総 説

熟成に伴う食肉軟化の分子機構

——非酵素的カルシウム説について——

高 橋 興 威*

Non-Enzymatic Mechanism of Meat Tenderization during Post-Mortem Ageing : the Calcium Theory of Meat Tenderization

Kouji TAKAHASHI*

** Department of Animal Science, Faculty of Agriculture,
Hokkaido University, Sapporo 060*

1. はじめに

食肉の品質を決定する五大要素は軟らかさ、味、多汁性、外観および香りであるが、これらの中で消費者が最も重視するのは軟らかさである¹⁾。食肉の軟らかさは家畜の種、品種、年齢、性別あるいは食肉の部位のような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とから成り立っている。また、食肉の軟らかさは筋線維（動物の発生の過程で数千箇の細胞が長軸方向に融合した多核細胞）の主体をなす筋原線維とそれらを連結している中間径フィラメント、および生体において筋線維を支持する役割をはたしている筋内膜および筋周膜という筋肉内結合組織の性状によって支配されている。家畜の加齢に伴う筋肉内結合組織の堅牢化は特に顕著であり、老齢の家畜から生産される食肉は硬く、品質が劣っている。

良質の食肉を得るためには、適度に肥育した適齢の家畜を屠畜しなければならない。そして、屠畜した後に、一定の熟成期間が必要である。熟成期間は家畜の種によって異なり、3~5℃で冷蔵した場合、牛肉では14日以上（銘柄和牛肉では4週間もの熟成を行っている）、豚肉では6~7日、鶏肉では半日~1日である。この熟成期間に食肉は軟らかくなり、風味も改善されて食味が向上する。剪断力価の測定により牛肉、豚肉および鶏肉の熟

成に伴う軟化について調べた結果が図1に示してある。豚肉は10日以上熟成しても軟化度は増加しないが、牛肉の場合、28日という長期間の熟成が軟化に対して有効であることが判る。また、各食肉の軟化は熟成初期に見られる速く進行する変化と熟成後期の遅い変化の2相から成っている。後述するように、熟成初期の速い変化は主として筋原線維構造の脆弱化によるものであり、熟成後期の緩慢な軟化は主として筋肉内結合組織の脆弱化によるものである。

食肉の熟成は3~5℃の低温で行われ、熟成中の食肉においては乳酸の蓄積によってpHが5.5付近まで低下する。さらにATPが消失するなどの非生理的環境において筋小胞体は生理機能を失うため、内部に蓄積されていたCa²⁺が漏出し、筋漿（筋線維のサイトゾル）のCa²⁺濃度は最終的に0.2 mMになる。この濃度は生体時に骨格筋が弛緩している時の約2000倍である。このような条件下でライソソーム由来のカテプシン類および筋漿に存在するμ-カルパインやm-カルパインなどの内因性プロテアーゼが活性を発現することが期待されたが、カテプシン類およびm-カルパインの関与は否定され²⁾³⁾、現在ではμ-カルパインの作用によって筋原線維をはじめとする筋線維内の構造が加水分解されると考えている研究者が多い⁴⁾。μ-カルパインによるプロテオリシス説では筋漿Ca²⁺濃度の上昇に伴ってμ-カルバイ

* 北海道大学農学部（〒060 札幌市北区北9条西9丁目）

図1 食肉の熟成に伴う剪断力価の変化

牛、豚および鶏の半腱様筋を4℃で熟成し、経時的にレオメーターにより剪断力価を測定した。屠畜直後の値に対する百分率で表わしてある。

○, 牛肉; △, 豚肉; □, 鶏肉。

ンが活性化されて、筋原線維や中間径フィラメントのタンパク質を加水分解すると推定する⁵⁾ものであり、 Ca^{2+} は間接的に作用することになる。これに対して私は、7.5に最適pHを、25℃に最適温度をもつ μ -カルパインは食肉の熟成中の環境においては活性を発現しないと考えている。私達は、濃度が生体時の2000倍にも増大した Ca^{2+} の直接的作用による筋原線維構造および中間径フィラメントの非酵素的脆弱化が熟成に伴う食肉の軟化の主因であることを明らかにしつつあり、「食肉の軟化に関するカルシウム説」を提唱している⁶⁾⁷⁾。その根拠は以下に述べるように、プロテオリシスとは全く無関係にZ線および硬直結合の脆弱化が0.1 mM Ca^{2+} によって誘起され、プロテアーゼの活性を阻害した実験系においてコネクチンフィラメント、ネブリンフィラメント、および中間径フィラメントを形成しているデスミンが0.1 mM Ca^{2+} によって、食肉の熟成中と同様に变化するからである。

2. 筋原線維構造の脆弱化

(1) Z線の脆弱化

筋原線維の構造単位であるサルコメアどうしを連結し

ているZ線の構造は食肉の熟成中に脆弱になり、容易に切断されるようになる⁸⁾。単離した筋原線維を用いて、プロテアーゼ阻害剤の存在下で検討した結果、Z線の脆弱化の Ca^{2+} 要求性は0.1 mMで最大値を示し、pH依存性は6.5に最低値をもつ逆ベル型を示す⁹⁾など、熟成中の食肉の非生理的条件とよく一致する。一方、家兎にインシュリンを投与してから屠畜し、最終pHが5.7から7.2の範囲にある死後筋肉を調製してpHとZ線の脆弱化の関係を調べると、熟成に伴うZ線の脆弱化はpH 6.5に最低値をもつ逆ベル型のpH依存性を示し、単離した筋原線維を用いた*in vitro*実験の結果と合致する¹⁰⁾。

Z線の微細構造はZ-フィラメントと無定形物質から成ることが知られている。グリセリン処理した筋線維の超薄切片を電子顕微鏡で観察すると、0.1 mM Ca^{2+} によって無定形物質は可溶化されて消失するのに対し、 α -アクチニンで形成されているZ-フィラメントは規則的配列を保持したまま残存している¹¹⁾。また、無定形物質が消失したZ線をアルカリで処理すると容易に2分割されることから無定形物質は隣り合うサルコメアのZ-フィラメントを接着することにより、Z線の構造を保持していると考えられる¹⁰⁾。

以上に述べたことから、食肉の熟成に伴うZ線の脆弱化は0.1 mMの Ca^{2+} の作用による非酵素的反応に基づくものであることが明確になった。 Ca^{2+} がなぜ無定形物質を可溶化するのかという問題を追究する過程で、無定形物質が脂質によって構成されていることを見出した。脂質は筋原線維のタンパク質100 g当り約2 gも存在しており、ほぼ、 α -アクチニンの含量に等しい。牛半腱様筋のZ線に存在する脂質の構成は、リン脂質が65.8%を占め、トリアシルグリセロール、コレステロールおよび遊離脂肪酸がそれぞれ23.2、8.6および2.4%である¹²⁾。熟成に伴うZ線の脆弱化は牛肉では熟成14日目に、豚肉では6日目に、鶏肉では2日目にほぼ最大値に達するが、これらの変化とリン脂質のZ線からの遊離量は完全に一致する(図2)。また、単離した筋原線維を用いて Ca^{2+} 濃度依存性、pH依存性および温度依存性を調べた場合も、Z線の脆弱化とリン脂質の遊離量はよく一致し、図3に例示するように、pH依存性はいずれも6.5に最小値をもつ逆ベル型を示す。 Ca^{2+} はリン脂質および脂肪酸と結合することが知られている¹³⁾¹⁴⁾ので、 Ca^{2+} の結合によってリン脂質や脂肪酸が可溶化し、Z線から遊離するためにZ線の構造が脆弱になると考えられる。リン脂質および脂肪酸のどの分子種と Ca^{2+} が結合して溶解性を変化させるのかを実証することにより、

図 2 食肉の熟成に伴う Z 線の脆弱化とリン脂質の遊離量の関係

牛、豚および鶏の半腱様筋を 4℃ で熟成して経時的に筋原線維を調製した。筋原線維から I-Z-I brush を調製し、リン脂質を抽出して定量した (黒印)。Z 線の脆弱化の程度は筋原線維の小片化率で表わした (白印)。

○, ●, 牛肉; △, ▲, 豚肉; □, ■, 鶏肉。

図 3 Z 線の脆弱化およびリン脂質の遊離量の pH 依存性

豚半腱様筋から調製した筋原線維 (6.6 mg/ml) を 0.1 M KCl, 0.1 mM CaCl_2 , 15 μg カルパスタチン/ml および 10 mM トリス・マレイン酸緩衝液に懸濁し、4℃ で攪拌しながら Ca 処理した。3 日後に、Z 線の脆弱化の程度 (○) および Z 線からのリン脂質の遊離量 (●) を測定した。

食肉の熟成に伴う Z 線の脆弱化機構が完全に解明されたと考えている。

(2) 硬直結合の脆弱化

死後硬直時の筋原線維は収縮し、ATP が消失しているので、アクチンとミオシン間に硬直結合が形成されている。しかし、その後の熟成期間に硬直結合は脆弱になるので、サルコメアの長さ (Z 線と Z 線の間の距離) は復元する⁸⁾。硬直結合は、私達が発見した筋原線維のタンパク質・パラトロポミオシンによって脆弱化される¹⁵⁾。間接免疫蛍光法で調べると、生体の筋原線維においてパラトロポミオシンは A 帯と I 帯の接合部に局在しているのでアクチンとミオシンの相互作用には関与しないが、図 4 に示すように、食肉の熟成中にその部位から遊離し、細いフィラメントのアクチンと結合するようになる^{16) 17)}。このようなパラトロポミオシンの局在移動は、牛肉では 10 日、豚肉では 6 日、鶏肉では 1 日で完了し、それぞれの熟成期間によく対応している¹⁸⁾。食肉の熟成に伴うパラトロポミオシンの局在移動と硬直結合の脆弱化によってもたらされるサルコメアの長さの復元は、図 5 に示すように、密接に関係している。

単離した筋原線維を用いて種々の条件下で調べた結果、パラトロポミオシンの局在移動は 0.1 mM Ca^{2+} によって非酵素的に誘起されることが明らかになっている¹⁶⁾。パラトロポミオシンはアクチン上にあるミオシンの結合部位に対して高い親和性を有しており、ミオシンを排除するために硬直結合が脆弱になると考えられる^{19) 20)}。パラトロポミオシンによる硬直結合の脆弱化と死後硬直時に短縮したサルコメアの長さがその後の熟成期間に復元することは熟成に伴う食肉の軟化に大きな役割を果たしている。アクチン・ミオシン間に形成された硬直結合に対するパラトロポミオシンの脆弱化作用を明らかにしたことにより、熟成に伴う食肉の軟化の要因の一つをタンパク質の分子レベルで明快に説明できるようになった。

(3) コネクチンフィラメントの開裂

図 6 に示すように、コネクチンフィラメントは太いフィラメントと Z 線を繋いでおり、収縮・弛緩の際に太いフィラメントをサルコメアの中央に保持する役割を果たしている²¹⁾。骨格筋は弾性を有し、歪みを加えても外力をのぞけば元の形に回復するが、この性質はサルコメア

図4 豚肉の熟成に伴うパラトロポミオシンの局在移動およびサルコメア長の復元

豚の胸最長筋を4℃で熟成し、屠畜直後(aとb)、屠畜後2日目(cとd)および9日目(eとf)に筋原線維を調製した。間接免疫蛍光法によりパラトロポミオシンの局在移動(b, d, f)を、位相差顕微鏡下(a, c, e)でサルコメア長の変化を調べた。

サルコメアの長さ: a, 2.4 μm ; c, 1.6 μm ; e, 2.1 μm 。

のI帯領域(太いフィラメントが無い部分)に存在するコネクチンフィラメントによるところが大きいと考えられている。一方、熟成した食肉では歪みを加えた後に外力を除いても元の形に戻らなくなる。このような物性の変化はコネクチンの性状変化によるものであり、食肉の軟化と密接に関連している。

コネクチンには不溶性の α -コネクチン(コネクチンフィラメント)と可溶性の β -コネクチンという2種類の存在様式があり、分子量は前者が280万、後者が210万と他のタンパク質には例のない巨大分子である。図7に示すように、食肉の熟成に伴う弾性の低下は α -コネ

図5 豚肉の熟成中に起こるサルコメアの長さの復元とパラトロポミオシンの局在移動の関係

豚の胸最長筋を4℃で熟成し、経時的に筋原線維を調製した。位相差顕微鏡下でサルコメアの長さを、間接免疫蛍光法でパラトロポミオシン(PTM)の局在移動を測定した。

●, サルコメアの長さ; ○, パラトロポミオシンの局在移動。

図6 サルコメアにおけるコネクチンフィラメントの存在様式

Z, Z線; α , α -コネクチン; β , β -コネクチン; S, 1200 kDa サブフラグメント。

Z線と太いフィラメントを繋いでいるコネクチンフィラメントに Ca^{2+} が大量に結合すると矢印の位置で開裂する。

クチン量の減少によるものであるが、これは α -コネクチンがI帯領域で β -コネクチンと分子量120万のサブフラグメントに開裂するためである²²⁾。高い弾性を有する部分が開裂するので食肉の弾性が低下する。この開裂がなぜ起こるのかということについて、私達の研究により新しい事実が明らかになった。すなわち、 α -コネクチンはカルシウム結合タンパク質であり、 Ca^{2+} が結合すると β -コネクチンとサブフラグメントに開裂する。こ

図 7 食肉の熟成に伴う弾力性の低下と α -コネクチンの残存量の関係

牛および豚の半腱様筋並びに鶏の浅胸筋を 4°C で熟成し、ダイナグラフで弾力性(白印)を、SDS-PAGEにより α -コネクチンの残存量(黒印)を測定した。

○, ●, 牛肉; △, ▲, 豚肉; □, ■, 鶏肉。

の変化は $70\mu\text{M}$ ロイペプチンの存在下で、 0.1mM Ca^{2+} によって最大に起こる。 $70\mu\text{M}$ のロイペプチンによって、筋原線維標品に混在するプロテアーゼの活性は全て阻害される²³⁾。これらの結果は、食肉の熟成に伴うコネクチンフィラメントの開裂が 0.2mM に上昇した筋漿 Ca^{2+} の結合によるものであることを示している。図6に示す模式図で、コネクチンフィラメントは矢印の部位(Z線から約 $0.34\mu\text{m}$)で開裂して β -コネクチンと分子量120万のサブフラグメントを生成する²⁴⁾。 Ca^{2+} の結合部位は未だ確定していないが、矢印の右横、すなわちサブフラグメントとの連結部位近傍の β -コネクチン上にあると推定している。

(4) ネブリンフィラメントの断片化

ネブリンはコネクチンと同様に極く細いフィラメント状で存在しており、アクチンから成る細いフィラメントの全長にわたって平行に結合し(図9参照)、細いフィラメントの構造保持に寄与していると考えられている²⁵⁾。私達は食肉を熟成すると時間の経過とともにネブリンフィラメントの断片化が起こり、母分子であるネブリンは消失することを発見した²⁶⁾。細いフィラメントの構造を保持しているネブリンフィラメントが断片化すると細いフィラメントが不安定になるので、このことが熟成に伴う食肉の軟化の一因になっていると考えられる。図8に示すように、ネブリンの消失速度は畜種によって異なっており、牛肉では遅いが鶏肉では迅速で、各食肉の熟成期間の長短によく対応している。

単離した筋原線維を 0.1mM CaCl_2 および $70\mu\text{M}$ ロイペプチンを含む溶液で処理すると、熟成中の食肉の場合と同様に分子量約70万のネブリンフィラメントの断片化が起こる。断片化により生成するサブフラグメントの分子量は20万, 18万, 4万, 3.3万および2.3万の5種類で、分子量18万以外のサブフラグメントは筋原線維から遊離する²⁷⁾。また、 Ca^{2+} 感受性蛍光試薬であるquin 2を用いてタンパク質のCa結合能を調べる手法を開発し、ネブリンがCa結合タンパク質であること、および分子量20万, 4万および2.3万のサブフラグメントはCa結合能を有することを確認した²⁷⁾。したがって、食肉の熟成中に筋漿 Ca^{2+} 濃度が 0.2mM に上昇すると、これらのサブフラグメントに Ca^{2+} が大量に結合し、ネブリンフィラメントの断片化が非酵素的に誘起されると考えられる。

各サブフラグメントの抗体を作成し、間接免疫蛍光法および免疫電顕法で詳細に検討した結果、ネブリンフィラメントは図9に示すような構造をしていると考え、モデルを提案した²⁸⁾。

図 8 食肉の熟成中に起こるネブリンの消失

食肉を 4°C で熟成し、経時的に筋原線維を調製してSDSゲル電気泳動を行ない、電気泳動像からネブリン量を求めた。屠畜直後の値に対する百分率で表わしてある。

○, 牛の胸最長筋; △, 豚の胸最長筋; □, 鶏の浅胸筋。

図9 ネブリンフィラメントにおける各サブフラグメントの配列を示す模式図

下段の数字は抗原決定基の存在部位を示している。

Z, Z線; M, M線。

図10 デスミンの中間径フィラメントの存在様式を示す模式図

Z, Z線。

3. 中間径フィラメントの脆弱化

デスミンは分子量約5万のタンパク質で、重合することにより直径10 nmの中間径フィラメントを形成している。図10に示すように、デスミンの中間径フィラメントはZ線の周囲を取り巻き、隣り合う筋原線維を連結するとともに、細胞膜に結合して筋線維における筋原線維の位置を固定している^{29) 30)}。

HWANとBANDMAN³¹⁾はモノクローナル抗体を用いて牛肉の熟成過程におけるデスミンの変化を追跡し、分子断片が生成することを見出した。私達は抗デスミン抗血清を用いて、食肉の熟成に伴うデスミン分子の断片化機構を調べた。モノクローナル抗体を用いたのでは、それが認識する抗原決定基をもたない分子断片を検出できな

いからである。デスミンは牛肉では14日目に、豚肉では8日目に、鶏肉では2日目に屠畜直後の値の70~80%に減少し、鎖重43~46 kDa, 40 kDaおよび34~36 kDaの断片が生成することが明らかになった³²⁾。単離した筋原線維あるいは精製したデスミンを0.1 mM Ca^{2+} および70 μM ロイペプチンを含む溶液で処理すると、食肉の熟成の場合とほぼ同様にデスミン分子が減少し、43~46 kDa, 42 kDa および34~36 kDaの断片が生成する³³⁾。驚くべきことだが、デスミン分子の断片化は5°Cから40°Cの範囲で温度依存性を全く示さない。この事実はデスミン分子の断片化に対するプロテアーゼの関与を否定している。これらの結果は、食肉の熟成中に起こるデスミン分子の断片化が0.1 mM Ca^{2+} の直接的作用によるものであることを明示している。

しかし、食肉の軟化に関係しているのは分子の断片化ではなく、中間径フィラメントがデスミン単分子に脱重合することである。精製したデスミンに中間径フィラメントを形成させてから0.1 mM CaCl_2 を添加すると、粘度が急速に低下する³⁴⁾ (図11)。粘度の低下はデスミン分子の断片化より遙かに速く起こるので、食肉の熟成中には先ず中間径フィラメントが脱重合し、その後に断片化が起こることが明らかになった。筋線維において筋原線維の位置を固定しているデスミンの中間径フィラメントが0.1 mM Ca^{2+} によって脱重合することが確認されたので、「食肉の軟化に関するカルシウム説」がより確実なものになった。

4. 筋肉内結合組織の脆弱化

食肉の軟らかさに関与している筋内膜および筋周膜は、コラーゲン分子が多数集合して形成するコラーゲン細線維とその間を埋めるプロテオグリカンやグリコサミ

ノグリカンが相互作用し、複雑な細胞外マトリックスを構築している。食肉の熟成中にコラーゲン分子が変化することが期待され、多くの研究が行われてきたが、コラーゲンの分子レベルでの変化は起こらないことが知ら

れている。すなわち、コラーゲンの加熱溶解性は熟成中には変化しないこと³⁵⁾から、家畜の加齢に伴って形成されたコラーゲンの分子間架橋は極めて安定であることがわかる。

私達は、OHTANI らが開発した細胞消化・走査電顕法³⁶⁾を応用して、筋内膜および筋周膜の構造変化について調べ、食肉の熟成に伴ってこれらが脆弱になることを見出した。屠畜直後の牛の半腱様筋では、筋内膜は蜂の巣状の構造を示し、これらを取り囲む筋周膜は板状の層を形成している (図 12 a)。筋内膜はシート状の膜で形成されており、高倍率で観察すると、コラーゲン細線維が緻密な網目構造を構築して膜状を呈している。筋周膜は数千本のコラーゲン細線維が集合した太い縄状のコラーゲン線維で構築されている。屠畜後 4℃ で 28 日間熟成した半腱様筋では図 12 b に示すように、筋内膜の蜂の巣状構造はほとんど崩壊し、コラーゲン細線維の網目構造は疎になっている。また、筋周膜を構築するコラーゲン線維は細い束あるいはコラーゲン細線維に解離している。これらの構造変化は熟成 7 日目まではほとんど認められないが、熟成 14 日目以降には顕著に認められるようになる³⁷⁾。豚肉の場合には熟成 5 日目以降に³⁸⁾、鶏肉の場合には熟成 12 時間目以降³⁹⁾に同様の構造変化が起こる。以上の結果は、食肉の熟成後期にコラーゲン細線維間の結合が脆弱になり、コラーゲン細線維がほぐれやすくなることを示している。銘柄和牛肉を 3~4 週間熟成すると非常に軟らかくなるのは筋内膜および筋周膜の構造変化、すなわち脆弱化によるものである。

食肉の熟成中にコラーゲン細線維がほぐれやすくなる

図 11 0.1 mM CaCl₂ による中間径フィラメントの脱重合

豚の骨格筋から精製したデスミンに中間径フィラメントを形成させ、プロテアーゼ阻害剤の存在下で粘度を測定した。矢印の点で 0.1 mM CaCl₂ (○) あるいは 5 mM EGTA (●) を添加した。

図 12 牛肉の熟成に伴う筋肉内結合組織の構造変化

a, 屠畜直後の牛の半腱様筋の筋肉内結合組織; b, 4℃ で 28 日間熟成した牛半腱様筋の筋肉内結合組織; E, 筋内膜; P, 筋周膜。スケールバーは 200 μm を示す。

のはなぜだろうか。筋内膜および筋周膜を構築しているコラーゲン細線維間にはプロテオグリカンなどの無定形基質成分が多く含まれており、これらはコラーゲンと強い親和性を有し、結合組織の安定性に寄与している。屠畜直後の牛の半腱様筋ではコラーゲン細線維にプロテオグリカンが一定間隔で結合しているが、熟成28日目の半腱様筋ではコラーゲン細線維に結合しているプロテオグリカンはほとんど認められなくなる⁴⁰⁾。これらの結果は、プロテオグリカンが牛肉の熟成中にコラーゲン細線維から解離するか、あるいは酵素的に加水分解されることを示唆している。したがって、牛肉の熟成中に筋内膜および筋周膜を構築しているコラーゲン細線維がほぐれやすくなるのは、コラーゲン細線維と結合して筋肉内結合組織の高次構造を安定化させていたプロテオグリカンが熟成に伴って消失するので、コラーゲン細線維間の接着性が弱くなるためであると推定される。現在のところ、食肉の熟成に伴いプロテオグリカンが消失する原因については不明であるが、私は、熟成中の食肉の非生理的環境において0.1 mM Ca^{2+} によりプロテオグリカンがコラーゲン細線維から非酵素的に解離する可能性があると考えている。

5. おわりに

1917年にHOAGLAND⁴¹⁾が熟成に伴う食肉の軟化はプロテオリシスによる可能性を指摘して以来、欧米の研究者の間にはこれが固定観念のようになっていくように思われる。幸い、昨年9月にノルウェーで開催された第42回国際食肉科学技術会議において、私は東洋人として初めて招待講演を行った。ヨーロッパの研究者達が、「食肉の軟化に関するカルシウム説」に関心を示すようになったことを大変嬉しく思っている。食肉に関する研究は応用的であるとしても、基礎的な科学的事実に基づいて思考するのでなければその発展は望めない。私は筋肉生化学と食肉生化学の間の橋渡しをすることを目標としてきたが、「食肉の軟化に関するカルシウム説」が世界中の多くの研究者に理解され、食肉科学の進歩に貢献できるようになることを期待している。

文 献

- 1) SIMS, T.J. and BAILEY, A.J.: In *Developments in Meat Science-2*, (Applied Publishers Ltd., London), p. 25 (1981).
- 2) ETHERINGTON, D. J., TAYLOR, M. A. and DRANSFIELD, E.: *Meat Sci.*, **20**, 1 (1987).
- 3) KOOHMARAIE, M., BABIKER, A.S., MERKEL, R.A. and DUTSON, T.R.: *J. Food Sci.*, **53**, 1252 (1980).
- 4) KOOHMARAIE, M.: *Biochimie*, **74**, 239 (1992).
- 5) TAYLOR, R.G., GEESINK, G.H., THOMPSON, V.F., KOOHMARAIE, M. and GOLL, D.E.: *J. Anim. Sci.*, **73**, 1351 (1995).
- 6) TAKAHASHI, K.: *Biochimie*, **74**, 247 (1992).
- 7) TAKAHASHI, K.: *Meat Sci.*, **43**, S 67 (1996).
- 8) TAKAHASHI, K., FUKAZAWA, T. and YASUI, T.: *J. Food Sci.*, **32**, 409 (1967).
- 9) HATTORI, A. and TAKAHASHI, K.: *J. Biochem.*, **92**, 381 (1982).
- 10) TAKAHASHI, K., KIM, O.H. and YANO, K.: *J. Biochem.*, **101**, 767 (1987).
- 11) TAKAHASHI, K. and HATTORI, A.: *J. Biochem.*, **105**, 529 (1989).
- 12) 島田謙一郎, 高橋興威: 第91回日本畜産学会大会講演要旨, p. 151, 名古屋 (1996).
- 13) YABUSAKI, K.K. and WELLS, M.A.: *Biochemistry*, **14**, 162 (1975).
- 14) BENGTSSON, G. and OLIVECRONA, T.: *Eur. J. Biochem.*, **106**, 549 (1980).
- 15) TAKAHASHI, K., NAKAMURA, F., HATTORI, A. and YAMANOE, M.: *J. Biochem.*, **97**, 1043 (1985).
- 16) HATTORI, A. and TAKAHASHI, K.: *J. Biochem.*, **103**, 809 (1988).
- 17) NAKAMURA, F. and TAKAHASHI, K.: *J. Biochem.*, **97**, 1053 (1985).
- 18) TAKAHASHI, K., HATTORI, A. and KUROYANAGI, H.: *Meat Sci.*, **40**, 413 (1995).
- 19) TAKAHASHI, K., YAMANOE, M., MURAKAMI, T., NISHIMURA, T. and YOSHIKAWA, R.: *J. Biochem.*, **102**, 1187 (1987).
- 20) YAMANOE, M. and TAKAHASHI, K.: *J. Biochem.*, **103**, 843 (1988).
- 21) HOROWITS, R., KEMPNER, E.S., BISHER, M.E. and PODOLSKY, R.J.: *Nature*, **323**, 160 (1986).
- 22) TAKAHASHI, K., HATTORI, A., TATSUMI, R. and TAKAI, K.: *J. Biochem.*, **111**, 778 (1992).
- 23) 辰巳隆一・高橋興威: 第92回日本畜産学会大会講演要旨, p. 115, 川崎 (1997).
- 24) TANABE, R., TATSUMI, R. and TAKAHASHI, K.: *J. Biochem.*, **115**, 351 (1994).
- 25) WANG, K. and WRIGHT, J.: *J. Cell Biol.*, **107**, 2199 (1988).
- 26) TATSUMI, R. and TAKAHASHI, K.: *J. Biochem.*, **112**, 775 (1992).
- 27) TATSUMI, R., HATTORI, A. and TAKAHASHI, K.: *J. Biochem.*, **112**, 780 (1992).
- 28) TATSUMI, R., HATTORI, A. and TAKAHASHI, K.: *J. Biochem.*, **113**, 797 (1993).

- 29) LAZARIDES, E. and GRANGER, B.L. : *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **75**, 3683 (1978).
- 30) RICHARDSON, F.L., STROMER, M.H., HUIATT, T.W. and ROBSON, R.M. : *Eur. J. Cell Biol.*, **26**, 91 (1981).
- 31) HWAN, S-F. and BANDMAN, E. : *J. Food. Sci.*, **54**, 1426 (1989).
- 32) 金輪理佳子・高橋興威：第90回日本畜産学会大会講演要旨, p. 218, 宮崎 (1995).
- 33) 金輪理佳子・高橋興威：第91回日本畜産学会大会講演要旨, p. 152, 名古屋 (1996).
- 34) 金輪理佳子・高橋興威：第92回日本畜産学会大会講演要旨, p. 113, 川崎 (1997).
- 35) HERRING, H.K., CASSENS, R.G. and BRISKEY, E.J. : *J. Food Sci.*, **32**, 534 (1967).
- 36) OHTANI, O., USHIKI, T., TAGUCHI, T. and KIKUTA, A. : *Arch. Histol. Cytol.*, **51**, 249 (1988).
- 37) NISHIMURA, T., HATTORI, A., and TAKAHASHI, K. : *Meat Sci.*, **39**, 127 (1995).
- 38) 方 甦虹・西邑隆徳・高橋興威：第90回日本畜産学会大会講演要旨集, p. 219, 宮崎 (1995).
- 39) LIU, A., NISHIMURA, T. and TAKAHASHI, K. : *Meat Sci.*, **38**, 315 (1994).
- 40) NISHIMURA, T., HATTORI, A. and TAKAHASHI, K. : *Meat Sci.*, **42**, 251 (1996).
- 41) HOAGLAND, R., MCBRYDE, C.N. and POWICK, W.C. : *Bulletin No. 433, US Dept. of Agric.* p. 1 (1917).

(平成9年4月21日受理)