

# 養殖ブリのヤケ肉発生に伴う筋細胞の変化に関する研究

長崎大学大学院生産科学研究科  
肖 寧

ブリ (*Seriola quinqueradiata*) 類は日本では主に生食素材として消費され、重要な魚種の一つとなっている。春から初夏に漁獲された天然ブリでは、ブリ糸状虫などの線虫が筋肉に寄生し膿泡を作るため、生食食材にならない。一方、養殖ブリでは寄生虫はほとんど検出されず、安定供給が可能のため、消費ニーズを満たしている。しかしながら、養殖ブリは夏場の高水温期に出荷し、ラウンド状態で流通される際、氷蔵にもかかわらず保存初期から筋肉が白濁して肉質が水っぽくなる“ヤケ肉”といわれる現象がしばしば発生することがある。この現象は魚体を解体するまで発生の有無が判別できないため関係業者に多大な損失を与えることとなる。ヤケ肉現象はクロマグロをはじめ、血管系に奇網構造を持ち、体幹部の温度が比較的高温である種々の赤身魚で発生が報告されている。その発生は漁獲方法と漁獲時における魚体の状態、致死条件などが大きく影響し、死後における魚肉の高温かつ低 pH が筋原線維タンパク質の変性を引き起こすと報告されている。

本研究では、養殖ブリにおけるヤケ肉発生に伴う肉質変化を細胞組織学的に検討し、①普通筋における筋細胞の微細構造及び細胞化学的  $Mg^{2+}$ -ATPase 活性の変化、②筋原線維の Z 線に着目し、Z 線の主要構成タンパク質である  $\alpha$ -アクチニンのイムノブロッティング及び免疫細胞化学の手法を用い、ヤケ肉発生に伴う筋原線維 Z 線の変化を検討した。

第 1 章では、本研究の目的と意義、本研究に関連した従来の研究および本研究の概要について述べた。

第 2 章では、養殖ブリヤケ肉発生に伴う普通筋における筋線維の微細構造と細胞化学的  $Mg^{2+}$ -ATPase 活性の変化を、電子顕微鏡を用いて対照魚の正常肉と比較するため、以下の検討を行った。ヤケ肉モデル魚として、環境水温約 27°C の海面で海面養殖されていたものを苦悶死させて用い、対照魚として、環境水温約 13°C の海面で養殖されていたものを、延髄刺殺後、脊髄破壊処理して用いた。両群共に致死後、魚体をラウンド状態で 30°C の恒温水槽中に保存した。経時的に両群試料魚の背部普通筋について、魚体温度、感覚色度  $L^*$  値、普通筋 pH、圧出水分量及び破断強度の測定を行った。

感覚色度  $L^*$  値では、対照魚は致死直後約 45、保存 4 時間目約 50 と緩やかに上昇し、ヤケ肉魚は保存 2 時間目約 63 と急激に上昇し、対照より高値を示した。普通筋 pH では、対照魚は致死直後で pH 6.6、4 時間目で pH 6.1、ヤケ肉魚は致死直後で pH 6.0 の低値を示し、4 時間目では更に低下して pH 5.6 となった。圧出水分量では、対照魚は致死直後約 14%、ヤケ肉魚は致死直後約 37%、保存期間中を通じて対照より極めて高値を示した。破断強度では、対照魚は致死直後約 570 g/cm<sup>2</sup>、4 時間目約 324 g/cm<sup>2</sup>、ヤケ肉魚は致死直後約 350 g/cm<sup>2</sup>、

4 時間目約 259 g/cm<sup>2</sup> と対照魚よりやや低値を示した。以上の実験結果は肉眼観察した明瞭な肉質の白濁や軟化などの変化と一致し、ヤケ肉が発生したと判断した。

細胞組織学的微細構造では、致死直後では両群に顕著な差が見られなかったが、ヤケ肉魚は保存中の筋原線維、筋小胞体、ミトコンドリア及び核等の筋細胞微細構造の崩壊が対照より速く、特に Z 線構造は保存 2 時間目から不連続になり、保存 4 時間目で破線状になる様相が観察された。細胞化学的 Mg<sup>2+</sup>-ATPase 活性では、対照魚は致死直後において、A 帯、筋小胞体及びその終末槽、ミトコンドリアの外膜とクリステ構造、核膜から Mg<sup>2+</sup>-ATPase 活性によるリン酸鉛の沈着が検出され、保存 4 時間目でも A 帯以外の部位から明瞭なリン酸鉛の沈着が観察できた。一方、ヤケ肉魚は致死直後ではリン酸鉛の沈着が筋小胞体の終末槽、ミトコンドリアのクリステ構造、核膜だけからみられ、保存中に徐々に減少し、4 時間目ではほとんど検出されなくなった。以上のことから、ヤケ肉発生時において各細胞内小器官における細胞化学的 Mg<sup>2+</sup>-ATPase 活性が急速に低下したことに伴う細胞内タンパク質の変性が肉質劣化を招いていると考察された。(第 2 章)

第 3 章では、第 2 章でヤケ肉魚の筋細胞微細構造の崩壊が対照魚より急速に起こり、特に Z 線構造が断片化したことを受け、Z 線構成タンパク質である  $\alpha$ -アクチニンの細胞内での挙動を免疫学的に検討するため、抗ブリ  $\alpha$ -アクチニン抗体の作製を試みた。

ブリ背部普通筋より調節タンパク質である  $\alpha$ -アクチニンを大橋らの方法で精製し、得られたタンパク質を SDS-PAGE に供した結果、分子量 110 kDa 付近に概ね単一なバンドとして検出された。精製  $\alpha$ -アクチニンを抗原として、ラットに免疫させ、抗血清より IgG 画分を調製し、ブリ  $\alpha$ -アクチニンをういた抗原カラムにより抗ブリ  $\alpha$ -アクチニン IgG を精製した。抗ブリ  $\alpha$ -アクチニン IgG を検定した結果、イムノブロットィングでは分子量 110 kDa 付近に強い抗原陽性反応が認められ、免疫電顕（金コロイド法）観察では Z 線に相当する部位に特異的抗原陽性反応（金コロイド粒子の沈着）が認められた。以上より、作製した抗ブリ  $\alpha$ -アクチニン IgG は比較的特異性が高い抗体であると考えられた。(第 3 章)

第 4 章では、SDS-PAGE を用いてヤケ肉発生に伴う普通筋筋原線維タンパク質の分解挙動を検討するとともに、抗ブリ  $\alpha$ -アクチニン IgG を用いたイムノブロットィング及び免疫電顕の手法を用いて普通筋中  $\alpha$ -アクチニンの変化を検討した。

SDS-PAGE と抗ブリ  $\alpha$ -アクチニン IgG によるイムノブロットィングでは、ヤケ肉魚における  $\alpha$ -アクチニンのバンドは致死直後から対照魚より薄く、限定分解されている様相が確認され、保存の延長に伴って低分子化した。免疫電顕観察では、 $\alpha$ -アクチニン抗原陽性反応は、致死直後において、対照魚では Z 線に相当する部位に特異的に認められたが、ヤケ肉魚では致死直後から Z 線より筋原線維の長軸方向に拡散し、保存の延長に伴って拡散しながら減少していた。以上より、 $\alpha$ -アクチニンの分解はヤケ肉発生に伴う養殖ブリ普通筋における Z 線の崩壊に関係していると示唆された。(第 4 章)

以上の結果から、養殖ブリヤケ肉発生時には筋肉内低 pH に伴い、筋細胞内小器官の崩壊と構成タンパク質の変性が生じ、これが肉質劣化を引き起こしたと考えられた。また、ヤケ肉発生に伴うタンパク質の自己消化について、自己消化酵素の点から検討することが必要と考察された。