坐りに伴うスケトウダラ肉糊中のタンパク質の 塩溶解性と成分組成の変化

船津 保 浩, 加 藤 登, 新 井 健 一

(1994 年 1 月 18 日受付)

Changes in Salt-Solubility and Subunit Components of Myofibrillar Proteins in Salt-Ground Meat from Walleye Pollack Surimi during Setting

Yasuhiro Funatsu,^{*1, 2} Noboru Kato,^{*3} and Ken-ichi Arai^{*1, 4}

Frozen surimi was chopped with 2.5% NaCl at pH 6.9 and 6.0. The salt-ground meats were then incubated at 25°C. During the setting, part of the salt-ground meat was solubilized into 0.80 M NaCl solution. The content and subunit components of myofibrillar proteins in salt-soluble (S) and insoluble (P) fractions were investigated.

In the early stage of setting, a large amount of myosin heavy chain (HC) and actin containing tropomyosin, together with a small amount of cross-linked myosin HC (HC_x) and unidentified components (X₁ and X₂), constituted the S fraction from meats of both pHs. With the progress of setting, the decrease in salt-soluble protein from the meat of pH 6.0 was rather slower than that of pH 6.9. In addition, all subunit components including the large amount of myosin HC disappeared from the S fraction, and a concomitant accumulation of HC_x at pH 6.9 (or HC_x plus X₁ at pH 6.0) together with all other components was observed in the P fraction.

These results indicate that all protein components in the salt-ground meat were complexed to form the salt-insoluble protein fraction in the process of setting.

キーワード: 坐り, 肉糊, 塩溶性タンパク質, 筋原繊維タンパク質, スケトウダラ, ミオシン重鎖, アクチン

先に著者らは中性および微酸性下で坐らせた塩ずり肉(肉糊)を SDS,^{*} 尿素, およびメルカプトエタノールを含む溶液 (SDS-尿素混液と略す) に溶解し, 可溶化した筋原繊維 (Mf と略す) タンパク質の組成を沼倉ら^{1,2)}の提案した方法に従って SDS-ポリアクリルアミド電気泳動 (SDS-PAGE と略す) に供試し, 比色定量してきた。³⁾ その結果, 微酸性下では中性に比べミオシン重鎖 (HC と略す) の減少に伴うその多量体の生成が起こりにくくなるが, その上さらにミオシン HC とアクチン (A と略す) との間に泳動される未同定の成分 (X₁ 成分と略す) が生成する分だけミオシン HC 多量体の生成量が減り, それが破断強度の減少とよく対応していることを見いだした。しかし, この方法で定量される成分はほとんどがサブユニットに相当し, 供試されたタンパク質が高次構造から成っていてもそれを見分けることができな

い。特にゲル化したタンパク質はおそらく Mf タンパク質成分およびそのサブユニット間でポリペプチド鎖内および鎖間に非共有結合性の弱い結合を形成して凝集しているものと推定されるが, それらの結合は SDS-尿素混液中で切断されるためその本体を把握することはできない。

そこで, 本研究では中性および微酸性下での坐り中の肉糊の一部をとり出し, 高濃度の NaCl 溶液で溶解し, 塩溶性のタンパク質と不溶性のタンパク質に分けた後に, それぞれのサブユニット成分の組成と分布を検討し, ゲル化タンパク質の本体を類推しようとした。

実験方法

試料 スケトウダラ (Walleye pollack) *Theragra chalcogramma* の冷凍すり身を材料として用いた。このすり身

^{*}1 元北海道大学水産学部生物化学教室 (Formerly, Laboratory of Biochemistry, Faculty of Fisheries, Hokkaido University, Minato, Hakodate, Hokkaido 041, Japan).

^{*}2 現所属: 富山県食品研究所 (Toyama Food Research Institute, Yoshioka, Toyama 939, Japan).

^{*}3 紀文食品(株) (Kibun Food Institute, Ginza, Chuo, Tokyo 104, Japan).

^{*}4 現所属: 東和化成工業(株)食料開発研究センター (Towa Chemical Industry, Nakagawara, Fuji, Shizuoka 417, Japan).

^{*}5 略語 SDS, Sodium Dodecyl Sulfate.

はショ糖 4% とソルビトール 4% を含有し、水分量は 74.1%, pH は 6.9 で、ビウレット法⁴⁾によって測定したタンパク質濃度は 181.1 mg/g (すり身湿重量) であり、製造後 -30°C で 2 年間貯蔵したものである。

かまぼこゲルの調製 すり身のタンパク質濃度が 130 mg/g (湿重量) となるように水と 2.5% の NaCl (終濃度) を添加し、スピードカッター (ナショナル MK-K7) を用いて 5 分間 4°C 以下の低温でらいかいし、肉糊を調製した。肉糊中の気泡を抜いた後、プラスチック製円筒容器 (直径 3.7 cm × 高さ 2 cm) に充填し、キャップで密封して 25°C で坐りを行った。(以上の操作で得たゲルを以下坐りゲルと呼ぶ)。また、比較のため 0.2 N HCl を pH 6.0 となるように添加して塩ずりし、同じ温度で坐らせる。

かまぼこのゲル物性の測定 坐りゲルにつき、レオメーター (レオナー RE-3305, 山電(株)製) を使用して、直径 5 mm の円柱型ブランジャーで破断強度 (g) と破断凹み (mm) を測定した。

塩ずりおよび坐り中の肉糊のタンパク質の塩溶解性の測定 Fig. 1 に方法の概略を示すように、塩ずり肉および坐り中の肉糊の一部を 0.43 M (2.5%) または 0.80 M (4.7%) の NaCl 溶液中でホモジナイズ (15,000 rpm × 90 s) し、ガラス製のハンドホモジナイザーで均質化した後、遠心分離 ($11,000g \times 30\text{ min}$) して集めた上清中の量から塩に対するタンパク質の溶解性を調べた。また、溶解したタンパク質と不溶性のタンパク質をさらに SDS-尿素混液中に溶解してそれぞれのサブユニット成分組成の分布と変化を検討した。

SDS-尿素混液に対する塩ずり肉および坐り中の肉糊のタンパク質の可溶化率の測定 塩ずりおよび坐り中の肉糊 0.4 g を精秤し、7.5 ml の 2% SDS-8 M 尿素-2% 2-メルカプトエタノール-20 mM Tris-HCl (pH 8.0) 溶液を加えて 100°C で 2 分間加熱した後、室温で 24 時間攪拌しながら可溶化させた。可溶化率は上記の溶液を $10,000 \times g$ で 20 分間遠心分離後、供試したタンパク質量に対する上清中のタンパク質量の相対値 (%) で表した。なお、タンパク質濃度の定量にはビウレット法⁴⁾を用いた。

SDS-PAGE による坐りゲル中の Mf タンパク質サブユニット成分の定量 Weber と Osborn の方法³⁾により、5% ポリアクリルアミドゲルを用いた SDS-PAGE を行い、Coomassie Brilliant Blue R によって染色した。脱色は 50% メタノール-7% 酢酸で 6~8 時間、続いて 7% 酢酸でゲルの背景が透明化するまで行った。泳動ゲル上の各 Mf タンパク質のサブユニット成分量は、デンシトメーター ((株)島津製作所製 CS-910 型) を用いて 640 nm と 700 nm の吸光値の差として測定し、泳動ゲル上に

Fig. 1. Fractionation of myofibrillar proteins in salt-ground meat and setting gel with salt solution.

Surimi of walleye pollack, which contained sugar but no polyphosphate, was chopped with 2.5% (0.43 M) NaCl at a protein concentration of 130 mg/g wet weight of surimi in a speed cutter (National MK-K7) for 3–5 min at 4°C or below. The pH of chopped meats was adjusted to 6.0 or 6.9 with or without the addition of a small amount of HCl. The salt-ground meat was stuffed into a plastic vessel with a cover and incubated at 25°C to prepare “setting gel”. After cooling in ice water, the gel (5–10 g) was homogenized with 15 ml of 0.43 or 0.80 M NaCl-20 mM Imidazol-HCl (pH 7.0) at 15,000 rpm in a mixer (Nihon Seiki) for 30 sec and the homogenization was repeated 3 more times at intervals of 30 s. After further mixing with the same NaCl (pH 7.0) solution using a glass homogenizer, it was measured up to a definite volume of 50 ml and centrifuged at $11,000 \times g$ for 30 min to separate the supernatant and precipitate fractions. The protein content was determined by the biuret method⁴⁾.

認められる各成分の染色強度の合計値に対する相対染色強度 (%) として表した。定量した成分はミオシン HC, その多量体, A, トロポミオシン (TM), X_1 , および X_2 (A より移動度の大きい成分) であるが、各成分の説明はそれぞれの実験結果の項に記載した。なお沼倉ら⁶⁾は、泳動ゲル上の全染色強度の回収率が低下する場合があることを見いだしており、これは、SDS-尿素混液に可溶化したミオシン HC 多量体の中でも、より分子サイズの大きい成分 (これを HC_n と表す) が泳動ゲル中に侵入できないために起こったものと推測し、その量を計算によって求めた。さらに、坐りゲルが SDS-尿素混液に不溶化する場合、それらの成分をミオシン HC 多量体の特に巨大化した成分 (これを HC_n と表す) であると見なし、各成分の含量を補正しているが、本実験においても同様にその方法にならって補正した。

Fig. 2. Changes in breaking strength and breaking strain of salt-ground meat during setting.

The setting gel was prepared from the frozen surimi by mixing with 0.43 M NaCl as shown in Fig. 1. After cooling the gels with ice water, the load values of breaking strength (g) and breaking strain (mm) at the breaking point were evaluated at room temperature with a rheometer equipped with a ϕ 5 mm plunger.

(A): Breaking strength.

(B): Breaking strain.

The pHs for setting were 6.9 (○) and 6.0 (□).

Fig. 3. Change in salt-solubility of myofibrillar proteins in salt-ground meat during setting.

The preparation of setting gel and the determination of salt-solubility of myofibrillar proteins in the gel were conducted as shown in Fig. 1. The protein concentrations were measured by the biuret method.⁴⁾

Soluble protein (%) = $(a/b) \times 100$

Where a is the amount of supernatant protein (mg) after centrifugation, and b is the amount of total protein (mg) before centrifugation.

Solid line : Soluble protein (%) from the setting gel chopped with 0.80 M NaCl.

Dotted line: Soluble protein (%) from the setting gel chopped with 0.43 M NaCl.

(A) pH 6.9, (B) pH 6.0.

実験結果

塩ずりおよび坐り中の肉糊の破断強度と凹みの経時変化
pHを6.9と6.0に調節したすり身を塩ずりした後、

25°Cで肉糊を加温し、坐りゲルの破断強度と凹みの経時変化を測定し、結果をFig. 2(A)と(B)に示した。これによると、pH 6.9の坐りゲルの破断強度と凹みは共に坐り初期に急激に増加し、破断強度は12時間後、凹みは6

時間後にほぼ最大に達した。一方, pH 6.0 で塩ずりし, 坐らせたゲルの場合の破断強度と凹みは, pH 6.9 の場合よりもかなり低く, 3~6 時間後にほぼ最大に達した。

塩ずりおよび坐り中の肉糊の Mf タンパク質の塩溶解性の変化 25℃ における坐りゲル中の Mf タンパク質の NaCl 溶液に対する溶解性について Fig. 3 に示した。すなわち, 上記の塩ずり肉および坐りゲルの一部を経時的に取り出し, Fig. 1 のとおり, 9 倍量の 0.43 または 0.80 M NaCl-20 mM Imidazol-HCl (pH 7.0) 溶液を加えてホモジナイズし, さらにハンドホモジナイザーで均質化した後, 直ちに (15 分以内) 11,000×g で 30 分間遠心分離して得た上清に溶解するタンパク質量 (mg) を求め, 全供試タンパク質量 (mg) に対する割合 (%) を塩溶解性として表した。これによると, pH 6.9 の場合 (A) は, NaCl 濃度が 0.43 M の時には塩ずり直後におけるその溶解性は 50% 以上と比較的高いが, その後に急激に低下し, 例えば 1 時間後には 10% 以下と低い値を示した。また, NaCl 濃度が 0.80 M になると塩ずり直後の溶解性は 0.43 M の場合よりも高くなる (73%) が, その後に急激に低下する点は同じで, 塩ずり 1 時間後で 14% となった。一方, pH 6.0 の場合 (B) は, NaCl 濃度が 0.43 M の時には塩ずり直後の溶解性が 42% であり, その値は坐りの進行とともにわずかに減少するものの, 12 時間後には 16% であった。また, NaCl 濃度が 0.80 M になると塩ずり直後の溶解性が 58% に上昇し, 同じ NaCl 濃度の pH 6.9 の場合よりは劣るが, 比較的高い値を示し, またその値は坐りの進行とともにわずかに減少するものの, 12 時間後でも 40% の値を維持した。このように 0.80 M NaCl では比較的高い溶解性を示すので本研究では 0.80 M NaCl を採用した。

塩ずりおよび坐り中の肉糊より塩で溶解するタンパク質のサブユニット組成の経時変化 Fig. 3 に示した同じ坐りゲルを 0.80 M NaCl 溶液でホモジナイズし, 上清 (塩溶性画分) と沈殿 (不溶性画分) に分けたが, この際の遠心分離前の試料, 遠心後の上清, および沈殿中の Mf タンパク質の SDS-尿素混液に対する可溶化率と組成を測定した。その結果は図示しないが, pH 6.9 の場合は, 遠心分離前の試料と沈殿中の Mf タンパク質の可溶化率は坐りに伴ってやや低下し, 12 時間後には 96% となった。上清中のその可溶化率はほとんど 100% を保った。一方, pH 6.0 の場合は, 遠心分離前の試料と上清および沈殿の可溶化率はいずれもほぼ 100% を保持した。そこでまず, SDS-尿素混液に溶かした遠心分離前の試料中の Mf タンパク質サブユニット組成を 5% ポリアクリルアミドゲルを用いた SDS-PAGE 法で分析し, デンシトメトリーによって定量し, その結果を各サブユニット成分ごとに Fig. 4(A) (a~d, m~o) と Fig. 5(A) (a~c,

j~l) に示した。なお, 上清 (B) と沈殿 (C) 中のタンパク質の回収量を考慮し, 遠心分離前の全供試タンパク質量を基準として上清と沈殿画分中の Mf タンパク質サブユニット成分の定量値 (%) を算出し, その結果を Fig. 4(B) (e~h, p~r) と Fig. 5(B) (d~f, m~o) および Fig. 4(C) (i~l, s~u) と Fig. 5(C) (g~i, p~r) に示した。すなわち, この結果は溶解成分と不溶成分中の各サブユニット成分の分布を示している。これによると, まず pH 6.9 の場合 (Fig. 4) は, 遠心分離する前 (A) の試料中には多量のアミシン HC (d) とそれにつぐ量の A+TM (n) が含まれているが, 坐り時間の進行とともにその中のアミシン HC (d) が急激に減少し, それに伴い HC_n (c) が著しく増加し, 続いて HC_n (b) が増加し, ほぼ同時に HC_n (a) がわずかながら増加してくる事が示された。なお, その他の成分の中では, X₁ 成分 (m) がほんのわずかながら増加するが, A+TM の成分 (n) と X₂ 成分 (o) はほとんど変化しなかった。ついで (A) を遠心分離して得た上清中の Mf タンパク質 (塩溶性タンパク質) の場合 (B) は, 坐りの進行と共に塩に対する溶解性が急激に低下するため各成分の分析は 3 時間後までしかできなかった。坐り前の成分はアミシン HC (h) と A+TM (q) であり, 前者は分画前の 74%, 後者は 77% に相当している。また, 坐りに伴って同画分中のアミシン HC (h) は急激に減少するが, HC_n (g) は蓄積せずに減少し, HC_n (f) は極めてわずかに増加するが, HC_n (e) はほとんど増加しなかった。また, X₁ 成分 (p) も緩やかな減少, A+TM の成分 (q) は急激な減少, および X₂ 成分 (r) の緩やかな減少が見られた。この結果は, 塩ずり直後の肉糊中には多量 (約 70% 以上) のアミシン HC と A+TM が未だ塩に溶解する状態で存在しているが, 坐りの進行に伴って急激に不溶化すること, また生成物は塩溶性ではないため上清中からは一方的に消失していくことを示している。さらに, (A) を遠心分離して得た沈殿中のタンパク質 (C) を見ると, 塩ずり直後の肉糊の場合には, ごく少量 (分画前の約 11% と 8%) のアミシン HC (l) と A+TM (t) が塩に溶解しにくい状態で存在しているが, 坐りの進行に伴って前者は減り, 後者は大きく増加すること, また不溶性の成分中には多量の HC_n (k) とそれにつぐ量の HC_n (j) とごく少量の HC_n (i) の他に, 多量の A+TM (t) と少量の X₁ 成分 (s) と X₂ 成分 (u) が蓄積していくことを示している。言い換えれば, アミシン HC 単量体 (l) を除く他のタンパク質成分, すなわち HC_n (i), HC_n (j), HC_n (k), X₁ 成分 (s), A+TM (t), X₂ 成分 (u) はいずれも上清から沈殿中に移行する傾向が見られる。ただし, この不溶性成分がどのような組成の母体分子からなっているかはまだ断定できない。またここには示さないが, ゲル濾過法によるとそれは極

Fig. 4. Changes in subunit contents of myofibrillar proteins in salt-ground meat (pH 6.9) during setting.

The preparation of setting gels (pH 6.9) and fractionation of soluble and insoluble proteins were conducted as shown in Fig. 1. The protein fractions were treated with 2% SDS-8 M urea-2% mercaptoethanol-20 mM Tris-HCl (pH 8.0) at 100°C for 2 min, followed by stirring at room temperature for 24 h. The identical aliquots (each 15 μ g protein) of the solubilized protein were applied to SDS-polyacrylamide gel electrophoresis using 5% polyacrylamide gels and stained by Coomassie Brilliant Blue R. The protein on gel rod was determined by measuring the difference of absorbances at 640 and 700 nm with a densitometer, and the content of each component was expressed as a relative value (%), taking the total amount of protein supplied as 100%, by the method of Numakura *et al.*^{1, 2)}

The whole protein in the fraction before centrifugation (A), and the proteins in the supernatant (B) and the precipitate (C) after centrifugation, as shown in Fig. 1, were subjected to SDS-PAGE.

- (a), (e), (i) : Cross-linked myosin heavy chain, insoluble in SDS-urea medium (HC_n).
- (b), (f), (j) : Cross-linked myosin heavy chain, too large to migrate into 5% polyacrylamide gel (HC_n).
- (c), (g), (k) : Cross-linked myosin heavy chain, migrating into 5% polyacrylamide gel (HC_n).
- (d), (h), (l) : Myosin heavy chain (HC).
- (m), (p), (s) : Components migrating between HC and actin (X_1).
- (n), (q), (t) : Actin + tropomyosin (A + TM).
- (o), (r), (u) : Components migrating faster than tropomyosin (X_2).

Fig. 5. Changes in subunit contents of myofibrillar proteins in salt-ground meat (pH 6.0) during setting.

The preparation of setting gels (pH 6.0) and the fractionation of supernatant and precipitate proteins were conducted as shown in Fig. 1. The SDS-PAGE of protein solubilized into SDS-urea medium was made as shown in Fig. 4. The quantitative determination of each subunit of myofibrillar protein was conducted as shown in Fig. 4.

The whole protein before centrifugation (A), and the proteins in the supernatant (B) and precipitate (C) after centrifugation were subjected to SDS-PAGE, as shown in Fig. 4.

(a), (d), (g): Cross-linked myosin heavy chain, too large to migrate into 5% polyacrylamide gel (HC_n).

(b), (e), (h): Cross-linked myosin heavy chain, migrating into 5% polyacrylamide gel (HC_n).

(c), (f), (i): Myosin heavy chain (HC).

(j), (m), (p): Components migrating between HC and actin (X_1).

(k), (n), (q): Actin + tropomyosin ($A + TM$).

(l), (o), (r): Components migrating faster than tropomyosin (X_2).

めて巨大な分子サイズのタンパク質複合体であることを認めた。^{*6}

続いて pH 6.0 (Fig. 5) の場合は、上清と沈殿に分画する前の試料中の組成 (A) を見ると、塩ずり直後の肉糊中のサブユニット組成は pH 6.9 の場合に比べて余り変わらなかった。しかし、坐りに伴うミオシン HC (c) の減少とその多量化反応が全体に遅くなり、結果として HC_n (a) の生成が抑制され、多量の HC_n (b) を蓄積するようになり、またその他に多量の X_1 成分 (i) を生成した。ただし、 HC_n の生成は見られなかった。また、この場合も A+TM (k)、および X_2 成分 (l) には変化がなかった。ついで、(A) を遠心分離して得た上清中の Mf タンパク質の組成 (B) を見ると、この場合も、塩ずり直後の肉糊中には、多量 (それぞれ遠心分離前の約 60%) のミオシン HC (f) と A+TM (n) が塩に溶解しやすい状態で存在しているが、坐りの進行に伴って急速に消失し、不溶性の画分中に移っていくことを示している。なお X_1 成分 (m) と少量の HC_n (e) と HC_n 成分 (d) も塩に溶解する状態で残されていた。ただし、塩溶性タンパク質画分中のミオシン HC (f) の減少は、pH 6.9 の場合に比べてやや遅く、かつその減少量は少ないが、 HC_n (d) の生成量は少なく、 HC_n (e) の生成量が極めて少なかった。また、A+TM (n) の量も減少したが、 X_1 成分 (m) の生成量は比較的多く、分画前の約 40% であった。しかし、 X_2 成分 (o) の生成量は少なかった。さらに (A) を遠心分離して得た沈殿中のタンパク質 (C) を見ると、この場合は塩ずり直後の肉糊中にはすでに各約 40% のミオシン HC (i) と A+TM (q) が溶解しにくい状態で存在しているが、坐りの進行に伴ってそれらの量が増加すること、またその中には比較的多量の HC_n (h) と少量の HC_n (g)、その他に比較的多量の A+TM (q) と X_1 (p) (それぞれの約 67%, 60% に相当)、さらに少量の X_2 (r) が含まれていることを示している。また、塩ずり直後における上清 (B) 中のタンパク質画分に比べてミオシン HC (i) の量は約 8% 程少ないが、 HC_n (g) や X_2 成分 (r) 量はほぼ同じで、 HC_n (h)、 X_1 成分 (p) の量、A+TM (q) の量もやや少ないだけで、全体的にはその組成はよく似ていた。この結果は、pH 6.0 における坐りにおいても pH 6.9 の場合と同様にミオシン HC が減少してその多量体を生成するが、これは A+TM およびその他の成分とともに複合して塩溶液中で不溶化していく可能性があることを示唆している。しかし、この複合タンパク質の組成は X_1 成分を比較的多く含み、pH 6.9 の場合と異なっていた。

考 察

著者らはこれまで、肉糊のゲル化に及ぼす各種の物理化学的要因⁷⁾ (温度、塩濃度、pH、タンパク質濃度) や添加物 (ソルビトール、グルタミン酸ナトリウム) の影響^{8,9)} につけて検討したが、同時に SDS-PAGE 法により肉糊中の Mf タンパク質サブユニット組成の変化を解析し、その結果から Mf タンパク質に起こる変化との関連を考察してきた。しかし、この方法では肉糊中における Mf タンパク質が SDS-尿素混液中に溶解する前にどのような構造体を形成していたかを知ることができない。すなわち、よく知られているように、SDS や尿素はポリペプチド鎖内および鎖間に形成されている多数の非共有結合を切断してしまうからである。そこで、本実験ではゲル化しつつある肉糊中の Mf タンパク質の本体を調べる第一の段階として、先に川島ら¹⁰⁾ がすり身からミオシン B を抽出する際に採用した高濃度 (0.80 M) の NaCl 溶液を用いて肉糊をホモジナイズして溶解させ、これを遠心分離して上清 (塩溶性画分) と沈殿 (不溶性画分) に分画し、塩に対する溶解性の変化を検討した。また同時にそれぞれの画分中のタンパク質サブユニット組成をも調べた。その結果、pH が中性 (6.9) の肉糊の場合は、塩ずり直後から坐りの開始 (10°C 前後で約 30 分間) までは多量のミオシン HC と A+TM 成分の他に少量の HC_n 、 X_1 成分、 X_2 成分が溶解した。続いて、坐り (25°C) が進行するにつれてミオシン HC が消失してその多量体となるが、これはその他のあらゆる成分と共に不溶性画分に含まれるようになった。一方、微酸性 (pH 6.0) の肉糊の場合は、塩ずり後から坐り後の比較的長時間にわたって高い塩溶解性を維持したが、これは肉糊の遅いゲル化速度によく対応している。坐りに伴ってミオシン HC が消失し、その多量体が形成される点は同じであるが、 X_1 成分が比較的多量に生成する点で中性の場合と異なった。また、 X_1 成分の一部は可溶化したまま残るが、その大部分は他の成分とともに相互に弱い結合 (非共有結合)¹¹⁾ によって凝集し、不溶化していく可能性があることが示唆された。それゆえ、見かけ上は不溶性画分中のミオシン HC 多量体量が減り、 X_1 成分の増量が形成されるゲルの低い物性値に対応している。

以上述べた結果は、肉糊の坐りに伴うゲル化においては、pH 6.9 では大部分のミオシン HC 多量体 (HC_n 、 HC_n 、および HC_n) の他に A+TM が、一方 pH 6.0 の時はその他に X_1 成分が SDS-尿素混液中では切断してしまうような弱い結合力を介して巨大な複合体を形成し、高濃度の塩溶液中で不溶化する可能性があることを強く

*6 平成 5 年度日本水産学会春季大会講演要旨集: スケトウダラ肉糊の坐りに伴う塩溶性タンパク質の凝集体形成, 1993, p. 282.

示唆するものである。なお、坐りの初期においてはミオシン HC の一部は可溶化し、他の一部は不溶化している。さらに、pH 6.0 の坐りの後期においては HC_n, A+TM, および X₁ 成分が一部可溶化し、他の一部は不溶化している。それゆえ、これらの成分の一部は複合体を形成しておらずそのままの状態で存在し、また形成された複合体もあまり単純ではなく、おそらく異なる組成と分子サイズをもった混合物である可能性も考慮しておく必要がある。肉糊の塩すりおよび坐り中に形成される Mf タンパク質の複合体の分子サイズと組成については、すでにその一部を発表したが、*6 その詳細については次報に譲る。

文 献

- 1) 沼倉忠弘, 関 伸夫, 木村郁夫, 豊田恭平, 藤田孝夫, 高間浩蔵, 新井健一: 坐りによる肉糊のゲル形成とミオシンの交差結合反応. 日水誌, **51**, 1559-1565 (1985).
- 2) 沼倉忠弘, 関 伸夫, 木村郁夫, 豊田恭平, 藤田孝夫, 高間浩蔵, 新井健一: 坐りに伴うミオシン重鎖の交差結合に及ぼす冷凍すりの品質の影響. 日水誌, **53**, 633-639 (1987).
- 3) 船津保浩, 新井健一: スケトウダラ肉糊の坐りによるゲル形成とミオシン重鎖の変化に及ぼす pH の影響. 日水誌, **57**, 1973-1980 (1990).
- 4) A. G. Gornall, C. J. Bardawill, and M. M. David: Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *J. Biol. Chem.*, **177**, 753-765 (1949).
- 5) K. Weber and M. Osborn: The reliability of molecular weight determination by dodecyl sulfatepolyacrylamide gel electrophoresis. *J. Biol. Chem.*, **244**, 4406-4412 (1962).
- 6) 沼倉忠弘, 関 伸夫, 木村郁夫, 豊田恭平, 藤田孝夫, 高間浩蔵, 新井健一: 加熱により変質したスケトウダラすり身の坐りゲル形成能とミオシン重鎖の交差結合能. 日水誌, **55**, 1083-1090 (1989).
- 7) 西本真一郎, 橋本昭彦, 関 伸夫, 木村郁夫, 豊田恭平, 藤田孝夫, 新井健一: スケトウダラ肉糊の坐り中に起るミオシン重鎖とゲル強度の変化に影響する要因. 日水誌, **53**, 2011-2020 (1987).
- 8) 船津保浩, 細川 一, 南部正一, 新井健一: スケトウダラ肉糊のゲル形成能とミオシン重鎖の多量化に及ぼすソルビトールの影響. 日水誌, **59**, 1599-1607 (1993).
- 9) 松川雅仁, 桜田克彦, 新井健一: スケトウダラ塩すり肉の多量化に及ぼすピロリン酸塩の影響. 日水誌, **58**, 735-742 (1992).
- 10) 川島孝省, 新井健一, 斎藤恒行: 魚類筋肉たんぱく質に関する研究—IX. スケトウダラ冷凍すり身中のアクトミオシン定量条件の検討. 日水誌, **39**, 207-214 (1973).
- 11) 柴田和雄: 高次構造の化学的研究法. 蛋白質の高次構造とアミノ酸残基の状態, 学会出版センター, 東京, 1978, pp. 3-15.