

이스라엘잉어의 年齡別 筋肉蛋白質 組成의 比較*

南澤正
東萊女子專門大學 食品營養科

Muscle Protein Compositions of Cultured Israeli Strain of Common Carp by Age*

Taek-Jeong NAM

Department of Food and Nutrition, Dongrae Women's Junior College
Bansong-dong, Haeundae-gu, Pusan, 607-05 Korea

This experiment was carried out to compare the change of muscle protein compositions, amino acid compositions of muscle protein, and free amino acid compositions by age of the Israeli strain of common carp, *Cyprinus carpio nudus*. Protein compositions of the muscle were: sarcoplasmic protein 25.8-27.2%, myofibrillar protein 62.3-56.2%, residual intracellular protein 9.6-13.2% and stroma 2.3-2.9%. In between 1 year and 3 years, there were differences as follows; myofibrillar protein in 1 year was much than 3 years, and other proteins in 3 years were much than 1 year. By SDS-polyacrylamide gel electrophoresis, sarcoplasmic protein of the samples in 1 year and 3 years were composed of 11 subunits and 10 subunits, respectively. And appeared 210,000 dalton component in 1 year but did not appeared in 3 years. Myofibrillar protein was composed of 23 subunits in both 1 year and 3 years but the differences of subunits by age were not observed. No differences were observed by age in the composition of myofibrillar protein and residual intracellular protein. Amino acid composition of muscle protein in both 1 year and 3 years were no differences to each other, but the contents of glutamic acid, aspartic acid, lysine were higher than other amino acids. The amount of total free amino acid in 1 year was much than in 3 years.

緒論

魚類의 成長別에 따른 成分組成의 變化에 關한 研究는 水產加工을 위한 原料魚의 選擇에 있어서 营養의 關聯性을 밝히는데 重要할 것으로 생각된다. 이와 關聯된 研究로서 坂口와 清水(1965)는 고등어의 成長에 따른 肉中의 ex成分의 變化에 關하여 報告하였고, 佐伯와 熊谷(1982)는 𩦑어類의 一般成分과 無機成分의 含量을 成長과 關聯하여 言한 바 있다. 그리고 筋肉의 蛋白質組成中 筋形質蛋白質과 魚

體의 大小와의 關聯性에 關하여는 谷口(1974), 山田와 鈴木(1982) 等이 報告한 바 있지만, 魚類의 成長과 蛋白質組成間의 關係에 關하여는 充分한 研究가 되어 있지 않다. 本 研究에서는 최근 우리나라 江原道 소양호 等地에서 養殖高가增加하고 있는 이스라엘잉어를 試料로 하여 1年生과 3年生의 成長期別로 蛋白質 및 アミノ酸組成을 分析하였고, 筋形質蛋白質과 筋原纖維蛋白質 및 細胞內殘渣蛋白質에 對하여는 構成蛋白質의 組成 差異를 電氣泳動的으로 分析하여 各 年齡別 肉蛋白質의 組成 差異를 比較検討하였다기에 報告한다.

* 本 研究는 1982年度 文教部 學術研究助成費의 支援으로 이 루어졌다.

材料 및 方法

1. 材 料

釜山水產大學 淡水養魚場에서 1982년 9月 3日에 分讓받은 養殖이스라엘잉어, *Cyprinus carpio nudus*, (1年生, 體長 21~22cm, 體重 300~350g; 3年生, 體長 32cm, 體重 1240g)를 살아 있는 狀態로 低溫室 (0~4°C)로 運搬하고 即殺시킨 다음, 背肉을 切取하고 細切 磨碎하여 分析用 試料로 하였다. 그리고 이스라엘잉어와 比較하기 위해 韓國產 天然잉어(體長 30~31cm, 體重 570~580g)도 함께 分析하였다.

本 實驗中 蛋白質組成分析에 用한 試藥은 모두 試藥用 特급을, 또 電氣泳動 分析에 用한 試藥은 電氣泳動用 試藥을, 그리고 試藥의 調製에는 脫い온 蒸溜水를 使用하였다.

2. 分析方法

(1) 一般成分의 組成

水分, 粗蛋白質, 粗脂肪, 灰分 等은 常法에 따라 測定하였다.

(2) 蛋白質組成의 測定

金等(1982)의 方法에 따라 測定하였다.

(3) 電氣泳動分析

蛋白質의 組成測定을 위한 分割過程에서 分離된 筋形蛋白質과 筋原纖維蛋白質 그리고 細胞內殘渣蛋白質의 一部에 대하여는 年齡에 따른 構成蛋白質의 差異를 推定하기 위하여 Weber와 Osborn(1969)의 方法에 따라 SDS-polyacrylamide 젤 電氣泳動分析을 하였으며, 電氣泳動像是 다시 dual wavelength scanner (Shimadzu, CS-910)로써 染色帶의 着色度를 波長 550nm에서 面積比 軌跡하여 積分計에 의하여 그濃度를 推定하였다. 그리고 각 蛋白質의 電氣泳動像에 대하여는 標準蛋白質을 같은 條件으로 電氣泳動分析하였을 때 나타난 電氣泳動像中の 着色帶과 對照하여 그構成蛋白質의 分子量을 推定하였다.

(4) 蛋白質構成아미노酸과 遊離아미노酸의 組成

金等(1982)의 方法에 따라 試料를 調製하고, 아미노酸 自動分析計(Hitachi製, Model 835)로써 각 아미노酸을 測定 計算하였다. 그리고 트립ト판은 Spies와 Chamber(1948)의 方法으로 測定하였다.

結果 및 考察

一般成分 組成의 比較: 이스라엘잉어肉에서 測定한 1年生과 3年生의 一般成分의 組成을 Table 1에 比較하여 나타내었다. 各肉의 成分組成을 보면 水分, 粗蛋白質, 粗脂肪 및 灰分의 含量은 年齡에 의한 差異는 거의 없었다. 佐伯와 熊谷(1982)는 天然 및 養殖한 복어류肉의 成分組成을 成長에 의한 一般成分과 無機成分의 變動을 測定한 結果, 一般成分은 天然이나 養殖한 것이나 모두 成長에 의해서는 變動이 없었다고 하였으며, 志水等(1973)은 방어肉의 成分組成을 季節別, 天然 및 養殖別로 測定한 結果, 粗蛋白質의 量은 天然・養殖의 差異, 年齡, 季節에 關係없이 거의一定한 值을 나타낸 것과 比較할 때, 魚種이 달라도 成長에 의한 一般成分의 差異는 적다는 것을 알 수 있었다. 그리고 天然產잉어肉과 比較하면 水分과 粗蛋白質의 量이 조금 적었다.

Table 1. Comparison of general composition in dorsal muscle of the Israeli strain of common carp in between 1 year and 3 years of age (Unit: %)

Age	Moisture	Crude protein (Protein-N)	Crude fat	Ash
1	78.7	17.8(2.7)	0.6	1.2
3	78.0	17.8(2.6)	0.7	1.3
Common carp	80.1	18.6(2.7)	0.3	1.3

蛋白質組成의 比較: 年齡別 蛋白質組成을 Table 2에 比較하여 나타내었다. 1年生肉의 蛋白質組成은 筋形蛋白質이 約 26%, 筋原纖維蛋白質이 62%, 細胞內殘渣蛋白質이 10%, 基質蛋白質이 2%程度였는데, 3年生에서는 筋形蛋白質이 27%로서 거의 비슷하였고, 筋原纖維蛋白質은 53%로 1年生보다 적었으며, 細胞內殘渣蛋白質은 13%, 基質蛋白質은 3%

Table 2. Comparison of protein composition in dorsal muscle of the Israeli strain of common carp in between 1 year and 3 years of age (Unit: %)

Age	Sarco-plasmic	Myofibrillar	Residual intracellular	Stroma
1	25.8	62.3	9.6	2.3
3	27.2	56.2	13.2	2.9
Common carp	33.9	58.1	5.6	2.4

이스라엘잉어의 年齡別 筋肉蛋白質 組成의 比較

로써 조금 많았다. 이 결과에서 보면 筋形質蛋白質과 基質蛋白質은 큰 差異가 없었으나, 筋原纖維蛋白質과 細胞內殘渣蛋白質의 含量이 差異가 있는 것으로 보아서 成長함에 따라 筋肉組織의 硬度와 關係 있다고 생각된다. 그리고 天然肉의 蛋白質組成과 比較하면, 이스라엘잉어가 筋形質蛋白質이 量的으로 적었고, 細胞內殘渣蛋白質은 많았으며, 筋原纖維蛋白質과 基質蛋白質은 비슷한 百을 나타내었다. 志水와 清水(1960)의 報告에 의하면 莹어肉의 蛋白質組成은 筋形質蛋白質이 23~25%, 筋原纖維蛋白質이 70~72%, 基質蛋白質이 5%이었다고 하였는데, 이結果는 細胞內殘渣蛋白質의 量을 筋原纖維蛋白質에 포함시켰는지 分明하지 않지만, 本 實驗의 結果와 比較하면 筋原纖維蛋白質과 基質蛋白質은 이스라엘잉어가 적었으며, 筋形質蛋白質은 조금 많았다.

筋形質蛋白質과 筋原纖維蛋白質 및 細胞內殘渣蛋白

質에 대하여는 年齡別 組成蛋白質의 差異를 推定하기 위하여 電氣泳動法으로 分析하였으며, 그 結果를 Fig. 1~3와 Table 3~5에 나타내었다. 筋形質蛋白質을 보면 1年生과 3年生에서 두드러지게 差異가 나는 것은 1年生에서 分子量 210,000의 subunit가 檢出되었는데 3年生에서는 檢出되지 않았다. 그以外 subunit의 組成은 다같이 10個의 subunit가 檢出되었고, 이들의 分子量을 比較하면 3年生에서 分子量이 조금씩 減少하였으나 큰 差異는 없었다. 이것은 山田와 鈴木(1982)가 青어의 筋形質蛋白質을 薄層等電點電氣泳動法으로 分析한 結果, 魚體의 大小에는 差異가 없었다는 것과 비슷한 結果임을 알 수 있었다. 그리고 筋形質蛋白質을 構成하고 있는 各 subunit中에서 分子量 42,000~40,500의 部分이 量的으로 많았다.

年齡別 肉의 筋原纖維蛋白質의 組成 差異를 電氣泳



Fig. 1. SDS-polyacrylamide gel electrophoretic patterns of muscle protein fractions of the Israeli strain of common carp. SDS-gel containing 7.5% polyacrylamide gel were prepared by the method of Weber and Osborn(1969).

Abbreviations: S-1, sarcoplasmic protein of 1 year of age; S-3, sarcoplasmic protein of 3 years of age; M-1, myofibrillar protein of 1 year of age; M-3, myofibrillar protein of 3 years of age; R-1, residual intracellular protein of 1 year of age; R-3, residual intracellular protein of 3 years of age.

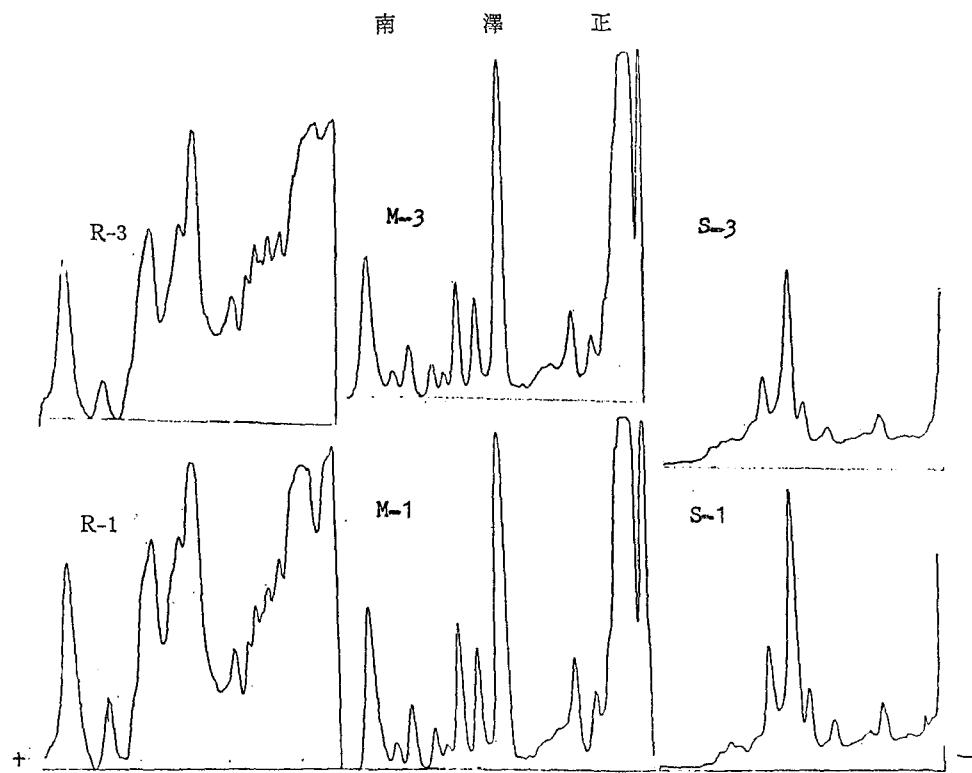


Fig. 2. Densitometric scans of SDS-polyacrylamide gel electrophoreograms(7.5% gel) of muscle protein fractions from the Israeli strain of common carp. Gels were stained with coomassie brilliant blue and scanned at 550nm. Abbreviations are same as in Fig. 1.

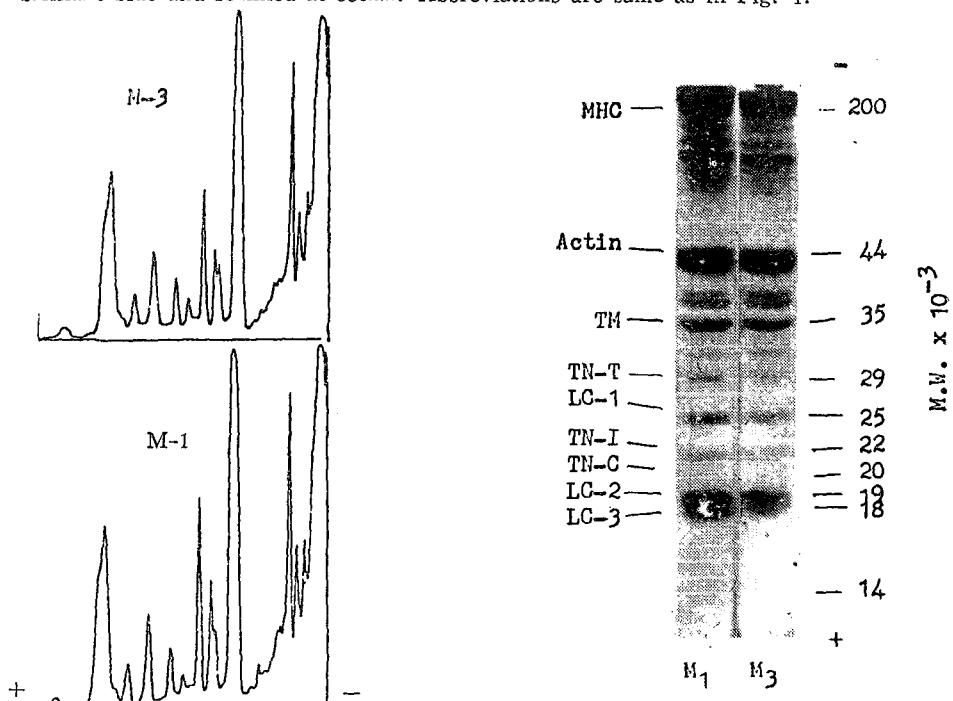


Fig. 3. Densitograms and electrophoretograms of myofibrillar protein from the Israeli strain of common carp by SDS-polyacrylamide gel electrophoresis (10% gel). Abbreviations: M-1 and M-3 are same as in Fig. 1; MHC, myosin heavy chain; TM, tropomyosin; TN-T, troponin-T; TN-I, troponin-I; TN-C, troponin-C; LC-1, myosin light chain-1; LC-2, myosin light chain-2; LC-3, myosin light chain-3.

이스라엘 잉어의 年齡別 筋肉蛋白質 組成의 比較

Table 3. Distribution of subunit appeared on SDS-polyacrylamide gel electrophoresis of sarcoplasmic protein from the Israeli strain of common carp muscle

Subunit No.	Estimated molecular weight ($\times 10^{-3}$)	
	1 year	3 years
1	210	—
2	145	140
3	125	120
4	58	55
5	47.5	45
6	42	40.5
7	35	33.5
8	31	30.5
9	28	26
10	26	24
11	23.5	22

Table 4. Distribution of subunit appeared on SDS-polyacrylamide gel electrophoresis of myofibrillar protein from the Israeli strain of common carp muscle

Subunit No.	Estimated molecular weight ($\times 10^{-3}$)		Estimated subunit
	1 year	3 years	
1	200	200	Myosin heavy chain
2	152	156.5	
3	125	129.5	
4	106	105.5	
5	79	81	
6	60.5	59	
7	59.5	57	
8	55	54	
9	52.5	52	
10	50	50	
11	44	44.5	Actin
12	39	39	
13	38	38	
14	35	35	Tropomyosin
15	33	33	
16	32	32	
17	29	29	Troponin-T
18	25	25	Light chain-1
19	22	22	Troponin-I
20	20	20	Troponin-C
21	19	19	Light chain-2
22	18	18	Light chain-3
23	14	14	

動的으로 分析한結果를 Fig 1~3과 Table 4에 나타내었다. 高士等(1974)이 잉어와 Tilapia 그리고 토끼의 筋肉에서 分離한 Myosin의 Light chain에 關한 報告에서 gel濃度가 7%에서는 Light chain이 2個 나타나고, 12.5%에서는 Light chain이 3個가 檢出되는結果를 볼 때, 本實驗의 筋原纖維蛋白質에서 分子量이 큰 subunit (70,000 以上)는 7.5% gel을, 分子量이 작은 subunit(70,000 以下)는 10%의 gel을 使用하여 組成蛋白質을 分析하였다. 먼저 7.5% gel을 使用한 部分의 subunit組成을 比較하면, 分子量 200,000의 Myosin heavy chain에 該當하는 蛋白質外 分子量 156,500에서 79,000의 4個 subunit가 檢出되었고, 10% gel로 分析한結果에서는 分子量 60,500에서 50,000部分의 subunit가 5個가 있었으며, 各 subunit間의 分子量差異도 거의 無視할 程度였다. 그리고 分子量 44,000 (1年生)~44,500 (3年生)의 actin과 分子量 39,000(1年生)~38,000(3年生)의 subunit가 檢出되었고, 1年生과 3年生 모두 分子量 35,000의 tropomyosin, 分子量 33,000~32,000成分, 分子量 29,000의 troponin-T, 分子量 25,000의 myosin light chain-1, 分子量 22,000의 troponin-I, 分子量 20,000의 troponin-C, 分子量 18,000의 myosin light chain-3, 그리고 分子量 14,000에 該當하는 subunit가 檢出되었다. 이들組成에서도 年齡에 의한 差異點은 거의 없었고, 잉어를 試料로 하여 10% gel을 使用한 高士等(1974)과 12.5% gel을 使用한 關(1976), 그리고 15% gel을 使用한 Focant等(1976)의 結果와 比較하면 myosin light chain-1은 分子量이 같은 값을 보였고, myosin light chain-2와 myosin light chain-3의 分子量은 이스라엘 잉어가 조금 많았다. 今野와 關(1975)가 잉어肉에서 troponin을 調製하여 分子量을 測定한 것과 比較하면 troponin-T의 分子量은 조금 적었고, troponin-I와 troponin-C는 이스라엘 잉어가 조금 많은 것을 알 수 있었으며, 關와 今野(1975)가 잉어에서 分離한 tropomyosin의 分子量과 比較하면 조금 적은 값을 나타내었다. 이와같이 蛋白質을組成하고 있는 subunit들의 分子量이 조금씩 差異가 나는 것은 魚種에 따라 差異點이 있음을 推定할 수 있었다. 한편 現在까지 報告된 잉어類의 肉에서 볼 수 없었던 分子量 14,000에 該當하는 subunit가 새롭게 出現하였는데, 이成分에 關해서는 앞으로 檢討가 必要하다고 본다.

細胞內殘渣蛋白質에 關해서도 年齡別 差異를 電氣

南　　澤　　正

Table 5. Distribution of subunit appeared on SDS-polyacrylamide gel electrophoresis of residual intracellular protein from the Israeli strain of common carp muscle

Subunit No.	Estimated molecular weight($\times 10^{-3}$)	
	1 year	3 years
1	190	200
2	150	151
3	135	135
4	119	119
5	109.5	109.5
6	95.5	95
7	47.5	48
8	44	41
9	35	35
10	25.5	25
11	19	19

Table 6. Comparison of amino acid composition of proteins in dorsal muscle of the Israeli strain of common carp in between 1 year and 3 years of age
(Unit: g/16g of N)

Amino acid	Age		Common carp
	1	3	
Essential amino acid			
Ileu	4.77	4.87	4.78
Leu	8.82	9.01	9.17
Lys	11.24	11.03	10.90
aromatic amino acid			
Phe	4.93	4.72	4.82
Tyr	3.44	3.83	4.14
sulfur-containing amino acid			
1/2 Cys	0.68	1.33	1.30
Met	3.41	3.33	3.47
Thr	5.18	5.22	5.27
Trp	0.88	0.70	1.23
Val	5.40	5.31	5.27
Non-essential amino acid			
Arg	7.35	7.36	7.37
Gly	4.41	4.41	4.25
Asp	11.93	11.93	12.01
Ser	4.54	4.57	4.60
His	2.91	2.88	2.86
Ala	6.53	6.63	6.49
Glu	18.58	18.55	18.62
Pro	3.53	3.63	3.57
Total	108.56	109.37	110.12

泳動法으로 분석하여 Fig. 1과 Table 5에 비교하여 나타내었는데, 여기서도蛋白質組成 subunit들의 差異는 거의 없었다.

蛋白質構成아미노酸 및 遊離아미노酸의 比較 : 이스라엘잉어肉에 대한 蛋白質構成아미노酸의 組成을 年齡別로 比較하여 Table 6에 나타내었다. 各蛋白質을 構成하고 있는 大部分의 아미노酸들의 量의 인比率은 비슷하였고, 年齡別 差異는 거의 없었다. 天然產 잉어와 比較해도 아미노酸組成에서는 큰 差異가 없음을 알 수 있었고, 또 이스라엘잉어나 天然產 잉어나 構成아미노酸의 含量에서 필수아미노酸이 차지하는 比率은 約 45% 程度이고, 個別 아미노酸은 글루탐酸, 아스파르트酸, 라이신이 量的으로 많았다. 그리고 遊離아미노酸의 組成을 年齡別에 따라 個別 遊離아미노酸量의 增減을 보면, 아스파르트酸, 이소류신, 페닐알라닌 等을 조금 增加하였으나, 라이신, 히스티딘, 알기닌, 글루탐酸 等은 減少하였다. 그外 아미노酸의 差異는 微小하였다. 遊離아미노酸의 總量은 3年生이 減少하였는데, 이것은 坂口와 清水(1965)가 고등어肉에서 季節의 變動과 生長過程中의

Table 7. Comparison of free amino acid composition in dorsal muscle of the Israeli strain of common carp in between 1 year and 3 years of age
(Unit: mg/100g of muscle)

Free amino acid	Age		Common carp
	1	3	
Lys	40.14	32.72	21.44
His	188.99	167.99	117.75
Arg	24.77	15.10	15.37
Tau	135.68	134.68	79.53
Asp	0.71	2.68	0.36
Thr	15.43	16.70	15.21
Ser	5.38	5.01	6.50
Glu	22.24	10.01	11.00
Pro	17.18	15.34	6.66
Gly	27.87	28.67	23.96
Ala	16.54	15.21	18.76
Cys	—	—	—
Val	6.24	7.97	5.32
Met	2.89	2.88	2.17
Ileu	3.71	5.13	2.64
Leu	7.20	8.69	4.89
Tyr	1.71	1.96	2.80
Phe	4.21	5.93	3.11
Total	520.69	476.67	337.47

이스라엘잉어의 年齡別 筋肉蛋白質組成의 比較

變化에서 밝힌 總遊離아미노酸의 含量과 比較하면 反對되는 現象을 보여 주고 있다. 個別 遊離아미노酸의 含量은 1年生과 3年生 모두 히스티딘과 타우린의 含量이 높았고, 이들 2種遊離아미노酸이 차지하는量은 1年生에서 約 62%, 3年生에서는 約 64%程度되며, 그 다음으로 3年生을 기준으로 해서 라이신, 글리신, 스파오닌, 프로린, 알라닌, 알기닌, 글루타민酸順으로 나타났다. 또 天然產잉어와 比較하면, 세린, 알라닌, 티로신은 적었지만, 그外 遊離아미노酸의 含量과 總遊離아미노酸의 量은 이스라엘잉어가 많았다.

要 約

1年生과 3年生의 이스라엘잉어를 試料로 擇하여蛋白質의 組成과 肉의 構成 및 遊離아미노酸組成의 差異를 比較 檢討하였으며, 分割한 筋形質蛋白質과 筋原纖維蛋白質 및 細胞內殘渣蛋白質은 SDS-polyacrylamide gel 電氣泳動分析에 의하여 그 構成 subunit의 差異에 關하여도 檢討하였다. 筋肉蛋白質의 組成을 分析한 結果, 1年生은 3年生에 比하여 筋原纖維蛋白質의 量이 6%程度 많았고, 筋形質蛋白質과 細胞內殘渣蛋白質 및 基質蛋白質은 3年生이 1年生보다 조금 많았다. 그리고 電氣泳動像을 解析한 結果, 1年生과 3年生의 筋形質蛋白質은 각각 11個와 10個의 subunit로 構成되어 있었고, 1年生의 分子量 210,000에 該當하는 subunit가 3年生에서는 檢出되지 않는 點을 보였다. 筋原纖維蛋白質에 있어서는 1年生과 3年生이 모두 7.5%와 10% gel의 電氣泳動架橋를 使用했을 때의 分離된 subunit를 合하면 23個의 subunit로 構成되고 있었으며, 年齡別에 따른 subunit組成差異는 거의 없었다. 細胞內殘渣蛋白質에 있어서도 1年生과 3年生間에는 差異가 欠음을 알았다. 한편, 肉의 蛋白質構成아미노酸을 分析한 結果, 두 年齡別 試料間에 構成아미노酸의 量의 比率은 비슷하였다. 그리고 두 年齡別의 試料가 모두 글루탐酸, 아스파르트酸 및 라이신을 어느 程度 많이含有하고 있었다. 遊離아미노酸의 組成에 있어서도 3年生은 아스파르트酸, 이소류신 및 페닐알라닌 等이 조금 많았고, 라이신, 히스티딘, 알기닌, 글루탐酸等의 量은 조금 적었으며, 遊離아미노酸의 總量은 1年生이 3年生보다 많았다.

謝 辞

本研究를 遂行함에 있어 많은 助言을 주신 釜山

水產大學 食品營養學科 卞在亨 教授님과 試料入手를 위하여 도움을 주신 釜山水產大學 養殖學科 金仁培 教授님께 感謝드립니다.

參 考 文 獻

- 日本水產學會編. 1979. 水產食品の鑑定, 27~28. 恒星社厚生閣刊, 東京, 日本.
- Focant, B., F. Huriaux and A. Johnston. 1976. Subunit Composition of fish myofibrills: The light chains of myosin. In. J. Bioc-hem., 7, 129~133.
- 金章亮·崔漢準·卞在亨. 1982. 방어 普通肉斗 血合肉의 蛋白質 및 아미노酸組成의 死後變化. 韓水誌, 15(2), 123~136.
- 今野久仁彥·關伸夫. 1975. コイ筋肉トロポニンの調製について. 日水會誌, 41(12), 1327~1333.
- 佐伯清子·熊谷洋. 1982. 天然および養殖トラフグの成長にともなら一般成分と無機成分の變動. 日水會誌, 48(7), 967~970.
- 坂口守彦·清水亘. 1965. 水產動物肉に関する研究—XXXXV, マサバエキス成分の季節的變動と生長過程中の變化について. 日水會誌, 31(1), 72~75.
- 關伸夫. 1976. 筋原纖維蛋白質의 SDS-ポリアクリルアミドゲル電氣泳動による魚種の判定について. 日水會誌, 42(10), 1169~1176.
- 關伸夫·今野久仁彥. 1975. コイ筋肉の トロポミオシについて. 日水會誌, 41(11), 1135~1141.
- 志水寛·清水亘. 1960. 水產動物肉に関する研究一XXVIII. 魚類筋肉の蛋白組成. 日水會誌, 26(8), 806~809.
- 志水寛·多田政實·遠藤金次. 1973. ブリ筋肉化學組成の季節變化—I. 水分, 脂質および粗蛋白. 日水會誌, 39(9), 993~999.
- Spies, J. R. and D. C. Chamber. 1948. Chemical determinations of tryptophan. Anal. Chem. 20(1), 30~39.
- 高士令二·室塚剛志·新井健一. 1974. コイおよびティラピア背筋ミオシンとウサギ骨格筋ミオシンのlight chain. 日水會誌, 40(10), 1063~1069.
- Weber, K. and M. Osborn. [1969. The reliability of molecular weight determinations by dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. J. Biol. Chem. 244(16), 4046~4412.