種々の豆類種子のアリューロン層の構造と その高グリシントランパク質含有量

松井 美預子, 中井 理江
豊沢 功, 福田 満
武庫川女子大学生活環境学部食物栄養学科

The Structure of the Aleurone Layer and Its Glycine-rich Protein Content in Different Bean Seeds

Miyoko MATSUI, Rie NAKAI, Isao TOYOSAWA and Mitsuru FUKUDA

Department of Food Science and Nutrition, School of Life and Environmental Sciences,
Mukogawa Women's University, Nishinomiya 663

Nippon Eiyō Shokuryō Gakkaishi (J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci.) 48, 477~483 (1995)

The tissue structure of the aleurone layer in different bean seeds, and its content of the glycine-rich protein (GRP) were investigated. The aleurone layers of soybean (*Glycine max*, cv. Enrei), black soybean (*Glycine max*, cv. Tanbaguro), and wild soybean (*Glycine soja*) were thicker compared to those of red kidney bean (*Phaseolus vulgaris*, cv. Taishokintoki) and marbled kidney bean (*Phaseolus vulgaris*, cv. Toramame). The soybean GRP, which is a characteristic of the cell walls in the aleurone layer, was found mainly in the pectin fraction. The GRP content, found in the hot-water-soluble fraction of the aleurone layer, in the three kinds of soybean was greater than that found in the two kinds of kidney bean. The estimated molecular size (about 30 kDa) of the GRPs extracted from both the wild and black soybeans was the same as that from *Glycine max*, cv Enrei. The GRP, found in the aleurone layer of plants belonging to the soybean genus, probably has some role in strengthening the cell walls in this tissue.

Key Words aleurone layer, glycine-rich protein, cell wall protein, soybean genus, pectin.

(Received April 6, 1995)

種子の吸水は種子を原料とする加工食品の製造や種子の発芽・栽培を行う上で非常に重要な性質である。ダイズの種皮は他の豆に比べて薄いので、種皮表面から水分が容易に吸収される。著者らはダイズ種子の吸水機構を研究する目的でダイズ種皮やアリューロン層の構造と成分を調べる過程において、種皮に付随するアリューロン層¹⁾に高グリシントランパク質 (GRP) が存在することを認めた²⁾。GRP は植物および動物組織に存在し³⁾、繊維状構造の形成率の高いタンパク質である⁴⁾。また GRP は植物組織内では細胞壁の構造タンパク質であり、最近種々の植物に GRP およびその遺伝子の存在が報告されている^{5)~9)}。しかしながら、細胞壁から分離した GRP の性質を調べた例はいままでにほとんどなく¹⁰⁾、タンパク質としての性質の解明が必要とされる。一方、植物組織全体の細胞壁にはヒドロキシプロリン量の豊富なタンパク質

(エクステンシン)^{10)~12)} やプロリン量の豊富なタンパク質¹³⁾ が存在するが、GRP の分布は植物内の維管束等の一部の組織の細胞壁に限られる^{4)9)~9)}。このような分布上の相違から、両者は細胞壁内で異なった役割を担っていると推定される。また、GRP は植物のストレスタンパク質でもあり^{14)~16)}、生理的機能を有すると推測される。

著者らは先にダイズ種子のアリューロン層細胞壁の熱水可溶性画分から GRP の分離精製を行ったが⁵⁾¹⁷⁾¹⁸⁾、アリューロン層 GRP の細胞壁内機能についてはいまだ明らかになっていない。本論文では豆類アリューロン層における GRP の機能解明のために、ダイズやインゲンマメのアリューロン層組織構造の比較、ダイズのアリューロン層 GRP の細胞壁内分布、ダイズ以外の豆のアリューロン層細胞壁での GRP の存在を調べた。

実験材料と方法

1. 実験材料と種皮・アリューロン層の組織観察

市販のダイズ（品種エンレイ）、黒ダイズ（品種タンバグロ）、インゲンマメ（品種タイショウキントキ）、インゲンマメ（品種トラマメ）、さらに奈良県で栽培し収穫したツルマメ（ダイズの野生種）を実験材料として用いた。各種の豆を4℃で一晩蒸留水中で吸水させ十分に膨潤させた後、アリューロン層とともに種皮組織を種子から剥離し凍結乾燥した。この乾燥試料の種皮のへそを含まない部分について、種子の長軸方向に切断して顕微鏡観察用の試料とした。試料は金蒸着後、20 kV で走査型電子顕微鏡（日立、S-530）によってその組織断面を観察した。

2. アリューロン層の採取

各種の豆を4℃で一晩吸水させ十分に膨潤させた後、先にアリューロン層の付いた種皮を剥離後、種皮から海绵状柔組織を含まないように注意しながらアリューロン層を分離し採取した。次にアリューロン層を凍結乾燥した。アリューロン層組織の純度の確認は、前報¹⁰⁾と同様に走査型電子顕微鏡（日立、S-530）と光学顕微鏡により行った。

3. 細胞壁中の諸画分の分離

1,000 粒のダイズ種子（品種エンレイ）から得た2.5 gの凍結乾燥アリューロン層を試料として、既報²⁾と同様にして80℃の熱水を用いて熱水可溶性画分を分離した（ペクチンI画分）。その残渣から、既報¹⁰⁾に従って、80～85℃で0.25 M シュウ酸アンモニウム-シュウ酸（pH 4.0）による抽出（ペクチンII画分）、室素気流下で26℃で5% KOH による抽出（ヘミセルロースI画分）、同様の条件下で25% KOH による抽出（ヘミセルロースII画分）を順次行ってそれぞれの画分を得た。さらに最後の抽出残渣をセルロース画分とした。各画分を透析した後凍結乾燥した。

4. アリューロン層タンパク質画分の分離

既報²⁾に従い、各種の豆種子から分離したアリューロン層の凍結乾燥物1 gを粉碎した後に洗浄し、100 倍量の80℃の熱水で2回抽出して熱水可溶性画分（ペクチンI画分）を得た。この熱水可溶性画分を0.05 M トリス-HCl 緩衝液（pH 8.0）によって平衡化したDEAE-セファデックスカラム（1.5×4.0 cm）に吸着させ、非吸着タンパク質を洗浄除去した後、0.5 M NaCl を含む同緩衝液で溶出してアリューロン層タンパク質画分を得た。

5. アミノ酸分析

抽出および分離したタンパク質を6 N HCl 中で110℃、24 時間加水分解した後、日立 835 型アミノ酸分析計で分析してアミノ酸組成を求めた。なお、シスチンはシステイン酸として求めた。細胞壁諸画分、熱水可溶性

画分、アリューロン層タンパク質画分の調製はそれぞれ5 回ずつ行い、それぞれの調製画分についてアミノ酸分析を実施し、平均±標準偏差としてアミノ酸組成を求めた。

6. GRP の分子量

各種の豆種子のアリューロン層タンパク質画分それぞれを透析した後に凍結乾燥したものを0.1 M NaCl に溶解し、セファデックス G-100 カラム（1.0×100 cm）で0.1 M NaCl を溶媒として0.5 ml/分の流速でゲル濾過を行い、1 フラクション2.7 ml ずつ分取した。各フラクションのアミノ酸分析の結果よりグリシンモル比（%）を求め、GRP の溶出位置と分子量を求めた。

実験結果と考察

1. 各種豆の種皮とアリューロン層の組織構造

豆の種皮の微細構造を個別に観察した例²⁰⁾はあるが、各種の豆のアリューロン層の構造を比較した例を過去に見ない。一般に豆類では種子の成熟過程で胚乳組織が退化し、アリューロン層が子葉組織を被うことになる。各種の豆の種皮とアリューロン層組織の断面について走査型電子顕微鏡で調べた結果、Fig. 1 (A-E) に示す組織構造が観察された。各種の豆種子の種皮組織の内層（写真の種皮下層、海绵状柔組織）に接してアリューロン層の存在が認められたが、胚乳残存組織の存在¹⁾は観察されなかった。ダイズ（エンレイ）(A) と黒ダイズ（タンバグロ）(B) では種皮部分の柱状細胞（砂時計型細胞）がとりわけ発達しているのが特徴的であった。種皮組織の厚さと比べればアリューロン層は相対的に薄いですが、各種の豆を互いに比較すると、アリューロン層の組織構造はダイズ（エンレイ）(A) で最も厚く発達していることが明らかであった。また、黒ダイズ（タンバグロ）(B) やツルマメ (C) でもかなり厚みのあるアリューロン層組織であった。しかしながら、インゲンマメ（タイショウキントキ）(D) やインゲンマメ（トラマメ）(E) ではアリューロン層はやや薄く均一な厚さを示さず、ところどころ途切れ、あまり発達した状態ではなかった。

一方、種皮からアリューロン層を分離して採取する際にダイズ属の豆ではアリューロン層が断片化せずに1 枚の膜として剥離することが可能であったが、インゲンマメ属の豆ではアリューロン層が壊れやすく断片化したことから、その組織の強度がインゲンマメ属の豆では劣ると考えられる。また、アリューロン層付種皮組織から分離したアリューロン層（乾燥重量）の収率をアリューロン層付種皮組織の乾燥重量あたりで表すと、ダイズ（エンレイ）、黒ダイズ（タンバグロ）、ツルマメでは約10% になり、インゲンマメ（タイショウキントキ、トラマメ）ではアリューロン層が薄くて分離しにくく断片化

Table 1. Amino acid composition of several fractions in the cell wall of soybean aleurone layer.
(molar %)

Amino acid	Fraction				
	P-I	P-II	HC-I	HC-II	C
Hyp	0.9±0.1	1.1±0.1	2.6±0.2	16.6±0.3	19.0±0.4
Asx	7.2±0.2	7.3±0.1	10.3±0.3	5.1±0.1	2.5±0.2
Thr	1.9±0.2	4.1±0.2	3.9±0.2	2.1±0.2	1.1±0.1
Ser	11.2±0.2	10.3±0.3	5.4±0.2	4.0±0.2	1.4±0.2
Glx	7.7±0.3	9.9±0.3	12.0±0.4	10.4±0.3	9.9±0.3
Pro	2.8±0.2	4.0±0.2	6.2±0.2	12.1±0.3	16.9±0.5
Gly	47.3±0.7	34.7±0.6	13.3±0.4	7.8±0.3	5.4±0.3
Ala	5.6±0.2	6.9±0.3	6.7±0.1	3.7±0.2	1.4±0.2
1/2Cys ^a	0.6±0.1	0.2±0.1	0.1±0.0	0.1±0.0	0.2±0.1
Val	2.1±0.2	4.3±0.1	7.6±0.2	11.6±0.4	16.3±0.4
Met	0.4±0.1	0.4±0.1	0.8±0.1	0.5±0.1	0.1±0.0
Ile	1.5±0.3	2.0±0.1	4.4±0.1	2.2±0.2	1.4±0.2
Leu	1.6±0.1	2.1±0.2	7.1±0.2	2.4±0.2	1.2±0.1
Tyr	1.3±0.1	2.4±0.2	3.5±0.2	5.4±0.2	4.4±0.2
Phe	1.1±0.1	1.3±0.2	3.8±0.2	2.0±0.2	0.8±0.1
Lys	4.3±0.3	5.3±0.2	7.5±0.2	11.2±0.4	17.1±0.4
His	1.3±0.1	2.4±0.2	2.0±0.2	1.4±0.2	0.6±0.1
Arg	1.1±0.1	1.6±0.2	3.0±0.1	1.5±0.2	0.5±0.1

P-I, Pectin-I; P-II, Pectin-II; HC-I, Hemicellulose-I; HC-II, Hemicellulose-II; C, Cellulose. Values are mean±SD (N=5). ^a Measured as cysteic acid. Tryptophan was not measured.

するため、収率は低くなり約2%になった。

以上の観察結果から、ダイズ属の豆のほうがインゲンマメ属の豆よりもアリューロン層が発達し丈夫であることが明らかになった。

2. ダイズ種子アリューロン層の細胞壁中の諸画分のグリシン含有率と含有量の比較

ダイズ種子のアリューロン層の細胞壁から分離した諸画分のアミノ酸組成を Table 1 に示した。グリシンのモル%で比較すると、ペクチン I 画分では約 48% で最も高く、次にペクチン II 画分の約 35%、ヘミセルロース I 画分の約 13%、ヘミセルロース II 画分の約 8%、セルロース画分の約 5% と値は順に低くなった。一方、ヘミセルロース II 画分およびセルロース画分はヒドロキシプロリン含有率が高いのでエクステンシンが多く存在すると推定された。精製した GRP はグリシンのモル%が 70% 近くになるので¹⁸⁾、タンパク質未精製段階のペクチン I 画分がグリシン含有率 48% を示すことから、この画分には相当高い割合で GRP が含まれていることが明らかである。

ダイズ 1,000 粒から分離したアリューロン層の乾燥重量 2.5 g 当りの細胞壁のグリシン量は Table 2 に示すように、ペクチン I 画分では 15.0 μmol、ペクチン II 画分では 4.5 μmol であり、両者を合わせたペクチン画分としては 19.5 μmol となり、ヘミセルロース I および II 画

Table 2. Glycine content in several fractions of the cell wall of soybean aleurone layer.

Fraction	Glycine μmol/2.5 g dry aleurone layer
Pectin-I	15.0±0.4
Pectin-II	4.5±0.4
Hemicellulose-I	15.7±0.5
Hemicellulose-II	0.5±0.1
Cellulose	1.2±0.2

Values are mean±SD (N=5).

分を合わせた 16.2 μmol やセルロース画分の 1.2 μmol の合計より多くなった。これらの結果から、細胞壁 GRP の大半はペクチン画分に存在し、しかもそのほとんどは熱水によって溶解する性質のものであることが明らかになった。したがって、このようにエクステンシンとは異なった細胞壁内分布を示す GRP は、ダイズのアリューロン層に特異的な細胞壁構成タンパク質として重要な役割を果たしていると推測される。

3. 各種の豆のアリューロン層のアミノ酸組成とグリシン含量の比較

各種の豆種子からアリューロン層組織を採取し、その組織から得た熱水可溶性画分(ペクチン I 画分)のアミノ酸組成を Table 3 に示した。いずれの豆においてもグリ

Table 3. Amino acid composition of fraction solubilized with hot water from aleurone layers of different beans.

(mol %)					
Amino acid	Soybean	Black soybean	Wild soybean	Red kidney bean	Marbled kidney bean
Asx	7.5±0.2	7.5±0.2	8.0±0.2	9.1±0.2	9.3±0.2
Thr	1.9±0.2	3.5±0.1	3.2±0.2	5.4±0.3	5.1±0.2
Ser	11.3±0.2	7.9±0.2	8.0±0.1	8.1±0.3	8.0±0.2
Glx	7.8±0.4	8.6±0.4	9.4±0.2	8.1±0.3	7.8±0.1
Pro	2.8±0.2	4.3±0.3	4.3±0.2	5.2±0.2	5.5±0.2
Gly	47.9±1.1	33.3±0.8	29.8±0.7	18.9±0.5	21.8±0.5
Ala	5.6±0.1	6.7±0.3	6.8±0.2	7.7±0.2	7.4±0.1
1/2Cys ^a	0.6±0.1	0.7±0.1	0.7±0.1	0.7±0.1	0.5±0.1
Val	2.0±0.1	4.3±0.1	4.5±0.1	6.4±0.1	6.0±0.2
Met	0.4±0.1	1.0±0.1	1.1±0.2	1.7±0.2	1.0±0.1
Ile	1.5±0.1	3.2±0.2	3.2±0.2	4.5±0.2	4.2±0.2
Leu	1.6±0.2	3.1±0.1	4.3±0.2	7.2±0.2	6.9±0.2
Tyr	1.3±0.2	3.3±0.2	3.7±0.2	3.2±0.2	3.6±0.2
Phe	1.1±0.2	2.7±0.1	2.8±0.2	4.3±0.2	3.9±0.2
Lys	4.4±0.2	4.4±0.3	4.5±0.2	3.6±0.1	3.4±0.2
His	1.3±0.1	2.1±0.1	2.3±0.1	2.0±0.2	2.0±0.1
Arg	1.1±0.1	3.3±0.1	3.2±0.2	3.7±0.1	3.4±0.2

Values are mean±SD (N=5). ^a Measured as cysteic acid. Tryptophan was not measured.

Table 4. Amino acid composition of the fraction adsorbed on DEAE-sephadex from hot water-soluble fraction of different beans.

(mol %)					
Amino acid	Soybean	Black soybean	Wild soybean	Red kidney bean	Marbled kidney bean
Asx	4.6±0.2	4.9±0.2	5.7±0.2	7.7±0.2	8.0±0.2
Thr	2.5±0.2	2.3±0.2	2.9±0.1	4.6±0.2	4.3±0.2
Ser	10.7±0.2	10.8±0.2	10.5±0.3	11.3±0.2	10.1±0.2
Glx	7.9±0.2	8.1±0.1	9.4±0.1	9.1±0.2	8.6±0.2
Pro	3.1±0.2	2.1±0.1	2.3±0.2	4.2±0.1	4.5±0.2
Gly	51.2±0.4	50.4±0.4	45.3±0.5	28.9±0.4	30.4±0.5
Ala	6.4±0.2	6.3±0.1	6.3±0.2	7.0±0.2	7.0±0.2
1/2Cys ^a	0.5±0.1	0.5±0.1	0.6±0.1	0.4±0.1	0.4±0.1
Val	2.3±0.1	2.3±0.1	2.4±0.2	4.4±0.2	4.5±0.2
Met	0.2±0.1	0.3±0.1	0.4±0.1	0.1±0.0	0.5±0.1
Ile	1.0±0.1	1.2±0.1	1.5±0.2	2.6±0.2	2.4±0.2
Leu	1.4±0.1	1.5±0.1	1.8±0.1	3.4±0.2	3.5±0.2
Tyr	1.4±0.1	2.5±0.2	3.2±0.2	5.1±0.1	4.6±0.1
Phe	0.8±0.1	0.7±0.1	1.4±0.1	5.6±0.1	5.3±0.2
Lys	3.8±0.2	3.3±0.1	3.5±0.2	2.9±0.1	2.5±0.1
His	1.5±0.2	1.4±0.1	1.4±0.2	1.8±0.1	1.8±0.2
Arg	0.8±0.1	1.3±0.1	1.5±0.1	0.9±0.1	1.6±0.1

Values are mean±SD (N=5). ^a Measured as cysteic acid. Tryptophan was not measured.

シンのモル%が高かったので、いずれの豆のアリューロン層にも GRP が存在することを示唆している。またグリシン%はダイズ (エンレイ), 黒ダイズ (タンバグロ),

ツルマメのダイズ属がインゲンマメ (タイショウキントキ) やインゲンマメ (トラマメ) のインゲンマメ属よりも高い値になった。

Fig. 2. Elution profile from Sephadex G-100 column of aleurone protein fraction extracted from black soybean.

The fraction eluted from the DEAE-Sephadex column was chromatographed on a Sephadex G-100 column (1.0×120 cm). ○, glycine mol%; ●, glycine μmol/ml; ----, absorbance at 220 nm.

Fig. 3. Elution profile from Sephadex G-100 column of aleurone protein fraction extracted from wild soybean.

The fraction eluted from the DEAE-Sephadex column was chromatographed on a Sephadex G-100 column (1.0×120 cm). ○, glycine mol%; ●, glycine μmol/ml; ----, absorbance at 220 nm.

DEAE-セファデックスに吸着したアリューロン層タンパク質画分のアミノ酸組成を Table 4 に示した。グリシン%はダイズ (エンレイ) で約 52%, 黒ダイズ (タンバグロ) で約 51%, ツルマメで約 46% になり高い値を示したが、インゲンマメ (タイショウキントキ) やインゲンマメ (トラマメ) では 30% 前後に止まった。また表には示していないが、アリューロン層乾燥重量 (g) あたりの熱水可溶性画分のグリシン量 (μmol) を比較すると、インゲンマメ (タイショウキントキ) やインゲンマメ (トラマメ) では約 3 μmol になり、ダイズ (エンレイ) や黒ダイズ (タンバグロ) では約 6 μmol になったので、インゲンマメ属ではダイズ属の約 2 分の 1 量であった。以上の結果から、いずれの豆のアリューロン層にも GRP は存在するが、アリューロン層組織あたりに含まれる GRP 量ではダイズ属の豆がインゲンマメ属の豆に比べてかなり多いことがわかった。

4. 黒ダイズ (タンバグロ)、ツルマメ種子のアリューロン層 GRP のゲル濾過パターンと分子量

豆種子のアリューロン層タンパク質画分についてゲル濾過を行い、Fig. 2, 3 の結果を得た。黒ダイズ (タンバグロ) とツルマメではフラクション No. 16 と No. 20 がグリシン%やグリシン量のピーク位置になった。分子量既知のタンパク質の溶出位置との比較からこれらの GRP の分子サイズを推定すると両者とも約 60 kDa と約 30 kDa に相当した。これらの値はダイズ GRP¹⁷⁾ で得た値と同じであり、60 kDa の GRP は 30 kDa の GRP の 2 量体と推定した。黒ダイズやツルマメ (ダイズの野生

種)²¹⁾ に存在する GRP はそのアミノ酸組成や分子サイズから考えて、ダイズ GRP に比較的近い性質のものと推測される。

以上の結果から、ダイズ属植物のアリューロン層が比較的強固な構造を示し、その細胞壁には 30 kDa の GRP を多く含むことが明らかになった。一般に植物組織の細胞壁ではエクステンシンが細胞壁の構造強化に役立つが²²⁾、ダイズ属植物のアリューロン層細胞壁では GRP が細胞壁構造強化のために何らかの役割を担っていると推察した。

要 約

種々の豆種子を用いて、アリューロン層組織の構造とアリューロン層組織に含まれる GRP (高グリシンタンパク質) の含有量を調べ、次に示す結果を得た。

1) ダイズ (*Glycine max*, 品種エンレイ), 黒ダイズ (*Glycine max*, 品種タンバグロ), ツルマメ (*Glycine soja*) のアリューロン層細胞壁は、赤インゲンマメ (*Phaseolus vulgaris*, 品種タイショウキントキ), 斑入インゲンマメ (*Phaseolus vulgaris*, 品種トラマメ) のものよりも厚みが増していた。

2) ダイズのアリューロン層細胞壁に特異的な GRP は主としてペクチン画分に存在した。

3) 3 種のダイズのアリューロン層の熱水可溶性画分の GRP 含有量は 2 種のインゲンマメのものより高かった。

4) ツルマメや黒ダイズから抽出した GRP の推定分

子サイズはそれぞれダイズと同じ約 30 kDa であった。
以上の結果から、ダイズ属植物のアリューロン層の GRP
はアリューロン層の細胞壁構造強化に何らかの役割を
担っていると推察した。

本研究の一部は私学振興財団の大学院重点特別経費に
より行われたので謝意を表します。また本研究を行うに
あたり、実験遂行にご協力いただいた間野利美さんと山
中奈々絵さんに感謝します。さらに実験材料の豆の一部
を提供していただいた大阪市中央区の榊田村商店に厚く
感謝の意を表します。

文 献

- 1) 渡辺篤二, 齋尾恭子, 橋詰和宗: 大豆とその加工 I, 5 (1987), 建帛社 (東京)
- 2) 福田 満, 松井美代子, 高岡美津子, 角田聡子, 浜渦善一郎, 豊沢 功: 日食工誌, 41, 48 (1994)
- 3) Varner, J.E. and Cassab, G.I.: *Nature*, 323, 110 (1986)
- 4) Condit, C.M. and Meagher, R.E.: *Nature*, 323, 178 (1986)
- 5) Reddy, A.S.N. and Poovaiah, B.H.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 147, 885 (1987)
- 6) Gómez, J., Sánchez-Martínez, D., Stiefel, V., Igau, J., Puigdomènech, P. and Pagès, M.: *Nature*, 334, 262 (1988)
- 7) Keller, B., Sauer, N. and Lamb, C.J.: *EMBO J.*, 7, 3625 (1988)
- 8) Rohde, W., Rosch, K., Kröger, K., and Salamini, F.: *Plant Mol. Biol.*, 14, 1057 (1990)
- 9) Ye, Z.-H. and Varner, J.E.: *Plant Cell*, 3, 23 (1991)
- 10) Lamport, D.T.A.: *Biochemistry*, 8, 1155 (1969)
- 11) Van Holst, G.J. and Varner, J.E.: *Plant Physiol.*, 64, 247 (1984)
- 12) Wilson, L.G. and Fry, J.C.: *Plant Cell Environ.*, 9, 239 (1986)
- 13) Hong, J.C., Nagao, R.T. and Key, J.L.: *J. Biol. Chem.*, 265, 2470 (1990)
- 14) Castonguay, Y., Nadeau, P. and Laberge, S.: *Plant Cell Physiol.*, 34, 31 (1993)
- 15) Sheng, J., Jeong, J. and Mehdy, M.C.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 90, 828 (1993)
- 16) Condit, C.M.: *Plant Cell*, 5, 277 (1993)
- 17) Matsui, M., Toyosawa, I. and Fukuda, M.: *Biosci. Biotech. Biochem.*, 58, 1920 (1994)
- 18) Matsui, M., Toyosawa, I. and Fukuda, M.: *Biosci. Biotech. Biochem.*, 59, 2231 (1995)
- 19) 福田 満: 日食工誌, 35, 83 (1988)
- 20) Cassab, G.I., Nieto-Sotelo, J., Cooper, J.B., Van Holst, G.-J. and Varner, J.E.: *Plant Physiol.*, 77, 532 (1985)
- 21) 前田和美: マメと人間, 49 (1987), 古今書院 (東京)
- 22) Cooper, J.B. and Varner, J.E.: *Plant Physiol.*, 76, 414 (1984)

(1995 年 4 月 6 日受理)