

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 佐藤 佳恵

水産練り製品の一般的な原料魚であるスケトウダラと高級練り製品の原料魚であるシログチとでは加熱ゲル形成能が異なる。これまでに、普通筋ミオシンおよびロッドの動的粘弾性や熱力学的性状の比較から両魚種の違いが示されているものの、未だ加熱ゲル形成の機構を明快に説明するに至っていない。

本研究はこのような背景の下、まずミオシンATPaseの温度安定性および酵素化学的性状を調べた。温度安定性はCa²⁺-ATPase残存活性として調べた。シログチ・ミオシンの0における変性速度恒数(K_D)はスケトウダラの約1/5であった。さらに20 - 40の熱安定性を調べたところ、シログチ・ミオシンの K_D はいずれの温度においてもスケトウダラの約半分であった。 K_D のArrhenius plotから得られた活性化エネルギーはシログチおよびスケトウダラ・ミオシンでそれぞれ148.5および124.3 J/molであった。シログチ・ミオシンのCa²⁺-ATPase活性はスケトウダラに比べて約2倍高いものの、KCl濃度およびpH依存性は両魚種間で類似していた。また、Hanes-Woolf plotから算出したシログチ・ミオシンのアクチン活性化Mg²⁺-ATPase活性の最大反応初速度はスケトウダラ・ミオシンの約半分であったが、アクチンとの親和性の指標となる K_m 値は両ミオシンで類似した値を示した。

次に、ミオシンの加熱に伴う構造変化を調べた。シログチ・ミオシン非加熱標品の表面疎水性および表面遊離SH基量はシログチの約0.8倍であった。両魚種とも加熱に伴い増大して80加熱標品では同程度となり、シログチ・ミオシンはスケトウダラ・ミオシンに比べて分子の疎水コアが緊密であることが示唆された。また、スケトウダラ・ミオシン重鎖の消化速度はシログチの約8倍であった。さらに、シログチH-メロミオシン(HMM)が加熱処理標品においてはほとんど消化されないのに対してスケトウダラHMMは非加熱標品であっても多くの部位で切断された。したがって、シログチ・ミオシンはプロテアーゼ消化性の点からも構造安定性が高いことが明らかとなった。さらに、シログチおよびスケトウダラ・ミオシン加熱標品の濁度は40および70に極大値を示した。70加熱標品でみられた最大濁度はそれぞれ非加熱標品の57%および41%であったことから、シログチ・ミオシンでは高温における重合体形成反応が高いことが示唆された。また、80加熱標品の総遊離SH基量は非加熱標品の90%となり、高温における重合体形成にはSS結合が関与すると考えられた。 β -メルカプトエタノールの存在下および非存在下におけるSDS-PAGE分析から、スケトウダラ・ミオシンが低温においてもSS結合を介して高度に重合していることが示唆された。

次に、両魚種筋原線維をHMM調製では1 mM CaCl₂存在下、サブフラグメント-1(S1)調製ではキレート試薬存在下で α -キモトリプシン処理した後、10 mM Mg²⁺-ATP存在下の硫酸分画に付して精製した。動的粘弾性測定の結果、シログチHMMの貯蔵弾性率(G')は加熱

に伴い 56 から大きく増大し、スケトウダラHMMのG'は 5 から漸増して 60 からは増大傾向をやや大きくした。シログチHMMは弱いゲルを形成したが、スケトウダラHMMは 80 で加熱したときもゾルに近い状態であった。示差走査熱量測定(DSC)の結果、両魚種HMMともに4つの転移温度(T_m)を示したが、スケトウダラHMMの T_m はシログチの対応する T_m より低温側にあり、スケトウダラHMMの熱安定性の低さが示された。動的粘弾性測定の結果、両魚種S1ともG'は 38 から大きく増大した。また、シログチS1が形成したゲルは強固であったが、スケトウダラS1のそれは弱かった。S1のDSCでは両魚種とも凝集を示す負のピークがみられ、その温度はシログチおよびスケトウダラS1でそれぞれ 79 および 38 であった。両魚種ともにS1と既報のロッドの加熱に伴うG'変化を合わせると概ね既報のミオシンのG'変化に一致し、両魚種ミオシン間のゲル形成過程の違いがS1の違いによって説明できることが明らかになった。

以上の結果は、シログチおよびスケトウダラ普通筋ミオシンの加熱ゲル化特性の違いを説明するもので、学術上、応用上貢献するところが少なくない。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。