

氏名	牧 之 段 保 夫 まきの だん やす お
学位の種類	農 学 博 士
学位記番号	論 農 博 第 306 号
学位授与の日付	昭 和 46 年 5 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 5 条 第 2 項 該 当
学位論文題目	<b>STUDIES ON FISH MUSCLE PROTEASE</b> (魚筋肉のプロテアーゼに関する研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 池 田 静 徳    教 授 木 俣 正 夫    教 授 秦 忠 夫

### 論 文 内 容 の 要 旨

魚筋肉のプロテアーゼは魚の死後における肉タンパクの自己消化に関与するので、魚の保蔵・加工に影響する重要な酵素であるにもかかわらず、この酵素の諸性質の詳細はまだほとんどかわっていない。

著者は、まず12種類の魚の筋肉から調製した粗酵素液を用いてそれぞれのプロテアーゼの性質を調べた。その結果、魚筋肉には従来よりその存在が知られている酸性域で活性のあるプロテアーゼの他に、アルカリ性域でよく作用する別のプロテアーゼが存在するを見いだした。しかも、前者は測定した限りでは各種の魚類に広く分布するが、後者のアルカリ性域でよく作用するプロテアーゼは、マダイ・エソ・グチなどの白身魚に活性が高く、マサバ・イワシ・ブリなどの赤身魚にはほとんど活性がないことを知った。

そこで著者は、これらの2種のプロテアーゼを魚肉から抽出してできるだけ精製し、酵素学的諸性質を比較検討した。

酸性域でよく作用するプロテアーゼは、コイ筋肉の 0.5%KCl 抽出液から酸・熱処理—硫酸分画—アセトン分画—セファデックス G-200 クロマトグラフィーにより比活度で約 200 倍に精製された。本酵素の最適 pH は 2.8~3.0、最適温度は 50°C 付近である。その他、賦活剤・阻害剤の効果および基質特異性などを検討した結果から、本酵素はカテプシン D に類別されるべきものと結論した。温度—活性曲線および筋肉タンパク質に対する作用力から、本酵素は魚肉の自己消化に重要な役割を有するものと推論した。

一方、アルカリ性域でよく作用するプロテアーゼは、同じくコイ筋肉 0.5% KCl の抽出液から熱処理—硫酸分画—セファデックス G-200 クロマトグラフィーにより比活度で約 100 倍に精製された。本酵素の最適 pH は 8.0、最適温度は 65°C 付近である。SH 化合物により賦活され、p-CMB, Zn<sup>++</sup>, Co<sup>++</sup>, Ni<sup>++</sup> により阻害される。その他、基質特異性などを検討した結果から、本酵素は新しい型のカテプシンであろうという結論に達した。この酵素の特徴は、50~60°C に加熱してもかなり安定であるが 40°C 以下の温度ではほとんど活性を示さないことである。そこで著者は、本酵素が水産ねり製品の製造における「火もどり」の発現に関係するのではないかと考え、詳細に検討した結果、この酵素による魚肉タンパク

の分解が「火もどり」すなわち 60~65°C で魚肉すり身を加熱したとき魚肉のゲル形成能（足）が失われることの原因であることを認めた。

なお、これまで陸上動物の臓器に認められている カテプシン A, B, C もまた魚筋肉に存在することを明らかにした。

### 論文審査の結果の要旨

魚類のプロテアーゼに関する研究は、これまで消化器官に存在するタンパク分解酵素についてなされたものがほとんどであって、筋肉のプロテアーゼに関する知見はきわめて少ない。魚筋肉のプロテアーゼは魚の死後における肉タンパクの自己消化に関与するので、この酵素の性質を明らかにすることは、魚の保蔵・加工に有益な示唆を与えることになる。

このような観点から、本論文の著者は、まず死後における肉質の変化が早い赤身魚と、死後変化がそれほど早くない白身魚について、それぞれの筋肉プロテアーゼの性質を比較している。その結果、従来よりその存在が知られている酸性域（最適 pH 2.8~3.0）でよく作用するプロテアーゼは赤身魚にも白身魚にも広く分布するが、その他にアルカリ性域（最適 pH 8.0）でよく作用し、しかも最適温度がかなり高い（65°C 付近）新しい型のプロテアーゼが、とくに白身魚に存在するを見いだした。次いで、できるだけ精製したこれらの酵素について酵素学的諸性質を詳細に比較検討している。これまで魚筋肉中のプロテアーゼは単離精製が困難とされていたため、最適 pH の異なる 2 種のプロテアーゼをかなり高度に精製して、これらの酵素学的諸性質を明らかにしたことは高く評価されてよい。また、水産ねり製品の製造において、これまで原因が不明であった「火もどり」の発現に、このアルカリ性域でよく作用し最適温度の高いプロテアーゼが関係することも明らかにしている。

以上のように本研究は、魚筋肉プロテアーゼの性質とその役割に関して貴重な新知見を与えたものであり、水産利用学の分野に貢献することが大きい。

よって、本論文は農学博士の学位論文として価値あるものと認める。