

계육의 숙성 중 Titin의 Z선 영역(Zeugmatin)의 변화

안 동 현 · 박 선 미
부경대학교 식품공학과

Postmortem Changes in Z-disk Domain of Titin in the Chicken Muscle

Dong-Hyun Ahn and Sun-Mee Park

Department of Food Science & Technology, Pukyong National University

Abstract

This study was undertaken to determine the influence in the Z-disk domain of titin on the tenderization of meat by the structure change of myofibrillar Z-disks during post-mortem aging. After weakening the structure of Z-disks, the Z-disk region was splitted. As the results, myofibrils were fragmented by mechanical strength. Using indirect immunofluorescence microscopy, we show that the Z-disk domain of titin was disappeared from myofibrils in this period. These phenomenon were also shown by treating myofibrils with a solution containing 0.1mM Ca^{2+} . We conclude that change in Z-disk domain of titin is directly effected on the tenderization of meat during post-mortem aging and these change is due to manily calcium ions.

Key words : postmortem change, Z-disk domain of titin, chicken.

서 론

우리 나라의 식문화는 서양문물을 받아들이면서 서구화되기 시작하여 식물성 위주의 식단으로부터 차츰 동물성 식품의 비율이 높아지고 있다. 1988년의 서울 올림픽을 전후하여 축산물의 수요가 급증한 이래, 1990년대에 들어서도 꾸준한 소비의 증가세를 보이고 있다. 식육의 경우에 있어서 특히 쇠고기와 닭고기의 소비증가율이 높게 나타나고 있다⁽¹⁾. 그 중에서도 닭고기는 질감이 부드럽고 특이한 향과 맛으로 기호성이 뛰어나 폭넓은 연령층에서 이용되고 있다. 그러나 닭고기를 비롯한 식육의 경우 도살직후의 것보다 일정 기간 숙성한 후의 식육이 연도와 풍미의 면에서 향상된다. 특히 연도는 소비자들이 식육의 품질을 결정하는데 가장 중요한 요인으로 알려져 있다⁽²⁾. 식육의 숙성 중 일어나는 연화현상은 결합조직의 변화

^(3,4)와 근원섬유의 구조변화에 의해 주로 일어나는데, 이들 중 근원섬유의 구조변화가 큰 비중을 차지하고 있다⁽⁵⁾. 이러한 근원섬유의 구조변화는 actin-myosin 사이의 강직결합의 해제⁽⁶⁾, titin^(7,8,9)과 nebulin filament^(10,11)의 약화 그리고 Z선 구조의 약화^(12,13,14)에 의해 일어난다. 그 중에서도 Z선 구조의 약화는 가장 잘 알려져 있다. 물리적인 충격으로 근원섬유가 짧게 끊어지는 것을 근원섬유의 소편화라 하는데⁽¹⁵⁾, 이 현상은 식육의 연화도와 밀접한 관계가 있어⁽¹⁶⁾ 식육의 숙성도를 판가름하는 지표로서 사용되고 있다⁽¹⁷⁾. 근원섬유 Z선은 수많은 성분으로 이루어져 있는데, 그중에서 α -actinin은 Z선의 골격인 Z-filament를 구성하고 있으며 Z선의 주성분이다^(18,19). 그러나 식육의 숙성 중에는 α -actinin은 거의 변화하지 않는다⁽²⁰⁾. 숙성 중에 변화하는 Z선 구성성분으로는 desmin⁽²¹⁾, 인지질^(22,23) 등이 있는데, 이들의 유리 및 분해 등의 변화가 Z선의 약화와 깊은 관련이 있는 것으로 알려져 있다. titin과 nebulin 또한 Z선에 연결되어져 있으며^(24,25,26), 이들도

Corresponding author : Dong-Hyun Ahn, Department of Food Science & Technology, Pukyong National University.

식육의 숙성 중 빠른 기간 내에 분해된다^(9,11). Maher 등은 세포 내외의 접착에 관여하는 성분을 발견하여 zeugmatin이라고 명명했는데, 이것은 근원섬유의 Z선에 존재하며 쉽게 변성하는 성질을 지니고 있다고 보고하였다⁽²⁷⁾. 그러나 그후의 연구에서 zeugmatin은 titin의 Z선 영역 부위임이 밝혀졌다^(28,29). 즉, zeugmatin으로 알려졌던 것은 titin분자 중 Z선 내부에 속해있는 부분이었다. 그러므로, titin의 Z선 영역 부위의 변화는 식육의 숙성 중에 일어나는 Z선의 구조변화에도 크게 영향을 미치게 된다.

본 연구는 근육의 구조가 완성된 성계를 이용하여, 식육의 숙성 중에 일어나는 titin의 Z선 영역 부위의 변화를 조사함으로써, Z선의 구조약화로 인해 일어나는 식육의 연화에 미치는 titin Z선 영역의 영향을 구명하고자 했다.

재료 및 방법

실험재료

35주령된 Rhod Island Red종을 도살하여 박피, 내장을 적출한 후, 4℃에 저장하면서 경시적으로 흉근(*M. pectoralis*)을 공시했다.

실험방법

1) Z선의 약화도

도살 직후부터 72시간 저장하면서 경시적으로 흉근을 채취하여 세절한 다음, PRB⁽³⁰⁾ (Pyrophosphate relaxing buffer; 0.1M KCl, 2mM MgCl₂, 2mM EGTA, 1mM DTT, 2mM Na₂P₂O₇, 1mM NaN₃, 10mM Tris-maleic acid buffer, pH6.8)용액을 가하여 10,000rpm, 1분간 균질화했다. 얻어진 근원섬유의 현탁액을 적당히 희석하여 위상차 현미경(Olympus사제, BH-2형)으로 관찰했다. Z선의 약화도는 Takahashi 등의 방법⁽¹⁵⁾으로 측정했다.

2) Z선 구조의 숙성 중 변화

닭의 흉근으로부터 소편을 잘라내어 냉각한 2.5% glutaraldehyde와 25mM sodium cacodylate buffer(pH 7.4)를 포함하는 용액중에 2시간 고정했다. 1%의 OsO₄와 0.1M phos-

phate buffer(pH 7.4)⁽³¹⁾로 2시간 더 고정 한 후, 50%에서 100%까지의 ethanol용액으로 단계적으로 탈수한 다음 propylene oxide로 치환하고 epoxy수지로 중합했다. Ultra microtom(Reihert-Nissei사제, Ultracut-N)을 이용하여 두께 약 40nm의 절편을 만들어 uranyl-acetate와 lead cytrate로 2중 염색하여⁽³²⁾ 투과형 전자현미경(Hitach사제, H-800형)을 이용하여 관찰했다.

3) 근원섬유의 조제

닭의 흉근을 적당량 채취하여 Etlinger의 방법⁽³⁰⁾을 일부 수정하여 근원섬유를 조제했다. 즉 PRB용액을 첨가해서 10,000rpm, 1분간 균질화한 후 3,000rpm으로 10분간 원심분리했다. 침전물에 0.1M KCl, 5mM EDTA, 1mM DTT, 1mM NaN₃, 10mM Tris-maleic acid buffer, pH 7.0으로 이루어진 용액을 첨가해서 10,000rpm, 5초간 균질화하고 10분간 원심분리했다. 이 조작을 5회 반복한 후 여과하여 근원섬유로 했다.

4) 항titin Z선 영역단편 항혈청의 조제

Maher 등의 방법⁽²⁷⁾에 따라 titin의 Z선 영역함유 희분을 조제하고, 이것을 SDS처리 후 전기영동하여 Tatsumi 등의 방법⁽³³⁾에 의해 항혈청을 조제했다. 조제한 항혈청의 특이성은 Western blotting법⁽³⁴⁾에 의해 PVDF막에서 이루어 졌으며 다른 단백질들과 교차반응이 없음을 확인했다.

5) 근원섬유에 있어 titin Z선 영역 부위의 위치

조제한 근원섬유에서의 항혈청의 반응 위치를 앞선 연구⁽³⁵⁾에서와 같이 간접면역형광법으로 낙차 형광현미경(Olympus사제, BH2-R-FL)을 이용해서 확인했다.

6) 숙성 중 titin Z선 영역 부위의 변화

형광 표식한 근원섬유를 White 등의 방법⁽³⁶⁾에 의해 공초점 레이저 주사현미경(Bio-Rad사제, MRC-500J, 광원; Algon ion)으로 관찰했다. 각각의 근원섬유로부터 4개의 sarcomere를 선택하여 근원섬유의 길이방향으로 주사시켜 peak로 나타난 형광강도를 평균하였다. 이

것을 근원섬유의 형광강도로 하고 50개씩의 근원섬유를 관찰하여 그 평균치로 나타냈다.

7) 근원섬유의 Ca²⁺용액처리

근원섬유를 조제하는 과정 중에서 0.1M KCl, 5mM EDTA, 1mM DTT, 1mM NaN₃, 10mM Tris-maleic acid buffer, pH 7.0으로 이루어진 용액으로 3회 반복 세정한 후, EDTA를 포함하지 않는 동 용액으로 3회 세정하였다. 다시 Ca²⁺처리용액(0.1M KCl, 1mM DTT, 1mM NaN₃, 0.1mM CaCl₂, 10mM Tris-maleic acid buffer, pH7.0)으로 2회 세정한 후, 근원섬유의 농도를 5mg/ml로 맞추고 4℃에서 48시간 동안 천천히 교반하여 이것을 간접면역형광법으로 관찰했다.

결과 및 고찰

숙성중 근원섬유의 소편화와 Z선의 구조변화

닭의 흉근을 숙성하면서 근원섬유 Z선의 구조를 전자현미경으로 관찰해 본 결과, 숙성이 진행됨에 따라 Z선의 구조가 약화되어 Z선의 전자현미경에 나타난 밀도(전자밀도)가 저하되고, 48시간 이상 저장한 흉근에서 부분적으로 근원섬유의 단열이 일어난 것이 관찰되었다

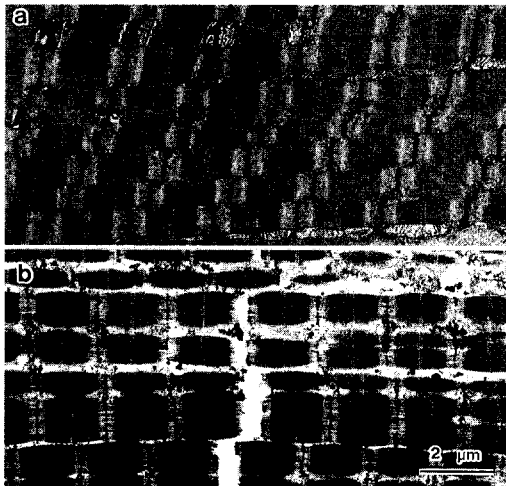


Fig. 1. Ultrastructural changes in the Z-disks during post-mortem aging. a, 0hr(freshly prepared muscle); b, aged for 48hr at 4℃

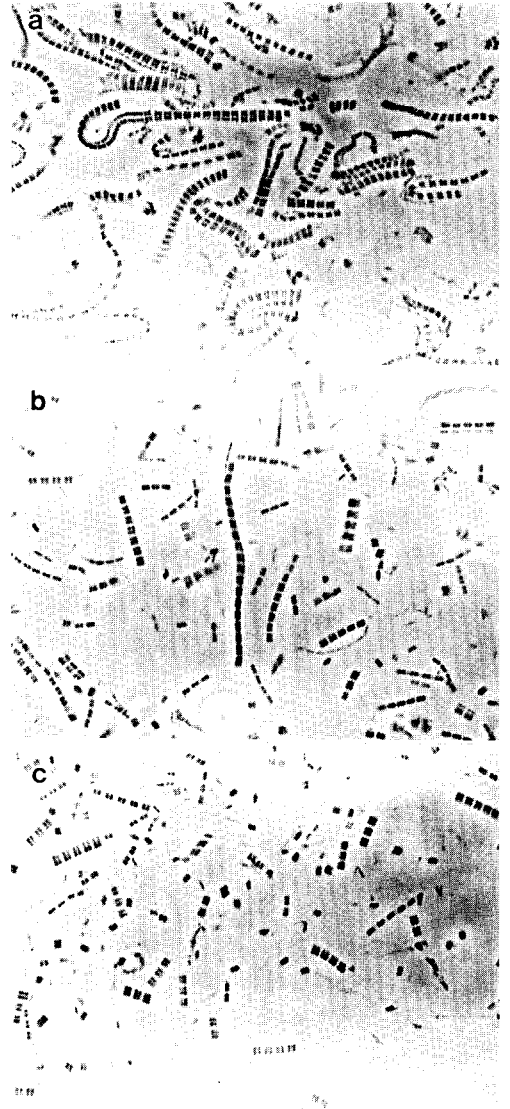


Fig. 2. Morphological aspects of myofibrils during post-mortem aging. a, 0hr(immediatly post-mortem); b, c, aged for 24hr and 48hr at 4℃.

(Fig. 1). 도살직후의 흉근에 있어서는 근원섬유 간의 간격이 거의 없고, Z선의 굵기가 굵고 전자밀도가 높아 짙게 나타난다. 그러나 48시간이 경과한 흉근의 경우에 있어서는 근원섬유 간의 간격이 벌어져 있으며, Z선의 굵기가 가늘고 전자밀도도 저하하여 약하게 보인다. 그리고 근원섬유의 단열도 Z선 구조 부근에서 일어나 있다. 숙성시간이 경과함에 따라 닭의 흉

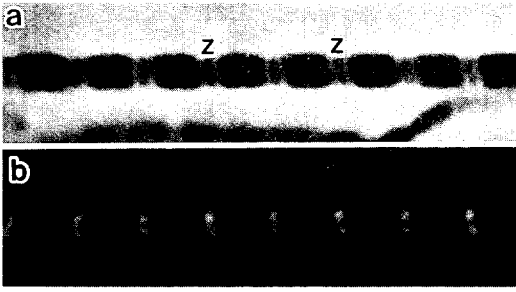


Fig. 3. Existence of the Z-disk domain of titin on the myofibrils.

a, phase contrast image; b, immunofluorescence image; Z, Z-disk.

근의 Z선 전자밀도가 저하되는데 72시간 숙성 후가 도살직전의 것의 74%에 지나지 않는다⁽³⁷⁾.

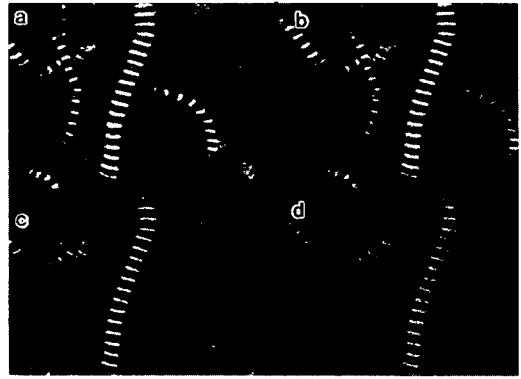


Fig. 4. Existence of the Z-disk domain of titin in the Z-disk region.

a, surface; b, 0.4 μ m inner; c, 0.8 μ m inner; d, 1.2 μ m inner.

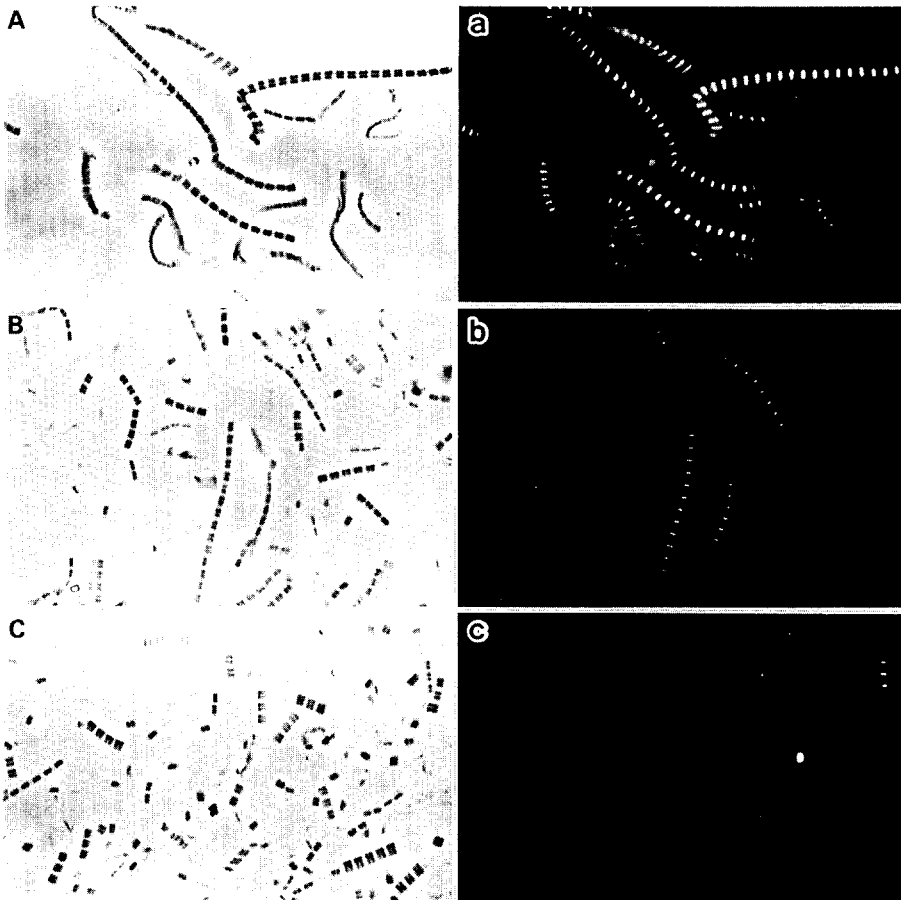


Fig. 5. Post-mortem changes of the Z-disk domain of titin on myofibrils. A,a, 0hr; B,b, 24hr; C,c, 48hr; These are indicated at post-mortem aging time. A,B,C, phase contrast image; a,b,c, immunofluorescence image.

이런 조직상의 변화로 보아 계육의 숙성시근원섬유 Z선의 구조가 약화되어, Z선 부분에서 단열이 생김으로 인해 근원섬유의 소편화가 일어난다고 여겨진다. 숙성 중 근원섬유의 소편화를 관찰한 결과(Fig. 2), 도살직후의 근원섬유는 대개 긴 상태로 유지되어 있으나, 24시간 숙성하면 1~4개의 sarcomere로 된 소편이 증가하였다. 48시간 숙성하면 대부분의 근원섬유가 소편화되어 주로 1~4개의 sarcomere로 된 소편으로 이루어져 있었다. 이와 같이 숙성중의 식육의 연화현상은 근원섬유 Z선의 약화로 인한 근원섬유의 소편화가 크게 작용하는 것으로 알려져 있다⁽¹⁶⁾.

숙성 중 식육의 연화에 미치는 titin의 Z선 영역 부위의 영향

titin의 Z선 영역 부위가 식육의 숙성 중에 일으키는 변화를 관찰하기 위해 이 부위에 대한 항체를 이용하였다. 앞선 연구⁽³⁵⁾에서와 같이 특이성을 확인한 항혈청을 근원섬유에 반응

시켜 그 위치를 조사한 결과(Fig. 3), 근원섬유의 Z선에만 반응했다. 근원섬유에 있어서의 위치를 입체적으로 확인하기 위해, 공초점 레이저 주사현미경을 이용하여 0.4 μ m씩 광학적으로 근원섬유의 내부로 절단하여 관찰하였다. 그 결과, titin의 Z선 영역 부위는 근원섬유의 표면 부분 뿐만 아니라 근원섬유의 내부에까지 고르게 분포되어 있음이 확인되었다(Fig. 4). 식육의 숙성 중에 일어나는 titin의 Z선 영역 부위의 변화를 간접현미경으로 관찰한 결과(Fig. 5), 도살직후에는 전체 근원섬유에 강하게 형광이 나타났다. 그러나 24시간 숙성후의 근원섬유에 있어서는 일부의 긴 근원섬유에만 약하게 형광이 나타났고, 48시간 숙성 후에는 거의 형광이 관찰되지 않았다. 이로 미루어 보아 식육을 숙성함에 따라 근원섬유의 소편화가 진행되고, 이와 함께 titin의 Z선 영역부위도 분해되거나 근원섬유로부터 유리되어짐을 알 수 있었다. 이것은 titin의 Z선 영역부위의 숙성 중 변화가 근원섬유 Z선의 약화와 깊은

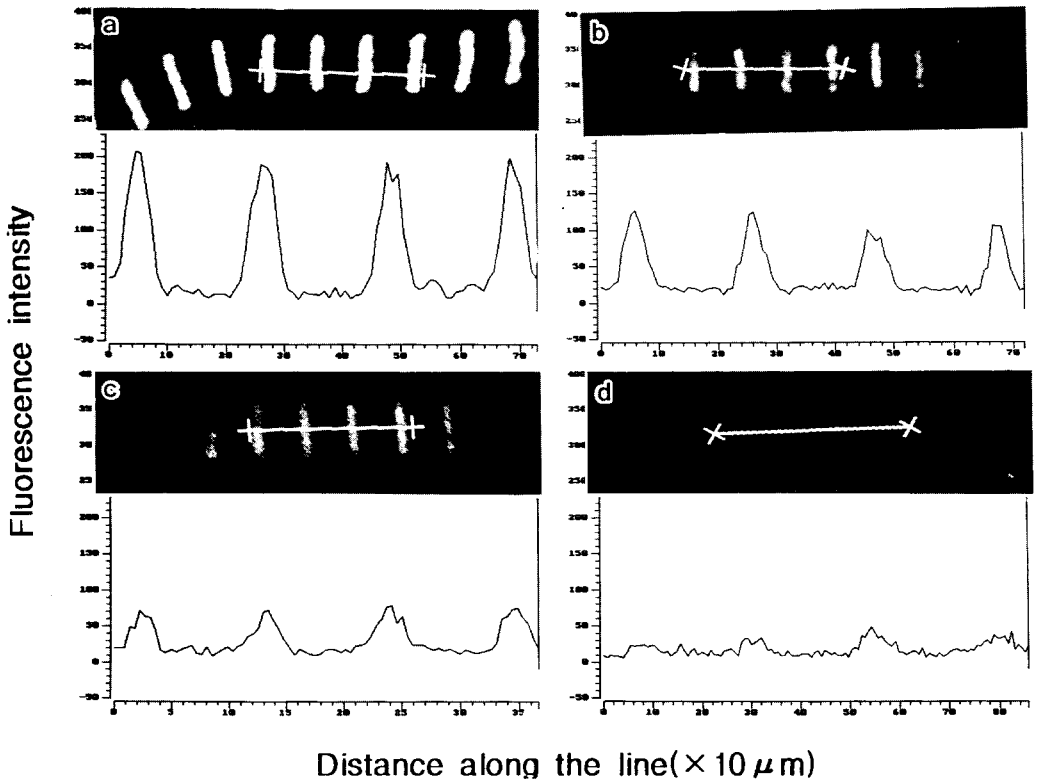


Fig. 6. Quantitative changes in the Z-disk domain of titin during post-mortem aging. a, 0hr; b, 12hr, c, 24hr; d, 48hr.

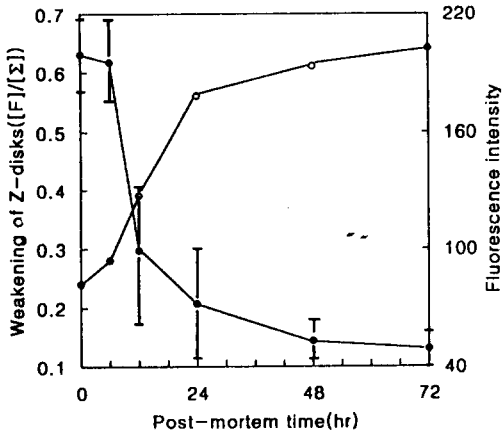


Fig. 7. Relationship between the quantitative change of the Z-disk of titin and the weakening of the Z-disk domain during post-mortem aging.
○, the weakening of Z-disk; ●, the quantitative change of Z-disk of titin.

관련이 있음을 나타내고 있다. 숙성 중의 근원섬유에 있어 titin의 Z선 영역 부위의 양적인 변화를 알아보기 위해 공초점 레이저 주사현미경으로 형광강도를 측정하였다. Fig. 6에 제시한 바와 같이 도살직후에는 강한 형광강도를 나타냈으나 24시간 후에는 약화되었고, 48시간 숙성 후에는 아주 미약한 형광강도를 나타냈다. 각 숙성기간에 따라 50개씩의 근원섬유를 관찰하여 그 형광강도를 평균하여 수치로 나타낸 결과(Fig. 7), 식육의 숙성에 따라 형광강도가 저하하는데 그 경향은 근원섬유의 소편화도(Z선의 약화도)와 거의 일치하게 나타났다. 이로 미루어 보아 titin의 Z선 영역 부위의 숙성 중 변화가 숙성시 근원섬유 Z선의 약화에 크게 영향을 미치는 것으로 생각된다. 숙성 중 titin의 Z선 영역이 변화하는 원인을 알아보기 위해 근원섬유를 Ca^{2+} 용액으로 처리하여, 그때 일어나는 근원섬유의 소편화와 titin Z선 영역의 변화를 관찰하였다(Fig. 8). 48시간 동안 Ca^{2+} 용

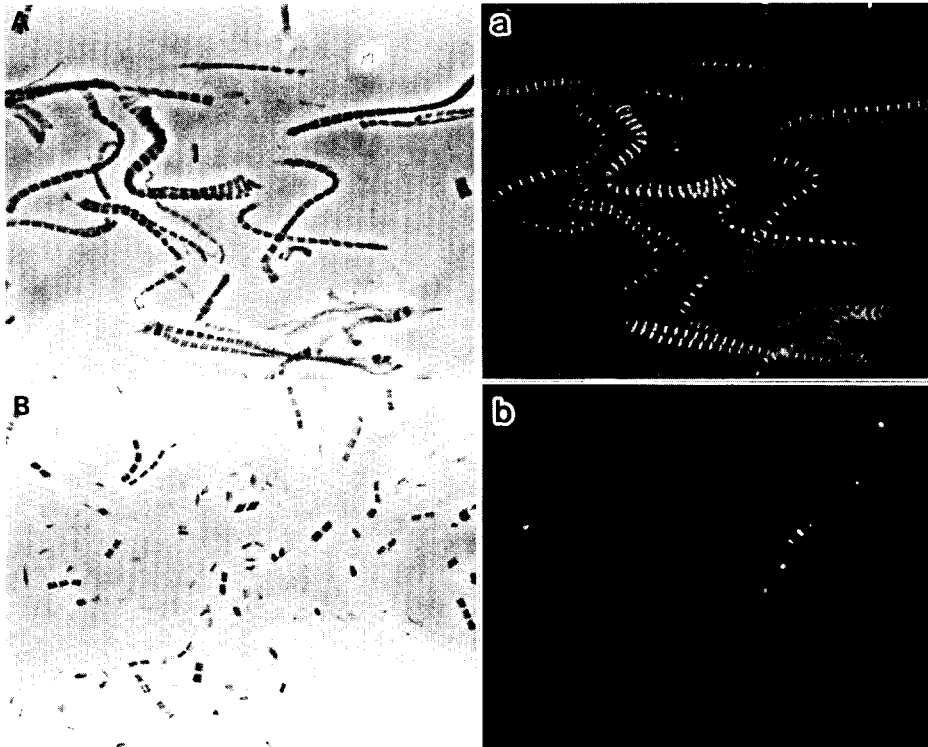


Fig. 8. Changes in the Z-disk domain of titin during the Ca^{2+} ions treatment of myofibrils. A,a, 0hr; B,b, 48hr; These are indicated the time of Ca^{2+} treatment. A and B are the phase contrast image; a and b are the immunofluorescence image.

액으로 처리한 근원섬유는 48시간 동안 숙성한 근원섬유의 경우와 같이 대개의 근원섬유가 소편화되었고 형광도 거의 나타나지 않아 titin의 Z선 영역부위도 변화되었음을 알 수 있었다. Takahashi⁽³⁸⁾는 식육의 숙성 중에 일어나는 연화현상이 단백질 분해효소에 의해서 보다는 숙성 중 2,000배 정도로 높아지는 cytosol의 Ca^{2+} 에 의해 일어난다고 보고하였다. 또한 Tatsumi 등^(39,40)도 $10^{-4}M$ 의 Ca^{2+} 용액 처리에 의해 titin(connectin)이 분해되어 작은 분자량의 peptide로 됨을 밝혔다. 본 실험에 의해서 titin의 Z선 영역부위도 숙성 중에 변화하며, 그 변화는 Ca^{2+} 에 의해 일어나는 것으로 보여 짐을 알 수 있었고, 이 변화가 근원섬유의 Z선 구조의 약화에 큰 영향을 미쳐 결과적으로 식육의 연화에 직접적으로 영향을 미치는 것을 알 수 있었다.

요 약

본 연구는 계육의 숙성 중 근원섬유 Z선의 구조 변화에 의해 일어나는 연화에 titin의 Z선 영역이 미치는 영향을 조사한 것이다. 계육을 숙성시 시간이 경과함에 따라 Z선의 구조가 약화되고, Z선 부분에서 단열이 발생하였으며, 물리적인 충격을 가했을 때 근원섬유가 소편화되었다. Titin의 Z선 영역에 대한 항체를 이용하여 조사한 결과, 계육을 숙성할 때 그 기간에 따라 titin의 Z선 영역은 근원섬유에서 없어짐을 알 수 있었고, 그 경향은 근원섬유의 소편화와 일치했다. 또한 근원섬유를 Ca^{2+} 처리한 결과 숙성시와 같은 결과를 나타내었다. 이와 같은 결과들로 볼 때, 계육의 숙성시 titin의 Z선 영역의 변화는 계육의 연화현상에 직접적으로 영향을 미치며, 그때 Ca^{2+} 가 그 주원인이 되는 것을 알 수 있었다.

감사의 글

본 연구의 수행에 있어 도움을 주신 日本 北海道大學 畜産食品開發學講座의 高橋 興威 教授, 服部 昭仁 助教授 및 辰巳 隆一 助手에 감사드립니다.

참고문헌

1. 농림수산부: 농림수산 주요통계(1996) p. 288
2. Bailey, A. J. : The basis of meat texture. *J. Food Sci., Agric.* 23, 995(1972).
3. Nishimura, T., Hattori, A. and Takahashi, K. : Structural weakening of intramuscular connective tissue during conditioning of beef. *Meat Sci.* 39, 127 (1995).
4. Liu, A., Nishimura, T. and Takahashi, K. : Structural changes in endomysium and perimysium during post mortem aging of chicken semitendinosus muscle contribution of structural weakening of intramuscular connective tissue to meat tenderization. *Meat Sci.*, 38, 315(1994).
5. Liu, A., Nishimura, T. and Takahashi, K. : Structural weakening of intramuscular connective tissue during *post mortem* aging of chicken *semitendinosus* muscle. *Meat Sci.*, 39, 135(1995).
6. Herring, H. K., Cassens, R. G. and Briskey, E. T. : Sarcomere length of free and restrained bovine muscles at low temperature as related to tenderness. *J. Sci. Food Agric.*, 16, 379(1965).
7. Takahashi, K. and Saito, H. : Post-mortem changes in skeletal muscle connectin. *J. Biochem.*, 85, 1539(1979).
8. Locker, R. H., Daines, G. T., Carse, W. A. and Leet, N. G. : Meat tenderness and the gap filaments. *Meat Sci.*, 1, 87 (1977).
9. Takahashi, K. Hattori, A., Tatsumi, R. and Takai, K. : Calcium-induced splitting of connectin filaments into beta-connectin and a 1,200-kDa subfragment. *J. Biochem.* 111, 778(1992).
10. Wang, K. : In cell and muscle motility (Shay, J. W., ed.) Plenum Press, New York and London Vol. 6, pp. 315(1985).
11. Fritz, J. D. and Greaser, M. L. :

- Changes in titin and nebulin postmortem bovine muscle revealed by gel electrophoresis, western blotting and immunofluorescence microscopy. *J. Food Sci.*, **56**, 607(1991).
12. Olson, D. G., Parrish, F. C. Jr. and Stromer, M.H. : Myofibril fragmentation and shear resistance of three bovine muscles during postmortem storage. *J. Food Sci.*, **41**, 1036(1976).
 13. Hattori, A. and Takahashi, K. : Studies on the post-mortem fragmentation of myofibrils. *J. Biochem.*, **85**, 47(1979).
 14. Hattori, A. and Takahashi, K. : Calcium-induced weakening of skeletal muscle Z-disks. *J. Biochem.*, **92**, 381(1982).
 15. Takahashi, K. Fukazawa, T. and Yasui, T. : Formation of myofibrillar fragments and reversible contraction of sarcomeres in chicken pectoral muscle. *J. Food Sci.*, **32**, 409(1967).
 16. Moller, A. J., Vestrgaard, T. and Wismer-Pedersen, J. : Myofibril fragmentation in bovin longissimus dorsi as an index of tenderness. *J. Food Sci.*, **38**, 824(1973).
 17. Calkins, C. R. and Davis, G. W. : Fragmentation index of raw muscle as a tenderness predictor of steaks from US good and US standard steer and bullock carcasses. *J. Animal Sci.*, **50**, 1067(1980).
 18. Takahashi, K. and Hattori, A. : α -actinin is a component of the Z-filament, a structural backbone of skeletal muscle Z-disks. *J. Biochem.*, **105**, 529(1989).
 19. Chowrashi, P. K. and Pepe, F. A. : The Z-Band: 85,000-dalton amorphin and alpha-actinin and their relation to structure. *J. Cell Biol.*, **94**, 565 (1982).
 20. Takahashi, K., Kim, O.H. and Yano, K. : Calcium-induced weakening of Z-disks in postmortem skeletal muscle. *J. Biochem.*, **101**, 767(1987).
 21. Robson, R. M. and Huiatt, T. W. : Roles of the cytoskeletal proteins desmin, titin, and nebulin in muscle. *Proc. Recip. Meat Conf.*, **36**, 116(1983).
 22. 안동현: 숙성중 식육의 연화에 미치는 근원섬유 Z선 구조 및 구성 인지질의 영향. 부산공업대학교 산업과학기술연구소 논문집, **11**, 177(1996).
 23. Shimada, K. Ahn, D. H. and Takahashi, K. : Liberation of phospholipids from Z-disks of chicken skeletal muscle myofibrils by 0.1mM calcium ions: Weakening mechanism for Z-disks during post-mortem aging of meat. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **62**(5), 919(1998).
 24. Maruyama, K., Yoshioka, T., Higuchi, H., Ohashi, K., Kimura, S. and Natori, R. : Connectin filaments link thick filaments and Z lines in frog skeletal muscles as revealed by immunoelectron microscopy. *J. Cell Biol.*, **101**, 2167(1985).
 25. Fürst, D. O., Osborn M., Nave R., and Weber, K. : The organization of titin filaments in the half-sarcomere revealed by monoclonal antibodies in immunoelectron microscopy, a map of ten nonrepetitive epitopes starting at the Z line extends close to the m line, *J. Cell Biol.*, **106**, 1563(1988).
 26. 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(1988).
 27. Maher, P. A., Cox, G. F. and Singer, S. J. : Zeugmatin: A new high molecular weight protein associated with Z lines in adult and early embryonic striated muscle. *J. Cell Biol.*, **101**, 1871(1985).
 28. Turnacioglu, K. K., Mittal, B., Sanger, J. M. and Sanger, J. W. : Partial characterization of zeugmatin indicates that it is part of the Z-band region of

- titin. *Cell Motil. Cytoskeleton*, **34**(2), 108(1996).
29. Turnacioglu, K. K., Mittal, B., Dabiri, G. A., Sanger, J. M. and Sanger, J. W. : Zeugmatin is part of the Z-band targeting region of titin. *Cell Struct. Funct.* **22**(1), 73(1997).
 30. Etlinger, J. D., Zak, R. and Fischman, D. A. : Compositional studies of myofibrils from rabbit striated muscle. *J. Cell Biol.*, **68**, 123(1976).
 31. Millonig, G. : A modified procedure for lead staining of thin sections. *J. Appl. Phys.*, **32**, 1637(1961).
 32. Reynolds, E. S. : The use of lead nitrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biol.*, **17**, 208(1963).
 33. Tanabe, R., Tatsumi, R., and Takahashi, K. : Purification and characterization of the 1,200-kDa subfragment of connectin filaments produced by 0.1mM calcium ions. *J. Biochem.*, **115**, 351(1994).
 34. Towbin, H., Staehelin, T. and Gordon, J. : Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheet: procedure and some applications. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA* **76**, 4350(1979).
 35. 안동현 : 간접면역형광법을 이용한 숙성중 식육의 연화 정도 측정. *한국식품과학회지*, **28**(3), 566(1996).
 36. White, J. G., Amos, W. B. and Fordham, M. : An evaluation of confocal versus conventional imaging of biological structures by fluorescence light microscopy. *J. Cell Biol.*, **105**, 41(1987).
 37. 안동현 : 계육의 부위별 연도 차이에 미치는 근원섬유 Z선 골격구조의 영향. *한국축산학회지*, **38**(4), 403(1996).
 38. Takahashi, K. : Structural weakening of skeletal muscle tissue during post-mortem aging of meat: the non-enzymetic mechanism of meat tenderization. *Meat Sci.*, **43**(S), S67(1996).
 39. Tatsumi, R., Hattori, A. and Takahashi, K. : Splitting of connectin/titin filaments into β -connectin/T2 and a 1,200-kDa subfragment by 0.1mM calcium ions. *Adv. Biophys.*, **33**, 65(1996).
 40. Tatsumi, R., Hattori, A. and Takahashi, K. : Deterioration of connectin/titin and nebulin filaments by an excess of protease inhibitors. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **62**(5), 927(1998).

(1998년 8월 12일 접수)