短 報

イカ類筋肉のミオシンヘビーチェーン
分解酵素江原 司, 田宮 徹, 土屋隆英
(1993年12月16日受付)Investigation of Myosin Heavy Chain-Degrading
Proteinase in Squid Muscle^{*1}Tsukasa Ehara,^{*2} Toru Tamiya,^{*2}
and Takahide Tsuchiya^{*2}キーワード: イカ, プロテイナーゼ, プロテイナーゼ
阻害剤

組織には多種類のプロテイナーゼが存在し, その触媒基の種類によりセリンプロテイナーゼ, システインプロテイナーゼ, アスパラギン酸プロテイナーゼ, 金属プロテイナーゼの4種に大別されている。¹⁾

スルメイカ, ヤリイカなどのツツイカ目には魚類や他の水産無脊椎動物に見られない, 4℃の低温でミオシン重鎖(MHC)を限定分解し, EDTAにより阻害される金属プロテイナーゼが存在する。²⁾ しかし, 30℃と自己分解の温度を高くすると十分量のEDTAを添加してもミオシン重鎖はもちろんのこと, 他のタンパク質も分解され, 4℃のときと異なったSDS-ポリアクリルアミド電気泳動(PAGE)パターンを示していた。³⁾ このことから, 30℃でのミオシン重鎖の分解には金属プロテイナーゼ以外のものも関与している可能性がある。そこで, 30℃でのミオシン重鎖の分解がどのタイプのプロテイナーゼにより行われるのかを明らかにすることを目的とした。

4種のプロテイナーゼ阻害剤をいろいろな組み合わせで含む0.6 M KClによるヤリイカの抽出液を30℃で自己分解し, 反応液をSDS-PAGEに供した(Fig. 1)。

阻害剤を添加していない(A)では, 調製直後に認められたMHCは1時間後には消失し, パラミオシンも時間経過とともに消失した。しかし, 4種の阻害剤が含まれる(B)では, MHCの分解は認められなかった。このことより, MHCの分解には4種のプロテイナーゼのいずれか, もしくは複数が関与しているものと推定された。そこで, Table 1に示したように阻害剤の中から1種ずつを除いた反応液を用いて, MHCを分解する酵素の検索を行った。

Pepstatin Aを除いた(C)および[L-transcarboxyoxiran-2-carbonyl]-L-Leu-agmatin (E-64)を除いた(D)で

Table 1. Combination of proteinase inhibitors used in this experiment

	Pepstatin A (μ M)	E-64 (μ M)	PMSF (mM)	EDTA (mM)
A	—	—	—	—
B	20	20	2	20
C	—	20	2	20
D	20	—	2	20
E	20	20	—	20
F	20	20	2	—

Fig. 1. Effect of proteinase inhibitors on autolysis of extract from *Loligo brekeri* mantle muscle as analyzed by SDS-PAGE.

MHC, myosin heavy chain; PM, paramyosin; A, actin. Incubation time: 1, 0 h; 2, 1 h; 3, 2 h; 4, 3 h; 5, 4 h; 6, 5 h; 7, 20 h. A-F are the same as in Table 1.

はMHCの分解が認められず, アスパラギン酸プロテイナーゼおよびシステインプロテイナーゼの関与はないものと思われる。しかし, phenylmethylsulfonylfluoride (PMSF)を欠く(E)とEDTAを欠く(F)では, 時間経過に伴いMHCは分解され, 消失していった。このことより, イカのMHCの分解に金属プロテイナーゼとともにセリンプロテイナーゼが関与するものと思われた。

^{*1} イカ筋ミオシン分解酵素の研究—II.

^{*2} 上智大学理工学部化学科 (Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Sophia University, Kioi, Chiyoda, Tokyo 102, Japan).

これまで、スルメイカ外套膜筋にリソソーム系のアスパラギン酸プロテイナーゼ⁴⁾とシステインプロテイナーゼ⁵⁾の存在が報告されている。しかし、本研究では反応液の pH が中性であったので、これらのプロテイナーゼが活性化されなかったか、されてもごくわずかであり、MHC の分解もほとんど認められなかったものと推定される。一方、スルメイカ外套膜筋より見いだされた金属プロテイナーゼは至適 pH が中性付近であること、またセリンプロテイナーゼには中性付近で活性化されるものもあり、かつ反応温度が高かったことから、PMSF や EDTA が添加されていない (E) や (F) では Fig. 1 のように MHC の分解が起こったものと思われる。

以上の結果より、ツツイカ目に属するヤリイカの肉中にはスルメイカと同様に中性付近で活性を持つプロテイナーゼが存在する。先に、4℃ の低温下ではミオシン重鎖を分解するのに金属プロテイナーゼのみしか関与しないと報告したが、³⁾ 30℃ と高くなると、低温でほとんど活性を示さなかったセリン系プロテイナーゼも活性化され、ミオシン重鎖がこの両者により速やかに分解された

ものと思われる。それゆえ、ツツイカ目に属するイカ肉を 30℃ 付近の温度にさらす環境下では、ミオシン重鎖の分解を抑制するために、少なくとも金属プロテイナーゼのほかに、セリン系プロテイナーゼ⁶⁾のことも考慮し、2 種の特異的阻害剤を十分量添加する必要があると考えられる。

文 献

- 1) The Nomenclature Committee of IUB: in "Enzyme Nomenclature" (ed. by E. C. Webb *et al.*), Academic Press, London, 1992, pp. 388-418.
- 2) Y. Okamoto, H. Otsuka-Fuchino, S. Horiuchi, T. Tamiya, J. J. Matsumoto, and T. Tsuchiya: *Biochim. Biophys. Acta*, **1161**, 97-104 (1993).
- 3) 江原 司, 田宮 徹, 土屋隆英: 日水誌, **58**, 2379-2382 (1992).
- 4) J. Sakai-Suzuki, Y. Sakaguchi, S. Hoshino, and J. J. Matsumoto: *Comp. Biochem. Physiol.*, **75B**, 409-414 (1983).
- 5) J. Sakai-Suzuki, M. Tobe, T. Tsuchiya, and J. J. Matsumoto: *Comp. Biochem. Physiol.*, **85B**, 887-893 (1986).
- 6) Y. Nagashima, H. Ebina, T. Nagai, N. Tanaka, and T. Taguchi: *J. Food Sci.*, **57**, 916-917, 922 (1992).