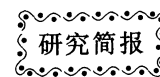


DOI: 10.3724/SP.J.1006.2008.00909



大豆 7S 球蛋白亚基组成对品质性状的影响

刘珊珊¹ 田福东² 高丽辉² 王志坤¹ 葛玉君¹ 刁桂珠¹ 李文滨^{1,*}

(¹ 东北农业大学大豆研究所 / 国家教育部大豆生物学重点实验室, 黑龙江哈尔滨 150030; ² 内蒙古通辽市农业科学研究院, 内蒙古通辽 028015)

摘要: 以 7S 球蛋白亚基组成各异的稀有大豆种质为试材, 分析大豆 7S 球蛋白亚基组成对大豆营养品质性状的影响, 探索优质大豆品种选育的新思路。结果表明, 大豆 7S 球蛋白亚基组成对蛋白质、脂肪、蛋脂总量以及除缬氨酸和异亮氨酸外的 15 种氨基酸和 5 种脂肪酸含量都有一定的影响, 对大豆籽粒内半胱氨酸含量的影响较大。另外, 各种亚基缺失型大豆材料的油酸、亚油酸和硬脂酸含量与该系统内正常型大豆材料的相应指标间的差异显著。

关键词: 大豆; 7S 球蛋白; 亚基含量; 品质性状

Effect of Subunit Composition of 7S Globulin on Soybean Quality Characteristics

LIU Shan-Shan¹, TIAN Fu-Dong², GAO Li-Hui², WANG Zhi-Kun¹, GE Yu-Jun¹, DIAO Gui-Zhu¹, and LI Wen-Bin^{1,*}

(¹ Soybean Research Institute / Key Laboratory of Soybean Biology, Ministry of Education, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, Heilongjiang; ² Tongliao Institute of Agricultural Science, Tongliao 028015, Inner Mongolia, China)

Abstract: Rare soybean (*Glycine max*) germplasm with typical variations in subunit composition was tested to analysis the effect of 7S globulin subunit composition on soybean nutrient quality. The results showed that the 7S globulin subunit composition affected the contents of protein, fat, 5 fatty acids, and 15 amino acids (especially, the greatest effect on Cys) excluding Val and Ile. There were significant differences between the null types with different 7S globulin subunit compositions and their corresponding normal types on the contents oleic acid, linoleic, and stearic acid.

Keywords: Soybean; 7S globulin; Subunit composition; Quality characteristics

大豆种子贮藏蛋白含 7S 球蛋白与 11S 球蛋白两种主要组分。研究表明, 增加 11S 球蛋白的含量降低 7S 球蛋白的含量可以提高大豆蛋白的营养品质, 调节二者的比例可以改善大豆蛋白的加工适应性品质^[1-2]。近年来, 蛋白质组分的改良研究已经成为国内外大豆蛋白质品质育种的研究热点之一。

大豆 7S 球蛋白也称β-伴大豆球蛋白, 是由 α'-(76 kD)、α-(72 kD)和β-(52~54 kD)亚基组成的分子量为 150 kD 的三聚体化合物, 具有降血脂和降低血清胆固醇含量的保健功能^[3-5]。近年来, 有关大豆 7S 球蛋白 3 个主要亚基的研究日趋深入, 氨基酸分析及溴化氰裂解分析表明, α'-亚基内含 3~4 个蛋氨酸残基, α-亚基内含 2 个蛋氨酸残

基, 而β-亚基不含蛋氨酸残基^[6]。另有报道称, α'-亚基富含赖氨酸, β-亚基具有激发细胞吞噬作用的生理活性功能^[7], 而α-亚基则被证明是大豆蛋白的主要过敏源之一^[8]。到目前为止, 人们已经得到了一系列经自然变异或人工诱变产生的具有 7S 球蛋白不同亚基缺失表现的育种材料, 并对其分子基础进行了深入研究^[9-16]。

大豆 7S 球蛋白部分亚基缺失材料在育种和遗传学研究方面都具有非常重要的作用, 是对大豆蛋白的营养品质和加工品质进行遗传育种改良的重要材料。本研究利用这种材料, 探讨大豆 7S 球蛋白亚基组成对大豆营养品质性状的影响, 以便拓宽大豆营养及加工品质改良育种的思路, 为杂交育种的亲本选配及优质特用新品种的选育

基金项目: 中国博士后科学基金项目(LRB05-356); 黑龙江省教育厅海外学人科研资助项目(1152HP16); 国家高技术研究发展计划(863 计划)目标导向项目(2006AA10Z1F1); 国家“十一五”科技支撑计划(2006BAD21B01)

作者简介: 刘珊珊(1972-), 女, 内蒙人, 博士, 副教授, 主要研究方向: 大豆蛋白质组学。E-mail: sslu_yulan@hotmail.com

* 通讯作者(Corresponding author): 李文滨, 教授, 博士生导师。E-mail: wenbinli@yahoo.com

Received(收稿日期): 2007-08-07; Accepted(接受日期): 2008-01-21.

工作提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

($\alpha+\beta$)-缺失材料系统内的日 E(正常亚基类型)、日 A-5(α' -缺失型)、日 B-1[($\alpha'+\alpha$)-缺失型]、SD[($\alpha+\beta$)-缺失型]和 SF-1(β -极少型)等 5 类 7S 球蛋白亚基组成各异的稀有大豆种质,于 2005—2007 年播种于东北农业大学大豆研究所试验站,各亚基缺失类型材料均能稳定遗传。

1.2 方法

1.2.1 大豆蛋白亚基组成分析(SDS-PAGE 梯度电泳法)

称取 5 mg 大豆粉,加 0.5 mL 抽提缓冲液(0.05 mol L⁻¹ Tris-HCl, pH 8.0, 0.2% SDS, 5 mol L⁻¹ Urea)充分混匀,静置过夜(室温),再加 10 μ L 巯基乙醇,充分混匀,4 , 18 000 \times g 离心 15 min,取 20 μ L 上清液进行 SDS-PAGE 电泳及考马斯亮蓝染色。用 BIO-1D Image 软件分析各谱带峰面积的大小和每个电泳样品的蛋白质组成,计算 α' 、 α 与 β 亚基的相对含量。

1.2.2 品质分析 利用 Perten8620 近红外品质分析仪测定蛋白质、脂肪的含量。按照国标 GB/T 18246-2000,利

用日立 L-8800 氨基酸分析仪测定氨基酸含量。采用脂肪酸甲酯化法及日本岛津 GC-14C 型气象色谱仪测定脂肪酸含量。

1.2.3 数据分析 应用 DPS 统计分析软件(5.12 专业版)及 MS Excel 软件进行方差分析、计算各参数平均数、变异系数及差异显著性。

2 结果与分析

2.1 ($\alpha+\beta$)-缺失变异材料后代种子 7S 球蛋白亚基组成的多样性

大豆($\alpha+\beta$)-缺失变异材料是 1987 年在日本放射线育种场经 γ -射线诱变处理后选育得到的,包含 α -与 β -亚基同时缺失、伴有苗期致死症状的突变个体。自 2001 年以来,我们在该系统内的亚基正常型后代种子中陆续检测到丰富的亚基变异类型。

如图 1 所示,对 2002 年收获的 283 粒大豆种子进行 SDS-PAGE 分析,除了该系统原有的($\alpha+\beta$)-缺失型(29 粒)和正常型(205 粒)外,还检测到(α' -缺失+ β -少)型(2 粒)和 β -少型(47 粒)两类新的亚基缺失类型。2003 年,在($\alpha+\beta$)-缺失材料的后代种子中检测到更为丰富的亚基表现

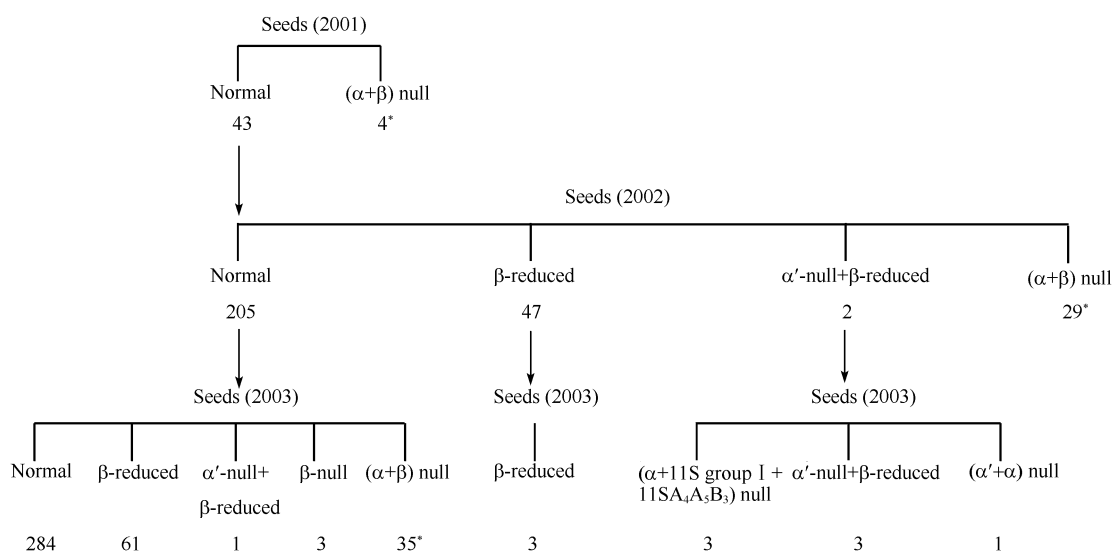


图 1 ($\alpha+\beta$)-缺失稀有大豆种质系谱(2001—2003)

Fig. 1 Pedigree of ($\alpha+\beta$) null line (2001–2003)

黑体阿拉伯数字代表种子数; *代表($\alpha+\beta$)-缺失型种子伴随有苗期致死症状。

Bond numbers represent the seed numbers. *($\alpha+\beta$) null and the lethal chlorosis traits are inherited together.

型。除原有的正常型(284 粒)、($\alpha+\beta$)-缺失型(35 粒)和已在 2002 年检测到的新类型 β -少型、(α' -缺失+ β -少)型种子外,还检测到新的 β -缺失(或极少)型(3 粒)、($\alpha+11S$ group I + 11SA₄A₅B₃)-缺失型(3 粒)和($\alpha'+\alpha$)-缺失型(1 粒)。其中,2002 年得到的 β -少型个体的后代种子的亚基组成均表现 β -少型。但在 2002 年得到的(α' -缺失+ β -少)型种子的后代中,除(α' -缺失+ β -少)型种子(3 粒)外,还检测到另外两类新的亚基表现型,即($\alpha+11S$ group I + 11SA₄A₅B₃)-缺失型(3 粒)和($\alpha'+\alpha$)-缺失型(1 粒)种子。

2.2 7S 球蛋白亚基的组成

用 SDS-PAGE 法对所有供试大豆材料的 7S 球蛋白亚基组成进行分析,结果如图 2 所示。它们分别为($\alpha+\beta$)-缺失变异材料系内的亚基表现正常型(图 2, 第一泳道)、 α' -亚基缺失型(图 2, 第二泳道)、($\alpha'+\alpha$)-亚基缺失型(图 2, 第三泳道)、($\alpha+\beta$)-亚基缺失型(图 2, 第四泳道)和 β -极少型(图 2, 第五泳道)。为明确以上 5 种特殊遗传材料的应用价值及其育种潜力,针对其主要的品质性状进行了以下分析鉴定。

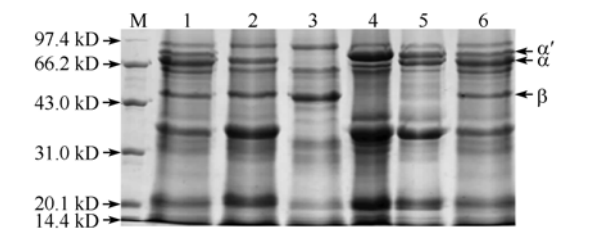


图 2 供试大豆种子蛋白 SDS-PAGE 图谱

Fig. 2 SDS-PAGE banding patterns of seed storage proteins

M: 低分子量标准蛋白 Marker; 1: 日 E(正常型); 2: 日 A-5(α' -缺失型); 3: 日 B-1[($\alpha'+\alpha$)-缺失型]; 4: SD[($\alpha+\beta$)-缺失型]; 5: SF-1(β -极少型); 6: 日 E(正常型)。

M: Standard protein marker; 1: Ri E(Normal type); 2: Ri A-5(α' -null type); 3: Ri B-1[($\alpha'+\alpha$)-null type]; 4: SD[($\alpha+\beta$)-null type]; 5: SF-1(β -extremely low type); 6: Ri E(Normal type).

2.3 7S 球蛋白 3 个主要亚基组成的变异分析

表 1 表明, α' -亚基的变异系数最大, β -亚基其次, α -亚基最小。7S 亚基组成呈现出较大的变异系数, 说明各材料遗传潜力巨大, 在杂交育种的亲本选配及优质特用新品种的选育工作中极具应用价值。

表 1 大豆 7S 球蛋白亚基组成的变异分析

Table 1 Variance analysis of subunit composition of soybean 7S globulin (%)

亚基 Subunit	含量变幅 Range of content	平均含量 Mean content	变异系数 CV
α'	0-97.01	31.66	95.53
α	0-67.65	28.40	85.77
β	0-98.53	37.37	87.22

2.4 7S 球蛋白亚基组成对蛋白质、脂肪、蛋脂总量的影响

由表 2 可见, 亚基表现为 β -极少型和 α' -缺失型的 SF-1 和日 A-5 的蛋白质含量较高, 均超过 45%。除($\alpha'+\alpha$)-亚基缺失型与正常型材料间的蛋白质含量无显著差异外, 其他亚基表现型各异的材料间的蛋白质含量差异显著。日 B-1[($\alpha'+\alpha$)-缺失型]、SD[($\alpha+\beta$)-缺失型]和 SF-1(β -极少型)的脂肪含量均与亚基表现为正常型的日 E 之间存在着显著差异。除 SD[($\alpha+\beta$)-缺失型]外, 其他材料的蛋白、脂肪总量均超过 63%, 而且日 B-1 和 SD 的蛋白、脂肪总量与其他材料间存在显著差异。

表 2 7S 球蛋白亚基组成对蛋白质、脂肪和蛋脂总量的影响

Table 2 Effects of 7S globulin subunit composition on protein, fat, protein, and fat total contents (%)

材料 Material	亚基表现 Subunit composition	蛋白质 Protein	脂肪 Fat	蛋白和脂肪 Protein and fat
日 E Ri E	正常型 Normal type	44.50 ce	20.10 bd	64.60 a
日 A-5 Ri A-5	α' -缺失型 α' -null type	46.23 a	20.35 b	66.48 a
日 B-1 Ri B-1	($\alpha'+\alpha$)-缺失型 $\alpha'+\alpha$ -null type	44.90 bc	18.30 c	63.20 d
SD	($\alpha+\beta$)-缺失型 ($\alpha+\beta$)-null type	42.90 d	15.80 e	58.70 e
SF-1	β -极少型 β -extremely low type	45.10 b	21.20 a	66.30 ac

同一栏中标以不同小写字母的值差异达 0.05 显著水平。
Values followed by a different letter within a column are significantly different at the 0.05 probability level.

2.5 7S 球蛋白亚基组成对 17 种氨基酸含量的影响

含硫氨基酸含量偏低, 是大豆营养品质的主要限制因子之一, 大豆籽粒中的含硫氨基酸通常是指蛋氨酸和半胱氨酸。从表 3 可知, 除亚基表现型为 α' -缺失型的日 A-5 与正常型材料、($\alpha+\beta$)-缺失型材料以及 β -极少型材料间的蛋氨酸含量差异显著外, 其他材料间的蛋氨酸含量无显著差异。但是各亚基表现型材料间的半胱氨酸含量均存在显著的差异。可见, 亚基组成对大豆籽粒内半胱氨酸含量的影响较大。

从表 3 还可看出, 8 种必需氨基酸中, 除了缬氨酸和异亮氨酸这两种必需氨基酸外, 其他 5 种(色氨酸含量未测)氨基酸含量在各材料间均存在一定的差异, 其中日 B-1[($\alpha'+\alpha$)-缺失型]的苏氨酸含量与正常型材料日 E 间存在显著差异, 为 1.84%, 是供试材料中苏氨酸含量最高的。SD[($\alpha+\beta$)-缺失型]和 SF-1(β -极少型)材料的亮氨酸和赖氨酸的含量与日 E(正常型)间存在显著差异; 另外日 B-1、SD 和 SF-1 的苯丙氨酸的含量与日 E 间也存在显著差异。

2.6 7S 球蛋白亚基组成对 5 种脂肪酸含量的影响

从表 4 可以看出, 除亚基表现为 β -极少型的 SF-1 的棕榈酸含量与正常型日 E 间存在显著差异外, 各材料间棕榈酸含量的差异不显著。亚麻酸的平均含量中, 日 B-1[($\alpha'+\alpha$)-缺失型]显著高于其他材料。另外, 不同亚基缺失型材料与正常型日 E 之间在油酸、亚油酸和硬脂酸的含量上都存在显著差异。

3 讨论

3.1 大豆 7S 球蛋白部分亚基缺失特异种质在遗传育种中的意义

大豆蛋白亚基组成直接影响大豆的营养品质和加工适应性品质。许多研究表明, 大豆种子贮藏蛋白的 11S 与 7S 球蛋白含量存在显著负相关, 但与蛋白质、脂肪含量并无显著的相关性^[16]。到目前为止, 有关亚基组成对大豆蛋白质、脂肪含量的影响的报道尚不多见。大豆 7S 球蛋白组成具有丰富的遗传变异表现, 研究亚基组成与品质性状间的相互关系, 有助于选育蛋白质总量高、氨基酸组成

表 3 7S 球蛋白亚基组成对 17 种氨基酸含量的影响
Table 3 Effects of 7S globulin subunit composition on 17 amino acid contents (%)

氨基酸 Amino acid	日 E (正常型) Ri E(Normal type)	日 A-5(α' -缺型) Ri A-5(α' -null type)	日 B-1[($\alpha'+\alpha$)-缺型] Ri B-1[($\alpha'+\alpha$)-null type]	SD[($\alpha+\beta$)-缺型] SD[($\alpha+\beta$)-null type]	SF-1(β -极少型) SF-1(β -extremely low type)
天冬氨酸 Asn	4.56 b	5.49 a	4.43 b	4.31 b	4.52 b
苏氨酸 Thr	1.66 bd	1.76 ab	1.84 a	1.54 ab	1.55 bd
丝氨酸 Ser	2.28 a	2.28 a	1.90 bc	1.74 c	1.83 c
谷氨酸 Glu	8.76 a	8.76 a	6.25 d	6.88 b	8.56 ac
甘氨酸 Gly	1.78 ab	1.85 a	1.70 bc	1.57 d	1.64 c
丙氨酸 Ala	1.85 b	1.96 a	1.86 ab	1.64 c	1.76 bd
半胱氨酸 Cys	0.75 d	0.82 a	0.80 b	0.78 c	0.68 e
缬氨酸 Val	1.96 a	2.13 a	1.96 a	1.80 a	1.85 a
蛋氨酸 Met	0.46 b	0.52 a	0.51 ab	0.45 b	0.46 b
异亮氨酸 Ile	1.96 a	1.96 a	1.84 a	1.64 a	1.65 a
亮氨酸 Leu	3.35 a	3.36 a	3.32 ac	2.57 d	2.80 b
酪氨酸 Tyr	1.21 b	1.24 a	1.21 a	0.91 b	1.17 ac
苯丙氨酸 Phe	2.52 a	2.50 ac	2.08 b	1.79 d	1.84 d
赖氨酸 Lys	2.78 a	2.77 ac	2.67 ab	2.38 d	2.52 b
组氨酸 His	0.46 b	0.51 a	0.42 c	0.41 e	0.45 bd
精氨酸 Arg	1.14 a	1.16 b	1.28 b	1.12 b	1.15 b
脯氨酸 Pro	3.59 bc	4.15 bd	5.54 a	3.16 c	4.25 b

同一栏中标以不同小写字母的值差异达 0.05 显著水平。
Values followed by a different letter for an amino acid are significantly different at the 0.05 probability level.

表 4 7S 球蛋白亚基组成对 5 种脂肪酸含量影响
Table 4 Effects of 7S globulin subunit composition on five fatty acid contents (%)

材料 Material	亚基表现 Subunit composition	棕榈酸 Palmitic	油酸 Oleic	亚油酸 Linonleic	硬脂酸 Stearic	亚麻酸 Linolenic
日 E Ri E	正常型 Normal type	11.12 ac	18.49 b	57.00 d	5.28 a	9.69 c
日 A-5 Ri A-5	α' -缺型 α' -null type	9.73 ab	20.41 a	55.84 e	2.90 ce	9.73 c
日 B-1 Ri B-1	($\alpha'+\alpha$)-缺型 $\alpha'+\alpha$ -null type	10.45 ab	16.24 c	57.45 b	3.65 c	12.20 a
SD	($\alpha+\beta$)-缺型 ($\alpha+\beta$)-null type	11.26 a	15.67 d	59.47 ac	2.90 d	10.70 bc
SF-1	β -极少型 β -extremely low type	8.94 b	16.24 c	59.48 a	5.28 b	10.07 c

同一栏中不同小写字母代表差异达到 0.05 的显著水平。
Values followed by a different letter within a column are significantly different at the 0.05 probability level.

配比合理、含硫氨基酸含量高的高蛋白优质大豆品种；还可以选育出自然缺失致敏蛋白源(α -亚基)，且具有优良品质性状的特用大豆品种，这对大豆品质遗传改良和优质、特用大豆新品种的选育具有重大意义。

本研究结果提示我们，通过遗传学手段调整大豆 7S 球蛋白的亚基组成，可以改善大豆蛋白的营养品质。利用本研究室现有的 7S 球蛋白亚基组成各异的稀有大豆种质，有望选育出高蛋白、高脂肪含量、氨基酸与脂肪酸组成配比合理的优质大豆新品种。

3.2 大豆营养品质改良新思路

大豆不仅蛋白质含量高，而且所含氨基酸种类齐全，是唯一拥有一类类似动物“完全”蛋白质的作物。然而其含硫氨基酸的含量偏低。研究表明，亚基组成成为 α' -缺失型的

日 A-5 的蛋氨酸含量与该系统正常型日 E 间存在显著差异，各种亚基表现型材料间的半胱氨酸含量存在显著差异，说明亚基组成对大豆籽粒内蛋氨酸、半胱氨酸含量的影响较大。众所周知，大豆 7S 与 11S 球蛋白均由多种不同的亚基组成，进一步明确大豆种子贮藏蛋白各亚基组成与大豆营养品质间的相互关系，利用遗传学手段调整大豆蛋白的亚基组成，能动地的改良大豆蛋白的营养及加工适应性品质是选育优质大豆新品种的新思路。

References

[1] Fukushima D. Recent progress of soybean protein foods. *Food Rev Int*, 1991, 7: 323–325
[2] Yamauchi F. Molecular understanding of soybean protein. *Food Rev*

- Int*, 1991, 7: 283–332
- [3] Ladin B F, Doyle J J, Beachy R N. Molecular characterization of a detection mutation affecting the α' subunit of β -conglycinin of soybean. *J Mol Appl Genet*, 1984, 2: 372–380
- [4] Takahashi K, Banaba H, Kikuchi A, Ito M, Nakamura S. An induced mutant line lacking the α -subunit of β -conglycinin in soybean. *Breed Sci*, 1994, 46: 251–255
- [5] Teraishi M, Takahashi M, Hajika M, Matsunaga R, Uematsu Y, Ishimoto M. Suppression of soybean β -conglycinin genes by a dominant gene, *Scg-1*. *Theor Appl Genet*, 2001, 103: 1266–1272
- [6] Thanh V C, Trang D T X, Liu S S, Zhou J M, Hirata Y. Evaluation of 7S β -subunit deficiency and its inheritance among soybeans *Glycine max* L. in the Mekong Delta, Viet Nam. *Biosphere Conserv*, 2004, 6: 1–5
- [7] Liu S S, Ohta I K, Dong C P, Thanh V C, Ishimoto M, Qin Z W, Hirata Y. Genetic diversity of soybean (*Glycine max* L. MERRILL) 7S globulin protein subunits. *Genetic Resour Crop Evol*, 2006, 53: 1209–1219
- [8] Hajika M, Takahashi M, Sakai S, Matsunaga R. Dominant inheritance of a trait lacking β -conglycinin detected in a wild soybean line. *Breed Sci*, 1998, 48: 383–386
- [9] Kaizuma N, Kowata H, Odanaka H. Genetic variation on soybean seed proteins induced by irradiation. *Rep Tohoku Br Crop Sci Jpn*, 1989, 32: 97–99
- [10] Kitagawa S, Ishimoto M, Kikuchi F, Kitamura K. A characteristic lacking or remarkably decreasing 7S globulin subunits induced with gamma-ray irradiation in soybean seeds. *Jpn Breed*, 1991, 41(suppl 2): 460–461
- [11] Aoyama T, Kohno M, Saito T, Fukui K, Hashimono T, Yamamoto Y, Hirotsuka M, Kito M. Reduction by phytate-reduced soybean beta-conglycinin of plasma triglyceride level of young and adult rats. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2001, 65: 1071–1075
- [12] Manzoni C, Lovati M R, Ggianazza E, Morita Y, Sirtori C R. Soybean protein products as regulators of liver low-density lipoprotein receptors: II. α - α' rich commercial soy concentrate and α' deficient mutant differently affect low-density lipoprotein receptor activation. *J Agric Food Chem*, 1998, 46: 2481–2484
- [13] Sirtori C R, Lovati M R, Manzoni C, Monetti M, Pazzucconi F, Gatti E. Soy and cholesterol reduction: clinical experience. *J Nutr*, 1995, 125: 598–605
- [14] Coates J B, Medeiros J S, Thanh V H, Nielsen N C. Characterization of the subunits of β -conglycinin. *Arch Biochem Biophys*, 1985, 243: 184–194
- [15] Maruyama N, Maruyama Y, Tsuruki T, Okuda E, Yoshikawa M, Utsumi S. Creation of soybean β -conglycinin β with strong phagocytosis-stimulating activity. *Biochim Biophys Acta*, 2003, 1648: 99–104
- [16] Ogawa T, Bando N, Tsuji H, Okajima H, Nishikawa K, Sasaoka K. Investigation of the IgE-binding protein s in soybeans by immunoblotting with the sera of the soybean sensitive patients with the atopic dermatitis. *J Nutr Sci Vitaminol*, 1991, 37: 555–565