魚類の肉質変化に関する生化学的研究—Ⅶ.*

Myosin A 及び B 区の ATP 添加による
粘度変化と超沈澱

斎藤 要・日高 富男

(鹿児島大学水産学部)

Studies on the Biochemical Change in Fish Muscle—VII.
On the Viscosity Change and Superprecipitation of the Myosin A
and B Fractions Caused by ATP Addition

Kaname SAITO and Tomio HIDAKA

In this experiment the authors prepared the protein fractions corresponding to myosin A and myosin B not only from several fishes but also from rabbit, and examined the viscosity change and superprecipitation these preparations showed on ATP addition. The results obtained are summarized as follows:

1) On addition of ATP, the myosin B fraction of rabbit and both myosin A and B fractions of fish showed a transient lowering in viscosity, which tells that these fractions have characteristics of actomyosin. On the other hand, no such viscosity change was observed in the pure myosin and the myosin A fraction of rabbit.

2) In the cases of the myosin B fraction of rabbit and myosin A and B fractions of fish, almost all the protein contained was found to be superprecipitated by addition of ATP, while in the myosin A fraction of rabbit, only ca. 40% of its protein content was superprecipitated.

3) In the myosin A fraction of rabbit a considerable amount of pure myosin was observed, while in the same fraction of fish, none was detectable.

These results would suggest that the myosin A fraction of fishes behaves to ATP like rabbit actomyosin.

一般に筋肉の myosin 区分は中性塩溶液による抽出時間によつて myosin A と myosin B とに区分され、家兎肉ではその短時間抽出物 myosin A は純 myosin を主成分とし長時間抽出物 myosin B は actomyosin が主成分であるとされている¹⁾。

著者等は前報²⁾³⁾において魚肉では myosin A 及び B 区ともに家兎肉の myosin B 区に類似した組成を有するものと考えたが、本報ではその推論の妥当性を確かめる意味で家兎肉と魚肉より myosin A 及び B 区を抽出精製し、各区分について ATP 添加による粘度変化と超沈澱現象について検討したところ、死後の魚肉より抽出した両区分は家兎肉の場合と異なり共に actomyosin が主成分であるとの見解を更に確め得たので、これに若干の考察を添えて報告する。

実験の部

実験材料: いずれも 1955 年 6 月～11 月の間に採捕したもので、淡水魚としてはコイ *Cyprinus carpio* LINNÉ, 海産魚としては鹿児島湾内で釣上げたマサバ *Scomber japonicus* (HOULTUYN) 及びマアジ *Trachurus*

1958 年 1 月 13 日受理

* 1956 年 4 月 日本水産学会年次大会 (東京) 発表

churus japonicus (TEMMINCK and SCHLEGEL), 更に対照として家兎を用いた。

myosin 区の調製法: myosin A 区及び B 区は ATP ase の活性の研究を同時に行うため前報²⁾⁴⁾同様直殺後の精肉より BAILEY 法に従い, また純 myosin 区は SZENT-GYÖRGYI 法に従つて抽出した。前報でも述べた如く本法では筋肉中の絶対量は求められない。従つて次記の各 myosin 区収量は同一条件で得られた見掛上の比較値と解すべきである。

実験結果及び考察

1. ATP 添加による粘度変化

Actomyosin の 0.5 M KCl 液に ATP を添加すれば粘度が急激に低下することは MOMMAERTS⁵⁾ によつて明らかにされたが, これは純 myosin に対する actomyosin の特性であつて粘度変化の測定によつて各 myosin 区における actomyosin 含有の有無を検討する事が出来る。なお SZENT-GYÖRGYI¹⁾ によれば actomyosin に ATP を加えて起るこの一過性の粘度低下は actin と myosin の解離に起因し, その反応系はある時間解離状態を保ち所謂 Lag phase を示す。その間 ATP は myosin-ATP ase により分解されて ATP 量は次第に減少し, その量がある限度以下になれば actin と myosin は再結合して粘度は再び上昇すると説明されている。

また actomyosin の粘度は KCl 濃度或いは温度の相異によつても変化することが知られているが⁶⁾, 本実験では筋肉から抽出精製した各 myosin 区を KCl: 0.5 Mol/L, NaHCO₃: 0.03 Mol/L, Protein-N: 80~100 mg % に調整し, この試料 10 cc に水 1 cc 加えたものを Ostwald 粘度計にとり 25°C にてその粘度を測り, 次に試料 10 cc に 0.25 % ATP 溶液 1 cc を添加して, その後の粘度変化を ATP 無添加の粘度を 100 とする百分率で求めたが, その結果は Fig. 1 及び Fig. 2 の如くである。

Fig. 1 に示す家兎肉より抽出した各 myosin 区の粘度変化では, myosin B 区のみが ATP 添加と同時にその粘度は急速に減少し約 10 分間の Lag phase を示しその後はかなり速かに粘度は回復する。これより考へて家兎肉の myosin B 区

Fig. 1. Viscosity change due to ATP addition observed for rabbit myosin fractions in 0.5 M KCl solution. Viscosity changes are given in per cent. of initial viscosity at 25°C.

Protein-N concn. of each myosin fraction: 80~100 mg %

* The arrow indicates the addition of 0.023% ATP.

○: myosin A fraction

●: myosin B fraction

◐: myosin fraction

The myosin A fraction was extracted from the muscle tissue by a short-time extraction for 15 to 20 min., and B fraction was obtained by the extraction for 24 hours.

(The same extraction method was used throughout this experiment.)

Fig. 2. Changes in viscosity of the fish myosin fractions in 0.5 M KCl solution due to addition of ATP.

----- Mackerel
 ——— Carp
 ○: myosin A fraction
 ●: myosin B fraction

Table 1. Amounts of myosin and actomyosin in each myosin fraction determined by superprecipitation method. (Protein-N mg%)

Sample	Fraction	Fractionation by sppt. method	
		myosin	actomyosin
Rabbit	myosin A	250	163
	myosin B	trace	625
Carp	myosin A	trace	463
	myosin B	trace	495
Mackerel	myosin A	trace	483
	myosin B	trace	632
Horse-mackerel	myosin A	trace	480
	myosin B	trace	618

が含む純 myosin 量と actomyosin 量を算出した結果は Table 1. に示す如くである。

この結果によれば家兎肉の myosin A 区では総蛋白量の約 40% が超沈澱を起すのに対し、家兎肉の myosin B 区、コイ、サバ及びアジ肉の myosin A 及び B 区はすべて ATP 添加により含有蛋白のほぼ全量が超沈澱を起し純 myosin は認められない。即ち後者の各区分は超沈澱現象においても actomyosin の特

は明らかに actomyosin の特性を示すが、myosin A 区の場合 ATP 添加による粘度低下の傾向は余り顕著でなく、純 myosin 区にはその傾向が全くみられない。ここで純 myosin 区はその抽出精製途中において actomyosin を除く操作があるので、actomyosin の特性である粘度低下の現象を示さない事は当然と思われるが、一方 myosin A 区に粘度低下の傾向が幾分みられるのはこの区分に actomyosin が混在するためと思われる。(Table 1 参照)

次に Fig. 2 に示す如く、コイ及びサバ肉の myosin A 区及び B 区はともに ATP 添加により急激なる一過性の粘度低下現象を示して顕著なる actomyosin の特性が観察された。即ち両区分の粘度変化曲線には殆んど差異は認められず、共に家兎肉の myosin

B 区が示した曲線に類似している。この現象はマアジ肉の myosin A 及び B 区にもほぼ同様に認められた。

2. 各 myosin 区の超沈澱法による分割

actomyosin には ATP を添加して起る粘度変化の特性以外に、その稀薄 KCl 溶液に ATP を添加すれば筋肉の収縮に擬せられる超沈澱現象を起すことが知られている。本実験ではこの事実に基づき前述の各 myosin 区分に夫々 3 倍量の水を加えて KCl: 0.1~0.12 Mol/L, Protein-N: 20~25 mg %, pH 7.5 の溶液とし、これに所定量 (超沈澱が完結するための最少量) の ATP を加え 25°C において超沈澱を起さしめ、各区分の超沈澱前後の蛋白量を定量しその値より各 myosin 区

性を顕著に示すものである。

以上の結果より myosin A が純 myosin を主成分とするという従来の見解は魚肉には適応し得ない場合のある事が明らかである。

3. 死後経過時間による家兎肉 myosin A 区中の actomyosin 量の変化

前述の如く魚肉では死直後のものにおいても純 myosin が殆んど認められないのに対し、家兎肉では myosin A 区中に actomyosin ばかりでなく純 myosin も検出されたのである。この myosin A 区中の actomyosin の死後経過時間による変化を検討した結果は Fig. 3 に示く如くである。

この結果によれば家兎肉の myosin A 区は死後 10 時間頃までその抽出量に大差ないが、その myosin A 区に含まれる actomyosin 量は経過時間に伴って増加し、約 8 時間後には myosin A 区の大部分を占め、その後の myosin A 区は魚肉の myosin A 区と同様に actomyosin を主成分とする区分に変る事が知られた。即ち死後ある時間を経過すれば家兎肉においても純 myosin が検出されなくなるのである。(第 II 報²⁾参照) この現象を死後経過時間に伴い筋肉中の純 myosin が actin と結合して actiomyosin に変化するためと解すれば⁶⁾、死直後の筋肉より抽出した myosin A 区中にすら純 myosin が検出されない供試魚では純 myosin と actin との結合が家兎の場合より可成り早く起る事を示唆している。これを確認するには筋肉中の actin 量の死後変化を同時に検討し、更に供試動物の取扱い、致死方法或いは抽出精製法等を吟味して追試する必要がある。

いずれにしても以上の諸結果より BAILEY 法により区分した供試魚の myosin A 区における actin と純 myosin との結合量は家兎の同区とかなり異なるものと考えられる。従つて魚肉を対象とする場合には家兎肉と同様に単に抽出時間の短長によつて myosin 区を A と B の兩区分に分別することは组成的に余り意味がないのではあるまいか。なお actomyosin にも actin 量の異なるものの存在する事が知られているが⁷⁾、この点については各区分の塩析曲線並びに電気泳動的性質と共に後報する。

Fig. 3. Changes in amount of actomyosin in the myosin A fraction isolated from rabbit muscle during storage at 25°C..

要 約

死直後のコイ、マサバ、マアジ及び家兎肉から myosin A 区、B 区並びに純 myosin 区分を所定条件で抽出精製し、その各区分について ATP 添加による粘度変化と超沈澱現象を検討し次の結果を得た。

1. 家兎肉の myosin B 区、供試魚の myosin A 及び B 区は ATP 添加により一過性の粘度低下現象 (actomyosin の特性) を示すが、家兎の myosin A 区はその現象が顕著でなかつた。

2. 家兎の myosin A 区は ATP 添加により含有蛋白の約 40% のみが超沈澱 (actomyosin の特性) を起すのに対し供試魚の myosin A 区は B 区と同様に殆んど全量が超沈澱し、これら区分には純 myosin が検出されなかつた。なお家兎の myosin A 区も死後ある時間を経過すれば actomyosin を主成分とする区分に変ることを認めた。

3. 供試魚の myosin A 区と B 区は共に actomyosin の特性を顕著に示すことより、家兎の場合の両区分とは同様に取扱い得ないものと考えた。

終りに臨み本研究を行うに当り御指導を賜わった本学高田幸二教授に深甚の謝意を表する。

文 献

- 1) A. SZENT-GYÖRGYI: "Chemistry of Muscular Contraction", Acad. Press. New York (1951).
- 2) 斉藤要・日高富男: 鹿大水産学部紀要, **5**, 165 (1956).
- 3) 斉藤要・日高富男: 本誌, **21**, 929 (1955).
- 4) 斉藤要・日高富男: 鹿大水産学部紀要, **4**, 90 (1955).
- 5) W.F.H.M. MOMMAERTS: *J. General Physiol.*, **31**, 361 (1948).
- 6) 野口順蔵: 蛋白質化学, **3**, 共立出版, 東京 (1955), p. 444, 447.
- 7) F.B. STRAUB: *Stud. Inst. Med. Chem. Univ. Szeged.* **2**, 3 (1942),