

魚肉抽出液の流動複屈折の強さと沈降分析結果との関係

誌名	日本水産學會誌
ISSN	00215392
巻/号	3610
掲載ページ	p. 1088-1091
発行年月	1970年10月

魚肉抽出液の流動複屈折の強さと 沈降分析結果との関係*

岡田 稔・神名孝一**

(1970年7月14日受理)

Intensity of Streaming Birefringence and Sedimentation of KCl Extracts of Fish Meat.

Minoru OKADA and Koichi KANNA

The measurement of streaming birefringence (SB) of 0.6 M KCl extracts was made with a simple SB detector on about 140 fish meats having various histories. The intensity of SB detected was scored by a 6 point numerical scale. Using the technique described in this paper, SB was detected in the actomyosin solution, but not in the myosin solution.

As the intensity of SB was not related to the protein contents of the extracts, the relationships between the intensity of SB and the results of sedimentation analysis of the extracts were examined. The SB increased as the sedimentation coefficients S_{20} of the actomyosin was reduced. A good correlation was also found between intensity of SB and the height of the actomyosin peak on the ultracentrifuge pattern.

直交した2枚の偏光板の間で糸状高分子物質の溶液に回転運動を与えると、視野が明るくなつて黒い十字が現われる流動複屈折とよばれる現象がみられる。かなり以前にわれわれは流動複屈折簡易検出装置を試作し、魚肉抽出液の流動複屈折を調べて、肉たんぱく質の種特異性、変性を研究するのに有用な手段であることを明らかにした。¹⁾ 以来この流動複屈折検出装置はわれわれの研究室だけではなく、魚肉たんぱく質の研究を行なう多くの研究機関で用いられるようになった。しかし、魚肉抽出液の流動複屈折の検出結果と、それに含まれているたんぱく質の性質との関係については、これまでほとんど吟味されず、たんに非対称性の大きいたんぱく質の存在の目安と考えられていたにすぎなかつた。本報では、この検出装置で調べた魚肉抽出液の流動複屈折の強さと、超遠心による沈降分析結果とを比較して、魚肉抽出液の流動複屈折の検出結果の吟味を行なつた。

実験方法

試料 われわれの研究室で最近3年間に実験した約140点の魚や他の動物肉の0.6MKCl抽出液について吟味***を行なつた。すなわち、本報でいう肉抽出液は、肉に10~20倍の0.6MKClを加えて泡止ブレンダーで破碎後、6000 r. p. m. 20~30分遠心分離して得られたもので、原料肉は魚種、鮮度がいろいろちがひ、生鮮肉の他、凍結、乾燥したものも含まれている。また、魚、ウサギ、ニワトリ肉からConnellの方法²⁾で分離、精製し、超遠心的に単一成分であると確めたミオシンおよびアクトミオシンの0.6MKCl溶液をも用いた。たんぱく質の測定はビューレット法³⁾を用いた。

流動複屈折 われわれが試作した流動複屈折検出装置¹⁾により、沈降分析を行なつたと同じ魚肉抽出液

* 東海区水産研究所業績 B 第 537 号

** 東海区水産研究所 (Tokai Reg. Fish. Res. Lab., Kachidoki, Chuo-ku Tokyo)

*** 肉の低濃度塩類溶液または水抽出液では、イカなど特別の場合を除いては、流動複屈折を示さない¹⁾。
(印刷費負担)

Table 1. Score of the intensity of streaming birefringence of 0.6 MKCl extracts of fish meat.

Score	Reference
0	The field remains dark.
1	Corners of the field light up slightly.
2	A broad indistinct cross appears.
3	A dark cross appears.
4	A distinct dark cross appears.
5	A distinct dark cross appears on gentle motion

算し S_{20} を求めた。また、その成分の peak が沈降図の中央にきたときの peak の高さ H を mm 単位で測定し、その成分の含量の目安とした。

実験結果および考察

たんぱく質濃度と SB の強さ 供試たんぱく質溶液の濃度はたんぱく質態 N 0.2~1.4 mg/ml とひろく分布していた。

Fig. 1 に供試液の SB の強さとたんぱく質濃度との関係を示した。SB がはつきり認められる (SB 3~5) 溶液のたんぱく質態 N 濃度は 0.4 mg/ml 以上であつたが、1 mg/ml 以上の濃厚溶液でも SB がはつきり検出できない場合も多く、供試液の濃度と SB の強さとの間にはつきりした相関関係は認められなかつた。供試液が種類、履歴のちがつている魚肉からの 0.6 MKCl 抽出液であり、たんぱく質組成が非常にちがつていることを考えれば、たんぱく質濃度が高くても SB が検出できない場合もあつたことは当然といえよう。

アクトミオシンの SB 一方、イシガレイから分離したアクトミオシン溶液を用いて、たんぱく質濃度と SB の強さとの関係を求めると Fig. 2 のような結果が得られ、検出された SB の強さと、たんぱく質濃度との間に、簡単な関係は認められなかつた。すなわち、たんぱく質態 N 0.6 mg/ml 以上では、非常にはつきりした SB (4) を、また 0.27 mg/ml 以上でははつきりした SB (3) を示すが、0.2 mg/ml では SB が検出されなかつた。すなわちアクトミオシン濃度の低下に伴つて SB は徐々に弱くなり、ある濃度以下になると急に SB が検出できなくなる。

アクトミオシンの SB 強い SB を示すアクトミオ

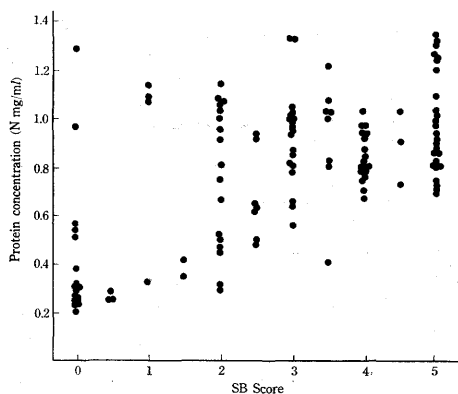


Fig. 1. Relation between the intensity of SB and the protein contents of 0.6 MKCl extracts of fish meat.

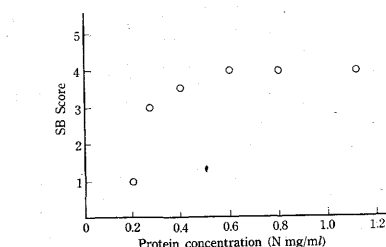


Fig. 2. Relation between the intensity of SB and the protein contents of the actomyosin solution.

シン溶液でも ATP やピロリン酸ソーダを加えたり、KCl を 1.8M 以上になるように加えて、アクトミオシンがミオシンとアクチンに解離するような条件にすると SB が検出されなくなることを認めた。また魚、ニワトリ、ウサギから分離したミオシンは、たんぱく質態 N 0.3~0.5 mg/ml の範囲の濃度では SB を示さなかつた。したがって、われわれの用いている SB 検出装置では、アクトミオシンをある濃度（たんぱく質態 N 約 0.3 mg/ml）以上含んでいる溶液でのみ、SB が検出でき、たんぱく濃度の低い場合や、糸状分子でも分子量の小さなミオシン溶液では SB は検出できないと考えられる。

沈降分析結果と SB の強さ 魚肉からアクチンがきわめて抽出されやすいため、0.6 M KCl のような中性塩溶液で魚肉からたんぱく質を抽出すると、主要成分がアクトミオシンであることはよく知られている。しかし、アクトミオシンは複雑な多分散性の高分子であり、ミオシンのように一定の物理的性質を示さない。われわれの用いた魚肉抽出液の沈降分析の結果からもアクトミオシンのピークはいくつにもわかれることがあり、また単一のピークを示しても S_{20} の値が 8~60 とひろく分散していた。

沈降図中の主成分の S_{20} と SB の強さとの関係を求めると Fig. 3 のようになる。SB の強く認められる抽出液では主成分の S_{20} が小さい傾向がはつきり認められた。すなわち SB が非常にはつきりみらる (4~5) 魚肉抽出液では主成分の S_{20} は 8~30 と小さいのに対し、SB が認められない抽出液では、5.1 万回転の遠心分離速度に整定する以前にセル底に沈降してしまうゲル区分を多量に含んでいて、 S_{20} の値が測定し得ない場合が 60% 以上であった。また測定し得ても 35~60 と極めて大きな値を示した。また SB がはつきり検出されたり (3)、ぼんやり検出される (2) 抽出液では、主成分の S_{20} の値は 20~50 で上記 2 者の中間の値をもっていた。

アクトミオシン溶液の SB と濃度との関係からわかるように (Fig. 2)、魚肉抽出液の SB の強さは主成分であるアクトミオシン含量とも密接な関係があるはずである。そこで沈降図の中央にきた際の主成分の高さ H を求めてその含量の目安とし、その対数値と SB の強さとの関係を図示すると Fig. 4 のようになる。SB が非常にはつきり検出される (4~5) 抽出液では、沈降図上に上下につらぬく針状の鋭い peak (H : 30 mm) が見られることが多く、そうでない場合でも鋭く高い山が見られた。これに対して SB の認められない抽出液の沈降図では、主成分の peak の高さは 1 mm 以下で、測定しえないような平たい低い peak を示した。

以上のように主成分の粒子の大きさと含量とは SB の強さと密接な関係があることが認められたの

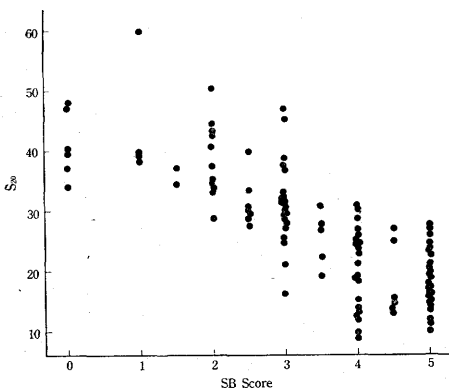


Fig. 3. Relation between the intensity of SB and the sedimentation coefficient (S_{20}) of the actomyosin components of the fish meat extracts.

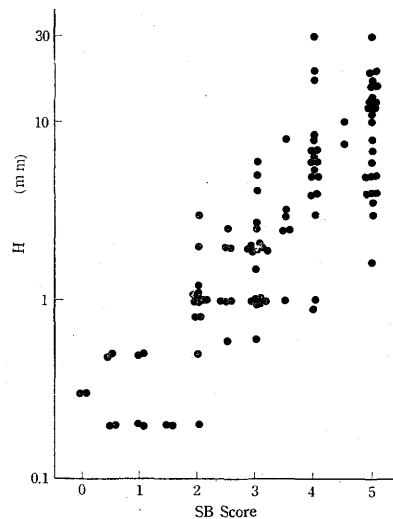


Fig. 4. Relation between the intensity of SB and the height (H) of the peaks of the actomyosin components on the ultracentrifuge patterns.

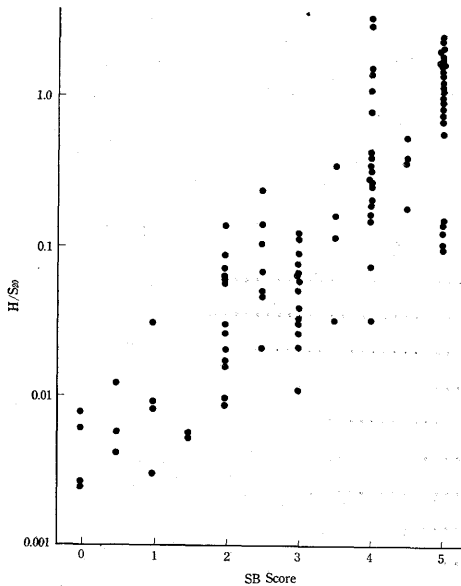


Fig. 5. Relation between the intensity of SB and sedimentation (H/S_{20}) of the actomyosin components of fish meat extracts.

られない。したがってこれら2者を一群にまとめ3段階にわけるとも考えられよう。しかし、実際のSBの観察で2と3とははっきり区別できるので、あえて一群にまとめる必要はないであろう。なお、SB検出で2と3とを区別できるのに、ほぼ同じような H/S_{20} の値をとる理由については、供試液の濁度などが関係するのではないかと考えられる。沈降図ではっきりしたアクトミオシンのpeakが認められるにもかかわらずSBが2と判定される抽出液は、いちじるしく濁っていることが観察されるからである。

流動複屈折検出装置を用いて魚肉の抽出液のSBを調べることは、ごく短時間に、手軽に行えるという利点があり、しかも上述のように検出結果からアクトミオシンの存在の有無、アクトミオン粒子の大きさなどについての知見を得ることができよう。さらに抽出液を稀釈しながらSBを調べればアクトミオン含量についても推測することができよう。

要 約

流動複屈折検出装置で測定したSBの強さと超遠心による沈降分析結果とを比較した。魚肉の0.6M KClによる抽出液のSBは、アクトミオンがある濃度以上存在している場合に検出され、その S_{20} が小さいほど、SBが強く認められた。SBの強さを4段階に区分して測定すれば、抽出液中のアクトミオシンの性状について推測することが可能である。

文 献

- 1) 岡田 稔・多田節子: 本誌, 20, 224~231 (1954).
- 2) J. J. CONNELL: *Biochem. J.*, 75, 530~538 (1960).
- 3) 梅本 滋: 本誌, 32, 427~435 (1966).

で、この両者を組合せれば、さらに相関が高まると思われた。そこで主成分の沈降係数の逆数 $1/S_{20}$ とpeakの高さHを組合せたもの H/S_{20} と、SBの強さとの関係を求めるとFig. 5のような関係が見られた。

SBの検出結果の表記法について SBの検出結果の現わし方は実験を重ねているうちに次第に細かくなり、本報告のように6段階にわけける方式を用い、さらにその中間のものにまで分類するようになってきた。しかし、沈降分析結果とSBの強さとを対比させた結果(Fig. 3~5)からみると、このように6段階にわけける必要はなく、4段階もしくは3段階にわければ良いと思われる。すなわち、本報告の0および1のようにSBが認められないものを(-), SBがなんとか認められる2を(±), SBがはっきり認められる3を(+), SBが非常にはっきり認められる4および5を(++)であらわせば良いであろう。沈降分析結果、とくに主成分(アクトミオン)の粒子量に関する S_{20} とその含量を示すHとを組合せた H/S_{20} とSBとの関係(Fig. 5)を見ると、SB2と3との間ではっきりしたちがいは見