

野生大豆(*Glycine soja*)HSP的研究

I. 黄河下游和松花江下游地区野生大豆 HSP 诱导合成的比较研究

尹田夫* 宋海星 王 萍 马淑英 李吉平 张让堂

(中国人民解放军农牧大学, 长春 130062)

摘 要

本文对黄河下游地区野生大豆“7583”和松花江下游地区野生大豆“01-32”的发育胚根(Seedlings)在 40℃ 下热击分别为 2、4、6、8、10hr, 比较其热击反应(HSR)及其热击蛋白(HSP)诱导合成的种类、累积动态。研究结果指出黄河下游地区野生大豆对 2hr 热击反应较松花江下游地区野生大豆反应迟钝, 热击 4hr 前者 HSP 种类倍增, 且小分子量 HSP(LMWHSP)显著多于后者。HSP 累积高峰有别, 松花江下游野生大豆早于黄河下游野生大豆 4 个小时, 且 HSP 累积量始终高于后者。研究还发现野生大豆存在干热击蛋白(Heat Shock Cognate Proteins, HSCP)。

关键词 野生大豆(*G. soja*); 热击蛋白(HSP); 干热击蛋白(HSCP)

大豆(*Glycine max*)对热击反应及其热击蛋白(HSP)的诱导合成研究近十年来国内外许多学者曾有大量的报导, 且在整个水平、细胞水平和分子水平方面进行了相当深入细致的研究[1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12]。然而, 对于野生大豆(*G. soja*)的热击反应及 HSP 的诱导合成至今尚未见文献报导。本文以黄河下游及松花江下游地区野生大豆为试材, 对不同地理种群野生大豆的热击反应(Heat Shock Response, HSR)及其 HSP 的诱导合成进行了初步研究。试图为探讨野生大豆种群生态学、耐热性的遗传进化及热击分子生物学的研究奠定重要的理论基础。

* To whom correspondence should be addressed.

本文于 1995 年 11 月 27 日收到。

This paper was received on Nov. 27, 1995.

材料与方法

一、试验材料

1. 野生大豆种质

黄河下游地区野生大豆“7583”及松花江下游地区野生大豆“01-32”分别由山东省农业科学院赵经荣先生和黑龙江省农业科学院姚振纯先生提供。

2. 低分子量标准蛋白

采用中国科学院上海生物化学研究所东风生化试剂厂分装进口的低分子量标准蛋白:

磷酸化酶 B	94KD
牛血清蛋白	67KD
肌动蛋白	43KD
碳酸酐酶	30KD
烟草花叶病毒外壳蛋白	17.5KD

二、试验方法

取 1.0—1.5cm 长发育胚根(Seedlings)进行 40℃ 热击处理,热击时间分别为 2、4、6、8、10hr。样品制备、电泳及扫描等方法同“不同地理种群栽培大豆 HSP 诱导合成的研究 II 报^[1]。”

结果与讨论

一、不同生态种群野生大豆热击反应及 HSP 的种类

在常温 25℃ 条件下,黄河下游地区野生大豆呈现 7 种分子量蛋白,而松花江下游地区野生大豆则有 5 种分子量蛋白。

在 40℃ 热击 2hr 情况下,黄河下游野生大豆蛋白的种类没有明显增加,而松花江下游地区野生大豆蛋白的种类猛增近 1 倍,即由原来的 5 种增至 9 种。此乃说明松花江下游地区野生大豆由于地处高纬度(北纬 48℃ 左右)地区,气候冷凉,有效积温少,耐热性较弱。该生态种群野生大豆为快速适应外界极端环境,即在 40℃ 热击 2hr 情况下,以诱导合成多种热击蛋白调控、维持其生命活动。黄河下游地区野生大豆所处的地理纬度低于松花江下游地区约 11°,且黄河下游地区属高温少雨区,由于长期自然选择的结果,所以该生态种群野生大豆耐热、耐旱能力较强。故该地区野生大豆在 40℃ 热击 2hr 情况下,诱导合成的热击蛋白种群没有明显增加而保持稳定状态。此时,松花江下游野生大豆的 HSP 多达 6 种,出现高峰期;而黄河下游地区野生大豆 HSP 只有 3 种。

在 40℃ 热击 4hr 情况下,松花江下游野生大豆 HSP 种类有所减少,随着热击时间的延长 HSP 种类渐趋平稳。然而,黄河下游地区野生大豆 HSP 种类急剧增加,相当于热击 2hr 的 2 倍,即由 6 种增至 11 种;呈极其显著增加趋势。

当 40℃ 热击 6hr,黄河下游地区野生大豆 HSP 种类则出现高峰期,达 16 种之多。由此

可见, HSP 高峰期出现迟早与不同生态种群野生大豆耐热性呈正相关趋势。HSP 高峰期过后, HSP 逐渐消失。

二、不同生态种群野生大豆小分子量 HSP 的诱导合成

在 25℃ 常温下, 松花江下游及黄河下游地区野生大豆均出现 1 种小分子量 (YPOS > 100.0)。当 40℃ 热击 2hr, 前者与后者分别出现 2 种和 4 种小分子量 HSP。40℃ 热击 4hr, 黄河下游地区野生大豆仍稳定保持 4 种小分子量 HSP; 40℃ 热击 6hr, HSP 达高峰期, 出现 7 种小分子量 HSP。随着热击时间的延长, 小分子量 HSP 急剧消失, 当 40℃ 热击 8—10hr, 只有 2 种小分子量 HSP。

松花江下游地区野生大豆 40℃ 热击 2—10hr, 小分子量 HSP 一直保持着 2—3 种, 呈相当稳定状态。

不同生态种群野生大豆随 40℃ 热击时间的延长, 小分子量 HSP 数量消长及出现时间的早晚动态与耐冷性机理尚待研究。

三、不同生态种群野生大豆干热击蛋白及其动态

研究发现不同生态种群野生大豆在 40℃ 热击条件下, 随着热击时间的延长, 均保持着一种或几种骨干热击蛋白 (简称干热击蛋白, (Heat Shock Cognate Proteins, HSCP)。同时还发现某种 HSCP 在常温下便已存在。

松花江下游地区野生大豆“01—32”的 HSCP66.5, HSCP76.0, HSCP91.8 三种干热击蛋白在常温 25℃ 和 40℃ 热击 2hr 同在; 当 40℃ 热击 10hr, HSCP66.5 依然存在。但随着热击时间的延长 HSCP66.5 的累积量百分比 (%) 发生变化, 累积高峰出现的时间略有波动, 如图 1 所示。

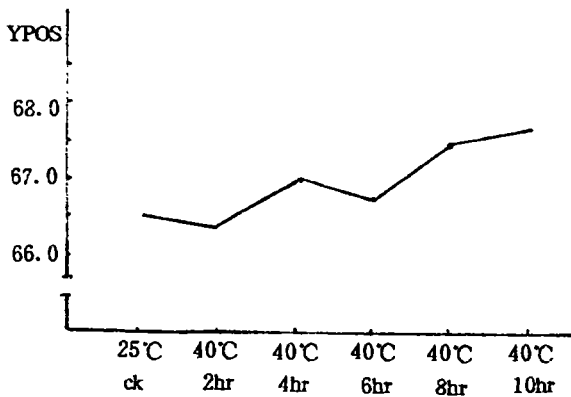


图 1 松花江下游野生大豆 HSCP66.5 的峰波动态

Fig. 1 The peak HSCP66.5 in different HST in wild soybean from the lower reaches of Songhua River

黄河下游地区野生大豆也存在 HSCP。HSCP72.4 在 40℃ 热击 4hr 即出现, 直至热击 10hr 该干热击蛋白仍成为累积量较大的 HSCP。此干热击蛋白的峰期及累积量在不同热击时间略有变化。黄河下游野生大豆还存在着小分子量 HSCP, 在 40℃ 热击 2hr 其累积量占总 HSP 的 25.464%, 而热击 4hr 仍占 15.120%, 当热击 6hr 锐减至 0.779%, 热击 8hr

此种 HSCP 未检出,有趣的是当热击 10hr 时又以 8.688%的比例再度出现。

干热击蛋白(HSCP)或作为细胞维管组织蛋白,或细胞骨架结构蛋白,或作为分子伴侣等热击分子生物学的奥秘将不断地被揭示。

四、不同生态种群野生大豆 HSP 累积及其动态

在 25℃ 常温下,黄河下游野生大豆普通蛋白的累积量(32887.79mm²,以扫描面积计算)为松花江下游地区野生大豆累积量(11811.72mm²)的近 2.8 倍。

在 40℃ 热击 2hr 条件下,松花江下游地区野生大豆总蛋白累积量大幅度增至 15221.82mm²。据此可以看出高纬度生态种群野生大豆对热击反应相当敏感。当热击 4hr 后,HSP 累积量达到高峰期(23410.57mm²)。尔后,热击 6hr 后 HSP 累积量有所降低,但仍高于热击 2hr 后的累积量。当热击 8hr 后,HSP 累积量锐减至 4997.25mm²。

黄河下游野生大豆在 40℃ 热击条件下,从热击 2hr 至 10hr 其总 HSP 累积量均显著低于松花江下游野生大豆,如图 2 所示。

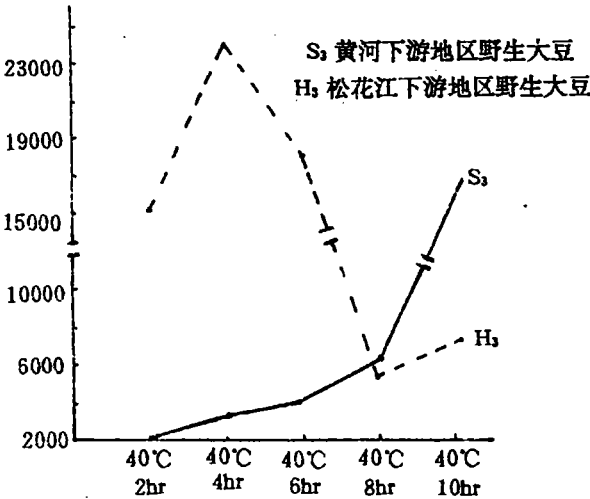


图 2 黄河下游与松花江下游地区野生大豆 HSP 累积动态

Fig. 2 HSP accumulation of mild soybean in the lower reaches of Yellow River and Songhua River

其累积高峰出现在热击 6 小时后,累积量为 16430.07mm²,此仅略高于松花江下游野生大豆 40℃ 热击 2hr 的累积量。热击蛋白累积量的大小与耐热性的关系还尚待进一步探讨。

参 考 文 献

[1] Laemmli, V. K. , 1970, Nature 227:680-685
[2] Tissieres, A. et al. , 1974, J. Mol. Biol. , 84:389
[3] Ashburner, M. et al. , 1979, Cell, 17:241-254
[4] Marnirolil, N. et al. , 1986, Genet Agrar. 40:9-25
[5] Baumann, G. et al. , 1987, EMBO. J. , 6:1161-1166
[6] Deshaies, R. J. et al. , 1988, Nature, 332:800

- [7] Abernathy, R. H. , et al. , 1989, *Plant Physiol.* , 89,569-576
- [8] Bouchard, R. A. , 1990, *Genome*, 33,68-79
- [9] Chen,Q. et al. , 1991, *Mol. Gen. Gent.* , 226,425-431
- [10] Hatayama, A. D. et al. , 1993, *BBA*, 1179,109-116
- [11] 宋海星,王萍等,1995,大豆科学,14(1):7-12
- [12] 马淑英,尹田夫等,1995,大豆科学,14(3):263-269

THE STUDY ON HSP OF WILD SOYBEAN(*Glycine soja*)

1. Comparative Study on Induced Synthesis HSP of wild Soybean(*G. soja*) from the Lower Reaches of Yellow River and Songhua River

Yin Tianfu Song Haixing Wang Ping Ma Shuying
Li Jiping Zhang Rangtang

(*University of Agricultural and Animal Sciences of PLA,*
Changchun. Chian 130082)

Abstract

The seedlings of wild soybean(*Glycine soja*) from the Lower Reaches of Yellow River and Songhua River were treated with heat shock under 40℃ for 2hr, 4hr, 6hr, 8hr, 10hr for analysing the kinds and accumulation of heat shock protein(HSP). The results indicated that Heat Shock Response (HSR) of wild soybean from the lower reaches of Yellow River was not so susceptible as that of wild soybean from the Lower Reaches of Songhua River, and the kinds of HSP of the Lower Reaches of Songhua River, and appeared peak value under 40℃ for 2hr. The kinds of HSP of wild soybean from the Lower Reaches of Yellow River under 40℃ for 2hr. The kinds of HSP of wild soybean from the Lower Reaches of Yellow River under 40℃ for 4hr increased one time than for 2hr, and the kinds of LMW HSP was more than that of wild soybean of the Lower Reaches of Songhua River. The accumulation of HSP of wild soybean from the Lower Reaches of Songhua River was higher than that of the Lower Reaches of Yellow River under 40℃ from 2hr to 10hr. This results also showed that Heat Shock Cognate Proteins(HSC) existed in wild soybean.

Key words *Glycine soja* ; HSP; HSCP; LMW HSP