

- [14] Kawakami Y, Ohuchi S, Morita T, et al. Hypohomocysteinemic effect of cysteine is associated with increased plasma cysteine concentration in rats fed diets low in protein and methionine levels[J]. *J Nutr Sci Vitaminol(Tokyo)*, 2009, 55(1):66-74.
- [15] Ohuchi S, Morita T, Mori M, et al. Hepatic cystathionine beta-synthase activity does not increase in response to methionine supplementation in rats fed a low casein diet; association with plasma homocysteine concentrations[J]. *J Nutr Sci Vitaminol(Tokyo)*, 2009, 55(2):178-185.
- [16] Ohuchi S, Matsumoto Y, Morita T, et al. High-casein diet suppresses guanidinoacetic acid-induced hyperhomocysteinemia and potentiates the hypohomocysteinemic effect of serine in rats [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2008, 72(12):3258-3264.
- [17] Setoue M, Ohuchi S, Morita T, et al. Hyperhomocysteinemia induced by guanidinoacetic acid is effectively suppressed by choline and betaine in rats[J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2008, 72(7):1696-1703.
- [18] Okawa H, Morita T, Sugiyama K. Effect of dietary soybean protein level on the plasma homocysteine concentration in rats [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2008, 72(6):1607-1610.
- [19] M6dis K, Coletta C, Asimakopoulou A, et al. Effect of S-adenosyl-L-methionine (SAM), an allosteric activator of cystathionine- $\beta$ -synthase (CBS) on colorectal cancer cell proliferation and bioenergetics in vitro[J]. *Nitric Oxide*, 2014, 41:146-156.

## 论著

# 添加赖氨酸和苏氨酸对小麦面筋蛋白降低大鼠同型半胱氨酸效果的影响

向雪松,冯甘雨,邢青斌,刘轶群,崔璐,王竹

(中国疾病预防控制中心营养与健康所,北京 100050)

**摘要:**目的 在小麦面筋蛋白中添加赖氨酸和苏氨酸,探讨两种限制氨基酸在小麦面筋蛋白中降低大鼠血浆高同型半胱氨酸(Hcy)血症的影响。**方法** 32只健康Wistar大鼠随机分为4组,分别为大豆分离蛋白组(25S)、酪蛋白组(25C)、小麦面筋蛋白组(29G)、赖氨酸+苏氨酸添加组(29GLT)。各组大鼠分别给予不同饲料喂养14d后处死,采集血液、肝脏等样品,用于测定生化、酶学指标。**结果** 添加赖氨酸和苏氨酸可有效改善大鼠因摄入小麦面筋蛋白导致的体重、血浆中Hcy的降低,可抑制血浆S-腺苷蛋氨酸(SAM)和肝脏甜菜碱高半胱氨酸甲基转移酶(BHMT)活性的升高,但对胱硫醚 $\beta$ -合成酶(CBS)活性无影响。蛋氨酸含量较低的大豆分离蛋白组,血浆中同型半胱氨酸的含量并未降低。**结论** 小麦面筋蛋白对大鼠血浆同型半胱氨酸浓度的影响可能与其氨基酸的组成特点有关。小麦面筋蛋白的高半胱氨酸和低赖氨酸及低苏氨酸的氨基酸组成是小麦面筋蛋白降低同型半胱氨酸水平的可能因素。

**关键词:**赖氨酸;苏氨酸;蛋氨酸;小麦面筋蛋白;同型半胱氨酸;半胱氨酸;毒理实验

中图分类号:R155;Q51 文献标志码:A 文章编号:1004-8456(2015)03-0227-05

DOI:10.13590/j.cjfh.2015.03.002

## Effects of lysine and threonine fortification in wheat gluten on plasma homocysteine concentration decrease in rats

XIANG Xue-song, FENG Gan-yu, XING Qing-bin, LIU Yi-qun, CUI Lu, WANG Zhu

(National Institute for Nutrition and Health, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing 100050, China)

**Abstract: Objective** To investigate the effect of limiting amino acid on plasma homocysteine concentration in rats by adding lysine and threonine to wheat gluten. **Methods** 32 Wistar rats were fed 25S, 25C, 29G and 29GLT diets with different dietary protein species for 14 days. At the end of the experiment, the rats were sacrificed, and blood and liver samples were subject to biochemical analysis. **Results** Body weight gain in rats fed with wheat gluten dietary was significantly lower than casein and soybean protein dietary, but the decrease in body weight gain was significantly suppressed by adding lysine and threonine. The plasma homocysteine concentration in rats fed with wheat gluten was

收稿日期:2015-01-13

基金项目:“十二五”国家科技支撑项目(2012BAD33B01)

作者简介:向雪松 男 助理研究员 研究方向为食物营养 E-mail:sterling25@163.com

通讯作者:王竹 女 研究员 研究方向为食物营养 E-mail:wzblue@163.com

significantly lower than casein, however the decrease in wheat gluten group was recovered to the level of 25C and 25S by lysine and threonine. Lysine and threonine also suppressed the plasma *S*-adenosyl methionine (SAM) activity and liver homocysteine betaine methyltransferase (BHMT) activity, but had no effect on the cystathionine beta synthase (CBS) activity. Plasma homocysteine (Hcy) content did not decrease in the soybean protein group with low methionine.

**Conclusion** The effects of wheat gluten on plasma homocysteine concentration may depend on the contents of amino acid. The high level serine and low level lysine and threonine in wheat pluten may lead to the decrease of plasma Hcy content.

**Key words:** Lysine; threonine; wheat gluten; methionine; homocysteine; cysteine; toxicological experiment

同型半胱氨酸(homocysteine, Hcy)是一种人体内的含硫氨基酸,为必需氨基酸——蛋氨酸(methionine, Met)代谢过程的重要中间产物。近年来,国内外许多学者认为血浆同型半胱氨酸含量升高可能是动脉粥样硬化等心血管疾病发生的一个独立危险因子<sup>[1]</sup>,从而成为基础医学和临床医学研究的新热点<sup>[2-3]</sup>。

流行病学调查和临床研究表明,营养膳食因素与高 Hcy 血症密切相关<sup>[4]</sup>。人体内,正常的 Hcy 浓度在 5 ~ 15  $\mu\text{mol/L}$ ,而 Hcy 浓度每升高 5  $\mu\text{mol/L}$ 会导致冠心病的发生率升高 60% ~ 80%<sup>[5]</sup>。但是如何通过调整膳食结构以及添加营养素来维持体内血浆 Hcy 在一个正常的水平,至今还没有一个明确的结论<sup>[6]</sup>。本课题组在之前的试验中发现小麦面筋蛋白可以降低血浆 Hcy 浓度,分析原因可能与小麦面筋蛋白氨基酸组成有关,尤其是低 Met 含量。但是 Met 含量同样较低的大豆分离蛋白对血浆 Hcy 水平的降低并不如小麦面筋蛋白明显,可能与小麦面筋蛋白中氨基酸的组成特点有关,如半胱氨酸含量高而赖氨酸和苏氨酸含量低。本研究利用 Wistar 大鼠,以酪蛋白为标准参考蛋白,以低蛋氨酸、低半胱氨酸含量的大豆分离蛋白为对照组,在小麦面筋蛋白中添加第一和第二限制氨基酸——赖氨酸和苏氨酸,探讨赖氨酸、苏氨酸和半胱氨酸等氨基酸组成对小麦面筋蛋白致血浆低 Hcy 水平的影响及其机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 实验动物

SPF 级 Wistar 雄性大鼠 32 只,6 周龄,体重 110 ~ 130 g,购于北京维通利华实验动物技术有限公司[许可证号:SCXK(京)2012-0001]。饲养于中国疾病预防控制中心职业卫生与中毒控制所二级动物房[SPF 级,合格证号:SYXK(京)2014-0043],室温(25 ± 2) °C、相对湿度(55 ± 5)%。

#### 1.1.2 仪器与试剂

高效液相色谱分析仪(日本岛津)、Model L-8500A 氨基酸自动生化分析仪(日本日立)、冷冻高速离心机、超低温冰箱、水浴控温摇床。

大豆分离蛋白(SPI,日本 Fuji Oli),酪蛋白(casein,美国 Nacalai Tesque),矿物质(AIN-93G)、维生素(AIN-93)、膳食纤维均购自日本 Oriental Yeast,小麦面筋蛋白(wheat gluten)和其他化学分析试剂均购自日本 Wako。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 饲料配方

饲料中各成分组成参考 AIN-93 配方,所有饲料成分(大豆分离蛋白、玉米淀粉、酪蛋白、膳食纤维、小麦面筋蛋白)均为食品级,维生素、矿物质为饲料专用。本试验中酪蛋白、小麦面筋蛋白的蛋白质含量分别为 99.76% 和 86%,因此为平衡饲料中的蛋白质含量,以 25% 酪蛋白为参考蛋白,对应小麦面筋蛋白配比为 29%。具体饲料配方见表 1。

表 1 各组实验饲料组成表(g/100 g)

Table 1 Composition of experimental diet

组别	大豆分离蛋白	酪蛋白	小麦面筋蛋白	赖氨酸	苏氨酸	糖	玉米淀粉	玉米油	矿物质*	维生素*	膳食纤维	重酒石酸胆碱
大豆分离蛋白组	25	—	—	—	—	20	43.25	5	3.5	1	2	0.25
酪蛋白组	—	25	—	—	—	20	43.25	5	3.5	1	2	0.25
小麦面筋蛋白组	—	—	29	—	—	20	39.25	5	3.5	1	2	0.25
赖氨酸 + 苏氨酸添加组	—	—	29	0.7	0.2	20	38.35	5	3.5	1	2	0.25

注: \* 为 AIN-93G; — 为不添加

#### 1.2.2 动物分组及处理

以基础饲料(含 25% 酪蛋白)适应性饲养 5 d 后,将大鼠按体质量随机分为 4 组,每组 8 只,分别为大豆分离蛋白组(25S)、酪蛋白组(25C)、小麦面

筋蛋白组(29G)以及赖氨酸 + 苏氨酸添加组(29GLT)。大鼠自由进食、饮水,每天称重并记录进食量。喂养实验饲料 14 d 后,结束试验。结束试验时,将各组大鼠禁食 12 h 后称量体质量,断头处死,

取血(用肝素抗凝管),3 000 r/min 离心 15 min,分离红细胞和血浆,将血浆放于 -20 °C 冻存储用。取肝脏组织称重并置于 -80 °C 冷冻备用。

### 1.2.3 生化分析

血浆和肝脏中 Hcy 和半胱氨酸 (Cys) 的浓度参照文献[7]通过高效液相色谱仪 (HPLC) 检测。肝脏中 S-腺苷蛋氨酸 (SAM) 和 S-腺苷同型半胱氨酸 (SAH) 的浓度,分别参照文献[8]和[9]通过 HPLC 测定。肝脏中丝氨酸 (Ser) 的浓度,通过氨基酸自动生化检测仪分析。肝脏中甜菜碱高半胱氨酸甲基转移酶 (BHMT) 和胱硫醚  $\beta$ -合成酶 (CBS) 的活性,参照文献[10]和[11]通过 HPLC 测定。肝脏中蛋白质的浓度,根据文献[12]的方法测定。肝脏中甜菜碱 (Bet) 的浓度参照文献[9]通过 HPLC 进行分析。

### 1.3 统计学分析

数据均采用 Mac1.5 统计软件进行分析。各项指标均以  $\bar{x} \pm s$  表示。两组以上均数之间差别的比较,采用方差分析。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 不同蛋白质对大鼠体质量和进食量的影响

小麦面筋蛋白组的大鼠体质量增长低于大豆分离蛋白组和酪蛋白组,差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ),而添加赖氨酸和苏氨酸后明显改善了由小

麦面筋蛋白引起的体质量降低。分别比较各组大鼠的饲料进食量、肝体比,差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见表 2。

表 2 各组大鼠体质量增长量、饲料摄入量及肝系数的比较  
( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

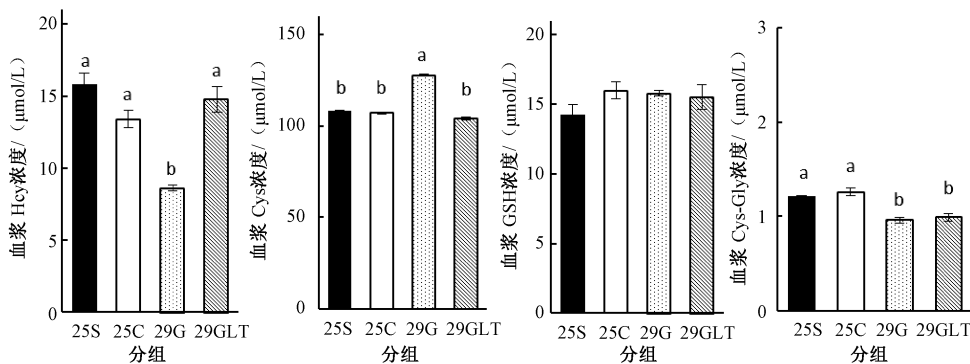
Table 2 Body weight gain, food intake and liver weight of rats fed the experimental diets

组别	体质量增长量/(g/10 d)	饲料摄入量/(g/10 d)	肝体比/(g/100 g BW)
大豆分离蛋白组	41 ± 2 <sup>a</sup>	154 ± 4	4.17 ± 0.03
酪蛋白组	39 ± 2 <sup>a</sup>	156 ± 6	4.33 ± 0.08
小麦面筋蛋白组	23 ± 2 <sup>b</sup>	153 ± 5	4.29 ± 0.08
赖氨酸 + 苏氨酸添加组	39 ± 3 <sup>a</sup>	144 ± 3	4.34 ± 0.06

注:标有不同字母者表示组间差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ),标有相同字母者表示组间差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )

### 2.2 不同蛋白质对血浆 Hcy、Cys、谷胱甘肽 (GSH) 和半胱氨酰甘氨酸 (Cys-Gly) 浓度的影响

小麦面筋蛋白组的血浆 Hcy 浓度低于大豆分离蛋白和酪蛋白组,而血浆 Cys 浓度则升高,且差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。赖氨酸和苏氨酸的添加可有效改善小麦面筋蛋白导致的 Hcy 降低 ( $P < 0.05$ ),并恢复到与大豆分离蛋白组和酪蛋白组同等水平。血浆 GSH 浓度并没有因为摄入蛋白种类的不同而有明显变化,各组间差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。小麦面筋蛋白组的血浆 Cys-Gly 和 Hcy 浓度均低于大豆分离蛋白组和酪蛋白组,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ),见图 1。表明赖氨酸和苏氨酸的添加可明显抑制小麦面筋蛋白导致的同型半胱氨酸水平的降低。



注:25S:大豆分离蛋白组、25C:酪蛋白组、29G:小麦面筋蛋白组、29GLT:赖氨酸 + 苏氨酸添加组;标有不同字母者表示组间差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ),标有相同字母者表示组间差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )

图 1 不同蛋白质对血浆 Hcy、Cys、GSH 和 Cys-Gly 浓度的影响

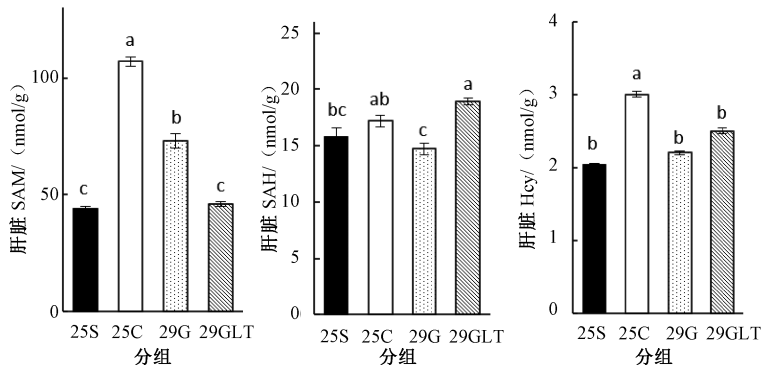
Figure 1 Plasma Hcy, Cys, GSH and Cys-Gly concentrations in rats fed the experimental diets

### 2.3 不同蛋白质对肝脏中 SAM、SAH、Hcy 浓度的影响

与酪蛋白组比较,小麦面筋蛋白的摄入使肝脏 SAM 浓度降低,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。赖氨酸和苏氨酸的添加使小麦面筋蛋白组的 SAM 浓度降低到与大豆分离蛋白组相同水平,差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ),SAH 浓度则与酪蛋白组的水平

相当,差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。与酪蛋白组比较,小麦面筋蛋白组肝脏中 Hcy 浓度有所降低,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ),添加赖氨酸和苏氨酸后虽有升高趋势,但未见差异有统计学意义 ( $P > 0.05$ ),见图 2。

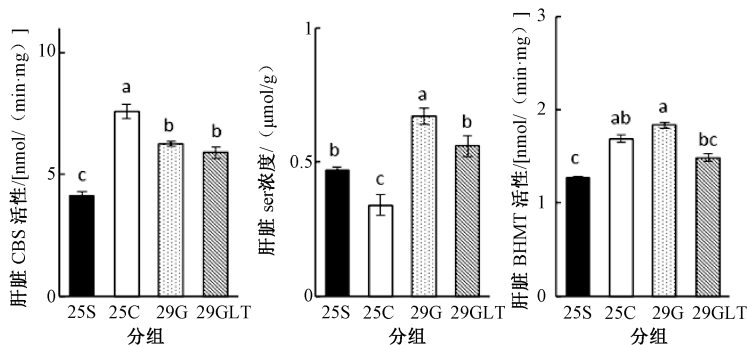
### 2.4 不同蛋白质对肝脏中 CBS 活性、Ser 浓度和甜菜碱高半胱氨酸甲基转移酶 (BHMT) 活性的影响



注:25S:大豆分离蛋白组、25C:酪蛋白组、29G:小麦面筋蛋白组、29GLT:赖氨酸+苏氨酸添加组;标有不同字母者表示组间差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),标有相同字母者表示组间差异无统计学意义( $P > 0.05$ )

图2 不同蛋白质对肝脏中SAM、SAH、Hcy浓度的影响

Figure 2 Hepatic concentrations of SAM, SAH and Hcy in rats fed the experimental diets



注:25S:大豆分离蛋白组、25C:酪蛋白组、29G:小麦面筋蛋白组、29GLT:赖氨酸+苏氨酸添加组;标有不同字母者表示组间差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),标有相同字母者表示组间差异无统计学意义( $P > 0.05$ )

图3 不同蛋白质对肝脏中CBS活性、Ser浓度和BHMT活性的影响

Figure 3 Activities of CBS, Ser and BHMT in the liver of rats fed the experimental diets

由图3可知,酪蛋白组中肝脏的CBS活性高于小麦面筋蛋白组和大豆分离蛋白组,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ),赖氨酸和苏氨酸的添加未影响CBS活性,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。肝脏Ser浓度则在酪蛋白组最低;与小麦面筋蛋白组比较,赖氨酸和苏氨酸的添加降低了肝脏中Ser浓度,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。并且赖氨酸和苏氨酸的添加使小麦面筋蛋白组的肝脏BHMT活性有所降低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),与大豆分离蛋白组和酪蛋白组比较差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。

### 3 讨论

蛋白质可以分为动物蛋白和植物蛋白:以酪蛋白为代表的动物蛋白,Met含量较高、Cys含量较低;以大豆分离蛋白和小麦面筋蛋白等为代表的植物蛋白,Met含量较低。Met作为Hcy的唯一前体,其在蛋白质中的含量直接影响Hcy水平的高低。日本静冈大学研究表明,Met的过量摄入可明显升高血浆Hcy水平<sup>[13]</sup>,低Met高Cys摄入能明显降低血浆Hcy水平<sup>[14]</sup>。其原因可能是Cys含量过高导致CBS活性降

低<sup>[15-16]</sup>,并抑制了Hcy的巯基转移通路<sup>[17-18]</sup>。但是,本课题组先前研究表明Met含量同样较低的大豆分离蛋白对血浆Hcy水平的降低不如小麦面筋蛋白明显。因此,小麦面筋蛋白能降低血浆Hcy浓度并非只是Met含量较低造成的,还可能与其他氨基酸有关。本课题组在先前的研究中探讨了不同水平的酪蛋白和小麦面筋蛋白对血浆Hcy水平的影响,发现氨基酸含量的高低确实能影响血浆Hcy水平。为进一步探讨小麦面筋蛋白中的限制氨基酸对血浆Hcy水平的影响,本研究除选择Met含量同样较低的大豆分离蛋白作为对照组外,还选择了小麦面筋蛋白的第一和第二限制氨基酸作为补充组,探讨不同氨基酸含量的小麦面筋蛋白对血浆Hcy水平的影响。参考酪蛋白中赖氨酸和苏氨酸的含量,小麦面筋蛋白两种限制氨基酸分别补充0.7和0.2 g/100 g,使其含量与酪蛋白一致。

Kawakami等<sup>[14]</sup>研究表明,血浆Cys浓度的迅速上升是低Met蛋白膳食导致的低Hcy血症的主要原因之一。小麦面筋蛋白中Cys含量明显高于大豆分离蛋白,同时,本试验结果显示小麦面筋蛋白组大鼠的血浆Cys浓度也明显高于大豆分离蛋白组。

血浆 Cys 浓度的上升导致血浆中的 Cys 和 Hcy 拮抗,在肾脏中产生大量结合型 Hcy 蛋白,使得转化成能够进入血液的非结合型 Hcy 蛋白减少,因此血浆 Hcy 浓度较低。小麦面筋蛋白中 Cys 含量过高可能是其降低血浆 Hcy 水平的另一个原因。

BHMT 和 CBS 是蛋氨酸代谢过程的关键酶。BHMT 是甲基化途径的关键酶,在 BHMT 催化下使 Hcy 甲基化,形成内源 Met 和二甲基胍氨酸。CBS 是转硫作用中的关键酶,Hcy 在 CBS 及辅酶维生素 B<sub>6</sub> 的参与下,与 Ser 缩合成胱硫醚。本试验通过在小麦面筋蛋白中添加限制氨基酸赖氨酸和苏氨酸,改善了由于小麦面筋蛋白摄入导致的大鼠血浆 Hcy 浓度下降,降低了同型半胱氨酸代谢的关键酶 BHMT 活性,但是 CBS 活性并没有明显的变化。说明赖氨酸和苏氨酸促使 Hcy 水平的升高可能是通过 BHMT 的甲基化途径实现的,但还需要进一步深入研究。

综上所述,小麦面筋蛋白降低血浆 Hcy 的机制可能与其氨基酸含量密切相关:一是小麦面筋蛋白中的 Met 含量较低而 Cys 含量较高;二是小麦面筋蛋白中的第一和第二限制性氨基酸——赖氨酸和苏氨酸含量过低,导致血浆 Hcy 的水平低下。

## 参考文献

- [ 1 ] Refsum H, Ueland P M, Nygard O, et al. Homocysteine and cardiovascular disease[J]. *Annu Rev Med*,1998,49:31-62.
- [ 2 ] Selhub J. Homocysteine metabolism[J]. *Annu Rev Nutr*,1999,19(1):217-246.
- [ 3 ] De Bree A, Berschuren W M, Kromhout D, et al. Homocysteine determinants and the evidence to what extent homocysteine determines the risk of coronary heart disease[J]. *Pharmacol Rev*,2002,54(4):599-618.
- [ 4 ] 孟斌,张敏. 营养膳食因素调节同型半胱氨酸代谢的研究进展[J]. *武警医学*,2014,25(4):395-398.
- [ 5 ] FANG P, ZHANG D, CHENG Z, et al. Hyperhomocysteinemia potentiates hyperglycemia-induced inflammatory monocyte differentiation and atherosclerosis[J]. *Diabetes*,2014,63(12):4275-4290.
- [ 6 ] LIU Y, LIU Y Q, Sugiyama K, et al. Effect of dietary supplementation with folate on choline deficiency-induced hyperhomocysteinemia in rats[J]. *J Nutr Sci Vitaminol*,2012,58(1):20-28.
- [ 7 ] Durand P, Fortin L J, Lussier-Cacan S, et al. Hyperhomocysteinemia induced by folic acid deficiency and methionine load-applications of a modified HPLC method[J]. *Clinica Chimica Acta*,1996,252(1):83-93.
- [ 8 ] Cook R J, Horne D W, Wagner C. Effect of dietary methyl group deficiency on one-carbon metabolism in rats[J]. *J Nutr*,1989,119(4):612-617.
- [ 9 ] Laryea M D, Steinhagen F, Wendel U, et al. Simple method for the routine determination of betaine and N,N-dimethylglycine in blood and urine[J]. *Clin Chem*,1998,44(9):1937-1941.
- [ 10 ] Finkelstein J D, Martin J J, Harris B J, et al. Regulation of hepatic betaine-homocysteine methyltransferase by dietary betaine[J]. *J Nutr*,1983,113(3):519-521.
- [ 11 ] Mudd S H, Finkelstein J D, Laster L. Transsulfuration in mammals: microassays and tissue distributions of three enzymes of the pathway[J]. *J Bio Chem*,1965,240(11):4382-4392.
- [ 12 ] Lowry O H, Rosebrough N J, Randall R J, et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent[J]. *J Bio Chem*,1951,193(1):265-275.
- [ 13 ] Fukuda S, Shimada Y, Morita T, et al. Suppression of methionine-induced hyperhomocysteinemia by glycine and serine in rats[J]. *Biosci Biotechnol Biochem*,2006,70(10):2403-2409.
- [ 14 ] Kawakami Y, Ohuchi S, Morita T, et al. Hypohomocysteinemic effect of cysteine is associated with increased plasma cysteine concentration in rats fed diets low in protein and methionine levels[J]. *J Nutr Sci Vitaminol(Tokyo)*,2009,55(1):66-74.
- [ 15 ] Ohuchi S, Matsumoto Y, Mori M, et al. High casein diet decrease plasma homocysteine concentrations in rats [J]. *J Nutr Sci Vitaminol(Tokyo)*,2009,55(1):22-30.
- [ 16 ] Ohuchi S, Matsumoto Y, Morita T, et al. High-casein diet suppresses guanidinoacetic acid-induced hyperhomocysteinemia and potentiates the hypohomocysteinemic effect of serine in rats [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*,2008,72(12):3258-3264
- [ 17 ] Ohuchi S, Morita T, Mori M, et al. Hepatic cystathionine beta-synthase activity does not increase in response to methionine supplementation in rats fed a low casein diet; association with plasma homocysteine concentrations [J]. *J Nutr Sci Vitaminol(Tokyo)*,2009,55(2):178-185.
- [ 18 ] Okawa H, Morita T, Sugiyama K. Cysteine supplementation decreases plasma homocysteine concentration in rats fed on a low-casein in rats[J]. *Biosci Biotechnol Biochem*,2007,71(1):91-97.