Agricultural Sci. J. 49 : 4 (Suppl.) : 131-134 (2018) ว. วิทย. กษ. 49 : 4 (พิเศษ) : 131-134 (2561)

การเปรียบเทียบแบบแผนโปรตีนจากสารสกัดเมล็ดถั่วเหลืองที่ไม่ผ่านการเพาะและการเพาะงอก

Comparison of Protein Patterns from the Extracts of Dry Mature Seeds and Germinating Seeds of Soybean (*Glycine max* L.)

บังอร ประจันบาล[1]
Bung-on Prajanban[1]

Abstract

Germination is the process by which an organism grows from a seed or similar structure. The process changes compositions of proteins and amino acids for synthesis of new cells during germination. The patterns of proteins extracted from germinating soybean (*Glycine max* L.) seeds that are correlated with time during germination process have not been clearly studied. The objective of this study was to compare the protein patterns which were extracted from dry mature seeds and germinating seeds of the soybean variety, KKU 35. The germinating seeds were evaluated at 12, 24 and 48 h after water absorption. Protein extracts of both dry mature seeds and germinating seeds were achieved by the consecutive extraction in hexane and water. Protein purity and pattern of each extract were determined by FT-IR spectrometry and SDS-PAGE, respectively. Then, protein band with higher intensity than that of dry mature seeds was identified by LC-MS/MS. Germinating seeds at four evaluation times displayed strong absorption peaks of approximately 1633 cm^{-1}, 1518 cm^{-1} and 1392 cm^{-1}, which were correlated with the amine **I**, amine **II** and amine **III** structures of a protein, respectively. The results from SDS-PAGE demonstrated that amounts of protein extracted from germinating soybean seeds decreased with time. The protein pattern of germinating seeds at 48 h with molecular weight of about 57 kDa showed higher intensity than did the protein pattern of dry mature seeds, and this protein was identified as alpha-subunits of beta-conglycinin, partial [*Glycine max*] by comparing the protein sequences with those in database.

Keywords: Soybean, Germination, beta-conglycinin

บทคัดย่อ

การงอกเป็นกระบวนการเจริญเติบโตของพืชจากเมล็ดหรือโครงสร้างที่คล้ายคลึงกัน กระบวนการนี้ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนและกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบของเมล็ดเพื่อใช้ในการสร้างเซลล์ใหม่ในระหว่างที่เมล็ดงอก โดยแบบแผนโปรตีนที่สกัดจากเมล็ดถั่วเหลือง (*Glycine max* L.) ที่ทำการเพาะงอกสัมพันธ์กับระยะเวลาการงอกยังไม่มีการศึกษาที่ชัดเจน ดังนั้นจึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเปรียบเทียบแบบแผนของโปรตีนที่สกัดจากถั่วเหลืองพันธุ์ KKU 35 ที่ไม่ผ่านการเพาะและที่ผ่านการเพาะงอก โดยภายหลังจากที่เมล็ดดูดซับน้ำแล้วทำการเพาะเมล็ดที่ระยะเวลา 12 24 และ 48 ชั่วโมง จากนั้นสกัดโปรตีนจากถั่วเหลืองทั้งที่ไม่ผ่านการเพาะและการเพาะงอกด้วยเฮกเซนและน้ำ นำไปตรวจสอบความบริสุทธิ์และแบบแผนของสารสกัดโปรตีนด้วยเทคนิค FT-IR และ SDS-PAGE ตามลำดับ แล้วระบุชนิดของโปรตีนจากการเพาะงอกที่มีความเข้มของแถบโปรตีนมากกว่าที่ไม่ผ่านการเพาะด้วยเทคนิค LC-MS/MS ผลการทดลองพบว่าโปรตีนที่สกัดได้ทั้ง 4 สภาวะแสดงเอกลักษณ์การดูดกลืนแสงมากในช่วงเลขคลื่นประมาณ 1633 cm^{-1} 1518 cm^{-1} และ 1392 cm^{-1} ที่บ่งบอกหมู่ amine **I**, amine **II** และ amine **III** ของโปรตีน จากผล SDS-PAGE พบว่าจำนวนแถบโปรตีนที่สกัดได้จากถั่วเหลืองที่เพาะงอกจะลดลงตามระยะเวลา โดยแบบแผนของโปรตีนจากถั่วเหลืองที่งอก 48 ชั่วโมง พบแถบโปรตีนขนาดประมาณ 57 kDa มีความเข้มของแถบโปรตีนมากกว่าถั่วเหลืองที่ไม่ผ่านการเพาะ และเมื่อบ่งชี้ชนิดของโปรตีนในฐานข้อมูลพบว่าเป็นโปรตีน alpha subunit of beta conglycinin, partial [*Glycine max*]

คำสำคัญ: ถั่วเหลือง, การงอก, เบต้า คอนไกลซินิน

[1]คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตสระแก้ว สระแก้ว 27160
[1] Faculty of Agricultural Technology, Burapha University, Sakaeo Campus, Sakaeo 27160

คำนำ

พืชมีการเก็บสะสมโปรตีน ไตรเอซิลกลีเซอรอล และคาร์โบไฮเดรตไว้ในส่วนของ เมล็ด หัว และราก โดยพืชใบเลี้ยงคู่เก็บสะสมโปรตีนปริมาณมากในรูปของเมล็ดเพื่อเป็นแหล่งของคาร์บอน ไนโตรเจน และซัลเฟอร์ที่ใช้สำหรับการงอกของเมล็ดและการพัฒนาเป็นต้นอ่อนของพืช (Yamada *et al*., 2014) โดยถั่วเหลืองเป็นพืชอาหารสำคัญที่มีโปรตีนสะสมอยู่ในเมล็ดประมาณ 35-42 เปอร์เซ็น โดยโปรตีนสะสมหลักเป็นโกลบูลิน 11S และ 7S พบประมาณ 40 และ 30 เปอร์เซ็นตามลำดับของโปรตีนทั้งหมด โดยไกลซินิน (glycinin) เป็นโปรตีนในกลุ่มของ 11S อยู่ในรูปของเฮกซะเมอร์ มีน้ำหนักโมเลกุล 360 kDa ส่วนบีต้าคอนไกลซินิน (β-conglycinin) เป็นกลุ่มของโกลบูลิน 7S มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 180 kDa อยู่ในรูปของไตรเมอร์ที่มีองค์ประกอบเป็นหน่วยย่อยแอลฟา (α) แอลฟา' (α') และเบต้า (β) มีน้ำหนักโมเลกุล 76 66 และ 47.5 kDa ตามลำดับ (Ma *et al*., 2016) โดยเอนไซมกลุ่ม endopeptidase มีบทบาทสำคัญในการย่อยโปรตีนที่เก็บสะสมในเมล็ดที่เป็นโปรตีนในหน่วยย่อยของเบต้าคอนไกลซินินให้มีขนาดโมเลกุลที่เล็กลงหรือถูกย่อยเป็นกรดอะมิโนอิสระ โดยใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์โปรตีนตัวใหม่และสารประกอบไนโตรเจนตัวอื่นๆ เพื่อใช้ในการพัฒนาเป็นต้นอ่อนในระหว่างกระบวนการงอกของเมล็ด (Zakharov *et al*., 2004) จากข้อมูลดังกล่าวจึงศึกษาการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนที่สัมพันธ์กับระยะเวลาการงอกของถั่วเหลืองพันธุ์ KKU 35 ที่ไม่ผ่านการเพาะและที่ผ่านการเพาะงอก

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเตรียมตัวอย่างถั่วเหลือง

นำเมล็ดถั่วเหลืองพันธุ์ KKU 35 มาแช่น้ำเป็นเวลา 8 ชั่วโมง แล้วเพาะลงบนกระบะที่มีทิชชูชุบน้ำให้ชุ่มในภาชนะปิดวางไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 12 24 และ 48 ชั่วโมง จากนั้นอบให้แห้งแล้วนำมาบดให้ละเอียด เติมเฮกเซนลงไปในอัตรา 5 ต่อ 1 วางไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 12 ชั่วโมง แล้วนำถั่วเหลืองที่สกัดไขมันออกวางให้ระเหยแห้งที่อุณหภูมิห้อง

2. การสกัดโปรตีนจากถั่วเหลือง

การสกัดโปรตีนจากถั่วเหลืองโดยการดัดแปลงวิธีการเพียงเล็กน้อยของ Solominoarisoa Sefatie *et al*., (2013) โดยนำตัวอย่างแห้งเติมน้ำลงไปในอัตราส่วน 1 ต่อ 10 แช่ไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 ชั่วโมง แล้วปรับพีเอชให้เป็น 8.0 ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ นำมาปั่นเหวี่ยงที่ 6,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แล้วนำส่วนใสมาปรับพีเอชเป็น 4.5 ด้วยกรดไฮโดรคลอริก เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วนำมาปั่นเหวี่ยงอีกรอบแล้วนำตะกอนที่ได้มาปรับพีเอช 7.0 ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ จากนั้นนำโปรตีนไปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง

3. การวิเคราะห์ตัวอย่างโปรตีนด้วยเทคนิค Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR)

ผงโปรตีนถูกนำมาตรวจวัดหมู่ฟังก์ชั่นของสารประกอบด้วยเทคนิค FTIR-Spectroscopy ด้วยเครื่อง Bruker tensor 27 FT-IR spectrometer และใช้ Platinum Diamond ATR เป็นอุปกรณ์เสริม วัดที่ 64 scans ด้วย Spectral resolution 4 cm^{-1} ทำการวัดตัวอย่าง 5 ซ้ำ บันทึกผลการวัดและวิเคราะห์สเปกตรัมด้วยโปรแกรม Optical User Software (OPUS) 7.5 (Bruker Optics Ltd, Ettlingen, Germany)

4. การทำ SDS-PAGE

เตรียมเจล 12 % separating gel และ 4 % stacking polyacrylamide gel จากนั้นผสมตัวอย่างโปรตีนปริมาณ 15 ไมโครกรัม กับ 2x solubilizing แล้วนำไปต้มประมาณ 2 นาที จากนั้นโหลดตัวอย่างโปรตีนลงบนแผ่นเจล แล้วทำการแยกโปรตีนโดยใช้ Tris-glycine เป็นอิเล็กโทรดบัฟเฟอร์ จากนั้นย้อมสีด้วย coomassie brilliant blue R-250 จนเห็นแถบโปรตีนชัดเจน จากนั้นนำแช่ในสารละลาย destain ประมาณ 1 ชั่วโมง หรือให้เจลที่ไม่มีแถบโปรตีนใส

5. LC-MS/MS

ทำการตัดแถบโปรตีนที่มีขนาดน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 57 kDa จากเมล็ดเพาะงอกที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมง มาย่อยด้วยเอนไซม์ทริปซิน จากนั้นระบุชนิดของโปรตีนด้วยเทคนิค LC-ESI MS/MS (Bruker, Bremen, Germany) แล้วนำข้อมูลที่ได้ไปเทียบกับฐานข้อมูลโปรตีนโดยใช้โปรแกรม MASCOT MS/MS Ion Search (www.matrixscience.com)

ผล

1. การตรวจสอบองค์ประกอบของสารสกัดโปรตีนถั่วเหลืองด้วยเทคนิค FT-IR

การวิเคราะห์โปรตีนที่สกัดได้จากถั่วเหลืองที่ไม่ผ่านการเพาะและถั่วเหลืองเพาะงอกที่ระยะเวลาต่างๆ ด้วยเทคนิค FT-IR พบว่าทั้ง 4 สภาวะ มีการดูดกลืนแสงมากในช่วงเลขคลื่นประมาณ 1633 cm^{-1} 1518 cm^{-1} และ 1392 cm^{-1} โดยการดูดกลืนแสงต่ำในช่วงเลขคลื่นประมาณ 1064 cm^{-1}1160 cm^{-1} 1233 cm^{-1} 1449 cm^{-1} 1745 cm^{-1} 2854 cm^{-1} และ 2924 cm^{-1} แต่การเพาะเมล็ดที่ 48 ชั่วโมงที่ไม่พบการดูดกลืนแสงในช่วงเลขคลื่นประมาณ 1160 cm^{-1} และ 1745 cm^{-1} (Figure1)

2. แบบแผนโปรตีนจากสารสกัดเมล็ดถั่วเหลืองที่ไม่ผ่านการเพาะและการเพาะงอก

เมื่อเปรียบเทียบแบบแผนของสารสกัดโปรตีนในถั่วเหลืองที่ไม่ผ่านการเพาะกับถั่วเหลืองเพาะงอก พบว่าจำนวนแถบของโปรตีนแตกต่างกัน โดยถั่วเหลืองที่ไม่ผ่านการเพาะพบแถบโปรตีน 12 แถบ ถั่วเหลืองเพาะงอกที่ระยะเวลา 12 24 และ 48 ชั่วโมง พบแถบโปรตีนจำนวน 10 7 และ 6 แถบตามลำดับ เมล็ดเพาะงอกที่ 48 ชั่วโมงพบโปรตีนน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 57 kDa มีความเข้มของแถบโปรตีนมากกว่าโปรตีนในเมล็ดถั่วเหลืองที่ไม่ผ่านการเพาะ (Figure 2)

3. การบ่งชี้ชนิดของโปรตีนด้วยเทคนิค LC-MS/MS

ผลการวิเคราะห์ชนิดของโปรตีนที่มีขนาดน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 57 kDa ของถั่วเหลืองเพาะงอกที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมงด้วย LC-MS/MS และระบุชนิดของโปรตีนในฐานข้อมูลพบว่าเป็นโปรตีน alpha subunit of beta conglycinin, partial [Glycine max] (Table 1)

วิจารณ์ผลการทดลอง

โปรตีนจากเมล็ดถั่วเหลืองที่สกัดด้วยเฮกเซนและน้ำ พบการดูดกลืนแสงสูงในช่วงเลขคลื่นประมาณ 1633 cm^{-1} 1518 cm^{-1} และ 1392 cm^{-1} ที่สอดคล้องกับหมู่ amine **I** (~1650 cm^{-1}), amine **II** (~1550 cm^{-1}), amine **III** (1400-1200 cm^{-1}) ที่เป็นโครงสร้างองค์ประกอบของโปรตีน (Barth, 2007) โดยพบว่ามีการปะปนของคาร์โบไฮเดรตและไขมันเพียงเล็กน้อยจากการดูดกลืนแสงต่ำในช่วงเลขคลื่นประมาณ 1064 cm^{-1} 1160 cm^{-1} 1233 cm^{-1} 1449 cm^{-1} 1745 cm^{-1} 2854 cm^{-1} และ 2924 cm^{-1} (Wiercigroch *et al*., 2017; Forfang *et al*., 2017) แต่ที่ระยะเวลาการเพาะเมล็ดที่ 48 ชั่วโมงพบตำแหน่งของการดูดกลืนแสงในช่วงของไขมันและคาร์โบไฮเดรตน้อยกว่าเมล็ดถั่วเหลืองที่ไม่ทำการเพาะ อาจเป็นไปได้ว่ามีการใช้ไขมันและคาร์โบไฮเดรตที่สะสมอยู่ในระหว่างที่เกิดกระบวนการงอกด้วย นอกจากนี้เมล็ดเพาะงอกที่ 24 กับ 48 ชั่วโมง ไม่พบโปรตีนที่มีขนาดน้ำหนักโมเลกุลมากกว่า 57 kDa เมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดที่ไม่ผ่านการเพาะ อาจเป็นไปได้ว่าเมล็ดแห้งมีเอนไซม์ endopeptidase และ carboxypeptidase ที่ไม่สามารถทำงานได้แต่จะทำงานได้เมื่อเมล็ดอยู่ในระหว่างการงอก โดยการย่อยโปรตีนขนาดใหญ่ที่เก็บสะสมไว้ให้มีขนาดที่เล็กลง (Muntz *et al*., 2001) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้เกี่ยวกับการสกัดโปรตีนจากใบเลี้ยงของถั่วเหลืองที่เพาะเป็นระยะเวลา 12 วัน พบว่าที่ระยะเวลาการเพาะงอกมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงโปรตีนในหน่วยย่อยของบีต้าคอนไกลซินิน โดยปริมาณโปรตีนสองหน่วยย่อยคือ α และ α' ลดลงอย่างรวดเร็วโดยไม่พบหลังจากการเพาะเมล็ดที่ระยะเวลา 6 วัน แต่อย่างไรก็ตามพบว่ามีหนึ่งหน่วยย่อยของบีต้าคอนไกลซินินที่มีน้ำหนักโมเลกุล 51.2 kDa เกิดขึ้นในทุกระยะเวลาของการเพาะจนถึงวันที่ 6 ของการเพาะเมล็ด (Wilson *et al*., 1986) โดยมีเอนไซม์ในกลุ่มของ Protease C1 ที่ทำหน้าที่ในการเริ่มต้นการย่อยหน่อยย่อย α และ α' ของบีต้าคอนไกลซินินที่เก็บสะสมในถั่วเหลือง (*Glycine max* L. Merrill) ทำให้พบโปรตีนตัวกลางที่มีขนาด 70 63 61 58 55 และ 53.5 kDa (Qi *et al*., 1992) ซึ่งอาจเป็นไปได้ในกระบวนการงอกของเมล็ดถั่วเหลืองพันธุ์ KKU 35 มีการย่อยโปรตีนในหน่วยย่อยของบีต้าคอนไกลซินินเป็นโปรตีนตัวกลางที่มีขนาดโมเลกุลเล็กลงและมีปริมาณที่เพิ่มขึ้นเมื่อเมล็ดงอกได้ 48 ชั่วโมงคือโปรตีนหน่วยย่อยแอลฟาของบีต้าคอนไกลซินินอาจเก็บสะสมในใบเลี้ยงมากขึ้นเพื่อนำไปใช้ในการพัฒนาเป็นเอ็มบริโอในระหว่างการงอกของเมล็ด แต่อย่างไรก็ตามบีต้าคอนไกลซินินในถั่วเหลืองผสมอาหารสัตว์ก่อให้เกิดการแพ้ ทำให้ลดการเพิ่มน้ำหนักตัว ประสิทธิภาพการใช้อาหารลดลงเพิ่มอาการท้องร่วงของสุกร โดยผลของบีต้าคอนไกลซินินต่อสัตว์ลดลงถ้าใช้ถั่วเหลืองหมักเป็นอาหารสัตว์ (Song *et al*., 2010)

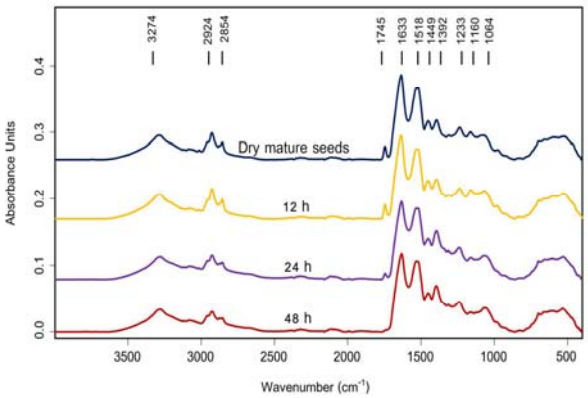

Figure 1 FT-IR spectra of protein extracted from dry mature seeds and germinating seeds of soybeans at 12, 24 and 48 h.

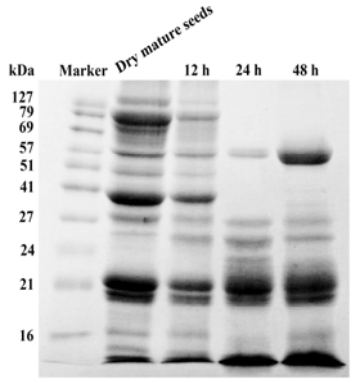

Figure 2 SDS-PAGE of of protein extracted from dry mature germinating seeds of soybean at 12, 24 and 48 h

Table 1 Protein identification by LC-MS/MS after SDS-PAGE.

Protein band	Match to	Protein name	Mass Theory (Da)	Score	Sequence coverage (%)	Peptide sequences
Mw ~57 kDa germination at 48 h	BAA23360.2	alpha subunit of beta conglycinin, partial [Glycine max]	63184	978	33	RSPQLQNLRD, RSPQLQNLRD KFFEITPEKN, RNILEASYDTKF RESYFVDAQPKK,RLQESVIVEISKE RLITLAIPVNKPGRF,KTISSEDKPFNLRS KEQQQEQQQEEQPLEVRK KAIVILVINEGDANIELVGLKE RVPSGTTYYVVNPDNNENLRL RFESFFLSSTEAQQSYLQGFSRN RDLDIFLSIVDMNEGALLLPHFNSK

สรุปผลการทดลอง

จำนวนแถบโปรตีนที่สกัดได้จากถั่วเหลืองที่เพาะงอกจะลดลงตามระยะเวลา โดยถั่วเหลืองที่งอก 48 ชั่วโมง พบแถบโปรตีนขนาดประมาณ 57 kDa มีความเข้มของแถบโปรตีนมากกว่าถั่วเหลืองที่ไม่ผ่านการเพาะ และเมื่อบ่งชี้ชนิดของโปรตีนในฐานข้อมูลพบว่าเป็นโปรตีน alpha subunit of beta conglycinin, partial [*Glycine max*]

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณงบประมาณสนับสนุนจากทุนอุดหนุนการวิจัยจากเงินรายได้ของคณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตสระแก้ว สัญญาเลขที่ ๐๐๑/๒๕๖๑ และขอขอบคุณศูนย์วิจัยปรับปรุงพันธุ์พืชเพื่อการเกษตรที่ยั่งยืน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่อนุเคราะห์ถั่วเหลืองพันธุ์ KKU 35 และศูนย์วิจัยโปรตีนและโปรติโอมิกส์เพื่อการพานิชย์และอุตสาหกรรม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

เอกสารอ้างอิง

Forfang, K., B. Zimmermann, G. Kosa, A. Kohler and V. Shapaval. 2017. FTIR Spectroscopy for Evaluation and Monitoring of Lipid Extraction Efficiency for Oleaginous Fungi. PLoS One 12(1):1-17.

Ma, Y., G. Kan, X. Zhang, Y. Wang, W. Zhang, H. Du and D. Yu. 2016. Quantitative Trait Loci (QTL) Mapping for Glycinin and beta-Conglycinin Contents in Soybean (*Glycine max* L. Merr.). Journal of Agricultural and Food Chemistry 64(17): 3473-3483.

Muntz, K., M.A. Belozersky, Y.E. Dunaevsky, A. Schlereth and J. Tiedemann. 2001. Stored proteinases and the initiation of storage protein mobilization in seeds during germination and seedling growth. Journal of Experimental Botany 52(362): 1741-1752.

Qi, X., K.A. Wilson and A.L. Tan-Wilson. 1992. Characterization of the Major Protease Involved in the Soybean beta-Conglycinin Storage Protein Mobilization. Plant Physiology 99(2): 725-733.

Solominoarisoa Sefatie, R., T. Fatoumata, K. Eric, Y. Hui Shi and G. Le. 2013. In Vitro Antioxidant Activities of Protein Hydrolysate from Germinated Black Soybean (*Glycine max* L.) Journal of Food Science and Technology 5(4): 453-459.

Song, Y.S., V.G. Pérez, J.E. Pettigrew, C. Martinez-Villaluenga and E.G. de Mejia. 2010. Fermentation of soybean meal and its inclusion in diets for newly weaned pigs reduced diarrhea and measures of immunoreactivity in the plasma. Animal Feed Science and Technology 159(1): 41-49.

Wiercigroch, E., E. Szafraniec, K. Czamara, M.Z. Pacia, K. Majzner, K. Kochan, A. Kaczor, M. Baranska and K. Malek. 2017. Raman and infrared spectroscopy of carbohydrates: A review. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy 185: 317-335.

Wilson, K.A., B.R. Rightmire, J.C. Chen and A.L. Tan-Wilson. 1986. Differential Proteolysis of Glycinin and beta-Conglycinin Polypeptides during Soybean Germination and Seedling Growth. Plant Physiology 82(1): 71-76.

Yamada, T., Y. Mori, K. Yasue, N. Maruyama, K. Kitamura and J. Abe. 2014. Knockdown of the 7S globulin subunits shifts distribution of nitrogen sources to the residual protein fraction in transgenic soybean seeds. Plant Cell Reports 33(12): 1963-1976.

Zakharov, A., M. Carchilan, T. Stepurina, V. Rotari, K. Wilson and I. Vaintraub. 2004. A comparative study of the role of the major proteinases of germinated common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) seeds in the degradation of their storage proteins. Journal of Experimental Botany 406: 2241-2249.