

담수어와 해수어의 근원섬유단백질의 특성 비교

신완철[†] · 송재철 · 홍상필* · 김영호*

울산대학교 식품영양학과

*한국식품개발연구원

Comparison of Biochemical Characteristics of Myofibrillar Protein from Fresh Water Fish and Sea Water Fish

Wan-Chul Shin[†], Jae-Chul Song, Sang-Pill Hong* and Young-Ho Kim*

Dept. of Food and Nutrition, Ulsan University, Ulsan 680-749, Korea

*Korea Food Research Institute, Seongnam 463-420, Korea

Abstract

Myofibril and actomyosin were prepared from red muscle and white muscle of fresh water fish and sea water fish, and their biochemical characteristics and SDS-PAGE patterns of myofibril were compared. SDS-PAGE analysis showed that electrophoretic patterns of myofibril were similar between white muscle and red muscle, while difference of 30kDa component of myofibril was detected between fresh water fish and sea water fish. When myofibril were treated with trypsin, difference in hydrolysis of heavy chain was observed between white muscle and red muscle. In activities of Ca-ATPase, Mg-ATPase, EDTA-ATPase and ATPase activity-pH curve, myofibrillar protein from fresh water fish showed higher specific activity than those from sea water fish.

Key words: myofibrillar protein, fresh water fish and sea water fish, biological activity, SDS-PAGE

서 론

어류의 단백질 조성을 보면 대체로 근장 단백질이 30~38%, 근원섬유단백질이 61~68%, 그리고 육기질 단백질이 1~5%로서 이루어져 있다(1). 이들 단백질 중 기능적 역할의 중심이 되는 성분은 근원섬유단백질로서 여기에는 myosin, actin, troponin, tropomyosin, α , β , γ -actin, M-protein 그리고 C-protein 등이 있으며 이들 단백질은 근섬유상에 질서정연하게 배열되어 구조단백질로서의 형태유지의 기능과 운동장치(motile system)로서의 기능을 동시에 나타낸다는 사실이 밝혀지고 있으며, 이들 단백질들은 화학적 energy를 기계적 energy로 효율적으로 전환시켜줌으로 고도로 정밀한 화학기제로 비유되고 있다(2-6).

어육제품의 주재료인 골격근은 red fiber와 white fiber의 조성비에 따라 red muscle과 white muscle로 분류되며 이 두 type은 성분함량, 형태학적 및 생화학적 차이가 있는 것으로 밝혀지고 있다. 이와 같은 red mus-

cle과 white muscle은 근원섬유의 구성단백질 조성 및 생물활성에 차이가 있음이 보고되고 있으며(7) 또한 Egelandsdal 등(8)은 고기에서 가장 풍부한 단백질로서 육제품의 결착력에 중요하게 인식되고 있는 myosin의 기능적 특성에 대한 연구에서 red myosin과 white myosin간에 차이가 있음을 보고하고 있다. 또 한편으로는 myosystem(meat or fish)의 근원에 따라 단백질의 기능성에 상당한 차이를 보이고 있는 것으로 밝혀지고 있어(9,10) 어류의 근원섬유단백질의 생물활성도 본질적으로는 동일한 형태를 나타내지만 각각의 동물체는 다양한 환경속에서 최적의 생물활성을 유지하도록 짜여진 생물체계를 가지고 있을 것으로 예상되었다(11).

따라서 본 연구에서는 생물환경이 전혀 다른 해수어와 담수어간에 있어서도 차이를 나타낼 것으로 예상되어 일상생활에서 식용으로 많이 이용되고 있는 해수어인 방어와 담수어인 향어를 각각 선택하여 white muscle과 red muscle로 분리하였으며 또한 이들로부터 근원섬유단백질을 조제하여 Ca, Mg, EDTA 및 pH에 따

[†]To whom all correspondence should be addressed

른 생물활성과 SDS-polyacrylamide gel의 전기영동상을 비교 조사함으로써 동일한 생리적 기능을 가진 근원섬유단백질의 특성에 관한 정보를 얻고자 하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험의 시료는 울산시 남구 무거동에 위치한 활어시장에서 구입하였다. 담수어로는 향어(Leather carp, *Cyprinus Carpio nudus*) 그리고 해수어로는 방어(Yellow tail, *Seriola quinqueradiata temmink et schlegel*)를 구입하였으며, 무게는 1kg 정도였다. 실험 전에 white muscle과 red muscle로 분리하였으며, 지방 및 결체조직 등을 제거한 후 사용하였다.

근원섬유단백질의 조제

Myofibril의 조제는 Yang(12)의 방법에 의하여 조제하였으며, actomyosin의 조제는 Shin(13)의 방법에 따라 조제하였다.

Trypsin에 의한 myofibril의 가수분해

Myofibril과 trypsin의 중량비를 100:1로 하여 0.5M KCl-0.05M Tris-HCl buffer(pH 7.5)와 혼합하여 30°C에서 서서히 저어주면서 반응시켰다. 반응 시간별로 위의 반응액을 일정량씩 취해 2배의 trypsin inhibitor를 첨가하여 줄이어서 반응을 정지시켰다.

ATPase의 활성 측정

0.25mg/ml myofibrillar proteins, 1mM MgCl₂, 10mM CaCl₂, 1mM EDTA, 1mM ATP, 25mM Tris-HCl buffer(pH 8.0)의 혼합액을 30°C의 water bath상에서 5분간 반응시켰다. 반응은 5분 후 최종 농도 4% TCA를 첨가하여 ice bath상에서 정지시켰다. ATPase의 활성은 1mg의 단백질에 의하여 1분간 유리되는 무기인산(Pi)을 μmole 로 표시하였다.

전기영동 분석

전기영동은 SDS-polyacrylamide gel electrophoresis (Mini-Protean II cell, Bio-Rad)를 Laemmli(14)의 discontinuous buffer system에 따라 slab gel apparatus에서 행하였다.

단백질 용액은 glycerol, 2-mercaptoethanol, 0.5M Tris-HCl buffer(pH6.8), 10% SDS, 0.05% bromophenol blue 그리고 0.5mg/ml 단백질을 혼합하여 95°C

에서 4분간 가열시킨 후 5분간 원심분리하여 얻은 상등액을 사용하였다.

전기영동은 10% gel에서 60mA의 전류로 실온에서 40분간 수직영동시켰으며, 전기영동 후 단백질 염색은 commassie brilliant blue R-250으로 염색하였다. 탈색은 1차용액(MeOH:acetic acid:D.W=50:9.2:40.8, v/v/v)에서 1~2시간 진탕하여 탈색시킨 후 2차 용액(MeOH:acetic acid:D.W=10:7.5:82.5, v/v/v)에서 완전히 탈색시켰다.

Marker는 Bio-Rad사 제품인 prestained SDS-page standards(broad range)를 사용하였다.

결과 및 고찰

근원섬유 구성 단백질의 전기영동상의 비교

근세포의 대부분을 차지하는 근원섬유는 다종의 단백질로 구성되는 거대분자이므로 많은 연구자들은 근세포의 특성을 밝히기 위한 일환으로서 근원섬유단백질을 많이 이용하고 있다. 따라서 생활환경이 전혀 다른 담수어와 해수어간에 있어서 근원섬유단백질의 조성에 차이가 있는지를 검토하였다.

Young과 Davey(15) 및 Billeter 등(16)은 골격근의 근원섬유단백질을 전기영동상으로 분석한 결과 근섬유 type간에 서로 차이가 있음을 보고하였으며, Renee 등(17)은 골격근에서 white muscle과 red muscle간의 구성에 차이가 있음을 보고하고 있다. 또한 어류의 근원섬유단백질의 주요 구성성분인 myosin, actin, troponin complex 및 light chain 등의 구성분포나 함량이 어종에 따라 약간씩 차이가 있는 것으로 알려지고 있으며, 어류의 myosin을 구성하는 light chain으로는 3종류가 존재하며 어종이나 근육의 type에 따라 전하량이나 분자량에 차이가 있음이 보고되고 있다(18).

Fig. 1은 담수어인 향어의 white muscle과 red muscle로부터 조제된 myofibril의 전기영동상과 myofibril에 trypsin을 시간별 처리하였을 때의 전기영동상을 나타낸 것이다. White muscle과 red muscle 둘다 myofibril의 주요 구성단백질인 heavy chain(HC) 그리고 actin을 포함한 troponin과 light chain(LC)의 band를 거의 같은 위치에 나타내는 것으로 보아 muscle type간에 차이가 없는 것으로 예측된다.

Trypsin처리 시간에 따른 전기영동상을 보면 white muscle과 red muscle 둘다 30kDa 성분과 LC₁(25.5kDa)이 trypsin처리 전에는 약하게 나타나나, trypsin처리 후 LC₁은 급격히 분해되는 반면 30kDa 성분은 증가되는 현상을 나타내고 있다. 한편 HC의 경우는 trypsin처

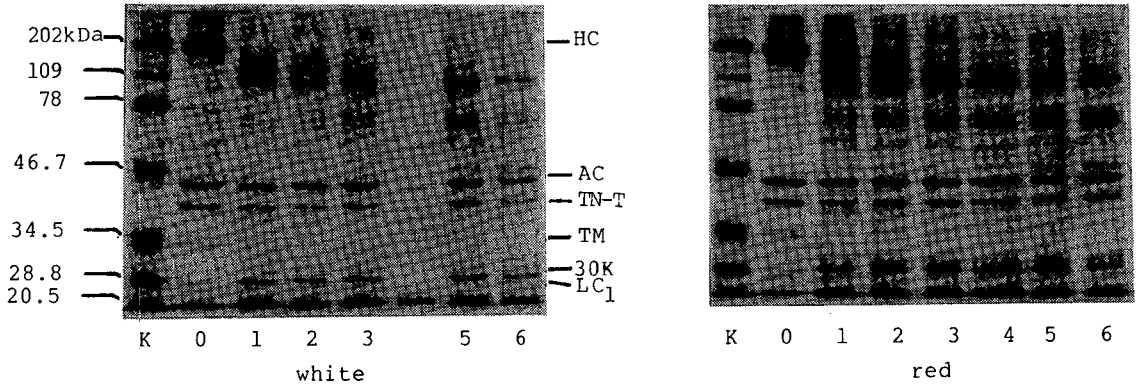


Fig. 1. Comparison of 10% SDS-polyacrylamide gel electrophoresis of myofibril from leather carp muscle.
 0: treated with trypsin for 0 min., 1: treated with trypsin for 3 min., 2: treated with trypsin for 5 min., 3: treated with trypsin for 7 min., 4: treated with trypsin for 10 min., 5: treated with trypsin for 20 min., 6: treated with trypsin for 30 min., K: molecular weight markers, HC: myosin heavy chain, AC: actin, TN-T: troponin-T, TM: tropomyosin, LC₁: light chain 1.

리 3분에서 보는 바와 같이 분해되어 약 110kDa 전후의 band를 나타내고 있는데 이는 HC이 SF₁과 SF₂로 분리되므로 나타나는 것으로 해석된다. 이러한 HC의 분해는 white muscle이 red muscle에 비해 trypsin의 영향을 많이 받는 것으로 나타나고 있으며, 한편 actin의 경우는 둘다 trypsin처리에 의해 영향을 거의 받지 않는 것으로 나타나고 있다.

Fig. 2는 해수어인 방어의 myofibril의 전기영동상으로서 향어와 마찬가지로 muscle type간에는 차이를 보이지 않고 있으며 trypsin처리 시간에 따른 전기영동상도 유사하게 나타나고 있어 muscle type간에 차이를 보이지 않고 있다. 그러나 trypsin처리에 의한 가수분해 정도는 HC에서 보는 바와 같이 향어와 마찬가지로 white muscle이 많이 받는 것으로 나타나고 있어 muscle type간에 어떤 차이가 있을 것으로 예측되나 보다 자세

한 것은 앞으로 더욱 연구가 요구된다.

Fig. 1과 Fig. 2의 전기영동상에 나타난 바와 같이 담수어와 해수어간에 있어서는 LC의 성분에서 차이를 보이고 있을 뿐만 아니라 trypsin을 시간별로 처리하였을 때 담수어의 LC₁은 가수분해되어 band가 소실되면서 30kDa 성분이 더욱 뚜렷하게 나타나는 한편 해수어는 LC₁ band가 소실되지도 않으며 가수분해 처리에 의해 30kDa 성분이 새로이 나타나는 차이를 보이고 있다.

이러한 결과는 어종간에 있어서 LC이 차이가 있다고 한 Seki(19)의 결과와 일치하는 것으로서 담수어와 해수어의 근원섬유단백질의 차이는 주위의 환경조건에 의해서 나타나는 것이 아닌가로 추정된다.

근원섬유단백질의 생물활성의 비교

Mg이온은 이온강도에 관계없이 myosin의 ATPase

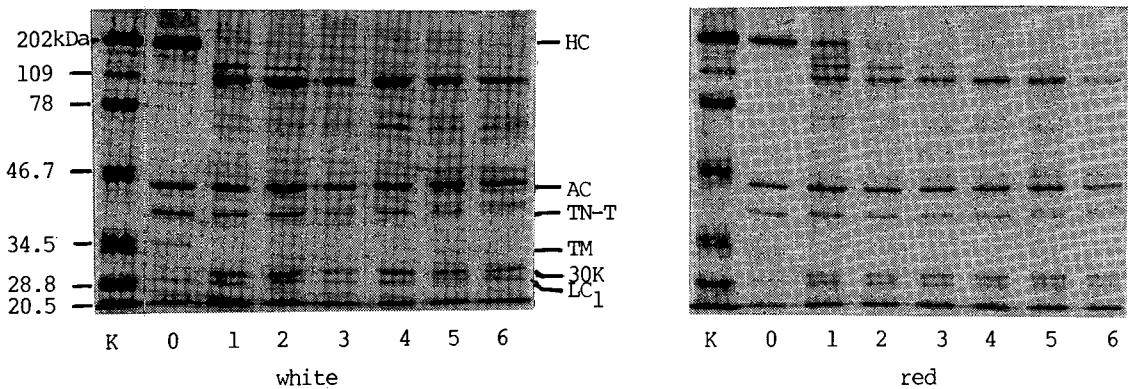


Fig. 2. Comparison of 10% SDS-polyacrylamide gel electrophoresis of myofibril from Yellow tail muscle.
 Assay cond.: same as Fig. 1.

활성을 저해하나 저이온강도에서 actomyosin ATPase 활성을 증가시키는 것으로 알려져(13,20) actin이 myosin ATPase의 allosteric effector로서 밝혀지고 있다(21). 따라서 thin filament가 actin, troponin-tropomyosin complex로 구성되어 있는 myofibril의 Mg-ATPase를 비교 조사하여 담수어와 해수어간에 차이가 있는가를 알아보았다.

Fig. 3에 나타난 바와 같이 근수축 기작에 관련된 2가 이온인 Mg에 의한 myofibril ATPase 활성은 해수어인 방어와 담수어인 향어 둘다 유사한 pattern을 보여 주며 저이온 강도($\mu=0.025\sim0.05$)에서 최대활성을 나타 내 이미 보고된 사실들과 잘 일치하고 있다. 한편 담수 어인 향어의 myofibril Mg-ATPase활성이 해수어인 방어보다 높은 활성을 보이고 있으며, 방어와 향어 둘다 white muscle이 red muscle보다 저이온 강도에서 높은 활성을 나타내고 있다. 따라서 이러한 차이를 확 인하기 위하여 actomyosin을 추출하여 그의 활성을 비 교하여 보았다.

Fig. 4는 근수축 속도와 직접 대응하는 것으로 알려 지고 있는 actomyosin Mg-ATPase 활성을 나타낸 것 으로서 Fig. 3의 myofibril 활성과 마찬가지로 저이온 강도에서 높은 활성을 나타내며 또한 myofibril에 비해 약 2배 이상의 높은 활성을 나타내고 있다. 그리고 마

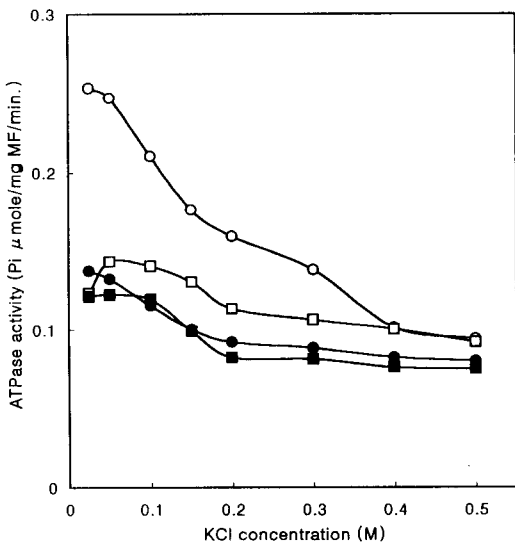


Fig. 3. Effect of KCl concentration on the Mg-activated ATPase activity of myofibril from Leather carp and Yellow tail muscle. Enz. assay: 25mM Tris-HCl(pH 8.0), 1mM ATP 10mM MgCl₂, 0.25mg/ml MF (○, ●): Leather carp, (□, ■): Yellow tail (○, □): white muscle, (●, ■): red muscle

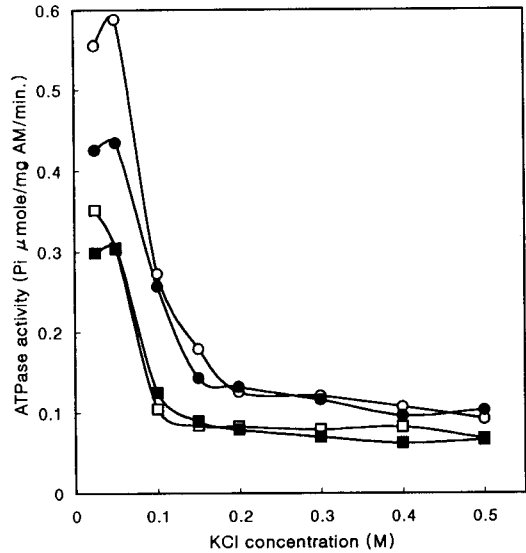


Fig. 4. Effect of KCl concentration on the Mg-activated ATPase activity of actomyosin from leather carp and Yellow tail muscle. Enz. assay: 25mM Tris-HCl(pH 8.0), 1mM ATP 10mM MgCl₂, 0.25mg/ml AM (○, ●): Leather carp, (□, ■): Yellow tail (○, □): white muscle, (●, ■): red muscle

찬가지로 향어의 white muscle이 red muscle보다 높은 활성을 나타내는데 이는 myofibril과 같은 양상이나, 방어의 경우는 white muscle과 red muscle간에 차이를 거의 나타내지 않았다.

담수어인 향어의 경우에 있어서는 myofibril과 actomyosin의 ATPase 활성이 red muscle에 비해 white muscle이 높다고 발표한 Seidel 등(22)의 결과와 잘 일치하는 것으로서 나타났으나 해수어인 방어의 경우는 차이를 나타내지 않는 상이한 결과를 보이고 있다. 따라서 담수어와 해수어간 그리고 white muscle과 red muscle간에는 앞의 전기영동상에서와 마찬가지로 각각의 생활환경에 따른 근섬유간의 특성에 차이가 있을 것으로 예측된다.

근수축 운동의 energy변환과 운동기능의 발현은 근원섬유조절 단백질과 Ca⁺⁺에 의하여 조절되는데 이는 골격근의 경우 Ca⁺⁺이 α -helical coiled-coil actin thin filament의 홈안에 있는 tropomyosin-troponin complex 성분인 troponin C에 결합하는 actin-based regulation에 의해 muscle actomyosin을 현저하게 활성화하기 때문인 것으로 보고되고 있다(23). 또한 myofibril내의 Ca⁺⁺농도의 증가가 myofibrillar Mg-ATPase를 활성화함으로써 ATP의 소모가 높아져 rigor-mortis를 가속화 한다(24)고 한다. 따라서 myofibril 과 actomyosin

의 ATPase 활성은 생활환경이 다른 어종간에 그리고 muscle type간에 대한 생물학적 기능의 차이를 반영할 것으로 해석되었다.

Fig. 5와 6은 향어와 방어의 myofibril과 actomyosin의 Ca-ATPase 활성을 나타낸 것으로서 모두가 저이온강도에서 높은 활성을 나타내고 있다. 그리고, 저이온강도에서 최대활성치가 Mg에서보다 Ca에서 약간 낮았을 뿐 유사한 활성 양상을 나타내 앞의 결과에서 나왔던 것과 같이 담수어인 향어와 해수어인 방어의 근섬유의 활성간에 차이가 있음을 재 확인할 수 있었다.

한편, 고이온강도에서의 actomyosin의 EDTA-enhanced ATPase 활성은 actomyosin 중의 myosin성분에 의한 것으로서 알려져 myosin의 상대적인 특성을 비교하는 데에는 EDTA-ATPase 활성의 측정이 좋은 방법으로 알려지고 있다(25).

Fig. 7과 8은 myofibril과 actomyosin의 EDTA-ATPase 활성을 나타낸 것으로서 Fig. 7의 myofibril의 활성에 있어서 향어의 탈인산속도는 이온강도가 높아짐에 따라 증가하는 현상을 보이고 있으나 방어의 경우는 증가현상이 매우 미약하였다. 또한 향어에 있어서는 white muscle이 red muscle보다 높은 활성을 보이고 있으나 방어는 muscle간에 차이를 보이지 않고 있다. 한편 Fig. 8의 actomyosin 경우에 있어서도 향어는 white

muscle이 red muscle에 비해 높은 활성을 나타내나 방

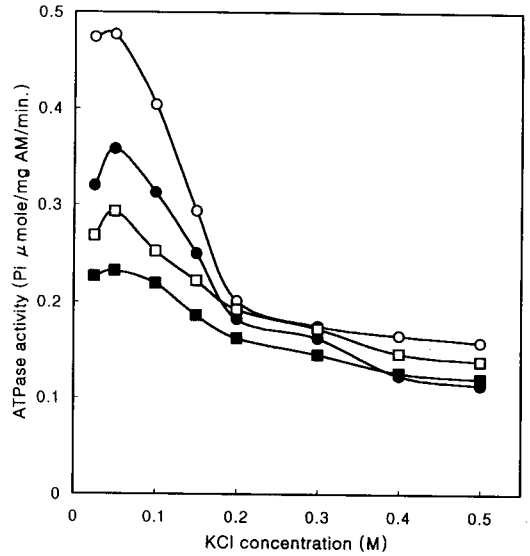


Fig. 6. Effect of KCl concentration on the Ca-activated ATPase activity of actomyosin from Leather carp and Yellow tail muscle. Enz. assay: 25mM Tris-HCl(pH 8.0), 1mM ATP 10mM CaCl₂, 0.25mg/ml AM (○, ●): Leather carp, (□, ■): Yellow tail (○, □): white muscle, (●, ■): red muscle

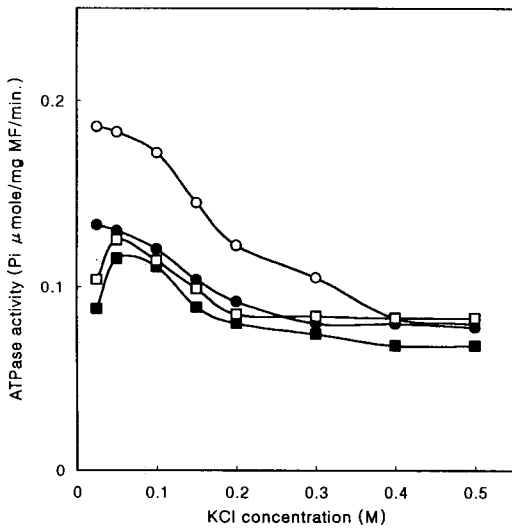


Fig. 5. Effect of KCl concentration on the Ca-activated ATPase activity of myofibril from Leather carp and Yellow tail muscle. Enz. assay: 25mM Tris-HCl(pH 8.0), 1mM ATP 10mM CaCl₂, 0.25mg/ml MF (○, ●): Leather carp, (□, ■): Yellow tail (○, □): white muscle, (●, ■): red muscle

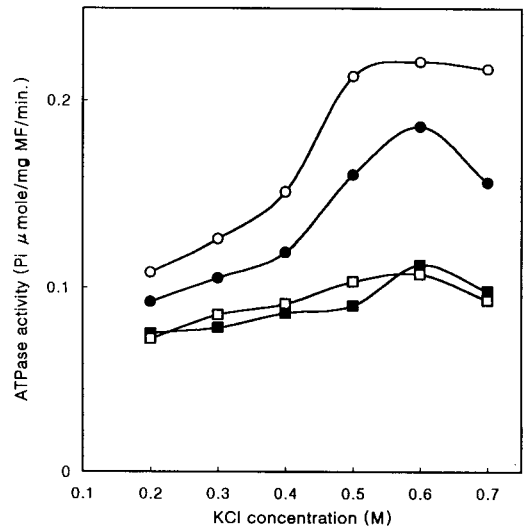


Fig. 7. Effect of KCl concentration on the EDTA-enhanced ATPase activity of myofibril from Leather carp and Yellow tail muscle. Enz. assay: 25mM Tris-HCl(pH 8.0), 1mM ATP 1mM EDTA, 0.25mg/ml MF (○, ●): Leather carp, (□, ■): Yellow tail (○, □): white muscle, (●, ■): red muscle

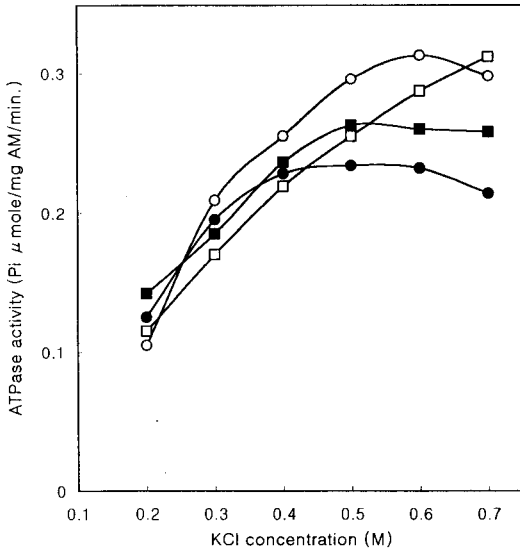


Fig. 8. Effect of KCl concentration on the EDTA-enhanced ATPase activity of actomyosin from leather carp and Yellow tail muscle.
 Enz. assay: 25mM Tris-HCl(pH 8.0), 1mM ATP, 1mM EDTA, 0.25mg/ml AM
 (○, ●): leather carp, (□, ■): Yellow tail
 (○, □): white muscle, (●, ■): red muscle

어는 역시 white muscle과 red muscle간에 차이가 매우 미미하였다. 그러나 myofibril에서 나타났던 향어와 방어간의 활성차이가 actomyosin에서는 나타나지 않고 있다. 이와 같은 actomyosin의 EDTA-ATPase 활성에 대한 차이는 actomyosin system에서 myosin ATPase 활성의 크기 그리고 actin과 myosin의 상호작용 세기 등에 따라 달라질 수 있음으로 향어와 방어간 그리고 muscle type간의 차이에는 myosin의 특성 차이가 기인하는 것으로 예상된다.

따라서 생활환경이 다른 담수어와 해수어간의 ATPase 활성의 세기는 물론 조절 기능의 차이 그리고 활성의 이온강도 의존성에는 생물학적인 특성의 차이가 기인하는 것으로 추정된다.

근원섬유단백질의 활성에 대한 pH의 영향

앞의 결과에서 나타낸 바와 같이 생활 환경이 전혀 다른 해수어와 담수어의 myofibril ATPase 활성이 pH의 변화에 따라 차이를 보일 것으로 예상되어 이에 대한 영향을 조사하였다.

Fig. 9는 pH의 변화에 따른 myofibril의 Ca-ATPase 활성을 나타낸 것으로 방어와 향어 둘다 biphasic response를 나타내는 유사한 pH-activity curve를 보여 주고 있다. SDS-polyacrylamide gel slab 전기영동상

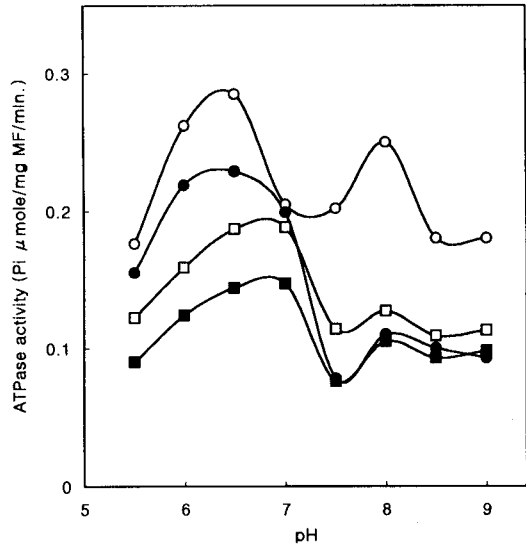


Fig. 9. Effect of pH on the Ca-ATPase activity of myofibril from leather carp and Yellow tail muscle.
 Enz. assay: 0.1M KCl, 1mM ATP, 10mM CaCl₂, 0.25mg/ml MF
 Buffer system:
 pH 5.0~7.0: 25mM Tris-maleate buffer
 pH 7.5~8.5: 25mM Tris-HCl buffer
 pH 9.0: 25mM carbonate-bicarbonate buffer
 (○, ●): leather carp, (□, ■): Yellow tail
 (○, □): white muscle, (●, ■): red muscle

으로부터 최소운동장치인 근원섬유가 담수어와 해수어간에는 유사하다는 사실이 확인되었지만 ATPase 활성에 있어서는 차이를 나타내었다. 이와 같은 활성의 변화는 pH의 변화에 따른 활성에 있어서도 같은 양상을 보이고 있다.

따라서 myosin의 아미노산 배열이 좀더 일정하지 않고 진화과정 또는 생물의 특성에 따라 차이가 있다고 한 Hoppe 등(26)의 결과로 미루어 담수어와 해수어간의 근수축성 단백질이 ATPase 활성에 차이를 나타내는 것은 생활환경 조건과 관계가 깊은 것으로 예상되나 앞으로 더욱 연구가 되어야 할 것이다.

요 약

생활환경이 전혀 다른 해수어와 담수어 간에 근원섬유단백질의 생화학적인 특성을 규명하기 위하여 식용으로 많이 이용되고 있는 향어와 방어를 선택하여 각각의 white muscle과 red muscle로부터 myofibrillar protein을 조제하여 Ca, Mg, EDTA 및 pH에 따른 생물활성과 SDS-polyacrylamide gel 전기영동상을 비교, 조사하였다. 담수어인 향어와 해수어인 방어 myofibril

의 SDS-polyacrylamide gel 전기영동상으로부터 white muscle과 red muscle간에는 차이가 없는 것으로 나타났으나, 담수어와 해수어간의 30kDa 성분에서 차이를 나타내었다. 그리고 trypsin 처리시 white muscle과 red muscle의 heavy chain 가수분해 정도에 차이를 나타내었다. 담수어인 향어의 ATPase 활성이 방어의 ATPase 활성보다 높게 나타났으며, muscle type간에 있어서는 향어의 경우 white muscle이 red muscle에 비해 높은 활성을 나타내는 반면에 방어의 경우는 muscle type간에 거의 비슷한 활성을 보여줌으로서 담수어와 해수어간에 차이를 나타내었다

감사의 글

본 연구는 1997년도 울산대학교 학술연구비의 지원에 의해 이루어진 결과이므로 이에 감사드립니다.

문헌

1. Suzuki, T.: *Fish and krill protein*. Applied Science Publishing, London, p.1(1981)
2. Alberts, B., Bray, D., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K. and Watson, J. D.: *Cytoskeleton*. In "Molecular biology of the cell" Garland publing, InC., New York & London, p.549(1983)
3. Pollard, T. D. and Cooper, J. A.: Actin and Actin binding proteins. *Ann. Rev. Biochem.*, **55**, 987-1036(1986)
4. Potter, J. D. and Gergely, J.: The Ca and Mg binding sites on troponin and their role in the regulation of ATPase. *J. Biol. Chemistry*, **250**, 4628-4633(1975)
5. Kuroda, M. and Maruyama, K.: α -Actin, a new protein from rabbit skeletal muscle. *J. Biochem.*, **80**, 32-37(1976)
6. Robson, R. M., Oshea, J. M and Huiatt, T. W.: Role of new Cytoskeletal elements in maintenance of muscle integrity. *J. Food Biochem.*, **8**, 1-24(1984)
7. 양용, 양한철: 축산 식품 가공학. 보성 출판사, pp.306-310(1985)
8. Egelanddal, B., Martinsen, B. K., Fretheim, K., Petersen, M. and Harbitz, O.: Myosin from red and white bovine muscles: Difference measured by turbidimetric calorimetric and rheological techniques. *J. Sci. Food Agric.*, **64**, 75-85(1994)
9. Turgut, H.: Emulsifying capacity and stability of goat, water-buffalo, sheep and cattle muscle proteins. *J. Food Sci.*, **49**, 168-171(1984)
10. Jimenez Colmenero, F. and Borderias, A. J.: A study of the effects of frozen storage on certain functional properties of meat and fish protein. *J. Food Technol.*, **18**, 731-737(1983)
11. Shin, W. C., Song, J. C., Hong, S. P. and Yang, R.: Study on the temperature adaptation of contractile myofibrillar proteins from fish species. *Korean J. Food Sci.*, **20**, 371-379(1988)
12. Yang, R., Kim, C. J., Moon, Y. H. and Yu, J. H.: Studies on the myofibrillar proteins I. Phase microscopy of myofibrills from rabbit muscle. *Korea J. Food Sci. Technol.*, **6**, 79-85(1974)
13. Shin, W. C.: Studies on the species-characteristics and thermostability of myofibrillar protein. *Ph.D. Thesis*, Yonsei Univ.(1985)
14. Laemmli, U. K.: Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, **227**, 680-685(1970)
15. Young, O. A. and Davey, C. L.: Electrophoretic analysis of proteins from single bovin muscle fibers. *Biochem. J.*, **195**, 317-327(1981)
16. Billeter, R., Heizman, C. W., Howald, H. and Jenny, E.: Analysis of myosin light and heavy chain types in single human skeletal muscle fibers. *Eur. J. Biochem.*, **116**, 389-395(1981)
17. Venyura-Clapier, R., Kuznetsov, A. V., d'Albis, A., Deursen, J., Wieringer, B. and Velsler, V. I.: Muscle creatine kinase-deficient mice. I. Alterations in myofibrillar function. *J. Biol. Chem.*, **34**, 19914-19920(1995)
18. Hashimoto, A. and Matura, M.: Biochemistry of myosin and myofibrillar proteins of fish skeletal muscle. *Protein, Nucleic acid and Enzyme*, **34**, 1279-1288(1989)
19. Seki, N.: Identification of fish species by SDS-polyacrylamide gel electrophoresis of the myofibrillar proteins. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **42**, 1169(1976)
20. Yang, R., Okitani, A. and Fugimaki, M.: Effect of trypsin treatment on the ATPase activity of myofibrils from the stored rabbit muscle. *Agric. Biol. Chem.*, **36**, 2087-2095(1972)
21. Tokuyama, H. and Tonomura, Y.: Effect of trinitrophenylation of myosin on the decomposition of phosphorylomyosin. *J. Biochem.*, **62**, 456-463(1967)
22. Seidel, J. C., Streter, F. A., Thompson, M. M. and Gergely, J.: Comparative studies of myofibrils, myosins, and actomyosin from red and white rabbit skeletal muscle. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **17**, 662-668(1964)
23. Brzeska, H. and Korn, E. D.: Regulation of class I and class II myosins by heavy chain phosphorylation. *J. Biol. Chem.*, **271**, 16983-16986(1996)
24. Watabe, S., Ushio, H., Iwamoto, M., Yamanaka, H. and Hashimoto, K.: Temperature-dependency of rigor-mortis of fish muscle: myofibrillar Mg^{2+} -ATPase activity and Ca^{2+} uptake by sarcoplasmic reticulum. *J. Food Sci.*, **54**, 1107-1110(1989)
25. Bowen, W. J. and Kerwin, T. B.: A study on the effect of EDTA on myosin ATPase. *J. Biol. Chem.*, **211**, 237-242(1954)
26. Hoppe, W., Lohmann, W., Markl, H. and Ziegler, H.: *Biophysics*. Springer Verlag, New York, p.570(1983)