

研究
简报

大豆中脂肪氧化酶同工酶的鉴定研究

丁安林¹ 傅翠真² 常汝镇² 刘立军¹

(^①中国农科院作物育种栽培研究所, 北京 100081)

(^②中国农科院作物品种资源研究所, 北京 100081)

A Study for Identification of Soybean LOX Isozymes

Ding An-lin¹ Fu Cui-zhen² Chang Ru-zhen² Liu Li-jun¹

(^①Institute of Crop Breeding and Cultivation, CAAS)

(^②Institute of Crop Germplasm Resources, CAAS)

关键词 大豆, 脂肪氧化酶, 同工酶, 缺失体, 等电聚焦电泳

大豆是高蛋白和优质油料作物, 自古以来, 其丰富的营养价值对改善国民膳食营养水平起着重要作用, 但豆油的不稳定性以及豆制品具有的豆腥味, 影响人们对大豆的更有效利用。大豆中存在约占总蛋白含量1%的脂肪氧化酶(Lipoxygenase, 简称 LOX), 能催化空气中氧对不饱和脂肪酸的氧化作用, 产生氢过氧化物, 最后生成醛、酮等具有异味的物质。八十年代初美国鉴定出 LOX 有 L-1、L-2 和 L-3 三个缺失体(基因型分别为 lx1、lx2、和 lx3), 并对其遗传特性进行了研究, 结果表明缺失体为隐性, 其中 lx1 和 lx2 缺失体存在极其紧密的连锁关系, 经过回交转育, 已培育出 LOX 等位基因系, 如美国 N. C. Nielsen 选育出 Century 这一品种的 lx1, lx2, lx3, lx1.3 和 lx2.3 一整套等位基因系, 日本 K. Kitamura 也培育出相应的日本品种的等位基因系。大豆起源于中国, 具有多种类型的种质资源。在国内, 本文首次对我国大豆种质资源进行 LOX 同工酶缺失体的鉴定研究, 对选育我国不含或低含脂肪氧化酶大豆品种, 开发食品资源, 改进豆制品加工工艺有着重要意义。

1 材料和 方法

1.1 材料 Century 与该品种等位基因系 lx1, lx2, lx3, lx1.3 和 lx2.3。征集 14 个省(市)栽培大豆 53 个品种, 其中南方大豆区春豆 5 个(品 8、9、15、43、44)、夏豆 17 个(品 10-12、16、38-42、45、48-54)、秋豆 4 个(品 13、14、46、47); 黄淮春夏大豆区春豆 2 个(品 6、30)、夏豆 9 个(品 5、7、30、32-37); 东北春大豆 16 个(品 1、3-4、17-29)。

1.2 方法 采用薄层等电聚焦电泳(IEF)技术, 用瑞典 Pharmacia 公司产品 PhastSystem 全自动快速电泳系统进行分析。

样品制备: 15mg 样粉加入 0.2ml Tris-HCl-CaCl₂ (pH7) 缓冲液碾磨, 放置 4℃ 下提取过夜, 后冰冻离心; IEF 凝胶: 使用聚丙烯酰胺凝胶, 凝胶中含 13.6% 胶溶液 (29.1% Acr+0.9% Bis), 4.0% Ampholine pH4-8, 0.82% AP 和 0.073% TEMED。凝胶规格为 44mm×50mm×0.45mm; IEF 电泳和显色: 样品液由电泳系统的自动加样装置加到凝胶上, 电泳全过程由系统

本文于 1992 年 9 月 12 日收到, 1993 年 2 月 24 日终审完毕。

内预设程序控制完成,电泳时间约 50min。电泳后的凝胶先用邻联茴香胺—亚油酸(pH8.5)酶染液染色 3h,再进行考马斯亮蓝蛋白质染色 15min,使 LOX 同功酶带全显色出来。

2 结果与讨论

2.1 本实验条件下(IEF Gel pH 4-8),大豆 LOX 同功酶的等电点范围是 5.50-6.15。缺失 LOX-2(包括缺失 LOX-2.3)的基因型材料中,LOX-1 的等电点由 5.65 移为 5.50,在 IEF 电泳中表现为向正极漂移(见图 1),这与 Pfeiffer(1991)的报道相符合。

2.2 发现南方大豆区有 4 个 LOX-3b 缺失突变体:穗稻黄(品 41,原产上海奉贤)、花生豆(品 53,源于上海金山)、荷包豆(品 54,自上海奉贤)、武昌六月爆(品 15)。花生豆和荷包豆除缺失 LOX-3b 外,其它同功酶带(LOX-1、LOX-2、LOX-3a)显色也很弱,可考虑作为选育低含量脂肪氧化酶的亲本材料,穗稻黄 LOX-1 的等电点为 5.50(对照 NC 即 Century 为 5.65),表现 LOX-1 等电点向正极漂移(见图 2)。

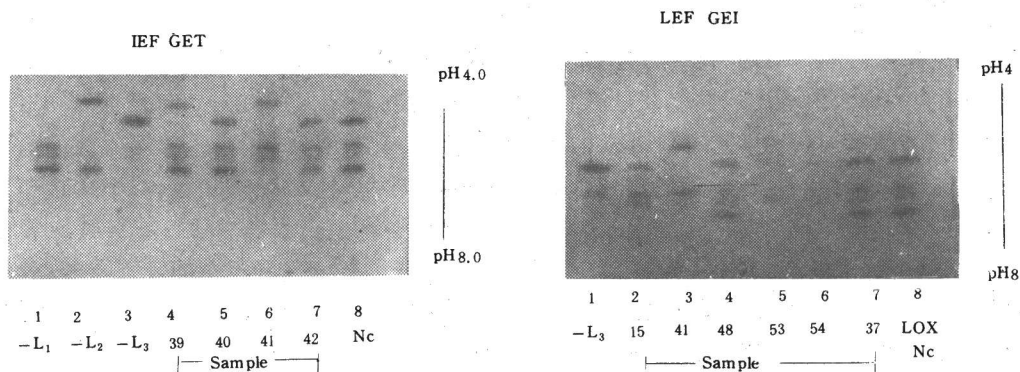


图 1 (Fig. 1)

2.3 在鉴定的 53 个种质资源中,有 10 个(南方大豆区 9 个,黄淮春夏大豆区 1 个)非缺失 LOX-2 基因型材料 LOX-1 的等电点由 5.65 移为 5.50,表现 LOX-1 等电点向正极漂移(见图 1-3,品 47、39、41)。另发现 5 个(南方大豆区)非缺失 LOX-2 基因型材料,LOX-1 出现两条酶带,等电点分别为 5.50 和 5.65,表现为每个材料有五条 LOX 酶带:LOX-1(pH5.50 和 pH5.65)、LOX-2(pH5.85)、LOX-3a(pH6.00)、LOX-3b(pH6.15)(见图 3 品 13、14)。

结果表明,我国南方大豆区具有 LOX 缺失突变体及丰富的 LOX 同功酶类型,长期的自然选择及人工选择,形成了大粒、易煮、风味好的菜用大豆类型,可以预测该地区的大豆资源中,还会有 LOX 其它基因型缺失体材料存在,因此,进行大量资源的筛选是十分必要的。通过这一研究,我们已摸索出 LOX 鉴定的技术要点,为大量资源鉴定及种质创新研究提供了技术保障。

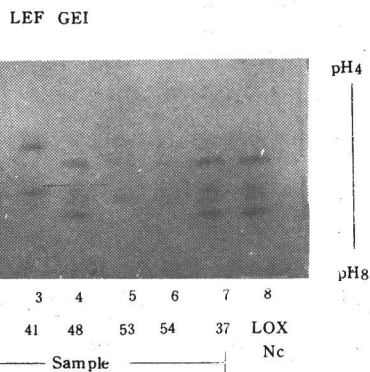


图 2 (Fig. 2)

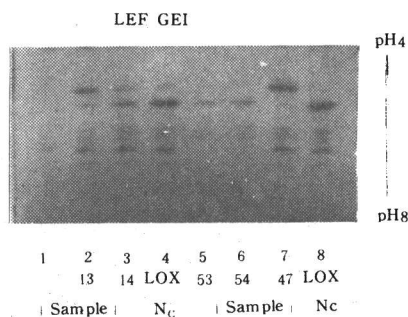


图 3 (Fig. 3)