総 説

卵白蛋白質の分子構造と多面的機能に関する 基礎及び応用研究 (平成 13 年度日本食品科学工学会賞)

渡 邊 乾 二^{*,**}

Basic and Applied Studies on Molecular Structure and Various Functions of Egg Protein

Kenji WATANABE^{*,**}^{*}*Faculty of Agriculture, Gifu University, Yanagido 1-1, Gifu 501-1193, Japan*^{**}*(Present address : Faculty of Agriculture, Tokyo University of Agriculture,
Funako 1737, Atsukishi, Kanagawa 243-0034, Japan)*

食品には栄養、嗜好（風味と食感）及び生理学上の機能があり、それらは食品を構成している成分の分子構造の特性に依存している。筆者は食品成分の分子構造との関係のもとに、食品加工処理（特に熱、凍結、発酵と酵素処理）を機能発現手段としてとらえ、内在する多面的な機能を具現化した食品素材の開発につき、基礎から応用までの研究を展開した。今回の受賞の対象となった研究項目は、次のように分けられる。①食品の風味とそれに関与する成分の解析、②食品蛋白質の分子構造と生体調節機能の解析及び応用、③食品の凍結濃縮法の開発と新規凍結物性の創製、④食品脂質の栄養・生理学的機能の改変・向上への試み一特にコレステロールの低減化法、及び酸化防止剤の開発一である。筆者は最近の研究では特に卵白がもつ食品素材としての価値を解析するべく、分子レベルでの卵白蛋白質の構造と機能（生体調節機能と食品物性）につき検討してきた。本稿では、紙面の都合上②の内のその卵白蛋白質に関する二つの話題について略述する。

1. オボムチンの分子構造と生体調節機能¹⁾

一般的に、ムチンは糖含量が40~60%の粘液質の糖蛋白質であり、動物の鼻腔、顎下腺、気道、胃、腸、子宮等の粘膜表層にゲルとして存在し、物理的傷害や消化酵素からの粘膜の保護並びに潤滑剤として機能している²⁾。さらに、細菌をはじめとする微生物をトラップし、排除する機能も有している。最近になって、I型膜貫通蛋白質であるMUC1では、その糖鎖の一部による接着分子としての機能や抗接着分子としての作用、さらにはがん細胞の増殖に対する働き、細胞性免疫や細胞の分化に及ぼす影響、浸潤と転移に対する影響などが明らかにされつつある³⁾。また、上皮性腫瘍の多くがムチンを産生することもよく知られており、その腫瘍生物学的意義も解明され始めている。ムチンの一次構造の解析に関しては、その分子量が $5 \times 10^2 \sim 3 \times 10^4$ kDaと非常に大きいことや糖を多量に含むことから、困難を極めていた。しかし、近年の遺伝子技術の発達と共に、様々なムチンに対する解析がなされ、その一次構造が明らかにされつつある。現在までに9種類が報告されており、発見された

^{*} 岐阜大学農学部（〒501-1193 岐阜市柳戸1-1）^{**}（現）東京農業大学農学部（〒243-0034 神奈川県厚木市船子1737）

順番に MUC1~MUC8 (MUC5 は MUC5AC と MUC5B) と呼ばれている。一方、ムチンの糖鎖構造に関しては数多くの報告がなされている⁴⁾。その糖鎖は O-型が圧倒的に多い。糖鎖の発現する一部の機能は、糖鎖の非還元末端にグリコシド結合した状態で存在するシアル酸によっている⁵⁾。例えば、インフルエンザなどのウイルスレセプター、細菌性毒素のレセプター、免疫系における細胞間認識、腫瘍マーカー、神経細胞の伸長などである。

オボムチン (OVM) もムチンに属し、卵白蛋白質の約 3.5% を占め、ゲル状組織を構成している糖蛋白質である。その性状は電子顕微鏡による観察から繊維状であり、2000~3000 nm の長さを示すとされている⁶⁾。OVM の生体調節機能解析の研究はわずかであり⁷⁾、さらには乳中のムチンについても構造と生体調節機能の本格的な研究が開始されたばかりである^{8)~10)}。

(1) OVM の分子構造解析

不溶型 OVM は α -と β -サブユニットが 84:20 の割合にて構成されている。この蛋白質は糖を 10~15% 含む α -サブユニット (見かけ上の分子量: 220 kDa) と糖を 50~65% 含む β -サブユニット (見かけ上の分子量: 400 kDa) から構成された超巨大分子で、その分子量は光散乱法により溶存型 OVM では約 8.3×10^3 kDa、不溶型 OVM では約 2.3×10^4 kDa と推定されている^{11), 12)}。

各サブユニットはジスルフィド結合を介して巨大分子を形成している。 α -サブユニットは二量体にて存在し、それが β -サブユニットの重合体形成のためのジョイントとして機能していること、OVM に部分的還元処理を施した場合、 α と α 及び α と β 間の -SS- 結合は後者のものの方が特に切断されやすいことを証明した。OVM の Cys 残基のほとんどは遊離の -SH としてではなく、-SS-として存在していた。

OVM とその脱シアル化試料、或いは分画した各サブユニットのそれぞれは難溶性であるため、懸濁した状態にてプロナーゼあるいはトリプシンにて酵素分解し、可溶性画分を得た。それらの量、化学組成 (アミノ酸と糖組成、ならびに N-末端からの部分的アミノ酸配列) と SDS-PAGE パターンを測定した。密集化した糖鎖及び -SS- 結合の存在から蛋白質分解酵素にて処理しても、高分子量の糖ペプチド或いはペプチドが残存した。各画分をゲルろ過にかけ、精製したフラクションをさらに酵素分解し、同様に分画後化学組成を解析した。これらの操作の繰り返しにより、各サブユニット内での糖ペプチドの配列を決定し、OVM のモデル構造を作成した (図 1)。 β -サブユニットの分子中には O-型糖鎖のみからなる糖

鎖の密集領域 (60 kDa、120 kDa と 100 kDa のフラグメント)、及び N-と O-型糖鎖からなる糖鎖の比較的少ない領域とが交互に存在するとした。 β -サブユニットの糖鎖の多い領域のペプチドを構成するアミノ酸の種類は、特定のアミノ酸に限定されていない。したがって、予想される OVM のアミノ酸配列の繰り返し構造は比較的多種類のアミノ酸残基によっていよう^{13)~15)}。

α -サブユニットの遺伝子の単離と全塩基配列を決定し、アミノ酸の一次構造の解析に成功した。N-末端を Lys とする全長にて 2087 個のアミノ酸残基から構成されている (塩基配列: DDBJ, EMBL, and GenBank Databases/number AB046524)。N-と C-末端領域は Cys に富み、相同性試験の結果ヒト小腸ムチン MUC2 と高い相同性があると判明した。MUC2 と Cys 残基の位置上の相同性が特に高かったが、MUC2 に存在するタンデムリピートドメインは α -サブユニットには存在しなかった^{16), 17)}。

(2) 生体調節機能

分画した各サブユニット、或いは酵素分解した可溶性のフラグメントを用いて *in vivo* と *in vitro* 生体調節機能を測定した。ウイルスに対する結合能と感染抑制作用、抗腫瘍活性、脂質代謝改善作用 (特に血清コレステロール降下作用)、ビフィズス菌・乳酸菌増殖作用につき各フラグメントの特異性を認め、分子構造と機能との関係を明らかにした。OVM の糖蛋白質であるが故えの難消化性に依存した消化器管内での食品機能が大いに期待できよう。ここでは、抗ウイルス活性と抗腫瘍活性について述べる。

i) 抗ウイルス活性

OVM はウシロタウイルス shimane 株、B 型インフルエンザウイルス A/Peking/352-89 株、ニューキャッスル病ウイルス Ishii 株 (NDV) に対する赤血球凝集阻害活性、ならびにウイルスの細胞への感染阻止作用を有するとした。OVM によるウイルスに対するそれらの作用はいずれも含有糖鎖がウイルスの一部と結合することによると考えられるが、遊離の糖鎖ではなくペプチドに固定化した糖鎖の効果は大きい。OVM のフラグメント、サブユニットなどでウイルスに対する作用が異なり、特異性を示した。その親和性が、OVM をプロナーゼ処理することによって大きく減少した。このことは糖鎖ばかりでなくペプチドの関与も示すものであった。一方では、脱シアル化 OVM ではその親和性はほとんど消失した。結局、大きな分子構造のシアル酸含有ペプチドが NDV に対する親和性を示すといえよう。このように、

図 1 オボムチンのモデル構造

A: α -サブユニットと β -サブユニットの重合体構造

α が二量体にて β の一量体と -SS- 結合にて結合し、この単位のものゝさらに重合体を形成してゲル状を示す。

B: 一段階還元処理により、 α は二量体として、 β は還元型一量体として遊離し、さらに二段階還元処理により、 α は還元型一量体として遊離する。

OVM のウイルスに対する結合にはシアル酸がレセプターとして必須条件であることが示されたが、ペプチド部分も間接的に関与していた。つまり、ペプチド上にウイルス親和性のある糖鎖の幾つかが結合することにより、ウイルス膜上に突出するレセプターと数か所で結合することができ、糖鎖単独の場合よりはるかに結合がより安定であることを意味している^{(13)~(15), (18), (19)}。

ii) 抗腫瘍活性

一般に腫瘍細胞は脱分化した異型未分化細胞である。

これらの細胞は、正常な発生初期の未分化細胞に形態が類似しているとされている。正常な未分化細胞は各生物の胚発生時期の細胞にあたる。この時期の形態形成に関与する細胞群は増殖率が高く、細胞分裂が顕著である。ヒヨコへの孵化過程において急激な細胞分裂が生じるが、それらを制御する蛋白質が卵白に存在すると仮定して探索し、OVM にその活性を認めた。

OVM のサブユニット、或いはフラグメントを用いて、細胞培養系とマウス二重移植腫瘍系〔マウスの右側腹及

び左側腹にそれぞれ 1×10^6 と 2×10^6 の同系腫瘍細胞を皮内移植し(0日目), 3日目より3日間右側腫瘍内にOVM一定量投与, 21日間飼育する)における抗腫瘍活性を認めた。その機構として, 腫瘍細胞に対してネクロシスを誘発する直接的傷害作用と間接的免疫賦活作用を明らかにした。二重移植腫瘍系の試験において, 血管新生阻害を主要な活性発現機構であると示した。固形腫瘍の中でも悪性腫瘍は宿主血管を腫瘍内へ誘導し, 血管を発達させることにより, 栄養物の供給と老廃物の排泄を行い, さらに血液によりガス交換を行って増殖を続ける。この際, 腫瘍が血管新生因子を産生, 放出する。OVMの血管新生阻止機構は血管内皮細胞の増殖と遊走を阻止することによって示した。OVMが腫瘍と内皮細胞などへの細胞増殖因子の取り込みを阻止しているものと考えられる^{20)~27)}。

2. 乾熱した卵白蛋白質の性状と食品物性改良剤としての機能

鶏卵の一次加工製品の一つに噴霧乾燥卵白(SDEW)がある。そのSDEWには製造後 *Salmonella* などの細菌を死滅させるために, 55-63℃にて数日間熱蔵庫に保管するという熱蔵殺菌が施されている。このような殺菌したSDEWの食品物性は, 殺菌前のものに比較して向上していると食品工業界では経験的に知られている^{28)~30)}。このような背景のもとに, 熱蔵殺菌したSDEWの食品物性上の諸性質について, 加藤ら^{31)~33)}, Mine^{34)~36)}及び松富ら³⁷⁾の研究グループが科学的に解析するに至った。彼等は, 共通して, 乾熱した卵白蛋白質に生じる微細な構造変化に基づく可溶性凝集体の形成が, 食品物性の向上の鍵となっていると述べている。

一般的には, 蛋白質の熱変性温度は水分含量が減少するほど上昇する。筆者は, 低水分含量下での熱処理による卵白蛋白質の性状変化と食品物性への影響に関心を持ち, 新たに微水領域での高温での乾熱処理による卵白蛋白質の性状につき解析した。SDEW又は凍結乾燥した卵白(FDEW), 或いはオボアルブミン(OVA)とオボトランスフェリン(OT)を用いて, 乾熱処理条件の設定とその処理をした試料蛋白質の分子構造の変化及び食品物性改良剤としての機能につき記述する。

(1) 乾燥卵白に対する乾熱処理, 及び乾熱卵白蛋白質の諸性質

熱分析装置を用いて, 試料の乾熱中の重量変化を測定した。一定量のFDEWを30℃から150℃まで乾熱した場合の水分含量の変化を測定した。最初のFDEWの水

分含量は4.8%で, そのほとんどの水分は60℃に至るまでに気化した。乾熱過程にて80℃にそのまま保持しても水分含量は低下せず, 平衡状態となった。さらに, 120℃まで昇温すると水分含量が0.4%にまで減少し, その温度にて保持すると平衡状態となった。

一般的に, 乾燥蛋白質は1g当たり0.3~0.4gの結合水をもつとされている。この値は試料中の水分含量が25%前後(多重層吸着水量として約15%, 単分子層吸着水量として約10%)に相当する。これをOVA1モル当りに換算すれば, 結合水が800モル前後(多重層吸着水量が約550モル, 単分子層吸着水量が約250モル)となる。前述の乾熱時の水分含量をOVAの場合として計算すると, OVA1モル当たり4.8%にて約250モル, 3.5%にて約87.5モル, 0.3%にて約7.5モルの水分子が残存することになる。これらより, FDEWにはほとんど多重層吸着水が存在しない状態と推察される。さらに, 単分子層吸着水も乾熱時にもその温度に応じて気化していると認められた。

そこで, 120℃にて6時間まで乾熱したFDEWを蒸留水にて10%溶液とし, 可溶性蛋白質量と濁度を測定した。さらに, それらの溶液を60℃, 3.5分加熱後, 同様にそれらを測定した。2時間以上の乾熱時間に依りて, 凝固物の無い透明溶液が得られた。SDEWを試料として, 70℃から130℃までの間に様々な時間乾熱し, それらを前述と同様にして再加熱後の濁度を測定した。透明溶液を得るのに, 乾熱温度が70℃から90℃に至る温度では25時間以上要したが, 105℃以上ではその時間が大きく短縮され数時間となった。このようにして, 105℃付近に一つの屈曲点があり, 乾熱温度が高いほど, すなわち, 単分子層吸着水の少ないほど短時間加熱によって溶解度が良く, しかも透明度の高い溶液となる乾熱卵白が調製できた。

乾燥した各種卵白蛋白質の溶解度, 凝集性と分子構造の変化を測定した。SDEW, OVA, OT, 或いはOVAとOTの混合物(OVA-OT)を120℃にて6時間まで乾熱した[乾熱試料をそれぞれDHSDEW, DHOVA, DHOT, DH(OVA-OT)とする]。これらを10%溶液として再溶解すると, DHSDEW, DHOVAとDH(OVA-OT)では溶解度を失うことなく, 部分的可溶性凝集体の形成をみた。一方, DHOTでは乾熱時間が長くなるにつれて不溶化し, 6時間の乾熱では溶解度が40%以下にまで低下した。DH(OVA-OT)系において, PAGE, SDS-PAGEとHPLCにより, DHOVAとDHOTが相互作用し, DHOVAのDHOTに対する保護作用により再溶

解時にも見かけ上溶解度が保たれていると結論した。可溶性凝集体は、SDS 及び還元剤の存在下においてもその構成単量体に解離せず、強固な相互作用にて会合しているものとした。また、HPLC-光散乱計の分析により、乾熱した卵白蛋白質の粒子量は凝集化して幅の広い分布をしているが、単量体分子もかなり残存しているため、平均粒子量、粒子半径共にそれほど大きくは変化していないという結果が得られた(120℃, 6時間乾熱処理にても単量体を主体としているが、最大では10量体以下の凝集体を形成している。凝集体も大きくなるほど微量となる)^{38)~40)}。

蛋白質の変性は、未変性状態と変性状態の二つの状態だけが存在し、両者に平衡が成立しているような二状態転移で近似できる場合も多いが、変性過程がいくつかの中間状態(モルテングロビュール状態:二次構造はかなり保持されているが、三次構造は失われている。コンパクトな状態にあり、大きさは未変性蛋白質とほぼ同じである。非極性領域が多く露出していて、疎水性相互作用により凝集しやすい)を経て進行する場合も知られている。未変性OVAの変性温度81℃であるのに対して、6時間乾熱したDHOVAでは、再溶解後50℃前後から一部の分子が変性・凝集化し、60℃, 3.5~5分加熱において可溶性凝集体(粒子量が最大約100万の会合体を主体とし、3~5量体以下の小さい凝集体も存在した)を生成しているとした。CD測定及びELISA法と免疫定量沈殿反応法によって測定したDHOVAと抗OVA抗体との反応性から、乾熱時間が長くなるにつれてOVA分子の構造がわずかにunfolding(モルテングロビュール様状態)していること、及びDHOVAの熱変性温度はより低下していることを明らかにした。乾熱によって凝集化した可溶性凝集体の存在が特に注目されがちであるが、120℃で6時間の乾熱によってもなお残存する単量体分子の再加熱時の溶液中における変性温度の低下とそれに基づく相互作用の挙動が重要であるとした。DH(OVA-OT)の溶液を60℃, 3.5分加熱すると、最大約200万の会合体を形成し、3~5量体の凝集体も存在することも認めた。これに対して、乾燥卵白蛋白質を同様に加熱処理すると、OT間のランダム会合体の形成による白濁の沈殿物形成となった。高粒子量可溶性凝集体はこれまで線状凝集体であるとされてきたが、乾熱した単量体、二量体と三量体の凝集物が互いに60℃, 3.5分加熱において線状及びランダムの混合した状態にて会合すると推測した。乾熱した試料では、ランダムの会合が主体の未乾熱試料と比較した場合、その大きさが小さくコンパクトと

なっている点に特徴があるとした⁴¹⁾。

(2) 乾熱卵白蛋白質の新鮮卵白に対する熱凝固阻止作用

生卵白を60℃, 5分加熱すると生卵白に一部凝固物が形成されるが、生卵白にDHSDEWの10%溶液を添加して加熱すると、凝固物形成が抑制されると分かった。DHSDEW中のDHOVAの単量体或いは可溶性凝集体が、生卵白中のOTとの分子間相互作用して、OT間の凝固形成が阻止されていると推測した。DHOVAと未乾熱OTのそれぞれの10%溶液を1:1(V/V)に混合し、60℃で5分間再加熱した。乾熱時間が長くなるにつれて、沈殿物の無い透明溶液となった。これは、再加熱時に変性したOTによるOT-OT間の凝固物形成が、部分的に変性したDHOVAとOT間の相互作用により阻止されることに依存していると結論した。生卵白とDHSDEW混合系の熱殺菌後の泡立ちとゲル化力は良好であった。

(3) 乾熱卵白蛋白質ゲルの特性

DHSDEW或いはDHOVAを溶解後、再加熱(80℃, 15分)してゲルを形成させ、それらのゲルの破断強度、クリープとテクスチャー解析を行った。SDEW或いはOVAのゲルに対する乾熱試料のゲル品質の良さが有意な差をもって示された。次に、DHOVA溶液の熱処理時の動的粘弾性を測定したところ、DHOVA溶液ではゲル化開始温度も低下し、弾性・粘性面にて共に高いゲルとなった。より低温にてゲル化が開始している点が品質の良さの一要因となつた。乾燥及び乾熱卵白蛋白質溶液をNaCl(1%と3%)の存在の下に80℃, 15分加熱処理して得たゲル化を走査電子顕微鏡にて観察すると、乾燥卵白系では大きなランダムな会合体(0.01μm前後の粒子が会合して、粒子の大きさがほぼ0.3μmとなっている。NaClの添加により粒子が大きくなる)となるに対して、乾熱卵白系では、線状凝集体とランダム球状凝集体が混合した形態をとっているが、小さくコンパクトな網目構造を示した(0.01μm前後の会合体の形成があった)。このように、乾熱試料ではネットワーク構造の網目の大きさが小さいと分かった。ランダム凝集体の形成の度合いが異なり、乾燥卵白蛋白質系の方が、乾熱卵白蛋白質よりもランダム凝集体の割合が高い。未乾熱試料からのゲルでは大きな隙間が多く見られ、保水性が低いと思われた。それに対しDHEWとDHOVAからのゲルは、均一で目の細かい網目構造を形成し、隙間の少ないゲル構造をしていた。

乾熱試料を溶解後、60℃にて予備加熱し、80℃にてゲ

図 2 噴霧乾燥卵白及びその乾熱卵白の加熱ゲルの構造

噴霧乾燥卵白の加熱ゲル：OT（オボトランスフェリン）の重合体と OVA（オボアルブミン）の重合体の相互作用による加熱ゲル。

乾燥卵白の加熱ゲル：OT と OVA の相互作用による加熱ゲル。

ル化させるとゲル強度が約 1.5 倍上昇すると分かった。より低温での蛋白質間での相互作用に依存するものと理解される。これらより、蛋白質溶液を加熱処理してゲル化させる場合に、一段階反応としての小さい粒子が形成され、それが二段階反応として会合して大きな粒子となると考えた。

以上の成果に基づき、SDEW と DHSDEW からのゲルをモデル的に図式化した（図 2）。乾熱の有無は、OT-OT 間の凝集体と OVA-OVA 間の凝集体のそれぞれが会合したゲルと、OVA-OT 間という異種蛋白質間の凝集体が会合したゲルという差異に特徴があると結論した。

DHSDEW 系と DHOVA 系での NaCl の影響の受け方に差異がみられた。前者では NaCl の存在なしにて加熱に際してゲル化したのに対して、後者では NaCl の存在なしではゲル化は不十分であった。NaCl の添加なしの系において、DHSDEW を加熱すると、SDEW の場合よりも 10 倍程度のゲル強度を示した。

(4) 乾熱卵白の食品物性改良剤としての機能

DHSDEW をソーセージ、練り製品、麺類に添加して、それらの製品を食品工業レベルのモデル系において製造した。従来の乾熱卵白添加製品を対照にして、有意な差をもって食品物性（ゲル強度、保水性等）の改良と良好な官能試験結果が得られた。これも DHSDEW 中の OVA の熱変性温度の低下に伴うゲル化力向上と他の蛋

白質との相互作用によると結論した。

このように、乾熱卵白蛋白質を利用した多種類の加工食品の物性改変が可能であった。

ここに述べた研究成果は、岐阜大学農学部において最近行ったものである。名古屋大学農学部時代に永年にわたってご指導をいただきました恩師故佐藤 泰先生、中村 良先生に厚く御礼申し上げます。また、共同研究者としてご協力いただきました多数の方々には深甚の謝意を表します。

文 献

- 1) 渡邊乾二：日農化誌, 74, 802 (2000)。
- 2) NEUTRA, M.P. and FORSTNER, J.F.: in "Physiology of the Gastrointestinal Tract," 2nd Ed., ed. by Johnson L.R., Raven Press, New York, p 975, (1987).
- 3) MAKIGUCHI, Y., HINODA, Y. and IMAI, K.: *Jpn. j. Cancer Res.*, 87, 505 (1996).
- 4) GUM, J.R. Jr.: *Biochem. Soci. Trans.*, 23, 795 (1995).
- 5) PILATTE, Y., BIGNON, J. and LAMBRE, C.R.: *Glycobiology*, 3, 201 (1993).
- 6) RABOUILLE, C., AON, M.A., MULLER, G., CARTAUD, J. and THOMAS, D.: *Biochem. J.*, 266, 697 (1990).
- 7) TAMIZAKI, H., TANAKA, H., IWATA, H. and KATO, A.: *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 61, 1883 (1997).

- 8) YOLKEN, R.H., PETERSON, J. A., VONDERFECHT, S. L., FOUTS, E.T., MIDTHUN, K. and NEWBURG, D.S. : *J. Clin. Invest.*, **90**, 1984 (1992).
- 9) KANAMARU, Y., IKEDA, S., YANG, S-M., KANEKO, T., KUWATA, T., NAGAOKA, S., SHIMIZU, M. and SACHDEV, G. P. : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **249**, 618 (1998).
- 10) PATTON, S. : *J. Dairy Sci.*, **82**, 1115 (1999).
- 11) HAYAKAWA and, S. SATO, Y. : *Agric. Biol. Chem.*, **41**, 1185 (1977).
- 12) KATO, K., ODA, S., YAMANAKA, Y., MATSUDOMI, N. and KOBAYASHI, K. : *Agric. Biol. Chem.*, **49**, 3501 (1985).
- 13) TSUGE, Y., SHIMOYAMADA, M. and WATANABE, K. : *J. Agric. Food Chem.*, **45**, 2393 (1997).
- 14) TSUGE, Y., SHIMOYAMADA, M. and WATANABE, K. : *J. Agric. Food Chem.*, **45**, 4629 (1997).
- 15) WATANABE, K., TSUGE, Y. and SHIMOYAMADA, M. : *J. Agric. Food Chem.*, **46**, 4501 (1998).
- 16) GUM, J.R., HICKS, J.W., TORIBARA, N.W., ROTHE, E.M., LAGACE, R.E. and KIM, Y.S. : *J. Biol. Chem.*, **267**, 21375 (1992).
- 17) GUM, J.R., HICKS, J.W., TORIBARA, N.W., SIDDIKI, B. and KIM, Y.S. : *J. Biol. Chem.*, **269**, 2440 (1994).
- 18) TSUGE, Y., SHIMOYAMADA, M. and WATANABE, K. : *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **60**, 1503 (1996).
- 19) TSUGE, Y., SHIMOYAMADA, M. and WATANABE, K. : *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **60**, 1505 (1996).
- 20) WATANABE, K., TSUGE, Y., SHIMOYAMADA, M., OGAMA, N. and EBINA, T. : *J. Agric. Food Chem.*, **46**, 3033 (1998).
- 21) 大網 弘・大石一二三・横田 隆・森 隆・渡邊乾二 : 医学と生物学, **126**, 19 (1993).
- 22) YOKOTA, T., OHISHI, H. and WATANABE, K. : *Food Sci. Technol. Res.*, **5**, 273 (1999).
- 23) YOKOTA, T., OHISHI, H. and WATANABE, K. : *Food Sci. Technol. Res.*, **5**, 279 (1999).
- 24) YOKOTA, T., TANI, H., OHISHI, H., OGURO, T. and WATANABE, K. : *Food Sci. Technol. Res.*, **6**, 275 (2000).
- 25) OGURO, T., WATANABE, K., TANI, H., OHISHI, H. and EBINA, T. : *Food Sci. Technol. Res.*, **6**, 179 (2000).
- 26) 小黒辰夫・大秋美治・浅野伍朗・海老名卓三郎・渡邊乾二 : 臨床電顕誌, **33**, 89 (2001).
- 27) 小黒辰夫・大秋美治・浅野伍朗・海老名卓三郎・渡邊乾二 : 臨床電顕誌, **33**, 131 (2001).
- 28) BANWART, G. and AYRES, J.C. : *Food Technol.*, **10**, 68 (1956).
- 29) BALDWIN, R.E., COTTERILL, O.J., THOMPSON, M.M. and MYERS, M. : *Poultry Sci.*, **46**, 1421 (1967).
- 30) BERGQUIST, D.H. : U.S. Patent, 2, 982, 663 (1961).
- 31) KATO, A., IBRAHIM, H.R., WATANABE, H., HONMA, K. and KOBATASHI, K. : *J. Agric. Food Chem.*, **37**, 433 (1989).
- 32) KATO, A., IBRAHIM, H.R., WATANABE, H., HONMA, K. and KOBAYASHI, K. : *J. Agric. Food Chem.*, **38**, 32 (1990).
- 33) KATO, A., IBRAHIM, H.R., TAKAGI, T. and KOBAYASHI, K. : *J. Agric. Food Chem.*, **38**, 1868 (1990).
- 34) MINE, Y. : *Trend in Food Sci. & Technol.*, **6**, 225 (1995).
- 35) MINE, Y. : *Food Res. Int.*, **29**, 155 (1996).
- 36) MINE, Y. : *J. Agric. Food Chem.*, **45**, 2924 (1997).
- 37) MATSUDOMI, N., ISHIMURA, Y. and KATO, A. : *Agric. Biol. Chem.*, **55**, 876 (1991).
- 38) XU, J.Q., SHIMOYAMADA, M. and WATANABE, K. : *J. Food Sci.*, **62**, 963 (1997).
- 39) XU, J.Q., SHIMOYAMADA, M. and WATANABE, K. : *J. Agric. Food Chem.*, **46**, 3027 (1998).
- 40) WATANABE, K., XU, J.Q. and SHIMOYAMADA, M. : *J. Agric. Food Chem.*, **47**, 4083 (1999).
- 41) WATANABE, K., NAKAMURA, Y., XU, J.Q. and SHIMOYAMADA, M. : *J. Agric. Food Chem.*, **48**, 3965 (2000).

(平成13年4月13日受理)