

华南几个优质高产水稻品种胚乳蛋白 IEF 组分中理想蛋白分布的比较*

刘奕田¹ 伍时照² 刘新茂¹ J.A.Suwan³ 李耀¹

(1 华南农业大学农业生物系, 2 华南农业大学农学系; 3 华南农业大学实验中心, 广州, 510642)

摘要 运用等电聚焦凝胶电泳、层析自动扫描、微量蛋白分离纯化、氨基酸自动分析等方法技术和 FAO/WHO 评价蛋白质营养水平标准及统计学方法, 比较研究了目前华南地区几个优质高产高蛋白水稻品种胚乳全蛋白不同 PI(等电点) 范围 IEF(等电聚焦) 组分的含量比率、营养水平和出现理想蛋白(Ideal protein, 人体吸收利用率最高的蛋白) 组分的机率。主要结果是: 胚乳蛋白按划分的五个 PI 范围的组分含量比率、营养水平和出现理想蛋白组分的机率, 在供试品种之间差别明显, 但有共同基本趋势— 在弱酸性 PI 范围、特别在 PI 6.0~5.2 的组分, 营养水平和出现理想蛋白组分的机率, 均较其他 PI 范围的高。这对于从胚乳蛋白中分离出具体的理想蛋白组分(多肽链)、对于应用传统的及最新的生物技术来提高稻米蛋白营养品质, 均有重要意义。

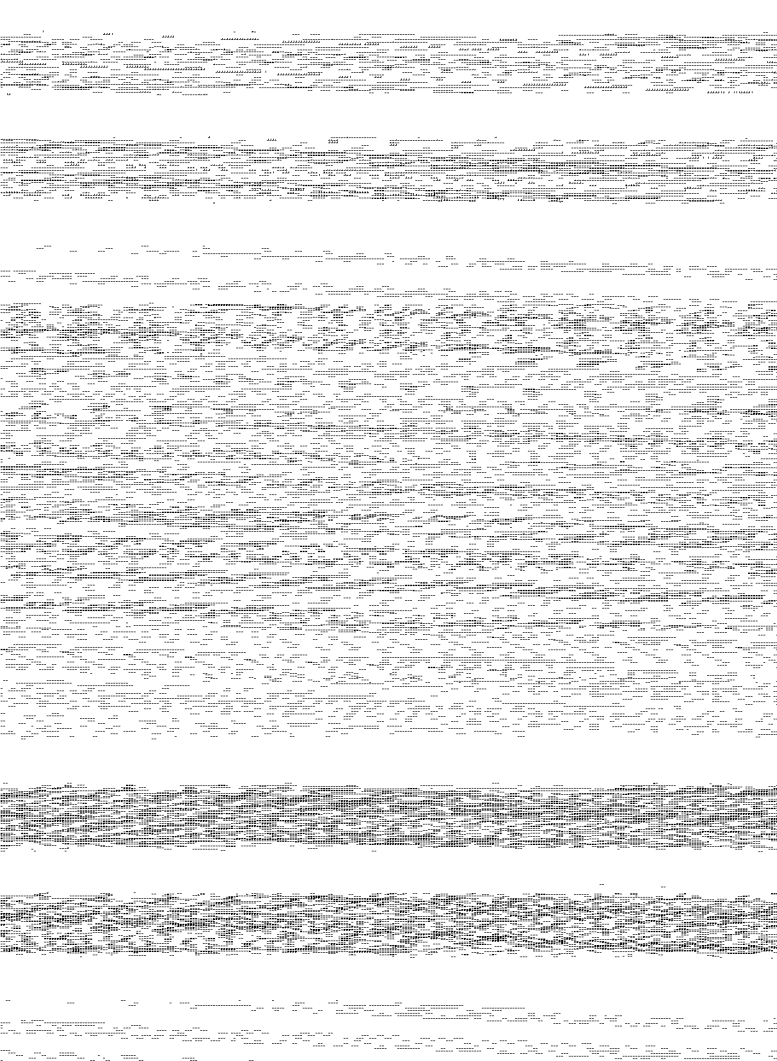
关键词 IEF 组分; 胚乳蛋白; 理想蛋白

中图分类号 S511.210.1

众所周知, 稻米蛋白与亿万人维持健康和正常发育关系密切。有关水稻种子蛋白的研究报导已不少, 但未解决的问题却还多。例如, 用分离多蛋白组分的双向凝胶电泳(O' Farrell, 1975) 的改良法可将一粒糙米蛋白分出 500 多种组分(多肽链), 但其中哪些是属于国际标准的理想蛋白(FAO/WHO, 1973) 组分, 目前都不清楚。作者过去在研究大豆蛋白(刘奕田, 1987) 时了解到, 在向分子水平深入研究方向, 稻米蛋白研究比大豆蛋白的落后。迄今未有一种能将稻米众多蛋白组分同时分开的满意方法, 即使用最新的双向电泳分出的糙米蛋白组分, 也有相当多组分相互融合。而且糙米非食用部分(糠层各种组织) 蛋白组分的数目要比食用部分即胚乳的多出两倍以上(虽然糠层蛋白含量仅占糙米蛋白 15% 以下)。所以直接用双向电泳以糙米为材料来研究稻米蛋白的理想蛋白组分难达目的。但若采用分辨率高的等电聚焦电泳先将胚乳蛋白分为不同 PI 范围的聚焦组分, 弄清哪个 PI 范围组分的营养水平最高和出现理想蛋白组分的机率最高, 那么便可以从这个 PI 范围的为数不多的组分中, 找出具体的理想蛋白组分(多肽链), 对其进行分子生物学研究, 并利用分子生物技术来有的放矢地更有效地提高稻米蛋白的营养品质。近 5 年来, 包括本文的不断进行的试验, 都旨在为达此目的。

1995-04-29 收稿

* 广东省水稻高产优质双抗协作攻关研究课题



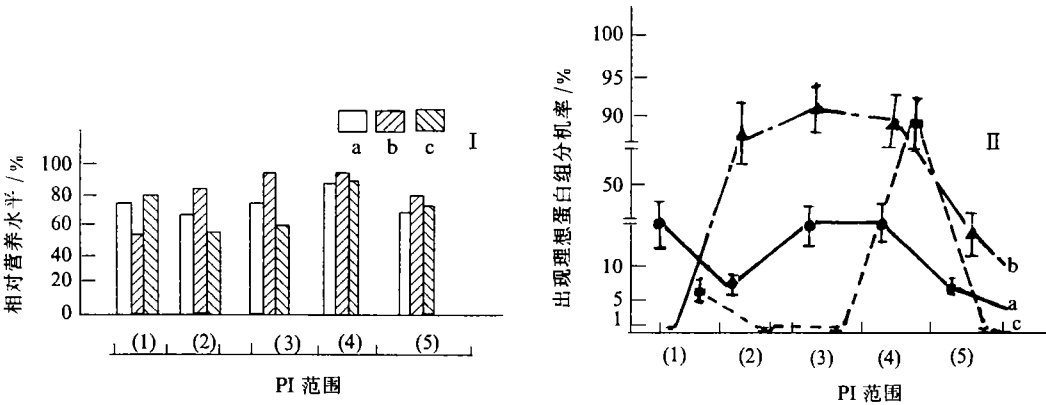


图 2 3 个品种胚乳蛋白 5 个 PI 范围 IEF 组分的营养水平 (以 FAO/WHO 推荐标准为 100[I])
与各个 PI 范围组分出现理想蛋白组分的机率[II]

a. 双竹粘, b. 七四粘, c. 梗籼 89

(1)PI 8.6~8.0, (2)PI 8.0~7.2, (3)PI 6.8~6.0, (4)PI 6.0~5.2, (5)PI 5.2~4.2

表 1 3 个主试品种胚乳蛋白 5 个 PI 范围 IEF 组分的氨基酸种类与含量⁽¹⁾及组分在胚乳蛋白中的含量比率

氨基酸种类	(1)PI 8.6~8.0			(2) PI 8.0~7.2		
	双竹粘	七四粘	梗籼89	双竹粘	七四粘	梗籼89
天冬氨酸(Asp)	3.862	17.141	10.532	10.802	3.261	12.921
苏氨酸(Thr)	2.482	3.641	2.241	1.809	1.322	2.702
丝氨酸(Ser)	6.608	3.578	2.239	1.708	2.058	2.039
谷氨酸(Glu)	4.959	11.078	6.429	5.529	3.259	13.688
甘氨酸(Gly)	3.388	6.559	3.989	3.318	5.160	8.809
丙氨酸(Ala)	0.742	1.442	0.901	0.572	1.401	0.802
半胱氨酸(Cys)	2.352	3.181	1.891	1.740	2.102	1.461
缬氨酸(Val)	1.809	2.839	1.778	1.578	2.818	1.949
甲硫氨酸(Met)	0.838	0.739	0.519	0.699	0.598	0.568
异亮氨酸(Ile)	1.841	3.062	1.891	1.909	4.542	2.439
亮氨酸(Leu)	2.679	5.138	2.898	2.278	4.399	2.808
酪氨酸(Tyr)	1.812	2.961	1.841	1.582	2.542	2.011
苯丙氨酸(Phe)	1.738	2.578	1.839	1.678	3.178	1.979
赖氨酸(Lys)	2.048	3.179	1.949	1.509	3.299	2.328
组氨酸(His)	0.401	0.802	0.552	0.442	0.561	0.602
精氨酸(Arg)	2.279	4.219	1.028	1.108	3.978	2.329
脯氨酸(Pro)	4.331	6.119	1.952	1.142	1.861	3.760
总 计	44.169	78.256	44.469	39.645	46.339	63.195
占同品种胚乳蛋白 %	17.2	32.3	17.6	15.5	19.1	25.0

续表 1 3 个主试品种胚乳蛋白 5 个 PI 范围 IEF 组分的氨基酸种类与含量⁽¹⁾及组分在胚乳蛋白中的含量比率

氨基酸种类	(3)PI 6.8 ~ 6.0			(4)PI 6.0 ~ 5.2			(5)PI 5.2 ~ 4.2		
	双竹粘	七四粘	梗粳 89	双竹粘	七四粘	梗粳 89	双竹粘	七四粘	梗粳 89
天冬氨酸 (Asp)	13.811	2.182	12.744	4.901	2.301	2.042	19.308	4.142	0.501
苏氨酸 (Thr)	2.880	0.881	2.780	2.249	0.840	1.118	3.859	1.401	2.528
丝氨酸 (Ser)	2.349	1.359	2.178	6.908	1.559	1.612	3.621	2.900	5.912
谷氨酸 (Glu)	6.568	1.858	9.759	4.158	2.302	6.309	10.162	3.939	1.261
甘氨酸 (Gly)	3.859	3.378	6.258	6.201	5.338	3.702	6.039	7.202	19.538
丙氨酸 (Ala)	0.772	0.641	0.892	1.173	0.642	0.802	1.372	1.241	3.759
半胱氨酸 (Cys)	1.781	1.941	1.658	2.448	1.898	1.459	2.848	2.008	1.091
缬氨酸 (Val)	1.942	1.938	1.949	2.280	1.860	1.782	2.551	3.019	3.670
甲硫氨酸 (Met)	0.599	0.719	0.402	0.682	0.762	0.601	0.572	0.522	0.342
异亮氨酸 (Ile)	2.282	3.224	1.951	2.511	3.941	2.442	3.351	5.319	2.668
亮氨酸 (Leu)	2.978	2.298	2.669	3.719	3.180	2.380	5.229	4.221	4.790
酪氨酸 (Tyr)	2.081	2.011	1.231	1.978	2.219	1.521	2.921	3.901	2.302
苯丙氨酸 (Phe)	2.109	1.941	1.869	2.112	2.061	1.809	2.879	3.659	2.528
赖氨酸 (Lys)	2.478	2.041	1.638	2.350	2.659	2.041	2.778	3.458	3.469
组氨酸 (His)	0.442	0.361	0.622	0.441	0.561	0.432	0.813	0.721	0.692
精氨酸 (Arg)	0.740	1.118	0.829	1.372	3.100	1.293	1.372	1.942	2.241
脯氨酸 (Pro)	1.899	0.922	3.591	4.827	1.329	1.231	2.919	2.461	2.498
总 计	49.570	28.829	53.061	50.310	36.552	32.576	72.594	52.056	59.789
占同品种胚乳蛋白 %	19.3	11.9	21.0	19.6	15.1	12.9	28.3	21.5	23.6

(1) 指平均每 5mg 胚乳(干重)中蛋白质的氨基酸的 μg 数。

表 2 3 个品种胚乳蛋白 5 个 PI 范围 IEF 组分与理想蛋白的必需氨基酸含量比率之比较

PI 范围		品 种	Met Phe + + Lys Thr Val Cys Tyr Ile Leu							胚乳蛋白各 PI 范围 IEF 组分与 理想蛋白的必需氨基酸含量 % 对比差异之 <i>t</i> 值
			Lys	Thr	Val	Cys	Tyr	Ile	Leu	
胚乳蛋白必需氨基酸含量 % PI 范围组分的	(1) PI 8.6 }	双竹粘	3.29	3.98	2.92	5.13	5.72	2.97	4.32	1.67
	8.0 }	七四粘	2.44	2.78	2.16	3.00	4.20	2.35	3.95	5.39
		梗粳 89	3.29	3.78	3.00	4.07	6.20	3.20	4.89	2.12
	(2) PI 8.0 }	双竹粘	2.78	3.35	2.92	4.48	6.04	3.54	4.22	2.00
	7.2 }	七四粘	4.28	1.72	3.65	3.49	7.41	5.90	5.63	0.71
		梗粳 89	2.76	3.20	2.32	2.42	4.74	2.90	3.34	4.55

续表 2 3 个品种胚乳蛋白 5 个 PI 范围 IEF 组分与理想蛋白的必需氨基酸含量比率之比较

PI 范围	品 种	Met Phe + + Lys Thr Val Cys Tyr Ile Leu							胚乳蛋白各 PI 范围 IEF 组分与 理想蛋白的必需氨基酸含量 % 对比差异之 <i>t</i> 值	
		Lys	Thr	Val	Cys	Tyr	Ile	Leu		
胚 乳 必 需 蛋 白 各 PI 范 围 组 分 的 必需氨基酸含量 %	(3) PI	双竹粘	3.79	4.42	2.98	3.64	6.43	3.50	4.58	1.76
	6.8 }	七四粘	4.27	1.84	4.02	5.53	8.21	6.70	4.78	0.06
	6.0	梗粳 89	2.31	3.93	2.76	2.93	4.37	2.76	3.81	3.75
	(4) PI	双竹粘	3.75	3.59	3.65	4.98	6.54	4.02	5.95	0.84
	6.0 }	七四粘	4.64	1.46	3.23	4.65	7.46	6.88	5.58	0.21
	5.2	梗粳 89	4.54	2.49	3.96	4.60	7.41	5.43	5.30	0.21
	(5) PI	双竹粘	2.87	3.98	2.63	3.54	6.00	3.47	5.41	2.31
	5.2 }	七四粘	3.87	1.57	3.37	2.83	8.45	5.98	4.71	0.79
	4.2	梗粳 89	4.36	3.17	4.61	1.81	6.05	3.35	6.02	3.77
	理想蛋白(FAO/WHO 推荐) 的必需氨基酸含量 / %		5.0	4.0	5.0	3.5	6.0	4.0	7.0	

$$t_{(6)0.01}=3.71, \quad t_{(6)0.05}=2.45, \quad t_{(6)0.1}=1.94, \quad t_{(6)0.5}=0.72$$

3 讨 论

3.1 图 1 表明, 3 个主试品种和 3 个陪试品种虽然属于不同类型(粘、糯、粳、粳 × 粘), 但它们胚乳蛋白的 IEF 组分都分布于 PI8.6 ~ 4.2 之间; IEF 组分最集中的是在 (3)PI6.8 ~ 6.0, 最分散的是在 (5)PI5.2 ~ 4.2; 品种之间 IEF 组分含量(显色深浅及范围)变动最大的是在 (4)PI6.0 ~ 5.2 和 (1)PI8.6 ~ 8.0。后者启示, 通过育种或其他生物技术途径, 较易提高 PI6.0 ~ 5.2 和 PI8.6 ~ 8.0 的这部分蛋白组分的含量。

3.2 表 1 资料指出, 3 个主试品种胚乳蛋白 5 个 PI 范围 IEF 组分的基础氨基酸是齐全的(上述因盐酸水解遭破坏的 3 种除外), 共 17 种。其中, 含量最少的是含硫氨基酸 Met (0.34% ~ 0.84%); 而另一种含硫氨基酸 Cys 的含量, 并不见得比其他氨基酸的低 (1.10% ~ 3.12%); 可是 His 的含量与 Met 相当 (0.36% ~ 0.81%), 是另一种含量最低的氨基酸——它在构成酶活性中心的催化基团上是极重要的, 在人体营养上它与 Met 都很重要。含量高且易变动的氨基酸, 显而易见, 是 Asp, Glu 和 Gly, 其次的是 Ser, 它们含量变幅达 6 ~ 10 倍。

表 1 资料进一步表明, 每个品种胚乳蛋白的不同 PI 范围之间或同 PI 范围的各个品种之间, IEF 组分在胚乳蛋白中的含量比率, 变动均较大。但有一个基本趋势: 那些 PI 范围 IEF 组分含量比率显著高的, 其主要是由于 Asp, Glu 和 Gly 这 3 种氨基酸含量特别高所引起, 或者是这 3 种之中的两种、或者其中一种加上 Ser 的含量很高起主要作用。然而, 普遍适合的维持人体健康和正常发育的必需氨基酸模型 (FAO/WHO, 1985)——包括表 2 中的 9 种氨基酸和 Trp(未测到)及 His, 并不包括 Asp, Glu, Gly 和 Ser。因此, 在胚乳蛋白中含量

比率高的那些 PI 范围的聚焦组分,并不表明其营养价值高。也就是说,蛋白组分的含量与其营养水平不等同。

3.3 表 2 和图 2 显示,主试 3 个品种胚乳蛋白各个 PI 范围 IEF 组分的营养水平与其出现理想蛋白组分的机率,许多是不一致的。例如:双竹粘在 PI 范围(1)和(2)的组分的营养水平相近,接近理想蛋白营养水平的 80%,但前者出现理想蛋白组分的机率高于 10%,后者的只在 <10%;粳粳 89 在 PI 范围(1),(2),(3),(5)的组分的营养水平为理想蛋白水平的 50%~80%,但出现标准理想蛋白组分的机率都在 10%以下~1%以下(图 2)。与其他两品种比较,除 PI 范围(4)之外,粳粳 89 各个 PI 范围组分出现理想蛋白组分的机率都明显低。这似乎表明,由北方粳稻与华南籼稻杂交作基础育成的品种(粳粳 677×IR₃₆,广东佛山市农科所)有降低胚乳蛋白营养品质之势。但从表 2 之中 *t* 值最小所在 PI 范围及图 2 相对营养水平与出现理想蛋白组分机率最高的 PI 范围看,以 PI 范围(4)即 PI 6.0~5.2 的 IEF 组分为最佳;其次的是(3)PI 6.8~6.0 的组分。

综上所述,由供试品种的结果看来,提高胚乳蛋白弱酸性 PI 范围,特别是 PI 6.0~5.2 范围的组分含量,对提高稻米蛋白营养品质关系最大,而且可能性最大。运用新的蛋白质分离鉴定方法和技术(Patterson, 1994),可以从这个 PI 范围的 IEF 组分中,找出具体的理想蛋白组分,以进行稻米蛋白营养品质的分子生物学研究和更有效的分子生物技术改良。

参 考 文 献

- 刘奕田. 1987. 热处理大豆籽粒理化性质的研究. 中国粮油学报, (1): 63~68
- 刘奕田, 赖 军, 陈由慈. 1994. 优质高蛋白稻米胚乳蛋白高营养组分的研究. 华南农业大学学报, 15(2):106~111
- Bhown 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
- FAO/WHO. 1973. Energy and protein requirements. Tech Rep Ser, No. 522. WHO. Geneva.
- FAO/WHO. 1985. Requirements for essential amino acids. Tech. Rep Ser No. 724. WHO. Geneva.
- O'Farrell P H. 1975. High resolution two-dimensional electrophoresis of proteins. J Biol chem, 250(10): 4007~4021
- Patterson S D. 1994. From electrophoretically separated protein to identification: Strategies for sequence and mass analysis. Anal Biochem, 221(1):1~15

COMPARATIVE STUDY ON THE DISTRIBUTION OF IDEAL PROTEIN IN THE ENDOSPERM PROTEINS FROM SEVERAL SUPERIOR HIGH-YIELDING RICE VARIETIES IN SOUTH CHINA*

Liu Yitian¹ Wu Shizhao² Liu Xinmao¹ J.A.Suwan³ Li Yao¹

(1 Dept. of Agrobiological; 2 Dept. of Agronomy; 3 Experimental Centre,
South China Agr. Univ., Guangzhou, 510642)

Abstract

Isoelectrofocusing electrophoresis, chromatographic automatic scan, microproteins separation-purification, amino acids automatic analysis, etc., and the FAO/WHO standard for protein nutrient level and statistical method, were used to study the protein component ratios, their nutrient levels and the probabilities of the occurrence of high nutrient component at different isoelectropoint ranges of the endosperm proteins from three high-yielding and high-protein superior rice varieties in South China. The experimental results showed that the ratios of components, their nutrient levels and the probabilities of the occurrence of high nutrient component at each range of PI of the endosperm proteins of the experimental rice varieties studied were obviously different, but a basic pattern was evident. The highest probability for the appearance of high nutrient component were at the weak acidic range of PI in particular at PI 6.0 ~ 5.2 of the endosperm proteins. This has great significance in improving nutrient quality of rice proteins and in the study of rice proteins by conventional methods and at the molecular level.

Key words IEF component; endosperm protein; ideal protein

* Part of the Guangdong Prov. Sci. Tech Comm. coordinated rice research project for high-yield, superior quality and resistance to disease and pest.