



Title	肉用牛の成長に伴う筋タンパク質の変化
Author(s)	服部, 昭仁; 中村, 富美男; 近藤, 誠司 他
Citation	北海道大学農学部牧場研究報告, 14, 107-118
Issue Date	1990-02-20
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/48925
Type	departmental bulletin paper
File Information	14_107-118.pdf



肉用牛の成長に伴う筋タンパク質の変化

服部 昭仁・中村富美男・近藤 誠司*・

小竹森訓央・大杉 次男*・

(北海道大学農学部畜産学科, *同附属牧場)

要 旨

服部昭仁・中村富美男・近藤誠司・小竹森訓央・大杉次男 (1989) 肉用牛の成長に伴う筋タンパク質の変化, 北大農学部牧場研究報告14:107~118

ヘレフォード種肉用牛の初生雄子牛, 6カ月齢離乳去勢子牛, 18カ月齢去勢成牛および23カ月齢去勢肥育牛各1頭を屠殺し, 背およびもも肉から試料を採取し, 成長・加齢に伴う食肉の物性変化を筋肉中のタンパク質, 特に筋原線維のコネクチンおよびネブリンの変化から検討した。得られた結果の概要は以下の通りであった。

- 1) 牛の成長・加齢に伴い肉色の赤味は強くなり, 水分含量は低下し, もも肉中の脂肪含量は肥育により急増した。
- 2) 筋肉の単位湿重量当りに含まれるタンパク質量は23カ月齢まで増え続けたが, 筋原線維性タンパク質の占める割合は変化しなかった。一方, 結合組織性タンパク質・コラーゲンの含量は加齢に伴って減少した。
- 3) 18カ月齢までは牛の成長・加齢に伴い, 背, もも肉共に硬くなったが, 5カ月間の肥育を行った23カ月齢牛では6カ月齢牛よりも軟らかくなった。
- 4) 筋原線維構造タンパク質であるコネクチンとネブリンの全筋肉タンパク質に対する割合は, 食肉の物性の変化に一致した変化を示し, 両者の密接な関連性が示唆された。

キーワード: ヘレフォード種牛, 成長・加齢, 食肉の物性, 筋原線維タンパク質

緒 言

食肉の品質を決定する要素の中で, 硬さや軟らかさとして表現される物性は, 人の嗜好性と密接に関わり合っている。食肉の物性は筋肉中で高次構造を組んで存在している筋原線維と結合組織に関連しており, 死後筋肉の熟成に伴う食肉の物性変化や筋肉組織の発生に関する研究はこれら筋原線維や結合組織を生化学および組織化学的に追求することによって行われてきている。一方, 動物の成長に伴う食肉としての筋肉の変化は, 牛では産肉量や肉質の一般的特性について生産方式の違いなどから検討されてきたが, その品質変化を筋原線維や結合組織の変化として検討した研究はほとんどない。

本研究ではヘレフォード種肉用牛の初生子牛, 離乳子牛, 放牧育成牛および肥育牛を例にとり, 加齢に伴う食肉の物性変化を筋原線維性タンパク質, 特に筋原線維構造の維持タンパク質と考えられており¹⁾, また, 死後筋肉の軟化にも関与しているコネクチン^{2,3)}とネブリン^{4,5)}の変化から検討した。

材料および方法

1. 供試牛および飼育方法

北海道大学農学部附属牧場において牧草多給方式で飼育されているヘレフォード種肉用牛の初生子牛，離乳子牛，育成牛および肥育牛各1頭を供試し，試料を採取した。初生子牛としては生後3日間初乳のみを給与した雄子牛を，離乳子牛としては出生後6カ月間母牛と共に24時間放牧されていた去勢子牛を屠殺し，実験に供した。放牧期間中母乳のほかに4カ月齢位から1日1頭当たり約0.3kgの幼牛用配合飼料を給与した。育成牛としては離乳後の冬期に粗飼料主体で飼育し，次いで2夏目の放牧育成を終えた18カ月齢の去勢牛を，肥育牛としては18カ月齢まで粗飼料主体で育成した後5カ月間肥育した去勢牛を屠殺し，実験に供した。肥育期間中，1日1頭当たり肥育用配合飼料を4kg，コーンサイレージ20kgを給与し，乾草を自由摂取とした。

なお，供試牛の屠殺時体重，枝肉重等は以下のとおりであった。

表1. 供試牛の出荷成績

	月 齢 (月)			
	0	6	18	23
体 重 (kg)	41	210	395	621
枝 肉 重 (kg)	19	99	174	341
枝 肉 歩 留 (%)	45.1	47.1	44.1	54.9
正 肉 量 (kg)	11	71	133	266

2. 水分および脂肪含量の測定

筋肉中の水分および脂肪含量は Cross らの方法⁶⁾に従って測定した。すなわち，屠殺解体後採取し，液体窒素中に保存していた背肉（サーロイン）およびもも肉（うちもも）を液体窒素中で細砕後湿重量を測定した。100℃，24時間の乾燥により減少した重量を水分含量とした。水分含量を測定した乾燥肉粉をジエチルエーテルによって8時間抽出し，減少重量を脂肪含量とした。

3. 肉色（ミオグロビン含量）の測定

液体窒素中で細砕後湿重量を測定した筋肉試料に5倍量（w/v）のリン酸緩衝塩溶液 pH 7.4（PBS）を加え，ポリトロン（KINEMATICA）でホモジナイズし筋肉懸濁液を調製した。3,000 rpm で30分間遠心分離し，上澄液の波長555 nm（ミオグロビンによる吸収波長）における吸光度を肉色とした。

4. 物性の測定

屠殺解体後採取した背肉ともも肉を4℃に貯蔵した。1週間後に0.5×1.0×2.0cmの肉片を切り出し，線維方向に対して垂直な切断応力をレオメーター（NRM-2002 J，不動工業）で測定し，煎断力価とした。

5. タンパク質量の測定

以下の各タンパク質量はいずれも試料を予め1%のSDSを含む1 N NaOHに溶解した後biuret法⁷⁾で測定した。

総タンパク質量は、3で調製した筋肉懸濁液中に含まれるタンパク質量を総タンパク質量とし、筋漿タンパク質量は、筋肉懸濁液を3,000 rpmで30分間遠心分離し、上澄液を筋漿画分としてタンパク質量を測定した。筋原線維タンパク質量については、総タンパク質量から筋漿および結合組織タンパク質量を差し引いた値を筋原線維タンパク質量とした。結合組織タンパク質量はコラーゲン量として、筋肉懸濁液中に含まれるハイドロキシプロリン量をBergmanとLoxleyの方法⁸⁾によって求め、7.25倍した⁹⁾。

6. コネクチンおよびネブリン量

全筋の電気泳動像の波長620 nmにおけるデンストグラムから、全筋肉タンパク質に含まれているコネクチンおよびネブリンの割合を算出した。すなわち、屠殺直後の背肉を一部採取し、直ちに全筋をSDS処理し、可溶化した。SDS処理は、全筋を約5倍量の1% SDS、1% 2-メルカプトエタノール、4 mM EDTA、10%グリセロール、5 mM トリス塩酸緩衝液 pH 8.0の溶液中でホモジナイズ後98℃で2分間煮沸することによって行い、さらに3,000回転10分間の遠心分離によりSDS不溶物を除いた。試料は電気泳動に供するまで-90℃で凍結保存した。電気泳動は服部と辰己の方法¹⁰⁾に従い、2%ポリアクリルアミド、0.5%アガロース、0.1% SDS、2 mM EDTA および40 mM トリス・アセテート緩衝液 pH 7.4から成るスラブゲルを用いて行った。泳動後ゲルはCBB R-250で染色し、メタノール・酢酸混合液で脱色した。完全に脱色を終えたゲルをデンストメーター（TOYO）による測定に供した。

結果及び考察

1. 肉 色

ヘレフォード種牛筋肉に含まれるミオグロビン量（肉色）は、牛の加齢・成長に伴って増加した（図1）。肉色（赤味）は哺育・育成期間中よりも肥育期間に顕著に増加しており、牛体の発育が盛んな時よりも成熟期において肉の赤味は強くなるとされる。初生子牛においては僅かに背肉のほうがミオグロビン含量が高かったが、6カ月齢以降ではもも肉中の含量が常に高かった。

2. 物 性

ヘレフォード種牛筋肉の物性については硬さ・軟らかさを知るために切断応力を指標として、屠殺解体後1週間4℃に貯蔵した筋肉、すなわち、死後硬直がすでに解除している食肉について剪断力価を求めた（図2）。18カ月齢までは牛の成長に伴って、背肉、もも肉共硬くなり、18カ月齢の育成牛は初生子牛の2倍以上の値を示した。しかし、23カ月齢の肥育牛では両者とも6カ月齢よりも低い値を示し、特に、もも肉は顕著に軟らかくなった。これは、5カ月間の肥育が枝肉重や正肉量の増加（表1）をもたらすだけでなく、食肉の物性にも影響を及ぼしていることを

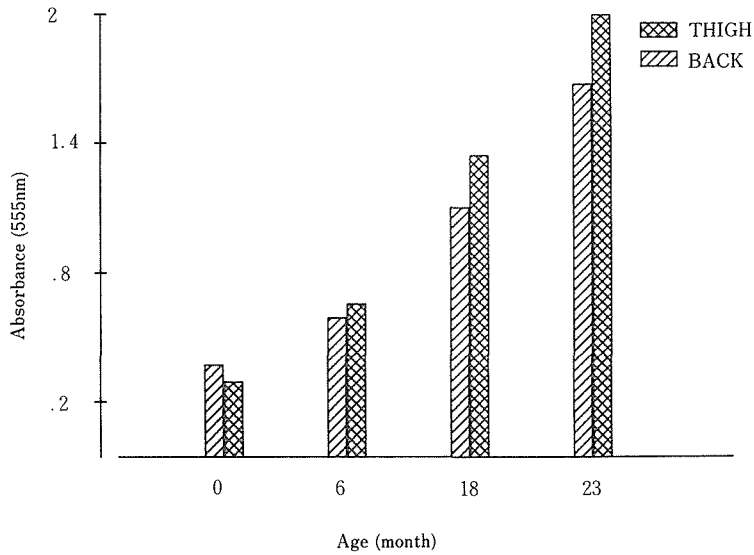


図1 ヘレフォード種肉用牛筋肉の色素含量

1 g の筋肉に含まれるミオグロビンを 5 ml の生理食塩水で抽出し、抽出液の波長 555nm における吸光度を背肉 (BACK) ととも肉 (THIGH) について測定した。

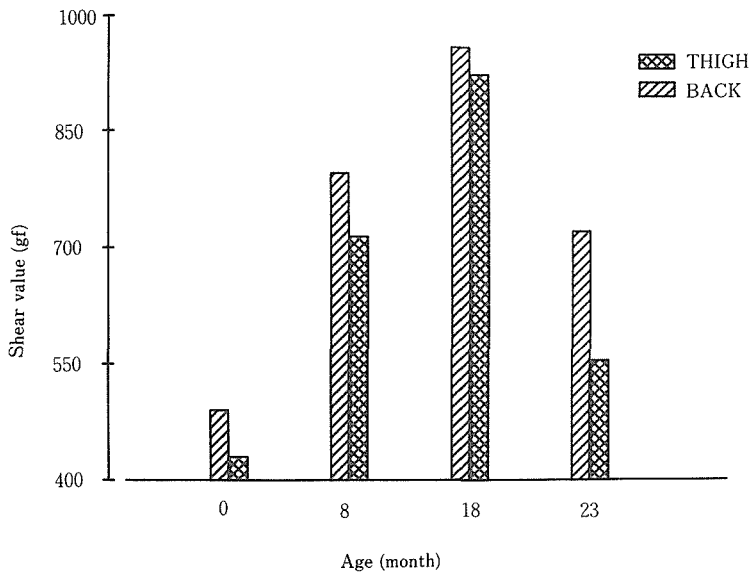


図2 ヘレフォード種肉用牛筋肉の剪断力価

屠殺解体後 1 週間 4℃ に貯蔵し、硬直が解除した食肉の線維方向に垂直な切断応力 (gram force, gf) を測定した。0.5×1.0×2.0cm の肉片を試料とし、3－5 検体の平均値を示す。他は図 1 に同じ。

示している。

一般組成

水分含量は牛の成長・加齢に伴って減少したが、育成期間中に比べて哺育期および肥育期間での減少が大きく、背肉ともも肉の間での顕著な違いは見られなかった（図3 A）。

背肉中の脂肪含量は水分含量とは逆に、牛の成長・加齢に伴って増加したが、肥育期間中での増加が哺育期及び育成期よりも大きかった（図3 B）。この傾向は、もも肉においてより顕著であり、もも肉中の脂肪量は出生してから育成が終わる18カ月齢までは1%前後の低い含量であったものが5カ月間の肥育により急速に増加した。もも肉の育成期における急速な脂肪の蓄積は、放牧育成期に比して運動量が減少したことと、濃厚飼料給与の相乗効果であると思われる。また、背肉に含まれる脂肪量が哺育、育成および肥育期を通じ常にもも肉中の含量よりも多かったのは、部位による筋肉の性質の違いが肉色（赤味、図1）同様に脂肪含量にも反映したものと思われる。

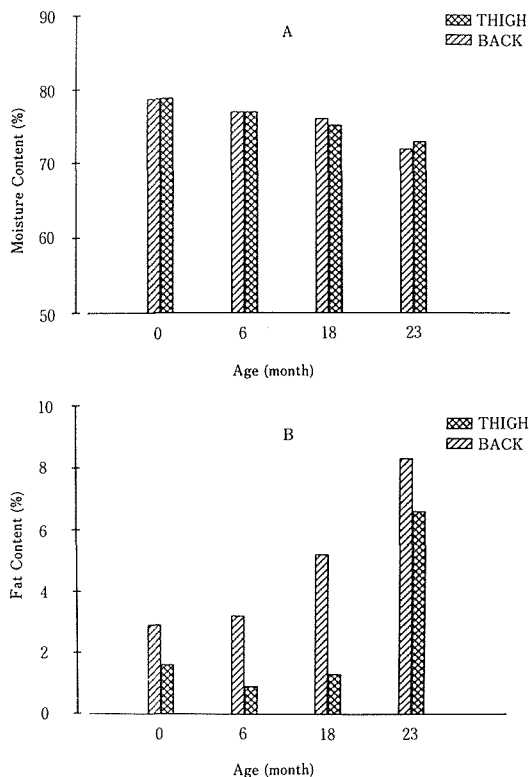


図3 ヘレフォード種肉用牛筋肉の水分および脂肪含量

100℃、24時間で蒸発した水分の筋肉湿重量に対するパーセントを(A)に、エーテルで抽出された脂肪の重量パーセントを(B)に示す。他は図1に同じ。

単位湿重量の筋肉に含まれる総タンパク質量は、牛の成長とともに初生子牛から23カ月齢の肥育牛まで背肉、もも肉共に増加し続けた（図4）。従って、5カ月間の肥育によりタンパク質量、脂肪量共に増加しており、この代償として水分含量が低下したものと思われる。図2で示した様に、肥育により食肉は軟化するが、肥育牛においては脂肪量が増加しているにもかかわらず筋肉中のタンパク質密度は低下しておらず、肥育が筋肉タンパク質に質的变化をもたらしたために食肉は軟化したものと思われる。

筋肉中の総タンパク質量は初生子牛から離乳子牛にかけてより多く増加しており、この期間では背肉よりももも肉で高い値を示し、18カ月齢では同じ値となった。18カ月齢から23カ月齢にかけて筋肉内タンパク質量が増加しているのは、肥育によるのかあるいは成長に起因しているのかの判断は今回の実験からはできない。しかし、ラット等の実験動物においては、体重の増加よりも筋肉タンパク質含量の増加がより成長の早い段階で平衡化する¹¹⁾ことから、肥育による影響と思われる。

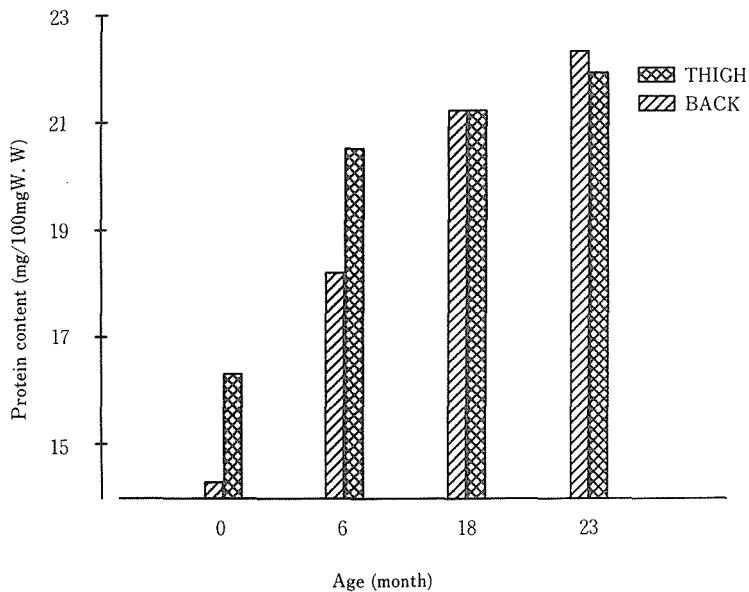


図4 ヘレフォード種肉用牛筋肉のタンパク質含量

単位湿重量（100mg W.W）の筋肉に含まれているタンパク質量を示す。他は図1に同じ。

4. 筋漿、筋原線維および結合組織タンパク質

ヘレフォード種牛筋肉タンパク質を、生理的食塩水（PBS）可溶性の筋漿画分と筋収縮を担っている筋原線維画分と分別し、総タンパク質に占める割合の変化をみたものが図5である。単位湿重量に含まれる総タンパク質量は図4に示した様に牛の成長・加齢とともに増加したが、筋漿および筋原線維性タンパク質量も同様に増加した。一方、ヘレフォード種牛筋肉に含まれている

肉用牛の成長と筋タンパク質

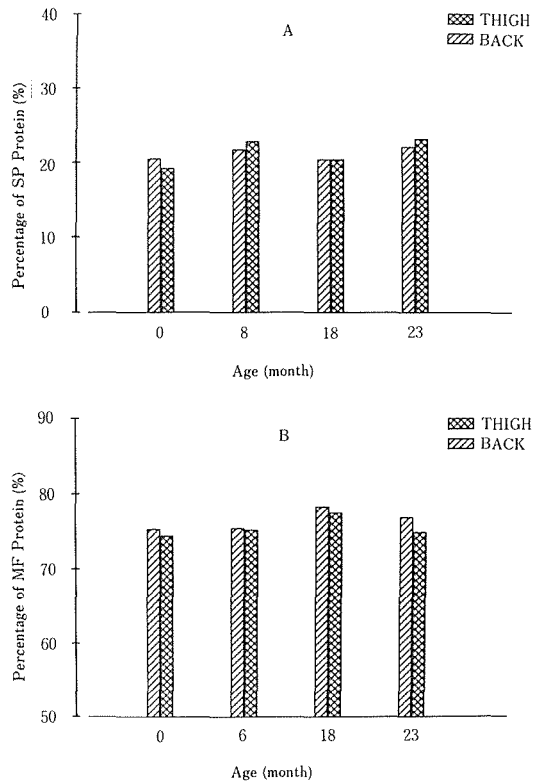


図5 ヘレフォード種肉用牛筋肉の筋漿および筋原線維タンパク質含量

筋肉総タンパク質に対する筋漿（生理的食塩水抽出画分）タンパク質（sarcoplasmic protein, SP）のパーセントを(A)に、筋原線維タンパク質（myofibrillar protein, MF）のパーセントを(B)に示す。他は図1に同じ。

総コラーゲン量は、背肉、もも肉共、初生子牛に最も多く、その後成長・加齢に伴い減少した（図6）。初生子牛のもも肉においては湿重量の1%以上あったコラーゲンが、6カ月齢では初生子牛の約4割にまで減少し、その後はほとんど変化しなかった。背肉のコラーゲン含量は、加齢に伴って漸減し、23カ月齢では初生子牛の約4割となった。総じて、もも肉のコラーゲン含量が背肉よりも高かった。

筋漿タンパク質はいずれの月齢においても総タンパク質の20%前後を占め、筋漿タンパク質だけが特異的に増減することはなかった（図5A）。筋原線維タンパク質も特異的に増減することではなく、いずれの月齢においても総タンパク質の75%前後の値を示した（図5B）。また、筋漿、筋原線維タンパク質共に背肉ともも肉間での差はほとんど無かった。従って、成長・加齢に伴いヘレフォード種牛筋肉タンパク質の筋漿と筋原線維は一定の構成比率を保持して増加し、この構成比率は筋肉の部位によっても変わらないものと思われる。

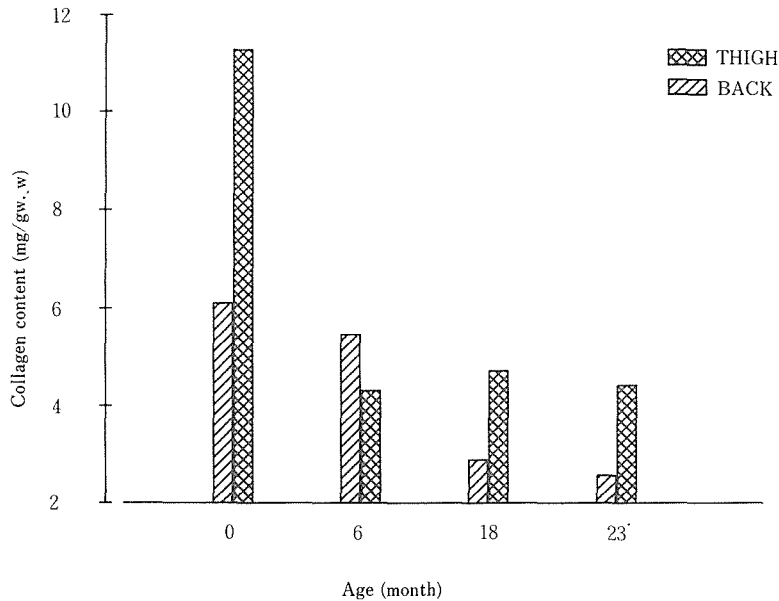


図6 ヘレフォード種肉用牛筋肉のコラーゲン含量

単位湿重量 (1g W.W) の筋肉に含まれているコラーゲン量を示す。他は図1と同じ。

5. コネクチンおよびネブリン

屠殺直後の背肉全筋のポリアクリルアミド・アガロース混合スラブゲル電気泳動像を図7に示した。ミオシン重鎖をはじめとする筋原線維構造タンパク質の各バンドが観察されるが、確認できるバンドのパターンに、牛の成長に伴う変化は認められなかった。屠殺直後の牛背肉には分子量約280万の α コネクチンのみが存在し β コネクチンは存在せず、分子量約70万のネブリンと共にミオシン重鎖(分子量20万)より大きい巨大タンパク質の単一バンドとして観察される。本泳動像はミオシン重鎖バンドの濃度がほぼ一定になるように試料量を調整したものであるが、月齢によりミオシン重鎖に比しバンド濃度が変化しているのはコネクチン、ネブリンおよび α アクチニンであった。

本研究では、熟成中の食肉の軟化にも関与しているコネクチンとネブリン^{3,5)}の牛の成長に伴う変化を調べるために、図7の電気泳動像のデンストグラムから全筋肉タンパク質に対する割合を算出した(図8)。コネクチンおよびネブリンは共に、初生子牛から18カ月齢の育成牛までは成長・加齢に伴って増加したが、23カ月齢の肥育牛では減少していた。

単位湿重量の筋肉に含まれる総タンパク質量および筋原線維タンパク質量は牛の成長・加齢に伴って増加し、総タンパク質中に占める筋原線維タンパク質の割合はほとんど変化しないが、筋原線維を構成しているタンパク質の構成比率は牛の成長・加齢により変化するものと思われる。

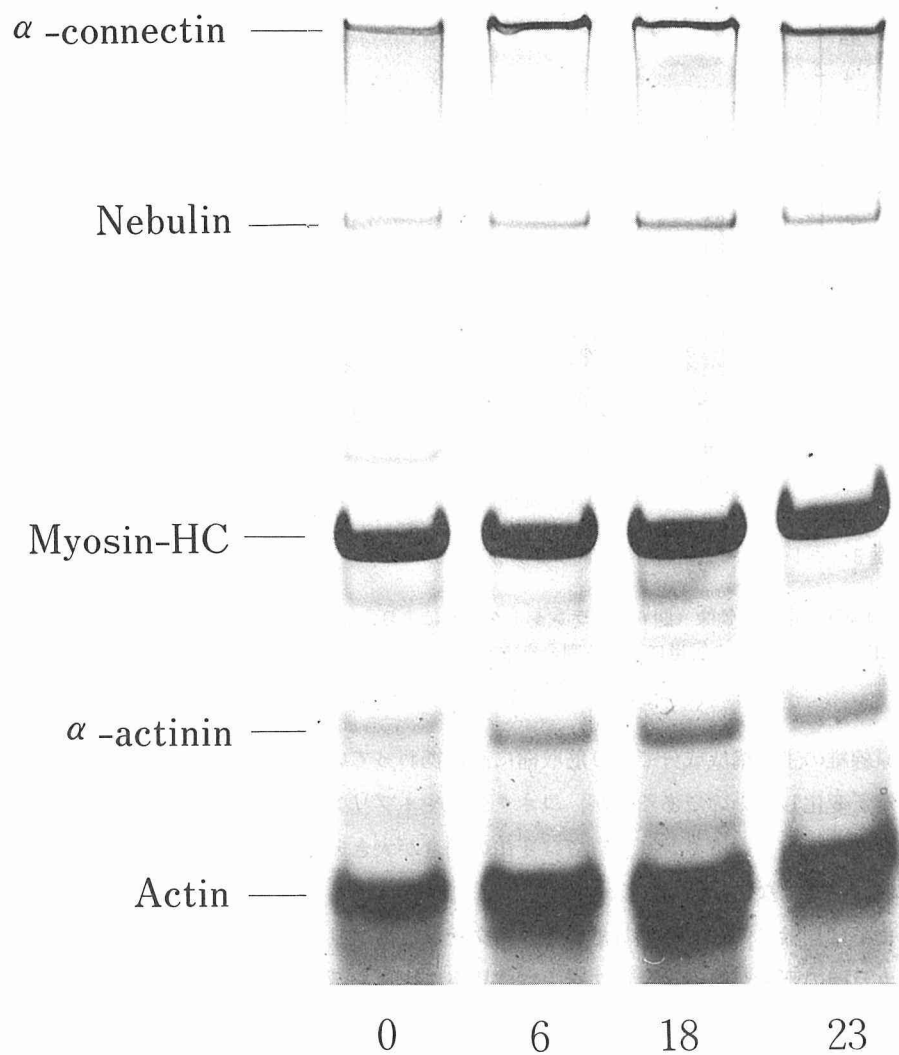


図7 ヘレフォード種肉用牛筋肉タンパク質のSDS-ポリアクリルアミド・アガロース混合ゲル電気泳動像

屠殺直後の背肉全筋のSDS可溶性タンパク質を試料として泳動後、CBB R-250で染色し、メタノール・酢酸混合液で脱色した。数字は供試牛の月齢を示す。

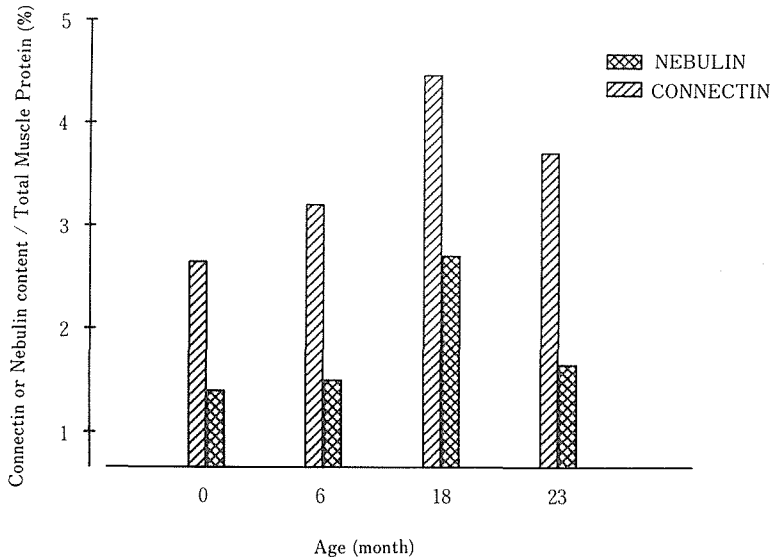


図8 ヘレフォード種肉用牛筋肉タンパク質中のコネクチンおよびネブリン含量

屠殺直後の背肉全筋の電気泳動像（図6）のテンシトグラムにより、 α コネクチン（CONNECTIN）およびネブリン（NEBULIN）の全タンパク質量に対する割合を求めた。

おそらく筋原線維の主要構成成分であり筋収縮に直接携わっているミオシンとアクチンの占める割合はほとんど変化しないのであろうが、コネクチンやネブリンのような筋原線維高次構造の組織化や維持面で機能しているタンパク質では変化の割合が大きいのであろう。しかし、本実験系では詳細な検討はできない。

18カ月齢までは加齢に伴って増加していたコネクチンとネブリンが23カ月齢では減少していたことは、5カ月間の肥育が筋肉タンパク質の構成比率に影響を及ぼしたためと思われる、肥育は筋肉タンパク質に質的变化をもたらしたことになる。さらに、図8の変化パターンは図2で示した剪断力価の変化と一致しており、筋原線維の構造タンパク質であるコネクチンとネブリンの筋肉タンパク質に対する含量比が、成長に伴う食肉の物性の変化と密接に関連している可能性が示唆された。

コネクチンとネブリンは共に食肉の熟成中に変化し、食肉の軟化に関与することが明らかにされており^{3,5)}、食肉の物性はこれらのタンパク質と直接的に関わっているものと思われる。しかし、本実験でのコネクチンとネブリンについての検討は、電気泳動は屠殺直後の筋肉について、剪断力価は1週間貯蔵した食肉について調べたものである。従って、両者の直接的な関連性については、今後さらに検討する必要がある。

謝 辞

本研究は、財団法人伊藤記念財団研究助成金の援助によって実施されたものであることを付言し謝辞とします。

参 考 文 献

- 1) Wang, K. and Wright, J.: Architecture of the sarcomere matrix of skeletal muscle: Immunoelectron microscopic evidence that suggests a set of parallel inextensible nebulin filaments anchored at the Z line. *J. Cell Biol.*, **107**: 2199-2212. 1988
- 2) Maruyama, k., Matsubara, S., Natori, R., Nonomura, Y., Kimura, S., Ohashi, K., Murakami, F., Handa, S. and Eguchi.: Connectin, an elastic protein of muscle. Characterization and function. *J. Biochem.*, **82**: 317-337. 1977
- 3) Takahashi, K. and Saito, H.: Post-mortem changes in skeletal muscle connectin. *J. Biochem.*, **85**: 1539-1542. 1979
- 4) Wang, K. and Williamson, C.: Identification of a N2 line protein of striated muscle. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **77**: 3254-3258. 1980
- 5) 辰巳隆一, 服部昭仁, 高橋興威: 筋原線維タンパク質, ネブリンの死後変化に関する研究。食肉に関する助成研究調査成果報告書 6: 227-231. 1988
- 6) Cross, H. R., Carpenter, Z. L. and Smith, G. C.: Effects of intramuscular collagen and elastin on bovine muscle tenderness. *J. Food Sci.*, **38**: 998-1003. 1973
- 7) Gonall, A. G., Bardwill, C. S. and David, M. M.: Determination of serum proteins by means of biuret reaction. *J. Biol. Chem.*, **177**: 751-766. 1949
- 8) Bergman, I. and Loxley, R.: Two improved and simplified methods for the spectrophotometric determination of hydroxyproline. *Anal. Chem.*, **35**: 1961-1965. 1963
- 9) Goll, D. E., Hoekstra, W. G. and Bray, R. W.: Age-associated changes in muscle composition. The isolation and properties of a collagenous residue from bovine muscle. *J. Food Sci.*, **28**: 503-509. 1963
- 10) 服部昭仁, 辰巳隆一: SDS-ポリアクリルアミドスラブゲル電気泳動法による巨大タンパク質の検出。生化学, **61**: 717-719. 1989
- 11) 中村富美男, 大杉次男: 筋肉内コラーゲンのラットの成長に伴う変化。日本畜産学会報, **59**: 997-1003. 1988

Changes in muscle protein during growth in beef cattle.

Akihito HATTORI, Fumio NAKAMURA, Seiji KONDO * ,

Kunio KOTAKEMORI and Tsugio OSUGI *

Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Hokkaido University.

** Livestock Farm, Faculty of Agriculture, Hokkaido University*

Changes in physical and biochemical properties of muscle during growth were studied by measuring the amounts of drying moisture, fat, sarcoplasmic and myofibrillar proteins, SDS-polyacrylamide-agarose slab gel electrophoresis of muscle tissues and measuring the shear values of were stored muscle in a newborn calf, 6, 18 and 23 months old steers of Hereford cattle. The results summarized as following.

- 1) The intensity of red color in muscle increased from birth to 23 months old.
- 2) The moisture contents decreased according to the aging of beef cattle and the contents of fat in thigh muscle increased rapidly during 5 months fattening period.
- 3) The contents of protein in back and thigh muscles increased but the contents of intramuscular collagens decreased from birth to 23 months old, and the ratio of myofibrillar protein content to whole protein content was always constant.
- 4) The shear values of back and thigh muscles stored for 1 week increased from birth to 18 months old, but decreased at 23 months old.
- 5) The contents of macromolecular myofibrillar proteins, connection and nebulin, in fresh back muscle increased from birth to 18 months old, but decreased at 23 months old.

Key words: Hereford, growth, physical properties of meat, myofibrillar proteins