魚類筋原繊維 Ca-ATPase の加熱変性に及ぼす中性塩の影響

若目田 篤・野澤 誠子・新井 健一

(1982 年 6 月 17 日受理)

Effect of Neutral Salts on Thermal Denaturation of
Myofibrillar Ca-ATPase of Fish

Atsushi WAKAMEDA*, Seiko NOZAWA* and Ken-ichi ARAI*

The effects of neutral salts, such as KCl, NaCl and LiCl, in the thermal inactivations of myofibrillar Ca-ATPase of white croaker and carp have been studied. The myofibrils were kept at a fixed temperature in the range of 25–38°C with various concentrations (0.035–2.0 M) of KCl or NaCl and the first order rate constants (k_D) for inactivation of Ca-ATPase were estimated.

Upon increasing the concentration (M) of neutral salt in the medium, the increase in k_D proceeded in three first order steps: a very slow rate of increase from 0.035 to 0.30 M, a rapid rate of increase from 0.30 to 1.1 M (for white croaker) or to 1.5 M (for carp), and remaining constant at a maximum above 1.1 M (for white croaker) or above 1.5 M (for carp). The linear rate plots of $\log k_D$ vs. salt concentration (0.3–1.0 M) showed that white croaker myofibrils were 2.5 times more susceptible to neutral salt than carp myofibrils. The following relative k_D values for inactivation of Ca-ATPase by neutral salts were found: LiCl > NaCl > KCl.

The effect of neutral salts on the k_D for inactivation of its Ca-ATPase was identical for myosin B and for myofibrils from the same fish species.

魚肉に 2.5~3.0% の NaCl を加えてらいかいし、肉糊とした後、加熱してねり製品を製造する方法はよく知られている。しかし、この製造方法の原理に関してはまだ完全な理解が得られたわけではなく、特に、筋肉たんぱく質の変性と塩類の関係についてはまだ研究の余地が残されている。

魚肉たんぱく質は約 30% 前後の筋形質たんぱく質と約 70% に達する筋原繊維たんぱく質から成るが、主要成分は後者の約 80% を占めるアクトミオシンである。このアクトミオシンは高塩濃度溶液（微アルカリ性）に溶解する性質を有するため、魚肉に対する塩の影響を明らかにしようとした研究の多くは、主としてアクトミオシンの塩溶液に対する溶解性を測定することによってなされてきた。^{1,2} その理由は、魚の肉糊中においてはアクトミオシンが溶解して網目構造を形成し、その構造がねり製品の足形成能に強く影響していると判断されているため、アクトミオシンの溶解性の変化がその指標として適切であると考えられたからに他ならない。しかし、溶解性の変化はいわば筋原繊維たんぱく質の量的な変化をあらわしており、その質的な変化を研究することの必要性も極めて早くから提案されている。³

そこで本研究においては、古くから優良なねり製品原

料魚として著名なグチと、これと筋たんぱく質の温度安定性が類似しているコイを対照として選び、両筋原繊維 Ca-ATPase 活性を指標として加熱変性に対する中性塩類の影響を検討することを目的とした。

実験方法

筋原繊維懸濁液の調製 シログチ (white croaker *Argyrosomus argentatus*) およびコイ (carp *Cyprinus carpio*) の筋原繊維（以下 Mf と略す）は、すでに加藤らが報じた方法に従って調製した。⁴ すなわち、新鮮な魚の背肉を一部とり（稀に、グリセリン処理筋も原料として用いた）、細切後 0.16 M KCl-40 mM Tris-maleate (pH 7.5) 溶液を用い、30 秒間の休止時間をおきながら、30 秒間づつ計 6 回ホモジナイズし（日本精機製ホモジナイザー AM-7 型）、0.5% Triton X-100 を含む同上 0.16 M KCl-緩衝液で上清が透明になるまで洗浄を繰り返す。最後に Mf の沈殿を Potter 型ハンドホモジナイザーを用いて 0.16 M KCl-40 mM Tris-maleate (pH 7.5) 溶液中に均質に懸濁し Mf 標品とした。

ミオシン B の調製 シログチおよびコイのミオシン B（以下 MB と略す）は、高士らが報じた方法に従って調製した。⁵ すなわち新鮮な背肉を細切した後、リン酸緩

* 北海道大学水産学部生物化学教室 (Laboratory of Biochemistry, Faculty of Fisheries, Hokkaido University, Hakodate, Hokkaido 041, Japan).

衡液 (pH 7.5, $I=0.05$) で数回洗浄し、肉重量の3倍量の 0.55 M KCl-リン酸緩衝液 (pH 7.5, $I=0.6$) を加えて 3~7 時間 MB を抽出した。その抽出液に対して 10 倍量の冷水を加え、MB を稀釈沈殿させて集め、0.5 M KCl-40 mM Tris-maleate (pH 7.0) 溶液に溶解、同液に対して透析後 30,000 g で 45 分間遠心分離を行ない上清を MB 標品とした。

中性塩共存下における筋原繊維たんぱく質の加熱変性 Mf 懸濁液および MB 溶液に対して 40 mM Tris-maleate (pH 7.5), または高濃度 (3 M) の中性塩を含んだ同上緩衝液を加え、塩の終濃度が 0.035~2 M になるように調整した。次に、この Mf または MB の試料液を一定温度の恒温槽中に保持し、経時的にその一定量を取り出し氷冷すると同時に、一定量の冷水を加えて塩濃度を稀釈して反応を止め、続いて Ca-ATPase 活性を測定した。なお、使用した塩類は KCl, NaCl および LiCl である。LiCl の水溶液はかなり強い酸性を示したため、少量の LiOH 溶液で pH を調整してから使用した。

Ca-ATPase 活性の測定法 Ca-ATPase 活性 (Adenosinetriphosphatase, EC 3, 6, 1, 3) は 0.1 M KCl, 5 mM CaCl_2 , 25 mM Tris-maleate (pH 7.0), 0.1~0.3 mg/ml たんぱく質および 1 mM ATP の組成液を、25°C において反応させて遊離する無機リン酸を Fiske-Subbarow 法⁹⁾ (還元剤として *p*-methyl-aminophenol sulfate を使用) を用いて比色定量し、比活性 ($\mu\text{mol Pi/min} \cdot \text{mg of protein}$) を求めた。なお、反応液中の 0.1 M KCl を NaCl または LiCl に置き代えても、あるいは2種の塩を混合して 0.1 M にしても上記 ATPase 活性の測定および結果に支障を生じなかった。

Ca-ATPase の変性速度恒数の算出 前述した方法で測定した Ca-ATPase 活性の一定温度下における経時的な変化を一次反応式に従って解析し、変性速度恒数 (k_D) を、次式によって算出した。 $k_D = (\ln C_0 - \ln C_t) \cdot 1/t$, ここで C_0 および C_t は加熱時間 (t 秒) 前後における Ca-ATPase 活性 (加熱前の値を 1 とした相対値で表わす) である。なお、たんぱく質濃度は牛血清アルブミン分画 V を標準とし、ビウレット法によって比色定量した。⁷⁾

実験結果

種々の KCl 濃度における Mf Ca-ATPase の加熱による失活 0.035 から 2.0 M に至る種々の KCl 濃度に調整した Mf 液を 30°C において加温し、経時的にその Ca-ATPase の失活を測定した結果を Fig. 1 に示した。この結果によると、この KCl 濃度下では、グチの Mf Ca-ATPase の失活は一次反応に従い、KCl 濃度が高い程失活が速いことが示されている。また、Fig. 1 に示した同じ実験をコイの Mf を用いて行なったところ、Ca-

Fig. 1. Decrease in myofibrillar Ca-ATPase activity during heat treatment in the presence of various concentrations of KCl.

Heat treatment of white croaker myofibrils (0.16 M KCl and 40 mM Tris-maleate, pH 7.5) was conducted at the protein concentration of 1.7 mg/ml and at 30°C in the presence of various concentrations of KCl. The treatment was stopped by cooling in ice water and then, the KCl concentration was reduced by dilution with 40 mM Tris-maleate (pH 7.5). The ATPase assay was carried out at 25°C in a reaction medium containing 0.1 M KCl, 5 mM CaCl_2 , 25 mM Tris-maleate (pH 7.0), 1 mM ATP and 0.2~0.3 mg/ml of protein. (■) 0.035 M KCl, (Δ) 0.3 M KCl, (●) 0.5 M KCl, (□) 0.7 M KCl, (▲) 1.5 M KCl, (○) 2.0 M KCl.

ATPase の失活の速度に差異は認められるものの、失活の経時変化が一次反応に従うこと、そして、KCl 濃度が高い程速度が大きくなる傾向は同じであった。

以下にのべる実験においては、0.035 から 2.0 M にいたる広範囲の濃度の塩の存在下、ならびに 15 から 45°C にわたる広い温度域の Mf および MB の Ca-ATPase 活性の失活を測定したが、その失活の反応はほぼ一次反応に従っていることを認めた。ただし、反応の初期に僅かではあるが活性が上昇したり、また、急に低下したりする現象が稀に見られた。この現象はどのような原因によっているものか現在のところ不明であるが、いづれにしてもその変化は微少であったので反応の大部を占める変性速度を重視し、結果の解析に使用した。

Mf Ca-ATPase の変性速度に及ぼす KCl 濃度の影響 Fig. 1 に示した直線の傾きから種々の KCl 濃度下の Mf の変性速度恒数 (k_D) を算出し、その対数値 ($\log k_D$) と KCl 濃度 (モル) との関係を Fig. 2 に示した。同図中にはコイ Mf について行なった同様な実験の結果も合わせて示してある。これらによると、グチ Mf の 30°C における $\log k_D$ の値は加熱時の KCl 濃度が 0.035 M から 0.3 M まで増加する間 (第 1 段階) に僅かに上昇し、

Fig. 2. Effect of KCl concentration on the rate constants for inactivation of myofibrillar Ca-ATPase at 30°C.

The heat treatment and the ATPase assay were conducted as described in Fig. 1. The first order rate constant (k_D) for inactivation of myofibrillar Ca-ATPase was estimated using the relation, $k_D = (\ln C_0 - \ln C_t) / t$, where C_0 and C_t are the activities (relative values) before and after t seconds of heat treatment.

(A) White croaker, (B) Carp.

0.3 M から 1.1 M まで増加する間 (第 2 段階) には KCl 濃度に比例して急激に増加し, また, 1.1 M 以上 (第 3 段階) では, ほぼ最大値に達するという結果を示した。すなわち, Mf Ca-ATPase の加熱変性速度と KCl 濃度の関係は三段階からなりその変性は少なくとも 2 種以上の異なる反応機構を介して起っていることが示唆される。

コイ Mf の 30°C における $\log k_D$ と KCl 濃度の関係もグチ Mf について得た結果と同じ傾向を示した。すなわち, 加熱時の KCl 濃度の増加に伴って, $\log k_D$ は三段階からなる増加様式を示すことが認められる。ただし, コイ Mf の場合は, 0.3 M KCl を境にして見られる 2 つの相を明瞭に区別しにくかった。これは, おそらく, KCl 濃度と $\log k_D$ の間の関係直線の勾配が, 全体にかなり緩やかなためである。また, KCl 濃度が 0.3 M 以上になると, $\log k_D$ が大きく増加する傾向はコイ Mf でも同じであるが, 最大値に達する KCl 濃度は 1.5 M であって, グチ Mf の場合よりも高い値であった。なお, 本実験で測定したグチおよびコイの Mf (0.10~0.16 M KCl pH 7.5) の 30°C における k_D は, 著者が従来報告した値と良く一致しており,⁸⁾ 両 Mf はほぼ同じ温度安定性を示している。しかし, それにもかかわらず, KCl 濃度が 0.3~1.0 M の間で成立する KCl 濃度と $\log k_D$ との直線の勾配はコイ Mf よりグチ Mf の方がはるかに急であり, いいかえれば, グチ Mf は塩濃度の

影響を受けやすく, 不安定化しやすい性質であることを示している。

Mf Ca-ATPase の変性速度に及ぼす温度と KCl 濃度の影響 Fig. 2 に示した実験は, グチおよびコイの Mf Ca-ATPase の変性速度に及ぼす KCl 濃度の影響を, 一定温度 (30°C) で比較検討したものである。そこで, 次にこのような Mf Ca-ATPase に対する塩の作用を, 加熱温度を 25 から 38°C の間で変えて検討し Fig. 3 に示した。この図から, 変性速度恒数の対数値と KCl 濃度の関係は, Mf を加熱する温度とは関係なく, グチとコイ Mf のいずれにおいても, 三段階から成ることが示された。すなわち, 加熱温度が高いほど k_D が大きくなるのは当然の結果であるが, $\log k_D$ に対する KCl の影響を 0.3 M 以下 (第 1 段階), 0.3 M から 1.1 または 1.5 M まで (第 2 段階), 1.1 または 1.5 M 以上 (第 3 段階) でそれぞれ比べると, 上の加熱温度範囲では相違が見られなかった。したがって, KCl 濃度が 0.3 からほぼ 1.0 M の間で成立する直線の勾配, すなわち, Mf Ca-ATPase の変性速度の KCl 濃度依存性は, 温度によって変化しない魚種固有の性質であり, グチ Mf は塩に対する感受性が高く高塩濃度で特に変性し易い性質であるが, コイ Mf は塩に対する感受性が低くグチ Mf に比べて変性しにくい性質であった。

ミオシン B Ca-ATPase の変性速度に及ぼす KCl 濃度の影響 Mf を構成するたんぱく質の主要成分はアクチンミオシンであるから, KCl 濃度が 0.3 M 以上になると溶解する性質がある。したがって, Fig. 1 から 3 まで

Fig. 3. Effects of KCl concentration and temperature on the rate constants for inactivation of myofibrillar Ca-ATPase.

The heat treatment and the ATPase assay were conducted as described in Fig. 1, except that the temperatures employed were 25°C ($\blacktriangle$), 30°C ($\circ$), 35°C ($\square$). The k_D values were estimated as described in Fig. 2.

(A) White croaker, (B) Carp.

Fig. 4. Comparison of KCl concentration dependence of the rate constants for inactivation of myofibrillar Ca-ATPase and myosin B Ca-ATPase.

The heat treatment and the ATPase assay of myofibrils and of myosin B were conducted as described in Fig. 1, except that the temperatures employed were 30°C (○, ●) or 35°C (△, ▲). The k_D values were estimated as described in Fig. 2. Myofibrils (○, △), Myosin B (●, ▲).

(A) White croaker, (B) Carp.

に示した実験結果の大部分は、Mf が溶解して MB 溶液の状態にあるときと事実上変り無いように推定される。そこで、以上の推定を確めるために、グチおよびコイから別に MB を調製し、Mf を使用した実験の場合と同様に、0.3 から 2.0 M に至る種々の濃度の KCl 存在下で 30°C または 35°C に加熱し、MB Ca-ATPase の k_D を求め、 $\log k_D$ と塩濃度の関係を Fig. 4 とした。また、同じ条件下で測定した Mf の場合も比較のために示してある。この結果によると、MB Ca-ATPase の変性速度に対する KCl 濃度の影響は、同じ魚種の Mf の Ca-ATPase に対して得た結果 (Fig. 2) とほとんど同じであった。すなわち、 $\log k_D$ と KCl 濃度の関係は三段階から成っており、また、0.3 M から 1.0 M KCl までの間に成り立つ直線の勾配は、同魚種の Mf と MB は同じであり、グチ Mf がはるかに KCl に対する感受性が高いことを示した。したがって、Ca-ATPase の変性速度と KCl 濃度の関係について見出された魚種固有の特異性は、アクトミオシンを対象とした場合でも、構造性をもつ Mf を対象とした場合でも全く同じであることが明らかとなった。

Mf Ca-ATPase の変性速度に及ぼすその他の中性塩類の影響 Mf Ca-ATPase の加熱変性に対する KCl の影響を検討した実験と同じ方法に従って、KCl 以外にも NaCl および LiCl の影響について調べた。まず、0.8 M の KCl, NaCl または LiCl を共存させたグチおよびコイ

Fig. 5. Decrease in myofibrillar Ca-ATPase activity during heat treatment in the presence of 0.8 M KCl, NaCl or LiCl.

The heat treatment was conducted as described in Fig. 1, except that the myofibrils were heated in the presence of 0.8 M KCl (○), NaCl (△) or LiCl (□). The ATPase assay was conducted as described in Fig. 1, except that the reaction medium contained a final concentration of 0.1 M neutral salt as the sum of KCl and another salt.

(A) White croaker, (B) Carp.

の Mf を 30°C で加熱し、Ca-ATPase の経時変化を測定した結果を Fig. 5 に示した。これによると、Mf Ca-ATPase の失活の速度は、中性塩の濃度が同じであっても、塩の種類によって異なる影響を受けることを示した。すなわち、本実験で用いた塩類はすべて Cl^- を共通に持ち陽イオンの種類が異なっているが、Mf Ca-ATPase の失活速度への影響は、大きいものの方から、LiCl, NaCl そして KCl の順序であった。この順序は各陽イオンの水溶液中での水和力の強さと一致している。⁹⁾

次に、0.035 から 2.0 M に至る種々の濃度の KCl または NaCl を共存させたグチおよびコイ Mf を 25, 30 または 35°C で加熱し、Mf Ca-ATPase の変性速度恒数を求めた。そして、 $\log k_D$ と KCl または NaCl の濃度との関係を Fig. 6 に示した。この結果によると、Mf Ca-ATPase の変性速度に対する KCl と NaCl 濃度の影響は傾向的に良く似ており、 $\log k_D$ と塩濃度との関係は 3 段階からなっていた。なお、NaCl の方が KCl よりも常に k_D を増加させる効果が大いだが、グチの Mf では 0.4 M 以上になると NaCl と KCl の効果の差が大きくなり観察され易くなるのに対し、コイの Mf では 0.75 M 以上になって初めて両塩の相違が認め易くなること、また、全濃度にわたって、NaCl と KCl の k_D を増加させる度合の差異はグチの方がコイより大きいことが特徴であった。さらに、0.3 M から 1.0 M の間で成立する直線の勾配は KCl よりも NaCl 存在下の方が急であ

Fig. 6. Comparison of the effects of KCl and NaCl on the rate constants for inactivation of myofibrillar Ca-ATPase.

The heat treatment was conducted as described in Fig. 1, except that the temperature employed were 25°C (Δ , $\blacktriangle$), 30°C ($\circ$, $\bullet$) or 35°C ($\square$, $\blacksquare$). The ATPase assay was conducted as described in Fig. 5 and the k_D values were estimated as described in Fig. 2.

Open and filled symbols indicate the values in the presence of KCl and NaCl, respectively.

(A) White croaker, (B) Carp.

り、また、グチ Mf の方がコイ Mf よりも常に急であった。すなわち、グチの Mf Ca-ATPase の変性速度の塩に対する依存性は、コイ Mf のそれに比べていつも高く、NaCl によってより大きく影響をうけるという結果となった。(図示しないが、LiCl の影響は NaCl よりもさらに大きかった)。

Mf Ca-ATPase の変性速度のアレーニウスプロットに及ぼす KCl 濃度の影響 Fig. 3 に示した同様の実験を、加熱温度をさらに広範囲に変化させて行ない、結果を Fig. 7 に示した。すなわち、0.035 から 2.0 M に至る KCl 濃度におけるグチおよびコイ Mf を、10 から 45°C までのさまざまな温度で加熱し、 k_D を求めた。次に、 $\log k_D$ を加熱温度 (絶対温度で表わす) の逆数値に対してプロット (アレーニウス・プロット) したものである。

この結果によると、共存している KCl 濃度が上昇するにともない $\log k_D$ と $1/T$ の間に成立する直線は図中右方に移動して位置するようになり、Mf Ca-ATPase は低温でも変性し易いようになることを示している。また、グチ Mf とコイ Mf の場合を比べると、図示してはいないが、生理的塩濃度 (0.10~0.16 M KCl の条件) における直線は両者共に良く近似した位置にあり、KCl 濃度の増加にともないグチ Mf の方が大きく図中右方へ移動し、コイ Mf に比べて KCl による影響をうけやすいことが、この図においても見ることができる。

Fig. 7. Arrhenius plots of the rate constants for inactivation of myofibrillar Ca-ATPase in the presence of various concentrations of KCl.

The heat treatment was conducted as described in Fig. 1, except that the myofibrils in the presence of 0.035 M ($\blacksquare$), 0.5 M ($\blacktriangle$), 0.75 M ($\bullet$), 1.0 M ($\square$), 1.5 M ($\triangle$) and 2.0 M ($\circ$) KCl were subjected to the treatment. The ATPase assay was conducted as described in Fig. 5 and the k_D values were estimated as described in Fig. 2.

(A) White croaker, (B) Carp.

考 察

筋原繊維たんぱく質の変性に対する中性塩の影響を明らかにしようとした研究は以前から行なわれており、安井らはウサギのミオシンやアクトミオシンについて Ca-ATPase の失活は 0.1 M KCl 付近で最も遅く、それ以外の KCl 濃度では変性が速くなることを報じている。¹⁰⁾ また著者らは、魚肉たんぱく質としてアクトミオシンを選び、その加熱および冷凍変性における塩濃度の影響を同様な指標を用いて研究した。^{11,12)} 本研究においても Ca-ATPase の失活速度を指標としたのは、この Ca-ATPase 活性がねり製品の足形成能と強い相関があることが知られているからである。^{13,14)}

Mf Ca-ATPase の変性速度 (k_D) の対数値と中性塩の濃度 (モル) の関係を検討した結果、両値の関係は三段階となり、 $\log k_D$ の増加は、0.3 M KCl 以下では小さく、0.3 M 以上では大きくなる事実を示した。この KCl 濃度は Mf が溶解し始める濃度に相当し、0.3 M を境にして $\log k_D$ の依存性が変化するの、おそらく Mf たんぱく質の状態変化が関与している。また、グチ Mf では 1.1 M KCl 以上、コイ Mf では 1.5 M KCl 以上で、 $\log k_D$ は最大に達し、それ以上変化しなかったが、この濃度では Mf は完全に溶解してアクトミオシンになっているので、おそらくアクトミオシン分子の存在状態になんらか

の変化を生じたように推定される。

著者らは、Mf 懸濁液に種々の濃度の KCl を加えて遠心分離し、上清中に可溶化するたんぱく質量を経時的に測定する試みをしたが、Mf たんぱく質は可溶化して粘性が高くなるために正確な定量が困難であった。しかし、この方法によって大凡の溶解性を求めると、0.3 M 以下ではほとんど溶解せず、0.5 M では 20 時間後にはほぼ可溶化し、0.75 M では 2 時間後、それ以上の濃度ではただちに可溶化するという傾向を示した。0.5 M では溶解が緩慢なため、塩を加えた直後と 1 日経過した後に加熱変性を行なって変性速度を求めたところ、値は全く一致したので 0.5 M 前後では Mf が溶解した状態にあるかどうかという問題は本実験の結果に大きな影響を与えないように思われる。また、KCl によって可溶化したたんぱく質と沈殿として集めた溶解していない状態の Mf のたんぱく質組成を SDS ゲル電気泳動法によって検討したところ、両者の間に顕著な差異は認められなかった。

Mf Ca-ATPase の加熱変性速度とそれに影響を及ぼす添加物の濃度 (モル) の関係を研究した著者らの成果によれば、 $\log k_D$ と糖類、¹⁸⁾ アミノ酸類¹⁹⁾ 濃度との間には本実験で行なった塩類の場合とは逆の相関を示す関係直線が得られているが、これらの化合物は Mf に対して直接作用しないような性質のものであるのに対して、中性塩は Mf の構造に直接的な影響を及ぼしていると思われる点が相違している。

魚類の Mf Ca-ATPase の温度安定性は、その魚種にとって固有の性質であり、その魚の棲息温度域と強く相関しているという事実は、⁸⁾ 一定の KCl 濃度下で比較した結果である。しかし、グチとコイの Mf のように、この条件下で近似した安定性を示すものでも、高い KCl 濃度下では著るしく異なる安定性を示すようになることが本実験の結果から明かである。Fig. 2 に示した $\log k_D$ と KCl のモル濃度との間に成り立つ第 2 段階目の直線の勾配を計算すると、この値は単位濃度の KCl を加えたときに起る Mf Ca-ATPase の変性速度 (対数値) の増加値を示し、いいかえると、KCl によって起る Mf の不安定化の程度 (以下に、塩感受性とよぶことにする) を表わす。求めた値はグチ Mf では $2.38 (\text{M}^{-1})$ 、コイ Mf では $0.90 (\text{M}^{-1})$ であってグチ Mf はコイ Mf よりも約 2.5 倍塩感受性が高いという表現が出来る。塩の種が変わると感受性も変化するが、魚種間の相違は同じ塩で比べればほとんど同じであった。以上のような事実は、塩感受性に差を生じる機構が何であるにせよ、これらの魚肉が食品として貯蔵・加工及び流通する過程において塩と接触し反応する場合を考えると、極めて重要なことで

あるように思われる。

本実験で使用したグチおよびコイは新鮮な筋肉とグリセリン漬けた筋肉であるが、いずれから調製した Mf でも同じ結果を示した。したがって、上記の魚類 Mf の塩感受性の相違は、少なくとも水溶性 (筋形質) たんぱく質や形質膜の性状の差によって生ずるものでなく、たんぱく質の構造上の差に起因するように推定される。この推定は、別な方法で調製した MB が Mf と同じ塩感受性を示すことから支持されるように考えられる。なお、本実験で調製したグチとコイのミオシン B 標品は塩類に対する感受性が上記したように異なるので、調製標品そのものの生化学的性質が異なるかどうかを調べた。すなわち、ATPase 活性、ATP 感度、固有粘度、および粘度のたんぱく質濃度依存性を比較検討したところ、両魚種間に顕著な差を認めることができなかった。それゆえ、Mf および MB の Ca-ATPase の塩感受性の魚種による差異が、それらのいかなる構造上の相違に起因しているかは、現時点では明らかではない。

本実験では、中性塩類として陽イオンだけが異なる KCl, NaCl および LiCl を用いて、Mf Ca-ATPase に対する影響を検討したが、水和力の強いイオンの場合ほど、その変性速度を強める効果が大きかった。従来、魚肉たんぱく質の溶解性に及ぼすこれら塩類の影響を検討した結果によると、それらの相違は余り大きくないと述べられている。²⁾ しかし、Ca-ATPase に対する効果を較べたところ、塩感受性の高い魚の Mf は NaCl と KCl の効果の差が大きいことが明らかであった。^{*1} また、著者らが MB の粘度に対する中性塩類の効果を比較検討したところ、これら塩類を添加すると MB 溶液に著しい粘度低下が起ることを知ったので、その速度を比べた結果、MB に対する影響の強い方から LiCl, NaCl, そして KCl であることを認めた。^{*1} この研究の詳細は次報にゆずるが、これらの事実から、これらイオンの水和力が Mf たんぱく質の変性に影響を与えている端緒となっていることは確かであろう。

本研究の一部は文部省科学研究補助金によって行なわれたので、記して謝意を表します。

また、本研究に用いた新鮮なシログチは、紀文株式会社研究所、野崎 恒所長ならびにねり製品技術研究会、山本常治氏の御好意で御分与を受けたものである。併記して厚く感謝致します。

文 献

- 1) 清水 亘: 水産ねり製品, 光林書院, 東京, 1967, pp. 114-116.
- 2) 志水 寛: 魚肉ねり製品 (岡田 稔・衣巻豊輔

*1 若目田 篤・野澤誠子・新井健一: 昭和 57 年度水産学会春季大会講演要旨 191-192 頁。

- ・横関源延編), 恒星社厚生閣, 東京, 1981 pp. 66-80.
- 3) 右田正男: 日水誌, **28**, 456-470 (1977).
- 4) 加藤 登・内山 均・塚本志朗・新井健一: 日水誌, **36**, 169-172 (1970).
- 5) 高士令二・新井健一・斎藤恒行: 日水誌, **36**, 169-172 (1970).
- 6) C. H. FISKE and Y. SUBBAROW: *J. Biol. Chem.*, **66**, 375-400 (1925).
- 7) A. G. GORNALL, C. J. BARDAWILL, and M. M. DAVID: *J. Biol. Chem.*, **177**, 751-766 (1946).
- 8) 橋本昭彦・小林章良・新井健一: 日水誌, **48**, 671-684 (1982).
- 9) 上平 恒: 化学総説, **11**, 191-206 (1976).
- 10) 安井 勉: *New Food Industry*, **13** (12), 36-47 (1972).
- 11) 新井健一・高士令二: 日水誌, **39**, 533-541 (1973).
- 12) 新井健一・福田道代: 日水誌, **39**, 625-631 (1973).
- 13) 川島孝省・大場明子・新井健一: 日水誌, **39**, 1201-1209 (1973).
- 14) 加藤 登・野崎 恒・小松一宮・新井健一: 日水誌, **45**, 1027-1032 (1979).
- 15) 大泉 徹・橋本浩二・小倉潤子・新井健一: 日水誌, **47**, 901-908 (1981).
- 16) 大泉 徹・山村寛仁・新井健一: 日水誌, **48**, 219-226 (1982).