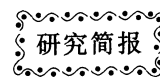


DOI: 10.3724/SP.J.1006.2009.00952



小麦籽粒淀粉分支酶同种型 SBE IIb 的亚细胞定位及遗传多样性

赵法茂¹ 蔡瑞国² 毕建杰³ 肖 军¹ 王宪泽^{3,*}

¹泰山学院生物系, 山东泰安 271021; ²河北科技师范学院农学系, 河北昌黎 066600; ³山东农业大学作物生物学国家重点实验室, 山东泰安 271018

摘 要: 以 70 个有代表性的小麦品种, 采用 SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)方法检测淀粉粒结合 SBE IIb 的品种间差异; 并对 SDS-PAGE 凝胶中 SBE IIb 进行回收、复性和酶活性测定。结果表明, 淀粉粒结合蛋白(SGP)中分子量为 85 kD 的 SGP-2 是与淀粉粒结合的 SBE IIb, 具有淀粉分支酶活性; SBE IIb 从淀粉粒释放并去除 SDS 后活性立即恢复, 其活性高峰出现在花后 21 d 左右; SBE IIb 在小麦籽粒发育早期开始表达, 不同发育时期表达量有差异, 但其表达图谱在品种间没有差异, 即编码 SBE IIb 的基因位点不具有品种的遗传多态性。

关键词: 小麦; 淀粉粒结合蛋白(SGP); SBE IIb; 遗传多态性

Subcellular Localization and Genetic Polymorphism of Isoform of Starch Branching Enzyme (SBE IIb) in Wheat Grain

ZHAO Fa-Mao¹, CAI Rui-Guo², BI Jian-Jie³, XIAO Jun¹, and WANG Xian-Ze^{3,*}

¹ Department of Biology, Taishan College, Tai'an 271021, China; ² Agronomy Department, Hebei Normal University of Science and Technology, Changli 066600, China; ³ State Key Laboratory of Crop Biology, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, China

Abstract: To elucidate subcellular localization and genetic polymorphism of SBE IIb, the isoform of starch branching enzyme (SBE), in wheat grain and make insight into molecular mechanism of amylopectin biosynthesis. We identified the differences of SBE IIb among 70 wheat varieties using SDS polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE), recovered SBE IIb from polyacrylamide gel and determined its enzymatic activities. The expression levels of SBE IIb were examined during grain-filling period. The result indicated that starch granule-bound protein SGP-2, was granule-associated SBE IIb with molecular weight of 85 kD. It possessed SBE activity when SDS was removed by acetone precipitation, which reached the highest activity at the 21th day after anthesis. SBE IIb expressed at the early developing stage of wheat grain and expression quantity exhibited differences in different developing periods. Notably, the expression profile of SBE IIb showed no differences among 70 varieties.

Keywords: Wheat (*Triticum aestivum* L.); Starch granule-bound proteins (SGP); SBE IIb; Genetic polymorphism

淀粉是小麦(*Triticum aestivum* L.)籽粒的主要成分, 约占籽粒重量的 65%, 由直链淀粉和支链淀粉两种葡萄糖多聚体组成。直链淀粉一般约占淀粉总量的 25%, 支链淀粉约占淀粉总量的 75%, 直链淀粉与支链淀粉的比例在不同小麦品种中的变异范围为 1/3~1/5^[1]。直链淀粉与支链淀粉的比例(直/支比)影响淀粉的理化性质和黏滞性谱(RVA 谱)特性, 进而影响面条加工品质、食用品质和工业用途^[2-3]。然而直链淀粉含量相同或相近的品种之间, 淀粉品质仍表现出明显差异, 说明除直/支比外, 支链淀粉的精细结构如聚合度、分支化度、链长分布和平均链长

等结构参数也显著影响小麦品质^[4]。

直链淀粉是由 α -1,4 糖苷键连接的线性分子, 很少或没有 α -1,6 糖苷键分支, 由颗粒结合淀粉合成酶(GBSS, EC2.4.1.21)催化合成; 支链淀粉则是由 α -1,4 糖苷键相连的葡萄糖链再通过 α -1,6 糖苷分支键连接而成的葡萄糖聚合体, 而淀粉分支酶(SBE, EC2.4.1.18)是唯一引入 α -1,6 分支键的淀粉合成酶, 因此 SBE 的性质和活性是影响支链淀粉精细结构和含量的重要因素^[5-6]。根据分子结构、免疫反应特性和底物特异性等的不同, SBE 分为 SBE I 和 SBE II 两种同种型。Morell 等^[7]通过阴离子交换层析, 分

本研究由国家“十一五”科技支撑计划项目(2006BAD04B01)和泰山学院引进人才项目(Y2008-2-6)资助。

*通讯作者(Corresponding author): 王宪泽, E-mail: xzwang@sdau.edu.cn

第一作者联系方式: E-mail: fmzhao8828@163.com

Received(收稿日期): 2008-09-07; Accepted(接受日期): 2009-02-17.

离并纯化了小麦 3 种 SBE, 分别命名为 SBE I_{AD}、SBE I_B 和 SBE II, 并进一步把编码 SBE I 的基因定位到第 7 部分同源群染色体上; SBE I 有 4 种同工型, 即 A、B、D_i 和 D_{ii}; SBE II 也有两种同工型, 即 SBE IIa 和 SBE IIb。SBE II 的空间分布是不同的, 就蛋白质含量而言, 在小麦中 SBE IIa 是胚乳可溶性基质的主要部分, SBE IIb 的主要部分存在于淀粉粒内, 其含量约占淀粉粒结合 SBE II 蛋白的 72%^[8]; 而在玉米中, SBE IIb 是胚乳可溶性基质中占支配地位的 SBE II 形式, SBE IIb 基因(*ae*)突变导致高直链淀粉表型, 被称为直链淀粉增加子(*amylose extender*), 在支链淀粉合成中起关键作用^[9-10]。

Tetlow 等^[11]通过免疫共沉淀试验, 证明小麦 SBE IIb 通过磷酸化作用与 SBE I 和磷酸化酶形成蛋白质复合物,

而且在蛋白质复合体形成中 SBE IIb 起着重要作用, 在一定程度上可能决定淀粉合成的类型。SBE I 四种同工型的分布在不同小麦品种中表现出丰富的多态性, 而 SBE IIa 无多态性^[12-13]。有关 SBE IIb 是否具有多态性及在籽粒发育过程中的表达量分析, 至今鲜有报道。本文研究了小麦籽粒发育过程中 SBE IIb 的表达水平, 以期明确 SBE IIb 亚细胞定位和遗传多样性, 为阐明支链淀粉合成机制进而为小麦品质改良提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料与取样方法

选取各地有代表性的 70 个小麦品种(表 1), 由山东省小麦研究中心种质资源室提供。于 2006 年 10 月上旬播

表 1 70 个供试品种的名称和种源地
Table 1 Names and sources of 70 varieties in this study

No.	品种 Variety	种源地 Origin	No.	品种 Variety	种源地 Origin
1	农大 183 Nongda 183	中国北京 Beijing, China	36	陕农 981 Shaannong 981	中国陕西 Shaanxi, China
2	农大 93 Nongda 93	中国北京 Beijing, China	37	老麦 Laomai	中国陕西 Shaanxi, China
3	北京 8 号 Beijing 8	中国北京 Beijing, China	38	陕旱 8675 Shaanhan 8675	中国陕西 Shaanxi, China
4	中优 9507 Zhongyou 9507	中国北京 Beijing, China	39	陕 31 Shaan 31	中国陕西 Shaanxi, China
5	冀麦 2 号 Jimai 2	中国河北 Hebei, China	40	陕农 7859 Shaannong 7859	中国陕西 Shaanxi, China
6	冀优 915 Gaoyou 915	中国河北 Hebei, China	41	小偃 6 号 Xiaoyan 6	中国陕西 Shaanxi, China
7	石特 14 Shite 14	中国河北 Hebei, China	42	甘麦 8 号 Ganmai 8	中国甘肃 Gansu, China
8	晋麦 8 号 Jimai 8	中国山西 Shanxi, China	43	皖麦 19 Wanmai 19	中国安徽 Anhui, China
9	平阳 27 Pingyang 27	中国山西 Shanxi, China	44	蝉不吱 Chanbuzhi	中国安徽 Anhui, China
10	小红皮 Xiaohongpi	中国内蒙古 Inner Mongolia, China	45	皖麦 42 Wanmai 42	中国安徽 Anhui, China
11	鲁麦 18 Lumai 18	中国山东 Shandong, China	46	大黄皮 Dahuangpi	中国安徽 Anhui, China
12	山东辐 63 Shandongfu 63	中国山东 Shandong, China	47	望水白 Wangshuibai	中国浙江 Zhejiang, China
13	PH92-6	中国山东 Shandong, China	48	黄水白 Huangshuibai	中国浙江 Zhejiang, China
14	济南 13 Jinan 13	中国山东 Shandong, China	49	水里站 Shuilizhan	中国江西 Jiangxi, China
15	济南 17 Jinan 17	中国山东 Shandong, China	50	华东 6 号 Huadong 6	中国江苏 Jiangsu, China
16	济南 6 号 Jinan 6	中国山东 Shandong, China	51	颍麦 6 号 Emai 6	中国湖北 Hubei, China
17	烟优 361 Yanyou 361	中国山东 Shandong, China	52	蜀万 8 号 Shuwan 8	中国四川 Sichuan, China
18	烟农 15 Yannong 15	中国山东 Shandong, China	53	川麦 36 Chuanmai 36	中国四川 Sichuan, China
19	济南 16 Jinan 16	中国山东 Shandong, China	54	繁 6 Fan 6	中国四川 Sichuan, China
20	PH82-2-2	中国山东 Shandong, China	55	红秃子 Hongtuzi	中国宁夏 Ningxia, China
21	鲁麦 22 Lumai 22	中国山东 Shandong, China	56	宁春 4 号 Ningchun 4	中国宁夏 Ningxia, China
22	泰山 5 号 Taishan 5	中国山东 Shandong, China	57	贵农 10 号 Guinong 10	中国贵州 Guizhou, China
23	鲁麦 23 Lumai 23	中国山东 Shandong, China	58	云麦 34 Yunmai 34	中国云南 Yunnan, China
24	鲁麦 14 Lumai 14	中国山东 Shandong, China	59	高原 506 Gaoyuan 506	中国青海 Qinghai, China
25	豫麦 50 Yumai 50	中国河南 Henan, China	60	晋麦 2148 Jimai 2148	中国福建 Fujian, China
26	周麦 18 Zhoumai 18	中国河南 Henan, China	61	上林小麦 Shanglinxiaomai	中国广西 Guangxi, China
27	兰考 861797 Lankao 861797	中国河南 Henan, China	62	台中 23 Taizhong 23	中国台湾 Taiwan, China
28	蚰子麦 Youzimai	中国河南 Henan, China	63	13693063-6-1-1 (Aquila selection line)	意大利 Italy
29	内乡 5 号 Neixiang 5	中国河南 Henan, China	64	阿夫 Funo	意大利 Italy
30	周麦 19 Zhoumai 19	中国河南 Henan, China	65	意大利 1 号 Appulo-Dr selection line)	意大利 Italy
31	郑州 6 号 Zhengzhou 6	中国河南 Henan, China	66	NSA02-0047 (Etoile de choisy)	法国 France
32	漯麦 16 Luomai 16	中国河南 Henan, China	67	NSA02-0104 (Floress selection line)	法国 France
33	鹤麦 Hemai 046	中国河南 Henan, China	68	NSA02-0113 (Floress selection line)	法国 France
34	豫麦 2 号 Yumai 2	中国河南 Henan, China	69	赤小麦 Akagomughi	日本 Japan
35	陕 523 Shaan 523	中国陕西 Shaanxi, China	70	高加索 Kavkaz	前苏联 USSR

种于山东农业大学教学实习农场, 试验地肥力均匀, 小区面积 6 m^2 , 3 次重复, 随机区组排列, 种植密度为 120 株 m^{-2} , 其他田间常规管理按小麦高产栽培技术规程进行。

开花期选取生长一致及穗大小相近的植株, 挂牌标记同一日开花的麦穗, 于开花后 7 d 开始取样, 每 7 d 取一次, 直至开花后 35 d 完全成熟。取样时间为 9:00~11:00, 每个品种共取 3~5 个标记穗, 每穗取中部小穗籽粒, 经液氮速冻 30 min 后放入 -60°C 超低温冰箱中保存, 用于淀粉粒提取和 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳。

1.2 淀粉粒提取

参照 Denyer 等^[14-15]和 Rahman 等^[16]的方法, 稍作修改。取花后 20 d 的籽粒 100 g, 去除种皮和胚, 加 3 倍体积提取 buffer (50 mmol L^{-1} Tris-HCl, pH 7.5, 2.3% SDS, 1 mmol L^{-1} EDTA, 1 mmol L^{-1} DTT), 4°C 下研磨, 用 60 目纱布过滤匀浆液, 重复研磨滤渣一次, 合并两次滤液, 于 4°C 下以 $10\,000\times g$ 离心 10 min, 取沉淀并去除表面的绿色或灰棕色物质, 重新悬浮和离心(条件同上) 3~4 次, 将沉淀悬浮在冷丙酮中于 -20°C 静置 5 min, 同上离心, 再用丙酮洗沉淀两次, 室温干燥并贮存于 -20°C 备用。

1.3 SBE IIb 的提取及 SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳

参照 Rahman 等^[16]和 Laemmli^[17]的方法, 稍作修改。称取 100 mg 淀粉, 加 2 mL 提取 buffer (50 mmol L^{-1} Tris-HCl, pH 7.5, 5 mmol L^{-1} DTT, 10% SDS), 沸水浴 5 min, 于 4°C 下以 $15\,000\times g$ 离心 10 min, 将上清液转入另一个干净试管, 加 3 倍体积冷丙酮(-20°C), 冰浴中放置 1 h, 同上离心, 将沉淀于室温下干燥并重悬在 $100 \mu\text{L}$ 样品 buffer (62.5 mmol L^{-1} Tris-HCl, pH 6.8, 2% SDS, 5% 巯基乙醇, 10% 甘油)中, 上样电泳^[17]。分离胶浓度 7.5%, 浓缩胶浓度 5%, 恒流 25 mA, 上样量 $40 \mu\text{L}$, 考马斯亮蓝染色, 按 Yamamori 等^[18]的方法进行谱带命名, 用 BandsScan 5.0 对电泳酶谱进行扫描。

1.4 SBE IIb 回收和复性

参照 Hager 等^[19]、Denyer 等^[14]和 Dynan 等^[20]的方法并对 TED 缓冲液、复性缓冲液和复性时间作适当修改。用 1 mL 洗提 buffer (50 mmol L^{-1} Tris-HCl, pH 7.5, 0.1% SDS, 1 mmol L^{-1} EDTA, 5 mmol L^{-1} DTT, 150 mmol L^{-1} NaCl, 0.1 mg mL^{-1} 牛血清白蛋白)于 25°C 过夜洗提, 4°C 下 $15\,000\times g$ 离心 5 min, 上清液备用。用冷丙酮(-20°C)沉淀蛋白质, 沉淀经自然风干, 用 1 mL 80% 丙酮和 20% TED buffer (50 mmol L^{-1} Tris-HCl, 1 mmol L^{-1} EDTA, 1 mmol L^{-1} DTT)洗提一次。将沉淀溶解在 $20 \mu\text{L}$ 含 6 mol L^{-1} 盐酸胍的稀释 buffer (50 mmol L^{-1} Hepes-NaOH, pH 7.5, 1 mmol L^{-1} EDTA, 5 mmol L^{-1} DTT, 50 mmol L^{-1} NaCl, 5 mmol L^{-1} MgCl, 20% 甘油)中, 室温放置 1 h, 再用稀释 buffer 稀释 50 倍, 室温放置 12~16 h, 用于测定酶活性。

1.5 酶活性测定

参照李太贵的方^[21], 经适当改进。以反应缓冲液 (50 mmol L^{-1} Hepes-NaOH, pH 7.5, 5 mmol L^{-1} EDTA,

1 mmol L^{-1} DTT, 2 mmol L^{-1} KCl, 1% 聚乙烯吡咯烷酮 K-30), 保温 2 h, 沸水浴 1 min 终止反应。以波长 660 nm 下每降低 1% 碘蓝值为一个酶活性单位($\text{U mg}^{-1} \text{ DW h}^{-1}$), 所有测定均重复 3 次。

1.6 数据统计分析

采用 Microsoft Excel 2003 和 DPS (Data Processing System) 数据处理软件统计分析数据, 其中差异显著性采用 *t* 测验法, 多重比较采用 Duncan's 新复极差检测法。

2 结果与分析

2.1 淀粉粒结合蛋白 SDS-PAGE 分析

用含高浓度 SDS 的提取缓冲液于 100°C 彻底糊化淀粉就可以释放与淀粉粒紧密结合的蛋白质, 通过 7.5% SDS-PAGE 分离纯化, 考马斯亮蓝 R-250 染色, 检测到至少 4 种主要的淀粉粒结合蛋白(starch granule proteins, SGPs) (图 1), 命名为 SGP-1 (SGP-A1、SGP-D1 和 SGP-B1)、SGP-2、SGP-3 和 Waxy 蛋白^[18], 分子量分别为 $100\sim115$ ^[22]、85、75 和 60 kD ^[14, 16]。其中 SGP-2 是小麦籽粒发育过程中被包裹进淀粉粒内的 SBE IIb^[16, 22]。

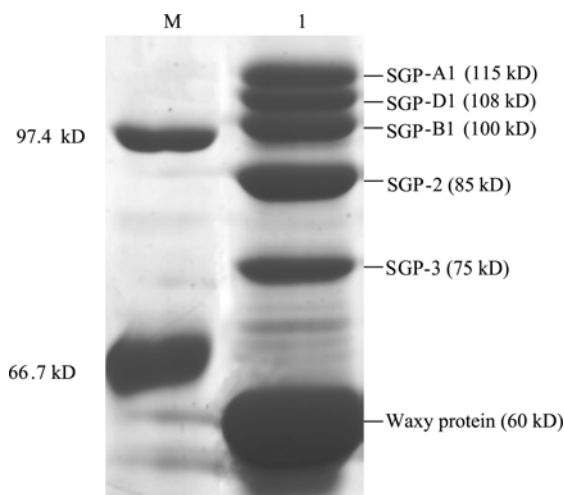


图 1 小麦淀粉粒结合蛋白 SDS-PAGE 分析
Fig. 1 Electrophoregram of SGP from immature wheat grain by SDS-PAGE

M: protein standard, 1: Emai 6.

2.2 SBE IIb 回收及复性

把电泳图谱中的主要蛋白带从凝胶中按从上到下的顺序切下回收, 用丙酮沉淀去除变性剂 SDS, 加微量盐酸胍(6 mol L^{-1})使肽链充分伸展, 然后再加入 50 倍盐酸胍体积的复性缓冲液快速稀释, SBE IIb 通过肽链重新折叠恢复原有空间结构即恢复活性。但是, 通过该复性程序回收的 SBE IIb 活性很低, 活性测定时需要更长的反应时间。相对于籽粒 SBE 表达高峰期测活需要 20 min 保温时间, 复性淀粉粒结合 SBE 活性测定需要 2 h。酶活性测定结果表明, 上述复性步骤可以从凝胶中回收 SBE 活性, 而且 85 kD 的谱带酶活性最大(图 2)。

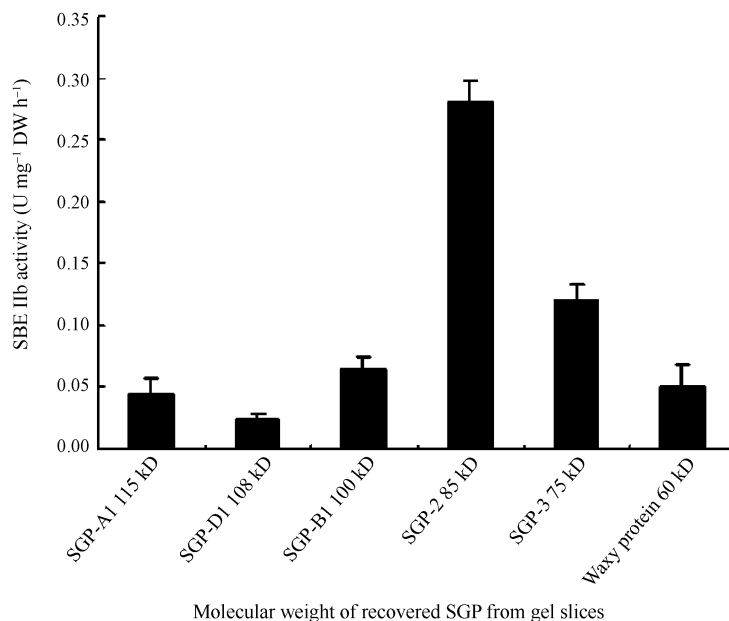


图 2 从凝胶中回收淀粉粒结合 SBE IIb 活性检测

Fig. 2 Activities of starch granule-bound SBE IIb reconstituted from the SDS-PAGE

2.3 小麦籽粒发育过程中 SBE IIb 活性分析

从花后 7 d 开始至花后 28 d, SBE 活性动态呈现单峰曲线, 其高峰出现在花后 21 d (图 3)。

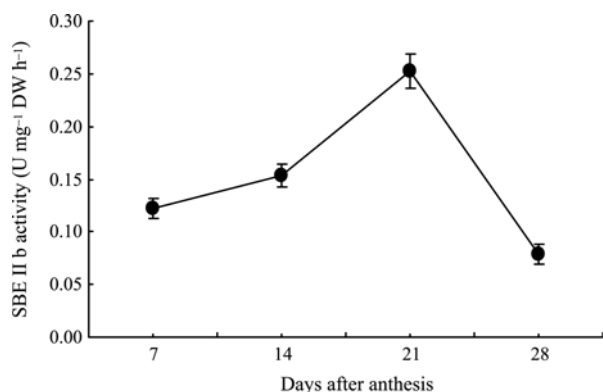


图 3 鄂麦 6 号籽粒发育过程中淀粉粒结合 SBE IIb 活性变化

Fig. 3 Activity changes of SBE IIb during grain filling period in Emai 6

2.4 小麦籽粒发育过程中 SBE IIb 表达分析

开花后 7 d 的 SGP-2 谱带最细, 且亮度暗, 说明 SGP-2 蛋白表达量最低, 其次为花后 35 d, 开花后 14~28 d 的表达量变化不大 (图 4)。应用 BandScan 5.0 凝胶分析软件对电泳图谱进行定量扫描, 结果如图 5 所示。在小麦籽粒发育的不同时期, SGP-2 的表达水平有差异。从花后 14 d 至 28 d, 其蛋白表达量差异不显著, 但有降低趋势。

2.5 SBE IIb 基因位点遗传多态性鉴定

在花后 21 d 的淀粉粒中, SGP-2 的表达模式品种间无差异, 所有测试品种都具有 85 kD 的酶带 (图 5), 即都具有 SBE IIb 基因位点。因此 SBE IIb 与 SBE IIa 一样, 不具有品种的遗传多样性, 但其表达量各品种有所不同。

3 讨论

在小麦籽粒发育早期, 淀粉粒未形成之前, SBE IIb 存在于造粉体可溶性基质中, 随着淀粉粒发育成熟, SBE

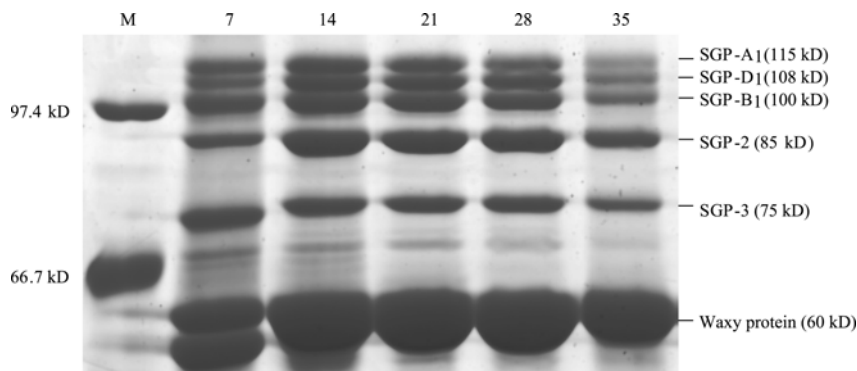


图 4 小麦籽粒发育过程中 SBE IIb 动态表达量分析

Fig. 4 Expression quantity of SBE IIb in developing wheat grain

M: protein standard; Variety: Emai 6.

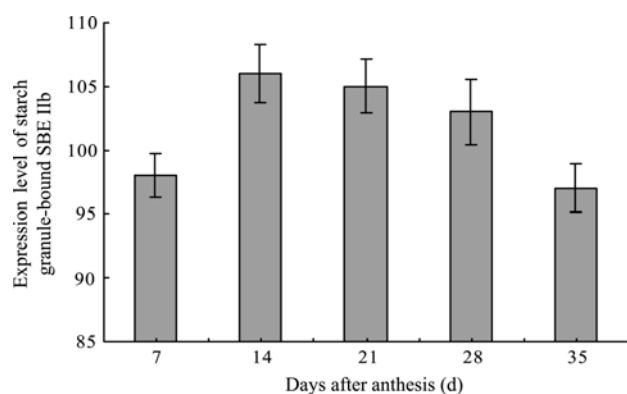


图5 鄂麦6号籽粒发育过程中淀粉粒结合SBE IIb表达量分析
Fig. 5 Analysis of expression quantity of SBE IIb during grain filling period in Emai 6

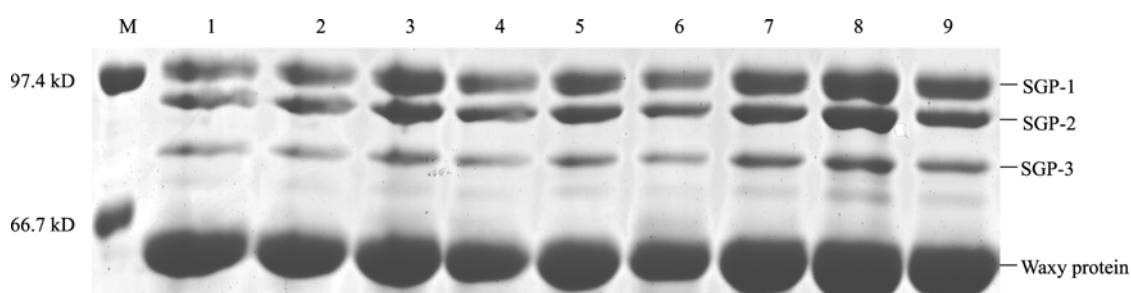


图6 部分小麦品种SBE IIb SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳图谱
Fig. 6 Electrophoretogram of SBE IIb in some wheat cultivars by SDS-PAGE

M: 蛋白质标准; 1: 宁春4号; 2: 中优9507; 3: 陕31; 4: 高加索; 5: 云麦34; 6: 鄂麦6号; 7: 台中23; 8: 阿夫; 9: 晋麦8号。
M: protein standard; 1: Ningchun 4; 2: Zhongyou 9507; 3: Shan 31; 4: Kavkaz; 5: Yunmai 34; 6: Emai 6; 7: Taizhong 23; 8: Funo; 9: Jinmai 8.

SGP-2表达量的检测时间不同, Rahman等是从花后13 d至34 d开始, 而本试验则从花后7 d开始; 三是淀粉量过少不能充分反应SGP积累的真实情况, Rahman等用10 mg淀粉提取SGP, 而本试验的淀粉用量为100 mg; 四是品种和实验条件可能对实验结果有影响。

在造粉体可溶性基质中的有关淀粉合成酶类, 并非全部能被其所催化合成的葡聚糖产物形成结晶而包裹, 只有有限的几种酶成为SGPs。淀粉合成酶这种空间分布的多样性一方面增加了研究SGP相应功能的困难; 另一方面也表明, 可溶性淀粉合成酶被淀粉粒所捕获并不是一种随机行为, 但也不是淀粉合成酶在支链淀粉合成过程中不可避免的结果。Yamamori等^[23]研究证明, 小麦SGP-1缺失突变使SGP-2和SGP-3大大减少, 从而导致直链淀粉含量发生变化(30.8%~37.4%)以及引起支链淀粉结构改变(短链增加而中长链减少)和淀粉粒结晶异常(偏光十字消失)。在水稻中, 当GBSS II从淀粉粒上释放出来后, 便失去了与底物UDPG结合的能力, 而与可溶性淀粉合酶(SSS)相似, 只与ADPG形成特异性结合^[24]。因此在籽粒发育过程中, 淀粉合成酶陷入淀粉粒内很可能增加其活性位点与葡聚糖链的亲合力^[25], 或者是形成支链淀粉结晶和淀粉粒层级包装所必需的步骤^[23]。但是, 导致

IIb被淀粉粒所捕获成为淀粉粒结合蛋白(SGP-2), 由于与淀粉合成底物ADP-葡萄糖(ADPG)相分隔, ADPG不能渗透进淀粉粒内, SBE IIb暂时不表现活性, 在淀粉合成中很可能不再行使功能^[14]。本研究表明, 一旦破坏淀粉粒结构, 释放淀粉粒结合的SBE IIb, 其酶活性立即恢复。

Rahman等^[16]研究表明, 在小麦籽粒发育的不同时期, SGP以恒定不变的比率蓄积, 在SDS-PAGE图谱上观察不到不同发育时期SGP积累差异。Mu-Forster等^[4]也证实, Waxy蛋白、淀粉合成酶I(SS I)和SBE II的积累在玉米籽粒发育的全过程中是几乎不变的。本研究结果却显示, 在小麦籽粒发育的不同时期SGP-2的积累表现出波动性, 与Rahman等和Mu-Forster等的研究结果不一致, 其可能原因, 一是正如小麦和玉米中SBE IIb的空间分布完全相反一样, 二者SBE IIb的积累规律可能不一致; 二是对

SBE IIb在造粉体可溶性基质与淀粉粒之间的时空分布因素及其机制是什么? Waxy蛋白催化的直链淀粉的合成恰恰发生在淀粉粒内已经合成的支链淀粉“基质”中, 那么对于具有相同亚细胞定位的SBE IIb和GBSS I是否形成蛋白质复合物在淀粉合成中具有相互作用等等都是值得在理论上深入研究的问题。本研究证明, SBE IIb近似组成性表达, 这从一个侧面佐证了SBE IIb在形成多酶复合物中的关键作用, 可能SBE IIb表达量的不同, 影响复合物行使功能的效率, 并最终决定淀粉合成的速率。

在小麦品质改良中, 产生与玉米 ae 突变体相同的高直链淀粉表型, 需要同时抑制编码SBE IIb和SBE IIa基因的表达^[26], 加之SBE IIb又与SBE I具有互作和协同效应, 那么鉴定 $sbe2b$ 基因与淀粉品质相关的序列标签位点(STS)或随机扩增酶切片长度多态性(CAPs)分子标记, 为遗传育种筛选不同淀粉含量的小麦品种提供快捷手段; SBE IIb究竟与SBE I的哪种同工酶形成多酶复合物参与胚乳淀粉合成并影响直/支比; A型和B型淀粉粒结合SBE IIb的量有什么差异, 这种差异是否会影响胚乳的质地和面粉品质? 这些问题的研究和实践不仅有助于更好地理解小麦胚乳淀粉合成的分子机制, 而且对小麦品质改良具有重要意义。

References

- [1] Baga M, Glaze S, Mallard C S, Chibbar R. A starch branching enzyme gene in wheat produces alternatively spliced transcripts. *Plant Mol Biol*, 1999, 40: 1019–1030
- [2] Yao D-N(姚大年), Li B-Y(李保云), Zhu J-B(朱金宝), Liang R-Q(梁荣奇), Liu G-T(刘广田). Study on main starch properties and predictive indexes of noodle quality in common wheat. *Sci Agric Sin* (中国农业科学), 1999, 32(6): 84–88(in Chinese with English abstract)
- [3] McCormick K M, Panozzo J F, Hong S H. A swelling power test for selecting potential noodle quality wheats. *Aust J Agric Res*, 1991, 42: 317–323
- [4] Mu-Forster C, Huang R, Powers J R, Harriman R W, Knight M, Singletary G W, Keeling P L, Wasserman B P. Physical association of starch biosynthetic enzymes with starch granules of maize endosperm. *Plant Physiol*, 1996, 111: 821–829
- [5] Satoh H, Nishi A, Yamashita K, Takemoto Y, Tanaka Y, Hosaka Y, Sakurai A, Fujita N, Nakamura Y. Starch-branching enzyme I-deficient mutation specifically affects the structure and properties of starch in rice endosperm. *Plant Physiol*, 2003, 133: 1111–1121
- [6] Guan H P, Preiss J. Differentiation of the properties of the branching isozymes from maize (*Zea mays*). *Plant Physiol*, 1993, 102: 1269–1273
- [7] Morell M K, Blennow A, Hashemi B K, Samuel M S. Differential expression and properties of starch branching nzyme isoforms in developing wheat endosperm. *Plant Physiol*, 1997, 113: 201–208
- [8] Regina A, Kosar H B, Li Z, Pedler A, Mukai Y, Yamamoto M, Gale K, Sharp P J, Morell M K, Rahman S. Starch branching enzyme IIb in wheat is expressed at low levels in the endosperm compared to other cereals and encoded at a non-syntenic locus. *Planta*, 2005, 222: 899–909
- [9] Stinard P S, Robertson D S, Schnable P S. Genetic isolation, cloning and analysis of mutator-induced, dominant antimorph of maize *amylose extender 1* locus. *Plant Cell*, 1993, 5: 1555–1566
- [10] Nishi A, Nakamura Y, Tanaka N, Satoh H. Biochemical and genetic effects of *amylase-extender* mutation in rice endosperm. *Plant Physiol*, 2001, 127: 459–472
- [11] Tetlow I J, Wait R, Lu Z X, Akkasaeng R, Bowsher C G, Esposito S, Hashemi B K, Morell M K, Emes M J. Protein phosphorylation in amyloplasts regulates starch branching enzyme activity and protein-protein interactions. *Plant Cell*, 2004, 16: 694–708
- [12] Nagamine T, Yoshida H, Komae K. Varietal differences and chromosome locations of multiple isoforms of starch branching enzyme in wheat endosperm. *Phytochemistry*, 1997, 46: 23–26
- [13] Zhao F-M(赵法茂), Bi J-J(毕建杰), Li T-J(李天骄), Pang X-Y(逄孝云), Wang X-Z(王宪泽). Relationship between isozyme genotypes and activities of starch branching enzyme in wheat grain. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2007, 33(11): 1850–1855 (in Chinese with English abstract)
- [14] Denyer K, Sidebottom C, Hylton C H, Smith A M. Soluble isoforms of starch synthase and starch-branching enzyme also occur within starch granules in developing pea embryos. *Plant J*, 1993, 4: 191–198
- [15] Denyer K, Hylton C M, Jenner C F, Smith A M. Identification of multiple isoforms of soluble and granule-bound starch synthase in developing wheat endosperm. *Planta*, 1995, 196: 256–265
- [16] Rahman S, Hashemi B K, Samuel M S, Hill A, Abbott D C, Skerritt J H, Preiss J, Appels R, Morell M K. The major proteins of wheat endosperm starch granules. *Aust J Plant Physiol*, 1995, 22: 793–803
- [17] Laemmli U K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 1970, 227: 680–685
- [18] Yamamori M, Endo T R. Variation of starch granule proteins and chromosome mapping of their coding genes in common wheat. *Theor Appl Genet*, 1996, 93: 275–281
- [19] Hager D A, Burgess R R. Elution of proteins from SDS-polyacrylamide gels, removal of SDS, and renaturation of enzymatic activity: Results with sigma subunit of *E. coli* RNA polymerase, wheat germ DNA topoisomerase, and other enzymes. *Anal Biochem*, 1980, 109: 76–86
- [20] Dynan W S, Jendrisak J J, Hager D A, Burgess R D. Purification and characterization of wheat germ DNA topoisomerase I (nicking-closing enzyme). *J Biol Chem*, 1981, 256: 5860–5865
- [21] Li T-G(李太贵), Shen B(沈波), Chen N(陈能), Luo Y-K(罗玉坤). Effect of Q-enzyme on the chalkiness formation of rice grain. *Acta Agron Sin* (作物学报), 1997, 23(3): 338–344 (in Chinese with English abstract)
- [22] Takaoka M, Watanabe S, Sassa H, Yamamori M, Nakamura T, Sasakuma T, Hirano H. Structural characterization of high molecular weight starch granule-bound proteins in wheat (*Triticum aestivum* L.). *J Agric Food Chem*, 1997, 45: 2929–2934
- [23] Yamamori M, Fujita S, Hayakawa K, Matsuki J, Yasui T. Genetic elimination of a starch granule protein, SGP-1, of wheat generates an altered starch with apparent high amylose. *Theor Appl Genet*, 2000, 101: 21–29
- [24] Baba T, Nishiara M, Mizuno K, Kawasaki T, Shimada H, Kobayashi E, Ohnishi S, Tanaka K, Arai Y. Identification, cDNA cloning, and gene expression of soluble starch synthase in rice (*Oryza sativa* L.) immature seeds. *Plant Physiol*, 1993, 103: 565–573
- [25] Commuri P D, Keeling P G. Chain-length specificities of maize starch synthase I enzyme: Studies of glucan affinity and catalytic properties. *Plant J*, 2001, 25: 475–486
- [26] Regina A, Bird D, Topping D, Bowden S, Freeman J, Barsby T, Hashemi B K, Li Z, Rahman S, Morell M. High amylose wheat generated by RNA-interference improves indices of large bowel health in rats. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103: 3546–3551