

# 利用 SDS—PAGE 技术分离高分子量麦谷蛋白亚基及在小麦优质育种上的应用

刘 伟

王 岩

吴秀艳

(黑龙江省农科院育种所) (沈阳市农科所) (沈阳市种子管理站)

小麦 HMW(高分子量)麦谷蛋白亚基与优质特性相关,并且不受环境条件影响,是优质遗传特性的生化标记。近年来,国外通过对小麦储藏蛋白质的电泳分析可以从基因产物认识基因存在及表达,由生化表现型反应基因型,这种技术已广泛应用到种子纯度检验、遗传分析及品质测试等方面。

在作物育种中,其根本的理论基础是淘汰不良基因型和选择有利基因型。长期以来,育种者只能将作物形态学,农艺性状作为选择依据。随着小麦品质特性的日趋重要,常规传统的方法很难作为有效的优质育种手段,迫切需要快速准确的方法作为补充,因此不受种植季节影响,从分子水平上鉴定外表上难以鉴定的生物特性的生化方法显示出简单、方便、快速的优点,SDS—PAGE 技术便是具有这种先进性的方法之一。

## 1 电泳分析小麦 HMW 麦谷蛋白亚基

### 1.1 小麦胚乳储藏蛋白的分类及形成

小麦胚乳储藏蛋白分为醇溶蛋白和麦谷蛋白两大类,前者是分子量较小的由单肽键组成的复合体;后者是由很多多肽键通过二硫键交联形成的聚合物,分子量范围为 10~300 万。麦谷蛋白需还原成亚基后可进行电泳分析,SDS—PAGE 分析表明,麦谷蛋白亚基可分为高分子量(HMW, 7~14 万)和低分子量(LMW, 3~5 万)两大部分。HMW 麦谷蛋白亚基在 SDS—PAGE 图谱上清晰可辨,每个品种一般含 3~5 条亚基。许多研究证实 HMW 麦谷蛋白亚基与小麦品质有关。

一些研究证实 HMW 麦谷蛋白一般在开花后 10~17 天内逐渐形成,各亚基出现后便表现出遗传的稳定性,不会因环境的改变而改变,也不会消失。子粒进入灌浆的始期就是 HMW 麦谷蛋白的合成始期。

### 1.2 编码高分子量麦谷蛋白亚基的基因

表 1 HMW 麦谷蛋白亚基组成

1A	1B	1D
1	7	2+12
2 <sup>3</sup>	7+8	3+12
Null	7+9	4+12
	6+8	5+10
	20	2+10
	13+16	2.2+12
	13+19	
	14+15	
	17+18	
	21	
	22	

编码 HMW 麦谷蛋白亚基的基因位于 1A、1B 和 1D 染色体的长臂上,分别定名为 Glu-A<sub>1</sub>、Glu-B<sub>1</sub> 和 Glu-D<sub>1</sub> 位点,总称为 Glu-1,已发现的等位变异类型分别有 3,11 和 10 种,目前共发现 62 种,但常见的如表 1。

### 1.3 小麦 HMW 麦谷蛋白亚基在杂交后代中的遗传行为

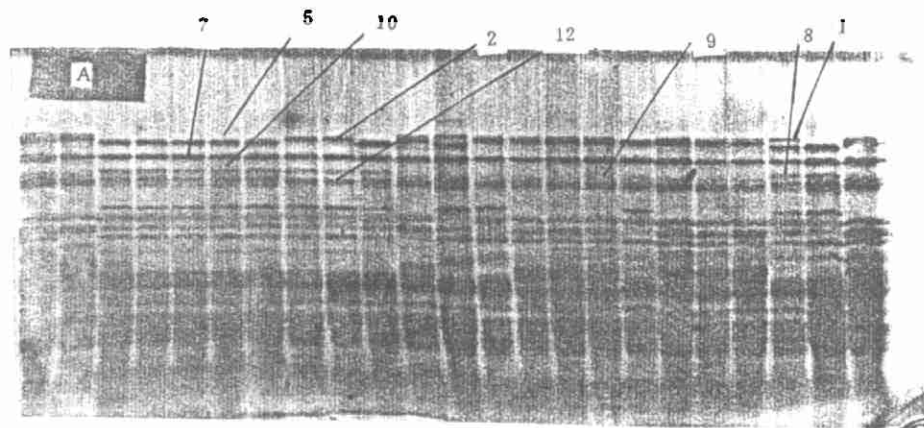
通过对两个具有不同亚基的亲本杂交的

$F_1$  代及自交  $F_2$  代进行分析,结果表明  $F_1$  具有双亲具有的全部亚基,呈现共显性遗传。 $F_2$  代表现出亲本 1,杂合体;亲本 2=1:2:1 的分离比例。从亚基谱带(杂合体中)强度来看,来自母本的亚基谱带强度较大,因此,亚基的遗传同时具有基因的剂量效应。

从以上可推出,随着农艺亲本与具有 5+10 优质亚基亲本的回交,5+10 亚基的比例将以  $1/2^n$  速率递减,一些研究已证实这一点。因此需要从回交一代开始(此时 5+10 亚基占 50%),对重点组合进行半粒电泳分析,用 SDS-PAGE 逐代筛选具有 5+10 亚基的单株进行回交,这样既保证了 5+10 亚基的存在,又减少了选择的盲目性。是优质亚基导入高产品种的一种有效途径。

## 2 HMW 麦谷蛋白亚基对烘焙品质的影响效应

图 1 为分离出的高分子量麦谷蛋白亚基的图谱。Moonen(1983)通过分析 60 个品种认为 1A 位点上  $2^*$  显著优于 1 和 Null,Payne(1982)总结了对许多杂交组合研究的结果认为  $2^*$  与 1 作用相近,但都大于 Null。我们的研究认为  $2^*$  稍优于 1,这两者明显优于 Null。Payne(1984)认为 1B 位点且  $7+8>7+9>6+8>7$ ,Ocienbach(1985)认为  $7+9>7+8$ ,鲁建立的结果认为  $7+8>7+9>6+8$ ,但是  $7>7+8$ 。我们的结果是  $7+8>7+9>6+8$ ,7 与  $7+8$  的效应没有系统研究。关于 20,14+15,22 亚基的报道较少。我们发现过 20 亚基,但没有遇见其它亚基。几乎所有的研究都认为 5+10 优于 1D 位点上其它等位变异形式。Pnyne(1984)认为 1D 位点上  $5+10>2+12>3+12>4+12$ ,并且 5+10 的作用很突出。



关于各个位点对烘焙品质贡献的大小。Payne(1987)对英国小麦的研究中认为  $1A>1B>1D$ ,Qogers(1989)对德国小麦的研究认为 1A 和 1B 的作用小于 1D 的作用,1D 起主导作用。河北农大的研究结果与后者相同,我们也同意后一种观点。1D 位点的贡献主要是 5+10 亚基产生的。

Pyne 认为 1D 上的 5+10 亚基和 1A 上的上 1,  $2^*$  亚基对烘焙品质的正效应是加性的。Ocienbach(1985)认为 Null 和 2+12 的效应是加性的,但是 7+8 的效应依赖于 Glu-D1 上存在的等位基因种类。另外,Lorenzo(1987)指出 1A 和 1B 染色体的单个亚基与其它亚基的互作决定其重要性。

3 小麦 HMW 麦谷蛋白 5+10 亚基对品质的影响效应

3.1 5+10 亚基在不同状态下与品质的关系

河北农大对具有 2+12 和 5+10 两个亲本杂交后代研究了(2+12),(2+12,5+10)及(5+10)亚基之间不同性状的差异。5+10,2+12 亚基在沉降值上都表现出极显著的差异。含 5+10 亚基的群体沉降值显著高于含 2+12 亚基的群体水平。目前认为(5+10)>(2+12,5+10)>(2+12)。说明 5+10 亚基在杂合态(2+12,5+10)时对沉降值的作用不如纯合态(5+10),但较优于(2+12)亚基纯合体。Lozenzo 等(1987)对另一对等位变异(3+12,5+10)的研究表明异质状态的沉降值不如纯合体(5+10),由此认为 HMW 麦谷蛋白亚基在杂合态时等位基因内存在着明显的互作。

3.2 具有 5+10 亚基其品质出现反常现象的机理

一些研究结果表明,来自相同亲本具有 HMW 麦谷蛋白亚基组成的不同杂交方式间,沉淀值表现为高沉淀值亲本>与高值亲本的回交一代>(高值亲本×低值亲本)自交 F<sub>2</sub> 代>与低值亲本的回交一代>低值亲本。也就是说虽然都具有(5+10)亚基,但随着与优质亲本杂交次数的增加,沉降值显著增加,随着和低沉降值亲本杂交次数的增加沉降值显著降低。

另外,在一些杂交组合中出现(2+12)>(5+10,2+12)>(5+10)的现象,这是同一组内亚基顺序不一致的结果,这说明除 5+10 亚基外沉降值还与其它因素有关,这种遗传基因可能存在于 Glu-D<sub>1</sub> 位点以外的其它基因位点上。可以推断,优质亲本不仅具有与高沉降值显著相关的优质亚基 5+10,而且还可能同时携带有许多其它优良品质基因,随着和优质亲本杂交次数的增加,后代中优质亲本遗传物质的比例相对增多,从而使优质基因也增加(栗站稳,1994 年)。

4 SDS-PAGE 技术与优质育种的有效结合

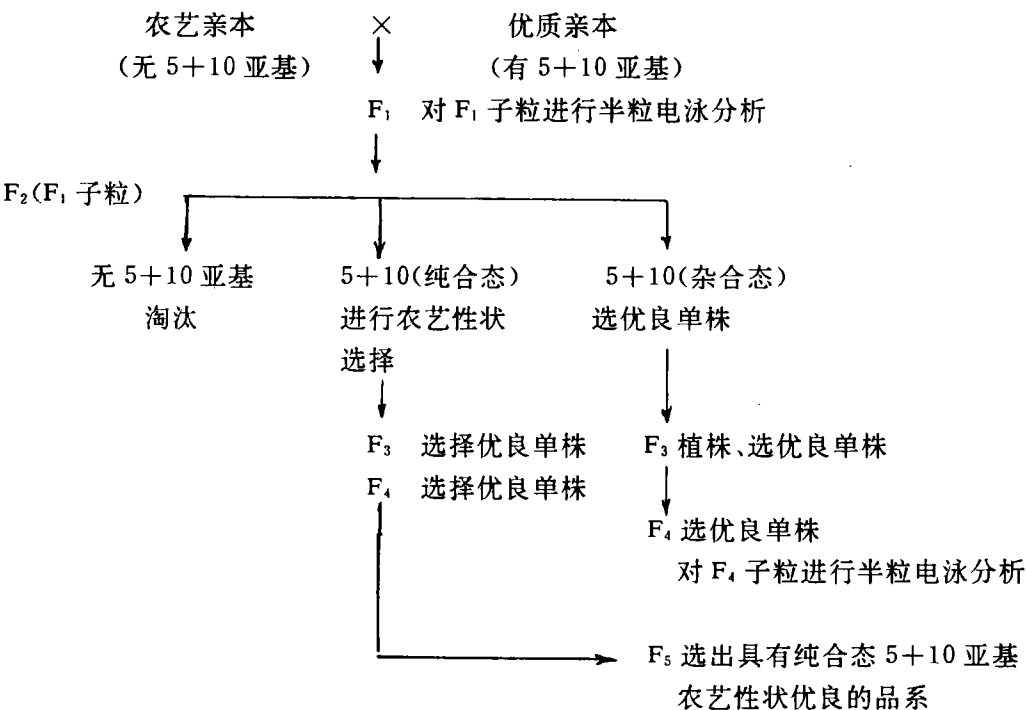


图 2 两步 SDS-PAGE 跟踪 HMW 麦谷蛋白亚基优质育种程序

在优质育种中除了对已稳定的高世代材料进行 SDS-PAGE 分析,从中选择具有优质亚

基组合的材料进行沉降值、粉质仪等品质分析,最终确定其入选情况外,还可按图 2 程序进行早期世代跟踪选择。

从图 2 示例中可以看出,在  $F_2$  代进行半粒电泳分析,可以从  $F_2(F_1$  子粒)中分离出具有纯合态 5+10 亚基的单株,以后对这些单株进行农艺性状等选择,最后就可得到具有纯合态优质亚基的稳定材料,对不具有 5+10 亚基的材料可在  $F_2$  代淘汰。具有 5+10(杂合态)单株由于占  $F_2$  植株的 1/2,如果逐代分析将会增加工作量,本程序不进行  $F_3$  和  $F_4$  代的 SDS-PAGE 分析,只进行农艺性状的选择,在  $F_5(F_4$  子粒)进行分析,此时大部分基因位点纯合,就可于  $F_5$  代选出具有 5+10(纯合态)亚基、农艺性状优良的品系。可见、通过本程序,即能减少育种盲目性,又可提高优质育种效率。

## 5 结 语

最近研究的 5+10、2+12 亚基核苷酸及蛋白质顺序表明,它们之间的氨基酸顺序差别不大,但其 2 级结构有重要区别,认为可以用来解释品质的差别。两对等位基因  $1DX_5$  和  $1DX_2$ ,  $1Dy_{10}$  和  $1Dy_{12}$  之间分别相差 10 和 12 个氨基酸,10 亚基比 12 亚基少 12 个氨基酸使其中间重复区更加规则, $\beta$ -转角增多。而  $\beta$ -转角的大量存在是 HMW 麦谷蛋白亚基赋予面团强度和弹性的结构基础。因此认为 5+10 亚基优于 2+12 亚基归因于氨基酸组份变化所引起的中间重复区更加规则和  $\beta$ -转角结构的增多。

黑龙江省麦谷蛋白亚基(HMW)组成较贫乏,按其对面粉加工品质贡献大小大致可分为以下几类:

第一类:	$\begin{cases} 2^* & 7+8 & 5+10 \\ 1 & 7+8 & 5+10 \end{cases}$	第四类:	$\begin{cases} 2^* & 7+9 & 2+12 \\ 1 & 7+9 & 2+12 \\ & 7+8 & 2+12 \end{cases}$
第二类:	$\begin{cases} 7+8 & 5+10 \end{cases}$	第五类:	$\begin{cases} 7+9 & 2+12 \end{cases}$
第三类:	$\begin{cases} 2^* & 7+8 & 2+12 \\ 1 & 7+8 & 2+12 \end{cases}$		

以上分类只是对我省现有推广品种分析后得到的初步结果,由于我省现有推广品种缺少 1B 位点上的 17+18 亚基,所以以上分类也只能作为参考。

小麦 HMW 麦谷蛋白亚基的组成与加工品质性状密切相关,一般来说通过以上研究和分类,可以根据优质亲本材料的高分子量麦谷蛋白亚基组成来决定优质麦选择的可行性,也可以通过低世代材料进行半粒电泳分析大致确定其成为优质品种的可能性,此外通过上述分类基本可以确定处于第三类以后的品种很难成为优质面包麦。作为优质家庭用粉的品种大部分为第三类,少部分为第四类,极少部分为第五类。

## 参 考 文 献

- 1 赵和. 卢少源等. 普通小麦高分子量麦谷蛋白亚基遗传变异及与其它性状的关系,河北农业大学学报,1993,1:8~12
- 2 K. A. Tilley, G. L. Lookhart, R. C. Hoseney, and T. P. McQueeney. Evidence for Glycosylation of the High Molecular Weight Glutenin Subunits 2,7,8, and 12 from Chinese Spring and TAM 105 10heats, Cereal Chemistry, 1993,70(5):602-606.