

大豆種子中のたん白質含量を制御する遺伝子の同定および機能解析

吉川貴徳^{*1}・内海 成²・福田貴子²・奥本 裕¹・佐山貴司¹・谷坂隆俊¹

¹京都大学大学院農学研究科育種学研究室 ²京都大学大学院農学研究科品質設計開発学研究室

Identification of Genes Controlling the Contents of Seed Storage Proteins in Soybean

Takanori YOSHIKAWA¹, Sigeru UTSUMI², Takako FUKUDA², Yuu OKUMOTO¹,
Takashi SAYAMA¹ and Takatoshi TANISAKA¹

¹Graduate School of Agriculture, Plant Breeding, Kyoto University,

²Graduate School of Agriculture, Food Quality Design and Development,
Kyoto University, Kyoto 606-8502

ABSTRACT

96 recombinant inbred lines (RILs), which were derived from the cross of two soybean varieties, Peking and Tamahomare, were planted along with their parents in three locations, Kyoto, Osaka and Nagano. QTL (quantitative trait locus) analysis using SSR (simple sequence repeat) markers suggested that one QTL named *qPro1* on linkage group I (LG I) simultaneously governed α - and α' -subunit content in all the locations: the Tamahomare-type allele at *qPro1* increased α -subunit content and decreased α' -subunit content, whereas the Peking-type allele decreased α -subunit and increased α' -subunit content. The mean value of α -subunit content of the RILs carrying the Peking-type allele in the homozygous state at *qPro1* was almost equal to the value of Peking, whereas that of RILs carrying the Tamahomare-type allele was equivalent with the value of Tamahomare. Thus it was found that α -subunit content is chiefly governed by *qPro1*. Two QTLs controlling both of β -conglycinin and glycinin content were detected on linkage group I (*qPro1*) and O (*qPro7*), and the Tamahomare-type alleles at these two loci increased β -conglycinin content and decreased glycinin content. For total protein content, two QTLs were detected on linkage group A2 (*qPro8*) and C2 (*qPro5*) in Osaka and Nagano. In these two QTL regions, many QTLs for β -conglycinin and/or glycinin contents were detected. These results indicate that two types of genetic factors regulate the contents of soybean seed storage proteins: one (*qPro5* and *qPro8*) increases the contents of seed

*〒606-8502 京都市左京区北白川追分町

protein(s), and the other (*qPro1* and *qPro7*) determines their ratios. *Soy Protein Research, Japan* **11**, 32-39, 2008.

Key words : soybean, seed storage protein, QTL, *qPro*, recombinant inbred line

大豆の種子貯蔵たん白質の主要成分である7Sグロブリンと11Sグロブリンは、そのほとんどがそれぞれ β コングリシニンおよびグリシニンによって占められており^{1,2)}、グリシニンは β コングリシニンに比べて含硫アミノ酸が豊富な上に、優れたゲル・皮膜特性をもつことが知られている³⁾。また、 β コングリシニンには、 α' 、 α および β サブユニット（以下、sub）があり、 α -subは大豆の3大アレルゲンの一つである⁴⁾。このため、グリシニン/ β コングリシニン比の高い大豆品種および α -sub欠失大豆品種の開発が望まれている。sub含量を支配する遺伝機構の一つとして、 β コングリシニンの3 sub遺伝子が種子登熟期間の中後期に組織特異的に発現する^{5~8)}ことが知られているが、sub含量育種に資する知見はほとんど得られていない。

本研究では、sub含量の遺伝的制御機構の解明を目的として、大豆品種Pekingとタマホマレの交雑に由来する組換え自殖系統（以下、PT-RILs）を用いて、 β コングリシニンの α' 、 α および β -sub含量、さらに β コングリシニン含量、グリシニン含量および総たん白質含量に関するQTL（quantitative trait loci）解析を行った。

材料および方法

植物材料およびたん白質含量の測定

PT-RILs 96系統および両親品種を京都大学附属農場（京都）、同高槻農場（大阪）、長野県中信農業試験場（長野）で栽培した。各系統1個体から得られた種子（F₉世代）のうち、約5gをミルで粉碎し、得られた大豆粉末100 mgにSDS-Ureaバッファー（SDS；2%，Urea；6 M，2-メルカプトエタノール；10 mM, p-APMSF；0.1 mM, Leupeptin；1.2 μ M, Pepstatin A；0.2 μ M）1 mLを加え、室温で1時間攪拌し、遠心分離（20,000 \times g, 15分）を行った。得られた上澄み（粗抽出液）を回収し、BCA Protein Assay Reagent Kit（PIERCE）を用いて総たん白質含量を定量した。また、粗抽出液をSDS化した後にSDS-PAGEを行い、バンドの濃度からImage Master 1D Elite ver. 3.0 densitometric analysis program (GE Healthcare Bioscience) を用いて各たん白質およびsubの濃度を計算した。

QTL解析

PT-RILに関して構築した344のSSR（simple sequence repeat）マークーからなる連鎖地図を用いて、composite interval mapping (CIM) 法によりLOD値が2.0以上の領域をQTL領域とした。なお、QTL解析にはQTL Cartographer ver. 2.5を用いた。

結果と考察

Pekingはタマホマレと比べて高い α' -sub含量、低い α -sub含量、高い総たん白質含量を示した（データ省略）。両品種は β -sub含量および β コングリシニン含量に差異がないことから、Pekingとタマホマレの総たん白質含量の差異は主にグリシニン含量の差異で説明された。PT-RILsでは、 α -sub含量に関する系統値が明らかな二項分布を示し、 α -sub含量は効果の強い因子に支配されていることが明らかになった。

β コングリシニンの α' -sub含量に関しては、京都で5 QTLs ($K\alpha'_1$ ~ $K\alpha'_5$)、大阪で6 QTLs ($O\alpha'_1$ ~ $O\alpha'_6$)、長野で4 QTLs ($N\alpha'_1$ ~ $N\alpha'_4$) が検出された (Fig. 1, Table 1)。また、 α -sub含量に関しては、京都で7 QTLs ($K\alpha_1$ ~ $K\alpha_7$)、大阪で5 QTLs ($O\alpha_1$ ~ $O\alpha_5$)、長野で3 QTLs ($N\alpha_1$ ~ $N\alpha_3$) が検出された。 β -sub含量に関しては、京都では6 QTLs ($K\beta_1$ ~ $K\beta_6$)、大阪では3 QTLs ($O\beta_1$ ~ $O\beta_3$)、長野では7 QTLs ($N\beta_1$ ~ $N\beta_7$) が検出された。このうち、 $K\alpha'_4$ 、 $O\alpha'_5$ 、 $N\alpha'_3$ 、 $K\alpha_3$ 、 $O\alpha_4$ 、 $N\alpha_3$ の6 QTLは、いずれも連鎖群Iの60 cM近傍に位置していたことから、同一のQTLとみなして*qPro1*と命名した。同様にして、連鎖群B1の125 cM近傍に検出され、 α -sub含量に関与しているQTLを*qPro2*、連鎖群A2の123 cM近傍に検出され、 β -sub含量に関与しているQTLsを*qPro3*、連鎖群Oの30 cM近傍に検出され、 β -sub含量に関与しているQTLsを*qPro7*とそれぞれ命名した。*qPro2*および*qPro7*は、栽培地によっては検出されない場合もあり環境の影響を受けやすいQTLであると考えられた。

PT-RILsを*qPro1*に関してPeking型およびタマホマレ型グループに分けたところ、 α -sub含量に関する両グループの平均値はそれぞれPekingおよびタマホマレの値とはほぼ一致した (Fig. 2)。一方、 α' -sub含量に関

しては各グループの平均値間に α -sub含量ほど顕著な差異は認められなかった。また、*qPro1*のタマホマレ型アレルは α -sub含量を増加させると同時に、 α' -sub含量を減少させることができ明らかになった (Fig. 1, Table 1, Fig. 3)。

β コングリシニン含量に関しては、京都で 7 QTLs (*K7_1*~*K7_7*)、大阪で 4 QTLs (*O7_1*~*O7_4*)、長野で 7 QTLs (*N7_1*~*N7_7*) が検出され (Fig. 4, Table 2), 一方、グリシニン含量に関しては、京都で 7 QTLs (*K11_1*~*K11_7*)、大阪で 2 QTLs (*O11_1*~*O11_2*)、長野で 6 QTLs (*N11_1*~*N11_6*) が検出された。このうち、 β コングリシニン含量に大きな効果をもつ連鎖群C2の115 cM近傍のQTLsを*qPro5*と命名した。また、グリシニン含量を支配する連鎖群Eの40 cM近傍のQTLsを*qPro6*と命名した。*qPro1*領域は全栽培地の β

コングリシニン含量 (*K7_6*, *O7_4*, *N7_6*) および京都と長野のグリシニン含量 (*K11_3*, *K11_4*, *N11_4*)、さらに*qPro7*領域は京都と長野のグリシニン含量 (*K11_7*, *N11_6*) に関与していた。*qPro1*および*qPro7*のタマホマレ型アレルは β コングリシニン含量を増大させグリシニン含量を減少させた (Table 2, Fig. 5) ことから、これらQTLsは β コングリシニン含量とグリシニン含量の拮抗的制御を行う因子であることが明らかになった。

総たん白質含量に関して、京都では 4 QTLs (*KP_1*~*KP_4*)、大阪では 4 QTLs (*OP_1*~*OP_4*)、長野では 7 QTLs (*NP_1*~*NP_7*) が検出された (Fig. 4, Table 2)。このうち、連鎖群A2の50 cM近傍のQTL (*OP_1*, *NP_2*) を、総たん白質含量を支配する*qPro8*と命名した。また、*qPro5*領域のQTL (*OP_2*, *NP_4*)

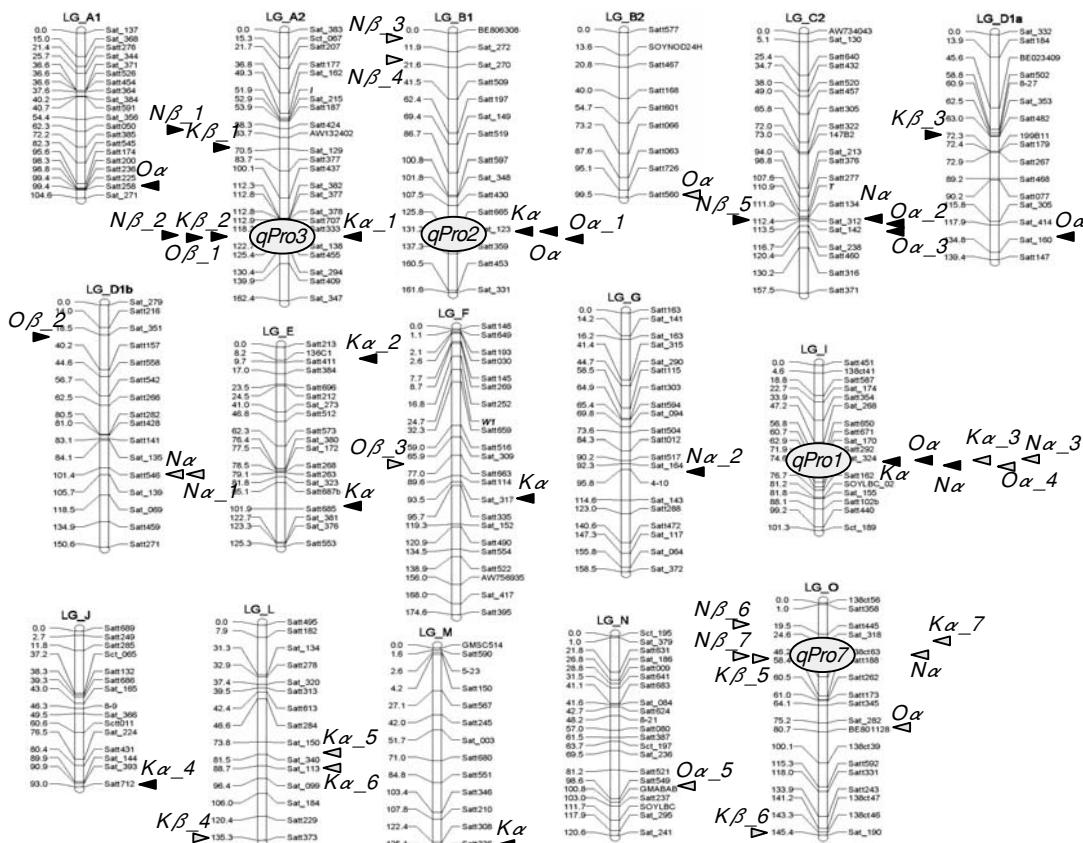


Fig. 1. Chromosomal locations of QTLs for β -conglycinin subunit contents detected from the PT-RIL populations in Kyoto (K), Osaka (O), and Nagano (N), respectively. Arrow indicates the peak of the LOD value for each QTL (α' ; α ' subunit content, α ; α subunit content, β ; β subunit content) and its shading indicates the effective genotype (black; Peking, gray; Tamahomare). Genetic distances are given in centiMorgan (cM) from the top of each linkage group.

および $qPro6$ 領域のQTL (KP_3 , OP_4) は、総たん白質含量にも関与することが明らかとなった。 $qPro6$ 領域はグリシニン含量にも関与すること ($K11_2$, $O11_2$)、グリシニン含量において高いLOD値が認められたことから、総たん白質含量における $qPro6$ の効果は主にグリシニン含量の制御に起因すると考えられた。一方、 $qPro5$ 領域は β コングリシニンsubや β コングリシニン、グリシニン含量にも関与し ($N\alpha'_1$, $O\alpha_2$, $O\alpha_3$, $N\beta_5$, $O7_2$, $N7_2$, $N11_2$) (Fig. 1, Fig. 2), $qPro8$ 領域は β -subおよびグリシニン含量にも関与していた ($N\beta_1$, $N11_1$)。したがって、 $qPro5$ 、および $qPro8$ のPeking型アレルは種子貯蔵たん白質全体を増加させることにより、総たん白質含量を制御していることが明らかになった。 $qPro5$ は以前に報告があった $PRO4$ 近傍に位置し⁹、 $qPro8$ はKabelka

*et al.*¹⁰のQTLs近傍に位置している。これらQTLsの近傍領域には開花期や登熟期、生殖期、種子重を含む生殖生長や種子の品質に関与するQTLsが検出されている¹¹。したがって、 $qPro5$ や $qPro8$ はこのような形質を制御することによって間接的に総たん白質含量に影響を及ぼしている可能性もある。

以上の結果から、大豆の種子貯蔵たん白質含量は、たん白質全体を増加・減少させるQTL ($qPro5$, $qPro8$) とその比率を決定するQTL ($qPro1$, $qPro7$) によって制御されていることが示唆された。これらのQTLの単離・機能解析は、大豆種子貯蔵たん白質の蓄積メカニズムの解明に重要な手がかりを与えるだけでなく、大豆種子貯蔵たん白質に関する成分改変育種の効率的実践に寄与することが期待される。

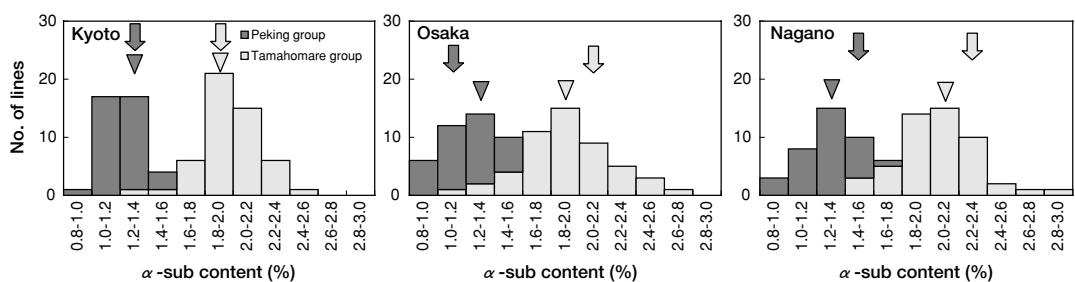


Fig. 2. Frequency distributions of α -sub content in two PT-RIL groups classified by the genotype of $qPro1$ in Kyoto, Osaka and Nagano. The genotype of $qPro1$ was estimated by both genotypes of the upstream and downstream markers (Satt650 and Satt671, respectively). The arrow head in the figure indicates the mean value of each group (deep gray; Peking group, light gray; Tamahomare group), and the arrows show parental values (deep gray; Peking, light gray; Tamahomare).

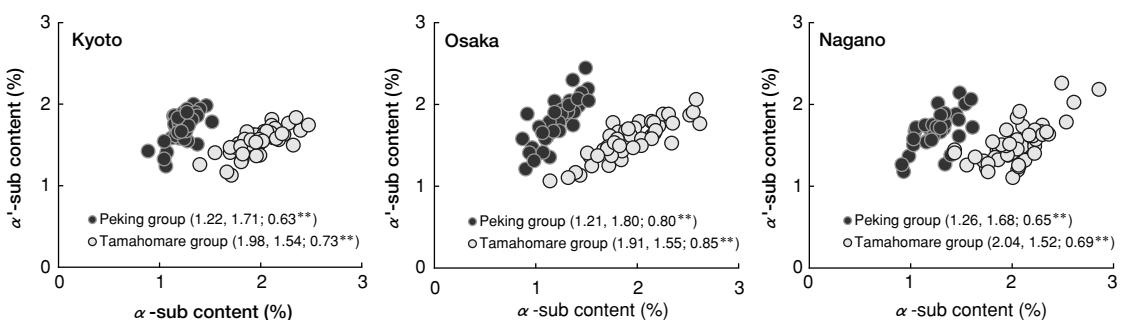


Fig. 3. Correlations between α - and α' -sub content in two PT-RIL groups classified by the genotype of $qPro1$ in Kyoto, Osaka and Nagano. The genotype of $qPro1$ was estimated by both genotypes of the upstream and downstream markers (Satt650 and Satt671, respectively). The bracketed values are the mean value of each group and correlation coefficient ($*$: 5% significant, $**$: 1% significant, n.s.: not significant).

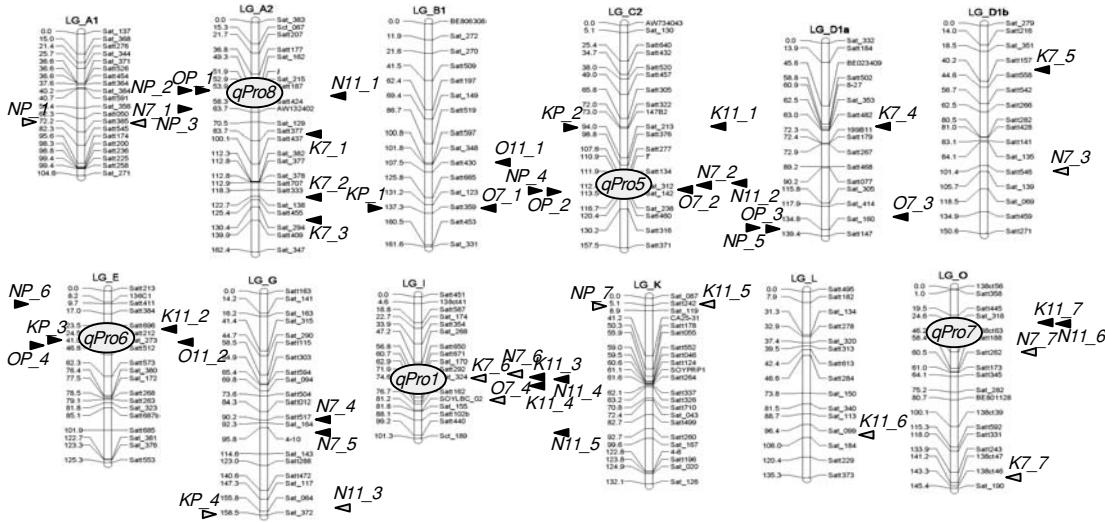


Fig. 4. Chromosomal locations of QTLs for β -conglycinin, glycinin and total protein contents detected from the PT-RIL populations in Kyoto (K), Osaka (O), and Nagano (N), respectively. Arrow indicates the peak of the LOD-value for each QTL (7; β -conglycinin content, 11; glycinin content, P; total protein content) and its shading indicates the effective genotype (black; Peking, gray; Tamahomare). Genetic distances are given in centiMorgan (cM) from the top of each linkage group.

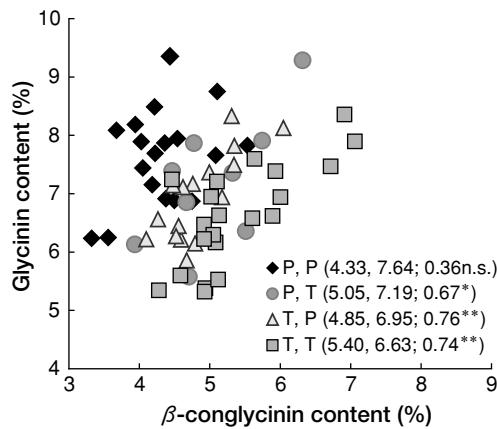


Fig. 5. Correlation between β -conglycinin and glycinin content in two PT-RIL groups classified by the genotypes of *qPro1* and *qPro7* in Nagano. The genotypes of *qPro1* and *qPro7* were estimated by both genotypes of the upstream markers (Satt 650 and Sat_318, respectively) and the downstream markers (Satt671 and 138ct63, respectively). The bracketed values are the mean value of each group and correlation coefficient (*: 5% significant, **: 1% significant, n.s.: not significant).

Table 1. Locations and effects of QTLs for α' , α and β -sub contents detected in PT-RIL population

Trait	Trial	QTL	LG ¹⁾	Start (cM) ²⁾	End (cM) ²⁾	Peak (cM) ³⁾	LOD	Additive effect ⁴⁾	Contribution (%)
α' -sub content	Kyoto	$K\alpha'_1$	B1	120.0	125.5	125.0	2.16	0.05	6.69
		$K\alpha'_2$	E	99.1	101.6	101.6	2.14	0.05	5.99
		$K\alpha'_3$	F	97.2	107.2	102.2	2.23	0.06	9.04
		$K\alpha'_4$	I	47.2	71.9	60.4	6.89	0.09	22.54
		$K\alpha'_5$	M	122.4	124.9	124.9	2.74	0.05	7.81
	Osaka	$O\alpha'_1$	A1	85.8	103.4	97.1	4.32	0.10	12.26
		$O\alpha'_2$	B1	117.0	136.7	125.0	2.38	0.07	6.59
		$O\alpha'_3$	B2	87.6	99.1	99.1	3.34	-0.08	8.96
		$O\alpha'_4$	D1a	108.2	136.8	125.9	3.20	0.09	10.07
		$O\alpha'_5$	I	47.2	69.9	59.4	7.27	0.13	22.25
α -sub content	Nagano	$O\alpha'_6$	O	65.1	98.7	78.2	5.06	-0.11	14.37
		$N\alpha'_1$	C2	113.5	120.2	113.5	2.65	0.07	6.91
		$N\alpha'_2$	D1b	105.7	105.7	105.7	2.05	-0.06	5.42
		$N\alpha'_3$	I	53.2	70.4	62.9	4.99	0.10	14.42
		$N\alpha'_4$	O	9.0	46.1	32.6	3.74	-0.10	13.55
	Kyoto	$K\alpha_1$	A2	122.7	126.4	123.7	2.21	0.06	1.68
		$K\alpha_2$	E	3.5	12.2	8.2	3.09	0.07	2.65
		$K\alpha_3$	I	47.2	71.9	59.9	38.14	-0.37	75.11
		$K\alpha_4$	J	82.2	93.2	92.1	2.91	0.07	2.39
		$K\alpha_5$	L	80.3	84.5	81.3	2.11	-0.05	1.60
		$K\alpha_6$	L	88.7	116.0	90.7	2.89	-0.06	2.22
β -sub content		$K\alpha_7$	O	20.1	38.1	24.6	3.43	-0.07	2.87
Osaka	$O\alpha_1$	B1	110.0	137.2	129.3	3.03	0.09	4.60	
	$O\alpha_2$	C2	113.0	118.2	115.0	2.24	0.09	3.43	
	$O\alpha_3$	C2	120.4	123.4	120.4	2.32	0.08	3.27	
	$O\alpha_4$	I	47.2	75.6	63.9	20.14	-0.32	55.42	
	$O\alpha_5$	N	89.8	94.8	92.3	2.06	-0.09	3.85	
Nagano	$N\alpha_1$	D1b	103.4	106.7	105.4	2.16	-0.09	3.54	
	$N\alpha_2$	G	95.8	104.8	97.8	2.30	0.10	3.99	
	$N\alpha_3$	I	37.4	71.9	58.9	20.85	-0.37	54.28	
β -sub content	Kyoto	$K\beta_1$	A2	66.3	75.0	70.3	2.51	0.08	5.48
		$K\beta_2$	A2	112.3	139.4	123.7	9.23	0.16	26.27
		$K\beta_3$	D1a	54.6	72.0	62.5	4.19	0.11	10.61
		$K\beta_4$	L	130.9	134.9	134.9	2.31	-0.08	5.79
		$K\beta_5$	O	24.6	57.7	37.1	4.20	-0.13	16.45
		$K\beta_6$	O	126.5	145.3	143.3	5.36	-0.13	14.72
	Osaka	$O\beta_1$	A2	123.7	126.9	125.4	2.43	0.11	7.20
		$O\beta_2$	D1b	18.5	23.0	20.5	2.02	0.11	7.58
		$O\beta_3$	F	66.9	89.5	81.0	3.90	-0.17	16.85
	Nagano	$N\beta_1$	A2	37.3	63.3	58.8	2.83	0.09	7.38
		$N\beta_2$	A2	118.3	128.9	122.7	4.15	0.10	10.54
		$N\beta_3$	B1	0.0	11.5	3.0	2.85	-0.08	7.05
		$N\beta_4$	B1	12.9	27.7	16.4	2.46	-0.08	7.00
		$N\beta_5$	C2	110.6	120.2	113.5	3.10	0.09	7.80
		$N\beta_6$	O	10.5	17.0	13.5	2.07	-0.08	7.18
		$N\beta_7$	O	19.6	46.1	33.1	3.23	-0.10	11.33

¹⁾Linkage group.²⁾Start and end positions of each QTL region.³⁾Peak position of the LOD value of each QTL.⁴⁾Relative effect of Peking allele compared with Tamahomare allele.

Table 2. Locations and effects of QTLs for β -conglycinin, glycinin and total protein contents detected in PT-RIL population

Trait	Trial	QTL	LG ¹⁾	Start (cM) ²⁾	End (cM) ²⁾	Peak (cM) ³⁾	LOD	Additive effect ⁴⁾	Contribution (%)
β -conglycinin content	Kyoto	K7_1	A2	70.5	86.7	79.5	5.15	0.26	16.33
		K7_2	A2	122.7	128.9	123.7	2.46	0.15	5.30
		K7_3	A2	139.9	140.9	139.9	2.08	0.14	4.45
		K7_4	D1a	53.1	72.0	60.9	3.82	0.21	9.39
		K7_5	D1b	26.0	41.2	34.5	2.68	0.19	8.49
		K7_6	I	38.4	71.9	58.4	8.91	-0.32	25.26
		K7_7	O	122.5	145.3	138.9	3.78	-0.22	10.54
	Osaka	O7_1	B1	125.8	146.9	135.7	2.51	0.24	7.95
		O7_2	C2	113.5	118.2	116.0	2.30	0.23	6.55
		O7_3	D1a	120.4	137.8	127.9	2.96	0.29	11.80
		O7_4	I	63.9	87.8	74.6	5.80	-0.35	17.75
Glycinin content	Nagano	N7_1	A1	40.7	71.8	66.8	5.00	-0.31	15.03
		N7_2	C2	102.3	129.9	113.5	4.96	0.30	13.18
		N7_3	D1b	103.9	106.7	105.7	2.27	-0.19	5.13
		N7_4	G	88.8	92.9	91.3	2.17	0.19	5.49
		N7_5	G	95.8	101.8	98.8	2.07	0.20	6.45
		N7_6	I	53.2	57.4	56.2	2.11	-0.20	5.52
		N7_7	O	28.1	53.7	46.2	3.19	-0.23	8.13
	Kyoto	K11_1	C2	69.4	73.0	72.0	2.12	0.21	5.22
		K11_2	E	9.7	40.5	27.0	4.69	0.34	13.78
		K11_3	I	53.2	70.4	56.9	2.79	0.25	7.03
		K11_4	I	53.2	70.4	64.9	2.84	0.26	8.26
		K11_5	K	0.0	8.6	4.5	3.01	-0.26	7.81
		K11_6	L	97.9	114.5	105.4	2.96	-0.24	6.66
		K11_7	O	3.5	35.1	24.6	4.34	0.31	11.15
Total protein content	Osaka	O11_1	B1	88.2	105.3	100.8	3.50	0.48	11.58
		O11_2	E	28.0	47.3	40.5	4.54	0.56	15.36
	Nagano	N11_1	A2	39.3	63.3	52.9	6.16	0.39	15.08
		N11_2	C2	98.8	129.4	111.9	6.00	0.41	15.77
		N11_3	G	150.9	159.9	153.9	2.26	-0.26	6.56
		N11_4	I	59.9	60.4	60.4	2.05	0.22	4.25
		N11_5	I	96.1	101.2	99.1	2.30	0.23	5.31
		N11_6	O	11.0	40.6	24.6	7.54	0.45	19.38
	Kyoto	KP_1	B1	133.2	135.7	134.7	2.05	0.42	6.87
		KP_2	C2	68.4	77.6	73.0	2.67	0.45	8.17
		KP_3	E	25.0	49.8	36.5	3.90	0.64	16.49
		KP_4	G	147.4	159.9	159.9	5.06	-0.65	16.63
	Osaka	OP_1	A2	38.3	62.3	48.8	4.90	0.98	12.48
		OP_2	C2	102.8	127.9	117.7	5.60	1.15	16.46
		OP_3	D1a	121.9	139.3	134.8	3.42	0.79	8.62
		OP_4	E	37.0	44.5	41.0	2.42	0.65	6.06
	Nagano	NP_1	A1	64.8	67.3	65.8	2.05	-0.60	4.75
		NP_2	A2	38.3	63.3	48.8	5.13	0.94	11.68
		NP_3	A2	62.3	63.3	62.3	2.87	0.72	7.42
		NP_4	C2	98.8	129.9	116.7	9.09	1.41	24.25
		NP_5	D1a	134.8	134.8	134.8	2.01	0.54	4.11
		NP_6	E	5.0	14.2	9.7	2.81	0.65	5.97
		NP_7	K	5.6	8.1	6.6	2.03	-0.55	4.25

¹⁾ Linkage group.²⁾ Start and end positions of each QTL region.³⁾ Peak position of the LOD value of each QTL.⁴⁾ Relative effect of Peking allele compared with Tamahomare allele.

要 約

大豆品種Pekingとタマホマレの組換え自殖系統（PT-RILs）96系統の京都、大阪および長野産種子を供試し、各系統の種子たん白質含量に関するQTL解析を行った。その結果、 α および α' サブユニット（sub）含量に関与する連鎖群I上の $qPro1$ については、タマホマレ型アレルが α -sub含量を増大させると同時に α' -sub含量を減少させることができ明らかになった。また、 $qPro1$ がPeking型のPT-RILsおよびタマホマレ型のPT-RILsの α -sub含量の平均値がそれぞれPekingおよびタマホマレの値とほぼ一致したことから、 α -sub含量は $qPro1$ に強く支配されていることが明らかになった。 β コングリシニンおよびグリシニン含量に関しては、連鎖群IおよびO上に両たん白質共通のQTL ($qPro1$, $qPro7$) が検出され、それらのタマホマレ型アレルは β コングリシニン含量を増大させると同時にグリシニン含量を減少させることができ明らかになった。総たん白質含量に関するQTL ($qPro8$, $qPro5$) 領域には、 β コングリシニンおよびグリシニン含量に関する多数のQTLが検出された。以上のことから、種子貯蔵たん白質の蓄積に関して、量に関与する遺伝的要因 ($qPro5$, $qPro8$) とその割合を決定する遺伝的要因 ($qPro1$, $qPro7$) のあることが明らかになった。

文 献

- 1) Catsimpoolas N, Campbell TG and Meyer EW (1968): Immunochemical study of changes in reserve proteins of germinating soybean seed. *Plant Physiol.*, **43**, 799-805.
- 2) Catsimpoolas N and Ekenstam C (1969): Isolation of alpha, beta, and gamma conglycinins. *Arch Biochem Biophys.*, **129**, 490-497.
- 3) Koshiyama I (1968): Chemical and physical properties of a 7S protein in soybean globulins. *Cereal Chem.*, **45**, 394-404.
- 4) Ogawa T, Tayama E, Kitamura K and Kaizuma N (1989): Genetic improvement of seed storage protein using three variant alleles of 7S globulin subunits in soybean (*Glycine max L.*). *Japan J Breed.*, **39**, 137-147.
- 5) Gayler KR and Sykes GE (1981): β -Conglycinins in developing soybean seeds. *Plant Physiol.*, **67**, 958-961.
- 6) Meinke DW, Chen J and Beachy RN (1981): Expression of storage-protein genes during soybean seed development. *Planta*, **153**, 130-139.
- 7) Ladin BF, Tierney ML, Meinke DW, Hosangadi P, Veith M and Beachy RN (1987): Developmental regulation of β -conglycinin in soybean axes and cotyledons. *Plant Physiol.*, **84**, 35-41.
- 8) Naito S, Dube PH and Beacky RN (1988): Differential expression of conglycinin α' and β subunit genes in transgenic plants. *Plant Mol Biol.*, **11**, 109-123.
- 9) Tajuddin T, Watanabe S, Yamanaka N and Harada K (2003): Analysis of quantitative trait loci for protein and lipid contents in soybean seeds using recombinant inbred lines. *Breed Sci.*, **53**, 133-140.
- 10) Kabelka EA, Diers BW, Fehr WR, LeRoy AR, Baianu IC, You T, Neece DJ and Nelson RL (2004): Putative alleles for increased yield from soybean plant introductions. *Crop Sci.*, **44**, 784-791.
- 11) Watanabe S, Tajuddin T, Yamanaka N, Hayashi M and Harada K (2004): Analysis of QTLs for reproductive development and seed quality traits in soybean using recombinant inbred lines. *Breed Sci.*, **54**, 399-407.