

筋原繊維タンパク質分析による加熱処理肉のフグ種鑑別

山口県衛生公害研究センター
数田行雄・河村 章・實政智恵
森重徹洋・遠藤隆二・宮村恵宣

Distinction of Pufferfish Species of Heat-treated Fish by the Analysis of Myofibrillar Proteins

Ikuo KAZUTA, Akira KAWAMURA, Chie SANEMASA,
Tetsuhiro MORISHIGE, Ryuji ENDO, Shigenori MIYAMURA

Yamaguchi Prefectural Research Institute of Health

はじめに

魚類の筋肉の水溶性タンパク質の電気泳動像が種特異の泳動パターンを示す¹⁻³⁾ことから、フグ種鑑別に電気泳動法を応用し報告してきた⁴⁻⁶⁾。この方法は生鮮肉や冷蔵・冷凍保存肉には適用できるが、加熱処理した肉では水溶性タンパク質が溶出・変性するため適用できない。一方、筋原繊維タンパク質の成分であるミオシンlight chain (ミオシンLC) は、加熱処理や乾燥に安定であること⁷⁾、魚種により分子量に差があること⁸⁾が報告されている。

今回は、加熱処理した肉でもフグ種の鑑別が可能か検討するため、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動法による筋原繊維タンパク質の分析を行った。

材料及び方法

実験材料は、-20℃で保存していたトラフグ及びサバフグ属4種(クロサバフグ、シロサバフグ、カナフグ、ドクサバフグ)の筋肉を用いた。加熱処理肉は、筋肉ブロックを沸騰湯浴中で1時間加熱したものを用いた。

筋原繊維タンパク質は、1 mMエチレンジアミン四酢酸水溶液 (pH7.0) で筋肉の水溶性タンパク質を除いた後、5倍量の0.1%ドデシル硫酸ナトリウム (SDS)、8 M尿素、1% 2-メルカプトエタノールを含む10mM トリス塩酸緩衝液 (pH7.0) で一夜抽出し、遠心分離 (16,300 × g, 10分間) 後の上清を0.1% SDSを含む10mM トリス塩酸緩衝液に透析したものをを用いた⁷⁾。また、電気泳動像のタンパク質バンドの由来を明らかにするため、関の

方法⁹⁾によりトラフグ筋肉のミオシンLCを単離した。以上の操作は全て室温で行った。試料溶液中のタンパク質濃度は、牛血清アルブミンを標準としてLowry法¹⁰⁾で測定した。

電気泳動は、Pharmacia社製ExcelGel SDS, gradient 8-18ゲルを用いて、15℃、600V、50mA、30Wの条件で80分間行った。泳動終了後0.05% Coomassie Brilliant Blue R-250でタンパク質を染色した。タンパク質バンドの分子量 (MW) は、マーカータンパク質 (Pharmacia社製LMWマーカー) の位置から推定した。

結果及び考察

図1に、筋原繊維タンパク質のSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動像を示す。

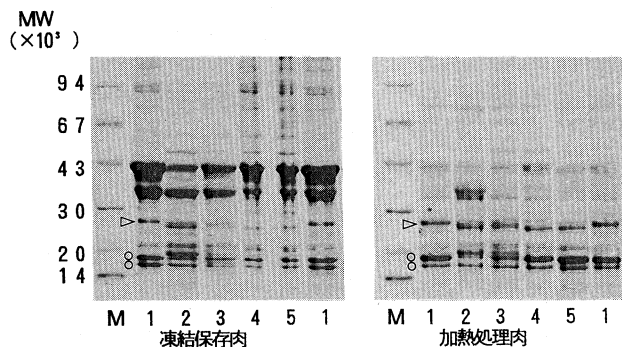


図1 筋原繊維タンパク質のSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動像

1:トラフグ 2:クロサバフグ 3:シロサバフグ
4:カナフグ 5:ドクサバフグ
M:分子量マーカー

図1

凍結保存肉ではMW約50,000以上の領域に薄い数本のバンド、MW約43,000とMW約34,000に濃いバンド及びMW26,000~17,000の領域 (□印) に数本の明確なバンドが認められた。このうちMW26,000付近のバンド (▷印) は種によって分子量に差が認められ、トラフグ (MW約26,000) が最も大きく、以下クロサバフグとシロサバフグ (MW約25,500)、カナフグとドクサバフグ (MW約25,000) の順に小さくなった。

加熱処理肉では、凍結保存肉でみられたMW約43,000とMW約34,000の濃いバンドのうちMW43,000のバンドは非常に薄くなりMW34,000のバンドはほとんど認められなかった。一方、MW26,000~17,000のバンドは、明確に認められ、MW26,000付近のバンド (▷印) は、凍結保存肉と同じくトラフグ、クロサバフグ (シロサバフグ) およびカナフグ (ドクサバフグ) で分子量に差が認められた。従って、このタンパク質バンドは、加熱処理肉の鑑別に応用できると考え、その由来を明らかにする目的でトラフグ筋肉から関の方法⁹⁾によりミオシンLCを単離した。図2に筋原繊維タンパク質とミオシンLCの泳動像を示す。

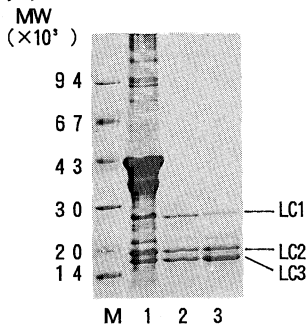


図2 トラフグ筋原繊維タンパク質のSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動像

- 1: トラフグ筋原繊維タンパク質
2: トラフグLC (凍結保存肉)
3: トラフグLC (加熱処理肉)

トラフグのミオシンLCは、凍結保存肉、加熱処理肉ともに同じ位置に3本のバンドが認められた。この3本のバンドは、他の魚種で報告⁸⁾されているLC1、LC2およびLC3と考えられる。このうちLC1の分子量は、26,000と推定される。このことから種によって分子量に差の認められたMW26,000付近のバンド (図1, ▷印) はミオシンLC1に由来するものと考えられた。なお、トラフグLC2とLC3の位置 (図1, ○印) にはサバフグ4種とも同じ位置にバンドが認められた。以上のことから、ミオシンLC1を指標としてトラフグ、クロサバフグ (シロサバフグ)、およびカナフグ (ドクサバフグ) の3群は、凍結保存肉、加熱処理肉ともに鑑別可能であった。

まとめ

フグ筋肉の筋原繊維タンパク質をSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動法で分析し、トラフグ、クロサバフグ (シロサバフグ)、及びカナフグ (ドクサバフグ) の3群は鑑別可能であった。鑑別の指標タンパク質としてミオシンLC1が有用であり、加熱処理した肉の鑑別にも適用できた。

文 献

- 1) 橋本周久ほか: 日水誌, 50, 115~118 (1984)
- 2) Nakagawa, T. et al: Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 50, 543 (1984)
- 3) 落合芳博ほか: 食衛誌, 25, 440~444 (1984)
- 4) 数田行雄ほか: 山口衛公研業報, (11), 29~31 (1990)
- 5) 数田行雄: 生物物理化学, 37, 319~323 (1993)
- 6) 数田行雄ほか: 日水誌, 59, 1749~1755 (1993)
- 7) 國領 裕: 日水誌, 44, 67~70 (1978)
- 8) 関 伸夫: 日水誌, 42, 1169~1176 (1976)
- 9) 関 伸夫: 水産食品の鑑定 (日本水産学会編) 水産学シリーズ29, 恒星社厚生閣刊, 東京, 1979, pp.78~92.
- 10) Lowry OH et al: J. Biol. Chem., 193, 265~275 (1951)