

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 福島 英登

---

スケトウダラは資源量が多く、広く練り製品の原料に用いられているものの、ミオシンの加熱ゲル形成能はやや弱い。一方、シログチのミオシンは高い加熱ゲル形成能を有するものの、その資源量は少ない。そこで本研究は、シログチおよびスケトウダラ普通筋を対象に、ミオシンおよびロッドの加熱ゲル化特性および熱力学的性状を調べた。次に、両魚種のロッドの C 末端側 L-メロミオシン(LMM)につき、上述の性状を調べた。さらに、キメラ体および点変異体 LMM を用いて両魚種の加熱ゲル形成能の相違に関する領域あるいはアミノ酸の特定を試みた。

まず、動的粘弾性測定機を用いた温度分散分析の結果、シログチ普通筋ミオシンの貯蔵弾性率 ( $G'$ ) は昇温に伴い、32-38°Cの低温度域および 47-54°Cの高温度域で増大し、42-46°Cの中温度域で減少した。一方、損失弾性率 ( $G''$ ) は 32-40°Cおよび 53-60°Cで増大した。次に、スケトウダラ普通筋ミオシンの  $G'$  は 29-46°Cの幅広い温度域で徐々に増大し、 $G''$  は 20-58°Cの範囲で複数回増減を繰り返した。一方、ロッドの  $G'$  はシログチでは 34-38°C、スケトウダラでは 30-46°Cで上昇し、ミオシンでみられた低温度域での上昇域に一致した。示差走査熱量測定 (DSC) の結果、シログチ普通筋ミオシンは 30-60°C、スケトウダラのそれは 20-60°Cの範囲で3つの主要な吸熱ピークを示した。DSC 分析から求めた温度・熱変性率曲線は、先に測定した  $G'$  の昇温に伴う変化と似た傾向を示し、ミオシンの加熱ゲル形成にはその加熱に伴う unfolding が密接に関わることが示唆された。

温度分散分析の結果、シログチ LMM の  $G'$  および  $G''$  は 34°C付近に大きなピークを示した。一方、スケトウダラ LMM の  $G'$  は明確なピークを示さず 80°Cまで徐々に上昇し、 $G''$  は明確な変化を示さなかった。DSC 分析の結果、シログチ LMM の吸熱ピークは 32.1°Cでのみ観察された。一方、スケトウダラ LMM の吸熱ピークは 27.7、30.5、35.8 および 43.9°Cと幅広い温度域でいくつか観察され、複雑な過程を経て構造が崩壊することが示された。したがって、LMM の加熱に伴う unfolding 反応過程の違いが、加熱ゲル形成能の差の一因と考えられた。両魚種 LMM 間に存在するアミノ酸変異 51 残基中、29 残基の変異を含む N 末端側 403 残基の領域をシログチのもの、一方、C 末端側 161 残基をスケトウダラのものとするキメラ体 C403/P161 LMM、さらにはその逆の組成の P403/C161 LMM を調製した。温度分散分析の結果、C403/P161 LMM の  $G'$  および  $G''$  は、シログチ LMM と同様に 34°C付近にピークを示した。一方、P403/C161 LMM の  $G'$  はスケトウダラとは異なり 35-50°Cで急激に増加した後、80°Cまで緩やかに増加した。DSC 分析の結果、C403/P161 LMM の吸熱ピークは、シログチ LMM と同様に 31.3°Cに1つ観察された。一方、P403/C161 LMM では 30.8、34.5 および 42.9°Cと、スケトウダラ LMM と同様に幅広い温度域でいくつか観察された。

両魚種 LMM を加熱後、還元処理および非還元処理し、SDS-PAGE 分析に供したところ、非還元シログチ LMM のみ約 70 kDa の単量体のバンドの他に約 130 および 200 kDa などの複数の多量体のバンドが認められた。したがって、シログチ LMM は加熱に伴いジスルフィド結合を介して重合体を形成することが明らかにされた。シログチ LMM の Cys525 をアラニンに置換した点変異体シログチ C525A LMM は本来のシログチ LMM でみられた加熱重合能が消失し、加熱重合化には Cys525 が関与することが示唆された。

以上、本研究により、シログチ普通筋ミオシンは加熱に伴い狭い温度域で急激に unfolding するのに対し、スケトウダラ普通筋ミオシンは、幅広い温度域で unfolding が徐々に進行することが示され、熱力学的性状の差が両魚種の異なる加熱ゲル形成能の一因であると考えられた。また、加熱に伴うジスルフィド結合はシログチ LMM のみに観察され、シログチ肉の高い加熱ゲル形成能を支持した。以上の成果は魚類ミオシンの種特異的な加熱ゲル化特性の一端を示したもので、学術上、応用上貢献するところが少ない。よって審査委員一同は本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。