HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Study on the ZnPP formation mechanism in two different optimum pH at 4.75 and 5.5 in pork [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	AKTER, MOFASSARA
Citation	北海道大学. 博士(農学) 甲第13588号
Issue Date	2019-03-25
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/73977
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	theses (doctoral - abstract and summary of review)
Additional Information	There are other files related to this item in HUSCAP. Check the above URL.
File Information	Mofassara_Akter_review.pdf (審査の要旨)

Instructions for use

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学 位 論 文 審 査 の 要 旨

博士の専攻分野の名称　博　士（農学）　　氏名　Mofassara Akter

審査担当者			
	主　査	准教授	若　松　純　一
	副　査	教　授	玖　村　朗　人
	副　査	教　授	西　邑　隆　徳
	副　査	助　教	早　川　　徹

学 位 論 文 題 名

Study on the ZnPP formation mechanism in two different optimum pH at 4.75 and 5.5 in pork
（異なる 2 つの至適 pH 4.75 と 5.5 における豚肉の ZnPP 形成機構に関する研究）

本論文は 4 章からなり、図 45、表 5、文献 80 を含む、総頁数 113 の英文論文である。別に 1 編の参考論文が添えられている。

食肉・食肉製品の色調はミオグロビン内のヘムに由来する。一方、ヘムに配位している鉄が亜鉛に置換した亜鉛プロトポルフィリン IX（ZnPP）は、亜硝酸塩や硝酸塩、いわゆる発色剤を添加しない伝統的な非加熱食肉製品中においてのみ形成される鮮赤色の色素で、発色剤無添加の食肉製品の色調に重要な役割を果たしている。このため、食肉製品中における ZnPP 形成機構の解明のための研究がこれまで行われてきた。豚肉中の ZnPP 形成において pH 4.75 と 5.5 の 2 つの異なる至適 pH の機構が存在し、ZnPP の形成機構については諸説提唱されているが、未だに解明されていない。本研究では、至適 pH 4.75 および 5.5 における形成機構を明らかにすることを目的として、豚肉ホモジネートを用いた ZnPP/PPIX 形成モデル実験系を用いて、2 つの至適 pH の形成機構に及ぼす ZnPP の前駆物質や形成に寄与する成分について検討した。

1. 至適 pH 4.75 における ZnPP 形成機構の解明

これまで明らかにされた pH 5.5 における ZnPP 形成機構と同様に、酸素による形成抑制と、フェロケラターゼ（FECH）の関与が示唆された。一方、pH 5.5 における形成機構よりも、至適温度が異なり、形成能力も著しく高いため、pH 4.75 と pH 5.5 での ZnPP 形成機構は似ているものの、異なる機構であることが示唆された。前駆物質と予想される PPIX の形成様相から、PPIX が前駆物質であることが示唆された。豚肉ホモジネートを、筋原線維タンパク質や結合組織、細胞小器官からなる「不溶性画分」と、筋漿タンパク質を主体とする「>10 kDa 水溶性画分」、水溶性の低分子成分を主体とする「<10 kDa 水溶性画分」に分画したところ、いずれの画分が欠如しても ZnPP/PPIX の形成が有意に抑制され、各々の画分に含まれる成分が ZnPP ならびに PPIX の形成に寄与することが示唆された。また、<10 kDa 水溶性画分に含まれる寄与成分について熱安定性は高いが、亜鉛の供給源ではないことが推察された。一方、>10 kDa 水溶性画分中の成分については、熱安定性や限外ろ過の結果から、10-30 kDa のタンパク質であると推察された。外因性ミオグロビンやゲルろ過によるミオグロビン溶出画分において高い ZnPP/PPIX 形成活性が示されたことから、ミオグロビンの関与が強く示

唆された。しかし、他の方法で分離したところ、ミオグロビン含有画分には ZnPP/PPIX 形成活性が認められなかったことから、ミオグロビンと近い分子量の別の水溶性タンパク質も ZnPP/PPIX の形成に関与する可能性が示された。本研究の結果とこれまでの知見から、豚肉における至適 pH 4.75 の形成機構は、ミオグロビン由来のヘムを前駆物質として、ミトコンドリア内膜に結合している FECH と、ミオグロビンと分子量の近い水溶性タンパク質、熱安定性のある<10 kDa の水溶性低分子成分の作用によって嫌気的条件下で形成された PPIX に、FECH もしくは非酵素的に亜鉛が配位して ZnPP を形成することを示した。

2. 至適 pH 5.5 における ZnPP 形成機構の解明

至適 pH 5.5 の形成においても、不溶性画分、>10 kDa 水溶性画分ならびに<10 kDa 水溶性画分の 3 つの画分が ZnPP/PPIX の形成に不可欠であることが示された。しかし、外因性ミオグロビンは ZnPP/PPIX 形成活性が認められず、ゲルろ過によるミオグロビンの溶出画分よりも分子量の大きい画分に ZnPP/PPIX 形成活性が認められたことから、ミオグロビンは関与しないことが示唆された。陽イオン交換クロマトグラフィを用いて、寄与成分の分離を試みたところ、60 kDa ならびに 42 kDa の 2 成分に絞り込むことができた。本研究の結果とこれまでの知見から、豚肉における至適 pH 5.5 の形成機構は、ヘムの生合成経路などのヘム以外から PPIX が作られ、この過程において FECH や>10 kDa 水溶性タンパク質、熱安定性のある<10 kDa の低分子の水溶性成分が嫌気的条件下で関与していることが示唆された。さらに、FECH や、本研究で明らかにした 60 kDa や 42 kDa 成分の作用により亜鉛が供給または挿入されて ZnPP が形成されることを示した。

本研究により、豚肉における至適 pH の異なる 2 つの ZnPP 形成機構においては前駆物質や寄与成分が異なっており、独立した機構であることを明らかにした。発色剤を使用しない伝統的な非加熱食肉製品において、これら 2 つの形成機構がどのように寄与しているのかについては明らかにはできなかったが、赤色色素、ZnPP の形成機構の全貌解明の一助となるものと結論した。よって、審査員一同は、Mofassara Akter が博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認めた。