

以上の検討から、卵の自然活性化阻止を行うのみでは、ラット体細胞核移植卵の発生を向上するには不十分であると考えられた。そこで第5章では、実験系における他の条件として、特に活性化および培養条件に着目した。まず、核移植卵を発生させるための単為発生刺激法の影響を検討したが、従来から用いてきたストロンチウム処理との間で発生率に大差は見られなかった。また、体細胞核移植卵を発生させるための培養液の影響を検討したが、従来から用いてきた培養液の場合と大差が見られなかった。

第6章では、核移植に用いるドナー細胞の影響を検討した。まず、卵丘細胞に加えて、培養卵丘細胞、卵胞上皮細胞、培養卵胞上皮細胞、尾由来繊維芽細胞、ならびに腎臓由来細胞をドナー細胞として用いた体細胞核移植卵の発生能を比較した。その結果、卵丘細胞と培養卵丘細胞、卵胞上皮細胞と培養卵胞上皮細胞のように同由来の細胞を核移植に用いた場合、培養した細胞の方が核移植卵は高率に4-8細胞期へ発生することが明らかとなった。また、尾由来繊維芽細胞を用いた場合にも発生能は向上した。核移植卵がコンパクトン以降に発生する割合に差は見られなかったが、培養卵胞上皮および尾由来繊維芽細胞を用いた場合に胚盤胞への発生が確認できた。

第7章では、核移植に用いるラットの系統ならびにレシピエント卵の状態が、体細胞核移植卵の発生能に及ぼす影響を検討したが、いずれの実験区においても発生率に大差はみられなかった。

第8章では、これまで検討してきた実験の内、最もラット体細胞核移植卵の体外発生能に有効な条件であった培養細胞をドナー細胞として用い、核移植卵を行った後、受胎雌へ移植することで体内発生能を検討した。その結果、培養卵丘細胞をドナー細胞として用いた核移植卵は、低率ではあるが着床することを確認することができた。このことから、核移植のドナー細胞として培養細胞を用いることによって、体外発生能と同様に体内発生能も向上する可能性が示された。

これらの研究成果は、日本哺乳動物卵子学会、日本繁殖生物学会、日本畜産学会などで計10回口頭発表を行うとともに、オリジナリティの高い国際学術誌に2編(いずれも筆頭者)を公表している。また、学位申請者は日本学術振興会特別研究員に採択されており、研究業績は高く評価されている。

よって、本論文は博士(農学)の学位論文として価値あるものと認める。なお、審査にあたっては、論文に関する専攻内審査および公聴会など所定の手続きを経たうえ、平成24年2月9日、農学研究科教授会において、論文の価値ならびに博士の学位を授与される学力が十分であると認められた。

氏名	福 間 康 文			
学位の種類	博 士 (農学)			
学位記番号	農 第 1 7 7 号			
学位授与の日付	平 成 2 4 年 3 月 2 2 日			
学位授与の要件	学位規程第5条第1項該当			
学位論文題目	零度以下の低温環境による魚肉の未凍結貯蔵に関する研究			
論文審査委員 (主 査)	教授	安 藤	正 史	
(副主査)	教授	塚 正	泰 之	
(副主査)	教授	山 根	猛	

論文内容の要旨

近年、流通体系の発達にともない、遠隔地からでも高鮮度の水産物を消費者が入手できるようになってきている。そのため、鮮度に対する消費者の意識も変わり、より鮮度の高い水産物を求める気運にある。魚類の場合、一般的に鮮度低下が速いため、冷凍、冷蔵のような低温で貯蔵することは、鮮度を保持するために非常に重要である。鮮魚肉の品質、特に鮮度を評価する重要な指標としては、代謝産物、K値、表皮および筋肉の色調、筋肉の硬さ、菌数などが挙げられる。中でも、K値は鮮度の指標として広く用いられており、K値20%以下は高鮮度品、20~40%は良鮮度品とされている。また、マグロのような赤身魚の筋肉については、貯蔵中に特有の鮮やかな赤色が失われ、次第に褐色もしくは黒褐色へと変化するメト化を生じる。そのため、肉色は鮮度や品質を評価する上で重要な指標となっている。さらに、筋肉の硬さは食感に大きく影響する重要な因子であり、鮮魚肉の品質を評価する非常に重要な要素として注目されている。これは鮮度の良い魚肉は強い歯ごたえを持つのに対し、鮮度が低下した魚肉は歯ごたえのよさを失うことにつながるためである。したがって、日本人は生の魚を食べる時には、鮮度の良い魚ほど歯ごたえがよくておいしいと判断する傾向にある。

本研究は、これらの鮮度指標に注目し、氷温域、ならびに過冷却域を含む0℃以下の低温環境での未凍結貯蔵における魚肉の品質変化について調査を行ったものである。

第1章 0℃以下の未凍結貯蔵によるマアジ筋肉の死後変化

活マアジを空中放置処理および温度ショック処理により致死させた後、1℃、-1℃（未凍結）および-2℃（未凍結）にて貯蔵し、ATP関連化合物、グリコーゲンおよび乳酸量の変化を調査した。その結果、温度ショック処理は空中放置処理に比べて、ATP・グリコーゲンの分解、および乳酸の蓄積を抑制した。またその後の貯蔵においては、-2℃（未凍結）で貯蔵することで、貯蔵7日目においてもK値が10%程

度に抑制されていた。さらに表皮の一般生菌数については、特に-2℃（未凍結）において貯蔵7日目においても 1.1×10^4 CFU/gであり、他の貯蔵温度よりも生菌の増殖を顕著に抑制していた。

したがってマアジの鮮度保持のためには、温度ショック処理のような過度のストレスを与えない方法で致死させた後、氷結点以下の温度で貯蔵することが有効であると判断された。

第2章 低温貯蔵によるマグロ筋肉の死後変化

3種のマグロ肉（キハダマグロ、クロマグロ、ミナミマグロ）について、4℃、-0.5℃（未凍結）、-3℃（未凍結）および-3℃（凍結）にて最長14日間の貯蔵を行い、品質変化を調べた。その結果、すべての魚種において4℃、-0.5℃（未凍結）および-3℃（凍結）は貯蔵時間の経過に伴い暗色化または褐変が観察されたが、-3℃（未凍結）では変色がほとんど認められず、a値の低下、メト化率の上昇が最も抑制された。さらに貯蔵14日目においても細胞の状態を良好な状態で維持していた。よってマグロの貯蔵においては、未凍結状態でより低温で貯蔵することが有効であると判断された。

第3章 魚肉の長期貯蔵における過冷却の応用

第2章および第3章の結果より、氷結点以下の過冷却温度域での貯蔵が魚類の鮮度保持に有効であることが示唆された。しかしながら、過冷却状態は物理的ストレスや環境温度の変化などによって容易に崩壊してしまうため、その安定化が重要であるが、実用的な技術として確立されていない。

そこで本章では、3魚種（マダイ、ヒラメ、ハマチ）を用い、0.5℃/dayおよび1.0℃/dayにて緩慢冷却を行い、過冷却状態を作り出し、物性・組織構造・タンパク質組成の変化を調べた。その結果、1.0℃/dayでは-3.5℃付近、0.5℃/dayでは-5.0℃付近で凍結が始まることが認め

論文審査結果の要旨

られた。破断強度の低下は1.0°C/dayの方が遅い傾向にあったが、コラーゲン線維の崩壊は1.0°C/dayにおいてより早く進行した。

本研究結果は魚肉において、0°Cを大きく下回る過冷却状態を作り出すことが可能であることを示したものであり、新しい長期貯蔵方法として今後が期待される。

本研究は、近年消費者の要求が高まりつつある高品質な水産物の貯蔵方法の開発をめざしたものである。低温で保存する点は従来と同様であるが、本研究では0°C以下の低温でありながら、未凍結状態のまま保存を長期間継続する方法の開発をめざしたものであり、きわめて新規性の高い内容を含んでいる。

鮮度低下の早い魚類を保存する場合、冷凍、冷蔵のような低温で保存する場合が多い。マグロのような赤身魚の筋肉については、貯蔵中に特有の鮮やかな赤色が失われ価値が大きく下がることから、肉色は鮮度や品質を評価する上で重要な指標となっている。さらに、筋肉の硬さも品質評価に影響する因子であり、鮮度指標として重要な要素である。

申請者はこれらの鮮度指標に注目し、氷温域、ならびに過冷却域を含む0°C以下の低温環境での未凍結貯蔵における魚肉の品質変化について調査を行った。

第1章では活マアジを空中放置処理および温度ショック処理により致死させ、1°C、-1°C（未凍結）および-2°C（未凍結）にて貯蔵し、ATP関連化合物、グリコーゲンおよび乳酸量の変化を調査した。その結果、温度ショック処理は空中放置処理に比べて、ATP・グリコーゲンの分解、および乳酸の蓄積を抑制した。またその後の貯蔵においては、-2°Cで貯蔵することで、貯蔵7日目においてもK値が10%程度に抑制されていた。さらに表皮の一般生菌数については、特に-2°C（未凍結）において貯蔵7日目においても 1.1×10^4 CFU/gであり、他の貯蔵温度よりも生菌の増殖を顕著に抑制していた。

以上の結果より、マアジの鮮度保持のためには、温度ショック処理のようなストレスを極力少なくする方法で致死させた後、氷結点以下の温度で貯蔵することの有効性を明らかにした。

第2章ではマグロ類について低温貯蔵の有効性について検討した。本実験では3種のマグロ肉を用い、4°C、-0.5°C、-3°Cにおいて最長2週間の貯蔵を行い、品質変化を調べた。その結果、大部分の試験区において貯蔵時間の経過に伴い暗色化または褐変が観察されたが、-3°C（未凍結）では変色がほとんど認められず、a値の低下、メト化率の上昇が最も抑制され

た。さらに貯蔵14日目においても細胞が良好な状態で維持されていた。これらの知見より、申請者はマグロ類の貯蔵においては、未凍結状態であればより低温で貯蔵することで重要な品質指標である肉色を長期間に渡って維持できることを明らかにした。

ここまでの結果より、申請者は氷結点以下の過冷却温度域での貯蔵が魚類の鮮度保持に有効であることを明らかにした。しかしながら、過冷却状態は物理的ストレスや環境温度の変化などによって容易に崩壊してしまうため、その安定化が重要であるが、実用的な技術として確立されていない。

そこで第3章では、3魚種（マダイ、ヒラメ、ハマチ）を用い、1日あたり保存温度を0.5℃および1.0℃というきわめて緩慢な早さで下げ、それにより過冷却状態を作り出し、物性・組織構造・タンパク質組成の変化を調べた。その結果、-3.5℃付近まで魚肉の凍結が起きないことを明らかにした。なお、魚肉の破断強度の低下は1.0℃/dayの方が遅い傾向にあったが、コラーゲン線維の崩壊は1.0℃/dayにおいてより早く進行した。

本研究結果は魚肉において、0℃を大きく下回る過冷却状態を作り出すことが可能であることを示したものであり、新しい長期貯蔵方法として今後の期待される。

以上のように本研究は、0℃以下でありながら未凍結状態であるというきわめて特徴的な環境を用いた貯蔵を試みいくつかの重要な新しい知見を得た。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。なお、審査にあたっては、論文に関する専攻内審査および公聴会など所定の手続きを経たうえ、平成24年2月9日、農学研究科教授会において、論文の価値ならびに博士の学位を授与される学力が十分であると認められた。

氏名	道原成和
学位の種類	博士（農学）
学位記番号	農第178号
学位授与の日付	平成24年3月22日
学位授与の要件	学位規程第5条第1項該当
学位論文題目	Studies on anti-osteoporotic action of puerarin, the major isoflavonoid of Kudzu plant (<i>Pueraria lobata</i>) (クズの主要イソフラボノイド、プエラリンの抗骨粗鬆症作用)
論文審査委員（主査）	教授 河村 幸雄
（副主査）	教授 松田 一彦
（副主査）	教授 飯田 彰