

コイ・アクトミオシンの加熱ゲル形成における 非酵素的戻りに及ぼすアルコールとピロリン酸塩の影響

倪 少偉, 埜澤 尚範, 関 伸夫*

北海道大学大学院水産科学研究科食品生化学研究室

(2000年11月1日受付, 2001年2月13日受理)

Effect of Alcohol and Pyrophosphate on Non-Proteolytic Modori during Thermal Gelation of Actomyosin Sol

Shaowei Ni, Hisanori Nozawa, Nobuo Seki*

Laboratory of Food Biochemistry, Graduate School of Fisheries Sciences, Hokkaido University, Hakodate 041-8611, Japan

Carp actomyosin sol containing 90 mg protein/g in 0.5 M NaCl (or 1 M NaCl) at pH 7.0 was heated from 5 to 80°C at heating rate of 2°C/min. The non-proteolytic modori (gel weakening) which occurred characteristically during actomyosin gelation was detected at 53°C by measuring storage modulus (G') of the sol. The addition of ethanol and *n*-butanol to the sol did not suppress the non-proteolytic modori but shifted the modori temperature to 51°C and 42°C, respectively. Butanol greatly increased the G' and the breaking strength of actomyosin gel formed.

The addition of pyrophosphate-Mg (PPi-Mg) dissociated actin and myosin from actomyosin, and changed the thermal gelation pattern of actomyosin sol to a myosin-like one. The change eliminated non-proteolytic modori, though PPi-Mg did not increase the G' or the breaking strength of thermally induced gel. PPi-Mg made no contribution to a great increase in the gel strength of actomyosin gel formed by a two step heating method including microbial transglutaminase-induced setting.

キーワード：アクトミオシン, ゲル, 戻り, エタノール, ブタノール, ピロリン酸塩, トランスグルタミナーゼ

魚肉に限らず筋肉タンパク質の加熱ゲル形成においては、最初に筋肉にNaClを添加して播潰し、筋原繊維タンパク質をゾル化させ、肉糊を調製する。この肉糊を加熱することによりゲルが形成される。この時のゲルの形成は本質的にミオシンが担っており、アクチンはミオシンに対して少量の時にのみミオシンのゲル強度を増大させるが、肉中のアクチン量はこれより多いためにこの効果はない。¹⁻⁶⁾ さらにミオシンの熱ゲル化反応は坐りと戻りによって著しい影響を受ける。坐り工程はゲルを強化するために取り入れられており、ゲル構造を構成するミオシンの網目を均一に分散化させる過程を含むが、^{7,8)} 実用レベルの強度を有する加熱ゲルは肉糊に内在するトランスグルタミナーゼ (TGase) によるミオシンの架橋重合によって導入される坐りとその後の加熱 (2段加熱) によって得られる。⁹⁻¹²⁾

肉糊の加熱ゲル形成に強く関わっている別の因子は戻りである。戻りは肉糊の加熱ゲル形成時に中温度 (40-60°C) で、一旦形成されたゲルの脆弱化現象で、著しい場合にはゲルが崩壊してしまう。この原因は2つあり、1つは肉糊に内在するプロテアーゼによるものである。¹³⁻¹⁸⁾ この原因の場合はプロテアーゼ阻害剤の添加で戻りは抑制され、弾力性のある強い加熱ゲルが形成できる。^{16,19)} 戻りのもう一つの原因は非プロテアーゼによるものである。この戻りはSanoら^{6,20)} によれば、アクトミオシン中のアクチンによってミオシンの加熱ゲル形成が阻害される現象であることが明らかにされている。しかし、これらの戻りは40-60°Cの温度帯で同時に起きるので、最終的に形成されたゲルの破壊試験ではこの両戻りの寄与率を見積もることは難しいが、ゲル形成過程を動的粘弾性の測定で追跡することである程度可能であ

* Tel : +81-138-40-5568, Fax : +81-138-40-5568, E-mail : seki@fish.hokudai.ac.jp

る。^{6,21)}

このようにプロテアーゼおよび非プロテアーゼによる戻りを抑制し、坐りを導入することができれば、さらに強い加熱ゲルが形成できる可能性がある。そこで、本研究では非酵素的戻りを抑制する方法としてアルコール添加の影響を調べた。アルコールはミオシン頭部 S1 と相互作用することが知られており、²²⁾ また、田口ら²³⁻²⁵⁾ はプロテアーゼによる戻りを抑制するとともに、ゲル形成能を著しく増大させることを明らかにしているが、非酵素的戻りに対する影響は不明である。一方、上述したように非酵素的戻りの原因がアクトミオシン中のアクチンとミオシンの相互作用の変化によることから、両タンパク質の解離作用が知られているピロリン酸と Mg (PPi-Mg) のこの戻りに対する影響を TGase による坐りの導入とともに検討した。

実験方法

材料 コイ *Cyprinus carpio* は函館市内の店で購入した活魚を用いた。monodansylcadaverine (MDC) は Sigma 社製、他の全ての試薬は和光純薬工業社の特級を使用した。微生物由来の TGase (MTGase) は味の素株式会社から提供された精製品を用いた。

MTGase の活性測定 MTGase の活性は Kishi らの方法²⁶⁾ に従ってアセチル化カゼインへの MDC の取り込み量を測定して求めた。アセチル化カゼインに 1 分間当たり 25°C で、1 nmol MDC を取り込ませる酵素量を 1 unit とした。用いた MTGase の比活性は 260 unit/mg であった。

筋原繊維とアクトミオシン・ゾルの調製 筋原繊維は即殺したコイ筋肉から調製した。すなわち細碎肉を 4 倍量の 0.1 M NaCl-20 mM Tris-HCl (pH 7.0) で 3 回洗浄し、氷冷下で 5 倍量の同緩衝液でホモジナイズした。2 層のガーゼで濾過し、結合組織を除き、遠心分離した。得られた沈殿を更に同緩衝液で 4 回洗浄して、最後に得られたものを筋原繊維とした。

筋原繊維に終濃度でタンパク質と塩濃度が 90 mg/g-0.5 M NaCl (または 1 M NaCl)-20 mM Tris-HCl (pH 7.0) になるように NaCl と緩衝液を加え、これを 0°C で均一に混ぜ合わせアクトミオシン・ゾルを調製した。田口ら^{23,24)} はゲル形成に及ぼすアルコールの種類と濃度について報告しているが、ここではそれを参考にして終濃度で 1% または 3% になるようにエタノールまたは *n*-ブタノールをアクトミオシン・ゾルに添加した。PPi-Mg 添加の実験においては NaOH で中和した 5 mM PPi と 1 mM MgCl₂ を添加した。MTGase による坐り反応ではアクトミオシン・ゾル 1 g 当り MTGase を 5 unit 添加した。

アクトミオシン・ゲルの調製とゲル物性の測定 アク

トミオシン・ゾルを脱気して気泡を除いた後、直径 3.7 cm、高さ 2 cm の円筒型プラスチック容器に充填し、キャップで密封した後、30°C、40°C、55°C で加温 (坐り) を行い、さらに 90°C で 20 分間加熱した。このゲルは 2 段加熱ゲルと呼び、坐りを行わない場合は直接加熱ゲルと呼ぶことにした。加熱ゲルは一度氷冷したものを室温に戻してから、2 時間後にレオメーター (レオナー RE-3305, 山電) でゲル物性を測定した。直径 5 mm の円筒型プランジャーを 0.5 mm/sec で押し込み、破断強度 (gw) と凹み (mm) を測定した。動的粘弾性の測定は先に報告¹²⁾ したように、東洋精機のレオログラフゾルのセルにゾル 1.6 g を充填して、ブレードを挿入した後、上層に蒸発防止のためにシリコンオイル (信越化学 KF-96) を数滴乗せた。直接加熱の場合 2°C/min の速度で 5°C から 80°C まで昇温加熱した。坐り過程を加えた場合は 5°C から坐り温度まで昇温させ、その温度で 1 時間 (一部の実験では 2 時間) 保持し、その後再び 2°C/min で 80°C まで温度を上げ、そのまま 80°C に 10 min 保持した (2 段加熱)。動的粘弾性の測定は正弦波振動歪み (周波数 3 Hz; 一定振幅 100 μ m) を与えて、得られた応力の貯蔵弾性率 (G') と損失弾性率 (G'') を読み取った。

SDS-PAGE Weber と Osborn の方法²⁷⁾ に従い、0.1 % SDS を含む 5 % ポリアクリルアミドディスクゲルを用い SDS-PAGE を行った。バンドの染色には 0.12 % Coomassie Brilliant Blue-R250, 50% メタノール, 10% 酢酸を用いた。

タンパク質の定量 タンパク質濃度はビウレット法²⁸⁾ で牛血清アルブミンを標準として定量した。坐りおよび加熱ゲルを SDS-尿素溶液²¹⁾ で可溶化した試料は終濃度 7.5% になるようにトリクロロ酢酸を加えてタンパク質を沈殿させ、ジエチルエーテルとエタノール混液 (1:1 v/v) で沈殿を洗浄した後、風乾した。これを 1 N NaOH で溶解させビウレット法によってタンパク質量を求めた。

結果と考察

アクトミオシンゲル形成の非酵素的戻りに及ぼすアルコールの影響 Fig. 1(a) はアクトミオシン・ゾルおよび 3 % エタノール又は 3 % ブタノールを添加したゾルを 5°C から 80°C まで毎分 2°C で温度を上げて加熱した時のゲル形成の過程を動的粘弾性の変化として調べたものである。5°C におけるアクトミオシン・ゾルの G' と G'' はアルコールの添加によって少し高い値を示した。アクトミオシン・ゾルの G' が 43°C から 53°C で急激に低下する現象は非プロテアーゼ型戻りであることが知られており、⁶⁾ この G' の谷はエタノールの存在下では 51°C で、ブタノール存在下では 42°C と低温であった。し

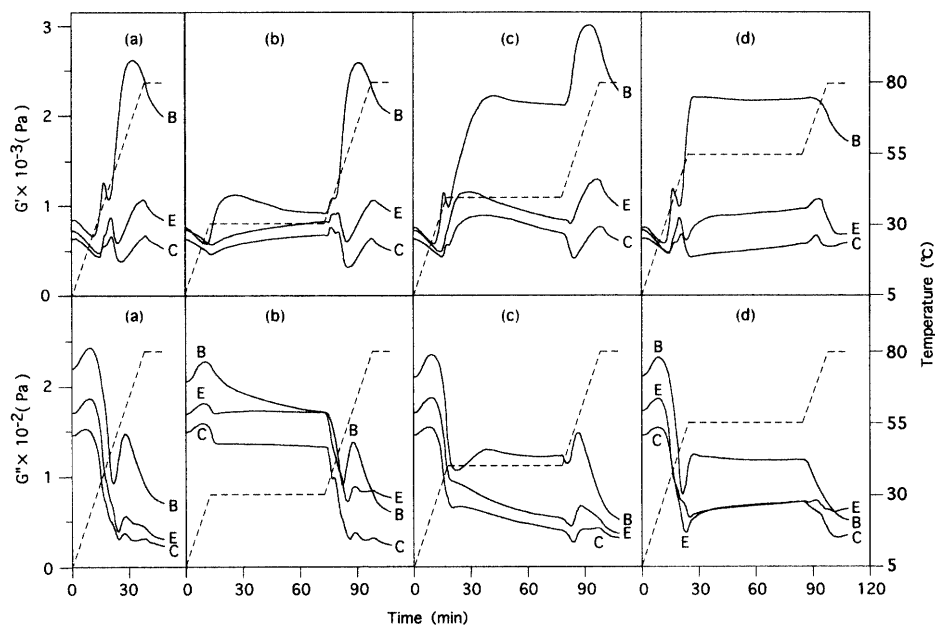


Fig. 1. Effect of alcohol on the storage modulus (G') and loss modulus (G'') of actomyosin sol during heating. (a) Carp actomyosin sol containing 90 mg protein/g in 0.5 M NaCl-20 mM Tris-HCl (pH 7.0) was heated at 2°C/min from 5 to 80°C in the absence (C) and presence of 3% ethanol (E) or 3% *n*-butanol (B). (b)–(d) The actomyosin sols were heated by a two-step heating method including the incubation at 30°C (b), 40°C (c), and 55°C (d) for 60 min., Temperature (°C).

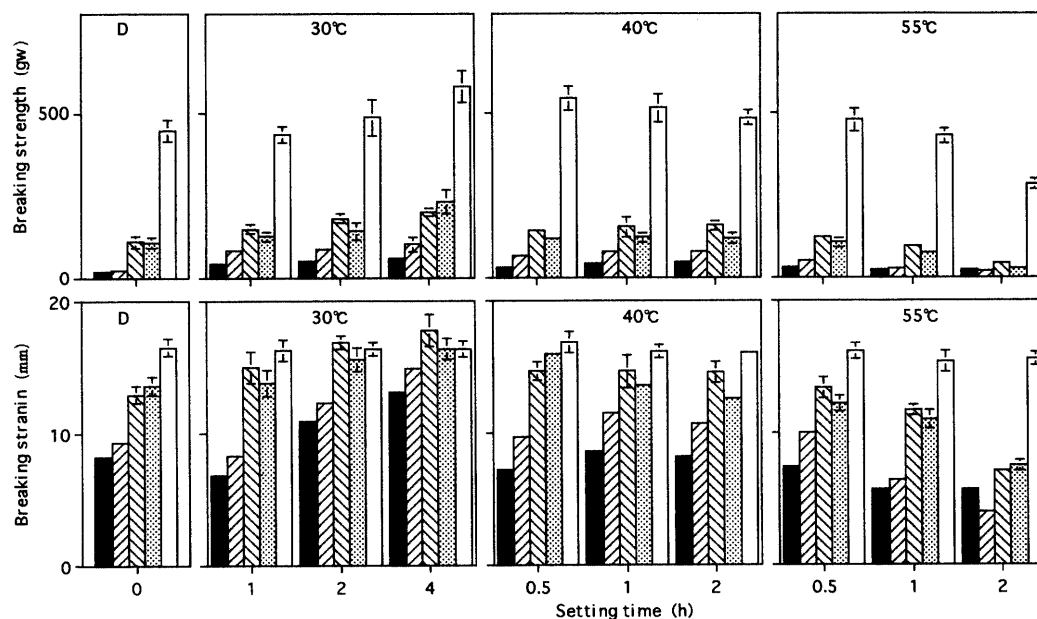


Fig. 2. Effect of alcohol on the breaking strength and strain of actomyosin gels. Actomyosin sol prepared as in Fig. 1 with and without alcohol was cooked at 90°C for 20 min after incubation at 30, 40, and 55°C for various periods. Each data value is expressed as mean $\pm$ SD from four separate experiments. D, without the incubation; ■, control without alcohol; ▨, 1% ethanol; ▩, 3% ethanol; ▤, 1% butanol; □, 3% butanol.

かし、これらのアルコール添加によって、 G' の谷は消失しないことから、アルコールのこの戻りに対する抑制効果は小さいことが明らかになった。ブタノール存在下の G' は42°Cから66°Cまで急激に増大し、66°Cから80

°Cまで少し低下したが、80°C到達時の G' は2200 Paと非常に高い値を示した。この値は後述するようにMTGaseを5 unit/g添加したときに形成されたアクトミオシン・ゲルの G' 値と同程度であった。ブタノール

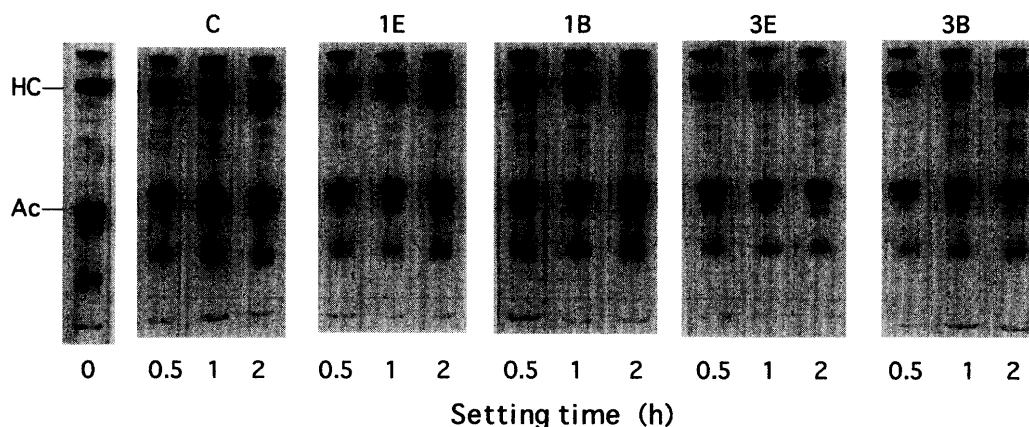


Fig. 3. Effect of alcohol on the proteolysis of actomyosin sol during incubation at 40°C. Actomyosin sols with alcohol were incubated at 40°C for 0.5, 1, and 2 h. HC, myosin heavy chain; Ac, actin; C, control without alcohol; 1E, added 1% ethanol; 1B, added 1% butanol; 3E, added 3% ethanol; 3B, added 3% butanol.

添加でゲルの G' 値を高めることができることが認められた。アクトミオシン・ゾルの G' 値もアルコールの添加で増大した。 G'' は昇温とともに増加し、25°C 付近で最大値を示した後、コントロールでは 53°C、エタノール添加では 51°C、ブタノール添加では 42°C まで急激に低下した。これらの温度は上述した G' の谷に相当していた。この後の昇温で、コントロールとエタノール添加ゾルの G'' はあまり大きな変化を示さなかったが、ブタノール添加の場合は 60°C に大きな G'' のピークが現れるのが特徴であった。このピークの現れる機構については明らかではないが、ブタノール添加のアクトミオシン・ゾルは 60–70°C で高い G' と G'' 値を示し、弾力性のある強いゲルを形成した。

次に、上述したアクトミオシン・ゾルとそれにアルコールを添加したゾルの温度を 5°C から 30, 40, 55°C まで上昇させ、それらの温度になってから 1 時間保持し、その後再び温度を上げて 2 段加熱を行った (Fig. 1, b–d)。30°C での加熱を入れても G' と G'' の変化パターンは基本的に直接加熱の場合とあまり変わらなかった。40°C 加熱を入れた場合 (Fig. 1, c) にはブタノール添加で 40°C 加熱の初期に G' が急激に増大し、70°C 付近で 3000 Pa と高い値を示した。55°C では加熱中の G' と G'' の変化はあまり起きなかった。またその後の昇温ではこれらの値はむしろ低下した (Fig. 1, d)。ここでは 30, 40, 55°C での加熱を入れた 2 段加熱をおこなってゲル形成中の G' と G'' の変化を調べたが、それぞれの変化のパターンはいずれの場合でも基本的には直接加熱の場合と類似していた。ただし、ブタノール添加ゾルの場合、30°C 加熱を入れた 2 段加熱では 42°C で起きる G' の低下、すなわち非酵素的戻りが観察されなかった。しかし、40 と 55°C の 2 段加熱ではそれらの温度になる直前にこの戻りが認められることから、30°C の加熱中に起きる

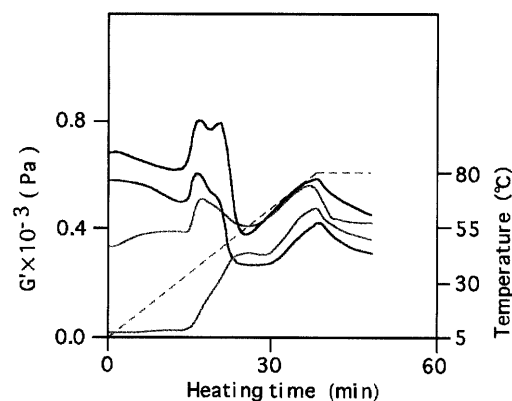


Fig. 4. Effect of PPI-Mg on the storage modulus (G') of actomyosin sol during heating. Actomyosin sols containing 90 mg protein/g were prepared in 0.5 M NaCl (black), 0.5 M NaCl-5 mM PPI-1 mM $MgCl_2$ (green), 1 M NaCl (blue), and 1 M NaCl-5 mM PPI-1 mM $MgCl_2$ (red). They were heated at 2°C/min from 5°C to 80°C., Temperature.

G' と G'' の緩やかな低下がこの戻りに相当するものと推定される。もしそうであれば、非酵素的戻りはいずれの場合にも認められたことになり、アルコール添加がこの戻りに対して大きな影響を示さないことが結論される。

アクトミオシン・ゲルの形成に及ぼすアルコール添加の影響を破壊試験で調べて Fig. 2 に示した。30°C 加熱を 4 時間まで行くとゲルの破断強度は多少増強され、凹みはかなり大きくなった。40°C, 55°C での加熱の効果は 30 分以上の加熱を行っても無いことが明らかになった。Fig. 2 に示したように 3% ブタノールを添加すると、著しくゲル物性 (破断強度と凹み) を高めたが、2 段加熱も直接加熱の場合と同程度の結果が得られ、1 段目加熱の影響は大きくなかった。

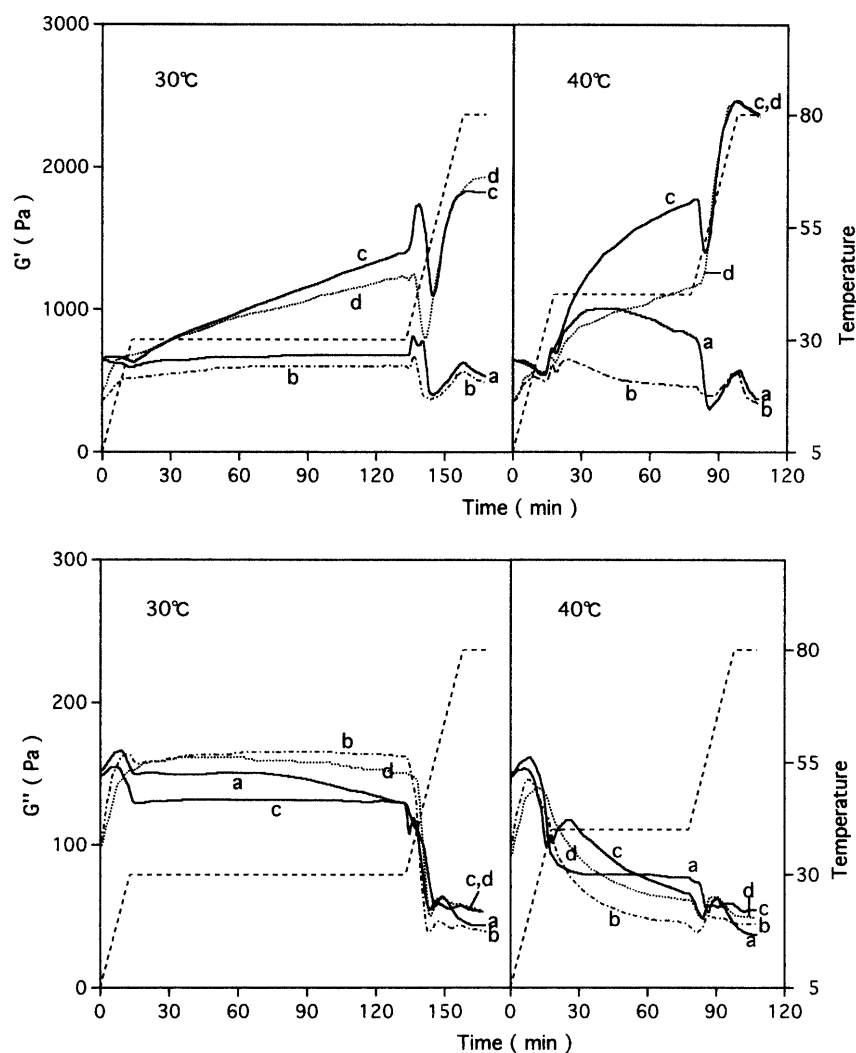


Fig. 5. Effect of microbial transglutaminase (MTGase)-induced setting on the thermal gelation of actomyosin sol in the presence of 0.5 M NaCl-PPI-Mg. Actomyosin sols containing 90 mg protein/g were prepared in 0.5 M NaCl in the absence (a) and presence of 5 mM PPI-1 mM MgCl_2 (b), 5 unit/g MTGase (c), and 5 mM PPI-1 mM MgCl_2 -5 unit/g MTGase (d). They were heated by a two-step heating method including setting at 30°C for 120 min or 40°C for 60 min. The changes of G' and G'' were recorded.

前報²¹⁾で示したように、コイのアクトミオシン中には 30°C 以下では作用しないが、40°C でミオシン重鎖を分解するプロテアーゼが混在しており、この分解は E64 でかなり抑制される。そこでこのプロテアーゼ分解に及ぼすアルコール添加の影響を見るために、2 段加熱で形成したゲルを 5% SDS-PAGE に供した。

直接加熱あるいは 30°C で 4 時間まで加熱してもミオシン重鎖は分解も架橋重合もされず、前報²¹⁾の結果が確認された（データは示していない）。40°C で加熱するとミオシン重鎖の分解が起きたが、1% および 3% エタノールと 1% ブタノールではこの分解に対する阻害作用は弱かった。一方、3% ブタノールの添加ではかなり阻害された (Fig. 3)。しかし、3% ブタノール

によるゲル強度の増強はプロテアーゼの阻害作用よりはブタノールのアクトミオシンに対する直接作用であると考えられる。なぜなら、ミオシン重鎖の分解が検出されない直接加熱や 30°C 加熱-2 段加熱ゲルも強いゲルを形成するからである。しかし、40°C 1 時間の加熱-加熱ゲルでは G' 値および破断強度が直接加熱と 30°C 加熱-加熱より多少高くなるのはブタノールによるプロテアーゼ阻害の影響が含まれている可能性が推測された。

非酵素的戻りに対するピロリン酸塩と Mg の影響
Sano ら^{6,20)} はミオシン・ゾルの昇温加熱中にはアクトミオシン・ゾルに見られるような G' の一時的低下は起きないが、アクチンを添加すると、添加量に応じて G' の低下が著しくなるという実験結果を報告し、アクトミ

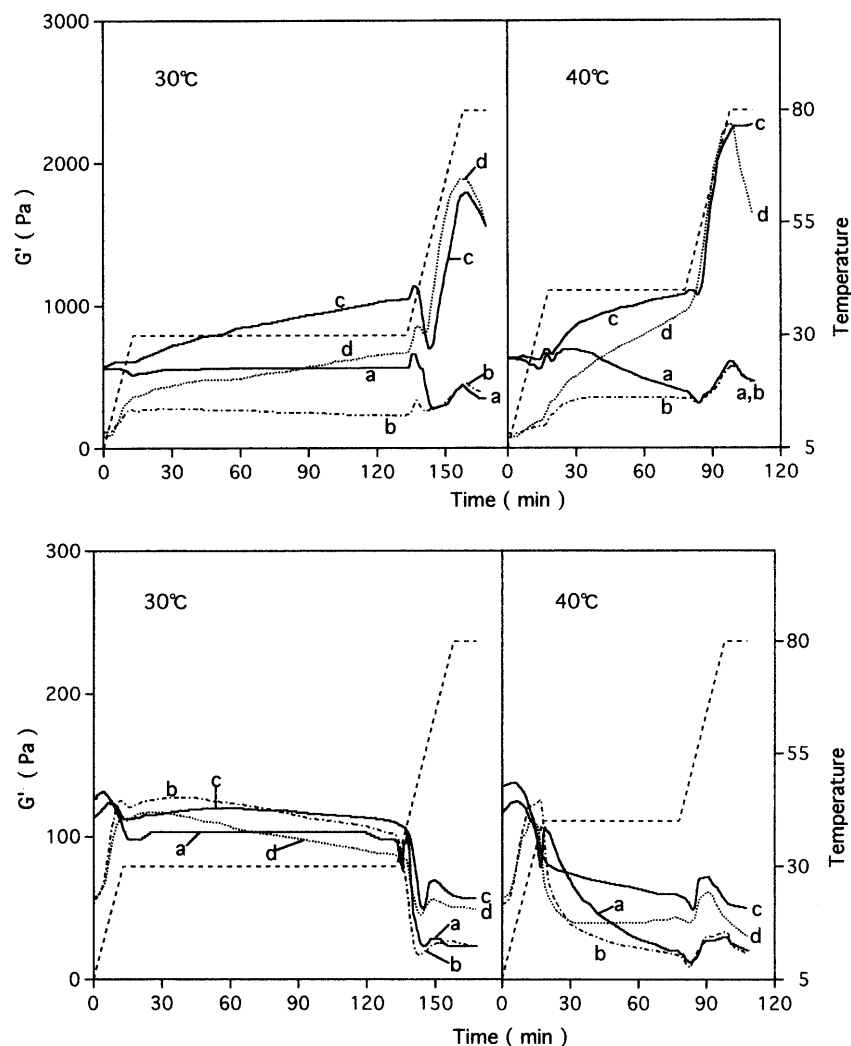


Fig. 6. Effect of MTGase-induced setting on the thermal gelation of actomyosin sol in the presence of 1 M NaCl and PPI-Mg. The experiment was carried out under the same conditions as shown in Fig. 5 except that 1 M NaCl was used in place of 0.5 M NaCl. The symbols are the same as those in Fig. 5.

オシン・ゲル形成時の一時的 G' 値の低下がアクチンによる非酵素的戻りであることを推定した。そこで、この戻りを抑制する一手段として PPI-Mg の添加によって、ミオシンとアクチンを解離してゲル化を試みた。また、高濃度の NaCl 中では解離が強くなるので、PPI-Mg 添加は 0.5 M と 1 M NaCl 中でおこなった。^{29,30)}

Fig. 4 はアクトミオシン・ゾルを 5°C から 80°C まで毎分 2°C で昇温し、直接加熱をおこなった時のゲル形成過程を動的粘弾性の測定で調べたものである。図に示したように昇温前の 5°C におけるゾルの G' 値は PPI-Mg 添加によって、著しく低下することが分かった。この低下は 0.5 M NaCl 中よりも 1 M NaCl 中で大きかった。5°C から 80°C まで昇温加熱すると、NaCl だけのアクトミオシン・ゾル（黒線、青線）では 53°C 付近に非プロテアーゼによる戻りが起きる典型的なアクトミオシンの

ゲル化パターンを示した。しかし、0.5 M NaCl 中で PPI-Mg を添加すると（緑線）、この戻りは小さくなり、さらに 1 M NaCl 中で PPI-Mg を添加した場合には（赤線）ミオシン類似のパターンとなった。しかし、80°C に到達したときの G' の値は 400–500 Pa であり、PPI-Mg 無添加の試料の場合とほとんど同じく低い値を示し、いずれの場合も弱いゲルであった。このように、PPI-Mg の添加はアクトミオシン・ゾルの昇温加熱によるゲル化パターンをアクトミオシン型からミオシン類似型に変えるので、結果的にアクトミオシン型に特徴的な G' の一時的低下（非酵素的戻り）は失われた。しかし、最終 80°C における G' 値は PPI-Mg 無添加のアクトミオシン・ゲルと同程度であった。

次に、アクトミオシン・ゾルを 30°C で 2 時間あるいは 40°C で 1 時間保持し、その後、再び 80°C まで 2°C/

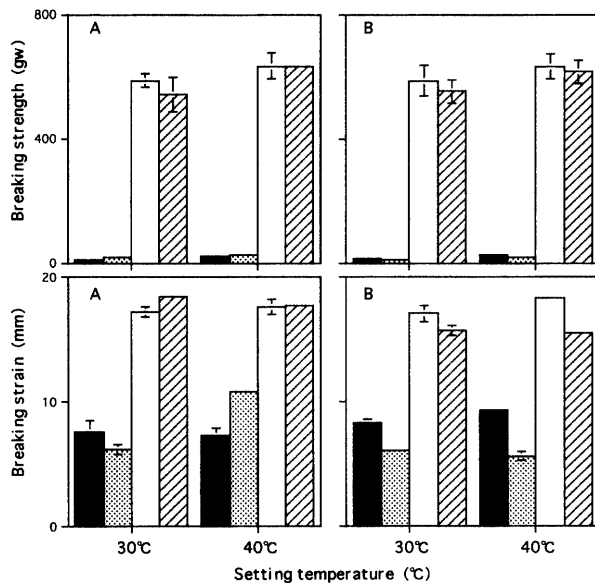


Fig. 7. Effect of MTGase-induced setting on the breaking strength and strain of actomyosin gel in the presence of PPI-Mg. Actomyosin sols containing 90 mg protein/g in 0.5 M NaCl (A) and 1 M NaCl (B) in the absence (■) and presence of 5 mM PPI-1 mM $MgCl_2$ (▨), 5 unit/g MTGase (□), or 5 mM PPI-1 mM $MgCl_2$ -5 unit/g MTGase (▤) were heated at 90 °C for 20 min after setting at 30 °C for 120 min or at 40 °C for 60 min. The breaking strength and strain of the gel formed were measured. Each data value is expressed as the mean $\pm$ SD from four separate experiments.

min で加熱し、2 段加熱の影響を調べ、その結果を Fig. 5 中に示した。0.5 M NaCl 中でのアクトミオシン・ゾル (線 a) とそれに PPI-Mg を添加したゾル (一点鎖線 b) を 2 段加熱した。30 °C の場合、両者とも G' 、 G'' とともに類似した変化パターンを示した。40 °C では PPI-Mg の添加は G' の低下を起こすが、加温中の一時的低下は小さくなった。しかし、80 °C 到達時の G' 値は両者ともに同程度の低い値であり、直接加熱ゲルとも近い値であった。したがって、2 段加熱の効果は認められなかった。次に 1 M NaCl 中での 2 段加熱における PPI-Mg 添加の影響を Fig. 6 に示した。PPI-Mg の添加は G' と G'' の値を著しく低下させ、2 段加熱中のそれらの変化パターンは無添加の場合と異なったが、最終 80 °C における G' と G'' の値は PPI-Mg 添加の影響をほとんど受けないことが明かとなった。Sano ら²⁰⁾によると、同一タンパク質濃度のコイのミオシンとアクトミオシン (ミオシン : アクチン = 0.66 : 0.34 w/w) ゾルを直接加熱して 80 °C に到達したときのゲルの G' 値はアクトミオシン・ゲルの方がミオシン・ゲルの 80 % と低くなっている。これはアクトミオシン中のミオシン含量がミオシン単独時の 66 % と低いためであると考えられる。本研究にお

ける PPI-Mg 添加ではアクトミオシンの全タンパク質濃度も、またミオシンとアクチンの比率も変化しないので、加熱ゲル形成における G' の変化パターンが PPI-Mg 添加によってアクトミオシン型からミオシン類似型に変わっても、最終 80 °C での両ゲルの G' 値に大きな相違が生じなかったものと推定される。この結果は加熱ゲル形成が本質的にミオシンに依存していることを反映したものと考えられる。西岡ら⁵⁾はゲルの破壊試験の結果から同様の推定をおこなっている。

PPI-Mg 存在下における MTGase による坐りの導入
0.5 M NaCl 中のアクトミオシン・ゾルに MTGase を 5 unit/g 添加した後、30 °C、2 時間と 40 °C、1 時間の坐り反応を行った時の G' と G'' の変化を調べた。結果を Fig. 5 (線 c) に示した。対照 (線 a) と比較して MTGase を加えると、坐り中、 G' は上昇するが、一時的な G' の低下後、再び著しく増大し、80 °C 到達時の G' の値は高く、坐り導入効果が明確に認められた。40 °C 坐りの方が最終の G' 値は高い値を示した。PPI-Mg 存在下で MTGase を添加 (点線 d) すると、当初の G' 値は大きく低下したが、30 °C 坐り中に徐々に増大し、 G' の一時的低下は小さくなり、その後の加熱で最終的に高い値となった。しかし、最終 G' 値には PPI-Mg 添加の影響はなく、無添加時と同程度の値であった。PPI-Mg 存在下における 40 °C 坐りでは、坐り後の G' の一時的低下は無くなったが、80 °C 到達時の値は PPI-Mg 無添加の場合と変わらなかった。アクトミオシン・ゾルの G'' 変化 (線 a) は MTGase の添加 (線 c) で多少変化したが、加熱終了時の値はいずれも低い値であった。MTGase と PPI-Mg 存在下 (点線 d) の G'' も同様であった。

次に 0.5 M NaCl に代えて、1 M NaCl と PPI-Mg 存在下におけるアクトミオシン・ゾルの MTGase 導入による 2 段加熱ゲル形成を Fig. 6 中に示した。PPI-Mg を添加すると加熱前のアクトミオシン・ゾルの G' と G'' 値が 0.5 M NaCl 中よりもさらに低くなったが、昇温中に MTGase で G' は増大し、80 °C に到達したときには PPI-Mg にかかわらず高い値となった。この結果は 0.5 M NaCl 中での結果と似ていた。 G'' の変化も昇温中には PPI-Mg の存否で異なる経過をたどったが、80 °C ではいずれも低い値となった。Figs. 5 と 6 に示した結果から、PPI-Mg の存在は、特に 1 M NaCl 中ではアクトミオシン・ゾルの加熱ゲル形成をアクトミオシン型からミオシン類似型に変えるので、非酵素的戻りは失われたが、MTGase による坐りの導入にはほとんど影響を与えないことが明らかになった。これは TGase による架橋形成がアクチンとミオシン間よりもミオシン重鎖間およびミオシン分子間で起こり易いために、^{31,32)} PPI-Mg によるアクチンとミオシンの解離はこの架橋形成に影響しないものと推定される。

Fig. 7 に MTGase による 2 段加熱ゲルの破断強度と凹みに及ぼす PPI-Mg 添加の影響を示したが, PPI-Mg 添加の影響はいずれにもほとんど認められなかった。1 M NaCl 存在下では PPI-Mg 添加の方がわずかに凹みと G' 値 (Fig. 6) が低かった。Fig. 7 に示した結果から, 本研究ではゾル g 当り 90 mg という高濃度のアクトミオシン量を用いたが, MTGase による坐りを導入しない場合は脆弱な加熱ゲルしか形成されなかった。

文 献

- 1) Fukazawa T, Hashimoto Y, Yasui T. Effect of some proteins on the binding quality of an experimental sausage. *J. Food Sci.* 1961; **26**: 541-549.
- 2) Yasui T, Ishioroshi M, Nakano H, Samejima K. Changes in shear modulus, ultrastructure and spin-spin relaxation times of water associated with heat-induced gelation of myosin. *J. Food Sci.* 1979; **44**: 1201-1204, 1211.
- 3) Samejima K, Hashimoto Y, Yasui T, Fukazawa T. Heat gelling properties of myosin, actin, actomyosin, and myosin subunits in a saline model system. *J. Food Sci.* 1969; **34**: 242-245.
- 4) Samejima K, Ishioroshi M, Yasui T. Relative roles of the head and tail portions of the molecule in heat-induced gelation of myosin. *J. Food Sci.* 1981; **46**: 1412-1418.
- 5) 西岡不二男, 町田 律, 志水 寛. シイラ・ミオシンのかまぼこ形成能. 日水誌 1983; **49**: 1233-1238.
- 6) Sano T, Noguchi SF, Tsuchiya T, Matsumoto JJ. Dynamic viscoelastic behavior of natural actomyosin and myosin during thermal gelation. *J. Food Sci.* 1988; **53**: 924-928.
- 7) Niwa E, Sato K, Suzuki R, Nakayama T, Hamada I. Fluorometric study of setting properties of fish flesh sol. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1981; **47**: 817-821.
- 8) 丹羽栄二. 坐り. 「魚肉ねり製品」(志水 寛編) 恒星社厚生閣, 東京, 1984; 25-35.
- 9) 関 伸夫, 宇野秀樹, 李 南赫, 木村郁夫, 豊田恭平, 藤田孝夫, 新井健一. スケトウダラ筋肉およびすり身中のトランスグルタミナーゼ活性とミオシン B との反応. 日水誌 1990; **56**: 125-132.
- 10) Kimura I, Sugimoto M, Toyota K, Seki N, Arai K, Fujita T. A study on the cross-linking reaction of myosin in kamaboko suwari gels. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1991; **57**: 1389-1396.
- 11) Kamath GG, Lanier TC, Foegeding EA, Hamann DD. Non-disulfide covalent cross-linking of myosin heavy chain in setting of Alaska pollock and Atlantic croaker surimi. *J. Food Biochem.* 1992; **26**: 151-172.
- 12) Seki N, Nozawa H, Ni S. Effect of transglutaminase on the gelation of heat-denatured surimi. *Fisheries Sci.* 1998; **64**: 959-963.
- 13) Makinodan Y, Toyohara H, Niwa E. Implication of muscle alkaline proteinase in the textural degradation of fish meat gel. *J. Food Sci.* 1985; **50**: 1351-1355.
- 14) Makinodan Y, Yokoyama Y, Kinoshita M, Toyohara H. Characterization of an alkaline proteinase of fish muscle. *Comp. Biochem. Physiol.* 1987; **87B**: 1041-1046.
- 15) Kinoshita M, Toyohara H, Shimizu Y. Diverse distribution of four distinct types of modori (gel degradation)-inducing proteinases among fish species. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1990; **56**: 1485-1492.
- 16) Toyohara H, Sakata T, Yamashita K, Kinoshita M, Shimizu Y. Degradation of oval-filefish meat gel caused by myofibrillar proteinase (s). *J. Food Sci.* 1990; **55**: 364-368.
- 17) Yamashita M, Konagaya S. Hydrolytic action of salmon cathepsins B and L to muscle structural proteins in respect of muscle softening. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1991; **57**: 1917-1922.
- 18) Ogata H, Aranishi F, Hara K, Osatomi K, Ishihara T. Proteolytic degradation of myofibrillar components by carp cathepsin L. *J. Sci. Food Agric.* 1998; **76**: 499-504.
- 19) Ni S, Nozawa H, Seki N. The combined effect of transglutaminase and protease inhibitor on the thermal gelation of actomyosin sol from carp and salmon muscles. *Fisheries Sci.* 1999; **65**: 606-612.
- 20) Sano T, Noguchi SF, Matsumoto JJ, Tsuchiya T. Role of F-actin in thermal gelation of fish actomyosin. *J. Food Sci.* 1989; **54**: 800-804.
- 21) Ni S, Nozawa H, Seki N. Effect of microbial transglutaminase on thermal gelation of carp actomyosin sol. *Fisheries Sci.* 1998; **64**: 434-438.
- 22) Komatsu H, Kanno T, Matsumoto Y, Kodama T. Alcohol-induced biphasic inhibition of myosin subfragment 1 K-EDTA-ATPase. *Biochem. Biophys. Acta* 1999; **1430**: 14-24.
- 23) Taguchi T, Tanaka M, Suzuki K. Effect of alcohols on himodori (thermally induced gel disintegration) in oval filefish meat paste. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1983; **49**: 1149-1151.
- 24) Taguchi T, Tanaka M, Suzuki K. Himodori (thermally induced disintegration) of oval filefish myosin gel. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1983; **49**: 1281-1283.
- 25) Lin W, Ishizaki S, Tanaka M, Takai R, Taguchi T, Amano K. Thermal gel-forming properties of oval filefish muscle proteins in the presence of *n*-butanol. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* 1993; **40**: 738-742.
- 26) Kishi H, Nozawa H, Seki N. Reactivity of muscle transglutaminase on carp myofibrils and myosin B. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1991; **57**: 1203-1210.
- 27) Weber K, Osborn M. The reliability of molecular weight determinations by dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. *J. Biol. Chem.* 1969; **244**: 4406-4412.
- 28) Gornall AG, Bardawill CJ, David MM. Determination of serum proteins by means of biuret reaction. *J. Biol. Chem.* 1949; **177**: 751-766.
- 29) 八木 浩, 新井健一. ピロリン酸塩と MgCl₂ の存在下で起るコイ・ミオシン B の変性機構. 日水誌 1986; **52**: 1573-1580.
- 30) 若日田篤, 新井健一. 高濃度の塩存在下におけるコイのミオシン B の変性機構. 日水誌 1984; **50**: 635-643.
- 31) Seki N, Nakahara C, Takeda H, Maruyama N, Nozawa H. Dimerization site of carp myosin heavy chains by the endogenous transglutaminase. *Fisheries Sci.* 1998; **64**: 314-319.
- 32) Nakahara C, Nozawa H, Seki N. A comparison of cross-linking of fish myofibrillar proteins by endogenous and microbial transglutaminases. *Fisheries Sci.* 1999; **65**: 138-144.