

## 小麦谷蛋白聚合体的MS-SDS-PAGE 及其与面包烘烤品质的关系\*

梁荣奇<sup>1,2</sup> 张义荣<sup>1</sup> 尤明山<sup>1</sup> 毛善锋<sup>1</sup> 宋建民<sup>1</sup> 刘广田<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>中国农业大学作物学院植物遗传育种系, 北京 100094; <sup>2</sup>北京农林科学院农业生物技术研究中心, 北京 100089)

**摘要** 选用品质(微量 SDS 沉淀值、稳定时间)优劣不同的 10 个“9311168///81831- 1/pemell//京 411”的 F<sub>6</sub> 品系, 探索多层浓缩胶 SDS-PAGE (MS-SDS-PAGE) 的实验方法, 初步探讨可溶性谷蛋白的分子量分布状况和不溶性谷蛋白(GMP)与面包烘烤品质的关系。结果表明, 通过 SDS-磷酸缓冲液可将谷蛋白聚合物分成两部分: 分子量较小的 SDS-可溶性谷蛋白聚合物和分子量较大的 SDS-不溶性谷蛋白聚合物(GMP); 多层浓缩胶 SDS-PAGE 可用于分析可溶性谷蛋白的含量及其分子量分布。总蛋白含量相当时, 随着醇溶蛋白含量的降低, 谷蛋白含量增加, 小麦品质(微量 SDS-沉淀值、稳定时间)变优。品质优良材料的 GMP、分子量较大的可溶性谷蛋白的比例高于品质差劣的材料。仅靠蛋白质及其组分的含量、HMW-GS 组成进行品质评价是不够全面的, 结合谷蛋白聚合体的组成和含量进行评价和选择育种, 才更加准确可靠。

**关键词** 小麦; 谷蛋白聚合物; 多层浓缩胶 SDS-PAGE; 烘烤品质

中图分类号: S512 文献标识码: A

## Multi-stacking SDS-PAGE for Wheat Glutenin Polymer and Its Relation to Bread-making Quality

LIANG Rong-Qi<sup>1,2</sup> ZHANG Yi-Rong<sup>1</sup> YOU Ming-Shan<sup>1</sup> MAO Shan-Feng<sup>1</sup> SONG Jian-Min<sup>1</sup>  
LIU Guang-Tian<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>College of Crop Science, China Agricultural University, Beijing 100094; <sup>2</sup>Beijing Agro-Biotechnology Research Center, Beijing 100089, China)

**Abstract** Ten F<sub>6</sub> lines with the difference in bread-making quality (according to their mini SDS sedimentation values and mixing tolerances) were used to explore the procedure of multi-stacking (MS) SDS-PAGE, and to understand the relationship between bread-making quality and soluble and insoluble glutenin polymers. The results showed that: 1) the smaller molecular weight (SDS-soluble) and the larger molecular weight (SDS-insoluble) glutenin polymers could be partitioned from glutenin protein by SDS-phosphate buffer; 2) the amount and molecular size of soluble polymers could be estimated by MS-SDS-PAGE; 3) as the decreasing of the monomer relative content, the gluten relative content increased and the quality became better; 4) the content of SDS-insoluble polymers (Glutenin Macro-Polymers, GMP) and the percent of larger SDS-soluble polymers were higher in good-quality lines than that in poor lines. Therefore, it was not enough to assess bread-making quality only by the high-molecular-weight glutenin subunits (HMW-GS) and the amounts of total protein and its components. The amounts and components of glutenin polymers must also be taken into account in wheat breeding program.

**Key words** Wheat; Glutenin polymer; MS-SDS-PAGE; Bread-making quality

小麦贮藏蛋白主要由清蛋白、球蛋白、醇溶蛋白和谷蛋白组成。面筋蛋白约占总蛋白含量的 85%, 决定着面粉的烘烤品质, 主要由谷蛋白和醇

溶蛋白组成, 其中醇溶蛋白是单体混合物, 决定面团的延伸性和粘性; 谷蛋白是通过高、低分子量谷蛋白亚基聚合而成的异质高分子聚合物, 决定着面

\* 基金项目: 国家自然科学基金重点项目(批准号 39930110)和北京市自然科学基金项目(编号 6990001)。

作者简介: 梁荣奇(1970-), 男, 博士, 助研, Fax: 010-88441980, E-mail: liang063@263.net

Received on (收稿日期): 2001-9-17, Accepted on (接受日期): 2001-12-29

团的弹性<sup>[1, 2]</sup>。面团的延展性和弹性就决定了小麦的加工品质特性。

谷蛋白聚合物 (Glutenin Polymer) 在非解离状态下, 是由一系列分子量大小不同的聚合物 (约  $10^5 \sim 10^7$ ) 组成的<sup>[3-5]</sup>, 用 SDS 缓冲液可将谷蛋白聚合物分成两类: 可溶的和不可溶的谷蛋白聚合物。其中, SDS-不溶的谷蛋白聚合体的分子较大, 称为谷蛋白大聚体 (Glutenin Macro-Polymer, GMP, 又称为胶状蛋白), 而 SDS-可溶的谷蛋白聚合体的分子量较小。研究表明, 谷蛋白聚合体的数量和分子量分布对面包烘烤品质起着重要作用<sup>[6, 7]</sup>, 尤其是 SDS-不溶性谷蛋白聚合物与面团强度关系更密切<sup>[7]</sup>: 优质面粉比劣质面粉具有较多的谷蛋白和高比例分子量较大的可溶性谷蛋白聚合物<sup>[8]</sup>, 在面包体积的预测中, GMP 含量、沉淀值、面团形成时间和稳定时间的贡献相对较大, 而 GMP 居于首位<sup>[9]</sup>。

尽管不同大小的谷蛋白聚合物均由高、低分子量谷蛋白亚基组成, 但大聚体的 HMW-GS/LMW-GS 要高得多<sup>[7, 8]</sup>, 而且大聚体中的 x-型和 y-型的比例比较低。当聚合物中的 HMW-GS 和 y-型亚基的相对含量提高时, 谷蛋白聚合体的分子量分布向较大的方向偏移, 即大聚体的含量增加, 使面筋强度加大, 弹性增强<sup>[10-12]</sup>。Popineau 等<sup>[13]</sup>认为 Glu-A1 和 Glu-D1 位点的亚基在谷蛋白大聚体的形成中起着重要作用, 以 2+12 代换 5+10 虽不影响总谷蛋白含量和各亚基含量, 但使面筋弹性降低, 大聚体含量下降, 说明等位基因亚基变异可引起大聚体和面筋的差异。

Zhu 等<sup>[14]</sup>用多浓缩胶 (multi-stacking) SDS-PAGE 研究了 3 个含有相同 HMW-GS 组成 (5+10 型, Glu-D1d) 但面团特性和烘烤品质不同的硬红春麦品种, 在籽粒发育中不同蛋白组分的合成和积累

情况。结果表明, 各种不同分子大小的谷蛋白聚合体的聚合度决定了 HMW-GS/LMW-GS 的比率。谷蛋白聚合物分子的多聚化发生于授粉后 10 天或更早, 在灌浆至成熟间明显增加。发育期间大的聚合物按比例增加, 而小的聚合物按比例减少。谷蛋白聚合物与总 SDS-可提取蛋白及醇溶蛋白的比值在花后 22 天最大, 而此时聚合物分子大小继续增大, 表现为 HMW-GS 与 LMW-GS 比值的快速增加。烘烤品质好的品种的 HMW 亚基的合成和积累速率、较大聚合体的形成要比品质差的品种快速。Zhu 等<sup>[15]</sup>用同一品种的 2 种类型 (差异在于含有 5+10 还是 2+12) 研究了氮肥和 Glu-D1 位点等位基因变异对谷蛋白聚合体的影响。结果发现, 在 SDS 不溶性谷蛋白聚合物中, 5+10 亚基类型比 2+12 类型的 x/y 亚基比率更大, 5 亚基比 2 亚基的比例更大。

本研究选用品质 (微量 SDS 沉淀值、稳定时间) 优劣不同的 10 个 F<sub>6</sub> 品系, 探索多层浓缩胶 SDS-PAGE 的实验方法, 初步探讨可溶性谷蛋白的分子量分布状况和不溶性谷蛋白 (GMP) 与烘烤品质的关系, 为品质育种提供理论依据和方法。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

所用材料为组合 9311168//81831-1/pernell//京 411 的 F<sub>6</sub> 代品系籽粒 (其中农大品系 9311168、京 411 和法国品种 pernell 为 2+12 类型, 中国农科院品系 8131-1 为 5+10 类型), 于 1999 年夏在农大昌平实验站收获; 其品质性状见表 1, 其中沉淀值为全麦粉的微量 SDS 沉淀值, 粉质曲线图见图 1。根据微量 SDS 沉淀值和稳定时间, 可将其分成优、中、劣三类。

表 1 供试的 F<sub>6</sub> 品系及其品质状况  
Table 1 F<sub>6</sub> lines and their quality characters

品系 Lines	亚基组成 HMW-GS	微量 SDS 沉淀值 (mL) Mini SDS sedimentation	粉质图稳定时间 (min) Mixing tolerances (farinograph)	品质分类 Quality class
260135	1, 7+ 9, 5+ 10	29.0	22.5	优 Good
260037	1, 7+ 8, 5+ 10	29.6	21.4	优 Good
260133	1, 7+ 9, 5+ 10	27.0	21.4	优 Good
260081	1, 7+ 9, 5+ 10	27.6	20.6	优 Good
260050	N, 7+ 8, 2+ 12	22.2	12.6	中 Middle
260130	1, 7+ 8, 2+ 12	24.8	11.0	中 Middle
260196	1, 7+ 9, 2+ 12	22.2	10.5	中 Middle
260051	1, 7+ 8, 2+ 12	22.0	9.3	中 Middle
260136	N, 7+ 8, 2+ 12	22.6	4.7	劣 Poor
260108	N, 7+ 8, 2+ 12	22.6	4.5	劣 Poor

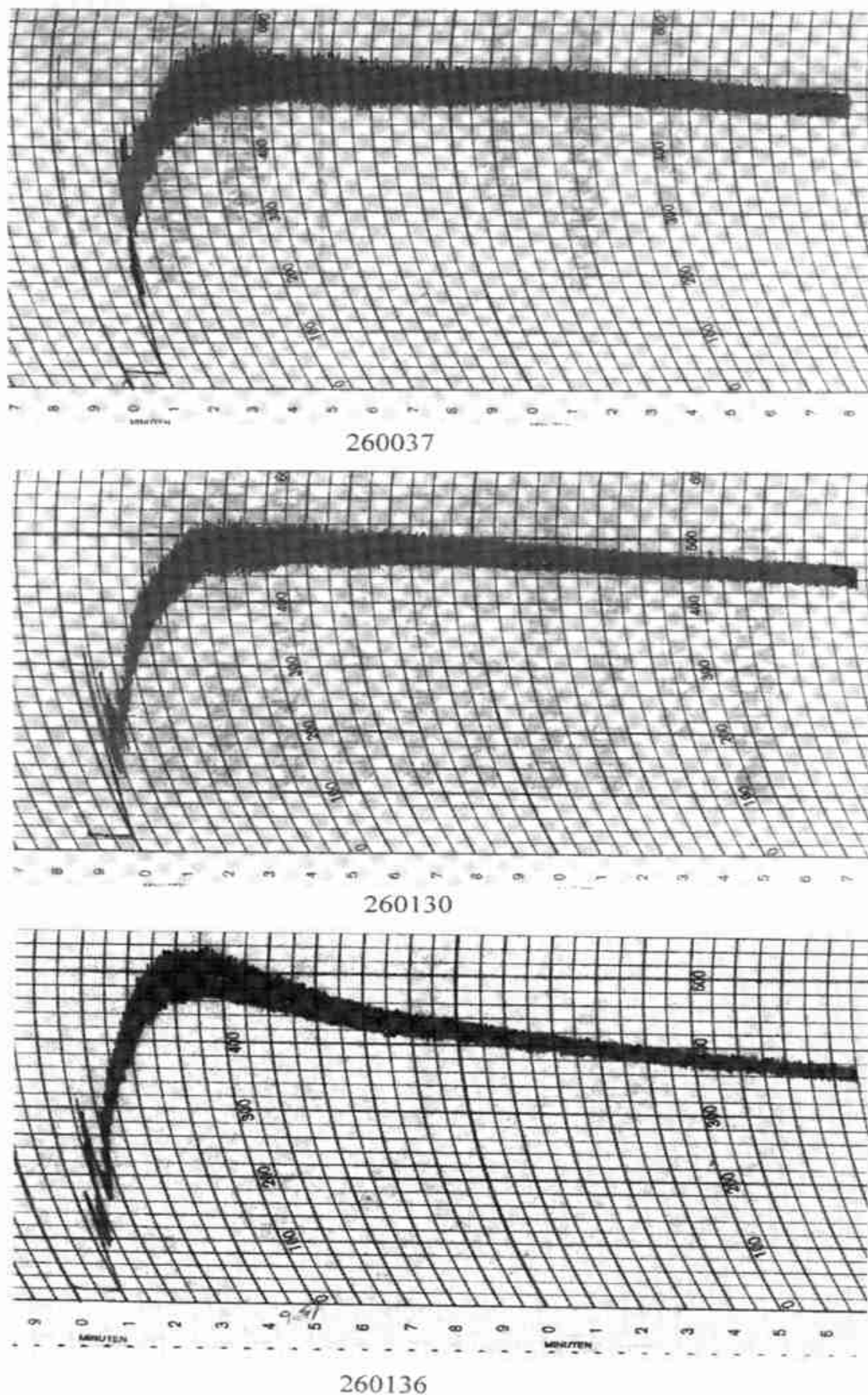


图1 供试材料的粉质图

Fig 1 Farinographs of some materials

260037 优, 260130 中, 260136 劣 260037: good-; 260130: middle-; 260136: poor-quality

## 1.2 方法

1.2.1 蛋白质含量的测定 BCA 法原理: 蛋白质与碱性二价铜反应生成一价铜, 后者可与二锌可宁酸(Bicinchoninic Acid, BCA)形成紫色化学复合物, 在 562 nm 下比色。

试剂组成: BCA 母液 A 液: pH 11.25, 含有 1%  $\text{Na}_2\text{BCA}$ , 2%  $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , 0.16%  $\text{Na}_2\text{Tartrate}$ , 0.4%  $\text{NaOH}$ , 0.95%  $\text{NaHCO}_3$ ; B 液: 4%  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 。使用前按 50:1 (v/v) 混合, 配制成 BCA 工作液。

操作步骤: 采用微孔板法, 即用 48 孔 ELISA 板和酶联免疫比色仪测定。向板孔内加入 10  $\mu\text{L}$  样品(或标准蛋白液), 再加入 200  $\mu\text{L}$  BCA 工作液, 混匀后, 37 $^\circ\text{C}$  保温 30 min, 迅速降至室温后, 用酶联免疫比色仪选用 562 nm (540~600 nm) 滤光片读数, 10 min 内读完。

1.2.2 蛋白质提取 每个样品称取 60 mg 面粉(过 100 目筛), 装入 1.5 mL 离心管; 离心管中加入 1 mL 0.05 mol/L SDS-磷酸钠缓冲液(pH 6.8) (内含 2% SDS, 10% 甘油), 室温下振荡提取 24 h; 12000 r/min 离心 10 min; 将上清液倒入另一离心管, 并用 150  $\mu\text{L}$  上述 SDS-磷酸钠缓冲液洗沉淀 2 次, 收集上清液, 混匀。该上清液中含有单体蛋白(清蛋白、球蛋白和醇溶蛋白)和 SDS-可溶性谷蛋白聚合体。用 BCA 试剂测定上清液的浓度, 或用于多层浓缩胶 SDS-PAGE。将沉淀中加入 400  $\mu\text{L}$  0.05 mol/L SDS-磷酸钠缓冲液(pH 6.8) (内含 0.5% SDS, 20% 甘油, 1% DTT), 65 $^\circ\text{C}$  振荡水浴 1 h; 12000 r/min 离心 5 min, 收集上清液; 重复步骤 5、6 一次, 将两部分上清液混匀。该上清液中主要含有高、低分子量谷蛋白亚基(HMW-GS, LMW-GS), 由 SDS-不溶性谷蛋白聚合体(即谷蛋白大聚体, Glutenin Macro-Polymer, GMP)经 DTT 降解生成。BCA 试剂测定浓度, 得出 SDS-不溶性谷蛋白聚合体的含量。

1.2.3 多层浓缩胶 SDS-PAGE 5 层浓缩胶 pH 均为 6.8, 甲叉双丙烯酰胺(Bisacrylamide, 简称 Bis) 浓度保持在 0.6% (w/v), 丙烯酰胺(Acrylamide, 简称 Acr) 的浓度分别是 4%、6%、8%、10% 和 12%, 每层高约 1.5 cm; 分离胶 pH 8.5, Acr 浓度为 14%, Bis 浓度为 0.28%, 高约 11.0 cm。整个胶的厚度为 1.5 cm。制胶的详细过程按照 Khan(1992)<sup>[16]</sup>和 Huang 等(1997)<sup>[8]</sup>, 略有

改进。

表 2 多层浓缩胶聚丙烯酰胺凝胶的配制

贮备液 Stocking solutions	分离胶 Resolving gel	浓缩胶 Stacking gel					
		14%	12%	10%	8%	6%	4%
40% Acr	(mL)	21.0	3.0	2.5	2.0	1.5	1.0
2% Bis	(mL)	8.4	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
1 M Tris-HCl pH 8.5	(mL)	7.5	-	-	-	-	-
0.5 M Tris-HCl pH 6.8	(mL)	-	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
10% SDS	(mL)	0.6	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Distilled Water	(mL)	19.5	0.9	1.4	1.9	2.4	2.9
TEM ED	( $\mu\text{L}$ )	30.0	7.5	7.5	7.5	7.5	7.5
1.5% APS	(mL)	3.0	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
体积 Volume	(mL)	60.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0

所用仪器为北京六一仪器厂的“DY-III4”型产品。每个样品的上样量为 100  $\mu\text{L}$ , 重复 3 次。电泳条件采用 15~20 mA, 电泳过夜, 考马斯亮蓝 G-250 染色, 乙醇冰乙酸溶液(30% 乙醇, 10% 冰乙酸)脱色。

1.2.4 各层浓缩胶中 SDS-可溶性谷蛋白聚合体的浓度测定 凝胶脱色后, 按浓缩胶浓度的不同, 每个泳道切下 5 条蛋白带, 分别装入 1.5 mL 的离心管, 捣碎后加入 300  $\mu\text{L}$  65 mmol/L Tris-HCl 缓冲液(pH 6.8, 内含 2% SDS, 20% 甘油, 0.1% DTT), 65 $^\circ\text{C}$  水浴溶解 1 h, 10000 r/min 离心 10 min, 取上清液用 BCA 法测定浓度。

## 2 结果与分析

### 2.1 面粉中各蛋白组分的含量和比例

所有 10 个材料的总蛋白含量相差不大(11.54~13.68), 但是它们的单体蛋白(包括清蛋白、球蛋白和醇溶蛋白)含量变化较大, 从 6.40 到 8.90, 总体上看, 优质材料的单体蛋白含量低(7.00), 劣质材料含量高(8.60), 中等材料居中(7.72)。与此同时, 谷蛋白聚合体(SDS-可溶谷蛋白+ SDS-不溶谷蛋白)含量变化也较大, 优质材料为 2.75+2.57=5.32, 中等为 2.14+2.39=4.53, 而劣质为 1.92+2.02=3.94(表 3)。这说明, 总蛋白含量相当时, 随着醇溶蛋白含量的增加, 谷蛋白含量降低, 小麦品质(SDS 沉淀值、稳定时间)变劣; 反之, 谷蛋白含量增加, 小麦品质变优。

### 2.2 GMP 和 SDS-可溶谷蛋白聚合体的含量和比例

从 SDS-不溶性谷蛋白(即谷蛋白大聚体, GMP)的百分含量看(表 3), 优质材料(260135、260037、260133 和 260081)平均为 2.57, 中等

(260005、260130、260196 和 260051) 平均为 2.39, 劣质(260136 和 260108) 平均为 2.02。初步显示了大聚体(GMP) 与品质呈正相关的趋势, 说明优质材料具有较高的 GMP 含量。

从 SDS-可溶性谷蛋白的百分含量看, 优、中、劣三类材料的平均值分别是: 2.75、2.14 和 1.92, 也与品质呈正相关趋势。而可溶与不溶谷蛋白的比率变化与品质关系不明显。

表 3 蛋白组分含量和比率  
Table 3 Contents and ratios of protein ingredients

材料 Lines	总蛋白 Protein (%)	单体蛋白 Monomer (%)	可溶谷蛋白 Soluble polymer (%)	不溶谷蛋白 Insoluble polymer (%)	可/不溶谷蛋白比 Ratio of soluble to insoluble polymer
260135	11.57	6.50	2.31	2.76	0.84
260037	13.68	8.41	3.04	2.23	1.36
260133	12.45	6.68	2.87	2.90	0.99
260081	11.54	6.40	2.76	2.38	1.16
平均 Mean	12.31	7.00	2.75	2.57	1.09
260050	12.41	8.01	1.79	2.61	0.69
260130	12.13	7.70	2.34	2.09	1.12
260196	12.61	8.18	1.86	2.57	0.72
260051	11.82	6.98	2.57	2.27	1.13
平均 Mean	12.24	7.72	2.14	2.39	0.92
260136	12.85	8.90	1.86	2.09	0.89
260108	12.22	8.30	1.98	1.94	1.02
平均 Mean	12.54	8.60	1.92	2.02	0.96

### 2.3 不同浓缩胶中可溶性谷蛋白的百分含量

从表 4 中可以看出, 优质材料在 4%、6%、8% 浓缩胶中的谷蛋白分别占可溶性谷蛋白的 25.0%、25.9% 和 35.9%, 而在 10%、12% 胶中只有 7.5% 和 5.2%。劣质材料在 4%、6%、8% 胶中谷蛋白的比率分别是 17.0%、19.9% 和 19.0%, 而在 10%、12% 胶中占 26.9% 和 17.4%。中等材料的数值介于优、劣质材料之间。

由于 4% 胶的孔径最大, 12% 胶的孔径最小, 也就是说 4% 胶中谷蛋白聚合物分子量最大, 12% 胶中聚合体的分子量最小。因此, 表 4 说明: 优质材料的可溶性谷蛋白聚合物中, 分子量大的聚合物比例高, 分子量小的比例低; 劣质材料的可溶性谷蛋白聚合物分子量分布正相反。中等材料的可溶性谷蛋白聚合物分子量分布较为平均, 处于优、劣质材料中间。

表 4 不同浓缩胶中可溶性谷蛋白的百分含量  
Table 4 Relative contents(%) of soluble gluten aggregates from various origins

材料 Lines	4% 胶 4% gel	6% 胶 6% gel	8% 胶 8% gel	10% 胶 10% gel	12% 胶 12% gel	总量 Total
260135	26.9	23.1	38.5	7.7	3.8	100
260037	23.4	27.7	31.9	8.5	6.4	100
260133	22.0	26.8	43.9	2.4	4.9	100
260081	27.5	26.0	29.2	11.5	5.8	100
平均 Mean	25.0	25.9	35.9	7.5	5.2	100
260050	17.9	20.3	27.4	19.2	15.2	100
260130	20.1	18.0	32.7	17.9	11.3	100
260196	19.8	17.6	28.5	21.4	12.7	100
260051	18.6	18.5	25.4	23.2	14.3	100
平均 Mean	19.1	18.6	28.5	20.4	13.4	100
260136	17.7	19.1	19.1	28.9	15.2	100
260108	16.3	20.6	18.8	24.8	19.5	100
平均 Mean	17.0	19.9	19.0	26.9	17.4	100

### 3 讨论

杨学举等<sup>[17]</sup>发现清蛋白、球蛋白与主要面包烘烤品质性状负相关, 其中清蛋白与沉淀值显著负相关。赵乃新等<sup>[18]</sup>采用凯氏定氮法对黑龙江小麦品种不同品质类型的分析表明, 小麦品质性状与麦谷蛋

白/醇溶蛋白比值显著相关, 随着谷蛋白含量的增加, 面筋、沉淀值、稳定时间均明显增大。这与本研究结论相一致。

谷蛋白聚合物主要由 HMW-GS 和 LMW-GS 形成的, 一系列聚合程度不同的大分子<sup>[5]</sup>, 聚合体的含量和分子量分布决定了面筋的强度和品质。通

过 SDS-磷酸缓冲液可将谷蛋白聚合体分成两部分: 分子量较小的可溶性谷蛋白和分子量较大的不溶性谷蛋白; 利用多层浓缩胶 SDS-PAGE 可将可溶性谷蛋白从清蛋白、球蛋白等单体蛋白中分离出来, 且将其分成大小不同的 5 组; 进而分析可溶性谷蛋白的分子量分布。

Weegels<sup>[11]</sup>认为当 HMW-GS 和 Y 型亚基相对含量增加时, 谷蛋白聚合体的分布向较大方向偏移, 不溶性谷蛋白(即 GM P)的含量提高, 从而烘烤品质变优。Gupta<sup>[11]</sup>和 Popineau (1994)<sup>[12]</sup>等发现 5+ 10 品种的 GM P 含量明显高于 2+ 12 的品种, Gupta<sup>[11]</sup>还发现 5+ 10 基因型积聚大的谷蛋白聚合体和 HMW-GS 的速率快于 2+ 12 基因型。Zhu 等<sup>[2]</sup>发现施加氮肥, 不但能增加蛋白质含量, 还能增加 GM P 的相对含量, 改变了谷蛋白亚基间的比例。孙辉<sup>[9]</sup>发现 GM P 含量与沉降值、面团形成时间、稳定时间相关显著, GM P 含量高的品种, 其面筋强度较大, 最终面包烘烤品质较好。本研究表明, 品质优良的材料含有更多的 GM P 和分子量较大的可溶性谷蛋白。

在本研究中 4 个优质材料都含有 5+ 10 亚基, 其品质优于其余 6 个含 2+ 12 的材料; 而其分子量较大的可溶性谷蛋白聚合体和大聚体的含量明显高。与 2 个不含 1 亚基的劣质材料相比, 3 个中等材料(除了 260050)含有 1 亚基, 其分子量较大的谷蛋白聚合体和大聚体的含量偏高。说明谷蛋白亚基的含量和组成是通过改变谷蛋白聚合体的含量和分子量分布来影响面筋蛋白的特性, 进而影响面团的品质, 优质亚基(或亚基对)为形成聚合度较高的谷蛋白多聚体提供了遗传基础。

因此, 面粉中各蛋白组分的质量和数量, 尤其是谷蛋白的含量、在总蛋白中所占比例以及 HMW-GS 的类型, 决定了 HMW-GS 的类型和含量(比例); 而其聚合形成的谷蛋白聚合体决定了谷蛋白的溶解性, 进而可能是决定小麦品质的更直接的原因。从本研究中得出: 仅靠蛋白质组分的含量和 HMW-GS 组成来进行品质评价是不够全面的, 结合谷蛋白聚合体的含量和分布进行品质评价和选择育种, 才能更加准确可靠。

## References

- [1] Payne P I, Corfield K G. Subunits composition of wheat glutenin proteins isolated by gel filtration in a dissociating medium. *Planta*, 1979, 14: 83~ 88
- [2] Shewry P R, Sayanova O, Tatham A S. Structure, assembly and targeting of wheat storage proteins. *J Plant Physiol*, 1995, 145: 620~ 625
- [3] Hueber F R, Wall J S. Fractionation and quantitative differences of glutenin from wheat varieties varying in baking quality. *Cereal Chem*, 1976, 53: 258~ 269
- [4] Sapirstein H D, Fu B X. Intercultivar variation in the quantity of monomeric proteins, soluble and insoluble glutenin, and residue protein in wheat flour and relationships to bread making quality. *Cereal Chem*, 1998, 75(4): 500~ 507
- [5] Southan M, MacRitchie M. Molecular weight distribution of wheat proteins. *Cereal Chem*, 1999, 76(6): 827~ 836
- [6] Singh N K, Donovan G R, Batey IL, et al. Use of sonication and size-exclusion high-performance liquid chromatography in the study of wheat flour proteins. I. Dissolution of total proteins in the absence of reducing agents. *Cereal Chem*, 1990, 67: 150~ 161
- [7] Gupta R B, Khan K, MacRitchie F. Biochemical basis of flour properties in bread wheats. I. Effects of variation in the quality and size distribution of polymeric protein. *J Cereal Sci*, 1993, 18: 23~ 41
- [8] Huang D Y, Khan K. Characterization and quantification of native glutenin aggregates by multistacking sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) procedures. *Cereal Chem*, 1997, 74(3): 229~ 234
- [9] Sun H (孙辉), Yao D-N (姚大年), Li B-Y (李保云), et al. Correlation between content of glutenin macropolymer (GM P) in wheat and baking quality. *J of the Chinese Cereal and Oils Association* (中国粮油学报), 1998, 13(6): 13~ 16 (in Chinese)
- [10] Weegels P L, Flissebaalje T, Hamer R. Factors affecting the glutenin macropolymer. *Cereal Chem*, 1994, 7(3): 308~ 309
- [11] Weegels P L, Hamer R J, Scholfield J D. Functional properties of wheat glutenin. *J Cereal Sci*, 1996, 23: 1~ 18
- [12] Weegels P L, Hamer R J, Scholfield J D. Depolymerisation and repolymerisation of wheat glutenin during dough processing. III. Effects on composition of the glutenin macropolymer during mixing and resting. *J Cereal Sci*, 1997, 25: 165~ 173
- [13] Popineau Y, Corne C M, Lefebvre J, et al. Influence of high molecular weight subunits on glutenin polymers and rheological properties of near-isogenic lines of wheat Sicca. *Cereal Sci*, 1994, 19: 231~ 241
- [14] Zhu J B, Khan K. Characterization of monomeric and glutenin polymeric proteins of hard red spring wheats during grain development by multistacking SDS-PAGE and capillary zone electrophoresis. *Cereal Chem*, 1999, 76: 261~ 269
- [15] Zhu J B, Khan K, Huang S, et al. Allelic variation at Glu-D1 locus for high molecular weight (HMW) glutenin subunits: Quantification by multistacking SDS-PAGE of wheat grown under nitrogen fertilization. *Cereal Chem*, 1999, 76: 915~ 919
- [16] Khan K, Linda H. Use of multistacking gels in sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis to reveal polydispersity, aggregation and disaggregation of the glutenin protein fraction. *Cereal Chem*, 1992, 69(6): 686~ 688
- [17] Yang X-J (杨学举), Lu S-Y (卢少源), Zhang R-Z (张荣芝). Relations between protein groups and bread-baking quality characters of wheat. *J of the Chinese Cereal and Oils Association* (中国粮油学报), 1999, 14(1): 1~ 5 (in Chinese)
- [18] Zhao N-X (赵乃新), Gu X-H (顾小红), Lan J (兰静). 小麦品质性状与蛋白组分含量关系的研究. *Tritical Crops* (麦类作物), 1998, 18(4): 44~ 47 (in Chinese)
- [19] Gupta R B, Masci S, Lafiandra D, et al. Accumulation of protein subunits and their polymers in developing grains of hexaploid wheats. *J Exper Bot*, 1996, 47: 1377~ 1385