



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	乾塩漬食肉製品における亜鉛プロトポルフィリンIX形成機構に関する研究：形成経路と水溶性ZnPP複合体の解明[論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	王, 鴻誠
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(農学)
Dissertation Number	甲第14294号
Issue Date	2020-12-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/80182
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	wang_hung_cheng_review.pdf, 審査の要旨



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 王 鴻 誠

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

乾塩漬食肉製品における亜鉛プロトポルフィリン IX 形成機構に関する研究
— 形成経路と水溶性 ZnPP 複合体の解明 —

本論文は、図 29、表 10、参考・引用文献 106 を含む総ページ数 120 の日本語論文である。他に参考論文 1 編（査読付き論文）が添えられている。

本論文は、イタリアの伝統的な生ハムであるパルマハムなどの、発色剤を添加しない食肉製品でのみ形成される鮮赤色の色素、亜鉛プロトポルフィリン IX（ZnPP）の形成機構解明に関するものである。これを解明できれば、発色剤を用いない食肉製品の色調を改善する技術開発のための基礎的知見となりうる。

序章では、発色剤無添加の乾塩漬食肉製品中の ZnPP 形成機構に関する既往の研究を総括した。食肉製品中の ZnPP はプロトポルフィリン IX（PPIX）に亜鉛が挿入されて形成されるが、PPIX の形成経路は未だ確定しておらず、ヘムがフェロケラターゼによる脱鉄経路（ヘム脱鉄経路）と、生体内と同様のヘム生合成経路の 2 経路が提唱されている。また、*in vitro* の実験系で豚肉には、筋線維に依存する機構（遅筋型機構）と、筋線維型に依存しない機構（非依存型機構）の 2 つの機構が報告されているが、問題点や矛盾点を指摘した。さらに、ZnPP 自体は不溶性であるにも関わらず、パルマハムから水抽出可溶なものが存在し、タンパク質との複合体として存在していると考えられているが、未だ同定されていないため、これを明らかにすれば形成機構解明の糸口となりうると述べた。このため本研究の目的として、豚肉中で見出された 2 つの形成機構と形成経路の関係性を明らかにし、ZnPP 結合タンパク質の同定によりパルマハムにおける ZnPP 形成機構を解明することとした

第 2 章では、豚肉の *in vitro* 実験系を用いて、2 種類の ZnPP 形成経路と 2 種類の ZnPP 形成機構の関連性を、ZnPP 形成反応における各種ポルフィリン類や亜鉛、ヘム鉄、非ヘム鉄等の量的推移を調べた。遅筋型機構を再現するモデルでは、ZnPP の形成に伴い、明瞭なヘム鉄の減少と非ヘム鉄の増加が観察され、ヘムの脱鉄反応が起こっていることを示した。さらに、ヘムタンパク質の分解・消失による遊離ヘムの増大が引き金となって、ヘム脱鉄経路を介して多量の ZnPP を形成すること、およびその大部分が不溶性 ZnPP として存在することを明らかにした。一方、非依存型機構を再現するモデルでは、ZnPP 形成

量が少なかったが、ヘム鉄ならびに総ポルフィリン量は増加したことから、主にヘム生合成経路によりヘムと ZnPP が形成することを示した。さらに、このモデルでは水溶性 ZnPP 複合体を形成することを示した。なお、両機構とも ZnPP 形成量よりも肉中の亜鉛は十分あり、PPIX は検出限界以下または極微量であったことから、亜鉛の挿入反応については律速ではないことを示した。以上より、*in vitro* 実験系における ZnPP の形成機構と形成経路の関係性を明らかにした。

第 3 章では、パルマハム中の水溶性 ZnPP 複合体の結合タンパク質を同定することにより、パルマハムにおける ZnPP 形成機構の解明を試みた。パルマハム中の水溶性 ZnPP 結合タンパク質を、各種クロマトグラフィーおよび各種電気泳動により純化し、N 末端アミノ酸配列分析により複数の候補を同定したが、免疫沈降法とウェスタンブロッティング分析により、パルマハム中の水溶性 ZnPP 結合タンパク質はヘモグロビン (Hb)、ミオグロビン (Mb) とそれらの部分分解産物であることを明らかにした。また、水溶性 ZnPP-Hb 複合体は全水溶性 ZnPP 複合体の 60–80% を占め、食肉中に多い Mb との ZnPP 複合体が少なかったこと、長期保管した豚肉では ZnPP-Hb 複合体のみが観察されたことから、Hb は Mb より容易に ZnPP 複合体を形成することが示された。さらに、パルマハムにおける主要な水溶性 ZnPP 複合体の分子量が約 35 kDa であることと、Hb は食肉中では主に二量体となること、Hb 二量体からはヘムが遊離しやすいことから、パルマハム中の主な水溶性 ZnPP 結合タンパク質は Hb の二量体であることを明らかにした。

第 4 章では、各章の検討が総括され、パルマハム中の水溶性 ZnPP 複合体の形成機構を提唱した。パルマハムでは、ヘムタンパク質の分解消失が少ないことと、ヘム生合成経路での ZnPP 形成は形成量に限界があったことから、*in vitro* 実験系における ZnPP の形成機構は、パルマハムでの ZnPP 形成とは独立したものであることを示した。パルマハムにおいて、ZnPP-Hb 複合体が ZnPP-Mb 複合体よりも多い原因として、肉中の残存血液から溶血等により二量体となった Hb は Mb よりもヘムの保持能が低いため、ヘムの遊離とともに、ヘムの外れた apo-Hb が同 apo-Mb よりも多く形成され、遊離したヘムから脱鉄と亜鉛挿入がされて形成した ZnPP は、より多い apo-Hb 二量体と結合することによって、水抽出可能な ZnPP 複合体が蓄積するという形成機構を提唱した。以上の研究成果は、これまで明らかにされていなかった、パルマハムなどの乾塩漬生ハムにおける ZnPP の形成機構の一部を解明したものであるとして、学術的、実用的に高く評価される。

よって、審査員一同は、王 鴻誠が博士（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。