

## 特集：食べ物のおいしさ 6

## プロテアーゼを用いた呈味性オリゴペプチド類の酵素合成\*

麻 生 慶 一\*\*

(日本獣医畜産大学・獣医畜産学部・畜産食品工学科)

遊離の $\alpha$ -アミノ基をもつアミノ酸エステルのみを基質として、プロテアーゼを用いて一段階でアミノ酸オリゴペプチドを合成することができる。この際、アスパラギン酸やグルタミン酸のジエステルを基質とすると、生成物のエステルを除去することによって呈味効果をもつ水溶性の酸性アミノ酸オリゴペプチド混合物を調製することが可能である。生成物の重合度分布の経時的測定より、ジペプチドやトリペプチドなど初期段階の生成物が蓄積することなく反応初期から高重合度の生成物が生じること、重合反応ではペプチド転移反応など可溶性重合生成物間での結合形成が優勢であることが推定された。また、反応初期に生成するジペプチドエステルが重合反応の駆動因子となることが推察された。

## はじめに

ペプチドは食べ物の呈味物質の一つであり、それ自身が味を有するばかりでなく、「こく」や「まろやかさ」など風味向上に寄与していると考えられている。この種の効果は、とくに酸性アミノ酸を含むペプチドに多く見られる。呈味性を有するペプチドは一般に低分子であり、グルタミン酸残基をもつ旨味ペプチドとして、Glu-Asp, Glu-Glu, Glu-Ser, Thr-Glu, Asp-Glu-Ser, Glu-Asp-Glu, Glu-Gln-Glu, Glu-Gly-Glu, Glu-Gly-Ser, Ser-Glu-Gluなどのジペプチド、トリペプチドが見い出されている<sup>1)</sup>。一方、酸性オリゴペプチドには苦味マスキング効果があることも報告されており<sup>2)</sup>、効果の大きいものにはGlu-Asp, (Glu)<sub>2</sub>, (Glu)<sub>3</sub>, Glu-Gln-Glu, Ser-Glu-Glu、中程度の効果を示すものにGlu-Ser, Glu-Thr, Glu-Gly-Ser, (Glu)<sub>4</sub>, (Glu)<sub>5</sub>などがある。それ自身の呈味強度が著しく小さいペプチドでも効果を有することは注目に値する。加熱牛肉より得られたほとんど呈味性をもたない分子量1,000-10,000のペプチド画分が酸味を抑制し、味をまろやかにする効果があること<sup>3)</sup>や、小麦グル

テンのプロテアーゼ水解物中の脱アミド酸性ペプチド画分(分子量500-1,000)が、こく・旨味を増強し、呈味向上に寄与すること<sup>4)</sup>などの事例も、比較的高分子の酸性アミノ酸を構成成分とするオリゴペプチドが風味向上に働いていることを示すものであると考えられる。

本報告では、酸性アミノ酸オリゴペプチドを食品科学的研究、食品工業素材として供給することを目的として、遊離の $\alpha$ -アミノ基を持つ酸性アミノ酸ジエステルが疎水性アミノ酸エステル類似の性質を持つことを利用し、アミノ酸エステルのみを基質としてプロテアーゼを用いて一段階でアミノ酸オリゴペプチド(難水溶性)を合成し、脱エステル処理によって水溶性の酸性アミノ酸オリゴマーを調製する酵素を利用した合成反応<sup>5-8)</sup>について、この反応の最適化を図る立場から、反応pHや温度、基質濃度の影響、各種酵素による基質の選択性、反応系組成の影響について検討した結果について述べる。

\*Received May 14, 1997; Accepted June 5, 1997.

Protease-catalyzed synthesis of flavor-enhancing oligopeptides.

\*\*Keiichi Aso: Department of Food Science and Technology, Nippon Veterinary and Animal Science University, 1-7-1, Kyonan-cho, Musashino-shi, Tokyo 180, Japan, Fax 0422-51-9984

## 材料と方法

### 基質および酵素

本研究で用いた基質、L-グルタミン酸、L-アスパラギン酸およびL-グルタミン酸のエステル塩酸塩 (Glu-di-OR, Asp-di-OR, Glu-Glu-tri-OR) は、塩化チオニルを触媒として脱水アルコールと反応させる方法により合成した。 $\alpha$ -キモトリプシン、パパイン、トリプシン、ペプシンおよびサーモリシンは、市販の精製結晶品 (Sigma) を用いた。

### 酸性アミノ酸オリゴペプチド合成反応と生成物分析

標準の条件では、各基質100 mM を溶解した500 mM リン酸緩衝液 (pH 7.5) に酵素を反応系で10  $\mu$  M となるように添加し、攪拌下25°Cで6時間反応を行った。経時的に反応液の一部を採取し、遠心 (3,000 r.p.m., 10分) 後、上清をアルカリ条件下60°C、15分処理してエステルを加水分解した (分析試料A)。また、同上清を6 N 塩酸で110°C、24時間加水分解した (分析試料B)。これらの分析試料中の遊離の基質アミノ酸量をアミノ酸分析機により定量した。試料Aの分析値より残存基質濃度 (全収率を計算) を、また基質初濃度から試料Bの分析値を減じることにより不溶性生成物の収率を求めた。さらに試料Bの分析値から試料Aの分析値を減じることにより可溶性生成物収率を求めた。生成物の重合度は、経時的に反応液の一部を10 N NaOH 中に採取して反応を停止し、エステルを加水分解後 pH を9に調整し、Protein PAK-QA (Waters) カラムを用いた陰イオン交換 HPLC で酸性アミノ酸オリゴペプチドの分析を行うことにより測定した。

### 反応初期段階における初速度の算出

経時的に反応液の一部を2 N HCl 中に採取して反応を停止し、TSK gel ODS-80Tm (4.6×150 mm、東ソー) を用いた逆相 HPLC で基質の減少および加水分解生成物を定量的に追跡した。経時変化の初期直線部分で最小二乗法を用いて傾きを求め、基質の自然分解を補正して基質減少に基づく反応初速度を算出した。

### アシル化反応性および求核反応性の測定

2.0 M 1,4-ブタンジオールを含む500 mM リン酸緩衝液 (pH 7.5) 中で、1 mM の Glu-di-OEt, Glu-Glu-tri-OEt に10  $\mu$  M の  $\alpha$ -キモトリプシンを25°Cで作用させ、経時的に反応液の一部を2 N HCl 中に採取して反応を停止し、逆相 HPLC 分析により基質の減

少初速度を求めてアシル化速度を算出した。また、500 mM リン酸緩衝液 (pH 7.5) 中で、10 mM の *N*- $\alpha$ -アセチル-L-チロシンエチルエステル (ATEE, Sigma)、5 mM Glu-di-OEt、Glu-Glu-tri-OEt に0.015  $\mu$  M の  $\alpha$ -キモトリプシンを25°Cで作用させ、経時的に反応液の一部を2 N HCl 中に採取して反応を停止し、逆相 HPLC 分析により、ATEE の減少初速度、ATEE の加水分解物 (Ac-Tyr) 生成初速度、求核反応生成物 Ac-Tyr-Glu-di-OEt、Ac-Tyr-Glu-Glu-tri-OEt の生成初速度を算出し、ATEE の減少初速度に対する求核反応生成物の生成初速度の割合を求核反応性とした。

## 結 果

### 各種酵素によるアスパラギン酸およびグルタミン酸オリゴペプチドの合成

$\alpha$ -キモトリプシン、パパイン、トリプシン、ペプシンおよびサーモリシンを用いて、pH 2~10において Asp および Glu の各種エステルを基質としてオリゴペプチド合成反応を行ったところ、pH 7~8の範囲で  $\alpha$ -キモトリプシンとパパインに顕著な合成能が認められた (表1) が、他の酵素ではいずれの pH においても合成反応の進行は観察されなかった。図1および図3に生成物のクロマトグラムを示す。反応に利用できる基質はそれぞれの酵素で異なっ

表1 各種酵素によるアスパラギン酸およびグルタミン酸オリゴペプチドの合成

反応条件：各基質濃度 100 mM、酵素濃度 10  $\mu$  M、  
反応 500 mM リン酸緩衝液 (pH 7.5) 中、  
25°C、6 時間  
全反応収率：-: 0~5%、+: 5~25%、++: 25~60%、  
+++ : 60~80%、++++: 80~100%

		$\alpha$ -chymotrypsin	papain
Asp-di-OR	Methyl	++	-
	Ethyl	++	-
	n-Propyl	++++	-
	n-Butyl	+++	-
Glu-di-OR	Methyl	-	-
	Ethyl	++	++++
	n-Propyl	+++	++
	n-Butyl	-	-

## プロテアーゼを用いた呈味性オリゴペプチド類の酵素合成

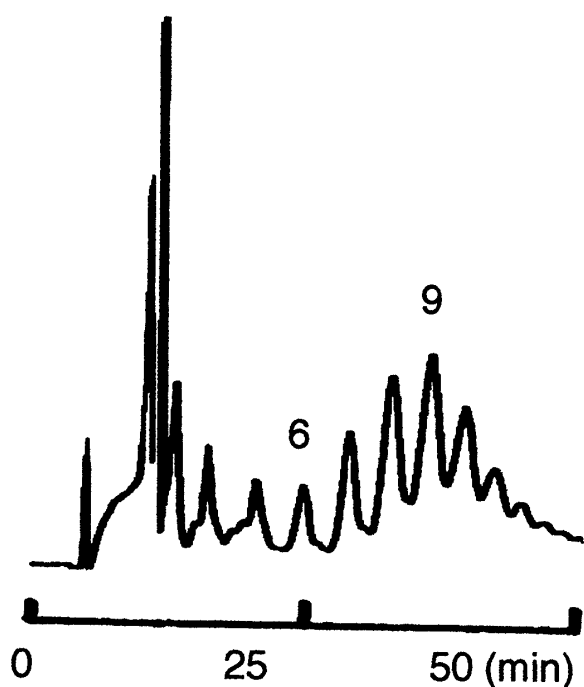


図1 アスパラギン酸オリゴペプチドの重合度分布

基質：100 mM アスパラギン酸ジプロピルエステル

酵素：10  $\mu$ M  $\alpha$ -キモトリプシン

反応：500 mM リン酸緩衝液 (pH 7.5) 中、25°C、1時間

図中の数字は、ピークの重合度を示している。

ており、目的に合わせた酵素と基質の選択が重要であることが示された。

## 反応初速度および重合度分布に対する基質濃度の影響

Glu-di-OEt に対する  $\alpha$ -キモトリプシンの反応の S-V 曲線を図 2 に示した。基質減少速度はミカエリスメンテン型の曲線を描くのではなく、シグモイドに近い曲線を描いた。5 mM 程度までは基質はすべて加水分解に利用されるが、それ以上では基質濃度が高くなるほど合成反応に利用される割合が高くなっていくことがわかった。加水分解反応速度も基質濃度の増加に伴って上昇してゆくが 70 mM 以上では一定値を示した。

重合反応の進行する基質濃度 20 mM 以上において、50 mM 以下の低基質濃度では 60 分の反応で重合度が 6 程度までしか重合しないが、基質濃度 70 mM 以上では基質濃度が高いほど早い段階から重合度の高い生成物が生じ、重合度 6 のピークが相対的に小さいという共通した傾向がみられた。またどの基質濃度においても、反応初期ではジペプチド、トリペプチドなど低重合度生成物が蓄積することなく、それ以上に重合した生成物が生じた。

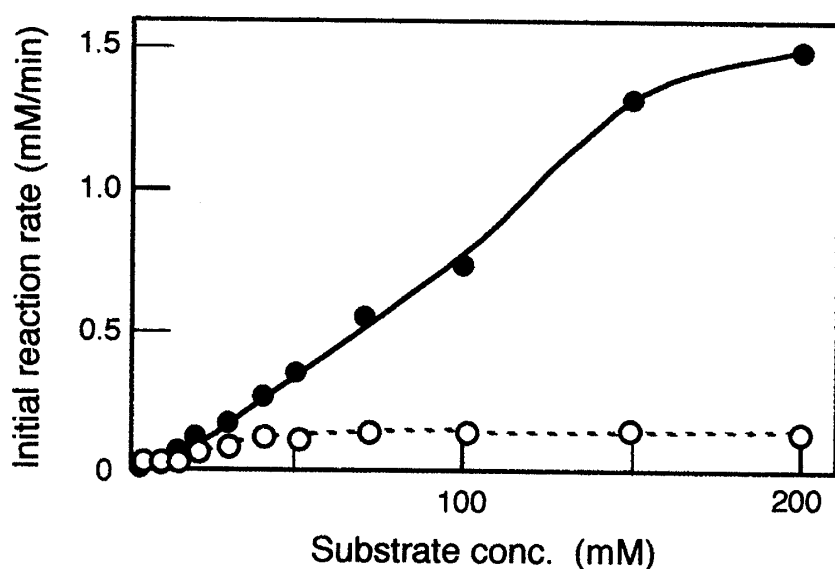


図2 グルタミン酸ジエチルエステル減少速度の基質濃度依存性

酵素：10  $\mu$ M  $\alpha$ -キモトリプシン

反応：500 mM リン酸緩衝液 (pH 7.5) 中、25°C で初速度を測定

—●—：各基質濃度における Glu-di-OEt の減少速度

---○---：各基質濃度における加水分解生成物 Glu- $\gamma$ -OEt の生成速度

## ジペプチドエステル基質の反応性

Glu-Glu-tri-OEtのみを基質とし、その濃度を5～100 mMとした場合の反応進行に伴う基質の減少はいずれの場合も速く進行し、30分後には基質がほとんど消費された。この間、Glu-Glu-tri-OEtのペプチド結合が加水分解を受けて生ずるGlu(- $\gamma$ -OEt)-Glu(- $\gamma$ -OEt)やGlu-di-OEt、Glu- $\gamma$ -OEtはほとんど生成しなかった。重合反応性が高いため、Glu-Glu-tri-OEtを基質とした場合のアシル化反応性

を1 mMにおいてGlu-di-OEtと比較したところ、Glu-di-OEtの約5.5倍となった。一方、求核反応性は、5 mMにおいて同濃度のGlu-di-OEtの約3.5倍高い値を示した。また、10 mM Glu-di-OEtにGlu-Glu-tri-OEtを2.5 mM加えたところ、Glu-Glu-tri-OEtは速やかに消費され、Glu-di-OEtの消費速度は約1.5倍速くなり、Glu- $\gamma$ -OEtの生成量は減少した。

重合度分布を調べると、Glu-di-OEt 20 mMでは60分で重合度の低い生成物が若干みられただけであっ

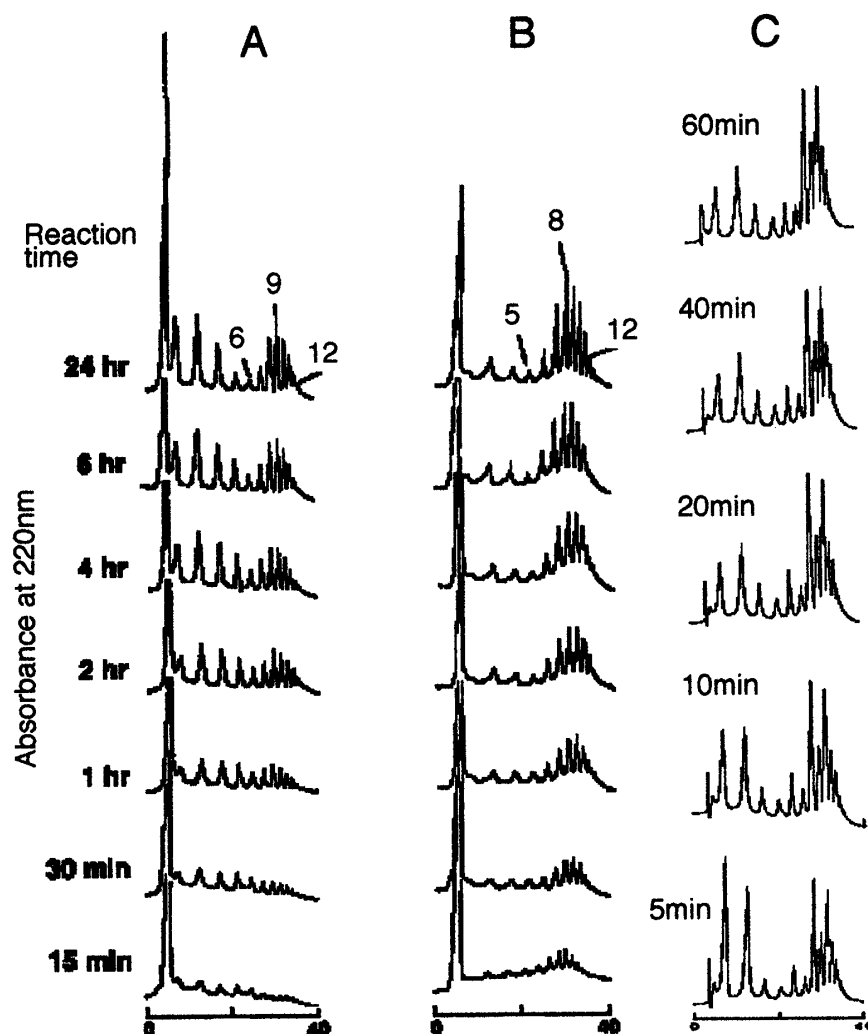


図3 グルタミン酸オリゴペプチド生成物の重合度分布

A : 100 mM Glu-di-OEt, 500 mM リン酸緩衝液 (pH 7.5) 中、25°C

B : A + 3.0 M NaCl

C : 50 mM Glu-Glu-tri-OEt, 500 mM リン酸緩衝液 (pH 7.5) 中、25°C

いずれの場合も酵素は、10  $\mu$ M  $\alpha$ -キモトリプシン

図中の数字は、ピークの重合度を示している。

## プロテアーゼを用いた呈味性オリゴペプチド類の酵素合成

たが、Glu-Glu-tri-OEt 10 mM では 5 分の段階で既に重合度14程度のペプチドが生成し、基質濃度50, 100 mMの場合も 5 分目から Glu-di-OEt を基質にした場合に比べて重合度の大きなピークが検出された。いずれの場合もグルタミン酸残基が偶数の生成物が奇数のものよりも相対的に多かったものの、奇数の生成物も特に重合度の低い部分を中心として多くみられた (図3C)。

## グルタミン酸エステル重合反応の収率および重合度に対する諸因子の影響

100 mM Glu-di-OEt を基質として、重合反応の収率に対する pH、温度、イオン強度 (NaCl 濃度) の影響を調べた。

pH 6 ~ 8 では、pH 6.0では反応の進行はほとんどみられず、pH が高い方が反応の進行が速く、全収率も高くなり、不溶性生成物の収率が増加した。

温度に関しては、10~50°Cで全収率を比較すると温度が高い方が反応の進行は速いが、35°C以上では4~6時間で収率が最大となり、24時間後には逆に収率が低下した。最大収率で比較しても、25°Cの時に60%を越えるが、それよりも温度が高いほど収率が低くなった。10°Cでは反応の進行が緩やかで、36時間後まで反応が進行し、そのときの全収率が約55%、うち不溶性収率約30%となった。これは最大収率で比較した場合、25°Cのときより若干低い程度の値であり、本実験の温度範囲では25°Cに次ぐ高い値であった。収率の内容を比較すると、25°C以下では可溶性、不溶性生成物の割合がほぼ1:1であるが、それよりも温度が高くなるにしたがい、不溶性生成物の割合が低くなっていった。また、10°Cでは1時間まではほとんど不溶性生成物がなく、その後急激に生成していた。逆に35°Cでは2時間までは不溶性生成物の割合の方が高いが、4時間の段階で逆転がみられた。50°Cでも15分目には不溶性生成物が出現し、以降ほとんど変化がみられなかった。塩濃度に関しては、0~3 M NaCl 添加で、塩濃度が高いほど全収率が高くなる傾向がみられ、不溶性生成物が顕著に増加することが認められた。

重合度分布に対する影響をみると、良い反応条件の場合は早い段階から重合度の高い生成物がみられ、いずれの場合においても生成物の重合度分布は類似していた。pH 7.5、反応温度25°Cの標準条件では (図3A)、可溶性生成物の部分では重合度3のピークが最大であり、不溶性生成物の部分では重合度6

のピークが最小となり、最大のピークは反応初期では重合度8のもので、次第に重合度9の方が大きくなっていった。10°Cの場合は25°Cの場合の変化を遅くしたような傾向がみられたが、温度が高くなると重合度6以上の不溶性生成物のピークが全体的に小さくなった。塩濃度が高いほど不溶性部分のピークが大きくなるが、最小のピークが重合度5、最大のピークが8にそれぞれ1残基分低い方にシフトしていることが認められた (図3B)。

## 考 察

酵素には基質特異性があるため、目的とするオリゴペプチドを効果的に合成するためには、基質と酵素の最適な組み合わせを選択する必要がある。基質のエステル化は、酸性アミノ酸側鎖を非解離型にして疎水性を付与するばかりでなく、酵素との親和性を調節する効果があることが推察される。そこで、 $\alpha$ -キモトリプシンとグルタミン酸エステルを選び、アミノ酸エステル重合反応の特徴を調べることとした。

## 反応初速度の基質濃度依存性

基質減少速度がシグモイド様の曲線を描くことについては、一連の反応で基質がアシル酵素中間体形成と脱アシル化両過程で2分子利用される場合もあるためであると考えられる。基質濃度の低いときに基質の減少速度と加水分解物の生成速度がほぼ等しい結果は、Glu-di-OEt は  $S_1'$  サブサイト (求核基質結合部位) よりも  $S_1$  サブサイト (アシル化基質結合部位) への親和性が高いことを示唆する。 $\alpha$ -キモトリプシンの  $S_1$  サブサイトの特異性に合った芳香族アミノ酸エステルに対しては、 $\alpha$ -アミノ基が遊離の場合であっても加水分解することが報告されており、その反応における  $K_m$  値は中性付近の pH では1~10 mM 程度とされている<sup>9,10</sup>)。Glu-di-OEt の場合も、そのエステル化された側鎖は疎水性側鎖と認識され、 $\alpha$ -キモトリプシンにとって比較的良い基質になることが推察された。

## ジペプチドエステル基質の反応性

Glu-Glu-tri-OEt が比較的低濃度の場合でも速やかに酵素の作用を受け、しかもほとんど加水分解を受けずに効率よく重合反応に利用されることと同濃度の Glu-di-OEt と比較してアシル化およびアミノリシス両反応性が大きいことは、重合反応の初期段階で、Glu-di-OEt 2 分子から生成した Glu-Glu-tri-OEt

が効率よくその後の重合反応に利用されていることを示している。Glu-Glu-tri-OEtがあまり加水分解を受けずに合成に利用されることについては、エステル化された側鎖の  $S_1$ 、 $S_2$  サブサイトへの疎水的結合性の向上と、ペプチド結合を介した酵素との水素結合による結合性の向上がアシル化に有利な原因と考えられる。また、同時に  $S'$  側のサブサイトへの親和性も同様の効果で増大したことが考えられる。

#### グルタミン酸エステル重合反応の特徴

グルタミン酸エステルの重合反応では、重合度5以上となる生成物はほぼ不溶性となり、生成物が反応液中から除かれることは生成物が二次分解を受けることを免れ、しかも反応の平衡を合成側にシフトさせるというメリットがある。反応初期から重合度が10以上の生成物も検出されることから、1残基ずつペプチド鎖が伸長してゆくのではなく、可溶性重合生成物によるアミノリシス、あるいはペプチド転移反応（トランスペプチデーション）による可溶性の生成物同士の結合が反応の初期段階から起こっていることが推定された。反応が進行すると、可溶性のペプチド生成物がある程度ランダムに加水分解されていることも推測される。図4に示すように、ベンゼンなどの疎水性溶媒を用いた微水反応系でジ、トリペプチドなど低分子生成物の生成が抑制されること<sup>11)</sup>は、これらの生成が加水分解反応に起因していることを示すものと考えられる。

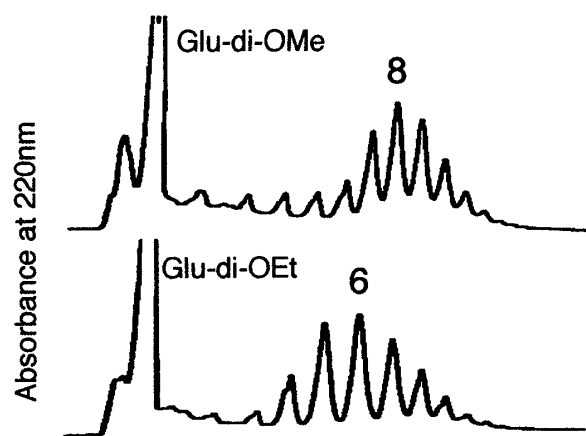


図4 結晶パイン（1%懸濁）を用いたベンゼン系（0.5%）のグルタミン酸オリゴペプチド生成物の重合度分布（24時間反応後）  
図中の数字は、ピークの重合度を示している。

Glu-Glu-tri-OEtの反応性が非常に高く、Glu-di-OEtに比べて  $K_m$  値もかなり低いものと考えられるので、反応の初期段階で Glu-di-OEt 2分子から生成した Glu-Glu-tri-OEt は、重合反応が進行してゆく上で  $\alpha$ -キモトリプシンにとって更によい基質として利用されていることが推定された。さらに、Glu-Glu-tri-OEtの添加によって Glu-di-OEtの利用率も高くなることから、生成した Glu-Glu-tri-OEtが反応の駆動因子となっていると考えられる。反応進行に伴って生成するトリペプチドエステル、テトラペプチドエステルなどの他の可溶性生成物もこの後駆動因子としての役割を果たすであろう。比較的反応の進行の遅い pH 7.0や10°Cの場合、不溶性生成物の収率が反応途中から増加する現象は、可溶性生成物がある程度生成するまでは反応が進行しにくい、その後はそれらを核として重合が進み、不溶性生成物を急激に生じたものと解釈できる。ところで、Glu-Glu-tri-OEtを基質として用いた場合にもグルタミン酸残基数が奇数のペプチドが生成していることから、重合度の低い生成物はペプチド結合の加水分解とトランスペプチデーションを繰り返しながら重合し、不溶性生成物となって反応系から除かれ、酵素的な分解を受けず、比較的安定に蓄積してゆくものと考えられる。

#### グルタミン酸エステル重合反応に対する諸因子の影響

$\alpha$ -カルボキシル基をブロックした求核基質を用いたペプチド合成の収率あるいは求核反応性の至適 pH は、求核基質の  $\alpha$ -アミノ基の求核性に大きく依存し、求核基質のアミノ基の解離が抑制されてアミノリシスが促進される高い pH 領域となるので<sup>12)</sup>、酵素の安定な範囲においては pH を高くすることで収率の向上が期待できるが、基質および中間生成物のエステル結合はアルカリ条件では非常に不安定であり、特に可溶性生成物の側鎖のエステルが分解した場合、この生成物が重合反応の進行に対してもはやよい基質となり得なくなってしまうため中性付近の方が最適条件となると考えられる。

温度に関しても、高いほど酵素、基質、生成物それぞれの安定性低下が制限因子となる。温度が高くなると、反応開始直後は不溶性生成物の生成も含め、反応の進行が促進される一方、収率、特に不溶性収率が低下することが示されたことは、生成物の自然分解や酵素による二次分解の影響が大きいと思われる。一方、一般的に特異的な求核基質（アミノ

## プロテアーゼを用いた呈味性オリゴペプチド類の酵素合成

酸誘導体) によって脱アシル化される場合は、水により脱アシル化される場合よりも特異性が高い分だけ脱アシル化に必要な活性化エネルギーが低くなるため反応温度が低いほど加水分解に対してアミノリシスが相対的に促進されると考えられている。温度が高い場合にはアミノリシスに対する加水分解の割合が高くなるので、二次分解が起こりやすくなっていることが考えられる。本実験の結果は、高重合度(反応系不溶性)生成物の比率を高めることを目的とするのであれば、収率を犠牲にした短時間反応で、ある程度温度を高くする(35°C)効果は期待できるものの、普通に高収率に合成を行うのであれば、酵素、基質とも安定で、しかもアミノリシスに有利な低温でのペプチド合成が有利であることを支持するものである。なお、一般的にアミノリシスは低温の方が相対的に促進されるのであるが、本実験の結果、最大収率は10°Cから25°Cで若干ではあるが増加し、それ以上の温度では温度の上昇に伴って減少したことは、疎水性のアミノ酸誘導体を基質とする場合に、疎水性相互作用による酵素と求核基質の結合および生成物の凝集不溶化が温度の上昇にともなって促進されることを考えると、この温度付近に最適値が存在することもあり得る。低温域については、さらに詳細に検討する必要がある。

イオン強度に関しては、基質が電荷を持つ場合にはイオン強度の増加によって酵素とのイオン同士の引力・斥力を弱めること、塩析効果のため、酵素の疎水性ポケットであるサブサイトに基質がはまりやすくなることも関係するであろう。実際、アミノ酸エステル重合反応において、塩濃度の増加がアシル化およびアミノリシス両反応の進行を促進することが観察されている<sup>13)</sup>。本実験の結果、塩濃度(イオン強度)の増加により、全収率に比べ特に不溶性収率の増加が顕著で、重合反応にとって好ましい条件であることが示された。しかし、NaCl濃度3.0 Mの場合、重合度分布が明確に1残基分低い方にシフトした。このことは、NaClによる塩析効果のため沈澱しやすくなり、反応を合成方向に進める効果をもたらす不溶性収率が高くなった一方で、比較的重合度が低く、NaClを添加していない場合にはさらに重合が進行するであろう生成物が不溶化してしまうという、重合度の高い生成物を得るといった目的においては逆の効果になってしまうことも示唆された。

## 今後の課題

各種の有用な食品ペプチド合成への本反応の応用の可能性の検討、所定の重合度の均一な生成物を得るための方策の検討、反応進行過程で不溶性生成物を分離し、可溶性分画に基質を追加して効率的に合成を行う連続反応システムの検討などが主要な今後の課題と考えられる。

## 参考文献

- 1) Noguchi M, Arai S, Yamashita M, Kato H and Fujimaki M: *J. Agric. Food Chem.* 23, 49-53 (1975)
- 2) Noguchi M, Yamashita M, Arai S and Fujimaki M: *J. Food Sci.*, 40, 367-369 (1975)
- 3) 石井克枝、西村敏英、沖谷明紘、田村由紀子、畑江敬子、島田淳子: *家政誌* 46, 307-312 (1995)
- 4) 石井克枝、西村敏英、平田由美子、畑江敬子、島田淳子: *家政誌* 45, 791-796 (1994)
- 5) 麻生慶一、荒井綜一: プロテアーゼを用いたペプチド合成、“蛋白質分解酵素Ⅱ”(生物化学実験法31)、pp.223-251、学会出版センター(1993)
- 6) Aso K, Uemura T and Shiokawa Y: *Agric. Biol. Chem.* 52, 2443-2449 (1988)
- 7) 麻生慶一: *化学と生物* 28, 267-270 (1990)
- 8) Uemura T, Kato K and Aso K: *Agric. Biol. Chem.* 54, 3009-3010 (1990)
- 9) Castillo LMD, Nieto Z, Arce E, Inei-Shizukawa G, Cruz MT and Castaeda-Agull M: *Biochim. Biophys. Acta* 235, 358-369 (1971)
- 10) Johnson PE and Stewart JA: *Arch. Biochem. Biophys.* 149, 295-306 (1972)
- 11) Uemura T, Fujimori M, Lee H.-H., Ikeda S and Aso K: *Agric. Biol. Chem.* 54, 2277 (1990)
- 12) 森原和之: 酵素を用いるペプチド合成、“酵素の新機能開発”(福井三郎監修 山田秀明編)、pp 75-129、講談社サイエンティフィック(1987)
- 13) 麻生慶一: 平成7年度助成研究報告集Ⅱ、pp 321-333(財)ソルト・サイエンス研究財団(1997)
- 14) 麻生慶一: アサヒビール生活文化研究振興財団研究紀要 7, 1-8 (1994)

## <著者紹介>

### 麻生慶一氏略歴

- 昭和45年 3月 東京農工大学農学部農芸科学科卒業  
昭和47年 3月 東京大学大学院農学系研究科農芸化学専攻  
修士課程修了（農学修士）  
昭和50年 3月 東京大学大学院農学系研究科農芸化学専攻  
博士課程修了（農学博士）  
昭和50年 4月 日本学術振興会奨励研究員  
昭和51年 1月 オハイオ州立大学生化学科研究員  
昭和54年 4月 東京理科大学理工学部応用生物科学科助手  
同専任講師、助教授  
平成 5年 4月 日本獣医畜産大学獣医畜産学部畜産食品工学科助教授

