种子蛋白质基因工程

赵文明　　著



陕西科学技术出版社

需要全本请访问 www.ertongbook.com

国家自然科学基金资助项目

种子蛋白质基因工程

赵文明 著

陕西科学技术出版社
1995.1

(陕)新登字第 002 号

种子蛋白质基因工程

赵文明 著

陕西科学技术出版社出版发行

(西安北大街 131 号)

西北农业大学印刷厂印刷

787×1092 毫米 16 开本 印张:8.25 字数:18 万字

1995 年 1 月第 1 版 1995 年 1 月第 1 次印刷

印数:1—1,000

ISBN7—5369—0249—2/R·69

定价:9.50 元

前 言

种子蛋白质基因工程是一门新兴的学科，它是植物分子生物学的一个分支。众所周知，21世纪将是生命科学的世纪，分子生物学又是生命科学的前沿学科，所以种子蛋白质基因工程必将是下个世纪最有希望获得突破性成果的研究课题。我国是历史悠久的农业大国，深入开展种子蛋白质基因工程的研究，必将为下个世纪我国现代化农业奠定坚实的基础。

本书根据"谷类作物种子谷蛋白结构的研究"和"豌豆球蛋白基因向小麦体中转移的研究"两项国家自然科学基金资助项目的研究成果并综合汇集了种子蛋白质及其结构、种子蛋白质基因及其定位、植物基因的结构与表达等国内、外最新研究资料撰写而成。全书共八章。第一章叙述了种子蛋白质研究概况、种子蛋白质的分子进化、种子贮藏蛋白质基因结构与表达和种子蛋白质基因工程。第二章讲述了豌豆、大豆、蚕豆等15种豆科作物的种子蛋白质结构、生物合成与降解。第三章水稻种子蛋白质的结构、细胞定位、合成与降解。第四章小麦种子蛋白质的结构、分子进化、生物合成与降解。第五章小麦种子蛋白质基因及优质育种。第六章和第七章是植物基因的结构及表达调节机理。第八章种子蛋白质基因工程展望。

本书完稿时，我衷心地感谢曾将我引入生命科学研究殿堂的已故导师石声汉教授，同时还要感谢曾经指导、帮助和鼓励过我努力做研究工作的老师：王应睐教授、罗士韦教授、颜季琼教授、闵隆飞教授、李振声研究员以及英国朋友 D. Boulter 教授和加拿大朋友 M. M. Moloney 博士。

此外，西北农业大学朱新产助理研究员联系本书插图的绘制和文字校对工作。

种子蛋白质基因工程是一门新型学科，加之手边掌握的资料和水平有限，书中不足和不妥之处，恳切希望有关专家和读者批评指正。

赵文明

1995年元月于西安交通大学

目 录

第一章 种子蛋白质及其基因工程 …… (1)
第一节 种子蛋白质研究概况 …… (1)
一、禾谷类作物种子蛋白质 …… (2)
二、豆科作物种子蛋白质 …… (3)
三、油料作物种子蛋白质 …… (6)
四、瓜类作物种子蛋白质 …… (6)
第二节 种子蛋白质的分子进化 …… (7)
一、醇溶蛋白质的分子进化 …… (7)
二、单子叶植物与双子叶植物的进化关系 …… (9)
第三节 种子贮藏蛋白质基因的结构与表达 …… (9)
一、贮藏蛋白质基因的结构 …… (9)
二、豌豆种子贮藏蛋白质基因的表达 …… (12)
第四节 种子蛋白质基因工程 …… (12)
一、蛋白质工程的类别 …… (13)
二、应用基因工程手段改造种子蛋白质基因 …… (14)
三、种子蛋白质基因工程研究前景 …… (15)
第二章 豆科作物种子蛋白质 …… (16)
第一节 豆科作物种子蛋白质含量及其变化 …… (16)
一、豆科作物种子蛋白质的含量 …… (16)
二、豆科作物种子的氨基酸组成 …… (17)
第二节 豌豆种子蛋白质 …… (18)
一、豆球蛋白亚基的分离提纯及其一级结构 …… (18)
二、豌豆球蛋白的结构及其亚基的分离提纯 …… (20)
三、伴豌豆球蛋白的分离提纯及其氨基酸组成 …… (22)
第三节 大豆种子蛋白质 …… (23)
一、大豆球蛋白的结构及氨基酸组成 …… (23)
二、β伴大豆球蛋白的性质及氨基酸组成 …… (25)
第四节 其它豆类种子蛋白质 …… (26)
一、蚕豆种子蛋白质 …… (26)
二、菜豆种子蛋白质 …… (26)

需要全本请访问 www.ertongbook.com

三、花生种子蛋白质 …… (27)
四、羽扇豆种子蛋白质 …… (27)
五、四棱豆种子蛋白质 …… (28)
六、黑豆种子蛋白质 …… (28)
七、绿豆种子蛋白质 …… (28)
八、红豆种子蛋白质 …… (29)
九、赤小豆种子蛋白质 …… (29)
十、木豆种子蛋白质 …… (29)
十一、兵豆种子蛋白质 …… (29)
十二、鹰嘴豆种子蛋白质 …… (29)
十三、山黧豆种子蛋白质 …… (29)
第五节 豆类种子蛋白质的合成与降解 …… (29)
一、豆类种子蛋白质的生物合成 …… (29)
二、豆类种子蛋白质的降解 …… (30)
第三章 水稻种子蛋白质 …… (32)
第一节 水稻种子蛋白质含量与氨基酸组成 …… (32)
一、不同加工处理的水稻种子蛋白质含量与氨基酸组成 …… (32)
二、水稻种子蛋白质的氨基酸组成 …… (33)
第二节 水稻种子蛋白质的结构及研究技术 …… (33)
一、水稻谷蛋白 …… (34)
二、水稻球蛋白 …… (35)
三、水稻清蛋白 …… (36)
四、水稻醇溶蛋白 …… (37)
第三节 水稻种子蛋白质的细胞定位 …… (38)
一、蛋白体的类型与成分 …… (38)
二、种子蛋白质的组织定位 …… (38)
第四节 水稻种子蛋白质的生物合成与降解 …… (39)
一、水稻种子成熟过程中氨基酸含量的变化 …… (39)
二、胚乳发育时种子蛋白质的累积 …… (39)
三、水稻种子发育时蛋白质的生物合成 …… (40)
四、水稻种子蛋白质的降解 …… (41)
第五节 影响水稻种子蛋白质生物合成的因素 …… (42)
一、种子蛋白质含量与生育期的关系 …… (42)
二、蛋白质含量与蛋白质产量的关系 …… (43)
第六节 水稻种子蛋白质的遗传及育种 …… (43)
一、水稻种子蛋白质的遗传特性 …… (43)
二、水稻高蛋白突变育种 …… (44)
第四章 小麦种子蛋白质 …… (45)

第一节　小麦种子蛋白质含量及氨基酸组成 …… (45)
一、小麦种子蛋白质含量 …… (46)
二、小麦种子的氨基酸组成 …… (46)
三、小麦种子蛋白质含量与氨基酸总量的关系 …… (48)
第二节　小麦种子蛋白质的分类及其结构 …… (48)
一、小麦种子蛋白质的分类 …… (49)
二、小麦种子蛋白质的结构 …… (49)
第三节　小麦面筋蛋白的种类与特性 …… (50)
一、小麦种子蛋白质的品质 …… (50)
二、小麦面筋蛋白的种类 …… (52)
三、小麦面筋蛋白的特性 …… (53)
第四节　小麦面筋蛋白的分子进化 …… (53)
一、富硫醇溶蛋白 …… (53)
二、贫硫醇溶蛋白 …… (54)
三、HMW 麦谷蛋白 …… (55)
第五节　小麦种子蛋白质的生物合成与降解 …… (55)
一、小麦种子蛋白质的生物合成 …… (55)
二、小麦种子蛋白质的降解 …… (56)
第五章　小麦种子蛋白质基因及其优质育种 …… (58)
第一节　小麦种子蛋白质基因的定位 …… (58)
一、高分子量(HMW)麦谷蛋白亚基的基因位点(Glu－1) …… (58)
二、低分子量(LMW)麦谷蛋白亚基和 ω、γ 麦醇蛋白基因位点(Gli－1) …… (60)
三、α和β麦醇蛋白基因位点(Gli－2) …… (61)
四、稀有蛋白质基因 …… (62)
第二节　小麦种子蛋白质等位基因变异 …… (64)
一、等位基因变异的分子基础 …… (65)
二、等位基因变异对面筋质量的影响 …… (65)
第三节　小麦蛋白质的分子遗传学 …… (66)
一、同功酶的分子遗传 …… (67)
二、种子蛋白质的分子遗传 …… (68)
第四节　小麦优质育种 …… (69)
一、小麦的营养品质与加工品质 …… (69)
二、外界环境条件对小麦品质的影响 …… (71)
三、高温对小麦种子蛋白质生物合成的影响 …… (72)
第六章　植物基因的结构 …… (74)
第一节　高等植物基因组的结构 …… (74)
一、细胞核基因组的结构 …… (74)
二、细胞器基因组的结构 …… (76)

第二节 植物基因结构模式 …… (82)
一、植物蛋白质基因的结构 …… (82)
二、种子蛋白质基因的结构 …… (84)
第七章 植物基因的表达 …… (85)
第一节 植物基因表达的调控 …… (85)
一、植物基因的调节序列 …… (86)
二、植物基因转录产物的加工 …… (89)
第二节 植物基因表达的调节机理 …… (91)
一、初级传感器 …… (91)
二、第二信使系统 …… (93)
三、转录作用的调控 …… (93)
第三节 植物基因表达的研究方法 …… (95)
一、EMSA 法 …… (95)
二、足印实验 …… (96)
第八章 种子蛋白质基因工程展望 …… (97)
第一节 作物改良的简史 …… (97)
一、第一次绿色革命 …… (97)
二、第二次绿色革命 …… (98)
第二节 植物基因工程 …… (99)
一、现代植物育种的目标 …… (99)
二、植物基因工程 …… (99)
第三节 基因载体系统 …… (100)
一、农癌杆菌 Ti 质粒载体 …… (101)
二、植物病毒载体 …… (103)
三、嵌合基因载体 …… (106)
第四节 种子蛋白质基因工程展望 …… (106)
一、种子蛋白质基因工程研究进展 …… (106)
二、种子蛋白质基因工程研究展望 …… (107)
参考文献 …… (108)

Contents

Chapter 1. Seed Proteins and Gene Engineering ..... (1)

Ⅰ. A general Review for Seed Proteins ..... (1)

1. Cereal grain proteins ..... (2)

2. Legume seed proteins ..... (3)

3. Oil seed proteins ..... (6)

4. Melon seed proteins ..... (6)

Ⅱ. Molecular Evolution of Seed Proteins ..... (7)

1. Molecular evolution of prolamine ..... (7)

2. Molecular evolution of monocotyledon and dicotyledon ..... (9)

Ⅲ. Structure and Expression of Seed Storage Proteins ..... (9)

1. Gene structure of storage proteins ..... (9)

2. Gene expression of storage proteins from pea seeds ..... (12)

Ⅳ. Gene Engineering of Seed Proteins ..... (12)

1. Classification of protein engineering ..... (13)

2. A change of seed protein genes by gene engineering ..... (14)

3. Make scientific research on seed protein gene in future ..... (15)

Chapter 2. Legume Seed Proteins ..... (16)

Ⅰ. Contents and Changes of Seed Proteins from Legume ..... (16)

1. Protein contents of legume seeds ..... (16)

2. Amino acids from legume seeds ..... (17)

Ⅱ. Pea Seed Proteins ..... (18)

1. Purification and complete amino acid sequencing of Legumin subunits from pea seeds ..... (18)

2. Vicilin structure and purification of its subunits ..... (20)

3. Purification and amino acid composition of convicilin ..... (22)

Ⅲ. Soybean Seed Proteins ..... (23)

1. Structure and amino acids of glycinin ..... (23)

2. Qualities and amino acids of β—conglycinin ..... (25)

Ⅳ. Other Seed Proteins ..... (26)

1. Seed proteins from vicia faba ..... (26)

2. Seed proteins from phaseolus vulgaris ..... (26)

3. Seed proteins from peanuts ..... (27)

4. Seed proteins from lupinus albus ····· (27)
5. Seed proteins from psophocarpus tetragonolbus ····· (28)
6. Seed proteins from vigna mungo ····· (28)
7. Seed proteins from vigna radiata ····· (28)
8. Seed proteins from vigna unguiculata ····· (29)
9. Seed proteins from vigna angularis ····· (29)
10. Seed proteins from cajanus cajan ····· (29)
11. Seed proteins from leus esculenta ····· (29)
12. Seed proteins from cicer arietinum ····· (29)
13. Seed proteins from lathyrus sativum ····· (29)
V. Biosynthesis and Degradation of Legume Seed Proteins ····· (29)
1. Protein biosynthsis in legume seeds ····· (29)
2. Protein degradation in legume seeds ····· (30)
Chapter 3. Storage Proteins from Rice Grains ····· (32)
I. Protein Contents and Amino Acids of Rice Grains ····· (32)
1. Protein contents and amino acids from rice grains by different processing ····· (32)
2. Amino acids of rice seed proteins ····· (33)
I. Protein Structure and Analysis Methods for Rice Grains ····· (33)
1. Rice glutelin ····· (34)
2. Rice globulin ····· (35)
3. Rice albumin ····· (36)
4. Rice prolamine ····· (37)
II. Protein Cellular Location in Rice Grains ····· (38)
1. Types and composition of protein bodies from rice grains ····· (38)
2. Tissue location of seed proteins ····· (38)
N. Biosynthesis and Degradation for Rice Seed Proteins ····· (39)
1. Changes and contents of amino acids during developing of rice grains ····· (39)
2. Protein accumulation during developing of rice endosperm ····· (39)
3. Protein biosynthesis during development of rice grains ····· (40)
4. Protein degradation in rice grain ····· (41)
V. Factores of Influence on Rice Seed Protein Biosynthesis ····· (42)
1. The relation between seed protein contents and developing period of rice grains ····· (42)
2. The relation between protein contents and protein products ····· (43)
VI. Heredity and Breeding of Rice Seed Proteins ····· (43)
1. Genetic quality for rice seed proteins ····· (43)

2. Mutation breeding of high-protein quantities in rice grains ..... (44)
Chapter 4. Wheat Seed Storage Proteins ..... (45)
Ⅰ. Protein Contents and Amino Acids of Wheat Grains ..... (45)
1. Protein contents in wheat grains ..... (46)
2. Amino acids in wheat grains ..... (46)
3. The relation between wheat seed protein contents and amino acid quantities ..... (48)
Ⅱ. Classification and Structure of Wheat Seed Proteins ..... (48)
1. Classification of wheat seed proteins ..... (49)
2. Structure of wheat seed proteins ..... (49)
Ⅲ. Types and Features of Wheat Gluten ..... (50)
1. Wheat seed protein quality ..... (50)
2. Wheat gluten types ..... (52)
3. Wheat gluten character ..... (53)
Ⅳ. Molecular Evolution of Wheat Gluten ..... (53)
1. Rich-sulphur prolamine ..... (53)
2. Poor-sulphur prolamine ..... (54)
3. HMW glutenin ..... (55)
Ⅴ. The Protein Biosynthesis and Degradation in Wheat Grains ..... (55)
1. Protein biosynthesis in wheat grains ..... (55)
2. Protein degradation in wheat grains ..... (56)
Chaptev 5. Wheat Seed Protein Genes and High Quality Breeding ..... (58)
Ⅰ. Localization of Protein Genes in Wheat Grains ..... (58)
1. Gene locus of HMW glutenin (Glu-1) ..... (58)
2. Gene locus of LMW glutenin and ω,γ gliadin (Gli-1) ..... (60)
3. Gene locus of α and β gliadin (Gli-2) ..... (61)
4. Rare protein genes ..... (62)
Ⅱ. Allelic Variation of Storage Proteins from Wheat Grains ..... (64)
1. Molecular levels of allelic variation ..... (65)
2. Effect of allelic variation on gluten quality ..... (65)
Ⅲ. Molecular Genetics of Wheat Storage Proteins ..... (66)
1. Molecular genetics of isoenzymes ..... (67)
2. Molecular genetics of seed proteins ..... (68)
Ⅳ. Wheat High-Quality Breeding ..... (69)
1. The quality of nutrition and the process from wheat grains ..... (69)
2. Effect of the environment on wheat quality ..... (71)
3. Effect of high temperature on protein biosynthesis of wheat grains ..... (72)

需要全本请访问 www.ertongbook.com

Chapter 6. Plant Gene Structure ..... (74)
I. Genome Organization in Plants ..... (74)
1. Nuclear genome organization ..... (74)
2. Organellar genome organization ..... (76)
I. Structural Patterns of Plant Genes ..... (82)
1. Gene structure of plant proteins ..... (82)
2. Gene structure of seed proteins ..... (84)
Chaptev 7. Plant Gene Expression ..... (85)
I. Regulation of Plant Gene Expression ..... (85)
1. Regulatory seqences in plant genes ..... (86)
2. Processing of gene transcription product in plants ..... (89)
I. Regulatory Mechanisms of Gene Expression in Plants ..... (91)
1. Primary sensors ..... (91)
2. Secondary messengers ..... (93)
3. Control of tanscription ..... (93)
I. Detection of Plant Gene Expression ..... (95)
1. EMSA assays ..... (95)
2. Foot—print assays ..... (96)
Chaptev 8. Prospects for The Gene Engineering of Seed Proteins ..... (97)
I. Review for The History of Crop Breeding ..... (97)
1. First green revolution ..... (97)
2. Secondary green revolution ..... (98)
I. Plant Gene Engineering ..... (99)
1. The aim of modern plant breeding ..... (99)
2. Plant gene engineering ..... (99)
I. Gene Vehicle Systems ..... (100)
1. Ti plasmid vectors ..... (101)
2. Vector for plant virus ..... (103)
3. Chimaeric gene vectors ..... (106)
N. Seed Protein Gene Engineering with Brilliant Prospects ..... (106)
1. The progress of making scientific researches on seed protein gene engineering ..... (106)
2. Making scientific researches on seed protein gene engineering with brilliant prospects ..... (107)
References ..... (108)

第一章　种子蛋白质及其基因工程

种子蛋白质是研究最早的一种植物蛋白质。种子蛋白质组分及结构比较稳定，并具有种的特异性，生长条件和季节变动很难影响种子蛋白质的组分和结构。蛋白质是基因表达的产物，基因位于染色体上，分析不同基因型的种子蛋白质组分，可以进行某一特定基因的染色体定位。例如，中国春(Chinese spring)小麦缺 1A 染色体，只有 1D 和 1B 染色体，如果以中国春小麦的种子蛋白质组分为标准，就可以进行小麦种子蛋白质基因在染色体上的定位。其次，从遗传角度看，一个栽培品种和它的野生种同属一个种的不同成员，应该具有相同的基因型和相似的种子蛋白质组分。即蛋白质是基因的标志，它能反映基因组的某些特性。因此，种子蛋白质可以作为植物系统分类和品种鉴定的可靠依据。目前，许多研究者应用这个原理进行了植物系统分类学研究，搞清楚了许多植物种的起源，有力地支持了形态学、细胞学和育种学的研究结果。

种子蛋白质的研究不仅与品种鉴定、植物分类、基因定位有关，而且对植物基因工程研究具有重大意义。由于种子蛋白质的性质比酶蛋白更稳定，而且种子蛋白质的数量大，所以很容易从种子中提取分离纯化出种子蛋白质，以研究种子蛋白质的结构与组分。其次，种子形成发育过程中，种子蛋白质合成的速度最快，此时种子蛋白质 mRNA 数量也最多，很容易分离提纯出种子蛋白质 mRNA，并利用反转录酶或 PCR 技术，就可以将种子蛋白质 mRNA 转变成 cDNA，然后再进行 cDNA 序列分析。再根据三联体密码和 cDNA 序列资料就可以预测 cDNA 所编码的蛋白质一级结构。如果所予测的一级结构与种子中天然存在的某种蛋白质一级结构相吻合，则此 cDNA 就是编码该蛋白质的基因。最后以该 cDNA 作探针进行 Southern 印迹试验，就能探明种子蛋白质基因的数目和位置；同时还可以利用该 cDNA 进行基因重组、转化的种子蛋白质基因工程研究。例如，Tox(1984)已将云扁豆蛋白质基因转入向日葵中。Boulter 等(1989)将胰蛋白酶抑制剂基因转入烟草并在叶片中表达，已培育出抗虫的烟草新品种。所以种子蛋白质基因工程研究前景广阔，种子蛋白质基因工程研究的进展速度直接关系着第二次绿色革命的进程。

第一节　种子蛋白质研究概况

自从 Beccari(1745)从小麦面筋中分离提取出麦谷蛋白至今，种子蛋白质的研究历史已经垮越了两个半世纪。但是，长期以来种子蛋白质的研究并未引起人们的足够重视，所以种子蛋白质的研究资料远远少于其它植物蛋白。近年来，随着人们对种子蛋白质需求量的增加和高速离心、电泳、柱层析、放射自显影、分子杂交等先进技术的应用，使得种子蛋白质结构的研究与基因工程密切结合起来，从而使得种子蛋白质的研究工作有了长足的

进展。

种子蛋白质分为两大类：贮藏蛋白质(Storage Protein)和"家政"蛋白质("House-keeping" Protein)(Higgins，1984)。贮藏蛋白质是种子蛋白质的主要成分，它在种子形成发育时期大量累积；在种子萌发时，它又很快被水解并为幼苗早期生长提供还原性的氮源。"家政"蛋白质在种子中的含量很少，但对于维持种子的正常代谢活动却是必不可少的。通常根据蛋白质的溶解性，将种子蛋白质分为四类：溶于水的清蛋白(albumin)、溶于盐溶液的球蛋白(globulin)、溶于醇溶液的醇溶蛋白(prolamin)和溶于酸或碱溶液的谷蛋白(glutelin)(Osborne，1895)。此外，还有人将种子蛋白质分为三类：1、主要贮藏蛋白质(major storage protein)。它是种子蛋白质的主要成分，其量超过种子蛋白质总量的 80%。通常认为主要贮藏蛋白质的作用是被动的，仅当种子萌发时它才作为合成新蛋白质的原料。2、代谢蛋白(metabolic protein)、酶(enzyme)和结构蛋白(structural protein)。它们在种子中的含量虽少，但却担负生长过程中所进行的一切代谢活动，所以是一类很重要的蛋白质。3、外源凝集素(lectin)和胰蛋白酶抑制剂(trypsin inhibitor)。它们是种子中含量最少的一类蛋白质，在体外实验时表现出一定的反应活性，它们在种子中的作用还不甚清楚。一般讲：双子叶植物种子蛋白质主要是球蛋白，单子叶植物种子蛋白质主要是醇溶蛋白和谷蛋白；但也有例外，燕麦种子蛋白质主要是球蛋白，水稻种子蛋白质主要是谷蛋白。

一、禾谷类作物种子蛋白质

禾谷类作物是世界上栽培面积最大、产量很高的一类农作物。它包括水稻、小麦、大麦、燕麦、玉米、高粱、谷子等。它们的蛋白质平均含量为：水稻 9%、小麦 12%、大麦 12%、燕麦 13%、玉米 9%、高粱 10%、谷子 10%(F. A. O. 1970)。除过水稻和燕麦外，禾谷类作物种子蛋白质都以醇溶蛋白为主，小麦、大麦、玉米、高粱等种子蛋白质中的醇溶蛋白都聚集于蛋白体内。醇溶蛋白含大量脯氨酸和谷酰胺；而人体营养所必需的赖氨酸、色氨酸等必需氨基酸含量很少，从而使这些农作物的营养价值降低。

1、*水稻种子蛋白质*。据菲律宾国际水稻研究所的报道：水稻种子蛋白质中，谷蛋白占 80%、球蛋白 10%、醇溶蛋白 5%、清蛋白 5%(Juliano 等，1968、1973、1976、1981)。水稻种子谷蛋白主要由分子量 36kD 的 α 酸性亚基和分子量 22kD 的 β 碱性亚基通过双硫键相结合(Juliano 等，1976；Boulter 等，1982)。通过蛋白质一级结构的研究，发现水稻谷蛋白与豌豆豆球蛋白(Legumin)具有同源性(赵文明等，1983；1988)。通过不同抗性水稻品种种子谷蛋白高级结构的研究，还观察到：分子量 36kD 和 33kD 两种靠双硫键结合的水稻谷蛋白与种子萌发、抗病性、抗低温性有关(赵文明等，1985)。

2、*小麦种子蛋白质*。据报道，小麦种子不同部位所含的蛋白质数量不同：胚含蛋白质 30%、糊粉层 20%、胚乳外层 13. 7%、胚乳中层 8. 8%、胚乳内层 6. 2%(Boulter 等，1982)。小麦种子蛋白质中主要是麦醇蛋白(gliadin)和麦谷蛋白(glutenin)。麦醇蛋白决定小麦面粉所作面团的粘性、延展性和发酵质量，它占小麦种子蛋白质总量的 40%。根据电泳迁移率，可将麦醇蛋白分为四类：α 麦醇蛋白、β 麦醇蛋白、γ 麦醇蛋白和 ω 麦醇蛋白(Okite 等，1982)；麦谷蛋白决定面筋的弹性和面包的烘烤质量，它占种子蛋白质总量的 46%。通过凝胶过滤层析柱，可将麦谷蛋白分成两类：高分子量(HMW)麦谷蛋白和低分

子量(LMW)麦谷蛋白。一般讲，麦醇蛋白含量高的面粉适宜于制作饼干和面条，麦谷蛋白含量高的面粉适宜于作面包。最近，Blumenthal(1993)报道，小麦灌浆期遇到 40℃高温，会产生热胁迫反应，热胁迫反应促进麦醇蛋白的生物合成，降低麦谷蛋白的生物合成，从而降低小麦面粉加工成面包的烘烤品质。

3、*大麦种子蛋白质*。大麦种子中醇溶蛋白占种子蛋白质总量的 50%，它的分子量为 20—86kD。大麦醇溶蛋白分为两类：大麦醇溶蛋白 I 和大麦醇溶蛋白 I 。用凝胶层析柱、电泳等技术可将大麦醇溶蛋白分为四组：A、B、C、D。其中 B 和 C 组分是大麦醇溶蛋白的主要部分，它们占大麦醇溶蛋白总量的 95%。大麦醇溶蛋白 I 含 A 和 C 组分；大麦醇溶蛋白 I 含 B 和 D 组分。它们的分子量是：A 组分 20kD、B 组分 30—51kD、C 组分 57—86kD、D 组分 105kD。其中 B 组分是富含硫的蛋白质，它们含有 2.5%半胱氨酸和 0.6%蛋氨酸；A 组分含有大量赖氨酸、精氨酸、蛋氨酸和半胱氨酸；C 组分缺乏半胱氨酸和蛋氨酸。B 和 C 大麦醇溶蛋白基因紧密串联在一起，它们位于染色体 5 的短臂上；D 大麦醇溶蛋白位于染色体 5 的长臂上(Shewry 等，1984)。此外，大麦种子中还含有少量清蛋白和球蛋白。

4、*燕麦种子蛋白质*。燕麦种子以球蛋白为主，它占燕麦种子蛋白质总量的 80%，燕麦球蛋白的沉降系数为 12S，分子量为 320 kD。它由 6 个 α 亚基和 6 个 β 亚基聚合成高分子聚合物。在结构上，燕麦球蛋白与双子叶植物种子球蛋白相似，在氨基酸组成上，燕麦球蛋白与其它谷类作物种子球蛋白不同；燕麦球蛋白中赖氨酸含量较少、而脯氨酸含量高(Larknis 等，1980)。

5、*玉米种子蛋白质*。玉米种子蛋白质以醇溶蛋白为主(占种子蛋白质总量的 60%)。在玉米醇溶蛋白(Zein)中，谷酰胺、亮氨酸、丙氨酸和脯氨酸等的含量占氨基酸总量的一半以上；而赖氨酸和色氨酸含量较低。通过 SDS—PAGE 分析，玉米醇溶蛋白分成 A、B、C、D 四个组分。其中 A 组分 20kD、B 组分 22kD、C 组分 14kD、D 组分 10kD。玉米醇溶蛋白主要由 A 和 B 两个组分构成，它们占玉米种子醇溶蛋白的 80—90%，C 组分和 D 组分含量较少。玉米醇溶蛋白位于胚乳细胞内的蛋白体中。应用玉米醇溶蛋白 cDNA 作探针进行原位杂交，测定了玉米醇溶蛋白基因在染色体上的位置：22kD 玉米醇溶蛋白基因位于染色体 4 的长臂末端；20kD 玉米醇溶蛋白基因位于染色体 4 长臂的近端、染色体 10 的长臂和染色体 7 的短臂上。

二、豆科作物种子蛋白质

豆科作物种子蛋白质含量约 30—40%，其中球蛋白含量最高，约占种子蛋白质总量的 70%。在豌豆和花生种子中，清蛋白含量可达 20%。豆类种子蛋白质还可分为豆球蛋白(Legumin)和豌豆球蛋白(vicilin)。

1、*豌豆种子蛋白质*。豌豆种子蛋白质中以 11S 豆球蛋白和 7S 豌豆球蛋白为主，它们占整个种子蛋白质的 60—70%。其次还有伴豌豆球蛋白。11S 豆球蛋白与 7S 豌豆球蛋白的免疫学特性明显不同，而伴豌豆球蛋白的免疫学特性与豌豆球蛋白相似。豌豆种子的这三种类型蛋白质都位于子叶的蛋白体内。豆球蛋白的分子量是 380—410kD，它由分子量 60kD 的 6 对亚基构成(图 1—1)。每对亚基又由一个酸性 α 亚基(38kD)和一个碱性 β 亚基(21kD)通过双硫键连接在一起。在还原条件下电泳，60kD 亚基解离出 α 亚基和 β 亚

基，其中α亚基表现出很明显的异质性，而β亚基异质性不太明显。Matta 等(1981)将豆球蛋白α亚基分成二类：大的α亚基(分子量 40—43kD)和小的α亚基(分子量 24—25kD)。每个α亚基都与特异的β亚基配对，而形成 3 种类型α—β豆球蛋白六聚体，现已鉴定出 22 个α亚基和 11 个β亚基；并已查明，α亚基基因是紧密连接在单个基因位点上，其中大的α亚基基因和小的α亚基基因是彼此无关的。它们的基因位点分别是：Lg—1、Lg—2 和 Lg—3，其中 Lg—1 基因位点是在染色体 7 上，它与园/皱基因位点相距 17 个图距单位(Matta 和 Gatehouse，1982)。

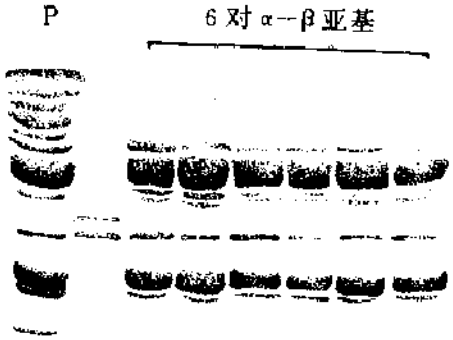

图 1—1　豌豆豆球蛋白质 SDS—PAGE

P：提纯的豌豆种子豆球蛋白；Ⅰ—Ⅵ：通过柱层析分离出的 6 对豆球蛋白α—β亚基

豌豆球蛋白具有高度的同源性。它的分子量是 145—170kD(Gatehoue 等，1981)。但是应用 SDS 电泳分析却呈出多谱带现象，这些谱带的相应分子量是 50kD、33kD、19kD、16kD、13.5kD、12.5kD。此外还有谱带颜色较浅的 35kD 和 31kD；伴豌豆球蛋白的分子量是 210—280kD，它是由 70kD 亚基组成的三聚体或四聚体分子(Croy 等，1980)。Gatehouse 等(1982)提出豌豆球蛋白结构模型，他认为豌豆球蛋白的基本结构单位是 50kD 亚基，这种 50kD 亚基上含有易受蛋白酶降解的切口。这些不同切口降解的结果，便出现各种亚基的不同组合，故出现分子量多种多样的豌豆球蛋白分子。豌豆球蛋白是在粗内质网上合成，它的前导序列在运转过程中被切除掉。豌豆球蛋白是一种糖蛋白，它是在内质网内发生糖基化作用。

Croy 等(1984)从λ基因文库中分离出四种不同的豆球蛋白基因：LegA、LegB、LegC 和 LegD。通过限制性酶解图谱和 Southern 印迹分析，发现β亚基基因中有一个 100 碱基对长的内含子，α亚基基因中有 2 个内含子(每个长 88 碱基对)。同时发现 LegA 基因具有转录活性，它的 5′端非翻译区含有 TATA 盒和 CAAT 盒(Lycett 等，1984)。

2、蚕豆种子蛋白质。蚕豆种子以豆球蛋白为主要蛋白质。该蛋白质由 2 条 37kD 的酸性亚基与 3 条 20kD、21kD、和 24kD 的碱性亚基通过双硫键结合成三个二连环中间体亚基(分子量分别为 62kD、60kD、48kD)，此中间体亚基通过离子键进一步聚合形成杂合六聚体(12.35S，319kD)，该 6 聚体又能进一步聚合成 17.2S，599 kD 的 12 超聚体；因此，蚕豆种子中还含有豌豆球蛋白，它在 SDS—PAGE 图谱上表现出多条带现象。N 端氨基酸序列分析表明：蚕豆种子豌豆球蛋白仅有 4 个亚基，这 4 个亚基分别形成单聚体、二聚体和多聚体。这些不同的聚合体同时存在，并随种子形成发育过程而发生变化，从而使蚕豆

种子 7S 豌豆球蛋白电泳图谱出现极复杂的情形。

3、大豆种子蛋白质。大豆种子以 11S 豆球蛋白(又叫大豆球蛋白)和 7S 豌豆球蛋白(又名β伴大豆球蛋白)为主。其次还有 7S 碱性球蛋白和γ伴大豆球蛋白及清蛋白、大豆外源凝集素、胰蛋白酶和胰凝乳蛋白酶抑制剂、脲酶等。在大豆种子蛋白质中:大豆球蛋白占 40%、β伴大豆球蛋白占 30%、α伴大豆球蛋白占 15%、γ伴大豆球蛋白占 3%。在不同的大豆栽培品种中,大豆球蛋白与β伴大豆球蛋白的比例为 3∶1 到 1∶1。大豆球蛋白和β、γ伴大豆球蛋白都位于子叶的蛋白体内。大豆球蛋白的分子量为 360kD,由六对亚基(每对亚基的分子量约 60kD)组成。每对亚基由一个酸性α亚基(37kD)和一个碱性γ亚基(22kD)通过双硫键连接而成。当在还原条件下(加巯基乙醇)电泳时,每对亚基又可解离出α亚基和β亚基。大豆球蛋白分为Ⅰ和Ⅱ两种类型,同一类型的同源程度很高(85—90%),而不同类型的同源性只有 50%。此外,大豆球蛋白类型Ⅰ含较多蛋氨酸,因此有人提出用类型Ⅰ代替类型Ⅱ,以改善大豆的营养品质。大豆球蛋白是在与膜结合的多核糖体上合成,刚合成的大豆球蛋白前体有 3 种,分子量为 58—63 kD,而且每个大豆球蛋白前体分子都有 10—20 个氨基酸的前导序列,此前导序列在蛋白质运输过程中起重要作用,当运输过程结束时,此前导序列立即被切除掉。大豆球蛋白前体分子先装配成 7S 大豆球蛋白三聚体,然后才组装成 11S 大豆球蛋白六聚体。

α伴大豆球蛋白是一种 LMW(低分子量)的 2S 球蛋白,它是一种单体蛋白;γ伴大豆球蛋白是一种 7S 糖蛋白,分子量 104 kD,约含 5%的糖;β伴大豆球蛋白是由 3 种亚基(α、α'和β)组成 7S 豌豆球蛋白,分子量 140—210kD。这 3 种亚基的分子量为:α亚基 54—76kD,α'亚基 54—86kD,β亚基 40.5—53kD。β伴大豆球蛋白为复基因家族所编码。它也是在与膜结合的多核糖体上合成,其前导序列是在内质网向蛋白体运输过程中被切除。Meinke 等(1981)发现,β伴大豆球蛋白 mRNA 的转录要比大豆球蛋白 mRNA 早些。据报道(Nielsen,1984):大豆球蛋白的基因的核苷酸序列中有"TATA"和"CAAT"序列盒,还有 18 个氨基酸的前导序列,3 个内含子(238、292 和 624 碱基对),5'端 43 碱基对的非翻译区和 3'端 226 碱基对的非翻译区。

4、菜豆种子蛋白质。菜豆种子蛋白质以 7S 球蛋白为主,它在成熟种子的蛋白质中可高达 50%。它的名称多种多样:如称菜豆蛋白、糖蛋白Ⅰ、G_1、豌豆球蛋白等等。菜豆蛋白是糖蛋白,它含 3—5%的糖,分子量 140—160kD,它由分子量 43—53kD 的亚基组成。菜豆蛋白亚基是在粗内质网上合成,它的前导序列是在由内质网向蛋白体内运输转移时切除掉。Southern 印迹分析表明:菜豆的每个单倍体基因组含有 7—14 个基因拷贝数。应用菜豆蛋白基因克隆进行的基因工程实验中,已成功的证明了种子蛋白质基因转移的可能性。当把菜豆蛋白基因拼接到章鱼碱合酶基因的 5'端,然后通过 Ti 质粒转化系统进行转化,就可得到具有免疫沉淀反应的菜豆蛋白多肽。这些结果表明,菜豆蛋白基因或带有章鱼碱合酶启动基因的菜豆蛋白基因都可以成功的进行转移和表达。

5、羽扇豆种子蛋白质。羽扇豆种子蛋白质是由 3 类亚基(α、β、γ)组成。α羽扇豆球蛋白(11s)由分子量 55—80kD 的 4—5 个亚基非共价键结合而成;β羽扇豆球蛋白是羽扇豆中最主要的成分,它由分子量 20—60kD 的 10 个以上亚基组成,这种球蛋白分子中缺乏二硫键;γ羽扇豆球蛋白由 17kD 和 30kD 两种亚基组成,这两种亚基通过双硫键结合成

需要全本请访问 www.ertongbook.com