

学 位 論 文 題 名

熟成に伴う食肉の軟化と筋線維サイトゾルの
カルシウムイオン濃度との関連に関する研究

学位論文内容の要旨

本論文は総頁数76頁の和文論文で、図 32、引用文献 75を含み、他に2篇の参考論文が添えられている。

食肉の品質を判定する基準としては軟らかさ、味、色、香りおよび多汁性が挙げられているが、これらの中で軟らかさは最も重要である。食肉の軟らかさは生体時に備わっている部分と屠畜後に熟成することによって獲得される部分から成り立っている。熟成に要する期間は家畜の種によって異なり、5℃で冷蔵した場合、鶏肉では12～24時間、豚肉では5～6日、牛肉では10日以上である。熟成に伴う食肉の軟化は筋原線維の構造変化、即ち、Z線、アクチン・ミオシン間に形成された硬直結合、コネクチンフィラメントおよびネブリンフィラメントの脆弱化によるものであり、これらの構造変化は全て0.1 mMの Ca^{2+} によって最大に引き起こされることが明らかにされている。生筋の場合、サイトゾルの Ca^{2+} 濃度は筋小胞体の調節機能によって厳密に制御され、0.1～5 μM の範囲で骨格筋の弛緩・収縮が調節されている。一方、食肉の非生理的条件下では筋小胞体の Ca^{2+} 保持能が低下し、屠畜後の時間経過とともにサイトゾルの Ca^{2+} 濃度が次第に上昇することが知られている。しかし、食肉の熟成過程におけるサイトゾル Ca^{2+} 濃度の変化に関する詳細な報告はまだなされていない。本論文は各種食肉の熟成に伴うサイトゾル Ca^{2+} 濃度の変化を詳細に調べるとともにその原因となる筋小胞体膜の性状変化を経時的に追究し、サイトゾル Ca^{2+} 濃度の上昇と筋原線維の構造変化の関係を明らかにすることによって、熟成に伴う食肉の軟化機構を解明することを目的とした。

(1) 食肉の熟成に伴うサイトゾル Ca^{2+} 濃度の上昇

家兎の胸最長筋、大腰筋および大腿二頭筋におけるサイトゾル Ca^{2+} 濃度の経時的変化はいずれの場合も屠殺直後には30～40 μM であったが、時間の経過とともに上昇し、30時間目で0.2 mMになった。また、2ヶ月齢、4ヶ月齢および16ヶ月齢の鶏浅胸筋を用いて熟成に伴うサイトゾル Ca^{2+} 濃度の変化を調べると、いずれの場合も屠殺直後には60～80 μM であったが、屠殺後18時間目に最大濃度の0.2 mMに上昇した。これらの結果から、熟成に伴うサイトゾル Ca^{2+} 濃度の上昇速度が骨格筋の種類あるいは成長段階に関係なく同様であり、骨格筋中に含まれている Ca^{2+} の絶対量も同等であることが明らかになった。一方、鶏の浅胸筋、豚および牛の胸最長筋を用い、食肉の熟成に伴うサイトゾル Ca^{2+} 濃度を比較すると、その上昇速度において明らかな差が見ら

れ、それぞれ屠畜後18時間目、3日目および4日目に最大濃度である0.2 mMに達した。従って、熟成に要する期間が鶏肉、豚肉および牛肉によって異なるのは、サイトゾル Ca^{2+} 濃度の上昇速度の差に起因していることが示された。

(2) 食肉の熟成に伴う筋小胞体膜の性状変化

食肉の熟成に伴うサイトゾル Ca^{2+} 濃度の上昇は、 Ca^{2+} 濃度を調節している筋小胞体膜の性状変化によるものと考え、筋小胞体膜の主要構成成分である蛋白質とリン脂質の変化を調べた。筋小胞体膜の主要構成蛋白質であり、サイトゾル Ca^{2+} 濃度の調節機能を担っているCa-ATPase(Caポンプ蛋白質)およびカルセクエストリン(Ca結合蛋白質)の含量は食肉の熟成中に全く変化しなかった。しかし、筋小胞体膜を構成するリン脂質の含量は熟成時間の経過に伴って著しく減少することが観察された。筋小胞体膜からのリン脂質の離脱により筋小胞体膜に開裂あるいは欠損状態が生じ、筋小胞体内部とサイトゾル間の障壁がなくなる結果を招き、カルセクエストリンとの結合によって筋小胞体内部に蓄積されていた Ca^{2+} がサイトゾルへ拡散するために、サイトゾル Ca^{2+} 濃度が上昇すると考えられる。リン脂質の離脱速度は鶏浅胸筋の筋小胞体膜の場合が最も速く、次いで豚胸最長筋、牛胸最長筋の順であった。この事実は、熟成に伴うサイトゾル Ca^{2+} 濃度の上昇速度が筋小胞体膜のリン脂質の離脱速度と密接に関連していることを示している。

熟成中の食肉における筋小胞体の Ca^{2+} 取り込み能は時間経過に伴い次第に低下した。 Ca^{2+} 取り込み能が最低水準になるのに要する時間は鶏浅胸筋の筋小胞体が最も短く、次いで豚胸最長筋、牛胸最長筋の順であった。 Ca^{2+} 取り込み能の低下はpHに依存しており、死後筋肉で起こるpHの低下によって筋小胞体の生理的機能である Ca^{2+} 取り込み能が急激に低下することが明らかになった。筋小胞体の Ca^{2+} 取り込み能の低下は筋小胞体膜を構成するリン脂質の離脱とともに、サイトゾル Ca^{2+} 濃度の上昇の原因になると考えられる。また、筋小胞体膜の主なリン脂質であるホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルイノシトールおよびホスファチジルセリンの構成比率は鶏肉、豚肉および牛肉によって異なっており、この差異のために筋小胞体の Ca^{2+} 取り込み能の低下速度が各食肉によって異なると考えられる。

(3) 筋原線維構造の脆弱化

熟成に伴う食肉の軟化の原因である筋原線維構造の脆弱化、即ち、Z線、アクチン・ミオシン間に形成された硬直結合、コネクチンフィラメントおよびネブリンフィラメントの脆弱化はいずれの場合も鶏浅胸筋で最も速く起こり、次いで豚胸最長筋、牛胸最長筋の順であった。

以上の結果から、食肉の熟成中に起こる筋小胞体膜の性状変化およびサイトゾル Ca^{2+} 濃度の上昇は筋原線維構造の脆弱化と密接に関連していることが明らかになった。即ち、食肉の熟成に伴って起こる諸変化の概略は、まずATP含量の減少およびpHの低下が起こり、それに伴って筋小胞体からリン脂質が離脱するとともに筋小胞体の Ca^{2+} 取り込み能および Ca^{2+} 保持能が失われ、サイトゾルの Ca^{2+} 濃度が次第に上昇する。上昇したサイトゾルの Ca^{2+} は筋原線維構造の脆弱化を引き起こし、食肉は軟らかくなる。軟化に要する熟成期間が食肉の種類によって異なるのは、上に述べた一連の変化の速度が食肉の種類によって異なることに起因していると結論している。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 高 橋 興 威

副 査 教 授 齋 藤 善 一

副 査 教 授 近 藤 敬 治

副 査 助教授 服 部 昭 仁

学 位 論 文 題 名

熟成に伴う食肉の軟化と筋線維サイトゾルの カルシウムイオン濃度との関連に関する研究

本論文は総頁数76頁の和文論文で、図 32、引用文献 75を含み、他に2篇の参考論文が添えられている。

食肉の品質を判定する基準の中で軟らかさは最も重要である。食肉の軟らかさは生体時に備わっている部分と屠畜後に熟成することによって獲得される部分から成り立っている。熟成に要する期間は家畜の種によって異なり、5℃で冷蔵した場合、鶏肉では12～24時間、豚肉では5～6日、牛肉では10日以上である。熟成に伴う食肉の軟化は主として筋原線維の構造の脆弱化によるもので、全て0.1 mMの Ca^{2+} によって最大に引き起こされる。生筋におけるサイトゾルの Ca^{2+} 濃度は筋小胞体によって厳密に制御され、0.1～5 μM の範囲で骨格筋の弛緩・収縮が調節されているが、食肉の非生理的条件下では筋小胞体の Ca^{2+} 保持能が低下し、屠畜後の時間経過とともにサイトゾルの Ca^{2+} 濃度が次第に上昇する。本論文は各種食肉の熟成に伴うサイトゾル Ca^{2+} 濃度の変化を詳細に調べるとともにその原因となる筋小胞体膜の性状変化を経時的に追究し、サイトゾル Ca^{2+} 濃度の上昇と筋原線維構造の脆弱化の関係を明らかにすることを目的としている。得られた結果は以下の通りである。

(1) 食肉の熟成に伴うサイトゾル Ca^{2+} 濃度の上昇

家兎の各種骨格筋におけるサイトゾル Ca^{2+} 濃度の経時的变化はいずれの場合も屠殺直後には30～40 μM であったが、熟成に伴って上昇し、30時間目で0.2 mMになった。また、月齢の異なる鶏の浅胸筋における熟成に伴うサイトゾル Ca^{2+} 濃度の変化はいずれの場合も屠殺直後には60～80 μM であったが、熟成18時間目に最大濃度の0.2 mMに上昇した。一方、各種の食肉を用い、熟成に伴うサイトゾル Ca^{2+} 濃度の上昇速度を比較すると、鶏肉では熟成18時間目、豚肉では3日目および牛肉では4日目に最大濃度である0.2 mMに達した。従って、熟成期間が鶏肉、豚肉および牛肉によって異

なるのは、サイトゾル Ca^{2+} 濃度の上昇速度の差に起因していることが示された。

(2) 食肉の熟成に伴う筋小胞体膜の性状変化

食肉の熟成に伴うサイトゾル Ca^{2+} 濃度の上昇は、筋小胞体膜の性状変化によるものと考え、筋小胞体膜の蛋白質とリン脂質の変化を調べた。主要構成蛋白質でありサイトゾル Ca^{2+} 濃度の調節機能を担っているCa-ATPaseおよびカルセクエストリンの含量は食肉の熟成中に全く変化しなかった。一方、リン脂質の含量は熟成に伴って著しく減少した。筋小胞体膜からのリン脂質の離脱により筋小胞体膜に開裂あるいは欠損状態が生じて筋小胞体内部とサイトゾル間の障壁がなくなるので、筋小胞体内部に蓄積されていた Ca^{2+} がサイトゾルへ拡散してサイトゾル Ca^{2+} 濃度が上昇することが判明した。リン脂質の離脱は鶏肉では熟成1日目に、豚肉では3日目に、牛肉では6日目に最大値に達し、熟成に伴うサイトゾル Ca^{2+} 濃度の上昇速度がリン脂質の離脱と密接に関連していることを示している。

熟成中の食肉における筋小胞体の Ca^{2+} 取り込み能は次第に低下した。 Ca^{2+} 取り込み能が最低水準になるのに要する時間は鶏肉では熟成1日目、豚肉では熟成3日目、牛肉では熟成6日目であった。筋小胞体の生理的機能である Ca^{2+} 取り込み能の低下はpHに依存しており、嫌氣的条件下で起こるpHの低下によって急激に低下することが明らかになった。筋小胞体の Ca^{2+} 取り込み能の低下は筋小胞体膜を構成するリン脂質の離脱とともに、サイトゾル Ca^{2+} 濃度の上昇の原因になっていることを示している。また、筋小胞体膜を構成する主なリン脂質の構成比率は鶏肉、豚肉および牛肉によって異なっていた。この差異のために筋小胞体の Ca^{2+} 取り込み能の低下速度が各食肉によって異なると考えられる。

(3) 筋原線維構造の脆弱化

熟成に伴う食肉の軟化の原因である筋原線維構造の脆弱化、即ち、Z線、アクチン・ミオシン間に形成された硬直結合、コネクチンフィラメントおよびネブリンフィラメントの脆弱化はいずれの場合も鶏肉で最も速く起こり、次いで豚肉、牛肉の順であり、サイトゾル Ca^{2+} 濃度の上昇が筋原線維構造の脆弱化を惹起して熟成に伴う食肉の軟化をもたらすことが明らかになった。また、軟化に要する熟成期間が食肉の種類によって異なるのは、上述の一連の変化の速度が食肉の種類によって異なることに起因していると結論している。

以上の研究成果は熟成に伴う食肉の軟化と筋線維サイトゾル Ca^{2+} 濃度の上昇の関係を多面的に追究して多くの新知見を見出したものであり、学術上応用上貢献するところが大きく、高く評価される。よって審査員一同は、最終試験の結果と合わせて、本論文の提出者 池 重龍は博士(農学)の学位を受けるのに十分な資格があるものと認定した。