

(10) 水産タンパク質資源の有効利用技術に関する研究開発(平成18年度~平成20年度)

研究のねらい

近年、水産業界では、資源量や漁業従事者の減少に伴う、水揚高の低迷が懸念されている。また、安価な他国品の輸入量増加から、販売単価の低下を余儀なくされているものもあり、経済的にも厳しい状況が続いている。このような環境は、函館地域も例外ではない。地域にとって、限られた資源から新たな付加価値を生み出すことにより、積極的に産業の活性化を図ることは、重要な課題といえる。

水産物の多くは、水分を除く主要成分がタンパク質である。新たな付加価値製品を開発するためには、従来以上に個々のタンパク質が本来持っている機能や働きを理解し、高度な食品科学的アプローチによって、その特性を生かしていくことが必要である。そこで、今年度は、組織中のタンパク質の存在形態を知る目的で、スルメイカ表皮を実験サンプルとして種々の染色条件を検討し、光学顕微鏡を用いた組織観察のための技術構築を行った。併せて、スルメイカ表皮の基本構造を観察した。

研究の方法

断頭により即殺した活スルメイカから得た外套膜より、5×5mmの組織小片を採取した。次に、液体窒素を用いてOCTコンパウンド(Tissue-Tek)内で包埋凍結し、クリオスタットにより8μm厚の凍結切片を作成した。凍結切片は、ヘマトキシリン・エオシン(HE)染色、エラスチカ・ワンギーソン(EW)染色、ニコチンアミドアデニンヌクレオチド・テトラゾリウムレダクターゼ活性(NADH-TR)染色を行った。それぞれの染色方法について、処理時の溶液種、濃度、時間を検討した。それぞれの染色性は、光学顕微鏡観察により確認した。

研究成果の概要

各染色方法について検討した結果、以下の条件によって適切な観察像が得られることがわかった。

1) HE染色

- ・核を青色に染めることによって、細胞の存在形態を知ることができる。
- ・10%ホルマリン水溶液へ5分浸漬(固定) 超純水洗浄3分 Mayerのヘマトキシリン溶液浸漬5分 1%エオシン液浸漬30秒 超純水洗浄1分 80%エタノール浸漬1分(脱水、弁色) 90%エタノール浸漬1分 95%エタノール浸漬1分 100%エタノール浸漬1分を2回 100%無水エタノール浸漬1分 キシレン浸漬1分を2回(脱エタ、透徹) カナダバルサム封入

2) EW染色

- ・筋肉、血管、神経組織を茶、コラーゲン線維を赤、エラスチン線維を濃い藍色に染めることによって、結合組織の存在形態を知ることができる。
- ・蒸留水洗浄3分 Working Elastic Stain 溶液浸漬10分(エラスチン染色) 蒸留水洗浄3分 Working Ferric Chloride 溶液浸漬5分(筋線維染色) 95%エタノール洗浄2分(ヨウ素除去) 蒸留水洗浄1分 Van Gieson 溶液浸漬30秒(コラーゲン線維染色) 95%エタノール浸漬2分 100%エタノール浸漬2分を2回 キシレン浸漬2分を2回(透徹) カナダバルサム封入

3) NADH-TR染色

- ・エネルギー生産に関して重要な役割をはたす、ニコチンアミドジヌクレオチダーゼ(NADH)活性があることを示し、ミトコンドリア、リソソーム、筋小胞体の局在箇所を知ることができる。
- ・Tris-HCl緩衝液(pH7.4)30mlにNitroblue tetrazolim 30mgと NADH 24mgを加えた37の溶液に浸漬30分 30%アセトン軽浸 60%アセトン軽浸 90%アセトン軽浸 60%アセトン軽浸 30%アセトン軽浸 蒸留水洗浄5秒 グリセリンゼリー封入

この手法を用いて、スルメイカ表皮の基本構造を観察した。その結果、表皮は、過去の報告にある通り、核分布が異なる4層からなることが確認された。1層目は、淡く赤染されるコラーゲンに富む層で、その内部には、筋肉組織と思われる構造体が縦横方向に層状に存在している様子がうかがえた。2層目は、腺細胞のように見受けられる構造体が占め、3層目は、その染色性からコラーゲン様の結合組織、4層目は、エラスチンと思われる強固な結合組織が存在する可能性が高いことが示された。また、色素胞周縁と筋肉上層部は、強いNADH-TR活性を有していることがわかった。

担当者 木下康宣、吉岡武也、宮崎俊一