

筋タンパク質に関する研究：牛肉と鶏肉の比較

加香, 芳孝
九州大学農学部畜産製造学教室

安藤, 則秀
九州大学農学部畜産製造学教室

<https://doi.org/10.15017/22975>

出版情報：九州大学農学部学藝雑誌. 22 (3), pp.301-310, 1966-08. 九州大学農学部
バージョン：
権利関係：

筋タンパク質に関する研究

牛肉と鶏肉の比較

加香 芳孝・安藤 則秀

Studies on muscle protein

Comparison between beef and chicken

Yoshitaka Kako and Norihide Ando

筋タンパク質に関する研究は、従来主として生体内における筋収縮機構の解明を目的とした生化学的面から行なわれたものが多いが、食品化学的な面よりみるとときには、筋タンパク質と肉利用上の諸問題との関連について、まだ未解決の問題が多く残されている。

今回われわれはと殺後一定時間経過した牛肉と鶏肉とを材料として、その保水性、筋タンパク質の抽出条件、各種形態Nの分布などについて調査、検討を行なうとともに、超遠心分離法、デンプンゲル電気泳動法により筋タンパク質の諸性質の追究も行ない、両者間における差異を比較検討したので、その結果をここに報告する。

実 験

1. 実験材料

繰返し同一条件の試料を採取できるようにするため、牛肉は褐毛和種、雌牛(8才)の横隔膜筋部(*Diaphragma, Pars muscularis*)を福岡市枝肉市場付属と殺場から、また鶏肉は White cornish 種、Kimber 系ブロイラー(70日齢)の大胸筋(*M. pectoralis major*)を福岡市内、新井食鳥 K. K. から、それぞれと殺直後入手した。

試料肉は、入手後直ちにビニールフィルムで二重に密封包装し、4°Cの冷蔵庫内に、正確に24時間保存後分析に供した。分析にあたっては手早く結合組織と脂肪組織をできるだけ除去し、3回チョッパーを通して挽肉として使用した。

2. 筋タンパク質抽出用緩衝液

筋タンパク質の変性を極力避けるため、低温で緩衝能の失なわれないものを探したところ、0.1 M ホウ酸緩衝液(0.1 M ホウ酸—0.1 M NaOH) および 0.1 M トリス塩酸緩衝液が比較的緩衝性も強く、0°C, 2.2 M NaCl, pH 7.5 という抽出条件下でも全く塩の析出

をみないことがわかった。このうち、ホウ酸緩衝液は N を含まず、またデンプンゲル電気泳動の電解液としても使用されているので、本実験ではこの緩衝液を使用することにした。また抽出用緩衝液に加える中性塩としては、食肉加工の際にひろく使用されている NaCl を用いることにした。

3. 筋タンパク質抽出条件の選定

まず抽出条件の選定を行なうため、試料肉各 1g をとり、5 ml の水冷 0.1 M ホウ酸緩衝液 (pH 7.5) とともに冷却しつつ 10,000 rpm で 2 分間ホモジナイズする。つぎに 0~2.2 (0.2 M 間隔, 12段階) × 100/85 M NaCl 加ホウ酸緩衝液 (pH 7.5, 0°C) それぞれ 85 ml で各ホモジエネートを 100 ml メスフラスコに定量的に移した後、さらに 0.1 M ホウ酸緩衝液 (pH 7.5) で定容とする。これを 5 分間振盪、2 分間静置、2 分間振盪した後、氷冷水中に 30 分間放置してからその内容を 10,000 rpm, 5°C で 5 分間遠心分離し、得られる上澄を東洋ろ紙 No. 5A を用いて手早くろ過し、そのろ液について N を定量し、抽出条件の検討を行なった。

4. 各種形態 N の分離定量法

筋タンパク質はつぎのようにしてアクトミオン、ミオン、グロブリン X、ミオゲン、ストローマに区分し、それぞれの N を定量した。

牛肉の場合は 10 g、鶏肉の場合は 5 g の試料をとり、0.1 M ホウ酸緩衝液 (pH 7.5) 20 ml とともに冷却しつつ 2 分間ホモジナイズし、各ホモジエネートは、0.1 M ホウ酸緩衝液 (pH 7.5) 50 ml で 100 ml 容ビーカーに移し、ついでそれぞれの抽出条件の濃度となるよう計算秤量した NaCl 結晶を加え、よく攪拌しつつ 0.1 M NaOH を滴加して pH 7.5 に調整する。これを 100 ml 容メスフラスコに少量の 0.1 M ホウ酸緩衝液 (pH 7.5) で定量的に移してから、さらに同じ緩衝液を加えて定容とする。

以下、前述の抽出条件の速定の実験の場合と同様に処理し、得られた口液 (A) の N を定量し、これを抽出性 N として示した。

(A) の一部をとり、蒸留水 (0°C) を加えて 0.1M NaCl に希釈し、0.1M NaOH または 0.1M HCl で pH 6.5 に調整後、氷冷水中に 2 時間放置するとアクトミオシンが沈殿するから、10,000 rpm, 5°C, 5 分間遠心分離し、得られた上澄液 (B) の N を定量し、その値と抽出性 N の値との差をアクトミオシン N として示した。

つぎに (B) の一部をとり、蒸留水 (0°C) で 0.05 M NaCl に希釈し、pH 6.5 に調整後、氷冷水中に一夜放置するとミオシンが沈殿するから、前回同様遠心分離し、得られた上澄液 (C) の N を定量し、前記 (B) の N との差をミオシン N として示した。

上記上澄液 (C) の一部をピスキングチューブに入れ、蒸留水に対して 4°C で 48 時間透析する。この間 4 回換水すると Cl⁻イオン反応は陰性となり、チューブ内に沈殿を生ずるので、これを前回同様に遠心分離して上澄液と沈殿に分け、沈殿は蒸留水を加えて攪拌洗じようして一度遠心分離し、得られた上澄液を最初の澄液に合してその N を定量し、これをミオゲン N として示し、また沈殿部分の N を定量してこれをグロブリン XN として示した。

なお、抽出性 N と各種形態 N の含量との差から非タンパク態 N を求めた。

別に試料肉の全 N を定量し、この全 N 量から抽出性 N 量を差引きストローマンを求めた。

以上の各形態 N の定量はすべてマイクロケルダール法によつて行ない、全 N は試料肉新鮮物中の百分率、また各種形態 N の分布は全 N 中の百分率で示した。

5. 保水性

安藤ら¹⁾が報告した遠心分離法を用いて測定した。

6. 超遠心分離

抽出液の NaCl 濃度が牛肉と鶏肉とは異なつているので、鶏肉抽出液に 0.1 M ホウ酸緩衝液 (pH 7.5) を加えて希釈し、牛肉抽出液と同じ 1.4 M としてから、牛肉、鶏肉抽出液のおのおのについて 12% TCA 不溶性部分の N を定量し、常数 6.25 を乗じてタンパク質濃度を算出し、それに基づいてタンパク質濃度 1.0% となるよう、上記緩衝液で希釈調整したものを試料とした。

使用した装置は Spinco Model E で、56,100 rpm, 20°C で測定を行なつた。

7. デンブングル電気泳動

Smithies¹²⁾の方法に準拠して Wake & Baldwin¹³⁾が牛乳カゼインの分析に使用している 7 M 尿素添加ゲル法を一部改良した方法と、さらに最近 Schmidt,⁹⁾ Mackinlay & Wake,⁹⁾ Woychik¹⁴⁾らが κ -カゼインについて、 β -メルカプトエタノールを加え、S-S 結合を還元開裂して行なつている方法を用い、次のようにして実験を実施した。

(1) デンブングル加水分解条件の検討

デンブングル電気泳動に使用するデンブンは、ジャガイモデンブンを HCl で弱く加水分解したものを使用するが、この加水分解条件は従来の報文を調べても Smithies¹²⁾の報告以外には詳細に述べられていない。Smithies が指摘しているように、デンブンの加水分解の程度は電気泳動の結果に対してかなりの影響をおよぼすものであるから、われわれは国産のジャガイモデンブンを使用する場合、どのような条件で加水分解を行なうのがよいかを検討した。従来知られているデンブン分子の变化度を検査する方法のうち、Schoch¹⁵⁾によるアルカリ数 (Alkali lability number) 試験法が簡単でしかも正確であると思われたので、この方法を用いて加水分解条件を検討した。原料デンブンとしては、和光純薬製ジャガイモデンブン、Lot No. 116080 を使用し、加水分解条件は Smithies¹²⁾の方法に準じ、デンブんに 2 倍量 (V/W) のアセトンを加え混和し、38.5°C 恒温槽中に 1 時間以上保温後、濃 HC をアセトンの 1/100 量 (V/V) 加えよく混和し、同温度に 30, 40, 45, 50, 55, 60 分間保持する。その後 1 M 酢酸ソーダ溶液をデンブンの 1/2 (V/W) 量混合して酸を中和後 (pH 6.8~7.0)、吸引口過し、ついで蒸留水で十分に水洗 (デンブンの 10 倍量で 5 回) する。これをさらに 10 倍量の蒸留水中に懸濁し、一夜放置後、さらに水洗 (3 回) して塩類をほぼ完全に除去後、アセトンで 3 回洗じよう脱水し、その後 45~50°C で乾燥してアセトンを除去する。

このようにして調製した加水分解デンブンについて、アルカリ数試験および尿素添加ゲルとした時の状態を検討した。その結果は第 1 表に示した通りである。

この実験結果によると、アルカリ数 10~11 程度のものが電気泳動に適しているように思われる。従つて加水分解は 45~50 分間行なうのが適当であつた。なお、この加水分解のアルカリ数の変化を経時的に示したものが第 1 図であるが、泳動に適する条件の範囲はデンブンの急速な変化を示す段階であるので、特に加水分解の条件を厳密に規定することが必要である。

実際に多量に加水分解デンブンの調製を行なう場合

Table 1. Properties of HCl-hydrolyzed potato starch.

| HCl-hydrolyzed time | Alkali lability number | Quality of the gel |
|---------------------|------------------------|--------------------|
| 0 min | 6.20 | — |
| 30 | 8.00 | hard |
| 40 | 9.10 | hard |
| 45 | 9.92 | good |
| 50 | 11.16 | good |
| 55 | 12.00 | soft |
| 60 | 12.16 | soft |

Potato starch : A product of Wako Pure Chemical Ind. Ltd. (Lot No. 116080), Japan.

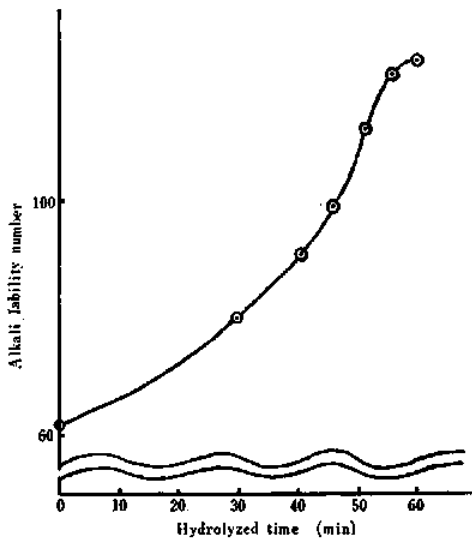


Fig. 1. Changes in alkali lability number of potato starch during HCl-hydrolysis.

に注意すべきことは、デンプンをアセトン中に懸濁させた状態ではかなり 38.5°C の温度に上りにくいものであるから、酸を加える前の予温は十分に（少なくとも 1 時間）行ない、一応温度を測定してみる必要がある。

(2) デンプンゲル調製法

1 回の電気泳動を行なうのに必要なデンプンゲルを調製するには、500 ml ビーカーに加水分解ジャガイモデンプン 60 g、トリス・クエン酸緩衝液 (0.76 M トリスアミノメタン-0.05 M クエン酸, pH 8.6) 52.5 ml、蒸留水 307.5 ml をとり、電動攪拌器で激しく攪拌しつつ、アスベスト金網上で焦げつかないように注意しながら、ガス焔の直火で徐々に加熱し、デンプンを糊化させる。この糊化は白濁が消失し、完全に透明となり、

しかも、かなりの流動性が現われてくるまで行なう。この状態になったならば、一時火を去り、固体尿素 220.5 g を加え、攪拌溶解する。尿素が溶解するとき吸熱のため温度が低下するので、再び直火で 80°C となるまで加熱攪拌する。

S-S 結合を還元開裂した状態で行なう場合のゲルの調製法は、加水分解デンプンの使用量を 64.2 g とするほかは、前と同様にしてデンプンを糊化させ、尿素を溶解して温度が低下したときに (50°C 以下でなければならぬ) β-メルカプトエタノール 0.9 ml を加え、約 10 分間攪拌を続けてゲル中によく分散させる。

以上のようにしてでき上ったゲルは 2 l 吸引瓶に移し、アスピレーターに接続して吸引減圧にして気泡を除去し、あらかじめ用意しておいた Tray (第 2 a 図) に、気泡の入らぬよう注意して、十分な量を盛り上げるように流し込む。同時に Tray の一端から 3 cm の位置に Slot が形成されるように Slot former を、やはり気泡の生じないように注意深く固定する。そして全表面を薄いビニールフィルムでおおい、24 時間室温に放置してゲルの固まるのを待つ。

(3) 電気泳動

i) 装置 木実験に使用した装置は東洋科学産業 K.K. 製口紙電気泳動装置 (第 2 a, 2 b 図) である。

電極は Ag/AgCl で、飽和 NaCl 溶液を満たした電極槽に浸した。電解液は 0.3 M ホウ酸-0.1 M NaOH 緩衝液, pH 8.6 を使用し、電解液槽を満たす。電極槽と電解液槽との電気的結合には、飽和 NaCl-2 号寒天で調製した内径 5 mm の寒天ブリッジを、陰陽極とも各 5 個使用した。

なお電解液については、Wake & Baldwin¹³⁾ は牛乳カゼインの分析を行なうのに 0.3 M ホウ酸-0.05 M NaOH 緩衝液 (pH 8.6) を使用しているが、われわれの実験条件では前述のものの方が泳動像の乱れが少なく、よい結果が得られた。

ii) 試料 試料溶液の抽出方法は前述の通りであるが、できるだけ細部にわたり観察する目的で、濃厚な抽出液を得るため、牛肉は 20 g、鶏肉は 10 g を用いて抽出液を調製した。ただし、この場合の抽出液は濃厚なため東洋口紙 No. 5A で口過することが困難なので、リンネル布を用いて吸引口過し、これをさきの超遠心分離用試料の場合と同じ要領でタンパク質濃度 2% となるよう希釈調製し、これに固体尿素を終濃度 7 M となるように添加溶解し (この時尿素による希釈のため NaCl は 1.1 M, タンパク質濃度は約 1.6% となる)、さらに加熱糊化していない加水分解デンプン 2%

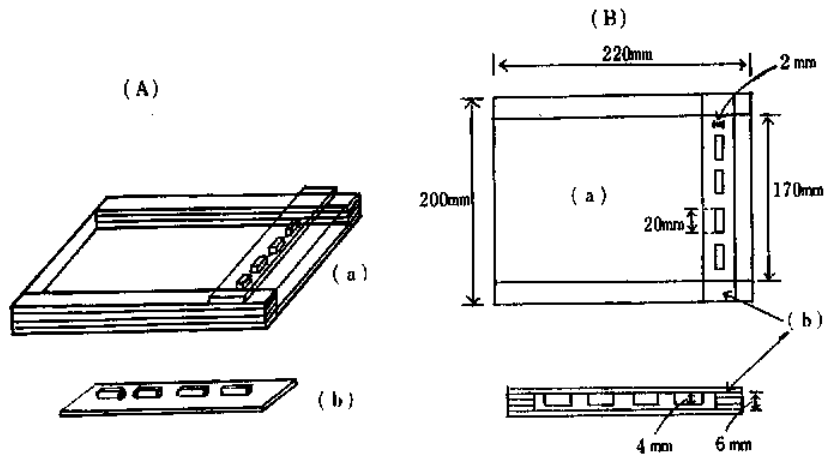


Fig. 2a. Construction and dimension of the plastic tray.
(A) Construction of the tray, (B) Dimension of the tray,
(a) Tray, (b) Slot former.

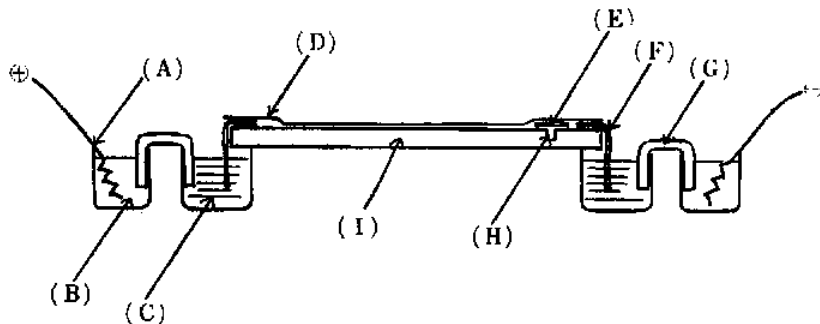


Fig. 2b. General layout of apparatus used for starch gel electrophoresis.
(A), Ag/AgCl electrode; (B), saturated NaCl solution in electrode compartment; (C), borate buffer in electrolytic solution compartment; (D), a thin vinyl film; (E), cover glass (22×32mm); (F), filter paper bridge soaked in borate buffer; (G), NaCl-Agar bridge; (H), position of sample insertion; (I), starch gel contained in plastic tray.

を加え、よく混和して試料とする。また、S-S結合を還元開裂した試料を調製するには、以上のようにして得られた試料に、さらにβ-メルカプトエタノールを最終濃度 0.022 M となるよう添加混合する。

iii) 試料注入 前述(2)のところで示した方法で調製して固まつた Tray から、ビニールフィルムを取り去り、つぎに Slot former を静かに取りはずした後、側枠の最上段の 2 mm アクリル板を、両側とも一段だけはずし、側板上に細い針金を張つてそのままゆつくりと移動させ、最上段 2 mm と盛り上り部分のゲルを切り去る。このとき Tray 中のゲルの厚さは 6 mm、Slot の深さは 4 mm となつている。

Tray を水平に保ち、試料はそれぞれよく振盪シテ

ンブンをなるべく均等に分散させてから、手早く先端の細いピペットで Slot の中に注入する。注入量は各 Slot とも 0.21 ml であつた。試料注入後、各 Slot は 22×32 mm のカバーガラスで気泡の入らぬようにおおい、その上をさらにゲル全面にわたつてビニールフィルムでおおう。

またゲルの泳動方向の両端には、電解液に浸した二重にかさねた定性口紙を、2 cm の幅でゲルに密着させ、他端は自然にたらしめた状態にし、これを第 2b 図に示したように泳動装置に固定して電気泳動を行なう。

iv) 電気泳動条件 泳動は 4°C の冷蔵庫内で行ない、定電流 (電流密度 3 mA/cm²) 法によつた。所要

時間は 10 cm 泳動させるのに 7 時間, 16 cm 泳動させるのに 10 時間であった。泳動距離は泳動の先端の褐色の線と Slot との距離で示される。

v) 染色および脱色 泳動が終了したならば直ちに Tray を取り出し, まずビニールフィルムを取り去り, ロ紙をはずし, 次に側板の最上段を取りはずしてから前に行なつたのと同じ要領でゲルの最上層 2 mm を切りすてる。次に 2 段目の側板をはずし, ゲルの中間層 2 mm を切り, Tray ごと反転して, 平バットの中に入れておいた染色液の中に落とし込む。最下層はすてる。

染色液は Smithies¹²⁾ の処方にしたが, メタノール, 水, 酢酸を 50:50:10 の割合に混合したものにアミドブラック 10 B を 0.5% 溶解し, ロ過 (定性ロ紙) したものを使用した。この液は使用前に毎回ロ過して使用した方がよく, また, ゲル中の尿素が溶出してくるので, 10 回程度使用したならば, 更新した方がよい。

染色は 5 分間行ない, 脱色は Smithies¹²⁾ の方法と同様に行なつた。脱色後, 保存の目的で乾燥を防止するため, Wake & Baldwin¹³⁾ は 10% グリセリンを加えた脱色液で処理しているが, われわれは 50% グリセリンを含む脱色液に 1 時間浸した後, ステンレス金網 2 枚の間にはさんで, 100°C, 30 分間乾燥して半透明化し, 写真撮影した。

実験結果ならびに考察

1. 抽出条件の選定

第 3 図から明らかなように, 抽出曲線上で牛肉, 鶏肉ともに 0.6 M NaCl のところで 1 つの肩を示すが, 両者ともそれ以上の塩濃度でも抽出量が増大しており, 牛肉では 1.4 M, 鶏肉では 1.8 M で最大抽出量を示し, この時の抽出量は全 N に対してそれぞれ 60% および 98% であつた。なお, 両者とも上記の最大抽出量を示す NaCl 濃度以上ではかえつて抽出量が減少した。この原因はおそらく NaCl による塩析が起こるためであろうと考えられる。

そこで本実験では, 筋タンパク質の抽出を行なうのに, 最大抽出量を与える NaCl 濃度, すなわち, 牛肉では 1.4 M, 鶏肉では 1.8 M の NaCl を含む 0°C, pH 7.5 の 0.1 M ホウ酸緩衝液を使用することとした。

また, 第 3 図に示されているように, 通常筋タンパク質の抽出に使用されている 0.6 M 程度の食塩濃度で抽出される N 量は, 全 N に対し, 牛肉では 45~50% であり, 1.4 M NaCl における抽出量の 55~60% という値と比較すると, 約 80% 程度しか抽出されていないこ

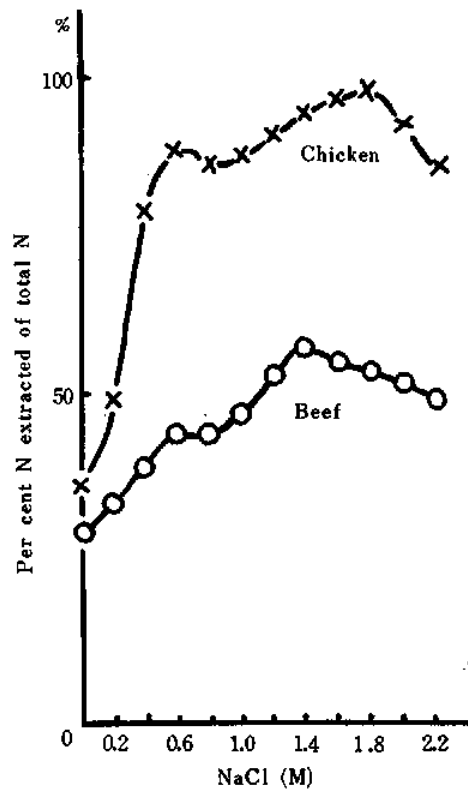


Fig. 3. Amount of nitrogen extracted in 0.1 M borate buffer (pH 7.5, 0°C) at varied NaCl concentrations.

とになる。また鶏肉においても抽出 N 量が 0.6 M では 88~89%, 1.8 M NaCl では 97~98% であつて, やはり 0.6 M 付近では 1.8 M の場合に比較して 90% 程度しか抽出されていないことになる。したがつて, 筋タンパク質に関する研究を行なう場合には, 動物の種類により, また研究の目的により, その使用する抽出液の中性塩濃度に注意する必要があると思われる。

2. 各種形態 N の分布

各種形態 N の分離定量の結果は第 2 表に示した通りで, 牛肉, 鶏肉のそれぞれの場合において, 大体類似した一定の傾向が認められる。

牛肉と鶏肉の分析値を比較すると, まず, 抽出性 N 量が両者において著しく異なるばかりでなく, アクトミオシン N, ミオシン N, 非タンパク態 N, ストローマ N などにおいても著しい差異が認められた。すなわち, 牛肉は鶏肉に比較して, アクトミオシン N は約 1/2~1/3 であり, ミオシン N は極めて少なく, 逆に非タンパク態 N と ストローマ N は, 著しく多くなつて

Table 2. Distribution of nitrogen in beef and chicken
(Expressed in percentage of total nitrogen).

| Sample | Total N* | Extracted N | Actomyosin N | Myosin N | Globulin-X N | Myogen N | Non-protein N | Stroma N |
|---------|----------|-------------|--------------|----------|--------------|----------|---------------|----------|
| Beef | 2.88 | 54.81 | 20.79 | 1.89 | 9.30 | 7.90 | 15.00 | 45.19 |
| | 2.95 | 50.13 | 15.39 | 1.29 | 7.72 | 10.30 | 15.43 | 49.87 |
| Chicken | 3.51 | 91.19 | 40.49 | 20.28 | 9.82 | 14.73 | 5.92 | 8.81 |
| | 3.76 | 94.87 | 45.53 | 20.77 | 12.12 | 13.61 | 2.84 | 5.13 |

* Expressed in percentage of fresh substance.

このような著しい差異が両者間に生じているのは、試料として用いた鶏が70日齢のプロイラーという、非常に若いものであつたのに対し、牛の方は8才という高齢のものをえらんだことがその一因をなすものであらうと思われる。

すなわち、牛肉が鶏肉よりストローマNの著しく多いことから、年齢の高い牛肉中には若いプロイラー肉よりも結合組織がよく発達していることが推定できるし、また、牛肉中には鶏肉中より非タンパク態Nが著しく多いことから、肉の風味と関係のある含窒素化合物が牛肉中に多く、そのため、比較的年齢の高い牛肉は若いプロイラー肉よりも味が濃厚であらうことが推測できる。

3. 保水性

保水性の測定結果は第3表に示した通りである。第3表によると、牛肉と鶏肉のpHの値はほぼ近似しているにもかかわらず、その保水性には明らかな差異が

Table 3. Water holding capacity of beef and chicken determined by the centrifugal method.¹⁾

| Sample | pH | Water holding capacity |
|---------|------|------------------------|
| Beef | 5.81 | 45.4 % |
| | 5.80 | 44.1 |
| Chicken | 5.81 | 56.5 |
| | 5.78 | 53.2 |

認められ、鶏肉は牛肉よりもはるかにその保水性が良好であつた。上述のように、両者のN分布には著しい差異が存在するので、これが保水性にこのような差異を生じさせる原因と密接な関連があるように思われるが、肉の保水性に関与する要因は複雑であるから、これらの点については今後さらに検討を進めてゆきたいと考えている。

4. 超遠心分離

定速後 13, 29, 45分後の沈降図形を第4図に示し

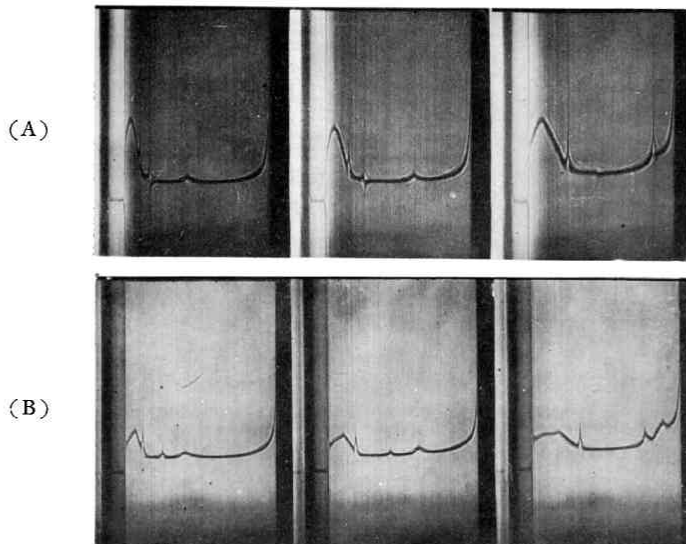


Fig. 4. Ultracentrifugal patterns of beef and chicken extracts. Protein concentration 1.6%, 56, 100 rpm, 20°C, 0.1 M borate buffer (pH 7.5), 1.4 M NaCl. At the intervals of every 16 minutes, from left to right. (A) Beef extract, (B) Chicken extract.

Table 4. Sedimentation constants of extracted muscle proteins of beef and chicken.

| Sample | Sedimentation constant (S_{20}) $\times 10^{-13}$ | | | |
|---------|---|--------|--------|--------|
| | Peak | Peak 2 | Peak 3 | Peak 4 |
| Beef | 2.02 | 5.97 | 11.71 | 17.51 |
| Chicken | 5.03 | 8.42 | 20.09 | 33.69 |

た。牛肉、鶏肉ともに4個のピークが認められるが、その沈降速度には差があり、第4表に示した S_{20} の値からもわかる通り、一般に鶏肉の成分の方が沈降速度の大きい傾向が認められる。

従来ミオシンBの沈降分析は0.6 M KCl 程度の塩濃度で行なわれており、Portzehlら⁶⁾により兎のミオシンBの沈降定数として $S_{20} > 50$ という値が得られているが、今回は1.4 M NaCl という高い塩濃度で沈降測定を行なったので、得られた沈降図形の各ピークが何に相当するものであるかは不明である。これらの点については今後さらに調査を進めてゆきたい。

5. デンブングル電気泳動

デンブングル電気泳動法は、筋タンパク質の研究分

野においてもすでに使用されており、アクチンに関する Krans et al. (1962),⁵⁾ Carsten & Mommaerts (1963),²⁾ Carsten & Katz (1964)³⁾ らの研究結果や、筋漿タンパク質に関する Giles(1962),⁴⁾ Scope(1964)¹¹⁾ らの研究結果、ならびに抽出性全筋タンパク質に関する Neelin & Rose (1964)⁷⁾ の研究結果などがそれぞれ報告されている。

本報ではとくに牛肉と鶏肉との性質の差異を検討することを目的としているので、筋漿タンパク質と筋原線維タンパク質との両者を同時に解析し得る方法を必要とした。この目的に沿う方法として、さき実験7. のところで述べておいた7 M尿素を添加した Wake & Baldwin の改良法と、これにさらに0.022 M β -メルカプトエタノールを加えた方法を用いて筋タンパク質の解析を試みた。

第5図は Wake & Baldwin の改良法で行なった泳動結果を示すもので、(a) は10 cm、(b) は16 cm 泳動させた場合の泳動図および模式図である。この両図を比較すると、(a) 図においては量的に少ない成分のゾーンも認められるが、泳動距離が小さいため成分が重なり合っていて分離していない部分が存在するおそ

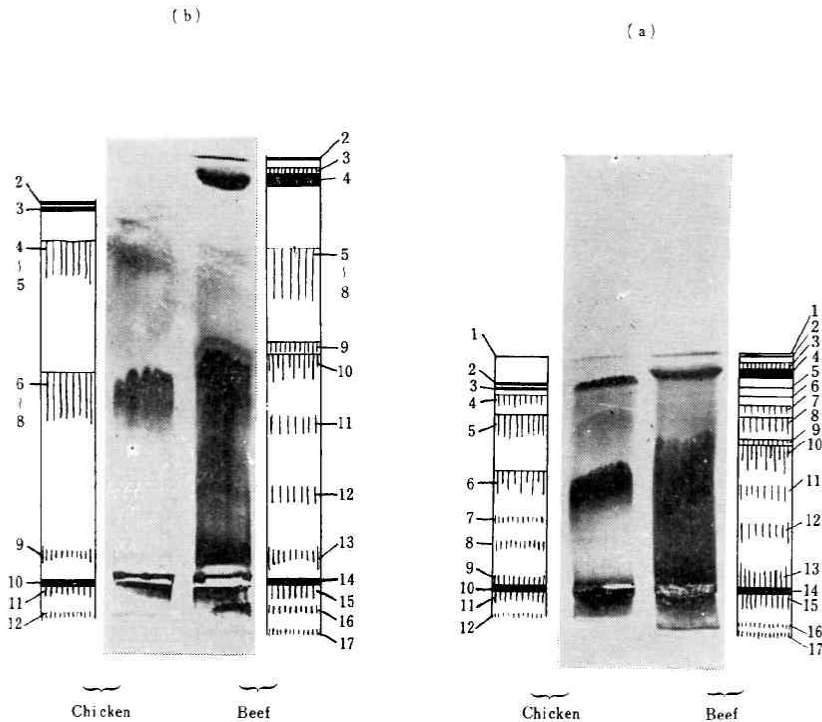


Fig. 5. Starch gel electrophoretic patterns of beef and chicken extracts at pH 8.6, Tris-citrate buffer, 7 M urea. (a) 10 cm run, (b) 16 cm run.

れがある。事実、(b) 図では、牛肉のゾーン 9, 10 および鶏肉のゾーン 2, 3 は、はつきりと分離しているが、(a) 図では注意しないと 1 つのゾーンのようにみえる。しかし、量的に少ないゾーン (牛肉 (a) 図, ゾーン 5, 6, 7, 8) は、(b) 図ではかえって薄れて認められなくなっている。

このように、成分数を確認するためには泳動距離を変化させて分離状態を検討する必要があるように思われる。

結局この方法で確認されたゾーンの数、鶏肉では 12、牛肉では 17 であつた。

これらのゾーンのうち、牛肉のゾーン 4 および鶏肉のゾーン 2, 3 は、染色前に赤褐色に着色してみるので、おそらくヘムタンパク質のゾーンであることが推定される。なお、Slot には鶏肉、牛肉ともに、かなり強く染色するものが残っている、これも 1 つのゾーンとして数えた。

牛肉と鶏肉の泳動図を比較してみると、両者のゾーンの数異なる点、またほぼ対応する成分を示すものと思われるゾーンの移動度が互いに少しずつ異なっている点、ならびに筋タンパク質の抽出性や沈降定数が互いに相異なることなどから、牛肉と鶏肉の各タンパ

ク質の性質にはかなりの差異があるのではないかと思われる。

つぎに、 β -メルカプトエタノールを添加し、S-S 結合を開裂して泳動を行なつた結果は第 6 図の通りである。

第 5 図と第 6 図とを比較すると、第 5 図のゾーンはかなりみだれているものが多いが、第 6 図は泳動像全般にわたり、みだれが少なく、各ゾーンの分離がより明瞭となり、したがって鶏肉と牛肉との差異も識別し易くなっている。

また、第 5 図、第 6 図の泳動像はかなり様相を異にしており、S-S 結合を還元開裂すると、ゾーンの数が増える傾向が認められ、分離のよかつた 16 cm の泳動図において、鶏肉で 11、牛肉で 12 のゾーンが認められた。

この原因としては、筋タンパク質の S-S 結合を還元開裂する際に生成するいくつかの成分が、デンプンゲル電気泳動的に重なつて 1 つのゾーンを形成しているためではないかと思われる。

以上のように S-S 結合に特に変化を与えなかつた場合も、またこれを還元開裂した場合も、ともに牛肉と鶏肉とでは、その泳動図に互いに異なる点が認められ

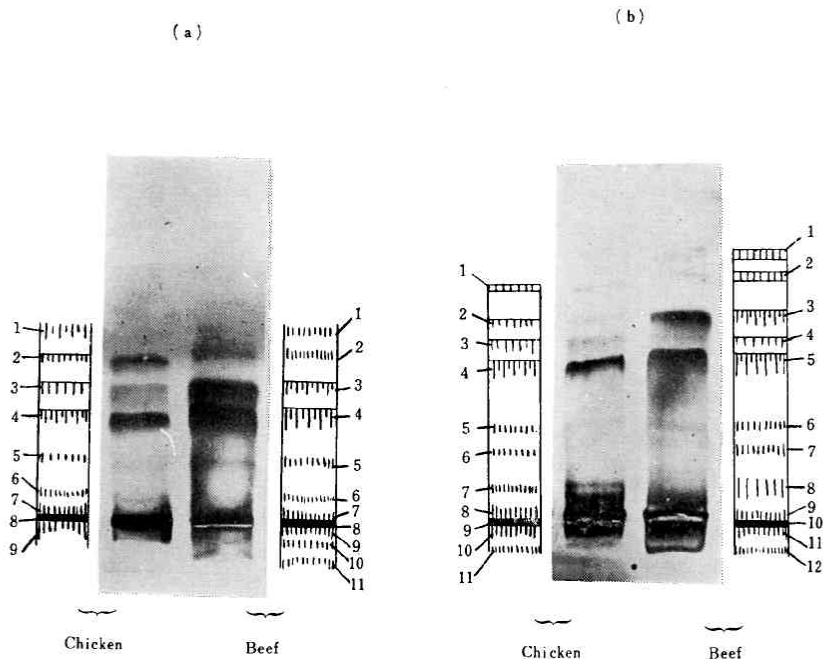


Fig. 6. Starch gel electrophoretic patterns of beef and chicken extracts at pH 8.6, Tris-citrate buffer, 7 M urea, 0.02 M β -mercaptoethanol.

(a) 10 cm run, (b) 16 cm run.

る。

しかし、これらの泳動図における各ゾーンが、それぞれ従来分離されている各種筋タンパク質のどれに相当するかということ、 β -メルカプトエタノールを添加した場合、各筋タンパク質にそれぞれどのような変化を与えるかということ、また牛肉と鶏肉とでは、どのタンパク質画分に、どのような差異があるかということなどについては、その詳細が明らかでないので、今後の研究により、これらの点を解明してゆきたいと思う。

要 約

と殺後正確に24時間冷蔵した褐毛和種雌牛の横隔膜筋部と、White cornish種 Kimber系ブロイラーの大胸筋を試料とし、筋タンパク質抽出条件の選定、各種形態Nの分布および保水性などについて調査を行なうとともに、両者の筋タンパク質の性状を超遠心分離法とデンブングル電気泳動法により比較検討した。その結果は次の通りである。

1. 筋タンパク質を抽出する際、0.1Mホウ酸NaOH緩衝液(pH 7.5)中に牛肉では1.4M、鶏肉では1.8MのNaClを含むものを抽出液として用いた場合に、それぞれ最大の抽出量が得られたので、この条件を抽出条件とした。

2. この抽出液について各種形態Nを定量したところ、全N中のアクトミオシンNとミオシンNは、ともに鶏肉よりも牛肉の方が著しく少なかった。

しかし、非タンパク態Nとストローマンは逆に牛肉の方がはるかに多かつた。

3. 牛肉と鶏肉のpH値にはほとんど差がなかつたが、牛肉よりも鶏肉の方が保水性は著しく良好であつた。これには両者間における各種筋タンパク質の分布割合の相異が重要な関連性を有するものと思われる。

4. 超遠心分離法による解析結果では、両者とも4個のピークが認められたが、各対応するピークの沈降

定数は異なつており、一般に鶏肉の方が牛肉よりも S_{20} の値が大きかつた。

5. 7M尿素を添加した方法と、これにさらに β -メルカプトエタノールを添加してS-S結合を還元開裂する方法とを用いてデンブングル電気泳動を行なつた結果、いずれの泳動図においても、牛肉と鶏肉とではゾーンの数異なり、また各ゾーンの泳動距離においても、両者間に差のある場合が観察された。しかし、これらの点については、今後さらに詳しい検討を行なう必要がある。

引用文献

- 1) Ando, N., Kako, Y., Nagata, Y., Ohashi, T., Hirakata Y., Suematsu, N. and Katamoto E., 1963. *Bull. Meat and Meat Products*, **2**, 1—6.
- 2) Carsten, M. E. and Mommaerts, W. F. H. M., 1963. *Biochemistry*, **2**, 28—34.
- 3) Carsten, M. E. and Katz, A. M., 1964. *Biochim. Biophys. Acta*, **90**, 534—541.
- 4) Giles, B. G., 1962. *J. Sci. Food Agr.*, **13**, 263—268.
- 5) Krans, H. M. J., Van Eijk, H. G. and Westbrink, H. G. K., 1962. *Biochim. Biophys. Acta*, **65**, 166—168.
- 6) Mackinlay, A. G. and Wake, R. G., 1964. *Biochim. Biophys. Acta*, **93**, 378—386.
- 7) Neelin, J. M. and Rose, D., 1964. *J. Food Sci.*, **29**, 544—547.
- 8) Portzehl, H., Schramm, G. and Weber, H. H., 1950. *Z. Naturforsch.*, **5b**, 61.
- 9) Schmidt, D. G., 1964. *Biochim. Biophys. Acta*, **90**, 411—414.
- 10) Schoch, T. J. and Jensen, C. C., 1940. *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.*, **12**, 531—532.
- 11) Scope, R. K., 1964. *Biochem. J.*, **91**, 201—207.
- 12) Smithies, O., 1955. *Biochem. J.*, **61**, 629—641.
- 13) Wake, R. G. and Baldwin, R. L., 1961. *Biochim. Biophys. Acta*, **47**, 225—239.
- 14) Woychik, J. H., 1965. *Arch. Biochem. Biophys.*, **109**, 542—547.

Résumé

A comparative study on the muscle proteins of beef (female Japanese brown cattle : *Diabhragma, Pars muscularis*) and chicken (male Kimber strain broiler : *M. pectoralis major*) was performed, the meat samples stored at 4°C for 24 hours after slaughtering being used.

In the present experiment, besides investigations on the condition of extracting muscle proteins, the water holding capacity, the nitrogen distribution, ultracentrifugal and starch gel electrophoretic analyses of muscle proteins were undertaken.

The results obtained are as follows ;

1. A maximum amount of nitrogen was extracted from each of beef and chicken in the 0.1 M borate buffer solution of pH 7.5 when the NaCl concentrations of which were 1.4 M for the former and 1.8 M for the latter.

Therefore, muscle proteins were extracted under the above conditions of extracting the maximum amount of nitrogen in the present work throughout.

2. The contents of actomyosin N and myosin N in beef were significantly lower than those in chicken, while the contents of non-protein N and stroma N in the former were remarkably higher than those in the latter.

3. The water holding capacity of chicken was considerably better as compared with that of beef, though their pH values were almost the same.

4. In the ultracentrifugal analyses, 4 peaks were observed in the patterns of both meat samples, but the sedimentation constants for chicken were fairly greater than those for beef.

5. According to the results of starch gel electrophoretic analyses treated with urea alone and both urea and β -mercaptoethanol, beef and chicken differed in the number of zones separated and in the movement of some zones.

Nevertheless, further investigations are necessary to throw light on the distinct and detailed differences in the properties of muscle proteins between beef and chicken by starch gel electrophoresis.

Laboratory of Chemistry and Technology of Animal Products,
Faculty of Agriculture, Kyushu University, Fukuoka, Japan