

小麦高分子量谷蛋白亚基的分离 纯化及其抗血清的某些性质

李育庆 赵志安 顾其敏

(复旦大学生物学系, 上海)

普通小麦种子蛋白中醇溶蛋白和谷蛋白各约占 45%, 谷蛋白在分子量 75 千道尔顿 (KD) 至 150 KD 之间的一组亚基称为高分子量谷蛋白亚基(在 SDS 凝胶电泳上一般可分辨出 3 至 6 条带)。它们影响小麦的面团形成和烘烤性质。

我们从宁麦三号种子中按 Shewry, P. R. 等人(*Biochim. Biophys. Acta* 788:23—34, 1984) 的方法抽提出总谷蛋白并用乙烯基吡啶封闭巯基, 电泳分析发现高分子量谷蛋白共有 4 个亚基, 分子量分别为 104, 92, 83 和 76 KD。通过 Sephadex G-100 与 CM-纤维素柱层析, 得到纯化的 104 KD 亚基。并用 SDS 凝胶电泳纯化了 76 KD 亚基。氨基酸组成测定结果如下表, 与国外已发表的高分子量谷蛋白亚基的数据基本一致, 但 Gly 稍高, Glx 的含量稍低。

由于谷蛋白溶解度差, 较难获得纯的抗原,

同时其本身抗原性差, 因而到目前为止, 有关小麦谷蛋白的抗血清研究报导甚少。我们用这两个提纯的亚基分别免疫新西兰家兔, 用免疫双扩散法测定 76 KD 亚基的抗血清效价达 1/16; 而 104 KD 亚基的抗血清则效价很低, 要用 ELISA 法才能测出。当用 76 KD 亚基的抗血清与辣根过氧化酶联羊抗兔 IgG 一起用 ELISA 间接法测定时, 可检测到低至 600 pg 的抗原; 用酶联免疫电泳转移 (EITB) 技术检测电泳分离的抗原区带时, 抗血清稀释至 1/200, 000 时仍能给出正的信号, 与大肠杆菌总蛋白没有交叉反应。以上结果进一步说明了 76 KD 亚基的抗血清具有较高的效价。它可用于小麦谷蛋白特别是高分子量谷蛋白亚基的结构同源性研究, 也可用于筛选表达基因库以分离高分子量谷蛋白亚基的基因。

高分子量谷蛋白亚基的氨基酸组成*

	Asx	Thr	Ser	Glx	Pro	Gly	Ala	Val	Met	Ile	Leu	Tyr	Phe	His	Lys	Arg
104 KD	2.2	3.0	8.8	27.2	14.7	18.2	4.2	1.9	0.4	1.5	4.6	4.0	3.1	2.2	2.5	1.5
76 KD	5.6	3.6	8.6	20.6	11.7	20.1	4.9	3.4	0.2	2.0	6.9	2.0	2.2	2.2	3.6	2.8

*数据未经水解破坏校正。数字指100个氨基酸残基中该残基的数目。Cys 与 Trp 没有测定。

[本文于 1987 年 4 月 17 日收到]

误差的主要来源。实际上上述两个误差可以部分地互相抵销, 因为前者使 L'' 偏小, 后者使 L'' 偏大, 综合的结果使得误差约在 10% 左右。而分析 Thomas 等曲线, 可以看到 L''/L 变化约 4 倍时, τ_c 值才改变一个量级。所以本文修正方法引入的误差不会过分地影响测量结果的分析。但对 τ_c 达 10^{-7} 秒的快运动体系, 上述修正公式不适用。

[本文于 1987 年 4 月 29 日收到]