

Changes in Muscle Proteins of Cultured Yellowtail (*Seriola quinqueradiata*)
Burnt Meat
養殖ブリやけ肉における筋肉タンパク質の変化に関する研究

長崎大学大学院生産科学研究科
梁 簫

ブリ (*Seriola quinqueradiata*) は代表的な養殖魚として知られており、主に刺身や寿司などの生食素材として消費されてきた。平成 22 年の農林水産統計データによると、天然ブリの漁獲量は 99,700 トン、養殖ブリの生産量は 139,400 トンとなっている。天然ブリは、春から初夏にかけてブリ糸状虫などの寄生虫が筋肉に寄生して膿泡を作り、生食素材として消費価値を下げるという問題があるため、夏季であっても寄生虫がほとんど検出されない養殖ブリが天然ブリを補って消費されている。しかしながら、夏季の高水温で養殖されたブリは、ラウンド状態で流通される際、筋肉が白濁化し、保水性及び透明性が失われ、テクスチャーが劣化する“やけ肉”と呼ばれる現象が発生する。この現象は、市場から刺身食材として消費される養殖ブリの価値を極めて低下させるため、関係業者に大きな損失を与えている。

これまでの研究により、やけ肉現象はクロマグロをはじめ、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、その発生には飼育水温、致死方法などが関係していることがわかっている。また、死後解糖に伴う筋肉 pH の低下が筋肉タンパク質の変性を引き起こし、やけ肉による肉質低下に関わっていることが推察されている。本研究では、筋原線維タンパク質、筋形質タンパク質及び筋基質タンパク質である I 型コラーゲンに着目し、養殖ブリやけ肉発生に伴う筋肉タンパク質の変化を明らかにすることを目的とした。

第 1 章では、本研究に関連した従来はやけ肉に関する研究及び研究の目的と概要について記述した。

第 2 章では、飼育水温、致死方法の違いによる筋原線維タンパク質の変化を調べるため、冬季（水温約 17℃）のブリをコントロールとして、夏季に水温約 29℃以上の海で飼育された“やけ肉モデル魚”を作製し、感覚色度 (L^* 値)、圧出水分量、pH を測定した。さらに、SDS-PAGE を用いて筋原線維タンパク質、特にミオシン重鎖 (MHC) の変化を解析した。また、やけ肉発生に伴う筋原線維タンパク質の変化における各種プロテアーゼ阻害剤の影響を検討した。

夏季飼育水温約 29℃ において、苦悶死ブリは保存 2 時間後に、即殺死ブリは保存 4 時間後にやけ肉 ($L^* \geq 55$) が起こった。飼育水温 17℃ において、苦悶死ブリは保存 6 時間後にやけ肉が起こったが、即殺死ブリは 12 時間保存してもやけ肉は起こらなかった。

やけ肉発生に伴い、MHC は他の筋原線維タンパク質に比べ分解され、その分解に筋原線維結合型 EDTA 感受性プロテアーゼ (MBESP) が関与することが示唆された。MBESP の最適 pH は 5.0、最適温度は 50-60°C であった。

第 3 章では、養殖ブリやけ肉発生に伴う筋形質タンパク質の変化を明らかにするため、水温 30°C 以上で飼育して“やけ肉モデル魚”を作製し、SDS-PAGE 及び二次元電気泳動法により、やけ肉発生に伴う筋形質タンパク質の変化を調べた。また、減少したタンパク質については MALDI-QIT-TOFMS 法による同定を試みた。

SDS-PAGE の結果より、やけ肉発生に伴い筋形質画分中の分子量約 166 kDa、97 kDa、40 kDa 及び 26 kDa のタンパク質バンドが減少することが分かった。その中で、約 97 kDa の筋形質タンパク質は、MALDI-QIT-TOFMS 法によりグリコーゲンホスホリラーゼ (PYGM) と同定された。分子量約 40~45 kDa のバンドには、数種類のタンパク質が混在しているためか、タンパク質の同定ができなかった。

そこで、やけ肉発生に伴う筋形質タンパク質の変化の詳細を二次元電気泳動法及び MALDI-QIT-TOFMS 法で調べたところ、ホスホグリセリン酸キナーゼ (PGK)、クレアチンキナーゼ、グリセルアルデヒド三リン酸脱水素酵素 (GAPDH)、乳酸脱水素酵素 (LDH) 及びアデニル酸キナーゼが、養殖ブリやけ肉発生時に減少することが分かった。また、やけ肉発生時の筋肉 pH (5.8) では、高いカテプシン B 様酵素活性が認められたが、筋形質タンパク質の減少はシステインプロテアーゼ阻害剤 (E-64) や他のプロテアーゼ阻害剤にもあまり抑制されなかった。一方、やけ肉発生に伴う筋原線維画分のタンパク質量の変化を調べたところ、筋形質タンパク質である PYGM、GAPDH 及びアルドラーゼが増加することが分かった。従って、養殖ブリやけ肉発生時には、筋形質画分中の一部のタンパク質は不溶化し、筋原線維画分に移行していることが考えられた。

第 4 章では、第 3 章で作成したやけ肉モデル魚の筋肉から、筋基質タンパク質である I 型コラーゲンを抽出し、その変化について検討した。

SDS-PAGE の結果により、やけ肉発生に伴う I 型コラーゲンの $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$ 鎖及び β 鎖の減少が見られた。また、この現象をデンストメトリー分析した結果では、やけ肉が発生すると、I 型コラーゲンの β 鎖は約 37%、 $\alpha 1$ 鎖は約 35%、 $\alpha 2$ 鎖は約 33% が減少することが認められた。

以上の結果より、養殖ブリやけ肉発生時には、高体温及び急激的な解糖による筋肉 pH の低下のため、筋形質タンパク質の一部が不溶化すること、MBESP により MHC など筋原線維タンパク質が分解されること、また、I 型コラーゲンが分解されることなどの総合的な要因により、肉質低下を引き起こすものと考えられた。今後、筋形質タンパク質の不溶化のメカニズム解明や MBESP の機能と構造を明らかにすることにより、やけ肉発生に伴う肉質低下のメカニズムの解明が期待される。