

LC-MSによる地域型蚕品種の繭層フラボノイドの解析

誌名	蚕糸・昆虫バイオテック = Sanshi-konchu biotec
ISSN	18810551
著者名	平山,力 小瀬川,英一 田村,泰盛 中村,匡利
発行元	日本蚕糸学会
巻/号	78巻1号
掲載ページ	p. 57-63
発行年月	2009年4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



LC-MS による地域型蚕品種の繭層フラボノイドの解析

平山 力・小瀬川 英一・田村 泰盛・中村 匡利

独立行政法人 農業生物資源研究所
(2008年7月16日受付; 2008年12月8日受理)

CHIKARA HIRAYAMA, EIICHI KOSEGAWA, YASUMORI TAMURA and MASATOSHI NAKAMURA: Analysis of flavonoids in the cocoon layer of the silkworm regional races by LC-MS

農業生物資源研究所で保存されている地域型蚕品種 105 種 (白繭 49 種, 笹繭 6 種, 緑繭 8 種, 黄繭・紅繭 42 種) の繭層メタノール抽出物について LC-MS を用いて詳細な解析を行い, それぞれのフラボノイド組成と含有量について比較を行った。笹繭の繭層には 6 ~ 12 種のフラボノイドが検出されたが, いずれもケルセチンまたはケンフェロールにグルコースが結合したフラボノール配糖体であった。笹繭繭層はフラボノイド含量が低いものが多数を占めたが, 例外的にピュアマイソール繭層は調査した全ての繭層の中で最もフラボノイド含量が高く, その主要なフラボノイドはケルセチン 5,4'-ジグルコシドであった。一方, 緑繭繭層は笹繭繭層に比べて総じてフラボノイド含量が高かった。緑繭には, 笹繭にも含まれているフラボノール配糖体が 10 種余り含まれていたが, その他にケルセチンにプロリンが結合したプロリナリン A やプロリナリン B 等の C-プロリニルフラボノールや構造未知のフラボノイドが 15 種以上存在することが明らかになった。質量分析の結果から, これらの構造未知のフラボノイドは C-プロリニルフラボノールの類縁化合物である可能性が示唆された。また, 白繭の繭層にはフラボノイドはほとんど含まれていなかったが, 黄繭・紅繭の繭層には笹繭と同様のフラボノール配糖体が含まれているものが存在した。

キーワード: フラボノイド, フラボノール, 笹繭, 緑繭, 繭層, LC-MS

家蚕の品種・系統の中には繭層中にフラボノイドが含まれているものがあり, これらの品種・系統は繭層の色の違いから笹繭種 (笹色) と緑繭種 (緑黄色) の 2 つに大別されている。フラボノイドを含まない人工飼料で緑繭種である大造×青白の幼虫を飼育すると繭層にフラボノイドが検出されないが, 人工飼料にイソケルシトリンやルチンを加えて飼育を行うと, 繭層にフラボノイドが検出されることから, 繭層フラボノイドは桑葉中のルチンやイソケルシトリン等のフラボノイドに由来することが明らかにされている (藤本・林屋, 1972)。ペーパークロマトグラフィーを用いた初期の研究によると, 緑繭種 (大造) の繭層には 9 種, 笹繭種 (正白×B8 斑油) には 7 種のフラボノイド様の色素が含まれていることが報告されていたが (藤本ら, 1958), 構造の実態については長い間不明のままであった。最近, 笹繭種 (Multi-bi, ピュアマイソール), 緑繭種 (大造等) の繭層からいくつかのフラボノイドが分離され, 構造決定が行われた (Tamura *et al.*, 2002; Kurioka and Yamazaki, 2002; Hirayama *et al.*, 2006, 2008)。これらの繭層フラボノイドは桑葉に含まれているフラボノイドとは構造が全く異なっており, 桑葉フラボノイドが蚕により吸収された後, 複雑な代謝を受けていることが明らかになっている (Tamura *et*

al., 2002; Kurioka and Yamazaki, 2002; Hirayama *et al.*, 2006, 2008)。

笹繭や緑繭の繭層抽出物は, 抗酸化性, チロシナーゼ阻害活性, 紫外線遮蔽作用, 抗菌性等の性質を有し (山崎ら, 1999; 間瀬, 2007), 化粧品や健康・医療素材としての利用が期待されているものの, これまで繭層フラボノイドの解析が行われているのは上記のごく一部の蚕品種に限られている。

本研究では, 家蚕保存品種の繭層に存在するフラボノイドの特徴について明らかにすることを目的として, 農業生物資源研究所で保存されている白繭, 笹繭, 緑繭, 黄繭・紅繭の繭層 (105 種) について LC-MS を用いて詳細な解析を行い, フラボノイド組成と含有量について比較を行ったので, その結果について報告する。

材料と方法

独立行政法人農業生物資源研究所で保存している地域型蚕品種 105 種 (表 1) を桑葉育した後, 繭層を回収した。このうち, 白繭は 49 種, 笹繭 6 種, 緑繭 8 種, 黄繭・紅繭 42 種で, それぞれ図 1 に示したような繭色の違いにより分類される。各品種ごとに 5 ~ 10 個の繭層をハサミで細断し, 70% メタノール溶液で 60°C, 3 時間抽出処理を行った。抽出液をマイレクス HN4 mm フィルターユニット (ミリポア, 45 μm) で濾過し, LC-MS の分析に用いた。LC-MS 分析は質量分析装置

〒 305-8634 茨城県つくば市大わし 1-2
連絡先: hirayam@nias.affrc.go.jp

表 1 繭層フラボノイド分析に用いた蚕品種

種別	品種名	No.	種別	品種名	No.	種別	品種名	No.
白繭	赤熟	101	白繭	蓮心	320	黄繭・紅繭	乞食	135
"	赤蚕	102	"	浙江	322	"	紅支那	302
"	青熟 (一宮)	104	"	支白繭	324	"	緋紅	308
"	千曲	106	"	諸桂	326	"	漢黄	310
"	伊達錦	109	"	大安橋	335	"	漢口赭繭	311
"	姫蚕	110	"	江浙	341	"	漢川	312
"	小石丸 (蚕試)	116	"	黒縞	342	"	金黄	313
"	国一	118	"	諸夏	343	"	湖北	315
"	又昔	119	"	紹興	344	"	球玉	317
"	紫蚕	120	"	バグダット	504	"	黄波	319
"	鬼縮	121	"	セブエンヌ白	507	"	秀黄	327
"	相模	124	"	y39	526	"	S1号	328
"	桜姫	125	"	優白	527	"	天門	329
"	世界一	127	"	カンボージュ (固定)	602	"	金光丸	340
"	只見蚕	128	笹繭	琉球多蚕繭 (黄綾)	122	"	亜細亜黄繭	501
"	千代鶴	132	"	烏竜	332	"	アスコリー	502
"	中巢	133	"	209 抵	347	"	アスコリー黄繭	503
"	国富	136	"	アンナン	601	"	ピオーネ	506
"	黒蚕	138	"	マイソール	604	"	グッピオ	509
"	日本一	139	"	ピュアマイソール	605	"	伊黄繭	510
"	大青熟	140	緑繭	大如来	108	"	金桃	511
"	大草	141	"	青白 (静岡)	126	"	黒蛾	512
"	大錦	142	"	天竜青白	129	"	マイエラ・ゼブラ	513
"	正白 (前橋)	144	"	青白 (山形)	143	"	マルケ黄繭	514
"	正白 (武豊)	145	"	碧蓮	307	"	65号	516
"	玉無飛白	146	"	大造 (長野)	337	"	ローザ	517
"	種子島	147	"	大造 (松村)	338	"	S9号	518
"	角又 (静岡)	148	"	輪月	606	"	西班牙	519
"	日本錦	149	黄繭・紅繭	栗国蚕	105	"	サンジュリアン	520
"	アモイモリコード	301	"	古金	113	"	セクザード	521
"	茶斑	304	"	金光珠	114	"	トルコ黄繭	522
"	大円頭	306	"	金色 (前橋)	115	"	パール	523
"	改じょう	309	"	琉球多蚕繭 (静岡)	123	"	Y4	524
"	瘤蚕	314	"	和黄	130	"	y35	525
"	南湖	318	"	金色 (松本)	134	"	カンボージュ (多化)	603



図 1. 家蚕保存品種の白繭 (支白繭; No.324), 笹繭 (ピュアマイソール; No.605), 緑繭 (青白 (山形); No.143), 黄繭 (金光丸; No.340), 紅繭 (湖北; No.315) の繭層

(HP1100MSD) とフォトダイオードアレイ検出器を装備した HPLC システム (HP1100 Series, Agilent Technologies, Inc) を用いた。LC-MS 装置に Nova-Pak C18 カラム

(Waters, 150 mm × 2.0 mm i.d) を装着し、流速は 0.3ml/min, カラム温度は 40°C で試料の分離を行った。移動層は溶媒 A (0.2% ギ酸水溶液) と溶媒 B (0.2% ギ酸, 99.8% アセトニトリル) を用い、B の濃度を 40 分間で 7% から 40% に直線的に増加させた。試料のイオン化には大気圧イオン化方式を用い、ネガティブイオンモードでフラグメンター電圧を 70 V, キャピラリー電圧 3500 V, ドライガスフロー 10l/min, ネブライザ圧力 25 psig, ドライガス温度 350°C に設定した。

繭層フラボノイドの同定に使用する標準フラボノイドとして、イソケルシトリン (ケルセチン 3- グルコシド (Quercetin 3-glucoside, 以後 Q-3-G)), ケルセチン 4'- グルコシド (Quercetin 4'-glucoside, 以後 Q-4'-G) を Extrasynthase (Genay, France) から入手した。また、ケルセチン 5- グルコシド (Quercetin 5-glucoside, 以後 Q-5-G), ケルセチン 5,4'- ジグルコシド (Quercetin 5,4'-diglucoside, 以後 Q-5,4'-G), ケルセチン 7- グルコ

シド (Quercetin 7-glucoside, 以後 Q-7-G), ケルセチン 5,3'-ジグルコシド (Quercetin 5,3'-diglucoside, 以後 Q-5,3'-G), ケルセチン 3,7'-ジグルコシド (Quercetin 3,7'-diglucoside, 以後 Q-3,7-G), ケルセチン 3,3'-ジグルコシド (Quercetin 3,3'-diglucoside, 以後 Q-3,3'-G), ケンフェロール 5-グルコシド (Kaempferol 5-glucoside, 以後 K-5-G), ケンフェロール 5,4'-ジグルコシド (Kaempferol 5,4'-diglucoside, 以後 K-5,4'-G) は Hirayama *et al.* (2008) に従ってピュアマイソール繭層から分離した。プロリナリン A (Prolinalin A), プロリナリン B (Prolinalin B) は Hirayama *et al.* (2006) の方法により大造繭層から分離した。

繭層フラボノイドの同定は, フラボノイド標準品の LC-MS 分析におけるクロマトグラム上の保持時間, 質量スペクトル, フォトダイオードアレイ検出器による紫外・可視吸収スペクトルを比較して行った。フラボノイドの定量には, Q-5-G を標準品として用い, 365 nm で検出したクロマトグラムのピーク面積から作成した検量線を使用した。

表 2 繭層フラボノイドの LC-MS による分析データ

ピーク番号	UV (nm)	[M-H] ⁺ (m/z)	化合物名
1	250,358	787	Quercetin triglucoside
2	252,350	787	Quercetin triglucoside
3	252,361	625	Quercetin diglucoside
4	252,356	625	Quercetin 3,7'-diglucoside
5	250,364	738	Unknown
6	250,358	738	Unknown
7	248,357	625	Quercetin 5,4'-diglucoside
8	256,356	609	Kaempferol 5,4'-diglucoside
9	253,361	576	Unknown
10	268,364	689	Unknown
11	250,364	625	Quercetin 3,3'-diglucoside
12	272,364	689	Unknown
13	250,362	625	Quercetin 5,3'-diglucoside
14	255,369	689	Unknown
15	269,370	689	Unknown
16	272,366	689	Unknown
17	270,364	576	Unknown
18	251,364	463	Quercetin 5-glucoside
19	275,375	689	Unknown
20	275,373	673	Unknown
21	254,369	463	Quercetin 7-glucoside
22	254,352	463	Quercetin 3-glucoside
23	257,375	527	Unknown
24	258,377	527	Unknown
25	277,361	447	Kaempferol 5-glucoside
26	257,372	414	Prolinalin A
27	257,369	414	Prolinalin B
28	275,379	527	Unknown
29	275,380	527	Unknown
30	252,367	463	Quercetin 4'-glucoside
31	264,364	447	Kaempferol monoglucoside

^a 脱プロトン化分子

結果と考察

本研究で使用した繭層は表 1 に示した 105 品種のものであり, この 105 品種の繭層から検出されたフラボノイドの分析データ (吸収スペクトルのピーク, 脱プロトン化分子の質量, 化合物名) をまとめたものを表 2 に示す。

本研究では白繭として 49 品種の繭層をフラボノイド分析に供試したが, 白繭繭層のフラボノイド含有量は極めて少なく, 含有量が 0.2 μmol/g 繭層以上あったものは 1 つもなかった (図表略)。

筐繭として, 琉球多蚕繭 (黄綾) (No.122), 烏竜 (No.332), 209 抵 (No.347), アンナン (No.601), マイソール (No.604), ピュアマイソール (No.605) の 6 品種の繭層のフラボノイドを分析した結果を表 3 に示す。また, 代表的な筐繭種であるピュアマイソールのフラボノイド HPLC 分離パターンを図 2A に示す。筐繭の繭層からはそれぞれ 6 ~ 12 種のフラボノイドが検出されたが, フ

表 3 筐繭種の繭層に存在するフラボノイドの測定 (μmol/g 繭層)

ピーク番号	品種番号					
	122	332	347	601	604	605
1		0.01	0.05		0.03	0.36
2	0.03			0.03	0.05	
3						
4	0.04	0.09	0.08	0.03	0.32	0.62
5						
6						
7	0.11	0.19	0.10	0.04	0.11	11.50
8	0.04	0.06	0.03	0.01	0.07	a
9						
10						
11	0.01	0.01		0.02	0.11	0.09
12						
13	0.01	0.02		0.01	0.09	0.70
14						
15						
16						
17						
18	0.11	0.13	0.08	0.05	0.15	1.12
19						
20						
21	0.02	0.01		0.03	0.43	0.06
22	0.03	0.05	0.02	0.03	0.23	0.01
23						
24						
25						0.03
26						
27						
28						
29						
30		0.01		0.01	0.08	0.57
31				0.01	0.13	0.10
Total	0.40	0.60	0.36	0.26	1.85	15.14

a: ピーク 7 とかぶっているため定量できなかった

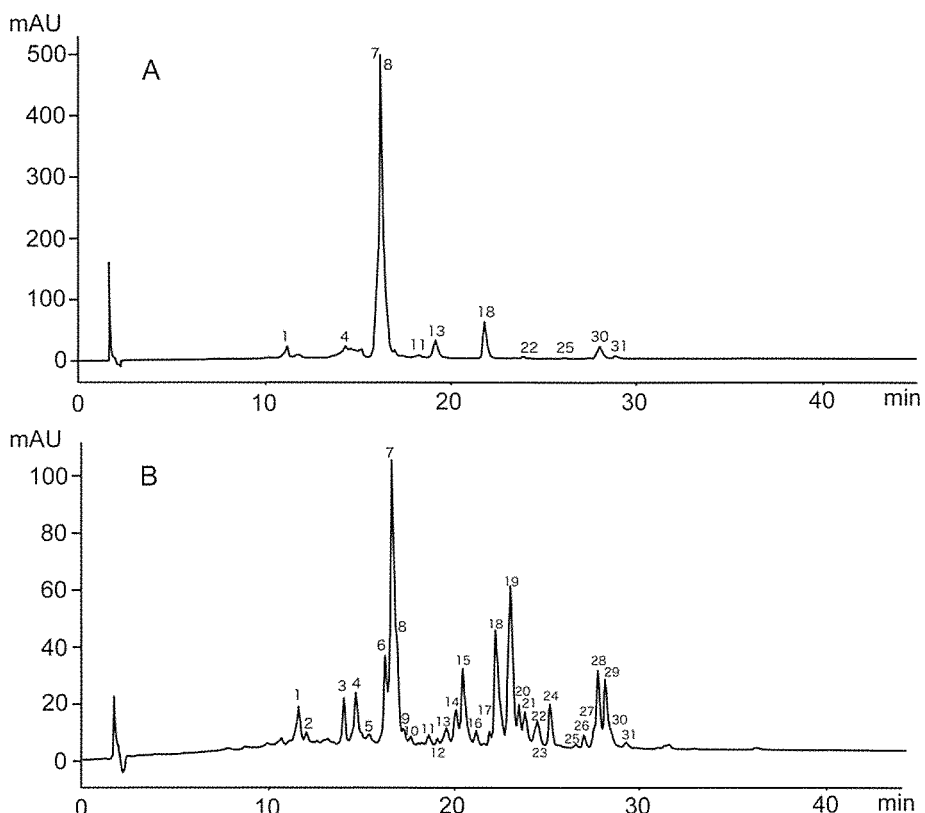


図2. 萹層フラボノイドのHPLC分離パターン。A：萹層種（ピュアマイソール）、B：緑萹層種（大造（松村））

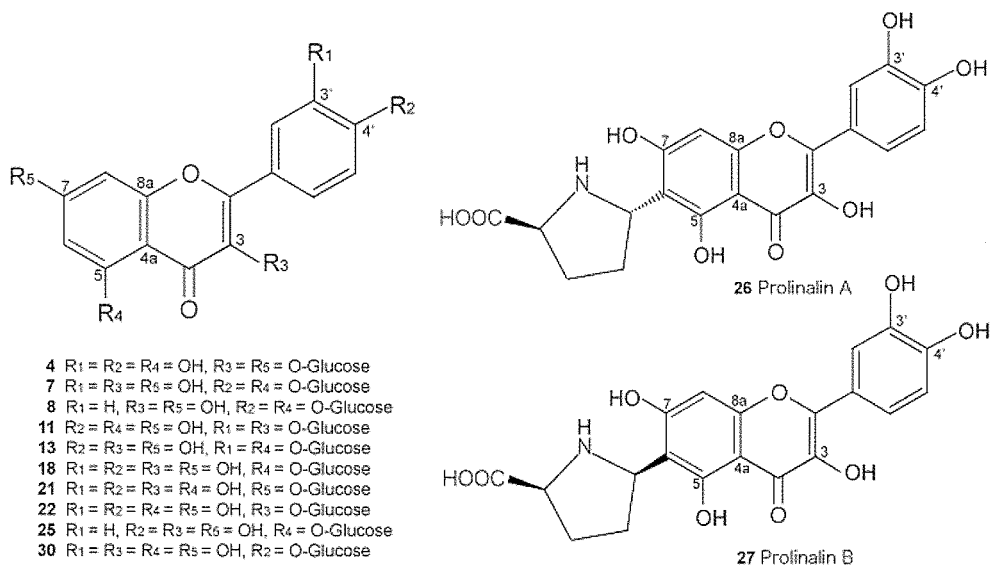


図3. 萹層フラボノイドの構造。数字はHPLCの溶出ピークの番号

ラボノイド標準品との比較から、10種のフラボノイド（4, 7, 8, 11, 13, 18, 21, 22, 25, 30）が同定された（図3）。また、質量スペクトルの m/z 値からピーク1, 2はケルセチントリグルコシド（Quercetin triglucoside）、3はケルセチンジグルコシド（Quercetin diglucoside）、31はケンフェロールモノグルコシド（Kaempferol monoglucoside）と推定されたが、グルコースの結合部位を明らかにすることはできなかった。萹層種の萹層に存在する

フラボノイドはケルセチンあるいはケンフェロールにグルコースが結合したフラボノール配糖体（グルコシド）に限られており、全ての萹層種に共通のフラボノイドは、Q-3,7-G（4）、Q-5,4'-G（7）、K-5,4'-G（8）、Q-5-G（18）、Q-3-G（22）であった。萹層種の萹層に含まれるフラボノイド含有量はピュアマイソールを除くと0.3～1.9 $\mu\text{mol/g}$ 萹層とかなり少なかった。ピュアマイソール萹層1gにはフラボノイドが15.1 μmol 含まれており、

今回供試した全品種の繭層中でもっともフラボノイド含有量が高く、笹繭種としては例外的な値であった。また、ピュアマイソール繭層中の主要なフラボノイドはQ-5,4'-G (7) であった。

緑繭として大如来 (No.108), 青白 (静岡) (No.126), 天竜青白 (No.129), 青白 (山形) (No.143), 碧蓮 (No.307), 大造(長野) (No.337), 大造(松村) (No.338), 輪月 (No.606) の8品種の繭層を用いてフラボノイド分析を行ったが、このうち大造(松村)のフラボノイドのHPLC分離パターンを図2Bに示す。緑繭種の繭層に含まれるフラボノイド含有量は3.6~12.7 μmol/g 繭層であり、笹繭の繭層フラボノイド含有量に比べて総じて高かった(表4)。緑繭種の繭層には23~31種のフラボノイドが存在していたが、そのうち12種のフラボノイド(4, 7, 8, 11, 13, 18, 21, 22, 25, 26, 27, 30)がフラボノイド標準品との比較から同定された(表2, 図3)。また、質量スペクトルのm/z値から1, 2はケルセチントリグルコシド、

3はケルセチンジグルコシド、31はケンフェロールモノグルコシドと推定された。以上のフラボノイドは26と27を除いて、笹繭種の繭層にも存在するフラボノール配糖体であった。さらに、緑繭の繭層にはm/z値が738(5, 6), 689(10, 12, 14, 15, 16, 19), 673(20), 576(9, 17), 527(23, 24, 28, 29)の未知のフラボノイドが存在していた(表2)。緑繭には固有のフラボノイドとしてケルセチンにプロリンが結合したプロリナリンA(26)やプロリナリンB(27)等のC-プロリニルフラボノール(C-prolinyl flavonol)が存在しているが、その他の未同定フラボノイドの多くもC-プロリニルフラボノールの類縁化合物であると推測される。例えば、m/z値527の化合物(23, 24, 28, 29)にはケルセチンにプロリン残基が2個付加していると解釈することができる。また、m/z値576の化合物(9, 17)はプロリナリンAあるいはプロリナリンBのモノグルコシドであり、m/z値738の化合物(ピーク5, 6)はプロリナリンAあるいはプ

表4 緑繭種の繭層に存在するフラボノイドの測定 (μmol/g 繭層)

ピーク 番号	品種番号							
	108	126	129	143	307	337	338	606
1	0.21	0.39	0.32	0.11	0.04	0.27	0.23	0.01
2	0.03	0.06	0.08	0.05	0.05	0.05	0.10	0.03
3				0.03		0.25	0.46	
4	0.18	0.41	0.11	0.29	0.22	0.43	0.62	1.06
5					0.03	0.10	0.17	
6	0.07	0.27	0.14	0.05	0.28	0.54	0.88	
7	0.10	0.19	0.20	0.02	0.87	2.36	2.60	0.40
8	0.07	0.17	0.13	0.09	a	a	a	0.46
9	0.05	0.12	0.07	0.03	0.07	0.09	0.17	
10	0.03	0.06	0.06	0.12		0.05	0.10	0.06
11	0.04	0.04	0.04	0.05	0.10	0.07	0.12	0.08
12	0.02	0.07	0.06	0.10	0.02	0.04	0.08	0.09
13		0.06	0.06	0.07	0.06	0.14	0.19	0.10
14						0.27	0.40	
15	0.20	0.75	0.38	0.26	0.36	0.60	0.76	0.10
16	0.08	0.18	0.14	0.19	0.07	0.10	0.18	0.16
17		0.10	0.05	0.01	0.07	0.08	0.09	0.04
18	0.36	0.56	0.50	0.15	1.09	1.00	1.11	0.21
19	0.37	1.38	0.66	0.42	0.89	1.34	1.62	0.25
20	0.10	0.54	0.23	0.10	0.12	0.24	0.28	
21	0.06	b	b	0.12	0.26	0.27	0.36	0.26
22	0.13	0.13	0.10	0.19	0.20	0.26	0.31	0.44
23	c	0.26	0.17	c	c	c	c	c
24	0.33	0.44	0.34	0.29	0.19	0.28	0.36	0.09
25					0.02	0.02	0.02	
26	0.13	0.13	0.12	0.08	0.06	0.09	0.08	0.03
27	0.18	0.23	0.21	d	d	d	d	0.19
28	0.48	0.68	0.49	0.60	0.40	0.57	0.67	0.14
29	0.37	0.77	0.47	0.52	0.32	0.57	0.68	0.21
30	e	e	e	e	e	e	e	e
31					0.01	0.04	0.07	
Total	3.60	7.99	5.13	3.94	5.82	10.12	12.69	4.42

a, b, c, d, e: ピーク7, 20, 22, 28, 29とそれぞれかぶっているため定量できなかった

ロリナリン B のジグルコシドであると推測される。同様に m/z 値 689 の化合物 (10, 12, 14, 15, 16, 19) は m/z 値 527 の化合物 (23, 24, 28, 29) のモノグルコシドであり, m/z 値 673 の化合物 (20) はケンフェロールにプロリン残基が 2 個とグルコース 1 個が付加した構造をしている可能性が考えられる。このように, C-プロリニルフラボノールの類縁化合物にはプロリンおよびグルコースの結合数や結合部位等の異なる多数の化合物が存在すると推測される。

黄繭・紅繭種の繭層には黄色のルテイン(キサントフィル)や紅色の β -カロテン等のカロテノイドを含有することが知られている(針塚, 1953)。カロテノイドが繭層に含まれている場合, フラボノイドの有無は繭色だけでは判断できないが, LC-MS を用いることにより繭層にフラボノイドが存在しているかどうか簡単に調べることができる。本研究では繭層が黄繭・紅繭種 42 品種の繭層をフラボノイド分析に用いた(表 1)。黄繭・紅繭種の繭層の多くはフラボノイドをほとんど含んでいなかったが, 中にフラボノイドの含有量が $0.2 \mu\text{mol/g}$ 繭層以上あった品種が 6 品種あった。これら 6 品種, 栗国蚕 (No.105), 金色(松本) (No.134), 乞食 (No.135), 伊黄繭 (No.510), セグザード (No.521), カンボージュ(多化) (No.603) の繭層フラボノイドの解析結果を表 5 に示す。黄繭・紅繭種の繭層にはフラボノイドが 4~10 種類検出されたが, いずれもケルセチンあるいはケンフェロールのグルコシドであり, 緑繭種の繭層に見られるようなプロリナリン A, プロリナリン B およびその類縁化合物と推測されるフラボノイドは全く検出されなかった。

かつて, 緑繭種および黄繭・紅繭種合計 61 品種の繭層のフラボノイド含有量について調べられたことがあった(藤本・林屋, 1961)。彼らの分析結果をもとに計算すると, 緑繭繭層のフラボノイド含有量は $4.6 \sim 13.1 \mu\text{mol/g}$ 繭層となり, 今回のわれわれの結果とほぼ等しいことがわかった。また, 黄繭・紅繭種の繭層のフラボノイド含有量は総じて低いが, 例外的にカンボージュの繭層にはフラボノイドが多量に含まれていることも, 今回のわれわれの研究で再確認された。一方, 今回のわれわれの研究の特徴は, 緑繭種と黄繭・紅繭種に加えて, 白繭種と笹繭種を調査対象にしていることと, 各繭層のフラボノイド総含有量だけでなく構成するフラボノイドの個々の組成についても明らかにしようと試みた点である。その結果, 繭層のフラボノイドの構成パターンは大別すると 2 つに分類されることが明らかになった。一つは「笹繭型」と呼べるもので, 構成するフラボノイドがケルセチンあるいはケンフェロールのグルコシドであり, 笹繭と黄繭・紅繭の一部がこのパターンに相当した。もう一つは「緑繭型」であり, 「笹繭型」のフラボノールグルコシドに加え, 緑繭固有の C-プロリニルフラボノールおよびその類縁体によって繭層フラボノイドが構成されていると推測されるもので, 緑繭全てが

このパターン相当した。この解析結果は, 笹繭および緑繭フラボノイドのカイコ体内における生合成機構や笹繭および緑繭性を支配する遺伝子の形質発現機構を明らかにしていく上で重要な発見であると考えられる。かつて, 白繭種正白(表 2 の No.144 あるいは 145)と白繭種 B8 斑油を交雑すると笹繭が発現したことから, 笹繭遺伝子として Ga および Gb の 2 つの補足遺伝子が設定され, 正白には Ga が, B8 斑油には Gb が存在すること, さらに Gb は第 7 連関群に座上することが明らかにされた(橋本, 1941)。さらに, Ga は血液から絹糸腺へのフラボノイドの透過を制御し, Gb は消化管でつくられたフラボノイドを消化管から血液中へ放出する過程に関与していると推測された(藤本, 1963)。一方, 緑繭発現には単純優性の Gc 遺伝子が関与しているとされ, 緑繭種青白(表 2 の No.126 あるいは 143)には Ga , Gb とともに Gc が存在していることが明らかにされたが(橋本, 1941), Gc の機能については不明のままである。最近,

表 5 黄繭, 紅繭種の繭層に存在するフラボノイドの測定 ($\mu\text{mol/g}$ 繭層)

ピーク 番号	品種番号					
	105	134	135	510	521	603
1						
2	0.05	0.02	0.04			0.21
3						
4	0.20	0.09	0.14	0.04	0.03	0.99
5						
6						
7	0.54	0.03		0.11	0.08	6.41
8	a	0.02		0.05	0.05	a
9						
10						
11	0.02	0.03		0.01	0.02	0.12
12						
13	0.03			0.01	0.01	0.50
14						
15						
16						
17						
18	0.13	0.01		0.03	0.08	0.83
19						
20						
21	0.03	0.02	0.01	0.02	0.09	0.04
22	0.06	0.03	0.06	0.02		0.17
23						
24						
25						
26						
27						
28						
29						
30	0.08			0.01	0.27	0.13
31	0.01				0.03	
Total	1.16	0.24	0.26	0.29	0.66	9.39

a: ピーク 7 とかぶっているため定量できなかった

われわれは緑繭種大造の絹糸腺フラボノイド組成は「緑繭型」の組成パターンを示すが、消化管や血液のフラボノイド組成は筐繭種ピュアマイソールのフラボノイド組成と極めて良く似た「筐繭型」のパターンを示すことを明らかにしている（平山ら、未発表データ）。以上のことから、「筐繭型」のフラボノイドが消化管でつくられた後、絹糸腺に取り込まれ、さらにプロリンが付加することにより緑繭固有のC-プロリニルフラボノールおよびその類縁体が生成されることが示唆される。Gc 遺伝子は単独で緑繭を発現させているのではなく、Ga および Gb 遺伝子の共存下、絹糸腺に取り込まれたフラボノイドにプロリンを付加する過程に関与し、緑繭を発現させているのかもしれない。

半世紀前には、緑繭種（大造）の繭層には筐繭種とほぼ同じ9種のフラボノイド様の色素が含まれていると報告されていた（藤本ら、1958）。しかし、本研究の結果、実際には緑繭種の繭層は、筐繭種の繭層フラボノイド（6～12種）に比べて遥かに多く（23～31種）のフラボノイドを含むことが明らかにすることができた。緑繭種の繭層フラボノイドの半数以上が未同定であり、機能についても不明であるが、これらの未同定フラボノイドは抗酸化性、抗菌性等の優れた生理機能を有している可能性がある。今後、これらの未同定のフラボノイドを単離し、構造・機能解析を進めることが繭層フラボノイドの産業利用を進めるためにも必要と思われる。また、筐繭および緑繭のフラボノイドの構造解析と生成過程を詳細に明らかにすることにより、筐繭および緑繭性を支配する Ga, Gb, Gc の各遺伝子の機能解明が可能になるものと期待される。

引用文献

- 藤本直正・杉本哲・河上清（1958）繭の色素に関する研究（I）緑繭および筐繭の色素とこれら色素に対する絹糸腺の透過性。日蚕雑，**27**，388-390。
- 藤本直正・林屋慶三（1961）繭の色素に関する研究（VIII）繭の含有色素による家蚕品種の分類と地理的分布について。日蚕雑，**30**，83-88。
- 藤本直正（1963）緑繭色素の生成ならびに透過とそれに関する各種遺伝子の作用。日蚕雑，**32**，338-342。
- 藤本直正・林屋慶三（1972）繭の色素に関する研究（IX）家蚕緑繭色素の前駆物質について。日蚕雑，**41**，383-386。
- 橋本春雄（1941）蚕における連関の研究 IV 筐繭の遺伝。蚕試報，**10**，347-358。
- 針塚正樹（1953）蚕のカロチノイドの生理遺伝学的研究 特に紅繭について。蚕試報，**14**，141-156。
- Hirayama, C., Ono, H., Tamura, Y. and Nakamura, M. (2006) C-prolinylquercetins from the yellow cocoon shell of the silkworm, *Bombyx mori*. *Phytochemistry*, **67**, 579-583.
- Hirayama, C., Ono, H., Tamura, Y., Konno, K. and Nakamura, M. (2008) Regioselective formation of quercetin 5-O-glucoside from orally administered quercetin in the silkworm, *Bombyx mori*. *Phytochemistry*, **69**, 1141-1149.
- Kurioka, A. and Yamazaki, M. (2002) Purification and identification of flavonoids from the yellow green cocoon shell (sasamayu) of the silkworm, *Bombyx mori*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **66**, 1396-1399.
- 間瀬啓介・岡田英二・宮島たか子・山本俊雄（2007）機能性を高めたセリシン繭を生産するカイコ品種。Bio Industry, **24** (11), 53-59.
- Tamura, Y., Nakajima, K., Nagayasu, K. and Takabayashi, C. (2002) Flavonoid 5-glucosides from the cocoon shell of the silkworm, *Bombyx mori*. *Phytochemistry*, **59**, 275-278.
- 山崎昌良・中村直子・栗岡聡・小松計一（1999）筐繭のアルコール抽出物の抗酸化作用。日蚕雑，**68**，167-169。