

# 방어 Myosin 과 갈색띠 매물고등 Paramyosin 의 물리화학적 성질

변재형 · 최영준

부산수산대학 식품영양학과

## Physicochemical Characteristics of Yellowtail Myosin and Whelk Paramyosin

Jae-Hyeung Pyeun and Yeung-Joon Choi

Department of Nutrition and Food Science, National Fisheries University of Pusan, Pusan

### Abstract

The native myosin and paramyosin extracted from the ordinary muscle of yellowtail (*Seriola quinqueradita*) and the adductor muscle of whelk (*Neptunea arthritica cumingi*) were studied for their physico-chemical characteristics. Molecular weight, molar extinction coefficient at 278 nm and intrinsic viscosity were accounted for  $4.6 \times 10^5$  dalton, 5.44 in  $E_{1\%}^{1cm}$  and 1.60 dl/g in yellowtail myosin, and  $2.0 \times 10^5$  dalton, 3.04 in  $E_{1\%}^{1cm}$  and 2.60 dl/g in whelk paramyosin, respectively. Yellowtail myosin showed a 0.342  $\mu\text{mole-Pi/min/mg-protein}$  of  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase activity and contained 40 group-SH/mole-myosin. The ratio of polar amino acids to non-polar amino acids and that of acidic amino acids to basic amino acids were 0.54 and 1.64 in yellowtail myosin, and were 0.47 and 2.42 in whelk paramyosin, respectively.

### 서 론

수산동물육의 단백질 조성을 보면 대체로 근형질단백질이 30~38%, 근원섬유단백질이 61~68%, 그리고 근기질단백질이 1~5%로서 이루어지며, 이중 특히 근원섬유단백질은 구조단백질로서 척추동물에 있어서는 대부분을 myosin 이, 그리고 무척추동물에 있어서는 상당한 부분을 paramyosin 이 점하고 있다.<sup>(1,2)</sup>

myosin 은 동물육의 구성단백질로서 중요한 뿐만 아니라, 분자가 크고 불안정하기 때문에 육의 성질에도 커다란 영향을 주는 단백질이다. 그리고 myosin 은 근육의 운동기능을 담당하는 단백질로서 이같은 생리적인 기능 이외에 그것의 구조적인 이유 때문에 육의 저장 및 가공중에 민감한 영향을 받으므로 식품학적으로도 그 중요성은 매우 크다.

무척추동물 특히 연체류에 있어서는 이 myosin 이외에 paramyosin 이 많이 함유되어 있으며, 따라서 paramyosin 은 연체류의 육의 성질에 많은 영향을 줄 뿐만 아니라, 연체동물의 운동, 그중에서도 패류의 폐각근이 운동을 할 때에 에너지 소비가 없는 "catch mechanism"을 수행하는 단백질로서, 이 단백질에 관하여도 많은 연구가 이루어져 있다.<sup>(3-5)</sup>

이들 단백질분자의 성질에 관한 연구중, myosin 에 관한 연구를 보면, myosin 의 형태와 구조에 관한 보고<sup>(6-8)</sup>와 ATPase 활성과 ATPase 효소능을 갖는 위치

및 가수분해속도에 관한 연구<sup>(9-12)</sup>가 있고, Ueno 등<sup>(13)</sup>은 myosin 에 미치는 2가 양이온의 효과를 검토하여 보고하였다.

한편 paramyosin 에 관하여는 분자량과 subunit 에 관한 보고<sup>(14-16)</sup> 및 trypsin 가수분해산물에 관하여,<sup>(17,18)</sup> 그리고 아미노산 조성 등과 근섬유중 paramyosin 의 위치와 역할에 대하여 각각 보고된바 있다.<sup>(19,20)</sup>

본 연구는 방어의 보통육과 갈색띠 매물고등의 육을 재료로 택하여 어류와 연체동물육의 주요 구성단백질 중의 하나인 myosin 과 paramyosin 을 각각 분리하고, 이들 단백질의 물리·화학적 성질에 관하여 비교·검토하였다.

### 재료 및 방법

#### 재 료

본 실험에 사용한 방어(*Seriola quinqueradita*: 체중 400~550g, 체장 19~20cm)는 경남 충무근해에서 1985년 8월부터 1986년 4월사이에 어획된 것을, 그리고 갈색띠 매물고등(*Neptunea arthritica cumingi*: 체중 140~250g, 각장 8.5~10.5cm)은 부산근해에서 1985년 3월부터 1985년 9월사이에 잡은 것을 각각 부산시 남구 광안동 어판장에서 구입하여 시료로 하였다.

각 시료는 구입 즉시 저온실험실로 운반하여 방어육

의 myosin 은 등쪽의 보통육을, 그리고 갈색띠 매물고 등육의 paramyosin 은 내전근을 각각 절취하여 추출하였다.

실험중 단백질 시료의 추출용매를 포함하여 모든 시약은 특급을, 그리고 실험에 쓴 모든 물은 탈 이온수를 사용하였다.

한편, myosin 과 paramyosin 의 추출·정제를 포함한 모든 분석은 별도로 제시하지 않는 한, 저온실( $2\pm 2^{\circ}\text{C}$ )에서 행하였다.

#### myosin 및 paramyosin 의 분리·정제

(1) Myosin: myosin 은 방어 보통육에서 Margosian 과 Lowey<sup>(21)</sup>의 방법을 다소 수정하여 추출·정제하였다. 즉, actin 과 myosin 을 보다 효과적으로 분리하기 위하여, sodium pyrophosphate 와  $\text{MgCl}_2$ 에 의한 분리를 2회 더 실시하였으며, C-protein 의 제거와 추출과정 중에 일어나는 변성을 억제할 목적으로 sucrose 와  $\beta$ -mercaptoethanol 을 사용하였다.

(2) paramyosin: Levine 등<sup>(22)</sup>의 방법을 다소 수정하여 추출용매중에  $\beta$ -mercaptoethanol 과 EDTA 를 포함시키고, 추출시간을 단축하여 분리·정제하였다.

#### Myosin 과 paramyosin 의 순도검정

(1) 분광분석: Myosin 은  $0.6\text{M KCl} \cdot 50\text{mM phosphate buffer}$ , pH6.7에, 그리고 paramyosin 은  $0.6\text{M KCl} \cdot 10\text{mM phosphate buffer}$ , pH7.3에 용존된 상태로 분광광도계(Shimadzu, UV 140-02)로 분광분석을 행하였으며, Warburg와 Christian<sup>(23)</sup>에 의한 흡광비를 계산하여 핵산의 오염여부를 검토하였다.

(2) 전기영동분석에 의한 검정: myosin과 paramyosin 시료용액을  $0.6\text{M NaCl} \cdot 10\text{mM phosphate buffer}$ , pH7.0에서 하룻밤 투석한 후에 Weber와 Osborn의 방법<sup>(24)</sup>에 따라 SDS-polyacrylamide gel 전기영동분석을 행하였다. 이때 polyacrylamide gel 의 농도는 각각 7.5%로 조제하여 사용하였다.

한편, 전기영동 상에 나타난 myosin 과 paramyosin 의 subunit 의 분자량은 같은 조건으로 전기영동한 SDS-molecular weight marker (Sigma 제, cross-linked hemoglobin 및 cross-linked albumin)의 상대이동도로써 작도한 분자량-전기영동 관계곡선으로부터 구하여 나타내었다.

#### Myosin 및 paramyosin 의 물리·화학적 성질

(1) 단백질의 아미노산 조성: 정제 myosin 과 paramyosin 을 탈 이온수에서 수시로 외액을 갈면서

24시간 투석하여 탈염시킨 후, 원심분리( $1,500\times g$ , 15 min)하여 얻은 침전물을 acetone으로 충분히 탈수하였다. 그리고 탈수된 단백질은 숲 등<sup>(25)</sup>의 방법에 따라 시료를 조제하여 아미노산 자동분석기(LKB, 4510- $\alpha$ 형)로써 아미노산의 조성을 분석하였다. 이때 threonine, tyrosine 및 serine 은 Yates와 Greaser<sup>(26)</sup>가 보고한 회수율을 근거로 측정치를 보정하여 계산하였다.

한편 tryptophan 은 Hugli와 Moore의 방법<sup>(27)</sup>으로, cysteine 은 Mason 등의 방법<sup>(28)</sup>으로 각각 시료를 조제한 후, 전기 아미노산 분석제로써 분석하였다.

(2) 소수성 잔기의 측정:  $0.6\text{M NaCl} \cdot 0.05\% \text{SDS} \cdot 10\text{mM phosphate buffer}$ , pH7.0에서 myosin 및 paramyosin 의  $0.5\text{mg/ml}$  용액을 하룻밤 투석시킨 다음,  $75^{\circ}\text{C}$ 에서 10분간 가열하고 동일 완충액으로 10배 희석하여 단백질 용액 4ml에  $8\text{mM ANS}$  용액을 10ml 첨가한 후, 감도 20, 여기파장 390nm, 방출파장 470nm에서 형광강도를 형광분광광도계(Shimadzu, RF-530)로써 측정하였다. 이때 형광강도는  $8\text{mM ANS} \cdot \text{methanol}$  용액 20 $\mu\text{l}$ 와 증류수 4ml를 혼합한 용액이 감도 20에서 30%가 되도록 형광강도를 조절하여 측정하였다.

(3) SH 기의 측정: 총 SH 기는 Buttkus의 방법<sup>(29)</sup>에 따라 측정하였다.

(4) 고유점도의 측정:  $20^{\circ}\text{C}$ 에서 용매  $0.6\text{M KCl} \cdot 50\text{mM phosphate buffer}$ , pH6.7에 대한 유속이 78초인 Ostwald형 점도계로써 단백질의 농도별로 각각의 상대점도( $\eta_r$ )를 측정하여 그 고유점도( $[\eta]c \rightarrow 0$ )를 산출하였다.

(5) 염석 및 염용곡선의 측정: 염석곡선의 측정은 L.H. 등<sup>(30)</sup>의 방법에 따라 행하였으며, 단백질의 농도는 Lowry법<sup>(31)</sup>으로 측정하고 황산암모늄의 영향은 농도에 따라 각각 보정하여 계산하였다. 그리고 염용곡선은 渡部의 방법<sup>(32)</sup>에 따라 KCl의 농도를 조절한다음,  $4^{\circ}\text{C}$ 에서 4시간 이상 정지한 후 원심분리( $70,000\times g$ , 60min)하였다. 상층액의 단백질농도는 Lowry법<sup>(31)</sup>으로 측정하여 염용곡선을 구하였다.

(6) 용해도의 측정: myosin 및 paramyosin 용액을  $0.6\text{M KCl} \cdot 60\text{mM citric-Na}_2\text{HPO}_4$  완충액(pH2.6~5.5),  $0.6\text{M KCl} \cdot 60\text{mM phosphate}$  완충액(pH5.5~8.0) 및  $0.6\text{M KCl} \cdot 60\text{mM glycine-NaOH}$  완충액(pH8.6~10.6)에서 충분히 투석시킨 후, 원심분리( $70,000\times g$ , 60min)하여 Lowry법<sup>(31)</sup>에 따라 상층액중의 단백질 농도를 구하여 용해도를 측정하였다.

(7)  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase활성의 측정: K 등의 방법<sup>(33)</sup>에

따라 측정하였다.

결과 및 고찰

Myosin 및 paramyosin의 분리·정제

분리·정제한 myosin 및 paramyosin의 순도는 분광분석과 SDS-polyacrylamide 겔 전기영동법으로 검정하였다(Fig. 1~3)

먼저 myosin의 정제정도에 관하여 보면, Fig.1에 나타난 바와같이 전형적인 단백질의 흡광곡선을 보였으며, E278/E260은 1.46으로서 Warburg와 Christian<sup>(23)</sup>에 의하면 핵산 및 그 관련 물질의 혼재정도는 거의 무시할 정도였고, 파장 278nm에서의 분자흡광계수(B<sub>278</sub><sup>cm</sup>)는 5.44였다.

그리고, 전기영동상과 densitogram을 보면(Fig.2(A), (B),(C)) Margossian과 Lowry의 방법<sup>(21)</sup>(Fig.2(A)를 변

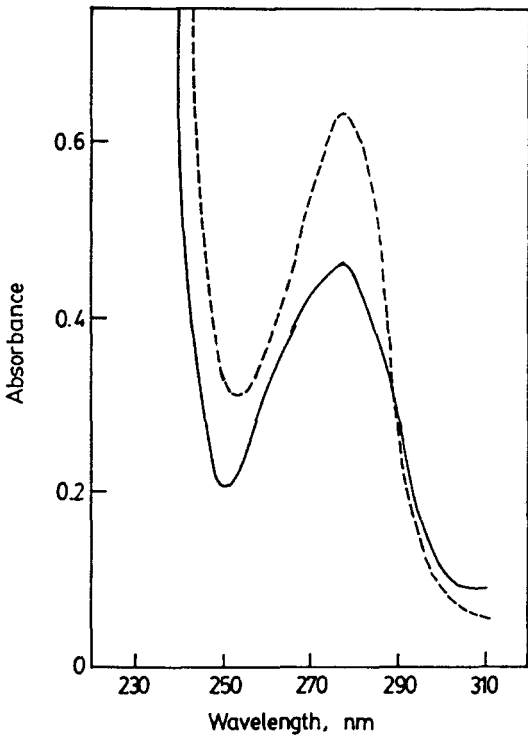


Fig. 1. UV-spectra of yellowtail myosin in 0.6 M KCl-50 mM phosphate buffer, pH 6.7 (—) and whelk paramyosin in 0.6 M KCl-10 mM phosphate buffer, pH 7.3 (---)

The protein concentrations and adjusted to 0.82 mg/ml in yellowtail myosin and to 2.07 mg/ml in whelk paramyosin.

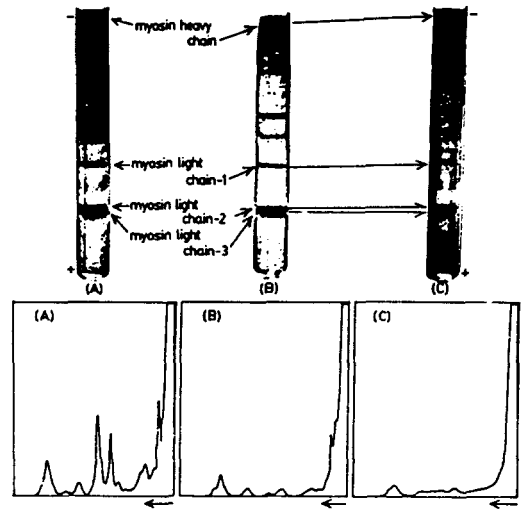
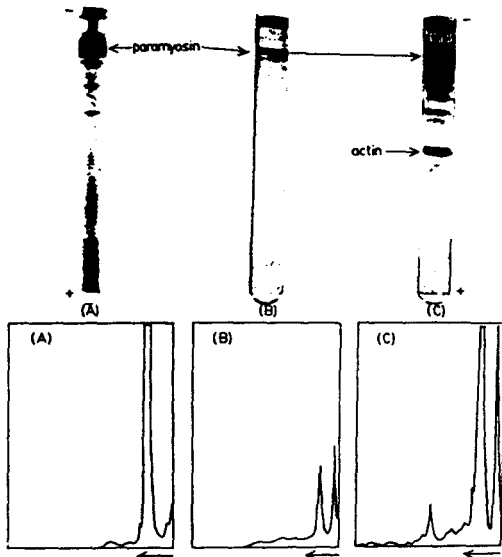


Fig. 2. SDS-PAGE electrophoretic patterns (upper) and densitometric recordings (lower) of purified myosin from yellowtail ordinary muscle

- (A) Myosin prepared by the method of Margossian and Lowry (1982).
- (B) Myosin prepared by the modified Margossian and Lowry's method.
- (C) Myosin prepared by the modified method using sucrose solution.

형하여 ATP 대신에 0.01M sodium pyrophosphate로 2회 처리하고, 추출시간을 대폭 단축하여 정제했을 때는 Fig.2(B)에서 알 수 있는바와 같이 C-protein으로 판단되는 단백질이 불순물로서 혼재하고 있었다. 따라서 0.01M MgCl<sub>2</sub>, 0.01M sodium pyrophosphate 용액중에서 actin을 3회 분리시키고, 원심분리 과정에서 sucrose로써 농도구배법으로 분리·정제한 결과, Fig. 2(C)에서와 같이 myosin의 순도가 아주 높으며, C-protein과 actin의 혼재도 무시할 수 있을 정도임을 알 수 있었다. 따라서 이후의 방어 보통육 myosin의 성질과 변성에 관한 분석은 모두 이같이 정제한 myosin을 시료로 하였다. Buttke<sup>(34)</sup>는 DMSO를 사용하여 지질과 핵산을 제거하는 과정을 거쳐 정제한 송어 myosin의 E<sub>278</sub>/E<sub>260</sub>은 1.37이었다고 하였으며, Margossian과 Lowry<sup>(21)</sup>는 토끼육 myosin의 280nm에서의 B<sub>278</sub><sup>cm</sup>는 5.3이라고 보고하였는데, 이들 보고내용에 비추어 본연구에 사용한 myosin의 순도 및 농도는 실험목적으로 뛰어난 것을 알 수 있었다.

한편 paramyosin의 정제정도에 관하여 보면, 핵산의 혼재여부를 검토하기 위한 분광분석의 결과(Fig.1),



**Fig. 3. SDS-PAGE electrophoretic patterns (upper) and densitometric recordings (lower) of whelk paramyosin**

- (A) Sample prepared by the modified Levines' method.  
 (B) Sample stored for 3 months after treating SDS for electrophoretic analysis.  
 (C) Sample prepared by the method of Johnson and Kahn.<sup>(35)</sup>

E278/E260은 1.74로서 핵산 및 그 관련물질의 존재는 거의 없는 것으로 판단되었으며, 파장 278nm에서의  $B_{278}^{260}$ 는 3.04이었다.

그리고 전기영동상과 그 densitogram을 보면(Fig.3 (A),(B),(C)) Johnson과 Kahn의 방법<sup>(35)</sup>에 따라 정제했을 때는 actin보다 분자량이 크고, paramyosin보다 분자량이 약간 작은 몇개의 단백질이 존재하였다(Fig.3 (C)). 그러나, Levine의 방법<sup>(22)</sup>을 다소 수정한 방법에 따라 정제한 paramyosin은 순도가 아주 높으며(Fig.3 (A)), actin과 그의 저분자량의 물질은 densitogram상에서 거의 무시할 수 있는 정도임을 확인 할 수 있었다.

한편, Fig.3(B)는 수정한 Levine의 방법에 따라 정제한 paramyosin 전기영동시료를  $-20^{\circ}\text{C}$ 에서 3개월간 저장한 시료로서 분자량이 200,000 dalton에 해당하는 미지의 band가 출현하였다. 이같은 실험의 결과와 관련하여 Stafford III와 Yphantis<sup>(36)</sup>는 백합 paramyosin의 SDS-polyacrylamide 겔전기영동상에서 주 band보다 분자량이 2배 가량인 작은 band는 전기영동을 위해 SDS 화한 후, 사슬의 재조합으로 인해 생긴 것이라

고 보고하였다. 그리고 Riddiford와 Scherage<sup>(4)</sup>는 백합 paramyosin의 자외부 spectrum은 277nm에서 최대이며, 250~253nm에서 최소를 나타내고, 277nm에서의  $B_{277}^{250}$ 는 3.05이었다고 보고하였다.

#### Myosin과 paramyosin의 물리·화학적 성질

(1) 아미노산 조성: 방어 보통육 myosin의 아미노산 조성을 측쇄의 종류별로 구분하여 나타내면 Table 1과 같다.

Table 1에서 알 수 있듯이 방어 보통육의 myosin은 glutamic acid, aspartic acid, lysine, alanine, leucine의 순으로 함량이 높았으며, 특히 myosin 1 mole당 tryptophan은 37 mole, 1/2cysteine은 41 mole의 잔기를 함유하고 있었다. 또한 산성아미노산 중 glutamic acid에 대한 aspartic acid의 비는 1.7이고, lysine대 arginine의 비가 1.90으로서, Buttks<sup>(34)</sup>가 보고한 송어 myosin의 산성아미노산의 비와는 거의 일치하였으나, 염기성아미노산의 비와는 다소 차이가 있었고, 비극성아미노산 대 극성아미노산 잔기의 비는 0.54이었다. 그리고 방어 보통육 myosin 1 mole당 4030개의 아미노산 잔기를 함유하고 있었다. 이같은 실험의 결과는 Lowey와 Cohen<sup>(37)</sup>이 토끼육 myosin에 대하여 보고한 아미노산 잔기수 및 조성과 대체로 비슷하였다.

한편, 갈색띠 매물고등의 paramyosin(Table1)은 1 mole당 1694개의 아미노산 잔기를 함유하고 있었으며, glutamic acid, aspartic acid, leucine, alanine, arginine의 순으로 많았다. 그리고, tryptophan은 함유하지 않았으며, 1/2 cysteine은 흔적량 정도 검출되어 계산이 불가능하였다. 이같은 결과를 K<sup>(35)</sup>이 보고한 전복과 소라의 경우와 비교해 보면, 대체로 비슷한 경향을 보이고 있으나, arginine, aspartic acid와 glutamic acid의 함량에 다소 차이를 보였다.

본실험의 결과, paramyosin의 산성아미노산 중 glutamic acid에 대한 aspartic acid의 비는 1.60이고, lysine과 arginine의 비는 0.68로서, Halsey와 Harrington<sup>(17)</sup>이 백합 paramyosin의 glutamic acid와 aspartic acid의 비가 1.63이라고 보고한 것과 Riddiford와 Scherage<sup>(4)</sup>가 백합 paramyosin의 lysine과 arginine의 비가 0.67이라고 보고한 것과 거의 비슷하였다. 그리고 비극성아미노산과 극성아미노산의 비는 0.47로서 방어 보통육 myosin의 그것에 비하여 다소 낮은 편이었다.

(2) SH기 및 소수성기: 방어 보통육의 myosin 및 갈색띠 매물고등 paramyosin의 총 SH기와 소수성의

**Table 1. Amino acid composition of yellowtail myosin and whelk paramyosin** (residues/protein mole)

Amino acid	Non-polar		Amino acid	Polar	
	Yellowtail myosin	Whelk paramyosin		Yellowtail myosin	Whelk paramyosin
Trp	37	0	Negative charge		
Ile	161	54	Asp	414	244
Phe	133	20	Glu	704	390
Pro	83	14	Positive charge		
Leu	331	198	Lys	446	106
Val	198	76	Arg	235	156
Met	115	6	Uncharged at pH 7		
Ala	359	174	Gly	193	44
			Ser	198	86
			Thr	184	82
			1/2 Cys	41	Tr
			Tyr	101	20
			His	97	24

Moles of acidic amino acid residues/moles of basic amino acid residues: {Yellowtail myosin, 1118/681  
Whelk paramyosin, 634/262

Moles of non-polar amino acid/moles of polar amino acid: {Yellowtail myosin, 1417/2613  
Whelk paramyosin, 542/1152

Total moles of amino acid residues: {Yellowtail myosin, 4030  
Whelk paramyosin, 1694

정도를 각각 측정하여 Table 2에 나타내었다.

Table 2에 나타낸바와 같이 SH 기는 paramyosin 에서는 검출되지 않았으나, myosin 은 mole 당 40이었다. 이와 관련하여 高士<sup>(10)</sup>은 N-ethylmaleimide 로 SH

기를 측정했을 때 잉어 myosin 은 mole 당 31~34개의 SH 기를 갖는다고 보고하였으며, Cowgill<sup>(38)</sup>은 백합 paramyosin 의 SH 기를 측정한 결과 환원된 paramyosin 은 mole 당 4.04~4.27개의 SH 기를 가진다고 보고하였다.

한편 소수성의 정도를 형광법으로 측정한 myosin 과 paramyosin 의 형광강도와 아미노산 조성비로써 Tanford<sup>(39)</sup>가 제안한 각 아미노산 잔기에 대한 자유에너지 값으로 계산한 소수성의 이론치를 Table 2에 나타내었다. 형광법으로 측정했을 때 unfolding 된 myosin 과 paramyosin 의 소수성기의 노출정도는 형광강도로써 각각 740과 486이었으며, 아미노산 조성에 따른 측쇄기로서 계산한 값은 myosin 이 940cal, paramyosin 이 768cal 이었다.

Goldsack<sup>(40)</sup>은 각종 단백질의 아미노산 조성으로 소수성을 계산한 결과, 토끼 myosin 은 1011cal, 송어 myosin 은 1004cal, 대구 myosin 은 979cal 라고 하였으며, 소수성의 정도는 서식환경온도와 관계가 있다고 보고하였다. 본실험의 결과와 비교해 볼 때, 방어 보통육 myosin 은 소수성잔기의 노출이 대체로 적음을 확인할 수 있었다.

**Table 2. The physico-chemical properties of yellowtail myosin and whelk paramyosin**

	Myosin	Paramyosin
Molecular weight (Me)	460,000	200,000
Molar extinction coefficient ( $E_{1\%}^{1cm}$ )	5.44	3.04
Intrinsic viscosity (dl/g)	1.60	2.60
SH group (residues/mole)	40	—
Hydrophobicity (FI)	740(940)	468(768)
Ca <sup>2+</sup> -ATPase activity ( $\mu$ moles-Pi/min·mg-protein)	0.342	—

( ) : Theoretical value in calorg Tanford<sup>(39)</sup>

(3) 분자량 : 정제된 방어 보통육 myosin 과 갈색머

매물고등 paramyosin 의 subunit 별 분자량을 전기영동법으로 측정하여 Fig. 4에 나타내었다. 방어 보통육 myosin 의 HMM 은 200,000 dalton 이었고, LC-1, 2 및 3이 각각 25,000 dalton, 17,500 dalton 및 15,500 dalton 이었다. 한편 갈색띠 매물고등 paramyosin 의 subunit 는 Fig.4에서와 같이 100,000 dalton 이었다.

Gershman<sup>(6)</sup>은 토끼 골격근 myosin 의 분자량은 약 468,000dalton 이라고 하였으며, Watabe 와 Hashimoto<sup>(41)</sup>는 고등어 myosin 보통육의 LC 는 3개이며, 각각의 분자량은 26,500, 20,000 및 17,500 dalton 이라고 보고하였다. 그리고 Olander<sup>(16)</sup>는 백합(*Venus mercenaria*)의 paramyosin 은 2개의 subunit 를 가지며, 분자량은 각각 108,000 dalton 이라고 보고하였다. 본실험의 결과와 비교해 보면 myosin 의 경우 LC 의 수는 고등어와 같으나 분자량은 다소 적은 편이었으며, 갈색띠 매물고등의 paramyosin 은 백합 paramyosin 의 분자량과 거의 일치함을 확인하였다.

(4) 고유점도, 염석 및 염용곡선: 분리·정제한 myosin 과 paramyosin 에 대하여 환원점도를 단백질의 농도별로 측정하고, 그 고유점도를 Fig. 5에서와 같이 구하였다. 20°C 에서 측정한 방어 보통육 myosin 의 고유점도는 1.60이었으며, 갈색띠 매물고등 paramyosin

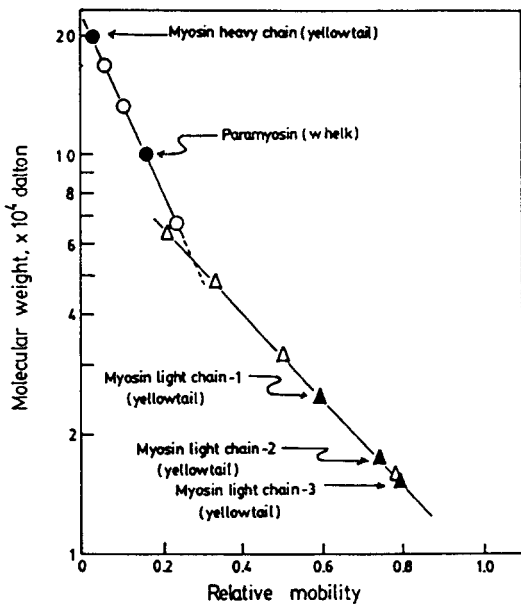


Fig. 4. Molecular weight determination of yellowtail myosin and whelk paramyosin by SDS/7.5% polyacrylamide gel electrophoresis

Cross-linked albumin(O) and hemoglobin(Δ) were used as marker protein.

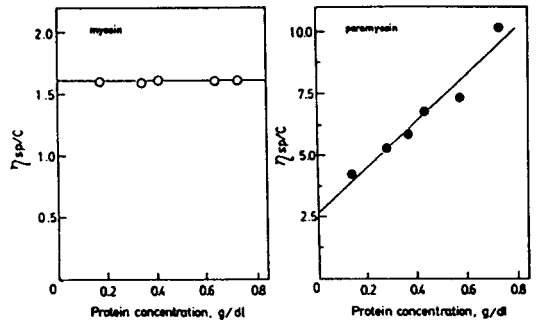


Fig. 5. Reduced viscosity of yellowtail myosin and whelk paramyosin as a function of protein concentration

The solvent was 0.6 M KCl-50 mM phosphate buffer, pH 6.7, for yellowtail myosin and 0.6 M KCl-10 mM phosphate buffer, pH 7.3.

의 고유점도는 2.60이었다.

한편 高士 등<sup>(42)</sup>은 잉어 myosin 의 고유점도는 1.75~1.90이라고 보고하였으며, 卜<sup>(43)</sup>은 소라 및 전복 paramyosin 의 고유점도는 25°C 에서 각각 2.6과 3.1이라고 보고하였고, 渡部<sup>(32)</sup>는 가리비 paramyosin 의 고유점도는 2.60이라고 보고하였다.

본실험의 결과와 비교해 보면, 방어 보통육 myosin 의 고유점도는 다른 어종에 비하여 다소 낮은 편이었으나, 갈색띠 매물고등 paramyosin 의 고유점도는 다른 패류 및 복족류의 고유점도와 비슷하였다.

방어 보통육 myosin 과 갈색띠 매물고등 paramyosin 으로 측정된 염석 및 염용곡선을 각각 Fig. 6 과 Fig. 7에 나타내었다. Fig. 6에서 알 수 있듯이 방어 보통육 myosin 은 황산암모늄포화 20~50%, 그리고 갈색띠 매물고등 paramyosin 은 20~40%의 범위내에서 염석되어 방어 보통육 myosin 이 갈색띠 매물고등 paramyosin 보다 황산암모늄에 의한 염석범위가 넓은 것을 알 수 있었다.

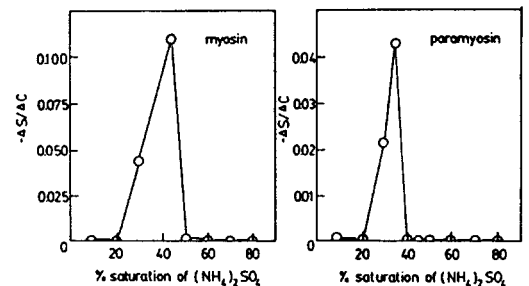


Fig. 6. Salting-out curves of yellowtail myosin and whelk paramyosin

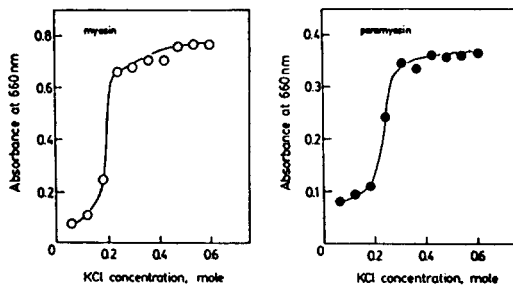


Fig. 7. Salting-in curves of yellowtail myosin and whelk paramyosin

I.HI 등<sup>(30)</sup>은 몇가지 어류의 myosin을 염석한 결과, 농어는 황산암모늄 포화 28~43%에서, 보구치는 27~49%의 범위에서 염석된다고 보고하였다.

그리고 Fig. 7의 염용곡선에서 myosin은 KCl 농도 0.12 mole에서, paramyosin은 0.18 mole에서 용해하기 시작하여 myosin은 KCl 농도 0.24 mole 이후부터 KCl의 농도증가와 더불어 완만하게 용해도가 증가하는 경향이였으며, paramyosin은 KCl 농도 0.3 mole 전후에서 완전히 용해하였다.

Tomioka<sup>(43)</sup>등은 닭새우의 myosin은 pH 6.5일 때 KCl 농도 0.05 mole에서 용해하기 시작하여 0.25 mole 전후가 되면 거의 용해된다고 보고하였으며, 液部<sup>(32)</sup>는 가리비 paramyosin은 KCl 농도 0.16 mole 부근에서 용해하기 시작하여 0.35 mole 이상에서 완전히 용해한다고 보고하였다. 본실험의 결과와 비교해 보면 거의 일치하는 경향이였다.

한편 myosin과 paramyosin 용액을 이온강도는 동일하나 pH가 각각 다른 완충액에서 충분히 투석하여 용해도를 측정된 결과를 Fig. 8에 나타내었다. 방어 보통육 myosin은 pH 5.0에서, 그리고 갈색띠 매물고등 paramyosin은 pH 5.6에서 용해도가 최소인 것에 비추어 방어 보통육 myosin과 갈색띠 매물고등 paramyosin의 등전점은 각각 pH 5.0과 pH 5.6부근으로 생각된다.

염용성 단백질의 등전점과 관련하여 Szent-Györgyi 등<sup>(4)</sup>은 섬유상단백질의 등전점은 대부분이 pH 5~pH 6이라고 하였으며, Tanikawa와 Yamashita<sup>(44)</sup>는 전복 염용성단백질의 등전점은 pH 5.2라고 보고하였다.

**Ca<sup>2+</sup>-ATPase 활성**

방어 보통육 myosin의 Ca<sup>2+</sup>-ATPase 활성은 0.342  $\mu\text{moles-Pi}/\text{min}/\text{mg-protein}$ 으로서 高<sup>(10)</sup>가 0.05 mole KCl 용액중에서 잉어 myosin의 Ca<sup>2+</sup>-ATPase

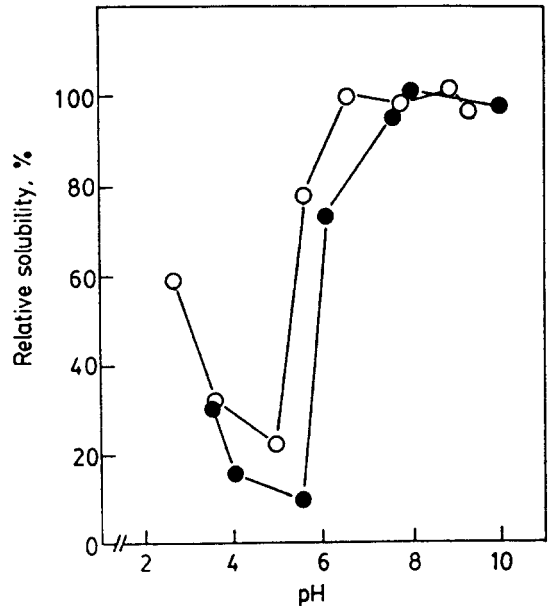


Fig. 8. Solubility of yellowtail myosin(O) and whelk paramyosin (●) as a function of pH

The solubility was measured by dialysis of the protein solution at various pH of buffer solution.

활성이 0.311  $\mu\text{moles-Pi}/\text{min}/\text{mg-protein}$ 이라고 보고한 것에 비해 다소 높은 편이었다.

한편, 갈색띠 매물고등 paramyosin은 Ca<sup>2+</sup>-ATPase 활성을 갖고 있지 않았다.

**요 약**

수산동물의 근육단백질 중 특히 많은 분포를 보이며, 생리적으로 뿐만 아니라 식품학적으로도 중요한 myosin과 paramyosin을 방어 보통육과 갈색띠 매물고등에서 추출하여 각각의 물리·화학적 성질을 비교·검토하였다.

방어 보통육 myosin은 분자량  $4.6 \times 10^5$  dalton, 278 nm에서의 분자흡광계수(B<sub>278</sub><sup>cm</sup>) 5.44, 고유점도 1.60 dl/g 및 그 소수성에 따른 형광강도는 740이였으며, 용해도에 비추어 등전점은 pH 5.0부근이었다. 한편 갈색띠 매물고등 paramyosin은 분자량  $2 \times 10^5$  dalton, 278 nm에서의 분자흡광계수(B<sub>278</sub><sup>cm</sup>) 3.04, 고유점도 2.60 dl/g 및 그 소수성에 의한 형광강도는 468이였으며, 등전점은 pH 5.6부근이었다. 그리고 방어 myosin의 Ca<sup>2+</sup>-ATPase 활성은 0.342  $\mu\text{moles-Pi}/\text{min}/\text{mg-protein}$ 이었고, 분자당 40개의 SH기를 함유하고 있었다.

아미노산 조성의 분석 결과, 방어 보통육 myosin 과 갈색띠 매물고등 paramyosin 의 총아미노산의 잔기수는 단백질 1 mole 당 각각 4030잔기와 1694잔기이었으며, 극성 대 비극성 아미노산의 비율은 0.54와 0.47이었고, 산성 대 염기성 아미노산의 비율은 1.64와 2.42 이었다.

ANS	: 1-anilino-8-naphthalene sulfonate
ATP	: Adenosine triphosphate
Ca <sup>2+</sup> -ATPase	: Adenosine triphosphatase in presence of Ca <sup>2+</sup> ion
DMSO	: Dimethylsulfoxide
DTNB	: 5,5'-dithiobis (2-nitrobenzoic acid)
EDTA	: Ethylenediaminetetraacetic acid
FI	: Fluorescence intensity
HMM	: Heavy meromyosin
LC	: Myosin light chain
Pi	: Inorganic phosphate
PMSF	: Phenylmethylsulfonic fluoride
SDS	: Sodium dodecylsulfate
SH	: Sulfurhydryl radical
$\eta_{sp}$	: Specific viscosity
Me	: Molecular weight determined by electrophoresis
s	: Solubility

## 문 헌

- Matsumoto, J.J.: *Proteins at low temperatures*, Fennema, O.(ed.), American Chemical Society, Washington, D.C. p.205 (1979)
- Suzuki, T.: *Fish and Krill Protein*, Applied Science Publishing, London, p.1 (1981)
- Kendrick-Jones, J., Lehman, W. and Szent-Gyorgyi, A.G.: *J. Mol. Biol.*, **54**, 313 (1970)
- Szent-Gyorgyi, A.G., Cohen, C., and Kendrick-Jones, J.: *J. Mol. Biol.*, **56**, 239 (1971)
- 卞在亨: *韓國營養食糧學會誌*, **2**, 1(1973)
- Rice, R.V., Brady, A.C., DePue, R.H., and Kelly, R.E.: *Biochemistry*, **345**, 370 (1966)
- Gershman, L.C.: *Biochemistry*, **9**, 1677 (1970)
- Kretzchman, K.M., Mendelson, R.A., and Morales, M.F.: *Biochemistry*, **17**, 2314 (1978)
- Riddiford, L.M., and Rice, R.V.: *Biopolymers*, **9**, 1 (1970)
- 高士令二: *日本水産學會誌*, **39**, 197(1973)
- Kimura, I., Arai, K.I., and Watanabe, S.: *J. Biochem.*, **86**, 1629 (1979)
- Marston, S.B., and Taylor, E.W.: *J. Mol. Biol.*, **139**, 573 (1980)
- Ueno, H., Rodgers, M.E., and Harrington, W.F.: *J. Mol. Biol.*, **168**, 207 (1983)
- Riddiford, L.M., and Scherage, H.A.: *Biochemistry*, **12**, 693 (1962)
- Lowey, S., Kucera, J., and Holzer, A.: *J. Mol. Biol.*, **7**, 234 (1963)
- Olander, J.: *Biochemistry*, **10**, 601 (1971)
- Halsey, J.F., and Harrington, W.F.: *Biochemistry*, **12**, 693 (1973)
- Edwards, H.H., Johnson, W.H., and Merrick, J.P.: *Biochemistry*, **16**, 2255 (1977)
- Chou, P.Y., and Fasman, G.D.: *Biochemistry*, **13**, 222 (1974)
- Elloit, A., and Benett, P.M.: *J. Mol. Biol.*, **176**, 477(1984)
- Margossian, S.S. and Lowey, S.: in *Method in Enzymology*, Frederikson, D.W. and Cunnningham, L.W. (ed.) Academic press, New. York. vol 85, p. 149 (1982)
- Levne, R.J.C., Elfvin, M.J. and Sawyma, V.: in *Method in Enzymology*, Frederikson, D.W. and Cunnningham, L.W. (ed.) Academic press, New. York. vol 85, p. 159 (1982)
- Warburg, O. and Christian, W.: *Biochem. Zeit.*, **310**, 384 (1941)
- Weber, K. and Osborn, M.: *J. Biol. Chem.*, **244**, 4406 (1969)
- 金章亮, 崔暎準, 卞在亨: *韓國水産學會誌*, **15**, 132(1982)
- Yates, L.D. and Greaser, M.L.: *J. Mol. Biol.*, **168**, 123 (1983)
- Hugli, T.E. and Moore, S.J.: *J. Biol. Chem.*, **247**, 2828 (1972)
- Mason, V.C., Anderson, S.B. and Rudemo, M.: *Proc. 3rd EAAP Symp. on Protein Metabolism and Nutrition* vol. 1, 351 (1980)
- Buttkus, H.: *Can. J. Biochem.*, **49**, 97 (1971)
- 上田保男, 志水寛, 清水亘: *日本水産學會誌*, **28**, 1005(1960)
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.C. and Ranall, R.J.: *J. Biol. Chem.*, **193**, 265 (1951)



32. 渡部終五：日本東京大學博士學位請求論文(1976)
33. 卞在亨, 崔映準, 鄭雨泳：釜山水產大學研究報告誌, **24**, 13(1984)
34. Buttkus, H.: *J. Fish Res. Bd. Canada*, **23**, 563 (1966)
35. Johnson, W.H. and Kahn, J.S.: *Science*, **130**, 160 (1959)
36. Stafford III, W.F. and Yphantis, D.A.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **49**, 848 (1972)
37. Lowey, S. and Cohen, C.: *J. Mol. Biol.*, **4**, 293 (1962)
38. Cowgill, R.W.: *Biochemistry*, **13**, 2467 (1974)
39. Tanford, L.: *Protein Denaturation*, Adv. Protein Chem., Academic press, New York, p. 1 (1968)
40. Goldsack, D.E.: *Biopolymers*, **9**, 247(1969)
41. Watabe, S. and Hashimoto, K.: *J. Biochem.*, **87**, 1491 (1980)
42. 高士令二, 新井健一, 齊藤恒行：日本水產學會誌, **36**, 169(1970)
43. Tomioka, H., Yamaguchi, K., Hashimoto, K. and Matura, F.: *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **40**, 1269(1974)
44. Tamikawa, E. and Yamashita, J.: *Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ.*, **12**, 210 (1961)

---

(1986년 9월 23일 접수)