

# 玉米蛋白质组分电泳特性的比较研究

苏 萍, 戴常军, 任红波, 高春霞

(黑龙江省农科院谷物品质研究中心 哈尔滨 150086)

**摘要:** 对比了 10 种玉米的盐溶蛋白和水溶蛋白、乙酸溶蛋白、醇溶蛋白以及胚和胚乳蛋白酸性 PAGE 的谱带。结果发现, 玉米水溶蛋白、盐溶蛋白、乙酸溶蛋白和胚蛋白酸性 PAGE 谱带极为相似, 均可以用于品种鉴定。

**关键词:** 玉米; 蛋白质组分; 聚丙烯酰胺凝胶电泳

中图分类号: S 513.01      文献标识码: A      文章编号: 1002—2767 (2002) 01—0007—03

## Comparative Study on the Electrophoretic Characteristics of Protein Components in Maize

SU Ping, DAI Chang-jun, REN Hong-bo, GAO Chun-xia

(Center of Cereal Quality, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, China)

**Abstract:** Salt-soluble proteins and water-soluble proteins, ethanol-soluble proteins, acetic-soluble proteins, embryo and endosperm proteins from ten hybrids of maize were subjected to polyacrylamide gel electrophoresis. The results indicated that the electrophoregrams of water-soluble proteins, salt-soluble proteins, acetic-soluble proteins and embryo proteins in maize are very similar, and can be used for maize variety identification.

**Key words:** maize; proteins component; polyacrylamide gel electrophoresis

由于种子蛋白本身是基因表达的直接产物, 采用玉米蛋白质 PAGE 技术可将种子蛋白质分离, 根据蛋白组成差异即蛋白图谱谱带不同来鉴别玉米杂交种的基因型。依据蛋白在不同溶剂中的溶解能

\* 收稿日期: 2001—09—07

基金项目: 黑龙江省自然科学基金(C9744)资助项目。

作者简介: 苏萍(1966—), 女, 河北乐亭人, 副研, 硕士, 从事谷物品种研究工作。

NPK 处理 18.4% 水平。

表 4 施硫肥对水稻品质的影响

处理	糙米率 (%)	精米率 (%)	整精米率 (%)	垩白率 (%)	胶稠度 (mm)	直链淀粉 (%)
NPK (CK)	78.6	74.5	73.2	17.8	52.7	18.4
硫磺	80.1	76.2	73.7	16.4	43.2	17.2
SulFur95	80.7	75.1	74.7	16.3	42.9	17.05
硫铵	81.4	77.8	75.6	15.4	40.3	17.43

### 3 结语

3.1 黑龙江省不同类型水稻土壤全硫含量为 102~816 mg/kg, 平均 476.8 mg/kg。其中, 黑土> 草甸

土> 草甸黑土> 白浆土。

3.2 黑龙江省不同类型水稻土壤有效硫含量为 7.1~56.7 mg/kg, 低于 20 mg/kg 临界含量样本数为 11.89%, 低于 15 mg/kg 的样本数为 9.8%。

3.3 施硫肥可以提高水稻秧苗素质, 施 sulFur95 可明显提高水稻苗期根长; 施硫铵则可增加秧苗的分蘖数和植株鲜重。

3.4 施用硫肥可以增加水稻产量。其中, SulFur95 和硫磺表现突出。

3.5 施用硫肥可以有效地降低稻米垩白率和直链淀粉含量, 提高水稻的糙米率、精米率和整精米率。其中硫磺和 sulFur95 表现最为突出。

力,玉米胚乳蛋白质可以分为清蛋白(溶于水,占2%~10%)、球蛋白(溶于盐溶液,占10%~20%)、醇溶蛋白(溶于醇的水溶液,占50%~55%)和谷蛋白(溶于稀酸或稀碱溶液,占30%~45%)四类。本文在对玉米盐溶蛋白 PAGE 谱带研究的基础上,对比了四类蛋白组份的 PAGE 特性。

## 1 材料与方法

1.1 材料 用于该研究的是黑龙江省主栽玉米品种:四单 19、东农 248、四单 16、龙单 13、龙单 16、丰禾 10 号、吉单 159、本育 9 号、合玉 14、海玉 5 号等 10 个品种,由黑龙江省和吉林省育种单位提供。

1.2 试剂 丙烯酰胺、N,N'-甲叉双丙烯酰胺、乳酸钠、乳酸、维生素 C、硫酸亚铁、三氯乙酸、考马斯亮蓝 R-250,无水乙醇均为分析纯,甘氨酸为生化试剂。

1.3 设备 DYY-IIIB 稳压、稳流型电泳仪,北京六一仪器厂。垂直夹芯电泳槽,胶板厚 1.1 mm。TGL-16C 高速台式离心机,上海安亭科学仪器厂。

1.4 水溶蛋白(清蛋白)的提取 取单粒玉米种子,用单子粒磨粉碎后,收集到 1.5 mL 离心管中,按 1:1 的量加入含有 0.01%甲基绿的 20%蔗糖溶液,提取 0.5 h,4 000 r/min 离心 10 min,上清液供电泳分析。

1.5 盐溶蛋白(球蛋白)的提取 取单粒玉米种子,用单子粒磨粉碎,收集到 1.5 mL 离心管中,或于水溶蛋白提取后的沉淀中,按 1:1 的量加入含有 20%蔗糖、0.01%甲基绿的 0.5 mol/L 氯化钠溶液间歇震荡提取 0.5 h,4 000 r/min 离心 10 min,上清液用于电泳分析。

1.6 醇溶蛋白的提取 用单子粒磨将玉米种子粉碎,装入 1.5 mL 离心管中或在上述蛋白提取后的沉淀中加入 1 mL 70%乙醇溶液或 50%异丙醇中,室温

间歇提取 0.5 h,4 000 r/min 离心 10 min,按 1:4 比例在上清液中加入含有 20%蔗糖和 0.01%甲基绿的浓缩胶缓冲液中稀释备用。

1.7 乙酸溶蛋白(谷蛋白)的提取 用单子粒磨将玉米种子粉碎,收集到 1.5 mL 离心管中或在上述蛋白提取后的沉淀中按 1:1 的量加入含有 20%蔗糖、0.01%甲基绿的 0.1 mol/L 乙酸溶液,提取 0.5 h,离心上清液用于分析。

1.8 胚蛋白和胚乳蛋白的提取 将玉米种子在蒸馏水中浸泡 1 h,取出用刀片切下胚部,剩下胚乳部分,为防止胚部剥离不净,用刀片将胚部完全除去,所得胚和胚乳粉碎后分别装入 1.5 mL 离心管中,按 1:1 的量加入含有 20%蔗糖、0.01%甲基绿的 0.5 mol/L 氯化钠溶液提取 0.5 h 后离心,上清液供电泳分析。

1.9 电泳条件 采用垂直板聚丙烯酰胺凝胶电泳方法(PAGE),分离胶胶浓度 9%,分离胶缓冲液 0.1 mol/L 乳酸钠/乳酸, pH 值 3.0。浓缩胶胶浓度 4.5%,浓缩胶缓冲液 0.1 mol/L 乳酸钠/乳酸, pH 值 5.2。电极缓冲液为 0.04 mol/L 甘氨酸/乳酸溶液, pH 值 3.3。分离胶和浓缩胶均采用 Vc-FeSO<sub>4</sub> 系统催化聚合,进样量 10 mL,500V 稳压电泳约为 1.5 h,取出胶板,放入含有 0.04%考马斯亮蓝 R-250 的 10%三氯乙酸染色液中染色过夜,取出胶板,用水洗去胶板表面沉积的染料后照相。

## 2 结果与讨论

2.1 水溶蛋白与盐溶蛋白的比较 玉米水溶蛋白与盐溶蛋白在酸性条件下电泳,直接提取的蛋白和按顺序提取的蛋白分离的电泳谱带在  $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$  和  $\omega$  四个区域中,组成极为相似(见图 1、2)。其差别只表

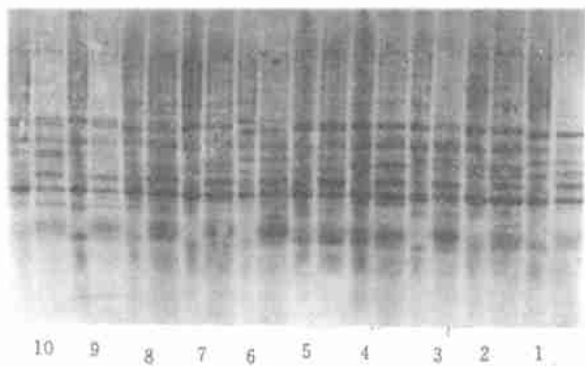


图1 10种玉米水溶蛋白和盐溶蛋白 PAGE 图谱比较(直接提取)

1. 四单 19 2. 东农 248 3. 四单 16 4. 龙单 13 5. 龙单 16  
6. 丰禾 10 7. 吉单 159 8. 本育 9 号 9. 合玉 14 10. 海玉 5 号

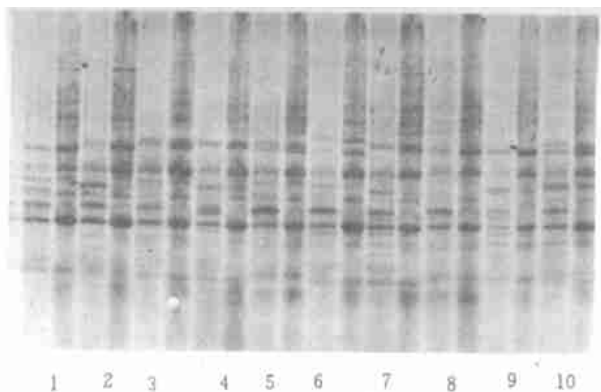


图2 10种玉米水溶蛋白和盐溶蛋白 PAGE 图谱比较(顺序提取)

1. 四单 19 2. 东农 248 3. 四单 16 4. 龙单 13 5. 龙单 16  
6. 丰禾 10 7. 吉单 159 8. 本育 9 号 9. 合玉 14 10. 海玉 5 号

现在个别谱带和谱带的相对强度上。由于水溶蛋白和盐溶蛋白酸性 PAGE 谱带的相似性,品种间差别很明显,水溶蛋白同样可作为鉴定玉米品种的依据。尽管在水溶蛋白提取液中没有加入电极缓冲液,同样能得到带型较好的分离效果,其优点是减少了样品的处理过程,因此利用水溶蛋白鉴定玉米品种是可行的。

2.2 乙酸溶蛋白与盐溶蛋白的比较 从玉米乙酸溶蛋白与盐溶蛋白在酸性条件下的电泳图谱(图 3、4)可见,无论是直接从玉米种子中提取的蛋白还是按一定顺序提取的蛋白两者的谱带完全一致。仅仅是提取蛋白量不同,而谱带数目、相对强度基本一致。目前多数人都采用玉米盐溶蛋白 PAGE 法进行品种及纯度的鉴定,尚未见用乙酸溶液提取玉米蛋白质的报道。根据电泳结果,在酸性不连续 PAGE

系统中,利用乙酸溶蛋白进行玉米品种鉴定是完全可行的。又由于乙酸溶液提取的蛋白质量大,所以进样量小,就能电泳出与盐溶蛋白谱带颜色深浅相近的结果,这样特别适合于玉米子粒较小的样品。

2.3 胚和胚乳蛋白的比较 10 种玉米胚部和胚乳的盐溶蛋白在酸性 PAGE 的分离结果如图 5。从 10 种玉米胚部盐溶蛋白和胚乳盐溶蛋白谱带来看,胚产生的谱带少而弱,且大都和胚乳的谱带发生重叠。虽然胚蛋白含量多,但由于胚部的蛋白是代谢蛋白,活性易受影响,在酸性条件下,容易引起蛋白质变性,所以在 PAGE 上形成的谱带并不多,谱带着色较浅。因此,目前所用的 PAGE 系统对玉米胚部蛋白分析还存在一定的局限,但用于品种及纯度鉴定是完全可行的。

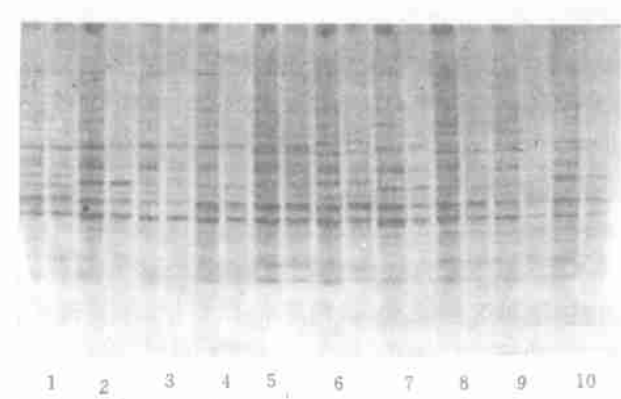


图3 10种玉米乙酸溶蛋白和盐溶蛋白PAGE图谱比较(直接提取)

1. 四单 19 2. 东农 248 3. 四单 16 4. 龙单 13 5. 龙单 16  
6. 丰禾 10 7. 吉单 159 8. 本育 9 号 9. 合玉 14 10. 海玉 5 号

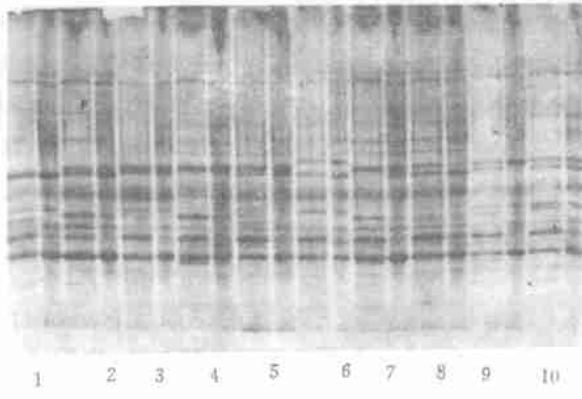


图4 10种玉米乙酸溶蛋白和盐溶蛋白PAGE图谱比较(顺序提取)

1. 四单 19 2. 东农 248 3. 四单 16 4. 龙单 13 5. 龙单 16  
6. 丰禾 10 7. 吉单 159 8. 本育 9 号 9. 合玉 14 10. 海玉 5 号

液提取的玉米蛋白质 PAGE 的图谱中没有形成谱带,可能是醇溶蛋白在酸性缓冲液条件下不能进胶所致。

通过对玉米蛋白质组份的 PAGE 图谱比较分析,发现玉米水溶蛋白、盐溶蛋白、乙酸溶蛋白以及胚蛋白均可用于玉米品种及纯度的鉴定。

参考文献:

[1] Wang Hong-Xin, Niu Zhan-Qi, Hu Zhi-Ang. Electrophoretic study on seed proteins of maize hybrids and inbreds [J]. Chinese J Bot, 1989, 1: 139-144.  
[2] 周展明, 卞科, 王春, 等. 玉米蛋白 PAGE 法鉴定玉米品种及纯度 [J]. 郑州粮食学院学报, 1992, (3): 23-29  
[3] 宋同明, 郑大浩, 刘岩. 利用玉米种子白蛋白和球蛋白乳酸聚丙烯酰胺电泳鉴定品种 [J]. 植物学报, 1996, 38(8): 599-604.

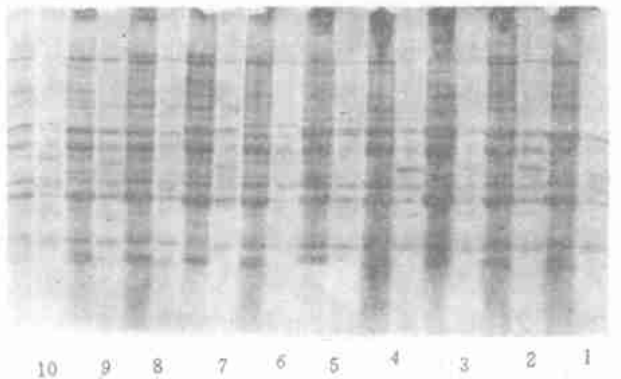


图5 10种玉米胚蛋白和胚乳蛋白PAGE图谱比较

1. 四单 19 2. 东农 248 3. 四单 16 4. 龙单 13 5. 龙单 16  
6. 丰禾 10 7. 吉单 159 8. 本育 9 号 9. 合玉 14 10. 海玉 5 号

2.4 醇溶蛋白的酸性 PAGE 没有谱带形成 用醇溶