短 報

スケトウダラすり身中に含まれる蛋白質
架橋因子の溶出に及ぼす CaCl_2 の影響佐伯宏樹, 若目田 篤,
市原泰幸, 笹本泰彦

(1989 年 3 月 1 日受付)

Effect of CaCl_2 on the Elution of Cross Linking
Factor in Alaska pollackHiroki Saeki,*1 Atsushi Wakameda,*1
Yasuyuki Ichihara,*1 and Yasuhiko Sasamoto*1

晒し溶液に $\text{CaCl}_2(\text{Ca})$ を添加する Ca 晒しを用いて製造した魚肉すり身では、塩ずり後のゲル形成時にミオンヘビーチェーン (HC) の重合が促進される事実が明らかになっている。¹⁾ しかし、その機構については不明な点が多い。最近、HC の重合を促進する蛋白質架橋因子 (cross-linking factor; CF) が魚肉中に存在し、CF がトランスグルタミナーゼ (EC 2. 3. 2. 13; TGase) 活性を持つことが報告されている。^{2,3)} そこで、本研究では水晒し時における魚肉中の CF の挙動について明らかにすることを目的とした。

スケトウダラ冷凍すり身 (SA 級) に 4 倍量の 65 mM NaCl 溶液、または 5 mM CaCl_2 を含んだ NaCl 溶液 ($L=0.065$) でホモジナイズし、10,000×g で 20 分間遠心分離後、うわ澄みを定量的に採取した。本抽出操作は 2 回繰り返し、得た水溶性画分の合計に 0.5 mM DTT (dithiothreitol) を添加し、2°C でポリエチレングリコールを用いて 40 倍に濃縮後、0.1 M NaCl, 0.5 mM DTT, 20 mM Tris-HCl (pH 7.5) に透析して 10,000×g で 60 分遠心分離し抽出濃縮物を得た (それぞれ S-Ca 又は S-Na)。次にこれら得られた抽出物の一定量を、コイミオン B (筋原繊維を 0.5 M KCl に溶解; MB) 溶液に加え、5 mM CaCl_2 又は 15 mM NaCl を添加して 30°C で 24 時間保持した後、0.1% SDS (sodium dodecylsulfate) 存在下で 5% ポリアクリルアミドディスクゲル電気泳動分析に供し²⁾ HC の重合度を測定した。³⁾

結果を Table 1 に示したが、水溶性画分を添加しない場合には MB 中の HC の存在量に変化はほとんど生じなかった。しかし、MB に S-Na 又は S-Ca を、5 mM CaCl_2 と同時に添加することによって HC の減少が認

Table 1. Effect of extract from frozen surimi of Alaska pollack on cross-linking of myosin heavy chain in carp myosin B

Extract added+salt	Extent of decrease in myosin heavy chain (%)
H ₂ O + 5 mM CaCl_2	6±1
H ₂ O + 15 mM NaCl	2±1
S-Na + 5 mM CaCl_2	64±5
S-Na + 15 mM NaCl	32±2
S-Ca + 5 mM CaCl_2	39±4
S-Ca + 15 mM NaCl	28±1

Frozen surimi from Alaska pollack was washed with 4 times weight of solution containing 5 mM CaCl_2 and 50 mM NaCl ($I=0.065$) or 65 mM NaCl, and each extract (S-Ca, S-Na) was concentrated to 40 times in the presence of 0.5 mM DTT at 2°C. Each extract thus obtained was added to twice the volume of carp myosin B (9.0 mg/ml), and was incubated at 30°C for 24 hours, with 5 mM CaCl_2 or 15 mM NaCl added. The extent of decrease in myosin heavy chain in carp myosin B was measured by using SDS polyacrylamide gel electrophoresis. As a control, H₂O was added to myosin B, and the extent of the decrease in myosin heavy chain was observed.

められ、その度合いは S-Na のほうで大きかった。また同時に重合物の増加が認められ、この変化が HC の交差結合反応に起因することを示した。一方、 CaCl_2 未添加のものは S-Na と S-Ca の添加による HC の減少はほとんど認められなかった。

次に、S-Na を得た際の遠心残さに終濃度が 5 mM になるように CaCl_2 を添加し (P-Na), S-Ca を得た際の遠心残さ (P-Ca) とともに 3% NaCl で塩ずりを行なった後 (タンパク質濃度はともに 135 mg/ml に調整した) 直ちに 20°C で保持し、これらの残さ中の HC の減少を観察した (n=3)。その結果、10 時間後には P-Ca では 78±4%, また P-Na では 42±5% の HC の減少が観察され、同時に重合物の増加が観察された。

以上の結果は、すり身中に存在する Ca 依存性の CF の抽出性が、Ca によって抑制されることを示している。すなわち、晒し液中に Ca が存在すると魚肉中に CF が保持され、この CF が塩ずりや坐りの工程において HC の重合度合いの上昇に寄与していることが推定される。

文 献

- 1) 佐伯宏樹, 尾崎弘忠, 野中道夫, 関 伸夫, 新井健一: 日水誌, **54**, 259-264 (1988).
- 2) U. K. Laemmli: *Nature*, **227**, 680-685 (1970).
- 3) 沼倉忠弘, 関 伸夫, 木村郁夫, 豊田恭平, 藤田孝夫, 高間浩蔵: 日水誌, **51**, 1559-1565 (1985).

*1 大洋漁業(株)大洋研究所 (Taiyo Central R & D institute, Taiyo Fishery Co. Ltd., Tsukishima, Chuo, Tokyo 104, Japan).

*2 木村郁夫, 豊田恭平, 関 伸夫, 新井健一, 藤田孝夫: 昭和 63 年度日本水産学会秋季大会講演要旨集, pp. 166 (1988).

*3 関 伸夫, 宇野秀樹, 李 南赫, 新井健一, 木村郁夫, 豊田恭平, 藤田孝夫: 昭和 63 年度日本水産学会秋季大会講演要旨集, pp. 166 (1988).