

大豆属种子蛋白的电泳分析

王洪新 胡志昂

(中国科学院植物研究所)

摘 要

用SDS梯度聚丙烯酰胺凝胶电泳分析了 *Glycine* 亚属10个种共26份收集物的种子蛋白, 并与 *soja* 亚属的典型种子蛋白谱进行比较。一般说来, 多年生种含有与 *soja* 亚属的大豆球蛋白和 β -副大豆球蛋白相似的相应迁移率的种子蛋白, 但变异更为广泛, 除 β -副大豆球蛋白各亚基定位的凝胶区域里变异更显著而普遍外, 还观察到大豆球蛋白A、B亚基定位的凝胶区域中电泳带型的变异。每种都产生一个独特的电泳谱而能相互区别。根据种子蛋白电泳类型, 9个多年生种可分为三组。第一组仅 *G. tomentella* 一种, 其电泳谱与 *soja* 亚属最为接近。第二组包括 *G. eldestina*、*G. canescens*、*G. latrobeana* 和 *G. argyrea* 四种, 第三组由 *G. tabacina*、*G. latifolia*、*G. cyrtoloba* 和 *G. falcata* 四种组成。而 *G. wightii* 的电泳谱是最为独特的。在多数种内各收集物之间观察到相对小的种子蛋白变异。

大豆球蛋白 *glycinin* 和 β -副大豆球蛋白 β -*conglycinin* 是豆科植物种子中广泛存在的贮存蛋白形式。对栽培大豆 *G. max* 的这类蛋白质已有十分广泛而深入的研究, 大豆球蛋白是由六种酸性亚基和碱性亚基B所组成, 而副大豆球蛋白有三种亚基 α' 、 α 、 β 。近年来又相继报导了 *G. max* 各品种间种子蛋白成分和含量的变异, 有些大豆栽培种亚基组分不完全, 如Keburi品种缺乏 α' 亚基 (Kitamura和Kaizuma 1981), 后来Beachy等 (1983) 证明该品种缺失 α' 亚基的结构基因。而Raiden品种缺乏 $A_5A_4B_3$ 亚基 (Staswick和Nielsen, 1983)。Davies等 (1985) 还报导了四种编码 α' 、 α 和 β 的基因突变, 但更普遍的是各成分的含量随品种而明显变化 (胡志昂等 1986)。野大豆 *G. soja* 是栽培大豆 *G. max* 的一年生野生祖先, Staswick等 (1983) 曾分析过120份野大豆的种子蛋白, 没有发现与栽培种有区别。我们以前对一百多份野大豆的种子蛋白组分进行电泳分析表明, 其中大多数样品与栽培大豆的种子蛋白有相同的亚基组分, 但某些样品的一些亚基有淌度的变异 (胡志昂等 1986), 尤以 β 亚基及其附近的一些蛋白变异最为常见, 酸性亚基也有一些变异。这类研究已扩展到一些与 *G. max* 密切相关的多年生野生种, Staswick (1983) 报导了四种 *Glycine* 亚属植物的种子蛋白组分。Doyle等 (1985) 提取了大量的豆科植物种子球蛋白, 并测定了与大豆7S贮存蛋白抗血清交叉反应的蛋白的分子量, 发现存在着大量的变异。本文报导 *Glycine* 亚

本文于1986年9月4日收到。This paper was received in Sept. 4, 1986.

属全部 10 个种的种子蛋白电泳分析结果，这对探讨栽培大豆及野生大豆亲缘的关系和大豆进化可能是有用的。

材 料 和 方 法

多年生野大豆种子除 *G. tabacina*、*G. latifolia* 及名录中 2 个无号的共 6 个收集物是由本所汤彦承教授提供外，其余均由澳大利亚堪培拉、C. S. I. R. O. R. Pullen 先生友好赠送。名录如下：

种 名	收集物编号			
<i>G. tabacina</i>	1257	1258		
<i>G. latifolia</i>	1233	1389		
<i>G. cyrtoloba</i>	1185	1307	1418	
<i>G. falcata</i>	1246	无号		
<i>G. tomentella</i>	1139	1188	1367	
<i>G. cladeatina</i>	1001	1253	1256	55002
<i>G. canescens</i>	无号			
<i>G. latrobeana</i>	1251	1252	1385	1387
<i>G. argyrea</i>	1420			
<i>G. wightii</i>	Q 878	Q 1003	Q 1004	Q 1017

共10种26个收集物。

种子蛋白提取及 SDS 线性梯度聚丙烯酰胺凝胶电泳采用胡志昂等用于鉴定菜豆品种的方法，作为种子蛋白分子量标准的野生大豆 (*G. soja*) 样品，其蛋白质组成完全表现典型的栽培大豆电泳谱，即 α' 亚基 83K， α 亚基 76K， β 亚基 56K， A_3 45K， A_1 、 A_2 、 A_4 38K，B 22K， A_5 11K (胡志昂等 1986)。

结 果 与 讨 论

用 SDS—PAGE 分析了 *Glycine* 亚属 10 个种共 26 份收集物成熟种子的球蛋白，并以具 *soja* 亚属典型谱的一份 *G. soja* 材料作为对照。实验证明，多年生种含有与大豆球蛋白和 β —副大豆球蛋白相似的相应迁移率的蛋白质，但没有一种与 *G. soja* 的酶谱完全一样，在对比中发现了比 *soja* 亚属更大的变异，无论是总的带数还是各自相应的迁移率都有很大不同。在凝胶上较高分子量蛋白质定位的区域变异更为明显和普遍。

根据电泳图谱我们将所分析的除 *G. wightii* 外的 9 个多年生野生种分为三组，这主要依据相当于 α' 、 α 亚基定位的凝胶区域中的带型，10 个种中唯 *G. tomentella* 最接近 *G. soja*，如图版 II—1：13—15 所示，除收集物 1188 号相当于 α' 的带分子量约为 79K 略低于 α' 为 83K 的数值外，其它二个收集物 1139、1367 有与 α' 、 α 分子量几乎完全相同的二条带。

第二种类型为相当于 α' 、 α 亚基的区域,合成一条非常明显的强带,如图版Ⅱ—1:6—9、12,该蛋白质含量很高,分子量约80K左右,介于 α' 83K及 α 76K之间,在这条带的上面还有一条弱带,其迁移率同*G. soja*的 α' 上面的一条,以前推断为尿酶的。Doyle等(1985)提取了大量豆科植物的种子贮存蛋白,并试验了对大豆糖苷化的7S种子贮存蛋白制备的抗血清的同源性,用SDS—PAGE测定了免疫沉淀蛋白的分子量,如对*G. canescens*的免疫沉淀蛋白分子量为74K,介于他测定的 α' 分子量为76K和 α 分子量为72K之间,这与本文所述的实验结果,即那条强带的分子量约80K、介于 α' 83K和 α 76K之间的结果极为相似,因此推断,图版Ⅱ—1:1—9、12中分子量约为80K的一条强带为与*G. soja*的 β —副大豆球蛋白 α' 、 α 亚基同源的蛋白质,具有这种电泳谱型的有以下四个种的植物:*G. cladestina*(图版Ⅱ—1:1—4),*G. canescens*(图版Ⅱ—1:5),*G. latrobeana*(图版Ⅱ—1:6—9)和*G. argyreae*(图版Ⅱ—1:12)

具有第三种电泳类型包括*G. tabacina*,*G. latifolia*,*G. cyrtoloba*和*G. falcata*四种,这组酶谱类型为在 α' 及 α 亚基定位的凝胶区域有两条相应慢迁移率的带如图版Ⅱ—2:1—7,12—14,(图版Ⅱ—2:7这两条带连在一起成一强带为点样量太大之故,因图版Ⅱ—3:10为同一样品,可看出明显分为两条),也就是说定位于这两条带的蛋白质其分子量比 α' 和 α 要相应地高,约为93K和85K,而 α' 和 α 分别为83K和76K,在Doyle(1985)的工作中测定了*G. falcata*种子贮存蛋白提取液与大豆7S蛋白抗血清的免疫沉淀蛋白的分子量,在 α' 、 α 区域的两条带分别为85K和77K,这明显地高于 α' 、 α 分别为76K、72K的数值,因此推测这组中这两条相应慢迁移率的带为慢 α' 及慢 α 的变异。

在相当于 β —副大豆球蛋白的 β 亚基定位的区域,各种间差异也很普遍,首先从图版Ⅱ—3可以看出,这个区域的带在各种间强度相差极大,有的种染色很深如*G. falcata*(图版Ⅱ—3:10),说明这种蛋白质含量很高,多数种在该区域都有强弱不同的几条带,在迁移率上也多数与 β 亚基有所区别,至于哪条相当于 β 亚基有待进一步实验证明。Staswick(1983)的研究指出,*G. tomentella*中与 β —副大豆球蛋白的 β 亚基有同样分子量的多肽,其末端氨基酸顺序却与 β 亚基完全不同,而是紧密地相关于大豆球白的酸性组分 A_3 。

在*Soja*亚属中大豆球蛋白的酸性多肽组分A和碱性多肽组分B是相对稳定的,很少发生变异,特别是B亚基。而在多年生各种的电泳图谱中我们看到了有不同迁移率的相应的带,图版Ⅱ—3为各种的代表与*G. soja*进行比较,从图谱可以看出相当于A亚基的带在有些种中含量较低如*G. argyreae*(图版Ⅱ—3:7)和*G. cyrtoloba*(图版Ⅱ—3:8),在另一些种中滴度有变化,如在*G. tomentella*(图版Ⅱ—3:2)和*G. falcata*(图版Ⅱ—3:10)中这条相应的带迁移率大于*G. soja*的A亚基。还值得讨论的是Staswick(1983)分析过的4个多年生野生种中都没有见到 A_3 ,而我们分析的*G. falcata*、*G. latifolia*甚至在他分析过的*G. canescens*中相当 A_3 的位置上都有模糊的带,这是否是因为该亚基含量较低,电泳点样量不够时就显示不出来了。还有一点值得提出,*G. latrobeana*(图版Ⅱ—1:6—9)的电泳谱中有一条分子量介于 β 亚基56K和 A_3 45K之间的极强带,它是相关于 β 亚基,还是 A_3 有待通过免疫试验证明。从图版Ⅱ—3还可看出多数种有相应于 A_5

的带,在某些种中其强度还比较大,如 *G. tomentella*、*G. falcata*、*G. cldestina* 等。与在 *soja* 亚属中从未见到 B 亚基的变异相反,多年生各种的电泳分析也看到了 B 亚基的变异,在 *G. falcata* 中相应于 B 亚基的双带合成一条强带,而在其它几种如 *G. latrobeana*、*G. latifolia* 和 *G. cyrtoloba* 中与 B 亚基相应的带都有慢电泳淌度变异。

在所分析的各种内不同收集物之间变异大于 *G. max* 和 *G. soja*, 但相对于种间变异要小得多,如 *G. tomentella* 的三个收集物中仅 1188 号在 α' 、 α 区域有与其它两个样品不同的带的分布,*G. latrobeana* 的四个收集物中也观察到在 α 区和 A 区也有些微小变异。

从图版 II—3 看出,在所分析的多年生各种中 *G. tomentella* 的电泳谱与 *G. soja* 最相近, Newell 等 (1982) 报导在大豆与 *G. tomentella* 之间成功地进行了种间杂交,本文所报导的结果支持 *G. tomentella* 与 *soja* 亚属亲缘关系最近的推断。

另外, *G. wightii* 有与其它各种差异较大的电泳图谱 (图版 II—3: 11), 特别是在 β —副大豆球蛋白区域,这支持了将该种从 *Glycine* 属中分出来的意见。

(参考文献略)

ELECTROPHORETIC ANALYSIS OF SEED PROTEIN FOR GENUS GLYCINE

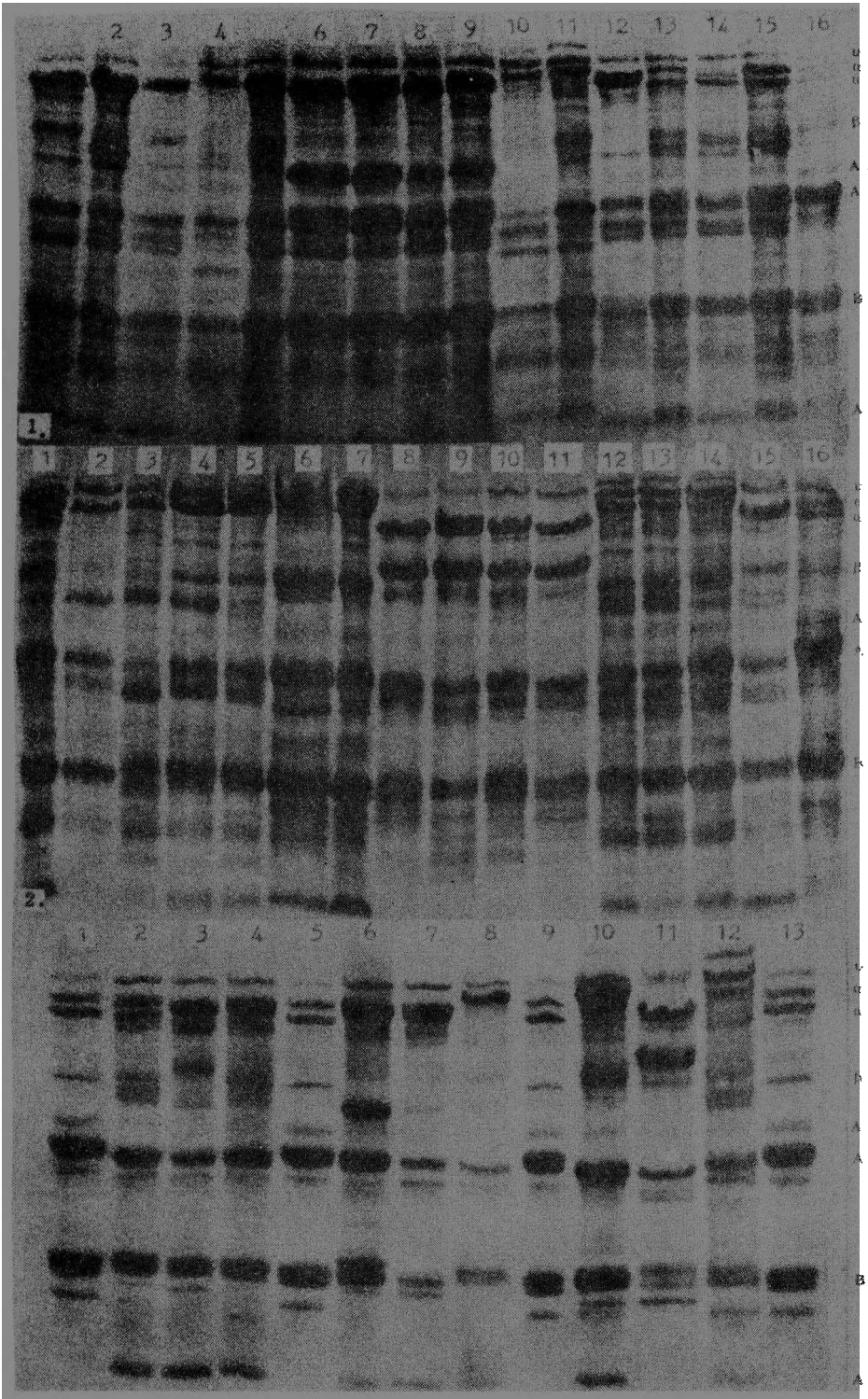
Wang Hongxin Hu Zhiang

(Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences)

Abstract

The seed storage proteins from all of ten perennial species of subgenus *Glycine* were analysed by SDS—PAGE and compared with that of typical sample within subgenus *Soja*. In general the perennial species contained the proteins with relative mobilities similar to those of glycinin (11S) and β -conglycinin (7S) in subgenus *Soja*, but the variation were wider. The variation were observed not only in the region of the gel where the β -conglycinin subunits were located but also in the area of A and B subunits of glycinin. Each species yielded a unique band pattern. According to their seed protein profiles, nine perennial species may divided into three groups. The first one only contains one species—*G. tomentella*, which is closely related to subgenus *Soja*. The second group consists of four species: *G. cldestina*, *G. canescens*, *G. latrobeana* and *argyrea*. The third one includes four species: *G. falcata*, *G. tabacina*, *G. latifolia* and *G. cyrtoloba*. The protein profile for *Glycine wightii* is most unique, particularly in its subunits of conglycinin.

图版 II plate II 王洪新等:



图版说明 (EXPlanation of plate)

图1. 大豆属某些种的种子蛋白多肽

Fig. 1. Seed protein peptides of several species from genus *Glycine* 1—4. *G. cldestina* (1001, 1253, 1256, 55002), 5. *G. Canescens*, 6—9. *G. latrobeana* (1251, 1252, 1385, 1387), 10—11. *G. latifolia* (1233, 1389), 12. *G. argyrea* (1420), 13—15. *G. tomentella* (1139, 1188, 1367), 16. *G. soja*

图2. 大豆属某些种的种子蛋白多肽

Fig. 2. Seed protein peptides of several species from genus *Glycine* 1—2. *G. tabacina* (1257, 1258), 3—5. *G. cyrtoloba* (1185, 1307, 1418), 6—7. *G. falcata* (无号, 1246), 8—11. *G. wightii* (Q878, Q1003, Q1004), 12—13. *G. latifolia* (1233, 1389), 14. *G. tabacina* (1257), 15. *G. cldestina* (1001), 16. *G. soja*

图3. 大豆属种子蛋白的SDS凝胶电泳谱

Fig. 3. SDS—gel electrophoresis profiles of seed proteins from genus *Glycine*

1. *G. soja*, 2. *G. tomentella* (1367), 3. *G. cldestina* (1001), 4. *G. canescens*, 5. *G. soja*, 6. *G. latrobeana* (1251), 7. *G. argyrea* (1420), 8. *G. cyrtoloba* (1307), 9. *G. soja*, 10. *G. falcata* (1246), 11. *G. wightii*, 12. *G. latifolia* (1389) 13. *G. soja*