

発色剤無添加食肉製品における ZnPP 結合タンパク質の解明

共生基盤学専攻 食品安全・機能性開発学講座 食肉科学 斎藤貴洋

1. 結論

パルマハムは発色剤無添加であるが鮮やかな赤色を呈し、その色調は亜鉛プロトポルフィリンIX (ZnPP) によることが解明された。ZnPP 形成機構解明の糸口として ZnPP の存在状態を検討したところ、多くの ZnPP は水溶性タンパク質と弱く結合した複合体として存在することが示唆されたが、ほとんど明らかになっていない。また、*in vitro* で ZnPP 形成機構を再現するモデル実験系による検討から、豚肉における ZnPP 形成機構には至適 pH 4.75 と 5.5 の機構が存在することが示されたが、どちらの機構が主に働いているのか明らかになっていない。そこで本研究では、パルマハムでの ZnPP 形成機構解明を目的として、明らかにされた 2 つの機構の関与とパルマハムにおける ZnPP 結合タンパク質の解明を試みた。

2. 方法

異なる 2 つの機構で形成した水溶性 ZnPP とパルマハムから抽出した水溶性 ZnPP をイオン交換クロマトグラフィに供して分離した。再度イオン交換クロマトグラフィに供し、水溶性 ZnPP をさらに分離した。ZnPP 分離画分を SDS-PAGE に供し、バンド濃度と蛍光強度の相関性から ZnPP 結合タンパク質の候補を探索した。水溶性画分をサイズ排除高速液体クロマトグラフィ (SEC-HPLC) に供し、結合タンパク質の分子量を推定して、絞り込んだ成分を MALDI-TOF MS に供して同定した。

3. 結果と考察

パルマハム及び至適 pH 5.5 の機構において形成された水溶性 ZnPP はイオン交換樹脂カラムによる分離挙動と概ね一致して複数種分離され、至適 pH 5.5 の機構がパルマハムにおける ZnPP 形成に大きく関与していることが示唆された。主要な ZnPP 分離画分を再度同様の分離に供して、ZnPP 画分を SDS-PAGE に供し、各成分のバンド濃度と ZnPP 由来の蛍光強度との間で有意な相関を示す結合タンパク質候補が複数種みられた。複数種の候補から ZnPP 結合タンパク質を絞り込むために、水溶性画分を SEC-HPLC に供したところ、30 kDa 付近に ZnPP 複合体のピークがみられた。このため 30 kDa 付近の成分を MALDI-TOF MS に供したところ、27 kDa 成分は同定された。これはミトコンドリアでの脂肪酸異化に関与する酵素であり、ミトコンドリアで形成された ZnPP と結合して水溶性複合体を構成しているのかもしれない。しかし、実際の分子量は 79 kDa であることから熟成期間中に部分分解されたのかもしれない。

4. 要約

イオン交換クロマトグラフィによる分離パターンから至適 pH 5.5 の機構がパルマハムにおける ZnPP 形成機構に大きく関与していることが示唆された。また、パルマハム及び至適 pH 5.5 の機構で共通して分離された 27 kDa 成分はミトコンドリアに存在する酵素であり、ミトコンドリアが ZnPP 形成に重要であるかもしれない。