

오골계에서 추출한 Actomyosin의 ATPase 활성 및 용해도

정인철[†] · 문윤희

경성대학교 식품공학과

ATPase Activity and Solubility of Actomyosin Extracted from Muscle of Silky Fowl

In-Chul Jung[†] and Yoon-Hee Moon

Dept. of Food Science and Technology, Kyungsung University, Pusan 608-736, Korea

Abstract

Investigation on the extractability, Mg^{2+} -, Ca^{2+} -, EDTA-ATPase activity and solubility of actomyosin prepared from leg and breast muscle of silky fowl were as follows. The extractability of actomyosin in leg and breast muscle was 779mg/100g and 1,318mg/100g respectively, breast muscle was higher than leg muscle. Mg^{2+} -ATPase activity of actomyosin was high in ionic strength 0.02~0.10 and Mg^{2+} -ATPase activity of low ionic strength was higher than high ionic strength not related to the part. Ca^{2+} -ATPase activity was high in ionic strength 0.05~0.13, the activity of leg muscle was higher than breast muscle. And EDTA-ATPase activity showed low in low ionic strength and showed high in high ionic strength, and increased greatly depend ionic strength up to 0.4. The solubility of actomyosin was not different in leg and breast muscle, the solution started in KCl concentration of 0.3M and ended in KCl concentration of 0.4M.

Key words : actomyosin, extractability, ATPase activity, solubility

서 론

오골계는 원산지가 동남아시아 지역으로서 평과에 속하는 닭의 한 품종이며 피부, 육질 및 뼈가 흑갈색이다. 이것은 돌연변이로 나타난 이상형질인데 이런 이유 때문에 애완용으로도 많이 사육되고 있으며 이러한 이상형질로 인하여 생존율이 낮다고 한다¹⁾. 오골계의 흑색육질은 인체의 hemoglobin이나 적혈구를 증가시키고, 선천적으로 체질이 허약한 사람과 장기간의 질병으로 발생한 허약 체질을 강화시키며 자궁출혈이나 대하증에도 효과가 있어서 옛날부터 중국과 우리나라에서는 건강식품이나 한약재로 이용되어 왔는데, 가공식품으로서는 최근 일본에서 청량음료로 개발하여 건강보조식품으로 시판하고 있다²⁾.

식육제품은 가공되기 전에 원료육의 물리적 성질이 밝혀져야 하며, 특히 근수축과 이완에 관여하고 있는 근원섬유단백질의 특성을 밝히는 것은 무엇보다도 중

요하여 지금까지 많은 연구가 이루어져 왔다^{3~9)}. 식육제품을 가공할 때에는 골격근을 주로 사용하며, 이는 심장근 및 평활근과 함께 동물의 운동을 담당하고 있는 조직으로서¹⁰⁾ red fiber와 white fiber로 구성되어 있고, 이들의 상대적인 함량에 따라서 red muscle과 white muscle로 분류되는데, 이 두근육의 형태는 근세포를 이루고 있는 성분의 조성뿐만 아니라 근수축 속도의 차이도 있는 것으로 알려져 있다^{7~9)}.

한편 식육의 질긴 정도를 나타내는 근수축-이완 및 사후강직의 mechanism은 actin-myosin의 상호작용과 그에 대한 ATP의 영향이라고 알려져 있기 때문에¹⁰⁾ 가축의 다리와 가슴근육에서 actomyosin을 분리하고 생화학적 특성을 비교하는 것은 원료육의 물리적 성질을 밝히는데 많은 도움이 되리라 생각된다. 그러나 포유동물^{11,12)}, 가금류종 닭¹³⁾과 오리¹⁴⁾의 다리와 가슴에서 추출한 actomyosin의 성질을 비교한 연구는 많이 이루어져서 포유동물과 가금류 사이에 종특성으로 인하여 근원섬유의 성질이 다르다는 것은 이미 밝혀져 있지만¹⁵⁾, 닭과 그 성질이 비슷할 것으로 예상되는 오골계에 관한

[†]To whom all correspondence should be addressed

연구는 찾아볼 수 없었다. 본 연구에서는 오골계의 물성을 밝힐 목적으로 다리와 가슴근육에서 actomyosin을 추출하고 추출성, ATPase활성 및 용해도를 검토하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에서 사용된 시료는 중량 약 1.3kg 정도의 오골계를 절두법으로 도살하여 즉시 방혈시키고 80°C에 서 10초간 고온침팅하여 털을 제거하였으며 다리와 가슴근육을 분리하여 지방과 결체조직을 제거하고 시료로 하였다.

Actomyosin의 추출 및 ATPase활성

도체로 부터 분리한 다리와 가슴근육을 chopping하고 Szent-Györgyi법¹⁶⁾을 약간 수정하여 추출하였는데 그 추출과정은 Fig. 1과 같다. 추출하여 얻어진 actomy-

osin은 micro-kjeldahl법을 표준화한 biuret법¹⁷⁾을 이용하여 550nm에서 단백농도를 측정하였다. ATPase활성은 1mg/ml의 actomyosin, 8mM MgCl₂ 또는 8mM CaCl₂ 혹은 8mM EDTA, 8mM ATP, 농도별 KCl, 0.2M tris-HCl buffer(pH 8.0)의 혼합액을 30°C water bath상에서 5분간 반응시키고 최종농도 4% TCA를 첨가하여 ice bath상에서 반응을 정지시켰다. 여기서 유리된 무기인 산을 Fiske와 Subbarow법¹⁸⁾에 따라 정량하였으며, ATPase활성은 1mg의 actomyosin에 의하여 1분간 유리되어 나오는 무기인산(Pi)의 μmole로써 표시하였다.

Actomyosin의 용해도 측정

용해도는 3mg/ml의 actomyosin 1ml에 각 농도별 KCl용액을 첨가하여 2,000×g에서 10분간 원심분리하고 상등액을 278nm에서 흡광도를 측정하여 O.D치로 나타내었다¹⁹⁾.

결과 및 고찰

Actomyosin의 추출성

Actomyosin은 근육단백질에 15~20% 존재하고 있고, myosin과 actin이 약 4:1의 비율로 형성되어 있으며²⁰⁾, Weber-Edsall용액으로 추출할 경우 동물의 종류와 부위에 따라서 다르다고 알려져 있다²¹⁾. 따라서 동물의 근육을 구성하고 있는 근원섬유의 filamental lattice의 치밀성이 동물의 종류와 부위에 따라서 차이가 있을 수 있으므로 오골계의 다리와 가슴근육에서 actomyosin을 추출하고 filamental lattice의 치밀성을 검토하였다.

본 실험에서 오골계의 다리와 가슴근육에서 actomyosin을 추출한 결과, 그 추출성이 각각 779mg/100g 및 1,318mg/100g으로서 가슴근육의 추출성이 다리근육의 추출성 보다 높은 것으로 나타났다(Table 1). 공 등²²⁾은 8주령의 계육에서 actomyosin을 추출하고 추출성을 검토한 결과 다리 및 가슴근육이 각각 646mg/100g 및 1,020mg/100g이라고 보고하여서 본 실험결과 보다 추출성은 낮은 경향이었으나 가슴근육의 추출성이 다리근육 보다 높다는 결과는 본 실험결과와 일치하고 있다. 이러한 결과는 골격근에 함유되어 있는 단백질

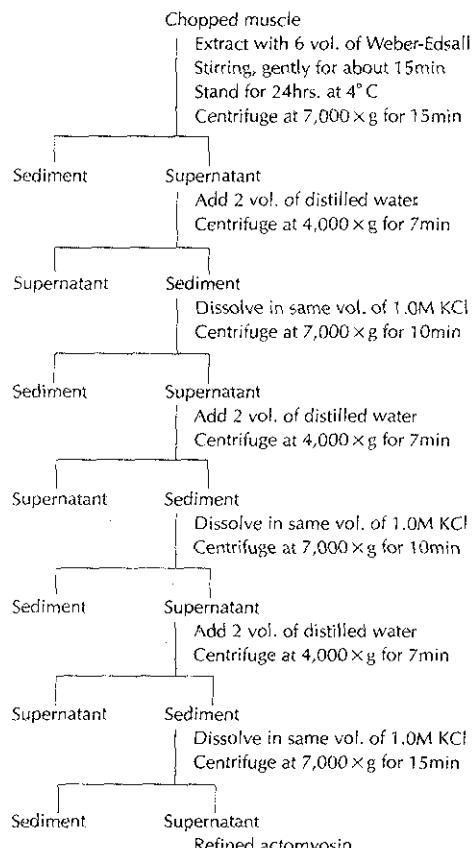


Fig. 1. Procedure for the isolation of actomyosin from leg and breast muscle of silky fowl.

Table 1. Extractability of actomyosin from leg and breast muscle of silky fowl

Sample	Leg	Breast
Extractability mg/100g muscle	779	1,318

의 함량 및 염용액에 대한 추출형태 또는 치밀성이 오골계 내에서도 부위에 따라 차이가 있는 것으로 볼 수 있겠다. 즉 동일개체 중의 다리근육의 thick filament와 thin filament 사이의 치밀도가 가슴근육 보다 크다는 것을 의미한다고 할 수 있다.

Actomyosin의 ATPase활성

Actomyosin의 ATPase활성은 균수축 및 이완속도와 직접적으로 관련되어 있기 때문에²³⁾ 오골계의 다리와 가슴근육에서 얻어진 actomyosin의 ATP 분해능력을 검토하기 위하여 Mg, Ca 이온 및 EDTA 존재하에서의 ATPase활성을 실험하여 Fig. 2~4에 나타내었다.

Mg 이온은 이온강도에 관계없이 myosin의 ATPase활성을 저해하나 저이온강도에서는 actomyosin의 활성을 향상시키는 것으로 알려져 있으므로²³⁾ Mg²⁺-ATPase활성의 이온강도 의존성을 검토하므로써 actomyosin의 결합과 분리를 예측할 수 있을 것이다. Fig. 2에서 보는 바와 같이 이온강도 0.02~0.10에서 최대활성을 나타내고 있으며, KCl농도 0.1M 까지는 다리근육의 활성이 높았으나 0.1M 이상에서는 가슴근육의 활성이 높아서

저이온강도에서의 Mg²⁺-ATPase활성은 다리근육이 가슴근육 보다 이온강도 의존성이 큰 것을 알 수 있었다. 그리고 부위에 관계없이 낮은 이온강도에서 활성이 높고, 높은 이온강도에서는 낮은 활성을 나타내었다. Maruyama와 Ishikawa²⁴⁾도 저이온강도에서는 actin과 myosin이 강한 상호작용을 하고 고이온강도에서는 약한 상호작용을 한다고 하였으며, Leadbeater와 Perry²⁵⁾도 이온강도 0.15~0.20 이상에서는 Mg²⁺-ATPase활성은 일어나지 않는다고 보고하여서 본 실험결과와 유사하였다. 이와 같은 현상은 저이온강도에서 효소는 Mg 이온이 활성화된 actomyosin 복합체를 형성하고 이온강도가 증가할수록 복합체는 분리되어 Mg이온이 효소활성을 억제시키기 때문인 것으로 알려지고 있다¹⁶⁾.

따라서 오골계의 골격근을 구성하고 있는 actomyosin은 actin과 myosin의 구성비와 ATP에 대한 효소적 작용능력이 다를 수는 있으나 근육의 부위에 관계없이 이온강도에 의한 Mg²⁺-ATPase활성을 나타내는 성질은 같을 것으로 추측된다.

오골계에서 추출한 actomyosin의 Ca²⁺-ATPase활성 (Fig. 3)은 다리근육이 가슴근육 보다 높았으며 두 근육이 비교적 높은 이온강도에서 활성이 높게 유지되고 있

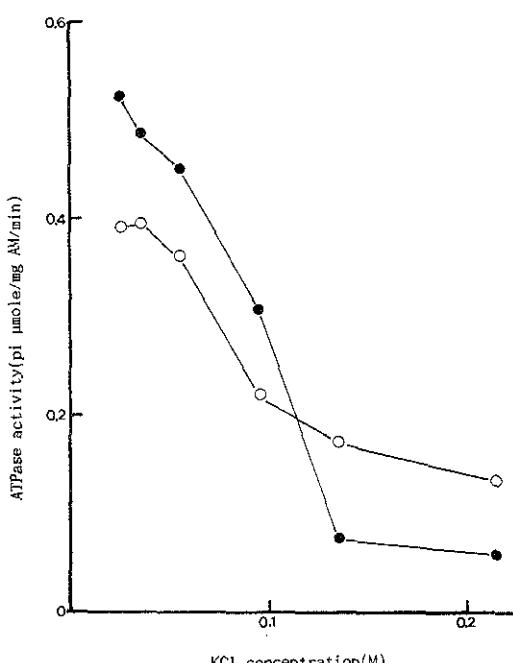


Fig. 2. Mg²⁺-activated ATPase activity of actomyosin from leg and breast muscle of silky fowl.

ATPase assay ; 1mg/ml actomyosin, 8mM MgCl₂, 0.2M tris-HCl (pH 8.0), 8mM ATP
 (●) ; Leg muscle (○) ; Breast muscle

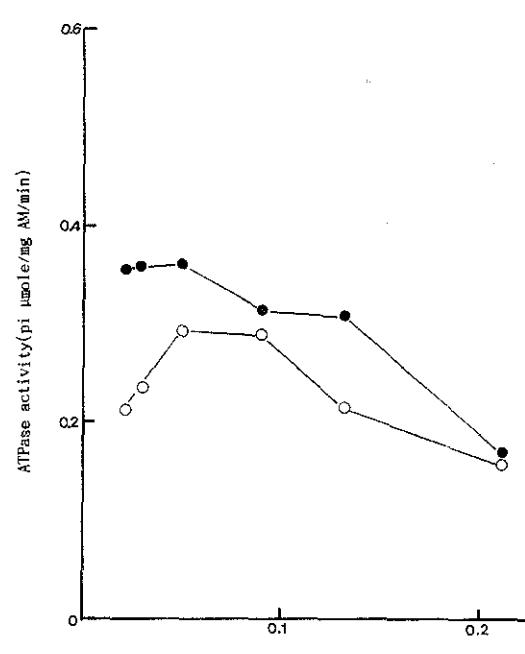


Fig. 3. Ca²⁺-activated ATPase activity of actomyosin from leg and breast muscle of silky fowl.

ATPase assay ; 1mg/ml actomyosin, 8mM CaCl₂, 0.2M tris-HCl (pH 8.0), 8mM ATP
 (●) ; Leg muscle (○) ; Breast muscle

었다. Maruyama와 Ishikawa²⁴⁾는 Ca^{2+} -ATPase활성이 이온강도 0.10~0.15에서 최대활성을 나타내고 고이온강도에서 약하게 감소한다고 하였으며, 양 등²⁵⁾은 닭과 소의 경우 이온강도 0.12~0.18에서 최대활성을 나타내었다고 하였는데 본 실험에서 오골계의 경우 이온강도 0.05~0.13 사이에서 최대치를 나타내었다.

고이온강도에서의 actomyosin의 EDTA-ATPase활성은 주로 myosin에 의한 것으로서²⁶⁾ EDTA-ATPase활성 측정은 myosin의 특성을 추정하는데 유용한 수단이 되고 있다^[6]. 따라서 Fig. 4에서는 KCl 농도별로 오골계 다리와 가슴근육의 EDTA-ATPase활성을 측정하여 나타내었다. Actomyosin의 EDTA-ATPase활성은 다리부위와 가슴부위에 관계 없이 저이온강도에서 낮은 활성을 보이고 있고 고이온강도에서의 활성이 높게 나타나고 있으며 이온강도 0.4M에서 활성이 큰폭으로 증가하는 경향이었는데, 이와 같은 결과는 양 등²⁵⁾이 보고한 EDTA-ATPase활성이 0.4M에서 증대된다고 하는 결과와 유사하였다. 그리고 저이온강도에서는 근육의 부위에 따른 차이는 별로 나타나지 않았으나 고이온강도로 갈수록 활성이 높아졌다.

동물의 근육은 red muscle과 white muscle로 구분할 수 있으며²⁷⁾ 근육운동을 많이 하는 부위와 적게하는 부위에서 추출한 염용성단백질의 Mg^{2+} , Ca^{2+} 및 EDTA-ATPase활성의 차이는 크다고 보고되고 있는데, 이상에서 언급한 본 실험의 ATPase활성의 결과에서도 다리와 가슴근육의 ATPase활성의 차이가 있었다.

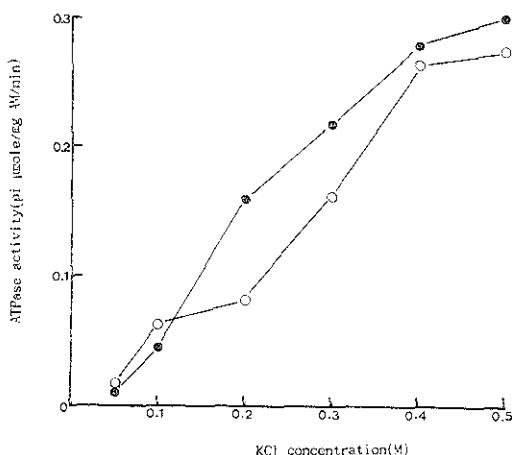


Fig. 4. EDTA-activated ATPase activity of actomyosin from leg and breast muscle of silkie fowl.

ATPase assay ; 1mg/ml actomyosin, 8mM EDTA, 0.2 M Tris-HCl (pH 8.0), 8mM ATP
 (●) ; Leg muscle (○) ; Breast muscle

Actomyosin의 용해도

근육은 근원섬유단백질, 근장단백질 및 육기질단백질로 구성되어 있으며, 이들은 염용액에 의한 용해도의 차이로서 분류하는데 일반적으로 0.2M 이상의 이온강도에서 용해되는 것을 근원섬유단백질이라 하고²⁸⁾ 근육단백질의 약 50%를 차지하고 있다.

본 실험에서 추출된 actomyosin의 KCl농도에 대한 용해도 (Fig. 5)는 부위에 관계없이 이온강도 0.3M 부근에서 용해되기 시작하여 0.4M 부근에서 완전히 용해되었으며 부위에 따른 용해도의 차이는 거의 없는 것으로 보인다. 이온강도에 의한 actomyosin의 용해도는 actin과 myosin의 함량, 상호작용의 세기 및 F-actin의 분자형태를 반영하고 있기 때문에²⁹⁾ 동일개체내의 다리와 가슴근육의 용해도에서 차이가 있을 것으로 추정하였으나 용해도의 차이도 거의 없을 뿐만 아니라 용해시작 및 완료시기가 거의 일치하였다. 그러나 박 등³⁰⁾은 계육의 다리근육이 이온강도 0.15, 가슴근육은 0.1에서 용해가 시작되었다고 하여서 본 실험결과 보다 용해시점의 이온강도가 낮았다.

요약

오골계의 다리 및 가슴근육에서 actomyosin을 추출

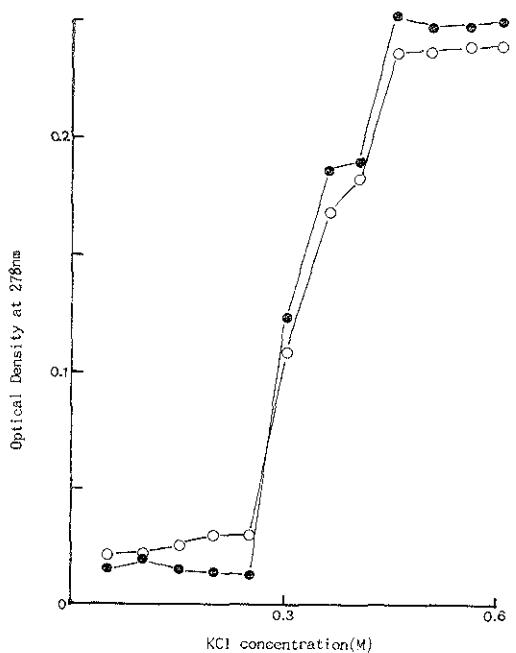


Fig. 5. Solubility of actomyosin from leg and breast muscle of silkie fowl.

(●) ; Leg muscle (○) ; Breast muscle

하고 추출성, Mg^{2+} , Ca^{2+} , EDTA-ATPase 활성 및 용해도를 조사하였다. Actomyosin의 추출성은 다리 및 가슴근육이 각각 779mg/100g 및 1,318mg/100g으로서 가슴근육의 추출성이 높았다. Mg^{2+} -ATPase 활성은 이온강도 0.02~0.10에서 최대활성을 나타내었고 부위에 관계없이 낮은 이온강도에서 활성이 높고, 높은 이온강도에서 활성이 낮았다. Ca^{2+} -ATPase 활성은 0.05~0.13에서 최대활성을 나타내었으며 다리근육의 활성이 가슴근육 보다 높았다. 그리고 EDTA-ATPase 활성은 저 이온강도에서는 낮은 활성을 보이고 있고 고이온강도에서는 활성이 높았으며 이온강도 0.4M에서 활성이 큰폭으로 증가되었다. Actomyosin의 용해도는 두 근육사이에 차이는 없었으며 KCl 농도 0.3M에서 용해되기 시작하여 0.4M에서 완전히 용해되었다.

문 현

1. 오봉국: 현대가금학. 문운당, 서울, p.70(1990)
2. (株)食品化學新聞社: 烏骨鶏ドリンク美美. 月刊フードケミカル, 5, 26(1989)
3. MacFarlane, J. J., Turner, R. H. and Ratcliff, D.: Comparison of the effects of prerigor cold and pressure treatments of some properties of beef biceps femoris muscles. *J. Food Sci.*, 41, 1447(1976)
4. Sung, S. K., Ito, T. and Fukajawa, T.: Relationship between contractability and some biochemical properties of myofibrils prepared from normal and PSE porcine muscle. *J. Food Sci.*, 41, 102(1976)
5. 문윤희, 황칠성, 양용: Actomyosin에 대한 비교 생화학적 연구. 한국축산학회지, 26, 68(1984)
6. Forrest, J. C., Aberle, E. D., Hedrick, H. B., Judge, M. D. and Merkel, R. A.: "Principles of meat science". Freeman, San Francisco, California, p.27(1975)
7. Cassens, R. G. and Cooper, C. C.: Red and white muscle. *Adv. Food Res.*, 19, 1(1971)
8. Beecher, G. R., Cassens, R. G., Hoekstra, W. G. and Briskey, E. J.: Red and white fiber content and associated post-mortem properties of seven porcine muscle. *J. Food Sci.*, 30, 969(1965)
9. Bendall, J. R.: Cold contracture and ATP-turnover in the red and white musculature of the pig, post-mortem. *J. Sci. Food Agric.*, 25, 55(1975)
10. Yang, R., Okitani, A. and Fujimaki, M.: Postmortem changes in regulatory proteins of rabbit muscle. *Agric. Biol. Chem.*, 42, 555(1978)
11. Maruyama, K. and Gergely, J.: Interaction of actomyosin with adenosin triphosphate at low ionic strength. *J. Biol. Chem.*, 237, 1095(1962)
12. Maruyama, K.: Effect of actinins on the adenosintriph-

phatase activity of actomyosin at low ionic strength. *J. Biochem.*, 59, 422(1966)

13. Hay, J. D., Currie, R. W. and Wolfe, F. H.: The effect of aging on physicochemical properties of actomyosin from chicken breast and leg muscle. *J. Food Sci.*, 37, 346(1972)
14. 정인철, 이형결, 문윤희: 침탕방법을 달리한 오리근육의 actomyosin의 추출성과 특성에 관한 연구. 한국영양식량학회지, 21, 348(1992)
15. 양용, 신완철, 오두환, 진홍승, 김기태: Red muscle과 white muscle의 근원섬유단백질의 열안정성. 한국식품과학회지, 18, 226(1986)
16. Szent-Györgyi, A.: *The chemistry of muscular contraction*. 2nd ed., Academic Press, New York, p.1(1951)
17. Bendall, J. R.: *The structure and function of muscle*. Vol. 3, G. H. Bourne, Academic Press, New York, p. 227(1960)
18. Fiske, C. H. and Subbarow, Y.: The colorimetric determination of phosphorus. *J. Biol. Chem.*, 66, 375(1925)
19. Yang, R. and Kim, C. J.: Comparative biochemical study on the contractile proteins of muscle. Graduated School, Yonsei Univ., 12, 305(1975)
20. Pearson, A. M.: *Advanced in meat research*. 3. Restructured meat and poultry products. AVI Pub., New York, p.48(1987)
21. 문윤희: 식육의 물성과 ATPase 활성. 한국식육연구회보, 4, 19(1983)
22. 공양숙, 박창식, 문윤희: 닭고기의 근원섬유단백질에 관한 연구. 1. 사양기간에 따른 actomyosin의 추출성과 ATPase 활성 비교. 한국영양식량학회지, 14, 77(1985)
23. Barany, M., Barany, K., Rechard, T. and Volpe, A.: Myosin of fast and slow muscle of the rabbit. *Arch. Biochem. Biophys.*, 109, 185(1965)
24. Maruyama, K. and Ishikawa, Y.: Effect of magnesium and calcium on the ATPase activity of actomyosin of at low ionic strength. *Biochem. Biophys. Acta*, 77, 682(1963)
25. Leadbeater, L. and Perry, S. V.: The effect of actin on the magnesium-activated adenosine triphosphatase of heavy meromyosin. *Biochem. J.*, 87, 233(1963)
26. 양용, 신완철, 오두환, 진승홍, 김기태: Red muscle과 white muscle의 근원섬유단백질의 특성비교. 한국식품과학회지, 18, 173(1986)
27. Ashmore, C. R., Tompkins, G. and Doerr, L.: Postnatal development of muscle fiber types in domestic animals. *J. Anim. Sci.*, 34, 37(1972a)
28. Bendall, J. D.: *Muscles, molecules and movement*. American Elsevier Pub. Co. Inc., p.34(1969)
29. 박창식, 공양숙, 문윤희: 닭고기의 근원섬유단백질에 관한 연구. 2. 콜라겐 부위별로 추출한 근원섬유, 액토미오신 및 미오신의 ATPase 활성 비교. 한국영양식량학회지, 14, 82(1985)

(1994년 6월 21일 접수)