

海産腹足類의 消化管組織中에 分布하는 蛋白質分解酵素의 活性

趙得文 · 卞在亨 · 卞大錫 · 金章亮

釜山水産大學 釜山水産大學
食品營養學科 食品工學科

Proteolytic Activity of the Crude Enzyme Extracted from the Digestive Tract of Marine Gastropods

Deuk Moon CHO, Jae Hyeung PYEUN, Dae Seok BYUN

Department of Nutrition and Food Science, National Fisheries University of Pusan
Namgu, Pusan, 608 Korea

and

Chang Yang KIM

Department of Food Science and Technology, National Fisheries University of Pusan
Namgu, Pusan, 608 Korea

This work was undertaken to obtain some characteristics of proteolytic enzyme of marine gastropods such as sea hare, *Aplysia kurodai*, top shell, *Turbo cornutus*, and abalone, *Haliotis discus hannai*.

An influence of pH, temperature and some chemicals on proteolytic activity of the crude enzyme extracted from digestive tract of the samples was taken into account and the stability of the enzyme during the storage at low temperature was also discussed.

In comparison of the activities of the crude enzyme from the samples to the optimum conditions, it was characterized that abalone has twice or the more times higher activities than the other two species of the gastropoda in the acid and weak acid region, while, in the alkaline region, sea hare has six or the more times higher activities than the other two species.

The proteolytic activity was facilitated by Mn^{2+} , some reducing agents, EDTA and DTT, and inhibited by Hg^{2+} and SDS, but the other chemicals were not significantly affected to the activity.

The low temperature storage of the enzymes of sea hare and top shell at $0^{\circ}C$ or $-20^{\circ}C$ was not affected to the enzymic activity under the optimum pH condition except in the alkaline region. On the other hand, the low temperature storage was brought about no significant effect on the activity of the enzymes extracted from abalone under the optimum condition of the weak acid region, but apparently influenced to the activity under the optimum condition of the acid and alkaline region.

緒 言

著者들은 前報(卞等, 1982)에서 水産軟體動物中 頭足類에 屬하는 낙지와 腹足類에 屬하는 전복 및 소라, 그리고 棘皮動物中의 해삼과 介殼動物中의 개불의 消化管組織中에 分布하는 蛋白質分解酵素의 活性條件에 關하여 實驗 報告하였다. 그 結果에 의하면 전복과 소라는 같은 바다에서 生育하는 腹足類이지만 다른 軟體動物이나 그 밖의 動物種에 比하여

活性條件이 서로 差異를 보이며, 消化管組織分布 蛋白質 分解粗酵素間에도 活性에는 두드러진 差異點을 보였다.

그리고, 이들 두 動物과 같은 腹足類에 屬하며, 形態上 貝殼을 갖지 않은 均소를 包含하여 生覺하면 이들 動物은 水産無脊椎動物中에서는 例外的으로 蛋白質 含量이 높고(約 13~20%), 또 共通的으로 蛋白質含量이 낮은 海藻類를 主餌料로 하는 데도 體成分中에는 蛋白質의 含量이 높은 것으로 보아 그 消

化管中에는 效率의인 蛋白質分解酵素를 保有하고 있을 것이 豫想된다.

따라서 本 研究에서는 이들 動物의 消化管組織中에 分布하는 蛋白質分解酵素의 活性條件과 그것에 影響하는 몇가지 因子에 關하여 特徵을 밝히므로서 이들 動物種 相互間의 生理生態學的 基礎知識을 提供코자 한다.

材料 및 方法

1. 材 料

1982年 11月 6日 釜山 海雲台 近海에서 採捕한 군소(*Aplysia Kurodai*, 體長: 15~19cm, 體重: 214~491g)와 1983年 3月 29日 慶北 鬱陵島 近海에서 捕獲한 소라(*Turbo cornutus*, 殼付重量: 202~450g) 및 1983年 4月 12日 慶南 忠武 近海에서 捕獲한 전복(*Haliotis discus hannai* 殼付重量: 110~205g)을 各 各 生存狀態로 入手하여 低溫實驗室로 運搬하였다. 이들 試料를 種類別로 消化管을 切取한 後에 그 内容物을 除去하고 冷蒸溜水로써 不純物을 가볍게 攪켜서 磨碎하여 組織에 分布하는 蛋白質分解 粗酵素液의 抽出에 使用하였다.

2. 粗酵素液의 抽出과 그 밖의 反應條件

前 報(卞 等, 1982)의 方法에 따랐다. 但, 阻害劑에 관한 實驗은 特別히 記載하지 않는 限, 阻害劑 種類別로 通常濃度條件인 1mM을 基準으로 測定하였고, 低溫貯藏이 酵素活性에 미치는 影響은 抽出된 粗酵素液 一定量씩을 0°C와 -20°C에 保管하면서 保管期間別로 活性의 變化를 測定하였다.

그리고 酵素濃度別에 따른 活性의 測定은 抽出된 粗酵素液의 蛋白質濃度를 測定한 다음, 該當하는 各 pH의 緩衝液으로 一定濃度間隔으로 稀釋한 다음, 測定한 酵素活性度를 單位 時間(分)當, 蛋白質 濃度(mg)當에 대하여 나타내었다.

3. 酵素 活性의 表示

Anson의 方法(萩原, 1955)에 따라 주어진 反應條件(基質 濃度 0.2%; 各 各 測定된 最適 pH와 溫度條件)에서 反應液中에 遊離되어 나온 1 μ g 相當의 tyrosine을 單位 時間當(1分) 遊離할 수 있는 酵素活性을 1單位로 하고 酵素抽出原液 1ml當의 酵素活性 單位, μ g-Tyr \cdot min $^{-1}$ ·ml $^{-1}$ 로써 나타내었다.

結果 및 考察

1. 活性 最適條件

試料動物의 消化管組織中에 分布하는 蛋白質分解 酵素의 活性을 위한 pH 條件을 알아 보기 위하여 標準 溫度條件인 37°C에서 Clark-Lubs 緩衝液(pH 2.2, pH 6.2~7.8 및 pH 8.2~9.6)과 citrate-phosphate 緩衝液(pH 2.8~5.8) 및 sodium carbonate 緩衝液(pH 10.0~)으로 pH를 調節한 反應液中에서의 活性을 測定한 結果를 Fig. 1에 나타내었다.

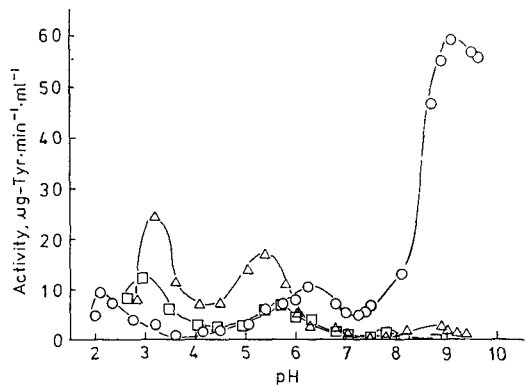


Fig. 1. Effect of pH on proteolytic activity of the tissue extracts from the digestive tract. The reaction mixture was incubated at 37°C.

○: Sea hare □: Top shell △: Abalone

세 實驗動物의 消化管組織中에는 各 各 pH 條件이 다른 3種類 以上の 蛋白質分解酵素가 分布하고 있음을 알 수 있는데, 즉 군소는 pH 2.1, 6.3, 9.1, 소라는 pH 3.0, 5.7, 7.8, 그리고 전복에는 pH 3.2, 5.4, 8.9에서 각각 活性을 위한 알맞은 pH 條件을 보이는 酵素들이 分布하고 있음을 推定할 수 있었다.

이들 各 pH 條件을 보이는 動物種別 酵素들에 대하여 酸性과 弱酸性 및 알칼리性으로 活性 pH 條件을 區分하여 各 pH 域別로 活性 最適溫度條件을 測定코자 實驗한 結果를 Fig. 2~4에 나타내었다.

먼저 酸性側에서 알맞은 活性條件을 보인 酵素들의 溫度條件을 보면(Fig. 2), pH 2.1에서 알맞은 活性條件을 보인 군소의 酸性側 蛋白質分解酵素의 알맞은 溫度條件은 45°C 附近, pH 3.0에서 알맞은 活性條件을 보인 소라의 酸性側 蛋白質分解酵素의 알맞은 溫度條件은 55°C 附近, 그리고 pH 3.2에서 알

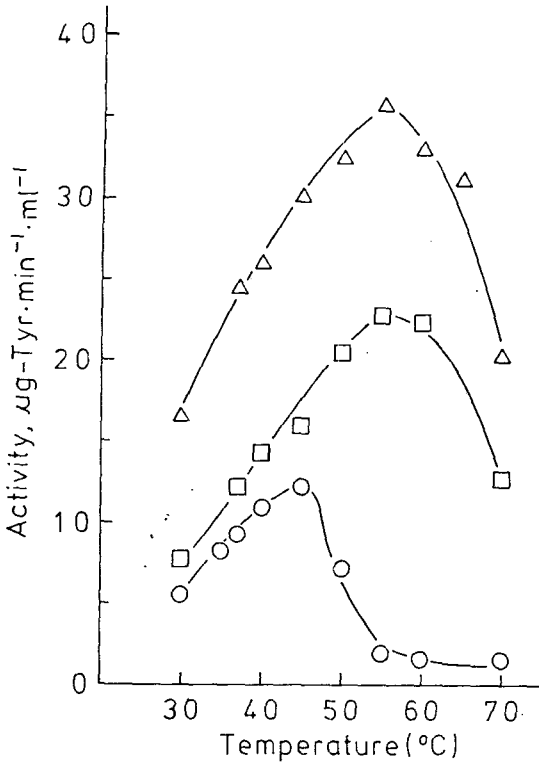


Fig. 2. Effect of temperature on proteolytic activity under the acid optima of the tissue extracts from the digestive tract.
○: Sea hare, pH 2.1 □: Top shell, pH 3.0
△: Abalone, pH 3.2

맞은 활성條件을 보인 전복의 酸性側 蛋白質分解酵素의 알맞은 溫度條件은 소라와 같은 55°C 附近임을 알 수 있었다.

마찬가지로 弱酸性側의 蛋白質分解酵素의 活性最適溫度條件을 보면(Fig. 3), pH 6.3에서 알맞은 활성條件을 보인 군소는 45°C, pH 5.7에서 알맞은 활성條件을 보인 소라는 50°C, 그리고 pH 5.4에서 알맞은 활성條件을 보인 전복은 45°C 附近에서 各各 높은 活性의 溫度條件을 보였다.

한편, 알카리性側의 蛋白質分解酵素의 活性最適溫度條件을 보면(Fig. 4), pH 9.1에서 活性를 보인 군소가 30°C 附近, pH 7.8에서 活性를 보인 소라와 pH 8.9에서 活性를 보인 전복이 함께 55°C 附近이 各各 높은 活性의 溫度條件을 보였다.

以上 各 動物種에 대한 最適 pH와 溫度條件을 反應液의 液性과 動物種別로 比較하여 보면 Table 1과 같다.

먼저 酸性域에서는 군소가 소라와 전복에 比하여 보다 酸性側으로 기운 pH에서, 그리고 約 10°C 程

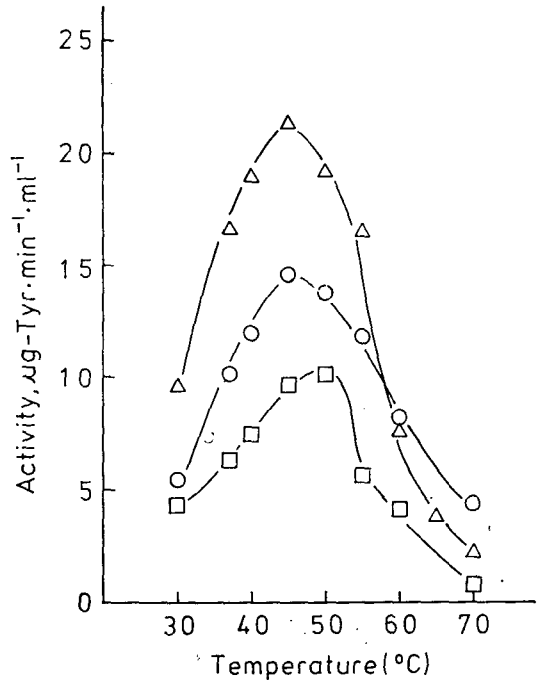


Fig. 3. Effect of temperature on proteolytic activity under the weak acid optima of the tissue extracts from the digestive tract.
○: Sea hare, pH 6.3 □: Top shell, pH 5.7
△: Abalone, pH 5.4

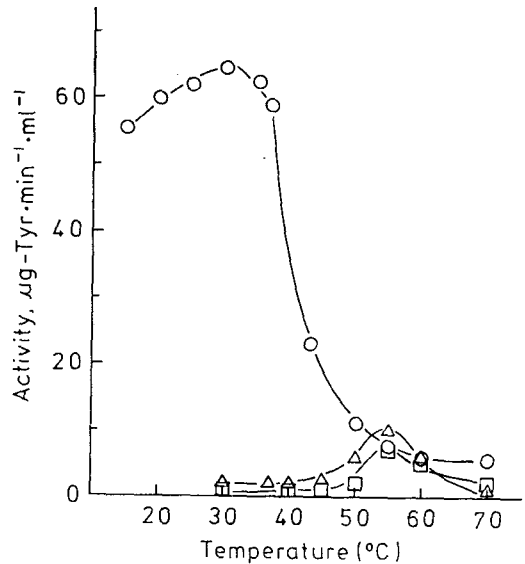


Fig. 4. Effect of temperature on proteolytic activity under the alkaline optima of the tissue extracts from the digestive tract.
○: Sea hare, pH 9.1 □: Top shell, pH 7.8
△: Abalone, pH 8.9

Table 1. Comparison of optimum condition with proteolytic activity of the tissue extracts from the digestive tract.

Activity range by pH	Species	Optimum condition		Activity
		pH	Temp. (°C)	
Acid	Sea hare	2.1	45	12.19
	Top shell	3.0	55	22.66
	Abalone	3.2	55	35.75
Weak acid	Sea hare	6.3	45	14.58
	Top shell	5.7	50	10.10
	Abalone	5.4	45	21.32
Alkali	Sea hare	9.1	30	64.70
	Top shell	7.8	55	6.73
	Abalone	8.9	55	9.87

度 낮은 온도 조건인 45°C에서 酸性 蛋白質分解酵素의 最適活性 조건을 보였다. 그리고, 소라와 전복 사이에는 酸性 蛋白質分解酵素의 最適 活性 조건에 差異가 거의 없었다.

酸性域의 最適活性 조건에서 나타난 活性도를 比較하면 전복의 消化管組織에서 抽出한 粗酵素가 가장 높았고, 군소가 가장 낮았으며, 전복쪽이 군소보다 약 3배쯤 높았다.

弱酸性域에서는 전복의 消化管組織 抽出 粗酵素는 反應의 pH가 다른 두 動物의 그것에 比하여 若干 酸性이 강한 조건이었으며, 活性도 또한 가장 높았다.

알카리성域에서는 군소에서 抽出한 粗酵素가 反應의 알맞은 液性은 가장 알카리성側으로 기운 pH인 9.1에서 反應의 알맞은 온도 조건이 가장 낮은 30°C로서 소라와 전복에 比하여 約 25°C 程度나 낮은 온도 조건이었으며, 反面 活性은 소라와 전복에 比하여 約 10배 가까이 높은 特徵을 보였다.

이 結果는 前報(卞等, 1982)의 전복과 소라에 關한 活性 조건에 比하여 알카리성域의 소라와 전복이 pH 7.6, 40°C에서 活性이 47.12, 그리고 pH 7.3, 60°C에서 活性이 8.27이었음에 비추어 상당한 差異를 보였는데 이러한 相峙하는 結果는 이들 動物이 棲息 조건에 따라 消化管 組織中의 酵素도 影響을 받기 때문에 나타난 結果인 것으로 생각된다.

2. 最適活性 조건에 影響하는 因子

(1) 酵素濃度

抽出한 粗酵素의 反應液中的 濃도를 變化시켰을

때의 各 最適 反應 條件別 酵素活性에 미치는 影響을 Fig. 5~7에 나타내었다. 먼저 弱酸性域의 各 最適 pH와 온도別로 보면(Fig. 5), 군소는 粗酵素 濃度 約 0.54mg/ml까지의 結果로서 보았을 때 酵素濃度의 增加와 더불어 거의 規則的으로 活性도 增加하였으며, 소라와 전복은 粗酵素 濃度 約 0.05 mg/ml까지는 急激히 增加하였으나 그 以上の 濃度에서는 緩慢한 增加傾向을 보였다.

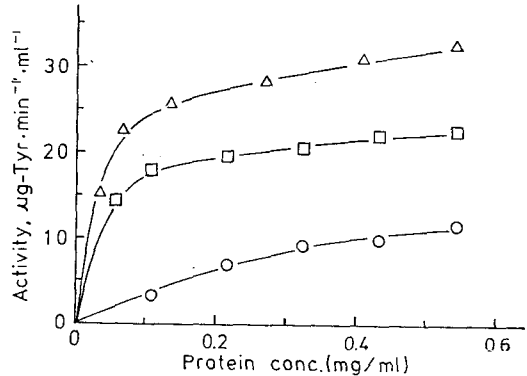


Fig. 5. Effect of crude enzyme concentration on proteolytic activity under the acid optima of the tissue extracts from the digestive tract. Symbols are the same as in Fig. 2.

그리고 弱酸性域에서 活性을 보이는 粗酵素의 最適 反應 조건에서의 粗酵素濃度別 活性에 미치는 影響을 보면(Fig. 6), 군소, 소라, 전복이 모두 濃度의 增加와 거의 比例하여 活性도 增加하였으나, 그 增加의 幅은 전복이 가장 컸고, 다음이 군소, 소라의 順으로 나타났다.

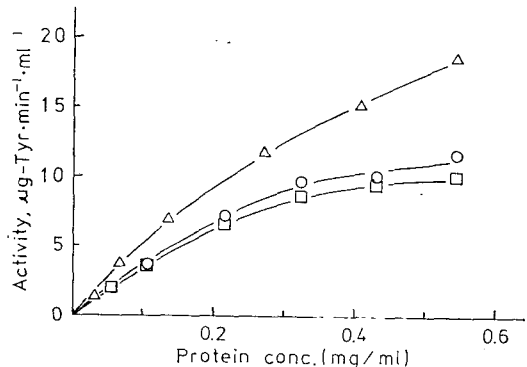


Fig. 6. Effect of crude enzyme concentration on proteolytic activity under the weak acid optima of the tissue extracts from the digestive tract. Symbols are the same as in Fig. 3.

그러나 알카리域에서 活性을 보이는 粗酵素의 濃度別 活性에 미치는 影響은(Fig. 7), 근소에 있어서 濃度の 增加와 더불어 活性도 顯著히 增加하였으나 소라와 전복에 있어서는 함께 濃度の 增加에 비하여 活性의 增加幅은 極히 緩慢하였다.

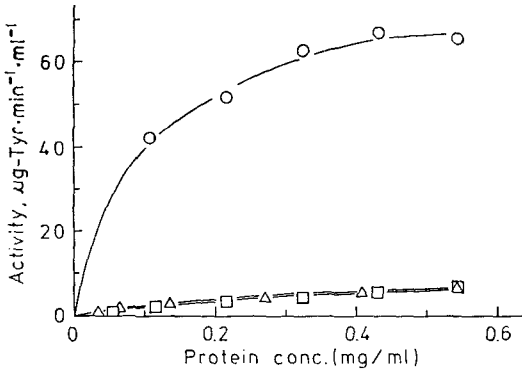


Fig. 7. Effect of crude enzyme concentration on proteolytic activity under the alkaline optima of the tissue extracts from the digestive tract. Symbols are the same as in Fig. 4.

(2) 金屬劑 및 그 밖의 化學藥劑

근소, 소라 및 전복의 消化管組織에서 抽出한 粗酵素에 대하여 각기 最適 pH와 溫度條件에서 몇가지 代表的인 金屬이온과 還元劑, 킬레이트劑, 酸化劑, 그리고 SH-試藥 및 變性劑가 蛋白質分解酵素의 活性에 미치는 影響을 分析한 結果를 Table 2에 나타내었다.

各藥劑에 대하여 活性化劑와 阻害劑의 影響에 대한 通常 濃度條件인 1mM의 濃度에서 各各 反應시킨 結果 顯著한 活性化 效果를 보인 것은 근소에 있어서 pH 2.1, 45°C일 때의 金屬이온中の Mn²⁺, Cu²⁺, Hg²⁺, 實驗에 쓰인 全 還元劑, 킬레이트劑中の EDTA와 타르타르酸, SH-劑中の DTT, pH 6.3, 45°C일 때의 金屬이온中 Mn²⁺, Cu²⁺, 實驗에서 쓴 全還元劑, 酸化劑인 K₃Fe(CN)₆, 그리고 pH 9.1, 30°C일 때의 還元劑中 ascorbic acid 등을 들 수 있었다. 근소의 粗酵素에서 顯著한 阻害效果를 보인 것은 pH 2.1, 45°C일 때는 酸化劑인 K₃Fe(CN)₆와 變性劑인 SDS, pH 6.3, 45°C일 때는 變性劑인 SDS, 그리고 pH 9.1, 30°C일 때는 金屬이온中の Co²⁺, Cu²⁺, Zn²⁺, Hg²⁺, 킬레이트劑中の EDTA, SH-試藥中の MIAA와 變性劑中の SDS 및 0.2 M urea 등을 들 수 있었다.

소라의 粗酵素에서 顯著한 活性化 效果를 보인 것은

pH 3.0, 55°C일 때는 金屬이온中の Co²⁺, Mn²⁺, Cu²⁺, 實驗에 쓴 全 還元劑, SH劑中の DTT 등을, pH 5.7, 50°C일 때는 金屬이온中の Ca²⁺, Mn²⁺, Cu²⁺, Zn²⁺, 實驗에 使用한 全還元劑와 킬레이트劑 및 SH-試藥, 變性劑中の SDS를, 그리고 pH 7.8, 55°C일 때는 金屬이온中の Ca²⁺와 Mn²⁺, 全 還元劑, 킬레이트劑中の EDTA, 酸化劑인 K₃Fe(CN)₆, SH 試藥中の DTT를 들 수 있었다. 그리고, 두드러지게 阻害作用을 일으킨 것으로는 pH 3.0, 55°C일 때는 酸化劑인 K₃Fe(CN)₆와 SH 試藥中の MIAA 및 變性劑中の SDS를, pH 5.7, 50°C일 때는 金屬이온中の Hg²⁺을, pH 7.8, 55°C일 때는 金屬이온中の Co²⁺, Mg²⁺, Cu²⁺, Hg²⁺과 SH 試藥中の MIAA, 變性劑中の SDS를 들 수 있었다.

한편, 전복의 粗酵素에 있어서 活性化 效果를 보인 것은 pH 3.2, 55°C일 때는 金屬이온中 Cu²⁺, 모든 還元劑, SH 試藥中の DTT를, pH 5.4°C일 때는 金屬이온中 Mn²⁺, Cu²⁺과 實驗에 쓴 모든 還元劑, SH 試藥中の DTT를, 또 pH 8.9, 55°C일 때는 金屬이온中 Mn²⁺과 거의 모든 還元劑, 킬레이트劑中の 타르타르酸, 酸化劑인 K₃Fe(CN)₆, SH 試藥中の DTT를 各各 들 수 있었다.

전복 粗酵素의 作用에 阻害效果를 보이는 것에는 pH 3.2, 55°C일 때는 Mn²⁺을 除外한 모든 金屬이온, 킬레이트劑中の 酢트르酸, 酸化劑中の K₃Fe(CN)₆, 實驗에 쓴 모든 變性劑와 pH 5.4, 45°C일 때는 Mn²⁺과 Cu²⁺을 除外한 모든 金屬이온, 모든 킬레이트劑, 酸化劑인 K₃Fe(CN)₆, SH 試藥中の MIAA, 모든 變性劑를 그리고 pH 8.9, 55°C일 때는 Ca²⁺, Mn²⁺을 除外한 모든 金屬이온과 킬레이트劑中の 酢트르酸, SH 試藥中の MIAA, 그리고 모든 變性劑를 들 수 있었다.

以上 各藥劑가 酵素의 活性에 共通의으로 미치는 影響을 綜合하여 보면, 活性化 效果를 보인 것은 一部の 例外를 除外한 金屬이온中の Mn²⁺과 모든 還元劑, 킬레이트劑中の EDTA, SH 試藥中の DTT 등이었고, 阻害效果를 보인 것은 一部 例外를 除外한 金屬이온中の Hg²⁺ 및 變性劑中の SDS 등이었다.

化學藥劑가 水産動物 組織中에 分布하는 蛋白質分解酵素의 活性에 미치는 影響에 關하여 報告한 研究들을 보면 Makinodan과 Ikeda(1969)는 잉어肉中에 分布하는 酸性 pH 領域에서 活性을 보이는 蛋白質分解酵素를 部分 精製하여 그 最適 活性條件과 化學藥劑에 의한 影響을 檢討한 結果, pH 2.8, 50°C에 最適活性條件을 보이는 이 酵素는 金屬이온中

Table 2. Effect of some metallic ions and other chemicals on proteolytic activity of the tissue extract from the digestive tract

Chemical agents (1×10 ⁻³ M)	Relative activity (%)								
	Sea hare			Top shell			Abalone		
	pH 2.1	pH 6.3	pH 9.1	pH 3.0	pH 5.7	pH 7.8	pH 3.2	pH 5.4	pH 8.9
<i>Metallic ions</i>									
CaCl ₂	95.65	106.03	111.79	107.48	112.74	112.77	85.94	82.88	102.94
CoCl ₂	100.00	114.66	89.23	111.02	109.80	73.58	89.69	90.54	63.24
MnCl ₂	135.87	150.00	109.96	116.14	137.25	122.64	91.88	112.16	133.82
MgSO ₄	95.65	105.17	114.23	103.53	110.78	81.13	85.94	81.98	88.24
CuSO ₄	170.65	135.34	33.94	122.44	168.62	66.04	122.19	110.36	82.35
ZnCl ₂	113.64	108.26	81.66	108.49	116.35	91.49	85.00	91.89	78.43
HgCl ₂	128.41	98.35	79.02	92.28	81.73	14.89	69.38	58.59	11.76
<i>Reducing agents</i>									
L-Ascorbic acid	301.09	156.90	117.89	144.48	146.07	160.38	110.00	183.78	150.00
L-Cysteine	236.96	107.76	103.86	139.76	177.45	116.98	113.13	123.87	108.82
2-Mercaptoethanol	231.82	163.64	102.08	134.36	171.15	187.23	116.25	136.49	125.49
<i>Chelating agents</i>									
Citric acid	104.35	114.66	95.53	108.67	116.67	105.66	78.44	89.19	92.65
EDTA	115.91	110.74	72.02	101.16	113.46	114.89	102.19	70.27	107.84
Tartaric acid	126.14	112.40	98.87	108.11	117.32	104.25	95.63	85.59	117.65
<i>Oxidizing agent</i>									
K ₃ Fe(CN) ₆	73.85	118.18	99.43	48.26	99.04	136.17	85.00	63.96	141.18
<i>SH-reagents</i>									
MIAA	106.82	105.79	85.75	89.58	110.58	89.36	95.94	82.88	72.55
DTT	123.86	101.65	99.81	130.89	177.88	189.36	119.06	122.07	135.29
<i>Denaturing agents</i>									
SDS	88.64	90.08	8.13	92.66	110.58	87.23	65.63	92.34	92.16
SDS*	—	—	—	71.81	102.04	29.27	51.88	88.29	80.39
Urea**	113.04	103.45	98.58	103.93	107.84	98.11	77.50	85.59	88.24
Urea***	111.32	107.83	60.41	109.27	106.12	95.12	71.25	84.23	89.70

* 2×10⁻³M ** 1×10⁻¹M *** 2×10⁻¹M

EDTA: Ethylenediaminetetraacetic acid MIAA: Monoiodoacetic acid DTT: Dithiothreitol
SDS: Sodium dodecyl sulfate

Ni²⁺ 와 glutathion 및 mercaptoethanol 등還元劑에 의하여賦活한다고 하였는데 이結果는還元劑에 의한影響에서는共通點을 보였다. 또, Makinodan과 Ikeda(1976)는 역시 잉어肉에서部分精製된弱酸性領域에서活性을 보이는 cathepsin A는 Co²⁺ 과 Zn²⁺ 및 mercaptoethanol 등에 의하여活性化하고 Hg²⁺에 의하여失活한다고 하였는데 이點은本實驗에서共通의으로 mercaptoethanol에 의하여活性化하고 Hg²⁺에 의하여阻害를 받은點과 아주 닮은結果임을 알 수 있었다. Iwata 등(1974)은最適條件을 pH 8.0, 65°C에 갖는 잉어肉 알칼리性蛋白質分解酵素의化學藥劑에 의한影響을檢討한結果, Hg²⁺ 과 urea, SDS 등의變性劑에 의하여顯著한阻害를 받았으며, mercaptoethanol과 DTT, 그리고 몇가지還元劑에 의하여活性化效果를 보였다

고 하였는데 이같은發表들은本實驗에서 다른3種의海産腹足類의消化管組織分布蛋白質分解酵素가化學藥劑에 대하여보인共通點과도一致함을 알 수 있었다. 한편,軟體動物의組織中에分布하는蛋白質分解酵素의活性에 미치는化學藥劑의影響에關하여報告된內容을 보면, Ito와 Saito(1963)는 왕게(King crab)의肝臟中에分布하는弱酸性(活性條件; pH 6.8, 35.5°C)蛋白質分解酵素의活性에 미치는化學藥劑의影響을檢討한結果金屬이온中 Mn²⁺ 과 L-ascorbic acid, cysteine 등의還元劑에 의하여서는活性化하였고, Hg²⁺에 의하여서는強한阻害作用을 보였다고 하였는데, 이結果는本實驗의結果와傾向의으로 비슷한結果임을 알 수 있었다. 그러나,淺原(1973)에 의하면 새우의一種인 *Trachypenaeus curvirostris*의肝臟에서알칼리性(活性

條件; pH 8.4, 55°C) 蛋白分解酵素의 活性에 미치는 化學藥劑의 影響을 分析한 結果, 金屬이온中 Hg²⁺에 의하여서는 強한 阻害作用을 받았으나 몇가지 還元劑와 킬레이트劑 및 SH-劑에 의하여서도 阻害作用을 보여 酵素自體의 生物 根源과 最適活性條件에 따라 化學藥劑에 대한 影響도 差異가 있음을 알 수 있었다.

또, Maugle 等(1982)도 보리 새우(*Penaeus japonicus*)의 肝脾臟組織에 分布하는 알카리性蛋白分解酵素(活性最適條件; pH 8.0, 40°C)의 活性에 미치는 化學藥劑의 影響을 分析하고 Co²⁺, Cu²⁺, Hg²⁺, iodoacetic acid 等은 阻害作用을 보이고, Fe²⁺ 等은 活性化의 作用을 보인다고 하였는데 이點 本實驗의 海産腹足類 消化管組織의 알카리性蛋白分解酵素의 化學藥劑에 의한 影響과 비슷한 結果였으나, 몇몇 還元劑와 酸化劑中의 K₃Fe(CN)₆가 微微하지만 阻害作用을 보였다는 內容은 本實驗의 알카리性 蛋白分解酵素가 活性化效果를 보인 結果와는 相馳하는 差異를 보였다.

(3) 低溫保管의 影響

各 消化管組織 分布 蛋白質分解酵素의 活性에 미치는 低溫 保管의 影響을 알아 보기 위하여 各各 抽出된 粗酵素液을 一定量씩 0°C와 -20°C에 保管하여 두고 保管日數의 經過에 따라 酵素 活性의 變化를 測定하여 Fig. 8~10에 나타내었다.

먼저 근소의 消化管組織에서 抽出한 粗酵素에 대하여 最適 pH 및 溫度條件別로 보면(Fig. 8), pH 2.1 溫度 45°C와 pH 6.3 溫度 45°C에서 最適條件을 보인 酵素의 活性은 25일까지의 保管에서 0°C와 -20°C에서 保管한 것이 같이 保管日數의 經過와 더불어 거의 活性의 變化를 보이지 않거나 또는 微微하지만 도리어 上昇하는 結果였고, pH 9.1 溫度 30°C에서 最適條件을 보인 酵素의 活性은 保管 20日째 부터는 急激히 下降하였다.

소라의 消化管組織에서 抽出한 粗酵素의 境遇에도 (Fig. 9) pH 3.0 溫度 55°C와 pH 5.7 溫度 50°C 일 때는 0°C와 -20°C의 保管에서는 影響을 거의 받지 않았으나, pH 7.8, 溫度 55°C에서 最適條件을 보인 酵素의 境遇는 保管日數의 經過와 더불어 活性이 顯著히 減少하는 傾向을 보여 근소의 消化管組織에서 抽出한 粗酵素의 低溫保管에 의한 活性에 미치는 影響과 비슷한 結果를 보였다.

그러나 전복의 消化管組織에서 抽出한 粗酵素 일 때는 pH 5.4 溫度 45°C에 最適條件을 갖는 境遇가 溫度 活性에 微微한 影響을 받은 것을 除外하면 pH 3.2 溫度 55°C와 pH 8.9 溫度 55°C에 最適條件을 갖는 境遇들은 0°C와 -20°C의 低溫條件일때 保管期間의 經過와 더불어 活性이 低下하여 低溫에서도 相當히 不安定함을 알았다.

몇가지 魚類를 對象으로 하여 그 組織中에 分布하

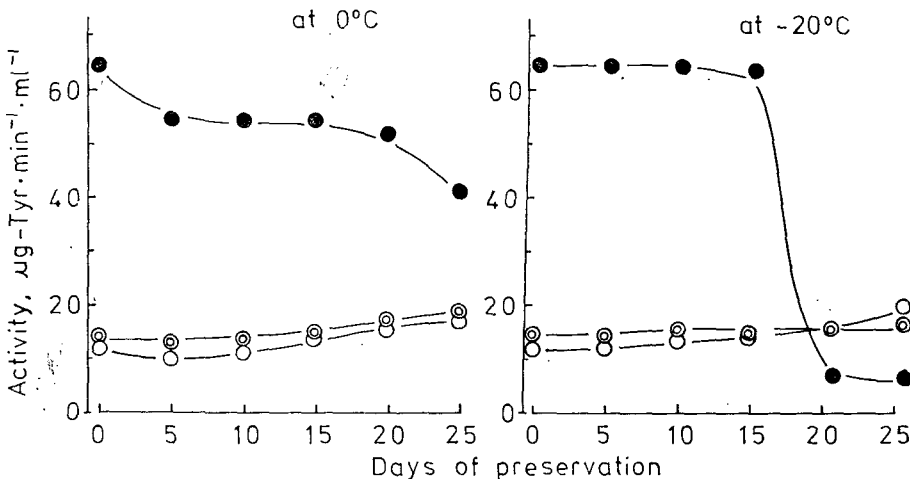


Fig. 8. Changes of proteolytic activity of the tissue extracts from the digestive tract of sea hare during preservation at 0°C and -20°C. The reactions were done under the optimum condition at pH 2.1; 45°C(○), pH 6.3; 45°C(○●) and pH 9.1; 30°C(●●).

海産腹足類의 消化管組織中에 分布하는 蛋白質分解酵素의 活性

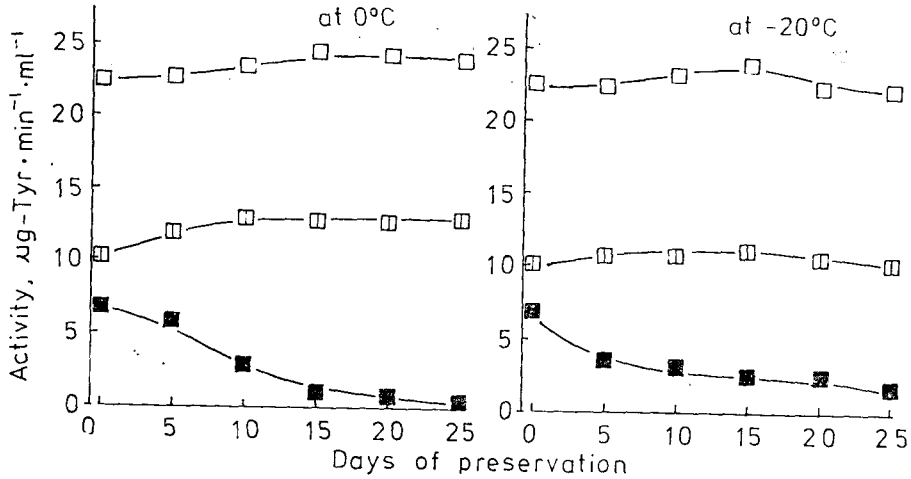


Fig. 9. Changes of proteolytic activity of the tissue extracts from the digestive tract of top shell during preservation at 0°C and -20°C. The reactions were done under the optimum condition at pH 3.0; 55°C(□), pH 5.7; 50°C(□), pH 7.8; 55°C(■).

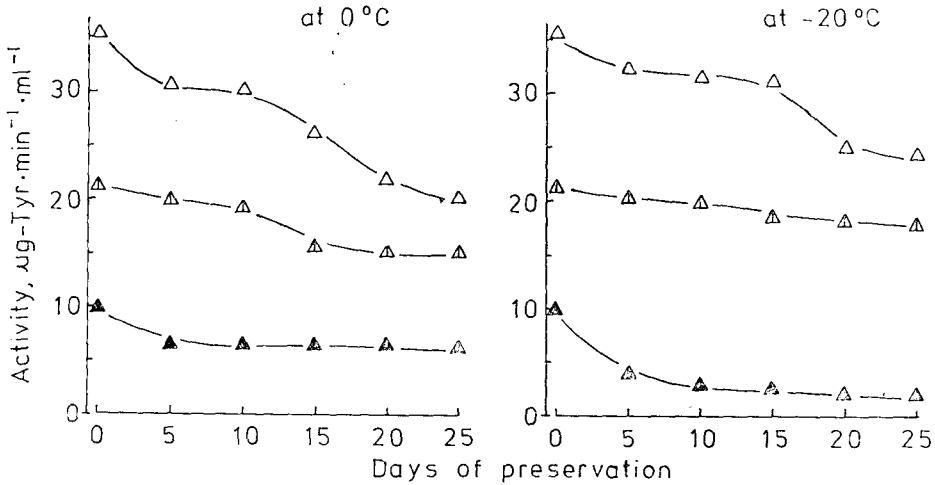


Fig. 10. Changes of proteolytic activity of the tissue extracts from the digestive tract of abalone during preservation at 0°C and -20°C. The reactions were done under the optimum condition at pH 3.2; 55°C(△), pH 5.4; 45°C(△) and pH 8.9; 55°C(▲).

는 알칼리성 蛋白質分解酵素의 低溫貯藏에 의한 影響을 報告한 바에 의하면(南과 下, 1983), -20°C에서 貯藏하였을 때 貯藏 7일이 經過했을 때의 酵素活性은 큰 變動이 없었다고 하였으나 本 實驗에 쓴 試料일 때는 알칼리성 蛋白質分解粗酵素인 境遇 0°C와 -20°C에서 保管했을 때 活性이 低下하여 動物種의

相違는 酵素의 活性에 미치는 諸因子에 의한 影響도 差異가 있음을 알 수 있었다. 그리고 低溫 保管에 의한 同種試料種에 의한 結果(下等, 1982)에 있어서도 같은 條件으로 保管했을 때 活性에 미치는 影響이 多少 差異가 있어 이같은 酵素의 活性에는 어떤 複合的인 影響因子가 潛在하는 것으로 豫想되었다.

要 約

海産腹足類의 消化管組織에 分布하는 蛋白質分解 酵素의 活性에 미치는 pH, 溫度, 化學藥劑, 低溫 保存 等의 影響을 밝히므로서 그 生理 生態學的 關聯 知識을 얻고, 나아가서 그 精製를 위한 몇가지 基本 的인 性質을 究明코자 本 研究를 試圖하였다.

實驗 結果를 要約하면 다음과 같다.

1. 근소, 소라, 전복의 消化管組織에서 抽出된 蛋白質分解粗酵素의 活性最適條件에서의 活性을 보면, 酸性域과 弱酸性域에서는 전복이 다른 두 腹足類에 比하여 2倍 或은 그 以上 높았으며, 알카리性域에서는 근소가 다른 두 腹足類에 比하여 6倍 或은 그 以上 높은 特徵을 보였다.

2. 化學藥劑가 酵素의 活性에 미치는 影響을 綜合 하여 보면, 大體로 金屬이온中의 Mn^{2+} , 實驗에 全 還元劑, 킬레이트劑中의 EDTA, SH 試藥中의 DTT 等에 의하여 活性化하였고 金屬이온中의 Hg^{2+} 및 變性劑中의 SDS 等에 의하여서는 共通的으로 阻 害를 받았다.

3. 이들 酵素가 보인 活性能의 低溫保存에 의한 影響을 보면, $0^{\circ}C$ 와 $-20^{\circ}C$ 에 保管하였을 때, 근소 와 소라의 酸性과 弱酸性域에서 最適活性條件을 보 이는 酵素들은 保管期間의 經過에도 影響을 보이지 않았지만 알카리性域에서 最適活性條件을 보인 酵素 들은 保管日數의 經過와 더불어 活性이 低下하여 不 安定함을 알았다.

그러나, 전복의 弱酸性域에서 最適活性條件을 보 이는 酵素는 保管期間의 經過에도 活性에는 影響이 없었으나 酸性과 알카리性域에서 最適活性條件을 보 인 酵素들은 保管期間의 經過와 더불어 活性이 低下 하여 低溫에서는 不安定함을 알 수 있었다.

參 考 文 獻

淺原 充雄. 1973. サルエビ肝臓中の蛋白質分解酵素に

ついて. 日水會誌, 39(9), 987~991.

Ito, Y. and T. Y. Saito. 1963. Studies on Proteolytic Enzyme of Liver of King Crab, *Paralithodes camtschatica*(TILESIUS) - II. Effects of Temperature, pH and Various Chemical Reagents. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 29(10), 942~947.

Iwata, K., K. Kobashi and J. I. Hase. 1974. Studies on Muscle Alkaline Protease - II. Some Enzymatic Properties of Carp Muscular Alkaline Protease. *ibid.*, 40(2), 189~200.

Iwata, K., K. Kobashi and J. I. Hase. 1974. Studies on Muscle Alkaline Protease. *ibid.*, 40(2), 189~200.

Makinodan, Y. and S. Ikeda. 1969. Studies on Fish Muscle Protease - II. Purification and Properties of a Proteinase Active in Slightly Alkaline pH Range. *ibid.*, 35(8), 749~757.

Makinodan, Y. and S. Ikeda. 1976. Studies on Fish Muscle Protease - VI. Separation of Carp Muscle Cathepsin A. *ibid.*, 42(2), 239~247.

南澤正·卞在亨. 1983. 魚類의 組織中에 分布하는 알카리性 蛋白質分解酵素의 活性條件, 韓水誌., 16(2), 147~153.

萩原文二, 1963. 酵素研究法 第2卷(赤堀 四郎編). 7 版, 237~259, 朝倉書店, 東京, 日本.

卞在亨·趙得文·崔暎準·卞大錫·鄭兌和. 1982. 水産軟體動物의 消化管組織分布 蛋白質分解酵素의 活性最適條件. 釜山水大海研報., 14, 59~67.