

# 小麦低分子量麦谷蛋白亚基(LMW-GS)研究进展

虎梦霞

(甘肃省农业科学院小麦研究所, 甘肃 兰州 730070)

**摘要:** 对小麦低分子量麦谷蛋白亚基(LMW-GS)的分类、结构与功能、遗传多样性、分子鉴定与基因克隆及其与小麦加工品质的关系等研究进展进行了简要回顾, 同时分析了我国小麦品种LMW-GS的分布状况及其小麦改良的方向。

**关键词:** 小麦; 加工品质; LMW-GS; 研究进展

**中图分类号:** S512.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-1463(2014)01-0043-04

**doi:**10.3969/j.issn.1001-1463.2014.01.019

## Research Progress on Low Molecular Weight Glutenin Subunits (LMW-GS) in Wheat

HU Meng-xia

(Institute of Wheat, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou Gansu 730070, China)

**Abstract:** In the review, we present a simple overview on low molecular weight glutenin subunits, including classification, structure and function, genetics and polymorphism, molecular identification and gene clone, and its correlation. We also analyze LMW-GS subunits distribution of Chinese wheat cultivar and their improving directions.

**Key words:** Wheat; Processing quality; LMW-GS; Research progress

低分子量麦谷蛋白亚基(LMW-GS)是小麦麦谷蛋白的重要组成部分, 约占麦谷蛋白总量的60%, 在小麦的营养品质和面粉加工过程中有重要作用。LMW-GS多态性丰富, 结构复杂, 与醇溶蛋白分子量相近, 分离难度大, 对小麦品质的贡献程度难以准确评价, 研究的深度和广度难以拓展<sup>[1]</sup>; 另外, 由于LMW-GS和高分子量麦谷蛋白亚基(HMW-GS)的互作效应, 在一定程度上也影响了准确评价HMW-GS对小麦加工品质的作用, 如HMW-GS亚基组成相同的小麦品种品质差异非常大, 甚至含有优质亚基5+10、17+18和2\*等的材料不总是优质的。截止目前, 对LMW-GS的命名、分类、基因结构、多态性、分子克隆以及与烘烤品质的关系研究都远远落后于HMW-GS相关性状的研究<sup>[2-3]</sup>。

### 1 LMW-GS分类和结构

Jackson等根据低分子量麦谷蛋白亚基在SDS-PAGE和2-DIEF/SDS-PAGE的迁移率和等电点, 将其分成B、C、D 3种组分<sup>[4]</sup>。其中B组分是

LMW-GS最基本的部分, 较小的C组分具有较宽的等电点, D组分具有比B、C组分慢的迁移率, 且形成胚乳蛋白中最具有酸性的一组。Kasarda按照功能的不同, 又将B、C和D类亚基分为两大类: 一类有两个分子间二硫键, 起延长链的作用, 包括绝大部分的B类亚基; 另一类仅有1个Cys-残基用以形成分子间二硫键, 起终止链的作用, 包括大部分的C和D类亚基<sup>[5]</sup>, 依据LMW-GS的N末端第1个氨基酸的差异, 即甲硫氨酸、丝氨酸和异亮氨酸又分为LMW-m, LMW-s和LMW-i<sup>[6]</sup>。

LMW-GS有4个主要的结构域, 20个氨基酸信号肽、1个短的13个氨基酸的N末端序列、氨基酸重复区域和C末端结构域。N-末端序列具有大量的半胱氨酸残基, 其中6个半胱氨酸残基形成分子内二硫键, 两个游离的半胱氨酸残基与HMW-GS的半胱氨酸残基形成分子间二硫键, 将LMW-GS连接到HMW-GS“骨架”中, 聚合为麦谷蛋白<sup>[5]</sup>。在N-末端结构域, 重复序列形成的 $\beta$ -转角, 可能进一步形成规则的螺旋结构, 非重复序列则形成紧

收稿日期: 2013-08-30

基金项目: 甘肃省农业生物技术研究与开发项目(GNCSW-2012-12); 甘肃省农业科学院农业科技专项(1203NKF018)资助。

作者简介: 虎梦霞(1974—), 女, 甘肃渭源人, 农艺师, 主要从事作物育种研究。联系电话: (0931)7612363。E-mail: feitianhumengxia@qq.com

密的 $\alpha$ -螺旋<sup>[7]</sup>。Lee等的研究显示,小麦面粉中加入3种LMW-GS,和面时间延长的程度不同<sup>[8]</sup>。Xu等报道包括9个半胱氨酸残基的LMW-GS基因较含有8个的和面时间显著提高,面团强度增强,而抗延阻力减弱,但有更高的蛋白聚合物<sup>[9]</sup>。说明面团强度提高与和面时间的延长主要是LMW-GS参与了谷蛋白聚合体的形成,和面参数和蛋白聚合体的效应取决于聚合LMW-GS亚基的数目。由于LMW-GS结构的复杂性和研究不够深入,目前还不能从结构上解释LMW-GS对小麦品质的效应,在一定程度上也限制了LMW-GS的序列分析和分子克隆等方面的深入研究。

## 2 LMW-GS遗传多样性

LMW-GS是一个蛋白大家族。Gupta和Shepherd利用SDS-PAGE方法,在普通小麦品种中发现40个不同的LMW-GS<sup>[10]</sup>;对四倍体硬粒小麦B型控制的LMW-GS进行描述,发现了20个不同的B亚基<sup>[11]</sup>;从二倍体粗山羊草品种中观察到30个不同的B亚基和43个C亚基LMW-GS带型<sup>[12]</sup>;从spelta小麦中鉴定了一些特异LMW-GS等位基因<sup>[13]</sup>。另外,从小麦近缘种如野生二粒小麦、高大山羊草等作物中也分离出LMW-GS,都具有丰富的遗传多态性<sup>[14-16]</sup>。目前已明确的普通小麦LMW-GS等位变异在Glu-A3位点有6个等位基因;Glu-B3位点有10个等位基因;Glu-D3位点有11个等位基因。各个位点等位变异可分别通过SDS-PAGE、2-DE、MALDI-TOF-MS和PCR等方法很好区分<sup>[17]</sup>。

LMW-GS丰富的多态性、复杂结构和难分离,加大了其研究难度和深度,加之LMW-GS与HMW-GS、醇溶蛋白的相互作用,使LMW-GS与小麦品质的关系更为错综复杂。

## 3 LMW-GS的分子鉴定与基因克隆

小麦LMW-GS的分子鉴定及基因克隆将是国内外的一个重要研究课题,研究者以期通过基因工程定向改良小麦品质。

利用LMW-GS基因两端保守序列来设计等位基因特异引物(AS-PCR),通过PCR直接从基因组扩增得到基因片段,然后将其克隆到载体上进行测序,因其利用了PCR迅速、灵敏等特点,近几年来成为LMW-GS基因克隆的重要手段。利用cDNA基因克隆从普通小麦(AABBDD)Chinese Spring得到1个部分序列,从Cheyenne得到2个部分、1个完整序列,从硬粒小麦(AABB)Mexicali得到1个完整基因序列<sup>[18-21]</sup>。利用gDNA基因克隆方法,Pitts等首次从普通小麦Yamhill中得到1个完整LMW-GS基

因序列<sup>[22]</sup>。Zhang等和Ikeda等分别发展了一套区分Glu-A3位点LMW-GS等位变异的特异性标记引物<sup>[23-24]</sup>;Zhao等从普通小麦的Glu-D3位点发现了新的LMW-GS基因并开发了相应标记<sup>[25-26]</sup>。Jiang等从小麦属和山羊草鉴定和克隆了4个新LMW-GS基因,均属于LMW-m类型,这些基因具有相似的结构,但第一个半胱氨酸残基、重复序列和 $\beta$ 连的数量等有一定的差别<sup>[27]</sup>。鉴于Glu-B3位点对小麦品质性状的正向作用显著,国家小麦玉米改良中心(CIMMYT)依据Glu-B3位点完全编码序列发展了10个功能标记,目的是区分Glu-B3位点的不同等位变异<sup>[28]</sup>。

## 4 LMW-GS与品质性状的关系

LMW-GS对品质具有重要作用,面粉的延展性与LMW-GS总的数量相关。已发现Glu-B3位点的加性和互作效应<sup>[29-30]</sup>。Mascio等研究发现LMW-2与面粉品质较优有关的原因在于有42K蛋白亚基带,同时也发现,来自普通小麦栽培种Yecora Roj的42K低分子量谷蛋白亚基与优良面粉品质高度相关<sup>[31]</sup>。2001年Luo等在普通小麦HMW-GS和LMW-GS等位变异对面粉品质影响的研究中发现,Glu-3位点的等位变异对小麦品质相关技术参数影响较大,如面粉蛋白含量、SDS沉淀值等<sup>[32]</sup>。

LMW-GS不同亚基对小麦品种品质参数影响较大,不同亚基组合也有很大差异。Cornish等报道Glu-3位点,亚基组合为GluA3b、GluB3b和GluD3b的品种具有最好的延伸性,亚基组合为GluA3b、GluB3b和GluD3c的品种的延伸性也较好,亚基组合为GluA3b、GluB3b和GluD3b, GluA3b、GluB3b和GluD3c,以及GluA3c、GluB3b和GluD3c的品种,其面包品质最好<sup>[33]</sup>。He等和Liu等报道Glu-B3位点的d和b等位基因对面团延展性的作用大于其它等位基因,Glu-A3d和Glu-B3d对中国干白面条品质的贡献较其它等位基因大<sup>[34]</sup>,对和面时间的贡献为Glu-D1>Glu-B3>Glu-A1=Glu-B1=Glu-A3;对面团耐柔性而言,Glu-D1>Glu-B3=Glu-B1>Glu-A3>Glu-A1<sup>[35]</sup>。

由此可见,LMW-GS与面筋强度和面团延展性等有关,LMW-GS总的数量与小麦加工品质相关,而且不同等位变异对不同品质参数的决定作用存在一定的差异。

## 5 LMW-GS在国内育种中的应用及小麦改良方向

到目前为止, HMW-GS和面包加工品质之间

的关系已达成共识。HMW-GS组成已成为小麦育种亲本选配和后代选择的重要依据, 尽管LMW-GS对小麦加工品质有重要作用, 但由于LMW-GS亚基变异广泛, 分析和鉴定技术还不够完善, 加之品种系LMW优质亚基携带材料所限, 基本谈不上将其用于作物育种辅助选择。

许多研究表明, 中国小麦主栽品种的HMW-GS主要由N、7+9、2+12等品质较差的亚基构成, 优质亚基2\*、14+15、17+18和5+10的频率明显偏低, 这是我国小麦面筋强度偏弱、面团流变学特性差的主要原因之一<sup>[36-38]</sup>。刘丽等研究表明: 亚基组合为1、7+8、5+10、Glu-A3a、Glu-B3b, 1、7+8、5+10、Glu-A3e、Glu-B3g, 1、7+9、5+10、Glu-A3d、Glu-B3d, 1、14+15、5+10、Glu-A3d、Glu-B3g和1、17+18、2+12、Glu-A3d、Glu-B3f的品种, 其形成时间、稳定时间和最大阻力皆较优<sup>[39]</sup>。但我国小麦品种含有以上优质亚基和亚基组合的材料较少。因此, 进一步肯定LMW-GS的基因结构、多态性、与烘烤品质的关系非常重要。全面调查HMW-GS、LMW-GS的分布, 明确我国小麦品质改良的育种目标, 发掘优质亚基基因源, 在优质面包和面条新品种选育中引入优质亚基, 特别是5+10、14+15、Glu-A3d、Glu-B3f和Glu-B3g等, 综合考虑HMW-GS和LMW-GS对小麦品质的影响, 以提高小麦面筋强度。

#### 参考文献:

- [1] SINGH N K, SHEPHERD K W. Linkage mapping of genes controlling endosperm storage proteins in Wheat [J]. Theoretical and Applied Genetics, 1988, 75(4): 628-641.
- [2] APPELBEE M J, MEKURIA G T, NAGASANDRA V, et al. Mather DE: Novel allelic variants encoded at the Glu-D3 locus in bread wheat [J]. J. Cereal Sci., 2009, 49(2): 254-261.
- [3] D'OVIDIO, MASCI S: The low-molecular-weight glutenin subunits of wheat gluten[J]. J. Cereal Sci., 2004, 39(3): 321-339.
- [4] JACKSON E A, HOLT L M, PAYNE P I. Characterization of high-molecular-weight gliadin and low-molecular-weight glutenin subunits of wheat endosperm by two-dimensional electrophoresis and the chromosomal localization of their controlling genes [J]. Theor. Appl. Genet., 1983, 66: 29-37
- [5] KASARDA D D. Glutenin structure in relation to wheat quality [C] //Wheat is Unique. St. Paul: MN. USA, 1989: 277-302.
- [6] MASCI S, ROVELLI L, KASARDA D D, et al. Characterisation and chromosomal localization of C-type low-molecular-weight glutenin subunits in the bread wheat cultivar Chinese Spring[J]. Theor. Appl. Genet., 2002, 104(2): 422-428.
- [7] THOMSON N H, MILES M J, TATHAM A S, et al. Molecular images of cereal proteins by STM[J]. Ultramicroscopy, 1992, 42: 1118-1122.
- [8] LEE Y K, BEKES F, GRAS P, et al. The low-molecular-weight glutenin subunit proteins of primitive wheats. IV. Functional properties of products from individual genes[J]. Theor. Appl. Genet., 1998, 98: 149-155.
- [9] XU H, WANG R J, SHEN X, et al. Functional properties of a new low-molecular-weight glutenin subunit gene from a bread wheat cultivar [J]. Theor Appl Genet 2006(113): 1295-1303
- [10] GUPTA R B, SHEPHERD K W. Two-step one-dimensional SDS-PAGE analysis of LMW subunits of glutenin [J]. Theor Appl Genet. 1990, 80: 65-74.
- [11] NIETO-TALADRIZ M T, M. RUIZ, M. C. MARTINEZ, et al. Variation and classification of B low-molecular-weight glutenin subunit alleles in durum wheat [J]. Theoretical and Applied Genetics, 1997, 95(7): 1155-1160.
- [12] GIANIBELLI M C, WRIGLEY C W, MACRITCHIE F. Polymorphism of low Mr Glutenin subunits in *Triticum tauschii*[J]. J. Cereal Sci. 2002, 35: 277-286.
- [13] YAN Y, S L K HSAM, J Z YU, et al. HMW and LMW glutenin alleles among putative tetraploid and hexaploid European spelt wheat (*Triticum spelta* L.) progenitors [J]. Theor. Appl. Genet., 2003, 107: 1321-1330.
- [14] YUE Y W, LONG H, LIU Q, et al. Isolation of low-molecular-weight glutenin subunit genes from wild emmer wheat *Triticum dicoccoides*[J]. J. Appl. Genet., 2005, 46: 349-355.
- [15] LI X H, WANG A L, YINGHUA XIAO, et al. Cloning and characterization of a novel low molecular weight glutenin subunit gene at the Glu-A3 locus from wild emmer wheat (*Triticum turgidum* L. var. *dicoccoides*) [J]. Euphytica, 2008, 159: 181-190.
- [16] HUANG Z, LONG H, JIANG Q T, et al. Molecular characterization of novel low-molecular-weight glutenin genes in *Aegilops longissima* [J]. J. Appl. Genet., 2010, 51(1): 9-18.
- [17] LI L, IKEDA T M, GERARD BRANLARD, et al. Research article Comparison of low molecular weight glutenin subunits identified by SDS-PAGE, 2-DE,

- MALDI-TOF-MS and PCR in common wheat[J]. BMC Plant Biology, 2010, 10: 124
- [18] MASCI S, D'OVIDIO R, Lafiandra D, *et al.* Characterization of a low-molecular-weight glutenin subunit gene from bread wheat and the corresponding protein that represents a major subunit of the glutenin polymer [J]. Plant Physiology, 1998, 118: 1147-1158.
- [19] MASCI, S., ROVELLI, L., KASARDA, *et al.* Characterisation and chromosomal localisation of C-type low-molecular-weight glutenin subunits in the bread wheat cultivar Chinese Spring[J]. Theor. Appl. Genet., 2002, 104: 422-428.
- [20] D'OVIDIO R, SIMEONE M, MASCI S *et al.* Molecular characterization of a LMW-GS gene located on chromosome 1B and the development of primers specific for the Glu-B3 complex locus in durum wheat [J]. Theor. Appl. Genet., 1997, 95: 1119-1126.
- [21] D'OVIDIO R, MARCHITELLI C, ERCOLI CARDELLI L *et al.* Sequence similarity between allelic Glu-B3 genes related to quality properties of durum wheat [J]. Theor. Appl. Genet., 1999, 98: 455-461.
- [22] PITTS E G, RAFALSKI J A, HEDGCOTH C. Nucleotide sequence and encoded amino acid sequence of a genomic gene region for a low molecular weight glutenin [J]. Nucleic acids Research, 1988, 16: 11376.
- [23] ZHANG W, GIANIBELLI M C, L R RAMPLING. Characterisation and marker development for low molecular weight glutenin genes from Glu-A3 alleles of bread wheat (*Triticum aestivum*. L)[J]. Theor. Appl. Genet., 2004, 108: 1409-1419.
- [24] IKEDA T M, ARAKI E, FUJITA Y. Characterization of lowmolecular-weight glutenin subunit genes and their protein products in common wheats [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2006, 112: 327-334.
- [25] ZHAO X L, XIA X C, HE Z H, *et al.* Characterization of three low-molecular-weight Glu-D3 subunit genes in common wheat [J]. Theor. Appl. Genet., 2006, 113 (7): 1247-1259
- [26] ZHAO X L, XIA X C, HE Z H, *et al.* Novel DNA variations to characterize low molecular weight glutenin Glu-D3 genes and develop STS markers in common wheat[J]. Theor. Appl. Genet., 2007, 114(3): 451-460.
- [27] JIANG C, PEI Y, ZHANG Y, *et al.* Molecular cloning and characterization of four novel LMW glutenin subunit genes from *Aegilops longissima*, *Triticum dicoccoides* and *T. zhukovskiyi*[J]. Hereditas, 2008, 145: 92-98.
- [28] WANG L H, X L ZHAO, HE Z H, *et al.* Characterization of low-molecular-weight glutenin subunit Glu-B3 genes and development of STS markers in common wheat (*Triticum aestivum* L.)[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2009, 118(3): 525-539.
- [29] POGNA N E, AUSTRAN J C, LAFIANDRA D, *et al.* Chromosome 1B-encoded gliadins and glutenin subunits in durum wheat: genetics and relationship to gluten strength[J]. J. Cereal. Sci., 1990, 11: 15-34.
- [30] GUPTA G B, MAC RITCHIE F. Allelic variation at glutenin subunit and gliadin loci, Glu-3 and Gli-1 of common wheats. Biochemical basis of the allelic effects on dough properties [J]. Cereal Chem, 1994, 19: 19-29.
- [31] MASCI, S, LEW E J L, LAFIANDRA, *et al.* Characterization of low-molecular-weight glutenin subunits in durum wheat by RP-HPLC and N-terminal sequencing[J]. Cereal Chemistry, 1995, 72: 100-104.
- [32] LUO C, GRIFFIN W B, BRANDLARD G, *et al.* Comparison of low-and high molecular weight wheat glutenin allele effects on flour quality [J]. Theor. Appl. Genet, 2001, 102: 1088-1098.
- [33] CORNISH G B, BURRIDGE P M, PALMER G A, *et al.* Mapping the origins of some HMW and LMW glutenin subunit alleles in Australian germplasm [D]. Sydney: Proc 43nd Aust Cereal Chem Conf., 1993, 255-260.
- [34] HE Z H, LIU L, XIA X C, *et al.* Effect of allelic variation at the Glu-1 and Glu-3 loci and presence of 1B/1RL translocation on pan bread and dry white Chinese noodle quality[J]. Cereal Chemistry, 2005, 82: 345-350.
- [35] LIU L, HE Z H, YAN J, *et al.* Allelic variation at the Glu-1 and Glu-3 loci, presence of the 1B.1R translocation, and their effects on mixographic properties in Chinese bread wheat [J]. Euphytica, 2005, 142: 197-204.
- [36] HE ZHONGHU, PENA R J, RAJARAM S. High molecular weight glutenin subunit composition of Chinese bread wheats[J]. Euphytica, 1992, 64: 11-20.
- [37] 张学勇, 董玉琛, 游光侠, 等. 中国小麦大面积推广品种及骨干亲本的高分子量谷蛋白亚基组成分析[J]. 中国农业科学, 2001, 34(4): 355-362.
- [38] 张学勇, 庞斌双, 游光霞, 等. 中国小麦品种资源 Glu-1 位点组成概况及遗传多样性分析[J]. 中国农业科学, 2002, 35(11): 1302-1310.
- [39] 刘丽, 阎俊, 张艳, 等. 冬播麦区 Glu-1 和 Glu-3 位点变异及 1B/1R 易位与小麦加工品质性状的关系 [J]. 中国农业科学, 2005, 38(10): 1944-1950.