

## 電気泳動法によるフグの種類鑑別

山口県衛生公害研究センター (所長: 田中一成)

数田 行雄・板垣 国昭・河村 章・遠藤 隆二  
田中 一成

### Electrophoretic Identification of Pufferfish

Ikuo KAZUTA, Kuniaki ITAGAKI, Akira KAWAMURA

Ryuji ENDO, Kazushige TANAKA

Yamaguchi Prefectural Research Institute of Health (Director: Dr. Kazushige TANAKA)

#### はじめに

フグの種類鑑別は通常、外観、色彩及び棘の有無等で行われるが、皮を除去した身欠きや刺身等では鑑別は困難である。現在、魚種特異性が高いとされている筋肉のミオゲン (水溶性タンパク質) 画分を電気泳動法によって行う鑑別方法が報告されている<sup>1,2)</sup>。

今回、著者らは、本法を応用して17種のフグの種類鑑別を検討した。更に、フグ加工品について、加工に伴うミオゲン画分の変化を検討したので報告する。

#### 材料及び試料溶液の調整

検査材料は、 $-20^{\circ}\text{C}$ で冷凍保存していた種の明らかな17種のフグ (図1参照) を用いた。半融解した魚体から体側筋1gを切り出し、乳鉢中で0.05Mバルビタール緩衝液 (pH8.6) - グリセリン等容混液とともに十分に摩砕した後全量を小試験管に移し3000rpmで10分間遠心分離した上清を試料溶液とした。

試料溶液のタンパク質濃度は、牛血清アルブミンを標準としてビュウレット法で測定した。電気泳動の方法及び条件は下記のとおりである。

1 ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (PAGE法) Ornstein, Davis<sup>3,4)</sup> の方法に準じて行った。

縦型スラブ電気泳動装置を用い、ゲル厚さ 0.7 mm、分離ゲル長は約11cm で、濃縮ゲル及び分離ゲルのアクリルアミド濃度は、それぞれ2.5%及

び7.5%とした。泳動はブロムフェノールブルー (BPB) をマーカー色素として、室温で150 V の定電圧下3時間行った。泳動終了後0.025% クーマシーブリリアントブルー R-250 (CBBR-250) でタンパク質染色を行った。

#### 2 等電点電気泳動 (IEF) 法

LKB社製の既製のゲル (5%アクリルアミド、2.4%アンフォライン、厚さ1mm、pH 3.5 ~ 9.5) を用い、水平型泳動装置で行った。電解液として、陰極に1M水酸化ナトリウム、陽極に1Mリン酸を用いた。泳動は $10^{\circ}\text{C}$ で30Wの定電力

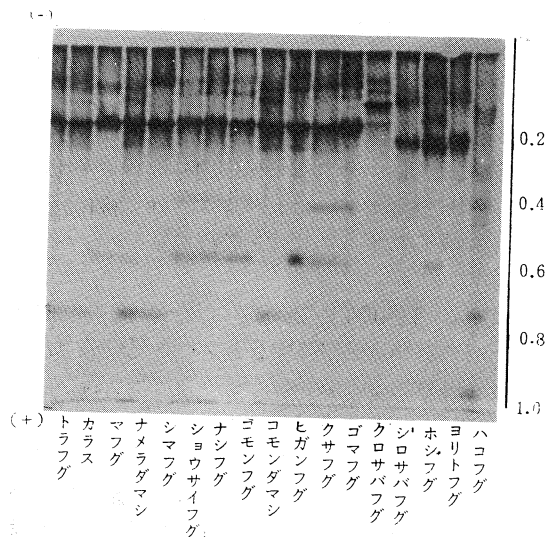


図1 PAGE法による各種フグの泳動パターン

下90分間行った。泳動終了後、11.5%トリクロロ酢酸-3.5%スルホサリチル酸水溶液でタンパク質の固定及びアンフォラインの洗い出しを行った後、CBBR-250でタンパク質染色を行った。また、等電点既知のタンパク質をマーカーとして同時に泳動し、そのバンドの位置からpHを決定した。

なお、両電気泳動とも1検体あたり100 $\mu$ gのタンパク質を用いた。泳動像はコダック社のEDPペーパーを用いて複写した<sup>5)</sup>。

**結果及び考察**

PAGE法による17種のフグの泳動パターンを図1に示す。ハコフグを除く16種のフグは、Rm(BPBの移動度を1.0としたときの各タンパク質バンドの移動度)0.2か0.25付近に濃いバンドが見られたが、その中でクロサバフグは、Rm0.15付近に最も濃いバンドが見られ、他と区別できた。シロサバフグ、ホシフグ及びヨリトフグは、Rm0.25付近に最も濃いバンドが見られ、Rm0.2付近に最も濃いバンドをもつ他12種と区別可能であり、更に、この3種のうちホシフグはRm0.1~0.2及びRm0.6のバンドの比較で他2種と区別可能であった。また、Rm0.2に濃いバンドが見られた12種については、Rm0.15付近及びRm0.4~0.75の範囲のバンドの比較により、マフグ、シマフグ、コモダマシ及びヒガンフグはそれぞれ他8種と区別可能であった。しかし、トラフグ、カラス及びナメラダマシの3種間、ショウサイフグ、ナシフグ及びコモンフグの3種間、クサフグとゴマフグの2種間、シロサバフグとヨリトフグの2種間では、それぞれほぼ同一のパターンを示し区別は困難であった。ハコフグは、特に濃いバンドは見られず、他16種とは異なったパターンであった。

なお、今回のPAGE法ではRmの低い位置にタンパク質バンドが集中しタンパク質の分離が不十分と思われるので、分離ゲル濃度及び緩衝液系について検討したい。

次に、IEF法による泳動パターンを図2に示す。PAGE法と比べてシャープに分離されたバンドが認められ、PAGE法と比べて種の鑑別はより容易であった。種の鑑別にはpH4.5付近及

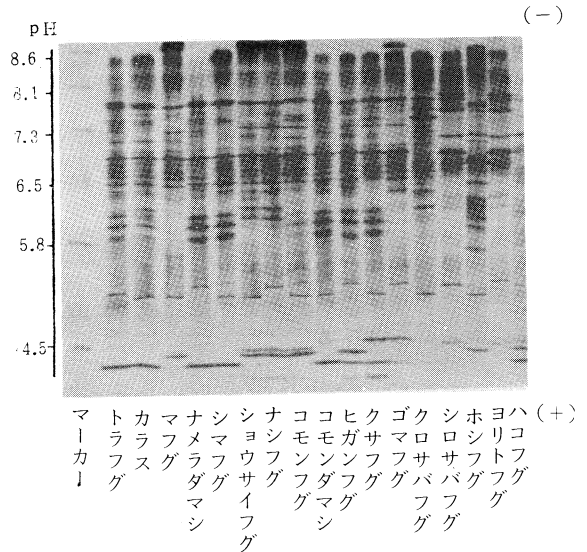
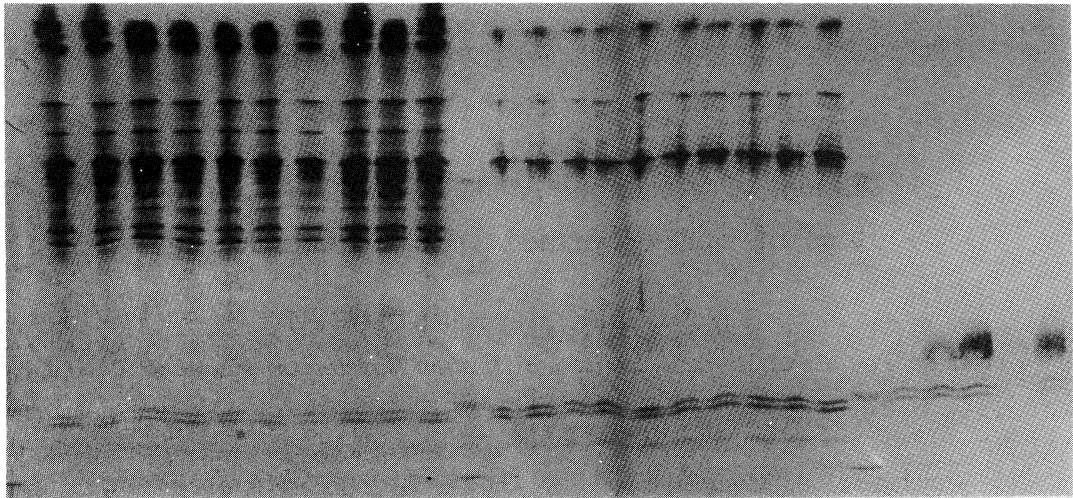


図2 IEF法による各種フグの泳動パターン

びpH5.8~8.6の範囲のバンドの比較が有用で、PAGE法で鑑別可能な種はIEF法でも鑑別可能であった。更に、PAGE法で鑑別が困難であった種についても鑑別が可能であった。すなわち、トラフグ、カラス及びナメラダマシは、pH6.0付近及びpH7.0~8.6の範囲のバンドの比較により、ショウサイフグ、ナシフグ及びコモンフグはpH6.0、pH7.3及びpH8.6付近のバンドの比較により、更に、クサフグとゴマフグはpH5.8~pH6.5及びpH8.6のバンドの比較によりそれぞれ鑑別が可能であった。しかし、シロサバフグとヨリトフグは、ほとんど同一のパターンを示し鑑別は困難と思われた。

次に、図3にナシフグ加工品のIEF法による泳動パターンを示す。試料溶液のタンパク質濃度は鮮魚と比較して一日干して約1/2、干物で約1/20に低下しており、加工工程におけるタンパク質の変性によるものと思われた。泳動パターンでは、一日干しでは鮮魚で見られた濃いバンドは認められるが、細かなバンドの確認はできなかった。また、干物では中央から陰極側のバンドはほとんど見られず、加工工程によりミオゲン画分はかなりの変化をうけるものと思われた。

以上、フグの種類鑑別に電気泳動法を適用し、今回供試した17種のフグのうちシロサバフグとヨ



鮮魚 一日干し 干物 (+)

図3 ナシフグ鮮魚及び加工品の泳動パターン

リトフグは困難であったが、他のフグについては鑑別が可能であった。今後、更に他の電気泳動法やアイソザイム分析についても検討し鑑別の精度を向上させたい。

文献

- 1) 橋本周久ほか：日水誌. 50 (1), 115 (1984)
- 2) 落合芳博ほか：食衛誌. 25 (5), 440 (1984)
- 3) Ornstein, L.: Ann. N.Y. Acad. Sci, 121, 321 (1964)
- 4) Davis, B.J.: Ann. N.Y. Acad. Sci. 121, 404 (1964)
- 5) 小林貞男ほか：生物物理化学. 31 (3), 159 (1987)