
 総 説

水産動物筋肉タンパク質の変性と制御

新 井 健 一*

(2001 年 2 月 5 日受付, 2001 年 6 月 20 日受理)

(株)全国すり身協会技術研究所顧問

Denaturation of muscular proteins from marine animals and its control

KEN-ICHI ARAI*

Scientific Adviser on National Surimi Manufacturers Association, Abashiri, Hokkaido 093-0057, Japan

It is well-known that there is a striking relationship between the thermostability of myofibrillar Ca-ATPase activity and the environmental temperature at which the fish live. The difference in thermostability among fish species is attributable to physiological adaptation of this enzymes to the environment at the molecular level.

Recently, the thermostability of the rod portion of myosin molecule relative to that of its subfragment-1 portion was found to be different among several fish species. This finding may suggest that there exists another species-specific character of fish myosin.

Consequently, preventive measures have been taken against the denaturation of myofibrillar protein caused by long-term storage of fish muscle as foodstuff. An actual fruit in the food industry can be realized in the procedure for the production of frozen surimi.

The most popular processed seafood in Japan is a surimi-based product (kamaboko). Studies indicate that the heat-induced gelation of salt-ground mince is closely related to the regular reaction between myofibrillar protein and NaCl through the thermal denaturation of myosin in it. Accordingly, it is necessary to conduct kinetic studies on the gel forming reaction, which is a useful approach to understanding the mechanism, and to predict the quality of final gel product.

キーワード：筋原繊維タンパク質，熱安定性，変性，制御，冷凍すり身，ねり製品，熱ゲル化反応，動力学的研究

魚介類の筋肉タンパク質は，日本人が摂取する動物性タンパク質のはば 4 割を占めており，また，魚介類を原料素材としたタンパク質加工食品は極めて多種多様にわたるため，研究の必要性は論を待たないところである。

著者らは，1968 年に魚介類の筋肉からその構成タンパク質成分を調製し，特性を究める研究を始めたが，最初に見出した新しい知見は，筋肉の主要構成タンパク質が，その酵素活性を指標とすれば，魚介類の棲息している環境水温に強く依存するような熱安定性を示し，寒帯性魚介類のミオシンは極めて不安定で，変性し易いという事実であった。¹⁾ この性質は同じ酵素活性を有する分子断片（サブフラグメント-1 など）やアクトミオシン

および筋原繊維にも受け継がれているため，その後における著者らの研究は，いかにタンパク質の変性を抑制するかという問題に対しても関心を払わざるを得なくなった。

1. タンパク質の構造と変性

タンパク質は，20 種類ほどのアミノ酸が多数共有結合した，いわゆるポリペプチド鎖であるが，アミノ酸の配列順序（一次構造）が持つ情報によって，らせんを組んだり（二次構造），密に折りたたまれたり（三次構造），またはそれらが集まって独特の空間的配置を持つ集合体（四次構造）を形成したり，固有の生物学的機能（生理

* Tel : 81-138-22-2321. Fax : 81-138-22-2321

機能)を果たすために都合の良い構造(コンフォメーション)をとっている。

このようなコンフォメーションの形成に寄与している結合および相互作用としては、既に①共有結合、②水素結合、③疎水性相互作用、④静電的相互作用、⑤Van der Waals 相互作用が知られている。タンパク質の変性は、一次構造に含まれるペプチド結合は切断されずに、上記した①～⑤の結合並びに相互作用に切断(および再結合)が起こり、コンフォメーションが変化することであると考えられている。変性は、タンパク質分子が新しいコンフォメーションに至るまでの複雑な現象を指し、その新しい構造は遷移的、かつ不安定である場合が多い。そして、変性の最終段階では、ポリペプチド構造は全て広がった形となり、タンパク質同士の相互作用や、タンパク質と溶媒の相互作用が不規則なものになってしまう。このようにして、本来(ネイティブ)のものに比べて、遥かに複雑な構造に変化し、その機能性が失われるに至る。²⁾

タンパク質の変性に伴って、通常、以下のような変化が起こることが良く知られている。(1)疎水性領域が表面に出るために起こる溶解性の減少。(2)保水性の変化。(3)生物学的活性(酵素活性、免疫能力など)の消失。(4)プロテアーゼの特異的作用部位となるペプチド結合が露出するため、プロテオリシスが起こり易くなる。(5)固有粘度の増大。(6)結晶化能の消失。

変性の指標の中には、タンパク質分子(または粒子)全体の性状を映している超遠心分離による沈降速度、粘度、電気的な移動(泳動)度、光学活性、熱力学特性(示差熱分析)、免疫学的特性、生物学的特性、ゲル濾過(および各種クロマトグラフィー)分析図型などがある。またタンパク質分子上の局所的または部分的な性状を強く映しているポリペプチド上にある特定の官能基の反応性(たとえば-SH基、 ϵ -NH₂基、-OH基など)や、円偏光二色性(α -ヘリックス、 β シート、ランダムコイルの存在)、酵素活性およびSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動図型(サブユニット成分組成)などがあるので、これらを測定し追跡すれば良い。

変性は可逆的、不可逆的の両方の場合があり、そのタンパク質のコンフォメーションの維持に関わっている各種の結合が切断されると、しばしば不可逆的なものになる。ただし、それぞれのタンパク質によって、その一次構造や、コンフォメーションに関与する結合が異なるため、変性作因の効力もそれに応じて異なってくる。²⁾ 因みに、食品タンパク質のゲル化を伴う加熱変性の場合を例にとると、タンパク質分子間の結合力は、ゼラチンに代表される水素結合が主体の場合、大豆タンパク質に見られるジスルフィド結合が大きな役割を示す場合、また卵白アルブミンのように疎水的相互作用が主体

となる場合、さらにこれらが組み合わさっている場合など、さまざまであり、またタンパク質の環境変化に伴って、主たる結合力が変化する場合も知られている。³⁾

変性をもたらす物理的作因としては、①加熱による変性が最も頻繁に取り上げられるが、これは変性に伴うコンフォメーションの変化の度合いが大きいからである。一般に化学反応の速度は10℃の温度上昇により2倍になるが、タンパク質の場合は数百倍以上に及ぶ場合がある。これはコンフォメーションを安定化させている結合および相互作用をもたらすエネルギーが小さいからである。また、熱変性では、ジスルフィド結合の破壊、アミノ酸残基の化学変化(セリンの脱水、グルタミンやアスパラギンの脱アミド化)や分子内もしくは分子間で新しいイソペプチド結合(例えば γ -グルタミル- ϵ -N-リジン)が形成され、栄養価の損失も起こる。その他に②低温(四次構造を成すタンパク質のサブユニットへの解離や再配列)③機械処理(剪断力による α -ヘリックスの崩壊)、④静水圧(分子の凝集)、⑤放射線(アミノ酸残基の酸化、共有結合の切断、イオン化、重合)、⑥凍結および凍結乾燥(微少解鎖と水和力の変化)などが挙げられる。

化学的作因としては、①酸と塩基(pHの変動による静電的反発と解鎖)、②金属(アルカリ、アルカリ土類、遷移金属イオンによるコンフォメーション変化)、③有機溶媒(非極性溶媒による疎水的相互作用の破壊)、④尿素やグアニジン塩による水素結合の切断、SDSなど界面活性剤による疎水領域の破壊に伴う解鎖、還元剤(システイン、 β -メルカプトエタノール、ジチオスレイトール)によるジスルフィド結合の減少などが挙げられる。⁴⁾

変性によって起こるタンパク質の性状変化は、タンパク質の種類や各変性作因、さらに環境条件によっても影響を受けるため、一般に特定のタンパク質について変性上の特徴を明らかにする研究を行う時には、なるべく数多くの指標について経時的な変化を測定することが望ましい。

2. 筋肉構造タンパク質の変性と制御

筋肉タンパク質の50%は筋原繊維、26%は筋形質タンパク質、8%は筋鞘、筋膜のコラーゲン、そして残りはミトコンドリアと筋小胞体などの膜成分である。筋原繊維タンパク質の45%はミオシンであるが、AT-Pase活性をもつ巨大分子で、重鎖(二次および三次構造)2本と、軽鎖(三次構造)4本のサブユニットから成る四次構造のタンパク質である。しかも筋肉細胞内では自動集合して太いフィラメントを構成している。続いて10~20%を占めるアクチンは球状(三次構造)タンパク質であり、それぞれ1モルのCaとATPを含む

が、筋細胞内では、自動集合して細いフィラメントを形成している。^{5,6)} 従って、ミオシンとアクチンの変性について論ずる時は、どのような構造レベルでの変性であるか、常に明らかにしておく必要がある。

通常、筋肉タンパク質のモデルとして研究に供されるのは、アクトミオシンと筋原繊維であるが、塩溶液に溶解したアクトミオシンは、繊維状アクチンに単量体のミオシンが、いわゆる矢じり構造となって結合した超分子集合体であり、筋肉細胞内の存在状態とかなり異なっている。また筋原繊維は、筋肉繊維を細かく切断した標品であり、骨格筋では、その横紋構造を保持している。ミオシンとアクチンの両フィラメントが並列に重層している点で、筋肉細胞中の構造と同じである。⁶⁾ それゆえ、これらタンパク質標品について得た変性に関わる研究結果が、単離したミオシンやアクチンについて得る成果と必ずしも合致しないのは当然のことであって、これら二つの成果の相同性について慎重な検討を行わなければならない。

またミオシン分子は、プロテオリシスによってH-メロミオシンとL-メロミオシン、あるいはサブフラグメント-1とロッドに分離することが出来る。それぞれの分子断片が親分子の生物学的機能を損傷することなく受け継いでいるとしても、これら分子断片を使用した試験結果をそのまま親分子のミオシンに置き換えるのではなく、両者の関連について慎重な検討をすることが必要である。ちなみに、Ca-ATPase 活性の熱安定性（熱変性の一次反応速度）を比較すると、アクトミオシンのそれは、ミオシンのその数倍から十数倍安定である。また、ミオシンとH-メロミオシンおよびS-1の同活性の熱安定性はほぼ同じであるが、ミオシンは塩溶液に対してのみ溶解するのに、後二者は水溶性であり、同じ環境条件で比較しなければならない。また筋原繊維とアクトミオシンは、構成するミオシンとアクチンの存在状態が異なるにも関わらず、環境条件が同じであれば、Ca-ATPase 活性の熱安定性はほぼ同じレベルになる。こうしてみると、ミオシンのATPase 活性触媒部位は、アクチンの結合によって安定化されるような構造変化をするが、ミオシンのロッド（尾部）部分の有無やフィラメントを形成しているかどうかは無関係のように見える。しかし、これはCa-ATPase 活性においてのみ見られる現象であり、Mg-ATPase 活性に関しては全く事情が異なってくる。

Mg-ATPase 活性は、アクチンの共存下（添加）で初めて発現するため、アクトミオシンATPase とか、またはアクチン活性化ミオシンATPase などと呼ばれる。⁶⁾ 通常、低塩濃度（生理的な塩濃度）下において活性を発現するため、ミオシンはフィラメントを構成している。それゆえ、ミオシンのフィラメント形成能が損傷

すると、酵素の活性部位が変性しなくても、Mg-ATPase 活性は影響を受け、時には複雑な変性の様式を示す。ちなみに加熱すると、初期に一旦その活性が増加し、その後一方的な減少に転ずる事実が以前から知られている。また、フィラメントを形成する機能は、ミオシンのロッド部位に局在し、これが塩溶解性にも大きな影響を及ぼすが、実際に、Ca-ATPase 活性は不変のまま、溶解性の減少したアクトミオシンの存在が古くから知られていた。さらに最近に至り、魚類筋原繊維の熱変性に際して、一般に極めて安定であると信じられてきたミオシンのロッドの構造がS-1のそれよりもむしろ不安定で、加熱によりプロテアーゼの攻撃を受け易いような解鎖した構造となる事例が報じられた。⁷⁾ また、この変化は溶解性の低下と一致することも認められている。なお、筋原繊維タンパク質中のミオシンの頭部と尾部の構造部位の熱変性の速度比は魚種によって異なり、前者が速いもの（スケトウタラなど）や後者が速いもの（コイなど）があり、その原因はアクチンによるS-1触媒部位の安定化度の相違にあることも、明らかになっている。

このような加熱によるミオシンなど筋原繊維タンパク質の変性様式は、魚介類の筋肉構造タンパク質の種特異性を比較生化学的見地で比べる新しいアプローチになるものとする。既に知られている種特異性は、魚介類のミオシンなど筋原繊維タンパク質の酵素活性が、その動物が棲息している環境水温に適応しているような熱安定性を示すという事実であるが、これは筋肉の運動機能が、言い換えれば、筋肉の収縮時に必要なエネルギー生産反応が環境温度に適応した結果として現われた特異性であり、低温に生活する魚介類筋肉ミオシンの酵素活性部位が熱力学的に無秩序な構造となることが、それら動物にとって好ましいことであったからに他ならない。¹⁾

ミオシン分子の頭部と尾部の熱変性速度比にもう一つの種特異性が認められることは、注目すべき事実である。⁷⁾ この成果は、筋原繊維タンパク質のような巨大なタンパク質の高次構造、並びに超分子集合体に起こる変性の様式は単純ではなく、各ドメインにおいて別々の変性反応が異なる速度で進行し得ること、言い換えれば、巨大で複雑な構造をもつタンパク質では、異なる領域においてアンバランスな速度で構造変化が起こること、しかもこのような離れた構造領域の熱安定性の相違に、それぞれの魚種の特徴の一面が現われることを示した点で極めて画期的である。

魚介類筋肉ミオシンの分子断片であるS-1やロッドの単離および特性に関する報告も、最近多くなったが、ミオシンと同様に不安定である。しかし、これによって、ミオシンの各ドメインに起こる変性に伴う情報が他のドメインに流れてゆく仕組みが解き明かされ、同時に

ミオシンの不安定な構造が分子レベルで説明できるようになるかも知れない。なお、ウサギ骨格筋などでは、S-1の構造研究は早くから行われており、重鎖の一次構造なども既に報じられている。さらに、プロテオリシスによる分子内開裂で得られる3種類のペプチドについて検討した結果から、その生物学的機能に強く関わる一次構造上の局在位置も同定されるに至っている。⁸⁾ すなわち、ミオシン重鎖は、NH₂末端からトリプシンによって切断される25, 50 および 20 K ダルトンのポリペプチドから成るが、ATPの分解部位とアクチンの結合部位、そして易反応性の ϵ -NH₂基および反応性の高い-SH₁, -SH₂基の局在位置、さらにアルカリ軽鎖、DTNB (5,5'-ジチオビス 2-ニトロ安息香酸)-軽鎖と名づけられた2本の軽鎖から成るS-1の立体構造上の位置についても想像図が示されている。しかし、魚介類に関しては、分子レベルの特性研究はほとんど行われておらず、スルメイカ外套膜筋肉のS-1に関する報告があるのみである。⁹⁾

最近、凍結に伴う変性様式は、熱変性の場合と異なり、頭部のATPase活性よりも尾部の変性が速く進行するような例がなく、塩溶解性の低下も少ないことが初めて知られた。⁷⁾ また、長期にわたる凍結期間中に起こる変性の反応様式は、Ca-ATPase活性を指標とすれば、初期はやや速く、後期は遅い一次反応に従うことも知られた。¹⁰⁾ ただし、この事実がタンパク質分子レベルでどのような原因に基づいているかは、未だ解明されていない。

上記の他に、酸-塩基 (pH)、中性塩 (NaCl など)、金属塩 (Ca, Mg など)、超高压、高温、乾燥、凍結乾燥などが作因となる変性に関しては、既に幾つかの総説が書かれているので参照して頂きたい。^{2,10)}

加熱を含め、各種作因による変性を抑制するためには、二つのアプローチが企てられるべきである。すなわち、その1は、タンパク質分子の変性の様式 (変性の分子機構) の検討、並びにその変性反応の様式と速度論的な解析を、作因条件との関わりにおいて行い、把握しておくことである。それによって、変性の進行を最小に留める条件設定が予め可能となり、変性の進行経路を調節する手段を選択することも出来る。その2は、各種の化合物を添加することによって、変性反応を阻止、または抑制する試みをすることである。言うまでもなく、この場合も添加物による変性の阻止、もしくは抑制の様式がタンパク質分子レベルで解明されること、またそれらの反応の速度論的な解析を行うことが必要である。これら二つのアプローチに関しては、既にかかなりの研究成果があり、総括されているので、参照して頂きたい。¹⁰⁻¹⁵⁾ ちなみに添加物としては、各種糖質 (糖アルコール類を含む)、アミノ酸類、有機酸類、および重合

リン酸塩は、各種タンパク質の変性を軽減するために有利な環境条件を作り出し、その結果としてタンパク質の構造を安定化すると考えられている。

3. 貯蔵、加工における魚介類筋肉タンパク質の変性と制御

1) 貯蔵における魚介類筋肉タンパク質の変性と抑制 魚肉の貯蔵時に起こるタンパク質の変性と制御に関わるモデル研究には、分離した筋原繊維、またはミンチ肉を試料とする方が好ましい。またタンパク質の品質を表す指標として何を選択するかが重要であるが、魚の個体毎に絶対値が異なるATPase活性などは、多数の個体から集めたミンチ肉を混合して供試すれば、多数回の測定が可能となる。また、実用的な見地で貯蔵性を論ずるためには、変性反応を動力学的に研究することが必要となるので、定量的な取り扱いが可能かどうかを予め検討するなどの配慮も必要となる。筋原繊維Ca-ATPase活性値は、以上の諸条件を比較的満足させる変性の指標であって、著者らが良く採用してきた経緯がある。実際に冷凍すり身中のタンパク質の変性度を良く反映しており、すり身のゲル形成能の優劣との間に良い相関性があることが知られている。¹⁶⁾ 最近では、pHスタットを使用した迅速、かつ簡便な方法なども紹介された。一方、Mg-ATPase活性は変性様式が複雑なため、未だ広く応用されてはいないが、良く吟味された条件下では非常に敏感な指標として利用できる可能性がある。これはタンパク質の溶解性などについてもおそらく同じであろうが、その品質を特定するために必要かつ十分な尺度であるかどうか、検討すべきである。

冷凍すり身は、魚介類を利用した動物性タンパク質の栄養供給源として、また加工食品の原料素材として、長期の貯蔵性を備えた素晴らしい発明品である。筋肉タンパク質の分離、精製、凍結および加熱など各工程で起こる変性を抑制する技術は、学問的にも非常に論理的に構成されていることが分かってきた。¹⁰⁻¹³⁾ すなわち、①冷凍すり身の主原料である多獲性のスケトウダラは、寒帯の底棲魚類であって、その筋肉タンパク質は不安定で変性し易いため、凍結状態で長期保存するためには、何らかの対策を講ずる必要があった。(陸上動物筋肉は相同タンパク質が安定なため、対策を講ずる必要は生じない) ②魚肉をミンチした後、水晒しすると、多量の栄養、機能性成分が流出することは避けられないが、これら水溶性成分は極めて変質し易く腐敗を導き易い。また、回遊性魚類筋肉は、乳酸生成とpH低下を招く多量のグリコーゲンや解糖系酵素類を含むので、緊急な水洗処理により、それら変性作因を除去することは当を得た処置である。水洗後、脱水して集められる筋原繊維タンパク質は、言わば、優れたゲル形成能を有するタンパク質だけ

の濃縮物に相当している。③またこれらのタンパク質を凍結し、貯蔵しておくには、その間に起こる変性を最小に留めるため、糖質と重合リン酸塩を添加する工夫がなされた。このうち、重合リン酸塩の作用は、水晒し後のミンチ肉のイオン強度と pH を調整して、タンパク質の変性速度を最小に抑えること、またこのように整えられた環境条件は糖質によるタンパク質の凍結および加熱変性に対する抑制作用を最大限に発揮させるために役立っている。^{12,15,17)} さらに、これらの添加物が担っている役割は貯蔵性の向上だけでなく、ゲル形成能およびその物性の増強など、ねり製品への加工機能にまで及ぶことも明らかになっている。

また各種魚介類のミンチ肉ブロックについて、Ca-ATPase 活性の変性速度の凍結および冷凍貯蔵温度への依存性を調べた研究も行われており、筋肉タンパク質の変性を最小に留めるために必要な環境条件や冷凍貯蔵時の温度の選択が極めて重要であることも明らかになっている。¹³⁾

Ca-ATPase 活性が変性の指標として多用される理由は、魚介類筋肉を構成する主要タンパク質の特性である上、魚介類の種類を問わず、他の多くの性質よりも速やかに変化することにあると判断される。それゆえ、タンパク質加工食品の原料素材としての品質を表すための指標に、良く適していると考えられるが、実際に冷凍すり身の等級やゲル形成能などとの間に良い相関関係があることが既に調べられている。短所は魚介類の種類や筋肉の部位によって活性の絶対値が異なることや酵素反応操作の煩雑さにあると言える。他に、塩溶性タンパク質量の減少から、冷凍貯蔵中の変性速度論的解析を行い、魚種や冷凍温度との関わりを論じた研究も既に存在するが、この指標が強い相関を示すのは筋肉の弾力ある硬さ (Toughness) であって、加工原料素材としての品質との関わりは検討されていない。

2) 加工における魚介類筋肉タンパク質の変性と制御 水産加工食品の中で最も年間生産量が多いのは、ねり製品で約 80 万 t に及ぶ。したがって、魚介類を原料としたタンパク質加工食品として最も注目を集め、枚挙の暇がないほどに研究成果が出されているのは、ねり製品の加工に関わるものである。筋肉タンパク質のゲル化様式については、現在もなお多くの人々の関心を集めている。

タンパク質のゲル化反応は、変性を伴わずに単に分散度が低下するだけの他の現象とは区別するべきであるという著述がある。一方、タンパク質の変性を伴う凝集反応、あるいはタンパク質間の相互作用がタンパク質と溶媒との間の相互作用よりも強い場合には、大きな凝固物を形成し、凝固 (Coagulation) と定義される。そして、変性した分子が凝集して、規則的なタンパク質の網目構

造を形成する場合に、これをゲル化 (gelation) と呼んでいる。¹⁸⁾

タンパク質にとってゲル化は、重要な機能特性であるが、その種類によってゲル化の最適条件が異なり、加熱、塩の添加および pH の移動などが影響することが多い。かまぼこゲルの調製の際には、加熱は必要不可欠であり、塩の添加はゲル化の速度を増加させ、その物性を高める。すなわち、かまぼこの製造は、魚肉タンパク質と食塩の間に起こる熱変性反応に他ならず、タンパク質濃度、温度域、¹⁹⁾ pH 域によって、その反応が左右され、冷却操作もまた必要である。ただし、筋原繊維タンパク質は本来難溶性であるから、完全に溶解しているかどうかは、必要不可欠な条件ではないとも言われている。¹⁸⁾

かまぼこゲルに特有な三次元のタンパク質の網目構造の形成機構は未だ充分に解明されていないが、予めタンパク質の変性やペプチドの解鎖が必要であることは、他のタンパク質の場合にも類例がある。また一般的には、タンパク質間の相互作用、タンパク質-溶媒の相互作用およびポリペプチド鎖間の引力と反発力との釣り合いからもたらされると考えられており、解鎖したポリペプチド鎖上に多く露出する疎水性基間の相互作用 (温度上昇に伴って増加)、水素結合 (冷却によって増加)、静電的相互作用 (二価陽イオンによる架橋)、またジスルフィドによる共有結合 (加熱により変化) などの引力の相対的な寄与の度合いがそれぞれのゲル物性上の特徴に関わると推論されている。¹⁸⁾ なお、スケトウダラのかまぼこゲル (および坐りゲル) を SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動に供した結果から、SDS (2 %), 尿素 (6 M), メルカプトエタノールの存在下で開裂しないような強い共有結合をしたミオシン重鎖多量体が生成する事実が認められ、また同じ原料魚のすり身からトランスグルタミナーゼ (TGase) 活性が見出されたため、かまぼこのゲル物性には、リジンとグルタミンの間に生成するイソペプチド結合が影響を及ぼすと予想された。²¹⁾ しかし、予備加熱したゲルを、続けて 90℃ で加熱する時、破断強度は著しく増強する (破断凹みは僅かに減少する) のに対し、ミオシン重鎖とその多量体の生成量にはほとんど変化が起こらないので、かまぼこのゲル物性に寄与する度合いは僅かであり、むしろ疎水性相互作用や水素結合が寄与する度合いが大きいと推測される。またジスルフィド結合の寄与する度合いも小さいと推測される結果が報じられている。²⁰⁾

スケトウダラなどの魚肉およびすり身中の TGase 活性について述べた研究は非常に多いが、市販の微生物起源 TGase を添加して調製したかまぼこゲルは、硬さだけが増強され、通常の製品とは異質のテクスチャーとなった。²⁰⁾ よって魚肉起源の酵素を分離精製して、微生物

由来の標品²¹⁾と比較検討することが望ましい。本酵素が魚肉に含まれる理由は未だに不明であり、筋肉の収縮と調節を担う各種タンパク質がその生物学的機能を果たすために、本酵素を必要とするような情報は全く見ることが出来ない。本酵素は血液、毛のう、表皮、筋肉などの組織に分布しており、特に血液凝固(フィブリン重合)の機能は著名であるから、魚肉中での起源に関してなお検討が必要であろう。イソペプチドは天然にもケラチンやフィブリン重合体中に存在している。食品タンパク質では強い加熱処理によっても、 ϵ -(γ -グルタミル) リジンや ϵ -(β -アスパルチル) リジンを生成し、ポリペプチド鎖間、鎖内に架橋を生じ、栄養的損失の原因となることは既に知られている。さらに ϵ -(γ -グルタミル) リジンはそのまま腸壁を通過して漿膜液に入り、腎臓に到達して初めて加水分解されることも報じられている。²²⁾

なお、従来スケトウダラの坐りゲル中には、SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動により、その分子サイズが 150 KDa 前後の成分(未同定の X 成分とも呼ばれる)が見出されていた。これはミオシン重鎖由来の成分で H メロミオシン様の分子断片に相当することが、最近になり同定されるに至った。²³⁾ ただし、この成分の生成量は、必ずしもゲル物性の減少と関連しない上に、塩ずりおよび予備加熱過程の肉糊中では、ミオシン重鎖多量体やアクチンなどと共に、大きな凝集体を成している事実が既に知られている。²⁴⁾ ゆえにミオシン重鎖には架橋と開裂という二種の共有結合の変化が起こるものの、かまぼこゲルに特有のテクスチャーを付与する作因は、主として塩と加熱による筋原繊維タンパク質の速やかな変性と凝集反応にあると判断される。これは従来からの考え方を支持するものである。

ミオシン重鎖の開裂に関与するタンパク質分解酵素については、カテプシン L などが既に報告されている。本酵素は自己消化酵素と呼ばれ、既に畜肉においても良く検討されている。²⁵⁾ 筋肉細胞に内在するタンパク質水分解酵素の機能性は 2 つの群に大別され、一つはタンパク質の代謝回転に関わり、もう一つはタンパク質の生理活性を発現するための重要な過程に関わっている。しかし魚介類では筋肉から食肉への変化や加工での変化に興味集中し、代謝に関わる研究は少ないように見える。一般に、肝細胞や腸粘膜細胞の生長、分裂に比べて筋肉細胞のそれは緩慢であること、肝細胞中におけるタンパク質の代謝回転の半減期が約 10 日なのに、骨格筋タンパク質はほぼ 3 ヶ月であると言われる。²⁶⁾ それゆえ関連酵素系の活性が低いレベルに留まるのであろう。最近では、死後における筋肉軟化の原因が、畜肉の場合と同じようにコラーゲンの分解によるところが大きく、その原因となるコラーゲンの代謝に関連する酵素系が関与する現象²⁷⁾にも注目が集まっている。

先に述べたように、ペプチド結合の開裂を伴うようなタンパク質の変化は本来変性現象には含まれない。しかし、魚介類、特に軟体動物などの筋肉の死後変化や加工時に起こる変化にはプロテオリシスの問題が常に関わってくるので、ここで話題として取り上げた。これら一連の分解反応を抑制するために、しばしば酵素活性の阻害剤が使われるが、これらの化合物の中には基質となるタンパク質にも影響を及ぼす可能性があるため、この点に関して別途に検討することが望ましい。

4. 今後の課題

魚介類の筋肉タンパク質について、我が国の水産界が切望している研究には二つの方向があるように思える。その 1 は、魚介類筋肉を貯蔵、加工する時に起こるタンパク質の変性様式に関わる研究であるが、異なる構造領域に起こる変性様式とそれらの関連性を解明し、原料素材の魚種特性および加工食品の品質との関わりを考察する研究である。その 2 は、原料素材および加工食品の品質を最も良く反映する性状を指標として選び、貯蔵および加工時の環境条件下で起こる変性を反応速度的に解析し、その目的を達成するための最も好ましい条件を探り、実用化に応用する研究である。言い換えれば、これらは各貯蔵、加工過程に起こるタンパク質の変性様式(分子機構)と反応型式を、意図的に調節、制御する工学的技術の開発に他ならない。

魚介類は極めて広い領域にわたる環境条件下に棲息しており、可食タンパク質の大部分を占める筋原繊維タンパク質が環境に適応した安定度を示す事実は、食品学上無視出来ない重要な問題である。これは同時に筋原繊維タンパク質の分子進化の機序をひもとく糸口になると考えられるため、強い興味を持たれる。その研究も既に行われており、遺伝子レベルにおける解析も着々と進んでいるので、将来、タンパク質工学的な応用もなされることが期待される。

文 献

- 1) 橋本昭彦, 小林章良, 新井健一. 魚類筋原繊維 Ca-AT-Pase 活性の温度安定性と環境適応. 日本誌 1982; 48: 671-684.
- 2) ジャンークラウドシェフテル, ジャン-ルイック, ドゥニーロリアン. 「食品タンパク質ハンドブック」(北畠典子訳), N.T.S, 東京. 1988; 83-93.
- 3) 北畠直文. 食品タンパク質の変性と機能特性の発現. 農化誌 1991; 65: 147-152.
- 4) ジャンークラウドシェフテル, ジャン-ルイック, ドゥニーロリアン. 「食品タンパク質ハンドブック」(北畠典子訳), N.T.S, 東京. 1988; 39-45.
- 5) 山本啓一, 丸山工作. 「筋肉」化学同人, 京都, 1986; 67-87.
- 6) 新井健一他. 「水産食品学」(須山三千三, 鴻巣章二編) 恒星社厚生閣, 東京. 2000; 21-31.

- 7) 今野久仁彦. 魚類ミオシンの変性様式に関する研究. 日水誌 1999; **65**: 382-385.
- 8) 保住 哲. ミオシン・サブフラグメント-1 (S-1) の分子内構造. 生物物理 1981; **20**: 27-34.
- 9) 小玉修嗣, 今野久仁彦, 新井健一. スルメイカ外套膜筋のミオシン頭部を構成するペプチド断片とその性質. 日水誌 1987; **56**: 329-336.
- 10) 新井健一. 食品の冷凍における品質低下とその防止法 (2.2 タンパク質). REFRIGERATION 1987; **62**: 6-13.
- 11) 新井健一他. 「水産食品学」(須山三千三, 鴻巣章二編) 恒星社厚生閣, 東京. 2000; 176-183.
- 12) 大泉 徹. 「水産加工とタンパク質の変性制御」(新井健一編) 恒星社厚生閣, 東京. 1991; 47-55.
- 13) 福田 裕. 「水産加工とタンパク質の変性制御」(新井健一編) 恒星社厚生閣, 東京. 1991; 9-16.
- 14) 若目田篤. 「水産加工とタンパク質の変性制御」(新井健一編) 恒星社厚生閣, 東京. 1991; 17-24.
- 15) 松本行司, 大泉 徹, 新井健一. コイ筋原繊維タンパク質の冷凍変性に及ぼす糖の保護効果. 日水誌 1985; **51**: 819-833.
- 16) 新井健一. 魚類筋肉タンパク質研究からみた魚の品質. 「魚の品質」(日本水産学会編) 恒星社厚生閣, 東京. 1978; 55-73.
- 17) 熊沢義之, 大奇良孝, 岩見史郎, 松本行司, 新井健一. コイ筋原繊維タンパク質の冷凍変性に対するピロリン酸塩と糖の協同保護作用. 日水誌 1990; **56**: 105-113.
- 18) ジャン-クラウドシェフテル, ジャン-ルイクック, ドゥーニーロリアン. 「食品タンパク質ハンドブック」(北畠典子訳), N.T.S, 東京. 1988; 61-69.
- 19) 沼倉忠弘, 木村郁夫, 豊田恭平, 藤田孝夫. スケトウダラ肉糊の坐りに伴うゲル強度とミオシン重鎖の変化の温度依存性. 日水誌 1990; **56**: 2035-2043.
- 20) 安永廣作. トランスグルタミナーゼおよび牛血漿による魚肉ねり製品の品質改良に関する研究. 博士学位論文, 酪農学園大学, 北海道, 1998.
- 21) 本木正雄, 梅田幸一. 水産加工とタンパク質の変性制御(新井健一編). 恒星社厚生閣, 東京. 1991; 56-63.
- 22) フィーニー RE, ウィテカー JR. 「食品栄養・薬学のための蛋白質の修飾」(荒井綜一監訳), 学会出版センター, 東京. 1984; 104-107.
- 23) 今野久仁彦, 今村浩二. スケトウダラ肉糊中に生成する 150 および 70 KD 成分の同定とその存在状態. 日水誌 2000; **66**: 869-875.
- 24) 船津保浩, 加藤 登, 新井健一. 坐りに伴うスケトウダラの肉糊中のタンパク質の塩溶解性と成分組成の変化. 日水誌 1994; **60**: 653-660.
- 25) 一島栄治. 食肉の熟成. 「食品工業と酵素」(一島栄治編) 朝倉書店, 東京. 1983; 123-130.
- 26) レーニンジャー AL. 「生命とエネルギーの科学」(藤本大三郎他訳), 化学同人, 東京. 1970; 164-167.
- 27) 豊原治彦, 佐藤健司, 畑江敬子, 山下倫明. 魚肉軟化とコラーゲン分解 (ミニシンポジウム). 日水誌 2000; **66**: 903.