

中国大豆种质 11S 球蛋白 $A_5A_4B_3$ 和 A_3B_4 亚基缺失的分子机制

刘众悦¹, 王红玲^{1,2}, 刘 春^{1,3}, 麻 浩¹

(¹南京农业大学作物遗传与种质创新国家重点实验室, 南京农业大学大豆所, 江苏 南京 210095; ²江苏省林业科学院遗传育种研究所, 江苏 南京 211153; ³衡阳师范学院生命科学系, 湖南 衡阳 421008)

摘 要:我国大豆种质资源中存在着丰富的主要贮藏蛋白亚基变异类型, 它们是大豆品质改良和育种重要的种质基础, 因而研究其变异发生的机制有着积极的指导作用。以 7 个 $A_5A_4B_3$ 亚基缺失体、2 个 A_3B_4 亚基缺失体和正常品种为材料, 在采用 SDS-PAGE 验证亚基缺失表现稳定的前提下, 克隆得到缺失亚基所对应的基因序列和 cDNA 序列, 然后通过与 NCBI 上已公布的正常序列进行比较, 发现 7 个材料编码 $A_5A_4B_3$ 亚基的 DNA 序列和 cDNA 序列的起始密码子都由 ATG 突变成了 ATA, 形成一个严重错误的翻译阅读框, 引起缺失; 2 个材料编码 A_3B_4 亚基的 DNA 序列并无明显差异, 但 cDNA 序列的终止密码子都由 TAA 突变成了 CAA, 可能会导致翻译出来的亚基前体额外多出 17 个氨基酸的尾巴, 引起缺失。

关键词:大豆; $A_5A_4B_3$ 亚基; A_3B_4 亚基; 亚基缺失; 密码子点突变

中图分类号: S565.1

文献标识码: A

文章编号: 1000-9841(2009)03-0363-07

Molecular Mechanism of $A_5A_4B_3$ -null and A_3B_4 -null of Chinese Soybean Germplasm

LIU Zhong-yue¹, WANG Hong-ling^{1,2}, LIU Chun^{1,3}, MA Hao¹

(¹State Key Laboratory of Crop Genetics and Germplasm Enhancement, Soybean Research Institute, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, Jiangsu; ²Institute of Genetics and Breeding, Forest Academy of Jiangsu Province, Nanjing 211153, Jiangsu; ³Department of Life Science, Hengyang Normal University, Hengyang 421008, Hunan, China)

Abstract: There is great genetic diversity in the relative content of seed storage protein subunits in Chinese soybean germplasm, which is the foundation of soybean protein quality improvement. Therefore, it will be helpful for soybean high-quality protein breeding to understand the molecular mechanism of the subunit mutations. Based on the validation of their subunit deficiency by sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE), seven landraces without $A_5A_4B_3$ and two without A_3B_4 subunit were used as experimental materials and their subunit mutant gene sequences and cDNA sequences were obtained. Compared with normal sequences on NCBI, the start codon ATG of the genes and cDNAs encoding the $A_5A_4B_3$ -subunits of seven mutant landraces was found to mutate to ATA, which produced a fire-new reading frame of translation and resulted in subunit lacking. While the stop codon TAA of cDNAs encoding A_3B_4 -subunit of two mutant landraces were found to mutate to CAA, which may resulted in an additional tail in pro-glycinin and caused subunit lacking.

Key words: Soybean; $A_5A_4B_3$ subunit; A_3B_4 subunit; Subunit lacking; Point mutation of codon

大豆种子贮藏蛋白是一种重要的食用植物蛋白, 11S 大豆球蛋白是其中的主要组分。11S 组分由多条不同的多肽组成, 通常称之为亚基, 每个亚基对应一个结构基因, 从 $Gy1$ 到 $Gy5$ ^[1], 这 5 个基因的共同特点是均由 4 个外显子和 3 个内含子组成^[2-4]。大豆种质资源蛋白亚基含量变异广泛, 各种自发或

诱导的变异都能影响大豆种子贮藏蛋白的积累^[5]。日本大豆中有分别缺失 $A_5A_4B_3$ 亚基和 A_3B_4 亚基的品种, 也有两者都缺失的品种, 这些缺失并没有导致其它变异^[6-8]。迄今为止的研究表明: $A_{1a}B_{1b}$ 、 $A_{1b}B_2$ 、 A_2B_{1a} 、 A_3B_4 和 $A_5A_4B_3$ 亚基的缺失均由单一隐性基因控制^[6,9]。有人曾从栽培品种中获得一个大豆

收稿日期: 2009-02-25

基金项目: 引进国际先进农业计划(948 计划)资助项目(2001-207); 高等学校学科创新引智计划资助项目。

作者简介: 刘众悦(1985-), 男, 硕士研究生, 现主要从事大豆品质改良与利用研究。王红玲为共同第一作者。

通讯作者: 麻浩, 教授, 博士生导师。E-mail: Lq-ncsi@njau.edu.cn。

A₅A₄B₃ 球蛋白基因的无效等位基因,与有正常功能的 G_y4 基因相比,该品种的缺失表型很可能是因起始密码子从 ATG 点突变成 ATA 造成的^[10]。

目前,对大豆蛋白亚基变异,国外报道得比较多,尤其是 11S 组分 II 组亚基(A₃B₄和 A₅A₄B₃)缺失方面^[7],而国内在这些方面的研究报道相对较少。本课题组前期曾从我国地方大豆种质资源中发掘获得一批大豆主要贮藏蛋白 7S 和 11S 组分亚基缺失体材料^[11],为探明其变异的分子基础,为大豆育种和品质改良提供指导,先利用 SDS-PAGE 方法对 7 个 A₅A₄B₃亚基缺失体材料和 2 个 A₃B₄亚基缺失体材料进行缺失的稳定性验证,然后分别提取它们的总 DNA 和成熟籽粒总 RNA,再克隆得到相应的基因和 cDNA 序列,将缺失体的序列与对照以及 NCBI 上的相应序列进行比对分析,以明确其缺失的分子水平原因。

1 材料和方法

1.1 供试材料

对照材料:南农大黄豆。

A₅A₄B₃亚基缺失体材料 7 份:493-1, Su-123, 安吉青豆, 巴马九月黄, 筠连九转豆, 通豆三号, 早踏扁青。

A₃B₄亚基缺失体材料 2 份:黑豆一号, 西峡小粒黄。

以上材料属于春播大豆的有黑豆一号、Su-123、通豆三号和早踏扁青,其余的为夏播大豆,全部材料均来自南京农业大学国家大豆改良中心。2007 年、2008 年种植于南京农业大学江浦实验站,田间采用常规统一的种植管理方式。

1.2 主要试剂及 Kit

大肠杆菌 DH5 α 菌株由本实验室提供, Taq 酶和 Taq Plus DNA 聚合酶购自上海申能博彩生物科技有限公司,植物总 RNA 提取试剂盒和 Trizol 试剂、普通离心柱型琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒购自 Tiangen 公司, m-MLV 逆转录酶和 pGEM-T Easy 载体购自 Promega 公司, PMD19-T 载体购自 TaKaRa 公司。

1.3 方法

1.3.1 亚基缺失的验证 供试材料种植前先利用 SDS-PAGE 验证亚基缺失的稳定性, SDS-PAGE 参照王显生的方法^[12]。用 Bio-Rad 的 VersaDco 凝胶扫描系统扫描胶片并以 Quantity One 软件分析结果。

1.3.2 大豆叶片总 DNA 的提取 采用 CTAB 法少量提取总 DNA,方法参照文献[13]。

1.3.3 大豆籽粒总 RNA 的提取 取开花后 30 d 左右的大豆成熟籽粒,按天为时代 Plant pure 植物总 RNA 提取试剂盒说明书或 Trizol 试剂提取方法操作。

1.3.4 PCR 及 RT-PCR 根据 NCBI 上公布的序列,使用在线 Primer3.0 分别设计 G_y4、G_y5 的 DNA 和 cDNA 扩增引物, Actin1 和 Actin2 为本实验室常用的两种大豆内参引物,引物序列信息如表 1。

表 1 引物序列

Table 1 The sequences of primers

引物名称	上游引物序列	下游引物序列
Primer's name	Forward primer sequence	Reverse primer sequence
Gy4DNA	5'-tggaacaatagccatgcaa-3'	5'-agctagcttgccacaaaa-3'
Gy4mRNA	5'-ccaactccctcaactta-3'	5'-ggcgattgaaaggtacaacg-3'
Gy5DNA	5'-ctcctcaaaactcttaacacttcc-3'	5'-gttgattatgggtgaccaaag-3'
Gy5mRNA	5'-ttcaccactccttcaacttatt-3'	5'-attcaaaggtacaacgccactc-3'
Actin1	5'-gcgtgatctcactgatgcc-3'	5'-tcgcaatccacatctgttg-3'
Actin2	5'-gttctctccttgatgcaagt-3'	5'-ccagactcatcattacactttag-3'

全部引物,包括 Oligo(dT)₁₅,由上海英骏生物技术有限公司合成。

使用两步法进行反转录:以 2 μ g 总 RNA 为模板, 200 pmol Oligo(dT)₁₅ 为引物, 70 $^{\circ}$ C 变性 5 min, 冰浴 5 min 后,补加 dNTP Mixture(各 10 mM) 4 μ L, RNase Inhibitor 60 U, m-MLV 400 U, 5 \times RT Buffer 10 μ L, DEPC 水 20 μ L, 42 $^{\circ}$ C 反应 90 min, 75 $^{\circ}$ C 加热 15 min, 冰浴 5 min, 得到 cDNA 第一条链。DNA 和 cDNA 的 PCR 程序: 95 $^{\circ}$ C 预变性 4 min, 94 $^{\circ}$ C 变性 45 s, 复性(54 $^{\circ}$ C 到 65 $^{\circ}$ C 不等) 45 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 2 min 到 4 min 不等, 共 30 个循环, 最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。

1.3.5 克隆测序 PCR 和 RT-PCR 得到的产物进行琼脂糖凝胶电泳, 割胶回收后与 pGEM-T Easy 或 PMD19-T 载体进行连接, 连接产物转化到大肠杆菌 DH5 α 感受态中, 经蓝白斑筛选出白色克隆, 菌液 PCR 验证后, 将阳性克隆送交上海英骏生物技术公司或博亚公司测序。

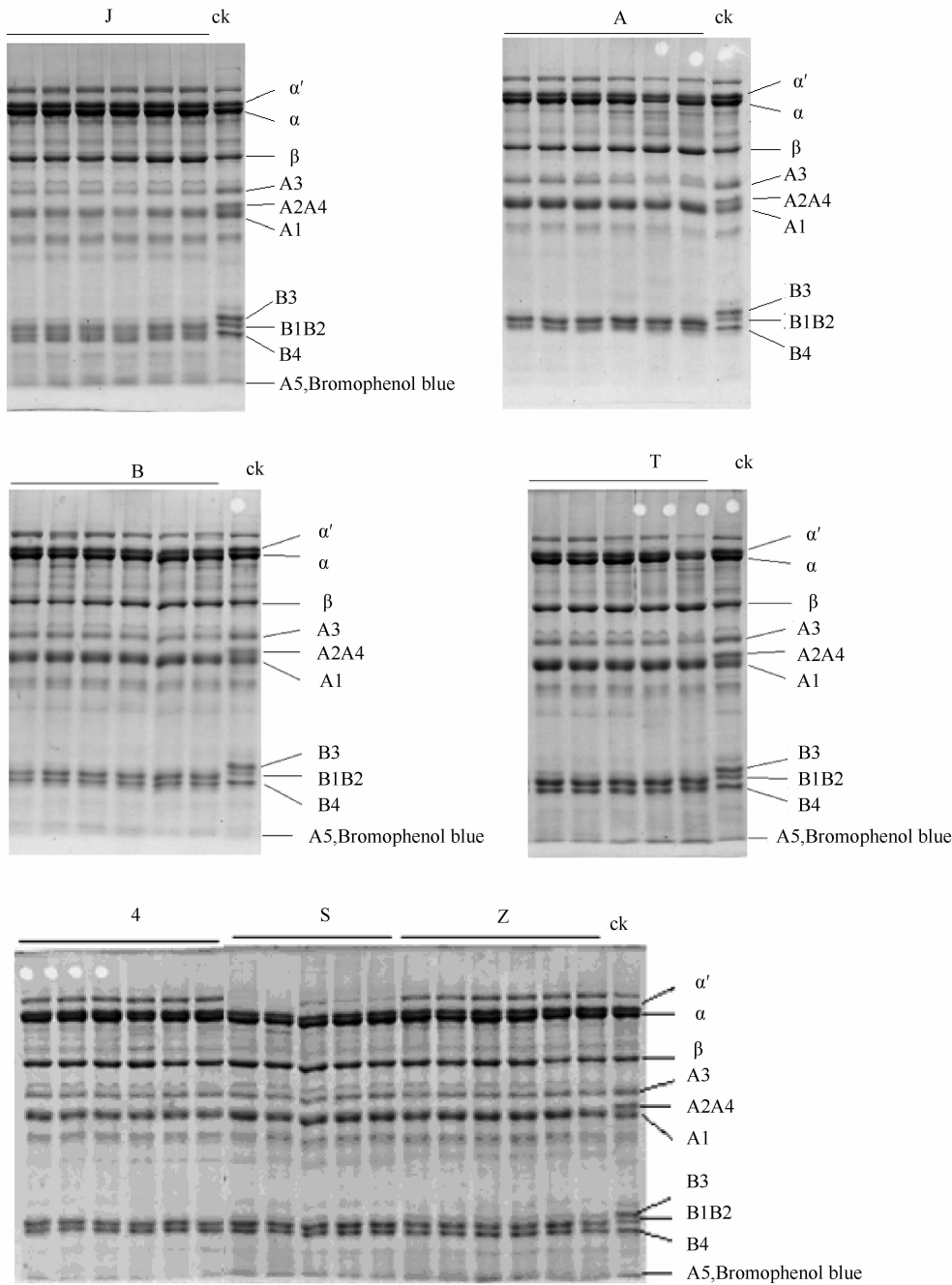
1.3.6 序列分析 使用 DNASTar 软件对测序结果进行分析比对。

2 结果与分析

2.1 亚基缺失的验证

供试材料主要贮藏蛋白 SDS-PAGE 图谱如图 1 和图 2。验证结果表明, 493-1, Su-123, 安吉青豆,

巴马九月黄,筠连九转豆,通豆三号,早踏扁青等 7 个供试材料稳定性缺失 A₅A₄B₃ 亚基和 峡小粒黄 2 个供试材料稳定性缺失 A₃B₄ 亚基。
个供试材料稳定性缺失 A₅A₄B₃ 亚基和 黑豆一号,西



ck:南农大黄豆;J:筠连九转豆;A:安吉青豆;B:巴马九月黄;T:通豆三号;4:493-1;S:Su-123;Z:早踏扁青
ck;Nannongdahuangdou;J:Junlianjiuzhuandou;A:Anjiqingdou;B:Bamajiuyuehuang;
T:Tongdou No. 3;4:493-1;S:Su-123;Z:Zaotabianqing

图1 A₅A₄B₃亚基缺失体材料成熟籽粒中主要贮藏蛋白各亚基的 SDS-PAGE 图谱

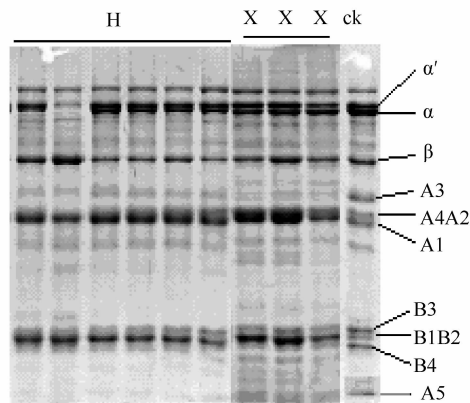
Fig. 1 SDS-PAGE patterns of major storage protein subunits in mature seeds of A₅A₄B₃-subunit lacking cultivars

2.2 PCR 和 RT-PCR 结果

分别从 7 个 A₅A₄B₃ 亚基缺失体材料和 2 个 A₃B₄ 亚基缺失体材料的总 DNA 中扩增得到的 G_y4 和 G_y5

基因片段的大小约为 3 Kb,与预期设想的结果相符。

在使用 Actin 引物扩增得到清晰准确的条带的前提下,分别从它们的 cDNA 第一条链中扩增得到



H: 黑豆一号; X: 西峡小粒黄
H: Heidou No. 1; X: Xixiaxiaoli Huang

图2 A_3B_4 亚基缺失体材料成熟籽粒中主要贮藏蛋白各亚基的 SDS-PAGE 图谱

Fig. 2 SDS-PAGE patterns of major storage protein subunits in mature seed of A_3B_4 -subunit lacking cultivars
的 cDNA 片段约为 1.8 Kb, 条带的大小也与预期的结果相符, 同时表明缺失体材料的相应基因是能够

进行转录的。

2.3 克隆测序结果

DNA 的测序结果分析与对照和 NCBI 上已公布的序列信息相比, 7 个 $A_5A_4B_3$ 亚基缺失体材料的 Gy4 基因的起始密码子都由 ATG 突变成了 ATA (图 3 带点状标识的方框内)。两个 A_3B_4 亚基缺失体材料的 Gy5 基因没有明显的变异。

2.3.1 cDNA 的测序结果分析 与对照和 NCBI 上已公布的序列信息相比, 7 个 $A_5A_4B_3$ 亚基缺失体材料的编码 $A_5A_4B_3$ 亚基的 cDNA 序列的起始密码子都由 ATG 突变成了 ATA (图 4 点状标识处), 与 Gy4 基因的变异相吻合。在这 7 个 cDNA 序列中, 突变位点下游距离其最近的另外一个 ATG 位于下方 189bp 处 (图 4 第一个方框所示), 与新起始密码子 ATG 对应的新终止密码子 TGA 则位于突变位点下方 324bp 处 (如图 4 第二个方框所示)。已将这 7 个突变基因序列以登录号 FJ599665 登录在 GenBank 中。

Majority	TTCACCAACTCCTTCAAACCTTAATTATTAACACTTCCTTAGTTCAATATAGGGAAGCCCT	
	730 740 750 760 770 780	
Gy4DNA	TTCACCAACTCCTTCAAACCTTAATTATTAACACTTCCTTAGTTCAATATAGGGAAGCCCT	780
N	TTCACCAACTCCTTCAAACCTTAATTATTAACACTTCCTTAGTTCAATATAGGGAAGCCCT	181
Z	TTCACCAACTCCTTCAAACCTTAATTATTAACACTTCCTTAGTTCAATATAGGGAAGCCCT	180
4	TTCACCAACTCCTTCAAACCTTAATTATTAACACTTCCTTAGTTCAATATAGGGAAGCCCT	181
A	TTCACCAACTCCTTCAAACCTTAATTATTAACACTTCCTTAGTTCAATATAGGGAAGCCCT	181
B	TTCACCAACTCCTTCAAACCTTAATTATTAACACTTCCTTAGTTCAATATAGGGAAGCCCT	181
J	TTCACCAACTCCTTCAAACCTTAATTATTAACACTTCCTTAGTTCAATATAGGGAAGCCCT	181
S	TTCACCAACTCCTTCAAACCTTAATTATTAACACTTCCTTAGTTCAATATAGGGAAGCCCT	181
T	TTCACCAACTCCTTCAAACCTTAATTATTAACACTTCCTTAGTTCAATATAGGGAAGCCCT	181

比对结果中占多数的序列形式; Gy4 DNA: 正常 Gy4 基因序列; N: 南农大黄豆

Majority sequence of outcome; Gy4 DNA: normal sequence of Gy4 gene; N: Nannongdahuangdou

图3 Gy4 基因序列比对

Fig. 3 Blast of Gy4 sequences

两个 A_3B_4 亚基缺失体材料编码 A_3B_4 亚基的 cDNA 序列 (该突变基因在 GenBank 的登录号为 FJ599666) 的终止密码子都由 TAA 突变为 CAA (图 5 带点状标识的方框内), 说明它们的 Gy5 基因在转录的时候都在终止密码子上产生了相同的点突变。在这个点突变下游 51bp 处, 存在另一个 TAA 终止密码子 (图 5 无点状标识的方框内)。因此, 与正常的 A_3B_4 亚基前体相比, 由这两个 cDNA 序列翻译得到的氨基酸序列会在 C 端多出 17 个氨基酸: QITT-SIYEGVVRPSYMK (图 6 方框内)。其中有 2 个强碱性氨基酸, 1 个强酸性氨基酸, 4 个疏水氨基酸, 7 个极性氨基酸。

3 讨论

国外早在 20 世纪七、八十年代就已经开始了关于大豆球蛋白亚基缺失方面的研究。有人通过研究聚合杂交所产生的突变体, 认为蛋白亚基编码区被大量删减会造成亚基缺失^[7], 还有人认为基因修饰突变是导致蛋白亚基编码区基因失去编码功能的原因^[14]。国内在大豆蛋白亚基缺失方面的研究一直不多, 且主要侧重于亚基缺失品种的筛选^[11, 15], 因而迫切需要加强缺失的分子机理方面的研究。

Majority	CCAACTCCCTCAAACCTTAATTATTAAACACTTCCTTAGTTCAATATAGGGAAGCCCTTCAC	
	10 20 30 40 50 60	
Gy4cDNA	CCAACTCCCTCAAACCTTAATTATTAAACACTTCCTTAGTTCAATATAGGGAAGCCCTTCAC	60
N	CCAACTCCCTCAAACCTTAATTATTAAACACTTCCTTAGTTCAATATAGGGAAGCCCTTCAC	60
Z	CCAACTCCCTCAAACCTTAATTATTAAACACTTCCTTAGTTCAATATAGGGAAGCCCTTCAC	60
4	CCAACTCCCTCAAACCTTAATTATTAAACACTTCCTTAGTTCAATATAGGGAAGCCCTTCAC	60
A	CCAACTCCCTCAAACCTTAATTATTAAACACTTCCTTAGTTCAATATAGGGAAGCCCTTCAC	60
B	CCAACTCCCTCAAACCTTAATTATTAAACACTTCCTTAGTTCAATATAGGGAAGCCCTTCAC	60
J	CCAACTCCCTCAAACCTTAATTATTAAACACTTCCTTAGTTCAATATAGGGAAGCCCTTCAC	60
S	CCAACTCCCTCAAACCTTAATTATTAAACACTTCCTTAGTTCAATATAGGGAAGCCCTTCAC	60
T	CCAACTCCCTCAAACCTTAATTATTAAACACTTCCTTAGTTCAATATAGGGAAGCCCTTCAC	60
Majority	TGAGTCCGAAGGTGGTTTGATTCAAACATGGAACCTCTCAACACCCTGAGCTGAAATGCGC	
	190 200 210 220 230 240	
Gy4cDNA	TGAGTCCGAAGGTGGTTTGATTCAAACATGGAACCTCTCAACACCCTGAGCTGAAATGCGC	240
N	TGAGTCCGAAGGTGGTTTGATTCAAACATGGAACCTCTCAACACCCTGAGCTGAAATGCGC	240
Z	TGAGTCCGAAGGTGGTTTGATTCAAACATGGAACCTCTCAACACCCTGAGCTGAAATGCGC	240
4	TGAGTCCGAAGGTGGTTTGATTCAAACATGGAACCTCTCAACACCCTGAGCTGAAATGCGC	240
A	TGAGTCCGAAGGTGGTTTGATTCAAACATGGAACCTCTCAACACCCTGAGCTGAAATGCGC	240
B	TGAGTCCGAAGGTGGTTTGATTCAAACATGGAACCTCTCAACACCCTGAGCTGAAATGCGC	240
J	TGAGTCCGAAGGTGGTTTGATTCAAACATGGAACCTCTCAACACCCTGAGCTGAAATGCGC	240
S	TGAGTCCGAAGGTGGTTTGATTCAAACATGGAACCTCTCAACACCCTGAGCTGAAATGCGC	240
T	TGAGTCCGAAGGTGGTTTGATTCAAACATGGAACCTCTCAACACCCTGAGCTGAAATGCGC	240
Majority	AGGATGTCCTGAGACGTTTGAGGAGCCACAAGAACAATCAAACAGAAGAGGCTCAAGGTC	
	370 380 390 400 410 420	
Gy4cDNA	AGGATGTCCTGAGACGTTTGAGGAGCCACAAGAACAATCAAACAGAAGAGGCTCAAGGTC	420
N	AGGATGTCCTGAGACGTTTGAGGAGCCACAAGAACAATCAAACAGAAGAGGCTCAAGGTC	420
Z	AGGATGTCCTGAGACGTTTGAGGAGCCACAAGAACAATCAAACAGAAGAGGCTCAAGGTC	420
4	AGGATGTCCTGAGACGTTTGAGGAGCCACAAGAACAATCAAACAGAAGAGGCTCAAGGTC	420
A	AGGATGTCCTGAGACGTTTGAGGAGCCACAAGAACAATCAAACAGAAGAGGCTCAAGGTC	420
B	AGGATGTCCTGAGACGTTTGAGGAGCCACAAGAACAATCAAACAGAAGAGGCTCAAGGTC	420
J	AGGATGTCCTGAGACGTTTGAGGAGCCACAAGAACAATCAAACAGAAGAGGCTCAAGGTC	420
S	AGGATGTCCTGAGACGTTTGAGGAGCCACAAGAACAATCAAACAGAAGAGGCTCAAGGTC	420
T	AGGATGTCCTGAGACGTTTGAGGAGCCACAAGAACAATCAAACAGAAGAGGCTCAAGGTC	420

Gy4 cDNA:正常 Gy4 cDNA 序列 Gy4 cDNA:normal sequence of Gy4 cDNA

图 4 Gy4 的 cDNA 序列比对

Fig. 4 Blast of Gy4 cDNA sequences

Majority	CAAGTATCAAGGAAACTCCGGCCCTTTGGTCAACCCATAAATAACAACAAGCATATATGA	
	1570 1580 1590 1600 1610 1620	
Gy5cDNA	CAAGTATCAAGGAAACTCCGGCCCTTTGGTCAACCCATAAATAACAACAAGCATATATGA	1620
N	CAAGTATCAAGGAAACTCCGGCCCTTTGGTCAACCCATAAATAACAACAAGCATATATGA	1618
X	CAAGTATCAAGGAAACTCCGGCCCTTTGGTCAACCCATAAATAACAACAAGCATATATGA	1618
H	CAAGTATCAAGGAAACTCCGGCCCTTTGGTCAACCCATAAATAACAACAAGCATATATGA	1618
Majority	AGGTGTGGTGAGGCCATCTTATATGAAATAATATCAAAATATATTTTGTGTAATAATAAA	
	1630 1640 1650 1660 1670 1680	
Gy5cDNA	AGGTGTGGTGAGGCCATCTTATATGAAATAATATCAAAATATATTTTGTGTAATAATAAA	1680
N	AGGTGTGGTGAGGCCATCTTATATGAAATAATATCAAAATATATTTTGTGTAATAATAAA	1678
X	AGGTGTGGTGAGGCCATCTTATATGAAATAATATCAAAATATATTTTGTGTAATAATAAA	1678
H	AGGTGTGGTGAGGCCATCTTATATGAAATAATATCAAAATATATTTTGTGTAATAATAAA	1678

Gy5 cDNA:正常 Gy5 cDNA 序列 Gy5 cDNA:normal sequence of Gy5 cDNA

图 5 Gy5 的 cDNA 序列比对

Fig. 5 Blast of Gy5 cDNA sequences

Majority	DVFRAIPSEVLNSYNLGSQVRQLKYQGN SGPLVNPQITTSIYEGVVRPSYMK	
	490 500 510 520 530	
A3B4	DVFRAIPSEVLNSYNLGSQVRQLKYQGN SGPLVNP	517
N	DVFRAIPSEVLNSYNLGSQVRQLKYQGN SGPLVNP	517
X	DVFRAIPSEVLNSYNLGSQVRQLKYQGN SGPLVNPQITTSIYEGVVRPSYMK	534
H	DVFRAIPSEVLNSYNLGSQVRQLKYQGN SGPLVNPQITTSIYEGVVRPSYMK	534

A3B4:正常 A₃B₄亚基前体的氨基酸序列

A3B4:normal amino acids sequence of A₃B₄subunit proglycinin

图6 Gy5 cDNA 编码的氨基酸序列比对

Fig. 6 Blast of amino acids sequences translated from Gy5 cDNAs

利用亚基缺失为稳定表型的大豆品种为材料,包含了春夏播两种类型,克隆得到编码所缺失亚基的相应结构基因全长和 cDNA 全长,同时也表明缺失体材料的相应基因是能够正常进行转录的。分析序列结果后发现 7 个 A₅A₄B₃亚基缺失体材料的 Gy4 基因及其转录后的 mRNA 的起始密码子都由 ATG 突变成了 ATA,表现出很好的规律性和保守性。因此,虽然在这些材料的种子总 RNA 中能检测到这个突变基因的转录产物,但是在 mRNA 的翻译过程中,起始密码子的突变会导致读码的移位,从而产生一个全新的开放读码框(235-372),使得理论上只能翻译得到 46 个氨基酸的蛋白质序列:MRRCH-CFQTHPQPQWPLAILLTLSPDDLHRPRERSTWS CN-SRMS。该段序列与正常的 A₅A₄B₃亚基前体已经完全不同了。所以,起始密码子的这个点突变很可能就是 7 个缺失体材料缺失 A₅A₄B₃亚基的共同原因。

对于 2 个 A₃B₄亚基缺失体材料,它们的 Gy5 基因序列与参照的正常基因以及 NCBI 上已公布的正常序列相比并无明显差异,且终止密码子也是正常的,但 Gy5 基因转录产生的 mRNA 的终止密码子却都由正常的 TAA 突变成了编码谷氨酰胺(Gln)的 CAA,从而失去了正常的终止翻译的功能,直到下游 51bp 处才有另外一个终止密码子 TAA,这会造成翻译出来的氨基酸序列在 C 端比正常的 A₃B₄亚基前体多出 17 个氨基酸。该突变也表现出规律性和保守性,并且是在大豆亚基缺失研究上首次发现的新型突变情况。这段额外的氨基酸序列将会对翻译后期的蛋白质剪切、修饰和折叠产生影响,有可能导致不能形成正常有功能的蛋白质结构和多聚体,或者直接被降解,从而引起 A₃B₄亚基的缺失。正常的基因转录得到的 mRNA 会含有稳定的点突变,这是令人感到有趣而又困惑不解的地方,其中的原因还有待进一步研究。

参考文献

- [1] Nielsen N C, Dickinson C D, Cho T J, et al. Characterization of the glycinin gene family in soybean[J]. The Plant Cell, 1989, 1(3): 313-328.
- [2] Sims T L, Goldberg R B. The glycinin Gy1 gene from soybean[J]. Nucleic Acids Research, 1989, 17(11): 43-86.
- [3] Thanh V H, Turner N E, Nielsen N C. The glycinin Gy2 gene from soybean[J]. Nucleic Acids Research, 1989, 17(11): 43-87.
- [4] Cho T J, Davies C S, Nielsen N C. Inheritance and organization of glycinin genes in soybean[J]. The Plant Cell, 1989, 1(3): 329-337.
- [5] 刘春,王显生,麻浩. 大豆种子贮藏蛋白遗传改良研究进展[J]. 大豆科学, 2008, 27(5): 866-873. (Liu C, Wang X S, Mao H. Genetic improvement on soybean seed storage proteins[J]. Soybean Science, 2008, 27(5): 866-873.)
- [6] Kaizuma N. A mutant line on 11S globulin subunits induced with gamma-ray irradiation[J]. Japanese Journal of Breeding, 1990, 40 [Suppl. 1]: 505-506.
- [7] Yagasaki K, Kaizuma N, Kitamura K. Inheritance of glycinin subunits and characterization of glycinin molecules lacking the subunits in soybean[*Glycine max*(L.) Merr.][J]. Breeding Science, 1996, 46(1): 11-15.
- [8] Takahashi M, Uematsu Y, Kashiwaba K, et al. Accumulation of high levels of free amino acids in soybean seeds through integration of mutation conferring seed protein deficiency[J]. Planta, 2003, 217(4): 577-586.
- [9] Kitamura K, Ishimoto M, Kaizuma N. Genetic relationships among genes for the subunits of soybean 11S globulin[J]. Japanese Journal of Breeding, 1993, 43 [Suppl. 2]: 159-163.
- [10] Scallan B J, Dickinson C D, Nielsen N C. Characterization of a null-allele for the Gy4 glycinin gene from soybean[J]. Molecular and General Genetics, 1987, 208(1-2): 107-113.
- [11] 麻浩,王显生,刘春,等. 706 份中国大豆种质贮藏蛋白 7S 和 11S 组分及其亚基相对含量的研究[J]. 大豆科学, 2006, 25(1): 11-17. (Mao H, Wang X S, Liu C, et al. The content variation of 7S, 11S globulins and their subunits of seed storage protein of 706 Chinese soybean germplasm[J]. Soybean Science, 2006, 25(1): 11-17.)

- [12] 王显生,麻浩,向世鹏,等.不同 SDS-PAGE 分离胶浓度条件下大豆贮藏蛋白亚基的分辨效果[J].中国油料作物学报,2004,26(2):75-80. (Wang X S, Mao H, Xiang S P, et al. The resolving effect of soybean storage protein subunits under different separation gel concentrations of SDS-PAGE[J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2004, 26(2): 75-80.)
- [13] 王关林,方宏筠.植物基因工程原理与技术[M].北京:科学出版社,2002,742-744. (Wang G L, Fang H J. The principle and technology of plant engineering[M]. Beijing: Science Press, 2002: 742-744.)
- [14] Beilinson V, Chen Z, Shoemaker R C, et al. Genomic organization of glycinin genes in soybean[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2002, 104(6-7): 1132-1140.
- [15] 郭顺堂,孟岩,邱丽娟,等.中国大豆蛋白亚基构成分析与缺失部分亚基的特异大豆品种的筛选[J].作物学报,2006,32(8): 1130-1134. (Guo S T, Meng Y, Qiu L J, et al. Analysis of protein subunit composition of Chinese soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] cultivars and screening of soybean cultivars lacking some subunits [J]. Crop Science, 2006, 32(8): 1130-1134.)

A BRIEF INTRODUCTION OF SOYBEAN SCIENCE

Soybean Science (SS) is a bimonthly academic journal co-sponsored by Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences and Chinese Soybean Society. SS was firstly published in 1982.

As an only academic journal concerning soybean in the world, SS publishes original papers, covering all areas related to soybean, including soybean breeding and genetics; soybean germplasm; soybean physiology and ecology; soybean farming and cultivation; soybean pest management; soybean genomics, soybean molecular genetics and biotechnology; soybean food processing, functional products and industrial uses. Review articles, cultivar and germplasm registration, conference news, academic activities, and board announcements are also included regularly.

SS is one of the leading journals of crop sciences and reflects the latest achievement in all aspects of soybean science in China. The editorial board consists of 41 specialists in the field of soybean sciences. Among them, Dr WANG Jin-ling and Dr GAI Jun-yi are international famous soybean scientists. The Board members not only take part in peer review of articles, but also give advice on the direction of development of the journal. They play a very important role in keeping the journal at a high level in the journals covering the related subjects in China.

SS has made a great progress since its starting in 1982. The foundation article percentage of SS has reached around 94% in 2005, which is much higher than the average rate of 34% for the Chinese journals (CJCR report). Furthermore, the national-level fund, i. e., 863, 973 and National Natural Science Foundation, etc. contributes most to all foundations, indicating majority papers in SS comes from the researches under the national large-scale programs.

SS are indexed in some international index systems, such as CAB Abstracts, Soybean Abstracts of CABI, Plant Breeding Abstracts, and Biological Abstracts. SS is referenced by all the authoritative domestic databases and abstract periodicals.

The purposes of SS are to accelerate the soybean science and technology in China, to promote nationwide and worldwide academic exchanges. SS is distributed in China and abroad. The editorial office appreciates to establish publication exchange relationship with related institutions, agricultural colleges and universities, and international organizations in China and abroad. Submissions in English from overseas are welcome.

Contact address: Xuefu Road 368, Soybean Science Editorial Department, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, China.

Tel: 86-0451-86668735 **E-mail:** dadoukx@sina.com