

発芽過程における豆科種子貯蔵タンパク質の変化について

(第1報) 白大豆種子貯蔵タンパク質の変化について

電気泳動法による解析

星野 かほり, 宇高 京子

(平成12年10月5日受理)

Electrophoretic Analysis of Changes of Seeds' Storage Protein During Germination

Part.1 SDS-Polyacrylamide Gel Electrophoretic Analysis of Changes Induced by Germination in the Storage Protein in White Soybean Seeds

Kaori HOSHINO and Kyoko UDAKA

(Received on October 5, 2000)

キーワード：発芽, 大豆, タンパク質, 電気泳動

Key words: germination, Soybean seeds, protein, electrophoresis

はじめに

種子に関する研究は、現在主に子葉、胚乳などの貯蔵成分に関し、種子の登熟、完熟、発芽などの各生育時期において、貯蔵物質の合成、分解、代謝、遺伝子発現などの面から様々になされている¹⁾。

一方、アメリカなどでは難増殖性植物の大量生産、優良個体、新品種の短期間での商品化、貯蔵、流通、播種、育苗に関わる低コストで大規模なデリバリーシステムの提供などを期待し、人工種子の研究がなされており、天然種子の構造と機能の解明が待たれている²⁾。

このような種子に関する様々な研究は、主に植物性蛋白質、脂質など種子に含まれる貯蔵物質の食品価値の向上、加工、貯蔵などに有益な知見を得る目的でなされているが^{2),3)}、種子は個体発生の情報を凝縮した状態であり、種子の研究は植物に留まらず、その他の生物発生の理解につながるものと思われる。

宇高教授らは、従来から大豆発芽過程での第一段階で

ある異化作用に関与するプロテアーゼと、タンパク顆粒内タンパク質との関連において、発芽過程での経日的な酵素活性の変化、pHの影響、或いはプロテアーゼの精製などの研究を行っている^{4)~8)}。そこで、今回はこの流れを受け、前述のような研究背景を踏まえ、豆科種子(双子葉無胚乳種子)の中で白大豆を対象とし、成長の第1段階である発芽過程に着目し、大豆貯蔵タンパク質、その他の成分変化について検討し、発芽過程で起こる異化、或いは同化に関する基礎的なデータを得、発芽に際しての子葉貯蔵物質の役割と発芽過程で起こる根、上胚軸、胚軸などの形態分化の機序に関する何らかの知見を得ることを目的として検討を行った。

実験方法

1. 発芽試料の調整

1) 実験試料

白大豆である鶴の子大豆(H10年度北海道産)を試料とし、試料採取日は発芽0日目、1日目、3日目、5日目、7日目、9日目とした。発芽力の落ちた石豆を除いて、各発芽段階(各採取日)に150~250粒前後採

取するため、発芽前処理後一回の発芽実験では約1300 粒を播種した。

2) 発芽方法

発芽前処理(1%中性洗剤で種子に着いた汚れを洗った後、70%エタノール中に約30秒、次に5%さらし粉液に15~20分間浸漬し、滅菌水で十分にさらし粉液を洗い流す。)を行った大豆種子を、滅菌水をしみ込ませたガーゼを敷いたタッパーに種播し、大豆発芽の至適温度とされる26℃⁹⁾、湿度74~80%に設定した恒温恒湿器(ETAC 卓上型温湿度試験器 J LH-400-20型)内で発芽させた。

3) 発芽試料の調整

採取した試料は子葉、胚軸、種皮に分け凍結乾燥し、乾燥後ミキサーで粉末状にした後 Soxhlet 抽出法を用いて充分(16h)脱脂し、以下の実験試料に供した。

今回は主に、子葉中の貯蔵成分変化について検討を行った。

2. 測定項目

1) 子葉貯蔵成分分析

成分変化の測定は水分、灰分、繊維、脂質、タンパク質について定量的な変化を観察した。

① 水分: 0日目の試料では粉末2~3gを常圧加熱乾燥法105℃法で、以降の試料は凍結乾燥前後での重量差を求め、水分量とした。

② 灰分: 粉末にした試料を1~2g採取し、直接灰化法550℃で行った。

③ 繊維: 試料を2~3g採取し、ヘンネベルク・ストーマン改良法で定量した。灰化温度は550℃で行った。

④ 脂質: 試料3gを円筒ろ紙に採取し、Soxhlet抽出法で16時間抽出を行い恒量値を求めた。

⑤ タンパク質: タンパク質は Kjeldahl 法、フェノール試薬法で定量を行い、試料はそれぞれ2~3g、0.5g~1gとした。

2) 電気泳動法によるタンパク質の分子量測定

タンパク質に関しては分子量変化を観察するため、上記の定量の他に10~20% Gradient SDS-PAGE(ポリアクリルアミドスラブゲル電気泳動法)を用いて検討した。

① 電気泳動用試料の抽出及び調整方法

脱脂した大豆子葉凍結乾燥粉末に、その重量の15~20倍量の、0.8M-NaClを含む0.01M-

Barbital Sodium(バルビタールナトリウム)緩衝液(pH8.0)を加え、スターラーで穏やかに(4℃, 24時間)攪拌抽出を行った、その後日立高速冷却遠心機 SCR 20Bで遠心分離し(9,000rpm, 30~40min, 4℃)、その上澄み液を透析膜 UC36-32-100 Lot: 800301に入れ、0.01M-バルビタール緩衝液(0.8M-NaClを含む)中で外液のpHがpH7.5~8.0になるまで緩衝液を数回交換しながら4℃, 24時間透析した。pHは堀場製作所製カスタニー LAB pHメーターで測定した。透析終了後抽出液を一部採取し、各採取日毎にホール画分として電気泳動法に用いるタンパク液とした。

この様に得られたタンパク液と、β-メルカプトエタノールを含むサンプル緩衝液を、同量ずつマイクロチューブに注入して蓋をし、SIBATA製 TEST TUBE MIXER TTM-1で攪拌する。これを沸騰浴中(100℃, 7分)で熱変性させた後、再びミキサーで攪拌し、微量高速冷却遠心機(株)トミー精工社製で4℃, 15,000rpm, 5分間遠心分離し、上澄み液を電気泳動用試料とした。

② 泳動条件・染色及び脱色方法

泳動の条件としては、泳動のバンドが濃縮ゲル内に有る時は150Vで行い、分離ゲル内に入った時点で、電圧を250Vにあげ、定電流で約5時間、バンドがゲル下端から流れ出る直前まで泳動を行った。

染色はCBB(coomassie brilliant blue G250)で30分間染色をし、その後7%酢酸中で脱色を行った。

③ 電気泳動像の解析

バンドの発現したゲルをデンストグラフ(Windows版) AE-6920 V/W アトー社製を用いて、画像としてパソコンに取り込み Windows版 ATTO Densitograph software library Lane Analyzerで解析を行った。

実験結果

1) 発芽に伴う種子の形態的变化

発芽過程では種子内部の物質的な変化と同期し、著しい形態的な変化が観察された。

発芽処理前、直径1cm程度の球形であった大豆乾燥種子は、図1に示すように吸水によって1.5~2倍の楕

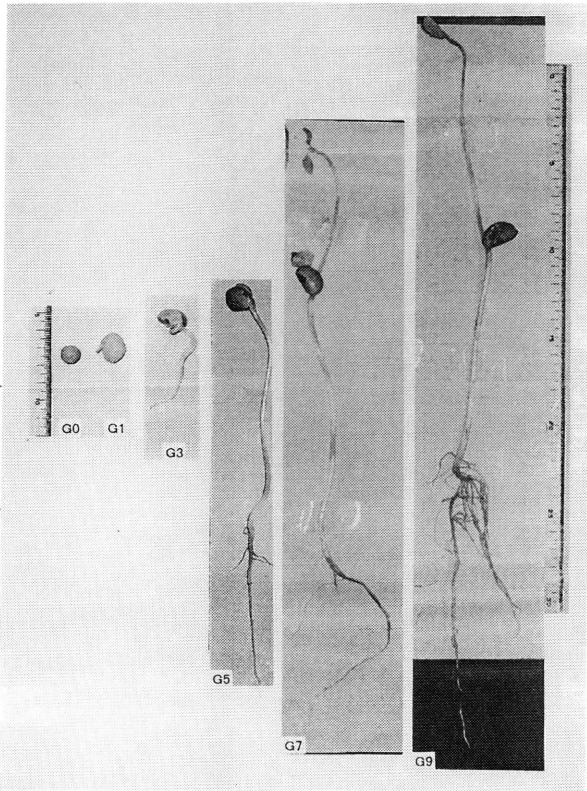


図1 発芽による種子の形態変化

発芽前処理を行った後、26℃、74%に設定した恒温恒湿器内で発芽させた大豆種子の形態変化を、左から順に発芽0、1、3、5、7、9日目の順に示した。播種後1日目で幼根が僅かに出現し、3日目以降胚軸の伸長は急激になり、5日目では僅かな支根の発現、7日目では上胚軸の急激な伸長、9日目では顕著な支根の発達を観察された。0日目に直径1cm程度であった種子は9日目では全長40cm前後に達した。

円球となり、発芽1日目には臍の上部に位置し、花粉管が入った跡とされる珠孔部分から、幼根が3mm程度出現(発芽)した。3日目では胚軸が伸長を始め全長6cm程度となり、種子(子葉)が立ち上がり始めた。5日目では胚軸の急激な伸長が見られ、全長は15cm~20cmに達し、支根の発現及び上胚軸の僅かな伸長、種子全体に葉緑体色素の合成が見られ子葉は緑色となった。7日目では顕著な上胚軸の伸長がみられ、更に主根、胚軸が伸長し全長は30cm前後に達した。支根は特に顕著な成長は観察されず、5日目より僅かに伸びた程度であった。9日目では顕著な支根の発達が見られた。上胚軸、胚軸の伸長も観察され、全長は平均40cm前後になり、長い

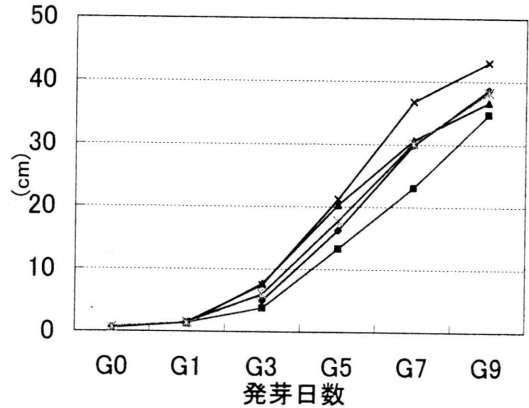


図2 発芽による胚軸の伸長

上胚軸・胚軸・幼根を含めた胚軸の全長を測定し、4回の発芽実験それぞれの平均値として経日的に示した。胚軸の伸長は0~3日目まではゆるやかであったが3日目以降急激になった。7日目では一旦伸長は頭打ちになるが、9日目では平均40cm前後にまで達し、長いものでは50cm前後に達した。

ものでは50cm前後にまで達した。

図2に各採取日毎に、4回の発芽実験それぞれについて胚軸の長さの変化を平均値として示した。

2) 発芽による種子貯蔵成分の量的変化

今回は主に子葉中の水分、灰分、繊維、脂質、タンパク質について定量的に測定を行った。図3は各成分それぞれについての変化を経日的に示したものである。

水分は乾燥状態では平均13.6%前後であったものが、発芽前処理後急激に吸収され、1日目までに子葉重量の60%以上に達した。その後、一旦吸収は頭打ちになり、3日目以降再び急激に増加し、9日目では子葉重量の80%近くにまで達した。

灰分は0~3日目まで増加し、3日目に最大値を示し、3~5日目にかけて減少した。5日目以降はあまり大きな変化は見られなかった。

繊維は3.1%から経日的に増加し、9日目では6.7%となった。

脂質は乾燥状態で18.5%程度であったものが、1日目で17.4%~18.2%に僅かに減少し、3日目では一旦18.9%~19.3%に加した。3日目以降漸次減少し、9日目では発芽前の約半分量の9.2~9.9%となった。

タンパク質に関しては、1日目から3日目にかけて42.1%~48.5%まで漸次的に増加し、3日目に発芽期間

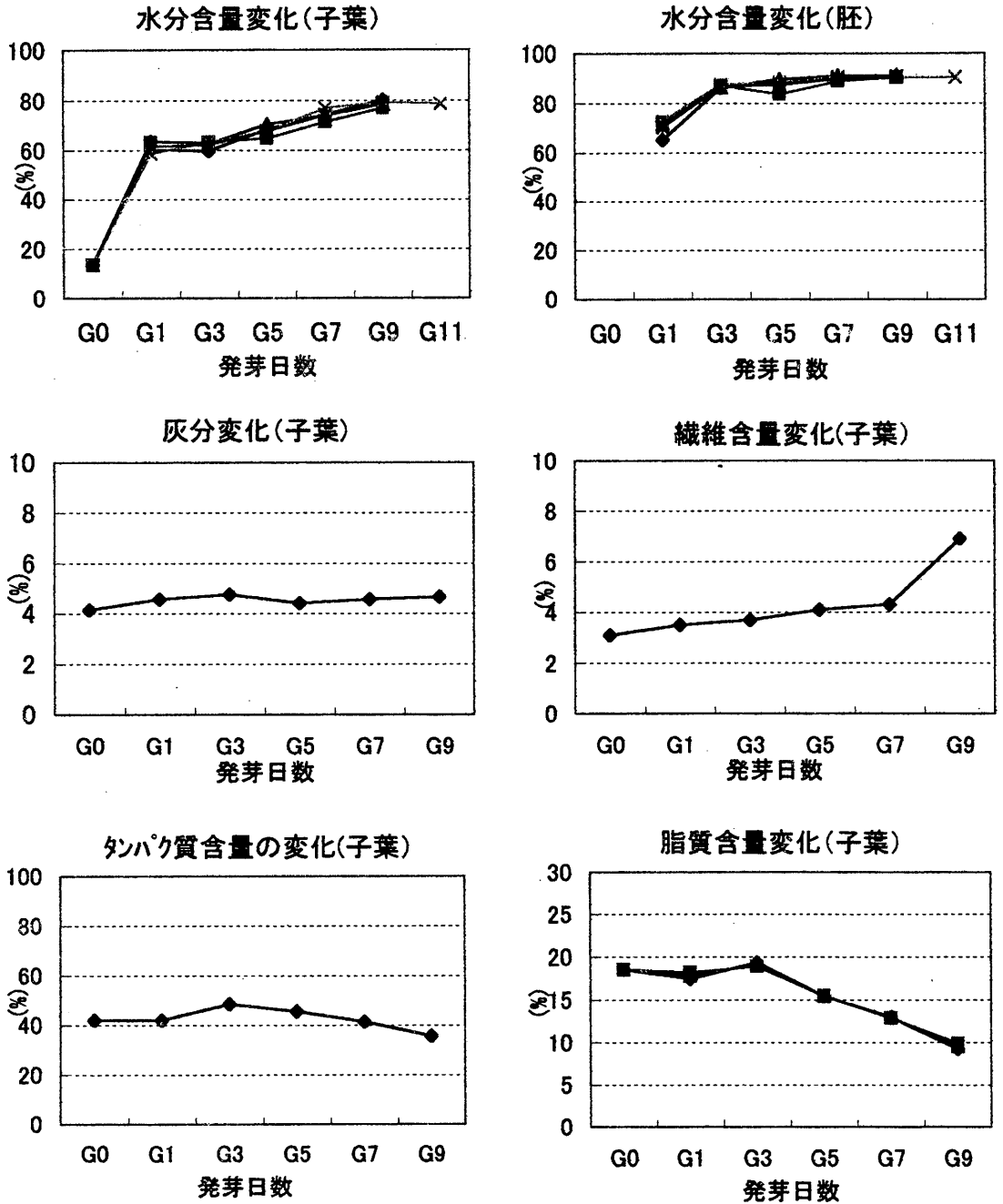


図3 発芽過程における子葉中の一般成分変化

子葉中の貯蔵成分を一般成分分析法で定量し経日的な変化を観察した。繊維、水分以外の貯蔵物質は3日目に一旦増加し、発芽期間中の最高値を示した。タンパク質、脂質は最高値になった3日目を以降減少に転じた。

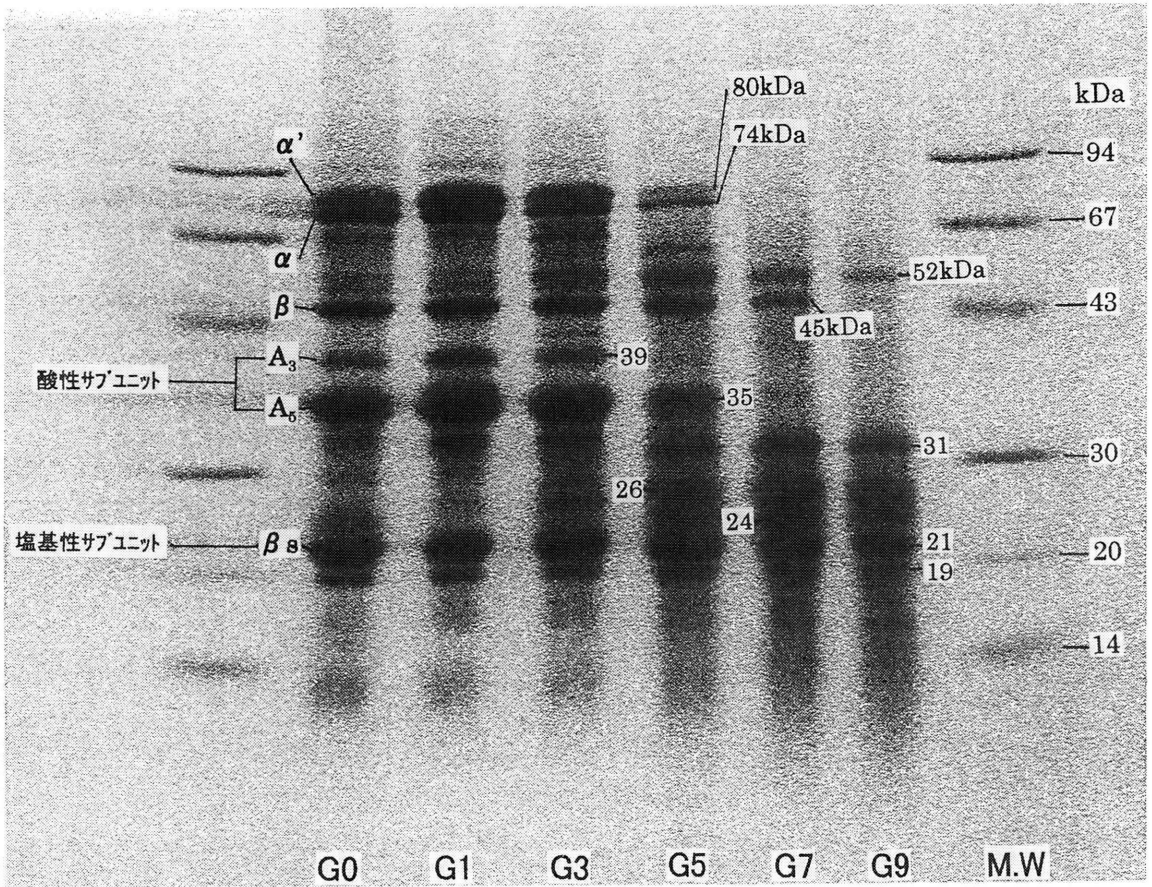


図4 発芽過程におけるタンパク質の変化 (子葉)

10～20%グラジエントポリアクリルアミドスラブラゲル電気泳動法 (SDS-PAGE) で見た、子葉中のタンパク質の経日的な変化である。発芽3日目以降にバンドの消失と出現による顕著な変化が見られた。高分子である7Sタンパク質 (α' , α , β) および11Sタンパク質の酸性サブユニットのバンド消失と、30kDa～20kDa付近のバンドの出現によるタンパク質の低分子化が観察された。詳細は本文参照。

中の最高値を示し以降減少に転じ、9日目では35.8%前後となった。

3) 種子貯蔵タンパク質の分子量変化 (子葉中)

図4に示したタンパク質の、10～20%グラジエントポリアクリルアミドスラブラゲル電気泳動法による結果では、発芽3日目まではバンドに変化は特に認められなかったが、5日目以降顕著なバンドの消失とタンパク質の低分子化が認められた。

発芽0日目 (発芽処理を行っていない乾燥状態の大豆) の子葉中には、大豆の主要なタンパク質とされる7Sグロブリン、11Sグロブリンが認められた。

それらは7Sタンパク質 (塩溶液可溶のグロブリンタイプであり糖蛋白質) である β -コングリシニンのサブユニット α' (80kDa), α (74kDa), β (45kDa) 及び、11Sタン

パク質 (塩溶液可溶のグロブリンタイプ) であるグリシニンの酸性サブユニット (39kDa, 35kDa), 塩基性サブユニット (21kDa) のバンドとしてそれぞれ分離された。

発芽1日目および3日目の電気泳動像の結果は発芽0日目と殆ど変わらず、消失或いは新たに出現したバンドなどは特に認められなかった。

発芽5日目では、11Sタンパク質の酸性サブユニットである39kDaのバンドが完全に消失し、7Sタンパク質である80kDa (α'), 74kDa (α) のバンド、および11Sタンパク質の酸性サブユニットである35kDaのタンパク質量の減少が認められた。

発芽7日目では、7Sタンパク質の80kDa (α'), 74kDa (α), 61kDa, 11Sタンパク質の酸性サブユニットである35kDaのバンドが完全に消失していた。

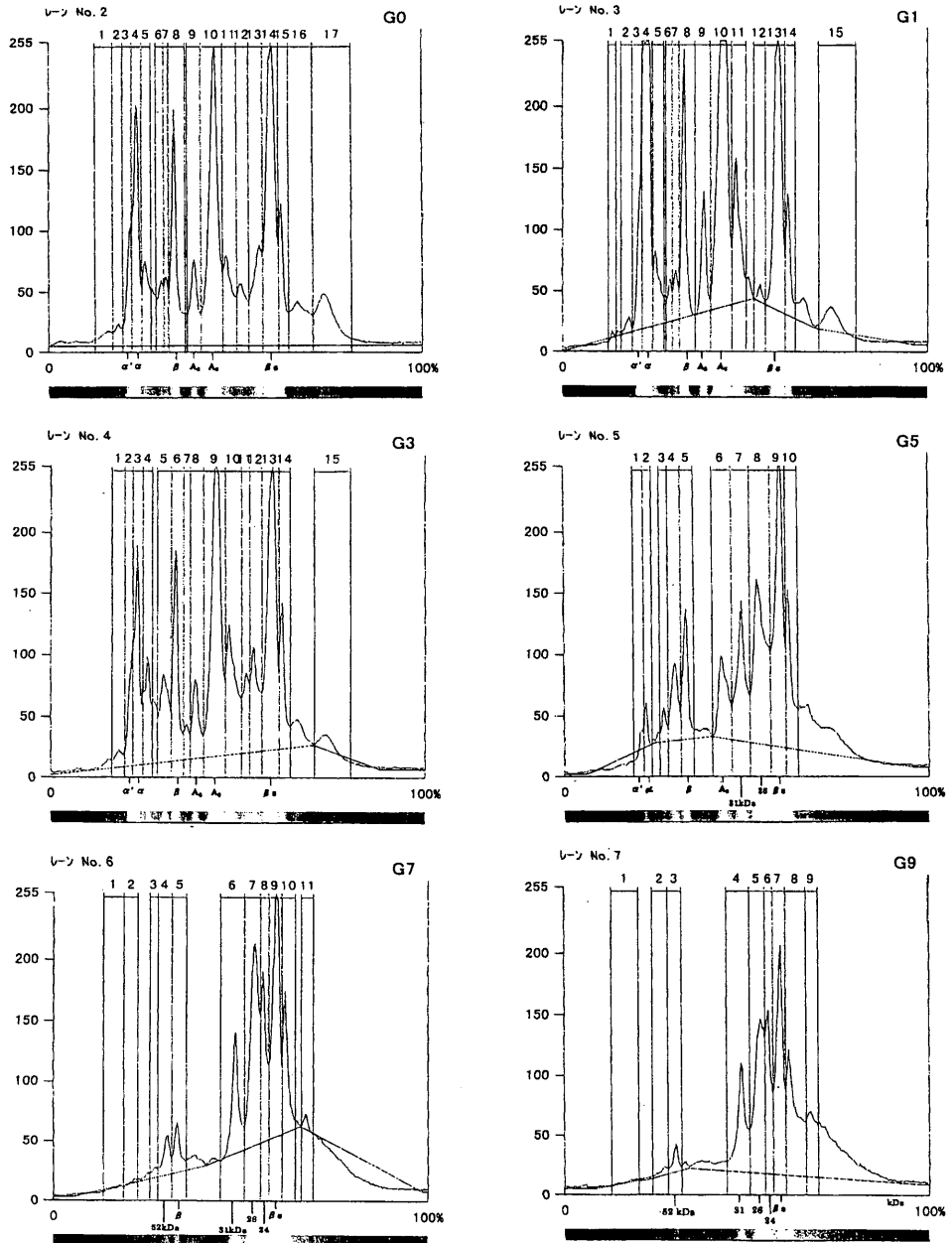


図5 電気泳動像(図4)の吸光度変換によるバンド濃度の変化

図4の10-20% SDS-PAGE(子葉)を画像としてパソコンに取り込み、解析ソフトのレーンアナライザーで吸光度変換し、レーン毎にバンドの濃度をピークの面積として現したものである。左上から発芽0日目(G0)、1日目(G1)、3日目(G3)となっており、発芽3日目以降7Sタンパク質の濃度は減少し、9日目の子葉中にはほぼ11Sタンパク質のみが残っている状態となり、全体的な量も減少した。

9日目では、7S タンパク質である 45 kDa (β) のバンドの消失が観察された。

また、3日目以降 7S タンパク質の 61 kDa (7日目には消失)、52 kDa のバンド、11S タンパク質の酸性サブユニットと塩基性サブユニットの間に 31 kDa、26 kDa、24 kDa のバンドがそれぞれ顕著になっていた。

4) 種子貯蔵タンパク質の量的変化(子葉中)

各タンパク質分子の量的な変化を観察するため、前述の電気泳動の結果をレーンアナライザーで吸光度変換し、図5に示すようにそれぞれのバンドのタンパク質濃度を各レーン毎にピーク面積として求めた。

発芽3日目までは 7S タンパク質のピーク、11S タンパク質のピークがはっきりと観察され、量的にも特に大きな変化は見られなかったが、3日目以降発芽が進に従っ

て 7S タンパク質の量は減少し、9日目の子葉中には、僅かに 7S タンパクのピークも確認できるが、ほぼ 11S タンパク質のみが残っている状態となった。

5) 胚軸中のタンパク質分子量変化

胚軸中のタンパク質の電気泳動結果を図6に示したが、発芽0日目から9日目において、バンドが消失し始める早さ、残ったバンドの分子量などの点で、子葉貯蔵タンパク質の電気泳動像(図4)とは顕著な違いを示した。

子葉の場合は発芽3日目以降に顕著な変化を示したのに対し、胚軸では子葉よりも早く、発芽1日目以降に急激な変化が現れた。低分子化は特に認められず、3日目以降 30 kDa と 28 kDa のタンパク質に集約されていく傾向が観察された。

発芽0日目の胚軸中のタンパク質は、大豆子葉貯蔵タ

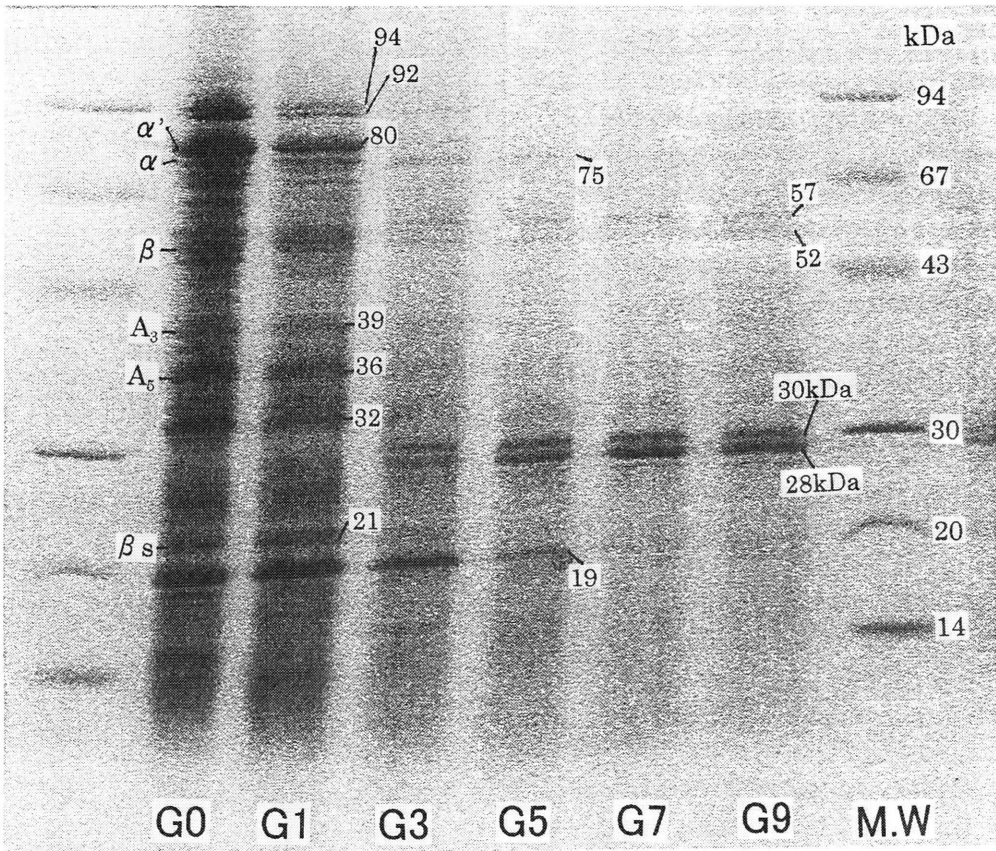


図6 発芽過程におけるタンパク質の変化(胚軸)

図4で示した子葉と同様の条件で胚軸中のタンパク質の変化について電気泳動を行った結果である。子葉が発芽3日目以降に顕著な変化を示したのに対し、胚軸は子葉よりも早く発芽1日目よりバンドの消失による急激な変化が現れ、低分子化は特に認められず、5日目以降 30 kDa と 28 kDa のタンパク質に集約されてくる傾向が見られた。

ンパク質の代表的な 7S, 11S のバンドのみでなく、多数のバンドが高分子から低分子にかけて出現した。子葉に比較し 7S, 11S タンパク質分子の割合は少なく、特に 11S タンパク質の酸性サブユニット (39 kDa, 36 kDa) がかなり少ないものとなっていた。また、子葉中には余り明確に認められない、或いは認められても濃度的に薄くはっきりとしないバンド (94 kDa, 92 kDa, 32 kDa, 19 kDa など) が、胚軸中において明確に出現していた。

発芽 1 日目では、消失したバンドは認められなかったが、19 kDa のバンドを除き、各バンドのタンパク質分子の量が全体的に減少しており、特に高分子のタンパク質の減少が顕著であった。

発芽 3 日目の泳動では顕著なバンドの消失が見られ、30 kDa, 28 kDa, 19 kDa のタンパク質のバンド以外はほぼ消失していた。

発芽 5 日目では 30 kDa, 28 kDa のタンパク質分子の量的増加と、19 kDa のタンパク質分子の減少が見られた。

発芽 7 日目では 19 kDa のタンパク質分子は完全に消失し、30 kDa, 28 kDa のタンパク質分子に集約され、以降 9 日目までこの状態が維持された。

考 察

1) 種子の形態的变化と貯蔵成分の量的変化について

一般的に種子の発芽は、物理的な吸水に始まり¹⁰⁾、次いで胚において合成されたジベレリン、サイトカイニンなどの植物ホルモンが子葉 (胚乳) へ移動して各種の酵素を誘導し^{10), 18)}、誘導された酵素によって子葉中の貯蔵物質が低分子化され、それらが胚軸へ輸送される。輸送された物質が新たに胚の構成物として再合成される事によって発芽及び成長が起こるとされている^{12), 15)}。

今回の結果より、子葉中の貯蔵成分値の量的変化と形態的变化を照らし合わせてみると、図 7 に示したように初期発芽が起こる発芽 0~1 日目 (幼根が種皮を破って出てくる。) の成分値においては、タンパク質には殆ど変化が見られず、脂質は僅かに減少した。これより、大

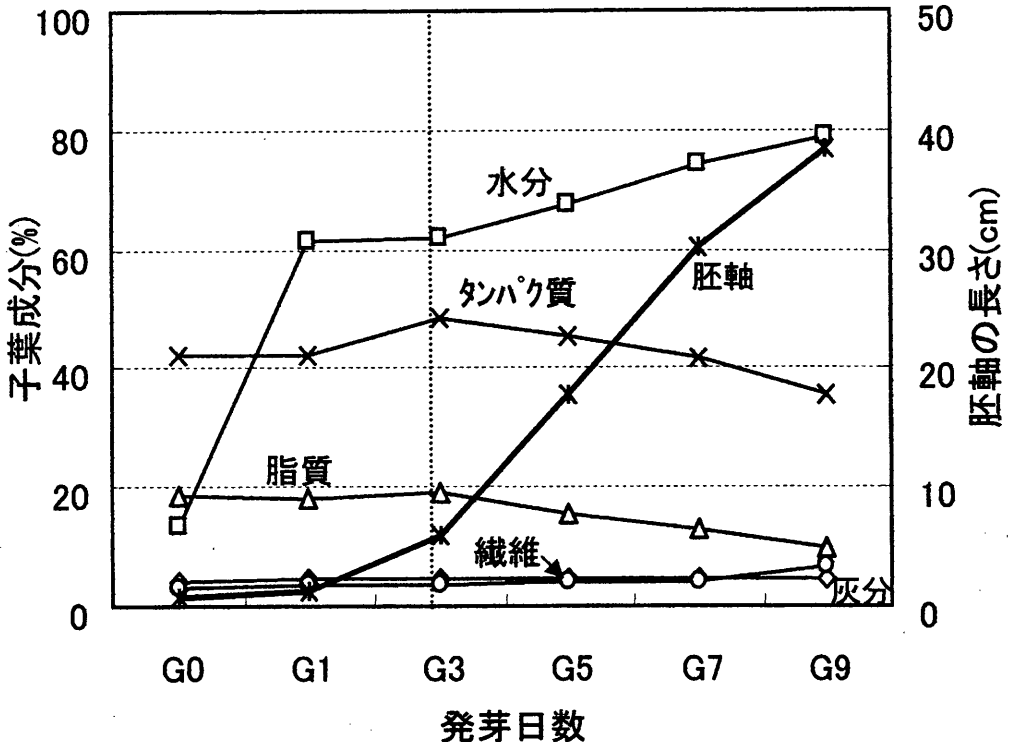


図 7 発芽過程における子葉成分変化と胚軸の伸長

子葉中の一般成分値の変化と胚軸伸長の様子を対比させたグラフである。胚軸の伸長が急激になる発芽 3 日目が成分変化でも 1 つの変局点となっている事が分かる。

豆種子ではタンパク質ではなく脂質の方が発芽初期に分解され、何らかの役割をしているのではないかと考えられた。文献では脂質はリパーゼの作用によって分解され、 β 酸化とグリオキシル酸経路を経て糖に変換され他の組織に輸送される。又糖新生の基質或いはエネルギー源として利用されるだけでなく、生理活性物質の前駆体にも成っているとされる^{13),14)}。今回の結果もこの説の裏付けとなるものと思われる。

発芽1日目から3日目まではタンパク質、脂質は増加傾向を示し、胚軸の伸長が急激になる3日目を1つの変局点として以降減少に転じた。減少するのみでなく一旦3日目に増加するという結果は、子葉中の貯蔵物質が分解後胚に輸送され、子葉中での量が単純に減少するだけでない事が示唆された。植物ホルモンやタンパク質、脂質を含む何らかの物質が、逆に胚軸から子葉中に流入移動をした可能性¹⁵⁾、或いは葉緑体の発達と共に子葉中で脂質、タンパク質の合成が独自に成された。もしくは胚軸からの物質の流入、子葉中で物質の合成の両者が起こっており、子葉で分解された貯蔵物質の胚軸への輸送量を上回っている可能性。または、子葉貯蔵成分は殆ど分解輸送されておらず、胚軸は胚軸中の貯蔵成分のみで3日目まである程度成長し、子葉からの成分の供給無しで初期発芽が起こり、他方胚軸から子葉への物質の流入、或いは子葉中においても独自の物質の合成が起こるため、一旦子葉成分値は増加を示すなど、様々な可能性が考えられる。3日目以降子葉中の貯蔵成分値が減少を示すのは、胚軸の成長に順次供給されてゆくためと考えられる。灰分の値も脂質、タンパク質などと同様に3日目に変局点となった。繊維は減少することなく増加のみであったが、3日目ではその増加の割合が鈍くなっていた。これは3日目に他のタンパク質、脂質などの成分が増加したため、繊維の絶対量は増加しているが、見かけ上一時的に子葉中の繊維の割合が減少したように見えるのではないかと考えられる。

これらいずれの可能性に於いても、発芽3日目前後が物質代謝の上で1つの変局点となっていることが示唆された。

実際の発芽実験においても、3日目頃を順調に生育できたものはその後9日目まで成長するが、発芽3日目頃から成長不良となったり、或いは腐り始めてしまう種子もあり、発芽3日目頃が成長の上でも分岐点となる結果となった。

2) 子葉及び胚軸タンパク質の電気泳動像の結果より

前述のように、一般成分値の量的な変化は発芽3日目前後を1つの変局点としていたが、タンパク質の分子量の変化も、子葉では発芽3日目を境として顕著なバンドの減少を示した。この結果より子葉中の貯蔵タンパク質は主に発芽3日目以降の成長で消費されている事を示唆し、3日目までタンパク質の分子量に殆ど変化が観察されないと言う今回の結果は、発芽初期(0~3日目まで)には子葉中の貯蔵タンパク質は、余り重要な役割を担っておらず、3日目以降重要になってくるのではないかと考えられる。形態的变化と相関的に見ると、発芽5日目に急激な胚軸の伸長、支根の僅かな発現が見られ、タンパク質では7Sの80kDa(α')、74kDa(α)のバンド濃度が急激に減少し、11S酸性サブユニットの39kDaのバンドが完全に消失した。この結果を見ると、これらのタンパク質は主に支根の初期発現、胚軸の伸長に関わりがあるのではないかと推察される。発芽7日目では上胚軸の急激な伸長、胚軸の更なる伸長が起こり、それに伴いバンドは7Sタンパク質の80kDa(α')、74kDa(α)、11Sタンパク質の酸性サブユニット35kDaのバンドが完全に消失しており、これらの形態的变化に重要なタンパク質成分が消費され消失したものと考えられる。発芽9日目では顕著な支根の発達を観察され、タンパク質では7Sタンパク質45kDa(β)のバンドが完全に消失した。この結果より、45kDaのタンパク質は支根の発育と深い関わりがあるのではないかと考えられる。

逆に胚軸中のタンパク質は子葉よりも早く変化が起こり、発芽0~3日目で主要なタンパク質はほぼ分解され、3日目以降は19kDa付近に多少の変化は認められるが、主に30kDa、28kDaのバンドのみとなり、安定した状態となった。この結果は3日目以降変化が現れる子葉と対照的であり、胚軸中のタンパク質は発芽初期に深い関わりを持っており、発芽開始時に何らかの重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

これら子葉および胚軸それぞれのタンパク質変化と種子の形態的变化を照らし合わせると、種子が発芽し、3日目位の状態になるまでは胚軸のみのタンパク質が消費され、胚軸中のタンパク質が消費されて無くなる発芽2~3日目以降に、子葉からのタンパク質が胚軸に輸送されるのではないかと考えられる。つまり発芽3日目前後を境にタンパク質の輸送が切り替わるのではないかと考えられる。発芽初期には胚軸のみのタンパク質で成長

していたものが、それらを消費し尽くし、胚軸の形態的变化が著しくなる発芽3日目前後に、子葉からタンパク質の分解産物の輸送が急激に起こり始めるのではないかと考えられる。

3) 一般成分及び電気泳動結果より

子葉中の水分、脂質、灰分、繊維、タンパク質の量的変化とタンパク質の分子量変化はともに発芽3日目前後が1つの変局点と成っていることが示唆された。胚軸は今回タンパク質の電気泳動のみで一般成分は測定しなかったが、電気泳動の結果より、タンパク質に関しては子葉よりも早く急激な変化が胚軸内部で起こっていることが示唆された。

現在の研究の流れとして、子葉中のタンパク質、貯蔵成分に関しては多方面から、様々な研究がなされているが^{16),17),18)}、今回の結果より、種子の発芽初期に重要な役割を果たしているのは子葉よりはむしろ胚軸中のタンパク質ではないかと考えられる。子葉中のタンパク質は発芽後の形態形成上無くては成らないものであるが、形態分化の元基は胚軸中の貯蔵タンパク質で既に形作られており、子葉中のタンパク質は実際の形態を構成してゆく栄養素としての役割を担っているのでは無いかと思われた。

要 約

白大豆(鶴の子)を対象として発芽過程における種子貯蔵物質の変化を観察するため、今回は子葉について一般成分分析によりタンパク質、脂質、繊維、灰分、水分について定量を行った。特にタンパク質に関してはSDS-ポリアクリルアミドスラブルゲル電気泳動法により分子量の変化を子葉、胚軸について調べた。

発芽は26℃、74～80%に設定した恒温恒湿器内で行い、試料採取日は発芽0,1,3,5,7,9日目とし各採取日につき150～250粒を採取し、子葉、胚軸、種皮に分け、凍結乾燥後粉末状にし、脱脂したものを定量および電気泳動法に用いた。

子葉中の貯蔵物質の量的な変化は、胚軸の伸長が著しくなる発芽3日目が1つの変局点となっていることが示唆された。タンパク質、脂質は発芽3日目頃に一旦増加し、以降減少に転じた。繊維、水分は経日的に増加傾向を示し、灰分には顕著な変化は余り見られなかった。

電気泳動の結果は、一般成分値と同様に発芽3日目が1つの変局点となり、子葉と胚軸では顕著な差異を示し、

子葉が発芽3日目以降に顕著なバンドの消失と低分子化を示したのに対し、胚軸は子葉よりも早く、発芽0日目から3日目に顕著なバンドの消失が観察され、低分子化は特に認められず、3日目以降30kDa、28kDaのタンパク質へ集約されてくる傾向が認められた。

発芽による子葉貯蔵成分の量的変化とタンパク質の電気泳動の結果は、共に胚軸の伸長及び形態変化が急激になる発芽3日目前後が1つの変局点となっていることが示唆された。また、子葉と胚軸ではタンパク質の電気泳動の結果が顕著な差異を示し、発芽初期(0～3日目)では胚軸中の貯蔵タンパク質が、発芽3日目以降では子葉中のタンパク質が顕著な変化を示し、発芽3日目前後を境に胚軸と子葉のタンパク質の輸送系が何らかの形で変化するのではないかと考えられた。

参考文献

- 1) 種子生理生化学研究会編：種子のバイオサイエンス，学会出版センター（1995）
- 2) 坂元雄二：人工種子．種子のバイオサイエンス，種子生理生化学研究会編，1995，pp.56～59
- 3) 内海成，勝部朋之：大豆蛋白質とのハイブリッド化による新規高機能蛋白質作物の開発に関する研究．タカノ農芸化学研究助成財団平成8年度助成研究報告書，pp.11～17（1997）
- 4) 宇高京子：大豆貯蔵蛋白質の生化学的および生物に対する影響に関する基礎的研究（1）発芽大豆の経日的変化に伴う大豆貯蔵蛋白質の変化．東京家政大学生生活科学研究所研究報告，13，15～21（1995）
- 5) 宇高京子：大豆種子の発芽に伴う蛋白質分解酵素活性の変化．東京家政大学研究紀要，35，15～21（1995）
- 6) 宇高京子：大豆種子の発芽に伴う酸性エキソ型プロテアーゼ活性の変化．東京家政大学研究紀要，36，29～32（1996）
- 7) 宇高京子，川名広子：大豆未発芽種子の酸性エキソ型プロテアーゼの精製．東京家政大学研究紀要，37，23～26（1997）
- 8) 宇高京子，森永真希子：発芽各時期における大豆種子蛋白質の自己分解に及ぼすpHの影響．東京家政大学研究紀要，38，17～23（1998）
- 9) 栽培の基礎，野菜園芸大百科6，413～429
- 10) 松尾孝嶺編：稲学大成2生理編；第1章発芽と

- 休眠の生理, 第1節発芽の生理, 農山漁村文化協会, 1990, pp.3~11
- 11) 山口淳二: 種子貯蔵デンプン分解系. 植物細胞工学, 5, 184~192 (1993)
- 12) 種子生理生化学会編: 種子のバイオサイエンス, III 種子成分の生化学, 3 種子タンパク質の分解, 学会出版センター, 1995, pp.71~73
- 13) 種子生理生化学会編: 種子のバイオサイエンス, IV 種子の遺伝子発現, 3 脂質の合成と分解・代謝に関わる遺伝子とその発現, 学会出版センター, 1995, pp.123~127
- 14) 旭正編: 植物の機能, 3. 植物のシンク機能, 岩波書店, 1991, pp.112~115
- 15) 旭正編: 植物の機能, 2. 植物のソース機能, 岩波書店, 1991, pp.68~83
- 16) 西村いくこ: 液胞タンパク質前駆体のための輸送ベシクルとプロセッシング. 植物細胞工学, 5, 348~356 (1993)
- 17) 柏葉晃一, 松田智明, 大石秀夫, 長南信雄: 発芽期のダイズ種子における貯蔵物質の消費過程に関する微細構造観察. 日作東北支部報 (*Tohoku Journal of Crop Science*), 38, 95~96 (1995)
- 18) 山口淳二, 光永伸一郎: 発芽過程—ジベレリンによって発現される遺伝子群—. 蛋白質・核酸・酵素, 37, 1239~1248, (1992)
- 19) 山内大輔: 発芽種子における貯蔵タンパク質分解系の発現. 植物細胞工学, 5, 174~183 (1993)

Abstract

It is known that seed storage substances at different growth stage have been examined by several characteristics transport, synthesis and disintegration. Those studies have done also at a molecular or genetic appearance approach. Additional direct observation about storage substance by electron microscope has done to observe changes of the tissues. On the other hand artificial seeds are developing as aim mass production in order to wait for elucidation of structure and function about nature seeds. In this study we aimed at germination of white soybean seeds which was the first stage of growth and analyzed the changes of storage substances induced by germination with quantitative analysis about protein, water, ash, fiber and lipid. These substances were increased gradually to continue culture, however, it is not worthy that protein and lipid were increased the third day during culture and then were decreased. The protein was analyzed especially the changes of molecular weight about seed leaf and embryo with 10-20% SDS-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE). The SDS-PAGE, there was a markedly difference between the seed leaf and the embryo; the seed leaf protein was gradually decreased and disappeared in high molecular weight band in contrast the low bands were appeared remarkable from the third day. On the other hand the protein of embryo was came to disappear both high and low molecular weight band from the first day of growth.