

京都大学食糧科学研究所食研講演会要旨(4編)

誌名	京都大學食糧科學研究所報告
ISSN	04511476
巻/号	52号
掲載ページ	p. 26-39
発行年月	1989年3月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



食 研 講 演 会 要 旨

微生物の分子育種と有用物質の生産

村 田 幸 作

Molecular Breeding of Microorganisms and Its
Application to Production of Useful Chemicals

Kousaku Murata

は じ め に

全ての生物における遺伝情報発現システムは共通であるという概念に基いて、1973年に Cohen と Boyer によって確立された組み換え DNA 技術は、現在では生物学の最も重要な技術の一つとなっている。特定の遺伝子にコードされるタンパク質を大量に作り出すことを可能にするこの技術は、遺伝子の構造と機能は元より、その産物であるタンパク質の構造と機能の解析を格段に進歩させたのみならず、細胞機能の改変による有用物質の大量生産と新規な細胞の創製にも大きな手段を提供した。

本稿では、特に後者の応用の立場より組み換え DNA 技術による、(1) 微生物細胞機能の改変（グルタチオン高生産菌株の分子育種）と、(2) 新しい微生物細胞の創製（酵母の新しい形質転換法の開発と新規な機能と形態を有する酵母細胞の分子育種）に関する研究成果、および、(3) 植物分子育種への微生物機能の応用についての展望を述べることにする。

1. 微生物細胞機能の改変と有用物質の生産

微生物代謝産物を大量生産するためには、醸酵生理、生化学、遺伝学、遺伝子工学、酵素工学、および、分離・精製・結晶工学などの学際領域科学の導入が今や必要不可欠になってきている。これらの諸科学により、物質生産に適した微生物のスクリーニング、変異処理、遺伝子のクローニング、酵素の固定化、更には、有用物質の効果的な分離・精製まで含めた一貫したシステムの確立が可能となるのであり、こうした技術を駆使した科学の体系は、まさに multi-disciplinary science と言えるであろう。

遺伝子組み換え技術による有用物質生産では、多くの場合微生物細胞を生産の場としている。これは、細胞にとって莫大なエネルギー（ATP）の浪費を伴うものであり、細胞経済（cell economy）の破綻さえ生じかねない。細胞の ATP 合成能には限界がある。これは、必然的に大量生産に上限のあることを意味する。従って、細胞の増殖に要求されるエネルギー以外の余剰エネルギーを如何に効率よく目的物質の合成に利用するかが、生産量を左右する大きな因子であり、ここに生体エネルギー論的解析の必要性が生じている。有用物質の大量生産は、生産の場が動物細胞であれ微生物細胞であれ、新たに生物物理学や生体熱力学の導入を必要として来たようである。尚、分子育種した *Escherichia coli* B によるグルタチオン生産については、本誌47号、pp. 23~30 (1984) を参照されたい。

2. 新しい微生物細胞創製の試み

細胞の増殖速度には、その種類によって大きな違いがある。微生物では、速いものは十数分、遅いものでは結核菌のように10時間以上もかかる。動物細胞の場合は、24時間程度である。増殖速度を規定する因子は、DNA の情報の中に組み込まれていると考えられるが、それ以外に細胞の構造、代謝速度（栄養素や酸素などの輸送活性）、あるいは代謝で生じる老廃物（特に過酸化物質など）の処理能力なども増殖速度に影響

る無視できない要因であろう。

細胞増殖速度を遺伝的に変えようとする研究は、重要であるにも拘らず行なわれていない。細胞の増殖速度を考える時、その規定因子を直接 DNA の情報の中に求めるのは、現時点では極めて難しい問題である。細胞の増殖を抑制している（と考えられる）物質に着目し、細胞にその物質の高度な処理能力を与えることは、増殖速度の速い細胞を造成する一つの可能な手段であろう。Methylglyoxal ($\text{H}_3\text{C}-\text{CO}-\text{CHO}$) は、生体で合成される極めて単純な化合物であるが、分子内の2個の $\text{C}=\text{O}$ 基に局在する π 電子系の作用を通して強い細胞毒性を発現する。何故、生体はこのような細胞毒性物質を合成するのかは、古くて新しい問題である。これは、Szent-Györgyi の“Bioelectronics” (生体電子論)¹⁾ に譲るとして、この毒性物質の分解に関与する二種の酵素 methylglyoxal reductase と glyoxalase I の活性を強化して、微生物に methylglyoxal の高い処理能力を与えた場合、細胞はこの化合物の毒作用から免れて新しい増殖特性を獲得するであろうか？ 詳細は本誌50号 pp. 38~45 (1987) を参照して頂くことにして、結論として、これら酵素の活性を組み換え DNA 技術で強化すると、酵母細胞のサイズが変わったり、環境毒性因子に強い耐性を示すようになるのである。増殖速度を変えることこそ不可能であったが、細胞形態を遺伝的に変えることが出来るという実験的証左が得られたことの意義は少なくない。自然界には、三角形の形態をした微生物も存在する。三角形であることを規定している因子は何であるか、また、三角形として存在しなければならぬ必然性は何か、依然として神の世界の出来事であるが、こういった問題に勇猛果敢に挑戦しなければならないであろう。それは、生物の構造の問題、即ち、リボソームや細胞膜の再構成の基礎的な領域から、細胞全体の再構成への長い道程の第一歩となる重要な問題である筈である。

3. 有用作物育種への微生物機能の応用

組み換え DNA 技術を用いて、様々な作物の分子育種が試みられている。ここでは、有用作物の育種に利用できる微生物の機能として、細菌の有する炭素—リン酸結合 (C-P 結合) 開裂酵素とその反応 ($\text{R}-\text{PO}_3^{2-} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{R}-\text{H} + \text{HO}-\text{PO}_3^{2-}$) 特性について述べることにする。

C-P 結合は、極めて強固な結合であり、化学的、熱化学的、あるいは、光化学的にこの結合を切断することは不可能に近い。酵素による切断が、現在期待できる唯一効果的な手段であろう。特に、C-P 化合物が除草剤、殺虫剤、あるいは、抗カビ剤などとして多量に自然界に散布されている現状、および、食物連鎖を通じてこれら C-P 化合物の生体への高濃度蓄積の懸念を考える時、微生物酵素による C-P 化合物の分解は重要な意味を持つ筈である。このような環境論的観点より、そして、より純粹には酵素化学的、生化学的観点より C-P 結合開裂酵素の実体を明らかにしようとする試みがなされて来た。そして、C-P 結合を有する化合物を唯一のリン酸源として生育する微生物の発見は、C-P 結合開裂酵素の存在を示唆する根拠となっていた。しかし乍ら、その酵素的実体を証明しようとする試みは全て失敗に終始しており、最近の MIT の Wackett ら²⁾ による精緻を極めた実験にも拘らず、C-P 結合開裂酵素はその活性のかけらすら現わそうとしなかった。

3-1. 無細胞系における C-P 結合開裂酵素活性の検出

著者らは、C-P 化合物を唯一のリン酸源として生育し、かつ、培地中に著量の無機リン酸を蓄積する2種類のバクテリア、*Bacillus brevis* と *Enterobacter aerogenes* をスクリーニングした³⁾。 *Enterobacter aerogenes* IFO 12010 は、種々の C-P 化合物 [methylphosphonic acid ($\text{CH}_3-\text{PO}_3^{2-}$), phenylphosphonic acid ($\text{C}_6\text{H}_5-\text{PO}_3^{2-}$), phosphonoacetic acid ($\text{HOOC}-\text{CH}_2-\text{PO}_3^{2-}$)] を唯一のリン酸源として生育し、培地中に無機リン酸を蓄積する (図1)。しかも、本菌の無細胞抽出液は種々の C-P 化合物より無機リン酸を遊離する活性を示し (図2)、初めて C-P 結合開裂酵素の無細胞系での証明に成功した^{3,4)}。 C-P 化合物としては、上記のアルキルフォスホン酸以外に抗生物質である phosphonomycin ($\text{H}_3\text{C}-\text{CH}-\text{CH}-\text{CH}_2-\text{PO}_3^{2-}$) や除草剤である glyphosate ($\text{HOOC}-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{PO}_3^{2-}$) の有する C-P 結合も切断された⁴⁾。このことは、この酵素の遺伝子が殺虫剤耐性植物や除草剤耐性植物 (transgenic plants) の分子育種に

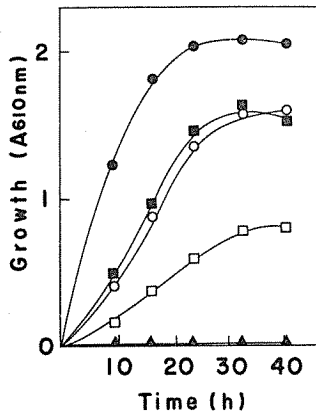


図1 *E. aerogenes* による C-P 結合性リンの利用
E. aerogenes を種々の C-P 化合物を唯一のリン酸源とする培地で培養した (30°C, pH 7.0 振盪培養) 場合の生育を示す。●, 0.5 mM KH_2PO_4 ; ■, 0.5 mM methylphosphonic acid; ○, 0.5 mM phosphonoacetic acid; □, phenylphosphonic acid; ▲; リン酸源無添加

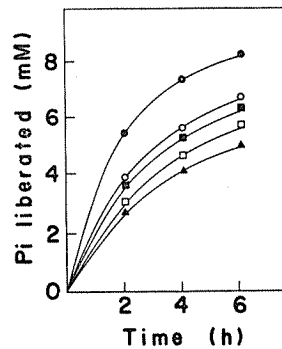


図2 *E. aerogenes* の抽出液による C-P 化合物からの無機リン酸の遊離
E. aerogenes の抽出液を 50 mM アルキルフォスホン酸, 20 mM MnCl_2 , 50 mM Tris 緩衝液 (pH 8.5) の反応系でインキュベート (37°C) し, 生成する無機リン酸を定量した。
●, phosphonoacetic acid;
○, phosphonomycin;
■, methylphosphonic acid;
□, glyphosate;
▲, phenylphosphonic acid

用できることを示唆している。

3-2. C-P 結合開裂酵素の諸性質

C-P 結合開裂酵素の実体を明らかにするため, *Enterobacter aerogenes* IFO 12010 株より本酵素の精製を試みた。本酵素は, リン酸欠乏下で誘導合成される⁹⁾ことより, Phosphate Starvation Inducible (PSI) regulon に含まれる遺伝子にコードされていると考えられる。栄養培地に生育した菌体を集・洗菌後, リン酸を含まない培地に懸濁し, 2~3時間 30°C でインキュベートすることにより, 強い C-P 結合開裂酵素活性を有する菌体を得られる。この菌体の抽出液を透析後, DEAE-cellulose と Sephadex G-150 (void に溶出される) で分画し, 活性画分を TSK-HW65 カラムでゲルろ過する (図3)。各フラクションについて活性を測定すると, 極めて弱い1個の活性ピーク (E1) が認められるにすぎない。この活性は, 分画に供した総活性の0.1%程度であり, 大半の活性は消失したことになる。そこで, E1 を除く残りのフラクションをプール I, II, および III に分け, 各プールおよびそれらの組み合わせについて活性を測定すると, プール II にのみ極めて強い C-P 結合開裂酵素 (E2) 活性の存在が認められた。これらの結果は, *Enterobacter aerogenes* IFO 12010 には2種類の C-P 結合開裂酵素 (E1 と E2) が存在し, その中の主要酵素であるプール II (図3) の E2 は, C-P 結合開裂酵素活性の発現に2種類のタンパク質の共存を必要とすることを示唆している⁹⁾。

次に, これら2種類のタンパク質成分 (P_1 , P_2 とする) を分離するため, プール II (図3) を再度 TSK-HW65 カラムで分画した結果, P_1 を含む画分と P_2 を含む画分を得ることができた (図3)。更に, P_1 と P_2 の画分を Butyl Toyopearl 650M と Sephadex G-200 で処理することにより, ほぼ均一な P_1 と P_2 を得た。現在, P_1 と P_2 の構造, 及び, 機能を検討している。

このように, *Enterobacter aerogenes* IFO 12010 に初めて C-P 結合開裂酵素活性を検出し, しかも, この酵素は活性発現に特殊なタンパク質構造をとることを明らかにした。有機化学的に殆んど不可能な C-P

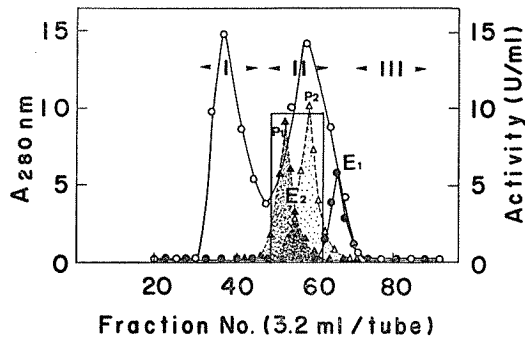


図3 *E. aerogenes* の C-P 結合開裂酵素の分画
詳細は本文に記述した。

結合の開裂が酵素化学的に進行するというこの事実は、酵素の超化学的な機能を物語るものであり、我々の知らない化学反応がまだ残されていることを示唆している。先に述べたように、この酵素は種々の C-P 化合物の C-P 結合を開裂する。一方、C-P 結合の生成に関与する酵素が、極最近 Seidel ら⁶によって発見された。即ち、C-P 結合の生成と分解に関与する酵素が明らかになったことにより、今後 C-P 化合物の生化学が大きく進展する端緒が開けたと言える。著者は、現在、除草剤耐性植物 (transgenic plants) の分子育種に本菌の有する C-P 結合開裂酵素の遺伝子の利用を考えているが、こうした応用研究以外に、C-P 結合開裂酵素に関する研究は、土壌におけるリン酸サイクル (難利用性リンの易利用性リンへの変換) の解析や、biomimetic model として、有機化学領域における C-P 結合性リンの化学の進展にも重要である。

おわりに

組み換え DNA 技術を利用した代謝機能の改変とその有用物質の大量生産、および、新しい機能を有する細胞創製への応用について述べた。組み換え DNA 技術は、かつて high school experiment と言われ、猫も杓子も手を出して来た。その傾向に変わりはない。確かにこの技術は biotechnology として重要である。しかし、bioscience としてはどうだろうか。Biotechnology を利用して bioscience をやるのが今大切なのではなかろうか。Transgenic animal や transgenic plant を作り出すことも、遺伝子をクローニングするのと大差なくなった現在、組み換え DNA 技術の生物学の中における意義を深く考える必要があるように思う。DNA には機能がない。

最後に、協同研究者の樋垣典子氏に感謝する。

文 献

1. A. SZENT-GYORGYI, *Bioelectronics*, Academic Press New York (1968).
2. L.P. WACKETT, S.L. SHAMES, C.P. VENDITTI and C.T. WALSH, *J. Bacteriol.*, **169**, 710 (1987).
3. K. MURATA, N. HIGAKI and A. KIMURA, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **157**, 190 (1988).
4. K. MURATA, N. HIGAKI and A. KIMURA, *Agric. Biol. Chem.*, (in press) (1989).
5. K. MURATA, N. HIGAKI and A. KIMURA, *Agric. Biol. Chem.*, (in press) (1989).
6. H.M. SEIDEL, S. FREEMAN, H. SETO and J.R. KNOWLES, *Nature*, **335**, 457 (1988).

魚介類の呈味発現機構

坂 口 守 彦

Mechanisms of Developing Flavor of Fish and Shellfish

Morihiko Sakaguchi

はじめに

わが国は四面を海に囲まれているため、古来より水産物をきわめて多く利用する習慣があり、動物性タンパクの摂取はもっぱら魚介類に依存していた時代があった。近年では食習慣の変化に伴って畜産物からの摂取が急増し、水産物への依存度はおよそ50%に低下している。しかし、このような変化に伴う種々の弊害（たとえば成人病の増加）が現れるに及んで、最近では各種のミネラル、エイコサペンタエン酸（EPA）、タウリンなどの栄養有効物質を多く含む水産物の価値が改めてみなおされるようになってきた。水産物のもつ機能はこのような栄養的なもののほかに、『おいしさを与えてくれるもの』としての機能（嗜好性機能）を見のがすことができない。すなわち、水産物には特有の風味があり、他の食物では代替できないものがあるということである。ここでは魚介類の味の本体をなすエキス成分をとり上げ、これがどのようにして呈味の発現に係るかを解説する。

エキス成分中の主要な呈味物質

魚介類にはきわめて多くの種類のエキス成分が含まれるが、主要なものは遊離アミノ酸（FAA）、オリゴペプチド、有機塩基、ヌクレオチドおよびその関連物質、有機酸、糖などである。これらの含量は魚介類の種または群によって著しく異なっているもので、たとえば海産の軟体類や甲殻類は FAA¹⁾、魚類では有機塩基や FAA が多い²⁾。

これまで、魚介類のなかでエキス成分の組成とエキスの呈味との関係が明らかにされたものとしては、バフンウニ生殖腺、ズワイガニ脚肉、ホタテガイ貝柱などがあり³⁾、それらの主要なエキス成分と呈味成分は一括して表1に示した。

これをみると、いままでに明らかにされた魚介類の呈味成分の主なものは FAA とヌクレオチドであり、FAA のうち、Gly, Ala, および Glu はいずれも共通であることがわかる。ヌクレオチドは IMP, GMP および CMP の3種であるが、いずれも共通なものは見あたらない。このほかに、ズワイガニ脚肉とホタテガイ貝柱では呈味の構成成分として、ナトリウム、カリウム、塩素イオンなどの無機イオンも重要である

表1 無脊椎動物肉に含まれる主要なエキス成分と呈味成分（山口³⁾を改変）

	主要なエキス成分	主要な呈味成分
バフンウニ生殖腺	FAA, グルコース	Gly, Ala, Glu, Val, Met IMP, GMP
ズワイガニ脚肉	FAA, GB, TMAO	Gly, Ala, Glu, Arg, GB, CMP, GMP
ホタテガイ貝柱	FAA, GB	Gly, Ala, Glu, Arg AMP

FAA, 遊離アミノ酸; GB, グリシンベタイン; TMAO, トリメチルアミンオキシド

と考えられている³⁾。また、ホタテガイ貝柱とズワイガニ脚肉の呈味成分の組成は互によく類似していることが理解できる(表1)。

小俣⁴⁾はパフンウニの合成エキスのオミッシュンテストで、量的に比較的少ない10種類のアミノ酸(Asp, Thr, Pro, Cys, Met, Ile, Tyr, Phe, Trp, His)をまとめて除くと、エビまたはカニ様の味となるとの判定が多かったと報告している。また、水産物エキスを製造する際に、処理如何によってはイカの煮汁からカニによく似た味のエキスができたり、ホタテガイの煮汁からもカニ様のエキスや、オキアミからイカ様のエキスが得られることがあるといわれている⁵⁾。これらの知見は、魚介肉の呈味成分には或種の共通性があることを示している。呈味成分の組成は動物種(群)によってそれぞれ異なるため、この相違によってその種特有の呈味が発現するようになるものと考えてよい。

エキス成分中のその他の呈味物質

赤身魚の筋肉はほとんど例外なく、遊離のヒスチジン(一部の赤身魚はアンセリンを併せもつものもある)に富むが、この物質が肉の呈味へどのような寄与をするのか、いまのところ明らかにされていない。ただ、これまでにカツオ節のエキスで調べられた結果では、このアミノ酸のうま味への寄与はほとんどないとされている⁶⁾。一方、須山・清水⁶⁾はイミダゾールジペプチド(カルノシン、アンセリンおよびバレニン)の呈味作用を調べる目的で、アンセリンを多量に含むネズミザメの筋肉エキスとバレニンに富むイワシクジラのそれとを用いて呈味テストをおこない、次のような結論を得た。すなわち、アンセリンを含まないネズミザメ合成エキスを、この物質を添加すると、酸味や濃厚感の増加がみとめられる。同様にイワシクジラ合成エキスの場合でも、バレニンを加えると、うま味のみならず濃厚感も増加する。この知見は、赤身魚エキスにおけるヒスチジンの呈味上の役割について再検討を要することを示唆しているものであろう。

魚肉一般に多量含まれているクレアチンはそれ自体ほとんど無味である(多少の苦味を感じるひともある)とされているが⁷⁾、無脊椎動物の場合にアルギニンがそうであるように⁸⁾、濃厚感やあとの味の発現に関与する可能性がある。この点についても検討を加える必要があろう。

貝類に多いグリコーゲンやアマエビ(ホッコクアカエビ)の水溶性タンパク質は、それ自体特別な呈味はもっていないとも、エキスを濃厚感、とろみなどを与えることになるといわれている⁹⁾。FAAのなかには、含量は多くなくとも呈味の発現に大きな役割を果たすものが知られているが¹⁰⁾、ここでは割愛する。

これらはいずれも魚介類のエキス成分を徹底的に分析し、その結果に基づいて合成エキスを調製し、呈味テスト(オミッシュンテストやアディッシュンテスト)を繰り返すことによって得られた成果である。この手法により、個々の呈味成分または成分群が呈味にどの程度寄与するかを明らかにすることができる。しかし、ズワイガニエキスの場合、合成エキスは天然エキス(80%エタノールによって抽出したもの)の味質をかなりよく再現しているものの、アルカリ味、エグ味、取れん味、渋味などが強く、甘味、うま味、酸味、塩味などに欠けるところがあるといわれている¹¹⁾。呈味成分の機能を明らかにするためには、合成エキスではなく、やはり天然エキス(熱水抽出エキス)を用いて研究をすすめなければならない。以下に筆者らがこの線にそっておこなった研究例を紹介する。

魚肉の貯蔵に伴う呈味成分と風味の変化

畜肉では通常一定の期間肉を低温に貯蔵して、熟成を促す操作が施される。この間に肉の風味が増加すると考えられている。一方、魚肉では一般にこのような操作は行われない。すなわち、新鮮なものほどうまいとみなされる。それでは、魚肉では新鮮なものほどうま味成分は多いことになるのであろうか。この点を検討する目的で、ハマチ *Seriola quinqueradiata* から普通肉と血合肉をとりだしたのち、別々に氷蔵し、経時的に一定量をとって、熱水抽出エキスをつくった。そして、この中に含まれる呈味成分(遊離アミノ酸およびスクレオチド)の含量変化を調べてみた¹²⁾。また、これと併行して呈味テストを実施した¹³⁾。その結果、次のような事実を見いだした。普通肉では、1) 22日間にわたり氷蔵をおこなっても、多くの遊離アミノ酸

はほとんど量的変化を示さない。2) きわめて鮮度の良いハマチ筋肉(普通肉)から調製したエキス(熱水抽出エキス)の中には、多量のIMP(約 $8\mu\text{mol/g}$ 相当量)が含まれている。このIMPの含量は、鮮度の低下にともなって、徐々に減少する。3) 22日間にも及ぶ氷蔵をおこなったにもかかわらず、呈味テストの結果では、きわめて鮮度の良いものと比べて、うま味をはじめとする多くの評価項目に有意な差はみとめられない。

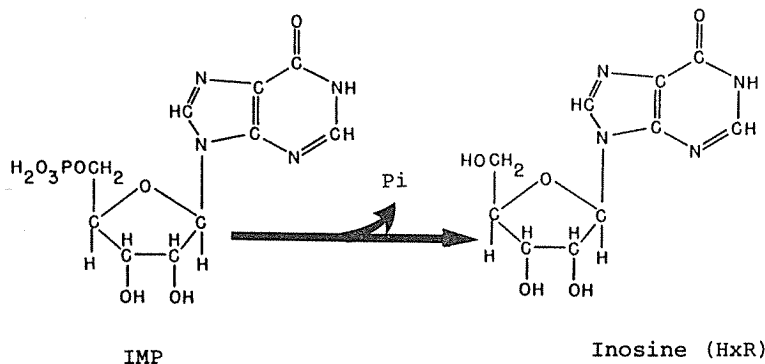
22日間氷蔵した普通肉から調製したエキスのなかのIMP含量は、およそ $3.5\mu\text{mol/g}$ であったが、上述の事実はこの程度までIMP含量が減少しても、エキスはまだ十分にうま味を保持していることを示している。これに対して血合肉では、1) グルタミン酸が貯蔵初期に速やかに減少する。2) IMPが2日以内に急減する。3) うま味の消失はきわめて速く(2日以内)、濃厚感も4日以内には失われる。また、16日以後に魚臭が強まる¹¹⁾。これは、血合肉ではIMP(またはグルタミン酸)の減少がうま味や濃厚感などの低下につながることをはっきりと示しているものである。

ハマチの生の血合肉および普通肉の氷蔵をおこなったとき、前者ではほぼ4日までに、後者では18日までに酸敗臭が顕著となることがわかっているが¹²⁾、血合肉では、この臭気が強くなる前にIMPが失われて不味となる。一方、普通肉ではうま味が失われる前に臭気が強くなって使いものにならなくなる。

これらの結果はハマチ肉の熱水抽出エキスを試料として得られた結果である。刺身を試料にした場合については、まだ呈味テストを実施していないので、推測の域を出ないが、即殺直後のもの(普通肉)に含有されるIMPは量的に少なく、無味なATPが多い。氷蔵を続けると、ATPは急激に減少し、これに伴ってIMPが多くなる¹³⁾。IMPはその後最大値(約 $8\mu\text{mol/g}$)に達し、やがて徐々に減少しはじめ、6日目には刺身として利用できる限界($K=20\%$)に到達する(約 $7\mu\text{mol/g}$)。即殺直後のものに含まれるIMP含量は $0.7\mu\text{mole/g}$ と低いので、しばらく氷蔵したものの方がうま味の程度は高いと推察される。これに対して血合肉は即殺直後のものの方が、貯蔵したものよりもIMP含量は明らかに大きいので、うま味は比較的強いことになる。しかし、前述のとおり血合肉はIMPの消失が速く、したがって速やかにまずくなり、やがて4日目には酸敗臭が顕著となってくる。

酵素(酸性フォスファターゼ)処理に伴う風味の変化¹¹⁾

IMPはハマチの筋肉エキス中にどの程度含まれていれば、うま味を十分に発揮できるのであろうか。この点を明らかにするために、次のような実験をおこなった。すなわち、新鮮な筋肉に含まれる大量のIMPのほとんどすべてを酸性フォスファターゼ(EC 3.1.3.2)によって無味なイノシン(HxR)へ変換させた(下記反応参照)。そして、この液を呈味テストにかけたところ、うま味、濃厚感などが著しく弱まり、酸味が強まることがわかった。つぎに、この液に種々の濃度のIMPを添加し、元の液(酵素処理をおこなう前のもの)と比較してみたところ、 $3\mu\text{mol/g}$ の添加では、上記の味の評価項目に有意な差が認められ



たが、4 $\mu\text{mol/g}$ 以上では差がなくなることもわかった。これらの事実は IMP が呈味成分としてきわめて重要なものであることを示唆しており、また呈味を十分に発揮するためには、3~4 $\mu\text{mol/g}$ だけ存在すればよく、元のエキスに含まれている約 8 $\mu\text{mol/g}$ というのは過剰量であることになる。上述のように、ハマチ筋肉を22日間氷藏したとき、IMP 含量はおよそ 3.5 $\mu\text{mol/g}$ にまで減少するにもかかわらず、うま味はほとんど失われていないことがわかったが、元のエキスのうま味を完全に保持する限界点が3~4 $\mu\text{mol/g}$ であるということは、この事実をよく説明できるものである。

合成エキスを用いることなく、個々の呈味成分の機能を解明するためには、このように呈味成分が自然に崩壊するのを待つ、あるいは積極的に当該成分を変換するという手法が考えられる。この手法のみで、全成分の呈味発現機構を明らかにできるとはおもわれないが、さらに研究を進めることによって、少なくとも主要な成分の役割を知ることができると考えている。

おわりに

魚介肉の風味の評価には、ここに述べたような基本的な評価項目だけでなく、香り(臭い)のそれも加えて決められるものであり、魚介肉の風味の全貌を解明するにはまだ道のりは遠い。研究を進めるための手法としては、いまのところ成分分析と官能テストの組み合わせ以外にない。最近の分析法の進歩にはまことにめざましいものがあるが、官能テストの方はあくまでもヒトの感覚に依存するものであるから、定量性のうえで常に問題が残ってくる。しかし、水産物のもつ『おいしさを与えてくれるもの』としての機能を探究する以上、やむを得ないことであろう。その意味で、ラット、マウス、イヌ、魚類などを用いて神経化学的な手法で得られたデータはそのまま研究に活用することはできない。

文 献

1. 鴻巣章二, 品川 明, 水産学シリーズ, 72, 9~24 (1988).
2. 藤田眞夫, 水産学シリーズ, 72, 25~43 (1988).
3. 山口勝己, 渡辺勝子, 水産学シリーズ, 72, 104~115 (1988).
4. 小俣 靖, 日本誌, 30, 749-756 (1964).
5. Y. HASHIMOTO, In "The Technology of Fish Utilization" (ed. R. Kreuzer), Fishing News (Books), Ltd., London, 1965, pp. 57~61.
6. 須山三千三, 清水哲二, 日本誌, 48, 89~95 (1982).
7. 林 哲仁, 水産の研究, 3(4), 5~8 (1984).
8. 鴻巣章二, うま味一味の再発見 (河村洋二郎, 木村修一編), 女子栄養大学出版部, 1987, 140~171頁.
9. T. HAYASHI, H. FURUKAWA, K. YAMAGUCHI and S. KONOSU, *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 47, 529~523 (1981).
10. M. MURATA and M. SAKAGUCHI, *J. Agric. Food Chem.*, 36, 595~599 (1988).
11. M. MURATA, "Studies on Changes in Flavor Components during Storage of Fish Muscle", 京都大学学位論文, 1988, pp. 1~113.
12. M. SAKAGUCHI and M. MURATA, *J. Food Sci.*, 47, 1662~1666 (1982).
13. M. MURATA and M. SAKAGUCHI, *J. Food Sci.*, 51, 321~326 (1986).

機器測定による食品テクスチャーの判別と評価

森 友 彦

Instrumental Method for Discrimination and Evaluation of the Texture of Viscoelastic Foods

Tomohiko Mori

咀嚼時に感じる“かたい”，“やわらかい”，“弾力性”，“歯ごたえ”，“もろい”などの食感（テクスチャー）は，味，香，色と共に食品の美味しさに関わる要素となっている。また，食品によってはテクスチャーがその食品らしさを最も良く表わしている場合が多々あって，テクスチャーは食品を特徴づける要素でもある。さらに，咀嚼という動作の面からテクスチャーを考えると，単に嗜好性の立場からだけでなく生体機能への作用という重要かつ新たな役割という面からとらえる必要が生じてくるように思われる。

テクスチャーは，別の表現として“物性”あるいは“食感”という二通りの使い方がなされていることからもうかがえるように，定量的にとらえようとする場合と感覚的ないしは定性的に取り扱っている場合とがある。後者は，官能検査を手法とするものであり，食品の品質を最終的に評価するという点で大変重要である。しかし，一方，テクスチャーの判別ということを考えてみると官能検査においてタイプの異なるテクスチャーの食品を比較するということはあまり無いようである。たとえば，カマボコとチーズについてそのテクスチャーを比較，判別する必要性は現実的に見当らないわけである。つまり，食品のタイプは材料と作り方によってほぼ決まってしまうものであり，逆に言えば，あるタイプのものを作るためには材料と製造方法を予め選択しているからである。このことがテクスチャーの研究を前進させる上での方法論としての官能検査の限界になっているといえる。

先のカマボコとチーズのテクスチャーの違いを例にするが，それらが違うということは感覚的に判断を下すことができるけれども，違いの内容を説明するのは難しい。極端に言えばカマボコは“カマボコ風”でありチーズは“チーズのようなもの”として片付けることができ，数量的に表現するのは不可能に近いものように思われる。このことは色の場合の“赤”と“黒”を目で見て判断する場合のことを想定してみればわかりやすいと思う。赤は赤であり黒は黒としか説明のしようがないであろう。ただ，色の場合にはその基本要素が色素物質であることがわかっていて分析・定量法も揃っているので赤と黒の説明を数量的に行うことができる。色についてはこのように定量的な取り扱いのできる方法論が確立されており，味，香についても同様である。したがって，味，香，色に関しては，判別・評価することはもとより食品加工における制御，設計，開発が科学的根拠に基づいて進められるレベルにあるわけである。一方，テクスチャーに関しては，ししながら，基本要素に相当するものが何であるかを明らかにする必要があるという段階であり，これと並行して分析法の物性測定的面についても研究の進展がまたれる状況である。

さて，テクスチャーに寄与する要素は，味，香，色の場合に比べてかなり複雑である。先ず，物質レベルの要素としての構成成分の組成および化学的・構造的性質があり，ついで物理的なミクロおよびマクロの組織構造が要素として考えられる。さらに，レオロジーの面からは粘弾性構造を，力学の面からは工学的側面からの力学構造をテクスチャーの要素として考慮する必要がある。テクスチャーを定量的に取り扱うには，テクスチャーの異なる種々の食品を対象としてある一つの基準あるいは物指しによって数量的に表現するというをしなければならない。そこで，この物指しとして力学構造に着目し（これは力学パラメーターにより数値的に表わすことができるので）テクスチャーの判別あるいは評価を数量的に行うことができるかど

うかについて試みたところ、かなり有望な結果が得られた。以下にその内容の概略について述べる。

1. 力学パラメーターの測定

テクスチャーの異なる種々のタイプの食品についてその力学的構造に関する情報を得るための手法である物性測定として圧縮試験を行なった。本物性測定では圧縮による変形と応力を試料の破壊に到るまで連続的あるいは段階的に測定することにより25種類の力学パラメーターについての測定値を得た。パラメーターの内容は小変形、中変形、大変形、破壊における圧縮仕事量、圧縮回復仕事量、圧縮回復率、圧縮特性の線形性、圧縮率、圧縮弾性率および破壊時の荷重である。

測定に供した試料はチーズ（プロセス、ゴード、チェダー、モッツァレラ）、カマボコ（上、中、並、イワシ）、魚肉ソーセージ（8種類）、ヨーカン、ウイロー、コンニャクの各市販品、および卵白、ゼラチン、乳清タンパク、大豆タンパク、カンテン、デンプン（2種類）から調製したゲルである。各試料は1, 2, 3 mmの厚さで20°Cにおいて測定した。

2. 因子分析

25種類のパラメーターの測定値によって各試料がどのように区別されあるいは説明できるかということに関する解析を進めるために本測定データについて因子分析を行なった。なお、パラメーターの測定値はZ変換（測定値の標準化）を行なったのち因子分析に進んだ。因子軸の回転（バリマックス回転）については回転因子数を6とした。これにより各試料について“第1因子”から“第6因子”までの“因子得点”を得た。各パラメーターについてのバリマックス回転後の因子負荷量を考察した結果、第1因子、第2因子および第3因子の因子得点を採択するのが適当であると判断した。因子得点というのは各因子についてプラスおよびマイナスの値がでてくるので、3軸直交の3次元グラフを用いて因子得点による試料の表示を行なった。

3. テクスチャーの数量化

3次元グラフ上の試料の分布を見てみると本測定に供した種々のタイプのテクスチャーをもつ食品が充分判別しうることがわかった。因子得点は25種のパラメーターの測定値に“重みづけ係数”を掛けたものの合計として求めているわけであるので3次元グラフによる表示は力学パラメーターを物指しとして数量的に表現されていることになる。すなわち、力学パラメーターを基準としてテクスチャーを数量化できると同時に数量的（定量的）に判別することが可能であることを示している。

つぎに、この3次元グラフ表示によるテクスチャーの評価についてはどうなるのかという点に関して簡単に述べる。これにはグラフの3軸、すなわち第1因子から第3因子、の性格を知る必要がある。第1因子から第3因子の因子負荷量を25種のパラメーターについて再び見てみると、第1因子には小、中、大変形の圧縮仕事量、小、中変形の圧縮回復仕事量、小変形から破壊までの圧縮率、および破壊時の線形性の合計10種類のパラメーターが寄与し、第2因子は破壊の圧縮仕事量と圧縮回復仕事量、小変形から破壊までの圧縮弾性率の合計6種類のパラメーターが、また第3因子には小変形から破壊までの圧縮回復率の4種類のパラメーターが寄与していることがわかる。したがって、3次元グラフ上に分布する各試料は3軸に寄与する上述の力学パラメーターによって表示されることを示しており、基本的にはそれらパラメーターを基準とすることにより試料を評価することができることになる。しかし、現段階では各軸に寄与するパラメーターの種類が上述のように多数で複雑であるため不完全な数量的評価にとどまらざるをえず、厳密な意味での数量的評価のためには各軸に寄与するパラメーターを整理するような工夫が必要であろう。

テクスチャーを物性測定からの数値によって判別あるいは評価しようとする努力がこれまで国内外の研究者によって盛んになされてきたがいずれも満足のいく結果は得られていない。しかし、ここで述べたように、物性に関する情報（ここでは力学パラメーターの種類）を多く求めれば、それが不可能ではなさそうであ

ることがわかってきた。この方向でさらに研究を進めることによりテクスチャーを定量的に取り扱うことができるようになるものと期待される。

植物光合成の制限因子

浅田 浩二

Limiting Factors of Photosynthesis

Kozi Asada

1. はじめに

食糧は、たとえ動物、微生物起源のものであっても、すべて太陽エネルギーを固定している植物の光合成産物に由来している。従って光合成効率を向上させて作物の生産性を高めることが、これからの地球上の人口増を考えた場合、ますます必要となっているに違いない。植物は実験室で光エネルギーの固定効率を最大にするような環境条件、すなわち弱光、高 CO₂ 濃度（低 O₂ 濃度）、適温、充分な水、無機養分の供給のもとでは、680 nm の赤色光であれば36%、太陽光では12%のエネルギー効率で光エネルギーを化学エネルギーに変換することができる。この植物のもつ光エネルギー固定能力は、しかしながら、現実の圃場での作物においては十分に発揮されていない。例えば、イネ、トウモロコシ、クロレラの生育最盛期でも光エネルギー固定効率はそれぞれ2.8%、4.4%、3.5%であり、イネ、トウモロコシの生育全期を通しての固定効率は1.3%、0.52%にすぎない。生育最盛期で葉が地上を完全におおった状態の時さえ植物の光エネルギー固定能力が完全に発揮されていないのは、光合成に関与する環境因子とその組合せが植物にとって常に最適でないためである。ここでは植物の光合成効率を制限している環境因子について触れ、それに対して植物がいかに対処しつつ太陽エネルギーを固定しているかについて考えてみたい。

2. 光合成の環境要因

光合成の環境要因として光、CO₂ (O₂), 水、無機養分、温度が重要である。これらの環境要因は1日のうちでも大きく変化し、太陽光は 0~1,000 Wm⁻², CO₂ 濃度は 100~350 ppm (昼間は植物による吸収があり、とくに無風状態では拡散による CO₂ 供給が律速になる), 温度も 20~30°C の変化を示す。その他、水の供給も常に同じとは限らず、水の供給が不十分であると気孔が閉じるため葉緑体への CO₂ 輸送が抑制される。

光合成過程は光エネルギーのアンテナクロロフィル (Chl) による吸収、励起1重項状態 (¹Chl*) への遷移によって始まる、反応中心クロロフィルの電荷分離を含む光化学反応、ついで電子伝達反応による NADPH₂ 生成、それに伴う ATP 生成、さらにこれら生化学エネルギーを利用する CO₂ 固定の段階を経て、光エネルギーは最終的に CO₂ に渡される。しかし、光エネルギーがエネルギーの最終的な受容体である CO₂ に渡されない環境下、例えば水ストレスによる気孔閉鎖によって CO₂ が葉緑体に供給されないときには光エネルギーは反応性の高い活性分子 (励起3重項色素分子、酸素の還元や励起分子種、O₂⁻, H₂O₂, •OH, ¹O₂) を生成するように作用し、葉緑体成分を分解する。従って植物は環境が変動して光エネルギーが“過剰”になっても活性分子をつくらないように、また、活性分子を消去するなどの機構をもっていなければならない。

3. 植物の環境に対する適応機構

3.1. 遺伝的適応

地球上の多様な環境に適応するように進化してきた植物はそれぞれの環境およびその組合せを最もよく利

用する約50万種の種をつくってきた。例えば弱光に適応した陰葉植物、強光にも適応できる陽葉植物、CO₂ ストレスに適応した C₄ 植物、水ストレスに適応した CAM 植物、熱ストレスに適応した耐熱性ラン藻などその一例である。これらは遺伝的適応とみなすことができるが、しかし、同じ種の一枚の葉でも、葉の表側の柵状組織の葉緑体は常に強い光にさらされているため陽葉型であり、裏側の海绵状組織のそれは陰葉型であり、光環境に応じて葉緑体チラコイド膜の機能蛋白質の合成が調節されることを示している。

3.2. 生合成的適応

植物は長期的な適応としては細胞のオルガネラなどの生合成の調節によっているが、その主なものをあげると、光化学系 I, II 反応中心の割合、アンテナクロロフィルタンパク質と反応中心との割合、光化学系 II, I の中間電子プールサイズによる光強度、光質に対する適応、温度に適した脂質の分子種合成、CO₂ を葉緑体、さらに CO₂ 固定酵素まで輸送するためのカルボニックアンヒドラーゼ、CO₂ キャリヤー蛋白質（これらは CO₂ 濃度が低くなると誘導合成される）、水ストレスに対してはベタインやプロリンの合成が誘導され、細胞内での水分の保持力を高くしている。

以上のような機構は主として環境ストレスを緩和して光による活性分子生成を抑えるための適応であるが、しかしながらそれでも活性分子の生成を全くゼロにすることはできない。例へば O₂ のない条件下では光によって生成する ATP/NADPH₂ 比が CO₂ 固定サイクル回転に必要な比より低くなるため光合成が進行しない。光合成を進行させるために O₂ による pseudocyclic 系路によって ATP 生成を高めなければならず、このとき O₂⁻ は必然的に生成する。このように活性分子は光合成に適した環境下でも生成しているため、活性分子を消去する機構は常に必要であり、環境ストレス下でその必要度は更に高くなる。普通の環境下でも H₂O₂ に関して、もしこの消去能がないとすると光合成は数秒で CO₂ 固定酵素が失活するために停止してしまふ。O₂⁻ に対してはスーパーオキシドジスムターゼ、H₂O₂ に対してはアスコルビン酸ペルオキシダーゼ（ペルオキシゾームではカタラーゼ）、¹O₂ に対してはカロチノイド、脂質酸化物ラジカルに対してはトコフェロールが葉緑体でそれぞれの消去に機能していることが同定されている。その他、植物に含まれるフェノール類、フラボノイド類なども活性分子の消去に機能しているものと考えられ、生物の中で酸素と光に常にさらされて最もきびしい環境下にある植物にはこれら活性分子の消去をするまだ未知の機構があるものと思はれる。植物のこれら光によって生成する活性分子を消去する機能は、活性分子が生成しやすい環境下、例へば強光、低 CO₂ 濃度下などでは誘導合成されることが示されつつある。

3.3. 生理、生化学的適応

以上は比較的長期の環境変動に対する適応であるが、先にも述べたように植物がうける環境変動の速度は速い。例へば太陽光の照度は雲によって時々刻々変動する。このような場合は上記の蛋白質の誘導合成を伴なう適応よりは、生理、生化学的適応が主体となる。葉緑体のうける光量を調節するための葉位運動、細胞内の葉緑体移動、水ストレスに対応する気孔の開閉などは生理的な適応機構である。さらに光合成産物の一部を呼吸基質とする光呼吸も CO₂ の葉緑体への供給などによって活性分子生成を抑制する生理的機構と考えることができる。短期間のスペクトル変動に対しては、チラコイド膜の蛋白質キナーゼによるリン酸化によってチラコイド膜がスタッキングしなくなり光化学系 II, I がより接近した配置をとるようにして（またこの逆の過程で）対応している。その他、光化学系 II のシトクロム *b*₅₅₉ も活性分子生成を抑制する役割をもつことが最近示されている。

以上の環境ストレスを緩和する機構を含め活性分子の生成抑制、活性分子の消去機構によって葉の細胞成分の分解は抑えられているけれども、植物は適応の範囲を超えた環境ストレスに出会うことが多い。このとき最初に活性分子によって分解をうける分子としては光化学系 II 反応中心の D1 蛋白質、光化学系 I の反応中心、非ヘム鉄蛋白質、ストロマの CO₂ 固定酵素のうちグリセルアルデヒド-3-リン酸脱水素酵素、フラクトースビスフォスファターゼ、リビュロース-5-フォスフェートキナーゼが示されている。これら光合成のどの過程に関与する成分が分解しても光エネルギーの CO₂ への伝達が抑えられるため、光による活性分子生成が増進され光障害が進むようになる。しかし、葉緑体には CO₂ 固定系酵素の失活をチオレドキン

ン系によって修復する機構があり、また D1 蛋白質に関しては再合成によって分解した D1 蛋白質を速かに補う機構もっている。D1 蛋白質は葉緑体 DNA の *psbA* にコードされているが、比較的安定な mRNA を葉緑体に常にもち、D1 蛋白質が分解されたことを何らかの機構で認識して翻訳が促進される。訳された D1 蛋白質はチラコイド膜を横方移動してプロセスをうけ系 II の反応中心の超分子構造にくりこまれる。このように活性分子による損傷をうけた標的分子を修復、再合成することによって、植物は光障害を拡大しないようにしているが、これも適応のための機構と考えられる。

4. おわりに

以上、植物が時々刻々変動する環境下で酸素、光によって生成する活性分子による障害をうけないようにしつつ光エネルギーを固定している機構について述べてきた。酸素がヒトを初め好気性生物に必須であっても酸素障害を防ぐ機構なしには生存できないことにみられるように生物に必須と考えられる環境要因もストレスになっていることが多い。光は植物の光合成に必須の環境要因であることからその必須性のみがこれ迄研究されてきたが、光が植物にストレスとして作用している面を考慮することが必要でありその分子機構が次第に明らかにされてきた。この光のストレスとしての作用を回避することが植物の生産性を向上させるために必要であり、とくに21世紀に予想される気候変動を考慮すると、今後、ますます環境ストレス（光によって生成する活性分子ストレス）に抵抗性のある、環境適応幅の広い作物が要請されると考えられる。これらの作物を育種するための分子的基盤を確立するためにはさらに環境に対する植物の適応に関する分子機構を解明すると共に、環境シグナルをどのようにして受容し適応を発現させているかの分子生物学的解明が重要になってくると思われる。

植物の環境による活性分子の生成、消去、作用の詳細については以下の最近の総説を参照して頂きたい。

文 献

1. K. ASADA and M. TAKAHASHI, Production and scavenging of active oxygen in photosynthesis, in *Photoinhibition*, Edited by D. Kyle, C.J. Arntzen and B. Osmond, pp. 227~287, Elsevier, Amsterdam. (1987).
2. 浅田浩二, 生物の酸素障害防御機構—標的分子の *de novo* 合成による防御, 京大原子炉 *Tech. Report*, **295**, 11~21 (1987).
3. 高橋正昭, チラコイド膜タンパク質の光損傷と修復, 農化誌, **62**, 1108~1111 (1988).
4. 浅田浩二, 陳 功祥, 植物でのグルタチオンの代謝と機能, 蛋白質・核酸・酵素 (グルタチオン研究のエポック特集号), **33**, 1513~1521 (1988).
5. 高橋正昭, 葉緑体, 蛋白質・核酸・酵素 (活性酸素特集号), **33**, 2723~2729 (1988).
6. 浅田浩二, アスコルビン酸ペルオキシダーゼ—クロロプラストでの過酸化水素消去系一, 蛋白質・核酸・酵素 (活性酸素特集号), **33**, 2957~2964 (1988).
7. 真野純一, 浅田浩二, モノデヒドロアスコルビン酸還元酵素, 蛋白質・核酸・酵素 (活性酸素特集号), **33**, 2862~2868 (1988).