

大豆属贮存蛋白的研究

I、大豆及某些野生类型大豆球蛋白构成的比较*

雷勃钧 尹光初

刘红军 林忠平

(黑龙江省农业科学院大豆研究所)

(中国科学院植物研究所)

摘 要

从三个栽培种及六个野生类型的大豆种子中分离出三种不同的球蛋白,即11S, 7S和2S球蛋白,并以超速离心和凝胶电泳加以鉴定。各类型大豆的球蛋白组成有很大差别。从野生、半野生和栽培的演化趋势来看11S蛋白逐渐增加,7S蛋白逐渐减少(见表2)。2S蛋白在含量上表现为多种多样。同时,在半野生类型的大豆中找到了一个富含11S球蛋白的类型。

引 言

关于大豆贮存蛋白在经济上和在大豆生长发育中的重要意义、以及贮存蛋白的研究现状已有过评述⁽¹⁾。将野生大豆与栽培大豆种子蛋白的构成进行比较,了解从野生到栽培的过程中基因活动的情况,对于大豆遗传和育种的研究将是大有裨益的。已经知道组成豆类球蛋白的亚基是由单基因控制的⁽²⁾,而球蛋白又构成了大豆种子蛋白的绝大部分。做为工作的起始,本文先将野生到栽培的若干类型大豆作一球蛋白组成的初步比较。

材 料 和 方 法

1. 大豆种子:东北地区的栽培品种(*Glycine max*),黑农26号、绥农3号、吉林4号。野生种(*Glycine soja*),龙79—6403,龙79—0606—1。半野生种(*Glycine gracilis*),龙79—0701,龙79—3407—1,龙79—6611,龙79—0620。种子均收获于黑龙江省农科院实验地。

* 本研究得到王连铮付研究员,张国栋付所长的指导帮助,谨此致谢。

2. 球蛋白的分离: 按 Appu Rao 和 Narasinga Rao 的方法^[2], 以 Mg^{++} 和不同饱和度的 $(NH_4)_2SO_4$ 使 11S, 7S 和 2S 球蛋白分步沉淀。

3. 球蛋白的鉴定。沉降系数测定: 7S 和 11S 球蛋白溶于 1M NaCl 中以 UCA—1A 型超速离心机, 在 0°C 下进行。

聚丙烯酰胺凝胶电泳: 各种球蛋白分别溶于含有 20% 蔗糖的 0.05M 磷酸缓冲液 (pH7.8) 中。使用 7.5% 分离胶和 3% 浓缩胶。电泳缓冲液为 0.05M 磷酸缓冲液 pH 为 7.8, 在每柱 5mA 电流下电泳, 至指示剂溴酚兰移至柱前沿。染色剂为 0.1% 考马斯亮兰 R—250。脱色用醋酸—甲醇。

4. 球蛋白含量测定: 紫外分光光度计扫描, 按下面的公式推算, 并以 Foliⁿ 酚法的蛋白测定^[6]加以校正。

蛋白含量 (mg/ml) = $(1.45 \times A_{280} - 0.74 \times A_{260}) \times$ 稀释倍数。

结 果

分离出来的 11S, 7S 球蛋白经过超速离心分析其沉降系数为 10.50 和 7.00 (图表 1)

种 子 类 型	球蛋白含量 (每克去皮种子中的毫克数)		
	2S	7S	11S
野生龙79—6403	48.57	78.88	386.53
野生龙79—0606—1*	22.89	52.27	239.44
半野生龙79—0701	42.84	59.30	296.32
半野生龙79—3407—1*	32.88	33.67	180.50
半野生龙79—0611	41.82	43.67	273.97
半野生龙79—0620*	47.87	33.40	533.23
栽培黑农28号	39.34	39.67	253.91
栽培绥农3号	37.72	39.47	270.42
栽培吉林4号	38.92	43.50	170.21

带“*”者为82年收的种子, 其余为1980年收获的种子。

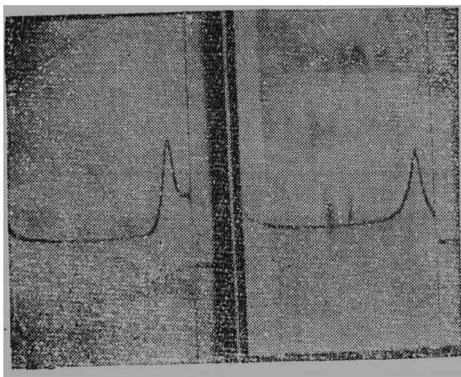


图 1

1)。凝胶电泳表明所有样品中分离出来的 11S、7S、2S 球蛋白, 均具有这些球蛋白所特有的典型谱带。在我们的实验条件下 11S 蛋白表现为一条带, 但最终的样品在 β -巯基乙醇中解离之后, 则分成 A、B 两区。每区分布若干不易分清的带。7S 球蛋白在电泳后分为相当于 α 、 α' 、 β 三个亚基的三条带。2S 球蛋白的电泳谱带也有一定的分布图式, 但各带的粗细、染色深

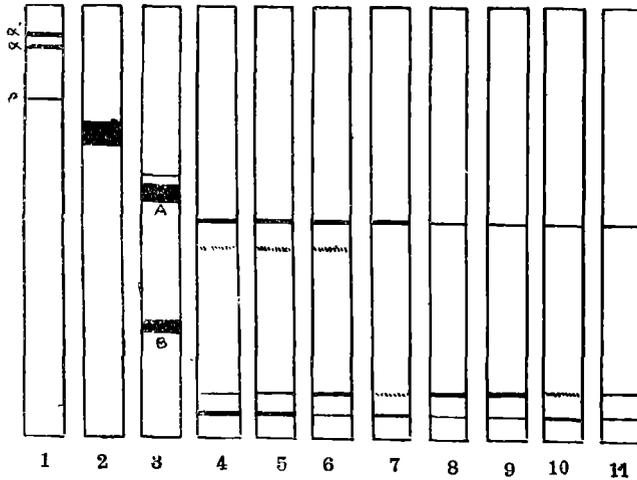


图2 大豆球蛋白的聚丙烯酰胺凝胶电泳图谱

1. 7S 蛋白, 2. 11S 蛋白, 3. 11S 蛋白在 0.1% B-巯基乙醇中解离 24 小时, 4—11. 2S 蛋白, 蛋白样品来自野生龙 79—6403、野生龙 79—0606—1、半野生龙 79—0701、半野生龙 79—6611、半野生龙 79—0620 黑农 26、吉林 4 号、绥农 3 号 (依序排列)。

浅颇不相同 (图 2)。

三种球蛋白数量关系见表 1

大豆贮存蛋白主要是 11S 蛋白和 7S 蛋白, 近年的研究已知 2S 蛋白的组分中, 并

表 2

种子类型	在两种主要球蛋白中所占百分数 (%)	
	7S	11S
野生龙 79—6403	17	83
半野生龙 79—0701	16	84
半野生龙 79—6611	14	86
栽培黑龙 26 号	14	86
栽培绥农 3 号	13	87

注: 1980 年收获的种子

表 3

种子类型	在两种主要球蛋白中所占百分数 (%)	
	7S	11S
野生龙 79—0606—1	16	84
半野生龙 79—3407—1	16	
半野生龙 79—0620	6	

注: 用 1982 年收获的种子

非完全是贮存蛋白, 其中有不少组分具有蛋白酶抑制剂的活性^[4,5]。我们作了 11S 蛋白和 7S 蛋白含量上的比较见表 (2, 3)

讨 论

大豆种子蛋白中球蛋白占绝大部分。因而提高大豆蛋白的含量, 改善其品质, 主要是应着眼于球蛋白的数量和质量。从栽培、野生、半野生大豆共九个种子样品的分析来看, 各类种子球蛋白的构成有很大差别。三种球蛋白中含量最大的是 11S 球蛋白。根据表 1 的数据可以推算出, 在多数品系中, 11S 球蛋白占 70—80%。其中, 半野生龙 79—0620 11S 球蛋白占总量的 87%, 在两种主要球蛋白中, 其 11S 部分占 94%。这是值得注意的, 在某些大豆食品工业中, 为了改善食品品质, 希望采用富于 11S 球蛋白的大豆作为原料。半野生龙 79—0620, 可能蕴含富于 11S 球蛋白的遗传特性。

从野生到栽培的演变趋势来看, 11S 蛋白所占的比例逐渐增加, 7S 球蛋白所占的比例逐渐下降, 这似乎反映了在驯化种植过程中, 基因表现型的一个特点。

2S 球蛋白在各类种子的含量表现颇不相同。一些研究表明, 2S 球蛋白中某些组分具有胰酶抑制剂的活性, 它在种子发育中的生理意义尚不清楚。

Thomson 和 Doll^[7]曾对种子贮存蛋白的遗传和演化进行过讨论, 指出对种子球蛋白, 在亚基水平上研究其基因活动系统和全蛋白中各组分的遗传调节是很有意义的。我们将对大豆主要贮存蛋白的亚基作更多遗传控制的研究。

参 考 文 献

- [1] 林忠平、尹光初, 1983, 大豆贮存蛋白研究概况, 大豆科学, Vol. 2 No. 3
- [2] APPu Rao A. G. and Narasinga Rao M. S.: 1977, A method for isolation of 2S, 7S and 11S proteins of soybean. *Preparative Biochemistry*, 7, 89—101.
- [3] Boulter, D.: 1981, Biochemistry of storage protein synthesis and deposition in the developing legume seed. in *Advances in Botanical Research* ed. by H. W. Woolhouse, vol. 9, pp. 1—31.
- [4] Koshiyama, I., Kikuchi, M., Harada, K. and Fukushjma. D.: 1981, 2S globulins of soybean seeds. I. Isolation and characterization of protein components. *J. Agric. Food Chem.*, 29, 336—340.
- [5] Koshiyama, I., Kikuchi, M. and Fukushima, D.: 1981, 2S globulins of soybean seeds. II. Physicochemical and biological properties of protease inhibitors in 2S globulins. *J. Agric. Food Chem.*, 29, 340—343.
- [6] Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J.: 1951, Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193, 265—275.
- [7] Thompson, J. A., Doll, H.: 1979, Genetics and evolution of seed storage proteins. in *Seed Protein Improvement in Cereals and Grain Legumes*. Proc. Symp. N uherberg, vol. 1, pp. 231—240.

THE STUDY ON STORAGE PROTEIN OF SOYBEAN
I. THE COMPARISON OF GLOBULIN COMPONENT
BETWEEN CULTIVATED SOYBEAN AND SOME
FORMS OF WILD SOYBEAN

Lei Bojun Yin Guangchu

(Soybean Institute, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences)

Liu Hongjun Lin Zhongping

(Institute of Botany, Academia Sinica)

Abstract

The 11S, 7S and 2S globulin were isolated from 3 cultivars and some different forms of wild soybean and were identified by measuring sedimentation coefficient and gel electrophoresis. The result of the quantitative analysis of globulins shows that along with evolutionary course from the wild form to cultivated species, 11S protein increases, 7S protein decreases and 2S protein contents appear to be varied. One strain of *G. gracilis* is very rich in 11S protein has been found.