

# 栽培大豆和野生大豆(*Glycine soja*) 种子蛋白的变异

胡志昂 王洪新

赵述文

(中国科学院植物研究所)

(吉林省农业科学院大豆研究所)

姚振纯

(黑龙江省农业科学院大豆研究所)

## 摘 要

用 SDS 梯度聚丙烯酰胺凝胶电泳分析了我国 82 个栽培大豆品种以及分布我国 23 个省、市、自治区的 127 份野生大豆和若干半野生大豆的种子蛋白。栽培大豆种子蛋白各个亚基在品种间没有组成上的差别。和已知亚基分子量的蛋白共同电泳,测定出大豆种子的副大豆球蛋白  $\alpha'$  亚基的分子量为 83 千道尔顿(以下简称为 K),  $\alpha$  亚基为 76k,  $\beta$  亚基为 56k; 大豆球蛋白 A3 亚基为 45k, A1、A2、A4 为 38k, A5 约 11k, B 亚基为 22k。用装备有微处理机的双光束薄层扫描仪测定了各亚基的百分数含量,表明各成份的含量随品种而明显变化。

野生大豆种子蛋白的一些亚基有滴度的变异,尤以  $\beta$  亚基的变异最为常见。本文首次报道一例  $\alpha'$  亚基的快电泳变异,在 5M 脲素存在下却显示 A4 慢电泳表型。在加脲素的 SDS 电泳中, A1 A2 区域表现出单带和双带的不同。还没有观察到 B 亚基的变异。

栽培大豆种子的蛋白质含量占干重的 40% 左右,而其近亲野生大豆 (*Glycine soja*) 种子蛋白可高达 55%。大豆种子蛋白有较好的必需氨基酸组成,只是蛋氨酸含量低于国际粮农组织和世界卫生组织规定的标准。大豆蛋白主要是球蛋白,根据沉降系数又可分为 11s 的大豆球蛋白和 7s 的副大豆球蛋白。大豆球蛋白由酸性和碱性两类亚基组成。主要酸性亚基有 6 种, A3 分子量 45k, A1、A2、A4 为 38—40k, A5 约 10k<sup>[1]</sup>。碱性亚基分子量约 20—22k。副大豆球蛋白有三种亚基:  $\alpha'$ 、 $\alpha$ 、 $\beta$ 。各种亚基的氨基酸成分不同,因此对营养的贡献也不同。大豆球蛋白的蛋氨酸高于副大豆球蛋白。大豆球蛋白 A2 亚基含蛋氨酸最高,达到每个亚基有 4.7 个蛋氨酸分子,其次为 A1b (3、4)、A1a (2.9)、A3 (2.0),最低的 A4、A5 只有 1.1 个<sup>[1]</sup>。碱性亚基蛋氨酸含量低, B3 则不含蛋氨酸<sup>[1]</sup>。最近几年陆续报道了品种间种子蛋白成分和含量的变异 (Kitamura 等, 1980<sup>[8]</sup>, Mori 等 1981<sup>[12]</sup>, Utsumi 等, 1981<sup>[18]</sup>, Hughes 和 Murphy, 1983<sup>[7]</sup>)。Kitamura 和 Kaizuma (1981)<sup>[9]</sup> 发现 Keburi 品种缺乏  $\alpha'$  亚基,后来证明该品种缺失

• 中国农业科学院卜嘉华教授等赠送栽培大豆 82 个品种, 特此致谢。

• 本文于 1986 年 3 月 3 日收到。

$\alpha'$  亚基的结构基因 (Beachy 等, 1983<sup>[4]</sup>)。Staswick 和 Nielsen (1983)<sup>[15]</sup> 报导 Raiden 品种缺 A 5 A 4 B 3 亚基。除了这两个极罕见的缺失表型的变异外, Davies 等 (1985)<sup>[5]</sup> 还报道四种电泳淌度变化的基因突变, 计有慢  $\alpha'$ 、慢  $\alpha$ 、 $\alpha\alpha'$  双带和  $\beta$  亚基的变异。其中慢  $\alpha'$  变异只是在加 5M 脲素的 SDS 电泳中才表现出来。作为大豆的近亲, 一年生野大豆 (*Glycine soja*), 只有 Staswick 等 (1983)<sup>[16]</sup> 在报道多年生野大豆种子蛋白时提到分析过 120 份一年生野大豆, 没有发现和栽培种有区别。本文着重报道一年生野大豆种子蛋白一些亚基的变异。

## 材 料 和 方 法

栽培大豆 82 个代表品种的名录可见前文<sup>[2]</sup>。野生大豆材料包括采自黑龙江省的 34 份, 吉林省的 34 份, 北京市 15 份, 其他 20 个省、市、自治区的 44 份, 共计 127 份。

种子蛋白的提取和电泳基本同前<sup>[1]</sup>。染色后用装备微处理机的岛津 CS-910 型双波长薄层层析扫描仪进行光密度扫描, 并计算出各成分的百分数含量。每个亚基分子量的测定用 Pharmacia SDS 电泳标准蛋白: 磷酸化酶 (94k)、牛血清白蛋白 (67k)、卵白蛋白 (43k)、碳酸酐酶 (30k)、大豆胰蛋白酶抑制剂 (20k)、 $\alpha$  乳白蛋白 (14.4k)。

## 结 果 和 讨 论

**一、栽培大豆种子蛋白各亚基的分子量。** 图版 1—1 是部份栽培大豆品种的 种子蛋白电泳谱, 可以看出品种间在亚基组成和淌度上没有变异, 所分析的 82 个品种的情况都是如此。虽然世界上不同实验室报道的大豆种子蛋白 SDS 电泳谱都和上述近似, 但在副大豆球蛋白各亚基的分子量以及某些蛋白的归属上有分歧。美国 Purdue 大学农学系 Nielsen 实验室曾报道  $\alpha'$  (72k),  $\alpha$  (68k),  $\beta$  (52k)<sup>[6]</sup>, 同一实验室的 Larkins (1983) 提出数据为  $\alpha'$  (84k),  $\alpha$  (75k),  $\beta$  (50k)<sup>[11]</sup>。瑞士 Spielmann 报道  $\alpha'$  (78k),  $\alpha$  (74k),  $\beta$  (50k)<sup>[14]</sup>。而日本 Tohoku 大学食品化学系 Thanh 和 Shibasaki 的数据为  $\alpha'$ 、 $\alpha$  (57k),  $\beta$  (42k)<sup>[17]</sup>, 与他人相差很大。我们用 Pharmacia 标准蛋白和大豆蛋白共同电泳, 所得电泳图谱见图版 1—2; 光密度扫描图见图 1。根据图版 1—2 和图 1 的数据画出工作曲线为图 2, 从中算出大豆种子蛋白各亚基在本实验室条件下的分子量为:  $\alpha'$  亚基 (83k),  $\alpha$  亚基 (76k),  $\beta$  亚基 (56k), A3 (45k), A1、A2、A4 (38k), B 亚基 (22k), A5 亚基约 11k。这个数据和 Beachy 等 (1981)<sup>[3]</sup> 的相当接近。关于  $\alpha'$  亚基上面的那条带, Beachy 等 (1981) 认为是脲酶<sup>[3]</sup>, 而 Kitamura 等 (1984) 归之为脂肪加氧酶<sup>[10]</sup>。我们测出的分子量约 93k, 和 Polacco 和 Sparks (1982)<sup>[13]</sup> 报道的脲酶分子量为 93.5k 十分接近, 而于已知大豆脂肪加氧酶的分子量相差较大, 因此我们倾向于这是脲酶的多肽。

**二、栽培大豆种子蛋白各亚基含量的变化。** 虽然 82 个品种的电泳谱没有质的变化, 但各成分的相对含量有显著的变化。从图版 I—1 可以看出  $\beta$  亚基那条带的强度在品种

间变化是明显的。矮脚早品种 (图版 I—2—10)  $\beta$  亚基含量仅 1.3 %，而南农 493—1 (图版 I—2—6) 达 5.6%。表 1 列出 6 个品种各个亚基的含量百分数，这是在同一胶板上电泳，每个品种重复一次数据的平均数。从表 1 计算出点样和扫描及积分的平均相对误差为 6%，因此品种间  $\alpha$ 、 $\beta$ 、17k 蛋白、14k + A5 的含量差异是显著的，大豆球蛋白两个亚基的含量也随品种而变化。大豆不同品种种子蛋白各分量上的变异可能会反映在营养价值和加工品质上。为了使电泳加扫描方法成为大豆品质筛选的一种手段，本方法还有待改进和实行标准化。

**三、野大豆种子蛋白的变异** 与栽培大豆极少发生种子蛋白组分质的变化相反，我们观察到野大豆种子蛋白很多成分发生淌度的变异。在分析过的 127 份材料中，以  $\beta$  亚基及其附近的一些蛋白变异最为常见。如从各省市采集的一些样品中，在  $\alpha$  与  $\beta$  亚基之间的区域，有的有分子量约 63k 的多肽 (图版 I—3—2、4、7、11、12)，

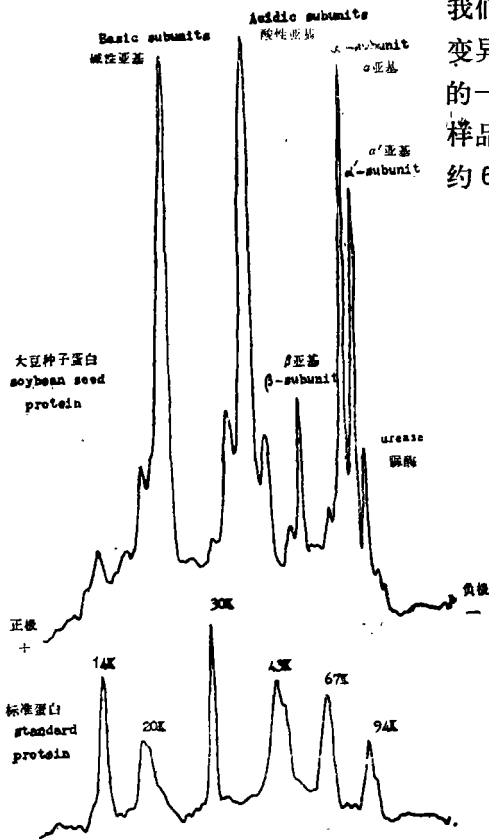


图 1. 大豆种子蛋白各亚基 (上) 和标准蛋白 (下) 电泳光密度扫描  
Fig. 1 Photodensity scanning profiles for soybean seed protein subunits (above) and standard proteins (low) (see Materials and Methods)

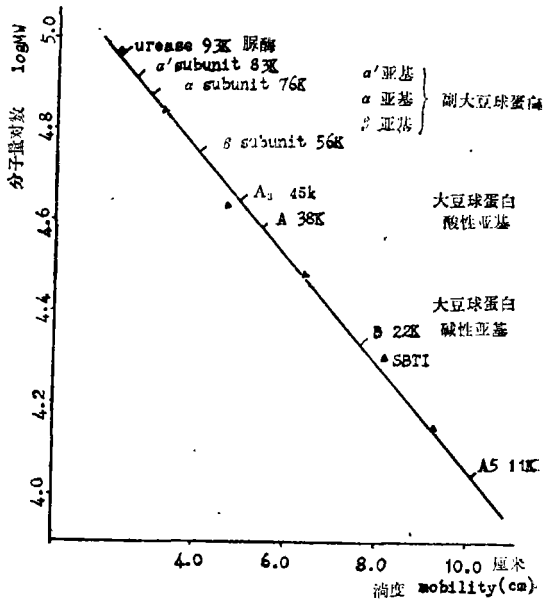


图 2. 大豆种子蛋白各亚基的分子量  
Fig. 2. Molecular weight for different subunits of soybean seed protein

有的却代之以 59k 的多肽 (图版 I—3—1、3、5、6、8、9、10)。无论是吉林省的 (图版 I—4)，还是黑龙江省的材料 (图版 I—5)， $\beta$  亚基本身淌度随取样点而变化。从

图版 I—2—3、6、11 和图版 I—5—5 可以看到在 30k 附近有一个相当强的带而为其他样品所没有, 是否是植物凝血素, 有待证实。黑龙江省有一个样品龙野 26 号的  $\alpha'$  亚基表现异常 (图版 I—5—10), 同时在 A1、A2、A4 区上部似乎有一个新带。对于这种  $\alpha'$  亚基变异有两种可能的解释: 一是  $\alpha'$  亚基快电泳变异, 也有可能是  $\alpha'$  亚基缺失而  $\alpha$  亚基产生双带。为了了解这个变异的性质, 进行了加 5M 脲素的 SDS 电泳<sup>(6)</sup>。图版 I—6—5 就是龙野 26 号样品。可以看出在追加脲素的胶里, 普通样品的  $\alpha'$  亚基和  $\alpha$  亚基之间距离缩小了 (和文献 6 的报道一致), 但是龙野 26 号样品并没有显示出  $\alpha'$  亚基的淌度变化, 而 A 4 却表现出慢电泳表型但没有新带。因此我们认为龙野 26 号是一个快  $\alpha'$  变异, 同时产生慢 A 4 变异。这个变异的遗传本质有待研究。从图版 I—6 还可以看出, 黑龙江省的野大豆在加脲素的 SDS 电泳的 A1 A2 区域, 有的为单带 (图版 I—6—4、5、7、8、9), 有的为双带 (图版 I—6—1、2、3、6)。

总结 127 份野大豆种子蛋白的分析, 可以看出野大豆在自然条件下有比栽培大豆更多的变异。各亚基中以  $\beta$  亚基附近的变异频率最高, 30k 次之, 酸性亚基也有一些变异, 有一例  $\alpha'$  亚基快电泳变异, 还没有找到碱性亚基的变异。应该指出, 本文分析的材料还不多, 而且主要涉及黑龙江、吉林和北京市的材料。我们相信野大豆还存在其他类型栽培大豆所没有的种子蛋白变异。这些变异无论对育种还是对大豆种子蛋白基因组织和表达调控的研究都是有价值的。

表 1  
Table 1 Percentage content for different subunits of soybean seed protein

品种 Cultivar	$\alpha'$ *	$\alpha$	$\beta$ **	A	35K	30K+B	SBT1	17K	14K+A5
Xudou 1 徐豆 1 号	7.2±1.0	12.8±0.1	4.6±0.7	28.8±1.5	8.2±1.2	22.0±0.8	6.9±0.2	4.4±0.8	7.3±0.4
Taixingheidou 泰兴黑豆	5.0±0.4	5.5±0.3	3.5±0.4	28.2±2.0	6.3±1.1	26.1±1.8	5.3±0.1	7.0±0.2	13.3±0.3
Houzimao 猴子毛	6.2±0.6	10.1±1.7	3.4±0.7	34.2±2.2	7.3±0.3	21.9±1.5	5.1±1.2	3.6±2.1	7.3±1.4
Edou 2 鄂豆 2 号	4.9±0.2	8.9±0.1	4.4±0.1	27.9±0.1	9.0±0.1	22.4±0.8	5.6±0.6	5.4±0.8	8.6±0.8
Qiudou 1 秋豆 1 号	5.9±1.2	12.4±0.7	8.0±0.8	34.5±0.3	7.5±0.7	16.3±1.2	5.7±0.8	1.7±0.3	7.5±0.1
Yunyizao 云易早	4.8±0.5	9.1±0.6	4.6±0.2	31.0±1.3	9.0±0.0	21.4±0.2	5.1±0.6	5.3±0.5	9.2±0.3

注: 该数字还包括脲酶 93k 的含量  
\* This figure also included the content Percentage of 92K peptide (urease)  
包括  $\beta$  亚基附近的一些多肽的含量  
\*\* It also included the content of some peptides around  $\beta$ -subunit

## 参 考 文 献

## Literature

- [1] 胡志昂等, 1984, 裸子植物的生化系统学 (二) 松科植物的种子蛋白多肽. 植物分类学报 22: 360.
- [2] 胡志昂、王洪新, 1984, 中国栽培大豆 82 代表品种 Spl. Ti 和 Ep 各等位基因频率. 植物学报 26: 328.
- [3] Beachy R. N. et al., 1981, Biosynthesis of subunits of the soybean 7S storage protein, J. Mol. Appl. Genet. 1: 19.
- [4] Beachy R. N. et al., 1983, Molecular characterization of a soybean variety lacking a subunit of the 7S seed storage protein, in "Plant Molecular Biology" P. 413-, ed: Goldberg, Alan R. Liss., Inc, New York.
- [5] Davies C. S. et al., 1985, Inheritance and biochemical analysis of four electrophoretic variants of  $\beta$ -conglycinin from soybean, Theor. Appl. Genet. 71: 351.
- [6] Fontes E. P. S. et al., 1984, Urea-elicited changes in relative electrophoretic mobility of certain glycinin and  $\beta$ -conglycinin subunits. Plant Physiol. 76: 840.
- [7] Hughes S. A. et P. A. Murphy, 1983, Varietal influence on the quantity of glycinin in soybean. J. Agric. Food Chem. 31: 376.
- [8] Kitamura K et al., 1980, polymorphism of glycinin in soybean seeds. Phytochem. 19: 1841.
- [9] Kitamura K. et N. Kaizuma, 1981, Mutant strains with low level of subunits of 7S globulin in soybean (*Glycine max* Merr.) seed. Japan. J. Breed. 31: 353.
- [10] Kitamura K. et al., 1984, Inheritance of alleles for Cgyl and Gy4 storage protein genes in soybean. Theor. Appl. Genet. 68: 253.
- [11] Larkins B. A. 1983, Genetic engineering of seed storage proteins. in "Genetic Engineering of Alants" eds: Kosuge T. et al., p. 93. Plenum press.
- [12] Mori T. et al., 1981, Differences in subunit composition of glycinin among cultivars. J. Agric. Food Chem. 29: 20.
- [13] Polacco J. C. et Jr. R. B. Sparks, 1982, patterns of urease synthesis in developing soybeans. Plant Physiol. 70: 189.
- [14] Spielmann A. et al., 1982, Gel electrophoretic characterization of protein fractions from soybean during seed development. Pl. Sci, Lett. 24: 137.
- [15] Staswick P. E. et N. C. Nielsen, 1983, Characterization of a soybean cultivar lacking certain glycinin subunits. Arch. Biochim. Biophys. 223: 1.
- [16] Staswick P. E. et al., 1983, Glycinin composition of several perennial species related to soybean. Plant Physiol. 72: 1114.
- [17] Thanh V2 H. et K. Shibasaki, 1977, Beta-conglycinin from soybean proteins. Isolation and immunological and physico-chemical properties of the monomeric forms. Biochim. Biophys. Acta 490: 370.
- [18] Utsumi S. et al., 1981, Heterogeneity of soybean glycinin. phytochem 20: 585.

VARIATION OF SEED PROTEIN FOR CULTIVATED  
AND WILD SOYBEAN (*GLYCINE SOJA*)

Hu Zhiang      Wang Hongxin

(Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences)

Zhao Xuwen

(Institute of Soybean, Jilin Academy of Agricultural Sciences)

Yao Zhenchun

(Institute of Crop Germplasm, Heilongjiang  
Academy of Agricultural Sciences)

Abstract

Seed protein for 82 representatives of cultivated soybean and 127 lines of wild annual soybean (*Glycine soja*) was analysed by SDS gradient polyacrylamide gel electrophoresis. No qualitative difference in seed protein protomers has been found among soybean cultivars. Under co-electrophoresis with a standard set of proteins, the molecular weight for various subunits of seed protein was determined as follows, 83K, 76K and 56K for  $\alpha'$ ,  $\alpha$  and  $\beta$  subunits of conglycinin respectively, 45K for A3, 38K for A1, A2, A4, 11K for A5, and 22K for basic subunits of glycinin. By using dual-wavelength TLC scanner equipped with micro-computer, content percentage of those subunits was determined, and a considerable quantitative variation has been showed among cultivars.

Size heterogeneities in glycinin and conglycinin, especially in  $\beta$ -subunits, were found among our collections of *Glycine soja*. In this paper, we first reported a fast  $\alpha'$ -subunit variant in one accession which showed A4 slow phenotype in 5M urea gel. By using urea-SDS electrophoresis, A1A2 existed in single or double bands, however, no variation in basic subunits has been found.

图版 I 胡志昂等：栽培大豆和野生大豆 (Glycine soja) 种子蛋白的变异。  
Hu Zhiang et al: Variation of seed protein for cultivated and wild soybean (Glycine soja)

图 1. Fig. 1.

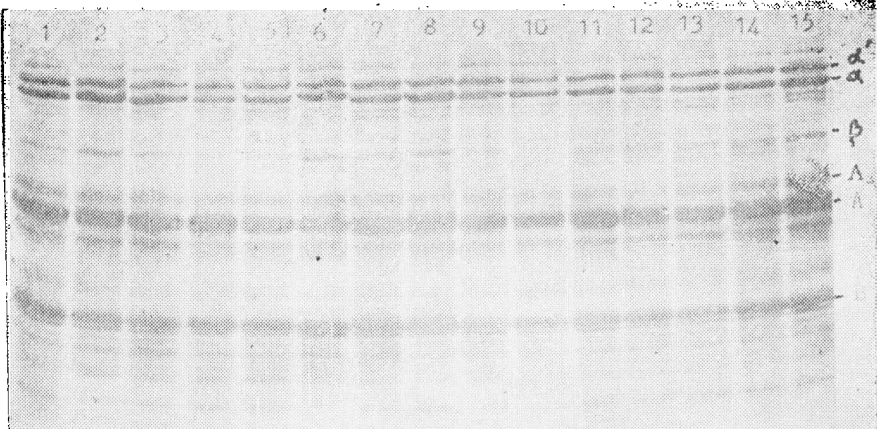


图 2. Fig. 2.

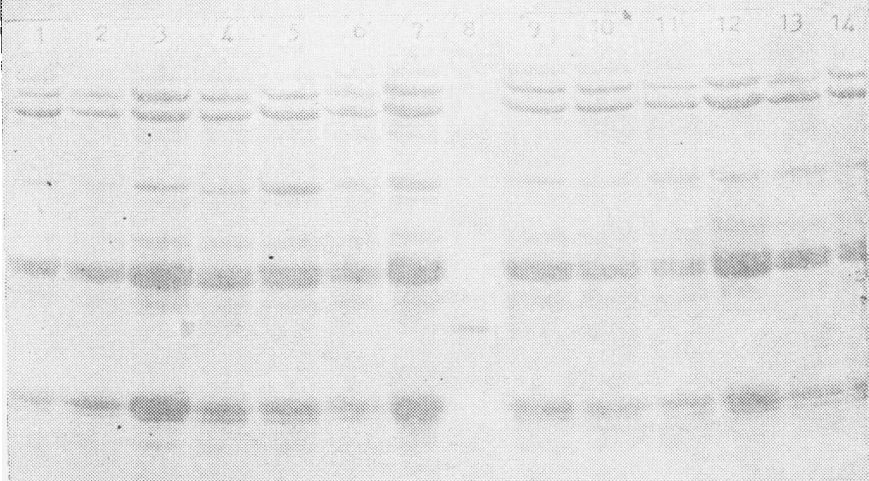


图 3. Fig. 3.

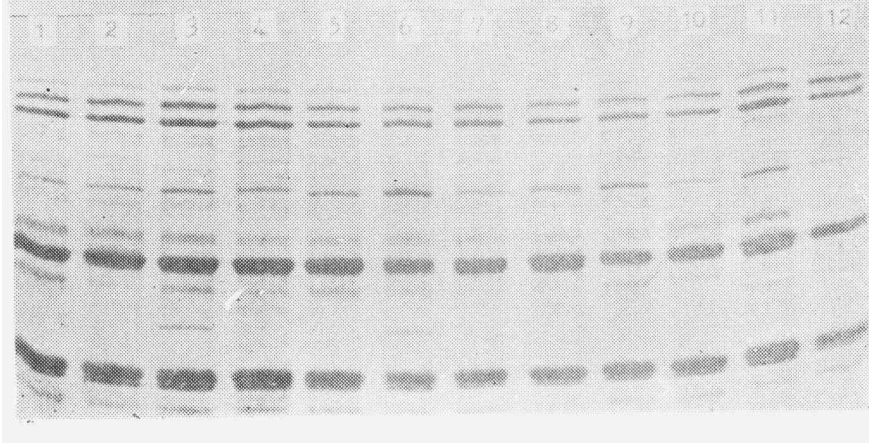


图 4. Fig. 4.

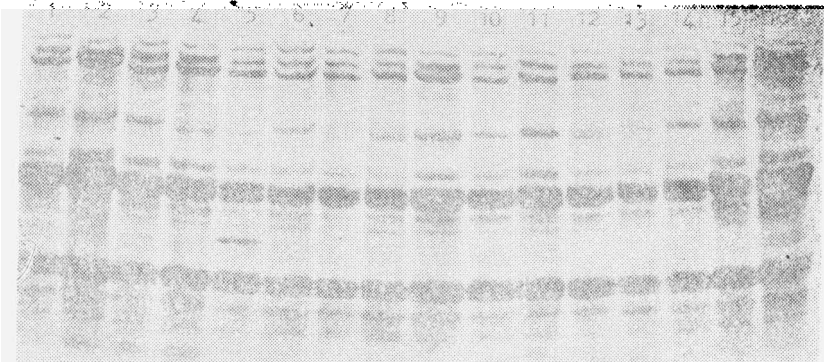


图 5. Fig. 5.

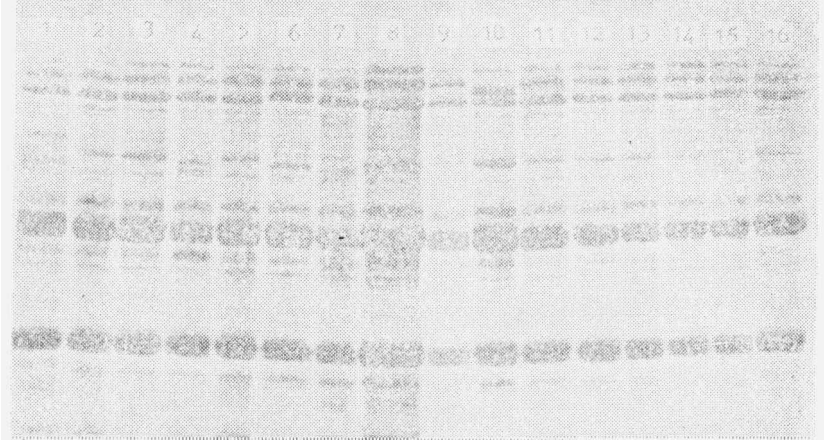
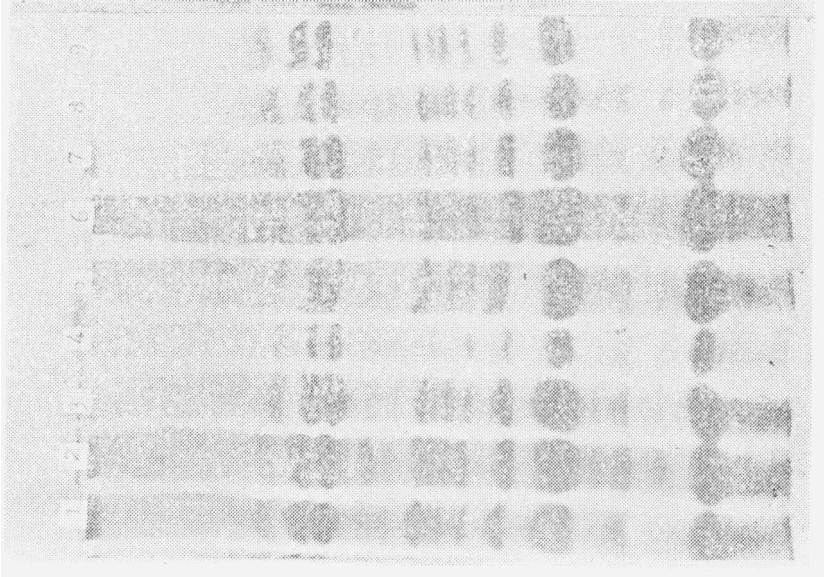


图 6. Fig. 6.





## 图版说明 Explanation of Plates

图1. 一些大豆品种的种子蛋白 SDS 凝胶电泳谱

Fig. 1. SDS gel electrophoretic profiles for seed protein of soybean cultivars

- 1) 徐豆1号 Xudou 1; 2) 徐豆2号 Xudou 2; 3) 徐豆5号 Xudou 5;
- 4) 泰兴黑豆 Taixingheidou; 5) 穗稻黄 Suidaohuang; 6) 南农493—1 Nannong 493—1; 7) 58—161; 8) 兰溪大青豆 Lanxidaqingdou;
- 9) 上虞坎山白; Shangyukanshanbai; 10) 矮脚早 Aijiaozao; 11) 猴子毛 Houzima; 12) 鄂豆2号 Edou 2; 13) 秋豆1号 Qiudou 1; 14) 八月青 Bayueqing 15) 云易早 Yunyizao.

图2 大豆种子蛋白各亚基的分子量

Fig. 2. Molecular Weight for seed protein subunits of soybean.

- 1) 徐豆1号 Xudou 1; 2) 泰兴黑豆 Taixingheidou; 3) 兰溪大青豆 Lanxidaqingdou;
- 4) 猴子毛 Houzima; 5) 秋豆1号 Qiudou 1; 6) 云易早 Yunyizao; 7) 矮脚青 Aijiaoqing; 8) 标准蛋白 standard set of proteins (see Materials and Methods); 9) 瑞金小黄豆 Ruijinxiaohuangdou;
- 10) 连城白花豆 Lianchengbaihuadou; 11) 大青豆 Daqingdou; 12) 六月黄 Liuyuehuang; 13) 白水豆 Baishuidou; 14) 平果黄豆 Pingguohuangdou.

图3. 分布于一些省市的一年生野大豆的种子蛋白亚基

Fig. 3. Seed protein subunits of wild annual soybean distributed in different provinces of China

图4. 吉林省一些地区野大豆的种子蛋白 SDS 电泳谱

Fig. 4. Seed protein SDS gel electrophoretic patterns for wild soybean distributed in different regions of Jilin province

图5. 黑龙江省不同地区野大豆的种子蛋白亚基

Fig. 5. Seed protein subunits of wild soybean distributed in different area of Heilongjiang province

图6. 5M 脲存在下野大豆的种子蛋白亚基谱

Fig. 6. Seed protein subunit profiles of wild soybean in the presence of 5M urea