〔衛 生 化 学〕
EISEI KAGAKU
35 (5) 339-346 (1989)

薄層等電点電気泳動法の食品分析への応用（第3報）等電点電気泳動
パターンの数値化によるキノコ種の判別とクサウラベニタケ
食中毒事例への応用

浮島美之,^a 秋元宣子,^b 成田弘子,^b 石川雅章,^a

藤井貴野,^a 木野正彦,^a 山脇正樹,^a

岡田昌二^c

静岡県沼津保健所,^a 静岡県衛生環境センター,^b 静岡県立大学薬学部^c

Studies on the Application of Thin Layer Isoelectric Focusing to Food Analysis. III.
Identification of Mushroom by Numerical Value of Isoelectric Focusing
Pattern and Application to Food Poisoning
by *Rhodophyllus rhodopolius*

YOSHIYUKI UKISHIMA,^a NORIKO AKIMOTO,^b HIROKO NARITA,^b

MASAAKI ISHIKAWA,^a YOSHINO FUJII,^a MASAHIKO KINO,^a

MASAKI YAMAWAKI^a and SHOJI OKADA^c

Shizuoka Prefectural Numazu Health Center,^a 1-3 Takashimahoncho, Numazu 410,
Japan, Shizuoka Prefectural Institute of Public Health and Environmental Science,^b
4-27-2 Kita-ando, Shizuoka 420, Japan and University of Shizuoka School of
Pharmaceutical Sciences,^c 395 Yada, Shizuoka 422, Japan

(Received May 9, 1989)

To identify the species of mushrooms mainly for the distinction of poisonous mushrooms from edible ones, thin layer isoelectric focusing analysis was applied on their water-soluble proteins.

1. The electrophoretic profiles were species-specific. The proteins extracted from the cap and stem in a species gave essentially identical profiles.
2. The profiles of cap proteins of 10 individuals of Akamomitake (*Lactarius deliciosus*) were indifferent, indicating that the intra-species variation of water-soluble proteins was little.
3. The heat treatment at higher than 60 °C, for 10 min, of the water-soluble proteins of Dokutsurutake (*Amanita virosa*) caused temperature-dependent disappearance of protein bands, while not significant change up to 60 °C.
4. The values of pI and relative peak height of isoelectro-focused water-soluble protein bands were numerically expressed. These numerical values were species-specific, indicating that mushroom species might be identified by analyzing the water-soluble proteins with a verification of the tables of these numerical values.
5. The present method was applied for the identification of poisonous Kusaurabenitake (*Rhodophyllus rhodopolius*) mixed in Urabenhoteishimeji (*Rhodophyllus crassipes*) which caused a food poisoning incident. The former mushroom was satisfactorily identified by this method.

Keywords — isoelectric focusing; water-soluble protein; numerical value; species-specific identification; mushroom-species; poisonous mushroom; food poisoning; *Rhodophyllus rhodopolius*; *Rhodophyllus crassipes*

緒 言

キノコは分類上担子菌類と子囊菌類に属し、大部分のキノコは担子菌類に属する。¹⁾キノコ種の判別は、一般的には傘、ひだ、つば、茎、壺、生え方等の形態をみて行われる。²⁾また、胞子や、胞子のつく細胞の形、更にキノコに含まれる成分、呈色反応等によっても判別が行われる。^{3,4)}キノコは日本には約5000種類あるといわれているが、そのうち和名のついたキノコは約1500種で、そのなかで食べられるキノコはせいぜい200種である。一方毒キノコは30種以上ある。⁵⁾

キノコを食用に供する場合、外形の良く似たキノコを的確に判別することは難しく、毎年500人ほどが中毒を起こし、数名の死者がでている。^{6,7)}キノコによる食中毒が発生した場合、残存しているキノコが少なかったり、外部形態を留めていないとその食中毒原因調査は困難となり、中毒患者に対する適切な処置もとりにくい。

我々はこれまでに水溶性筋形質蛋白質を使用した電気泳動法による魚種判別法について、食品衛生学的に検討してきた。⁸⁻¹⁰⁾今回このなかの等電点電気泳動法をキノコ種の判別に応用したところ、キノコの水溶性蛋白質の等電点電気泳動パターンに種特異性が認められ、またその泳動パターンを数値化してキノコ種の判別に適用することが可能であることを見いだした。また、沼津市大平山において採取されたクサウラベニタケによる食中毒事例に本法を応用したところ、明確な種判別ができたので併せて報告する。

実 験 方 法

1. 試料 Table Iに示した同担子菌亜綱(*Homobasidiaceae*)に属するキノコを実験に用いた。このうちクサウラベニタケ(*Rhodophyllus rhodopolius*)及びウラベニホテイシメジ(*Rhodophyllus crassipes*)は沼津市大平山で採取され食中毒事例に関与したもので、その他のキノコは富士山麓周辺で採取されたものである。試料のキノコは -20°C 以下で冷凍保存し実験に供した。

2. 試薬 アンフォラインプレート：LKB社製、ポリアクリルアミド5%，両性担体としてアンフォライン2.5%を含むアンフォラインPAGプレート、pH 3.5—9.5、1 mm×22.6 cm×9.5 cm。

pI マーカー：等電点(pI)が既知である標準蛋白質を11種類混合したPharmacia社製カリブレー

ションキット(pH 3—10)のバイアルに、100 μl の蒸留水を加え蛋白質を溶解した。

脱色液：50% (v/v) エタノール水溶液と16% (v/v) 酢酸溶液を用時等量混合した。

固定液：スルホサリチル酸17.3 gとトリクロロ酢酸57.5 gに水を加えて溶解し500 mlとした。

染色液：Coomassie brilliant blue R250 0.46 gを脱色液400 mlに溶解した。

保存液：脱色液にグリセリンを加えて10% (v/v) 溶液とした。

グアヤクチンキ溶液：グアヤク脂1 gに70%エタノール5 mlを加え、攪拌溶解した。

硫酸バニリン溶液：水3 mlに濃硫酸8 mlを加え、それにバニリン1 gを溶解した。

3. 装置 ホモジナイザー：BIOTRONA社製バイオトロン BT 250 SM型。

電気泳動装置：LKB社製定電力電源装置マクロドライブ5型に、同社製等電点電気泳動装置マルチフォーII型を接続して使用した。

デンストメーター：島津製作所製2波長クロマトスキャナCS-910型。

4. 実験操作 1) 水溶性蛋白質の抽出——細切したキノコの傘又は茎1 gに水1 mlを加えてバイオトロンを用いてホモジナイズし、 2°C に冷却して、16000 rpmで20分間遠心分離して得た上澄液を水溶性蛋白質の試験溶液とした。

2) 電気泳動—— 7°C の冷却水を循環させた電気泳動装置に、アンフォラインプレートをセットして5×10 mmのろ紙片をプレートの中央に置き、試験溶液及びpI マーカー10 μl をマイクロピペットを用いてろ紙に塗布した。陽極に1 M 燐酸溶液、陰極に1 N 水酸化ナトリウム溶液を含ませたろ紙を置き、通電は定電力30 W(最高電圧1500 V、最高電流40 mA)で行い、30分後にろ紙片を取り除き、更に60分間泳動した。

3) 蛋白質固定及び染色——プレートを固定液に45分間、次に脱色液に20分間、 60°C に加熱した染色液に10分間順次浸した。更に脱色液に1夜浸した後保存液に60分間浸した。次にプレートを 50°C で40分間乾燥し、ゲルの表面にセロファンシートを密着させて保存プレートとした。

4) デンストメトリー及び蛋白質バンドの数値化——保存プレートを用いて、pI マーカーとキノコ類の水溶性蛋白質の等電点電気泳動パターンを、2波長クロマトスキャナを使用して試料側595 nm、対照側700 nmの2波長でデンストメトリーを行った。

TABLE I. Japanese and Scientific Names of the Mushroom Species Examined

Sample No.	Japanese name	Scientific name	Family
1	Kakishimeji	<i>Tricholoma ustale</i>	Tricholomataceae
2	Samatsumodoki	<i>Tricholomopsis rutilans</i>	Tricholomataceae
3	Kunugitake	<i>Mycena galericulata</i>	Tricholomataceae
4	Sakuratake	<i>Mycena pura</i>	Tricholomataceae
5	Chishiotake	<i>Mycena haematopus</i>	Tricholomataceae
6	Naratake	<i>Armillariella mellea</i>	Tricholomataceae
7	Sugihiratake	<i>Pleurocybella porrigens</i>	Tricholomataceae
8	Hoteishimeji	<i>Clitocybe clavipes</i>	Tricholomataceae
9	Kayatake	<i>Clitocybe infundibuliformis</i>	Tricholomataceae
10	Tsukiyotake	<i>Lampteromyces japonicus</i>	Tricholomataceae
11	Mukitake	<i>Hohenbuehelia serotina</i>	Tricholomataceae
12	Shiitake	<i>Lentinus edodes</i>	Tricholomataceae
13	Dokutsurutake	<i>Amanita virosa</i>	Amanitaceae
14	Tamagotengutake	<i>Amanita phalloides</i>	Amanitaceae
15	Tamagotake	<i>Amanita caesarea</i>	Amanitaceae
16	Watakarakasatake	<i>Lepiota clypeolaria</i>	Agaricaceae
17	Hitoyotake	<i>Coprinus atramentarius</i>	Coprinaceae
18	Nigakuritake	<i>Naematoloma fasciculare</i>	Strophariaceae
19	Tyanametsumutake	<i>Pholiota lubrica</i>	Strophariaceae
20	Numerisugitakemodoki	<i>Pholiota aurivella</i>	Strophariaceae
21	Moegitake	<i>Stropharia aeruginosa</i>	Strophariaceae
22	Kokintake	<i>Cortinarius croceoconus</i>	Cortinariaceae
23	Fujiitakemodoki	<i>Cortinarius variicolor</i>	Cortinariaceae
24	Ookinuhadatoyamatake	<i>Inocybe fastigiata</i>	Cortinariaceae
25	Kusaurabenitake	<i>Rhodophyllus rhodopolius</i>	Rhodophyllaceae
26	Urabenihoteishimeji	<i>Rhodophyllus crassipes</i>	Rhodophyllaceae
27	Akamomitake	<i>Lactarius deliciosus</i>	Russulaceae
28	Kihatsudake	<i>Lactarius flavidulus</i>	Russulaceae
29	Tsuchikaburi	<i>Lactarius piperatus</i>	Russulaceae
30	Dokubenitake	<i>Russulaceae emetica</i>	Russulaceae
31	Yaburebenitake	<i>Russulaceae lepida</i>	Russulaceae
32	Usutake	<i>Cantharellus floccosus</i>	Cantharellaceae
33	Kanoshita	<i>Hydnum repandum</i>	Hydnaceae sensu lato
34	Bunaharitake	<i>Creolophus spathulatus</i>	Hydnaceae sensu lato
35	Ashigurotake	<i>Polyporellus picipes</i>	Polyporaceae
36	Hokoritake	<i>Lycoperdon gemmatum</i>	

1, 2, 10, 14, 18 and 25 : poisonous mushrooms.

Fig. 1 に示す pI マーカーのデンストメトリーのチャートにより, Fig. 2 に示す泳動プレートの pH 勾配のカーブを作製した. これを標準として各キノコ種の蛋白質バンドのなかより, 普遍的に存在する比較的大きなピーク及びそのキノコに特徴的なピークを 5—10 本程度選定し, 等電点 (pI) 及びピークの高さの比率 (R.P.H.; relative peak height) を数値化した.

実験結果及び考察

1. 子実体の部位による泳動パターンの差異

食中毒事例等でキノコの種判別が必要になった場合, 未調理で残存しているものが原形を留めていなかったり, 茎部分のみであることも考えられる. そこで傘と茎の泳動パターンの差をドクツルタケ, カキシメジ及びニガクリタケの 3 種類の毒キノコを用いて比較した結果を Fig. 3 に示す. なお, pI 6.25 付近にみられる蛋白質バンドのようなものは, ろ紙片をゲル上において電気泳動した際, 酸性側にできたゲ

Fig. 1. Densitometric Pattern of Isoelectric Focusing of pI Marker

Numbers above peaks indicate pI values.

Fig. 3. Isoelectric Focusing Patterns of Water Soluble Proteins from Caps and Stems of Mushrooms

M: pI marker.

13C: cap of Dokutsurutake, 13S: stem of Dokutsurutake, 1C: cap of Kakishimeji, 1S: stem of Kakishimeji, 18C: cap of Nigakuritake, 18S: stem of Nigakuritake.

The band-like lines indicated with an arrow are the artifacts described in the text.

ルの傷であり、以後のデータも含めて判定から除いた。3種の毒キノコの泳動パターンには、明確な種特異性が認められた。それぞれのキノコの傘部分と茎部分を比較すると、ドクツルタケとニガクリタケにおいては、茎の蛋白質バンドが傘にくらべてうすくなるものが若干認められたほかは、同等な泳動パターンであった。カキシメジでは、傘と茎の泳動

Fig. 2. pH Gradient of Polyacrylamide Gel

パターンに差はみられなかった。

以上の結果より、傘と茎の泳動パターンを比較すると茎で一部の蛋白質バンドがうすくなるキノコ種があるが、他の蛋白質バンドを比較することにより、キノコ種の判別は可能であった。

2. 同一種内における泳動パターンの差異

キノコ種の判別のためには等電点電気泳動パターンにおける種内変異の有無の確認が必要である。そこで富士山麓周辺にて採取された約200個体のアカモミタケをモデルに選び、それより10個体を無作為に抽出し、その傘部分を用いて、水溶性蛋白質の等電点電気泳動パターンを調べた結果をFig. 4に示す。アカモミタケの泳動パターンは、pI 4.5–6.5の範囲でそれぞれの蛋白質バンドがすべての個体で共通にみられた。これらの蛋白質バンドを使用することによりアカモミタケの判別は十分可能であった。

3. 水溶性蛋白質の加熱変性による等電点電気泳動パターンの変化

ドクツルタケの傘部分の水溶性蛋白質抽出液を、30, 40, 50, 60, 70, 80, 90及び100°Cにそれぞれ10分間放置し、泳動パターンの変化を調べた結果をFig. 5に示す。蛋白質バンドは、60°Cを超す加熱処理により急激に減少し、80°C以上ではpI 4.75及び5.10の薄い蛋白質バンドしか残存しなかった。

4. 水溶性蛋白質の等電点電気泳動パターンの数値化

富士山麓周辺等にて採取し凍結保存したキノコ36種の傘部分より抽出した水溶性蛋白質の等電点電気泳動より得られた主な蛋白質バンドについて、pIとR.P.H.を数値化した結果をTable IIに示す。

Fig. 4. Comparison of Intra-Species Difference of Isoelectric Focusing Patterns of Water-Soluble Proteins from 10 Akamomitakes

M: pI marker.

1-10: Akamomitake.

The band-like lines indicated with an arrow are the artifacts described in the text.

Fig. 5. Isoelectric Focusing Patterns of Water-Soluble Proteins after Heating

Mushroom species: Dokutsurutake.

Heating condition: 1 30 °C, 2 40 °C, 3 50 °C, 4 60 °C, 5 70 °C, 6 80 °C, 7 90 °C and 8 100 °C, for 10 min.

M: pI marker.

The band-like lines indicated with an arrow are the artifacts described in the text.

なお数値化を行う際、ゲル上についたろ紙片の傷による pI 6.25 付近の蛋白質バンド様のものは数値化操作から除外した。キノコでは全般的に弱酸性部分

に出現する蛋白質バンドが多かったが、それぞれのキノコ種の違いにより各蛋白質バンドのピークの pI 及び R.P.H. に特異性が認められ、Table II の数値化表を使用したキノコ種の判別が可能であった。なお本数値化表によりキノコ種の検索を行う場合、R.P.H. が 100 ないし 100 に近い濃い蛋白質バンドの pI が合致するものを探し、その後薄い蛋白質バンドの pI が合うことを確認するのが便利であった。また今後キノコによる食中毒が発生した場合、キノコが比較的鮮度のよい状態で残存し、本数値化表にあるキノコ種であれば、食中毒原因キノコの水溶性蛋白質の等電点電気泳動パターンを数値化することにより、標準となるキノコを手元に保存していない場合であっても、本数値化表を検索することによりその種判別は可能と思われる。本法は形態学的鑑定とともに、その種判別の一手法として役立つものと期待される。

5. クサウラベニタケによる食中毒事例への本法の応用

1987 年 10 月 8 日、沼津市大平山にて採取したイッポンシメジ属のウラベニホテイシメジと思われるキノコを摂食した 2 名が、30 分後激しい嘔吐、下痢、腹痛等の胃腸障害を起こし、毒キノコによる食中毒と診断されたので、そのキノコ種の鑑別に本法

TABLE II. Numerical Values of Isoelectric Focusing Patterns of Water-Soluble Proteins from 36 Mushroom Species on pH Gradient (3.5—9.5) Polyacrylamide Gel

Sample No.	Japanese name of mushroom species		Numerical values of isoelectric focusing patterns									
1	Kakishimeji	pI	4.10	4.55	4.75	5.10	5.15	5.30	6.35	6.40		
		R.P.H.	23	46	46	100	96	81	27	23		
2	Samatsumodoki	pI	4.65	4.80	4.85	5.15	5.40	5.50	5.70			
		R.P.H.	77	57	60	100	57	37	20			
3	Kunugitake	pI	3.95	4.05	4.30	4.40	4.60	4.75	4.90	5.00	5.50	5.85
		R.P.H.	100	47	17	53	30	35	37	88	28	16
4	Sakuratake	pI	4.40	4.45	4.50	4.65	4.75	4.90	5.10	5.65	7.00	
		R.P.H.	24	47	10	58	15	14	24	10	100	
5	Chishiotake	pI	4.55	4.60	4.80	5.05	5.20	5.30	5.50			
		R.P.H.	50	59	29	100	41	24	26			
6	Naratake	pI	4.15	4.35	4.60	4.80	5.00	5.60	9.25			
		R.P.H.	100	28	39	22	67	72	28			
7	Sugihiratake	pI	4.50	4.70	4.80	5.15	5.25	5.35	5.45	5.70	5.90	5.95 6.10
		R.P.H.	100	15	12	20	18	12	12	12	11	12 64
8	Hoteishimeji	pI	4.55	4.70	4.85	5.00	5.05	5.25	5.40	5.60	5.65	6.30
		R.P.H.	45	100	39	68	80	45	66	48	41	48
9	Kayatake	pI	4.35	4.55	4.75	5.50	6.30	6.35	6.50	9.15		
		R.P.H.	30	100	26	18	33	35	15	26		
10	Tsukiyotake	pI	3.50	3.70	4.85	4.95	5.15	5.45	5.75	7.70		
		R.P.H.	55	100	38	41	71	47	64	17		
11	Mukitake	pI	4.30	4.50	4.85	4.90	5.15					
		R.P.H.	77	54	77	77	100					
12	Shiitake	pI	3.50	4.45	4.90	5.20	6.90					
		R.P.H.	22	100	16	24	36					
13	Dokutsurutake	pI	4.75	4.90	5.45	5.60	5.80	5.95	6.50	6.65	6.75	9.35
		R.P.H.	25	100	37	16	20	17	45	21	28	21
14	Tamagotengutake	pI	4.50	4.60	5.00	5.20	5.55	5.95	6.55	7.15	7.20	8.45 8.65
		R.P.H.	16	34	70	34	74	20	100	37	29	22 16
15	Tamagotake	pI	4.35	4.55	4.70	5.10	5.30					
		R.P.H.	69	100	68	60	41					
16	Watakarakasatake	pI	4.60	4.75	4.80	4.90	5.25	5.50	5.55	5.60	5.90	7.85
		R.P.H.	64	50	50	39	82	75	36	39	100	86
17	Hitoyotake	pI	3.80	4.25	4.75	5.20	5.65					
		R.P.H.	14	12	100	24	36					
18	Nigakuritake	pI	4.65	4.80	4.90	5.60	6.40	8.15	8.70			
		R.P.H.	56	67	100	41	37	48	26			
19	Tyanametsumutake	pI	5.15	5.20	5.35	5.70	7.20					
		R.P.H.	100	85	64	44	44					
20	Numerisugitakemodoki	pI	4.65	4.80	5.25	5.30	5.65	7.25				
		R.P.H.	18	31	13	21	100	40				
21	Moegitake	pI	4.75	5.15	5.30							
		R.P.H.	100	53	28							
22	Kokintake	pI	4.10	4.50	4.60	4.85	5.15	5.25	5.60	5.75		
		R.P.H.	29	5	7	20	100	9	8	49		
23	Fujiiratakemodoki	pI	4.60	4.80	4.85	5.10	5.20	5.30	5.60	6.20	6.50	
		R.P.H.	100	91	68	45	50	27	25	25	23	
24	Ookinuhadatoyamatake	pI	4.60	4.75	5.05	5.25	5.55	5.60	5.65	5.80	6.05	6.85
		R.P.H.	80	90	75	45	85	100	70	45	45	20
25	Kusaurabenitake	pI	3.80	4.75	4.95	5.20	5.30	5.40	8.65	9.00		
		R.P.H.	56	44	100	88	52	64	48	20		
26	Urabenihoteishimeji	pI	4.60	5.85	5.15	5.50	5.60	5.85	5.95			
		R.P.H.	35	38	100	31	46	38	27			

27	Akamomitake	pI	4.50	4.55	4.75	4.90	5.10	5.20	5.30	5.55	5.70	6.60
		R.P.H.	92	80	88	28	68	76	40	100	52	56
28	Kihatsudake	pI	4.55	4.70	5.10	5.50	6.85					
		R.P.H.	100	12	79	13	10					
29	Tsuchikaburi	pI	4.15	4.25	4.30	4.45	4.70	4.85	4.95	8.70	8.85	
		R.P.H.	17	5	100	38	4	11	13	5	4	
30	Dokubenitake	pI	4.80	5.70	5.85	6.05	6.10	7.60				
		R.P.H.	75	100	44	25	31	25				
31	Yaburebenitake	pI	4.35	4.65	4.80	5.15	5.35	5.50	5.55	7.05	7.20	
		R.P.H.	27	25	100	20	30	63	87	37	22	
32	Usutake	pI	4.20	4.50	4.65	4.80	5.00	9.30				
		R.P.H.	21	100	42	26	21	42				
33	Kanoshita	pI	3.55	4.65	5.10	9.35						
		R.P.H.	100	83	92	33						
34	Bunaharitake	pI	4.10	4.25	4.55	4.75						
		R.P.H.	30	34	100	72						
35	Ashigurotake	pI	4.60	4.85	5.05	5.25	5.55					
		R.P.H.	30	100	30	20	20					
36	Hokoritake	pI	3.55	4.35	4.55	4.80	5.05	5.15	5.30	5.50	5.55	5.60
		R.P.H.	10	16	47	44	81	100	47	58	70	47
												12

Sample numbers correspond those in TABLE I.

R.P.H.: relative peak height (maximum peak height=100)

Fig. 6. Densitometric Patterns of Isoelectric Focusing of Water-Soluble Proteins from Kusaurabenitake and Urabenihoteishimeji

M: pI marker.

K: Kusaurabenitake.

U: Urabenihoteishimeji.

Numbers above peaks indicate pI values.

The peaks indicated with an arrow are the artifacts described in the text.

の応用を試みた。

等電点電気泳動分析に先だて、まず形態学的調査を行った。食中毒患者宅に残存していた未調理のキノコを外部形態により調べたところ、大半がウラベニホテイシメジであったが、非常によく似た同属のクサウラベニタケと思われるキノコが混入していた。

ついでマウス (ddY 系, 雄, 約 20 g) を用いて毒

性実験を行った。原因となったキノコのメタノール抽出エキス (5 g 相当量) の腹腔内投与によって調べた結果、ウラベニホテイシメジでは毒性を示さなかったが、クサウラベニタケと思われるキノコは5—6分でマウスが死亡した。

呈色反応によるキノコの鑑別⁴⁾ 結果では、ウラベニホテイシメジはグアヤクチンキで反応なく、硫酸バニリン溶液で赤紫色となった。しかしクサウラベ

ニタケと思われるキノコは、クサウラベニタケ特有の呈色反応を示さず同定できなかった。

そこで等電点電気泳動法を適用した結果、Fig. 6に示したとおり両キノコは明らかに異なった泳動パターンを示した。クサウラベニタケは酸性側のpI 3.80とアルカリ性側のpI 8.65, 9.00に特徴的な蛋白質バンドがあり、更にpI 4-6のバンドも異なっており、ウラベニホテイシメジと明確に判別できた。

以上により、呈色試験では明確な判別はできなかったものの、形態学的判別、毒性実験及び等電点電気泳動法による判別結果より、今回の食中毒事例はウラベニホテイシメジに混入していたクサウラベニタケが原因であったと判断された。なお、クサウラベニタケ及びウラベニホテイシメジの蛋白質バンドについて数値化した値をTable IIに示した。

ま と め

有毒魚等の判別に有効であった等電点電気泳動法をキノコ種の判別に応用し、キノコ類（採取後、凍結保存したもの）の水溶性蛋白質の等電点電気泳動パターンを数値化してキノコ種を判別することを試みた。

3種の毒キノコの傘部分について等電点電気泳動パターンをみたところ、明確な種特異性が認められ

た。またそれぞれのキノコについて傘部分と茎部分の等電点電気泳動パターンを比較したところ、茎で一部の蛋白質バンドがうすくなるものの傘と茎ではほぼ同等の泳動パターンであり、どちらを用いても種判別が可能であった。

アカモミタケを用いて同一種内における等電点電気泳動パターンの個体差を見たところ、pI 4.5-6.5の範囲でそれぞれの蛋白質バンドが共通にみられ、これらの蛋白質バンドとの照合により、アカモミタケとしての同定が可能であった。

ドクツルタケを用いて水溶性蛋白質の加熱変性による等電点電気泳動パターンの変化をみたところ、60°C以上で蛋白質バンド数が急激に減少し、高温では2本程度となった。

36種のキノコについて等電点電気泳動パターンのpIとR.P.H. (relative peak height) について数値化を行ったところ、それぞれのキノコ種について種特異性が認められ、数値化表を用いることにより、これらのキノコ種の判別が可能なが示唆された。

クサウラベニタケによる食中毒事例に等電点電気泳動法を応用したところ、外部形態のよく似たウラベニホテイシメジと明確に判別でき、食中毒原因キノコを特定できた。

引 用 文 献

- 1) 今関六也, 本郷次雄, “原色日本菌類図鑑,” 保育社, 大阪, 1957, p. 1.
- 2) 今関六也, “野外ハンドブック・3, きのこと,” 山と溪谷社, 東京, 1982, pp.239-241.
- 3) 今関六也, 本郷次雄, “原色日本菌類図鑑,” 保育社, 大阪, 1957, pp.152-159.
- 4) 大木正行, 吉川 進, 三浦則夫, 山浦由郎, 食品衛生研究, **36**, 95 (1986).
- 5) 今関六也, “山の幸,” 山と溪谷社, 東京, 1983, p.202.
- 6) 今関六也, 本郷次雄, “原色日本菌類図鑑,” 保育社, 大阪, 1978, pp.186-198.
- 7) 今関六也, “野外ハンドブック・3, きのこと,” 山と溪谷社, 東京, 1982, pp.223-230.
- 8) 落合芳博, 渡部終五, 橋本周久, 成田弘子, 浮島美之, 奈良正人, 日水誌, **50**, 721 (1984).
- 9) 浮島美之, 成田弘子, 増井俊夫, 奈良正人, 衛生化学, **30**, 189 (1984).
- 10) 浮島美之, 成田弘子, 増井俊夫, 松原壮六郎, 岡田昌二, 衛生化学, **32**, 176 (1986).