

## 전북 Paramyosin의 分離 및 그 性質

卞 在 亨

(釜山水產大學·食品工學科)

PARAMYOSIN OF THE ABALONE, *NOTOHALIOTIS DISCUS*

by

Jae Hyeung PYEUN

(Dept. of Food Science and Technology, Pusan Fisheries College)

The protein composition of abalone muscle was estimated with the following result: on a series of samples analyzed, water-soluble protein, 19~22%; salt-soluble protein, 27~39%; alkali-soluble protein, 20~26%; and stroma 20~28%; respectively. It was demonstrated by ultracentrifugal analysis that approximately 65% of the salt-soluble protein is accounted for by paramyosin, 30% by actomyosin, and 5% by myosin, respectively.

The ultracentrifugally homogenous paramyosin was prepared by BAILEY's ethanol-dried method. It showed a  $S_{20,w}^{\circ}$  of 3.14s, and was completely salted in with KCl beyond 0.35M. The intrinsic viscosity at 25°C was estimated at 3.1. The paramyosin is rich in several amino acids such as arginine, aspartic acid, glutamic acid, etc., and lacking of both proline and tryptophane, in rough accord with other paramyosins reported.

The abalone paramyosin did not show ATPase activity over a pH range of 5 to 9.5 even in the presence of  $Ca^{++}$  or  $Mg^{++}$ . So was the case with the paramyosin specimen prepared by BAILEY's wet-extraction method.

## 緒 言

水産無脊椎動物의 筋肉蛋白質에 關하여는 構成蛋白質의 組成이라든가 各 構成蛋白質의 物理化學的인 性質 및 그 生理的인 役割等 不明한 點이 적지 않다. 따라서, 이들 各 構成蛋白質의 性質을 比較生化學的으로 檢討하여 보는 일은 興味로운 것이라고 생각된다.

軟体動物의 收縮筋은 脊椎動物과는 달리 收縮狀態를 持續할 수 있고 迅速한 收縮과 弛緩等 特異한 catch mechanism-tonic contraction-을 가지고 있으므로 오래 前부터 關心을 모아왔고(Hall, 1945), 많은 研究報告(Bailey, 1956; Elliot, 1957; Bailey, 1957; Johnson, 1959; Bailey, 1960 等)가 있다. 그리고, 이와 같은 特徵있는 收縮運動은 構成蛋白質 中 paramyosin(tropomyosin A)에 依한 作用으로 생각되고 있으나 이 paramyosin에 關하여서는 ATPase 活性을 가졌는지의 與否와 生理的인 機能에 關하여서는 確實하지 않은 點이 많고 軟体類의 種類에 따라서 相反되는 研究結果가 發表되어 있으며(Locker, 1957; Rüegg,

1961b; Tsuchiya, 1970), 大部分의 研究가 2枚貝類나 頭足類에 局限되어 있는 것 같다.

한편, 腹足類의 筋肉蛋白質에 對하여서는 蛋白質組成에 關하여 斷片的인 報告 (Migita, 1959; Tanikawa, 1961; Takahashi, 1961)가 있으나 構成蛋白質에 對한 報告는 比較的 적다.

著者는 腹足類의 筋肉 構成蛋白質을 比較生化學的으로 檢討하고자 전복을 材料로 選定하고 筋肉의 蛋白質組成을 밝힐과 同時에 超遠心分析上 均質한 paramyosin을 分離하여 ATPase activity를 包含한 몇가지의 性質을 究明 하였다.

### 材料 및 實驗方法

(1) 材料 : 東京中央都賣魚市場에서 살아있는, 体重 : 147~350g, 体長 : 7.6~9.5×10.6~14.7cm 程度의 전복을 購入하고 實驗室에 運搬하여 筋肉部를 貝殼으로부터 分離하고 Fig.1에서 圖示한 部分을 取하여 試料로서 使用하였다. 이 操作을 包含한 그 밖의 本實驗에서의 모든 實驗操作은 低溫室 (2~4°C)에서 實施하였다.

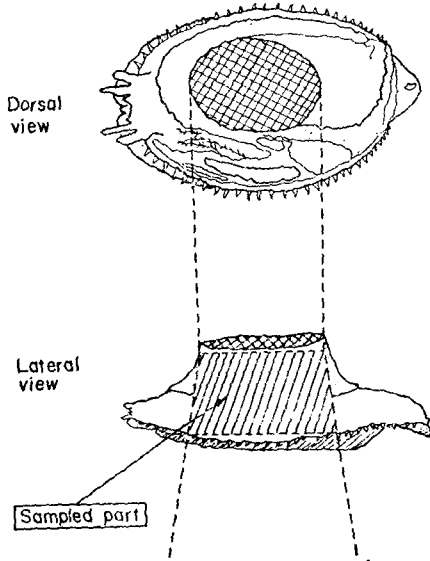


Fig.1. Dorsal and lateral views of the sampled part of abalone muscle.

(2) 蛋白質組成의 測定 : 試料 筋肉中の 蛋白質組成 分析은 貝類 筋肉에 對하여 採擇한 Baba(1959)의 方法과 魚類 筋肉에 適用한 Shimizu (1960)의 方法을 改良한 方法으로서 Fig.2와 같은 方法으로 測定하였다. 곧 細切한 肉에 處理海砂를 混合하여 mortar에서 充分히 磨碎한 後 0.6~1M KCl, 0.05M tris-HCl, pH 7.0緩衝液으로서 數回 反復하여 抽出한 後, 抽出液은 透析에 依한 稀釋沈澱法으로 水溶性區分과 鹽溶性 區分으로 分別하였다. 그리고 이 鹽緩衝液 抽出에서 남은 殘渣는 0.1N NaOH로서 알카리 可溶性區分을 抽出하여 stroma 區와 分離하였다. 이들 各 抽出區分中の 蛋白質의 含量은 Umemoto (1966)에 依한 改良 Biuret法과 micro-kjeldahl 法으로 測定하였으며 stroma區中の 蛋白質含量은 micro-kjeldahl法으로 測定 하였다.

그리고, 水溶性과 鹽溶性區分의 一部는 別途로 超遠心分析을 實施하였으며 超遠心分析은 Schlieren 光學系를 가지는 日立社製

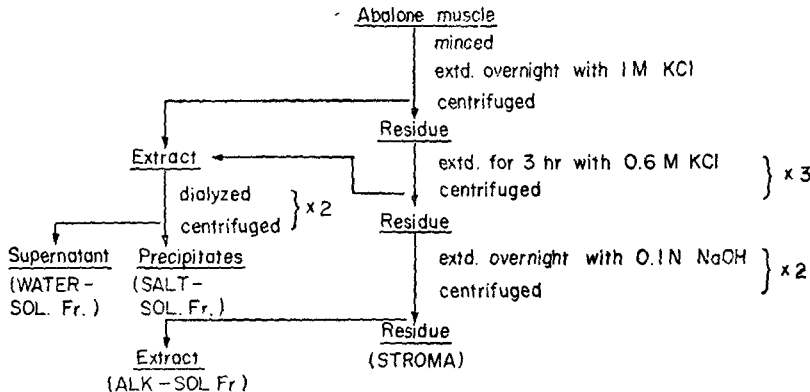


Fig.2. Analytical procedure of protein composition of abalone muscle.

UCA 1A型 分析用超遠心機로서 10°C로 調整하여 實施하였다. 그리고 沈澱圖上에서 判別할 수 있는 各成分의 量的比의 測定은 Schachman (1959)의 方法에 依하였다. 한편, 鹽溶性區分에 對한 硫安鹽析分析은 Snellman

전복 paramyosin

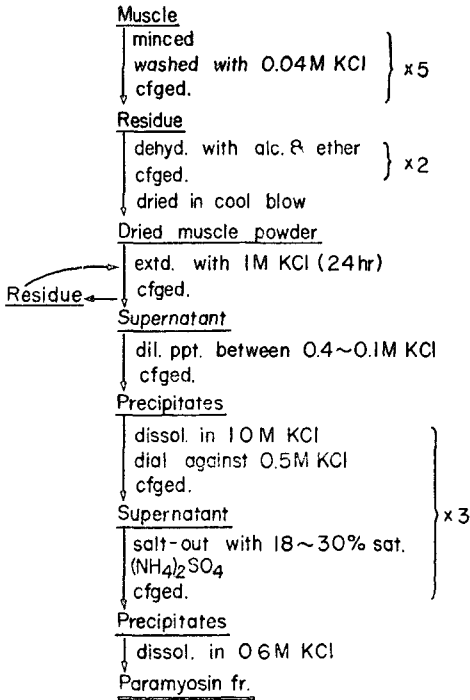


Fig. 3. Procedure for purification of abalone paramyosin by modified Bailey's ethanol-dried method.

(1954)의 방법에 의하여 4°C에서實施하였다.

(3) paramyosin의分離: Bailey (1956, 1957)의 ethanol-dried method 및 wet-extraction method를 조금改良한方法으로 전복 筋肉中の paramyosin을 分離精製하였다. ethanol-dried method는 Fig. 3에 나타낸 바와 같이 먼저 筋肉을 磨碎하고 묽은 KCl溶液으로써 充分히 洗滌한 後 ethanol과 ether로써 處理하여 乾燥粉末을 만들고 이것을 1M KCl溶液으로 抽出하여 稀釋沈澱法으로 抽出液中の KCl 濃度 0.1~0.4M에서 沈澱하는 區分을 모아서 이 區分을 다시 硫酸飽和 18~30% 範圍에서 數回 鹽析을 反復하여 精製 分離하였다. 한편 wet-extraction method (Fig. 4)는 ethanol-dried method에서 ethanol-ether處理를 省略하고 硫酸鹽析을 5회 이상 反復하여 精製 paramyosin을 얻었다.

(4) 精製 paramyosin의 分析方法:

① 吸收 스펙트럼: 試料 paramyosin의 스펙트럼 分析은 0.6M KCl(pH 7.0)中에서 Cary's recording spectrophotometer에 의하여 測定하였다.

② 超遠心分析: 0.6M KCl, 0.025M tris-HCl(pH7.0)緩衝液에 溶解시킨 paramyosin 標品을 Wedge window cell을 갖춘 日立會社製 UCA-1A型 分析用 超遠心機로써 最高回轉 55,430 rpm, 溫度 10±0.2°C에서 測定하였다. 沈澱定數( $S_{20, \omega}^0$ )의 計算에 있어서, 沈澱係數(sedimentation coefficients)는 moving boundary method (Schachman, 1957)에 의하여 求하였다. 즉, 時間에 對한 界面移動距離의 對數關係曲線에서 아래(1)式으로부터

$$s = \frac{1}{\omega^2} \cdot \frac{d \ln \bar{x}}{dt} \dots \dots \dots (1)$$

여기서  $\omega$ : 回轉角速度(radian/sec)  
 $\bar{x}$ : 回轉中心으로부터의 界面의 移動距離  
 t: 時間(sec)

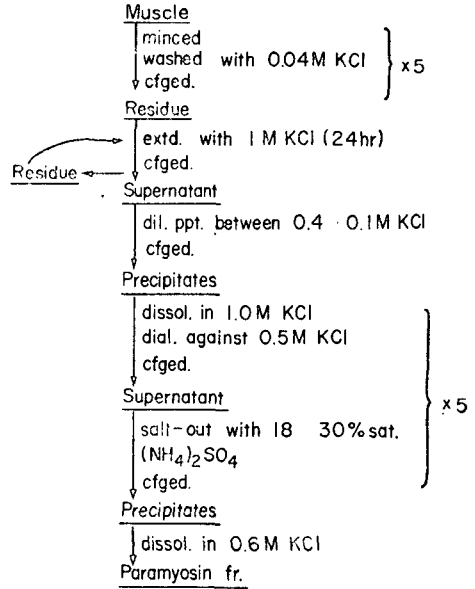


Fig. 4. Procedure for purification of abalone paramyosin by modified Bailey's wet-extraction method.

求하였으며,

이 s值로써 아래 (2)식에 의하여 標準狀態에서의 沈降係數( $S_{20, \omega}$ )를 換算하였다.

$$S_{20, \omega} = s \cdot \frac{\eta}{\eta_{20, \omega}} \cdot \frac{(1 - V\rho)_{20, \omega}}{(1 - V\rho)} \dots \dots \dots (2)$$

여기서  $\eta$  : 實驗溫度에서의 溶媒의 粘度

$\eta_{20, \omega}$  : 20°C에서의 水의 粘度

V : 試料蛋白質의 比積

$\rho$  : 溶液의 密度

그리고, 試料 蛋白質의 各 濃度別  $S_{20, \omega}$ 值를 求하여 濃度零位外插值( $S^{\circ}_{20, \omega}$ )를 表示하였다.

③ 鹽容曲線 : 0.4M KCl, 0.05M tris-HCl 緩衝液, pH 7.0에 溶解 透析시킨 paramyosin 試料를 最終이은 強度가 0.05~0.45 $\mu$ 로 되도록 tris-HCl 緩衝液으로써 稀釋하고 2~4°C에서 一夜靜置한 後 遠心分離 (8,000rpm-15min)한 上澄液을 277m $\mu$ 에서 吸光度를 測定하여 鹽容曲線을 求하였다.

④ 固有粘度 : 溶媒流速 36秒인 Ostwald型 粘度計로서 25 $\pm$ 0.2°C에서 濃度別로 paramyosin의 粘度를 測定하고 그 固有粘度를 求하였다.

⑤ 아미노酸 組成 : 精製 paramyosin試料를 冷再蒸溜水中에서 隨時로 外液을 갈면서 72時間 以上 透析하여 脫鹽하고 沈澱한 試料는 遠心分離한 後, 精製 acetone으로써 充分히 脫水시켰다. 그리고 이 脫水한 試料는 減壓 desiccator속에서 12時間以上 acetone을 乾燥시킨 後, 約 10mg씩 精秤하여 6N HCl을 加한 後 眞空下에서 密封한 다음 恒溫加水分解爐 (110°C)에서 24時間 加水分解하고 分解된 試料는 rotary vacuum evaporator로써 鹽酸을 除去한 後 定容하여 紫田科學機器製 AA600型 自動아미노酸 分析機로써 아미노酸 組成을 測定하였다. 한편, tryptophan과 tyrosine 은 Beaven(1952)에 依한 紫外部及收法에 依하여 測定하였다.

⑥ ATPase 活性 : 5mM CaCl<sub>2</sub> 또는 MgCl<sub>2</sub>存在下에 있어서의 paramyosin의 ATPase活性을 pH 6.5~9.5, 25°C에서 5分間 反應시켜서 測定하였다. 이때의 反應系中的 paramyosin의 濃度는 0.25~0.4mg/ml, KCl濃度는 0.1M, 그리고 ATP-2Na濃度는 2mM로 하였으며, 緩衝液으로는 50mM의 histidine을 썼다. 反應은 20% trichloro acetic acid 溶液을 最終濃度 4%가 될 수 있는 容量을 迅速히 加하여 停止시켰다. 또 反應終了後의 溶液中의 遊離 無機磷量은 Rockstein(1951)의 方法에 依하여 測定하였다.

그리고 위의 諸分析에서 ATP-2Na (C.F. Boehringer & Soehne 製)를 爲始한 모든 試藥은 特級品을 使用하였고, 또 黃酸암모늄은 再結晶시켜 精製한 것을 썼다. 그리고 蒸溜水는 glass 再蒸溜水를 使用하였다.

### 結果 및 考察

蛋白質組成 : 전복 筋肉의 蛋白質의 組成은 Table 1과 같다. 試料의 蛋白質組成은 水溶性區分이 19~22%, 鹽溶性區分이 27~39%, 알카리可溶性區分이 20~26%, 그리고 stroma가 20~28이었으며, 大体로 전복의 筋肉蛋白質은 다른 魚類나 軟體類에 比하여 stroma의 量이 훨씬 많은 것을 알 수 있고, Clam의 足筋에서 보인 stroma量의 約 2倍 以上에 達하는 結果였다. 이 結果는 같은 腹足類에 屬하는 소라의 筋肉蛋白質의 組成과도 비슷한 結果 (Pyeun, 1971)이다. 이점은 腹足類의 筋肉 蛋白質의 組成上的 한 特徵인 것으로 생각되며, 전복이나 소라等 腹足類의 筋肉은 2枚貝나 魚類等的 筋肉과 比較하여 肉質이 훨씬 단단하여 stroma의 含量은 肉質의 stiffness와 密接한 關連이 있는 것으로 보인다. 그리고 알카리 可溶性區分을 鹽溶性區分의 一部라고 보면 알카리 可溶性 區

Table 1. Protein Composition of Abalone Muscle

| sample No. | season of catch | body wt.         | fractions of protein |           |             |        |
|------------|-----------------|------------------|----------------------|-----------|-------------|--------|
|            |                 |                  | water-sol.           | salt-sol. | alkali-sol. | stroma |
| 1          | Feb.            | 147 <sup>B</sup> | 20%                  | 27%       | 25%         | 28%    |
| 2          | Feb.            | 170              | 22                   | 29        | 26          | 23     |
| 3          | Mar.            | 220              | 19                   | 39        | 20          | 22     |

분과 鹽溶性區分の 含은 50~59%이다. 이 結果는 Migita(1959)가 전복(*Euhaliotis gigante*)에 對하여 다른 方法으로 測定하였을 때 鹽溶性區分の 量이 48%라는 報告 및 Pyeun(1971)이 報告한 소라의 筋肉 蛋白質中 鹽溶性區分の 量이 59%라는 것과 비슷한 結果이다.



Fig. 5. Sedimentation patterns of the water-(lower) and salt-soluble (upper) fractions of abalone muscle. Photographs were taken at 33,000rpm (right) on the way to the top speed and at 10, 30, 51, and 60 min. (right to left) after reaching the top speed of 55,430 rpm. Solvent: 0.6M KCl, 0.025M tris-HCl buffer, pH 7.0

그리고, 筋肉 蛋白質의 水溶性 및 鹽溶性 區分の 一部를 取하여 超遠心分析을 한 結果 水溶性 區分은 Fig. 5에 나타난 sedimentation pattern에서의 같이 最高回轉速度 55,430 rpm에 達하는 途中의 33,000rpm에서 迅速히 沈降하는 鈍大한 peak와 緩漫히 沈降하는 微少 peak가 나타났으나 最高回轉速度인 55,430rpm에서는 迅速히 沈降하던 peak는 消失하여 沈降이 끝난 것을 豫想케 하였고 緩漫히 沈降하던 peak만이 남았는데 이것은 그 沈降速度로 보아 tropomyosin B일 것으로 생각된다. 한편, 鹽溶性 區分の sedimentation pattern(Fig. 5)에서는 33,000rpm에서 極微한 迅速히 沈降하는 peak와 그리고 한 主 peak를 보였다. 55,430rpm에서는 迅速히 沈降하던 微少 peak는 消滅하여 沈降 分散한 것으로 보였으며 主 peak는 다시 2個의 peak으로 나누어졌다. 그리고 새로운 微細한 peak로 짐작되는 것이 兩 peak사이에 出現하였다. 여기서 이들 세 peak에 對하여 測定 計算한  $S_{20,w}$  値는 沈降速度의 遲速順으로 各各 約 3s, 4s, 및 14s이었다. 이들 沈降速度에서 判別된 各 peak의 成分中 14s와 4s成分은 同一試料에 對하여 ATP를 添加하여 別途로 超遠心分析을 實施한 結果 14s成分이 消滅한 代身 4s成分이 增加한 事實과 그 沈降定數에서 非루어 14s成分은 actomyosin, 그리고 4s成分은 myosin임을 알 수 있었다. 한편

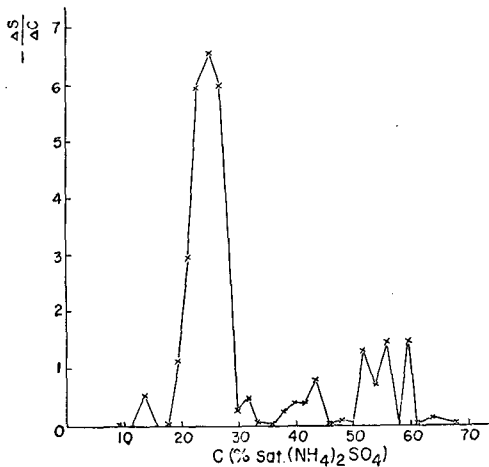


Fig. 6. Salting-out curve of the salt-soluble fraction of abalone muscle with ammonium sulfate.

가장 늦게 沈降한 3s成分은 後述하는 單離 paramyosin 이 보인 超遠心分析에서의 沈降舉動과 잘 一致하므로 paramyosin임을 確認할 수 있었다. 그리고 이들 各成分들의 量的인 組成은 paramyosin이 約 65% actomyosin 이 約 30%, myosin이 約 5%이었다. 여기서 腹足類에 屬하는 전복의 筋肉 構成蛋白質이 鹽溶性 區分속에 paramyosin을 約 65%까지 含有하고 있다는 점은 2枚貝中の *Pecten maximus*나 *Mytilus edulis*의 平滑內轉筋의 蛋白組成이 約 3/1量의 actomyosin과 3/2量의 paramyosin으로 이루어져 있다는 점 (Rüegg, 1961a)과 비슷한 結果로서 注目할만 하다.

전복 筋肉蛋白質의 鹽溶性 區분에 對하여 測定한 鹽析曲線(Fig. 6)에서는 전복의 paramyosin이 18~30% 硫酸飽和範圍에서 거의 定量的으로 沈澱하는 것을 알 수 있고 이 점은 다른 動物種으로부터의 paramyosin의 鹽

析範圍가 大約 20~35% 間이라는 結果와 大差없다.

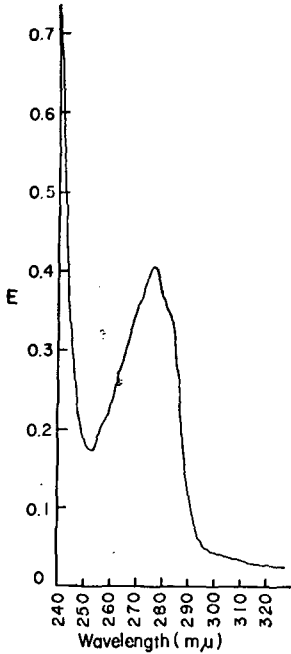


Fig. 7. UV-spectrum of abalone paramyosin, dissolved in: 0.6M KCl, 0.05M tris-HCl, pH 7.0.

paramyosin의 精製 및 性質: Bailey의 ethanol-dried method를 조금 變更하여 전복 筋肉에서 paramyosin을 分離했을 때 ethanol-dried powder의 收率は 鮮肉에 對하여 15~16%이었으며, 이 ethanol-dried-powder에 對한 paramyosin의 收率は 1~2%이었다. 이 收率は 2枚貝인 *Aulacomya magellanica*의 境遇가 約 20%와 1~3%이 었다는 結果(Milstein, 1967)와 比較的 비슷 하였다. Ethanol-dried method에 依하여 얻어진 同 paramyosin은, 紫外部分光分析(Fig. 7)에서 나타난  $\frac{E_{277}}{E_{260}}$ 는 1.85이었으며 따라서, 核酸의 汚染은 全혀 없든가 或은 거의 無視할 程度이었고 한편 超遠心分析에서 計算한  $S_{20, \omega}$ 는 約 3s로서 單一-peak를 보였으나 (Fig. 8), wet-extraction method에서 얻은 paramyosin은 같은 沈降速度에서 主 peak를 보였지만 peak의 側近에  $S_{20, \omega}$  約 4s를 갖는 것으로 豫想되는 極微한 肩角이 어림되었으며 (Fig. 9) 그 量은 全体量의 不過 몇 % 未滿일 것으로 推測되었다. 따라서-paramyosin의 性質에 關한 分析은 ATPase activity의 測定을 除外하고는 前法에 依하여 精製된 試料 標品을 使用하였다.

精製 單離한 전복 paramyosin의 濃度別  $S_{20, \omega}$  關係는 Fig. 10에서 보는 바와 같이 零位外插值  $S^{\circ}_{20, \omega}$ 로서 3.14s를 보였고 이 값은 2枚貝 paramyosin의  $S_{20, \omega}$  3.0~3.4s의 範圍以內 (Milstein, 1967; Tsuchiya, 1970)의 값이다. 그리고 同 paramyosin 試料의 鹽溶曲線(Fig. 11)은 이 蛋白質이 이온 強度 0.2μ 附近에서 溶解하기 始作하고 0.35μ 以上에서는 完全히 溶解하였다. 이와 같은 paramyosin의 鹽溶舉動은 2枚貝인 *Pecten*

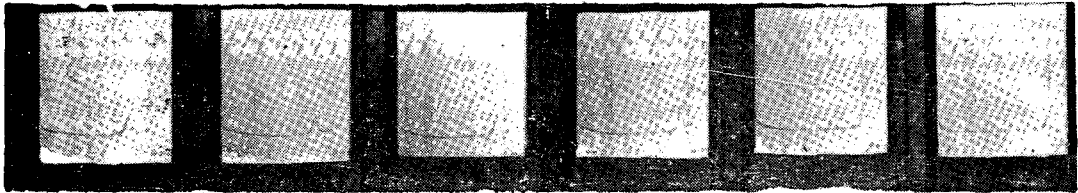


Fig. 8. Sedimentation patterns of abalone paramyosin prepared by modified Bailey's ethanol-dried method. Photographs were taken at 10, 30, 50, 70, and 90 min. (right to left) after reaching the top speed, 55,430 rpm. Solvent: the same as in Fig. 5.

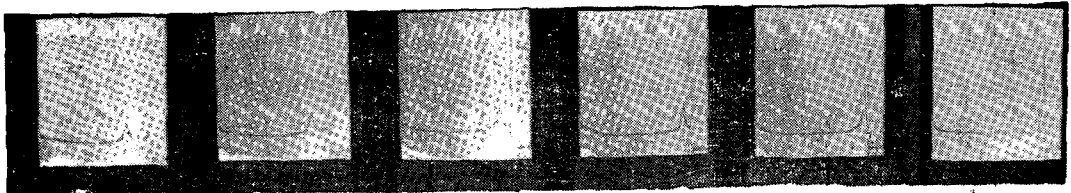


Fig. 9. Sedimentation patterns of abalone paramyosin prepared by modified Bailey's wet-extraction method. Photographs were taken at 10, 30, 50, 70, and 90 min. (right to left) after reaching the top speed of 55,430 rpm. Solvent: the same as in Fig. 5.

의 結果(Bailey, 1960)와 비슷한 傾向이었다. 한편, 同 paramyosin의 粘性 特徵을 蛋白質의 濃度와 粘度關係로써 나타내면 Fig. 12에서와 같다. 이 結果에서 전복 paramyosin의 固有粘度는 濃度零位插值로서 3.1이었다. 이 값은 다른 軟体類 paramyosin의 測定值인 *Pinna nobilis*의 2.4(Bailey, 1957), *Venus*의 1.9(Milstein

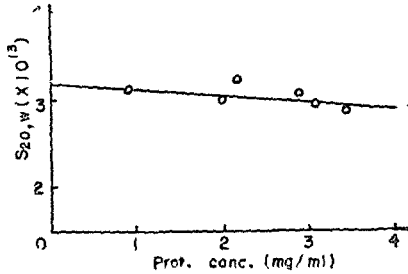


Fig. 10. Sedimentation constant of abalone paramyosin as a function of protein concentration.

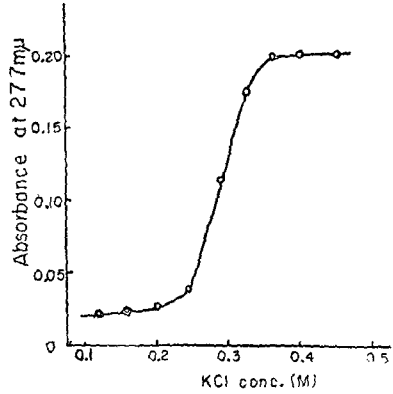


Fig. 11. Salting-in curve of abalone paramyosin with KCl. Initial concentration of protein 3.1 mg/ml. Measurement was made in 0.025M tris-HCl buffer, pH 7.0. Temp. 2-4°C.

, 1967), 그리고 *Aulacomya*의 0.8(Milstein, 1967) 등에 비하여 훨씬 높은 값을 얻을 수 있다.

다음에 ATPase 활성 존재 여부에 대하여 검토한 결과, Locker(1957)은 *Venus* paramyosin이 ATPase 활성이 있다고 보고하였고, Rüegg(1961b)는 *Pecten* paramyosin으로써測定하였을 때 ATPase 활성이 관찰되지 않았다고 하였으며, 또 近來 Tsuchiya(1970)는 *Atrina* Paramyosin에서 ATPase 활성이 認定된다고 보고하여 軟体類 paramyosin의 ATPase 활성에 對하여서는 各各 相反되는 結果를 報告하고 있으나 위의 兩 抽出方法으로 精製單離한 전복 paramyosin 標品은 Fig. 13에서 나타낸 바와 같이 어떤 有意한 ATPase 활성도 보이지 않았다.

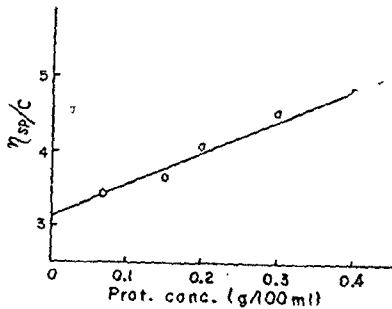


Fig. 12. Specific viscosity/prot. conc. of abalone paramyosin, measured at 25°C in 0.6M KCl, 0.025M tris-HCl, pH 7.0.

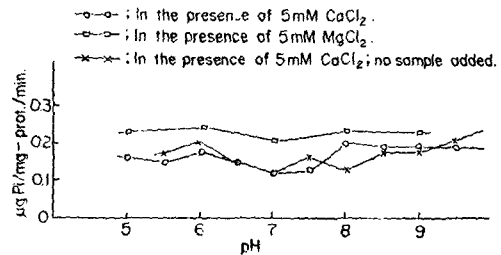


Fig. 13. ATPase activity of abalone paramyosin as a function of pH.

따라서, 전복 paramyosin은 筋肉中에서 收縮作用에 對하여 運動 energy와는 直接的으로 關連이 없는 것으로 보인다. 이 ATPase 활성에 對하여는 種類에 따라서 差異가 있는 것인지 혹은 試料 paramyosin의 分離方法에 따른 影響인지 더욱 檢討가 있어야 할 것으로 생각된다.

전복 paramyosin의 아미노酸 組成의 分析 結果를 2枚貝에 屬하는 *Aulacomya* paramyosin의 아미노酸 組成과 比較하여 Table 2에 나타내었다. Table 2에서와 같이 전복의 paramyosin은 arginine, aspartic acid, glutamic acid, alanine 및 leucine이 많고 proline과 tryptophane을 含有하지 않으며, 1/2 cysteine이 아주 僅少하였다. 이 점은 2枚貝나 그 밖의 軟体類가 나타내는 아미노酸 組成上의 特徵과 비슷한 傾向이었다. 그러나 2枚貝나 혹은 다른 軟体類들이 arginine/lysine比가 1.0에 가까운데 比較하여 腹足類에 屬하는 이 전복의 paramyosin은 約

Table 2. Amino Acid Composition of Abalone Paramyosin in Comparison with That of *Aulacomya* Paramyosin

| amino acids        | moles of residues/10 <sup>5</sup> g of protein |  |
|--------------------|--|--|
|                    | abalone  | <i>Aulacomya magelanica</i> <sup>+</sup> |
| His                | 6  | 7.6                                      |
| Lys                | 62   | 70                                       |
| (NH <sub>3</sub> ) | (106)  | (124)                                    |
| Arg                | 101  | 89                                       |
| Asp                | 107  | 119                                      |
| Thr                | 35   | 38                                       |
| Ser                | 46   | 55                                       |
| Glu                | 188  | 222                                      |
| Pro                | 0  | 0  |
| Gly                | 25   | 14                                       |
| Ala                | 88   | 80                                       |
| Cys(1/2)           | trace  | 5  |
| Val                | 30   | 22                                       |
| Met                | 11   | 15                                       |
| Ileu               | 37   | 25                                       |
| Leu                | 100  | 94                                       |
| Tyr                | 13   | 13                                       |
| Phe                | 9  | 5  |
| Try                | 0  | 4  |
| Total:             | 858  | 877                                      |

<sup>+</sup>Milestein(1967)

Table 3. A Comparison of the Charged Group on Paramyosins from Abalone and Some Lamellibranchs

|   | (residue/10 <sup>5</sup> g protein) |     |            |                       |           |     |     |            |      |
|---|-------------------------------------|-----|------------|-----------------------|-----------|-----|-----|------------|------|
|   | Glu                                 | Asp | Total acid | Amide NH <sub>3</sub> | Free acid | Lys | Arg | Total base | Chge |
| Gastropod<br>abalone                        | 188                                 | 107 | 295        | 106                   | 189       | 62  | 101 | 163        | 26   |
| Lamellibranchs<br><i>Venus</i> <sup>+</sup> | 169                                 | 114 | 283        | 110                   | 173       | 62  | 81  | 143        | 30   |
| <i>Aulacomya magelanica</i> <sup>++</sup>   | 222                                 | 119 | 341        | 124                   | 217       | 70  | 89  | 159        | 58   |

<sup>+</sup>Kominz, et al (1966)

<sup>++</sup>Milstein (1967)

0.61로서 약간 낮은 것이 特徵이다.

Table 3에서는 腹足類에 屬하는 전복과 2枚貝인 *Aulacomya* 및 *Venus*에 對한 아미노酸의 Charged group를 나타내었는데 Charged group에서 전복은 2枚貝類보다 약간 낮은 값을 보였으며, 이 點에 對하여 Kominz(1966)는 charged group가 적을수록 中性 pH 溶液에서의 溶解度가 떨어진다고 하였거니와 腹足類의 paramyosin은 一律적으로 2枚貝類라도 낮은 Charged group를 가지는 것인지 興味있는 結果이다.

### 要 約

腹足類 筋肉蛋白質을 다른 軟体動物의 그것과 比較生化學的으로 檢討하고자 전복을 選定하여 筋肉蛋白質의 組成을 測定하고 그 主要 構成蛋白質인 paramyosin을 精製 單離하여 몇가지 生物物理化學的인 性質에 關하여 實驗하였다.



## 전복 paramyosin

전복 근육의 단백질組成은 水溶性區分 19~22%, 鹽溶性區分 27~39%, 알칼리可溶性區分 20~26%, 그리고 stroma 20~28%이었다. 鹽溶性區分은 超遠心分析에서 paramyosin이 約 65%, actomyosin이 約 30%, myosin이 約 5%로서 이루어져 있음을 알았다.

그리고 超遠心分析上 均質의 單一 標品으로 判明 分離된 本 實驗에서의 전복 paramyosin은 沈降定數( $S_{20, \omega}^{\circ}$ ) 3.14s, 定全鹽溶 0.35 $\mu$  以上, 25°C에서의 固有精度는 3.1이었고, 한편 同 paramyosin은 鹽析分析에서 이 蛋白質의 鹽析範圍가 18~30%이었다. 그리고 아미노酸 分析結果, 構成아미노酸은 arginine, aspartic acid, glutamic acid 등이 많이 含有되어 있고, proline과 tryptophane이 欠如되어 있는 點等 2枚貝類의 아미노酸組成과 비슷하였으나, lysine/arginine의 比는 0.61로서 2枚貝類보다 낮았다.

## 謝 辭

끝으로 本實驗은 東京大學 農學部 水産化學研究室에서 하였으며, 實驗을 指導하여 주신 東京大學 教授 松浦 文雄 博士, 同 助教授 橋本 周久 博士, 그리고 超遠心分析의 協助를 하여 주신 日本 東海區 水産研究所 神名 孝一氏에게 深甚한 謝意를 表한다.

## 參 考 文 獻

- Baba, H. (1959): Studies on the proteins of shell-fish III. On the high ionic strength extracts of muscle of clam. *J. Nutr.* 15(3), 121-124.
- Beaven, G. H. and E. R. Holiday (1952): Analysis of the absorption spectra of proteins in terms of tyrosine and tryptophane content. *Adv. Prot. Chem.* 7, 369-386.
- Bailey, K. (1956): The proteins of adductor muscles. *Pubbl. Staz. Zool. Napoli* 29, 96-108.
- Bailey, K. (1957): Invertebrate tropomyosin. *Biochim. Biophys. Acta* 24, 612-619.
- Bailey, K. and J. C. Ruegg (1960): Further chemical studies on the tropomyosins of lamellibranch muscle with special reference to *Pecten maximus*. *ibid.* 38, 239-245.
- Elliot, G. F., J. Hanson, and J. Lowy (1957): Paramyosin elements in lamellibranch muscles. *Nature* 180, 4597.
- Hall, C. E., M. A. Jakus and F. O. Schmitt (1945): The structure of certain muscle fibrils as revealed by the use of electron stains. *J. Appl. Physiol.* 16, 459.
- Johnson, W. H. and J. S. Kahn (1959): Paramyosin and contraction of "catch muscles". *Science* 130 (3368), 160-161.
- Kominz, D. R. (1966): Phylogenetic studies of muscle proteins. *Phylogeny of Immunity*, p. 55, Univ. of Florida Press.
- Locker, H. L. and F. O. Schmitt (1957): Some chemical and structural properties of paramyosin. *J. Biophys. & Biochem. Cytol.* 3(6), 889-895.
- Migita, M., J. Matsumoto and N. Aoe (1959): A comparative study on the extractivity of muscle proteins of some animals. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 24(9), 751-759.
- Milstein, C. P. (1967): Isolation of *Aulacomya* paramyosin. *Biochem. J.* 103, 634-640.
- Pyeun, J., K. Hashimoto and F. Mastuura (1971): Studies on the top-shell paramyosin. Under the arrangement for contribution.
- Rockstein, M. and P. W. Herron (1951): Colorimetric determination of inorganic phosphate in micro-organic quantities. *Anal. Chem.* 23(10), 1500-1501.
- Ruegg, J. C. (1961): The protein associated with contraction in lamellibranch "catch muscle". *Proc. Roy. Soc. London. B.* 154, 209-223.

- Rüegg, J. C. (1961): On the tropomyosin-paramyosin system in relation to the viscous tone of lamellibranch "catch muscle". Proc. Roy. Soc. London. B. 154, 224-243.
- Schachman, H. K. (1957): Methods in Enzymology Vol. 4, 52-56, Academic Press, New York.
- Schachman, H.K. (1959): Ultracentrifugation in Biochemistry. pp. 63~174. Academic Press, New York.
- Shimizu, Y. and W, Shimidu (1960): Studies on muscle of aquatic animals-XXVIII. Protein composition of fish muscle Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 26(8), 806-809.
- Snellman, O. and M. Tenow(1954): A contractile element containing tropomyosin(Actotropomyosin) Biochem. Biophys. Acta 13, 199-208.
- Takashi, T. and T. Tanaka (1961): On the meat of the top-shell. Bull. Tokai Reg. Fish. Res. Lab. 30, 85-92.
- Tanikawa, E. and J. Yamashita (1961): Chemical studies on the meat of abalone. Bull. Fish. Fac. Hokkaido Univ. 12, 210.
- Tsuchiya, T. and J. Matsumoto (1970): Enzymatic activity of tropomyosin A from *Atrina* smooth adductor muscle. Seikagaku 42(8), 106.
- Umemoto, S. (1966): A modified method for estimation of fish muscle protein by Biuret method. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 32(5), 427-435.