

総 説

乳タンパク質におけるカルシウム動態とその応用

小 野 伴 忠

(岩手大学 農学部 農業生命科学科, 岩手県盛岡市 020-8550)

Applied Aspects Derived from the Relationship between Calcium and Milk Proteins

Tomotada Ono

(Department of Agro-bioscience, Faculty of Agriculture, Iwate University, Morioka, Japan 020-8550)

1. はじめに

牛乳は中東アジアからヨーロッパでタンパク質および脂質の供給源として古くから利用されてきた。牛乳は仔牛の生育を支える完全食品であり、タンパク質、脂質、糖質をバランス良く含んでいる。特にミネラルではリン酸カルシウム含量が高く¹⁾、幼動物の成長期を支える優れた食品である。しかもこれらの生産は、穀類生産等に適しない草地で可能であり、エネルギーコストも比較的安く、餌から生産物へのエネルギー転換効率にも優れている。

今日の日本は飽食の時代と言われ、欧米と同様にいわゆるダイエット商品がもてはやされている。日本人の栄養状態は概ね良好であるとされているが、カルシウムだけは不足しがちと言われている。それは、食品としてのカルシウム摂取は多いものの、加工食品に含まれる安定剤のリン酸等により不溶性のカルシウムとなり、消化されないためと考えられている。牛乳および乳製品はカルシウムとリンを多く含むが、乳中ではカゼインミセル、消化されるとカゼインホスホペプチド (CPP) 等の形でカルシウムの不溶化を阻止し、カルシウムの吸収を助けることが知られている。また、Ca/P比も骨成分に近く、優れたカルシウム給源として、牛乳・乳製品からの摂取が期待されている。

2. 牛乳タンパク質の特性

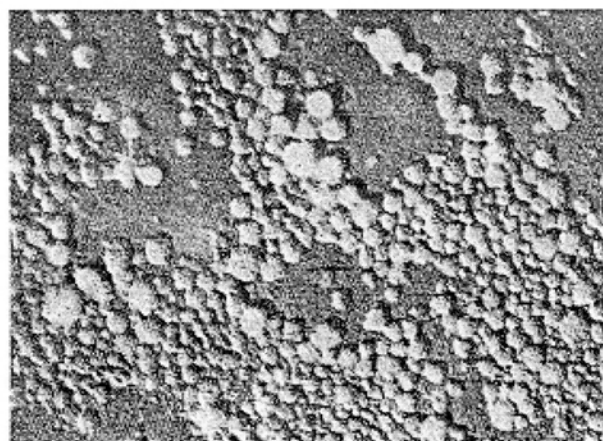
牛乳は白く濁ったコロイド溶液である。脱脂処理により脂肪球を除いても白く濁っている。この光の散乱は脂肪球だけでなく、タンパク質が巨大会合体を形成しているためで、30~300 nmの粒径(平均粒径120 nm)を持つカゼインの会合体、カゼインミセルによっている。この項の参考文献は私の総説²⁾を参照されたい。カゼインは α_{s1} -、 α_{s2} -、 β -、 κ -カゼイン (CN) よりなり、牛乳タンパク質の80%を占めている。それらはそれぞれアミノ

酸配列の若干異なる遺伝変異体を持っていることが知られている。残り20%は乳清タンパク質で、ミセル形成にはほとんど関与していない。牛乳の加工特性はこれらのタンパク質に大きく依存している。カゼインは規則的な二次構造部分が少なく、加熱しても変性凝集するようなことはない。そのため、容易に加熱殺菌処理が可能である。しかし、乳清タンパク質は加熱により変性し凝集するため、加熱処理乳の性質変化に大きく関与するが、牛乳中では0.6%前後と低濃度であるため影響は比較的少ない。

カゼインは会合性に富むリンタンパク質であり、互いに会合し分子量10万から100万にわたる会合体を形成する³⁾。 α_{s1} -、 α_{s2} -、 β -CNはカルシウムで凝集沈殿するが、 κ -CNは糖鎖を持ち、これらの凝集体を安定に可溶化する働きを持っている。牛乳ではリン酸カルシウムが溶解度以上含まれ、不溶性部分はすべてカゼインと結合し、カゼインミセルを形成している。Table 1に牛乳カゼインミセルの組成を、Fig. 1にミセルの電子顕微鏡写真⁴⁾を示す。ミセルはリン酸カルシウムを大量に(6%近く)含んでいる。リン酸カルシウムは幼動物の成長に必須の

Table 1 Composition of casein micelle at room temperature³⁾.

composition	content (%)
α_{s1} -casein	35.6
α_{s2} -casein	9.9
β -casein	33.6
κ -casein	11.9
γ -casein	2.3
casein (sum)	93.3
calcium	2.87
magnesium	0.11
sodium	0.11
potassium	0.26
inorganic PO4	2.89
citrate	0.40
salts (sum)	6.64



×20,000

Fig. 1 Casein micelles of bovine milk by a transmittance electron microscopy⁴⁾.

骨形成物質であるが、中性域では溶解度が低く摂取が難しい。しかし、乳はリン酸カルシウムをカゼインミセルの形で可溶化し、母胎から幼動物にリン酸カルシウムを安定に運ぶカルシウムキャリアとしての働きを持っている⁵⁾。

3. カゼインミセルの構造

カゼインミセルが平均粒径120 nmの巨大な粒子であることはすでに述べた。タンパク質（比重は約1.2）の巨大な粒子が安定に溶液中に分散しているためには、特異な構造が考えられ、多くの研究者がその構造についてモデルを提案している²⁾。カゼインとリン酸カルシウムの凝集物を安定なミセルコロイドにするには、互いに結合することを阻む保護コロイド的な表面の形成が必須である。そのためには、リン酸残基のような陰電荷や糖タンパク質の糖残基等が関与していることが考えられる。リン酸残基は乳中のカルシウムと結合すると考えられることから糖残基が重要であると考えられた。 κ -CNはカゼイン中唯一の糖タンパク質であり、はじめは κ -CNがミセルの外周に存在するモデルが提案された。その後、電子顕微鏡写真からミセルの内部に直径約10~20 nmの小粒子が見いだされ、サブミセル構造の存在が指摘された⁶⁾。同様の小粒子が乳腺細胞におけるカゼインミセル生成過程でも見いだされ⁷⁾、さらにこれらと同様の大きさを持つ小粒子が、ミセルコロイドを透析しリン酸カルシウムを除去すると生じることが報告された⁷⁾。我々⁸⁾は牛乳中のミセルを超遠心分離により大・中・小ミセルに分画し、EDTAによりミセルを破壊後ゲル濾過したところ、Fig. 2に示すように主要な2つのピーク（F2, F3）を得た。これらのピークは電気泳動から α_s - κ -CN複合体と α_s - β -会合体であることが分か

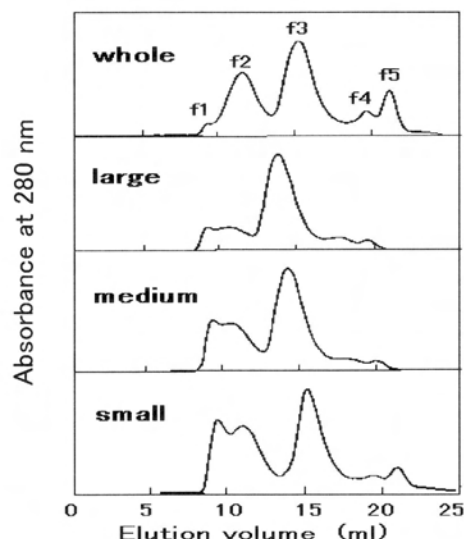


Fig. 2 Elution profiles of submicelles from casein micelles by Toyoperal HW-50 gel chromatography^{8,12)}. Whole, large, medium, and small micelles were obtained from skim milk by differential centrifugation.

った。光散乱からこれら会合体の直径は約10~20 nmで、サブユニットと同じ大きさであることを見だし、初めてミセルよりサブユニットの単離に成功した⁸⁾。 α_s - κ -CN複合体は分子量50万のカルシウムに対して安定な会合体であり、カルシウムにより凝集する α_s - β -CNサブユニットを安定化することが示された^{8,9)}。このようなサブユニットは、牛乳だけでなく山羊、羊、馬の乳にも存在することを明らかにした¹⁰⁾。さらに、粒径の大きいミセルほどF2画分の割合が大きくなることがわかった（Fig. 2）。そこで、F2とF3の割合を変えミセルを再構成したところ¹¹⁾これらの割合がミセルの大きさと密接な関係をもつことが分かった¹²⁾。ミセル中のF2の割合をミセル半径との関係で示すとFig. 3となる。これらの結果をふまえミセルの単位をF2, F3サブユニットからなると仮定し、Fig. 4に示すモデルを考え¹²⁾。このモデルではカルシウムに不安定なF3サブユニットのコアを κ -CNを含むF2サブユニットが取り巻き安定化するものと考え、F2, F3とミセルの粒径との関係を式に表した（Fig. 4）。F2の厚さをa, F3コア中でのF2の存在割合をPとし、それぞれに順次値を入れコンピュータで計算したところ、Fig. 3の実験値から求めたF2割合と粒径rの曲線に最も一致するa, Pの値は6と0であった。F2の厚さは12 nm (6×2)でF3コア中にはF2が全く含まれない結果となった。F2の粒径はゲル濾過の結果では約20 nmとなり⁹⁾、水和した大きさでは20 nmの広がりを持つと考えられる。計算で求めた値は乾燥した状態での電顕の値⁶⁾10 nmとほぼ一致している。これらのことからF2の核は約10 nmで、外側

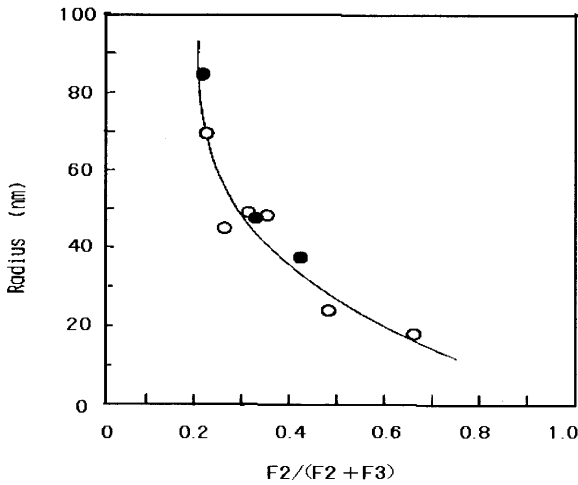


Fig. 3 The relationship between the radius of casein micelles and the ratio of F2/(F2+F3)¹²⁾. F2 and F3 are subunit fractions separated from the casein micelles by gel chromatography.

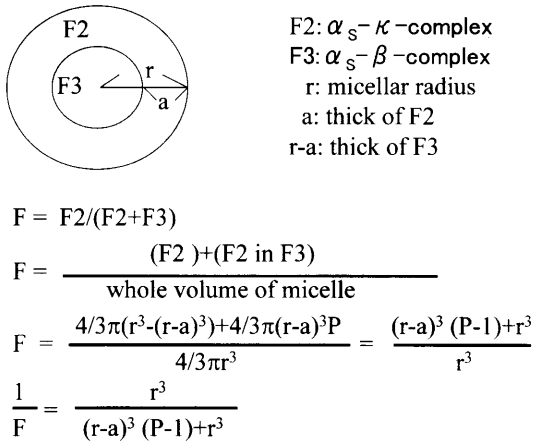


Fig. 4 Casein micelle model and the formula driven from the relationship (Fig. 3) of micelle radius, F2 and F3 subunits.

にκ-CNの糖鎖によると考えられる6~10 nmの水和層を持った構造をとると考えられた。以上の結果を基に、Fig. 5に示すモデルを提案した¹²⁾。その後、我々の結果をも取り入れた同様なモデル、ヘアリーモデルがWalstra¹³⁾によりまとめられた。しかしこのモデルではκ-CNの所在は主に表面にあるものの内部にも存在するとされている。この点ではSlatteryモデル¹⁴⁾の目玉がヘアに変わっただけで今までの説と大きな違いはない。このヘアリーモデルは、1990年までのミセルについての多くの研究を統合した説であり、この後このモデルで多くが論議されるようになった。一方、Holtら¹⁵⁾は小角散乱測定からミセルは均一でサブユニットの存在は見いだせないという結果を示している。それに対して最近、Fig. 6に示す高分解能電界放出形走査電子顕微鏡を用いた測定で、カゼインミセルの表面にはチューブ型の突起

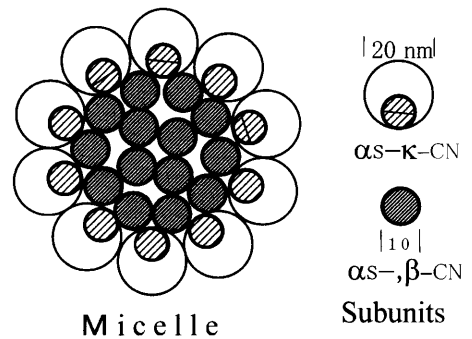


Fig. 5 Speculated structure model of casein micelle¹²⁾ derived from Fig. 4.

が見いだされ、内部はロッド状のサブミセルが結合している様子が提示された¹⁶⁾。また最近のカゼインミセルに関する総説¹⁷⁾の中で、石井は、³¹P-NMR等によるデータ等から「カゼインミセルはフレキシブルなカゼインがもつれた網を作り、MCPの微細な粒子によってまとめられたゲル構造を取る」というHoltの説¹⁵⁾が近いのではないかと述べている。最近のNMRによる研究はこの石井の総説¹⁷⁾を参照されたい。カゼインミセルの一般的な性質は明らかにされてきたが、2005年現在、未だにカゼインミセルの実態は未解明な部分が残されている。

Fig. 5の我々のミセルモデルではリン酸カルシウムの結合についての知見がほとんど含まれていない。青木ら¹⁸⁾はカゼインミセルを尿素により溶解しHPLCによりリン酸カルシウム-カゼイン複合体を分離した。その複合体はα_S-CN、β-CNおよびリン酸カルシウムよりなり、カゼインどうしの結合が尿素により切断されていることからリン酸カルシウム架橋の存在を明らかにした。この複合体にはκ-CNが含まれていなかった。リン酸カルシウムはカゼインミセルのコア部分(α_S-β-CN会合体)に主に結合していることが示された。ミセル外側のα_S-κ-CN複合体はα_S-CN部分でコア部分にリン酸カルシウムにより結合していると考えられる。カゼイン間を結合するリン酸カルシウム架橋についてDijk¹⁹⁾はFig. 7のような結合様式を示した。リンタンパク質であるカゼインのセリンエステルリン酸をアンカーとして互いにカゼインどうしが結合している。リン酸カルシウムの2種の結合形態を反映して、容易に交換可能な不安定アーム部位と強固に結合した安定アーム部位からなっている。この強固に結合したカルシウムと比較的自由に溶液中のイオンと平衡関係にあるカルシウムは³²Pを用いた青木ら²⁰⁾の実験でも確認された。

4. 牛乳の加工処理によるミセルの変化

チーズ作成における牛乳の凝固や不安定乳の検査で用

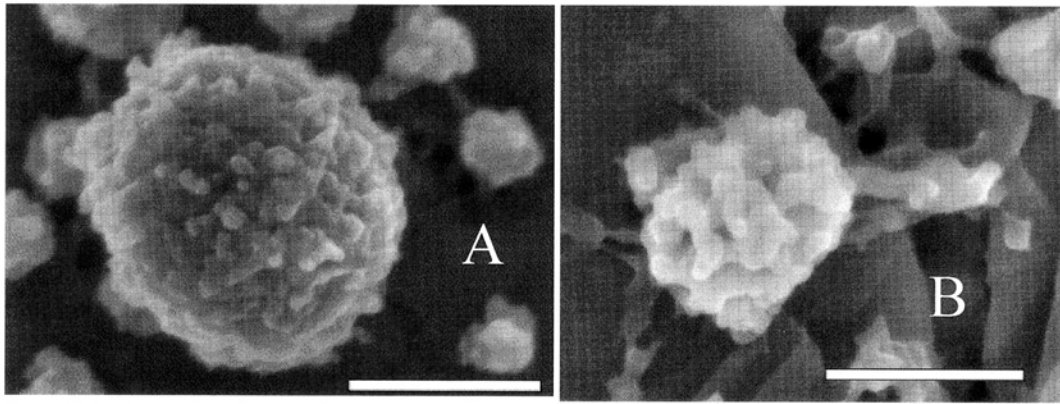


Fig. 6 Electron micrograph of an individual casein micelle¹⁶⁾. A is shown by the scale (bar = 100 nm). B, This suggests that the particle is being dissociated as it adsorbs to the surface, but that there are still links between the dissociating parts of the micelle. Scale BAR = 200 nm.

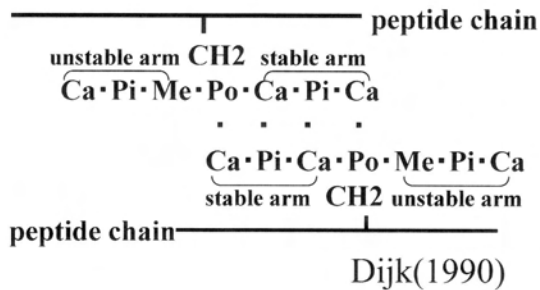


Fig. 7 Calcium phosphate bridge between SerP residues of casein proposed by van Dijk¹⁹⁾. "Me" is Ca or Mg ion, Po is SerP residue, and Ca and Pi are calcium and phosphate, respectively.

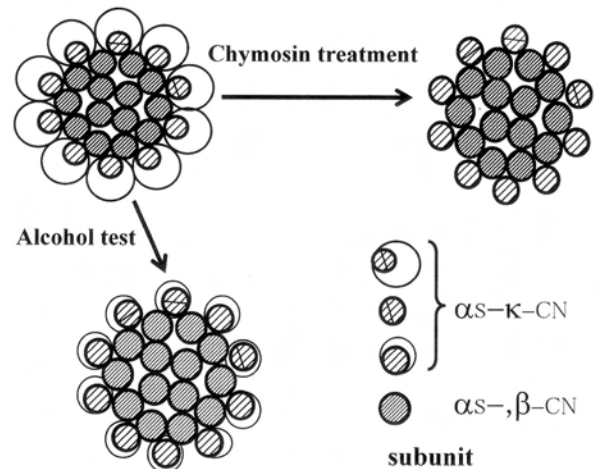


Fig. 8 Schematic diagrams of chymosin treatment and alcohol test drew from micelle model of Ono & Obata¹²⁾

いるアルコールテストについて、我々が提案したミセルモデル (Fig. 5) をもとに考察したのが Fig. 8 である。カード形成は、酵素 (キモシン) 処理によりカゼインミセル表面に局在する κ -CN の糖鎖を含むグリコマクロペプチド (GMP) が切断され、ミセルのタンパク質表面が露出することにより起こることになる。 κ -CN は GMP を切り離しても二次構造は変化せず、生じた表面 (para κ -CN) の疎水性が2倍になることが分かっている²¹⁾。ミセルの骨格に変化はないが表面の疎水性が増加することによりミセルどうしの結合 (カード形成) が起こることによって説明できる。またアルコールテストでは、糖鎖部分が収縮することによりミセルどうしの接近が容易になるとともに、もしミセル表面の κ -CN が一部欠落していると、内部のサブユニットが容易に露出するため、凝集し易くなる。これを利用して低酸度二等乳など不安定乳のテストに用いられている。

長期冷却保存および高度に加熱した牛乳をチーズ製造に用いるとソフトカードを引き起こすことが知られている。牛乳は搾乳後低温貯蔵 (4°C) されるが、Table 2 に示すように長期貯蔵 (3 日以上) すると半径 30 nm 以上のミセルでは β -CN が脱離し、ミセル径が小さくな

った²²⁾。大・中・小ミセルに分けそれぞれを低温で貯蔵すると Table 3 に示すように大ミセルからは中ミセルが、中ミセルからは小ミセル、小ミセルからは可溶性画分ができることが分かった²²⁾。ミセルのコア部分から β -CN が脱離し、ミセルは小さくなり、表層を作る α_s - κ -CN 複合体の割合は増加することになる。30 nm 以下では粒子の破壊も起こることが分かった。このようにして生じたミセルと溶解性カゼインの不均衡は常温に戻しても元に戻らず、カード形成への可溶性カゼインの関与が、ソフトカードの原因となっていることが示された。

牛乳を製品として供する場合、加熱殺菌は必須の工程である。製品にするため現在用いられている主な殺菌工程は、63°C-30 min (LTLT), 120°C-2 sec (UHT), 140°C-3 sec (LL) の3種類である。加熱が高度になるにつれミセルの巨大化が起こることが知られている (Fig. 9)。この巨大化は、乳清タンパク質が加熱により変性し、ミセルを互いに結合するためと考えられていた。と

Table 2 Large, Medium, and Small Casein Micelle and Soluble Fractions Obtained from Skim-milk at 4 and 37°C (from reference 22).

micelles temperature, °C	large		medium		small		soluble**	
	37	4	37	4	37	4	37	4
size (r), nm	65	68	35	40	25	—		
content, mg/g*	9.3	7.5	11.3	12.5	2.4	3.5	0.13	1.2
component, %								
α_s -casein	55	56	49	55	40	38	28	8
β -casein	37	35	38	31	32	30	50	83
κ -casein	8	9	13	15	27	32	22	9

* protein mg/g of skim-milk; ** soluble was obtained as supernatant.

Table 3 Casein Particle Fractions Obtained from Large, Medium, and Small Casein Micelle Suspensions at 4 and 37°C.

fractions temperature, °C	large		medium		small		soluble**	
	37	4	37	4	37	4	37	4
suspensions	protein mg/10 g of skim-milk							
Large micelles	93.1	74.5	28.5	58.7	—	—	—	5.1
Medium micelles	—	—	84.0	66.6	9.0	20.4	1.0	4.1
Small micelles	—	—	—	—	15.2	14.8	0.26	2.8

* soluble was obtained as supernatant. From reference 22.

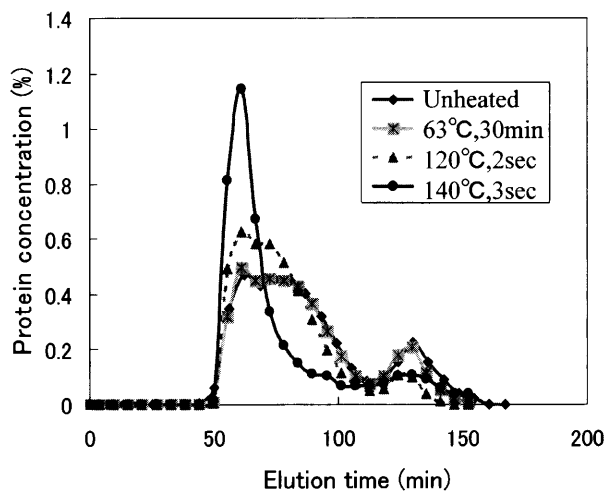


Fig. 9 Chromatographic patterns of the heated skim milks at various temperatures on a Sephacryl S-1000 column. (From reference 23) Heat conditions are room temp, 60°C-30 min, 120°C-2 sec, and 140°C-3 sec.

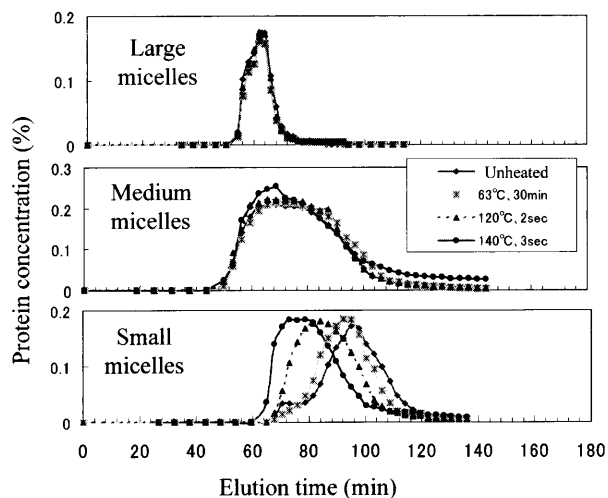


Fig. 10 Chromatographic patterns of large, medium and small casein micelles heated at various temperatures on a Sephacryl S-1000 column. (From reference 23)

ころが高度加熱では、乳清タンパク質を除いた系でカゼインミセルを加熱してもミセルの巨大化が起こることを我々は見いだした²³⁾。そこでさらにミセルを大・中・小粒径画分に分け種々の加熱を行ったところ、Fig. 10に示すように、大・中ミセルは変化せず小ミセルだけが大きくなって行くことが分かった。Fig. 5のミセル模型をもとに考察すると、ミセルを安定化している表面の α_s - κ -CN複合体の一部が加熱により遊離し、ミセル内部の疎水面を露出させる可能性が考えられる。実際に、 β -カゼインだけでなく、 α_s -CNと κ -CNが1:1の比

で遊離してくる現象が見られた。しかし、60 nm以上の大きいミセルでは、互いに結合して露出面をふさぐには露出面が小さすぎるため、巨大化が起こらなかったと考えられる。小ミセルが存在すると巨大化が進行することから、露出部の大きさは小ミセルの結合には十分であり、さらにそれが介在してミセルの巨大化を引き起こすと考えられる。これらのことから我々は、小ミセルが重要な鍵となっていることを突き止め、Fig. 11に示すような加熱によるミセルの巨大化についてのモデルを提案した²³⁾。この加熱によるミセル巨大化の機構は、我々

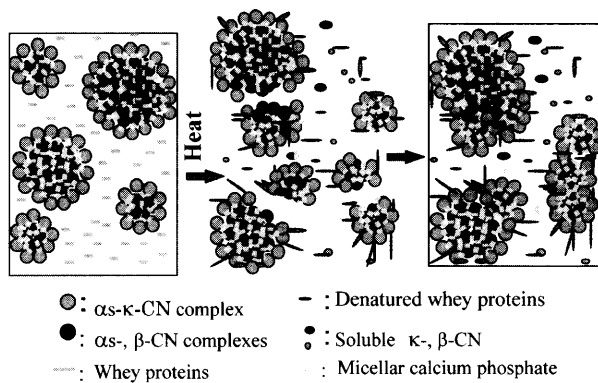


Fig. 11 Speculated diagram on Size increasing of casein micelle by heating, derived from reference 23.

が先に提案した Fig. 5 のミセルモデルをもととして考えたもので、矛盾なくこれらの現象を説明できる。

5. カルシウムキャリアとしてのカゼインミセル

哺乳類は分泌する乳によって出生後の子供の命と成長を支えている。各種動物の乳成分中タンパク質とカルシウムの関係は Fig. 12 に示すようにほぼ正比例の関係にある事が知られている²⁴⁾。この関係はリンについても同様である²⁴⁾。幼児の成長にはタンパク質だけでなく骨形成のためのカルシウム及びリン酸が多量に必要であることを示している。カルシウムとリン酸が結合したリン酸カルシウムは、中性付近ではわずしか溶けないが、それぞれのイオンは、乳中に含まれるクエン酸やカリウム等の対イオンと平衡し溶解している。牛乳では Ca 及び P の形でそれぞれ 35 mg/100 g 前後溶解している。イオン平衡以上含まれるカルシウムとリン酸は中性溶液中では沈殿するが、乳中ではカゼインと結合し、カゼインミセルとなって可溶化している。生育が遅く幼児の体重が 2 倍なるのに約 180 日かかる人間では²⁵⁾、タンパク質含量も少なく、カルシウム、リンもほぼ溶解性の含量のみである。しかし約 6.5 日と非常に成長の早いうさぎでは²⁵⁾、人乳の約 10 倍量も含んでいる (Fig. 12)。このような形で動物の成長に応じて多量のタンパク質およびカルシウムとリン酸が溶液状の乳として母から子へ受け渡されている。大量のリン酸カルシウムを液状で受け渡す巧妙な方法がミセルコロイドの形成である。この項の詳細については以前本誌にまとめた私の総説⁵⁾を参照していただきたい。

牛乳中でのカゼインミセルの構造についてはすでに述べたが、Fig. 7 に示したように不溶性のコロイド性リン酸カルシウム (CCP) は架橋構造 (Dijk¹⁹⁾) をとって結合し、可溶化している。CCP は Micellar calcium phosphate (MCP) とも称され、ここでは MCP と呼ぶ

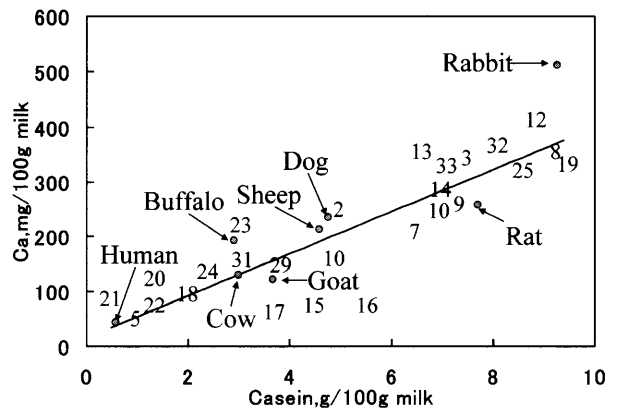


Fig. 12 Calcium vs. casein in milks of 33 species²⁴⁾. 1, Long-tongued bat; 2, little brown bat; 3, free-tailed bat; ●, rabbit; 5, baboon; ●, human; 7, hamster; ●, rat; 9, mouse; 10, guinea-pig; 11, dog; 12, black bear; 13, grizzly bear; 14, polar bear; 15, fur seal; 16, elephant seal; 17, harp seal; 18, Indian elephant; 19, aardvark; ●, horse; 21, burro; 22, rhinoceros; 23, pig; 24, camel; 25, reindeer; 26, giraffe; ●, cow; ●, buffalo; ●, goat; ●, sheep; 31, pigmy sperm whale; 32, fin whale; 33, blue whale. The names of ● are shown in inside of this figure.

ことにする。MCP の結合部位はカゼインのリン酸基やカルボニル基であり^{18,26)}、特にリン酸基の含量は MCP の保持量と関係する^{27,28)}。カゼインミセルを形成する主なカゼインは α_{s1} -CN-8P, β -CN-4P, κ -CN-1P, α_{s2} -CN-10P, α_{s2} -CN-11P, α_{s2} -CN-12P 等であり (P はリン酸基の数)、リン酸基の数が多いものほど MCP による架橋も多いことが知られている²⁷⁾。さらに、MCP 架橋は 3 残基以上のリン酸基がないとできないと言われていた²⁸⁾。一方、この巨大なミセルを安定に浮遊させておくためには糖を持った κ -CN が必須であるが、 κ -CN はリン酸基を 1 個しか持っていない。そのため κ -CN のミセルへの結合は MCP 架橋以外の方法によっている。即ち、 α_{s1} -CN と会合し α_{s1} - κ -CN サブユニットを形成し⁸⁾、 α_{s1} -CN を通して他のサブユニットと MCP 架橋により結合していると考えられる。このサブユニットは我々のミセルモデル (Fig. 5) で示したようにミセル表面に局在し、ミセルを安定化していると¹²⁾考えられる。

一方、脱リンしたカゼインよりミセルを形成すると、脱リン度合いが高いほど MCP 含量が高いが熱やアルコールに対して不安定なミセルを生成すること²⁹⁾が知られている。このことはリン酸基含量が高く架橋構造を多く持つ安定なミセルは MCP 含量が低く、架橋構造の少ないミセルでは MCP 含量が高いが不安定で沈殿しやすいことを示している。MCP を安定に溶液状で供給するにはタンパク質に結合したリン酸基の数は多すぎても少なすぎてもいけないことになる。このことは MCP の結合形態として架橋によりリン酸基を通してタンパク

ルをトリプシン処理し生成する CPP_{try} が、カゼインから調製したものよりもリン酸カルシウム可溶化能が大きいことを指摘した。この CPP_{try} は α_{s1} -CN 由来のものを多く含むことが分かった (Fig. 14)。さらにカゼインミセルをペプシン、トリプシン連続処理する人工消化により調製した CPP_{pep/try} は、Table 4 に示すように酸カゼインから調製したものや CPP_{try} よりもリン酸カルシウム保持能に優れていることが分かった⁴³⁾。この CPP は α_{s1} -CN 由来の CPP を CPP_{cn} や CPP_{try} よりも多く含んでいた (Fig. 14)。カゼインとそのミセルから生成する CPP のこのような違いは、ミセル構造が消化に対して重要な関わりを持っていることを示している。牛乳はカゼインミセルの形で大量のリン酸カルシウムを摂取可能にするとともに、消化管中でより大量のカルシウムを保持できる CPP を生成し、さらにその吸収を促進する働きを行っている。特にこの機能は、無機リンが共存し、カルシウムの不溶化が問題になる場合には効果が発揮されることが示されている⁴⁴⁾。

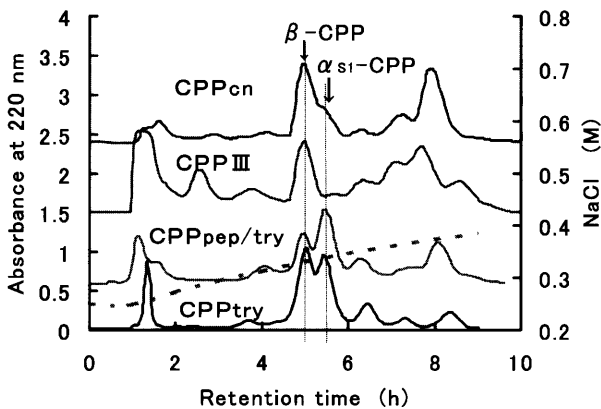


Fig. 14 Elution patterns of CPPs prepared by various preparations on a Q-Sephalose FF column⁴³⁾. CPP_{cn}, casein was treated with trypsin; CPP_{III}, commercial CPP; CPP_{try}, casein micelle was treated with trypsin; CPP_{pep/try}, casein micelle was treated successively with pepsin and trypsin.

Table 4 Salt contents and molecular weight of various CPP-calcium phosphate complexes.

CPP	Ca	Pi	Mr
CPP _{try}	168 mg	122 mg	101,000
CPP _{pep/try}	248	175	91,000
CPP _{III}	76.2	24.8	18,000
CPP _{cn}	76.5	25.5	18,000
β -CPP	80.5	31.2	18,000

CPP items are shown in Fig. 14.

(mg/g peptide)

7. おわりに

乳は、生後間もない子供を安全に生育させるために哺乳類が作る食料であり、その動物の生育環境に応じて成分も進化してきたものと考えられる。乳のみに依存し、しかも成長の早い幼動物では、タンパク質だけでなく、骨形成のためにカルシウムおよびリン酸を大量に摂取する必要がある。しかし、リン酸カルシウムは中性域では不溶性であり、それを溶解形で摂取可能にしているのがカゼインミセルという形態である。さらに、腸内での不溶化を阻止し吸収可能な形にしているのが CPP である。日本では高齢人口が増加し、カルシウム不足による腰痛や骨折が寝たきり老人を作る主因となっている。健康で活動的な生活のために、骨成分であるカルシウムとリン酸を容易に摂取でき、腸内で吸収可能な形で存在する乳、乳製品は重要である。さらに、骨代謝の調節機構が明らかになるにつれ、CPP 様ペプチドが薬品としても注目されてきた。CPP のリン酸カルシウム可溶化能に着目した歯石沈着防止剤⁴⁵⁾やその効果についても報告⁴⁶⁾されている。最近、CPP が細胞培養や動物への経口投与で IgA 産生を促進することや、発酵乳中では免疫調節因子としても機能していることが報告されている⁴⁷⁾。骨代謝や免疫系の調節にどの様に関わっているかは今後の問題であるが、CPP 研究はいよいよ深奥に迫りつつあるように思われる。

謝 辞

この総説は日本酪農科学会賞 (2004年9月) 授賞に際し、グローバルな牛乳研究においてはあまりにも微力でしたが、自分の研究の核となった「牛乳タンパク質とカルシウムについて」を中心に、研究の流れをまとめたものです。賞への推薦をいただいた東北大学大学院農学研究科教授齋藤忠夫先生には、一方ならぬご迷惑とお世話をおかけいたしました。ここに、心より感謝申し上げます。さらに、前会長細野明義先生、現会長青木孝良先生には、研究を通しての多くの励ましと友情を頂きました。ここに深く感謝いたします。また、この研究を進めるにあたり、導いて下さった岩手大学名誉教授小田切敏先生、大阪大学名誉教授高木俊夫先生、弟子として指導下さった元大阪大学助教授油谷克英先生、研究の遂行に協力いただいた岩手大学の学生諸君に深く感謝いたします。

引用文献

- 1) 科学技術庁資源調査会：五訂日本食品標準成分

- 表, 大蔵省印刷局 (2000).
- 2) 小野伴忠: 分子集合としての乳蛋白質カゼイン, 蛋白質核酸酵素, **34**, 1351-1358 (1989).
 - 3) Schmidt, D. G.: in Association of casein and casein micelles structure, Developments in Dairy Chemistry 1 (ed. Fox P.F.), p. 61, Applied Science Pub., London and New York (1982).
 - 4) 清沢功, 定近一夫, 前野正久: 乳中カゼインミセルの理化学的性質に関する研究, 日畜会報, **29**, 41-47 (1958).
 - 5) 小野伴忠: カルシウム摂取における乳, カゼインミセルの役割とカゼインホスホペプチドについて, *Jap. J. Dairy and Food Sci.*, **43**, A65-71 (1994).
 - 6) Shinmin, P. D. and Hill, R. D.: An electron microscope study of the internal structure of casein micelles. *J. Dairy Res.*, **31**, 121-123 (1964).
 - 7) Buchheim, W. and Welch, U.: Evidence for the submicellar composition of casein micelles on the basis of electron microscopical studies. *Neth. Milk Dairy J.*, **27**, 163-189 (1973).
 - 8) Ono, T., Odagiri, S., and Takagi, T.: Separation of the submicelles from micellar casein by high performance gel chromatography on a TSK-GEL G4000SW column. *J. Dairy Res.*, **50**, 37-44 (1983).
 - 9) Ono, T. and Takagi, T.: Molecular weights of subunit components of bovine casein micelles. *J. Dairy Res.*, **53**, 547-555 (1986).
 - 10) Ono, T., Kohno, H., Odagiri, S., and Takagi, T.: Subunit components of casein micelles from bovine, ovine, caprine and equine milks. *J. Dairy Res.*, **56**, 61-68 (1989).
 - 11) Ono, T., Furuyama, T., and Odagiri, S.: Formation of artificial casein micelles. *Agric. Biol. Chem.*, **47**, 221-226 (1983).
 - 12) Ono, T. and Obata, T.: A model for the assembly of bovine casein micelles from F2 and F3 subunits. *J. Dairy Res.*, **56**, 453-461 (1989).
 - 13) Walstra, P.: On the structure of casein micelles. *J. Dairy Sci.*, **73**, 1965-1979 (1990).
 - 14) Slattery, C. W. and Evard, R.: A model for the formation and structure of casein micelles from subunits of variable composition. *Biochim. Biophys. Acta*, **317**, 529-538 (1973).
 - 15) Holt, C., De Kruif, C. G., Tunier, R., and Timmins, P. A.: Substructure of bovine casein micelles by small angle X-ray and neutron scattering. *Colloids and Surfaces A*, **213**, 275-284 (2003).
 - 16) Dalglish, D. G., Spagnuolo, P. A., and Goff, H. D.: A possible structure of the casein micelle based on high-resolution field-emission scanning electron microscopy. *Int. Dairy J.*, **14**, 1025-1031 (2004).
 - 17) 石井哲也: カゼインミセルの構造および性質に関する最近の研究動向, *Milk Sci.*, **54**, 1-8 (2005).
 - 18) Aoki, T., Kako, Y., and Imamura, T.: Separation of casein aggregates cross-linked by colloidal calcium phosphate from bovine casein micelles by high performance gel chromatography in the presence of urea. *J. Dairy Res.*, **53**, 53-59 (1986).
 - 19) van Dijk, H. J. M.: The properties of casein micelle. 1. The nature of the micellar calcium phosphate. *Neth. Milk Dairy J.*, **44**, 65-81 (1990).
 - 20) Zhang, Z. P., Fujii, M., and Aoki, T.: Behavior of calcium and phosphate in artificial casein micelles. *J. Dairy Sci.*, **79**, 1722-1727 (1996).
 - 21) Ono, T., Yada, R., Yutani, K., and Nakai, S.: Comparison of conformations of κ -casein, para- κ -casein and glycomacropeptide. *Biochim. Biophys. Acta*, **911**, 318-325 (1987).
 - 22) Ono, T., Murayama, T., Kaketa, S., and Odagiri, S.: Changes in the protein composition and size distribution of bovine casein micelles induced by cooling. *Agric. Biol. Chem.*, **54**, 1385-1392 (1990).
 - 23) Ono, T., Yoshida, M., Tanaami, H., and Ohkoshi, H.: Changes in casein micelle size due to heating. *Int. Dairy J.*, **9**, 405-406 (1997).
 - 24) Jeness, R.: Comparative aspects of milk proteins. *J. Dairy Res.*, **46**, 197-210 (1979).
 - 25) Jeness, R.: In *Lactation*; A comprehensive treatise. Vol. 3, 3 (ed. by B. L. Larson and V. R. Smith), Academic Press, New York (1974).
 - 26) Ono, T., Kaminogawa, S., Odagiri, S., and Yamauchi, K.: A study on the binding of calcium ions to α_{s1} -casein. *Agric. Biol. Chem.*, **40**, 1717-1723 (1976).
 - 27) Aoki, T.: Incorporation of individual casein constituents into casein aggregates cross-linked by colloidal calcium phosphate in artificial casein micelles. *J. Dairy Res.*, **56**, 613-618 (1989).
 - 28) Aoki, T., Umeda, T., and Kako, Y.: Effect of number of phosphate groups on the cross-linking of casein colloidal calcium phosphate. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **56**, 1878-1879 (1992).
 - 29) Schmidt, D. G. and Poll, J. K.: Properties of artificial casein micelles. 4. Influence of dephosphorylation and phosphorylation of the casein. *Neth. Milk Dairy J.*, **43**, 53-62 (1989).

- 30) Yamauchi, K., Yoneda, Y., Koga, Y., and Tsugo, T.: Exchangeability of colloidal calcium in milk with soluble calcium. *Agric. Biol. Chem.*, **33**, 907-914 (1969).
- 31) Eigel, W. N., Butler, J. E., Ernstrom, C. A., Farrell, H. F., Harwalkar, Jr, V. R., Jenness, R., and Whitney, R. McL.: Nomenclature of proteins of cow's milk: Fifth revision. *J. Dairy Sci.*, **67**, 1599-1631 (1984).
- 32) Naito, H., Kawakami, A., and Imamura, T.: In-vivo formation of phosphopeptide with Ca-binding property in the small intestinal tract of the rat fed on casein. *Agric. Biol. Chem.*, **36**, 409-415 (1972).
- 33) Peterson, R. F., Nauman, L. W., and McMeekin, T. L.: The separation and amino acid composition of a pure phosphopeptide prepared from β -casein by the action of trypsin. *J. Am. Chem. Soc.*, **80**, 95-99 (1958).
- 34) Manson, W. and Annan, W. D.: The structure of a phosphopeptide derived from β -casein. *Arch. Biochem. Biophys.*, **145**, 16-26 (1971).
- 35) West, D. W.: Structure and function of the phosphorylated residues of casein. *J. Dairy Res.*, **53**, 333-352 (1986).
- 36) Juillierat, M. A., Beachler, R., Berrocal, R., Chanton, S., Pavillard, B., Scherz, J-C., and Jost, R.: Tryptic phosphopeptides from whole casein I. Preparation and analysis by fast protein liquid chromatography. *J. Dairy Res.*, **56**, 603-611 (1989).
- 37) Hirayama, H., Toyota, K., Yamaguchi, G., Hidak, H., and Naito, H.: HPLC analysis of commercial casein phosphopeptides. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **56**, 1126-1127 (1992).
- 38) Kasai, T., Honda, T., and Kiriya, S.: Casein phosphopeptides (CPP) in feces of rats fed casein diet. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **56**, 1150-1151 (1992).
- 39) Meisel, H. and Frister, H.: Chemical characterization of bioactive peptides from in-vivo digests of casein. *J. Dairy Res.*, **56**, 343-349 (1989).
- 40) Shormuller, J., Belitz, H. D., and Bachmann, E.: Phosphate and organic phosphorus compounds in food. X. Phosphopeptides from enzyme hydrolyzates of α - and β -casein. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, **115**, 402-409 (1961).
- 41) Ono, T., Ohotawa, T., and Takagi, Y.: Complexes of casein phosphopeptide and calcium phosphate prepared from casein micelles by tryptic digestion. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **58**, 1376-1380 (1994).
- 42) Bromage, R., Juillierat, M. A., and Jost, R.: Influence of casein phosphopeptides and lactulose on intestinal calcium absorption in adult female rats. *Lait*, **71**, 173-180 (1991).
- 43) Ono, T., Takagi, Y., and Kunishi, I.: Casein phosphopeptides from casein micelles by successive digestion with pepsin and trypsin. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **62**, 16-21 (1998).
- 44) Erba, D., Ciappellano, S., and Testolin, G.: Effect of casein phosphopeptides on inhibition of calcium intestinal absorption due to phosphate. *Nutrition Research*, **21**, 649-656 (2001).
- 45) Reynolds: US Pat., 5015, 628 (1991).
- 46) Rose, R. K.: Effects of an anticariogenic casein phosphopeptide on calcium diffusion in streptococcal model dental plaques. *Arch. Oral Biology*, **45**, 569-575 (2000).
- 47) Hosono, A., Otani, H., Yasui, H., and Watanuki, M.: Impact of fermented milk on human health: Cholesterol-lowering and immunomodulatory properties of fermented milk. *Animal Science Journal*, **73**, 241-256 (2002).