

생쥐 췌장조직내 Protein Methylase에 대한 자율신경계약물의 영향

유태무 · 박선미 · 이향우
성균관대학교 약학대학
(Received August 9, 1991)

Effect of Adrenergic and Cholinergic Agents on the Activities of Protein Methylases in Pancreatic Tissue

Tae Moo Yoo, Sun Mee Park and Hyang Woo Lee
College of Pharmacy, Sung Kyun Kwan University, Suwon 440-746, Korea

Abstract—It was reported that protein carboxymethylation is involved in amylase secretion of parotid gland by isoproterenol. It was also suggested that a small part of the total cellular protein carboxymethylation is directly involved in pancreatic enzyme secretion. On the contrary, other authors reported that there is no relationship between protein carboxymethylation and secretion in pancreas and parotid gland. In recent study, it was proposed that a methyl acceptor protein plays a limited modulatory role in the coupling of cytosolic Ca^{+1} accumulation and exocytosis. In this study, the effects of cholinergic and adrenergic agents on the activities of protein methylase II in pancreatic tissues were examined to test the relationship between protein methylation and pancreatic secretion. The results are as follows. The activity of amylase was slightly increased at the concentration of 10^{-5} M of isoproterenol and norepinephrine. The activities of protein methylase I and II were decreased by isoproterenol and norepinephrine, but the activities of protein methylase III were hardly changed. The cholinergic stimulants acetylcholine and carbachol at a concentration of 10^{-5} M increased the activities of protein methylase I and decreased the activity of protein methylase III compared with control.

Keywords □ protein methylase, isoproterenol, norepinephrine, propranolol, acetylcholine, carbachol, atropine.

Posttranslational side-chain modification 중의 하나인 protein methylation은 procaryote에서 eucaryote까지 여러 organism에서 관찰되었다. 이 현상에는 lysine, arginine, histidine, glutamine, asparagine residue의 N-methylation과 alanine, proline의 amino terminal N-methylation, glutamic acid, aspartic acid residue의 O-methylation 그리고 cysteine, methionine residue의 S-methylation이 있다.¹⁻⁵⁾ Protein methylation 반응은 S-adenosyl-L-methionine을 methyl donor로 하여 수종의 protein specific, group-specific methyltransferase에 의해 일어나는데, 이들 methyltransferase는 substrate protein의 특정 amino residue에 대한 높은 특이성을 가진다.^{6,7)} Protein

methylation이 관계되는 생화학적 현상에는 myelin 형성, bacterial chemotaxis,⁸⁻¹⁰⁾ chromatin condensation,¹¹⁻¹⁴⁾ musclecontraction,¹⁵⁾ electrontransport,¹⁶⁻¹⁸⁾ carnitine 생합성¹⁹⁾에 관여한다고 보고되고 있다.

특히 Protein carboxymethyltransferase의 생리적 작용으로는 chemotaxis, neuronal receptor function, cellular differentiation, sperm motility, secretion 등의 regulation에 관여하며 또한 repair mechanism에 관여하는 것으로도 알려져 있다.²⁰⁾ 그리고 최근 흥미있는 연구결과로 Ha-ras oncogene의 product와 brain G-protein의 γ subunit의 구조내 cysteine이 carboxymethylation되어 있음이 보고되고 있다.^{21,22)} protein carboxymethylation(protein methylase II ;

PCM)과 secretion의 상관관계에 대해 많은 연구가 진행되고 있고, PCM이 pituitary gland에서 hormone의 secretion에 중요한 역할을 하고, 췌장에서의 amylase 분비에 관여하며, isoproterenol에 의한 타액분비 기전에 중요한 역할을 한다는 보고^{25,26)}가 있는데, PCM과 기질인 methyl acceptor protein(MAP)이 신경계와 내분비계 조직에 많이 분포되어 있는 것과 calcium binding protein인 calmodulin 등이 methylation된다는 것은 PCM이 secretion에 관여되어 있음을 시사해준다.^{23,24)}

이에 본 연구에서는 췌장분비와 protein methylase와의 상관관계를 규명하고자 자율신경계 약물에 의한 amylase 분비 효과와 protein methylase의 활성도 변화를 비교 검색하였다.

실험재료 및 실험방법

실험재료 - S-adenosyl-L-(methyl-¹⁴C) methionine (SAM, specific activity 59 mci/mmol in H₂SO₄ pH 3.0 from Amersham), histone type II-As(from calf thymus), phenol reagent, bovine serum albumin, acetylcholine chloride, carbamylcholine chloride, atropine sulfate, isoproterenol chloride, norepinephrine bitartrate, propranolol chloride, DNSA(dinitrosalicylic acid), PPO(2,5-diphenyl-oxazole), POPOP [1,4-bis(5-phenyl-oxazol-2-yl)-benzene] 등 기타의 시약은 시판의 특급시약을 사용하였다.

실험방법

췌장편 조작 - 1) 췌조직 incubation 및 약물처리 : 25g 전후의 ICR계 생쥐로부터 절취한 췌장을 4°C, pH 7.4의 Krebs-Ringer Bicarbonate Buffer(KRBB) 내에서 지방조직과 혈관을 완전히 제거한 후 다음과 같은 방법에 따라 조작하였다. 미리 산소로 포화된 Krebs-Ringer Bicarbonate Buffer(KRBB) 용액에 250 mg 절편을 만들어 넣고 95% O₂와 5% CO₂의 혼합가스를 통해주면서 췌장조직과 medium의 모든 조건이 평형이 되도록 37°C에서 20분간 preincubation 하였다. 각 절편을 다시 4 ml의 KRBB 용액이 함유된 시험관에 옮기고, 자율신경계 약물인 acetylcholine (10⁻⁵ M), carbachol(10⁻⁵ M), atropine(10⁻⁵ M), isoproterenol(10⁻⁵ M), norepinephrine(10⁻⁵ M), propranolol(10⁻⁵ M)을 각각 첨가한 후 혼합 gas를 통

해주면서 15분, 30분, 60분, 90분, 120분으로 나누어 incubation하였다. 그리고 atropine, propranolol에 의한 영향을 알아보기 위하여 atropine, propranolol을 20분간 각각 전처리한 후에 acetylcholine, isoproterenol을 각각 처리하여 incubation하였다.

2) 췌조직 처리 : Incubation이 종료된 췌조직은 0.25 M sucrose 용액 9 volume을 가하여 glass-teflon homogenizer로 연마한 후 double cheese cloth를 통과시켜 여과하였다. 이 균질액을 protein methylase 활성도와 protein 농도를 측정하는데 효소원으로 사용하였다.

효소활성도 측정 - 1) Protein methylases 활성도 측정 : 췌조직 균질액의 단백질량을 조사하고 단백질이 1 mg/0.1 ml이 되게 희석한 후 Paik²⁾ 등의 방법에 따라 protein methylase I, protein methylase II, protein methylase III의 효소활성도를 측정하였다.

2) Amylase 활성도 측정 : Amylase 활성도는 Sumner 방법²⁷⁾에 의하여 다음과 같이 측정하였다. Medium을 효소측정에 적당한 농도로 희석시킨 후 희석된 검체 150 μl를 넣어 30°C에서 정확히 15분 동안 incubation시킨 후 dinitrosalicylic acid reagent 300 μl를 가하여 반응을 중지시켰다. 다음에 수욕상에서 100°C로 5분 동안 가열한 후 즉시 ice bath에서 냉각시키고 3 ml의 증류수를 넣어 spectrophotometer를 사용하여 540 nm에서 optical density를 측정하였다. Blank는 검체대신 1.5% NaCl을 사용하였으며 maltose solution(0.15 to 1.2 mg in 1 ml of H₂O)을 standard로 사용하였다. 이 standard solution으로부터 얻은 calibration curve를 이용하여 검체의 optical density를 maltose의 mg으로 환산하여 specific activity를 구하였다.

단백질의 정량 - 단백질의 양은 Lowry 방법²⁸⁾에 의해 BSA(Fraction v)를 standard protein으로 하여 정량하였다.

실험결과

교감신경계 약물의 영향

Amylase의 활성도 측정 - Fig. 1에서 보는 바와 같이 medium으로 분비된 amylase는 isoproterenol과 norepinephrine 처리로 대조군에 비해 약간 상승하였고, 특히 90분 incubation에서는 유의있는 활성도 증가를

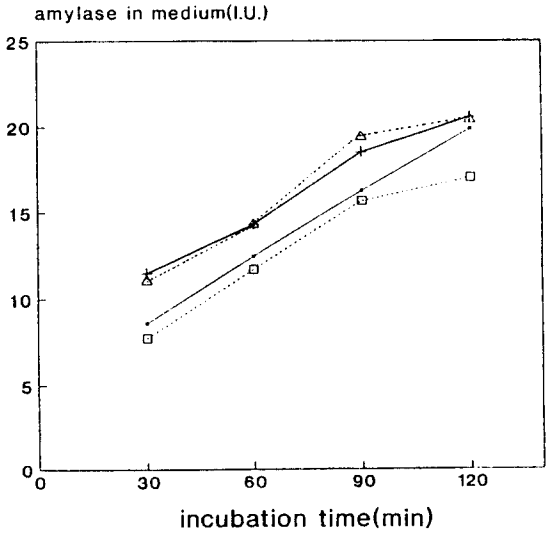


Fig. 1—Effect of adrenergic agents on the medium amylase released by the pancreatic tissue of mouse
 --- control, --- isoproterenol, ---△--- norepinephrine, ---□--- propranolol + isopro.

가져왔다. 또한 propranolol을 투여한 군에서는 isoproterenol에 의한 amylase의 분비향진이 차단되었다.

Protein methylase의 활성도에 대한 영향—1) Protein methylase I에 대한 영향: Table I에서 보는 바와 같이 isoproterenol로 처치하여 60분, 120분 incubation한 군과 norepinephrine으로 처치하여 60분 incubation한 군에서는 유의있는 활성도 저하를 보였으나, norepinephrine으로 처치하여 120분 incubation한 군과 propranolol로 전처치한 군에서는 활성도에 영향을 보이지 않았다.

2) Protein methylase II에 대한 영향: Table II에서 보는 바와 같이 isoproterenol 처치군과 propranolol로 전처치한 후 isoproterenol 투여군에서는 활성도에 거의 영향이 없었으나, norepinephrine으로 처치하여 60분, 120분 incubation시킨 군에서 유의있는 활성도 저하를 가져왔다.

3) Protein methylase III에 대한 영향: Table III에서 보는 바와 같이 isoproterenol, norepinephrine, propranolol로 전처치하고 isoproterenol로 처치한 군

Table I—Effect of adrenergic agents on the activities of protein methylase I in the pancreatic tissue of mouse

Incubation time	Protein methylase I(pmoles SAM/min/mg)			
	control	isoproterenol(10 ⁻⁵ M)	norepinephrine(10 ⁻⁵ M)	propranolol + isopro.(10 ⁻⁵ M)
0 min	1.29 ± 0.09	1.23 ± 0.08	1.01 ± 0.07	1.17 ± 0.10
60 min	1.17 ± 0.10	0.93 ± 0.07*	0.89 ± 0.06*	0.97 ± 0.07
120 min	1.41 ± 0.11	0.82 ± 0.05**	1.02 ± 0.09	1.04 ± 0.09

*p<0.01 **p<0.001 n=5 protein methylase activity(mean ± S.E.)

Table II—Effect of adrenergic agents on the activities of protein methylase II in the pancreatic tissue of mouse

Incubation time	Protein methylase II(pmoles SAM/min/mg)			
	control	isoproterenol(10 ⁻⁵ M)	norepinephrine(10 ⁻⁵ M)	propranolol + isopro.(10 ⁻⁵ M)
0 min	1.80 ± 0.09	1.74 ± 0.07	1.46 ± 0.07	1.66 ± 0.11
60 min	1.98 ± 0.12	1.77 ± 0.09	1.39 ± 0.06*	1.67 ± 0.07
120 min	1.79 ± 0.11	1.71 ± 0.08	1.42 ± 0.09*	1.80 ± 0.09

*p<0.01 **p<0.001 n=5 protein methylase activity(mean ± S.E.)

Table III—Effect of adrenergic agents on the activities of protein methylase III in the pancreatic tissue of mouse

Incubation time	Protein methylase III(pmoles SAM/min/mg)			
	control	isoproterenol(10 ⁻⁵ M)	norepinephrine(10 ⁻⁵ M)	propranolol + isopro.(10 ⁻⁵ M)
0 min	0.54 ± 0.04	0.45 ± 0.03	0.30 ± 0.02	0.34 ± 0.04
60 min	0.40 ± 0.02	0.40 ± 0.02	0.35 ± 0.01	0.56 ± 0.07
120 min	0.36 ± 0.05	0.39 ± 0.01	0.36 ± 0.03	0.38 ± 0.05

*p<0.01 **p<0.001 n=5 protein methylase activity(mean ± S.E.)

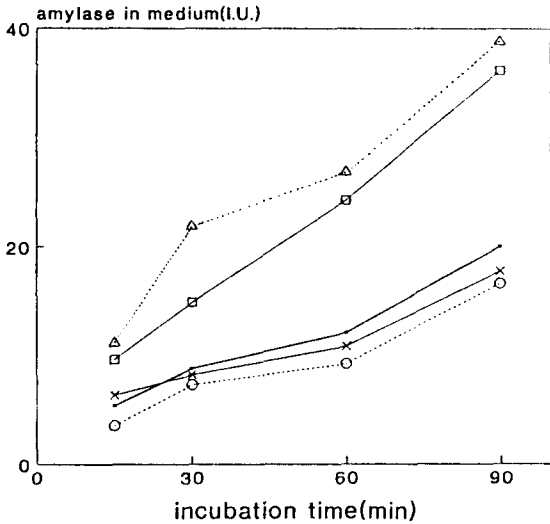


Fig. 2—Effect of cholinergic agents on the medium amylase released by the pancreatic tissue of mouse
 - · - control, —□— acetylcholine ···△··· carbachol, ···○··· atropine, —×— atropine + ach.

에서는 대조실험군에 비하여 활성도 변화를 볼 수 없었다.

부교감신경계 약물의 영향

Amylase의 활성도 측정—Medium으로 분비된 amylase는 Fig. 2에서 보는 바와 같이 acetylcholine과 carbachol 처치군에서 크게 항진되었으며, atropine과 atropine 전처리 후 acetylcholine 처리한 군에서는 항진효과가 차단되어 나타났다.

Protein methylase 활성도에 대한 영향—1) Protein methylase I에 대한 영향: Table IV에서 보는 바와 같이 acetylcholine, carbachol을 투여한 군은 시간이 지남에 따라 증가하는 경향을 보였으며, atropine을 투여한 군에서는 acetylcholine, carbachol의 항진효과가 차단되었다.

2) Protein methylase II에 대한 영향: Cholinergic agent 투여로 인한 체조직내 protein methylase II 활성도 변화는 Table V에서 보는 바와 같이 대조 실험군에 비하여 별다른 상승을 보이지 않았다.

3) Protein methylase III에 대한 영향: Acetylcho-

Table IV—Effect of cholinergic agents on the activities of protein methylase I in the pancreatic tissue of mouse

Incubation time	Protein methylase I(μmoles SAM/min/mg)			
	control	acetylcholine(10 ⁻⁵ M)	carbachol(10 ⁻⁵ M)	atropine + ach.(10 ⁻⁵ M)
0 min	1.37 ± 0.09	0.96 ± 0.08	1.27 ± 0.08	1.48 ± 0.10
30 min	1.32 ± 0.10	1.20 ± 0.07	1.58 ± 0.06*	0.83 ± 0.07
90 min	1.15 ± 0.11	1.05 ± 0.05	1.83 ± 0.09**	1.14 ± 0.09

*p<0.01 **p<0.001 n=5 protein methylase activity(mean ± S.E.)

Table V—Effect of cholinergic agents on the activities of protein methylase II in the pancreatic tissue of mouse

Incubation time	Protein methylase II(μmoles SAM/min/mg)			
	control	acetylcholine(10 ⁻⁵ M)	carbachol(10 ⁻⁵ M)	atropine + ach.(10 ⁻⁵ M)
0 min	1.59 ± 0.09	1.57 ± 0.08	1.63 ± 0.08	1.86 ± 0.12
30 min	1.45 ± 0.10	1.55 ± 0.08	1.69 ± 0.06	1.20 ± 0.08
90 min	1.45 ± 0.11	1.31 ± 0.05	1.72 ± 0.07	1.74 ± 0.09

*p<0.01 **p<0.001 n=5 protein methylase activity(mean ± S.E.)

Table VI—Effect of cholinergic agents on the activities of protein methylase III in the pancreatic tissue of mouse

Incubation time	Protein methylase III(μmoles SAM/min/mg)			
	control	acetylcholine(10 ⁻⁵ M)	carbachol(10 ⁻⁵ M)	atropine + ach.(10 ⁻⁵ M)
0 min	0.88 ± 0.05	0.91 ± 0.03	0.83 ± 0.07	0.71 ± 0.05
30 min	0.86 ± 0.09	0.74 ± 0.03*	0.62 ± 0.06	0.56 ± 0.04
90 min	0.98 ± 0.11	0.42 ± 0.01**	0.29 ± 0.01**	0.89 ± 0.07

*p<0.01 **p<0.001 n=5 protein methylase activity(mean ± S.E.)

line(10^{-5} M), carbachol(10^{-5} M) 투여로 췌조직내 protein methylase III 활성도 변화는 Table VI에서 보는 바와 같이 시간이 지남에 따라 acetylcholine과 carbachol 투여군에서 현저히 감소하였고, atropine 투여로 감소효과가 차단되었다.

고 찰

protein carboxymethylation이 posterior pituitary gland, adrenal medulla, parotid gland 등의 endocrine과 exocrine gland에서 exocytotic secretion에 중요한 역할을 한다고 보고된 이래 protein carboxymethylation의 stimulus-secretion 관련성 여부에 많은 논란이 있어왔다.^{25,29,30)} 여러 논문에서 protein carboxymethylation이 exocytosis에 관련되는 calmodulin의 구조적 변형에 관여함으로써 secretion을 조절하고 있다고 발표하였다.^{23,24)} 한편 insulin의 유리과정 중 calmodulin이 β -cell에서 Ca^{++} -dependent stimulus-secretion에 중요한 역할을 한다는 보고가 있었다.³¹⁾ 그러나 protein carboxymethyltransferase가 calmodulin을 methylation 시키지 않고 다른 protein을 methylation 할 수 있는 가능성을 완전히 배제한 것은 아니다.³²⁾ Lee 등은 췌효소분비를 일으키는 cholinergic agents인 acetylcholine, carbachol, 그리고 cck-pz으로 췌장조직을 처치한 후 protein methylase I, II, III 및 amylase 분비를 검색한 바 amylase 분비항진과 protein methylase I, II의 활성도 저하를 관찰하고 췌액분비와 protein methylation 현상과는 직접적인 관계는 없다고 보고하였다.³³⁾ 이와 같이 아직도 타액 및 췌액분비와 protein methylation과의 상관관계가 규명되어 있지 않다.

그러므로 본 실험실에서는 생쥐의 췌절편에 자율신경계 약물을 가하여 amylase 분비항진과 췌조직의 protein methylation I, II, III의 활성도를 검색하였다. Isoproterenol, norepinephrine, acetylcholine, carbachol의 처치로 amylase의 활성도는 항진되었으며, propranolol, atropine에 의한 전처리로 분비항진이 억압되었다. Isoproterenol 및 norepinephrine의 처치로 protein methylase I의 활성도는 감소하였고, norepinephrine의 처치로 protein methylase II의 활성도 감소를 가져왔으며, isoproterenol에 의한 protein methylase I의 활성도 감소는 propranolol의 전

처리로 어느 정도는 억압되었다. acetylcholine 및 carbachol의 처치로 췌절편내 protein methylase I의 활성도는 대조군에 비해 상승하였으며, protein methylase I의 활성도 증가는 atropine의 전처리로 억압되었다. acetylcholine 및 carbachol의 처치로 췌절편내 protein methylase II의 활성도는 대조군에 비해 별다른 변화를 보이지 않았다. acetylcholine 및 carbachol의 처치로 췌절편내 protein methylase III의 활성도는 대조군에 비해 감소하였으며, protein methylase III의 활성도 감소는 atropine의 전처리로 억압되었다. 이러한 결과로 유추해 보면 췌조직에서 amylase 분비와 protein methylases 활성도간에 직접적인 연관성이 있다고 보기는 어렵지만 그 기전이나 의미를 주목할만하다고 생각되나, 보다 많은 연구가 진행되어야 할 것이다.

결 론

생쥐 췌조직내 protein methylase 활성에 대한 자율신경계 약물의 효과를 *in vitro*에서 검색하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 교감신경계 약물인 isoproterenol(10^{-5} M) 혹은 norepinephrine(10^{-5} M) 처치로 생쥐 췌조직 protein methylase I 및 II의 활성도 저하를 관찰할 수 있었으나 protein methylase III는 별 변화가 없었다.
2. 부교감 신경계 약물인 acetylcholine(10^{-5} M) 혹은 carbachol(10^{-5} M) 처치로 생쥐 췌조직 protein methylase I의 활성도는 약간 증가하는 경향을 보였으나 protein methylase III의 경우에는 오히려 현저한 감소를 가져왔다.
3. 이와 같은 부교감 신경계 약물에 의한 protein methylase I 및 III의 활성도 변화는 atropine으로 차단되었다.

문 헌

- 1) Kim, S. and Paik, W.K.: Protein methylation. *Science* 174, 114(1971).
- 2) Kim, S. and Paik, W.K.: *Adv. Enzymol., Protein methylation*, Chemical, enzymological and biological significance (A. Meister, ed.) John Wiley and Sons, New York Vol.42, 227(1975).
- 3) Kim, S. and Paik, W.K.: Protein methylation, *Bio-*

- chemistry: A series of Monographys*, Vol.1, John Wiley and Sons, New York, 1, (1980).
- 4) Clark, S.: Protein carboxyl methyltransferase: Two distinct classes of enzymes. *Ann. Rev. Biochem.* **54**, 479(1985).
 - 5) Klots, A.V. and Glazer, A.N.: γ -N-Methylasparagine in phycobiliproteins: occurrence, location, and biosynthesis. *J. Biol. Chem.* **262**, 17350(1987).
 - 6) Paik, W.K. and Kim, S.: *The enzymology of posttranslational modification of proteins* (Eds. R.B. Freedman and H.C. Hawkins), Academic press, London, Vol.2, 187(1985).
 - 7) Paik, W.K. and Kim, S.: *Protein methylation*. CRC Press p.2(1990).
 - 8) Paik, W.K. and Kim, S.: *Protein methylation*. CRC Press p.33(1990).
 - 9) Armstrong, J.B.: An S-Adenosylmethionine requirement for chemotaxis in bacteria. *Can. J. Microbiology* **18**, 1965(1972).
 - 10) Kort, E.N., Goy, M.F., Larsen, S.H. and Adler, J.: Methylation of membrane protein involved in bacterial chemotaxis. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, **72**, 3939(1975).
 - 11) Paik, W.K. and Kim, S.: In-post-synthetic modification of macromolecules(F. Antoni and A. Forgo, Eds.). *FEBS*, **34**, 127(1975).
 - 12) Tidwell, T., Allfrey, V.G. and Mirsky, A.E.: The methylation of histone during regeneration of the liver. *J. Biol. Chem.* **243**, 707(1968).
 - 13) Borun, T.W., Pearson, D. and Paik, W.K.: Study on histone methylation during HeLa S-3 cell cycle. *J. Biol. Chem.* **247**, 4288(1972).
 - 14) Lee, H.W., Paik, W.K. and Borun, T.W.: The periodic synthesis of S-adenosylmethionine; protein methyltransferase during the HeLa S-3 cell cycle. *J. Biol. Chem.* **248**, 4194(1973).
 - 15) Trayer, I.P., Harris, C.I. and Perry, S.V.: 3-Methyl histidine and adult and foetal forms of skeletal muscle myosin. *Nature* **217**, 452(1968).
 - 16) Polastro, E., De Conick, M.M., Devogel, M.R., Mailer, E., Looze, Y., Schneck, S.G. and Leonis, J.: Biological significance of methylation of cytochrome from ascomycetes and yeast. *FEBS*. **86**, 17(1978).
 - 17) Delange, R.J., Glazer, A.N., and Smith, E.L.: Identification of ϵ -N-methyllysine in yeast cytochrome c. *J. Biol. Chem.* **245**, 3325(1970).
 - 18) Dimaria, P., Polastro, E., Delange, R.J., Kim, S. and Paik, W.K.: Studies on cytochrome c methylation in yeast. *J. Biol. Chem.* **254**, 4645(1979).
 - 19) Labaie, J.H., Dunn, W.A. and Aronson, N.N.: Carnitine synthesis. *Biochem. J.* **16**, 85(1967).
 - 20) Paik, W.K. and Kim, S.: *Protein methylation*, CRC Press, Inc. Boca Raton Florida. (1990).
 - 21) Galletti, P., Ciardiello, A., Ingrosso, D., Di Donato, A. and D'Alessio, G.: Repair of isopeptide bonds by protein carboxyl O-methyltransferase: Seminal ribonuclease as a model system., *Biochemistry* **27**, 1752(1988).
 - 22) Aswad, D.W. and Johnson, B.A.: The unusual substrate specificity of eucaryotic protein carboxy methyltransferases. *Trends Biochem.* **12**, 155(1987).
 - 23) Barten, D.M., O'Dea, R.F.: The function of protein carboxyl methyltransferase in eucaryotic cells. *Life Sciences* **47**, 181(1990).
 - 24) Waarde, A.V.: What is the function of protein carboxyl methylation?. *Comp. Biochem. Physiol.* **86**, 423(1987).
 - 25) Strittmatter, W.J., Gagnon, C. and Axelrod, J.: Beta adrenergic stimulation protein carboxymethylation and amylase secretion in rat parotid gland. *J. Pharmacol. Exp. Therapeu.* **207**, 419(1978).
 - 26) Diliberto, E.J.JR., Viveros, O.H. and Axelrod, J.: Subcellular distribution of protein carboxymethylase and its endogenous substrates in the adrenal medulla: Possible role in excitation-secretion coupling. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **73**, 4050(1976).
 - 27) Summer, J.B.: The estimation of sugar in diabetic urine, using dinitrosalicylate. *J. Biol. Chem.* **62**, 287 (1924).
 - 28) Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J.: Protein measurement with the Folin-Phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**, 265(1951).
 - 29) Povilaitis, V., Gagnon, C. and Heisler, S.: Stimulus-secretion coupling in exocrine pancreas: role of protein carboxymethylation. *Am. J. Physiol.* **240**, G.199(1981).
 - 31) Ungar, C., Jahn, R. and Soling, H.D.: Is protein carboxymethylation involved in stimulus-secretion

- coupling? . *FEBS*. **123**, 211(1981).
- 32) Gagliardino, J.J., Harrison, D.E., Gagliardino, E.E. and Ashcroft, S.J.H.: Evidence for the participation of calmodulin in stimulus-secretion coupling in the pancreatic β -cell. *Biochem. J.* **192**, 919(1980).
- 33) Billingsley, M.L., Velletri, P.A., Roth, R.H. and De-lorenzo, R.J.: Carboxymethylation of calmodulin inhibits calmodulin-dependent phosphorylation in rat membranes and cytosol. *J. Biol. Chem.* **258**, 5352(1983).
- 34) 이명연, 홍성렬, 이향우 : 췌조직내 protein methylase 활성도에 관한 연구. 약학회지, **27**, 295(1983).