- Eur. J. Pharmacol.*, 56, 81 (1979)
- 10) Beck, O. and Holmstedt, B.: *Food Cosmet. Toxicol.*, 19, 173 (1981)
 - 11) Barker, S.A., Harrison, R.E.W., Monti, J.A., Brown, G.B. and Christian, S.T.: *Biochem. Pharmacol.*, 30, 9 (1981)
 - 12) 龍居 五郎: 薬誌, 48, 453 (1928)
 - 13) Akabori, S. and Saito, K.: *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* 63, 2245 (1930)
 - 14) 原 昌道: 食の科学, 36, 96 (1977)
 - 15) 佐藤 信, 蓼沼 誠, 高橋康次郎, 中村訓男: 日本醸造協会雑誌, 70, 821 (1975)
 - 16) Takase, S. and Murakami, H.: *Agric. Biol. Chem.*, 30, 869 (1966)
 - 17) Subden, R.E., Krizus, A. and Rancourt, D.: *Food Chem. Toxicol.*, 22, 309 (1984)
 - 18) Whaley, W.M. and Govindachari, T.R.: *Org. React.*, 6, 151 (1951)
 - 19) Takase, S. and Murakami, H.: *Agric. Biol. Chem.*, 31, 142 (1967)
- (昭和60年1月11日受理)

哺乳動物, 魚類および海産無脊椎動物 筋肉における AMP deaminase と Adenosine deaminase 活性の分布

藤 沢 和 恵*, 吉 野 昌 孝**

* 中京女子大学家政学部

** 横浜市立大学医学部生化学教室

Distribution of AMP Deaminase and Adenosine Deaminase in Muscle of Mammals, Fish, Molluscs and Crustaceans

Kazue FUJISAWA* and Masataka YOSHINO**

*Faculty of Home Economics, Chukyo Women's
University, Ōbu, 474

**Department of Biochemistry, Yokohama
City University School of Medicine,
Yokohama, 232

Nippon Eiyō Shokuryō Gakkaishi (*J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci.*) 38, 322~326 (1985)

Accumulation of IMP, one of the important taste substances, is accompanied by the decrease in adenine nucleotides in muscles at the stage of rigor mortis. Muscle ATP is dephosphorylated to ADP and further to AMP, which can be converted to IMP by the action of AMP deaminase. In this paper the distribution of AMP deaminase, which acts as a regulatory enzyme in the adenylate degradation to form IMP, was examined and the levels of AMP deaminase activity was compared to those of adenosine deaminase activity. Possible pathways of adenylate degradation are discussed in various vertebrate and invertebrate muscles.

A remarkably higher activity of AMP de-

aminase and a marked lower activity of adenosine deaminase were observed in muscles of a variety of vertebrates. In contrast to vertebrates, cephalopods in invertebrates showed a marked higher adenosine deaminase activity with lower activity of AMP deaminase. Negligible deaminating activity toward AMP and adenosine was observed in the muscles of some invertebrates including crustaceans, gastropods and bivalves.

A close correlation of the IMP content with flavor has been demonstrated in vertebrate meats, and the higher enzymatic activity of AMP deamination will contribute to the IMP content of vertebrates. However, lower activity of AMP deaminase will not contribute to the IMP content of invertebrate muscles. Little or no degradation of adenine nucleotides and nucleosides in crustaceans, gastropods and bivalves was in accord with the stable pool of adenylates during storage of these muscles. Higher activity of adenosine deaminase with a lower AMP deaminase activity suggests that adenine nucleotides degrade via the dephosphorylation followed by deamination.

(Received January 28, 1985)

動物筋肉中 ATP は死後硬直とともに急激に減少し, ADP さらに AMP へと脱リン酸反応が行なわれる。脊椎動物筋肉においては増加した AMP が AMP deaminase [EC 3.4.5.6] の作用により, IMP を生成する¹⁾。IMP (イノシン酸) は, 鰹節のだしなどに多い旨味成分の一つとして知られている。AMP の分解経路には 5'-Nucleotidase [EC 3.1.3.5] により脱リン酸され, 次いで生じた Adenosine が Adenosine deaminase [3.5.4.4] の作用により脱アミノされ, イノシンを生成するルートがある²⁾。貯蔵中におけるヌクレオチド, ヌクレオシド量の変化からイカ, エビ類ではこの径路が主であろうと推測されている³⁾。

AMP deaminase は, ほとんどすべての動物⁴⁾, さらに植物^{5,6)}, 酵母⁷⁾ にも分布しており, Adenosine

* 〒474 大府市横根町名高山 55

** 〒232 横浜市南区浦舟町 2-33

表1. 哺乳動物の AMP および Adenosine deaminase 活性

		Deaminase ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}$ wet wt.)	
		AMP	Adenosine
牛	ロース	34.7	0.8
	ラ ン	42.7	0.7
	バラ	41.5	2.1
	モモ	29.7	0.6
羊	ロース	48.6	0
	バラ	31.2	0
	モモ	34.2	0
	スネ	13.5	0
馬	ロース	10.1	0.2
	バラ	9.3	0
	マル	15.1	0.8
	スネ	7.7	0
豚	ロース	10.8	0.1
	バラ	11.4	0.2
	スネ	7.2	0.1

deaminase も植物を除き、すべての動物に見いだされているが⁴⁾、これらの活性を同一条件で比較した報告は見当たらず、脊椎動物以外では少数の甲殻類、貝類に限られる³⁾。また、AMP deaminase は条件によって大きく失活し、SH 試薬などの安定化剤を添加した抽出条件によらなければ信頼しうる比活性を求めることができず⁴⁾、従来の多くの報告に問題がある。本稿は哺乳動物、魚貝類およびイカ類の筋肉組織における AMP deaminase の分布を調べ、同時にアンモニア生成系としての Adenosine deaminase 活性とを比較した結果について報告する。

実験方法

1. 実験材料

獣肉は専門店に依頼し新鮮肉を入手した。魚貝類は市販鮮魚を用いた。

2. 酵素液の調製

細切した試料に 10 倍量の 0.1% メルカプトエタノールを含む 20 mM リン酸緩衝液 (pH 7.1) を加え、氷冷下においてワーリングブレンダーで 3 分間ホモジナイズした後、ガーゼで濾過し、酵素液とした。

3. 酵素活性の測定

1) AMP deaminase 活性 反応液は 5 mM AMP, 5 mM ATP, 20 mM リン酸緩衝液 (pH 7.1), 0.1% メルカプトエタノールを含む全量 0.5 ml の反応液を用い

表2. 魚類の AMP および Adenosine deaminase 活性

		Deaminase ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}$ wet wt.)	
		AMP	Adenosine
アカウオ		52.3	0.2
	イサキ	28.3	0
	クロダイ	21.6	0
	コノシロ	45.0	0
サンマ		35.0	0
	スズキ	15.4	0.1
	ハマチ	32.5	0
	ボラ	15.7	0.2
マアジ		12.9	0.7
	マイワシ	7.3	0.3
	マガツオ	16.7	0.8
	マガレイ	12.6	0.8
マグロ		9.6	0.7
	マサバ	28.2	0.9
	メバル	51.1	0.8
	アユ	28.0	0
コイ		6.6	0.9
	サケ	27.3	0.5
	ニシン	9.7	0
	ニジマス	38.2	0
フナ		10.6	0.6
	ワカサギ	24.6	1.6

て行なった。活性測定は希釈した酵素液 0.25 ml の添加により開始した。37°C, 10 分間のインキュベーションのち、生成するアンモニアをインドフェノール法を用いて測定した⁸⁾。酵素活性は、グラム湿重量当たり 1 分間に生成するアンモニアの μmol で表わした。

2) Adenosine deaminase 活性 2 mM Adenosine, 20 mM リン酸緩衝液 (pH 7.1) を含む 0.5 ml の反応液を用いた。反応は AMP deaminase の場合と同様に 0.25 ml の希釈組織抽出液の添加により行ない、生成したアンモニアを定量した。

実験結果

1. 哺乳動物

各種獣類の筋肉組織における AMP deaminase および Adenosine deaminase の分布を表 1 に示す。筋肉の AMP deaminase 活性は部位により多少差が見られるが非常に高く、一般的に美味な肉として評価の高い背ロー

表3. 甲殻類の AMP および Adenosine deaminase 活性

	Deaminase ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}$ wet wt.)	
	AMP	Adenosine
アマエビ	0.2	0.2
クルマエビ	0.8	0.4
タイショウエビ	0.3	0.2
ズワイガニ	0.1	0.1
トラバガニ	0.1	0.1
ワタリガニ	0.1	0.1
シ ャ コ	0.1	0.1

表4. 貝類の AMP および Adenosine deaminase 活性

	Deaminase ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}$ wet wt.)	
	AMP	Adenosine
アカガイ	0.1	0.1
ア ワ ビ	0	0
エッチュウバイ	0.1	0
オオアサリ	0	0
カ キ	0	0
サ ザ エ	0	0
シ ジ ミ	0.1	0.2
ホタテガイ	0	0.5
ミルクイ	筋	0.1
	柱	0.3
	水 管	1.8

スやランおよび旨いだしのとれるバラは、他の部位より比較的高い AMP deaminase 活性を示した。一方筋肉の Adenosine deaminase 活性はいずれも AMP deaminase 活性より、はるかに低く、後者の 5~6% の値しか示さなかった。

2. 魚 類

魚類の筋肉組織における AMP deaminase および Adenosine deaminase の分布を表2に示す。AMP deaminase 活性は種により差が著しいものの、一般に高い活性を示した。海水魚と淡水魚では、とくに差異を認めえなかった。一方、Adenosine deaminase 活性は AMP deaminase 活性に比較してきわめて低く、いずれも 1/10 以下であった。

表5. イカ類の AMP および Adenosine deaminase 活性

	Deaminase ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}$ wet wt.)	
	AMP	Adenosine
ケンサキイカ	0.5	18.4
スルメイカ	0.6	24.8
ホタルイカ	0.2	15.8
マツイカ	0.9	26.8
モンゴイカ	0	11.5
ヤリイカ	0.7	18.9

3. 甲 殻 類

甲殻類の筋肉組織における AMP deaminase および Adenosine deaminase の分布を表3に示す。哺乳動物、魚類の筋肉組織に比べて AMP deaminase 活性はエビ、カニ、シヤコのいずれも非常に低い値を示した。Adenosine deaminase 活性は哺乳動物、魚類と大差を認めないため、AMP deaminase/Adenosine deaminase の比が1~2の値にあることが特徴的である。

4. 貝 類

表4に貝類の筋肉組織における AMP deaminase および Adenosine deaminase の分布を示す。両酵素活性とも哺乳動物、魚類さらに甲殻類と比較しても低い値を示し、きわめて低いアデニンヌクレオチド分解能を示唆した。しかしながらミルクイ水管のみは筋、貝柱の部位に比較すると20倍以上の AMP deaminase 活性を有し、食用部位と密接な関連をもっている。

5. イ カ 類

イカ類の AMP deaminase および Adenosine deaminase の分布を表5に示す。イカ類の AMP deaminase 活性はきわめて低値であり、この点甲殻類に類似する。しかし、Adenosine deaminase 活性は他の動物筋肉組織と比較しても非常に高く、AMP deaminase 活性の10~20倍以上の活性値を示した。

考 察

近年、魚肉や動物筋肉について IMP の含有量を測定し、呈味効果との関連が研究されている。Jones and Murray は魚類筋肉における ATP とその分解産物の含有量について検討し、死後時間の経過とともに ATP の分解が見られ、IMP の含有量が蓄積されることを明らかにしている⁹⁾。寺崎らは畜肉中のヌクレオチドの変化について検討し、IMP 含有量のピーク時の肉は風味がよくなり、IMP が肉の味に重要な関係をもつことを報

図1. 各種動物筋肉における AMP deaminase と Adenosine deaminase 活性の関係

告している¹⁰⁾。旨味成分としての IMP はアデニンヌクレオチドの分解に伴い、AMP deaminase の作用を受けて生成するが、この酵素は比較的不安定であり、安定化のために SH 試薬を必要とし⁴⁾、従来のいくつかの報告でみられるような条件、すなわち、SH 試薬などを加えない状態で組織をホモジナイズすることにより、1/5～1/10 に活性が減少する¹¹⁾。したがって本報に報告したような安定化させた条件で、本酵素活性を比較することは IMP 生成能を考慮するうえで重要と思われる。

今回、測定を行なった獣肉および魚肉においては AMP deaminase 活性が高く、とくに食肉として有用な部分は AMP deaminase 活性、すなわち IMP 生成能が高いことは本酵素活性が IMP 蓄積に大きく寄与していることを示している。一方、海産無脊椎動物においては従来より、アデニンヌクレオチド分解の主経路は AMP→Adenosine→Inosine と流れるルートが推定されているが¹³⁾、貝類および甲殻類では、ミルクイの水管をのぞいて AMP deaminase 活性を欠損しているか、あるいは著しく低いのでアデニンヌクレオチドの分解による IMP の生成量はきわめて少ないことが認められた。貝類のなかでは食用として有効なミルクイの水管のみは AMP deaminase 活性が高いことは興味深い。エビ、カニ筋肉を 0～5℃ で一定期間貯蔵した場合少量であるが IMP の生成が認められている¹²⁾。これらの筋肉には低い AMP deaminase 活性が見いだされたが、魚肉などと比較してその意義は小さいと考えられている^{13)～15)}。しかしながら、同じ海産動物であっても、イカ類では AMP deaminase 活性が低いのにに対して、Adenosine deaminase 活性は高く、いずれも AMP deaminase の 10 倍以上の活性を示すことが特徴的である。イカの筋肉では IMP 生成能は低いが、ヌクレオチドからのアンモニア生成能は非常に高く、アデニンヌクレオチドは Adenosine を経由して Inosine に至る分解

経路が主であろうと推定される。

AMP deaminase 活性と従来報告されている一定期間貯蔵後の食肉中の IMP 含量とはよく一致しており、筋肉中 IMP の生成能は AMP deaminase 活性の高さとその分布が最も重要な因子であると考えられる。とくに、獣肉と魚肉は AMP deaminase 活性が高く、貯蔵により IMP が生成し、大量に蓄積することが推測される。一方、海産無脊椎動物筋肉は AMP deaminase 活性が非常に低いため、旨味成分としての IMP 生成能が低い、頭足類のイカにおいては Adenosine deaminase 活性が高く、アンモニア生成能は高いので、組織中のアンモニア含量の測定により食品の新鮮度を判定する場合には注意を要する。これらの組織ではヌクレオチドの分解の形式が魚類とは異なっており、鮮度判定には Adenosine deaminase の作用により生成したアンモニア量の検討を必要とする。

要 約

食用に利用される各種動物筋肉中の AMP deaminase と Adenosine deaminase 活性の分布を検討し、IMP 生成能との関係を考察した。

1) AMP deaminase のきわめて高い活性と Adenosine deaminase 活性の低いグループには、脊椎動物の筋肉が属する。

2) AMP deaminase および Adenosine deaminase 活性とも低いグループには、無脊椎動物甲殻類のエビ、カニと弁鰐類の貝などが属する。

3) Adenosine deaminase 活性が高く、AMP deaminase 活性のきわめて低いグループには、無脊椎動物頭足綱のイカが属する。

第一のグループでは IMP 生成能が高く、旨味成分 IMP の蓄積が期待される。一方、第二および第三のグループでは IMP の生成能は非常に低いため、旨味成分としての IMP の関与は少ないと考えられるが、ヌクレオチド分解の形式も異なることが示唆された。

文 献

- 1) Henderson, J. F. and Paterson, A. R. P.: Nucleotide Metabolism, An Introduction, 136 (1973), Academic Press (New York)
- 2) Henderson, J. F. and Paterson, A. R. P.: Nucleotide Metabolism, An Introduction, 152 (1973), Academic Press (New York)
- 3) 新井健一: 日水誌, 32, 174 (1966)
- 4) Zielke, C.L. and Suelter, C.H.: The Enzymes, Vol. 4 (Boyer, P.D., ed.), 3rd Ed., 47(1971), Academic Press (New York)
- 5) Turner, D.H. and Tuner, J.F.: Biochem. J., 79, 143 (1961)
- 6) Yoshino, M. and Murakami, K.: Z. Pflanzenphysiol., 99, 331 (1980)

- 7) Yoshino, M., Murakami, K. and Tsushima, K. : *Biochim. Biophys. Acta*, **570**, 157 (1979)
- 8) Chaney, A.L. and Marbach, E.P. : *Clin. Chem.*, **8**, 130 (1962)
- 9) Jones, N.R. and Murray, J. : *J. Sci. Food Agric.*, **15**, 684 (1964)
- 10) Terasaki, M., Kajikawa, M., Fujita, E. and Ishii, K. : *Agric. Biol. Chem.*, **29**, 208 (1965)
- 11) Tsai, R., Cassens, R.G., Brinskey, E.J. and Greaser, M.L. : *J. Food Sci.*, **37**, 612 (1972)
- 12) 斎藤恒行 : 日水誌, **27**, 461 (1961)
- 13) Groninger, H.S. and Brandt, K.R. : *J. Milk Food Technol.*, **22**, 1 (1969)
- 14) Stone, F.E. : *J. Food Sci.*, **35**, 565 (1970)
- 15) Dingle, J.R. and Hines, J.A. : *Comp. Biochem. Physiol.*, **48 B**, 1 (1974)

(昭和 60 年 1 月 28 日受理)