

マイタケで茶碗蒸しはなぜ固まらないのか : 他の食用きのこ類プロテアーゼとの比較

著者名(日)	森本 美里, 有泉 文賀, 志田 万里子
雑誌名	山梨学院短期大学研究紀要
巻	30
ページ	7-14
発行年	2010
URL	http://id.nii.ac.jp/1188/00000066/

マイタケで茶碗蒸しはなぜ固まらないのか

～他の食用きのこ類プロテアーゼとの比較～

Characteristic role of *Grifola frondosa* (Maitake) protease compared with other mushroom ones at the coagulation-phase in a typical Japanese dish ; Chawanmushi

森本美里, 有泉文賀, 志田万里子

Misato MORIMOTO, Ayaka ARIIZUMI, Mariko SHIDA

概要

マイタケのプロテアーゼは茶碗蒸しの凝固を阻害することが知られている。7種の食用きのこ類についてカゼイン (pH7, pH10), ヘモグロビン (pH3) を基質にプロテアーゼ活性を測定したところマイタケ以外のきのこ類にも少なからずプロテアーゼが存在することが分かった。プロテアーゼの最適温度はマイタケでは70℃付近で、マイタケと同程度の活性を持つヒラタケに比べ20~30℃高く、通常の酵素より熱耐性が強いことが分かった。ついで卵およびカゼインのプロテアーゼ分解物の様子を SDS-PAGE で調べた。マイタケ類では卵、カゼインの両方で分解により生じた多数のバンドが検出された。一方、ヒラタケ、ブナシメジではカゼインの場合には分解による多数のバンドを確認できたが、卵はカゼインよりはるかに分解され難いことが分かった。これらのことから、マイタケプロテアーゼは熱耐性が強いこと、さらに他のきのこではほとんど分解されない卵たんぱく質 (卵白アルブミンが主) に強い分解作用を示すことが重なり、茶碗蒸しが固まらなると推察した。

1. はじめに

きのこは味にくせがなく、和、洋、中華のどの料理にもよく用いられる。茶碗蒸しもその1つである。茶碗蒸しは卵のたんぱく質の熱変性を利用した料理であるが、茶碗蒸しにマイタケを入れると固まらないことが知られている。これはマイタケにはたんぱく質分解酵素であるプロテアーゼが存在し、この酵素によって卵のたんぱく質が分解され、卵液が凝固しないためである¹⁾。

きのこ類のプロテアーゼについては、きのこ (子実体) の生産性の改善と菌類の形態形成機構解明の観点から研究が進められ、子実体では、シ

イタケで酸性プロテアーゼおよび金属プロテアーゼ、マイタケやヒラタケでも金属プロテアーゼの存在が見出された²⁾。マイタケの金属プロテアーゼは至適 pH が 8~10 のアルカリプロテアーゼで、その諸性質が明らかにされている³⁾。さらに近年、マイタケで酸性、中性プロテアーゼの一般的性質と基質特異性について報告されている⁴⁾。

一方、卵白の加熱凝固に対するマイタケプロテアーゼの影響が調べられ、複数のプロテアーゼが、加熱凝固阻止や卵白アルブミン分解に関与することが報告されている⁵⁾。また、この研究とは別にマイタケ子実体から溶出する加水分解酵素について検討され、同様のマイタケプロテアーゼの

存在が示唆された⁶⁾。

本研究では、卵液の凝固阻害作用があるとされるプロテアーゼはマイタケだけが持つのか、市場で容易に手に入る数種の食用きのこの抽出液を用いてその比較を行った。この中で活性が特に強くみられたマイタケプロテアーゼの pH および温度による影響について調べ、さらに活性が強くみられたヒラタケプロテアーゼでも温度による影響を調べた。また、プロテアーゼ活性がみられた5種のきのこ酵素抽出液を用いて、卵たんぱく質やカゼイン分解の様子を知るため、電気泳動 (SDS-PAGE) を行った。

2. 実験方法

(1) 試料および試薬

新鮮なきのこ7種 (エリンギ, エノキタケ, ブナシメジ, シイタケ, ヒラタケ, シロマイタケ, マイタケ) は平成21年2月, 山梨県甲府市の市場より購入したものをを用いた。鶏卵は平成21年4月に山梨県甲府市の市場より購入した。

カゼイン (ハンマーステン処方, 生化学用) とヘモグロビン (ウシ血液由来, 特級) は和光純薬より, 卵白アルブミン (Grade V) は Sigma 社より購入した。他の試薬類はいずれも和光純薬工業製の特級を使用した。

(2) きのこより酵素溶液の抽出

きのこ30gの石づき部分をとり除き, 細かくきざみ, 蒸留水45mlを加えて容器を氷で冷やしながらホモジナイザー (イウチ, CM100) にかけて攪拌した。固形物がなくなりドロドロ状になった溶液を, 冷却遠心分離機 (日立, SCR18B) (17,000g, 30分) にかけて, 得られた上清液を冷凍保存し, 必要に応じて酵素抽出液として用いた。

(3) プロテアーゼ活性の測定

プロテアーゼの活性測定⁷⁾には, 基質として pH3の0.1M グリシン緩衝液に溶解した1%ヘモグロビンと, pH7および pH10の0.1M リン酸緩衝液に溶解した1%カゼイン (ハンマーステンカゼイン) を用いた。試験管に用意したそれぞれの基質溶液2.0mlに2-(2)で調製し, 蒸留水で1/4に希釈した酵素抽出液0.2mlを加えて, 37°Cの恒温水槽内で30分間反応させた。その後取り出し, 直

ちに10%トリクロロ酢酸 (TCA) 溶液を2.0ml加えて酵素を失活させ, 反応を止めた。TCAを加えることにより未分解のたんぱく質は沈殿し, プロテアーゼによって低分子化したペプチドは上清部に残る。室温に10分以上放置した後, 生じた沈殿を濾過し, 得られた濾液 (上清部) について280nmの吸光度 (分光光度計: 日立U-1500) を測定した。ブランクには, 試験管に酵素抽出液 (1/4希釈) のみを入れたものに TCA 溶液2.0mlを加えて酵素を失活させ, その後, それぞれの基質を2.0mlずつ加えて上記と同様の操作を行ったものを用いた。

(4) マイタケプロテアーゼに対する pH の影響

マイタケプロテアーゼに対する pH の影響を緩衝液の pH をかえて調べた。pH 1.5~3.5はグリシン緩衝液, pH 4.0~5.5は酢酸緩衝液, pH 6.0~8.0はリン酸緩衝液, pH 8.5~11.0はトリス緩衝液を用いて pH を0.5刻みで測定した。基質には pH 1.5~6.0ではヘモグロビン, pH 6.5~11.0ではカゼインを用いて, 2-(3)の方法でプロテアーゼ活性を測定した。

(5) プロテアーゼに対する温度の影響

プロテアーゼに対する温度の影響については, 2-(3)の方法中, 反応温度を20°C~100°Cで10°C刻み, 反応時間を10分間に短縮して行った。10分間に短縮した理由は, マイタケプロテアーゼが熱に強く, 温度が上昇すると反応量が増えることから, 活性測定に用いた30分の条件では長いと判断した。酵素抽出液はマイタケでは1/4希釈, ヒラタケでは1/2希釈したものをを用いた。

(6) 各種きのこ酵素抽出液と卵液の反応

試験管に攪拌した全卵3mlと食塩0.1g (全液量に対し1%, 茶碗蒸しの食塩濃度) を入れ, きのこ酵素抽出液 (原液, 1/2, 1/4希釈) 7mlを加えてよく混合し, 50°Cで30分または3時間保温した。反応時間の30分は2-(3)での活性測定時の条件であり, 3時間は卵液と反応しにくいきのこ酵素抽出液で凝固阻止が進むかどうかを知るために試みた。その後, 茶碗蒸しに似せて85°Cの湯浴中で10分間加熱し, 放冷後, 凝固の様子を観察した。

(7) 電気泳動 (SDS-PAGE)

SDS-PAGE用の試料は, Laemmliの方法⁸⁾に

従って調製し、その1~5 μlについて15%ポリ
 アクリルアミドゲル (SPU-15 S, アトー株式会社)
 によって、トリシン緩衝液中で120分間泳動
 を行った。また、分子量マーカー (着色たんぱく
 質分子量マーカー: アマシヤムバイオサイエンス
 社) も同時に泳動し、分子量の目安とした。泳動
 後のゲルは、常法によりクマシーブリリアントブ
 ルー R-250による染色ならびに脱色を行った。

3. 結果

(1) 各種きのこ (7種) のプロテアーゼ活性

7種類のきのこについてプロテアーゼ活性を測
 定し、図1に示した。1種類のきのこに対し酸性
 (pH3), 中性 (pH7), アルカリ性 (pH10) の3
 つのpHでの活性を調べた。基質には、エンドペ
 プチダーゼの活性測定で通常用いられる pH3で
 はヘモグロビン, pH7およびpH10ではカゼイン
 を使用した。

pH3では、シロマイタケ、マイタケで強い活性
 がみられ、シイタケ、ヒラタケでもマイタケ類の
 1/2程度の活性があった。また、他のきのこにも
 わずかに活性がみられた。pH7では、ヒラタケに
 最も強い活性がみられ、シロマイタケ、マイタケ
 においてもほぼ同様の強い活性がみられた。ま
 た、ブナシメジでもヒラタケの半分程度の活性が
 あり、他のきのこでもわずかに活性がみられた。
 pH10についても、ヒラタケの活性が最も高く、
 次いでシロマイタケ、マイタケの順に強い活性が
 みられた。他のきのこでもわずかに活性がみられ
 た。

この結果から、ヒラタケ、マイタケ、シロマイ
 タケには強いプロテアーゼ活性があり、マイタ
 ケ、シロマイタケではpH3, 7, 10のいずれのpH

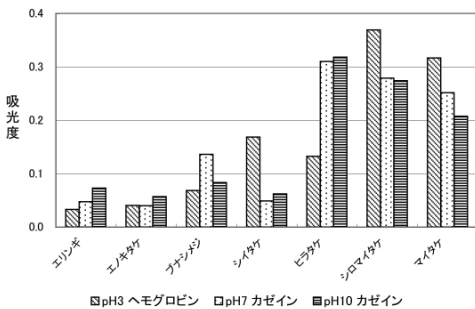


図1 各種きのこ (7種) のプロテアーゼ活性

でも、またヒラタケではpH7, 10で強い活性を
 示すことがわかった。

(2) マイタケプロテアーゼのpHによる影響

マイタケ、シロマイタケ、ヒラタケにpH3, pH
 7, pH10で強いプロテアーゼ活性が認められた
 が、この中で茶碗蒸しでの卵液凝固阻止作用が認
 められているマイタケプロテアーゼ^{2,4,5)}について
 pHによる影響を調べた (図2)。その結果、pH3
 ~3.5付近とpH6.5~8の付近に大きなピークが
 見られ、また、これら2つに比べると小さいが、
 pH10付近にもピークが見られた。このことか
 ら、マイタケにはpH3~3.5, pH6.5~8付近、
 pH10付近に最適pHをもつ複数のプロテアーゼ
 (酸性プロテアーゼ, 中性プロテアーゼ, アルカ
 リプロテアーゼ) が存在すると考えられた。さら
 に、中性プロテアーゼの領域については、幅広い
 ピークが得られたことから、複数のプロテアーゼ
 が存在する可能性が示唆された。

(3) マイタケプロテアーゼの温度による影響

pH3 (ヘモグロビン), pH7 (カゼイン), pH10
 (カゼイン) のそれぞれの基質溶液にマイタケ酵
 素抽出液を加えたものを各温度下 (20~100℃で
 10℃刻み) で10分間反応させた後、プロテアーゼ

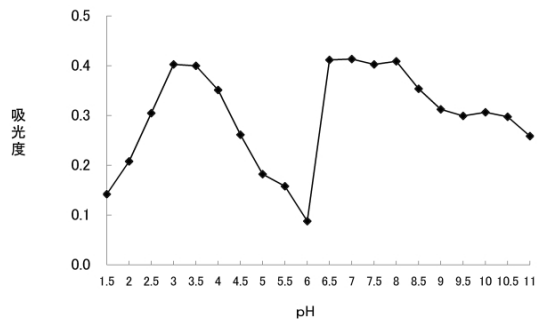


図2 マイタケプロテアーゼに対するpHの影響

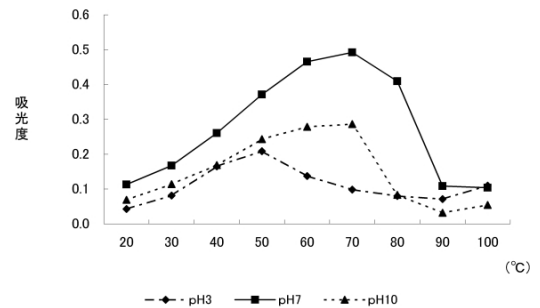


図3 マイタケプロテアーゼに対する温度の影響

の活性測定を行った(図3)。その結果、pH7、pH10では吸光度(反応量)は温度とともに上昇し、70℃付近にピークがみられた。一方、pH3では50℃にピークがみられ、pH7、pH10に比べると最適温度が約20℃低いことが分かった。

(4) ヒラタケプロテアーゼの温度による影響

37℃の反応温度ではヒラタケで強いプロテアーゼ活性が認められたが、ヒラタケに卵液凝固阻止作用がほとんどみられないことから(後述)、マイタケプロテアーゼと同様にヒラタケプロテアーゼについても温度の影響を調べた(図4)。この結果、pH7では50℃に大きなピークがあり、マイタケプロテアーゼと同じくらい強い活性が見られた。また、pH10でも強い活性が見られ、40℃付近でピークが見られた。しかし、pH3では、40℃付近で少し活性があがったのみで、他の2種のような強い活性は見られなかった。以上のことから、ヒラタケプロテアーゼはpH7では50℃付近、

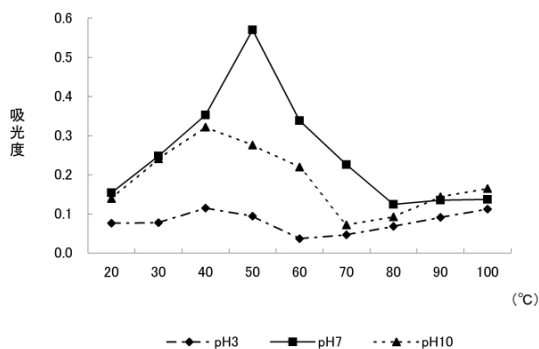


図4 ヒラタケプロテアーゼの温度による影響



図5 各種きのこ(5種)酵素抽出液と卵液の反応

各種きのこ酵素抽出液(原液)を卵液に加えて50℃で3時間反応後、85℃で10分間加熱した。一番左は酵素抽出液の代わりに蒸留水を加えた(ブランク)。写真は試験管を寝かせて上から撮影し、流動性の様子を表した。

pH10では40℃付近に最適温度があり、強い活性を示すことが分かった。この最適温度はマイタケのpH7、pH10条件下での最適温度に比べて20~30℃低く、マイタケプロテアーゼの熱耐性が強調される結果となった。

(5) 各種きのこ酵素抽出液と卵液の反応

3-(1)の実験においてプロテアーゼの活性が強かった上位5種のきのこ(マイタケ、シロマイタケ、ヒラタケ、ブナシメジ、シイタケ)について酵素抽出液を原液、1/2、1/4にそれぞれ希釈したものを全卵に加えて卵液とし、2-(6)の条件で反応を行い、卵液凝固の様子を調べた(図5)。酵素反応の温度は50℃としたが、これは3-(4)の実験において、ヒラタケプロテアーゼの活性が50℃で最も強く見られたためで、卵液凝固阻害がヒラタケでも起こるかどうかを知るため、ヒラタケプロテアーゼに適した温度を選択した。

マイタケやシロマイタケでは保温時間や希釈濃度によって流動性に差はあったが、卵液はいずれも固まらなかった。また、酵素抽出液の濃度が濃いほど卵液は固まりにくい傾向がみられた。卵液に酵素抽出液を加えた後、50℃で30分保温したものと、3時間保温したものの結果を比べてみると、少しの差ではあるが後者のほうが凝固しにくかった。このことから、50℃で保温加熱する時間が長いほどマイタケ類の酵素の卵液に対する反応が進み、卵液の凝固は妨げられるということがわかった。

ブナシメジやヒラタケでは見た目には固まっているが、原液や1/2希釈など酵素抽出液の濃度の濃いものでは中を取り出してみるとブランクと比較してやわらかさに微妙な違いがみられた。このことから、ブナシメジやヒラタケではマイタケやシロマイタケのように卵液の凝固を阻害するほどではないが、凝固の作用を弱めるということがわかった。ブナシメジとヒラタケではヒラタケのほうが幾分その作用が強かった。また、シイタケでは、保温時間の長い原液を用いたものでもブランクと同じように完全に固まった。これは、3-(1)の結果からシイタケのプロテアーゼ活性がpH3で強くみられるが、今回の酵素反応の条件である中性付近のpHでは活性が低かったためと考えられる。

(6) 鶏卵およびカゼインのプロテアーゼ分解物の SDS-PAGE

各種きのこ（シイタケ、ブナシメジ、ヒラタケ、マイタケ、シロマイタケ）プロテアーゼによるたんぱく質分解の様子を全卵およびカゼインを基質にして SDS-PAGE で調べた。全卵の場合は 2-(6)の条件で酵素抽出液（原液）を加え 50℃ の恒温水槽で 3 時間反応させ、直ちに 85℃ で 10 分間加熱したものを、カゼインの場合は 2-(3)の方法で、pH7 でカゼインに 1/4 希釈酵素抽出液を加え 37℃ で 30 分間作用させたものを用いた。SDS-PAGE 用の試料の作成は 2-(7)の方法に従った。

図 6 に全卵での SDS-PAGE の結果を示す。②は全卵である。45KDa の卵白アルブミンのバンドの他に複数のバンドが見られた。⑧は分子量 45,000 の卵白アルブミンである。卵白アルブミンは卵白たんぱく質の主成分で、卵の全たんぱく質中 75% 近くを占めている。全卵に酵素抽出液を作用させると③のシイタケでは、全卵とほとんど変わらないバンドを示した。④のブナシメジでは、全卵で一番上と二番目に見られたバンドが少し薄くなっていった。また、33KDa 付近や 25KDa 付近にわずかではあるが全卵では見られなかった新たなバンドが検出された。⑤のヒラタケでは、全卵の一番上のバンドが消失し、ブナシメジで見られた新たなバンドがヒラタケでも見られた。⑥のシ

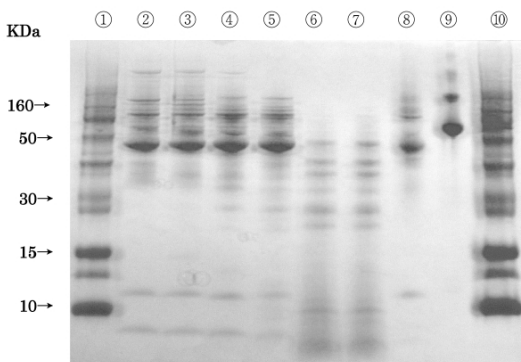


図 6 全卵を基質とした各種きのこ（5種）プロテアーゼの作用

①, ⑩マーカー-たんぱく質 ②全卵（ブランク）
③～⑦は全卵にきのこの酵素抽出液（原液）を作用させたもの。酵素抽出液は ③シイタケ ④ブナシメジ ⑤ヒラタケ ⑥シロマイタケ ⑦マイタケである。⑧卵白アルブミン ⑨ウシ血清アルブミン（BSA）

ロマイタケと⑦のマイタケは同じようなバンドの様子を示しており、全卵で見られた 45KDa の卵白アルブミンのバンドがほとんど消失していた。また、45KDa の上にある複数のバンドもほとんど見られなかった。さらに、ブナシメジやヒラタケで見られた新たなバンドがはっきりと現れており、その下にも全卵では見られなかった新たなバンドが多数検出された。以上の結果から、マイタケやシロマイタケのプロテアーゼは鶏卵のたんぱく質（特に卵白アルブミン）を低分子にまでよく分解するということが分かった。また、ヒラタケやブナシメジのプロテアーゼでも全卵たんぱく質に対してわずかではあるが分解作用があることが分かった。

図 7 はカゼインでの SDS-PAGE の結果である。④は基質のカゼインで、33KDa 付近に主要バンドが見られた。また、39KDa, 25KDa にも 33KDa よりも薄いバンドが検出された。酵素抽出液を作用させると、⑤のシイタケではカゼインの 33KDa の主要バンドが少し薄れたように見え、25KDa の下に新たに複数の薄いバンドが見られた。⑥のブナシメジでは、カゼインの 39KDa のバンドは消失し、33KDa の主要バンドもほとんど見られないほど薄くなっていった。さらに、元からある 25KDa のバンドの下、20KDa, 13KDa, 10KDa 付近に新しい濃いバンドが現れて

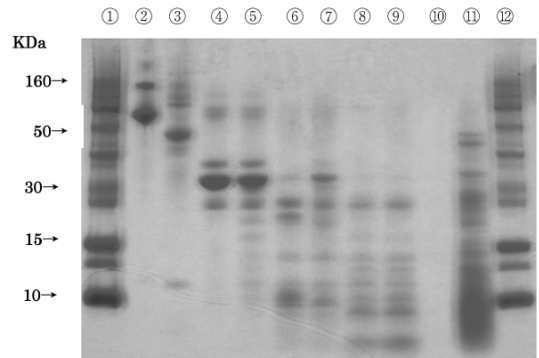


図 7 カゼインを基質とした各種きのこ（5種）プロテアーゼの作用

①, ⑫マーカー-たんぱく質 ②BSA ③卵白アルブミン
④カゼイン ⑤～⑨はカゼインにきのこ酵素抽出液（1/4 希釈）を作用。酵素抽出液は ⑤シイタケ ⑥ブナシメジ ⑦ヒラタケ ⑧シロマイタケ ⑨マイタケ。⑩, ⑪は酵素抽出液（マイタケ）のみ。⑩は⑨に注入した試料中に含まれるのと同量の酵素抽出液を含む。

いた。⑦のヒラタケでもカゼインの39KDa, 33KDaのバンドは薄くなっており、ブナシメジと同様に20KDa, 13KDa, 10KDa付近に新たなバンドが検出された。⑧のシロマイタケと⑨のマイタケはほとんど同じようなパターンを示し、カゼインの39KDa, 33KDaの主要バンドは完全に消失していた。また、15KDa以下の低分子領域においてカゼインには見られなかった複数のバンドが多数現われた。これは、カゼインがマイタケ、シロマイタケプロテアーゼによって微細に分解されたためと考えられる。さらに、⑩のマイタケ酵素抽出液の1/4希釈したもの（上記で試料とした各種きこの酵素抽出液と同じ希釈倍率）、とマイタケ酵素抽出液そのものを用いた⑪を比較してみると、⑪で見られた酵素由来と思われる複数のバンドは⑩の濃度では見られなかった。このことから、⑥～⑨で現れたカゼインでは見られなかった新しいバンドは、酵素由来のものではないと判断した。

4. 考察

市場で容易に手に入り、マイタケを含むなじみの深い7種のきのこ（シイタケ、マイタケ、エリンギ、ブナシメジ、エノキ、ヒラタケ、シロマイタケ）について、それぞれ、酸性（pH3）、中性（pH7）、アルカリ性（pH10）の3つのpHでのプロテアーゼの活性を測定した。基質にはエンドペプチダーゼの活性測定でよく用いられるpH3でヘモグロビン、pH7とpH10ではカゼインを使用した。その結果、ヒラタケ、マイタケ、シロマイタケに強いプロテアーゼ活性がみられ、特に、マイタケ、シロマイタケではpH3, 7, 10のいずれのpHでも強い活性を示し、ヒラタケではpH7, 10で強い活性を示すことがわかった。また、他のきのこでもわずかに活性はみられ、今回調べたきのこでは活性に差はあるが、少なからずプロテアーゼは存在するということが明らかとなった。

次に、強いプロテアーゼ活性を示し、卵液凝固阻止作用があるとされるマイタケプロテアーゼに対するpHおよび温度の影響について調べた。pHの影響では、pH3～3.5, pH6.5～8付近、pH10付近に活性のピークがみられ、マイタケでは複数

のプロテアーゼ（酸性プロテアーゼ、中性プロテアーゼ、アルカリプロテアーゼ）の存在が示唆された。また、温度の影響では、pH7, pH10では70℃付近にピークがみられ、pH3では50℃付近にピークがみられた。酵素は40℃付近に最適温度を持つものが多いことを考えると、マイタケプロテアーゼの熱耐性はかなり強いことがわかった。

木元ら⁵⁾は4種の酸性、中性プロテアーゼについて最適温度を50～65℃と報告している。我々の報告ではpH7の条件で70℃付近に最適温度があるが、これは酵素が未精製の状態なのでより温度安定性が高いということが考えられる。

ヒラタケは酵素活性測定条件である37℃の反応温度ではマイタケ類と同じくらい強いプロテアーゼ活性を示していたが、卵液凝固阻止作用はほとんどみられなかった。そこで、ヒラタケプロテアーゼに対する温度の影響を調べた結果、ヒラタケプロテアーゼはpH7では50℃付近、pH10では40℃付近に活性のピークがみられた。この最適温度はマイタケのpH7, pH10条件下での最適温度に比べると20℃～30℃低く、ヒラタケプロテアーゼの熱耐性はマイタケプロテアーゼに比べると劣ることが分かった。

プロテアーゼの活性がみられた5種のきのこ（マイタケ、シロマイタケ、ブナシメジ、シイタケ、ヒラタケ）について酵素抽出液を全卵に加えて、その凝固の様子を調べた。全体として、酵素液を入れてからの保温時間が長い、あるいは酵素濃度が高いものの方が卵液は凝固しにくいという傾向がみられた。マイタケやシロマイタケでは保温時間や希釈濃度による粘性の違いはあったが、卵液はいずれも凝固しなかった。ブナシメジやヒラタケでは見た目には固まっていたが、取り出してみると酵素濃度の濃いものではブランクとやわらかさに違いがみられ、凝固の作用を少し弱めるということが確認できたが、反応をヒラタケプロテアーゼに適する50℃で行っても、卵液凝固を阻害するほどではなかった。

鶏卵およびカゼインのプロテアーゼ分解物の様子をSDS-PAGEで調べた。全卵を基質とした場合、分解作用はマイタケ、シロマイタケで顕著にみられ、卵白アルブミンのバンドはほとんど消失していた。ブナシメジやヒラタケでは分解による

バンドはわずかに見られ、シイタケではほとんど分解されなかった。上記の卵液凝固の実験結果と合わせて、卵液凝固度の違いは、卵白アルブミンの分解度の違いに差があるためと考えられた。これにより、各種きのこ（5種）プロテアーゼの卵液凝固の阻害効果と卵たんぱく質（主として卵白アルブミン）の分解は対応していることが確認できた。

カゼインを基質とした場合、卵白アルブミンに対して強い分解作用が見られたマイタケ、シロマイタケではカゼインに対しても強い分解作用を示した。また、卵白アルブミンに対して少ししか分解作用を示さなかったヒラタケ、ブナシメジでは、カゼインより低分子化したバンドが多数検出され、カゼインが強く分解されたことが分かった。

今回の実験を通して、マイタケ、シロマイタケ以外のきのこにもプロテアーゼは存在しているが、マイタケ類プロテアーゼのような強い熱耐性を持たないことから、茶碗蒸し調理中にプロテアーゼが失活してしまうことが考えられた。また、マイタケ類以外のプロテアーゼでは活性測定の際に基質としたカゼインに対する分解作用は強いが、卵白アルブミンへの分解作用が弱いなど、いくつもの理由が重なることによりマイタケ類以外のきのこでは、茶碗蒸しが固まってしまうのではないかと考えられた。一方、マイタケ類のプロテアーゼは最適温度が70℃付近と高く、熱耐性がとても強い。さらに、他のきのこではほとんど分解が確認されなかった、卵の主要たんぱく質である卵白アルブミンに対して強い分解作用を示していた。マイタケを茶碗蒸しに入れると固まらないのは、このようなマイタケプロテアーゼの性質と、卵たんぱく質の凝固条件における茶碗蒸しの調理方法などの条件が一致したことにより、引き起こされる現象であることが考えられた。

きのこプロテアーゼについては、食肉の軟化⁹⁾や魚醤油などの発酵調味料の速醸法の開発¹⁰⁾、血圧上昇抑制効果を持つ機能性飲料の製造¹¹⁾といった様々な分野で研究が進められている。きのこプロテアーゼの酵素特性が明らかにされることにより、特に強力なたんぱく質分解作用を持つため、麺やパンには加えることができなかったマイタケ

も、プロテアーゼ活性を低減した乾燥マイタケとして添加が可能^{10,12)}となり、マイタケに含まれる種々の機能性成分を効率よく摂取できるようになってきている。今後、このような研究がさらに発展し、進められていくことにより、きのこプロテアーゼのもつたんぱく質分解作用によって得られる効果だけでなく、きのこに含まれる種々の機能性成分を摂取することによる健康効果をも手軽に得られるようになることが期待される。

5. 参考文献

- 1) 有泉文賀：マイタケ中のプロテアーゼによる鶏卵の分解，平成18年度「学修成果」レポート（2006）
- 2) 橋本洋一：タンパク質分解酵素，「キノコの化学・生化学」，水野卓，川合正允編（学会出版センター，東京），pp. 197-204（1992）
- 3) 橋本洋一：担子菌の蛋白質分解酵素，蛋白質・核酸・酵素，28，1220-1225（1983）
- 4) Nishiwaki, T. and Asano, S.: Properties and substrate specificities of proteolytic enzymes from the edible basidiomycete *Grifola frondosa*. J. Biosci. Bioeng., 107, 605-609（2009）
- 5) 木元幸一，林あつみ，草間正夫，菅原龍幸，青柳康夫：卵白の加熱凝固に対するマイタケ中のプロテアーゼの影響，日本栄養・食糧学会誌，47，43-48（1994）
- 6) 大野信子，仁平佳奈，小平了二：マイタケ（*Grifola Frondosa* (Fr.) S. F. Gray）子実体から溶出する加水分解酵素，和洋女子大学紀要（家政系編），35，11-19（1995）
- 7) 金田信：植物起源プロテアーゼ，「蛋白質分解酵素Ⅱ」，鶴田大典，船津勝編（学会出版センター，東京），pp. 146-147（1993）
- 8) Laemmli, U.K.: Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature, 227, 680-685（1970）
- 9) 伊藤直子，山崎貴子，岩森大，堀田康雄，村山篤子：キノコプロテアーゼを利用した肉軟化のための基礎的検討，日本調理科学会大会研究発表要旨集，p. 57（2007）

- 10) 樋渡一之, 塚本研一, 加賀屋明良, 堀一之, 高橋慶太郎, 井上俊三, 大熊俊久, 熊谷昌則, 高橋砂織: マイタケプロテアーゼの利用と非利用, 日本栄養・食糧学会大会講演要旨集, p. 280 (2008)
- 11) 吉水聡, 西脇俊和, 渡辺聡, 太養寺真弓, 佐藤喜一: マイタケを用いた機能性飲料の製造技術, 関東東海北陸農業研究成果情報, 2001, 148~149 (2002)
- 12) 瀬口正晴, 森本直明, 阿部誠, 吉野世美子: マイタケ (*Grifola Frondosa*) の製パン性に与える影響, *New Food Ind.*, 44, 7-11 (2002)