

稻米蛋白营养品质及其遗传改良

王红梅^{1,2}, 刘巧泉^{1,*}, 顾铭洪¹

扬州大学¹植物功能基因组学教育部重点实验室,²生物科学与技术学院, 江苏扬州 225009

The Nutritional Quality of Rice Proteins and Its Genetic Improvement

WANG Hong-Mei^{1,2}, LIU Qiao-Quan^{1,*}, GU Ming-Hong¹

¹Key Laboratory of Plant Functional Genomics of Ministry of Education, ²College of Bioscience & Biotechnology, Yangzhou University, Yangzhou, Jiangsu 225009, China

提要: 稻米富含淀粉, 贮藏蛋白易被消化吸收, 是人类和牲畜能量及蛋白的主要来源; 但其蛋白质和赖氨酸等含量偏低, 因而营养不够全面。文章简要介绍了稻米蛋白质与氨基酸营养品质及其遗传改良的研究进展。

关键词: 水稻; 营养品质; 遗传改良

植物是人类和牲畜所需蛋白质的主要来源。一般来说, 禾谷类作物种子蛋白质中的赖氨酸和色氨酸含量偏低, 而豆类和蔬菜类蛋白质缺乏蛋氨酸和半胱氨酸等含硫氨基酸(FAO 1970, 1991)。稻米富含淀粉, 贮藏蛋白易被消化吸收, 因此稻米是人类和牲畜能量及蛋白的主要来源(IRRI 1993)。但由于稻米(尤其是精米)在人体必需氨基酸如赖氨酸和色氨酸等的含量偏低, 因而其营养不够完全(FAO 1993)。所以, 提高稻米蛋白质中的必需氨基酸含量, 改良其营养品质, 显得十分必要。用常规育种技术提高必需氨基酸(主要是赖氨酸)含量已在玉米和大麦等(Nelson 等 1965; Nelson 1968; Bright 和 Shewry 1983)中获得了一些进展, 但在水稻中却收效甚微。因此, 寻求更为直接有效的途径改良稻米蛋白及其氨基酸的营养品质是非常必要的。近 10 年来, 分子生物技术的进展为改良稻米种子蛋白质营养品质提供了一条可能有效的技术途径。

1 稻米营养品质性状的组成

稻米品质主要包括碾磨品质、外观品质、蒸煮食味品质和营养品质等。衡量稻米营养品质的指标主要是稻米中的蛋白质含量及其氨基酸组成, 特别是必需氨基酸的含量。

1.1 蛋白质的种类及其含量 蛋白质是稻米种子胚乳中继淀粉后的第二大类贮藏物质, 按蛋白质的功能可将它们分为两大类, 即作为种子贮藏物质

的种子贮藏蛋白(seed storage proteins)以及维持种子细胞正常代谢的结构蛋白(structural proteins)。水稻种子中绝大多数的蛋白质是贮藏蛋白, 结构蛋白在种子内的种类繁多, 但其总的含量却极少。因此, 一般所指的稻米蛋白质, 主要是指贮藏蛋白。按溶解性的不同, 可将水稻种子贮藏蛋白分为 4 种, 即碱溶性的谷蛋白、醇溶性的醇溶蛋白、水溶性的白蛋白和盐溶性的球蛋白(Osborne 1924), 它们在精米蛋白质中所占的比例大致为 80%、5%、5% 和 10% (Juliano 等 1972)。整粒稻米中的蛋白质分布因部位不同而有较大差异, 一般糠层和胚中含量较胚乳中的高, 愈向胚乳深层, 含量愈少; 在所含的蛋白种类上, 糊粉层和颖壳等外层组织中含较多的白蛋白和球蛋白, 而在精米(胚乳)中以谷蛋白最多(Juliano 1985)。一般水稻品种糙米中的蛋白质含量为 8% 左右, 是所有禾谷类作物中最低的(表 1)。国际水稻研究所在 1979 年分析了收集自全球的 17587 个水稻栽培品种稻米的品质, 糙米中的蛋白质含量范围为 4.3%~18.2%, 平均为 9.5% (Gomez 和 De Datta 1975)。

1.2 蛋白质的氨基酸组成及其营养价值 蛋白质的

收稿 2007-01-15 修定 2007-03-16

资助 江苏省高校自然科学重大基础研究项目(06KJA21018)。

* 通讯作者(E-mail: qqliu@yzu.edu.cn; Tel: 0514-7996648)。

表1 禾谷类作物籽粒中的蛋白质含量及其氨基酸组成(Juliano 1985)

组成	蛋白质含量/%	可利用蛋白质 ^a /%	蛋白利用率 ^a /%	蛋白全氮消化率 ^a /%	生物价 ^a	赖氨酸 ^b	苏氨酸 ^b	蛋氨酸+胱氨酸 ^b	色氨酸 ^b
糙米	8.5	6.3	74	99.7	74	3.8	3.6	3.9	1.1
小麦	12.3	6.5	53	96.0	55	2.3	2.8	3.6	1.0
玉米	11.4	6.6	58	95.0	61	2.5	3.2	3.9	0.6
大麦	12.8	7.9	62	88.0	70	3.2	2.9	3.9	1.1
粟	13.4	7.5	56	93.0	60	2.7	3.2	3.6	1.3
高粱	9.6	4.8	50	84.8	59	2.7	3.3	2.8	1.0
黑麦	10.1	5.9	59	77.0	78	3.7	3.3	3.7	1.0
燕麦	10.8	6.4	59	84.1	70	4.0	3.6	4.8	0.9
WHO ^c						5.5	6.0 ^d	3.5	1.0

a: 老鼠蛋白平衡试验的结果; b: 单位为 $\text{g} \cdot (16 \text{ g})^{-1}$ (氮); c: WHO (1973) 推荐指标; d: 苏氨酸与苯丙氨酸之和。

营养价值, 取决于它的各种氨基酸含量及其相互平衡, 尤其是8种人体不能合成的必需氨基酸的含量。比之其他禾谷类作物的蛋白质, 水稻种子蛋白质的氨基酸平衡相对较好, 特别是赖氨酸的含量相对较高, 一般水稻品种中平均为 $4.0 \text{ g} \cdot (16 \text{ g})^{-1}$ (氮) 左右(表1), 但与世界卫生组织(WHO 1973)推荐的 $5.5 \text{ g} \cdot (16 \text{ g})^{-1}$ (氮) 的指标仍相差较远。所以, 与其他禾谷类作物中的一样, 赖氨酸被认为是稻米蛋白质中的第一限制必需氨基酸。除此之外, 苏氨酸也相对较少, 是第二限制因子, 其次为蛋氨酸与色氨酸。因此, 这4种必需氨基酸含量的高低在一定程度上决定了稻米所含蛋白质品质的优劣。稻米蛋白质易被人体吸收并消化, 可利用蛋白质的比例及其消化率都高于其他禾谷类作物, 尤其是其生物价(指摄取100g蛋白质后人体所能得到的体内蛋白质的量)较高, 为74~75, 远高于小麦和玉米(表1), 而与大豆蛋白(75)相等, 甚至可与牛肉蛋白(76)媲美, 故属优质植物蛋白。除蛋白质结合的氨基酸外, 水稻种子中也含有少量的游离氨基酸, 一般只占总氨基酸含量的0.1%~0.2% (Juliano 1985)。

1.3 其他营养成分 除蛋白质之处, 稻米中还含有一定量的脂肪、维生素和矿物质等。稻米中的脂肪酸主要为不饱和脂肪酸, 约占糙米重的2.6%, 主要存在于外层及胚部, 加工之后大多数进入米糠中, 精米中的脂类含量极少。稻米中的维生素主要是水溶性的B族维生素, 不含维生素A、C和D。据研究, 100g糙米中含0.29~0.61mg维生素B₁、0.04~0.14mg维生素B₂, 它们主要分布

在糊粉层、盾片和胚中, 精米中只占不到20% (100g精米含0.02~0.11mg维生素B₁、0.02~0.06mg维生素B₂)。糙米中还含有多种矿物质, 如钾、钙、镁、硅和磷等大量元素及铁、锌等微量元素, 总的灰分约占干重的0.9%, 其含量因品种和生长时土壤养分状况不同而有差异, 但大多也存在于胚及糊粉层等中。一般每克精米中含0.7~1.3mg钾、0.1~0.3mg钙、0.2~0.5mg镁和0.8~1.5mg磷, 而铁和锌的含量分别只有0.03和0.02mg (Juliano 1985)。

2 稻米蛋白营养品质性状的遗传

稻米营养品质大多属胚乳性状, 遗传较为复杂, 加之这些性状的测定方法烦琐, 所以其遗传研究更显滞后。已有研究表明, 稻米蛋白质含量是受微效多基因控制的数量性状。它同时受三倍体胚乳核基因、细胞质基因和二倍体母体核基因的控制, 遗传效应分别为44.3%、34.4%和4.9%; 而二倍体胚基因效应也起着重要作用(Shi等1996)。有关蛋白质含量的遗传力, 不同研究者所得研究结果因采用亲本、杂交组合及栽培试验措施不同而有较大的差异。例如, Hille (1972) 研究指出, 蛋白质含量的遗传力只有0.130~0.372, 因而在早世代筛选高蛋白质含量的成效甚微。而Tsuzuki和Furushoi (1986)以及Shenoy等(1991)的研究认为, 遗传力可分别达到0.59和0.71, 因此在早世代选择高蛋白含量在一定程度上还是有效的。有关稻米赖氨酸含量遗传的研究极少。石春海等(1999)的研究表明, 籼型杂交稻米中的赖氨酸含量也同时受三倍体胚乳核基因、

细胞质基因和二倍体母体核基因的控制,与蛋白质含量的遗传模型相似。蛋白质含量与一些数量性状的相关性研究表明,稻谷产量与蛋白含量在一定范围内呈显著的负相关,即在较低蛋白质含量水平时,蛋白质含量可随着产量的提高而提高,但当到达一定程度时却正好相反,两者呈抛物线型关系(Gomez和De Datta 1975)。千粒重、株高、生育期等都与蛋白质含量有一定的相关性,但不同研究者的结论不一。环境条件对蛋白质含量有很大的影响,其中尤以施氮肥的影响最为显著,在齐穗期增施氮肥,对提高蛋白质含量会有明显作用(Cheong 1996;袁继超等 2006;黄升谋和邹应斌 2004)。

稻米中的蛋白质含量与其氨基酸组成,尤其是赖氨酸含量之间也存在显著的相关性。具体表现在2个方面:(1)稻米中总赖氨酸含量与蛋白质含量呈正相关,即随着蛋白质含量提高,占稻米干重的赖氨酸含量也会相应提高,但其提高的幅度没有蛋白质含量提高的幅度高(Juliano 1985)。这是可以理解的,因为蛋白质增加了,作为其组成成分的氨基酸含量也应该有相应的提高。(2)蛋白质中的赖氨酸含量与稻米蛋白质含量呈负相关。Juliano (1985)分析了18个水稻品种,其蛋白质含量从4.1%~11.5%不等,而蛋白质中的赖氨酸含量却随蛋白质含量的提高反而有所下降,从4.9 g·(16 g)⁻¹(氮)下降到3.5 g·(16 g)⁻¹(氮),相关系数为-0.89,达到极显著水平。在水稻(Juliano 1985)及小麦(Vogel等 1973)中的研究结果也都证实了这一点;在我们最近所分析的我国部分推广品种中,也存在这种负相关性($r=-0.46$)。但并不是所有的氨基酸组分都存在这种负相关性,其他如谷氨酸在蛋白质中的含量却与蛋白质含量呈正相关。

3 我国水稻品种蛋白营养品质性状及其改良目标

据中国水稻研究所(1985)的分析资料,当时由各地提供的45个优质籼稻品种的蛋白质含量在7.8%~13.9%之间,平均为9.54%;由国家水稻育种协作攻关组育成的83个籼稻品种中,蛋白质含量在8.27%~13.55%之间,平均为9.91%(张瑞品和谢岳峰 2001)。最近,陈能等(2006)研究了近几年内从我国除台湾、山西、青海和西藏之外的28个省市提供的5323份稻谷样品(籼稻谷3805

份,粳稻谷1518份)的蛋白质含量,结果表明我国当前生产上应用的水稻品种糙米蛋白质含量在6.0%~15.7%的宽广范围内,但大多数水稻品种(约占总数的73%)具有中等蛋白质含量,分布于8.0%~11.0%之间,平均为9.55%;籼稻品种中的蛋白质含量总体上要高于粳稻品种。我们最近对长江中下游地区大面积种植的部分水稻品种(包括常规籼粳稻品种和杂交稻组合)的测定结果表明,除个别品种或亲本的蛋白质含量较高(高于13%)外,大部分品种也在8.0%~11%之间,平均为9.90%(王红梅等待发表)。上述蛋白质含量水平与IRRI在1979年时测定的17587份水稻品种的平均含量9.5%相近(Gomez和De Datta 1975)。我国水稻品种的稻米赖氨酸含量在品种间存在较大的差异,占种子干重的比例从0.11%~0.61%不等(应存山 1993)。而在目前一些推广品种或杂交稻组合中,赖氨酸含量在0.22%~0.36%之间,平均为0.28%左右(王红梅等待发表)。

从上述资料分析,蛋白质含量在一定范围内仍应视为水稻品种改良的一个重要目标,而提高稻米赖氨酸含量也应视为营养品质改良的一个重要方向。据Hegsted和Juliano(1974)的研究,在稻米中添加0.2%赖氨酸和0.1%的苏氨酸,可明显改善喂食动物体内蛋白的质量,尤其是体现在促进其生长速度上。因此,若能在现在水平上将赖氨酸含量提高20%~30%,即从4.0 g·(16 g)⁻¹(氮)提高到5.0 g·(16 g)⁻¹(氮)左右,使其接近WHO(1973)推荐的5.5 g·(16 g)⁻¹(氮)的指标,对改善人民体质,尤其是以稻米为主食的我国人民的营养状况,将有重要作用。

4 高赖氨酸含量水稻突变体的筛选

水稻种子中80%的蛋白质属于谷蛋白,醇溶蛋白的含量只有5%左右,这与其他禾谷类作物中以醇溶蛋白为主的情况有很大区别。由于醇溶蛋白中的赖氨酸含量极低,而谷蛋白中的相对较高,因此稻米中的赖氨酸含量相对于其他禾谷类作物要高(表1)。自从在玉米中发现高赖氨酸含量的突变体*opaque 2*(Mertz等 1964)和*floury-2*(Nelson等 1965)以来,世界各国的研究者都试图在其他禾谷类作物中也能寻找到类似的突变体,以改良其氨基酸的营养平衡。在大麦(Munch等

1970; Jood 和 Singh 2001)、高粱(Singh 和 Axtell 1973)和小麦(Mattern等1970)等中也的确发现过类似的高赖氨酸突变体; Schaeffer 和 Sharpe (1987, 1990)及 Schaeffer 等(1994)利用花药培养时在培养基中添加苏氨酸和赖氨酸作为选择压, 在粳稻品种 'Calrose 76' 中筛选获得了几个高赖氨酸含量的突变体, 但也只比亲本提高了3%~15%, 而且总是与其他不良性状如大的胚乳蛋白、米变软等相连锁。IRRI 分析了10493份水稻品种糙米中的蛋白质和赖氨酸含量, 筛选出了38份赖氨酸含量高于平均水平0.5个百分点(在蛋白质的含量)的材料, 进一步测定发现只有3个水稻品种精米中的赖氨酸含量是较高的(Juliano 等1973)。分析来自玉米和大麦等中高赖氨酸含量突变体后发现, 这些突变体种子内的醇溶蛋白都相应减少。如玉米和高粱种子内的醇溶蛋白一般占总蛋白的50%~60%, 而其高赖氨酸含量突变体 *opaque 2* 等中的醇溶蛋白只占总蛋白的30%~40%, 与小麦和

大麦中的相当; 而大麦的高赖氨酸含量突变体1508中的醇溶蛋白减少到相当于水稻中醇溶蛋白的含量水平, 即5%~10%。因此, Nelson (1976)认为, 水稻含有极少的醇溶蛋白和较多的谷蛋白, 本身即是一个高赖氨酸含量性状, 所以要想再提高其赖氨酸含量会相当困难。

5 稻米蛋白营养品质遗传改良的进展

综合已有的研究资料, 通过传统育种方法改良稻米营养品质, 尤其是提高蛋白质和赖氨酸含量, 有以下难点:(1)遗传复杂, 受多基因控制。从现有生化及分子遗传学研究结果分析, 稻米蛋白质的组分多, 不同蛋白质或多肽的氨基酸组成不尽相同; 其合成又受多基因家族控制, 基因拷贝数多, 如控制水稻胚乳中醇溶蛋白合成的就至少有100个以上的基因。(2)待改良性状往往与其他不良农艺性状紧密连锁, 如高赖氨酸含量往往与胚乳蛋白度的增加相连锁(Schaeffer 和 Sharpe 1990)。(3)蛋白质含量与产量等数量性状往往呈负

表2 近年用转基因技术改良稻米营养品质的成功例子

营养品质性状	基因名称	基因来源	功能	所用的启动子	转基因水稻种子中的表达量	转基因稻米别称	参考文献
改良蛋白质及必需氨基酸含量	菜豆蛋白	菜豆	种子贮藏蛋白(含61%赖氨酸)	水稻 <i>Gt1</i>	种子盐溶性总蛋白的4%		Zheng 等 1995
	大豆球蛋白	大豆	种子贮藏蛋白	水稻 <i>GluB-1</i>	种子总蛋白的4%~5%	大豆米 (soy-rice)	Katsube 等 1999
	反义谷蛋白	水稻	种子贮藏蛋白	水稻 <i>Gt1</i>	谷蛋白含量下降20%~40%	低谷蛋白水稻 (low-glutelin rice)	Kubo 2000
	氨基苯甲酸合成酶(突变型)	水稻	色氨酸合成关键酶	水稻氨基苯甲酸合成酶 α 亚基	色氨酸含量提高25~90倍		Tozawa 等 2001
增加胡萝卜素(维生素A原)	高赖氨酸含量蛋白	四棱豆	种子贮藏蛋白	水稻 <i>Gt1</i>	种子盐溶性总蛋白的2%		唐俐等 2006; 刘巧泉 2002
	八氢番茄红素合成酶、番茄红素环化酶、八氢番茄红素去饱和酶	水仙、噬夏孢欧文氏菌	合成并环化番茄红素, 形成 β -胡萝卜素	水稻 <i>Gt1</i> 、 <i>CaMV 35S</i>	每克种子含2 μ g维生素A	黄金米 (golden rice)	Ye 等 2000
提高铁含量	铁结合蛋白	大豆	结合铁离子	水稻 <i>GluB-1</i>	铁含量提高3倍	铁蛋白米 (ferritin rice)	Goto 等 1999; 刘林川和马三梅 2006
	铁结合蛋白	菜豆	结合铁离子	水稻 <i>Gt1</i>	铁含量提高2倍	高铁米 (iron-rich rice)	Lucca 等 2001
提高营养可得性	植酸酶	曲霉菌	降解植酸, 提高对铁等的吸收	水稻 <i>Gt1</i>	植酸酶含量提高130倍		Lucca 等 2001 李钱峰等 2006
	类金属硫因蛋白	水稻	富含半胱氨酸, 提高铁的吸收率	水稻 <i>Gt1</i>	半胱氨酸残基含量提高7倍		Lucca 等 2001

相关,想在保持高产量水平下进一步提高蛋白质含量显得较困难。(4)缺乏优质种质或基因资源。稻米蛋白质虽然是较为优质的植物蛋白,但其中的赖氨酸含量仍较低,而水稻或相近的种间又不存在高赖氨酸含量的蛋白基因。因此,发展并采用现代生物技术来改良稻米蛋白营养品质显得更为迫切。

基因工程技术在提高水稻抗逆性(包括抗生物胁迫和非生物胁迫等)、增加产量等方面已取得了明显的成效,抗虫、抗病、抗除草剂和抗盐的转基因水稻相继培育成功,并都已进入了田间试验阶段,提高光合效率的转基因水稻研究也在进行之间。目前,基因工程技术改良作物品种已从单纯的提高“产出”(output)方向逐步向增加“输入”(input)方面发展,即通过转基因技术改良作物品质、增加其附加值。利用基因工程技术改良作物品质,至少有以下两大优点:(1)可通过基因操作控制某一代谢途径的关键酶的量 and 组成从而修饰最终产物的含量及其性能,即所谓代谢途径工程(metabolic engineering),这一技术已在提高作物游离氨基酸含量以及改良作物淀粉品质方面取得了很大的成功。(2)导入异源的优质性状基因,达到改善品质、增加附加值的目。如水稻种子中本身不含胡萝卜素(合成维生素A的前体),通过基因工程技术导入异源的合成 β -胡萝卜素的代谢途径,培育成功富含维生素A的黄金米(golden rice)(Ye等2000)便是一个成功的例子。表2列举了近年来利用转基因技术改良稻米营养品质、增加其附加值等方面的一些成功例子。“黄金米”与高铁米的育成可使全球几十亿人受到农业生物技术成果所带来的实惠(Guerinot 2000)。但是,在用转基因技术提高稻米中的蛋白质和赖氨酸含量以及改良其营养品质方面还未见成功报道。因此,开展这方面的研究是十分必要的。

参考文献

陈能, 罗玉坤, 谢黎虹, 朱智伟, 段彬伍, 章林平(2006). 我国水稻品种的蛋白质含量及与米质的相关性研究. 作物学报, 32 (8): 1193~1196
 黄升谋, 邹应斌(2004). 水稻强弱势籽粒核酸和蛋白质含量的差异. 植物生理学通讯, 40 (1): 51~53
 李钱峰, 刘巧泉, 张达江, 于恒秀, 姚泉洪, 顾铭洪(2006). 转基因

水稻中重组植酸酶的表达. 中国水稻科学, 20 (3): 243~247
 刘林川, 马三梅(2006). 采用基因工程技术提高水稻铁营养品质的策略. 植物生理学通讯, 42 (3): 554~558
 刘巧泉(2002). 基因工程技术提高稻米赖氨酸含量[博士学位论文]. 扬州: 扬州大学
 石春海, 朱军, 杨肖娥, 余允贵(1999). 粳型杂交稻稻米赖氨酸性状的基因型 \times 环境互作效应分析. 中国农业科学, 1 (1): 1~7
 唐俐, 刘巧泉, 邓晓湘, 武小金, 辛世文(2006). 无抗性选择标记的转高赖氨酸蛋白(LRP)基因籼稻恢复系的获得. 作物学报, 32 (8): 1248~1251
 应存山主编(1993). 中国稻种资源. 北京: 中国农业出版社
 袁继超, 刘丛军, 俄胜哲, 杨世民, 朱庆森, 杨建昌(2006). 施氮量和穗粒肥比例对稻米营养品质及中微量元素含量的影响. 植物营养与肥料学报, 12 (2): 183~187
 张瑞品, 谢岳峰(2001). 水稻品质育种. 见: 刘后利主编. 农作物品质育种. 武汉: 湖北科学技术出版社, 22~99
 中国水稻研究所(1985). 稻米品质及其理化分析. 见: 中国水稻研究丛刊(2). 杭州: 中国水稻研究所
 Bright SWJ, Shewry PR (1983). Improvement of protein quality in cereals. CRC Crit Rev Plant Sci, 1 (1): 49~93
 Cheong JL (1996). Effects of slow-release fertilizer application on rice grain quality at different culture methods. Korean J Crop Sci, 3 (2): 286~294
 FAO (1970). FAO nutritional studies: amino acid content of foods. In: FAO-United Nations Reports 45. Rome: Food and Agriculture Organization, 90~102
 FAO (1991). Protein quality evaluation. In: Report of Joint FAO/WHO Expert Consultation. FAO Food and Nutrition Paper 51. Rome: Food and Agriculture Organization, 66~78
 FAO (1993). Rice in Human Nutrition. Rome: Food and Agriculture Organization
 Gomez KA, De Datta SK (1975). Influence of environment on protein content of rice. Agron J, 67: 565~568
 Goto F, Yoshihara T, Shigemoto N, Takaiwa F (1999). Iron fortification of rice seed by the soybean ferritin gene. Nat Biotechnol, 17 (2): 282~286
 Guerinot ML (2000). Enhanced: the green revolution strikes gold. Science, 287 (2): 241~243
 Hegsted DM, Juliano BO (1974). Difficulties in assessing the nutritional quality of rice proteins. J Nutr, 104 (5): 772~781
 Hille R (1972). Heritability of protein content and its relationship to agronomic characters in rice. Proc 14th Rice Tech Working Group. University of California, Davis
 IRRI (1993). IRRI Rice Almanac. Manila, The Philippines
 Jood S, Singh M (2001). Amino acid composition and biology evaluation of the protein quality of high lysine barley genotypes. Plant Foods Hum Nutr, 56 (2): 145~155
 Juliano BO (ed) (1985). Rice: Chemistry and Technology. American Association of Cereal Chemists. USA: Inc St Paul Minn, 1~174
 Juliano BO, Antonio AA, Esmama BV (1973). Effects of protein

- content on the distribution and properties of rice protein. *J Sci Food Agr*, 24 (3): 295~306
- Juliano BO, Perez CM, Gomez KA (1972). Variability in protein content of rice. *Kalikasan*, 1 (1): 74~81
- Katsube T, Kurisaka N, Ogawa M, Maruyama N, Ohtsuka R, Utsumi S, Takaiwa F (1999). Accumulation of soybean glycinin and its assembly with the glutelins in rice. *Plant Physiol*, 120: 1063~1073
- Kubo T (2000). Development of low-glutelin rice by *Agrobacterium*-mediated genetic transformation with an antisense gene construct. In: Joint FAO/WHO Expert Consultation on Foods Derived from Biotechnology, Switzerland
- Lucca P, Hurrell R, Potrykus I (2001). Genetic engineering approaches to improve the bioavailability and the level of iron in rice grains. *Theor Appl Genet*, 102 (2): 392~397
- Mattern PJ, Schmidt JW, Johnson VA (1970). Screening for high lysine content in wheat. *Cereal Sci Today*, 15: 409~411
- Mertz ET, Bates LS, Nelson OE (1964). Mutant gene that changes protein composition and increases lysine content of maize endosperm. *Science*, 145 (2): 279~280
- Munck L, Karlsson KE, Hagberg A, Eggum, BO (1970). Gene for improved nutritional value in barley seed protein. *Science*, 168 (8): 985~987
- Nelson OE (1968). New approaches to breeding for improved plant protein. Proc of a Panel Meeting Organized by FAO/IAEA, Sweden
- Nelson OE (1976). Interpretive summary and review. In: Proc Workshop on Genetic Improvement of Seed Proteins. Washington DC: Natl Acad Sci, 383~392
- Nelson OE, Mertz ET, Bates LS (1965). Second mutant gene affecting the amino acid pattern of maize endosperm proteins. *Science*, 150 (15): 1469~1470
- Osborne TB (1924). *The Vegetable Proteins*. London: Longmans
- Schaeffer GW, Sharpe FT Jr (1987). Increased lysine and seed storage protein in rice plants recovered from calli selected with inhibitory levels of lysine plus threonine and *S*-(2-aminoethyl) cysteine. *Plant Physiol*, 84 (2): 509~515
- Schaeffer GW, Sharpe FT Jr (1990). Modification of amino acid composition of endosperm proteins from *in vitro* selected high lysine mutants in rice. *Theor Appl Genet*, 80 (3): 841~846
- Schaeffer GW, Sharpe FT Jr, Dudley JT (1994). Registration of five lysine-enhanced rice germplasm lines 2K41, 2K539, 2K(C193), 2K497 and 2K601. *Crop Sci*, 34 (4): 1424~1425
- Schagger H, Von Jagow G (1987). Tricine-sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis for the separation of proteins in the range from 1 to 100 kDa. *Anal Biochem*, 166 (2): 368~379
- Shenoy VV, Seshu DV, Sachan JKS (1991). Inheritance of protein per grain in rice. *Indian J Genet Plant Breed*, 51 (2): 214~220
- Shi CH, Xue JM, Yu YG, Yang XE, Zhu J (1996). Analysis of genetic affects for nutrient quality traits in *indica* rice. *Theor Appl Genet*, 92 (8): 1099~1102
- Singh R, Axtell JD (1973). High lysine mutant gene (hl) that improves protein quality and biological value of grain sorghum. *Crop Sci*, 13 (2): 535~539
- Tozawa Y, Hasegawa H, Terakawa T, Wakasa K (2001). Characterization of rice anthranilate synthase α -subunit genes *OASA1* and *OASA2*. Tryptophan accumulation in transgenic rice expressing a feedback-insensitive mutant of *OASA1*. *Plant Physiol*, 126 (4): 1493~1506
- Tsuzuki E, Furusho M (1986). Studies on the characteristics of scented rice. X. A trail of rice breeding for high protein variety. *Jpn J Crop Sci*, 55 (1): 7~14
- Vogel KP, Johnson VA, Mattern PJ (1973). Results of systematic analysis for protein and lysine composition of common wheats (*Triticum aestivum* L.). *Nebraska Agr Exp Stn Res Bull*, 258: 27~32
- WHO (1973). Energy and protein requirements. In: WHO Tech Rep Ser 522. Geneva: World Health Organization
- Ye XD, Al-Babili S, Klöti A, Zhang J, Lucca P, Beyer P, Potrykus I (2000). Engineering the provitamin A (β -carotene) biosynthetic pathway into (carotenoid-free) rice endosperm. *Science*, 287 (2): 303~305
- Zheng ZW, Sumi K, Tanaka K, Murai N (1995). The bean seed storage protein β -phaseolin is synthesized, processed and accumulated in the vacuolar type-II protein bodies of transgenic rice endosperm. *Plant Physiol*, 109 (5): 777~786