

1.4.2 ホタテガイ稚貝の足糸部異常部位の化学成分について

加工利用部 成田正直・蛸谷幸司・今村琢磨

(1) 目的

足糸部異常貝の着色部について成分分析を行い、足糸部異常の発生機構（原因）を推定する。

(2) 経過の概要

昨年度は能取湖から採取した稚貝について足糸湾入部の着色部分（以下、「異常部位」）の全窒素、全アミノ酸組成の分析を行い、正常部位（着色のない殻）との比較を行った。今年度は、昨年度と産地の異なる遠別から採取した稚貝について同様に成分分析を行って昨年度の結果と比較した。また、異常部位生成に関与する器官を推定するために、異常部位の近辺に存在する組織である外套膜、足についても全アミノ酸組成の分析を行った。また、SDS-PAGEにより、異常部位、外套膜、足におけるタンパク質の分子量分布を調べた。さらに、異常部位が黒色化する原因のひとつとしてメラニンの生成を想定し、異常部位のメラニンを定量して正常部位と比較した。

ア 試料及び試験方法

分析用試料は次のように調製した。遠別で採取した中間育成後の稚貝（異常貝の割合、約7%）を用いて、貝殻から異常部位をスパチュラで削り取り分析用試料約680mgを得た。これを乳鉢でよく混合、摩砕した。外套膜及び足は紋別産生鮮4年貝から採取したものをを用いた。昨年と同様の方法で外套膜、足についてそれぞれ水抽出液を得た。

全窒素はマイクロケルダール法、全アミノ酸組成は塩酸加水分解後、HPLCにより測定した。また、異常部位、外套膜及び足の水抽出液は直接、8M尿素-2%メルカプトエタールで可溶化して、SDS-PAGEに供した。なお、異常部位は予め12N塩酸にて脱灰処理を行ってから可溶化に供した。また、メラニンの定量は、藤田保健衛生大学の伊藤祥輔先生、若松一雅先生に依頼した。

(3) 得られた結果

異常部位の全窒素は正常部位が0.1%であるの

に対し、4.3%と43倍であった。全窒素に6.25を乗じて求めた粗タンパク質は、全アミノ酸組成の総量とほぼ一致していた。これらから異常部位の着色物質はタンパク質由来である可能性が高いと考えられた（表1）。

全アミノ酸組成は、正常部位ではアスパラギン酸(Asp)、セリン(Ser)、グリシン(Gly)の3種が主体で、従来から報告されている貝殻構成タンパク質(コンキオリン)とほぼ一致した。異常部位では、上記のほか、トレオニン(Thr)、グルタミン酸(Glu)、プロリン(Pro)、アラニン(Ala)、バリン(Val)、ロイシン(Leu)、アルギニン(Arg)などのアミノ酸から構成されていた。また、エキスに由来するタウリン(Tau)とコラーゲンに由来するヒドロキシプロリン(Hypro)は検出されなかった。この結果は昨年と一致しており(図は昨年度と同様であるため省略)、異常部形成に関しては低分子エキス成分や、足糸、組織の直接的な混入の可能性は低いと考えられた(表1)。

表1 正常部位及び異常部位の成分

	全窒素 (%)	粗タンパク質 (%)	アミノ酸総量 (%)
正常部位	0.1	0.6	0.7
異常部位	4.3	27.1	25.4

外套膜及び足の水抽出液のタンパク構成アミノ酸組成は、足糸部異常部位の全アミノ酸組成に比較的類似していたが、Glu, Pro, チロシン(Tyr)などの組成比で違いが認められ、完全には一致していなかった(図1, 2)。

SDS-PAGEの結果、75kDa, 49kDa, 44kDa, 30kDa, 20kDa付近に異常部位と外套膜及び足に共通のバンドが認められた。しかし、外套膜と足は類似したバンドを示していること、異常部位には外套膜及び足とは異なるバンドが複数みられることなどから、これからは、異常部の形成と外套膜及び足との関係は明らかでなく、さらに詳細な検討が必要と考えられた(図3)。

メラニン分析の結果、異常部位は34ng/mgのユ

ーメラニン, 0.5 ng/mg のフェオメラニンが検出され, いずれも正常部位より高い値を示した。しかし, 検出量がナノオーダーであることから, 黒色化の主な原因をメラニンの蓄積と断定するまでには至らなかった。しかし, 異常部は正常部に比べ PB-DOPA (タンパク結合型 DOPA) が多いことから, 異常部位ではタンパク質の酸化が促進されていることが推定され, 着色との関連が示唆された。

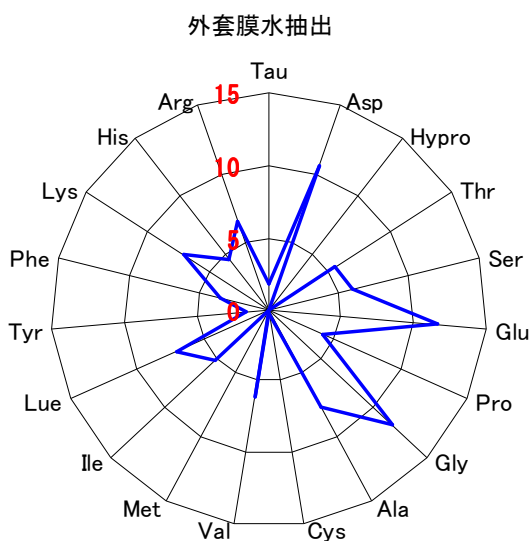


図1 外套膜水抽出液の全アミノ酸組成 (軸はモル比による%を表す)

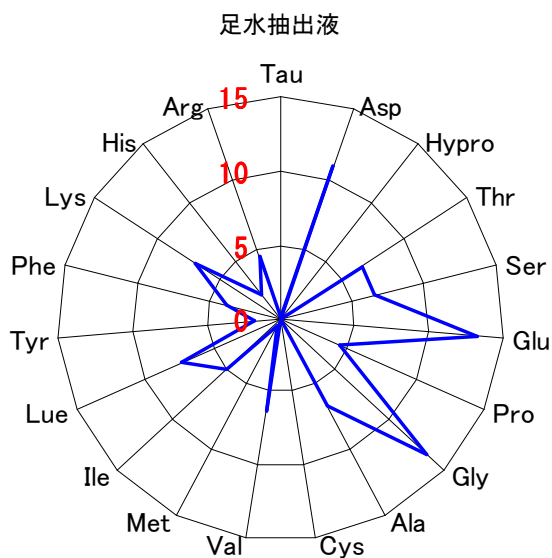


図2 足水抽出液の全アミノ酸組成 (軸はモル比による%を表す)

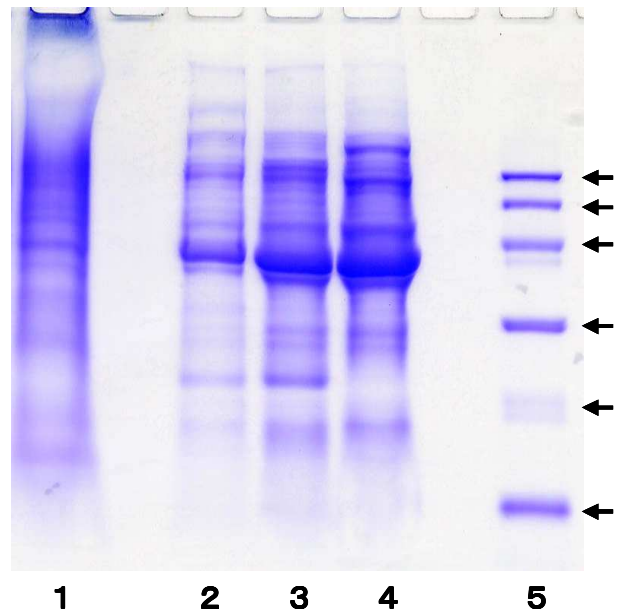


図3 異常部位, 外套膜, 足の電気泳動図

レーン1: 異常部位。レーン2: 外套膜体液。レーン3: 外套膜水抽出液。レーン4: 足水抽出液。レーン5: 分子量マーカー。矢印は上から 97.0kDa, 66.0 kDa, 45.0 kDa, 30.0 kDa, 20.1 kDa, 14.4 kDa を示す。ゲル濃度 15%。

表2 正常部位及び異常部位のメラニン

	ユーメラニン	フェオメラニン	PB-DOPA
	(ng/mg)		
正常部位	< 1	< 0.1	0.4
異常部位	34	0.5	32.2

PB-DOPA: タンパク質結合型ジオキシフェニルアラニン