂肪系数为 87.32,总平均亲水系数为-0.160。

2.2 人 CSE 蛋白亲水/疏水区域结果分析

经 ProtScale 预测发现:人 CSE 蛋白亲水性最强的位点为第 31 位的谷氨酰胺,分值为-2.5;疏水性最强的位点是第 191 位的脯氨酸和第 192 位的甘氨酸,分值为 1.978,亲水性值总和大于疏水性值总和(见表 1),由图 1 可知,CSE 序列中亲水区域多于疏水区域,据此推断 CSE 蛋白属于亲水性蛋白,这与理化性质分析结果一致。

2.3 人 CSE 蛋白跨膜结构结果分析

经 TMHMM 预测发现人 CSE 蛋白位于膜外(见图 2 粉色细线)的概率几乎为 100%,位于膜内(见图 2 蓝色细线)和跨膜区域(见图 2 红色细线)的概率几乎为 0。粉色粗线代表多肽链中跨膜区域所在位置,因 CSE 蛋白没有跨膜区域,所以不显示相应标记,据此推断人 CSE 蛋白不属于跨膜蛋白。

表 1 人 CSE 蛋白亲水性与疏水性氨基酸残基预测

Table 1 Hydrophilic and hydrophobic amino acid residue prediction of human CSE protein

蛋 白	亲水性最强氨基酸残基			疏水性最强氨基酸残基			亲水性氨基酸残基亲水性值总和	疏水性氨基酸残基疏水性值总和
	氨基酸残基	位置	亲水性值	氨基酸残基	位置	疏水性值		
CSE	Q	31	-2.500	P/G	191/192	1.978	-67.456	16.977

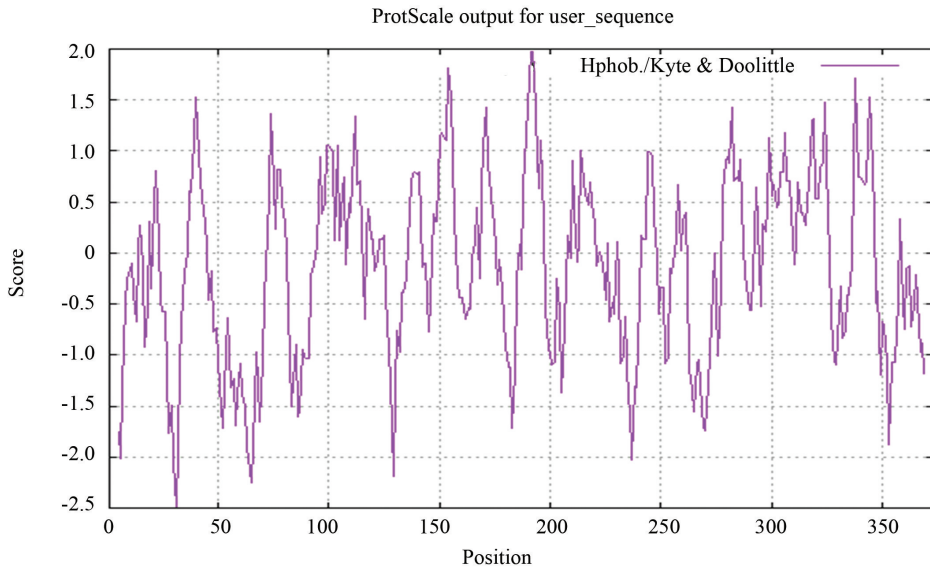


图 1 人 CSE 蛋白亲水性/疏水性预测

Fig.1 Hydrophilic / hydrophobic prediction of human CSE protein

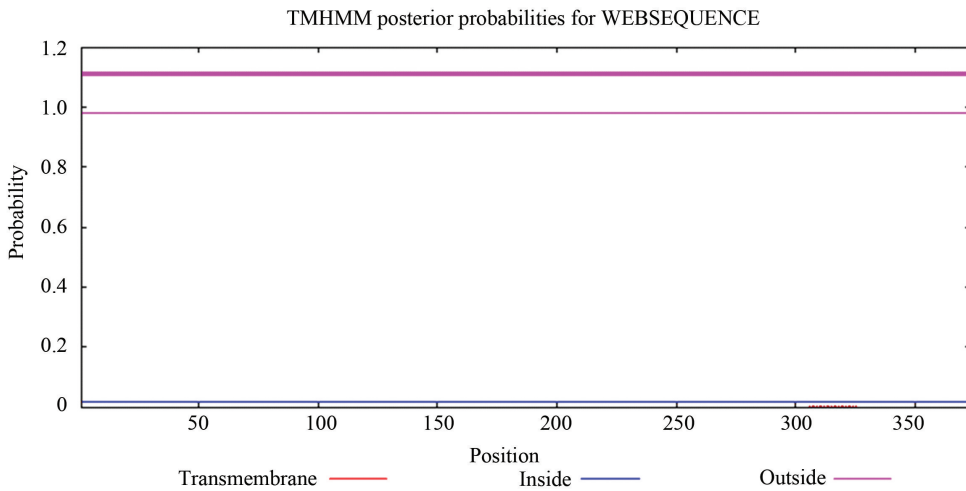


图 2 人 CSE 蛋白跨膜结构分析

Fig.2 Transmembrane domains analysis of human CSE protein

2.4 人 CSE 蛋白信号肽切割位点结果分析

经 SignalP-4.1 (cut-off 值设置为 0.45) 预测发现:人 CSE 蛋白无信号肽序列,属于非分泌蛋白。原始切割位点 C 值在第 23 位氨基酸,分值为 0.124;被结合的剪切点 Y 值最高点在第 23 位氨基酸,分值为

0.117;信号肽 S 值最高点位于第 3 位氨基酸,分值为 0.140;位于 1-22 位氨基酸序列的平均信号肽分值为 0.111,D 值为 0.114,不足以形成信号肽区域(见表 2 和图 3)。

表 2 人 CSE 蛋白信号肽切割位点预测

Table 2 Signal peptide cleavage site prediction of human CSE protein

蛋白	测量	位点	分值	切割位	信号肽
CSE	Max. C	23	0.124		
	Max. Y	23	0.117		
	Max. S	3	0.140		
	Mean S	1-22	0.111		
	D	1-22	0.114	0.450	NO

注:Max. C 表示原始切割位点评分最大值;Max. Y 表示合并的切割位点评分最大值;Max. S 表示信号肽评分最大值;Mean S 表示可能的信号肽的平均 S 值;D 表示平均值 S 和 Y 分数最大值的加权平均值,用于区分是否为信号肽的分数。

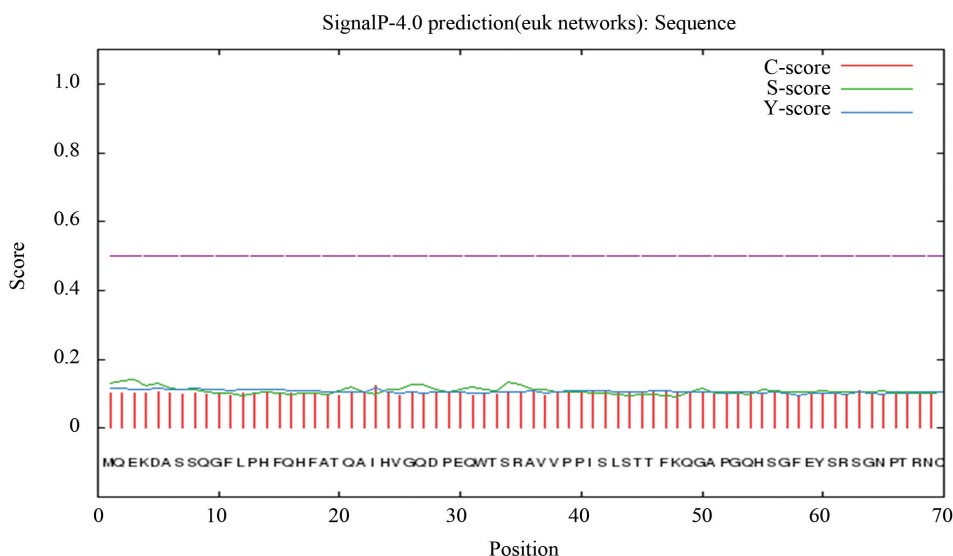


图 3 人 CSE 蛋白信号肽预测

Fig.3 Signal Peptide prediction of human CSE protein

2.5 人 CSE 蛋白二级结构分析

利用 ExPASy-GOR IV4.0 和 PredictProtein 两种工具预测人 CSE 蛋白二级结构,并绘制结构模型。经 GOR 预测发现人 CSE 蛋白一共有 373 个氨基酸,该序列主要含有 Alpha helix 螺旋,Extended strand 延伸链和 Random coil 无规则卷曲,其中 α 螺旋(见图 4 蓝色)有 112 个氨基酸,占 30.03%, β 折叠(见图 4 红色)有 71 个氨基酸,占 19.03%,无规则卷曲(见图

4 紫色)有 190 个氨基酸,占 50.94%。

经 PredictProtein 预测发现 CSE 蛋白序列中 α 螺旋占 38.87%, β 折叠占 16.62%,无规则卷曲占 44.50%。ExPASy-GOR IV4.0 和 PredictProtein 预测结果比对表明,两种预测工具所预测的结果基本吻合,都表明 CSE 蛋白的二级结构以无规则卷曲为主。

在图 4 中,上部:示意图;下图:高峰数字。蓝色: α 螺旋;红色: β 折叠;紫色:无规则卷曲。

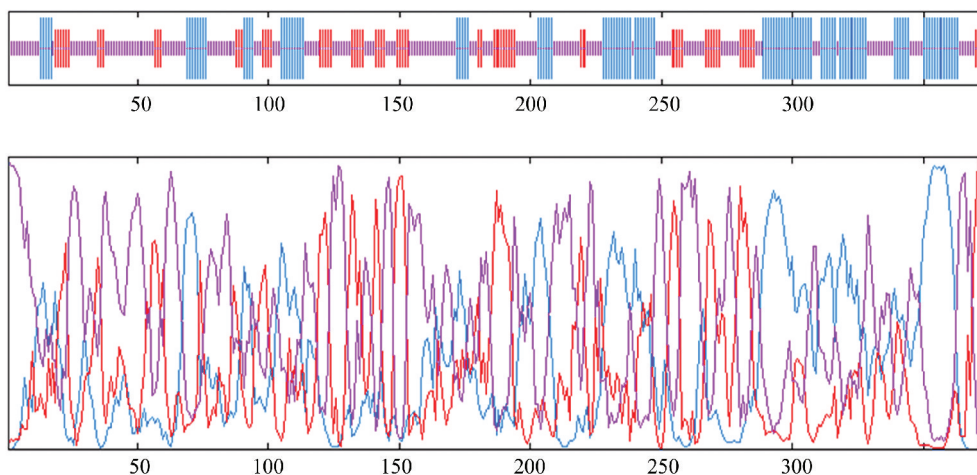


图 4 人 CSE 蛋白二级结构分析

Fig.4 Secondary structure analysis of human CSE protein

2.6 人 CSE 蛋白结构域结果分析

经 NCBI CDD 预测发现人 CSE 蛋白在 19-347 位氨基酸处含有保守结构域,属于 PLP(磷酸吡哆醛)依赖性酶家族,该家族包括参与半胱氨酸和蛋氨酸代谢的酶并且都以 PLP 作为辅助因子(见图 5)。

2.7 人 CSE 蛋白亚细胞定位结果分析

利用 PSORT II Prediction 和 Gene card 两种软件预测人 CSE 蛋白亚细胞定位,经 PSORT 预测发现 CSE 蛋白有 52.2%可能存在于细胞质,有 30.4%可能存在于细胞核,有 17.4%可能存在于线粒体,说明 CSE 蛋白位于细胞质的可能性最大,Gene card 预

测发现 CSE 蛋白在细胞质中的得分最高 (见图 6) 蛋白存在于细胞质中。两种软件的亚细胞定位结果相一致,据此推断 CSE

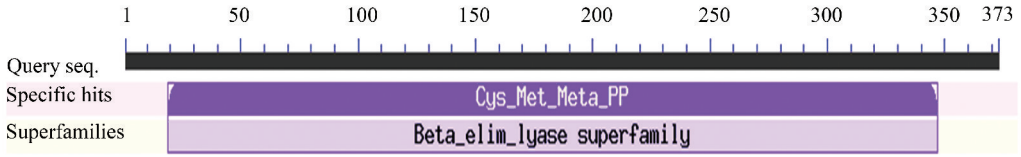


图 5 人 CSE 蛋白结构域预测

Fig.5 Conserved domains prediction of human CSE protein

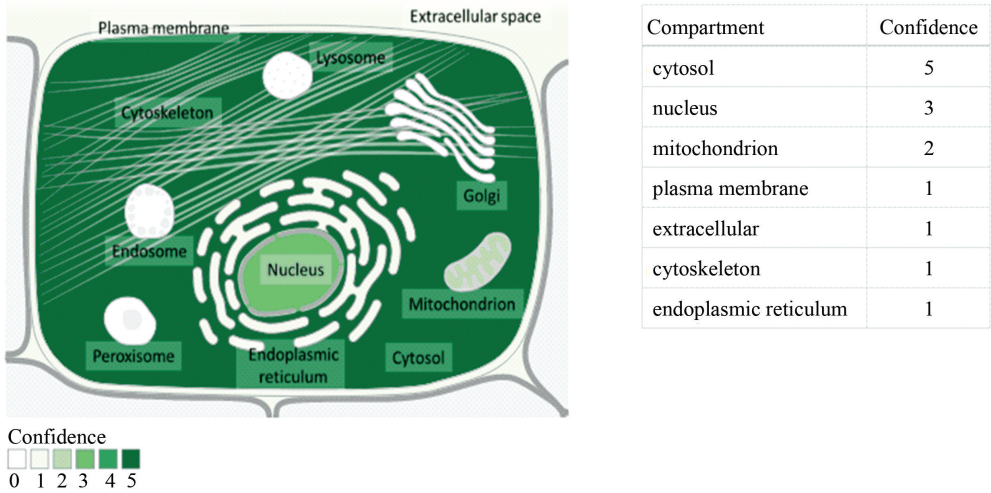


图 6 人 CSE 蛋白亚细胞定位预测

Fig.6 Subcellular localization prediction of human CSE protein

2.8 人 CSE 蛋白磷酸化位点结果分析

利用 Netphos3.1 和 Scansite 4.0 两种软件预测人 CSE 蛋白磷酸化位点。

经 Netphos3.1 预测发现 CSE 蛋白质有 15 个丝氨酸(Ser)磷酸化位点,13 个苏氨酸(Thr)磷酸化位

点及 5 个酪氨酸(Tyr)磷酸化位点(见图 7)。

经 Scansite 4.0 预测发现 CSE 蛋白质有 29 个丝氨酸(Ser)磷酸化位点,21 个苏氨酸(Thr)磷酸化位点和 9 个酪氨酸(Tyr)磷酸化位点。两种软件都表明 CSE 蛋白含有丝氨酸磷酸化位点最多。

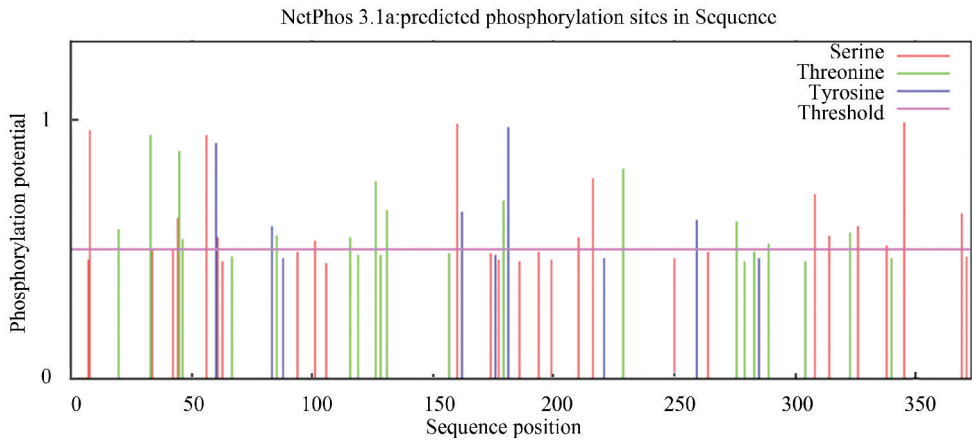


图 7 人 CSE 蛋白磷酸化位点预测

Fig.7 Phosphorylation sites prediction of human CSE protein

2.9 人 CSE 蛋白三级结构分析

利用 SWISS-MODEL 预测人 CSE 蛋白的三级结构,GMQE 为 0.97,QMEAN 为-0.54,序列与 BLAST

数据库中 5tsu.1 模板序列相似性高达99.19%,表明该模型结构合理,该蛋白质存在较多扭曲,结构较丰富,这对其生物学功能具有重要作用(见图 8)。

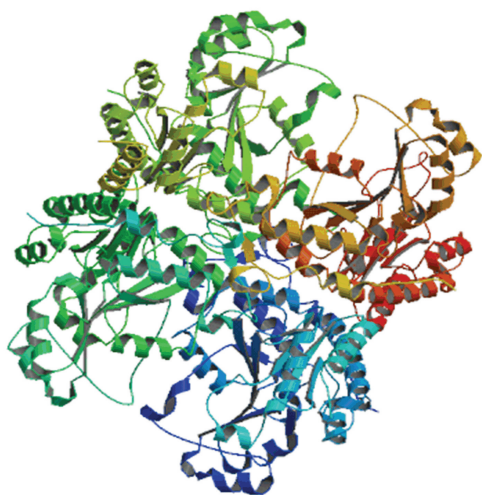


图8 人 CSE 蛋白三级结构预测

Fig.8 Tertiary structure prediction of human CSE protein

2.10 人 CSE 蛋白互作网络分析

使用 STRING 预测人 CSE 蛋白互作网络, 设置为高置信度 0.7, 限制数量 10 个。结果发现人 CSE 蛋白与 DLD、TST、CBSL、TXNRD1 等蛋白质具有相互作用(见图9)。对以上互作蛋白的基因进

行 GO 分析和 KEGG 通路分析, GO 分析结果表明互作基因主要参与辅因子结合、维生素结合和催化活化等分子功能(见表3)涉及硫氨基酸代谢过程、硫氨基酸生物合成、 α -氨基酸生物合成、细胞氨基酸代谢等生物过程(见表4)。KEGG 通路分析结果显示, 互作基因显著富集于半胱氨酸与蛋氨酸代谢、甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢、氨基酸生物合成、硒化合物代谢等通路中(见表5)。

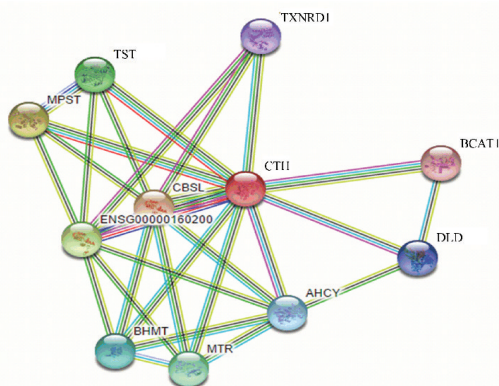


图9 人 CSE 蛋白的相互作用网络预测

Fig.9 Protein-protein interaction network prediction of human CSE protein

表3 GO 分子功能分类结果

Table 3 GO molecular function results

ID	分子功能注释	基因数量 / 个	错误发现率
GO:0048037	辅因子结合	7	1.39×10^{-7}
GO:0050662	辅酶结合	6	1.41×10^{-7}
GO:0019842	维生素结合	4	2.06×10^{-5}
GO:0003824	催化活性	11	2.10×10^{-5}

表4 GO 生物学过程分类结果

Table 4 GO biological process results

ID	生物学过程注释	基因数量 / 个	错误发现率
GO:0000096	硫氨基酸代谢过程	8	4.55×10^{-17}
GO:0000097	硫氨基酸生物合成	6	1.40×10^{-13}
GO:1901607	α -氨基酸生物合成	7	2.04×10^{-13}
GO:00065	细胞氨基酸代谢过程	9	4.30×10^{-13}

表5 KEGG pathway 路径列表

Table 5 KEGG pathway lists

ID	路径注释	基因数量 / 个	错误发现率
hsa00270	半胱氨酸与蛋氨酸代谢	8	4.62×10^{-18}
hsa01100	代谢途径	9	8.95×10^{-9}
hsa00260	甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢	4	4.39×10^{-8}
hsa01230	氨基酸生物合成	4	3.39×10^{-7}

3 讨论

胱硫醚- γ -裂合酶(cystathionine- γ -lyase, CSE)是转硫途径的最后一个关键酶,参与硫化氢(H_2S)和谷胱甘肽(GSH)的生成,调节氧化还原平衡,是重要的抗氧化分子^[11],然而 CSE 表达异常调节氧化还原稳态失衡可以引起慢性阻塞性肺病(COPD)、哮喘^[12]以及急性肺损伤^[13]等疾病。因此对于 CSE 蛋白功能的研究非常重要。本研究基于生物信息学方法,分析人 CSE 蛋白的结构和分子功能,结果显示:人 CSE 蛋白位于人类 1 号染色体上的短臂上。含有 373 个氨基酸,是稳定的亲水性蛋白,不具有跨膜结构,无信号肽属于非分泌性蛋白,蛋白定位于细胞质的可能性大提示该蛋白质可能主要在细胞质发挥生物学作用。具有大量的丝氨酸(Ser)磷酸化位点和较少的酪氨酸(Tyr)磷酸化位点、蛋白二级结构以无规则卷曲为主推测无规则卷曲是 CSE 蛋白主要的二级结构原件。结构域预测发现人 CSE 蛋白属于 PLP 依赖性酶的异亚家族,CSE 是由两个二聚体组成的四聚体,每个单体都有三个独立的域:(I)较大的 N-末端结构域,它是活性二聚体内相邻单体的活性位点的一部分、(II)携带大多数催化重要残基的 PLP 结合结构域和(III)C-末端结构域^[14]。每个单体共价结合一个 PLP 辅助因子,通过 Schiff 碱与活性位点赖氨酸结合发挥生物学效应^[15]。

蛋白质的磷酸化会影响蛋白质的活性,从而使其执行不同的生理功能。本研究发现人 CSE 蛋白含有 33 个磷酸化位点,其中 Ser/Thr 位点较多,推测丝氨酸/苏氨酸最有可能参与其蛋白质磷酸化。有研究表明 PKC 通过丝氨酸/苏氨酸蛋白质底物磷酸化可以转导细胞信号并在细胞信号作用下调节细胞生长、代谢、凋亡、分化、增殖和迁移运动^[16-17]。CSE 是一种硫转移酶,在活性位点具有活性半胱氨酸残基,负责稳定酶的结构及其功能。有研究证实 Ser77 突变会减弱组成四聚体结构的两个二聚体之间的相互作用而影响该酶的稳定性^[18],也有研究报导 CSE Ser 磷酸化可以调节内皮细胞 H_2S 的快速释放从而发挥心血管保护作用^[19]和维持心肺平衡^[20],因此推测 CSE 的丝氨酸/苏氨酸磷酸化是诱导细胞迅速产生 H_2S 减轻氧化应激的关键点。

通过对人 CSE 蛋白的 GO 分析和 KEGG 分析可知互作基因主要参与辅因子结合和催化活化等分子功能涉及氨基酸代谢等生物过程,显著富集于半胱氨酸与蛋氨酸代谢等通路中。因此,CSE 与互作蛋白中的 TST、TXNRD1 之间的关系值得探讨。CSE、

TST 和 MST 在 L-半胱氨酸的厌氧、脱硫和代谢中发挥重要作用。研究发现 TXNRD1(硫氧还蛋白还原酶 1)是细胞氧化应激反应和细胞内 RON 水平控制的重要组成部分^[21]。TST(硫代硫酸盐转移酶)是一种单结构域胞质硫转移酶,也被认为在硫代硫酸盐氧化合成谷胱甘肽过硫化物的过程中起一定作用,在不利生理条件下,例如硫缺乏或存在过氧化物时,TST 表达增加发挥细胞保护作用^[22]并在线粒体基质中进行后续加工^[23]在硫代谢、铁硫簇形成^[24-25]等多种途径中发挥作用。包括 CSE 在内的硫转移酶可以在活性氧含量增加的情况下局部防止-SH 基团的可逆氧化,并可调节体内 GSH 水平来平衡氧化还原状态维持钙稳态^[26]。由此说明 CSE 蛋白与相互作用蛋白的作用及参与的硫代谢途径具有一定的研究价值,有助于阐明 CSE 蛋白的作用机制和生理功能。

通过生物信息学方法对人 CSE 蛋白进行预测和分析,对明确 CSE 作用的分子机制具有参考意义。

参考文献(References)

- [1]HELLMICH M R, SZABO C. Hydrogen sulfide and cancer [J]. Handbook of Experimental Pharmacology, 2015, 230: 233-241. DOI:10.1007/978-3-319-18144-8_12.
- [2]SZABO C, COLETTA C, CHAO C, et al. Tumor-derived hydrogen sulfide, produced by cystathionine- β -synthase, stimulates bioenergetics, cell proliferation, and angiogenesis in colon cancer [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2013, 110(30): 12474-12479. DOI:10.1073/pnas.1306241110.
- [3]IVANCIUC T, SBRANA E, ANSAR M, et al. Hydrogen sulfide is an antiviral and antiinflammatory endogenous gasotransmitter in the airways. Role in respiratory syncytial virus infection [J]. American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology, 2016, 55(5): 684-696. DOI:10.1165/rcmb.2015-03850C.
- [4]SZABÓ C. Hydrogen sulphide and its therapeutic potential [J]. Nature Reviews Drug Discovery, 2007, 6(11): 917-935. DOI:10.1038/nrd2425.
- [5]KIMURA H. Hydrogen sulfide: Its production, release and functions [J]. Amino Acids, 2011, 41(1): 113-121. DOI: 10.1007/s00726-010-0510-x.
- [6]LI L, ROSE P, MOORE P K. Hydrogen sulfide and cell signaling [J]. Annual Review of Pharmacology and Toxicology, 2011, 51(1): 169-187. DOI:10.1146/annurev-pharmtox-010510-100505.
- [7]WANG Mingqi, CAO Xinyu, LUAN Chang, et al. Hydrogen

- sulfide attenuates hydrogen peroxide-induced injury in human lung epithelial A549 cells[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(16): 3975–3990. DOI: 10.3390/ijms20163975.
- [8] IVANCIUC T, SBRANA E, CASOLA A, et al. Cystathionine gamma-lyase deficiency enhances airway reactivity and viral-induced disease in mice exposed to side-stream tobacco smoke [J]. *Pediatric Research*, 2019, 86(1): 39–46. DOI: 10.1038/s41390-019-0396-6.
- [9] WU Jingxiang, WEI Jionglin, YOU Xingji, et al. Inhibition of hydrogen sulfide generation contributes to lung injury after experimental orthotopic lung transplantation [J]. *Journal of Surgical Research*, 2012, 182(1): e25–e33. DOI: 10.1016/j.jss.2012.09.028.
- [10] 廖永红, 黄炼, 王淑娟, 等. 内源性硫化氢对硫酸铍致大鼠肺组织急性损伤影响[J]. *中国职业医学*, 2013, 40(5): 403–406. DOI: 10.11763/j.issn.2095-2619.2013.05.004.
- LIAO Yonghong, HUANG Lian, WANG Shujuan, et al. Effect of endogenous hydrogen sulfide on acute lung injury induced by beryllium sulfate in rats [J]. *Chinese Occupational Medicine*, 2013, 40(5): 403–406. DOI: 10.11763/j.issn.2095-2619.2013.05.004.
- [11] SANG J H, MI R N, JUNG J M, et al. Hydrogen sulfide-producing cystathionine γ -lyase is critical in the progression of kidney fibrosis [J]. *Free Radical Biology & Medicine*, 2017, 112: 423–432. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2017.08.017.
- [12] IVANCIUC T, SBRANA E, CASOLA A, et al. Cystathionine gamma-lyase deficiency enhances airway reactivity and viral-induced disease in mice exposed to side-stream tobacco smoke [J]. *Pediatric Research*, 2019, 86(1): 39–46. DOI: 10.1038/s41390-019-0396-6.
- [13] TIAN Fengjun, LING Yiting, CHEN Yuqin, et al. Effects of CCK-8 and cystathionine gamma-Lyase/Hydrogen sulfide system on acute lung injury in rats [J]. *Inflammation*, 2017, 40(1): 174–183. DOI: 10.1007/s10753-016-0466-4.
- [14] LEVONEN A L, LAPATTO R, SAKSELA M, et al. Human cystathionine gamma-lyase: developmental and in vitro expression of two isoforms [J]. *Biochemical Journal*, 2000, 347(1): 291–295. DOI: 10.1042/0264-6021:3470291.
- [15] STIPANUK M H. Sulfur amino acid metabolism: pathways for production and removal of homocysteine and cysteine [J]. *Annual Review of Nutrition*, 2004, 24: 539–577. DOI: 10.1146/annurev.nutr.24.012003.132418.
- [16] DEMPSEY E C, NEWTON A C, MOCHLY-ROSEN D, et al. Protein kinase C isozymes and the regulation of diverse cell responses [J]. *American Journal of Physiology. Lung Cellular and Molecular Physiology*, 2000, 279(3): L429–L438. DOI: 10.1152/ajplung.2000.279.3.L429.
- [17] MUSASHI M, OTA S, SHIROSHITA N. The role of protein kinase C isoforms in cell proliferation and apoptosis [J]. *International Journal of Hematology*, 2000, 72(1): 12–19. DOI: 10.1054/fipr.2000.0083.
- [18] STIPANUK M H, DOMINY J E, LEE J I, et al. Mammalian cysteine metabolism: new insights into regulation of cysteine metabolism [J]. *The Journal of Nutrition*, 2006, 136(6 Suppl): 1652S–1659S. DOI: 10.1007/s005910050021.
- [19] XU Xingyan, YAN Qing, LIU Xiaoyun, et al. 17beta-estradiol non-genomically induces vascular endothelial H₂S release by promoting phosphorylation of cystathionine gamma-lyase [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2019, 294(43): 15577–15592. DOI: 10.1074/jbc.RA119.008597.
- [20] YUAN Guoxiang, VASAVDA C, PENG Yingjie, et al. Protein kinase G-regulated production of H₂S governs oxygen sensing [J]. *Science Signaling*, 2015, 8(373): 37–47. DOI: 10.1126/scisignal.2005846.
- [21] LU J, HOLMGREN A. The thioredoxin antioxidant system [J]. *Free Radical Biology Medicine*, 2014, 66(8): 75–87. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2013.07.036.
- [22] PINTO J T, KRASNIKOV B F, COOPER A J. Redox-sensitive proteins are potential targets of garlic-derived mercaptocysteine derivatives [J]. *The Journal of Nutrition*, 2006, 136(3): 835S–841S. DOI: 10.1093/jn/136.3.835S.
- [23] LIBIAD M, MOTL N, AKEY D L, et al. Thiosulfate sulfurtransferase-like domain-containing 1 protein interacts with thioredoxin [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2018, 293(8): 2675–2686. DOI: 10.1074/jbc.RA117.000826.
- [24] YADAV P K, YAMADA K, CHIKU T, et al. Structure and kinetic analysis of H₂S production by human mercaptopyruvate sulfurtransferase [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2013, 288(27): 20002–20013. DOI: 10.1074/jbc.M113.466177.
- [25] LIBIAD M, YADAV P K, VITVITSKY V, et al. Organization of the human mitochondrial hydrogen sulfide oxidation pathway [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2014, 289(45): 30901–30910. DOI: 10.1074/jbc.M114.602664.
- [26] SUN Qingxiang, COLLINS R, HUANG Shufen, et al. Structural basis for the inhibition mechanism of human cystathionine γ -lyase, an enzyme responsible for the production of H₂S [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2009, 284(5): 3076–3085. DOI: 10.1074/jbc.M805459200.