

分子間架橋導入による食品タンパク質ゲルの改質とその特性解析： トランスグルタミナーゼが鶏，魚ならびに その混合アクトミオシン溶液の加熱ゲル化に及ぼす影響

岩崎 智仁・渡邊 毅・森谷 紀治
船津 保浩・山本 克博

Transglutaminase Affects Gel Properties of Actomyosin from Chicken and Fishes

Tomohito IWASAKI, Takeshi WATANABE, Noriharu MORIYA,
Yasuhiro FUNATSU and Katsuhiko YAMAMOTO
(Accepted 19 January 2012)

緒 論

日本では毎年1億4千万羽前後の採卵鶏が飼育されており、生後550日を迎えたものは、採卵廃鶏として処分される。一部の採卵廃鶏は肉団子やスープ、レトルト食品等に利用されているが、廃鶏は肉用鶏に比べて肉質が硬く産肉性も乏しいため、そのほとんどは用途がなく産業廃棄物として扱われている。このような現状は貴重なタンパク質資源を無駄にしており、その解決のために廃鶏肉を有効活用する手段が求められている。

一方、水産加工品には数々の種類があり、練り製品はその中の一つである。練り製品では鮮魚として価値の低い魚が用いられることが多く、北海道ではスケトウダラが高品質のすり身原料魚として主に使用されている。しかしながら、スケトウダラは漁獲量が年々減少にあるとともに^[1]、TAC(漁獲可能量)管理されて漁獲量が制限されているため、すり身の原料として需要に対応しきれなくなっている。このため、現在、北海道では本来は市場に出回らない混獲魚(ウロコメガレイ、オクカジカならびにオオナゴ)をスケトウダラの代用としてすり身に使用できないかと注目している。しかしながら、その基礎的データである混獲魚の魚肉の加熱ゲル化特性は全く明らかにされていない。

これまでに我々は、大量に廃棄処分されている採卵廃鶏を有効に活用し、未利用魚種である混獲魚と混合して新しいタイプの食品素材を開発することを目的として実験を行ってきた。その結果、廃鶏と魚類のアクトミオシン間では加熱変性温度が大きく異

なるために、異種タンパク質間での相互作用が生じにくいことが分かった。したがって、混合して得られたゲルの物性的な品質が低く、ゲルの性質が改善されたとは言い難く、更なる研究の進展が必要であることを明らかにした^[2,3]。そこで本研究では、加熱変性に伴うタンパク質間の相互作用を人工的に導入し、得られるゲルの物性を改善することを目的とした。具体的には、ポリペプチド鎖内のグルタミン残基とリシン残基の側鎖間に共有結合を形成させるトランスグルタミナーゼ^[4,5]を用いて、鶏と魚の筋原線維タンパク質間に架橋を形成させる。その後に加熱処理して得られたアクトミオシン加熱ゲルの性質を調べて、廃鶏を混合した混獲魚すり身という新規食品素材の開発を目指した。

材料と方法

1. ニワトリアクトミオシンの調製

と直後の採卵廃鶏から浅胸筋および深胸筋を採取して挽肉にした後、肉重量の3倍量のWeber-Edsall溶液^[6](0.6 M NaCl, 0.04 M NaHCO₃, 0.01 M Na₂CO₃)を加えて攪拌し、4℃で24時間放置した。その後、肉重量の2倍量の0.6 M NaClを加え、遠心分離(RPR 9-2, 8000 rpm, 30 min, 4℃)した。ガーゼを通して上清部を回収し、3倍量の冷水を加えて攪拌した後に遠心分離(RPR 9-2, 8000 rpm, 10 min, 4℃)した。得られた沈殿部の重量に対し、等量の1.05 M NaClを加えて攪拌し十分に溶解させた後に、遠心分離(RPR 20-2, 18000 rpm, 30 min, 4℃)した。再度、上清部を回収し、3倍量の冷水を加えて攪拌した後に、遠心分離(RPR 9-2, 8000

rpm, 10 min, 4°C)して沈殿部を回収した。沈殿重量の0.3倍量の4 M NaClを加えて攪拌し、十分に溶解させた後に遠心分離(RPR 20-2, 18000 rpm, 30 min, 4°C)した。得られた上清部を、0.3 M NaClに対して透析し、これをニワトリアクトミオシンとした。

2. 魚アクトミオシンの調製

市販のホッケ、混獲されたウロコメガレイ、オクカジカを挽肉にした後、肉重量に対して2倍量の冷リン酸緩衝液(3.38 mM NaH₂PO₄, 15.5 mM Na₂HPO₄, pH 7.5)を加え、遠心分離(RPR 9-2, 8000 rpm, 10 min, 4°C)した。沈殿部を回収し同様の操作を3度繰り返した。その後、沈殿量の3倍量の0.45 M NaCl, 3.38 mM Na₂HPO₄ (pH 7.5)を加え、4°Cで24時間放置した¹⁷⁾。遠心分離(RPR 9-2, 8000 rpm, 15 min, 4°C)し、2重のガーゼを通して上清部を回収し、10倍量の冷水を加えて攪拌した後4°Cで静置し、アクトミオシンを沈殿させた。上清部を捨て、さらに遠心分離(RPR 9-2, 8000 rpm, 10 min, 4°C)し沈殿部を回収した。沈殿部重量の0.3倍量の4 M NaClを加え攪拌して十分に溶解させ、0.3 M NaClに対して透析し、これを各魚のアクトミオシンとした。

3. タンパク質濃度の測定

各アクトミオシン溶液のタンパク質濃度はビウレット法により測定した。なお、アクトミオシンの吸光係数は0.069とした。

4. トランスグルタミナーゼ (TG)

トランスグルタミナーゼは、味の素社製の微生物由来トランスグルタミナーゼ製剤(製品名:アクティバ TG-K)を用いた。本酵素の活性は酵素製剤1 gあたり100 Uである。本研究では試料中のタンパク質量1 gあたり酵素活性が1 Uとなるように酵素製剤を添加した。

5. ニワトリと魚のアクトミオシンの混合試料の調製

各アクトミオシンのタンパク質濃度を5または10 mg/mlになるように調整し、0.3 M NaCl, 10 mM Bis-Tris (pH 7.0)に溶解させた。その後、ニワトリと魚(ホッケ, ウロコメガレイ, オクカジカ)のアクトミオシンをタンパク質量比率が1:1となるように混合し、0.3 M NaCl, 10 mM Bis-Tris (pH 7.0)に溶解させた。

6. 加熱アクトミオシン溶液の可溶化率の測定

総タンパク質濃度が5 mg/mlの各アクトミオシン溶液および各混合アクトミオシン溶液にTGを所定量添加して、37°Cで3時間反応させた。所定の時間が経過した後に可溶化溶液(8 M 尿素, 2% SDS, 2% 2-メルカプトエタノール, 20 mM Tris-HCl, pH 8.0)を加え、100°Cで2分間加熱した後、室温で20時間以上振とうさせた。その後、遠心分離(2000 rpm, 20min)し、上清部を1 ml分取して蒸留水で5倍希釈後、等量の15%トリクロロ酢酸を加えてよく攪拌した。30分以上放置してから遠心分離(2000 rpm, 20min)して沈殿部を得た。沈殿部に蒸留水を加え、再び遠心分離(2000 rpm, 20min)し、再度上清部を捨て沈殿部を回収し風乾させた。その後、1 N NaOHを1 ml加えて沈殿部を溶解させた後、ビウレット法によりタンパク質濃度を測定し、反応0時間目の試料のタンパク質濃度を100%として、可溶化率(%)を算出した。

7. SDS-PAGEによるタンパク質組成分析

可溶化溶液に溶解した各アクトミオシン溶液から100 μlを分取し、さらに蒸留水100 μlを加えた。この溶液に10%SDSを30 μl, 2-メルカプトエタノールを4 μl, 0.5 M Tris-HCl(pH 6.8)を6 μl, BPB-グリセロールを60 μl加えて混合し、100°Cで5分間加熱した。この試料を0.5%アガロース, 3%アクリルアミドゲルのスロットに10 μlずつ添加し、一枚のゲルあたり7.5 mAで30分間通電させた後、さらに15 mAで2-2.5時間通電した。泳動後のゲルに0.2% Coomassie brilliant blue in 50%メタノール+10%酢酸を加え、室温で1時間染色した。脱色は50%メタノール+10%酢酸で1時間、さらに10%メタノール+10%酢酸でゲルのバックグラウンドが透明になるまで行った。得られたSDS-PAGEパターンの解析はImage Jソフトウェアを使用して行った。

8. 加熱ゲルの作製ならびに荷重/貫入曲線の測定

タンパク質濃度を10 mg/mlに調整したアクトミオシン溶液をエッペンチューブに気泡が入らないように入れ、直加熱(37°C, 4時間あるいは90°C, 30分間)、および二段加熱(37°C, 4時間後に90°C, 30分間)により加熱ゲルを得た。加熱後、直ちに氷中で冷却し十分に冷えた後、室温に戻して物性測定に供した。ゲルの物性はクリープメータ(山電製, RE-33005)を用い、直径5 mmの球状プランジャーによる押し込み法にて測定した。なお、圧縮速度は1

mm/sec とした^[8]。

9. 走査型電子顕微鏡によるゲル構造の観察

タンパク質濃度が 10 mg/ml の各種アクトミオシン溶液を加熱し、ゲルを形成させた後に、ゲルを壊さないように 2.5% グルタルアルデヒド溶液に浸漬し、前固定を 2-3 時間行った。その後、2-3 mm 角に成形して、再び 2.5% グルタルアルデヒド溶液に浸漬して一晩固定処理を行った。蒸留水で 10 分間の洗浄を 3 回行った後に、50, 70, 90, 95, 100% エタノールで各々 30 分間の脱水操作を行った。脱水終了後、100% エタノールを満たしたゼラチンカプセル内に試料を入れ、気泡が入らないように密封し、液体窒素内に投入して凍結させた後に切断した。切断後の試料を *t*-ブチルアルコールと 100% エタノールの等量混合液にて浸漬して 30 分間振盪した。その後、100% *t*-ブチルアルコールに置換して、30 分間の振盪を 2 回行った。次いで、試料が浸る程度の *t*-ブチルアルコールを入れ、-40°C で凍結させた。この試料を凍結乾燥機 (日立, ES-2030) にて凍結乾燥し、Pt-Pb 蒸着処理した。得られた試料を走査型電子顕微鏡 (日立, S-2460) により加速電圧 10 kV で観察した。

結果と考察

1. TG 添加に伴うアクトミオシン溶液の可溶性率の変化

トランスグルタミナーゼ (TG) の添加によって生じるタンパク質分子間の架橋形成の様子を調べるために、酵素反応後にアクトミオシン溶液の尿素可溶性溶液に対する溶解 (可溶性) 率を算出して、Figure 1 に示した。まず、鶏、ホッケ、ウロコメガレイ、オクカジカ各々のアクトミオシンを 37°C で保持した場合に生じる可溶性率の変化について示した。鶏とホッケについては可溶性率に変化がなかった。一方、ウロコメガレイとオクカジカは、時間経過に伴い可溶性率が 80-85% まで低下した (Figure 1a)。次に TG 添加の影響を調べた。鶏、ホッケおよびオクカジカでは 3 時間反応させた時、最大で 80% 程度まで可溶性率が低下した。一方、ウロコメガレイでは最大で 50% まで低下し、他のアクトミオシンに比べ著しく架橋反応が進行した (Figure 1a)。

各種魚アクトミオシンに鶏アクトミオシンを添加した混合アクトミオシン溶液についても同様の試験を行った (Figure 1b)。鶏とホッケあるいはオクカジカのアクトミオシンを混合した場合、その可溶性率に大きな変化は見られなかった。ウロコメガレイと

鶏のアクトミオシンを混合した場合、その可溶性率が最大で 80% 程度まで低下した。次に、各混合試料に TG を添加して同様に可溶性率を測定した。いずれの魚種においても可溶性率は 80% 程度まで低下した。これらの結果から、ウロコメガレイとオクカジカは、37°C で保持することでタンパク質の高分子化が起こる可能性が示唆され、特にウロコメガレイは他魚種に比べて高分子化が進みやすいことが分かった。一方、異種間のアクトミオシンを混合した場合、37°C の加熱処理だけでは凝集しにくい鶏アクトミオシンと、37°C の加熱処理のみで凝集するウロコメガレイを混合することで、TG を添加しなくても高分子化を促すことが示唆された。また、いずれの混合液でも TG 添加による可溶性率の変化が一定量の低下にとどまったことから、鶏と魚のアクトミオシン間の架橋結合の形成に関しては、魚種による影響は小さいと考えられた。また、スケトウダラの冷凍のすり身中のミオシンの高分子化反応はミオシン重鎖間の架橋あるいは絡み合いによることが、すり身ゲルの可溶性率とその試料の SDS-PAGE 分析により明らかにされており、反応の促進により可溶性率が低下する^[9]。本研究の可溶性率の変化から、TG 添加によって各アクトミオシン溶液中のミオシン分子の高分子化反応が生じていると予想した。

2. 可溶性成分の SDS-PAGE 分析

TG 添加による各種アクトミオシンの架橋結合形

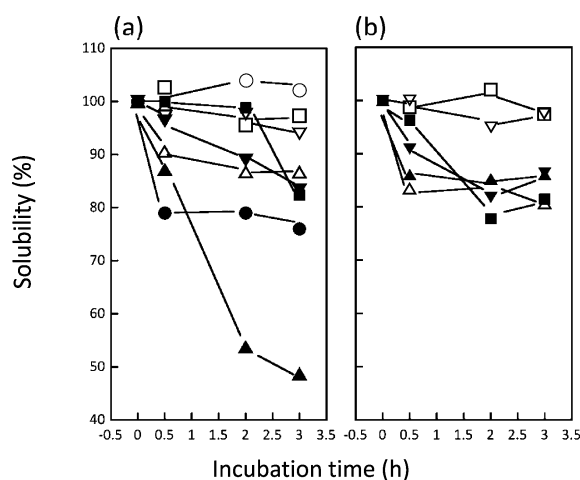


Figure 1. Solubility of TG-induced actomyosin gel at 37°C for various time.

Samples were solubilized in 20 mM Tris-HCl, pH 8.0 containing 8 M Urea, 2% SDS and 2% β -mercaptoethanol. Actomyosin concentration was 5 mg/ml. (a) individual actomyosin, (b) mixed with chicken actomyosin. ○, □, △, ▽: chicken, *Atka mackerel*, *Scalyeye plaice*, and *Cottus pollux* without TG. ●, ■, ▲, ▼: chicken, *Atka mackerel*, *Scalyeye plaice*, and *Cottus pollux* with TG (1U/g protein).

成についてより明確に調べるために、溶解した成分を SDS-PAGE にて分析して、Figure 2 と 3 に示した。TG を添加しなかった場合では、37°C で長時間保持しても、ミオシン重鎖バンドの上部に架橋形成による高分子化が原因の新規バンドは出現しなかった。ホッケとオクカジカのみオシン重鎖バンドは、時間経過に伴い染色強度が低下し、その下部に新しくバンドが出現したことから、内在性プロテアーゼによって、ミオシン重鎖が分解された可能性が示唆された (Figure 2b and d)。異種アクトミオシンの混合試料においては、時間経過に伴うミオシン重鎖バンド上部に新規バンドの出現はなく、さらに、ホッケとオクカジカ単体アクトミオシンの場合に観察されたミオシン重鎖バンドの減少も認められなかった (Figure 3)。次いで、TG 添加試料を SDS-PAGE に供したところ、いずれのアクトミオシン溶液においても時間経過とともにミオシン重鎖の染色強度が低下し、ミオシン重鎖バンドの上部に高鎖量成分が確認された (Figure 2e-h)。特に、魚のアクトミオシンにおいて、ミオシン重鎖の染色強度の低下が著しく生じており、反応 2 時間でバンドが確認できないほ

どに架橋反応が進行した。その中でも、ウロコメガレイは他の魚種に比べて反応が著しく早く、反応時間 30 分でバンドがほとんど確認できなかった (Figure 2g)。混合アクトミオシン溶液では、反応時間の経過とともにミオシン重鎖バンドの染色強度の低下が起こり、高鎖量成分が確認された (Figure 3d-f)。しかし混合した魚種にかかわらず高鎖量成分の形成に伴うミオシン重鎖バンドの消失は観察されず、比較的緩慢に高鎖量成分が出現し、それに対応するようにミオシン重鎖バンドの染色強度が徐々に低下した。また、最もミオシン重鎖の減少が著しかったウロコメガレイの混合アクトミオシンよりも、ホッケやオクカジカの混合アクトミオシンで、ミオシン重鎖の高分子化が進行した (Figure 4)。

3. 加熱荷重/貫入曲線が示す各種アクトミオシンの加熱ゲル特性とゲル構造

データは示していないが、予備試験での貯蔵弾性率の測定結果から、TG の至適温度近傍である 37°C で保持することで、各種アクトミオシン溶液が弾性を示すようになることが明らかになった。そこで、

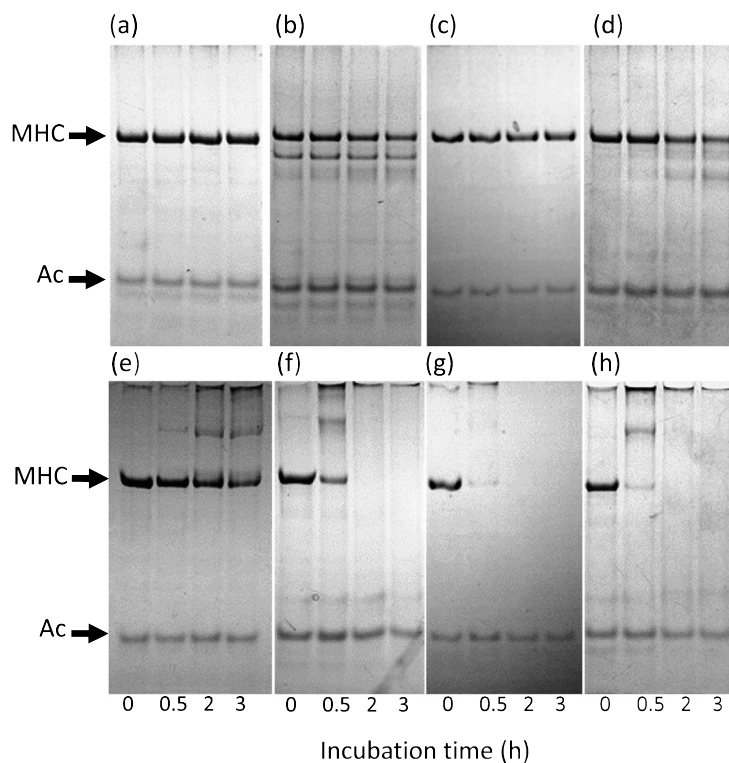


Figure 2. Changes in SDS-PAGE pattern of solubilized fraction from the TG-induced gel at 35°C.

(a) and (e); chicken, (b) and (f): *Atka mackerel*, (c) and (g): *Scalyeye plaice*, (d) and (h): *Cottus pollux*. (a-d): without TGase. (e-h): with TGase. MHC and Ac show myosin heavy chain and actin, respectively.

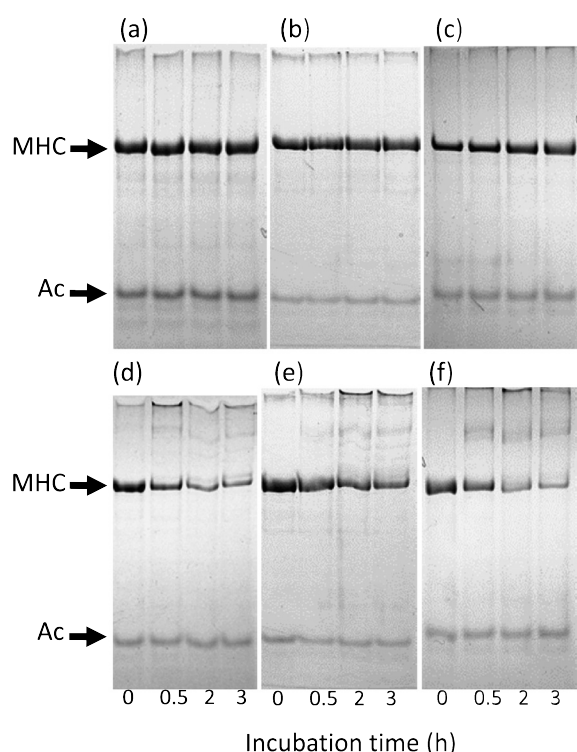


Figure 3. Changes in SDS-PAGE pattern of solubilized fraction from the TGase-induced mixed actomyosin gel at 35°C.

(a) and (e); *Atka mackerel* and chicken, (b) and (f): *Scalyeye plaice* and chicken, (c) and (g): *Cottus pollux* and chicken. (a-c): without TG. (d-f): with TG. MHC and Ac show myosin heavy chain and actin, respectively.

アクトミオシン溶液を加熱処理し、形成されたゲルの荷重/貫入曲線を得ることで、その加熱ゲルの特性評価を試みた。

37°Cで4時間加熱処理した各アクトミオシン試料の荷重/貫入曲線は、TGを添加しないとプランジャーの貫入に伴う荷重の増加が認められず、ゲルが生じていないことが明確であった (Figure 5a)。しかしながら、TGを添加することで、いずれのアクトミオシンもプランジャーの貫入に伴い荷重が検出され、ゲルを形成していることが示唆された (Figure 5d)。同様の加熱条件で、ニワトリと各魚種アクトミオシンを混合した試料で実験を行った。その結果、単体のアクトミオシンと同様に、TGを加えていない混合試料では荷重増加は認められず、TGを添加することで荷重が増加した (Figure 6a and d)。

次に加熱条件を90°Cで30分間とした。TG添加の有無に関わらず魚のアクトミオシンでは、荷重の増加が観察されなかった。ニワトリのアクトミオシンは、プランジャーが侵入することで荷重が増加しており、それはTGを添加することでさらに高くなった (Figure 5b and e)。この結果は、魚のアク

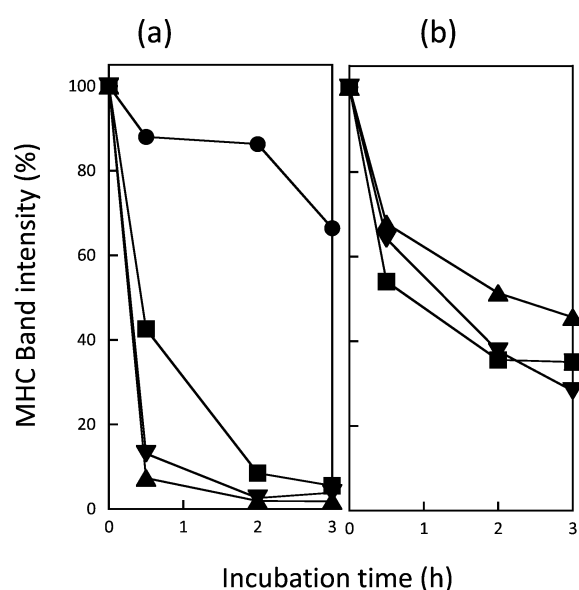


Figure 4. Changes in MHC contents in actomyosin gel by addition of TG.

(a) each actomyosin, (b) mixed with chicken actomyosin. ●: chicken, ■: *Atka mackerel*, ▲: *Scalyeye plaice*, ▼: *Cottus pollux*.

トミオシンが急激な加熱処理では非常に脆いゲルしか形成出来ない事を示している。このような魚のアクトミオシンにニワトリのアクトミオシンを混合することで、ニワトリのゲルの特性を発現してくれることを期待したが、Figure 6b, eに示したように、混合アクトミオシンでも、90°Cの30分間の加熱処理では固いゲルが形成されていない。また、TGを添加してもゲル形成率は著しく低い。このことは、異種アクトミオシンを混合して直ちに90°Cで加熱することで、TGによるミオシン重鎖の架橋結合を得ることができなかったと考えられた。したがって、ニワトリと魚のアクトミオシンが個々に変性して強固なゲルが形成されず、荷重が得られなかったと考えられた。

我々は以前に、廃鶏のアクトミオシンと魚アクトミオシン、さらに卵白タンパク質の三種類を混合してゲルを作成し、物性の測定を行った。結果として、それぞれのタンパク質が各々の固有の温度で変性するために相互作用が生じず、物性の改善が生じないと報告した^[3]。本研究の結果は、この先行研究での結果と良く一致している。そこで、次に37°CでTGによる架橋結合を形成させた後に、90°Cでの加熱処理をした。単体アクトミオシンのゲルはその由来によらず、TGを添加することで荷重が増加した。すなわち、TGによる架橋結合の形成がゲルの物性改善に寄与していることを明確に示している (Figure 5f)。

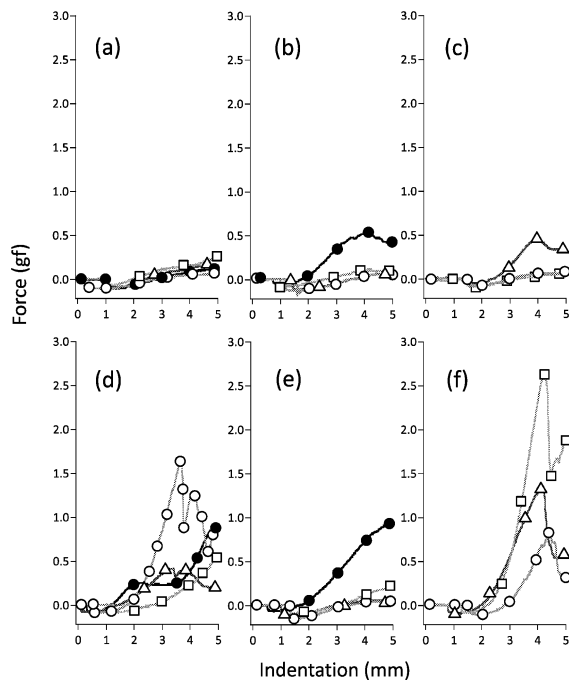


Figure 5. Force vs. indentation curve of heated actomyosin suspension (10 mg/ml in 0.3 NaCl containing 10 mM Bis-Tris, pH 7.0).

(a-c): without, (d-e): with TG. The incubation was done at 37°C for 4 h (a, d), 90°C for 30 min (b, e), 37°C for 4 h and then 90°C for 30 min. Lines show chicken (●), *Atka mackerel* (△), *Scalyeye plaice* (□), and *Cottus pollux* (○).

同様に、混合アクトミオシン溶液に、同様の二段階の加熱処理を行った場合、TGを添加していないと、いずれの混合ゲルも非常に低い荷重を示し、TGを添加した場合には、わずかに荷重の増加が確認された。しかし、ウロコメガレイの混合アクトミオシンでは、離水が生じて荷重/貫入曲線を得る事ができなかった (Figure 6c and f)。

次に各種加熱アクトミオシンの構造をSEMにて観察し、Figure 7と8に示した。鶏アクトミオシン単独では、TG添加によりゲルを構成している線維が太くなっている様子が観察されたが、魚アクトミオシンでは、そのような変化は観察されなかった。魚単独ならびに混合アクトミオシンゲルでは、TGを加えることで、その三次元的網目構造が密になり、この変化がTG添加に伴う物性向上の要因の一つになっていることが予想された。また、これまでに、微生物および魚類由来のTGによる架橋反応が魚のアクトミオシンを使用して得られるゲルの破断強度とその尿素溶液による溶解後のSDS-PAGEの結果から評価されている。報告によると魚類TGに比べ微生物TGの方がミオシン重鎖の架橋結合が進行しやすく、微生物TG添加後のアクトミオシンゲ

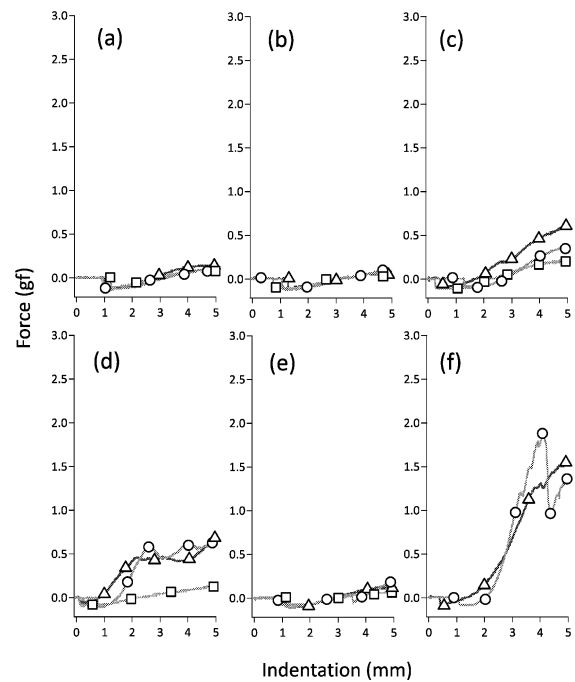


Figure 6. Force vs. indentation curve of heated mixed actomyosin suspension (10 mg/ml in 0.3 NaCl containing 10 mM Bis-Tris, pH 7.0).

(a-c): without TG, (d-e): with TG. The incubation was done at 37°C for 4 h (a, d), 90°C for 30 min (b, e), 37°C for 4 h and then 90°C for 30 min. Lines show *Atka mackerel* (△), *Scalyeye plaice* (□), and *Cottus pollux* mixed with chicken (○).

ルの破断強度が、魚類TG添加後のアクトミオシンゲルの破断強度より高いとされ、ミオシン重鎖の架橋反応の進行度がゲルの強度に深く関わっているとされている^[10]。この結果は、本研究とも良く一致しており、ウロコメガレイの溶解率の低下やミオシン重鎖の高分子化の速度が最も高く、物性的にも固いゲルを呈している。したがって、本研究内で使用した魚種の中で、魚だけですり身を作成する場合には、他の魚種に比べてミオシン重鎖の減少割合が大きかったウロコメガレイを使用すれば比較的ゲル強度の高いゲルが形成される。

結論として、ウロコメガレイのアクトミオシンは、TGを作用させれば、ゲルの編み目構造が密な比較的硬いゲルを形成するが、ニワトリのアクトミオシンと混合することで離水を引き起こしてしまうことから単独で利用することが望ましいと考えられた。また、ホッケやオクカジカニについてはニワトリのアクトミオシンと混合しTGを作用させることで、得られる加熱ゲルの物性改善を期待できることが示唆された。

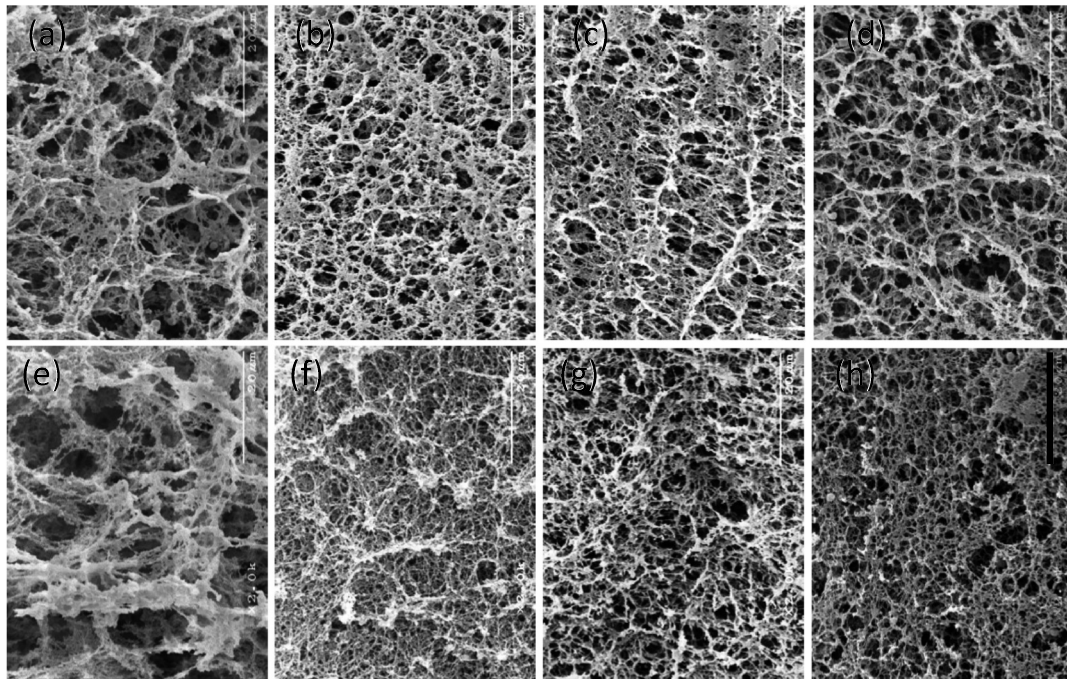


Figure 7. Scanning electron micrographs of heat-induced actomyosin gels.

Actomyosin solution were heated at 37°C for 4 h and then 90°C for 30 min. (a-d): without, (e-h): with TG. (a) and (e): chicken, (b) and (f): *Atka mackerel*, (c) and (g): *Scalyeye plaice*, (d) and (h): *Cottus pollux*. Scale bar indicates 20 μm.

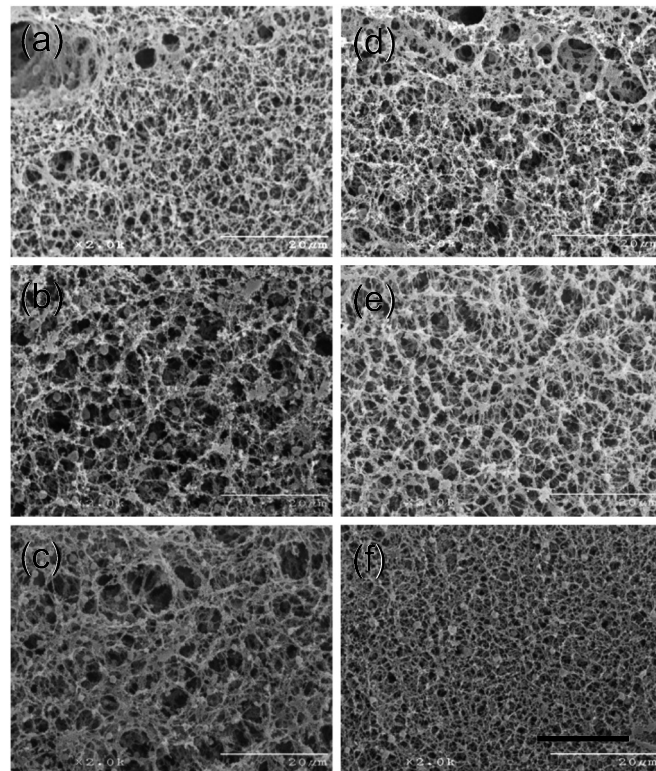


Figure 8. Scanning electron micrographs of heat-induced mixed actomyosin gels.

Actomyosin solution were heated at 37°C for 4 h and then 90°C for 30 min. (a-c): without, (d-f): with TG. (a) and (d): *Atka mackerel*, (b) and (e): *Scalyeye plaice*, (c) and (f): *Cottus pollux* mixed with chicken. Scale bar indicates 20 μm.

謝 辞

本研究は2010年度酪農学園大学・酪農学園短期大学部共同研究の助成を受けて実施されたものである。また、TG製剤は味の素株式会社から分与いただいた。この場を借りて感謝致します。

参考文献

- [1] 西村明. 2008. 平成19年度国際漁業資源の現状, スケトウダラ 総説. 水産庁・水産総合研究センター.
- [2] 櫻井敬太. 2005. 鶏肉・魚肉アクトミオシン混合加熱ゲルの特性, 酪農学園大学卒業論文. 85-106.
- [3] 岩崎智仁, 角間育弘, 鈴木克洋, 奥村円香, 櫻井敬太, 船津保浩, 金田勇, 石下真人, 山本克博, 加藤登, 北上誠一, 新井健一. 2010. 異種筋肉タンパク質の複合による新規食品素材の開発とその応用: 鶏肉と魚肉アクトミオシン混合溶液の加熱ゲル化特性に及ぼす鶏卵白の影響. 酪農学園大学紀要. 34. 197-209.
- [4] 阿部洋一. 1994. トランスグルタミナーゼを含む製剤を添加したスケトウダラかまぼこの品質. 日水誌. 36. 381-387.
- [5] 長谷川豪, 齊藤佑尚. 2004. トランスグルタミナーゼの多様性. 蛋白質核酸酵素. 48. 642-648.
- [6] Chemistry of Muscular Contraction. Academic Press Inc., New York. 2nd Edition.
- [7] 魚類筋肉構成たんぱく質に関する研究-II. コイ筋肉からアクトミオシンの調製について. 高士令二, 新井健一, 齋藤恒行, 1970, Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 36: 169-172.
- [8] レオロジー討論会要旨集.
- [9] 沼倉忠弘, 関伸夫, 木村郁夫, 豊田恭平, 藤田孝夫, 高間浩蔵, 新井健一. 1985. 坐りによる肉糊のゲル形成とミオシンの交差結合反応. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 51: 1559-1565.
- [10] Hemung, B.J. Yongsawatdigul, C. Li, and C. Y. Eunice. 2008. Thermal stability of fish natural actomyosin affects reactivity to cross-linking by microbial and fish transglutaminases. Food Chemistry, 111: 439-446.

Abstract

The effect of transglutaminase (TG) on thermal gelation of actomyosins from chicken, fish, and mixture of chicken and fishes (*Scalypye plaice*, *Cottus pollux*, and *Atka mackerel*) were investigated. The used amount of TG was 1 U/g actomyosin, and preheating was done at 37°C for 0.5-4h. The preheated samples were then heated at 90°C for 30 min. After the treatment, solubility and rheological properties of the actomyosins were measured, and SDS-PAGE was also performed.

The solubility of TG-treated mixed actomyosins was measured by adding 8 M Urea, 2% β -mercaptoethanol, and 1% SDS containing 10 mM Tris-HCl (pH 8.0). Solubility of *Scalypye plaice* actomyosin was the lowest among the other fishes regardless of the addition of TG and mixing with chicken actomyosin. In particular, TG-added *Scakeye plaice* actomyosin showed about 50% solubility. These results indicate that *Scakeye plaice* actomyosin has high TG reactivity and low thermal stability.

Force-indentation curves for all TG-treated actomyosins indicated high penetration force than that of untreated actomyosins. However, *Scakeye plaice* actomyosin did not form a gel, and shrinking of aggregated protein and loss of water were observed. Cross-linking of myosin was observed in all TG-treated actomyosin solutions, indicating that the addition of TG resulted in the formation of elastic gels due to cross-linking of myosin heavy chains.

It is concluded that *Cottus pollux* and *Atka mackerel* can be used as ingredients of surimi mixture of fish and chicken, while *Scakeye plaice* is not suitable for mixed surimi.