

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 マーラ スリルマーラ

Mala Nurilmala 氏の博士申請論文 **Studies on the structural changes of myoglobin in tuna meat discoloration** (マグロ筋肉の変色におけるミオグロビンの変性に関する研究)は、魚類ミオグロビンの構造とその安定性を詳細に検討したものである。その概要を以下に示す。

ミオグロビンの構造とその安定性に関する詳細なレビューの後、第1章では、ミナミマグロミオグロビンの遺伝子クローニングを行い、塩基配列およびその演繹アミノ酸配列を明らかにした。得られた塩基配列は大西洋および太平洋クロマグロのものと同一であり、3種でミオグロビンは同一の生理機能を果たすものと推定された。遺伝子系統樹解析から、ミナミマグロミオグロビンを含めて、サバ科魚類は独立したクラスターを形成し、アミノ酸配列の相同性は非常に高かった。アミノ酸配列解析から、ミナミマグロミオグロビンの分子量および等電点はそれぞれ 8.99 および 15628 であり、セグメント E および F の疎水性が低かった。

第2章では、マグロ類ミオグロビンの安定性を明らかにするために、異なる pH や温度におけるミオグロビンの自動酸化状態を調べることにした。まず、太平洋クロマグロ筋肉からミオグロビンを大量かつ簡便に精製する方法として、硫酸塩析分画と Native 電気泳動を併用した精製法を確立した。次いで、そのデオキシ型、オキシ型、メト型を生成し、吸収スペクトル解析を行った。異なる条件下における太平洋クロマグロオキシ型ミオグロビンの自動酸化状態を観察し、低 pH ほど自動酸化が速やかに進行すること、太平洋クロマグロミオグロビンはウマミオグロビンと比べて 2.5-3 倍速やかに自動酸化されることなどが明らかとなった。ミオグロビン変性率 (PMD, %) を用いて異なる条件下での太平洋クロマグロミオグロビンの安定性を解析したところ、75 および 80°C では、pH 5.6, 6.5 および 7.4 のいずれにおいても 10 分で PMD が 90% 以上に達した。55 および 60°C ではその変性速度は 10% 以下と緩やかとなった。65°C では、PMD は 10 分後に 32.3% に達した。一方、いずれの条件下でもウマミオグロビンは太平洋クロマグロのものより安定であった。

第3章では、キハダマグロの官能検査による品質判定結果とミオグロビンの変性状態

との相関を明らかにすることとした。専門職による官能検査結果によって得られた4つのグレードのキハダマグロ筋肉からミオグロビンを含む水溶性成分を抽出し、そのデオキシ型、オキシ型、メト型の比率を分光スペクトル解析によって導いた。その結果、メト型の比率が官能検査結果とよく相関し、メト型の比率が65%以上のものは受諾不可と判定されることが明らかとなった。一方、オキシ型の比率は高品質と相関した。また、ミオグロビンの抽出効率を測定したところ、その抽出率が官能検査結果と有意に相関し、品質の低下に伴ってミオグロビンの抽出率が低下することが明らかとなった。色差計によって解析を行ったところ、 a^* 値および赤色インデックス(a^*/b^*)がメト型の比率と高い相関を有する、すなわち、官能検査結果とよく一致することが明らかとなった。さらに、水溶性画分の SDS-PAGE 解析から、最優秀以外のキハダマグロ肉ではミオグロビンの分解物の生成が認められることも明らかとなった。

以上、ミナミマグロのミオグロビン遺伝子の構造が大西洋および太平洋クロマグロのものと同一であることを世界で初めて証明したこと、円二色性スペクトル解析や熱捜査示差熱解析など煩雑な機器分析が必要であったミオグロビンの変性の指標としてより簡便な PMD 解析を確立したこと、キハダマグロ筋肉の官能検査結果をミオグロビンの様々な生化学的指標によって科学的に裏付けたことなどから、本論文は基礎生物学的知見を提供するだけでなく、水産業上重要なマグロ類の品質評価に貢献する知見を提供した。よって審査委員一同は、本論文が博士（農学）の学位論文として必要十分な条件を満たす、価値あるものと判定した。