优质高蛋白稻米胚乳蛋白高营养组分的研究

刘奕田 赖 军 陈由慈 (华南农业大学农业生物系,510642,广州)

摘要 本文在用双垂直板等电聚焦一聚丙烯酰胺凝胶电泳 (isoelectrofocusing - polyacrylamide gel electrophoresis, IEF-PAGE) 和双波长自动层析扫描仪对 5个品种优质高蛋白稻米胚乳蛋白全组分作定性定量基础上,对其中的一个代表品种的胚乳全蛋白组分进行制备 IEF-PAGE; 经扫描定性定量后,按 5个 PI 范围——PI8.6~7.8, PI7.4~6.6, PI6.6~5.8, PI5.8~5.0, PI5.0~4.0,分别洗脱各蛋白组分;用氨基酸自动分析仪测定它们的氨基酸种类与含量; 依 FAO/WHO 标准,计算各 PI 范围蛋白组分的必需氨基酸配比.结果表明, PI5.8~5.0蛋白组分的氨基酸配比最佳(营养价值最高),其次的是 PI6.6~5.8,最差的是 PI7.4~6.6。本文与彻底弄消籼稻胚乳中最高营养的蛋白组分的氨基酸顺序,以便通过分子育种等途径更有效地改良稻米营养品质关系密切。

关键词 优质稻米; 胚乳蛋白; 必需氨基酸配比中图分类号 S511.210.1

质最重要的要素是胚乳蛋白的含量特别是其必需氨基酸的配比。

全球超 20 亿人以稻米为主食。稻米为这部分人类提供 60% 以上的能量和 40% 以上的蛋白质。稻米(糙米)总蛋白量的 85% 以上集中在胚乳(纯精米)。从人体营养角度,稻米品

传统的研究稻米的营养品质,总是以测定整米粒的总蛋白量及其氨基酸的种类与含量为根据。近年一些报道用新的电泳法研究水稻蛋白质,主要是着眼于分类或进化,对一般水稻品种、类型的整米粒或花粉粒的蛋白电泳图谱,进行定性的比较分析 (Guo et al, 1986; Sarker et al,1984, Gay et al, 1986; Chen 1991);或从方法学角度,证明一粒米或一个胚通过双向电泳可分出数百种以上的蛋白谱带(孙崇荣等,1987)。也有应用统计学方法,研究不同品种整米粒的总蛋白量及其氨基酸种类含量与水稻生育环境的关系 (Петиб ская, 1985)。

与传统的稻米营养品质研究和上述文献报道的研究不同,本研究的特点主要是:着重弄清优质高蛋白品种(非一般品种)的稻米胚乳蛋白组分的 PI(等电点)分布状况;阐明各个 PI 范围蛋白组分的含量、特别是它们的必需氨基酸的种类与含量;按 FAO/WHO 评判蛋白质营养价值的国际标准,比较不同 PI 范围蛋白组分的营养水平;能与进一步深入到分子水平搞清稻米胚乳蛋白中最高营养组分的氨基酸顺序——进而通过分子育种(基因工程育种)等途径,更有效地提高稻米营养品质,产生密切联系。

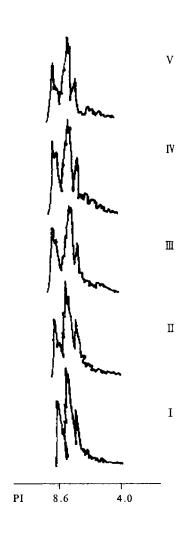
1 材料与方法

1.1 挑选广东省内外 5 个典型优质(精整米率高,直链淀粉率低,米粒透明,米饭洁白有光泽,口感香甜软滑)高蛋白(糙米蛋白含量 10% 以上)的籼稻 (indica rice)品种——华 03、华

1993-08-23 收稿



2.2 由 1.3 得到的双竹粘胚乳蛋白组分等电聚焦制备电泳图谱与图 $1 \ge IV$ 一致(图谱略), 其扫描图谱并按 $5 \curvearrowright PI$ 范围划分, 如图 3.



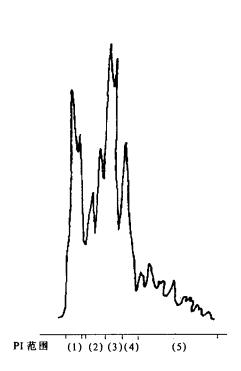


图 3 双竹粘胚乳蛋白等电聚焦制备电泳结果及其 5个 PI 范围组分的扫描图谱 (1) PI8.6~7.8; (2) PI7.4~6.6; (3) PI6.6~5.8; (4) PI5.8~5.0; (5) PI5.0~4.0

图2 5个品种稻米胚乳蛋白组分IEF-PAGE 结果扫描图谱比较(I.I ··· V 代表品种)

2.3 1.4 与 1.5 的试验结果列于表 1。

	AN OF the THE ALL AND MAN AND A	L+L\ 07 m m T L = A	w # B / / / / /	H-64-1-1-1-1
表1	优质高蛋白稻米(双	7粨)肚乳蛋日5个	PI 沧围组分的氨a	基酸种类与含 茧

与甘蓝红米	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)
氨基酸种类	PI8.6~7.8	PI7.4~6.6	PI6.6~5.8	PI5.8~5.0	PI5.0~4.0
天冬氨酸(Asp)	3.778	2.183	5.576	2.654	3.797
苏 氨 酸(Thr)	1.999	0.998	2.599	1.991	1.897
丝 氨 酸(Ser)	3.487	2.212	5.167	2.006	3.454
谷 氨 酸(Glu)	5.784	3.869	11.170	3.551	4.880
甘 氨 酸(Gly)	24.705	27.464	17.132	6.002	19.880
丙氨酸(Ala)	2.464	1.232	3.232	0.754	2.156
半胱氨酸(Cys)	1.308	1.345	2.536	2.324	1.322
缬 氨 酸(Val)	2.602	1.484	4.323	2.772	2.474
甲硫氨酸 (Met)	0.303	0.195	0.201	0.310	0.365
异亮氨酸 (Ile)	1.638	0.997	2.910	1.737	1.796
亮 氨 酸(Leu)	2.719	1.493	4.805	2.795	2.885
酪 氨 酸(Tyr)	1.448	1.035	2.662	1.285	0.165
苯丙氨酸 (Phe)	2.905	1.385	3.617	2.251	2.044
赖 氨 酸(Lys)	2.832	1.692	3.917	2.380	2.494
组 氨 酸(His)	2.663	2.471	1.493	0.491	0.607
精 氨 酸(Arg)	2.305	2.701	3.821	0.734	1.805
脯 氨 酸(Pro)	1.968	0.826	2.768	2.201	1.836
总计	63.826	50.854	77.938	50.209	53.860
占胚乳蛋白的%	21.51	17.14	26.27	16.92	18.15

⁽¹⁾ 氨基酸含量指 5 mg 胚乳 (干重)中蛋白质的氨基酸的微克数。

2.4 1.6 的结果列于表 2.

表 2 优质高蛋白稻米(双竹粘)胚乳蛋白 5个 PI 范围组分的必需氨基酸配比(营养水平)之比较

氨基酸种类	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	FAO/WHO	
	PI8.6~7.8	PI7.4~6.6	$PI6.6 \sim 5.8$	PI5.8~5.0	PI5.0~4.0	提倡标准	
Lys	4.58	3.61	5.02	4.74	4.63	5.5	
Thr	3.23	2.11	3.34	3.97	3.52	4.0	
Val	4.21	3.47	5.54	5.52	4.59	5.0	
Met + Cys	2.60	3.29	3.25	5.25	3.13	3.5	
Ile	2.65	2.13	3.72	3.45	3.34	4.0	
Leu	4.40	3.19	6.17	5.56	5.36	7.0	
Phe + Tyr	6.73	6.45	8.42	7.04	4.11	6.0	
营养水平比较							
(以 FAO/WHC	81.1	69.3	101.3	103.5	81.9	100	
提倡标准为%)						

3 讨论

- 3.1 试验结果的图 1 和图 2 表明,供试的 5 个优质高蛋白品种(华 03、华农茉莉香、五山粘、双竹粘、77369)稻米胚乳蛋白的等电聚焦组分的数目、含量和分布的基本状况相同,各含有 15 种以上的聚焦组分,它们的 PI 范围为 pH8.6 ~ 4.0。品种之间稍有差异的是各个 PI 范围内聚焦组分的相对含量; PI5.0 ~ 4.0 的组分种类及其含量变化较大一些。
- 3.2 代表品种双竹粘的胚乳蛋白的聚焦组分以5个PI范围划分,其分布及含量(%)如下: PI8.6~7.8 (21.5%)、PI7.4~6.6 (17.1%)、PI6.6~5.8 (26.3%)、PI5.8~5.0(16.9%)和 PI5.0~4.0(18.2%)(图 3 与表1)。
- 3.3 各 PI 范围的胚乳蛋白组分所含的基础氨基酸均齐全,共 17 种 (两种酰胺及色氨酸 因 仪 器 测 不 出 除 外)。 含 量 最 高 的 是 Gly $(6\% \sim 27.5\%)$, 其次是Glu $(3.6\% \sim 11.2\%)$, 最少的是 Met $(0.2\% \sim 0.4\%)$ (表 1)。
- 3.4 按 FAO/WHO 标准, 胚乳蛋白 5 个 PI 范围组分的必需氨基酸配比 (营养水平) 最优的是 PI5.8 \sim 5.0(为标准的 103.5%), 其次的是 PI6.6 \sim 5.8(为标准的 101.3%), 最差的是 PI7.4 \sim 6.6(为标准的 69.3%)。 营养水平优良的 PI 范围组分, 不仅其 Lys、Thr、Ile、Leu 接近标准, 而且 Val、Met + Cys 及 Phe + Tyr 达到并超过标准(表 2)。

由试验结果看来,进一步改良优质高蛋白稻米,应在不降低胚乳蛋白各 PI 范围组分的基础上,着重提高 PI5.8~5.0 和 PI6.6~5.8 组分的含量,尤其是前者。

本文与彻底弄清籼稻种子胚乳中对人体营养是最关键的蛋白组分及其氨基酸顺序,以 便通过基因工程育种(或分子育种)等途径,更有效地提高优质稻米的营养价值,有密切关系。

稻米品质改良是国际性农业重大研究课题之一。在稻米营养品质深人研究(向分子水平)这方面,迄今国内外文献尚罕见报道。本文是向这方面深人研究的一个初试。

参考文献

- 孙崇荣,李育庆,汪景长,等.1987.水稻蛋白质组分的双向电泳分析.作物学报(1):63~68
- Bhoun A S, Mole J E, Hunter F, et al. 1980. High—Sensitivity Sequence determination of proteins quantitatively recovered from sodium dodecyl sulfate gels using an improved electrodialysis procedure. Anal. Biochem, 103: 184~190
- Chen SH. 1991. Comparative study of pollen proteins of rice by isoelectric focusing and high-performance liquid chromatography. Cereal Chem, 68:91 ~ 94
- FAO/WHO/UNU. 1985. Report of a Joint FAO/WHO/UHU Expert consultation. Tech Rep Ser, No. 724
- Cay G, Kerhoas C, Dumas C. 1986. Micro-isoelectric focusing of single pollen grains form Cucurbua pepo L. Electrophoresis,7: 148 ~ 149
- Guo Y J, Bishop R, Ferhnstrom H. et al. 1986. Classification of chinese rice varieties by electrofocusing. Cercal chem, 63:1~3
- Sarker R, Bose S. 1984. Electrophoretic characterization of rice varieties using single seed (salt soluble) proteins. Theor Appl Genet, 68: 415~419
- Петибская В С. 1985. Пути ПовъlшЕния ПитаТеЛьной ценности рисовой круПы. СеЛь скох озяиствения Биология, 6: 59 \sim 61.

A STUDY ON THE HIGH NUTRIENT COMPONENTS OF THE ENDOSPERM PROTEINS OF A HIGH-PROTEIN SUPERIOR RICE VARIETY

Liu Yitian Lai Jun Chen Youci (Agrobiological dept., South China Agr. Univ., 510642, Guangzhou)

Abstract In this study, the double vertical slab IEF-PAGE was used to separate the components of endosperm proteins from five high-protein superior rice varieties, and the isoelectrofocusing bands scanned with a chromato automatic scanner. The electrophoretical bands and the scanned spectrums showed that intervarietal differences were not obvious. We had also assayed the endosperm proteins of one (shuangzuzhan) of these varieties. Its focusing spectrums (more than fifteen bands) of distribution at PI8.6~4.0 was divided into five isoelectropoint ranges —— PI 8.6~7.8, PI7.4~6.6, PI6.6~5.8, PI5.8~5.0 and PI 5.0~4.0. The amino acid species and contents of the protein bands in every range of PI was separately determined, and the coordinate specific of essential amino acid calculated according to the standard of FAO/WHO. The results indicated that some proteins at PI 5.8~5.0 contained essential amino acids in optimal proportion (with the highest nurtrient value), next came those at PI 6.6~5.8, and the poorest at PI 7.4~6.6.

Key words Superior rice; Endosperm proteins; Essential amino acids; Coordinate specific