大豆種子蛋白質の改良†

(昭和 60 年度農芸化学奨励賞受賞)

喜多村 啓介

(岩手大学農学部)

緒言

ごく最近まで、作物の品種改良は収獲量の増大を唯一目標として行われてきたが、米の生産過剰や消費者の高品質志向などに刺激されて、わが国でも農産物の品種改良が農業研究の主要目標の一つとして加えられるようになった。コムギ、イネなどに収量の大幅増大をもたらしたいわゆる「緑の革命」の時代が過ぎ、作物の品種改良による増産がある程度プラトーに達してきた今、より良質、美味で栄養に富む農産物を求めるのは自然の流れであり、わが国ばかりでなく、世界的な傾向として作物の品質改良は一層重視されるものと考えられる。

低開発国でとくに予測される深刻な蛋白質不足問題や先進国での動物性食品過剰摂取による医学・栄養学の問題の解決にとって、植物性蛋白質、とりわけ種子蛋白質の重要性は今後ますます大きくなっていくものと考えられる。なかでも大豆は子実中最高の蛋白質含量を有すること、単位面積当りの蛋白質収量がとくに高いことなどの理由から、将来にかけても植物蛋白質源として最も重要な作物とみなされている⁽¹⁾。

しかし、大豆蛋白質は含硫アミノ酸含量が低く、このことが動物性蛋白質と比べて栄養的に見劣りする主な原因となっている。また大豆種子中には、脂質を酸化して青臭い不快臭発生を促進する酵素リポキシゲナーゼが大量に含まれており、このことが大豆の加工・利用上の最大の欠点となっている。

本稿では、'60 年代後半から '70 年代前半にかけて行われた高リジン化遺伝子を用いたトウモロコシ蛋白質改

良の成果と教訓を考察したうえで、筆者が所属する研究室で行ってきた大豆蛋白質成分の改良の現状を紹介する。また近い将来に発展が期待される大豆蛋白質改良の可能性について考察する。本稿が、いささかなりとも大豆蛋白質改良の展望を与えることができれば幸いである。

I. 大豆蛋白質の質的改良

1. トウモロコシ蛋白質改良の成果と教訓

1964 年の高リジン化遺伝子 (opaque-2) の発見⁽²⁾を契機として、その後いくつかの穀類、トウモロコシ^(2,3)、大麦^(4,5)、ソルガム⁽⁶⁾などでこれら穀類蛋白質の第一制限アミノ酸であるリジン含量を大幅に増大させる遺伝子が相次いで発見された。これらの突然変異遺伝子の発見は、種子蛋白質の生化学や生理学および遺伝学などの分野に大きな影響を与えた。また、これらの遺伝子を優良品種に取り込む試みが世界的規模で行われた⁽⁷⁾。しかしながら、高リジン化遺伝子は同時に種子の品質や保存性、さらには収量性など作物としての重要形質の劣化・低下をもたらすことになり、これらの高リジン化遺伝子はトウモロコシ蛋白質改良のために広く利用されるまでに至っていない。

これら穀類種子の高リジン化は、全蛋白質の 4~6 割を占め、リジンをほとんど含有しないプロラミンの合成を低下させることにより達成されている。プロラミン以外の蛋白質成分、たとえばグルテリンやアルブミンはプロティン・ボディー外に存在し、プロラミンの減少分を補うことができないため、結局、プロティン・ボディーの未発達をもたらすことになり^(8,9)、種子の充実度を低下させ収量減を招くものと考えられる。

トウモロコシのプロラミン・ゼイン蛋白質の cDNA 配列の研究は、ゼインのアミノ酸配列に約 20 個のアミノ酸配列を単位とした繰返し配列があり、この繰返し

† Qualitative Improvement of Soybean Seed Protein.

Keisuke KITAMURA (Faculty of Agriculture, Iwate University, Morioka 020)

配列中のアミノ酸残基の変化をほとんど許さない高い保存性があることを示した^(10,11)。この繰返し構造と保存性は、ゼインの高次構造、すなわちプロティン・ボディ内への蓄積効率と密接な関連性があると考察されており⁽¹²⁾、ゼインの貯蔵効率を低下することなくリジン残基を増加させるためには、ゼインの高次構造を損うことがないように精密に計算された設計図に基づいてゼイン遺伝子を改変することが必要であることを示している。

したがって、トウモロコシ蛋白質の高リジン化に関しては、これまでの高リジン化突然変異体を用いた交配による組換え方法ではこの目的を達成できる可能性はほとんどなく、遺伝子操作技術による設計図に基づいた改良方法以外に他の方法はないものと考えられる。

しかし、最近のゼインの生化学的ならびに分子生物学的研究は、ゼインが等電点電気泳動で分離される多数の不均一なポリペプチド鎖から成り^(13,14)、これらは少なくともゲノム一倍体当たり数十コピーから成る多重遺伝子群によりコードされていることを示している⁽¹⁵⁾。近年発展著しい遺伝子操作技術をもってしても、これら数十の遺伝子のおおのにメスを入れて設計図通りに改変することは決して生やさしいものではない。さらにゲノム上の特定の部位に組換え遺伝子を導入し、効率よく発現させる植物細胞操作系が確立されていない現状では、改変した遺伝子をしかるべき染色体上に配置し、発現効率を低下することなく細胞内に導入することにはもっと大きな困難が予想される。遺伝子操作技術による穀類蛋白質の大幅改良は大いに期待されるところであるが、成功までにはいまだしばらく年月がかかるものと思われる。

大豆の種子蛋白質の改良も本質的には穀類と同様であり、大幅改良を達成するためには遺伝子操作技術の導入が必須であると考えられる。しかしながら、大豆には、穀類蛋白質にはない改良点の特徴があり、従来の交配によりある程度高含硫アミノ酸化の可能性があると考えられるので、以下当研究室が中心となって進めている大豆蛋白質改良の仕事を紹介する。

2. 大豆蛋白質サブユニット変異体の育種的利用

大豆蛋白質はその 7~8 割が 7S 蛋白質 (β -コングリシニン) と 11S 蛋白質 (グリシニン) から成っている^(16,17)。両蛋白質のアミノ酸組成を比較すると、7S 蛋白質は 11S 蛋白質に比べ、含硫アミノ酸含量が顕著に低い^(18,19)。したがって、7S 蛋白質は大豆蛋白質全体の含硫アミノ酸含量を低める主要成分となっている。も

し、7S 蛋白質の生成を抑制するような遺伝子が見出せば、これらの遺伝子を育種的に利用することにより、大豆蛋白質の含硫アミノ酸含量をある程度高められることが期待される。

大豆種子のアミノ酸組成や、7S、11S 蛋白質生成量が栽培条件や生育環境によってかなり変動することが報告⁽²⁰⁻²²⁾されており、最近でも、両蛋白質生成量や構成比が栽培年次や場所によって相当変動することが報告⁽²³⁾されている。とくに 7S 蛋白質サブユニットの一つ β -サブユニット生成量が培養条件で大きく変動することが示されている^(24,25)。しかしながら、7S、11S 蛋白質生成量および構成比にははっきりとした品種間差異が存在し、これらは一義的には品種間の構成サブユニット組成の差異に基づくものであることが示されている⁽²⁶⁻³⁰⁾。

筆者らは、これまでに数千の大豆品種・系統を SDS-ゲル電気泳動法で大豆蛋白質をサブユニットに分けてスクリーニングすることにより、7S 蛋白質サブユニット (α, α', β)⁽³¹⁾ のうち、 α' 欠失変異体 (毛振品種) および α, β サブユニットが半減した大豆数品種を見出してきた^(29,32)。これらの変異形質は遺伝的支配であり^(32,33)、変異品種間の交配により、 α' -欠失、 $\alpha \cdot \beta$ -半減形質を合わせ持ち 7S 蛋白質が大幅に低下した大豆数系統が得られ

図 1 大豆全蛋白質の SDS-ゲル電気泳動パターン

- 1, 2, A 系統 (α' -欠失, $\alpha \cdot \beta$ -低下, A_5 -有);
- 3, 4, E 系統 (α' -欠失, $\alpha \cdot \beta$ -低下, A_5 -欠失);
- 5, 秣食豆公 503 品種 ($\alpha \cdot \beta$ -低下);
- 6, 毛振品種 (α' -欠失);
- 7, オクシロメ品種 } 普通大豆
- 8, ライデン品種 }
- 9, 農林 1 号品種 }

1, Raiden (protein 41.1%, oil 17.2%, 11 S/7 S 0.83%); 2, Okushirome (protein 38.4%, oil 20.1%, 11 S/7 S 0.83%); 3, A line α' -less, α - β -low A_5 -type 11 S (protein 47.4%, oil 16.9%, 11 S/7 S 2.89%); 4, E line α' -less, α - β -low A_4 -type 11 S (protein 44.4%, oil 17.3%, 11 S/7 S 1.90%)

図 2 大豆完熟種子子葉細胞の光学顕微鏡観察 ($\times 400$)

グルタルアルデヒド・オスミウム酸で2重固定後、コージーブリリアントブルーRで染色。

大豆品種系統の蛋白質、脂質含量は近赤外分析計で、11 S/7 S 比は Davis 系ゲル電気泳動法で求めた。

ている。

しかし、大豆蛋白質を動物性蛋白質並びに含硫アミノ酸量を向上するためには、これまで見出してきた α' -欠失遺伝子や α -、 β -半減化遺伝子を利用するだけでは不十分であり、さらに α -、 β -欠失遺伝子や比較的含硫アミノ酸に富む 11 S 蛋白質生成量を増大させる遺伝子を見出す必要があると考えられる。

しかし、これまでの大豆約 6000 品種・系統に及ぶ広範な探索にもかかわらず、 α 、 β 各サブユニットを完全に欠失させる遺伝子は見出されていない。一方、11 S 蛋白質サブユニットには、メチオニンの多いサブユニット群と少ないサブユニット群があることが知られており⁽³⁴⁾、その後、各サブユニットの一次構造配列の比較研究から、前者のサブユニット群をグループ I、後者をグループ II とした⁽³⁵⁾。このグループ分けは、筆者らの研究室で進行中の 11 S 蛋白質サブユニット変異体を用いた遺伝的連鎖群によるグループ分け⁽³²⁾と一致している。(グルー

プ II のサブユニット量を少なくし、グループ I のサブユニット量を多くすることにより、11 S 蛋白質の含硫アミノ酸量を高められる可能性があることを示している。これまで、グループ II のサブユニットの一つ A_5 サブユニット (Moreira⁽³⁶⁾ の A_4 に相当) を欠失させる変異体が見出されている^(28,30,37)。 A_5 サブユニットの欠失性は単一の劣性遺伝支配であることが示されている⁽³⁸⁾。

これまでに、見出されてきたサブユニット変異体を用い、これらの変異遺伝子を合わせ持つ大豆数系統を得ている (図 1)。これらの系統は、7 S 蛋白質生成量が普通品種の約 3 分の 1 程度に減少し、逆に 11 S 蛋白質が増加していること、およびこれらの蛋白質含量は普通品種並に維持されており、子葉細胞のプロティン・ボディーも十分発達していることが示された (図 2)。

7 S, 11 S 蛋白質はともにプロティン・ボディー内に蓄積されることが知られており^(39,40)、7 S 蛋白質の減少分を主に 11 S 蛋白質が補うことでプロティン・ボディー

ーが十分発達し、高蛋白性と種子の充実度が維持されるものと考えられる。現在、これらの系統のシスチン、メチオニン含量を精査中である。また、7S, 11S 蛋白質生成量の大幅変動が、大豆発熱段階の全蛋白合成速度（蛋白質収量）にどのような影響を及ぼすかを調査中である。

7S 蛋白質サブユニットの欠失・低下変異遺伝子を、東北地方の代表品種に取り込む試みは、「農林水産業における自然エネルギーの効率的利用技術に関する総合研究」の一環として、東北農業試験場・刈和野試験地で行われている⁽⁴¹⁾。

3. 大豆蛋白質改良の今後の展望

最近、11S 蛋白質サブユニットの一次構造配列の研究が活発に行われている⁽⁴²⁻⁴⁴⁾。これらの結果は、サブユニット内に保存性の高いドメイン構造が存在し、サブユニット間で高い相同性があることを示している。しかし、配列上に、メチオニンやシスチン残基の変異をとくに許さないような傾向は認められない。また、7S 蛋白質サブユニット間にも一次構造上の高い相同性が認められるが^(45,46)、メチオニン残基数にはサブユニット当たり 0~3 残基の差異がある（未発表データ）。

このように栽培大豆 (*Glycine max*) 蛋白質サブユニットの含硫アミノ酸含量に比較的大きい変異が認められることは、大豆近縁野生種まで含めた広範な遺伝子源のなかには、大豆の高含硫アミノ酸化にとって有用な遺伝子が存在する可能性を期待させる。

現在、大豆 (*G. max*) の属する *Glycine* 属は 3 亜属から成るとされている⁽⁴⁷⁾。このうち、大豆と同じ *Soja* 亜属に属し、大豆の直接の祖先種とされているツルマメ (*G. soja*) とは容易に交雑できる。ツルマメには、7S, 11S 蛋白質サブユニット変異が大豆よりも高頻度に存在することが認められており⁽⁴⁸⁾、大豆蛋白質改良の遺伝子源として期待できる。一方、ツルマメを除く他の近縁野生種 (*Glycine* 亜属, *Bracteata* 亜属) と大豆との種間交雑は困難であるが、胚培養等を援用して、*Glycine* 亜属との一部の組合せにおいて稔性のある F_1 植物を得ることに成功している⁽⁴⁹⁻⁵¹⁾。*Glycine* 亜属植物にはツルマメよりもはるかに大きなサブユニット変異の存在が知られており^(35,52)、将来、植物工学的手法がさらに進めば大豆蛋白質を改良するうえでの種々の有用遺伝子を利用することが可能となるであろう。

II. 大豆不快臭の遺伝育種の除去

1. 不快臭発生因子・リポキシゲナーゼ欠失遺伝子発見の経緯

大豆は食品加工上の機能特性において優れた食品素材である。しかしながら、種子中の酵素・リポキシゲナーゼの脂質酸化に伴う青臭い不快臭発生が、大豆を食品素材として利用するうえでの最大の問題となっている。

現在、加工的には主として加熱処理で青臭発生を防止する方法がとられている。しかし、加熱処理は同時に大豆蛋白質の変性・不溶化を招くため、重要な食品加工上の機能特性である大豆蛋白質本来の保水性や粘性性の低下をもたらす最大の原因となっている。これまで、種々の加工・処理方法が開発されてきたが、いまだに本酵素による不快臭発生問題は完全には解決されていない。不快臭発生因子を遺伝育種的に除去することは、大豆の品質を向上するうえでの重要な課題の一つである。

(1) L-1 欠失遺伝子の発見 大豆種子中には性質を異にする 3 種類のリポキシゲナーゼアイソザイム (L-1, L-2, L-3) が存在する⁽⁵³⁾。リポキシゲナーゼが種子中に存在する生理的意義はわかっていないが、何らかの重要な役割を担っているものと考えられ、これまでに本酵素活性を遺伝的に除去しようとする試みはほとんどなされなかった。

イリノイ大の Hymowitz 教授らは、大豆レクチン⁽⁵⁴⁾、クニツトリプシンインヒビター⁽⁵⁵⁾、および β -アミラーゼ⁽⁵⁶⁾をおのおの欠失する遺伝的変異体を相継いで発見した。これらの酵素・蛋白質は、いずれもはっきりした活性を有するが、種子中に存在する生理的役割がはっきりしないものであり、各欠失大豆には生理的な異常が全く認められないものであった。彼らは、これらの「欠失型正常大豆」品種の発見に勢いを得て、アメリカ農務省保存の大豆コレクション約 6000 品種の L-1 活性 (L-1 は、L-2, L-3 が活性を示さない pH 9.0 付近で強い活性を示す) を測定することにより、L-1 活性を完全に欠く PI 133226 と PI 408251 の 2 品種を見出した⁽⁵⁷⁾。これら 2 品種の L-1 欠失性は単一劣性遺伝支配であることが示されている⁽⁵⁸⁾。また、L-1 欠失大豆には生理的な異常が全く認められていない⁽⁵⁹⁾。

(2) L-2, L-3 各欠失遺伝子の発見 一方、筆者らは、イリノイ大で L-1 欠失変異体が発見されたほぼ同じころ、SDS-ゲル電気泳動法を用いて 7S, 11S 蛋白質サブ

ユニット変異体を検索しているうちに、リポキシゲナーゼに相当する泳動バンド量が低下した早生夏と一号早生品種を見出した⁽⁶⁰⁾。さらに筆者らは、Laemmli 系 SDS-ゲル電気泳動法を一部改良することにより、3種の酵素(L-1, L-2, L-3)をわずかに移動度の異なる3本のバンドとして分離・検出する方法を確立し、世界の多数の品種に当たった。その結果、早生夏および一号早生品種はL-3バンドを欠くこと、またL-2バンドを欠くPI 86023品種を見出した^(61, 62)。その後、これら各変異大豆は、おのおのL-3, L-2酵素活性を完全に欠くことが示された⁽⁶²⁾。L-3欠失性⁽⁶¹⁾、およびL-2欠失性⁽⁶³⁾は、別座の単一劣性遺伝子支配であることが示されている。

このように、ごく最近になって、L-1, L-2, L-3酵素をおのおの欠失させる単一劣性遺伝子が発見されたことにより、大豆種子中のリポキシゲナーゼ活性を遺伝的にコントロールすることが可能となった。現在、これらの欠失遺伝子を利用した抑臭大豆の育種が進められている^(64, 65)。

2. 本酵素の生理的役割と低下大豆育成の可能性

植物リポキシゲナーゼの生理的役割に関する研究は多数報告されており、これらのほとんどは莖葉中のリポキシゲナーゼに関するものである。以前から、莖葉中のリポキシゲナーゼがエチレンやアブシジン酸などの植物ホルモンの合成・作用に関与する可能性を指摘する報告は多い⁽⁶⁶⁻⁶⁹⁾。エチレンは組織の傷害治癒や病原菌に対する防御作用にとって重要な役割を果たしていることが知られており、莖葉中のリポキシゲナーゼはこの線に沿った生理的役割を担っている可能性が高い⁽⁷⁰⁾と考えられる。

一方、種子中のリポキシゲナーゼの生理的役割を明らかにしようとした研究は意外に少ない。これまで、種子老化との関連性⁽⁷¹⁾や害虫に対する防御作用⁽⁷²⁾、発芽時の代謝活性制御作用^(73, 74)などとの関連性を指摘する報告が出されているが、これらのいずれにも決定的な証拠は得られていない。筆者らは、植物生理的に重要な役割を担っている可能性の高いリポキシゲナーゼと完熟種子に多量に(全蛋白質の約1%⁽⁷⁴⁾)存在するリポキシゲナーゼは別種の可能性が高いと考えている。各欠失大豆の交配で得られたL-1・L-3、およびL-2・L-3同時欠失大豆数系統の発芽から登熟までの生活環において、生理的異常が全く認められない⁽⁶³⁾という事実は、この考え方を支持するものである。

筆者らは、種子中のリポキシゲナーゼを支配する遺伝子と莖、葉中の本酵素を支配する遺伝子は異なるものと考えており、植物生理的な問題を引き起こすことなく、種子リポキシゲナーゼが遺伝的に除去された大豆を育成することは可能であると考えている。

3. 本酵素欠失性と抑臭性

青臭い不快豆臭の原因となる化合物は、リポキシゲナーゼが不飽和脂質に作用して生成するヒドロペルオキシドの分解産物である*n*-ヘキサナールなどの中鎖アルデヒドであると考えられている⁽⁷⁵⁾。最近、京大食研のMatoba ら⁽⁷⁶⁾は普通大豆、および各酵素欠失大豆から豆乳を調製し、*n*-ヘキサナールの定量を行うことにより、未加熱豆乳の*n*-ヘキサナール生成量が、L-2を欠失した大豆においてにとく極端に低いことを明らかにした(図3)。この結果は、生大豆を生食した官能検査によっても確かめられた。

したがって、L-2を除去するだけでも青臭み発生が相当低下するが、L-2とL-1, L-2とL-3が同時に除去された大豆の青臭みは、さらに低く抑えられることが期待される。これまでのところ、L-1・L-2同時欠失大豆は得られていないが、L-2・L-3同時欠失大豆は数系統得られており、青臭みがほぼ完全になくなっていることが確認されている。L-2・L-3同時欠失大豆品種が育成されれば大豆の食品素材としての利用性をさらに拡大できるものと考えている。

図3 25°Cにおける生豆乳から生成した*n*-ヘキサナール量の経時的変化(Matoba *et al.*,⁽⁷⁶⁾より、原図の一部を使田)。

A, スズユタカ; B, L-1欠失大豆;
C, L-2欠失大豆; D, L-3欠失大豆。

4. 本酵素欠失大豆育成上の今後の課題

ごく最近, L-1 支配遺伝子と L-2 支配遺伝子が遺伝的に強く連鎖していることがはっきりした⁽⁷⁷⁾. このことは, これまで L-1・L-2 同時欠失大豆が得られなかった理由が, この強連鎖のために組換え体(2重欠失体)が得られなかったことにあることを強く示唆している. このことはまた, L-1・L-2 同時欠失大豆が得られたなら, L-1・L-2・L-3 を同時に欠く完全欠失大豆作出の可能性もあることを示すものである.

しかし, これまで L-1 欠大豆×L-2 欠大豆の交配後代種子を約 1000 粒ほど半粒法で分析したが, いまだ L-1・L-2 同時欠失種子は得られていない. また, バデュール大学のグループも同様な試みをしているが, 約 1300 粒分析した段階では L-1・L-2 同時欠失種子は一粒も得られていないとのことである (C. S. Davies 博士からの私信). 現在 L-1 欠大豆×L-2 欠大豆の交雑後代集団を大きくして, L-1・L-2 同時欠失大豆の作出を試みている.

リポキシゲナーゼ欠失遺伝子を用いた抑臭大豆の育種が成功するかどうかは, L-2・L-3 同時欠失大豆等の種々の環境条件下での試験栽培にあると思われる. また実際の加工・利用上の食品科学的な試験・研究を通した有効利用性の確認が必要であると思われる.

おわりに

現在, 大豆種子成分の改良課題として研究が進められている内容は, 本稿で取り上げた含硫アミノ酸含量の向上, 不快臭発生因子の除去以外に, 動物に対する生長阻害因子として働くトリプシン・キモトリプシンインヒビター^(57,78)やヘマグルチニン (レクチン)⁽⁵⁴⁾の除去, およびガス発生因子として知られるスタキオース, ラフィノースの除去⁽⁷⁹⁾がある. また, 酸化的に劣化しやすいリノレン酸 (C_{18:3})^(80,81)や苦味・収斂味などの不快味成分として知られる大豆配糖体⁽⁸²⁾が多く含まれることも, 大豆利用上の欠点となっている.

従来の, 生化学的, 遺伝育種学的手法に加え, 最近, 発展著しい細胞工学的手法を用いて, 近い将来に, これら大豆種子成分の欠点が改善されることが期待される.

最後に, 研究遂行上, つねにご支援・ご助言をいただいた海妻矩彦教授に心から感謝いたします. また, 研究発展のために, 努力をしていただきました研究室各位に厚くお礼申し上げます.

- (1) 海妻矩彦: 岩手大学農学部報告, **12**, 155 (1976).
- (2) E. T. Merz, L. S. Bates and O. E. Nelson: *Science*, **145**, 279 (1964).
- (3) O. E. Nelson, E. T. Mertz and L. S. Bates: *Science*, **148**, 1741 (1965).
- (4) L. Munck, K. E. Karlson, A. Hagberg and B. O. Eggum: *Science*, **168**, 985 (1970).
- (5) H. Doll, B. Koin and B. O. Eggum: *Radiat. Bot.*, **14**, 73 (1974).
- (6) R. Singh and J. D. Axtell: *Crop Science*, **13**, 535 (1973).
- (7) "High-Quality Protein Maize," ed. by E. T. Mertz *et al.*, Dowden, Hutchinson & Ross, Inc., Stroudsburg, Pennsylvania, 1975.
- (8) M. J. Wolf, U. Khoo and H. L. Seckinger: *Science*, **175**, 556 (1969); M. J. Wolf, U. Khoo and H. L. Seckinger: *Cereal Chem.*, **46**, 253 (1969).
- (9) A. Tallberg: *Hereditas*, **75**, 195 (1973); L. Munck and D. V. Wettstein: "Genetic Improvement of Seed Proteins," National Academy of Science, Washington, D. C., 1976, p. 71.
- (10) D. Geraghty, M. A. Peifer, I. Rubenstein and J. Messing: *Nucleic Acid Res.*, **9**, 5163 (1981).
- (11) K. Pedersen, J. Devereux, D. R. Wilson, E. Sheldon and B. A. Larkins: *Cell*, **29**, 1015 (1982).
- (12) P. Argos, K. Peterson, M. D. Marks and B. A. Larkins: *J. Biol. Chem.*, **257**, 9984 (1982).
- (13) J. W. S. Brown, D. R. Ersland and T. C. Hall: "The Physiology and Biochemistry of Seed Development, Dormancy and Germination," Elsevier Biochemical Press, Amsterdam-New York-Oxford, 1982, p. 3.
- (14) B. A. Larkins: "The Biochemistry of Plants, Vol. 6, Proteins and Nucleic Acids," Academic Press, 1981, p. 450.
- (15) J. C. Sorenson: "Advances in Genetics, Vol. 22, Molecular Genetics of Plants," Academic Press, 1984, p. 109.
- (16) J. E. Hill and R. W. Breidenback: *Plant Physiol.*, **53**, 742 (1974).
- (17) V. H. Thanh and K. Shibasaki: *J. Agric. Food Chem.*, **24**, 1117 (1976).
- (18) I. Koshiyama: *Cereal Chem.*, **45**, 398 (1968).
- (19) N. Catsimpoolas, T. Berg and E. W. Meger: *Int. J. Protein Res.*, **3**, 63 (1971).
- (20) H. Taira and H. Taira: *Proc. Crop Sci. Jpn.*, **41**, 235 (1972).
- (21) G. C. Sharma: *Commun. Soil Sci. Plant*

- Anal.*, 4, 77 (1973).
- (22) 喜多村啓介, 高嶋芳嗣, 海妻矩彦: 育種学雑誌, 29, 別冊 1, 100 (1979).
- (23) P. A. Murphy and A. P. Resurreccion: *J. Agric. Food Chem.*, 32, 911 (1984).
- (24) L. P. Holowack, J. F. Thompson and J. T. Madison: *Plant Physiol.*, 74, 576 (1984).
- (25) G. L. Creason, L. P. Holowack, J. F. Thompson and J. T. Madison: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 117, 658 (1983).
- (26) 原田久也: 育種学雑誌, 18 巻別冊 2, 195 (1968).
- (26) 原田久也: 育種学雑誌, 20 巻別冊 2, 166 (1970).
- (28) K. Kitamura, Y. Toyokawa and K. Harada: *Phytochemistry*, 19, 1941 (1980).
- (29) K. Kitamura and N. Kaizuma: *Jpn. J. Breed.*, 31, 353 (1981).
- (30) T. Nakamura, S. Utsumi, K. Kitamura, K. Harada and T. Mori: *J. Agric. Food Chem.*, 32, 647 (1984).
- (31) V. H. Thanh and K. Shibasaki: *Biophys. Acta*, 490, 370 (1977).
- (32) Y. Tsukada, K. Kitamura and N. Kaizuma: in preparation.
- (33) K. Kitamura, C. S. Davies and N. C. Nielsen: *Theor. Appl. Genet.*, 68, 253 (1984).
- (34) P. E. Staswick, M. A. Hermodson and N. C. Nielsen: *J. Biol. Chem.*, 256, 8752 (1981).
- (35) P. E. Staswick, P. Broué and N. C. Nielsen: *Plant Physiol.*, 72, 1114 (1983).
- (36) M. A. Moreira, M. A. Hermodson, B. A. Larkins and N. C. Nielsen: *J. Biol. Chem.*, 254, 9921 (1979).
- (37) E. P. B. Fontes, M. A. Moreira, C. S. Davies and N. C. Nielsen: *Plant Physiol.*, 76, 840 (1984).
- (38) K. Harada, Y. Toyokawa and K. Kitamura: *Jpn. J. Breed.*, 33, 23 (1983).
- (39) N. Catsimpoilas and C. Ekenstam: *Arch. Biochem. Biophys.*, 129, 490 (1969).
- (40) I. Koshiyama: *Agric. Biol. Chem.*, 36, 62 (1972).
- (41) 橋本鋼二: 油化学, 33, 660 (1984).
- (42) M. A. Moreira, M. A. Hermodson, B. A. Larkins and N. C. Nielsen: *Arch. Biochem. Biophys.*, 210, 633 (1981).
- (43) P. E. Staswick, M. A. Hermodson and N. C. Nielsen: *J. Biol. Chem.*, 259, 13424 (1984).
- (44) H. Hirano, C. Fukazawa and K. Harada: *J. Biol. Chem.*, 259, 14371 (1984).
- (45) R. N. Beachy, K. A. Barton, J. F. Thompson and J. T. Madison: *Plant Physiol.*, 65, 990 (1980).
- (46) M. A. Schuler, B. F. Ladin, J. C. Pollaco, G. Freyer and R. N. Beachy: *Nucleic Acids Res.*, 10, 8245 (1982).
- (47) C. A. Newell and T. Hymowitz: *Brittonia*, 32, 63 (1980).
- (48) 海妻矩彦: 育種学雑誌, 35 巻別冊 1, 116 (1985).
- (49) P. Broué, D. R. Marshall and J. P. Grace: *J. Aust. Inst. Agric. Sci.*, 45, 256 (1979).
- (50) P. Broué, J. Douglass, J. P. Grace and D. R. Marshall: *Euphytica*, 31, 715 (1982).
- (51) T. Hymowitz and R. J. Singh: *Soybean Genet. Newslett.*, 11, 90 (1984).
- (52) 原田久也氏(農業生物資源研)からの私信.
- (53) B. Axelrod: *Methods Enzymol.*, 71, 441 (1981).
- (54) S. P. Pull, S. G. Pueppke, T. Hymowitz and J. H. Orf: *Science*, 200, 1277 (1978).
- (55) J. H. Orf and T. Hymowitz: *Crop Sci.*, 19, 107 (1979).
- (56) D. F. Hildebrand and T. Hymowitz: *Crop Sci.*, 20, 727 (1980).
- (57) D. F. Hildebrand and T. Hymowitz: *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 58, 583 (1981).
- (58) D. F. Hildebrand and T. Hymowitz: *Crop Sci.*, 22, 851 (1982).
- (59) D. F. Hildebrand and T. Hymowitz: *Bot. Gaz.*, 144, 212 (1983).
- (60) 喜多村啓介, 濃沼圭一, 海妻矩彦: 育種学雑誌, 30 巻別冊 2, 230 (1980).
- (61) K. Kitamura, C. S. Davies, N. Kaizuma and N. C. Nielsen: *Crop Sci.*, 23, 924 (1983).
- (62) K. Kitamura: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 2339 (1984).
- (63) K. Kitamura, T. Kumagai and A. Kikuchi: *Jpn. J. Breed.*, 35, in press.
- (64) 喜多村啓介: 日食工誌, 31, 751 (1985).
- (65) 喜多村啓介, 橋本鋼二: 大豆月報, 11, 4 (1985).
- (66) T. Galliard and H. W. S. Chan: "The Biochemistry of Plants, Vol. 4, Lipids: Structure and Function," Academic Press, 1980, p. 131.
- (67) M. Kubacka-Zebalska and A. Kacperska-Palacz: *Phyiol. Vég.*, 18, 339 (1980).
- (68) B. A. Vick and D. C. Zimmerman: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 111, 470 (1983).
- (69) T. Ichii and K. Hamada: *J. Jpn. Soc. Hort. Sci.*, 51, 493 (1983).
- (70) A. Kacperska 博士(ワルシャワ大)からの私信
- (71) G. E. Harman and L. R. Mattick: *Nature*, 260, 323 (1976).
- (72) R. H. Shukle and L. L. Murdock: *Environ. Entomol.*, 12, 787 (1983).

- (73) R. T. Holman : *Arch. Biol. Biophys.*, **17**, 459 (1948).
- (74) M. Vernooy-Gerritsen, A. L. M. Bos, G. A. Veldink and J. F. G. Vliegthart : *Plant Physiol.*, **73**, 262 (1983).
- (75) 佐々木隆造, 千葉英雄 : 化学と生物, **21**, 536 (1983).
- (76) T. Matoba, H. Hidaka, H. Narita, K. Kitamura, N. Kaizuma and M. Kito : *J. Agric. Food Chem.*, in press.
- (77) 菊池彰夫, 喜多村啓介 : 育種学雑誌, **35** 巻別冊 1, 300 (1985).
- (78) R. W. Stahlhut and T. Hymowitz : *Crop Sci.*, **23**, 766 (1983).
- (79) O. D. Mwandemele and K. S. Mcwhirter : "Program and Abstracts, World Soybean Research Conference-III," Iowa State Univ., 1985, p. 85.
- (80) J. R. Wilcox : 同上, p. 28.
- (81) J. H. Cherry, L. Bishop, D. M. Hasegawa and H. R. Leffer : *Phytochemistry*, **24**, 237 (1985).
- (82) 大久保一良 : 化学と生物, **22**, 11 (1984).