



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	肉用牛の成長に伴う筋肉内コラーゲンの変化
Author(s)	中村, 富美男; 西邑, 隆徳; 西海, 理之 他
Citation	北海道大学農学部牧場研究報告, 15, 25-36
Issue Date	1994-03-22
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/48942
Type	departmental bulletin paper
File Information	15_25-36.pdf



肉用牛の成長に伴う筋肉内 コラーゲンの変化

中村富美男・西邑 隆徳・西海 理之**・服部 昭仁
近藤 誠司*・小竹森訓央・朝日田康司*

北海道大学農学部畜産科学科

*北海道大学農学部附属牧場

**現、広島大学生物生産学部畜産物利用学研究室

要 旨

中村富美男・西邑隆徳・西海理之・服部昭仁・近藤誠司・小竹森訓央・朝日田康司 (1994)
肉用牛の成長に伴う筋肉内コラーゲンの変化, 北大農学部牧場研究報告15:25-36

ヘレフォード種肉用牛の初生雄子牛, 6ヵ月齢去勢子牛, 18ヵ月齢去勢育成牛および23ヵ月齢去勢肥育牛各1頭を屠殺し, 背肉(胸最長筋)およびもも肉(外側広筋)から試料を採取し, 成長・加齢に伴う筋肉の変化を筋肉内結合組織のコラーゲンについて加熱溶解性と組織化学的手法により検討した。得られた結果の概要は以下の通りであった。

- 1) 単位湿重量の筋肉に含まれている総コラーゲン量は, 牛の成長・加齢とともに減少した。総じて, もも肉中のコラーゲン含量が背肉よりも高かった。
- 2) 背肉コラーゲンの加熱溶解性は成長に伴って減少したが, 23ヵ月齢牛のもも肉は, 初生子牛に次ぐ高い加熱溶解性を示した。
- 3) 筋内膜で囲まれている一次筋線維束は6ヵ月齢までは急速に, その後は徐々に太くなった。
- 4) I型コラーゲン抗血清は初生子牛の筋周膜とは強く反応し, 筋内膜とはほとんど反応しないが, 6ヵ月齢牛の筋内膜とは反応し, 成長・加齢に伴い反応性が増加した。
- 5) いずれの月齢の牛においてもIII型コラーゲンは筋内膜と周膜に, IV型コラーゲンは筋内膜に局在していた。
- 6) 筋肉内コラーゲンはハチの巣状構造を呈しており, 筋内膜は膜状の不規則なコラーゲン細線維網によって, 筋周膜は層板状の緻密で太いコラーゲン細線維束によって形成されていた。

キーワード: ヘレフォード種牛, 成長・加齢, 筋肉内コラーゲン

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、加齢に伴う食肉の変化を筋肉内結合組織のタンパク質、特に様々な局在性を示す多型の主要構成タンパク質であり¹⁻³⁾、また、牛筋肉では加齢に伴う熱変性挙動の変化が知られている⁴⁻⁸⁾ コラーゲンについて免疫組織化学と加熱溶解性の変化から検討するとともに、筋肉内コラーゲンの立体構造を細胞消化・走査電顕法によって観察した。

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ヵ月間母牛と共に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ヵ月齢位から1日1頭当たり約0.3 kg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ヵ月齢の去勢牛を、肥育牛としては18ヵ月齢まで粗飼料主体で育成した後5ヵ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4 kg、コーンサイレージ20 kg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. 試 料

屠殺解体後、背肉（胸最長筋）ともも肉（外側広筋）を採取し、走査型電子顕微鏡（SEM）観察用試料は直ちに固定し、他は液体窒素中に使用時まで保存した。

3. 加熱溶解性

筋肉内コラーゲンの加熱溶解性は HILL の方法⁴⁾に CROSS ら⁵⁾と ROMPALA と JONES の方法⁶⁾を取り入れて行った。すなわち、液体窒素中で細砕した筋肉に等量 (w/v) のリンガー液と 3 倍量の蒸留水を加え、ポリトロン (KINEMATICA) でホモジナイズ後 77°C で 70 分間加熱処理した。3,000 rpm で 30 分間遠心分離後、上澄液を採取し、残査を倍量のリンガー液 (室温) で洗浄後、再度遠心分離を行い上澄液を採取した。両上澄液の混合物を加熱溶解画分とした。

4. 電気泳動 (SDS-PAGE)

加熱溶解画分 0.5 ml に 10% SDS を 0.1 ml (最終濃度 1%), 2・メルカプトエタノールを 0.01 ml (最終濃度 1%), 10 M 尿素を 0.36 ml (最終濃度 3.6 M) および BPB グリセロールを 0.03 ml 加えて、98°C で 2 分間処理し、SDS-PAGE の試料とした。SDS-PAGE は LAEMMLI の方法⁹⁾に従って 5% ゲルに各試料 10 μ l を添加して行い、CBB で染色し、酢酸とメタノールを含む溶液で脱色した。

5. タンパク質およびコラーゲン量の測定

タンパク質量は筋原線維を標準物質として biuret 法¹⁰⁾で測定した。試料は予め 1% SDS を含む 1 N NaOH で可溶化した。ハイドロキシプロリン (Hyp) 量は 6 N HCl によって 110°C で 24 時間加水分解した試料を脱塩酸後中性化し、BERGMAN と LOXLEY の方法¹¹⁾によって測定した。コラーゲン量は、Hyp 量を加熱溶解画分については 7.52 倍、総量は 7.25 倍¹²⁾して算出した。

6. 蛍光抗体法

5 mm 角程度に切り取った肉片を OCT コンパウンド (Tissue-Tek, MILES) で包埋し、再凍結した。横断凍結切片 (厚さ 10 μ m) は -20°C でクリオスタット (Minotome, DAMON) を用いて作成した。作成した切片は 10% ホルマリンを含むリン酸緩衝塩溶液 pH 7.4 (PBS) によって室温で 5 分間固定後、1% トライトン X-100 を含む PBS で 5 分間処理し、PBS で洗浄した。通常の光学顕微鏡観察にはこの後ヘマトキシリン・エオシン (HE) 染色を施した。筋肉内の型別コラーゲンの局在を観察するためには、この後に蛍光抗体法を行った。

前処理を終わった切片は 10% の正常山羊血清をふくむ PBS で非特異結合部位をブロックした後各々 I, III および IV 型コラーゲンに特異的な抗血清を第一抗体として 37°C で 90 分間反応させた。反応を終った切片は 0.05% の Tween 20 を含む PBS (T-PBS) と PBS で洗浄後、第二抗体として Anti-Rabbit IgG Fluorescein-conjugated goat IgG (Cappel) を反応させた。30 分後に T-PBS と PBS で洗浄し、Perma Fluor (LIPSHAW) 封入後、蛍光顕微鏡 (オリンパス) で観察した。

第一抗体として用いた各抗血清は、成牛皮由来の I 型コラーゲン (高研)、仔牛皮由来の III 型コラーゲン (新田ゼラチン) および牛レンズカプセル由来の IV 型コラーゲン (新田ゼラチン) を家兎に免疫して作成し、その特異性は ELISA およびウエスタンブロット法により確認した¹³⁾。

7. 細胞消化・走査電顕法

筋肉内コラーゲンの立体構造は、大谷らによって報告された細胞消化・走査電顕法¹⁴⁾に従って観察した。

10 mm 角の横断面を持つ長さ 25 mm 程度の筋肉片を 2.5% のグルタルアルデヒドに室温で 2 日間浸漬した。固定した筋肉片を蒸留水で洗浄後、10% NaOH 水溶液に室温で 4 日間浸漬した。アルカリ処理により黄褐色となった筋肉片を蒸留水に移し、細胞要素が完全に除去される（帯白色透明化）まで蒸留水を交換しながら室温に放置した。細胞要素が除かれたコラーゲン組織は、1% タニン酸水溶液に 3 時間浸漬し、蒸留水で洗浄後 1% オスミン酸で後固定した。エタノール系列で脱水し、100% の段階で凍結割断後 2-メチル-2-プロパノールに置換し、凍結乾燥した。乾燥した試料は、金を蒸着した後、加速電圧 10 KV で SEM (HITACHI, S-800) によって観察した。

結 果

1. コラーゲン含量および加熱溶解性

ヘレフォード種牛筋肉に含まれている総コラーゲン量は、背肉もも肉共、初生子牛で最も多く、その後成長・加齢に伴い減少した（図 1）。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 ヶ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。一方、背肉のコラーゲン含量は、加齢に伴って漸減し、23 ヶ月齢では初生子牛の約 4 割となった。総じて、もも肉中のコラーゲン含量が背肉よりも高かった。

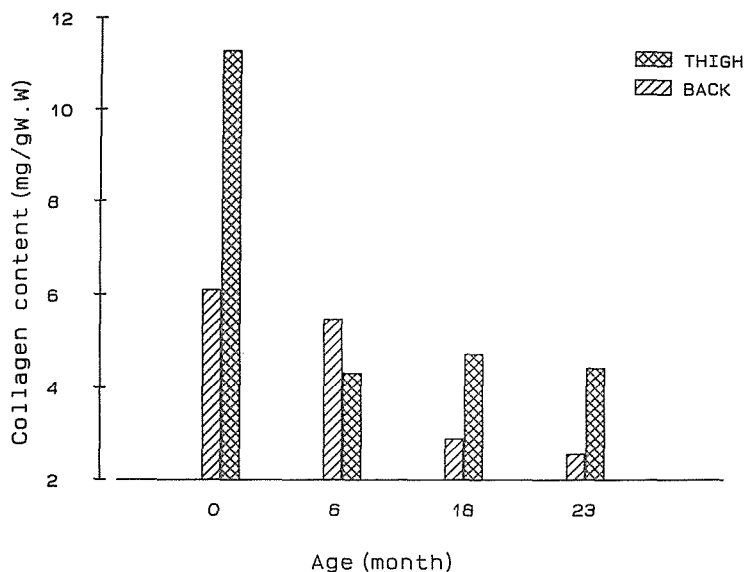


図 1 ヘレフォード種肉用牛筋肉のコラーゲン含量
単位湿重量 (1 g W. W) の背肉 (BACK) およびもも肉 (THIGH) に含まれているコラーゲン量を示す。

初生子牛背肉中のコラーゲンは約30%と高い加熱溶解性を示したが、6ヵ月齢では約17%まで激減し、その後は23ヵ月齢の15%まで漸減した(図2)。もも肉コラーゲンの加熱溶解性は背肉とは23ヵ月齢の肥育牛において異なった変化を示した。5ヵ月間の肥育により23ヵ月齢では18ヵ月齢よりも高い加熱溶解性を示すようになり、初生子牛の23%に次ぐ20%という値となった。コラーゲン含量とは逆に、加熱溶解性は、23ヵ月齢を除いて背肉のほうがもも肉よりも高かった。

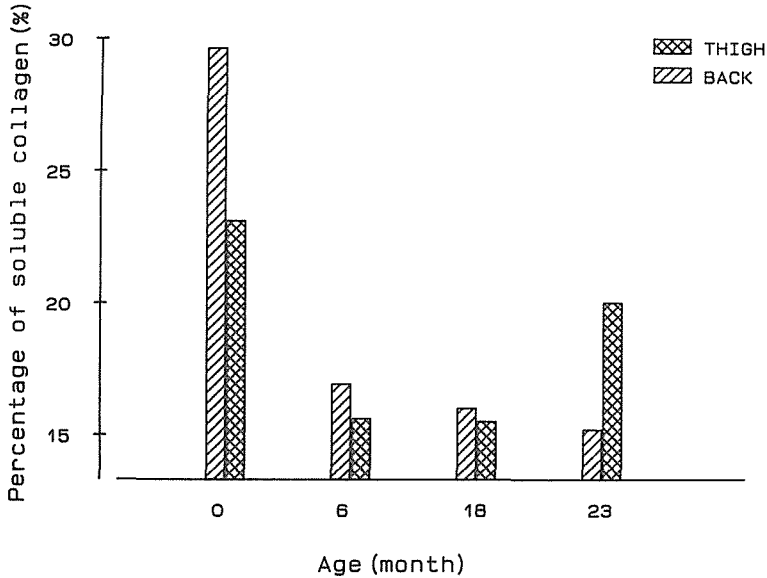


図2 ヘレフォード種肉用牛筋肉内コラーゲンの加熱溶解性
加熱処理 (77°C, 70分) によって可溶化したコラーゲン量の総コラーゲンに対する割合を示す。他は図1に同じ。

筋肉内コラーゲンのタンパク質量に対する割合を図3 A に示した。初生子牛もも肉では総タンパク質の7%を占めていたコラーゲンは、6ヵ月後には2%に減少し、以後23ヵ月齢まで変化しなかった。背肉総タンパク質中のコラーゲンは、成長・加齢に伴って漸減し、23ヵ月齢では約1%となった。筋肉内総タンパク質に占めるコラーゲンの割合も背肉よりももも肉において高かった。

加熱溶解画分中のタンパク質量に対するコラーゲン量の割合を図3 B に示した。初生子牛背肉では加熱溶解性タンパク質の80%がコラーゲンで占められていたが、もも肉において加熱溶解性タンパク質の全てがコラーゲンであった。しかし、6ヵ月齢からは、背およびもも肉共に、コラーゲンの加熱溶解性タンパク質に対する割合は1/4程度となった。

加熱溶解画分の SDS-ゲル電気泳動像(図4) では、加熱処理によりゼラチン化した筋肉内コラーゲンのバンドがコントロールとして泳動した牛皮未変性 I 型コラーゲンと同じ位置に観察

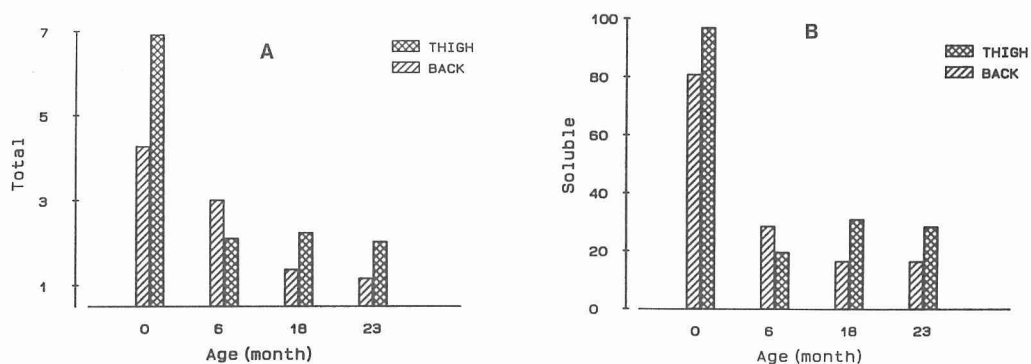


図3 ヘレフォード種肉用牛筋肉タンパク質中のコラーゲン含量
筋肉総タンパク質中に占めるコラーゲンの割合を (A) に、加熱溶解画分総タンパク質中に占めるコラーゲンの割合を (B) に示す。他は図1に同じ。

された。また、初生子牛の背およびもも肉加熱溶解画分には、加熱処理により低分子量化したコラーゲンのバンドが観察された。背肉の6ヵ月齢、もも肉の23ヵ月齢では、初生子牛同様に、 α 鎖より上部のコラーゲンバンドは観察されたが低分子量のバンドは観察されなかった。さらに、何れの月齢、もも肉背肉を問わずコラーゲンに由来するバンド以外は観察されなかった。

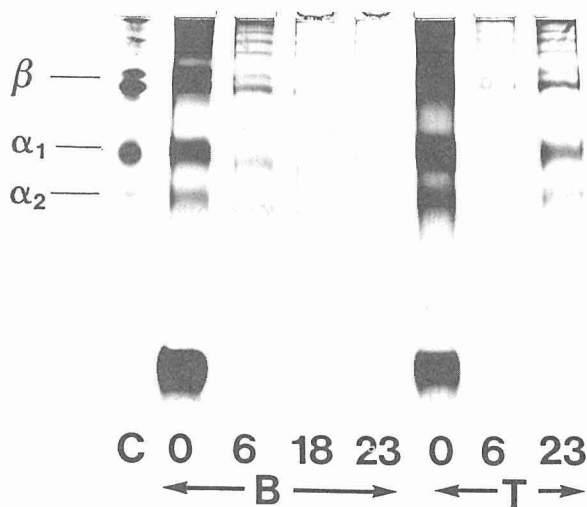


図4 ヘレフォード種肉用牛筋肉の加熱溶解画分の SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動像
背肉 (B) およびもも肉 (T) の加熱溶解画分を SDS 処理し、5%ゲルで泳動した。数字は供試牛の月齢を示し、 α および β は対照 (C) として泳動した牛皮 I 型コラーゲンの鎖名を示す。

2. 組織学的観察

初生子牛もも肉横断切片 (図5 A) においては、筋実質が充実しておらず、各筋線維束間には間隙が観察された。一方、筋肉内の結合組織には多くの線維芽細胞 (矢印) が存在しており、

厚みのある筋周膜(矢尻)が未発達な筋実質を取りまとめるように囲んでいた。23ヵ月齢牛(図5B)においては初生子牛とは逆に、筋実質は充実しており、各筋線維束間の間隙は観察されなくなった。筋肉内結合組織(筋周膜, 矢尻)は薄くなり、HE染色像では断片としてしか観察されなくなった。

図6はIV型コラーゲン抗体を第一抗体とした間接蛍光抗体法による染色像である。初生子牛(6A)、6ヵ月齢牛(6B)および23ヵ月齢牛(6C)のいずれの横断切片においても、IV型コラーゲンは筋内膜でしか観察されず、その染色像は、成長・加齢による変化はなかった。しかし、筋内膜で囲まれた一次筋線維束の太さは、初生子牛から6ヵ月齢にかけては急速に、その後23ヵ月齢までは徐々に太くなっていた。

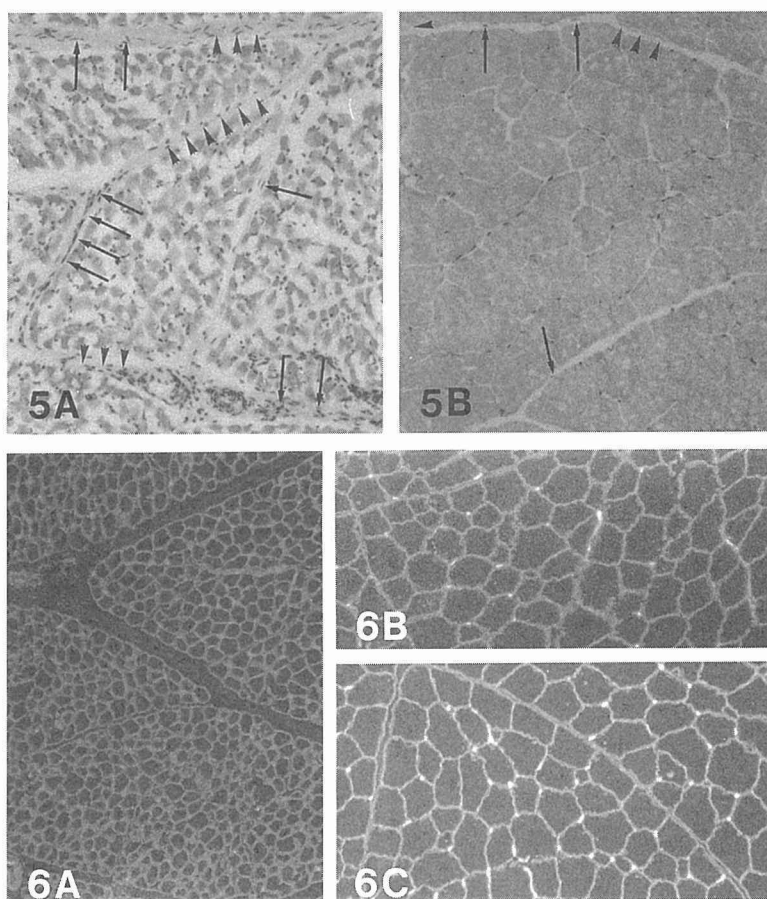


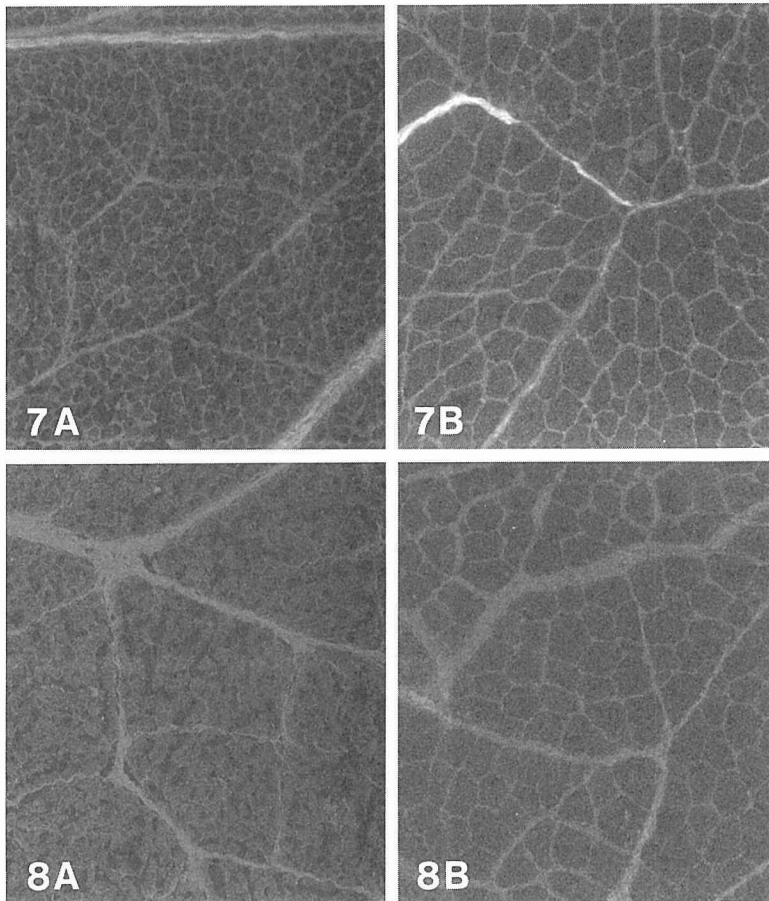
図5 ヘレフォード種肉用牛筋肉横断面の HE 染色像
初生子牛もも肉 (5A) および23ヵ月齢牛背肉 (5B) 凍結横断切片の HE 染色像を示す。矢印は線維芽細胞の核を、矢尻は筋周膜を示す。×95。

図6 ヘレフォード種肉用牛筋肉横断面のIV型コラーゲン抗血清による免疫染色像
初生子牛 (6A)、6ヵ月齢牛 (6B) および23ヵ月齢牛 (6C) もも肉の凍結横断切片の一次筋線維束を囲む筋内膜のみが陽性反応を示している。×95。

III型コラーゲン抗体による染色像(図7)においては、初生子牛(7A)から23ヵ月齢牛(7B)までいずれの月齢の背およびもも肉切片上でも陽性反応は、筋内膜と筋周膜の両方で観察された。染色強度は、筋内膜と筋周膜ではわずかに筋周膜が強く、初生子牛と23ヵ月齢牛でも幾分23ヵ月齢牛が強く染色されていた。

I型コラーゲン抗体による染色像(図8)においては、初生子牛では背肉でももも肉(8A)でも筋周膜にしか明確な陽性反応は観察されなかった。6ヵ月齢牛からは、筋内膜においても弱い反応が観察されるようになり、23ヵ月齢牛(8B)においては、筋周膜より幾分弱い、筋内膜においても明瞭な陽性反応が観察された。全体的な染色性は、成長・加齢に伴い強くなった。

アルカリ処理・細胞消化法によって筋肉組織の骨格構造を構築している間質コラーゲンのみ



- 図7 ヘレフォード種肉用牛筋肉横断面のIII型コラーゲン抗血清による免疫染色像
初生子牛もも肉(7A)および23ヵ月齢牛背肉(7B)の筋内膜と筋周膜はいずれも陽性反応を示している。
×95。
- 図8 ヘレフォード種肉用牛筋肉横断面のI型コラーゲン抗血清による免疫染色像
初生子牛もも肉(8A)では筋周膜のみが、23ヵ月齢牛背肉(8B)では筋内膜、筋周膜共陽性反応を示している。×95。

となった筋肉横断面の SEM 像 (図 9 A) は、ハチの巣状構造を呈していた。筋内膜部では一次筋線維束を囲んでいた薄膜状の鞘が観察され、これら筋内膜を束ねるように配向した筋周膜部では分厚い層板状構造物が観察された。拡大した筋内膜部 (図 9 B) では、厚みのある不規則な網目構造が観察され、この筋内膜コラーゲン鞘の網目構造は、屈曲したコラーゲン細線維一本一本の不規則な絡み合いにより形成されていた。一方、筋周膜部 (図 9 C) では、多数の同一方向に規則正しく配列したコラーゲン細線維が密に集合しており、筋周膜の層板状構造が太く密なコラーゲン細線維束によって形成されているのが観察された。また、筋内膜より筋周膜の各コラーゲン細線維のほうが太かった。

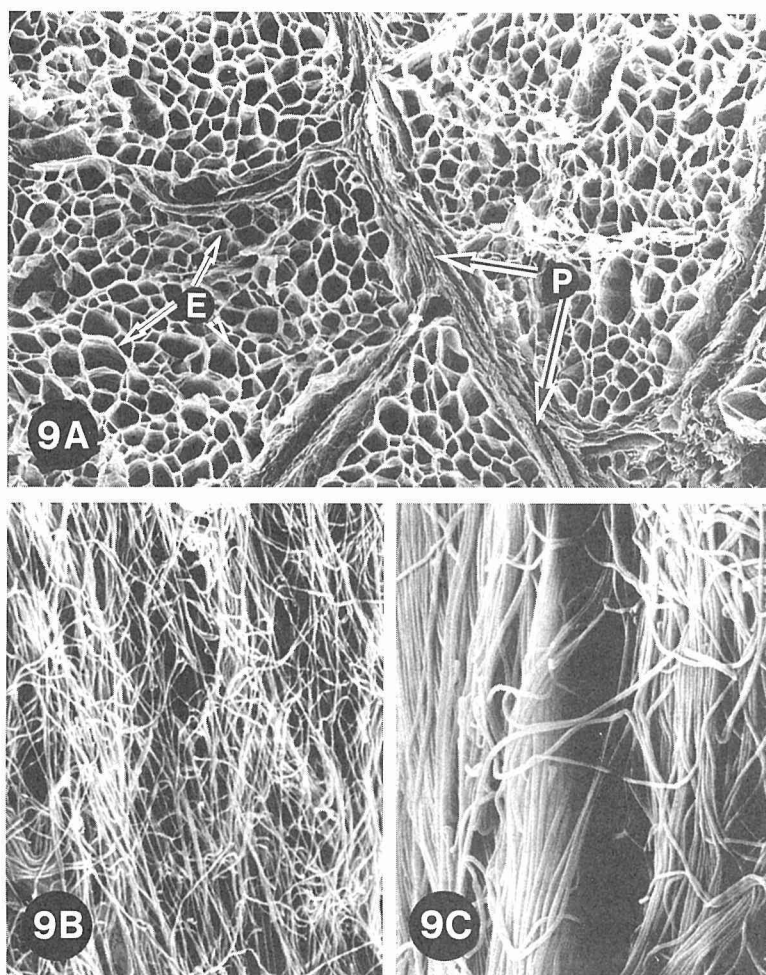


図 9 ヘレフォード種肉用牛筋肉内コラーゲンの SEM 像
23ヵ月齢牛背肉横断面コラーゲンの細胞消化・走査電顕像 (9A) は、ハチの巣状構造を呈している。×45、内膜部 (E) の拡大像 (9B) は、膜状の筋内膜コラーゲン鞘が屈曲したコラーゲン細線維の不規則網によって、周膜部 (P) の拡大像 (9C) は、筋周膜コラーゲン鞘が層板状の密なコラーゲン細線維束によって形成されていることを示している。×11,000。

考 察

ヘレフォード種肉用牛の成長・加齢に伴い、単位湿重量の筋肉に含まれるコラーゲン量（図 1）も、総タンパク質量に占めるコラーゲンの割合（図 3 A）も共に減少するが、逆に、加熱処理に対する抵抗性は増加（加熱溶解性の低下，図 2）した。加熱溶解性の低下は、コラーゲン線維間の結合がより強くなったことを意味し^{4,5)}、牛の成長・加齢に伴い筋肉内コラーゲンは緻密化することにより量的には減少しても筋肉内での役割を果たしているものと思われる。このことは顕微鏡像（図 5－8）においても観察され、初生子牛では未発達な筋実質を疎で比較的厚い結合組織が囲んでいるのに対して、牛の成長に伴い発達充実する筋実質に圧迫されるように、23ヵ月齢牛の筋肉内結合組織は緻密化し薄い膜状を呈していた。従って、筋肉内コラーゲンは、牛の成長・加齢に伴い質と量が相互に連係して変化し、生理的機能を果たしているものと思われる。

筋肉内コラーゲンの量的、質的な違いは筋肉の部位間においても観察され、質・量両面において牛の成長・加齢に伴いもも肉コラーゲンの方が背肉よりもより劇的に変化した。背肉中のコラーゲンは、含量、総タンパク質に対する割合および加熱溶解性のいずれもが、ほぼ牛の加齢とともに段階的に減少するのに対して、もも肉コラーゲンは、哺育期と肥育期に顕著な変化を示した。骨格筋の運動を支えるというコラーゲンの役割と、もも肉コラーゲンの成長・加齢に伴う加熱溶解性の変化が食肉の物性変化¹⁵⁾に対応していることと、総じてもも肉のコラーゲン含量が背肉より高いことを考慮すると、筋肉の運動性や量(筋肉の部位による運動機能の差)が筋肉内コラーゲンの量や質に大きな影響を及ぼす^{16,17)}ものと思われる。すなわち、哺育期においては子牛の高い運動能力の獲得が、肥育期においては放牧を行わないことによる運動量の低下が、いずれも背肉よりももも肉により顕著に影響する結果、特にもも肉コラーゲンは哺育期と肥育期に質量とも大きな変化を示すのであろう。

ヘレフォード種肉用牛の成長・加齢に伴う筋肉組織像の最も顕著な変化は、筋内膜で囲まれた一次筋線維束の太さの変化（図 6）であった。誕生後直ちに歩行を開始し、急速に運動能力を獲得し哺育期には、これに平行して一次筋線維束も急速に太くなるが、その後は加齢に伴って徐々に太くなるものと思われる。この一次筋線維束の太さの変化に対応するかのようになり、一次筋線維束を囲んでいる筋内膜も変化したことが、筋内膜の I 型コラーゲン抗体に対する免疫染色性の変化（図 8）、すなわち、I 型コラーゲンの成長・加齢に伴う筋内膜への蓄積によって明らかである。この I 型コラーゲンの増加が、23ヵ月齢牛筋内膜 SEM 像（図 9）の明確なコラーゲン細線維網構造の構築に寄与しているものと思われ、筋内膜の I 型コラーゲンは、筋肉の骨格構造としてその収縮機能だけではなく、一次筋線維束の成長にも深く関与しているものと思われる¹⁴⁾。

型別コラーゲンと肉用牛筋肉の成長と運動および食肉の物性との関連性は、今後、コラーゲ

ンの架橋結合や立体構造の変化からも検討してゆく必要がある。また、本考察では触れなかったが、6ヵ月齢以降の加熱溶解画分において大半を占めるコラーゲン以外のタンパク質成分は、食肉の物性以外の肉質（旨味等）に関与している可能性が考えられる。

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) BAILEY, A. J. and SIMS, T. J. (1977): Meat tenderness: Distribution of molecular species of collagen in bovine muscle. *J. Sci. Food Agr.*, **28**: 565-570.
- 2) BAILEY, A. J., SHELLSWELL, G. B. and DUANCE, V. C. (1979): Identification and change of collagen types in differentiating myoblasts and developing chick muscle. *Nature*, **278**: 67-69.
- 3) BAILEY, A. J. (1985): The role of collagen in the development of muscle and its relationship to eating quality. *J. Anim. Sci.*, **60**: 1580-1587.
- 4) HILL, F. (1966): The solubility of intramuscular collagen in meat animals of various ages. *J. Food Sci.*, **31**: 161-166.
- 5) CROSS, H. R., CARPENTER, J. L. and SMITH, G. C. (1973): Effect of intramuscular collagen and elastin on bovine muscle tenderness. *J. Food Sci.*, **38**: 998-1003.
- 6) MILLER, R. K., TATUM, J. D., CROSS, H. R., BOWLING, R. A. and CLAYTON, R. P. (1983): Effects of carcass maturity on collagen solubility and palatability from grain-finished steers. *J. Food Sci.*, **48**: 484-486.
- 7) JEREMIAH, L. E. and MURRAY, A. C. (1984): The influence of anatomical location within the longissimus dorsi muscle on overall tenderness and on the concentration and solubility of intramuscular collagen. *Can. J. Anim. Sci.*, **64**: 1045-1047.
- 8) ROMPALA, R. E. and JONES, S. D. (1984): Changes in the solubility of bovine intramuscular collagen due to nutritional regime. *Growth*, **48**: 466-472.
- 9) LAEMMLI, U. K. (1970): Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, **227**: 680-685.
- 10) GONALL, A. G., BARDWILL, C. S. and DAVID, M. M. (1949): Determination of serum proteins by means of biuret reaction. *J. Biol. Chem.*, **177**: 751-766.
- 11) BERGMAN, I. and LOXLEY, R. (1963): Two improved and simplified methods for the spectrophotometric determination of hydroxyproline. *Anal. Chem.*, **35**: 1961-1965.
- 12) GOLL, D. E., HOEKSTRA, W. G. and BRAY, R. W. (1963): Age-associated changes in muscle composition. The isolation and properties of a collagenous residue from bovine muscle. *J. Food Sci.*, **28**: 503-509.
- 13) 中村富美男・大杉次男(1988): 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.
- 14) OHTANI, O., USHIKI, T., TAGUCHI, T. and KIKUTA, A. (1988): Collagen fibrillar networks as skeletal frameworks: A demonstration by cell-maceration/scanning electron microscope method. *Arch. Histol. Cytol.*, **51**: 249-261.
- 15) 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. 北大農学部附属牧場研報, **14**: 107-118.
- 16) KOVANEN, V., SUOMINEN, H. and PELTONEN, L. (1987): Effects of aging and life-long physical training on collagen in slow and fast skeletal muscle in rats. *Cell Tissue Res.*, **248**: 247-255.
- 17) MARTIN, T. P. (1988): Protein and collagen content of rat skeletal muscle following space flight. *Cell Tissue Res.*, **254**: 251-253.

Changes of intramuscular collagen in growing beef cattle.

Fumio NAKAMURA, Takanori NISHIMURA, Tadayuki NISHIUMI**,
Akihito HATTORI, Seiji KONDO*, Kunio KOTAKEMORI and
Yasushi ASAHIDA*

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

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

***Faculty of Applied Biological Science, Hiroshima University*

Changes in connective tissue protein of muscle during growth were studied by means of histochemical technique and measuring the amounts of heat-labile intramuscular collagens in newborn calf, 6, 18 and 23 months old steers of Hereford cattle. The results summarized as following.

- 1) The contents of collagens in back and thigh muscles decreased from birth to 23 months old in contrast with the increasing of whole protein. The amount of intramuscular collagen was higher in thigh muscle than back muscle.
- 2) The percentage of collagen solubilized by heating in back muscle decreased from birth to 23 months old while that in thigh muscle decreased from birth to 18 months old but increased at 23 months old.
- 3) The thickness of primary muscle fasciculus increased rapidly from birth to 6 months old and then increased gradually until 23 months old.
- 4) In newborn calf, anti-type I collagen antiserum reacted with perimysium but not with endomysium. The endomysium at 6 months old was immunostained by anti-type I collagen antiserum and the immunostainability increased to 23 months old.
- 5) Type III collagen was distributed in endomysium and perimysium but type IV collagen was distributed only in endomysium.
- 6) The SEM view of cross section of the intramuscular collagen showed a honeycomb-like structure. The endomysial membranous collagen sheaths consisted of the random networks of bended collagen fibrils and the perimysial lamellated collagen sheaths consisted of the thick and dense bundles of collagen fibrils.