セルローズアセテート電気泳動 による魚種判別*

大森秀聡**・天野慶之***

Species Identification of Fish by Zone Electrophoresis on Cellulose Acetate

HIDESATO OHMORI and KEISHI AMANO

Feasibility of zone electrophoretic method using cellulose acetate film as a supporting medium was examined for species differentiation of some commercially important fish in kinship each other, since a need has arisen for proving a case of mislabelling of fish, particularly in frozen forms. So far tested, cellulose acetate strips prepared by Courtaulds Limited of Conventry for Oxoid Ltd. gave a more satisfactory separation of soluble muscle protein than those of Separax. Procedure suggested in the present paper starts with one minute's blending of flesh portion of fish with equal volume of veronal buffer (pH 8.6, $I=0.05$), then centrifuge at 5,000 rpm after 30 minutes' extraction in a refrigerator at 5°C and supernatant thus obtained is subjected to the electrophoresis under a current of 0.6 mA/cm from 30 to 60 minutes. The zone development is made by staining each strip with 0.8% solution of Ponceau 3R for one minute with subsequent washing with 5% acetic acid for six minutes in order to remove unfixed dye on the strip. The species studied covered gurnard, yellowtail, mackerel, horse mackerel, plaice, cod, Alaska pollack, shrimps, and queen crab. Reproducible patterns from these examinations were considered to be employed to identify the species in question. Interesting finding to note was a close similarity in the patterns between two queen crabs, which have been regarded taxonomically different species.

(Received Jan. 17, 1972)

ゾーン電気泳動法は支持体の改良とともに広く利用され、とくに医学で血清タンパク質を中心に実用されてきた。近年、水産分野でも血液、肉色素、酵素などのタンパク質研究、魚種判別にも利用されている。

魚肉タンパク質のゾーン電気泳動分析技術としては、河紙¹⁾、寒天ゲル²⁾、デン粉ゲル³⁾、ポリアクリルアミド

ゲル⁴⁾を支持体を用いた研究があり、魚種判別に有用との報告がある。

このほかの支持体として、実技上、取扱いが簡便なセルローズアセテート膜があるが、これを用いた報告²⁾⁵⁾⁶⁾は少ない。その泳動像は、デン粉ゲルやポリアクリルアミドゲルほど、良好とはいえないが、種の判別に満足できるものであるならば産業的にも有用である。そこで本研究では、魚肉水溶性タンパク質を使って、使用セルローズ・アセテート膜の選択ならびに数魚種試料の泳動像の検討を行ない、魚種判別の可能性をみた。

1. 試料

兵庫県香住港に水揚げされた14魚種および4種類のエビ、カニを用い、個体数はマサバ7個体、マアジ6個体、ソウハチ6個体の泳動像をみた結果、個体差はなかったため、以後の試料は1魚種につき4乃至1個体とした。それらの普通肉を採り、ほぼ等量のペロナル緩衝液 (pH 8.6, $I=0.05$) を加え、1分間ホモジナイズ、30分間冷蔵庫 (5°C) 内で抽出、ついで 5,000 rpm で5分間遠心分離し、上澄液を試料とした。

2. 方法

商品名セバラックス、オキシイドの2種類のセルローズアセテート膜を用いた。泳動用緩衝液もペロナル緩衝液 (pH 8.6, $I=0.05$) を用い、通電は 0.6 mA/cm で30~60分間行なった。装置は常光産業・微量分析泳動装置 238型を使用。泳動後、0.8% ポンソー 3R液で1分間染色、のち5% サク酸で6分間脱色、これを常光産業・デンスイトロン SP型デンスイターで測定した。また、タンパク質濃度はエルマ臨床タンパク計、pHは日立・堀場 M-4型を使った。

3. セルローズ・アセテート膜の選択

セバラックスとオキシイドを用いて、同一試料を泳動させて分離能を比較した。魚種としてホウボウとマサバを選んだ。Fig. 1に明らかにようにオキシイドの分離能がよく、高濃度バンド中心部の不染がおこらず、さらに背景の脱色も良好であった。以後の実験はオキシイドを使用することとした。

4. 魚種別の電気泳動像

Fig. 2にホウボウとカナガシラの泳動像を示す。ホウボウは明瞭な3成分であるが、カナガシラは2主成分

* 本研究は昭和45年4月、日本水産学会年会で発表した

** 現在、兵庫県立水産試験場 (兵庫県香住町) へ

Fisheries Experimental Station of Hyogo Prefecture, Kasumi-cho, Hyogo Prefecture

*** 東海区水産研究所 (東京都中央区勝どき 5-1-1)

Tokai Regional Fisheries Research Laboratory, 5-5-1, Kachidoki, Chuo-ku, Tokyo.

Fig. 1. Densitograms of zone electrophoresis of veronal extracts of gurnard and mackerel in comparison of two cellulose acetate films of their capability of separation.

Fig. 2. Densitograms of zone electrophoresis of veronal extracts of gurnard (*Chelidonichthys kumu*), A, and another gurnard (*Lepidotrigla microptera*), B.

Fig. 3. Densitograms of zone electrophoresis of veronal extracts of yellowtail (*Seriola quinqueradiata*) A, mackerel (*Scomber japonicus*) B, and horse mackerel (*Trachurus japonicus*), C.

と痕跡程度の1成分がみられた。

赤身魚とされるハマチ、マサバ、マアジの泳動像をFig. 3に示す。3種とも2成分ないし4成分であった。

Fig. 4. Densitograms of zone electrophoresis of veronal extracts of plaice varieties, including *Limanda herzenstein*, A, *Glyptocephalus stelleri*, B, *Paralichthys olivaceus*, C, *Tanakius kitaharai*, D, *Cleisthenes pinetorum*, E, and *Hippoglossus stenolepis* (Kitsune-dara), F.

Fig. 5. Densitograms of zone electrophoresis of veronal extracts of cod (*Gadus macrocephalus*), A, Alaska pollack (*Theragra chalcogramma*), B, and *Lycenchelys poecilimon*, C.

Fig. 6. Densitograms of zone electrophoresis of veronal extracts of shrimps (*Pandalus borealis*, A and *Algis lar*, B) and queen crabs (*Chionoecetes opilio*, C and *Chionoecetes japonicus*, D)

ハマチは明瞭な2成分、マサバは第1ピークの前に肩を持つ2成分、マアジは明瞭な2成分の左右に、それぞれ低濃度の1成分を有していた。3種のあいだの泳動像の

差異は明らかである。

5. 近縁魚種の電気泳動像

Fig. 4 にカレイ、ヒラメ 類の泳動像を示す。それぞれ、数成分を示し、各魚種は特徴のあるパターンであった。Fig. 5 にタラ類の泳動像を示すが、マダラは明瞭な 2 成分、スケトウタラは明瞭な 2 成分と低濃度の 1 成分、キツネダラは明瞭な 1 成分と低濃度の 2 成分で、3 種の区別はつけられる。

6. カニエビの電気泳動像

Fig. 6 にカニ、エビ類の泳動像を掲げるが、陽極側に 1 成分を持つのが特徴である。ホッコクアカエビとクロザコエビとでは、陽極側の成分比にやや差がみられる。ズワイガニとベニズワイガニに差の見られないのは与味がある。両種のうちベニズワイガニの棲息深度が深いことは知られているが、分類学上は一応別種と見做されている。

以上のように、各魚種の泳動像は、それぞれ特徴があり、近縁種でも異なる泳動像を示すので、上記の方法で

の魚種判別は可能とおもわれる。ただし、生物学的要因がこれらの電気泳動像におよぼす影響については、別途検討を必要としよう。

電気泳動分析につき御助言をいただいた東海区水産研究所山中英明氏、大森が研究実施当時在職した香住高等学校、竹内亨校長、試料魚の魚種同定に御協力いただいた兵庫県立水産試験場小林敏男氏、名角辰郎氏、松田泰嗣氏に感謝します。

文 献

- 1) NIKKILA, O.E., LINKS, R.R.: *Biochem. J.*, **60**, 242 (1955).
 - 2) LEARSON, R.J.: Report of FAO (1969).
 - 3) TSUYUKI, H., ROBERTS, E., KERR, R.H.: *J. Fish. Res. Bd. Canada*, **24**, 299 (1967).
 - 4) 高橋豊雄: 昭和 45 年日本水産学会大会講演要旨, p. 12 (1970).
 - 5) 谷口順彦: 日本水産学会誌, **35**, 885 (1969).
 - 6) 谷口順彦: 日本水産学会誌, **36**, 173 (1970).
- (昭和 47 年 1 月 17 日受理)