

Transglutaminasas: de Importante Papel Fisiológico en los Seres Vivos al Desarrollo Novedoso de Tecnología de Alimentos

Hugo Palafox Carlos y Fernando García Carreño

Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste. Mar Bermejo 195. La Paz. BCS. México. Tel & Fax +52 612 1238401. E-mail: hpalafox@cibnor.mxT y fgarcia@cibnor.mx

Palabras clave: Trasglutaminasa (TGasa), funcionalidad de proteínas, entrecruzados covalentes, agentes gelificantes.

RESUMEN

La transglutaminasa (TGasa) ha sido estudiada intensamente en las últimas décadas, ya que esta se encuentra en una gran variedad de tejidos donde participa en diversos mecanismos filológicos de importancia. La TGasa (EC 2.3.2.13) esta relacionada principalmente en la formación de coágulos sanguíneos, reparación de tejidos, enfermedades neurológicas, y recientemente se ha identificado involucrada en fotosíntesis. Además, en los últimos años se ha generado un enorme interés tanto para científicos y tecnólogos en alimentos debido a la habilidad única de la transglutaminasa (TGasa) de modificar la funcionalidad de las proteínas por entrecruzamientos covalentes. Actualmente la TGasa es una herramienta de utilidad en la aplicación de tecnologías innovadoras para la producción de alimentos a base de proteína (animal o vegetal). Entre las tecnologías y aplicaciones principales se encuentran su uso como agente gelificante de alta

estabilidad, unión en frío, gelificación sin cocción, texturizante y espesante.

Key words: Transglutaminase (TGase), protein functionality, covalent cross-linking, gelling additive.

ABSTRACT

The TGase has been studied intensely in the last decades because its relation to important physiological mechanisms in a great variety of tissues. The unique ability of transglutaminase (TGase) to modify protein functionality by covalent cross-linking has generated enormous interest to food scientists and technologist. TGase (EC 2.3.2.13) catalyses the post-translational modification of proteins by transamidation of available glutamine residues by the formation of covalent cross-links between glutamine and lysine residues in proteins. The TGase is a useful tool for innovative technology applications to produce innovative dairy products. The main technological applications are as a gelling additive with high stability, cold binding, gelling without heating, etc.

CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LAS TRANSGLUTAMINASAS (TGasas)

La mayoría de las enzimas utilizadas en los procesos de la industria alimentaria, como lo son amilasas, proteasas y lipasas, contribuyen principalmente a la ruptura de los componentes alimenticios. La habilidad única de las transglutaminasas (TGasas) de modificar la funcionalidad de las proteínas debido a entrecruzados covalentes ha generado un enorme interés. (Kamath *et al.*, 1992; Haard and Simpson, 2000; Tang *et al.*, 2005). Las TGasas son tranferasas, las cuales tienen el nombre sistemático de proteína-glutamina γ -glutamyltransferasa

(EC 2.3.2.13). Esta enzima cataliza la reacción de transferencia entre los grupos γ -carboxiamida de residuos de glutamina en proteínas, péptidos y en varias aminas primarias. Cuando un grupo ϵ -amino de lisina actúa como receptor de grupos acil, resulta en una polimerización y un entrecruzado molecular de las proteínas vía formación de enlaces ϵ -(γ -glutamil) lisina. Esto ocurre a través del intercambio de los grupos ϵ -amino de los residuos de lisina por amonio en el grupo carboxiamida del residuo de la glutamina en la molécula de proteína (s) (Fig. 1). En la ausencia de aminas primarias, el agua puede tomar el papel del aceptor de grupos acil, resultando en la desaminación de los grupos γ -carboxiamida de residuos de glutamina para

formar ácido glutámico. Los aminoácidos conservados que forman el sitio catalítico de la TGasa son la Cys, His y Asp (Blaskó *et al.*, 2004).

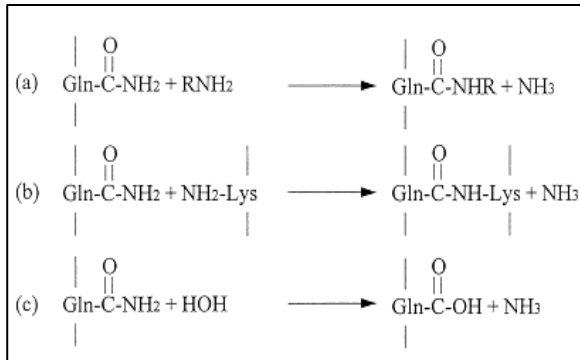


Fig. 1.- Reacción catalizada por las transglutaminasas (TGasas): (a), reacción de acyl-transferencia; (b), reacción de entrecruzado entre los residuos de Gln y Lys de proteínas o péptidos; (c) deaminación. La presencia de Ca²⁺ es un prerrequisito para la reacción en la mayoría de TGasas. (Motoki & Seguro, 1998)

La formación de enlaces covalentes entre proteínas es la base de la habilidad de las TGasas para modificar las propiedades funcionales de las proteínas de alimentos (Motoki & Seguro 1998; Dvorcakova *et al.*, 2002). Por otra parte, las transglutaminasas ligan extensivamente polímeros insolubles de proteínas. Estos polímeros biológicos son imprescindibles para el organismo para crear barreras y las estructuras estables. Los ejemplos son coágulos de sangre (factor de coagulación XIII) así como piel y pelo. La reacción catalítica es irreversible. Se cree que las TGasas están relacionadas con algunas enfermedades. Investigaciones reciente indican que las víctimas de enfermedades neurológicas como lo son Huntington, Parkinson y Alzheimer tienen niveles inusualmente altos de transglutaminasas (Dvorcakova *et al.*, 2002). Actualmente la TGasa para uso industrial es producida por el microorganismo *Streptovorticillium morbarraense* en cantidades comerciales y es utilizada en una variedad de procesos, incluyendo la producción de productos carnicos y pesqueros procesados. Puede ser utilizado como agente adhesivo para mejorar la textura de novedosos alimentos abundantes en proteínas, como el tipo surimi o jamón (Oddur, 1997; Motoki & Seguro, 1998), los cuales abordaremos mas adelante .

FUNCIÓN

Las TGasas forman un gran familia de enzimas intracelulares y extracelulares que catalizan modificaciones proteicas y dicha catálisis es dependiente de

Ca²⁺ (Esposito & Caputo, 2005). Las TGasas se distribuyen extensamente en la mayoría de los tejidos animales, vegetales y fluidos corporales (Tabla 1) y están implicadas en varios fenómenos biológicos, tales como coagulación de la sangre, sanación de heridas, queratinización epidérmica, y rigidez de la membrana de los eritrocitos (Aeschlimann, 1994). Las TGasas según se ha reportado, es la responsable de la regulación del crecimiento, diferenciación y proliferación celular. Las TGasas

Tabla 1. Algunos ejemplos de la presencia y distribución de TGasas en seres vivos (AJINOMOTO FOODS DEUTSCHLAND, © 1999-2005).

Tipo de Fuente	Especie	Tejido
Mamíferos	Humanos, cerdo, reses, ovejas, conejos	Hígado, corazón, riñón, sangre
Aves	Pollo, paloma	Molleja, sangre
Peces	Atún, macarela, salmón	Músculo, hígado
Plantas	alfalfa, chícharos, brócoli, espinacas	Hojas
Otros	Camarón, ostras, almejas	Músculo

también han sido descubiertas en las plantas (Ickson *et al.*, 1987), pescado (Araki *et al.*, 1993) y en los microorganismos (Ando *et al.*, 1989; Klein, 1992). El rol fisiológico de las TGasas en el plasma de mamíferos superiores (también referido como fibrinolisasa o factor XIII) ha sido bien establecido como el entrecruzado de las fibrinas coagulantes durante la hemostasis. La proenzima del factor XIII es activado por proteasas trombinas, otro componente del plasma que además induce la coagulación del fibrinogeno (Pardekooper, 1998). De manera similar, en los hemocitos del cangrejo japonés *Tachypleus tridentatus*, al detectar endotoxinas de bacterias invasoras, activa, una proenzima edotoxinasensible, provocando una cascada de reacciones que eventualmente activaran a las TGasas pro-coagulantes. Las TGasas activadas subsecuentemente convierten al coagulogeno soluble en forma de gel de coagulina insoluble, el cual actúa como barrera contra los microorganismos invasores (Tokunaga *et al.*, 1993)

En las hojas de plantas, la alta toma de energía de poliaminas en los cloroplastos por la luz, parece estimular la actividad de TGasas. La enzima, de esta

manera parece participar en la fotosíntesis, probablemente modificando ribulosa-bis-fosfato carboxilasa o oxigenasa (Kuehn *et al.*, 1991; Falcone *et al.*, 1993). Según Dvorcakova *et al.* (2002), la presencia de las TGAsas ha sido observada en varias glándulas endocrinas como la glándula pituitaria humana que ha sido investigada por métodos inmunohistoquímicos usando anticuerpos específicos, a su vez en el tracto genital de ratones machos se logró aislar y caracterizar dos tipos de TGAsas. Los roles fisiológicos de TGAsas de muchas otras fuentes, aun permanecen en espera de ser elucidadas (Falcone *et al.*, 1993).

TRANSGLUTAMINASAS Y SU PASO A TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

A principios de los 1980's la posibilidad de modificar las propiedades funcionales de las caseínas de leche y las globulinas de soya fue demostrada utilizando TGasa obtenida de hígado de cerdo (Ikura *et al.*, 1992) y plasma bovino (Kurth *et al.*, 1984). Fue esa misma década cuando Motoki & Seguro (1998), realizaron importantes investigaciones donde utilizaron como sustrato para TGasa (proveniente de hígado de cerdo) soluciones con alta concentración de proteínas de alto peso, actomiosina de res, puerco, pollo y pescado, donde demostraron que todas podían ser gelificadas por esta enzima. Posteriormente ellos evidenciaron que se mejoraba la solubilidad, retención de agua y estabilidad térmica de proteínas para alimentos aplicando TGasa. Por otra parte mezclas de agua, aceite y proteína podrían ser gelificadas utilizando esta enzima. También se observó que los sistemas proteicos generados por la acción de TGAsas son altamente estables en su conformación donde la acción catalítica de proteasas endógenas del sustrato utilizado es baja. Sin embargo la aceptabilidad y uso de los extractos de hígado de cerdo como fuente de TGasa fue desfavorable (Motoki & Seguro, 1998). Por otro lado, estudios sobre surimi derivado de algunas especies de pescado (*Theragra chalcogramma*, *Sardinops melanostictus* y *Micropogon undulatus*), llevaron al descubrimiento de que una TGasa endógena era la responsable de la gelificación espontánea de las pastas de surimi a bajas temperaturas (5-40°C). Este descubrimiento ha promovido investigaciones sobre el contenido de TGAsas endógenas en organismos marinos,

así como la evaluación de TGAsas provenientes de otras fuentes para ser aplicadas en el desarrollo de productos y procesos tecnológicos en alimentos (kamath *et al.*, 1992; Seki *et al.*, 1990; Tsukamasa *et al.*, 1993). De tal manera que todos estos resultados indicaban que las TGasa eran potencialmente útiles por sus nuevas y únicas propiedades funcionales. Es a partir de entonces cuando la producción masiva de TGAsas se volvió la principal meta a alcanzar. Por lo tanto era necesario encontrar una fuente abundante de esta enzima (Motoki & Seguro, 1998). Después de evaluar varias fuentes de TGasa (hígado, músculo, sangre, etc.) de tejidos de animales (Wilson, 1992) y probar con varias cepas de microorganismos con diferentes estrategias metodológicas (Bishop *et al.*, 1990; Takehana *et al.*, 1994; Washizu *et al.*, 1994), pero no fue sino hasta la participación de la compañía farmacéutica Amano (Nagoya, Japón), cuando fueron encontrados microorganismos con importantes síntesis de enzimas tipo TGasa (Ando *et al.*, 1989). Finalmente el microorganismo tipo para la producción de TGasa resultó el *Streptoverticillium mobaraense*, el cual es capaz de producir la enzima por un proceso fermentativo tradicional (Nonaka *et al.*, 1989, Washizu *et al.*, 1994). Desde ese momento la aplicación por excelencia que se le dio a la TGasa, incluso hasta la fecha, es en la formación de geles y reconstrucción de productos carnicos. Sin embargo, las aplicaciones de esta enzima en tecnologías alimentarias son muy variadas y versátiles (Özrenk, 2006; Motoki & Seguro, 1998).

APLICACIONES EN TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Como ya se ha comentado, la proteína de carne es el principal sustrato utilizado para las TGAsas. Utilizando TGasa se puede producir carne reestructurada uniendo "pedazos" de carne a bajas temperaturas (10°C) durante toda la noche. Tal capacidad de unir pedacera de carne y formar una sola pieza con todas las propiedades organolépticas de un filete original, es llamada unión en frío (*cold binding*), la cual es empleada exitosamente utilizando carne de res, puerco, pollo y pescado (Fig. 2). El *cold binding* es considerado actualmente como las aplicaciones más características para las TGAsas y es de

las más prometedoras para aumentar el valor agregado de productos cárnicos (Oddur, 1997; Ikura *et al.*, 1992 AJINOMOTO FOODS DEUTSCHLAND, © 1999-2005; Motoki & Seguro, 1998).

Se ha desarrollado el sistema que regenera la carne usando simultáneamente TGasa y caseinato. Cuando la materia prima es tratada con caseinato y TGasa, esta se vuelve un sistema viscoso lo cual ayuda a actuar como pegamento que unen a los trozos de carne (Kuraishi, 1996). Incluso carne molida puede ser unida en una sola pieza o filete sin usar cloruro de sodio ni fosfatos, lo cual lo vuelve en un producto “saludable” (Kuraishi *et al.*, 1996; Motoki & Seguro, 1998).

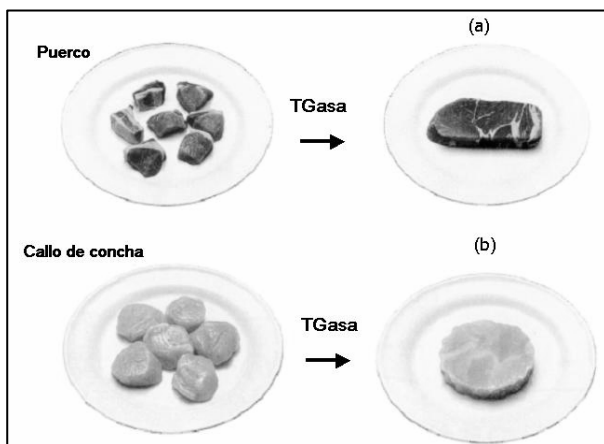


Fig. 2. Aplicación de transglutaminasa. (a), filete reestructurado a partir de carne de puerco. (b) nuevo tipo de marisco a partir de callo de concha (Modificado de Motoki & Seguro, 1998).

Para el caso del pescado procesado, se encontró que la TGasa provocaba una gelificación espontánea en pasta de carne de pescado la cual se llamo “suwari”, donde se producía una pasta rígida de proteína a bajas temperaturas a partir de entrecruzamientos (Seki *et al.*, 1992). La TGasa microbiana se ha aplicado en preparaciones de surimi (de varias especies de pescado) y se ha observado que mejora la fuerza del gel significativamente durante la cocción, incluso a pesar de que el surimi había sido almacenado 2 días en hielo (Ramírez *et al.*, 2000; Wu, 1992; Maruyama *et al.*, 1995; Lee *et al.*, 1997).

Proteínas de soya como las globulinas 11S y la 7S son buenos sustratos para las TGasa. El “Tofu”, un producto a partir de soya, es producido por la coagulación de las proteínas de soya por la adición de Ca^{2+} o Mg^{2+} . Sin

embargo, no es sencillo producir un Tofu de larga vida de anaquel ya que su suavidad y consistencia se ve afectada por procesos de esterilización. Con el uso de TGasa es posible mantener las características organolépticas a pesar de los procesos térmicos (Özrenk, 2006; Tang *et al.*, 2005; Motoki & Seguro, 1998).

En estudios realizados por Zakamoto *et al.* (1996), se demostró que aplicando TGasa en la elaboración de *noodles* y pastas a partir de harina de trigo, es posible prevenir el deterioro de la textura después de la cocción y mejorar la resistencia del producto, incluso cuando la cantidad de harina utilizada fuera en poca.

En productos como caseína de leche, la cual no tiene buena capacidad de formar geles, ni siquiera aplicando calor, fue posible generar sistemas gelificados con buena resistencia térmica después de someterla a una reacción enzimática con TGasas. Un ejemplo de esto puede ser el yogur, que es un tipo de gel de leche formado por la fermentación ácida por iniciadores lácticos. Sin embargo, puede sufrir una separación de fases de proteínas y agua con cambios de temperatura e impacto físico. Esto puede ser solucionado aplicando TGasa, la cual favorece la estabilidad térmica del gel y su capacidad de retención de agua. Por otra parte es posible producir productos a base leche como los helados cremosos y quesos bajos en grasas (Özrenk,

2006). Vale la pena pensar que TGasa es capaz de introducir muchas funciones nuevas a gelatinas y colágenos, en la manera de modificar sus puntos de fusión y la fuerza de geles dependiendo de la cantidad de TGasa. Sistemas proteicos en la elaboración de productos tipo salchicha, pueden ser mejorados con complejos de gelatina/colágeno tratados con TGasa, ya que se ha observado la buena estabilidad térmica que estos aportan al producto sin la aplicación de reactivos químicos (Ikura *et al.*, 1992; Kuraishi *et al.*, 1996). Por otro lado, Watanabe *et al.* (1994) reportaron que el tratamiento con TGasa reduce la alergeneidad en las harinas de trigo. Los tratamientos de con TGasa podrían ser una solución para las personas que sufren de alergias por consumo de ciertos alimentos. Algunas otras aplicaciones y los productos a los cuales estan dirigidos son mencionados en la Tabla 2.

Tabla 2. Algunos otros ejemplos de los usos y aplicaciones de las TGasas en diferentes productos y procesos de

Fuente	Productos Dirigidos	Efecto Principal	Referencia
Carne	Geles de res Geles de puerco Productos cárnicos	Mejoramiento en retención de agua y parámetros de textura Efecto sobre el color y retención de agua Mejoramiento estructural de textura, apariencia y propiedades de unión	Pietrasik & Li Chan, 2002 Jarmoluk & Pietrasik, 2003 Wilson, 1993
Pescado	Surimi, análogos de mariscos	Mejoramiento en la calidad y capacidad de formación de geles	Tsai <i>et al.</i> , 1996; Jiang <i>et al.</i> , 2000
Trigo	Pastas, productos horneados, pasteles, Croissant	Mejoramiento de propiedades funcionales y mecánicas, mejoramiento en la elevación y calidad sensorial e incremento de vida de anaquel	Tellez <i>et al.</i> , 2002; Gerrard <i>et al.</i> , 2000; Hozova <i>et al.</i> , 2003
Soya	Tofu y productos de cuajados	Mejoramiento de la textura y prolongación de vida de anaquel	Yildirim <i>et al.</i> , 1995, 1996; Kwan & Easa, 2003
Frutas y vegetales	Cereales	Conservación	Takagaki <i>et al.</i> , 1991
Proteína	Entrecruzados proteicos	Mejoramiento en la composición de aminoácidos	Ikura <i>et al.</i> , 1981
Lana	Entrecruzados proteicos	Incremento del hilado y fuerza de la tela	Cortez <i>et al.</i> , 2004
Proteínas de leche	Emulsión Leche tratada Geles	Mejoramiento en estabilidad, floculación fuerte Características de cuajo mejoradas Incremento en fuerza de corte, retención de agua Formación de microestructura más fina.	Færgemand <i>et al.</i> , 1998 Lorenzen, 2000 Nonaka <i>et al.</i> , 1992; Færgemand & Qvist 1997 Imm <i>et al.</i> , 1999

CONCLUSIÓN

El interés por la TGasa inició debido a su relación con importantes roles fisiológicos en los seres vivos. Gracias a las investigaciones realizadas se sabe de la capacidad única de la transglutaminasa de formar entrecruzados covalentes entre los residuos de glutamina y lisina, afectando dramáticamente la funcionalidad de las proteínas. Esto resultó en el desarrollo de tecnologías innovadoras para modificar y manipular la funcionalidad de ingredientes proteicos en la elaboración de alimentos. A su vez, aplicaciones de TGasa están surgiendo a la orden del día y la aplicación de la misma pretende ser producción de una gran diversidad de alimentos.

REFERENCIAS

ACTIVA-AJINOMOTO's Transglutaminase. Copyright © 1999-2005 AJINOMOTO FOODS DEUTSCHLAND GMBH. www.ajinomoto.de
Aeschlimann D & Paulsson M (1994). Transglutaminase: protein cross-linking enzyme in tissues and body fluids. *Thromb. Haemost.* 71: 402-415.

Ando H, Adachi M, Umeda K, Matsuura A, Nonaka M, Uchio R, Tanaka H, Motoki M & Nihon nōgei K (1989) Purification and characteristics of a novel transglutaminase derived from microorganisms. *Agric. Biol. Chem.* 53: 2613-2617.
Araki H & Seki N (1993) Comparison of reactivity of transglutaminase to various fish cctomyosin. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 59: 711-716.
Blaskó B, Mádi A, Fésüs I (2004) Structural elements responsible for transglutaminase activity of protein disulphide isomerases and thioredoxins. *J. Biol. Reg. Homeos. Ag.* 18 (1):1-8.
Bishop PD, Teller DC, Smith RA, Lasser GW, Gilbert T & Seale RL (1990) Expression, purification, and characterization of human factor XIII in *Saccharomyces cerevisiae*. *Biochemistry* 29: 1861-1869.
Cortez J, Bonner PLR & Griffin M (2004) Application of transglutaminases in the modification of wool textiles. *Enzyme Microb. Tech.* 34: 64-72.

- Dvorcakova M, Maecejoval D, Pallet V, Higuieret P, Vasson MP, Rock E, Brtko J. (2002) Transglutaminases and endocrine system. *Endocrine Reg.* 36: 31-36.
- Esposito C & Caputo I (2005) Mammalian transglutaminases: Identification of substrates as a key to physiological function and physiopathological relevance. *FEBS J.* 272: 615-631.
- Færgemand M, Otte J & Qvist KB (1998) Emulsifying properties of milk proteins cross-linked with microbial transglutaminase. *Int. Dairy J.* 8: 715-723.
- Færgemand M & Qvist KB (1997) Transglutaminase: effect on rheological properties, microstructure and permeability of set style acid skim milk gel. *Food Hydrocolloid* 11: 287-292.
- Falcone P, Serafini-fracassini D & Del Duca S (1993) Comparative studies of transglutaminases activity and substrates in different organs of *Heliantus tuberosus*. *J. Plant Physiol.* 142: 265-273.
- Gerrard JA, Newberry MP, Ross M, Wilson AJ, Fayle SE & Kavale S (2000) Pastry lift and croissant volume as affected by microbial transglutaminase. *J. Food Sci.* 65: 312-314.
- Hozova B, Kukurova I & Dodok L (2003) Application of transglutaminase and fermyzyme for sensory quality improvement of pastry. *Nahrung/Food* 47: 171-175.
- Icekson I & Apelbaum A (1987) Evidence for transglutaminase activity in plant tissue. *Plant Physiol.* 84: 972-974.
- Ikura, K., Sasaki, R. & Motoki, M. (1992) Use of transglutaminase in quality-improvement and processing of food proteins. *Comments Agric. & Food Chem.* 2: 389-407.
- Ikura K, Yoshikawa M, Sasaki R & Chiba H (1981) Incorporation of amino acids into food proteins by transglutaminase. *Agric. Biol. Chem.* 45: 2587-2592.
- Imm JY, Lian P & Lee CM (1999) Gelation and waterholding capacity of transglutaminase-treated skim milk. IFT Annual Meeting 79A-12. Rhode Island: Food Science and Nutrition, University of Rhode Island.
- Haard Norman F. and Simpson K. *Seafood Enzymes*. Marcel Dekker, Inc. Transglutaminases in seafood processing. Isaac N. A. Ashie & Tyre C. Lanier (2000); Part II. Chapter 6. 147- 167.
- Jarmoluk A & Pietrasik Z (2003) Response surface methodology study on the effects of blood plasma, microbial transglutaminase and *k*-carragenan on pork batter gel properties. *J. Food Eng.* 60: 327-335.
- Jiang ST, Hsieh F, Ho ML & Chung YC (2000) Combination effects of microbial transglutaminase, reducing agent, and protease inhibitor on the quality of hairtail surimi. *J. Food Sci.* 65: 241-245.
- Kamath G, Lanier T, Foegeding E & Hamann DD (1992) Nondisulfide covalent crosslinking of myosin heavy chain in setting of Alaska pollock and Atlantic croaker surimi. *J. Food Biochem.* 16:151-172.
- Klein JD, Guzman E & Kuehn GD (1992) Purification and partial characterization of transglutaminase from *Physarum polycephalum*. *J. Bacteriol.* 174: 2599-2605.
- Kuehn G, Sotelo M, Morales T, Carver Bruce MR, Guzman E & Margosiak SA (1991) Purification and properties of transglutaminases from *Medicago sativa* L (alfalfa). *FASEB J* 5:A1510.
- Kuraishi C, Sakamoto J & Soeda T (1996) The usefulness of transglutaminase for food processing. biotechnology for improved foods and flavors (ACS Symposium Series 637), American Chemical Society, pp. 29-38.
- Kurth L & Rogers PJ (1984) Transglutaminase catalyzed crosslinking of myosin to soya protein, casein and gluten. *J. Food Sci.* 49: 573-576.
- Kwan SW & Easa AM (2003) Comparing physical properties of retort-resistant glucono- δ -lactone tofu treated with commercial transglutaminase enzyme or low levels of glucose. *LWT/ Food Sci. Tech.* 36: 643-647.
- Lee HG, Lanier TC, Hamann DD & Knopp JA (1997) Transglutaminase effects on low temperature gelation of fish protein sols. *J. Food Sci.* 62: 20-24.
- Lorenzen PC (2000) Renneting properties of transglutaminasetreated milk. *Milchwissenschaft* 55: 433-437.
- Maruyama N, Nozawa H, Kimura I, Satake M & Seki N (1995) Transglutaminase-induced polymerization of a mixture of different fish myosin. *Fish Sci* 61: 495-500.
- Motoki M & Seguro K (1998) Transglutaminase and its use for food processing. *Trends Food Sci.Tech.* 9: 204-210.
- Nonaka M, & H & Motoki . (1989) Polymerization of several proteins by Ca²⁺- independent transglutaminase derived from microorganisms. *Agric. Biol. Chem.* 53: 2619-2623.
- Nonaka M, Sakamoto H, Toiguchi S, Kawajiri H, Soeda T & Motoki M (1992) Sodium caseinate and skim milk gels

- formed by incubation with microbial transglutaminase. *J. Food Sci.* 57: 1214–1218.
- Oddur V (1997) The state of enzyme biotechnology in the fish processing industry. *Trends Food Sci. Tech.* 8: 266–270.
- Özrenk E (2006) The use of transglutaminase in dairy products. *Int. J. Dairy Tech.* 59: 1–7
- Pardekooper Ernst JC (1998) Composite meat product and method for the manufacture thereof. *U.S. patent* 4,741,906.
- Pietrasik Z & Li-Chan ECY (2002) Binding and textural properties of beef gels as affected by protein, k-carragenan and microbial transglutaminase addition. *Food Res. Int.* 35: 91–99.
- Ramírez JA, Santos IA, Morales OG, Morrissey MT & Vázquez M (2000) Application of microbial transglutaminase to improve mechanical properties of surimi from silver carp. *Cienc. Tecnol. Aliment.* 3: 21–28.
- Sakamoto H, Yamazaki, Kaga C, Yamamoto Y, Ito R & Kurosawa Y (1996) Strength enhancement by addition of microbial transglutaminase during chinese noodle processing. *J. Japanese Soc. Food Sci. Tech.* 43: 598–602.
- Seki N, Uno H, Lee NH, kimura I, Toyoda K, Fujita T & Arai K (1992) Transglutaminase activity in Alaska pollack muscle and surimi, and its reaction with myosin B. *Nippon Suisan Gakk* 56:125–132.
- Takehana S, Washizu K, Koikeda S, Takeuchi K, Matsui H, Motoki M & Takagi H (1994) Chemical synthesis of the gene for microbial transglutaminase from *Streptoverlicillium* and Its expression in *Escherichia coli*. *Biosci. Biotech. Biochem.* 58: 88–92.
- Takagaki Y, Narakawa K & Uchio R (1991) Coating of vegetables and fruits with transglutaminase and proteins for preservation. *Japan Kokai Tokkyo Koho JP* 03272639.
- Tang CH, Wu H, Yu HP, Li l, Chen Z & Yang X-Q (2005) Coagulation and gelation of soy protein isolates induced by microbial transglutaminase. *J. Food Biochem.* 30: 35–55.
- Tellez- LS, Uresti RM, Ramirez JA & Vazquez M (2002) Low-salt restructured fish products using microbial transglutaminase as binding agent. *J. Sci. Food Agric.* 82: 953–959.
- Tokunaga F, Yamada M, Miyata T, Ding YL, Hiranaga M & others (1993) Limulus hemocyte trasglutaminase. Its purification and characterization, and identification of the intracellular substrates. *J. Biol. Biochem.* 268: 252–561.
- Tsai GJ, Lin SM & Jiang ST (1996) Transglutaminase from *Streptovercillium ladakanum* and application to minced fish product. *J. Food Sci.* 61: 1234–1238.
- Tsukamasa Y, Sato K, Shimizu Y, Imain C, Sugiyama M, Minegishi Y, & Kawabata M (1993) ϵ -(γ -glutamyl) lisen crosslink formation in sardine myofibril sol during setting at 25°C. *J. Food Sci.* 58:785–787.
- Washizu K, Koikeda S, Hirose S, Matsuura A, Takagi M (1994) Molecular cloning of the gene for microbial transglutaminase from *Streptovercillium* and its expression in *Streptomyces lividans*. *Biosci. Biotech. Biochem.* 58: 82–87.
- Watanabe M, Suzuki T, Ikezawa Z & Arai S (1994) Controlled enzymatic treatment of wheat proteins for production of hyperallergenic flour. *Agric. Biol. Chem.* 55: 2725–2731.
- Wilson SA (1992) Modifying meat proteins via enzymatic crosslinking. Proceedings of the 27th Meat Industry Research Conference, Hamilton, Sep. 11, 92' in Meal Industry Research Institutes of New Zealand, Mirinz, pp. 247–277.
- Wilson SA (1993) Cross-linking of meat proteins for restructured products. *Food Technol.* 23: 36–38.
- Wu MC (1992) Manufactured of surimi-based products. In TC Lanier, & C M Lee, eds. *Surimi Technology*. NY, Marcel Dekker, pp 245–272.