

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第4701665号  
(P4701665)

(45) 発行日 平成23年6月15日 (2011.6.15)

(24) 登録日 平成23年3月18日 (2011.3.18)

(51) Int. Cl.

F I

A O 1 H 5/00 (2006.01)

A O 1 H 5/00 Z

A 2 3 L 1/20 (2006.01)

A 2 3 L 1/20 Z

A 2 3 L 1/305 (2006.01)

A 2 3 L 1/305

請求項の数 5 (全 22 頁)

(21) 出願番号 特願2004-288187 (P2004-288187)  
 (22) 出願日 平成16年9月30日 (2004.9.30)  
 (65) 公開番号 特開2005-124572 (P2005-124572A)  
 (43) 公開日 平成17年5月19日 (2005.5.19)  
 審査請求日 平成19年7月23日 (2007.7.23)  
 (31) 優先権主張番号 特願2003-342020 (P2003-342020)  
 (32) 優先日 平成15年9月30日 (2003.9.30)  
 (33) 優先権主張国 日本国 (JP)

特許法第30条第1項適用 刊行物名: P l a n t a  
 巻数: 217 号数: 4 577-586頁 発行者:  
 Springer-Verlag Heidelberg  
 刊行物発行年月日: 2003年8月 電気通信回線  
 発表: 2003年4月2日

(73) 特許権者 501203344  
 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究  
 機構  
 茨城県つくば市観音台3-1-1  
 (74) 代理人 100091096  
 弁理士 平木 祐輔  
 (74) 代理人 100096183  
 弁理士 石井 貞次  
 (74) 代理人 100118773  
 弁理士 藤田 節  
 (74) 代理人 100111741  
 弁理士 田中 夏夫  
 (72) 発明者 高橋 将一  
 熊本県菊池郡西合志町大字須屋2391-  
 2 農試宿舍RC-D棟204号  
 最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 高遊離アミノ酸含有ダイズ

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

-コングリシニンの、'および サブユニットを全て欠失しており、かつグリシニンのサブユニットのうち少なくとも $A_5A_4B_3$ および/または $A_3B_4$ サブユニットを欠失している、子実中の総遊離アミノ酸含量が、同様の条件下で栽培された -コングリシニンの、'および サブユニットを全て有するか、-コングリシニンの、'および サブユニットを全て欠失しておりかつグリシニンのサブユニットの $A_5A_4B_3$ および $A_3B_4$ サブユニットを有するダイズの子実中の該含量に比べて高いダイズであって、-コングリシンおよびグリシニンの全サブユニットを欠失しているダイズは含まれない、上記ダイズ。

【請求項2】

子実中に含まれる各遊離アミノ酸のうち、アルギニン、アスパラギン、ヒスチジン、およびグルタミンからなる群より選択される少なくとも1種の遊離アミノ酸の含量が、同様の条件下で栽培された -コングリシニンの、'および サブユニットを全て有するか、-コングリシニンの、'および サブユニットを全て欠失しておりかつグリシニンのサブユニットの $A_5A_4B_3$ および $A_3B_4$ サブユニットを有するダイズの子実中に含まれるその含量に比べて高いことを特徴とする、請求項1記載のダイズ。

【請求項3】

-コングリシンおよびグリシニンのサブユニットのうち、-コングリシニンの、'および サブユニット、ならびにグリシニンの $A_{1a}B_2$ 、 $A_2B_{1a}$ 、 $A_{1b}B_{1b}$ および $A_5A_4B_3$ サ

ブユニットを欠失している、請求項 1 記載のダイズ。

【請求項 4】

請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載のダイズの子実を原料の 1 つとして用いて、総遊離アミノ酸含量が増加している機能性食品を製造する方法。

【請求項 5】

請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載のダイズの子実を原料の 1 つとして用いて、従来のダイズの子実を原料とする同様の方法で製造された豆乳に比べて総遊離アミノ酸含量が増加している豆乳を製造する方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

10

【0001】

本発明は、従来の栽培ダイズより、子実中に遊離アミノ酸を高濃度に含有するダイズ、およびその作出方法に関する。

【背景技術】

【0002】

マメ科植物であるダイズの子実中には、多量の貯蔵蛋白質が蓄積されることは良く知られており、この子実中に含まれるアミノ酸のほとんどは結合型アミノ酸、即ち、貯蔵蛋白質または酵素蛋白質等の成分として保存されている。従って、ダイズ子実中にはアミノ酸が遊離した状態では多く存在していないため、公知の酵素法、化学的処理方法などで蛋白質を加水分解しない限り子実中から高濃度の遊離アミノ酸を得ることはできない。

20

【0003】

一方、ダイズ子実中には主要な貯蔵蛋白質として  $\beta$ -コングリシニンとグリシニンとがあり、全蛋白質の約70%を占めている。従って、ダイズ蛋白質の性質の大部分はこの両成分の性質が反映されたものであり、ダイズ貯蔵蛋白質の特性を改良するには、 $\beta$ -コングリシニンならびにグリシニン含量を変化させることが有効である。その目的のために両蛋白質のサブユニットを遺伝的に欠失もしくは低減したダイズが作出され、例えば、 $\beta$ -コングリシニンの、 $\beta$  および サブユニットのうち、 $\beta$  を遺伝的に欠失させ、サブユニットを低減させることにより、補完的にグリシニン含量が高まり、その結果、ダイズ蛋白質の栄養価値を制限している含硫アミノ酸（シスチン、メチオニン）を高めることができるという知見が得られている（例えばOgawa et al.1989）。

30

【0004】

一方、グリシニンを構成する5つのサブユニットである $A_{1a}B_2$ 、 $A_2B_{1a}$ 、 $A_{1b}B_{1b}$ 、 $A_5A_4B_3$  および $A_3B_4$ についても、それらを合成する $Gy_1$ 、 $Gy_2$ 、 $Gy_3$ 、 $Gy_4$ 、 $Gy_5$ の遺伝子の構造や発現機序について明らかにされている（例えばNielsen et al. 1988）。さらに、サブユニットの欠失変異ダイズである $A_{1a}B_2$ 、 $A_2B_{1a}$ 、 $A_{1b}B_{1b}$ （Group I）同時欠失型、 $A_5A_4B_3$ （Group IIa）欠失型、 $A_3B_4$ （Group IIb）欠失型の系統が作出され、それぞれの欠失型がそれぞれ劣性遺伝子により支配されていることがわかっている（例えばYagasaki et al.1996）。これによって、これらを親とした交雑によりグリシニンの複数のサブユニットを遺伝的に欠失したダイズが作出できるようになり、グリシニン含量と加工適性、特に豆腐加工適性との関係について検討がなされるようになった（Yagasaki et al. 2000）。

40

【0005】

このように、これまでのダイズ子実の蛋白質ならびにアミノ酸に関する研究はその研究対象がもっぱら貯蔵蛋白質そのものであり、ダイズ子実中の遊離アミノ酸に関する研究例はほとんどなく、貯蔵蛋白質欠失ダイズを利用してダイズ子実中の遊離アミノ酸を高めようとする考えは全くなかった。

【0006】

しかし、近年、栄養生理学、食品学等の観点から、例えば疲労回復および/または脂肪燃焼効率化などのためには遊離アミノ酸を摂取することが好ましいとされ、さまざまな遊離アミノ酸を含有する機能性食品あるいはサプリメントが開発されてきている。

【0007】

50

ダイズは、人類の非常に有用な食用作物として、非常に多くの国々、地域で栽培されている植物であり、その子実は、油分および蛋白質含量も高い植物性食品として、多種多様な加工食品にも利用されている。

【 0 0 0 8 】

特に、近年、各種遊離アミノ酸の摂取がヒトの健康に良い影響を及ぼすという事実がかなり知られるところとなり、疲労回復、体内での脂肪燃焼効果などを利用したスポーツサプリメントやダイエットサプリメントが広く販売されるようになっている。本発明のダイズにおいて特異的に多いアルギニンについては、その摂取が悪性腫瘍細胞の破壊を助けた（例えば、Park et al. 1991）、ヒトの免疫機能の向上（例えばKirk et al. 1993）、成長ホルモンの分泌の増進（例えばKreider et al. 1993）に役立つことが報告されており、グルタミンについても、筋力増強（例えば、Rennie 1996）、免疫機能の向上（例えばNewsholme and Calder 1997）等が報告されており、遊離アミノ酸の様々な健康機能性について科学的な検証がなされている。

【 0 0 0 9 】

【非特許文献 1】Ogawa, T. 他、1989. Jpn. J. Breed. 39:137-147

【非特許文献 2】Yagasaki, K. 他、2000. Breed. Sc. 50:101-107

【非特許文献 3】Takahashi, M. 他、2000. Proceedings of the Third International Soybean Processing and Utilization Conference. P45-46

【非特許文献 4】植松芳彦 他、1999. 育種学研究 1 (別 1) : 1 5 4

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【 0 0 1 0 】

そこで、子実中の総遊離アミノ酸含量が高いダイズが作出できれば、この子実を原料に用いることにより、総遊離アミノ酸含量の高い機能性ダイズ加工食品を得ることができる。

【 0 0 1 1 】

本発明は、ダイズ子実中の主要貯蔵蛋白質の生合成能力を遺伝的に抑止することによって、初期産物として生産されるアミノ酸を遊離状態のまま高濃度に子実中に蓄積するダイズ、およびその作出方法を提供することを目的とするものである。また、該方法により、種々の健康機能性を有する遊離アミノ酸を含有する機能性加工食品の原料としての遊離アミノ酸含量の高いダイズを提供する。

【課題を解決するための手段】

【 0 0 1 2 】

本発明者等は上記課題を解決するため、鋭意研究する中で、貯蔵蛋白質のうち、  
、  
、および サブユニットを全て欠失する -コングリシニン欠失ツルマメQT2（これは、独立行政法人、産業技術総合研究所 特許生物寄託センター（日本国茨城県つくば市東1丁目1番地 1 中央第 6 ）に受託番号 FERM BP-8376 として、2003 年 5 月 8 日に寄託されている）を世界で初めて発見するに至った（Hajika et al. 1996）。さらに研究を進める中で、-コングリシニン欠失ツルマメQT2と -コングリシニンを有する栽培ダイズとを交雑し、そのF<sub>1</sub>、F<sub>2</sub>個体群の分離比を算出することによって、この -コングリシニン欠失が一因子の優性遺伝子に支配されていることを見出し、この遺伝子をScgと命名した（Hajika et al. 1998）。

【 0 0 1 3 】

さらに、-コングリシニン欠失ツルマメと栽培ダイズとの戻し交雑を進め、開花、成熟および生育状況等の農業特性が栽培ダイズに劣らない -コングリシニン欠失ダイズである九系305を作出した（Takahashi et al. 2000）。

【 0 0 1 4 】

本発明者等は、一方、グリシニンの主要サブユニットであるA<sub>1a</sub>B<sub>2</sub>、A<sub>2</sub>B<sub>1a</sub>、A<sub>1b</sub>B<sub>1b</sub>、A<sub>5</sub>A<sub>4</sub>B<sub>3</sub>およびA<sub>3</sub>B<sub>4</sub>全てを遺伝的に欠失するダイズ（Yagasaki et al. 1996）に、栽培ダイズ（エンレイ）を交雑し、農業特性を一部改良したグリシニン欠失ダイズであるEnB1（こ

れは、独立行政法人、産業技術総合研究所 特許生物寄託センター（日本国茨城県つくば市東1丁目1番地 1 中央第 6 ）に受託番号FERM BP-8377として、2003年5月8日に寄託されている）を作出した。

【 0 0 1 5 】

さらに、本発明者等は -コングリシニン欠失ダイズとグリシニン欠失ダイズとの交雑により貯蔵蛋白質の約70%を占める -コングリシニンとグリシニンを遺伝的に欠失したダイズが作出できることを世界で初めて見出した（植松ら1999）。

【 0 0 1 6 】

-コングリシニン欠失ダイズとグリシニン欠失ダイズとの交雑後代から -コングリシニンおよびグリシニンを同時に遺伝的に欠失したダイズを選抜し、これらの子実中の総遊離アミノ酸含量が特に増加していることを見出し、本発明を完成するに至った。

【 0 0 1 7 】

本発明は、以下の態様：

1．子実中の総遊離アミノ酸含量が、同様の条件下で栽培された -コングリシニンおよびグリシニンの全サブユニットを有しているフクユタカおよびタチユタカ、グリシニンサブユニット $A_5A_4B_3$ のみを欠失するエンレイ、 -コングリシニンの全サブユニットを欠失する九系305、ならびにグリシニンの全サブユニットを欠失するEnB1のいずれの子実中の該含量に比べて高いダイズ；

2．子実中の総遊離アミノ酸含量が、同様の条件下で栽培された -コングリシニンおよびグリシニンの全サブユニットを有しているフクユタカおよびタチユタカ、グリシニンサブユニット $A_5A_4B_3$ のみを欠失するエンレイ、 -コングリシニンの全サブユニットを欠失する九系305、ならびにグリシニンの全サブユニットを欠失するEnB1のいずれの子実中の該含量に比べて少なくとも2倍以上高いことを特徴とする、上記 1 記載のダイズ；

3．子実中の総遊離アミノ酸含量が、子実乾物重1g当たり8mg以上であることを特徴とする、上記 1 記載のダイズ；

4．子実中に含まれる各遊離アミノ酸のうち、アルギニン、アスパラギン、ヒスチジン、およびグルタミンからなる群より選択される少なくとも1種の遊離アミノ酸の含量が、同様の条件下で栽培された -コングリシニンおよびグリシニンの全サブユニットを有しているフクユタカ、タチユタカおよびグリシニンサブユニット $A_5A_4B_3$ のみを欠失するエンレイ、 -コングリシニンの全サブユニットを欠失する九系305、およびグリシニンの全サブユニットを欠失するEnB1のいずれの子実中に含まれるその含量に比べて高いことを特徴とする、上記 1 記載のダイズ；

5．子実中に含まれる各遊離アミノ酸のうち、アルギニン、アスパラギン、ヒスチジンおよびグルタミンの全ての遊離アミノ酸の含量が、同様の条件下で栽培された -コングリシニンおよびグリシニンの全サブユニットを有しているフクユタカ、タチユタカおよびグリシニンサブユニット $A_5A_4B_3$ のみを欠失するエンレイ、 -コングリシニンの全サブユニットを欠失する九系305、およびグリシニンの全サブユニットを欠失するEnB1のいずれの子実中のそれぞれの含量に比べて高いことを特徴とする、上記 4 記載のダイズ；

6． -コングリシニンおよびグリシニンのサブユニットのうち、少なくとも -コングリシニンの、 ' および サブユニット、ならびにグリシニンの $A_{1a}B_2$ 、 $A_2B_{1a}$ 、 $A_{1b}B_{1b}$ および $A_5A_4B_3$ サブユニットを遺伝的に欠失する、上記 1 記載のダイズ；

7． -コングリシニンおよびグリシニンの全サブユニットを遺伝的に欠失している、上記 6 記載のダイズ；

8． -コングリシニンの、 ' および サブユニット、ならびにグリシニンの $A_{1a}B_2$ 、 $A_2B_{1a}$ 、 $A_{1b}B_{1b}$ および $A_5A_4B_3$ サブユニットからなる群より選択される1つ以上のサブユニットを欠失するダイズと、上記サブユニットのうち該ダイズが有するサブユニット全てを欠失しているダイズとを交雑させるか、または上記サブユニット全てを欠失するダイズとこれらの全てあるいは一部を有するダイズとを交雑させるかのいずれかの交雑ステップを含み、ここで交雑する両ダイズの少なくとも一方はグリシニンの $A_3B_4$ サブユニットを有するものとする、上記 6 記載のダイズを作出する方法；

10

20

30

40

50

9. -コングリシニンの、'およびサブユニット、ならびにグリシニンの $A_{1a}B_2$ 、 $A_2B_{1a}$ 、 $A_{1b}B_{1b}$ 、 $A_5A_4B_3$ および $A_3B_4$ サブユニットからなる群より選択される1つ以上のサブユニットを欠失するダイズと、上記サブユニットのうち該ダイズが有するサブユニットを全て欠失しているダイズとを交雑させるか、または上記サブユニットを全て欠失するダイズとこれらの全てあるいは一部を有するダイズとを交雑させるかのいずれかの交雑ステップを含む、上記7記載のダイズを作出する方法；

10. -コングリシニンの全サブユニットを欠失する九系305と、グリシニンの全サブユニットを欠失するEnB1とを交雑するステップを含む、上記8または9記載の方法；

11. 交雑ステップの後、-コングリシニンおよびグリシニンのサブユニットのうちグリシニンサブユニット $A_3B_4$ のみを有する系統、または-コングリシニンおよびグリシニンの全サブユニットを欠失した系統を選抜するステップをさらに含む、上記8～10のいずれかに記載の方法；

10

12. 上記1～7のいずれか1項に記載のダイズの子実を原料として用いて製造される、従来のダイズの子実を原料とする同様の方法で製造された場合に比べて、総遊離アミノ酸含量が増加していることを特徴とする、遊離アミノ酸含有ダイズ食品材料；

13. 上記1～7のいずれか1項に記載のダイズの子実を原料の1つとして用いて製造される、従来のダイズの子実を原料とする同様の方法で製造された場合に比べて、総遊離アミノ酸含量が増加していることを特徴とする、機能性食品；

14. 請求項1～7のいずれか1項に記載のダイズの子実を原料の1つとして用いて製造される豆乳であって、従来のダイズの子実を原料とする同様の方法で製造された豆乳に比べて、総遊離アミノ酸含量が増加していることを特徴とする、豆乳；

20

15. 上記1～7のいずれか1項に記載のダイズの子実を原料の1つとして用いて、総遊離アミノ酸含量が増加している機能性食品を製造する方法；ならびに

16. 上記1～7のいずれか1項に記載のダイズの子実を原料の1つとして用いて、従来のダイズの子実を原料とする同様の方法で製造された豆乳に比べて総遊離アミノ酸含量が増加している豆乳を製造する方法；

に関する。

【発明の効果】

【0018】

本発明により、子実中の総遊離アミノ酸含量が従来のダイズ品種もしくは系統より高いダイズ系統が作出された。該ダイズは、農業的利用に適した農業特性を有している。さらに、本発明で作出されたダイズは総遊離アミノ酸含量が従来の一般的栽培ダイズの3～5倍以上であり、遊離のアルギニン、アスパラギン、ヒスチジン、およびグルタミンの含量が高い。このため、ヒトが従来の栽培ダイズの代わりに本発明で得られるダイズを摂取することによって、より多くの遊離アミノ酸を直接体内へ効率良く吸収できるようになる。

30

【0019】

すなわち、本発明で得られるダイズは従来の栽培ダイズにはない遊離アミノ酸含量の高い機能性食品の食品素材として、有用性が非常に高い。

【発明を実施するための最良の形態】

【0020】

40

本明細書中の総遊離アミノ酸含量とは、各ダイズの子実中に検出される、蛋白質中に組込まれず遊離した状態にある各アミノ酸の総和を指す。各遊離アミノ酸の量の定量方法は当技術分野で公知であるが、例えば粉碎した子実からエタノール等の溶媒で抽出した遊離アミノ酸抽出液をアミノ酸分析に供し、天然に存在する20種全てのアミノ酸についてそれぞれ定量して、その総和を算出するとよい。

【0021】

本発明のダイズは、冬から春（1998年12月～1999年3月）の加温ガラス室内（平均気温25℃に調整、自然日長）でのポット栽培（培養土と腐植土を2：1に混合した培地）、夏から秋（2000年7月から10月）の一般圃場（黒ボク火山灰土壌、平均気温24.3℃、平均最高気温29.3℃、平均最低気温19.7℃、降水量453.0mm）、再度、夏から秋（2001年7月～2001

50

年10月)の一般圃場(黒ボク火山灰土壌、平均気温24.1、平均最高気温29.2、平均最低気温19.4、降水量682.5mm)での栽培など異なる環境条件下であっても、同様にして栽培されたダイズ主要貯蔵蛋白質である $\alpha$ -コングリシニンおよびグリシニンのいずれのサブユニットも欠失していないフクユタカ、タチユタカおよびグリシニンサブユニット $A_5A_4B_3$ を遺伝的に欠失するエンレイなどのダイズ、 $\alpha$ -コングリシニンの全サブユニットを遺伝的に欠失する九系305などのダイズ、ならびにグリシニンの全サブユニットを遺伝的に欠失するEnB1などのダイズからなる群より選択されるいずれかに比べて、その子実中に含まれる総遊離アミノ酸含量が高いこと、好ましくは2倍以上、さらに好ましくは3倍以上、最も好ましくは4倍以上高いことを特徴とする。通常の圃場での栽培では、上記栽培ダイズの子実中の総遊離アミノ酸総含量は、その種および/または栽培条件によって異なるが、通常子実1gあたり1~3mgの範囲内であることが多いが、本発明のダイズのアミノ酸総含量は、子実1gあたり5mg以上、好ましくは8mg以上、さらに好ましくは9mg以上、最も好ましくは10mg以上であり、最も好ましい場合は30mg以上である。

#### 【0022】

さらに、各アミノ酸別の含量に注目した場合、本発明のダイズは、遊離アミノ酸のうち、アルギニン、アスパラギン、ヒスチジン、およびグルタミンが、同様の条件下で栽培した栽培ダイズに比べて増加している。栽培ダイズにおいても、その品種もしくは系統によって各遊離アミノ酸の含量は異なるが、例えば、同様の条件下で栽培したフクユタカ、タチユタカ、エンレイ、九系305およびEnB1からなる群より選択される任意のものに比べて、本発明のダイズでは、アスパラギンおよびヒスチジンでは2倍以上、グルタミンでは5倍以上、ならびにアルギニンでは8倍以上である。

#### 【0023】

本発明の1つの態様は、 $\alpha$ -コングリシニンおよびグリシニンを構成するサブユニットのうち、グリシニンの $A_3B_4$ サブユニットのみを有するダイズであり、かかるダイズは、 $\alpha$ -コングリシニンの $A_1A_2B_1$ および $A_1A_2B_2$ サブユニット、ならびにグリシニンの $A_1A_2B_2$ 、 $A_2B_1A_3$ 、 $A_1B_1B_2$ および $A_5A_4B_3$ サブユニットからなる群より選択される1つ以上のサブユニットを遺伝的に欠失するダイズと、上記サブユニットのうち該ダイズが有する全てのサブユニットを遺伝的に欠失するダイズとを交雑させるか、または上記サブユニット全てを遺伝的に欠失するダイズとこれらの全てあるいは一部を有するダイズとを交雑させるかのいずれかの交雑ステップを含む方法により作出することができる。ここで、交雑する両ダイズの少なくとも一方はグリシニンの $A_3B_4$ サブユニットを有していてもよい。すなわち、 $\alpha$ -コングリシニンの全サブユニットおよびグリシニンの $A_1A_2B_2$ 、 $A_2B_1A_3$ 、 $A_1B_1B_2$ および $A_5A_4B_3$ サブユニットのいずれもが、交雑する両方のダイズのうち少なくとも一方において遺伝的に欠失されており、かつ、グリシニンの $A_3B_4$ サブユニットは交雑する両方のダイズのうち少なくとも一方において発現可能である場合、両ダイズを交雑させることによって、 $\alpha$ -コングリシニンおよびグリシニンの構成サブユニットのうち、グリシニンの $A_3B_4$ サブユニットのみを有するダイズが作出される。

#### 【0024】

また、本発明のダイズは、 $\alpha$ -コングリシニンおよびグリシニンを構成するサブユニットの全てを遺伝的に欠失するダイズでもよい。かかるダイズは、 $\alpha$ -コングリシニンの $A_1A_2B_1$ および $A_1A_2B_2$ サブユニット、ならびにグリシニンの $A_1A_2B_2$ 、 $A_2B_1A_3$ 、 $A_1B_1B_2$ 、 $A_5A_4B_3$ および $A_3B_4$ サブユニットからなる群より選択される1つ以上のサブユニットを遺伝的に欠失するダイズと、上記サブユニットのうち該ダイズが有するサブユニットの全てを遺伝的に欠失するダイズとを交雑させるか、または上記サブユニットの全てを遺伝的に欠失するダイズとこれらの全てもしくは一部のサブユニットを有するダイズとを交雑させることによって作出することができる。例えば、 $\alpha$ -コングリシニンの全サブユニットを遺伝的に欠失する九系305と、グリシニンの全サブユニットを遺伝的に欠失するEnB1との交雑、あるいは $\alpha$ -コングリシニンならびにグリシニンの全サブユニットを有するフクユタカと $\alpha$ -コングリシニンおよびグリシニンの全サブユニットを遺伝的に欠失したダイズを交雑させることによって得ることができる。

## 【 0 0 2 5 】

ダイズの交雑は、当技術分野で周知の方法で実施することができる。

得られた交雑後代から -コングリシニンおよびグリシニンを構成するサブユニットのうちの少なくとも1つのサブユニット、 $A_3B_4$ サブユニット以外の全てのサブユニット、または全てのサブユニットを遺伝的に欠失したダイズを選抜するとよい。この選抜のためのサブユニットを欠失するか否かの判定は、当業者であれば容易に行うことができる。例えば、交雑後代から得た子実の子葉部分を削り取り、Kitamuraら(1984)の方法にしたがってSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動法により判定することができる。

## 【 0 0 2 6 】

そして、 -コングリシニンおよびグリシニンのサブユニットを欠失するダイズ系統を遺伝的に固定することができる。 -コングリシニンおよびグリシニンを構成する全てのサブユニットを遺伝的に欠失するダイズ系統(以後、QF2と呼ぶ)あるいは -コングリシニンのサブユニットの全てを遺伝的に欠失し、グリシニンのサブユニットのうちグループI( $A_{1a}B_2$ 、 $A_2B_{1a}$ 、 $A_{1b}B_{1b}$ )ならびにIIa( $A_5A_4B_3$ )を遺伝的に欠失するダイズ系統(以後、QF3と呼ぶ)を選抜して固定することもできる。これらの方法は当業者には公知である。

したがって、本発明は、本発明のダイズを作出するこれらの方法も包含する。

## 【 0 0 2 7 】

このような方法で作出される本発明のダイズは農業特性が一般の栽培ダイズと比べて劣ることなく、野外の一般栽培において正常な栄養生長を行い、正常な子実を生産でき、栽培植物として事実上問題ない。

## 【 0 0 2 8 】

本発明のダイズとの比較対象として、 -コングリシニンの全サブユニットのみを遺伝的に欠失するダイズの総遊離アミノ酸含量を測定したところ、栽培ダイズあるいは -コングリシニンおよびグリシニンのいずれのサブユニットも欠失していないダイズに比べ遊離アミノ酸の増加は認められず、これに対して、グリシニンの全サブユニットのみを遺伝的に欠失するダイズの総遊離アミノ酸含量を栽培ダイズと比較したところ、一部の遊離アミノ酸についてその含量が増加しているが、QF2およびQF3ダイズに比べるとその増加量は明らかに低い。 -コングリシニンの全サブユニットの遺伝的欠失に加えグリシニンのサブユニットを一部、遺伝的に欠失させることも子実の遊離アミノ酸含量の増加に効果的であるが、その増加の程度は、QF2、QF3には及ばない。さらに、 -コングリシニンのほとんどを遺伝的に欠失したダイズ、即ち、 ' ' を遺伝的に欠失し、 サブユニット生成量が低減した -コングリシニン不完全欠失ダイズとグリシニン欠失ダイズの交雑後代から得られる -コングリシニン不完全欠失・グリシニン欠失ダイズでも子実中の総遊離アミノ酸含量はグリシニン欠失ダイズと同程度であった。したがって、本発明の -コングリシニンおよびグリシニンの全サブユニットのうち、少なくとも -コングリシニンのサブユニットの全てとグリシニンのサブユニットのうちグループI( $A_{1a}B_2$ 、 $A_2B_{1a}$ 、 $A_{1b}B_{1b}$ )およびIIa( $A_5A_4B_3$ )とを遺伝的に欠失するダイズ、すなわち、 -コングリシニンとグリシニンとのサブユニットのうちグリシニンのグループIIb( $A_3B_4$ )のみを有するダイズ、または -コングリシニンとグリシニンとの全サブユニットを遺伝的に欠失するダイズの総遊離アミノ酸含量が、他の種に比べて特に高いという点で、食用作物として有利である。

## 【 0 0 2 9 】

さらに、本発明は、本発明のダイズの子実を原料とする加工食品も包含する。かかる加工食品は、豆乳(調製豆乳、豆乳飲料を含む)、豆腐等を含むあらゆるダイズ加工食品を含む。これらは、原料とするダイズ子実の総遊離アミノ酸含量が高いために、従来のダイズの子実を原料とする同様の方法で製造される加工食品に比べて、総遊離アミノ酸含量が高く、特に、遊離のアルギニン、アスパラギン、ヒスチジン、およびグルタミン含量が高い。例えば、本発明のダイズの子実を原料とする豆乳の場合、総遊離アミノ酸含量が通常の栽培ダイズに比べ5倍以上であり得、その中でもアルギニンが栽培ダイズに比べ18倍以

10

20

30

40

50

上多く含まれ得、アスパラギン酸、アスパラギン、アラニン、ヒスチジンで栽培ダイズを原料とした豆乳に比べ多く含まれ得る。したがって、本発明のダイズを用いることにより、遊離アミノ酸を添加するなどの処理をすることなく、総遊離アミノ酸含量の高いダイズ加工食品が得られる。また、このようにして得られた豆乳、または該豆乳から分画して得られる遊離アミノ酸含有画分を、加工食品原料に添加することにより、高遊離アミノ酸含有加工食品(すなわち、機能性食品)を得ることができる。したがって、本発明のダイズ子実を原料として得られる、総遊離アミノ酸含量の高い、高遊離アミノ酸含有ダイズ食品材料もまた本発明の範囲に包含される。すなわち、該ダイズ子実の遊離アミノ酸成分を含む画分を抽出することにより得られる、豆乳またはその他の遊離アミノ酸成分を含む画分は、加工食品中の遊離アミノ酸含量を増大させる目的で、加工食品中に添加することができる。

10

このことにより、本発明の加工食品は、アミノ酸の吸収効率がよく、栄養的に優れた機能性食品である。

#### 【実施例】

#### 【0030】

以下に実施例を示し、本発明をより具体的に説明するが、本発明はこれらによって制限されるものではない。

#### 【0031】

##### 実施例 1

まず、高遊離アミノ酸ダイズである -コングリシニンおよびグリシニンの全サブユニットを遺伝的に欠失するダイズの作出方法について検証する。 -コングリシニンの各サブユニットを遺伝的に欠失した九系305とグリシニンの各サブユニットを遺伝的に欠失したEnB1を1997年12月から1998年3月の期間、加温ガラス室内(熊本県西合志町 最低気温22℃、最高気温32℃)に調整、播種後1ヶ月間は毎日、蛍光灯照明を午後4時~午後9時、翌朝3時~8時の2回行い、18時間日長とする。以後、自然日長とする。)のポット土耕栽培(黒ボク火山灰土壌)にて約40~50日間養成後、交雑し、F<sub>1</sub>子実を得る(全生育日数 約95日)。次にF<sub>1</sub>子実を1998年7月に一般圃場(熊本県西合志町 黒ボク火山灰土壌)に播種し、発芽したF<sub>1</sub>個体が成熟する1998年10月中旬まで養成し(平均気温24.9℃、平均最高気温30.4℃、平均最低気温20.3℃、総降水量301.5mm)、F<sub>2</sub>子実を得る。得られたF<sub>2</sub>子実は子葉部分(約10mg)を削り取り、 -コングリシニンおよびグリシニンの各サブユニットグループの有無をKitamura et al.の方法(1984)に準じSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動法により判定する。これによって、 -コングリシニンおよびグリシニンの全てのサブユニットを遺伝的に欠失するF<sub>2</sub>子実を選抜する。さらに、 -コングリシニンおよびグリシニンの全てのサブユニットを遺伝的に欠失したF<sub>2</sub>子実を加温ガラス室内(広島県福山市 平均気温25℃)に調整、自然日長)のポット(培養土と腐植土を2:1に混合して充填)に1998年12月に播種し、発芽したF<sub>2</sub>個体を養成後、F<sub>3</sub>子実を1999年3月に得る。各個体から得られるF<sub>3</sub>子実のうち、約30粒をSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動法により分析し、全ての子実が -コングリシニンおよびグリシニンの全サブユニットを遺伝的に欠失するF<sub>3</sub>系統を選抜する。即ち、 -コングリシニンおよびグリシニンの全サブユニットの欠失性を遺伝的に固定している系統(QF2F<sub>3</sub>-1、QF2F<sub>3</sub>-2、QF2F<sub>3</sub>-3)を選抜する。これら3つの系統のうち、2つの系統(QF2F<sub>3</sub>-1、QF2F<sub>3</sub>-2)子実を粉碎しその約500mgを精秤して、遊離アミノ酸の定量に用いる。なお、比較のため、 -コングリシニンならびにグリシニンを構成するサブユニットを全て有する栽培ダイズ(タチユタカ)、交雑親に用いた -コングリシニン欠失ダイズ(九系305)ならびにグリシニン欠失ダイズ(EnB1)をF<sub>2</sub>個体と同じ条件で栽培し、それらの子実を得る。これらの比較対照は、その子実を粉碎して、それぞれ約500mgを精秤して、遊離アミノ酸の定量に用いる。

20

30

40

#### 【0032】

遊離アミノ酸の定量のために、上記の精秤した粉碎子実に試料とする粉碎子実重量10mgあたり200μlの75%エタノールを、試験内で混ぜ合わせる。常温にて2分間振とう後、5,000gで5分間遠心分離し、その上清みを遊離アミノ酸抽出液として得る。さらに沈殿させた

50



子実残渣に試料とする粉碎子実重量10mgあたり200  $\mu$ lの75%エタノールを加え、同様に再度、遊離アミノ酸抽出液を得る。この2回の抽出液を合わせた後、その20分の1容量を取り、15,000gで10分間遠心し残渣を取り除き、蒸留水で5倍に希釈する。希釈液は再度6,000gで50分間遠心し、得られた上清のうち1mlを用いてPico Tagアミノ酸分析装置により20種類のアミノ酸含量を測定し、その総和を総遊離アミノ酸含量として算出する。結果を表1に示す。

【0033】

【表1】

表1 ダイズ子実中の遊離アミノ酸分析結果-1

品種・系統名	タチユタカ	九系305	EnB1	QF2F <sub>3</sub> -1	QF2F <sub>3</sub> -2
$\beta$ -コングリシニンの有無	+	-	+	-	-
グリシニンの有無	+	+	-	-	-
遊離アミノ酸含量(mg/g seed)	4.18	4.64	4.86	25.48	22.55

注1) タチユタカは栽培ダイズ

注2) 九系305ならびにEnB1はQF2F<sub>3</sub>-1、QF2F<sub>3</sub>-2の母本と父本

10

【0034】

表1から明らかなように  $\beta$ -コングリシニン欠失ダイズ(九系305)ならびにグリシニン欠失ダイズ(EnB1)の総遊離アミノ酸含量は栽培ダイズ(タチユタカ)より高いが、その差は小さく、最も多いグリシニン欠失ダイズ(EnB1)が栽培ダイズ(タチユタカ)の1.16倍程度であった。

20

【0035】

$\beta$ -コングリシニンおよびグリシニンの全てのサブユニットを遺伝的に欠失したQF2F<sub>3</sub>-1、QF2F<sub>3</sub>-2の子実中総遊離アミノ酸含量はそれぞれ、25.5、22.6mg/g、であり、栽培ダイズ(タチユタカ)の5倍以上であった。上記の実施例により、 $\beta$ -コングリシニンおよびグリシニンの全サブユニットを遺伝的に欠失する高遊離アミノ酸ダイズを作出する方法を検証できた。

【0036】

実施例2

30

次に、実施例1において実施した九系305( $\beta$ -コングリシニン欠失ダイズ)とEnB1(グリシニン欠失ダイズ)との交配組合せから作出可能な全ての系統、すなわち、 $\beta$ -コングリシニンならびにグリシニンのサブユニットの組成が異なる16種類系統を作出し、これらの系統のなかに  $\beta$ -コングリシニンならびにグリシニンのサブユニットの全てを遺伝的に欠失させて得られることのできる高遊離アミノ酸ダイズ(QF2)と同等のダイズが得られるかを検証した。即ち、実施例1で得られたF<sub>2</sub>集団から  $\beta$ -コングリシニンおよびグリシニンの全てのサブユニットを遺伝的に欠失するF<sub>2</sub>子実(QF2F<sub>2</sub>-1、QF2F<sub>2</sub>-2、QF2F<sub>2</sub>-3)を選抜した残りのF<sub>2</sub>子実集団を1999年12月に、加温ガラス室(熊本県西合志町 最低気温22℃、最高気温32℃)に調整、播種後1ヶ月間は毎日、蛍光灯照明を午後4時~午後9時、翌朝3時~8時の2回行い、18時間日長とする。以後、自然日長とする。)にて養成し、2000年3月にそのF<sub>3</sub>子実を得た。得られたF<sub>3</sub>子実についてSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動法において、表2に示した16種類の  $\beta$ -コングリシニンならびにグリシニンのサブユニットの組成が異なるダイズ、即ち、 $\beta$ -コングリシニンならびにグリシニンのサブユニットを全てを有するダイズF<sub>3</sub>子実、 $\beta$ -コングリシニンならびにグリシニンのサブユニットを部分的に遺伝的に欠失するダイズF<sub>3</sub>子実、 $\beta$ -コングリシニンならびにグリシニンのサブユニット全てを遺伝的に欠失するダイズF<sub>3</sub>子実をそれぞれ約10から20粒を得る。得られた16種類のダイズF<sub>3</sub>子実は、2000年7月から10月の期間(平均気温24.3℃、平均最高気温29.3℃、平均最低気温19.7℃、降水量453.0mm)、野外の一般圃場(熊本県西合志町 黒ボク火山灰土壌)において栽培する。各F<sub>3</sub>個体から得られるF<sub>4</sub>子実約15粒について  $\beta$ -コングリシニンならびにグリシニンのサブユニットの組成が親のF<sub>3</sub>個体と同じで、且つ固定し

40

50

ているF<sub>4</sub>子実のみを生産したF<sub>3</sub>個体を選抜することによって、表2に示すような -コングリシニンならびにグリシニンのサブユニットの組成が異なる16種類のF<sub>4</sub>系統を得た。それら16種類のF<sub>4</sub>系統の子実を粉砕され、それぞれ約500mgを精秤して、実施例1で示した同様の方法により遊離アミノ酸含量を分析し、その総量を算出する。その結果を表2に示す。

【0037】

【表2】

表2 ダイズ子実中の遊離アミノ酸分析結果-2

F <sub>4</sub> 系統		1	2	3	4	5	6	7	8
β-コングリシニンのサブユニット	α	+	+	+	+	+	+	+	+
	α'	+	+	+	+	+	+	+	+
	β	+	+	+	+	+	+	+	+
	I	A <sub>1a</sub> B <sub>2</sub> , A <sub>2</sub> B <sub>1a</sub> , A <sub>1b</sub> B <sub>1b</sub>	+	-	-	-	+	+	-
グリシニンのサブユニット	II a	A <sub>5</sub> A <sub>4</sub> B <sub>3</sub>	+	-	+	+	-	+	-
	II b	A <sub>3</sub> B <sub>4</sub>	+	-	-	+	+	-	-
遊離アミノ酸 mg/g DW	Asp	アスパラギン酸	0.388	0.456	0.465	0.365	0.270	0.260	0.369
	Glu	グルタミン酸	0.237	0.500	0.415	0.457	0.243	0.207	0.206
	Ser	セリン	0.021	0.021	0.028	0.025	0.021	0.024	0.015
	Asn	アスパラギン	0.107	0.152	1.245	0.344	0.402	0.397	0.035
	Gly	グリシン	0.013	0.018	0.024	0.018	0.016	0.015	0.010
	Gln	グルタミン	0.006	0.008	0.005	0.010	0.007	0.005	0.005
	His	ヒスチジン	0.072	0.165	0.236	0.127	0.066	0.086	0.018
	Thr	スレオニン	0.023	0.022	0.027	0.017	0.019	0.016	0.009
	Ala	アラニン	0.053	0.112	0.089	0.089	0.061	0.057	0.046
	Arg	アルギニン	0.266	0.183	0.462	0.542	0.281	0.317	0.101
	Pro	プロリン	0.027	0.041	0.040	0.038	0.032	0.035	0.033
	Tyr	チロシン	0.145	0.088	0.098	0.078	0.088	0.077	0.131
	Val	バリン	0.046	0.052	0.061	0.049	0.045	0.043	0.044
	Met	メチオニン	0.012	0.012	0.011	0.014	0.009	0.008	0.015
	Cys	システイン	0.002	0.002	0.002	0.002	0.002	0.002	0.002
	Ile	イソロイシン	0.014	0.022	0.020	0.021	0.017	0.014	0.019
	Leu	ロイシン	0.024	0.033	0.019	0.027	0.016	0.023	0.024
	Phe	フェニルアラニン	0.064	0.062	0.036	0.035	0.047	0.059	0.066
	Trp	トリプトファン	0.130	0.139	0.182	0.220	0.141	0.144	0.103
	Lys	リジン	0.022	0.026	0.027	0.024	0.025	0.024	0.024
合計			1.670	2.112	3.490	2.502	1.809	1.813	1.274

F <sub>4</sub> 系統		9	10	11	12	13	14	15	16
β-コングリシニンのサブユニット	α	-	-	-	-	-	-	-	-
	α'	-	-	-	-	-	-	-	-
	β	-	-	-	-	-	-	-	-
	I	A <sub>1a</sub> B <sub>2</sub> , A <sub>2</sub> B <sub>1a</sub> , A <sub>1b</sub> B <sub>1b</sub>	+	+	-	-	-	+	-
グリシニンのサブユニット	II a	A <sub>5</sub> A <sub>4</sub> B <sub>3</sub>	+	-	+	-	+	+	-
	II b	A <sub>3</sub> B <sub>4</sub>	+	-	-	+	+	-	-
遊離アミノ酸 mg/g DW	Asp	アスパラギン酸	0.420	0.751	0.549	1.106	0.650	0.582	0.706
	Glu	グルタミン酸	0.306	0.639	0.575	0.843	0.436	0.490	0.406
	Ser	セリン	0.021	0.054	0.049	0.087	0.031	0.050	0.035
	Asn	アスパラギン	0.153	1.325	0.915	2.929	0.528	1.218	1.267
	Gly	グリシン	0.012	0.024	0.074	0.051	0.020	0.025	0.022
	Gln	グルタミ	0.007	0.016	0.014	0.047	0.012	0.017	0.014
	His	ヒスチジン	0.051	0.405	0.278	0.699	0.109	0.439	0.232
	Thr	スレオニン	0.013	0.024	0.028	0.057	0.025	0.024	0.019
	Ala	アラニン	0.051	0.108	0.140	0.149	0.086	0.094	0.088
	Arg	アルギニン	0.253	1.965	1.656	3.800	0.586	1.678	2.000
	Pro	プロリン	0.029	0.033	0.055	0.044	0.043	0.038	0.024
	Tyr	チロシン	0.117	0.121	0.125	0.137	0.114	0.108	0.097
	Val	バリン	0.063	0.086	0.106	0.140	0.068	0.096	0.132
	Met	メチオニン	0.015	0.012	0.009	0.014	0.018	0.012	0.011
	Cys	システイン	0.001	0.004	0.003	0.002	0.004	0.002	0.002
	Ile	イソロイシン	0.021	0.024	0.032	0.029	0.027	0.027	0.025
	Leu	ロイシン	0.022	0.029	0.025	0.025	0.020	0.033	0.027
	Phe	フェニルアラニン	0.064	0.067	0.077	0.060	0.043	0.064	0.035
	Trp	トリプトファン	0.072	0.150	0.107	0.170	0.083	0.070	0.058
	Lys	リジン	0.027	0.036	0.059	0.057	0.027	0.039	0.037
合計			1.718	5.872	4.876	10.447	2.931	5.104	5.240

注)表中のF<sub>4</sub>系統はすべて九系305とEnB1の交雑から得られた系統

【0038】

表2からわかるように、 -コングリシニンおよびグリシニンの全てのサブユニットを有するF<sub>4</sub>系統 (No.1) の子実中の総遊離アミノ酸含量は、低レベルであった。また、ダイズ子実中の -コングリシニンおよびグリシニンのサブユニットいずれかを遺伝的に欠失させることがダイズ子実中の遊離アミノ酸含量を一定量増加させる効果のあることがわかる。さらに、 -コングリシニンのサブユニットの遺伝的欠失に加えグリシニンのいずれかのサブユニットを遺伝的に欠失させることがより効果的であり、特に -コングリシニ

ンおよびグリシニンの全サブユニットを遺伝的に欠失した $F_4$ 系統 (No.16) だけでなく、

-コングリシニンのサブユニットの遺伝的欠失に加えグリシニンのグループI ( $A_{1a}B_2$ 、 $A_{2B_{1a}}$ 、 $A_{1b}B_{1b}$ ) ならびにIIa ( $A_5A_4B_3$ ) を遺伝的に欠失する $F_4$ 系統 (No.12) が高遊離アミノ酸ダイズの特徴を有することが明らかとなった。遊離アミノ酸のうち、特に増加が顕著であった遊離アミノ酸はアルギニン、アスパラギン、ヒスチジン、およびグルタミンであった。

#### 【0039】

上記の実施例により、実施例1で検証した -コングリシニンならびにグリシニンの全サブユニットを遺伝的に欠失したダイズが高遊離アミノ酸ダイズであることが再度検証され、さらに、 -コングリシニンのサブユニットの全てを遺伝的に欠失させ、グリシニンのサブユニットのうちグループI ( $A_{1a}B_2$ 、 $A_{2B_{1a}}$ 、 $A_{1b}B_{1b}$ ) ならびにIIa ( $A_5A_4B_3$ ) を遺伝的に欠失するダイズ、すなわちグリシニンのサブユニットIIb ( $A_3B_4$ ) のみを有するダイズが高遊離アミノ酸ダイズであることが新たに判明した。

10

#### 【0040】

##### 実施例3

次に高遊離アミノ酸ダイズが遺伝的に安定して高い遊離アミノ酸を子実含有することを証明するために、以下の実験を行った。即ち、実施例1で得られた -コングリシニンおよびグリシニンの全てのサブユニットを遺伝的に欠失した3つの $QF2F_3$ 系統 ( $QF2F_3$ -1、 $QF2F_3$ -2、 $QF2F_3$ -3) を、 -コングリシニンおよびグリシニンのサブユニットを全て有する栽培ダイズ (フクユタカ、タチユタカ)、グリシニンサブユニット $A_5A_4B_3$  のみを遺伝的に欠失する栽培ダイズ (エンレイ)、交雑親に用いた -コングリシニン欠失ダイズ (九系305) ならびにグリシニン欠失ダイズ (EnB1) とともに野外の一般圃場 (熊本県西合志町 黒ボク火山灰土壌) に1999年から2001年までの3年間栽培し (1999年: 平均気温23.8、平均最高気温28.7、平均最低気温19.5、降水量811.5mm、2000年: 平均気温24.3、平均最高気温29.3、平均最低気温19.7、降水量453.0mm、2001年: 平均気温24.1、平均最高気温29.2、平均最低気温19.4、降水量682.5mm)、 -コングリシニンおよびグリシニンの全サブユニットの欠失系統の世代を進めることによって農業特性の遺伝的固定を図った。これによって、 -コングリシニンおよびグリシニンの全サブユニットを遺伝的に欠失した $F_6$ 系統 ( $QF2F_6$ -1、 $QF2F_6$ -2、 $QF2F_6$ -3) の子実ならびに比較対照の品種・系統 (フクユタカ、タチユタカ、エンレイ、九系305、En-B1) の子実を得る。

20

30

#### 【0041】

それぞれのダイズの粉碎子実を用いた以外は上記実施例1と同様にして得られる遊離アミノ酸抽出液のアミノ酸含量を測定し、総遊離アミノ酸含量を算出する。結果を表3に示す。

#### 【0042】

【表 3】

表3 ダイズ子実中の遊離アミノ酸分析結果-3										
品種・系統名	フクユタカ	タチユタカ	エンレイ	九系305	EnB1	QF2F <sub>6</sub> -1	QF2F <sub>6</sub> -2	QF2F <sub>6</sub> -3		
β-コングリシニンのサブユニット										
α'	+	+	+	-	+	-	-	-		
β	+	+	+	-	+	-	-	-		
グリシニンのサブユニット										
I A <sub>1a</sub> B <sub>2</sub> , A <sub>2</sub> B <sub>1a</sub> , A <sub>1b</sub> B <sub>1</sub>	+	+	+	+	-	-	-	-		
IIa A <sub>5</sub> A <sub>4</sub> B <sub>3</sub>	+	+	-	+	-	-	-	-		
IIb A <sub>3</sub> B <sub>4</sub>	+	+	+	+	-	-	-	-		
遊離アミノ酸 (mg/g seed)										
Asp アスパラギン酸	0.297	0.293	0.294	0.521	0.282	0.824	1.055	1.022		
Glu グルタミン酸	0.238	0.400	0.389	0.253	0.331	0.790	1.030	1.264		
Ser セリン	0.024	0.025	0.049	0.021	0.015	0.055	0.064	0.107		
Asn アスパラギン	0.056	0.111	0.428	0.060	0.213	1.048	2.301	1.872		
Gly グリシン	0.015	0.023	0.038	0.014	0.022	0.031	0.033	0.052		
Gln グルタミン	0.007	0.005	0.004	0.003	0.003	0.040	0.054	0.121		
His ヒスチジン	0.024	0.068	0.172	0.018	0.091	0.261	0.331	0.413		
Thr スレオニン	0.024	0.021	0.026	0.016	0.013	0.026	0.037	0.042		
Ala アラニン	0.054	0.087	0.152	0.060	0.104	0.204	0.286	0.407		
Arg アルギニン	0.116	0.354	0.229	0.163	0.520	4.243	3.817	4.773		
Pro プロリン	0.039	0.062	0.060	0.033	0.053	0.046	0.054	0.086		
Tyr チロシン	0.094	0.099	0.097	0.078	0.098	0.120	0.132	0.175		
Val バリン	0.038	0.048	0.055	0.040	0.044	0.061	0.099	0.064		
Met メチオニン	0.038	0.051	0.059	0.036	0.039	0.033	0.035	0.024		
Cys システイン	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.000	0.000		
Ile イソロイシン	0.022	0.029	0.031	0.022	0.024	0.039	0.058	0.040		
Leu ロイシン	0.023	0.030	0.043	0.025	0.024	0.029	0.038	0.038		
Phe フェニルアラニン	0.055	0.061	0.059	0.049	0.068	0.062	0.079	0.090		
Trp トリプトファン	0.188	0.238	0.230	0.096	0.197	0.068	0.105	0.160		
Lys リジン	0.023	0.026	0.020	0.020	0.026	0.041	0.045	0.092		
合計	1.377	2.033	2.437	1.530	2.167	8.022	9.655	10.784		

注1) フクユタカ、タチユタカ、エンレイは栽培ダイズ

注2) 九系305ならびにEnB1はQF2F<sub>6</sub>-1、QF2F<sub>6</sub>-2、QF2F<sub>6</sub>-3の母本と父本

【 0 0 4 3 】

表3から明らかなように栽培ダイズ（フクユタカ、タチユタカ、エンレイ）の総遊離アミノ酸含量は1.38～2.44mg/gの範囲内でさまざまであるが、最も総遊離アミノ酸含量が高

10

20

30

40

50

いエンレイ（グリシニンサブユニット $A_5A_4B_3$ を欠失）では、特にアスパラギン、ヒスチジンの含量が高い。これに対して、交雑親である九系305とEnB1ではそれぞれ1.53、2.17mg/gと総含量では栽培ダイズと大差がないが、EnB1のアルギニン含量は栽培ダイズより高い。

#### 【0044】

一般圃場で栽培したダイズQF2F<sub>6</sub>-1、QF2F<sub>6</sub>-2、QF2F<sub>6</sub>-3の総遊離アミノ酸含量は8.02～10.78mg/gで、ガラス室内で栽培して得られたQF2F<sub>3</sub>子実（表1）の半分以上となったが、同じ条件で栽培された栽培ダイズ（フクユタカ、タチユタカ、エンレイ）、交雑親（九系305、EnB1）より明らかに高い。特に増加が顕著であった遊離アミノ酸はアルギニン、アスパラギン、ヒスチジン、およびグルタミンであり、実施例2で検証した高遊離アミノ酸ダイズにおいて認められたアミノ酸の増加と一致している。

10

#### 【0045】

以上要するに、 $\gamma$ -コングリシニンならびにグリシニンの主要サブユニットを欠失させたF<sub>3</sub>子実（実施例1参照）、F<sub>6</sub>子実（実施例3）とともに栽培ダイズの少なくとも2倍または約3～5倍以上の遊離アミノ酸を含有しており、高遊離アミノ酸という特性が遺伝的に安定して維持されることが明らかとなり、 $\gamma$ -コングリシニン欠失性とグリシニンの各サブユニットの欠失性を全て組み合わせる手法が、高遊離アミノ酸含量のダイズを作出することに有効な手法であることが検証できる。

#### 【0046】

##### 実施例4

20

次に、本発明の高遊離アミノ酸ダイズが異なる分析方法においても、高濃度に遊離アミノ酸を子実に含まれることを検証した。 $\gamma$ -コングリシニンおよびグリシニンの全てのサブユニットを遺伝的に欠失したQF2F<sub>6</sub>-4の子実を加温ガラス室内（広島県福山市 平均気温25℃に調整、自然日長）のポット（培養土と腐植土を2：1に混合して充填）に2002年12月に播種し、子実を2003年3月に得る。この子実を粉碎しその約250mgを精秤して、遊離アミノ酸の定量に用いる。なお、比較のため、 $\gamma$ -コングリシニンならびにグリシニンを構成するサブユニットを全て有する栽培ダイズ（Jack）をQF2F<sub>6</sub>-4と同じ条件で栽培し子実を得る。この比較子実も粉碎し、約250mgを精秤して、遊離アミノ酸の定量に用いる。

#### 【0047】

遊離アミノ酸の定量のために、上記の精秤した粉碎子実250mgに8%TCA（トリクロロ酢酸）を含む50mMリン酸カリウム緩衝液（pH5.6）を2ml加え、常温にて1時間攪拌後、10,000gで10分間遠心分離し、上清を得る。上清は0.45mmのフィルターで濾過し、そのうち10mlを日立L-8500型高速アミノ酸分析計で分析を行い、その総和を総遊離アミノ酸含量として算出する。結果を表4に示す。

30

#### 【0048】

【表 4】

表4 ダイズ子実中の遊離アミノ酸分析結果-4

品種・系統名			Jack	QF2F6-4
$\beta$ -コングリシニンのサブユニット $\alpha$			+	—
$\alpha'$			+	—
$\beta$			+	—
グリシニンのサブユニット	I	A <sub>1a</sub> B <sub>2</sub> , A <sub>2</sub> B <sub>1a</sub> , A <sub>1b</sub> B <sub>1b</sub>	+	—
	II a	A <sub>5</sub> A <sub>4</sub> B <sub>3</sub>	+	—
	II b	A <sub>3</sub> B <sub>4</sub>	+	—
遊離アミノ酸 (mg/g seed)	Asp	アスパラギン酸	0.385	1.512
	Glu	グルタミン酸	0.295	0.959
	Ser	セリン	0.015	0.021
	Asn	アスパラギン	0.112	2.885
	Gly	グリシン	0.111	0.236
	Gln	グルタミン	ND	0.144
	His	ヒスチジン	0.226	0.516
	Thr	スレオニン	0.017	0.046
	Ala	アラニン	0.044	0.103
	Arg	アルギニン	0.486	28.385
	Pro	プロリン	0.015	0.022
	Tyr	チロシン	0.007	0.017
	Val	バリン	0.028	0.071
	Met	メチオニン	0.008	0.015
	Cys	システイン	0.037	0.077
	Ile	イソロイシン	0.014	0.044
	Leu	ロイシン	0.019	0.061
	Phe	フェニルアラニン	0.017	0.016
	Trp	トリプトファン	0.141	0.040
	Lys	リジン	0.051	0.170
	合計		2.028	35.340

注1) Jackは栽培ダイズ

## 【0049】

表4の  $\beta$ -コングリシニンならびにグリシニンを構成するサブユニットを全て有する栽培ダイズ (Jack) の子実中の総遊離アミノ酸含量は2.03mg/gであり、分析方法が異なる表3の栽培ダイズ (フクユタカ、タチユタカ、エンレイ) や交雑親 (九系305、EnB1) と同程度であるが、 $\beta$ -コングリシニンおよびグリシニンの全てのサブユニットを遺伝的に欠失したQF2F<sub>6</sub>-4の子実中総遊離アミノ酸含量は35.3mg/gであり、表3のQF2F<sub>6</sub>-1、QF2F<sub>6</sub>-2、QF2F<sub>6</sub>-3の総遊離アミノ酸含量の3倍以上含有していた。また、QF2F<sub>6</sub>-4と同一条件下で栽培された栽培ダイズ (Jack) と比較すると17倍以上であった。また、増加が顕著であった遊離アミノ酸はアルギニン、アスパラギン、ヒスチジン、およびグルタミンであり、実施例2、3で検証した高遊離アミノ酸ダイズで認められたアミノ酸の増加と一致している。特にアルギニンは栽培ダイズ (Jack) の58倍以上含まれていた。

## 【0050】

以上を要約するに、2種の異なるアミノ酸の測定法 (実施例3および4) においても栽培ダイズの総遊離アミノ酸含量はほぼ同等であるが、 $\beta$ -コングリシニンならびにグリシニンの全サブユニットを遺伝的に欠失したダイズの子実には遊離アミノ酸が栽培ダイズの約3~17倍含有されており、異なるアミノ酸分析法でも高遊離アミノ酸という特性が維持されることが明らかとなり、 $\beta$ -コングリシニン欠失性とグリシニンの各サブユニットの欠失性を全て組み合わせる手法が、高遊離アミノ酸含量のダイズを作出することに有効な手法であることが検証できる。

## 【0051】

## 実施例5

高遊離アミノ酸ダイズを作出するためには  $\beta$ -コングリシニンのサブユニットの全てを

遺伝的に欠失させることが重要であることを、 $\alpha$ -コングリシニンのサブユニットのうち、 $\alpha$ -サブユニットを遺伝的に欠失しさらに $\beta$ -サブユニットを低減することで、 $\alpha$ -コングリシニンのほとんどを遺伝的に欠失する栽培ダイズ（以後、 $\alpha$ -コングリシニン不完全欠失ダイズと呼ぶ）を九系305（ $\alpha$ -コングリシニンサブユニット完全欠失ダイズ）の代わりに交雑親として使用して検証する。即ち、 $\alpha$ -コングリシニン不完全欠失ダイズであるゆめみのりをグリシニンの全サブユニットを遺伝的に欠失するEnB1と交雑し、その後代から $\alpha$ -コングリシニン不完全欠失・グリシニン欠失ダイズ（以後、TF2と呼ぶ）を得、その遊離アミノ酸含量を実施例1と同様に測定する。

#### 【0052】

本実施例は実施例1および3で示した実施例と同時に同条件で実施する。即ち、 $\alpha$ -コングリシニン不完全欠失ダイズ（ゆめみのり）とグリシニン欠失ダイズ（EnB1）を1997年12月から1998年3月の期間、加温ガラス室内のポット栽培にて養成後、交雑し、 $F_1$ 子実を得る。次に $F_1$ 子実を1998年7月に一般圃場に播種し、発芽した $F_1$ 個体が成熟する1998年10月上旬まで養成し $F_2$ 子実を得る。得られた $F_2$ 子実は子葉部分（約10mg）を削り取り、 $\alpha$ -コングリシニンおよびグリシニンの各サブユニットグループの有無をKitamura et al.の方法（1984）に準じSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動法により判定する。これによってグリシニンの全てのサブユニットを遺伝的に欠失し、かつ $\alpha$ -コングリシニンのサブユニットのうち、 $\alpha$ -サブユニットを遺伝的に欠失し $\beta$ -サブユニットを低減したTF2を選抜する。さらに、この $F_2$ 子実を加温ガラス室内のポットに1998年12月に播種し、発芽した $F_2$ 個体を養成後、 $F_3$ 子実を1999年3月に得る。これらの $F_3$ 子実について、得られた約10粒を用いて $\alpha$ -コングリシニンおよびグリシニンの各サブユニットの有無をSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動法により再度判定する。これによって、グリシニンの全てのサブユニットを遺伝的に欠失し、かつ $\alpha$ -コングリシニンのサブユニットのうち、 $\alpha$ -サブユニットを遺伝的に欠失し $\beta$ -サブユニットを低減した $\alpha$ -コングリシニン不完全欠失・グリシニン欠失系統を選抜する。この選抜した $\alpha$ -コングリシニン不完全欠失・グリシニン欠失系統は、 $\alpha$ -コングリシニン不完全欠失品種ゆめみのりとともに、上記実施例2で示したと同じ条件で1999年から2001年の3年間一般圃場で栽培し、それらの子実を得る。

#### 【0053】

上記選抜したTF2 $F_6$ -1系統ならびに $\alpha$ -コングリシニン不完全欠失品種ゆめみのりから得た粉碎子実を用いて、上記実施例1と同様の方法により総遊離アミノ酸含量を算出する。結果を表5に示す。

#### 【0054】

【表 5】

表5 ダイズ子実中の遊離アミノ酸分析結果-5

品種・系統名			ゆめみのり	TF2F <sub>6</sub> -1
β-コングリシニンのサブユニット	α		—	—
	α'		—	—
	β 低減		+	+
グリシニンのサブユニット	I		+	—
	II a		+	—
	II b		+	—
遊離アミノ酸 (mg/g seed)	Asp	アスパラギン酸	0.257	0.334
	Glu	グルタミン酸	0.480	0.660
	Ser	セリン	0.030	0.022
	Asn	アスパラギン	0.146	0.359
	Gly	グリシン	0.026	0.025
	Gln	グルタミン	0.011	0.006
	His	ヒスチジン	0.056	0.107
	Thr	スレオニン	0.021	0.019
	Ala	アラニン	0.091	0.155
	Arg	アルギニン	0.393	1.150
	Pro	プロリン	0.053	0.061
	Tyr	チロシン	0.095	0.112
	Val	バリン	0.047	0.055
	Met	メチオニン	0.056	0.035
	Cys	システイン	0.001	0.000
	Ile	イソロイシン	0.025	0.029
	Leu	ロイシン	0.028	0.029
	Phe	フェニルアラニン	0.063	0.075
	Trp	トリプトファン	0.162	0.152
	Lys	リジン	0.030	0.028
	合計		2.071	3.411

注1) ゆめみのりは栽培ダイズであり、TF2F<sub>6</sub>-1の母本。TF2F<sub>6</sub>-1の父本はEnB1

注2) ゆめみのりとTF2F<sub>6</sub>-1の子実の生産条件は表3と同じ。

## 【0055】

表5から明らかなように、β-コングリシニン不完全欠失品種ゆめみのりの総遊離アミノ酸含量は2.07mg/gで、同じ条件で栽培した栽培ダイズ(表3)と大差ないが、グルタミン酸、アルギニン含量がやや高い。

## 【0056】

また、TF2F<sub>6</sub>-1系統の総遊離アミノ酸含量は、同じ条件で栽培した栽培ダイズ(表3)に比べやや高いが、実施例3で得た3つの系統(QF2F<sub>6</sub>-1、QF2F<sub>6</sub>-2、QF2F<sub>6</sub>-3)に比べると(表3参照)、その増加量は明らかに少ない。

## 【0057】

上記の実施例により、グリシニンの全サブユニットを遺伝的に欠失させ、さらにβ-コングリシニンのほとんどを遺伝的に欠失させるが、β-コングリシニンサブユニットの一部を含有すれば、高遊離アミノ酸含量ダイズとはならないことが検証できる。

## 【0058】

## 実施例6

次に上述の実施例1、2、3で示したβ-コングリシニンの各サブユニットを遺伝的に欠失した九系305とグリシニンの各サブユニットを遺伝的に欠失したEnB1との交配組合せ以外においても、β-コングリシニンおよびグリシニンの全サブユニットを遺伝的に欠失するダイズを作出できることを検証する。すなわち、上述、実施例3で得られたβ-コングリシニンおよびグリシニンの全サブユニットを遺伝的に欠失するダイズQF2F<sub>3</sub>-1と、β-コングリシニンおよびグリシニンの全サブユニットを有する栽培ダイズであるフクユタカとを交雑することによっても、β-コングリシニンおよびグリシニンの全サブユニットを



遺伝的に欠失するダイズを作出できることを実証する。

【 0 0 5 9 】

QF2F<sub>3</sub>-1の子実ならびにフクユタカの子実を2001年2月に加温ガラス室（熊本県西合志町 最低気温22℃、最高気温32℃に調整、播種後1ヶ月間は毎日、蛍光灯照明を午後4時～午後9時、翌朝3時～8時の2回行い、18時間日長とする。以後、自然日長とする。）内のポット（黒ボク火山灰土壌を充填）に、播種し、約40～45日間養成後交雑し、2001年5月にそのF<sub>1</sub>子実を15粒得る。得られたF<sub>1</sub>子実15粒は2001年7月に一般圃場（熊本県西合志町 黒ボク火山灰土壌）に播種し、2001年10月にF<sub>2</sub>子実を得る（平均気温24.1℃、平均最高気温29.2℃、平均最低気温19.4℃、降水量682.5mm）。これらF<sub>2</sub>子実中のうち、405粒の-コングリシニンならびにグリシニンの各サブユニットの有無について、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動法にて測定したところ、-コングリシニンおよびグリシニンの全サブユニットを遺伝的に欠失するF<sub>2</sub>子実を4粒選抜することができた。このことより、-コングリシニンおよびグリシニンの全サブユニットを遺伝的に欠失するダイズと、-コングリシニンおよびグリシニンの全サブユニットを有するダイズとを交雑することによっても、-コングリシニンおよびグリシニンの全サブユニットを遺伝的に欠失するダイズを作出できることがわかった。

10

【 0 0 6 0 】

実施例 7

さらに、本発明の高遊離アミノ酸ダイズが野外の一般圃場においても正常に生育し、正常な子実を生産でき、事実上支障のないこと検証する。先述の実施例で2001年に野外の一般圃場に栽培した3系統（QF2F<sub>5</sub>-1、QF2F<sub>5</sub>-2、QF2F<sub>5</sub>-3）、および栽培ダイズ（フクユタカ、エンレイ、タチユタカ）、および上記系統の交配親である-コングリシニン欠失ダイズ（九系305）、グリシニン欠失ダイズ（EnB1）について調べる。

20

【 0 0 6 1 】

上記のそれぞれの系統を、野外の一般圃場で栽培した個体のうち、半数以上が開花始めとなった日を開花期とし、さらに80%以上が成熟に達した日を成熟期として判定する。成熟期には20株を抜き取り、主茎長、主茎節数、分枝数、百粒重、子実重について種苗特性分類調査報告書（日本特産農作物種苗協会 1995年3月）の記載にしたがって測定する。その結果を表6に示す。

【 0 0 6 2 】

30

【表 6】

表6 高遊離アミノ酸大豆の基本農業特性											
品種・系統名	フクユタカ		タチユタカ		エンレイ		九系305		EnB1		QF2F <sub>5</sub> -3
	β-コングリシニンの有無		β-コングリシニンの有無		β-コングリシニンの有無		β-コングリシニンの有無		β-コングリシニンの有無		β-コングリシニンの有無
開花期	8月18日	8月12日	8月10日	8月10日	8月18日	8月18日	8月18日	8月18日	8月11日	8月11日	8月14日
成熟期	10月31日	10月18日	10月15日	10月15日	10月31日	10月31日	10月31日	10月31日	10月15日	10月15日	10月22日
主茎長	58.0	37.7	38.7	38.7	58.1	58.1	58.1	58.1	41.1	41.1	39.0
主茎節数	15.6	13.1	11.8	11.8	16.1	16.1	16.1	16.1	13.1	13.1	14.0
分枝数	3.9	3.7	3.9	3.9	4.8	4.8	4.8	4.8	3.6	3.6	3.6
15%百粒重	32.2	30.2	36.1	36.1	31.2	31.2	31.2	31.2	20.1	20.1	22.9
子実重kg/a	40.9	35.4	30.3	30.3	43.0	43.0	43.0	43.0	30.4	30.4	31.3

注1) フクユタカ、タチユタカ、エンレイは栽培ダイズ

注2) エンレイはグリシニンのうち、グループIIaを欠失している。

注3) 表3の子実を生産した植物体を調査している。

## 【0063】

表6から明らかなようにQF2F<sub>5</sub>-1の開花期ならびに成熟期はEnB1とほぼ同じで、一方の交雑親である九系305よりかなり早い。これに対して、QF2F<sub>5</sub>-2、QF2F<sub>5</sub>-3の開花期ならびに成熟期はやや遅く、EnB1と九系305の中間的な期日となった。栄養生長に関する特性のうち主茎長については、いずれの高遊離アミノ酸系統とも交雑親に比べ低い、主茎節数

10

20

30

40

50

についてはQF2F<sub>5</sub>-3がEnB1よりやや多く、分枝数についてはいずれの高遊離アミノ酸系統とも九系305より少ないものの、EnB1とほぼ同じがやや多かった。栽培ダイズとの比較では、主茎長を除き、開花期、成熟期が近かったエンレイ、タチユタカに大きく劣るものではない。

【0064】

子実の大きさを表す百粒重は、QF2F<sub>5</sub>-1、QF2F<sub>5</sub>-2、QF2F<sub>5</sub>-3とも九系305に比べ小さいが、EnB1に比べるとQF2F<sub>5</sub>-2、QF2F<sub>5</sub>-3はやや大きい。子実重についても、QF2F<sub>5</sub>-1、QF2F<sub>5</sub>-2、QF2F<sub>5</sub>-3とも九系305に比べると明らかに少ないが、EnB1とは大きな差はなかった。栽培ダイズとの比較では、開花期、成熟期が近かったエンレイとタチユタカの中間的な値をとった。さらに、子実重が最も高かったQF2F<sub>5</sub>-3から得られるQF2F<sub>6</sub>-3子実の総遊離アミノ酸

10

【0065】

以上より、QF2F<sub>5</sub>-1、QF2F<sub>5</sub>-2、QF2F<sub>5</sub>-3の3つの系統とも、その一般農業特性は、開花期、成熟期が近かった栽培ダイズに比べ大きく劣るものではなく、農業的利用性には差し支えないダイズ系統であるといえる。

【0066】

実施例8

以下、実施例により本発明のダイズを原料に用いることによって総遊離アミノ酸、またはある種の遊離アミノ酸含量の高いダイズ加工食品が得られることを例示する。しかしながら、本発明の範囲はかかる実施例に制限されるものではない。

20

【0067】

豆乳の作成方法を以下に説明する。高遊離アミノ酸含有ダイズQF2（ - コンググリシンおよびグリシニンの全サブユニットを欠失するダイズ）と栽培ダイズ（フクユタカ）の2種類のダイズ各50g（乾物重あたり）を蒸留水200ml中に25℃で16時間浸漬し、浸漬したダイズに蒸留水を加え合わせて合計350gし、磨砕（6,000rpm、1分）してこれを得、更に加熱（100℃、5分）した後、遠心分離器を用いて濾過（3,000rpm、90秒）し、おからを除き豆乳を得、氷水を用いて豆乳を常温にまで冷却した。

【0068】

このようにして得られた豆乳をアミノ酸分析計（日立製作所 Hitachi L-8800形高速アミノ酸分析計）を用いて遊離アミノ酸含量を測定した。各試料200μl程度に8%TCA（トリクロロ酢酸）を含む50mMリン酸ナトリウム緩衝液（pH5.6）を1,600μl加え、1時間攪拌後、遠心（15,000rpm、10分）し上清を得る。上清を0.45mmのフィルターで濾過したものを遊離アミノ酸分析の試料として用いた。分析結果は豆乳1g中のアミノ酸含量（mg）で表した。その結果を表7に示す。高遊離アミノ酸含有ダイズを原料に用いた豆乳では総遊離アミノ酸含量が栽培ダイズに比べ5倍以上含まれていた。その中で、アルギニンが栽培ダイズに比べ18倍以上多く含まれているほか、アスパラギン酸、アスパラギン、アラニン、ヒスチジンで栽培ダイズを原料とした豆乳に比べ多く含まれていた。

30

【0069】

40

【表 7】

表7 豆乳中の遊離アミノ酸含量

品種・系統名			QF2	フクユタカ
β-コングリシニン	サブユニット	α	—	+
		α'	—	+
		β	—	+
グリシニンサブユニット	I	A1aB2,A2B1a,A1bB1b	—	+
	II a	A5A4B3	—	+
	II b	A3B4	—	+
遊離アミノ酸 mg/gFw	Asp	Aspartic acid	0.149	0.041
	Glu	Glutamic acid	0.120	0.073
	Ser	Serine	0.031	0.033
	Asn	Asparagine	0.078	0.013
	Gly	Glycine	0.023	0.031
	Gln	Glutamine	0.011	0.009
	His	Histidine	0.252	0.042
	Thr	Threonine	nd	nd
	Ala	Alanine	0.238	0.092
	Arg	Arginine	5.020	0.272
	Pro	Proline	nd	nd
	Tyr	Tyrosine	0.091	0.039
	Val	Valine	0.041	0.039
	Met	Methionine	0.020	0.022
	Cys	Cysteine	0.129	0.153
	Ile	Isoleucine	0.059	0.031
	Leu	Leucine	0.049	0.039
	Phe	Phenylalanine	0.084	0.045
	Trp	Tryptophan	0.043	0.131
	Lys	Lysine	0.079	0.061
	total		6.517	1.166

注)nd:検出せず

## 【 0 0 7 0 】

## 引用文献

Nielsen,N.C., Dickinson, C. D., Cho,T.-J Thanh, V.H., Scallion,B.J., Fischeer,R .L., Sims,T. L., Drews, G. N. and Goldberg. 1989. Characterization of the glycin in gene family in soybean. Plant Cell. 1:313-328.

Ogawa,T. Tayama, E., Kitamura, K. and Kaizuma, N. 1989. Genetic improvement of seed storage proteins using three variant, alleles of 7S goblin subunits in soy bean (Glycine max L.) Jpn. J. Breed. 39:137-147.

Yagasaki, K., Kaizuma, K. and Kitamura, K. 1996. Inheritance of glycinin molecules lacking the subunits in soybean (Glycine max (L.) Merr.). Breed. Sci. 46:11-15.

Yagasaki, K., Kousaka, F. and Kitamura, K. 2000. Potential improvement of soym ilk gelation properties by using soybeans with modified protein subunit compositions. Breed. Sci. 50: 101-107.

Hajika, M., Takahashi, M., Sakai, S. and Igita, K. 1996. A new genotype of a 7 S globulin (\_\_\_-conglycinin) detected in wild soybean (Glycine soja Sieb. et.Zucc .).Jpn J. Breed . 46:385-386.

Hajika, M., Takahashi, M., Sakai, S. and Matsunaga., R. 1998. Dominant inheritance of a trait lacking \_\_\_-conglycinin detected in a wild soybean line. Breed. Sci. 48:383-386.

Takahashi, M., Hajika, M., Matsunaga, R. Komatsu, K., Obata, A. and Kanegai, R .2000. Breeding of soybean variety lacking \_\_\_-conglycinin by the introduction of

10

20

30

40

50

Scg gene from wild soybean. Proceedings of the Third International Soybean Processing and Utilization Conference. P45-46.

植松芳彦・羽鹿牧太・高橋将一・矢ヶ崎和弘・寺石政義・丹波勝・石本政男. 1999. ダイズ7S及び11S グロブリン欠失系統における蛋白質含量と組成. 育種学研究1(別1): 154

Kitamura, K. 1984. Biochemical characterization of lipoxygenase lacking mutant, L-1 less, L-2 less and L-3 less soybean. Agric.Biol. Chem. 48: 2339-2346.

Park, K.G.M., Hays, P.D., Garlick, P.J., Swell, H., and Eremin, O. 1991. Stimulation of lymphocyte natural cytotoxicity by L-arginine. The Lancet 337: 645-646

10

Kirk S.J., Hurson M., Regan M.C. 1993. Arginine stimulates wound healing and immune function in elderly human beings. Surgery 114:155-60.

Kreider R.B., Miriel V., and Bertun. E. 1993. Amino acid supplementation and exercise performance: proposed ergogenic value. Sports Medicine 16: 190-209.

Rennie, M. J. 1996. Glutamine metabolism and transport in skeletal muscle and heart and their clinical relevance. Journal of Nutrition 126(4): 1142-1149.

Newsholme, E.A. and Calder P.C. 1997. The proposed role of glutamine in some cells of the immune system and speculative consequences for the whole animal. Nutrition 13: 728-730.

---

フロントページの続き

- (72)発明者 石本 政男  
広島県福山市西深津町 6 - 1 1 - 5 - 4 0 3
- (72)発明者 羽鹿 牧太  
茨城県つくば市並木 4 - 9 3 1 - 1 0 3
- (72)発明者 松永 亮一  
茨城県つくば市吾妻 4 丁目 5 - 1 2 0 3 棟 1 0 5 号
- (72)発明者 小松 邦彦  
熊本県菊池郡西合志町大字須屋 2 3 9 1 - 2 農試宿舎 R C - E 棟 5 0 2 号
- (72)発明者 喜多村 啓介  
北海道札幌市西区八軒三条西 3 丁目 5 - 6 0 3 - 3 1
- (72)発明者 矢ヶ崎 和弘  
長野県松本市井川城 3 - 3 - 2 4

審査官 長井 啓子

- (56)参考文献 特開 2 0 0 1 - 2 4 5 6 2 1 ( J P , A )  
育種学研究 , Vol.1(別1), p.154 (1999)

- (58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)  
A 0 1 H 5 / 0 0  
B I O S I S / M E D L I N E / W P I D S ( S T N )  
J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 ( J D r e a m I I )