

## 带芒草属物种新型高分子量 谷蛋白亚基的鉴定

颜泽洪, 代寿芬, 魏育明, 郑有良

(四川农业大学小麦研究所, 四川都江堰 611830)

**摘要:** 采用 SDS-PAGE 方法对牧草带芒草属 3 个种 8 份材料的高分子量谷蛋白进行了检测和鉴定。结果显示, 带芒草物种具有的高分子量谷蛋白亚基与普通小麦中发现的不一样, 其迁移率存在较大差异。其中, x 型亚基均比 Dx2 亚基迁移率小或接近, y 型亚基均比 Dx12 亚基迁移率大。8 份材料中共发现了 4 种 x 型亚基新类型 (Tax1, Tax2, Tax3 和 Tax4), 5 种 y 型亚基新类型 (Tay1, Tay2, Tay3, Tay4 和 Tay5) 和 6 种亚基组合类型 (Tax1+Tay3, Tax3+Tay2, Tax4+Tay1, Tax1+Tay1, Tax2+Tay5, Tax4+Tay2), 该项研究结果揭示了带芒草属植物可能具有与普通小麦类似的高分子量谷蛋白亚基, 这些亚基在小麦品质遗传改良中具有潜在的利用价值。

**关键词:** 带芒草属; 高分子量谷蛋白亚基; SDS-PAGE 分析

**中图分类号:** Q512 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2005)04-0372-03

## Identification of novel high molecular weight glutenin subunits from *Taeniatherum*

YAN Ze-hong, DAI Shou-fen, WEI Yu-ming, ZHENG You-liang

(Triticeae Research Institute, Sichuan Agricultural University, Dujiangyan 611830, China)

**Abstract:** Eight accessions of 3 species of *Taeniatherum* were used for investigating high molecular weight glutenin subunits variations. High molecular weight glutenin subunits of *Taeniatherum* were found to be different from those of wheat, especially in terms of electrophoresis mobilities in SDS-PAGE. The mobilities of x type subunits of *Taeniatherum* were slower or close to that of Dx2 of wheat, and those of y type subunits were faster than that of Dy12 of wheat. Four x alleles (Tax1, Tax2, Tax3, Tax4) and 5 y alleles (Tay1, Tay2, Tay3, Tay4, Tay5) and 6 types of subunits combinations (Tax1+Tay3, Tax3+Tay2, Tax4+Tay1, Tax1+Tay1, Tax2+Tay5, Tax4+Tay2) were found in 8 accessions. Our results indicated that *Taeniatherum* species may contain HMW glutenin subunits similar to those of wheat and the *Taeniatherum* subunits may potentially be used for improving the end use qualities of wheat.

**Key words:** *Taeniatherum*; high molecular weight glutenin subunits; SDS-PAGE analysis

小麦族 (Triticeae) 是禾本科的一个重要的族, 包括小麦及其近缘属, 在小麦的近缘属中有很多改良小麦产量和品质性状的可供利用的基因。

高分子量麦谷蛋白是小麦及其近缘物种中的一种非常重要的种子贮藏蛋白, 与种子的生理功能密

切相关, 为种子发芽提供能量储备 (Peter 等, 1995)。

在普通小麦中, 高分子量麦谷蛋白的编码基因位于第 1 同源群染色体 (1A, 1B 和 1D) 的长臂, 统称为 Glu-1 (Payne 等, 1980, 1982)。决定这组高分子量麦谷蛋白亚基的基因位点在 3 条染色体上分别被

收稿日期: 2004-02-06 修订日期: 2004-11-20

基金项目: 高等学校优秀博士论文作者专项基金 (200458); 国家自然科学基金 (30370882); 四川省青年基金资助。

作者简介: 颜泽洪 (1970-), 男, 重庆石柱县人, 副研究员, 从事小麦遗传与育种研究。E-mail: zhyan104@163.com

定名为 Glu-A1, Glu-B1 和 Glu-D1。每个基因位点内包含两个紧密连锁的基因 (Payne 等, 1980, 1982)。一个编码分子量较大的亚基, 即 x 亚基。另一个编码分子量较小的亚基, 即 y 亚基。由于基因沉默效应, 普通小麦品种中通常有 3~5 个可以表达的高分子量谷蛋白亚基 (Payne 等, 1980, 1982)。每一个基因位点内的 x 和 y 型亚基又有多种等位变异形式 (Payne 等, 1980, 1982)。

在小麦面粉的加工品质中, 高分子量谷蛋白亚基的组成和含量具有至关重要的决定作用。特别是与面包烘烤的弹性有关 (Peter 等, 1995)。

在小麦族的物种中, 已经报道具有高分子量谷蛋白的有, 小麦属 (*Triticum*) (Payne 等, 1980)、山羊草属 (*Aegilops*) (Xie 等, 2001)、黑麦属 (*Secale*) (Shewry 等, 1985)、大麦属 (*Hordeum*) (Shewry 等, 1983)、簇毛麦属 (*Dasypyrum*) (Zhong 等, 1993)、偃麦草属 (*Elytriga*) (Lawrence 等, 1981) 等。但对于其它的一些近缘属物种, 特别是一些牧草, 目前尚未见报道其是否具有高分子量谷蛋白, 如果有, 它们是否与普通小麦中发现的高分子量谷蛋白基因具有类似和相近的功能?

带芒草属 (*Taeniatherum* Nevski, 染色体组 TaTa,  $2n=2x=14$ ) 是小麦族的成员之一, 小麦的近缘属。为一年生草本植物, 是一种重要的牧草。分布在法国南部、意大利、匈牙利、保加利亚、罗马尼亚、伊朗、阿富汗、土耳其等地。本属具有三个相近的种, 即女妖头带芒草 (*Taeniatherum caput-medusae* L. Nevski)、长发带芒草 (*Ta. crinitum* Schreber Nevski) 和糙稈带芒草 (*Ta. asperum* Simonkai Nevski), 均为二倍体。

在本研究中, 我们对带芒草属物种高分子量谷蛋白亚基进行了检测和鉴定, 表明在未见报道有高分子量谷蛋白亚基的带芒草属物种有分布。这为认识和利用带芒草属物种中的高分子量谷蛋白亚基奠定了基础。同时, 也开辟了一些牧草的新用途, 即可将其中的谷蛋白基因转移到普通小麦以改良小麦的品质。

## 1 材料与方 法

带芒草属的 3 个种均被用于高分子量谷蛋白亚基检测与鉴定。其中, 女妖头带芒草 (*Ta. caput-medusae* L. Nevski) 3 份、长发带芒草 (*Ta. crinitum*

Schreber Nevski) 3 份和糙稈带芒草 (*Ta. asperum* Simonkai Nevski) 2 份。以普通小麦品种川育 12 (高分子量谷蛋白亚基组成 1, 7+8, 5+10) 和中国春 (高分子量谷蛋白亚基组成 7+8, 2+12) 作为对照, 所有试验材料见表 1, 所有带芒草均由美国国家基因库 (USDA) 提供。

取半粒种子磨碎成细粉后加入 250  $\mu$ L 提取液 (0.062 5 mM Tris-HCl pH6.8, 2% V/V SDS, 10% V/V Glycerol, 2% V/V  $\beta$ -mercaptoethanol 和 0.002% V/V bromophenol blue) 其间混匀几次。10 000 rpm 离心 5 min, 取上清用于 SDS-PAGE 分析。电泳在 Bio-Rad mini-protean<sup>R</sup> 3 cell 仪器上进行, 胶浓度为 10%, 恒流 20 mA 直至溴酚蓝迁移出凝胶 30 min。用 1% coomssie<sup>TM</sup> brilliant blue R-250 染色, 用数码相机记录结果。

表 1 试验材料及来源  
Table 1 Materials and their origin

序号 Code	材料编号 Materials	属、种 Genus, species	采集地 Collection area
1	川育 12	<i>Triticum aestivum</i>	—
2	PI561091	<i>Taeniatherum aspeion</i>	Turkey
3	PI561094	<i>Ta. crinitin</i>	Afghanistan
4	PI561092	<i>Ta. aspeion</i>	Turkey
5	PI204577	<i>Ta. crinitin</i>	Turkey
6	PI205590	<i>Ta. crinitin</i>	Afghanistan
7	PI598389	<i>Ta. caput-medusae</i>	Turkey
8	PI577708	<i>Ta. caput-medusae</i>	Turkey
9	PI577710	<i>Ta. caput-medusae</i>	Turkey
10	中国春	<i>Triticum aestivum</i>	—

## 2 结果与分析

在 8 份带芒草材料中均检测到高分子量谷蛋白亚基 (图 1)。由于在此前没有对该物种高分子量谷蛋白亚基的报道, 为了说明其蛋白亚基的特征, 根据 SDS-PAGE 迁移率的差异, 参照普通小麦中命名高分子量谷蛋白亚基的方法, 按迁移率由小到大的顺序, 加上带芒草的属名的前 2 个字母, 将迁移率最小的 x 型亚基命名为 Tax1, 最小的 y 型亚基命名为 Tay1。依次类推。共发现 4 种 x 型亚基的等位变异, 即 Tax1, Tax2, Tax3 和 Tax4。它们均比 Dx2 亚基迁移率小或接近。4 种 y 型亚基的等位变异, 分别是 Tay1, Tay2, Tay3, Tay4, Tay5, 它们均比 Dx12 亚基迁移率大。6 种亚基组合类型, Tax1 + Tay3, Tax3 + Tay2, Tax4 + Tay1, Tax1 + Tay1,

Tax2+Tay5, Tax4+Tay2。

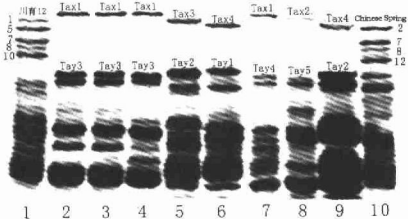


图1 带芒草物种高分子量谷蛋白亚基检测结果  
Fig. 1 SDS-PAGE analysis of high molecular weight glutenin subunits in *Taeniattherum*

### 3 讨论

无容置疑,优良牧草的主要用途是作为牲畜的饲料。但是,由于人们对小麦族资源的认识有限,特别是对一些与普通小麦亲缘关系较远的物种更是如此。由于通过常规方法要将这些物种中的基因转移到普通小麦中不容易实现。因而,目前还很少有人会将它们用作改良普通小麦品质的基因源。

而在本研究中,通过 SDS-PAGE 方法,我们证实了带芒草物种具有高分子量谷蛋白亚基,其 x 型亚基的迁移率与普通小麦 Dx2 亚基接近或更慢, y 型亚基的迁移率比普通小麦 Dy12 亚基的迁移率更快。在 8 份材料中检测到 4 种 x 型亚基变异, 5 种 y 型亚基变异, 6 种亚基组合。这说明带芒草物种具有类型丰富的高分子量谷蛋白。虽然目前尚不清楚这些高分子量谷蛋白亚基新变异类型的结构特点,但将它们用于改良普通小麦加工品质的改良是非常有潜力的。

在小麦和山羊草属等物种中克隆新的高分子量谷蛋白基因的分子克隆技术体系已经获得成功(Yan 等, 2002),以高分子量谷蛋白基因作为转基因基因源的表达载体的构建完成以及转基因技术体系的建立(Fredy 等, 1996; Francisco 等, 1997),为利用类似的方法来认识和利用这些尚未被发掘利用的

高分子量谷蛋白亚基新类型提供了可能。我们已经对带芒草属的其中一个居群所拥有的 x 和 y 型高分子量谷蛋白亚基基因进行了克隆和序列测定(另文报道),在普通小麦遗传背景中过量地表达这类谷蛋白新基因的转基因研究正在进行之中。

### 参考文献:

- Francisco B, Leonie R, Frank B, et al. 1997. Transformation of wheat with high molecular weight subunit genes results in improved functional properties[J]. *Nature Biotechnology*, 15: 1 295-1 299.
- Fredy A, Vimla V, Vibha S, et al. 1996. Integration and expression of the high-molecular-weight glutenin subunit 1Ax1 gene into wheat[J]. *Nature Biotechnology*, 14: 1 155-1 159.
- Lawrence GJ, Shepherd KW. 1981. Chromosomal location of genes controlling seed proteins in species related to wheat [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 59: 25-31.
- Payne PI, Law CN, Nudd EE. 1980. Control by homoeologous group 1 chromosomes of the high-molecular-weight subunits of glutenin, a major protein of wheat endosperm. [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 58: 113-120.
- Payne PI, Holt LM, Worland AJ, et al. 1982. Structural and genetical studies on the high-molecular-weight subunits of wheat glutenin III. Telocentric mapping of the subunit genes on the long arms of the homoeologous group 1 chromosomes [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 63: 129-138.
- Peter SR, Arthur ST, Francisco B, et al. 1995. Biotechnology of breed-making: unraveling and manipulating the multi-protein glutenin complex[J]. *Biotechnology*, 13: 1 185-1 190.
- Shewry PR, Finch RA, Parmar S, et al. 1983. Chromosomal location of Hor3, a new locus governing storage proteins in barley[J]. *Heredity*, 50: 179-189.
- Shewry PR, Bradberry D, Franklin J, et al. 1985. The chromosomal locations and linkage relationships of the structural genes for the prolamins storage proteins (secalin) of rye[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 69: 63-69.
- Xie RL, Wan YF, Zhang Y, et al. 2001. HMW glutenin subunits in multiploid *Aegilops*: composition analysis and molecular cloning of coding sequences[J]. *Chin Sci Bull*, 46(4): 309-313.
- Yan ZH, Wan YF, Liu KF, et al. 2002. Identification of a novel HMW glutenin subunit and comparison of its amino acid sequence with those of homologous subunits[J]. *Chin Sci Bull*, 47(3): 220-225.
- Zhong YG, Qualset CQ. 1993. Allelic diversity of high molecular weight glutenin protein subunits in natural populations of *Dasyphyrum villosus* (L.) Candargy[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 86: 851-858.