



菜用大豆蔗糖转运蛋白生物信息学分析

张玉梅, 胡润芳, 林国强

(福建省农业科学院 作物研究所, 福建 福州 350013)

摘要: 为揭示菜用大豆 *SUT* 基因的结构特点, 并为提高其表达活性提供理论依据, 利用 RT-PCR 技术克隆菜用大豆 *SUT* 基因, 长度为 1 634 bp, 编码区 1 566 bp, 编码一个含有 521 个氨基酸残基的多肽。生物信息学分析表明, *SUT* 理论等电点 9.33, 理论分子量 55.19 kD, 是疏水性蛋白。SOMPA 分析表明, *SUT* 各个氨基酸残基对应的二级结构为 α 螺旋 45.11% β 折叠 14.20% 无规则卷曲 36.47% 和 β 转角 4.22%; 氨基酸序列和结构分析显示 *SUT* 蛋白包含 1 个保守区, 即 MFS_2 domain 和 12 个跨膜区。SignalP 分析表明该蛋白没有信号肽。系统进化树分析表明菜用大豆 Gm*SUT* 蛋白与绿豆 (*Vignaradiata* var. *radiata*) 的亲缘关系最近, 同源性达 93.28%。将该蛋白与拟南芥的 9 个 SUC 蛋白比对表明 Gm*SUT* 与 At*SUC2* 的亲缘关系最近, 属于 *SUT1* 亚族。

关键词: 菜用大豆; 蔗糖转运蛋白; 生物信息学分析; Gm*SUT* 基因

Bioinformatics Analysis of Vegetable Soybean Sucrose Transporter

ZHANG Yu-mei, HU Run-fang, LIN Guo-qiang

(Crop Sciences Institute, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou 350013, China)

Abstract: In order to reveal the construction features of vegetable soybean sucrose transporter in the molecular level and provide a theoretical basis for increasing the activity of its expression. Soybean *SUT* gene whose sequence is 1 634 bp in length was cloned by RT-PCR and the sequence in coding region of *SUT* is 1 566 bp, a polypeptide was encoded by 521 amino acid residues. Bioinformatics analysis showed that the theory value of pI and Mw was 9.33 and 55.19 kD, respectively. *SUT* was a hydrophobic protein. The secondary structure of *SUT* various amino acid residues were predicted by SOMPA, which was as follows alpha helix accounting for 45.11%, extended strand for 14.20%, random coil for 36.47% and β -turn for 4.22%. According to the amino acid sequence and structural analysis, it showed that *SUT* protein contained one conserved domain (MFS_2 domain) and twelve transmembrane regions. This protein was no signal peptide analysed by SignalP. Phylogenetic tree analysis showed that the Gm*SUT* had the closest genetic relationship with *Vignaradiata* var. *radiata* and the homology was 93.28%. The alignment between this protein and 9 SUC proteins of *Arabidopsis thaliana* showed that Gm*SUT* was closely related to At*SUC2* and belonged to the *SUT1* subfamily.

Keywords: Vegetable soybean; *SUT*; Bioinformatics analysis; Gm*SUT*

蔗糖是光合作用的主要产物, 大多数植物同化运输的主要形式, 也是碳素和能量的储存物质、代谢底物、渗透物质和信号物质。蔗糖在成熟叶片(源)中合成后, 进一步转运到多种异养组织(库)中, 满足植物生长发育的需要^[1]。高等植物体内蔗糖的跨膜运输及分配主要依赖于膜上的蔗糖转运蛋白(Sucrose/H⁺ cotransporters 或 sucrose transporters, SUCs 或 SUTs)基因家族才能完成, 因此蔗糖转运蛋白在蔗糖代谢及转运过程中具有重要的作用^[1-2]。迄今为止, 在高等植物中已克隆到 80 多个 SUC/SUT 基因, 对其氨基酸序列分析表明蔗糖转运蛋白属于主要易化子超家族(major facilitator superfamily, MFS)中的一个亚家族, 是高等植物独有的一种基因家族, 而在细菌、真菌和哺乳动物中并没有发现类似的基因; 蔗糖转运蛋白是一个多成员的

蛋白家族, 目前将该家族分为: *SUT1*、*SUT2*、*SUT3*、*SUT4* 和 *SUT5* 等 5 个亚家族^[3-4]。在拟南芥中已克隆 9 个 SUC 基因, 属于 *SUT1*、*SUT2* 和 *SUT4* 3 个亚家族^[5]。水稻中已克隆 Os*SUT1*、Os*SUT2*、Os*SUT3*、Os*SUT4* 和 Os*SUT5* 5 个 SUC 基因, 只有 Os*SUT2* 在干旱和盐胁迫等非生物胁迫下上调表达, 而 Os-*SUT1*、Os*SUT4* 和 Os*SUT5* 表达量无显著变化^[6]。

菜用大豆俗称毛豆, 是大豆的专用型品种, 指荚籽粒饱满, 荚色和籽粒都呈翠绿色时即可采摘食用的大豆^[7-8]。菜用大豆营养丰富, 富含蛋白质、碳水化合物、膳食纤维、维生素、矿物质和植物雌激素^[9]等。相对于普通大豆来说, 菜用大豆具有香甜柔糯以及大荚大粒等诸多优点, 因此其商品价格较高、市场需求量较大^[10-11]。研究表明, 有较强甜味的大豆品种可溶性糖含量高, 糯性较强的品种淀粉

收稿日期: 2018-05-07

基金项目: 福建省属公益类科研院所基本科研专项(2016R1025-6, 2018R1026-1); 福建省科技重大专项(2015NZ0002-3); 福建省农业科学院科技创新团队资助项目(STIT2017-2-6)。

第一作者简介: 张玉梅(1980-), 女, 博士, 助理研究员, 主要从事大豆新品种选育及栽培技术研究。E-mail: zym1122@126.com。

通讯作者: 林国强(1965-), 男, 学士, 研究员, 主要从事大豆新品种选育及栽培技术研究。E-mail: lgq308@163.com。

含量较高,质地较软的品种脂肪含量较高,有较强的鲜味的品种蛋白质中游离氨基酸含量较高^[12]。Li 等^[13]研究表明菜用大豆鲜食期籽粒中可溶性含量最高的蔗糖,约占可溶性总糖的 70%。由此可见,蔗糖含量的高低对菜用大豆的品质有着重要的影响,但菜用大豆蔗糖转运蛋白如何调控菜用大豆籽粒蔗糖源库关系还未见报道。本试验以菜用大豆闽豆 6 号为材料,采用同源克隆技术克隆蔗糖转运蛋白基因,并对其进行生物信息学分析,以期对菜用大豆籽粒发育中蔗糖转运的生理及分子机理研究提供基础。

1 材料与方法

1.1 材料

菜用大豆闽豆 6 号由福建省农业科学院作物研究所提供,在福清国家级农作物品种区域试验站种植,常规大田管理,开花时,取其花置于液氮中速冻,存于 -80℃ 冰箱备用。

1.2 方法

1.2.1 总 RNA 的提取与 cDNA 链的合成 采用通用植物总 RNA 提取试剂盒(百泰克生物技术有限公司)提取大豆花的总 RNA;用凝胶电泳与紫外分光光度计检测 RNA 的质量;用 M-MLV 反转录酶(TaKaRa)进行总 RNA 逆转录。

1.2.2 *GmSUT* 基因的克隆 根据同源比对在大豆基因组数据库(<http://www.phytozome.net/soybean>)获得其中一条 SUT 序列,根据此序列设计引物,上游引物:5'-ACTCAACACAAACTCAGAC-3'和下游引物:5'-AACACGGTCAACTCTGATTAG-3',PCR 扩增大豆花 cDNA。PCR 反应程序为:95℃ 预变性 5 min,95℃ 变性 30 s,50℃ 退火 30 s,72℃ 延伸 1 min,35 个循环,72℃ 延伸 10 min。用 0.8% 琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物,目的片段经回收(美国 Omega 公司)、连接(载体 pMD18-T,宝生物工程有限公司)、转化(大肠杆菌 *DH5α*,宝生物工程有限公司)、蓝白斑筛选(北京全式金生物技术有限公司)、PCR 鉴定、测序(上海生工生物工程有限公司),最后获得菜用大豆 SUT 保守片段。

1.2.3 生物信息学分析 应用 DNAMAN 6.0 设计引物和多序列比对;使用 ProtParam(<http://web.expasy.org/protparam>)和 ProtScale(<http://web.expasy.org/protscale/0>)在线软件分析蛋白一级结构;运用 SMART(<http://smart.embl-heidelberg.de/>)软件分析保守结构域;应用 bioxm 预测分子量、蛋白质的等电点;应用 SOMPA(https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=/NPSA/npsa_sopma.html)在线软件分析蛋白质二级结构;利用 SWISS-MODEL(<http://swissmodel.expasy.org/>)在

线软件进行蛋白 3D 结构建模;利用 SignalP 4.0 进行信号肽分析^[14];采用 SMATT(<http://smart.embl-heidelberg.de/>) ClustalX 1.81 软件和 MEGA 4.0 软件构建进化树。

2 结果与分析

2.1 *GmSUT* 基因的扩增

以拟南芥蔗糖转运蛋白(Q39232)在大豆基因组数据库(<http://www.phytozome.net/soybean>)进行同源比对获得其中一条 *SUT* 序列,根据已知序列设计引物,通过普通 RT-PCR 扩增得到该基因。该基因全长为 1 634 bp,ORF 为 1 566 bp,编码 521 个氨基酸(图 1)。

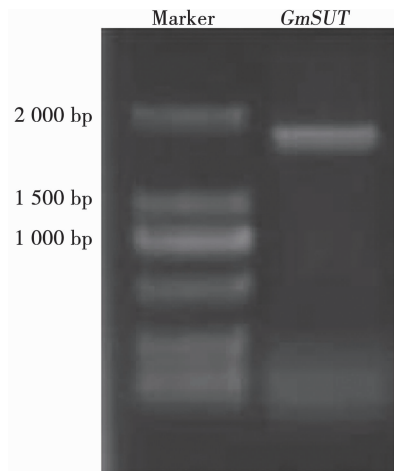


图 1 *GmSUT* 的基因扩增

Fig 1 Gene amplification of *GmSUT* in *Glycien max*

将该序列与测序大豆 Williams 82(<http://www.phytozome.net/soybean>)进行比对发现,两条序列相似性达到 99.98%,仅第 975 位碱基由 G 变成 A,即 Williams 82 中第 975 位碱基是鸟嘌呤(G),而闽豆 6 号中第 975 位碱基是腺嘌呤(A);相应地氨基酸序列也由第 326 个氨基酸由丙氨酸(A)变成苏氨酸(T)。

2.2 *GmSUT* 基因编码序列的生物信息学分析

2.2.1 大豆 SUT 编码蛋白一级结构序列分析以及二级和三级结构预测 利用 ExPasy 软件包在线预测大豆 SUT 的理论等电点和蛋白质相对分子质量,SUT 编码 522 个氨基酸,理论分子量(Mw)为 55.192 kD,等电点(pI)为 9.33;负电荷氨基酸残基(Asp + Glu)的数目共有 25 个,正电荷氨基酸残基(Arg + Lys)的数目共有 38 个;在构成该蛋白的 20 种氨基酸中,亮氨酸(Leu)含量最高(13.1%),丙氨酸(Ala)次之(12.1%),色氨酸(Trp)和半胱氨酸(Cys)含量最低(1.9%);该蛋白脂肪族指数(AI)为 106.58,不稳定系数(II)为 35.45;其蛋白的总体平均疏水性(GRAVY)为 0.539,因此预测为疏水性蛋白。



图2 GmSUT 蛋白三级结构
Fig.2 Tertiary structure of GmSUT protein

SOMPA 分析 GmSUT 蛋白的二级结构表明该蛋白共有 521 个氨基酸基序, α 螺旋 235 个, 占比 45. 11%; 无规则卷曲 190 个, 占比 36. 47%; 延伸链结构(β 折叠)74 个, 占比 14. 20%; β 转角 22 个, 占

比 4. 22%。利用 SWISS-MODEL 在线构建蛋白 3D 模型, GmSUT 蛋白的保守结构域三维结构模型如图 2 所示。

SMART 在线分析表明, 该蛋白属于 MFS_2 家族, 该序列位于 36 ~ 307, 另有 12 个跨膜区, 分别位于第 37 ~ 59、69 ~ 91、104 ~ 126、141 ~ 163、183 ~ 205、227 ~ 246、288 ~ 307、330 ~ 352、365 ~ 387、414 ~ 436、448 ~ 470 和 480 ~ 502 氨基酸并含有 12 个跨膜结构域, 这与蔗糖转运蛋白家族属于主要易化子超家族 (major facilitator superfamily, MFS) 结构相符合。SignalP 4. 0 分析表明该蛋白不存在信号肽。

2. 2. 2 大豆 SUT 蛋白的同源性检索及系统发育进化树分析 将 SUT 蛋白质序列在 NCBI 网站 (<http://www. ncbi. nlm. nih. gov/>) 上, 进行 BLAST 同源性检索。由图 3 可以看出, 菜用大豆的 SUT 蛋白与绿豆 (*Vignaradiata* var. *radiata*)、小豆 (*Vigna angularis*)、菜豆 (*Phaseolus vulgaris*)、木豆 (*Cajanuscajan*)、鹰嘴豆 (*Cicerarietinum*)、三叶草 (*Trifolium pratense*)、蒺藜苜蓿 (*Medicagotruncatula*)、蚕豆 (*Viciafaba*)、豌豆 (*Pisumsativum*)、花生 (*Arachisipaensis*)、蔓花生 (*Arachisduranensis*)、狭叶羽扇豆 (*Lupinusangustifolius*) 的 SUT 蛋白的亲缘性较近; 与胡桃 (*Juglansregia*)、蓖麻 (*Ricinuscommunis*)、烟草 (*Nicotiana tabacum*)、拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 的亲缘性较远。

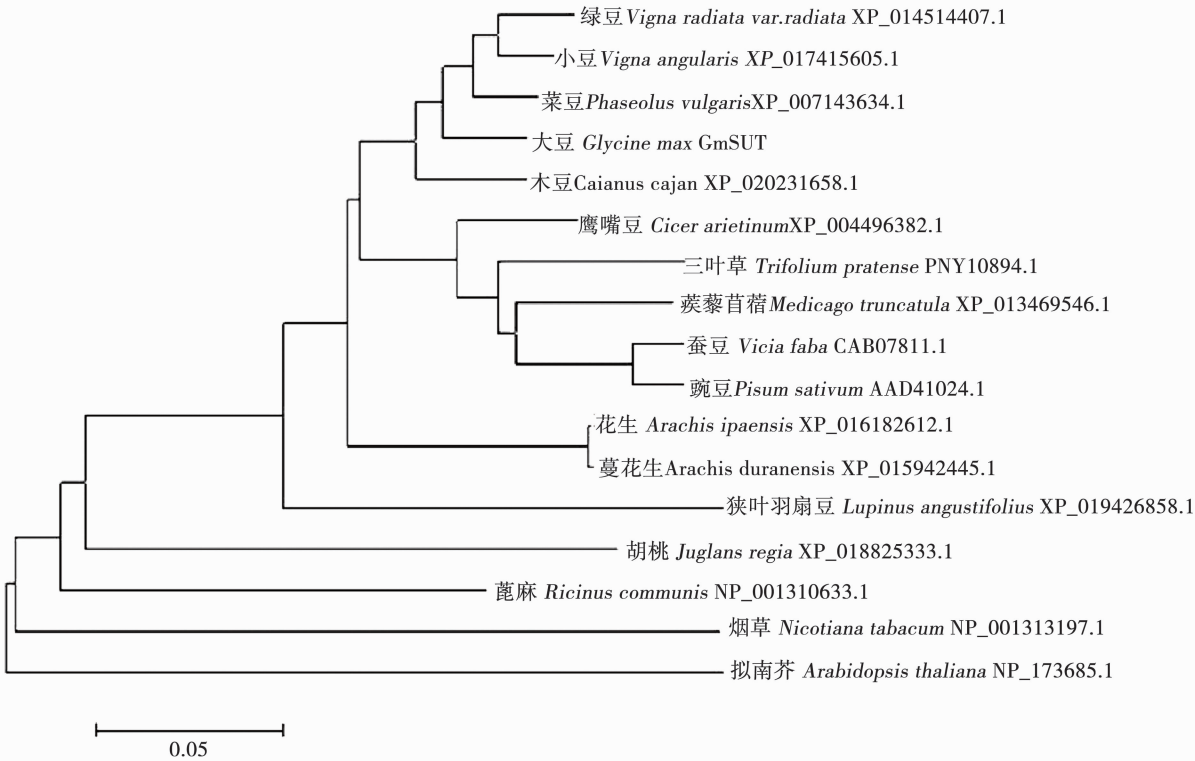
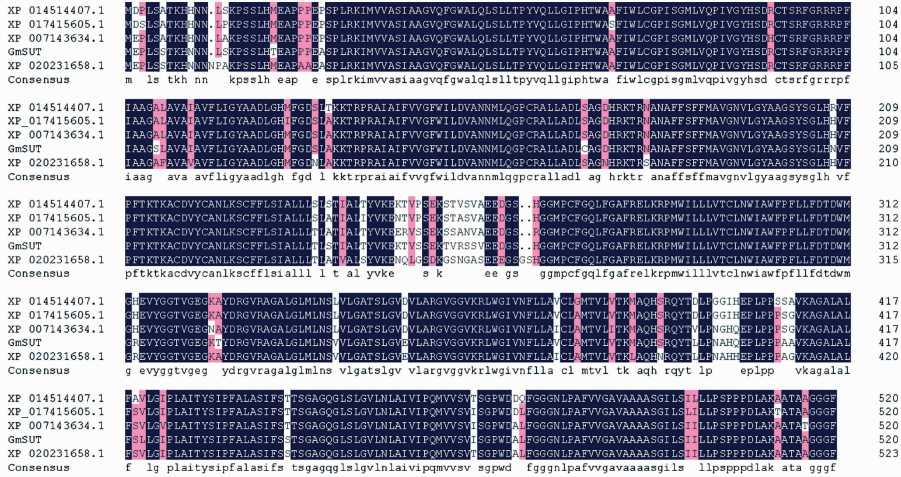


图3 大豆 GmSUT 与其它 16 个植物 SUT 蛋白的系统进化分析
Fig.3 Phylogenetic analysis of GmSUT in *Glycine max* with SUTs of other 16 plants

在此基础上,对与其同源性较高的几条序列做聚类分析,以期对 SUT 蛋白和其它 SUT 蛋白的同源性做进一步分析。氨基酸同源性比较结果表明大豆(*Glycine max*)SUT 和绿豆(*Vignaradiata* var. radi-

ata)的 SUT 亲缘关系最近,同源性达 93.28%;其次是小豆(*Vigna angularis*)、菜豆(*Phaseolus vulqaris*)、木豆(*Cajanuscajan*)同源性分别为 92.71%、93.47%、92.56%(图 4)。



XP_014514407.1、XP_017415605.1、XP_007143634.1、GmSUT、XP_020231658.1 分别为绿豆、小豆、菜豆、大豆、木豆的 SUT 蛋白序列。
XP_014514407.1, XP_017415605.1, XP_007143634.1, GmSUT, XP_020231658.1 indicate SUT protein sequence of *Vignaradiata* var. radiata, *Vignaangularis*, *Phaseolus vulgaris*, *Glycine max* and *Cajanuscajan*, respectively.

图 4 大豆 GmSUT 氨基酸同源性分析

Fig. 4 Homology analysis of GmSUT in *Glycine max*

根据系统进化分析法可将拟南芥中 9 个蔗糖转运蛋白家族成员分为 SUT1、SUT2 和 SUT4 三个亚族,其中 AtSUC1、AtSUC2、AtSUC5、AtSUC6、AtSUC7、AtSUC8 和 AtSUC9 属于 SUT1 亚族,AtSUC3 属于 SUT2 亚族,AtSUC4 属于 SUT4 亚族^[15]。大豆 GmSUT 和拟南芥 AtSUC 的系统发育分析(图 5)可知,该蛋白与 AtSUC1、AtSUC2、AtSUC5、AtSUC6、AtSUC7、AtSUC8 和 AtSUC9 的亲缘关系较近,因此该蛋白归属于 SUT1 亚族。

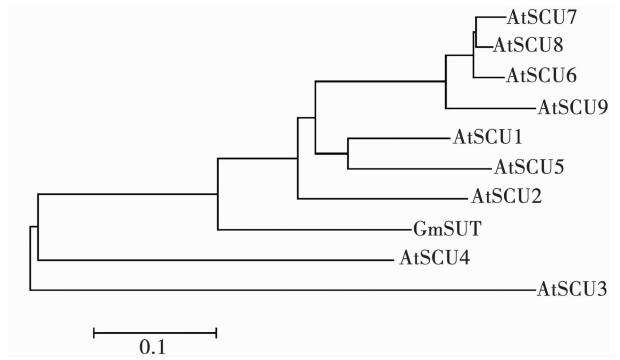


图 5 大豆 GmSUT 和拟南芥 AtSUC 的系统发育分析
Fig. 5 Phylogenetic relationships among *Glycine max* (GmSUT) and *Arabidopsis thaliana* (AtSUC)

3 结论与讨论

蔗糖转运蛋白作为蔗糖的运输载体,在植物生长、发育等多种生理过程中起着关键的作用,蔗糖

转运蛋白的转运、运输和调控直接影响到作物的产量和品质^[16]。研究表明将 T-DNA 插入 *AtSUC2* 基因后,突变体植株出现形态矮小,营养组织内有大量蔗糖和淀粉沉积的状况。但之后,将 *AtSUC2* 基因重新导入突变体植株后,植株形态及营养组织内蔗糖与淀粉的转运均恢复到正常水平^[17]。在马铃薯中抑制 *StSUT1* 基因的表达,导致其块茎变小和块茎数量变少,成熟叶片中糖分积累增加^[18-19]。烟草植株中反义表达蔗糖转运蛋白导致其植株矮化,叶片中糖分大量积累等^[20]。可见,蔗糖转运蛋白与蔗糖的运输和碳分配密切相关,其活力不仅影响植物的生长发育,而且影响农作物的产量。

由于菜用大豆籽粒更大,口感更好,越来越受到消费者的青睐。但菜用大豆作为普通大豆的专用型品种,在其由营养生长进入生殖生长过程中比普通大豆需要更多的营养和较强的光照以满足籽粒生长发育的需要^[21]。研究表明菜用大豆鲜食期蔗糖对菜用大豆甜味的贡献率达 71%^[22]。Zhang 等^[23]研究表明菜用大豆籽粒发育过程中,蔗糖结合蛋白 2 前体的上调表达可能有助于提高采摘期菜用大豆籽粒的营养品质和食味品质,推测在菜用大豆籽粒发育过程中,蔗糖转运蛋白对菜用大豆蔗糖的调控起着重要的作用。本研究从菜用大豆闽豆 6 号中克隆的 *GmSUT* 与大豆参考基因组 Williams 82 中的 Glyma10g36200 相似性达到 99.98%,仅有 1 个碱

基的差别,究竟是否就是该碱基的差别导致菜用大豆与普通大豆在蔗糖转运与分配存在差异还有待进一步研究。蔗糖转运蛋白是多基因家族,每个家族基因可能在植株生长发育过程中担任不同的功能^[5-6],推测在菜用大豆籽粒发育过程中,蔗糖转运蛋白对菜用大豆蔗糖的调控起着重要的作用。

本文以菜用大豆闽豆6号为材料,通过 RT-PCR 方法克隆大豆蔗糖转运蛋白 *GmSUT* 基因,利用生物信息学手段对其编码蛋白进行了分析,结果表明该基因长度为1 634 bp,编码区1 566 bp,编码 521 个氨基酸,理论等电点和分子量分别为 9.33 和 55.19 kD,属于疏水性蛋白;SOMPA 分析表明,各氨基酸残基对应的二级结构分别为 α 螺旋 45.11%、 β 折叠 14.20%、无规则卷曲 36.47% 和 β 转角 4.22%;氨基酸序列和结构分析显示该蛋白属于 MFS 超家族。SignalP 分析表明该蛋白没有信号肽。系统进化树分析表明菜用大豆 *GmSUT* 蛋白与绿豆(*Vignaradiata* var. *radiata*)的亲缘关系最近,同源性达 93.28%。将该蛋白与拟南芥的 9 个 SUC 蛋白比对表明 *GmSUT* 与 *AtSUC2* 的亲缘关系最近,属于 *SUT1* 亚族。蔗糖转运蛋白对菜用大豆蔗糖的转运与分配的调控还需更深入的研究。

参考文献

[1] Barker L, Kühn C, Weise A, et al. SUT2, a putative sucrose sensor in sieve element [J]. *Plant Cell*, 2000(12):1153-1164.

[2] Williams L E, Lemoine R, Sauer N. Sugar transporters in higher plants—a diversity of roles and complex regulation [J]. *Trends in Plant Science*, 2000, 5(7):283-290.

[3] Hirose T, Zhang Z, Miyao A, et al. Disruption of a gene for rice sucrose transporter, OsSUT1, impairs pollen function but pollen maturation is unaffected [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2010, 61(13):3639-3646.

[4] Kühn C, Grof C P L. Sucrose transporters of higher plants [J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2010, 13(3):288-298.

[5] Aoki N, Hirose T, Scofield G N, et al. The sucrose transporter gene family in rice [J]. *Plant and Cell Physiology*, 2003, 44(3):223-232.

[6] Ibraheem O, Dealtry G, Roux S, et al. The effect of drought and salinity on the expression levels of sucrose transporters in rice (*Oryza sativa* Nipponbare) cultivar plants [J]. *Plant Omics Journal*, 2011, 4(2):68-74.

[7] Mimura M, Coyne C J, Bambuck M W, et al. SSR diversity of vegetable soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] [J]. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 2007, 54:497-508.

[8] Czaikoski K, Leite R S, Mandarino J M G, et al. Canning of vegetable-type soybean in acidified brine: Effect of the addition of sucrose and pasteurisation time on color and other characteristics [J]. *Industrial Crops and Products*, 2013, 45:472-476.

[9] Kim S Y, Kim B M, Kim J B, et al. Effect of steaming, blanching, and high temperature/ high pressure processing on the amino acid contents of commonly consumed Korean vegetables and pulses [J]. *Prevention Nutrition and Food Science*, 2014, 19:220-226.

[10] 徐有,王凤敏,默邵景,等. 我国菜用大豆的研究现状与发展趋势[J]. *河北农业科学*, 2012, 16(4):42-45. (Xu Y, Wang F M, Mo S J, et al. Research status and development tendency of vegetable soybean in China [J]. *Journal of Hebei Agricultural Sciences*, 2012, 16(4):42-45.)

[11] 张彩英,常文锁,李喜焕,等. 种植密度和施肥对菜用大豆产量性状的效应研究[J]. *中国农学通报*, 2005, 21(7):190-192. (Zhang C Y, Chang W S, Li X H, et al. Effect of plant density and phosphorus application rate in yield of vegetable soybean [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2005, 21(7):190-192.)

[12] 张玉梅,赵晋铭,王明军,等. 南方菜用大豆资源营养品质性状的遗传变异[J]. *大豆科学*, 2006, 25(3):239-243. (Zhang Y M, Zhao J M, Wang M J, et al. Genetic variance of nutritional quality of vegetable soybean germplasm of *Glycine max* Merr. in southern China [J]. *Soybean Science*, 2006, 25(3):239-243.)

[13] Li Y S, Ming D, Zhang Q Y, et al. Greater differences exist in seed protein, oil, total soluble sugar and sucrose content of vegetable soybean genotypes [*Glycine max* (L.) Merrill] in Northeast China [J]. *Australian Journal of Crop Science*, 2012, 6(12):1681-1686.

[14] Petersen T N, Brunak S, Heijne V, et al. SignalP 4.0: Discriminating signal peptides from transmembrane regions [J]. *Nature Methods*, 2011, 8(10):785-786.

[15] Sauer N, Ludwig A, Knoblauch A, et al. AtSUC8 and AtSUC9 encode functional sucrose transporters but the closely related *AtSUC6* and *AtSUC7* genes encode aberrant proteins in different *Arabidopsis* ecotypes [J]. *The Plant Journal*, 2004, 40(1):120-130.

[16] Vaughn M W, Harrington G N, Bush D R. Sucrose-mediated transcriptional regulation of sucrose symporter activity in the phloem [J]. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*, 2002, 99(16):10876-10880.

[17] Srivastava A C, Ganesan S, Ismail I O, et al. Functional characterization of the *Arabidopsis* AtSUC2 sucrose/H⁺ symporter by tissue specific complementation reveals an essential role in phloem loading but not in long distance transport [J]. *Plant Physiology*, 2008, 148(1):200-211.

[18] Riesmeier J W, Willmitzer L, Frommer W B. Evidence for an essential role of the sucrose transporter in phloem loading and assimilate partitioning [J]. *Embo Journal*, 1994, 13(1):1-7.

[19] Kühn C, Quick W P, Schulz A, et al. Companion cell-specific inhibition of the potato sucrose transporter SUT1 [J]. *Plant Cell Environment*, 1996, 19(10):1115-1123.

[20] Burkle L, Hibberd J M, Quick W P, et al. The H⁺-sucrose co-transporter *NtSUT1* is essential for sugar export from tobacco leaves [J]. *Plant Physiology*, 1998, 118(1):59-68.

[21] 张玉梅,胡润芳,陈宇华,等. 菜用大豆籽粒代谢物的相关性分析[J]. *大豆科学*, 2018, 37(2):231-238. (Zhang Y M, Hu R F, Chen Y H, et al. Correlation analysis between metabolites in vegetable soybean seeds [J]. *Soybean Science*, 2018, 37(2):231-238.)

[22] 张秋英,李彦生,刘长锴,等. 菜用大豆食用品质关键组分及其积累动态研究[J]. *作物学报*, 2015, 41(11):1692-1700. (Zhang Q Y, Li Y S, Liu C K, et al. Key components of eating quality and their dynamic accumulation in vegetable soybean varieties [*Glycine max* (L.) Merr.] [J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2015, 41(11):1692-1700.)

[23] Zhang Y M, Hu R F, Li H W, et al. Proteomics changes in filling seeds of vegetable soybean [J]. *Hort Science*, 2016, 51(11):1397-1401.