

## \*漁獲物の鮮度保持に関する研究 (第4報)

### “洗い”の機構に関する考察

野口榮三郎・山本常治

#### Studies on the freshness of fish - (4)

#### A Hypothesis for the mechanism of “Arai” phenomenon (Muscle contraction caused by perfusing water)

Eizaburo NOGUCHI and Joji YAMAMOTO

The phenomenon of “Arai” (muscle contraction caused by perfusing water) cannot be considered as caused simply by osmotic pressure or dehydration. It is assumably considered to be a variety of muscle contraction that is caused by the structural changes of protein molecule ensuing from the hydration of its activated redicals, the decomposition of ATP involving, in accordance with the dissociation or ionic exchange of K-ion which has been connected to the muscle protein due to the disturbance of ionic equilibrium, the disturbance itself being given rise to by the perfusing water.

### 緒 言

新鮮な筋肉を蒸留水等に浸漬した場合に起る自発的筋収縮即ち“洗い”の現象に関しては古くから観察されて、Herman (1879) 以来多くの研究報告がなされている。この現象が単なる滲透圧現象によるものでないことは既に浅野<sup>1)</sup>、柏原<sup>2)</sup>等が報告しているが、その機構等は明らかでなく、名取<sup>3)</sup>も単に“このような溶液中で起る筋肉の持続的短縮は myosin 系蛋白質が ATP の分解で短縮するもの”と考えると、その連鎖化学反応が中断されて解糖作用が行われない場合にはその弛緩が行われないで硬直に移行することは理解出来る”と述べている程度である。

生筋の収縮機構については Lohman, Meyerhof, Englhardt, Szent-Györgyi 等の多数の劃期的な研究が進められておるが未だ不明の点が多く、僅に筋肉収縮の本態は myosin 系蛋白質と ATP 等の高エネルギー磷酸化合物の相互作用によるものであり、myosin 系蛋白質の構造的変化によることが確認されている程度である。

著者等は魚肉の鮮度判定方法として“洗い”の現象を利用する目的でこの研究を開始したのであるが、この“洗い”の機構に付き 1, 2 の興味ある事実を見出したのでその結果を報告する。

\* 日本水産学会，昭和30年度年会で発表（東京昭30. 4）

## 実 験 方 法

材料は断頭死を行つたコイの背側筋を使用した。“洗い”に依る筋肉の収縮度の測定は前法<sup>4)</sup>と同様な装置を用い、灌流液の温度は20°Cとした。膨潤量の測定は約5gの肉片を25ccの溶液中に浸漬し、一定時間毎に取出して軽く表面に附着した水分を濾紙で拭き取り、重量の増加を%で示した。

## 結 果

第1表は新鮮なコイ肉切片を種々の濃度の蔗糖液で灌流したものであり、第1図はアルコールの種々の濃度で灌流したものであるが、非電解質である蔗糖液の場合は濃度による影響が見られず、殆んど水の場合と変わりなく収縮している。またアルコールの場合には50%以上の濃度では殆んど縮まないが、それより稀薄となる程良く縮んでいる。即ちこのことから単なる浸透圧とか脱水等の現象によつて筋収縮が行われるものとは考えられない。第2, 3図は種々の濃度の塩類溶液で灌流したものであるが濃度やイオンの種類によつて異つた収縮を示している。このことから“洗い”による筋収縮は電解質のイオンによつて強く影響される事が先ず考えられる。そして多くの場合筋肉中の加里の量と同一イオン濃度であると云われる0.1M附近で最も収縮度が小さく、それより稀薄又は濃厚となるほど収縮度は増加している。そして0.1Mより稀薄な場合には陽イオンの影響が強く出現し、0.1Mより濃厚な場合には陰イオンの影響が強く表れている。このことは筋肉とイオンの2重層をなして結合していると考えられるK<sup>+</sup>イオンが、灌流液とのイオン濃度の差異に依つて平衡を乱され、K<sup>+</sup>イオンの解離が行われるものと考えられるが、この際には当然K<sup>+</sup>イオンとのイオン交換が行われ、蛋白質に水和現象が行われるのではないかと想像される。事実“洗い”に依る筋収縮が行われる場合には、水和に依る膨潤現象が肉眼的に観察されるので、異つた濃度の食塩溶液及び1.0mol濃度のKCl, KNO<sub>3</sub>, KBr, KCNS, KI等の溶液中にコイ肉片を浸漬した場合の膨潤量及び水分量を調査した。結果は第2表及び第4図、第5図に示す。

	Distilled water	Concentration of cane suger sol.			
		1.0 %	5.0 %	10.0 %	20.0 %
No. 1	28.5 %	27.0 %	28.0 %	26.0 %	26.0 %
No. 2	25.0 %	23.5 %	24.0 %	22.0 %	23.0 %

Table. 1 Effect of osmotic pressure on the contraction of muscle of carp caused by perfusing water for 20 min. at 20°C

	Sample	Distilled water	1.0 mol KI sol	1.0 mol KCNS sol	1.0 mol KBr sol	1.0 mol KNO <sub>3</sub> sol	1.0 mol KCl sol
Contraction of muscle %	-	22.63 23.91	0.77 0.00	2.90 2.50	5.54 6.33	5.67 6.38	8.75 8.45
Water content %	83.41	85.66	82.83	83.53	83.56	84.09	84.5
7P-P mg. %	28.3	-	18.3	18.3	11.6	6.7	77.5

Table. 2 The contraction of muscle of carp caused by perfusing water for 15 min. at 20°C. and its water content

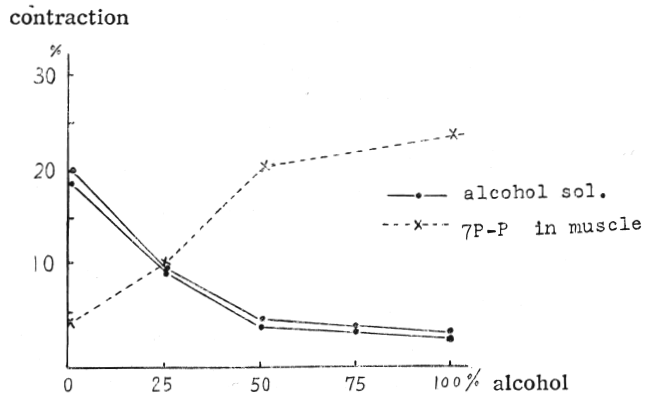


Fig. 1 Effect of dehydration on the contraction of muscle of carp caused by perfusing alcohol for 10 min. at 20°C.

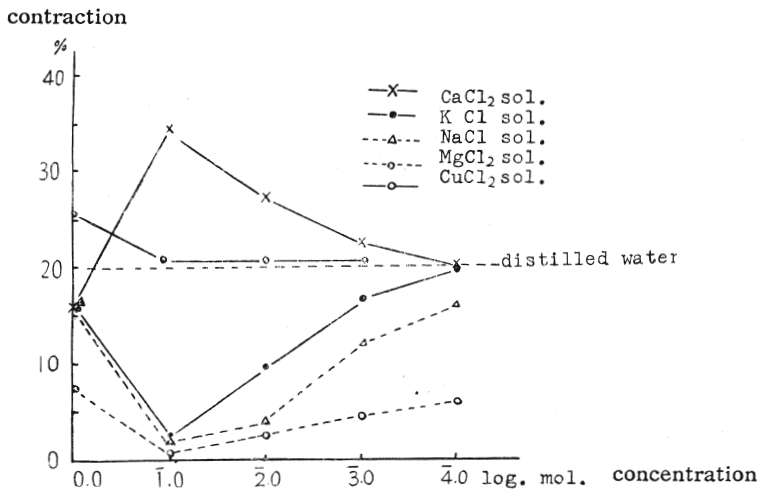


Fig. 2 Effect of kation on the contraction of muscle of carp caused by perfusing solution for 6 min. at 20°C.

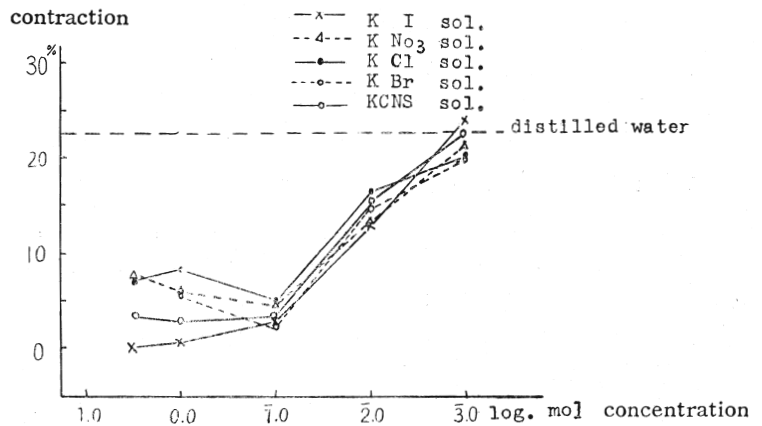


Fig. 3 Effect of anion on the contraction of muscle of carp caused by perfusing water for 10 min. at 20°C.

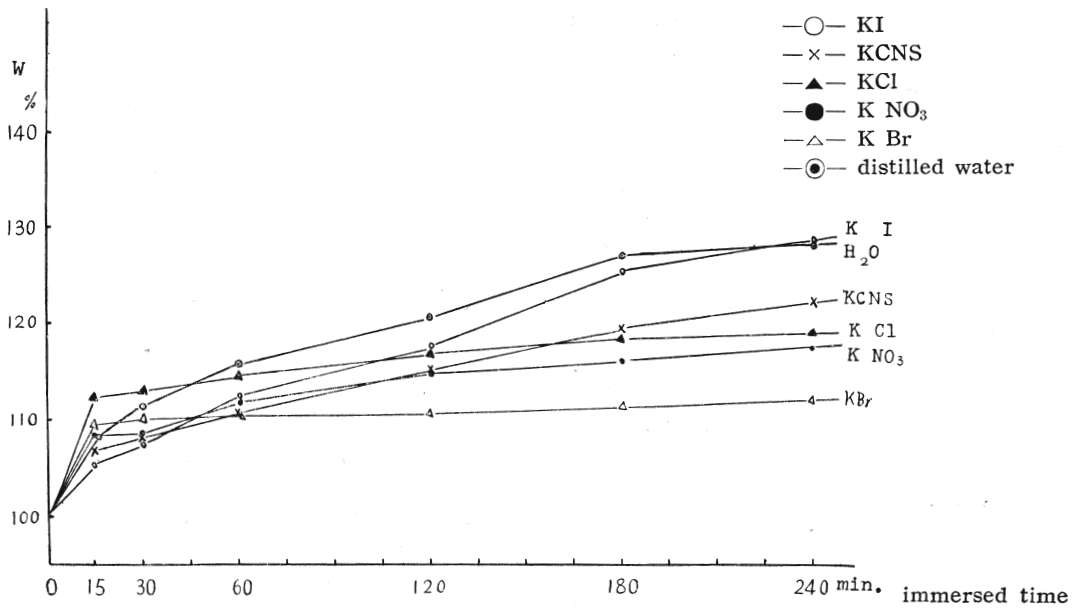


Fig. 4 Swelling of muscle of carp which decapitated immediately after catch in K-salt solutions at 15°C.

その結果は“洗い”に依る筋収縮が最も小さい 0.1mol 附近で最も吸水量が小さく、それより濃厚又は稀薄となる程水分量が増加して水和された形となっている。しかし 2.0mol の場合には可成り脱水されているが、この程度の高濃度となると塩析の影響が現われて脱水された形となるのではないかと思われる。

次に 1.0mol の各陰イオンに依る“洗い”に依る収縮度に及ぼす影響は Hoffmeister の逆の順列に似た H<sub>2</sub>O>Cl>NO<sub>3</sub>>Br>CNS>I の順であるが、浸漬肉の水分量も H<sub>2</sub>O>Cl>NO<sub>3</sub>>Br>CNS>I と全く同様な

順位を示し、収縮度の高いもの程水和量も高い結果を示した。また収縮度の高いもの程  $\Delta 7P-P$  の残存量も小さく、収縮に依つて  $\Delta 7P-P$  が消費されていることを示している。陰イオンに依るコイ肉の膨潤量を見ると第 4 図に示すように、普通“洗い”が完了すると思われる浸漬後 30 分前後を境としてその膨潤の順列が最初と全く逆転して Hoffmeister と同様の順列を示していること、死後硬直完了後の肉は初めから Hoffmeister と同様な順列を示していることは誠に興味がある。

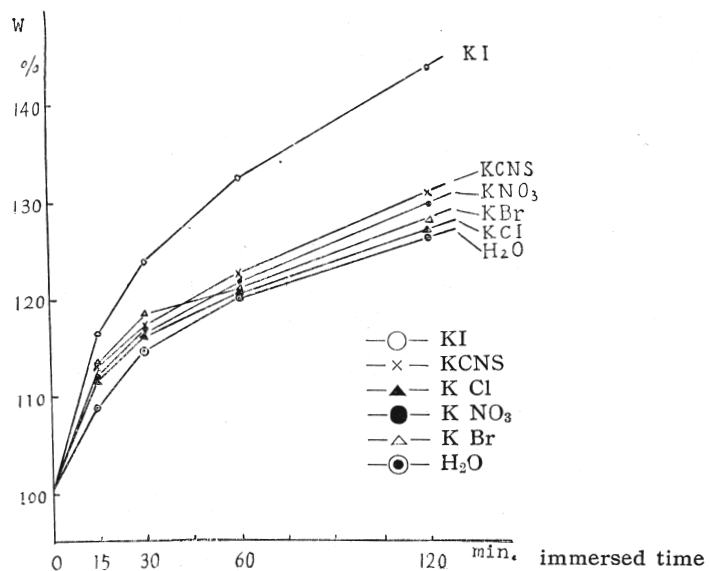


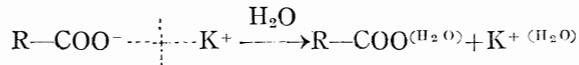
Fig. 5 Swelling of muscle of Alaska pollack after dissolution of rigor mortis in K-salt solutions at 15°C.

## 考 察

以上のような結果から“洗い”に依る筋収縮を次のように考察した。

## (1) 蒸留水の場合

筋肉中の加里が結合したKの形で存在するか、或は遊離したK<sup>+</sup>の形で存在するかは未だ明らかにはされておらないが、Ernst, Fenn<sup>5)</sup>等の研究結果からは筋収縮時には遊離のK<sup>+</sup>の増大が報告されており、特にF. Verzar<sup>6)</sup>等は筋収縮の機構を—COO<sup>-</sup>基と結合しているK<sup>+</sup>と—NH<sub>3</sub>基に結合しているPo<sub>4</sub><sup>-</sup>が刺戟に依つて解離し、—COO<sup>-</sup>基と—NH<sub>3</sub>基とはfreeとなり、その引力に依つて蛋白の収縮が行われる可能性があるとき述べているので、Kが蛋白中のCarboxyl基等の極性基とイオンの結合をなしておることは想像される。そこで筋肉中に存在する加里は筋肉蛋白中のCarboxyl基のような極性基とイオ的に結合していると仮定すれば、筋肉片を水で灌流させた場合にはCarboxyl基と対立イオン層をなしているK<sup>+</sup>イオンは水中に解離し、一方Carboxyl基には水分子が吸着して水和される。

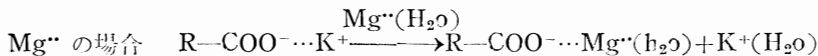
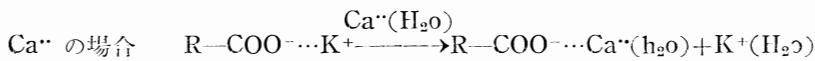


即ちK<sup>+</sup>イオンの解離と共に蛋白は水和された形となることが想像される。そして事実この場合には蛋白の水和であるか否かは不明であるが、筋肉中の水分量は増加し、アルコールに依る脱水が行われるような場合には収縮は行われておらない(第1図)。斯してこのようなミオシン系蛋白からK<sup>+</sup>イオンの解離が行われて蛋白が水和され、構造的変化を来すと共に、ATPの分解が伴つて初めて収縮が行われる。

## (2) 0.1mol 濃度より稀薄な場合

灌流液のイオン強度が0.1μより低い場合、即ち筋肉中のCarboxyl基とイオンの2重層をなして結合しているK<sup>+</sup>イオンの濃度より稀薄な場合には、筋肉と結合しているK<sup>+</sup>イオンと灌流液中の陽イオンとのイオン強度の差に依つて生ずるイオン雲囲気の攪乱に依つて、陽イオンの交換或いはK<sup>+</sup>イオンの解離が行われ、このイオン強度の差が大であればある程解離されるK<sup>+</sup>の量及び水和される量も大で良く収縮するが、0.1mol KCl 又はNaCl 液となれば、灌流液中のK<sup>+</sup>又はNa<sup>+</sup>のイオン強度は、筋肉中のK<sup>+</sup>イオンと平衡状態となる為にK<sup>+</sup>イオンの交換排除が充分に行われず、従つて充分な収縮が行われ難くなると思われる。

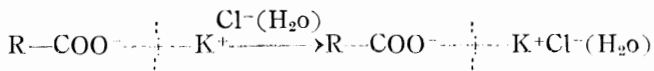
一方CaCl<sub>2</sub>, MgCl<sub>2</sub>の如き溶液の場合には次の様なイオン交換が行われる。



そしてCa<sup>++</sup>がmyosinと結合した場合<sup>7)</sup>にはmyosinのATPase作用が促進されるのでATPの分解が急速に行われ筋肉の短縮をを促進するが、mg<sup>++</sup>がmyosinと結合した場合にはmyosinのATPase作用が阻害されるので、ATPの分解が行われ難い為に筋肉も収縮し難いのではないかと考えられる。

## (3) 0.1mol 濃度以上の場合

この場合は灌流液中の陽イオンの強度は筋肉と結合しているK<sup>+</sup>イオンより濃厚なので、直接のK<sup>+</sup>イオンの交換解離は行われないので陽イオンの影響は余り示されない。しかしこの場合には灌流液中の陰イオンがK<sup>+</sup>に静電的に吸着されて次のような変化を行うことが考えられる。



即ち筋肉中の $K^+$ イオンに陰イオンが強く吸着され、 $K^+$ イオンの平衡が乱れ、蛋白質は水和されると共に一部の $K^+$ イオンは遊離され、ATPの分解を伴つて収縮が行われる。

そしてこの場合の陰イオンの影響は陰イオンの水和量と密接な関係があり、筋肉の収縮度は Hoffmeister 順列と反対の  $Cl^- > NO_3^- > Br^- > CNS^- > I^-$  の順を示し、水和量の小さい  $CNS^-$ 、 $I^-$  の場合には殆んど筋肉の収縮を示さず、またこの場合の筋肉中の吸水量も少かつた (第2表, 第4図)。勿論この場合の影響としては中性塩類の影響特に  $CNS^-$  や  $I^-$  に依る蛋白質の変性と云う影響も考えなければならぬ。

普通コロイドの水和に及ぼす陰イオンの影響は界面化学的吸着と静電氣的吸着とが考えられ、一般に低濃度では静電氣的吸着が行われるが 0.1mol 以上の高濃度となると界面化学的吸着が主として行われ、Hoffmeister 順列に従うと云われている。そして右田<sup>9)</sup>等の魚肉の坐りに及ぼす陰イオンの影響に於ける研究に於いても同様な現象を認め、 $Cl^- < NO_3^- < I^- < CNS^-$  の順で坐りが強く、これは蛋白質分子に依つて界面化学的に吸着されたイオンの水和力に依つて肉蛋白質が強く水和された為であろうと述べている。

しかし著者の実験結果では 1.0mol の濃度では Hoffmeister 順列とは全く反対の、主として静電氣的吸着が行われると思われる順列を示して、従来のコロイドに対するイオン吸着、或は右田等の行つた研究結果とは全く反対の結果を示した。しかしこのことは第4図、第5図に示される通り、新鮮な筋肉を浸漬した場合には或る時間迄は Hoffmeister 順列と逆の順列であるが、或る時間が経過すると逆転して Hoffmeister 順列を示すようになる。そしてこの順列が逆転する浸漬後30分乃至1時間と云う時間は大体“洗い”に依る縮みが完了すると思われる時間であるが、このような時間から主として界面化学的な吸着が行われるようになること、或はまた死後硬直を完了した不鮮肉の場合には最初から界面化学的吸着を示すと思われる Hoffmeister 順列に従っていることは誠に興味がある。勿論単なるこのような水分量の増加、或は重量の増加から蛋白質と陰イオンの吸着或は水和量を云々するのは誠に危険であるが、新鮮な筋肉では初めに主として電気化学的の吸着が行われ、引き続いて界面化学的吸着が行われるが、死後硬直完了後のような不鮮肉、又は“洗い”に依る筋肉収縮等が行われた後の筋肉では、初めから主として界面化学的吸着が行われるのではないかと考えられる。そしてこのことはまた新鮮な筋肉では蛋白質とイオ的に結合している  $K^+$  イオンと陰イオンとの間に静電的吸着が行われるが、死後硬直後の不鮮な筋肉又は“洗い”に依る収縮後の筋肉では、筋収縮に依つて既に蛋白質から  $K^+$  イオンの解離が行われている為、蛋白質と結合している  $K^+$  イオンの量が極めて少く、その為最初から蛋白質と陰イオンの間には界面化学的吸着が主として行われるのではないかと云うことも想像される。

勿論これらに関しては更に他の実験を繰返えして確める必要があるが、著者等は以上のような実験結果から、“洗い”の現象に於ける機作としては、筋肉が蒸留水又は塩類溶液中に浸漬されることに依つて、ミオシン系蛋白質とイオン層をなして結合している  $K^+$  イオンの平衡が乱されて、 $K^+$  イオンの解離或はイオン交換が行われ、 $K^+$  イオンが遊離すると共にミオシン系蛋白質に部分的水和が行われて、“洗い”に依る筋収縮の機作が初まると考えた。

この考え方は Szent-Györgyi<sup>9)</sup> が筋短縮の本態的過程と考えている Actomyosin が適量の  $K^+$  及び  $Mg^{++}$  の存在下で ATP 添加に依る脱水過程を起し、縮むと云うこととは全く矛盾している。

しかし名取<sup>10)</sup>はこのような脱水とは逆に一種の膨潤説を述べている。その考え方は第6図のように蛋白質の鎖状分子には所々に  $-COO^-$  基、 $-NH_3^+$  基が存在していて、これらの部分に水、又は塩類其の

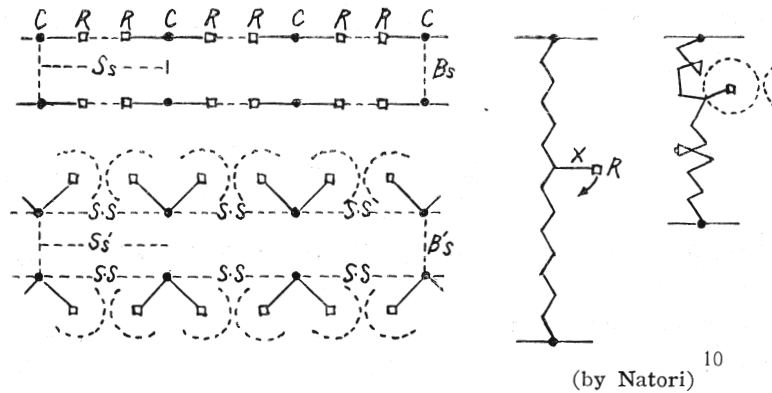


Fig. 6 Model of structural change of protein molecules at muscle contraction.

他の分子が冪田気状に結びつくとその占める空間が問題となつて、空間の重なり合いを起さない為には鎖状分子束の外側に—COO基が向きを変えなければならない。そして図のX部が外側に廻るような力が働き、側鎖が切れない限り鎖状分子は短縮すると共に太くなる anisodimensional な縮み方をすると言ふ考え方である。

この考え方は分子構造から見た短縮機構の仮説であるがこの考え方とは良く一致するように思われる。

次にこのような“洗い”に依る筋収縮を生ずる場合には、必ず筋肉内のATP等の高エネルギー磷酸化合物の分解を伴い、“洗い”に依る筋収縮度に応じてATPが分解すること、或は筋肉内のATP量に比例して筋収縮が行われ、筋肉内のATP量が零となつた際には“洗い”に依る筋収縮も亦生じないこと等<sup>4)</sup>から、筋短縮の状態は energy minimum の状態で、筋肉を伸展させるのに energy を必要とすると云う Szent Györgyi 等の考え方とは異つて、筋収縮時にはATPが分解されてその自由エネルギーが収縮蛋白質に供給される時のみ起ると云う殿村<sup>1)</sup>の考え方と同様に、“洗い”に依る筋短縮に際してもATP等の高エネルギー磷酸化合物のエネルギーを消費して初めて短縮するものであらうと考えられる。また“洗い”の現象の際、筋肉の収縮に伴つて free SH 基数が減少する事実<sup>4)</sup>に関しては、free SH 基数の測定方法が異なることに依つてその数値も異なるものであつて、この数値が必ずしも free SH 基数を示すものではなくて他の還元作用の影響をも示すので、この点に関しては尙多くの吟味を必要とするが、少く共この実験の結果は筋短縮に依つてミオシン系蛋白質が構造的変化を来たして、free SH 基が封鎖され減少するのではないかと予想され、死後硬直の進行と共にこの free SH 基数も亦減少することとも関連して極めて興味のある事実で今後の研究に俟たなければならない。

次に死後硬直に際しては、極めて徐々に長期間に亘つて進行する glycogen の減少が、“洗い”に際しては極めて急速に進行する事実についてはその原因或は機構等については之を確めることが出来なかつた。しかし恐らくは“洗い”の現象に於いては筋収縮が極めて急激に進行し、ATPの減少が急速に進行すると共に解糖作用は無機的に且つ流水中で急速に行われる為、空气中に放置される死後硬直時とは異つて、生成された乳酸から glycogen への再成等も殆んど行われず、且つ生成された乳酸等は直ちに流出され、一方的に急速に減少する為であらうと想像される。

即ち以上のような諸事実から新鮮な筋肉に於いてのみ見られる“洗い”の現象は、このように筋肉を蒸留水又は塩類溶液に浸漬することに依つて、ミオシン系蛋白質の Carboxyl 基の如き側鎖等とイオンの形で結合している K<sup>+</sup> イオンの平衡状態が乱され、K<sup>+</sup> イオンの解離が行われると共に側鎖等

に水和或は他の塩類の結合が行われ、ついでATP等の高エネルギー燐酸化合物の分解が行われて蛋白質の構造的変化を来し短縮するものであらうと想像した。

### 摘 要

(1) 新鮮な筋肉を灌流した場合に生ずる筋肉の収縮、即ち“洗い”の現象に関する機構について一つの考察を行った。

(2) “洗い”の現象は単なる滲透圧現象や脱水現象に依るものではなくて、灌流液のイオン強度やイオンの種類に依つてその影響が異り、また筋収縮が行われる場合には水分量の増加が見られ、ATPの消費が伴われることから次の様な一つの機構を考えた。

(3) 蛋白質と結合している加里イオンが灌流液に依つてその平衡を乱され、加里イオンの解離又はイオン交換が行われると共に蛋白質の活性基が水和され、ATPの分解を伴つて蛋白質の構造的変化を来す一種の筋収縮であらう。

### 文 献

- 1) 浅野達也：京都医学雑誌，15，1916.
- 2) 柏原長弘：京都医学雑誌，17，821～840，1920.
- 3) 名取礼二：“筋生理学”，193，1951.
- 4) 本誌：第1報～第4報
- 5) 名取礼二：“筋生理学” 122～124，1951.
- 6) F. Hawrowitz：“Progress in Biochemistry” 1951.
- 7) K. Bailey：“Advance in protein chemistry” 1. 279，1944.
- 8) 右田正男・岡田稔：日本水産学会誌，18，117～123，159～170，1952.
- 9) Szent Györgyi：“Chemistry of muscular constriction” 1947.
- 10) 名取礼二：“筋生理学”，181～182，1951.
- 11) 殿村雄治・渡辺静雄：科学，(11) 567～573，1953.