総 説

大豆の用途拡大のためのリポキシゲナーゼ低下大豆の育種

喜 多 村 啓 介*

Breeding for Soybean Cultivars Having Low Lipoxygenase Levels
for Utilization of Soybean

Keisuke KITAMURA*

* Faculty of Agriculture, Iwate University, 3-18-8 Ueda, Morioka 020

大豆は栄養価が高く、食品加工上の機能特性においても優れた食品素材である。しかしながら、大豆は加工・利用工程において解決困難な大きな問題を抱えている。それは、種子中の酵素・リポキシゲナーゼが大豆油を酸化することに起因する不快臭・不快味の発生が、大豆加工工程に常に伴うことにある。

リポキシゲナーゼ (EC 1.13.11.12) は、シス、シス-1,4-ペンタジエン構造を有する不飽和脂肪酸や不飽和脂肪に分子状酸素を添加し、ヒドロペルオキシドを生成する酵素であり、植物界に広く存在することが知られている¹⁾⁻³⁾。中でも大豆種子には特に多量に(種子全蛋白質の約 1%⁴⁾) 含まれており、古くから大豆粉のこの特性は、小麦粉などの脱色や製パンドウの弾性強化などに利用されて来た⁵⁾⁶⁾。

しかしながら、本酵素は大豆油を劣悪化するばかりでなく、さらに酸化物は青臭い不快臭やにがみなどの不快味の原因となる化合物を生じるため、食品素材として敬遠される大きな欠点を生み出している。これら不快臭等の原因となる化合物は本酵素によって生成された酸化産物(ヒドロペルオキシド)が分解して生じる中鎖アルデヒド・アルコール類やフラン類やケトン類であると考えられている⁷⁾⁻¹¹⁾。さらにやっかいなことに、青臭みに最も寄与するアルデヒド類は大豆蛋白質と強く結合するため、これらの不快臭を完全に除去することが非常に困難になっている¹²⁾。

これまで、リポキシゲナーゼによる大豆油の酸化や不快臭発生を低く抑えるために、主として加熱処理による

酵素の不活性化が行われて来た⁸⁾¹³⁾⁻¹⁵⁾。また生成した不快臭を除去するために、蒸煮や有機溶媒による抽出⁸⁾¹⁶⁾¹⁷⁾、さらにはアルデヒド脱水素酵素による分解¹²⁾¹⁸⁾や赤外線照射処理¹⁹⁾などが試みられて来た。しかしながら、過度の加熱処理や有機溶媒による処理は、大豆蛋白質の変性による食品素材としての機能性喪失を引起すことや、温和な処理では必ずしも脱臭が完全でないことやコストが高くつくことなどがあり、まだ完全な問題解決に至っていないのが実情である。

これまで、リポキシゲナーゼ活性が大豆の品種や生育条件によって異なるという報告²⁰⁾²¹⁾はあったが、これらを利用して種子中の本酵素活性を遺伝育種的に低下させようとする試みは全くなされなかった。ところが極く最近になって、リポキシゲナーゼ・アイソザイム各欠失変異体大豆が相続いて発見されたことにより状況は一変し、大豆種子中のリポキシゲナーゼ活性量を遺伝的にコントロールすることが可能となった。

本稿では、大豆リポキシゲナーゼの種類と性質について概説した後、各アイソザイム欠失変異体大豆発見の経緯を述べる。また我々の研究室を中心に進められているリポキシゲナーゼ低下大豆の育成の現状と今後の見通しについて紹介し、最後に、本酵素低下大豆が大豆の有効利用性拡大に及ぼす影響について私見をまじえて述べてみたい。

1. 大豆リポキシゲナーゼの種類と性質

大豆種子中には少なくとも4種のリポキシゲナーゼが存在することが、イオン交換クロマトグラフィー²²⁾⁻²⁹⁾、

* 岩手大学農学部

アフィニティークロマトグラフィー^{30)~33)}, および HPLC-イオン交換クロマトグラフィー³⁴⁾ による分析に基づき報告されている。このうち、いわゆる Theorell 型酵素に相当する弱アルカリ側で遊離の脂肪酸に強く作用する酵素の存在と性質については一致した報告が成されているが、中性付近に最適 pH をもち、エステル型の基質にも良く作用する酵素の種類と性質については必ずしも一致した結果が得られていない。これらの不一致は、活性測定条件の差異や酵素の不安定性および分画酵素の純度の違い等によるものであらうと考えられる。

筆者らの研究室で行われたリボキシゲナーゼ各欠失変異体と普通大豆のイオン交換クロマトグラフィーによる比較分析結果³⁵⁾は、パデュー大学の AXELROD 教授らによる一連のリボキシゲナーゼ研究結果と最もよい一致を示した。そこで彼らの報告文献¹⁾²²⁾²⁴⁾²⁸⁾に基づき、大豆種子中の3種のリボキシゲナーゼ (L-1, L-2, L-3) の最適 pH や基質特異性や熱安定性を要約すると以下の様にまとめられる。

L-1: i) pH 9 付近に最適 pH を有し、中性付近では活性が低い。ii) リノール酸など遊離不飽和脂肪酸に良く作用し、トリグリセリドなどの中性脂肪にはあまり作用しない。iii) L-2, L-3 に較べて熱にかなり安定である。

L-2: i) pH 7 付近に最適 pH を有す。ii) L-1, L-3 に較べてアラキドン酸に対する活性がリノール酸に対する活性よりもはるかに高い。iii) 不安定な酵素であり精製が困難である。熱失活され易い。iv) Ca^{2+} の共存で活性が高められる。

L-3: i) pH 7 付近に最適 pH を有す。ii) リノール酸によく作用するがアラキドン酸にはあまり作用しない。エステル型の中性脂肪にも割合良く作用する。

これら3種のリボキシゲナーゼのうち、L-1 の蛋白質化学的性質や反応機構の解析が最も進んでおり、また熱失活を受けにくいということもあって、これまで L-1 が大豆油酸化・不快臭発生に主に関与する酵素ではないかと考えられて来た。しかし、L-1 は中性付近では活性が低く、また大豆種子中には遊離脂肪酸は少なくほとんどがトリグリセリドであることを考え合わせると、L-1 が大豆油酸化・不快臭発生に最も関与しているとは考えにくい。最近、このことを証明する研究結果が報告されている³⁵⁾。

一方、L-2, L-3 は中性付近でトリグリセリドに比較的良く作用する。従って、大豆加工工程で不快臭発生に寄与しているのは L-1 よりむしろ L-2 と L-3 ではな

いかと考えられる。事実、このことを支持する研究結果が報告されている³⁶⁾。

2. リボキシゲナーゼ欠失変異体発見の経緯と各酵素欠失特性

(1) L-1 欠失変異体

イリノイ大学の HILDEBRAND and HYMOWITZ (1981)³⁷⁾ は、L-1 は pH 9.0 でリノール酸に対し強い活性を示すが、L-2, L-3 は活性を示さないことに着目し、pH 9.0 で大豆粗抽出液の活性を測定することにより、アメリカ農務省 (USDA) 保存の大豆コレクション約 6000 系統に当たった。その結果、L-1 活性を欠く P.I. (Plant Introduction) 133226 と P.I. 408251 の2系統が見出され、L-1 抗血清を用いた免疫反応によってもこの欠失性は確認された。これら2系統の L-1 欠失性は、いずれも劣性単一遺伝子による支配であることが示されている³⁸⁾。

これら L-1 欠失大豆は、種子の登熟および発芽時を通じて L-1 活性を欠失していたが、種子の代謝生理には何ら影響が認められなかったことが報告されている³⁹⁾。

(2) L-3 欠失変異体

一方、筆者らは、大豆蛋白質の含硫アミノ酸含量を高めることをめざして、SDS-ゲル電気泳動法を用いて、7S・11S 蛋白質サブユニットの変異体を検索しているうちに、リボキシゲナーゼに相当する泳動バンド (3種の酵素はいずれも分子量 10 万の大きな単一ポリペプチド鎖から成り、Laemli 系 SDS-ゲル電気泳動で他の蛋白質泳動バンドとは離れた位置に移動するので識別が容易) 量が大幅に低下した早生夏と一号早生大豆品種を見出した⁴⁰⁾。

その後、L-3 に対する抗体を用いた免疫化学分析⁴¹⁾および DEAE-Sephacel カラムクロマトグラフィー分析²⁹⁾により、これら2系統は L-3 を完全に欠失した変異体であることが明らかにされた。これらの L-3 欠失性は L-1 欠失性と同様、劣性単一遺伝子による支配であることが示されている⁴¹⁾。

その後の検索の結果、L-3 欠失大豆は早生夏、一号早生以外に数系統見出されており、それらはすべて九州地方の夏大豆に由来するものであった (喜多村啓介ら、未発表)。その中で、大豆品種東北 74 号は西海 20 号 (九州の夏大豆、L-3 欠の高蛋白系統) を片親として高蛋白大豆品種育成の一環として東北農業試験場刈和野試験地で育成されたものであり、たまたま西海 20 号の血を引く L-3 欠失大豆であった。このことは、育種家にとって最も重要視される大豆の生産性や病虫害抵抗性などの重要

な農業形質と L-3 欠失性との間に関連性がないことを示唆している。

事実、2ヶ年（昭和57、58年）に渡って、岩手大学農学部圃場（盛岡）で、L-1 および L-3 欠大豆数系統を普通栽培した範囲では、大豆の発芽から完熟までの生活環において、農業上問題となる関連形質は何ら認められていない。

(3) L-2 欠失変異体

昭和56年7月から筆者は米国バデュー大学に滞在し、当地で L-2 欠失変異体を検索する機会を得た。当時、3種の酵素（L-1、L-2、L-3）は高速液体クロマトグラフィーや O'Farrell 法による2次元ゲル電気泳動法で分離・検出することが可能であったが、数千系統を検索する方法としては現実的でなかった。また活性染色法もいく通りか報告されていた²⁷⁾⁴²⁾⁴³⁾が、再現性および簡易性において問題があった。

種々検討した結果、Laemmli 系⁴⁴⁾の SDS ゲル電気泳動法の分離ゲルの pH を 0.4 下げ、25 cm の長い平板ゲルを用い長時間（14～16 h）泳動することにより、3種の酵素を分離することができた⁴¹⁾。尚、現在ではより改良されており、普通サイズの長さ（14 cm）のゲルを用い、150 V で 7～8 h 泳動することにより3種の酵素バンドをはっきりと分離できる方法が確立されている³⁹⁾。

本法を用いて、USDA 北部研究所に保存されている大豆系統約2500の検索を行った。その結果、L-2 酵素に相当すると考えられる泳動バンドが消失した P. I. 86023 系統が見出された。その後 L-2 に対する抗血清を用いた免疫化学分析²⁹⁾⁴⁵⁾および DEAE-Sephacel カラムクロマトグラフィー分析³⁹⁾により、P. I. 86023 大豆は L-2 を完全に欠失した変異体であることが明らかにされた。この L-2 欠失性もまた、L-1 および L-3 欠失性と同様、男性単一遺伝子による支配であることが示されている⁴⁶⁾。

L-2 欠失大豆（P. I. 86023）も L-1 欠および L-3 欠大豆と同様、大豆の発芽から完熟までの生活環において生理的障害は何ら認められていない。ただ、登熟中の子実を食害する害虫・マメシロイガによる被害率が普通大豆よりも高い（平均で約1.5倍程）ことが観察された⁴⁶⁾。マメシロイガによる被害率は種皮色や茎葉の毛茸の長さによっても変わることが知られており⁴⁷⁾、L-2 欠失性とマメシロイガ食害性との間に関連性があるかどうかは今後に残された課題である。

いずれにしてもマメシロイガによる被害防止には、莢の形成期の比較的短期間の殺虫剤散布が有効であるこ

とが知られており、たとえ L-2 欠失性とマメシロイガ食害性との間に関連性があるとしても、それ程深刻な問題になって来るとは考えにくい。

3. リボキシゲナーゼ低下大豆の育成

(1) リボキシゲナーゼ欠失大豆育成の可能性

L-1、L-2、L-3 各欠失遺伝子が見だされたことにより、大豆種子中のリボキシゲナーゼ活性量を遺伝的にコントロールすることができるようになったといえよう。しかし、実際に本酵素活性のない、あるいは大幅に低下した大豆を育種していくためには、本酵素の除去が大豆植物体の生産性にとってそれ程深刻な悪影響をもたらさないことへの見通しが必要である。

前述した様に、各欠失変異体大豆には植物生理的な悪影響は何ら認められていない。これらの事実は、本酵素活性を遺伝的に低下させた大豆品種育成の可能性を支持するものである。しかしながら、大豆の有効利用性につなげるためには1種類の酵素を除去するだけでは不十分であり、同時に2種類以上の酵素を除去する必要があると考えられる。

ところで2種類の酵素を同時に欠く2重欠失体や、本酵素をすべて欠く3重欠失体にした場合に植物生理的な問題は出て来ないであろうか。これまでのところ、筆者らの研究では、L-1 と L-3、および L-2 と L-3 を同時に欠く2重変異体が得られている。これらは正常に発芽・生育・登熟し、植物生理的な問題は何ら認められていない。これらの結果は、少なくとも L-1 と L-3、および L-2 と L-3 が同時に除去された大豆品種を育成することが可能であることを示している。

それでは、リボキシゲナーゼは何ら植物生理的な役割を担っていないであろうか？次に、植物リボキシゲナーゼの生理的側面について簡単に考察する。

(2) リボキシゲナーゼの生理的側面

これまで種子リボキシゲナーゼの生理的役割については、発芽実生の脂質酸化作用⁴⁸⁾、種子老化との関連性⁴⁹⁾、病原菌⁵⁰⁾や害虫⁵¹⁾に対する防御作用や発芽初期段階の代謝活性制御作用⁴⁾などが指摘されているが、それらのいづれにも決定的な証拠は得られていない。

リボキシゲナーゼは葉や果実などにも存在することが知られており¹⁾⁻³⁾、独得の緑葉臭や果実臭の発生に関与している²⁾⁶⁾。これらリボキシゲナーゼの生理的意義については未だほとんど明らかにされていないが、以前から言われている様に、エチレンやアブシジン酸など植物ホルモンの合成・作用との関与の可能性を指摘する報告があり、文献2)および3)にまとめられている。最近で

も、リボキシゲナーゼが植物の生長・成熟・老化に関するとの報告がある^{52)~54)}。

大豆葉中にもリボキシゲナーゼが存在することが知られているが³⁾⁵⁵⁾、種子リボキシゲナーゼとの異同性については全くわかっていない。発芽大豆の胚軸で新しく合成されたリボキシゲナーゼは、種子酵素とは免疫的にも分子量も異なる別種の酵素であるとの報告⁵⁶⁾は、種子酵素が他組織酵素とは別種である可能性を示唆するものとして興味を持たれる。種子酵素欠失変異体大豆と普通大豆の葉中リボキシゲナーゼの比較研究が、これらのことを明らかにする上で、また本酵素の生理的意義を考察する上で必要と思われる。

最近、大豆のウレアーゼに関して示唆に富む報告がされている^{57)~59)}。POLACCO ら (1982年)⁵⁷⁾は種子ウレアーゼを欠失する大豆変異体を見出したが、後になって、普通大豆の1/500程度の活性を有していることを明らかにした。このことがきっかけとなって、種子と葉のウレアーゼを比較研究したところ、2種の酵素は別種であり、変異体種子中にわずかに残存する酵素は葉ウレアーゼと同一であることが明らかにされた。このことは、種子中の主要ウレアーゼと葉ウレアーゼの遺伝子発現が別支配であることを示している。

筆者は、動物リボキシゲナーゼが重要な生理的意義を担っている様に、植物リボキシゲナーゼも何らかの重要な生理的役割を担っているものと考えているが、大豆ウレアーゼの例にみられる様に、植物生理的に重要なリボキシゲナーゼと種子中のリボキシゲナーゼは別種の可能性が高いと考えている。前述した様に、L-1とL-3およびL-2とL-3を同時に欠失した2重変異体大豆が植物生理的に正常であるという事実は、この考え方を支持していると思われる。

以下に筆者らの研究室が中心となって進めている本酵素低下大豆の育成の現状について紹介する。

(3) L-2・L-3 同時欠失大豆の育成

L-2欠失変異体とL-3欠失変異体の交雑F₂種子を分析した結果は、L-2、L-3各欠失性が独立に遺伝し、L-2とL-3を同時に欠失した2重欠失種子が容易に得られることが示された⁶⁰⁾。またL-2・L-3同時欠失種子を生食したところ、不快臭の発生がほとんど抑えられていることがわかった。そこで、現在以下の2組合せの交配によりL-2・L-3同時欠失大豆の育種を進めている。

①早生夏 (L-3 欠) × P. I. 86023 (L-2 欠)

1982年11月に早生夏を母方にして交配し、以下、交配後代を半粒法 (種子の胚軸と反対側の子葉切片約10

図1 改良 SDS-PAGE²⁹⁾ による大豆粗抽出液のリボキシゲナーゼ各酵素の分離

レーン 1~5, L-2・L-3 同時欠失 F₄ 種子各粒
レーン 6, 10, ライデン (普通大豆)
レーン 7, P. I. 408251 (L-1 欠)
レーン 8, P. I. 86023 (L-2 欠)
レーン 9, 早生夏 (L-3 欠)

mg を削り取って改良した SDS-ゲル電気泳動法²⁹⁾分析し、残りを播種)と温室を利用した世代促進を繰り返す (一年間に4世代の促進が可能) ことにより、1984年7月現在、F₄植物が開花するところまで来ている。尚、F₄種子の同時欠失性を示す泳動パターンと溶出パターンを図1および図3-Aに示した。

②東北74号 (L-3 欠) × P. I. 86023 (L-2 欠)

1983年3月、東北74号を母方にして交配し、F₁を得た。以下、東北74号を反復親とし、L-2欠遺伝子が残るように連続戻し交配を行った。1984年7月現在、BC₂植物が開花したところまで来ている。今後さらに東北74号への戻し交配を2回程行った後、2~3回の自殖を行うことにより、東北74号にすべての点で酷似したL-2・L-3同時欠失大豆品種が育成できる予定である。尚、東北74号は、東北農試・刈和野試験地で育成された大豆品種であり、東北地方では普通に収穫できる大豆である。

(4) L-1・L-3 同時欠失大豆の育成計画

L-1欠失性とL-3欠失性が独立遺伝し、各欠失変異体間の交雑F₂種子から、現論的には1/16の頻度でL-1・L-3同時欠失種子が得られることは、既に予備的に明らかにされていた⁴¹⁾。その後、早生夏 (L-3 欠) × P. I. 408251 (L-1 欠) の交雑F₂種子を半粒法で分析し、選抜・播種することにより、L-1・L-3同時欠失大豆が生育可能であることを知った。尚、F₃種子のL-1・L-3同時欠失性を示す泳動パターンと溶出パターンを図2および図3-Bに示した。

L-1欠失大豆2系統のうち、P. I. 133226は極晩生大豆であり、東北地方の大豆 (早生から中生) との交配が困難であった。そこで、中晩生のP. I. 408251をL-1欠

図 2 改良 SDS-PAGE²⁹⁾ による大豆粗抽出液のリポキシゲナーゼ各酵素の分離

レーン 1, ライデン (普通大豆)

レーン 2~7, L-1・L-3 同時欠失 F_3 種子各粒

レーン 8, スズユタカ (普通大豆)

図 3 DEAE-Sephacel カラムを用いた 2 重欠失大豆粗抽出液のリポキシゲナーゼ溶出パターン

A: L-2・L-3 同時欠失 F_4 種子 (1.5 g)

B: L-1・L-3 同時欠失 F_3 種子 (1.5 g)

●—● pH 9.0 でのリノール酸に対する活性

■—■ pH 7.0 でのリノール酸に対する活性

▲—▲ pH 7.0 でのアラキドン酸に対する活性

○---○ 280 nm における蛋白吸収

溶出条件および酵素活性測定条件は文献 29) の条件と同一である

尚, 普通大豆, L-1, L-2, L-3 各欠失大豆の溶出パターンは文献 29) に示されている。

遺伝子源として用いることにした。本系統は小粒・黒皮であることや、やや半野生型の草型を示すため、L-1・L-3 同時欠失大豆品種育成のための交配親として直接用いるには無理がある。そこで北関東・東北地方の代表的な品種であるスズユタカに 3~4 回程度戻し交配した後、スズユタカ型の L-1 欠失大豆を選抜し、交配親として用いることを計画している。

尚, 米国では中西部の代表的な品種であるウィリアムスへの L-1 欠失遺伝子導入がほぼ完成しており、この L-1 欠失ウィリアムス同質系統は種々の点でウィリアムスとほとんど差異がないということである (HILDEBRAND からの私信)。

(5) L-1・L-2・L-3 同時欠失大豆作出の可能性

3 種類の 2 重欠失大豆のうち、L-1・L-2 同時欠失種子はまだ得られていない。L-1・L-2・L-3 同時欠失 (完全欠失) 種子の作出は、当然のことであるが、L-1・L-2 同時欠失大豆が作出されてはじめて可能となる。

L-1・L-3 同時欠失系統に L-2 欠失系統を支配して得た F_2 種子 157 粒の分析結果を表 1 に示した。これらの結果は、前述した様に L-1 と L-3 欠失性および L-2 と L-3 欠失性は各々独立遺伝し、L-1・L-3 および L-2・L-3 同時欠失種子がほぼ期待数近く得られることを示しているが、L-1 と L-2 欠失性は遺伝的に強く連鎖しているか、あるいは L-1 と L-2 が同時に欠失すると何らかの原因で種子が形成されないのかいずれかの可能性を示唆している。L-1・L-2 同時欠失大豆の作出が可能かどうかを明らかにすることは今後に残された重要な課題の一つである。

4. リポキシゲナーゼ低下大豆と大豆の有効利用性拡大

(1) 本酵素欠失性と抑臭性

最近、的場ら³⁶⁾は、普通大豆および L-1, L-2, L-3 各欠失変異体大豆から豆乳を調製し、青臭みの主な化合物とされている *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*-ヘキサナール量が普通品種 > L-3 欠 > L-1 欠 > L-2 欠の順であることを示した。このことは官能検査の結果である L-2 欠失大豆の「青臭み」が最も低かったことと一致しており、L-2 が主として豆乳の青臭み発生に関与していることを示している。しかし、官能検査では、普通品種 > L-1 欠 > L-3 欠 > L-2 欠の順の青臭さとなり、L-1 欠 L-3 欠については *n*-ヘキサナール含量と抑臭度の程度が一致していない。

いずれにしても、L-2 と L-1 か L-3 が同時に欠失した 2 重欠失大豆の不快臭発生は非常に低く抑えられるこ

表1 L-1, L-2, L-3 の存在に関する L-1・L-3 同時欠失体×L-2 欠失体大豆の F₂ 種子分離

酵素の有無			種子数 観察値(期待値)	χ^2 値 (9:3:3:1)	確率 <i>P</i>
L-1	L-2	L-3			
+	+		92(88.31)	0.154	10.458 <i>P</i> < 0.01
+	-		29(29.44)	0.007	
-	+		36(29.44)	1.462	
-	-		0(9.81)	8.835*	
	+	+	99(88.31)	1.294	4.338 <i>P</i> > 0.2
	+	-	29(29.44)	0.007	
	-	+	20(29.44)	3.027	
	-	-	9(9.81)	0.010*	
+		+	89(88.31)	0.005	1.356 <i>P</i> > 0.5
+		-	32(29.44)	0.223	
-		+	30(29.44)	0.011	
-		-	6(9.81)	1.117*	

* Yates 補正

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 同時欠失大豆は数多く得られており、これらを生食した官能検査では、青臭みを全く感じなかったという結果を得ている。

(2) L-2・L-3 同時欠失大豆の豆乳製造等への利用

健康食品ブームを反映してか、ここ数年、豆乳の消費量が大幅に増大し、青臭みがほとんどない味の良い豆乳がつくられる様になっている。しかし、市販の豆乳の大部分はわずかに残存する青臭みをかくすために、果物やコーヒーなどのフレーバーを添加しているため本来の豆乳のイメージとは違ったものになっている。また豆乳の蛋白含有率を高くすると、どうしても青臭みが高くなるため、固形物含有率を低くしなくてはならず、豆乳が「水っぽい」といった欠点を生み出すことになっている。このように、すぐれた豆乳製造技術が数多く開発された今日においても、リボキシゲナーゼによる青臭み発生の問題がすべて解決された訳ではない。

青臭みのない L-2・L-3 同時欠失大豆が豆乳製造原料に用いられるなら、今の市販豆乳より低コストでおいしく味の濃い豆乳が造られることは容易に想像される。豆乳は栄養的・医学的に非常にすぐれた健康食品であり、添加物をほとんど含まない自然食品としての有効利用も期待される。

また、L-2・L-3 同時欠失大豆の発芽もやしの「青臭み」も大幅に低下しており、生食することも十分可能である。従って、L-2・L-3 欠失大豆は大豆もやしの有効利

用を拡大することになるかも知れない。

(3) 大豆製油産業への影響

わが国の大豆の消費量は約500万tであり、その約8割が製油用に利用されている。世界的にみても大豆は製油の原料としての役割が大きく、また副産物である大豆油粕(脱脂大豆)は飼料としてあるいは蛋白食品加工用素材として利用価値が高い。リボキシゲナーゼは大豆製油工程においても問題となっており、主に、油抽出前に熱処理を行うことにより本酵素の作用を抑えている。

大豆製油上、最も問題となる酵素は3種のうちのいずれであろうか。大豆油はほとんどトリグリセイドから成り、また pH の条件も考え合わせると、L-1 はあまり問題とならないのではないかと考えられる。しかし果してそうであろうか? L-1 が熱失活されにくい酵素であることを考慮すると、やはり L-1 が最も問題となっている酵素ではないかと推察される。というのは、熱失活が不十分で少しでも L-1 活性が残存していれば、たとえ反応が極めてゆっくりだとしても、確実に油(脱脂大豆の残存油)の酸化が進行し劣化を招くと考えられるからである。

従って、L-1 と L-3 が同時に欠失した大豆品種の育成に成功すれば、製油産業にとって画期的な大豆となることが予測される。その理由は、L-2 は特に熱に不安定な酵素であり²²⁾、過度の加熱を行わなくても容易に失活されると考えられるからである。

過度な加熱処理を行うことなく大豆油製造が可能となればどのような利益もたらされるであろうか。熱エネ

ルギーの節約はもちろんのこと、大豆蛋白質本来のすぐれた食品素材としての機能特性を保った脱脂大豆ができ、大豆蛋白食品への有効利用がさらに拡げられるものと期待される。

大豆のリボキシゲナーゼ除去の育種が成功の見通しを得られるかどうかは、現在育成中の L-2・L-3 同時欠失あるいは L-1・L-3 同時欠失大豆系統のここ1~2年の栽培・増殖試験にあると思われる。成功の見通しが得られ、また実際の加工・利用上にも価値が認められた場合には、国公立の試験研究機関での本格的な育種をスタートすることが必要となるであろう。

大豆の主要生産国である米国では、リボキシゲナーゼ欠失遺伝子を利用した大豆油改良に関する関心は高く⁹⁾、非公式には育種が始められたことを耳にしている。

インドでもマメ類をよく食するが、大豆の利用はあまり高くない。これはインドで大豆栽培ができないからではなく、大豆の強い青臭みがインド人に敬遠されるためだと聞いている。青臭みのほとんどない大豆が開発されれば、インドでの大豆利用を促すことになるであろうし、発展途上国の蛋白不足問題を解決する一助にもなると期待される。

本稿の校閲をしていただいた岩手大農学部海妻矩彦教授と、執筆を助めて下さいました東北大農学部金田尚志教授に深く感謝いたします。また半粒法での種子分析を分担してくれた菊池彰夫君に感謝します。

文 献

- AXELROD, B.: *Advances in Chemistry Series*, **136**, 324 (1974).
- GALLIARD, T. and CHAN, H.W.S.: *The Biochemistry of Plants 4* (Academic Press), p. 131 (1980).
- SEKIYA, J., KAJIWARA, T., MUNESHIKA, T. and HATANAKA, A.: *Phytochemistry*, **22**, 1867 (1983).
- VERNOOY-GERRITSEN, M., BOS, A.L.M., VELDINK, G.A. and VLEGENTHART, J.F.G.: *Plant Physiol.*, **73**, 262 (1983).
- WOLF, W.J.: *J. Agric. Food Chem.*, **23**, 136 (1975).
- ESKIN, N.A.M., GROSSMAN, S. and PINSKY, A.: *Crit. Rev. in Food Sci. and Tech.*, **9**, 1 (1977).
- FUJIMAKI, M., ARAI, S., KIRIGAYA, N. and SAKURAI, Y.: *Agric. Biol. Chem.*, **29**, 855 (1965).
- WILKENS, W.F. and LIN, F.M.: *J. Agric. Food Chem.*, **18**, 333 (1970).
- SESSA, D.J., WARNER, K. and RACKIS, J.J.: *J. Agric. Food Chem.*, **24**, 16 (1976).
- SESSA, D.J. and RACKIS, J.J.: *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **54**, 468 (1977).
- SESSA, D.J.: *J. Agric. Food Chem.*, **27**, 234 (1979).
- 佐々木隆造・千葉英雄: *化学と生物*, **21**, 536 (1983).
- MUSTAKUS, G.C., ALBRECHT, W.J., MCGHEE, J.E., BLACK, L.T., BOOKWALTER, N.G. and GRIFFIN, E.L.Jr.: *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **46**, 623 (1969).
- FUKUSHIMA, D.: *Cereal Chem.*, **46**, 156 (1969).
- BROWN, B.D., WEI, L.S., STEINBERG, M.P. and VILLOTA, R.: *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **59**, 88 (1982).
- ELDRIGE, A.C., WARNER, K. and WOLF, W.J.: *Cereal Chem.*, **54**, 1229 (1977).
- BORHAN, M. and SNYDER, H.E.: *J. Food Sci.*, **44**, 586 (1979).
- SASAKI, R., OKUMURA, K., KITABATAKE, N. and CHIBA, H.: *J. Food Sci.*, **47**, 31 (1982).
- KANANI, M.K., ZUILICHEM, D.J., ROOZEN, J.R. and PILNIK, W.: *Lebensm. Wiss. Technol.*, **15**, 139 (1982).
- HAMMOND, E.G., FEHR, W.R. and SNYDER, H.E.: *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **49**, 33 (1972).
- CHAPMAN, G.W., ROBERTSON, J.A., BURDICK, D. and PARKER, M.B.: *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **53**, 54 (1976).
- CHRISTOPHER, J.P., PISTORIUS, E.K. and AXELROD, B.: *Biochim. Biophys. Acta*, **198**, 12 (1970).
- YAMAMOTO, A., YASUMOTO, K. and MITSUDA, H.: *Agric. Biol. Chem.*, **34**, 1169 (1970).
- CHRISTOPHER, J.P., PISTORIUS, E.K. and AXELROD, B.: *Biochem. Biophys. Acta*, **284**, 54 (1972).
- AXELROD, B., CHEESEBOURGH, T.M. and LAAKSO, C.: *Methods Enzymol.*, **71**, 441 (1981).
- DIET, E. and STAN, H.J.: *Planta*, **142**, 321 (1978).
- VERHUE, W.M. and FRANCKE, A.: *Biochim. Biophys. Acta*, **285**, 43 (1972).
- DRESEN, T.D., DICKENS, M. and KOCH, R.B.: *Lipids*, **17**, 964 (1982).
- KITAMURA, K.: *Agric. Biol. Chem.*, **48**, 2339 (1984).
- GROSSMAN, S., TROP, M., YARONI, S. and WILCHEK, M.: *Biochem. Biophys. Acta*, **289**, 77 (1972).
- ALLEN, J.C., ERIKSSON, C. and GALPIN, J.R.: *Eur. J. Biochem.*, **73**, 171 (1977).

- 32) SEKIYA, J., KAJIWARA, T. and HATANAKA, A.: *Agric. Biol. Chem.*, **42**, 677 (1978).
- 33) ANDRAWIS, A., PINSKY, A. and GROSSMAN, S.: *Phytochem.*, **21**, 1523 (1982).
- 34) RAMADOSS, C. S. and AXELROD, B.: *Anal. Biochem.*, **127**, 25 (1982).
- 35) HILDEBRAND, D.・鬼頭 誠: 日本農芸化学会昭和59年度講演要旨集, p. 132 (1984).
- 36) 的場輝佳・日高博志・成田宏史・喜多村啓介・海妻矩彦・鬼頭 誠: 日本農芸化学会昭和59年度講演要旨集, p. 132 (1984).
- 37) HILDEBRAND, D. F. and HYMOWITZ, T.: *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **58**, 583 (1981).
- 38) HILDEBRAND, D. F. and HYMOWITZ, T.: *Crop Science*, **22**, 851 (1982).
- 39) HILDEBRAND, D. F. and HYMOWITZ, T.: *Bot. Gaz.*, **144**, 212 (1983).
- 40) 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).
- 41) KITAMURA, K., DAVIES, C. S., KAIZUMA, N. and NIELSEN, N. C.: *Crop Science*, **23**, 924 (1983).
- 42) GUSS, P. L., RICHARDSON, T. and STAHMANN, M. A.: *Cereal Chem.*, **44**, 608 (1967).
- 43) DELUMEN, B. O. and STANLEY, J. K.: *Anal. Biochem.*, **72**, 428 (1976).
- 44) LAEMMLI, U. K.: *Nature*, **227**, 680 (1970).
- 45) 喜多村啓介・海妻矩彦・NIELSEN, N. C.: 育種学雑誌, **33**巻別冊 2, 322 (1983).
- 46) 熊谷 享・喜多村啓介: 育種学雑誌, **34**巻別冊 1, 136 (1984).
- 47) 大庭寅雄・異儀田和典・原 正紀: 育種学最近の進歩, **24**, 70 (1983).
- 48) HOLMAN, R. T.: *Arch. Biochem. Biophys.*, **17**, 459 (1948).
- 49) HARMAN, G. E. and MATTICK, L. R.: *Nature*, **260**, 323 (1976).
- 50) LUPU, R., GROSSMAN, S. and COHEN, Y.: *Physiol. Plant Path.*, **16**, 241 (1980).
- 51) SHUKLE, R. H. and MURDOCK, L. L.: *Environ. Entomol.*, **12**, 787 (1983).
- 52) KUBACKA-ZEBALSKA and KACPERSKA-PALACZ, A.: *Physiol. Vég.*, **18**, 339 (1980).
- 53) VICK, B. A. and ZIMMERMAN, D. C.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **111**, 470 (1983).
- 54) ICHII, T. and HAMADA, K.: *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, **51**, 493 (1983).
- 55) NIELSEN, N. C. からの私信.
- 56) PETERMAN, T. K. and SIEDOW, J. N.: *Plant Physiol.*, **72**, No. 1 (Supplement), p. 34 (1983).
- 57) POLACCO, J. C., THOMAS, A. L. and BLEDSOE, P. J.: *Plant Physiol.*, **69**, 1233 (1982).
- 58) POLACCO, J. C. and WINKLER, R. G.: *Plant Physiol.*, **74**, 800 (1983).
- 59) KHRR, P. S., BLEVINS, D. G., RAPP, B. J. and RANDALL, D. D.: *Physiol. Plant.*, **57**, 339 (1983).
- 60) 喜多村啓介・菊池彰夫: 育種学雑誌, **34**巻別冊 2, 158 (1984).
- 61) HARDIN, B.: *Agricultural Research*, Jan-Feb, 11 (1983).

(昭和59年8月7日受理)