

令和元年6月19日現在

機関番号：12614

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K07869

研究課題名(和文) オオグソクムシの食品利用への研究

研究課題名(英文) Utilization of isopod as a foodstuff

研究代表者

大迫 一史 (Kazufumi, Osako)

東京海洋大学・学術研究院・教授

研究者番号：00452045

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：オオグソクムシを食用として利用することを目的に、タンパク質回収法の検討、回収タンパク質のゲル形成能、内在性プロテアーゼの検討、およびアレルギー性の検討を行った。タンパク質は塩水利用回収法で機能性を保持したまま回収可能であることが明らかとなった。また、回収タンパク質のゲル形成能は魚類と比較すると弱い、十分食用可能であることがわかった。一方で、金属依存型プロテアーゼおよびセリン型プロテアーゼがゲル形成を阻害することが示唆された。また、甲殻類と相当性が高いトロポミオシンを有する事から、これの低減化の必要性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

来たる食糧難の時代に備え、安全性を担保したうえで、オオグソクムシから効率的に可食部(筋肉)を得る方法を開発し、これを使ってかまぼこを製造する方法が開発できないかと考えた。研究の結果、オオグソクムシからタンパク質のみを得る方法を開発した。また、このタンパク質はから、一般に出回っている蒲鉾よりは若干弾力が無いが、蒲鉾をつくることに成功した。一方で、オオグソクムシはエビやカニに含まれるものと同様のアレルギーを含むため、今後、このアレルギーを低減化する方法の開発が必要であると思われた。

研究成果の概要(英文)：To utilize isopod *Bathynomus doederleinii* as a foodstuff, recovering method of protein from isopod, gel-forming ability of recovered protein, endogenous protease of recovered protein, and allergen were investigated. The protein with relatively higher functionality could be obtained by salt water treatment method. Although the gel-forming ability of recovered protein was somewhat lower than that of fish meat, recovered meat from isopod was assumed to be utilized as a raw material of kamaboko. The somewhat lower gel-forming ability is possibly caused by metallo-type protease and serine-type protease. However, isopod was clarified to contain tropomyosin which is an allergen of crustaceans. The further study is needed to reduce the amount of allergen including tropomyosin.

研究分野：水産加工

キーワード：オオグソクムシ

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

オオグソクムシ(図1)は、ダンゴムシやフナムシの仲間で、等脚目の中では、日本最大種であり、体長が10-15センチメートルにも達する。そのユニークな形態から近年注目を集め、これを試食するためのイベントも水族館主催等で開かれている。

本種は日本の本州中部以南の水深150-600メートルほどの深海底や、大陸棚に分布しており、これら深海における漁業においては必ずと言っていいほど混獲物として漁獲されることからその資源量は莫大であることが見込まれる。



図1 オオグソクムシ

ところが、オオグソクムシは一般的には食用とされていない。この理由としては、オオグソクムシの存在が一般消費者にあまり知られてはいないことに加え、見た目が悪いことなどが挙げられる。

そこで、申請者らは、来たる食糧難の時代に備え、オオグソクムシをこれまで申請者らが研究を行って来た「かまぼこ」の原料として用いることが出来ないかと考えた。すなわち、安全性を担保したうえで、オオグソクムシから効率的に可食部(筋肉)を得る方法を開発し、これを使ってかまぼこを製造する方法が開発できないかと考えた。さらに、オオグソクムシを既存のスケトウダラなどの底魚に替わる食糧として普及せしめることにより、特定魚種への漁獲集中度の集中による資源量の低下を緩和できるものと考えた。

魚肉ゲルは「かにかまぼこ」などとして世界に普及し、その需要は未だ伸びつつある。しかしこれら魚肉ゲルの原料はいずれもそれ自体が食糧として利用できる。一方、本研究で取り上げたオオグソクムシゲルは未利用水産資源から製造されるものであり、現在、これらのほとんどは洋上で投棄されている。バイオマスの有効利用と言った観点から、これまで見向きもされなかった水産資源から付加価値の高いかまぼこを調製させようとする試みが、本研究の独創的・新規な点である。

申請者は低未利用水産資源に含まれるタンパク質を利用したかまぼこの調製とそれらの性状改善について一連の研究を実施している。これまでに、アイゴ(K. Osako et al. Seasonal variations in gel-forming ability of rabbit fish. *Fisheries Science*, 69(6), 1279-1287. 2003)、イスズミ(K. Osako et al. Year-round gelation characteristic of brassy chub *Kyphosus lembus* meat. *Fisheries Science*, 72(1), 173-178. 2006)、およびツノナシオキアミ(LC. Sun et al. Comparative study of proteins recovered from whole North Pacific krill *Euphausia pacifica* by acidic and alkaline treatment during isoelectric solubilization/precipitation. *Fisheries Science*, 79(3), 537-546. 2013)から食用可能な「ゲル」を調製する方法について長年研究してきた。

2. 研究の目的

以上のように、オオグソクムシの有用性については高い可能性が見出されたものの、クリアされるべき難点は大きく2つあった。すなわち、一つは高い回収率でかまぼこ原料適性が高いタンパク質を得ることである。魚肉採肉器などの既存の機器での肉の回収は不可能で、かといって手指での採取は現実的ではない。これまでに申請者らは、ツノナシオキアミから効率的にタンパク質を回収する方法として、高pHにおいてオキアミ全体を溶解し、遠心分離により、甲殻などの不可食部を除去後、等電点にまでpHを下げて沈殿させることについて検討したが、これではタンパク質が変性してゲル形成能を失う可能性があるため、タンパク質の高い機能性を維持したまま回収する新たな方法について検討した。

もう一つは、これまで食習慣の無かったオオグソクムシの安全性を検証することである。予備試験での検討範囲では問題は見られなかったが、近年、食物アレルギーの有病率が増加してきており、大きな社会問題となっていることから、この点を明らかにしておくことが必要であると考えられる。オオグソクムシは等脚目であり、特定原材料として加工食品への表示が義務付けられているエビとカニは十脚目であるが、どちらも同じ甲殻類であるので、オオグソクムシもアレルギー性を有する可能性のあることが懸念される。

そこで今回、申請者らは、以上の大きな2つの問題点をクリアすることにより、オオグソクムシを来たる食糧難の時代の有用な栄養源として担保すべく、今回得られる知見を世界に広く普及しようとするものである。

3. 研究の方法

長崎県沖で漁獲されたオオグソクムシを用いた。この脂肪酸組成や遊離アミノ酸組成などの機能性物質，および利用化学的特性を明らかにし，畜産物や，他の水産資源と比較し，その違いを明らかにした。また，タンパク質の機能性（ゲル形成能）を保持したまま，高収率でタンパク質を回収する方法を開発し，オオグソクムシ筋肉のかまぼこゲル形成特性を明らかにした。加えてオオグソクムシ筋肉中には他の甲殻類と同様，高いプロテアーゼ活性が見込まれるため，プロテアーゼのタイプと，この活性を抑制するための天然由来インヒビターを検索し，高品質なかまぼこゲルを得るための製造法の開発を試みた。

また，オオグソクムシのアレルゲン性については，エビ・カニ等の甲殻類に対してアレルギーを示す患者の血清を用いたアレルゲン性の評価を enzyme-linked immuno-sorbent assay (ELISA) ならびにイムノブロットングにより行った。また，高速液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析装置 (LC-MS/MS) を用いたオオグソクムシアレルゲンの同定，cDNA クローニングを行い，甲殻類アレルギー患者に対するオオグソクムシアレルゲンの交差反応性について考察を行った。

4. 研究成果

(1) オオグソクムシの各種成分分析

本種は既報の食用甲殻類と比較して粗タンパク質含量は少ないものの，粗脂肪を多く含むことが分かった。重金属のうち，水銀，カドミウムおよび鉛は検出限界値以下であり，ヒ素は筋肉で 6.4~8.0mg/100g，本種全体で 7.1~9.5mg/100g 検出され，銅は筋肉で 0.9~2.1mg/100g，本種全体で 0.2~0.4mg/100g 検出された。これらの値は既報の水産生物のヒ素および銅の含有量の中でも高い方ではあったが，食用とする上で問題はないと考えられた。また遊離アミノ酸組成は他の食用甲殻類と同様の傾向を示した。すなわち，浸透圧調節作用や抗酸化性等の機能性を示すタウリンや，甲殻類に多く含まれる呈味成分であるグリシンやアルギニン，アラニンの割合が高く，これらの含有量の合計は全遊離アミノ酸量の 5 割以上を占めた。以上の結果から，本種は有用な食糧資源となり得ると考えられた。

(2) オオグソクムシの脂肪酸組成

本種に比較的多く含まれることがわかった粗脂肪について組成を検討した。その結果，本種の粗脂肪は筋肉およびオオグソクムシ全体ともにトリアシルグリセロール (TAG) を特に多く含み，それに次いでホスファチジルエタノールアミン (PE) およびホスファチジルコリン (PC) が多く含まれていることが分かった。これらの主要な脂質クラスの脂肪酸組成を分析した結果，TAG には C18:1n-9 や C16:1n-7 等のモノ不飽和脂肪酸が，PE および PC には C20:5n-3 (IPA) や C22:6n-3 (DHA) 等の多価不飽和脂肪酸が多く含まれることが分かった。特に PE には，通常魚介類にはあまり含まれない C20:4n-6 が多く含まれていた。本種の胃内容物から抽出した粗脂肪も C18:1n-9 や IPA, DHA を多く含んでおり，本種の脂肪酸組成は餌料由来である可能性が考えられた。

(3) オオグソクムシからのタンパク質回収法の検討

硬い殻を持ち，筋肉を採取することが困難である本種から効率よく練り製品を製造する手段を確立するため，塩溶解性を利用して本種全体からタンパク質を回収し（回収タンパク質）この加熱ゲル物性を筋肉のそれと比較した。回収タンパク質は 40 で 120 分加熱した場合に，筋肉よりも高い加熱ゲル物性を示した。一方で，加熱温度の上昇に伴い回収タンパク質の加熱ゲル物性は大きく低下した。回収タンパク質および加熱ゲルのタンパク質組成を SDS-PAGE によって分析した結果，タンパク質の回収工程および 40 加熱ゲルにおいて，ゲル化に必須とされるミオシン重鎖 (MHC) の分解は見られなかった。一方で，回収タンパク質においては 60 および 90 加熱における MHC の分解が，筋肉のそれよりも著しかったことから，筋肉に内在するプロテアーゼインヒビターが，タンパク質を回収する工程で取り除かれたと考えられた。

(4) プロテアーゼのタイプ特定

オオグソクムシタンパク質回収中の脱水工程において，タンパク質の自己消化により生じる TCA 可溶性ペプチド量に対する各種プロテアーゼ阻害剤の効果を，阻害率 (%) として算出した結果，各種プロテアーゼ阻害剤の中で比較的效果が高かったものは 5mM EDTA の 21.90 ± 6.58%、50mM EDTA の 30.72 ± 2.75%、5mM Benzamidine の 9.71 ± 18.30%、50mM Benzamidine の 13.19 ± 16.81%、0.1mg/mL SBTI の 21.45 ± 3.91% であった。以上の結果から，オオグソクムシが有するプロテアーゼは，セリン型と金属依存型であることが示唆された。

(5) オオグソクムシから回収したタンパク質に添加するためのプロテアーゼ阻害剤の探索

上記の試薬で，プロテアーゼの活性が阻害されることは明らかとなったが，これら阻害剤は試薬であり，実際の現場では活用できない。そこで，天然由来のプロテアーゼインヒビターとして，金属依存型プロテアーゼに対する効果を期待してクエン酸ナトリウム，セリン型プロテアーゼに対する効果を期待して卵白を用いたが，効果は明瞭ではなかった。

(6) オオグソクムシのアレルゲン性評価

甲殻類アレルギー患者 3 名の血清を用いて ELISA 試験を行った結果、いずれもオオグソクムシ加熱粗抽出液に対して、エビ（ブラックタイガー）加熱抽出液と同等の陽性反応を示すことが明らかとなった。このことは、患者血清 IgE と結合する抗原がオオグソクムシに存在することを示しており、甲殻類アレルギー患者がオオグソクムシを摂食した場合、アレルギーを発症する可能性のあることが示された。また、甲殻類アレルギー患者血清および抗トロポミオシン抗体を用いたイムノプロットングにより、アレルギー患者 IgE と結合するオオグソクムシの抗原タンパク質がトロポミオシンである可能性の高いことを見いだした。

（ 7 ）オオグソクムシのアレルゲンの同定と特性解析

甲殻類アレルギー患者血清および抗トロポミオシン抗体と反応する分子量約 36,000 のタンパク質（36 k タンパク）を、逆相 HPLC を用いて SDS-PAGE で単一バンドになるまで精製し、LC-MS/MS を用いて部分アミノ酸配列を解析することで、36k タンパク質をトロポミオシンであると特定した。さらに、RACE 法を用いて、オオグソクムシトロポミオシンの全コーディング領域を含む cDNA をクローニングした。決定したオオグソクムシトロポミオシン cDNA 塩基配列を基に、他種甲殻類トロポミオシンとの一次構造を比較したところ、全長にわたり相同性の高いことが明らかになった。相同性解析を行った甲殻類は、ナンキョクオキアミ、ツノナシオキアミ、ブラウンシュリンプ、ホッコクアカエビ、アメリカンロブスター、タラバガニ、ズワイガニ、ケガニ、シャコであり、相同性は 89% ~ 97% であった。オオグソクムシトロポミオシンが他種甲殻類トロポミオシンと非常に高い相同性を有していたことは、多種類の甲殻類と抗原交差性を示す可能性が高いと考えられる。この点と患者血清を用いたアレルゲン性評価においても抗原交差性が見られた点とを考慮すると、甲殻類アレルギー患者がオオグソクムシを食す場合には食物アレルギーの発症に注意が必要であり、本種を食品開発に用いるには、アレルギー表示の特定原材料であるエビ・カニや他の甲殻類と同様、アレルゲン性に対する配慮が必要であると考えられる。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 4 件)

澤崎隆行, 高橋希元, 黒瀬光一, 岡崎恵美子, 大迫一史. オオグソクムシの食品利用に関する研究. オオグソクムシの食品利用に関する研究. 平成 28 年度日本水産学会春季大会. 2016 .

岩川織奈, 大迫一史, 嶋倉邦嘉, 黒瀬光一. オオグソクムシを食べるとアレルギーを発症するか?. 平成 29 年度日本水産学会春季大会. 2017 .

岩川織奈・大迫一史・嶋倉邦嘉・黒瀬光一. オオグソクムシのアレルゲンは何か?. 第 113 回日本食品衛生学会学術講演会. 2017 .

岩川 織奈, 嶋倉 邦嘉, 紀藤 圭治, 大迫 一史, 黒瀬 光一. オオグソクムシ トロポミオシンの潜在的アレルゲン性と cDNA クローニング. 第 41 回日本分子生物学会年会. 2018 .

〔その他〕

ホームページ等

<http://www2.kaiyodai.ac.jp/~osako/index.htm>

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：黒瀬光一

ローマ字氏名：KUROSE KOUICHI

所属研究機関名：東京海洋大学

部局名：学術研究院 食品生産科学部門

職名：教授

研究者番号（ 8 桁）：30280754