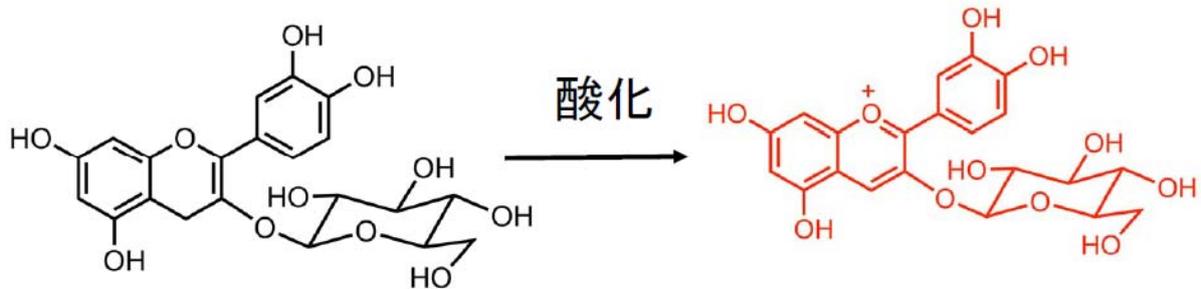


## 黒大豆の枝豆



緑色の種皮に存在する  
無色の色素前駆物質

シアニジン 3-グルコシド

## アントシアニンの新規生合成経路を黒豆で発見 黒大豆の枝豆は、莢から出すと1日で真っ黒になる

名古屋大学大学院情報学研究科の吉田 久美 教授らの研究グループは、国立医薬品食品衛生研究所との共同研究で、黒大豆<sup>1)</sup>の種皮に含まれるアントシアニン<sup>2)</sup>が従来の定説とは異なる新しい経路で生合成されることを見いだしました。アントシアニンは、花や果実に含まれる植物色素として知られ、抗酸化性を持ち、生活習慣病の予防にも効果が期待されています。黒大豆の種皮の黒色も、多量のアントシアニンが含まれることによります。アントシアニンの生合成経路<sup>3)</sup>は、これまで全ての植物で同じと考えられてきましたが、黒大豆ではこれと異なる新しい経路で作られることがわかりました。

未熟な、枝豆で食べる時期の黒大豆は緑色から薄ピンク色をしています。この時に莢から生の豆を取り出し、明るい部屋に放置しておくと、ほぼ1日で真っ黒になりアントシアニンができていることを発見しました。通常、莢の中では、登熟して黒色になるまでに約2ヶ月かかります。本研究では、酸化されるとアントシアニンになる無色の極めて不安定な前駆物質<sup>4)</sup>が、未熟な時にすでに多量に種皮に含まれていることを明らかにしました。さらに不安定な前駆体の化学合成により、種皮中の前駆物質の含有量を分析することに成功しました。その結果、種皮の黒化に伴い、前駆物質が減りアントシアニンへ変化することを明らかにしました。

本研究成果は、2020年10月14日付（日本時間10月14日18時）Scientific Reports オンライン版に掲載されました。本研究は、2018年度から始まった文部科学省『科学研究費基盤研究B』の支援のもとで行われたものです。

## 【ポイント】

- ✓ 黒大豆の種皮には、シアニジン 3-グルコシドという単純な化学構造のアントシアニン（色素配糖体<sup>5)</sup>）が極めて多量に含まれています。桜の花びらや紅葉の色素と同じで、自然界に最も多く存在するアントシアニンです。
- ✓ 従来、シアニジン 3-グルコシドの植物での生合成は、酸化されて色素となつてから糖（グルコース）が結合するとされてきました。
- ✓ しかし、黒大豆種皮のアントシアニンの生合成では、糖（グルコース）が結合した無色の前駆物質が酸化されて色素のアントシアニンになることがわかりました。
- ✓ 機能性を持つアントシアニンを多量に生合成する仕組みの解明につながります。

## 【研究背景と内容】

黒大豆の種皮の黒色は、多量にアントシアニンのシアニジン 3-グルコシドが含まれることによるものです。その量は、1g の乾燥種皮あたり 15 mg にもなりません（図 1）。シアニジン 3-グルコシドは、桜の花びらや紅葉の色素でもあり、自然界に最も多く存在するアントシアニンです。

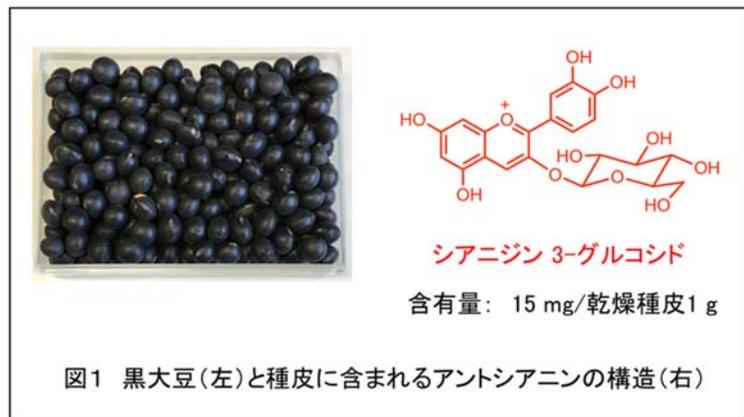
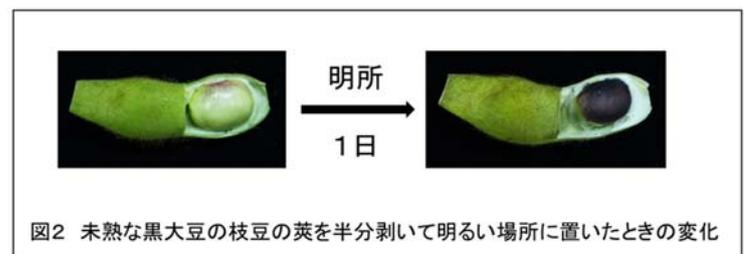


図1 黒大豆(左)と種皮に含まれるアントシアニンの構造(右)

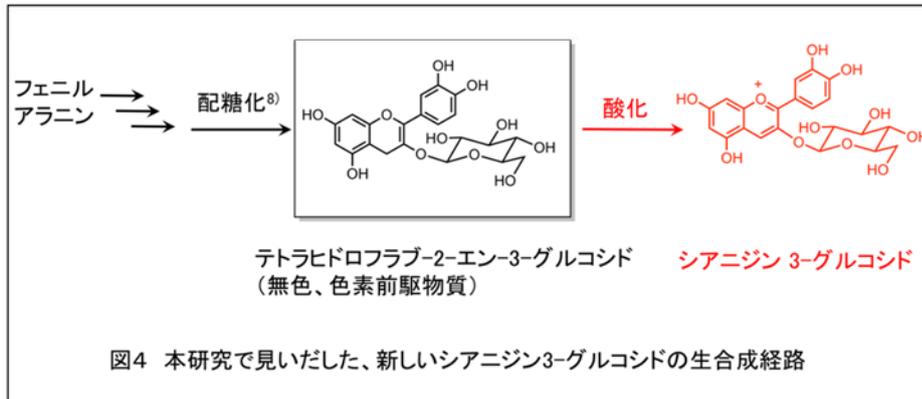
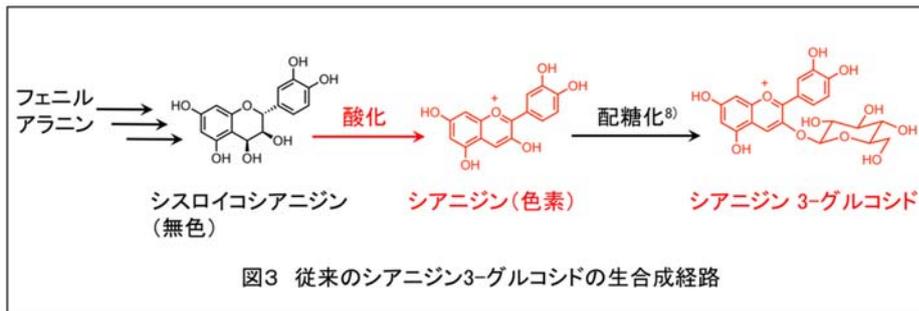
ところで、黒大豆の枝豆の写真を図 2 左に示しました。莢が緑色の時には、豆は黒くはなく緑色です。この後、豆はだんだん登熟が進み、莢が薄き色から茶色になる間に、豆は薄ピンク色、紫色と変化して、最終的には真っ黒になります。枝豆の時から完熟した黒色の豆になるまでに、およそ 1.5 ヶ月から 2 ヶ月かかります。

ところが、この枝豆の時に豆を莢からだして、明るい場所においておくと、ほぼ 1 日で真っ黒になります（図 2 右）本研究は、この観察から始まったものです。



1 日で黒くなった豆の種皮色素を分析したところ、完熟豆と同じシアニジン 3-グルコシドでした。

では、なぜこれほど急に色素が生成するのでしょうか。アントシアニン色素の生合成には、多数の酵素反応が関わっています。これまでその経路は遺伝子、酵素を含め、かなりきちんと解明されてきました（図 3）。アントシアニンの原料はアミノ酸の一つであるフェニルアラニンです。そこからたくさんの酵素反応を経て生成したシスロイコシアニジン<sup>6)</sup>（無色）が酵素で酸化されてシアニジン（発色団だけの分子で色を持つ）へと変換され、その後、3 位にグルコースが結合するとされています。これにより、シアニジン 3-グルコシドの完成です。ただし、これだけの反応を 24 時間で進行させるのは難しいと考えられました。そこで、この経路



と別の、アントシアニンの前駆物質が存在するのではないかと推測されました。

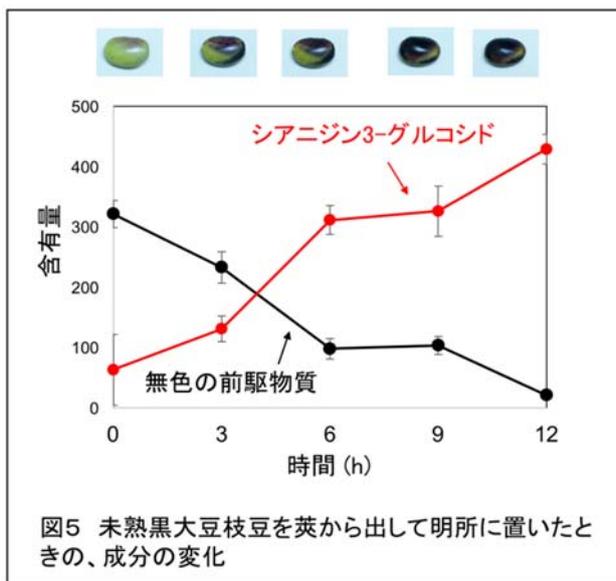
その分子が、テトラヒドロフラブ-2-エン-3-グルコシド<sup>7)</sup>

です(図4)。この分子は無色です。そして、とても不安定な分子で、容易に空气中の酸素で酸化されて、種皮色素のシアニン 3-グルコシドとなる

ことがわかっていました。極めて不安定な分子ですが、化学合成によってこれを調製し、枝豆の色変化に伴うテトラヒドロフラブ-2-エン-3-グルコシドとアントシアニンの量を分析しました。その結果、枝豆の時にすでにテトラヒドロフラブ-2-エン-3-グルコシドはかなり多量に種皮に含まれ、色が黒くなるにつれて、減ること、その減り具合に応じてアントシアニンができてくることわかりました。

すなわち、黒大豆の種皮にはまだ緑色の時にすでに色素前駆体が存在し、これ、莢の中では徐々に酸化されて2ヶ月ほどかけてゆっくりアントシアニンが貯まってくるのに対し、莢から出すと一気に酸化反応が進み、1日で黒くなることわかりました。

この経路では、無色の分子に先にグルコースが結合し、後で酸化されることとなります。テトラヒドロフラブ-2-エン-3-グルコシドは、これまでに全く報告のない、新しい色素生合成経路の中間体であり、黒大豆種皮色素は、新規経路で生合成されることがわかりました。今後は、この生合成に関わる酵素やそれをコードする遺伝子の探索と反応機構の解明を行いたいと考えています。



## 【成果の意義】

数あるアントシアニンの中で、黒大豆の種皮に含まれるシアニジン 3-グルコシドは、植物に最も広く分布する上、化学構造としてもシンプルな色素です。さらに、抗酸化機能を持ち、様々な生活習慣病の予防に効果があることが報告されています。本研究で、黒大豆種皮のアントシアニン生合成経路が、これまで定説とされてきたものと異なる、新しい中間体を経由する新規経路によることが明らかになりました。これは、植物色素研究における新しい発見であり、同時に、花や葉と違い、非常に多量にアントシアニンを含むために黒色をしている黒大豆種皮では、従来とは別のルートによって色素を効率良く合成している可能性も示唆されます。

## 【用語説明】

- 1) 黒大豆：大豆の中で種皮が黒いものを言う、正月に食べる黒豆のこと。
- 2) アントシアニン：植物色素で主に花、葉、果実などの赤から紫、青色を示す色素の総称です。アントシアニンと呼ばれる発色団に1つ以上の糖が結合したものをアントシアニンと言う。
- 3) 生合成経路：生体内である分子がどのように作られるかの、酵素反応を一段階ずつ明らかにした経路のこと
- 4) 前駆物質（色素前駆体）：1段階の酵素反応で色素を与える化学分子のこととして、本研究では使っている。
- 5) 配糖体：糖（グルコースなど）が結合した分子のこと。アントシアニンは植物の中では必ず配糖体として存在し、糖が結合していない色素は存在しない。
- 6) シスロイコシアニジン：生合成中間体と考えられている無色の分子、これが酵素によって酸化されて、最初の有色物質であるシアニジンになるとされている。シアニジンには糖は結合していない。
- 7) テトラヒドロフラブ-2-エン-3-グルコシド：今回シアニジン 3-グルコシドの前駆物質として見いだした化合物。無色ですすでに糖が結合している。
- 8) 配糖化：糖を結合させる反応のことをいう。

## 【論文情報】

雑誌名：Scientific Reports

論文タイトル：5,7,3',4'-Tetrahydroxyflav-2-en-3-ol 3-O-glucoside, a new biosynthetic precursor of cyanidin 3-O-glucoside in the seed coat of black soybean, *Glycine max*

（黒大豆の種皮色素、シアニジン 3-グルコシドの新しい前駆体であるテトラヒドロフラブ-2-エン-3-グルコシド）

著者：Kumi Yoshida（名古屋大学教授）、Yada Teppabut, Reo Sawaguchi, Yuhsuke Nakane, Emi Hayashi（4名とも名古屋大学大学院生）、Kin-ichi Oyama（名古屋大学技術職員）、Yuzo Nishizaki（国立医薬品食品衛生研究所研究員）、Yukihiro Goda（国立医薬品食品衛生研究所所長）、Tadao Kondo（名古屋大学客員教授）

DOI：10.1038/s41598-020-74098-6