

## 군소 (*Aplysia kurodai*)의 중추신경계로부터 myomodulin A와 E의 정제

김찬희 · 서해점\* · 황은영\* · 김은정 · 고혜진 · 김인혜  
 서정길 · 문정혜\*\* · 허민도\*\*\* · 박남규<sup>+</sup>  
 부경대학교 수산과학대학 생물공학과, \*식품생명과학과  
 \*\*해양식량자원특성화사업단, \*\*\*수산생명의학과

## Purification of Myomodulin A and Myomodulin E from the Central Nervous System of the Sea Hare, *Aplysia kurodai*

Chan-Hee KIM, Hae Jeom SEO\*, Eun-Young HWANG\*, Eun Jung KIM, Hye-Jin GO, In Hye KIM  
 Jung-Kil SEO, Jung-Hye MOON\*\*, Min-Do HUH\*\*\* and Nam Gyu PARK<sup>+</sup>

Department of Biotechnology and Bioengineering, \*Department of Food and Life Science,  
 \*\*Seafood and Marine Resources Development Center, \*\*\*Department of Aquatic Life Medicine,  
 College of Fisheries Science, Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea

This paper reports the purification of myomodulin A (MMA) and myomodulin E (MME) from the sea hare. The central nervous systems of 500 sea hare were extracted in an acidified solvent, after which four HPLC column systems were used to obtain pure peptides. The phasic contraction bioassay using a *Mytilus edulis* anterior byssus retractor muscle (ABRM) was applied to monitor all collected fractions. The pure peptides were submitted to Edman degradation based automated microsequencing. Mass spectrometry and chemical synthesis confirmed the sequence. The primary structures of MMA and MME were Pro-Met-Ser-Met-Leu-Arg-Leu-NH<sub>2</sub> (847.41 Da) and Gly-Leu-Gln-Met-Leu-Arg-Leu-NH<sub>2</sub> (830.50 Da), respectively. Synthetic peptides showed a modulating activity of phasic contraction in the ABRM of *Mytilus edulis*.

Key words: Myomodulin A, Myomodulin E, Phasic contraction, Anterior byssus retractor muscle

### 서 론

생체내에 존재하는 신경전달물질은 중추 또는 말초신경계에서의 자극전달이 원활하게 이루어지도록 도와주는 역할을 한다. 이러한 신경전달물질로는 아미노산, acetylcholine (Ach), epinephrine, norepinephrine, dopamine 및 serotonin 등이 있는 것으로 알려져 있다 (Elliott and Barchas, 1979). 또한 생체내 수많은 신경세포로부터 Ach과 같은 비펩타이드성 신경전달물질과 다양한 종류의 신경성 펩타이드가 방출된다. 이러한 신경성 펩타이드는 생체내에서 평활근 수축과 이완, 체온 조절 및 염증-면역반응 등의 다양한 생리활성에 중요한 매개체로써 작용한다 (Brown, 1994). 뇌와 신경계에 존재하는 대표적인 신경성 펩타이드 물질로 substance P, neuropeptide A 및 opioid peptide가 알려져 있으며 그 외에도 많은 신경성 펩타이드가 존재하는 것으로 추정되고 있다 (Krieger, 1983).

최근 단순화된 신경계를 지닌 무척추동물, 특히 연체동물로부터 신경성 펩타이드의 분리에 관한 연구 및 이들 물질의 면역조절학적 분포에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다 (O'Shea, 1985). 대합조개 (*Macrocallista nimbosa*)의 중추신경절 (Price and Greenberg, 1977), 진주담치 (*Mytilus edulis*)의 anterior byssus retractor muscle (ABRM) (Kobayash and Muneoka, 1990), 고동류

(*Fusinus ferrugineus*) 및 아프리카 큰 달팽이 (*Achatina fulica*)의 신경절로부터 FMRFamide가 분리되었다 (Kobayashi and Muneoka, 1990). 또한 군소 (*Aplysia californica*)로부터 FMRFamide (Brown et al., 1985; Lo et al., 1987; Price et al., 1987) 뿐만 아니라 small cardioactive peptide (SCPs), buccalins 및 myomodulin family 등이 보고되어 있다 (Morris et al., 1982; Lloyd et al., 1985). Phe-Met-Arg-Phe-NH<sub>2</sub>를 공통영역으로 갖는 FMRFamide는 면역조직학적 연구에서 군소의 신경계에 존재하는 것으로 보고 되어 있다 (Brown et al., 1985; Lo et al., 1987). 또한, SCPs는 군소의 신경계와 내장의 추출물로부터 정제되었으며, 11개의 아미노산 잔기로 구성된 펩타이드이다 (Morris et al., 1982; Lloyd et al., 1987). Buccalin은 군소의 구강 신경절 (buccal ganglia)과 accessory radula closer (ARC) muscle 그리고 민달팽이 (*Lymnaea stagnalis*)의 중추신경계로부터 정제되었으며, 약 20종류의 buccalin 관련 펩타이드가 존재한다고 알려져 있다 (Cropper et al., 1988; Kobayashi and Muneoka, 1990; Vilim et al., 1994). 또한 myomodulin은 군소의 ARC muscle과 *L. stagnalis*의 중추신경계로부터 정제되었으며, 현재까지 9종류의 myomodulin-related peptide가 알려져 있고, Met-Leu-Arg-Leu-NH<sub>2</sub>의 공통영역을 가지고 있다 (Miller et al., 1993; Santama et al., 1994; Brezina et al., 1995).

한편, 진주담치의 ABRM, 발 신경절 (pedal ganglia) 및 *A. fulica*의 신경절로부터 약 30종류의 *Mytilus* inhibitory peptide (MIP) 관련 펩타이드가 정제되었으며, 이들은 약 6~15개의 아미노산 잔기로 구성되어 있다 (Hirata et al., 1988; Fujisawa et al.,

<sup>+</sup>Corresponding author: ngpark@pknu.ac.kr

1991). 이들은 C-말단부분에 -Pro-Xaa-Phe-Val-NH<sub>2</sub>가 공통으로 존재하는 특징을 가지고 있으며, 이들 영역이 ABRM의 반복적인 전기자극에 의한 phasic contraction을 저해하는 것으로 보고되어 있다. 그리고 진주담치의 발 신경절에서 MIP 뿐만아니라 catch-relaxing peptide (CARP)도 정제되었으며, myomodulin과 구조적으로 상동성을 가지고 있다 (Fujisawa et al., 1991).

연체동물 중 군소는 세계적으로 여러 종이 확인되고 있다. 단순한 신경계를 가지고 있지만 신경전달물질들이 많이 분포한다고 알려져 있기 때문에 신경전달물질의 연구 대상 동물로 많이 이용되고 있다 (Brezina, et al., 1995). 그러나 우리나라 연근해에 서식하는 군소 (*Aplysia kurodai*)는 식용이외에는 거의 이용이 없는 실정이며, 군소의 중추신경계를 이용한 신경성 펩타이드에 관한 연구는 지금까지 보고되어 있지 않다. 따라서 본 연구에서는 군소의 중추신경절에서 진주담치 ABRM의 phasic contraction을 조절하는 2종류의 myomodulin-related peptide를 정제하였기에 그들의 활성과 함께 보고하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 1. 일반시약

시료의 여과를 위해 사용한 Millex-LCR13 (0.5 μm), Ultrafree-MC (0.45 μm) 및 syringe filter (0.44 μm)와 Sep-Pak Vac C<sub>18</sub> cartridge는 Waters사 (Waters associates, Miliford, MA, USA)에서, 정제에 사용한 Sephadex G-25는 Pharmacia (LKB Biotechnology, Uppsala, Sweden)사에서 구입하였다. 또한 HPLC-grade용 water와 acetonitrile은 TEDIA (Ohio, USA)사에서 구입하여 사용하였다.

### 2. 실험동물

신경성 펩타이드의 추출을 위한 재료는 군소의 중추신경계를 해부현미경하에서 절취하여 액체질소로 급속 동결시킨 후, -80°C에 냉동 보관하여 재료로 사용하였다. 그리고 근육의 phasic contraction에 대한 조절활성을 측정하기 위해 진주담치 (*Mytilus edulis*)의 ABRM을 사용하였다.

### 3. 군소의 중추신경계로부터 추출물의 조제

500 마리분의 동결한 중추신경계에 5% 초산이 포함된 에탄올 1000 mL를 넣은 다음, 블랜더 (Multi blender Mill, Nihonseiki Kaisha, Ltd.)로 균질화하여 추출하였다. 추출한 용액을 4°C에서 20분 동안 8,000 rpm으로 원심분리하여 상층액을 취한 후 농축하여 동결 건조 하였다. 이 분말을 5 mL의 0.1% TFA 수용액 (pH 2.2)에 녹인 후, Sep-pak C<sub>18</sub> cartridge를 사용하여 각각 10%와 60% CH<sub>3</sub>CN으로 용출하여 분리하였다. 편의상 각각의 용출액을 RM10과 RM60으로 나타내었다. RM10과 RM60의 1/500에 해당하는 양을 사용하여 활성을 측정한 후, 진주담치의 ABRM의 phasic contraction에 대하여 억제활성을 나타낸 RM60 용출액 (Fig. 1)에서 생리활성 물질을 정제하였다.

### 4. 펩타이드의 분리 및 정제

진주담치의 ABRM에 대해 활성을 나타낸 RM60을 사용하여 4단계에 걸쳐 HPLC로 분리하였다. 각각의 분리단계에서 얻은 분획들은 ABRM을 사용하여 생리활성을 측정하였다.

첫 단계로 RM60은 Capcell Pak C<sub>18</sub> (4.6×300 mm, Shiseido, Japan)을 이용하여 부분 정제하였으며, 분리조건은 다음과 같다: A용매; 0.1% TFA/H<sub>2</sub>O (pH 2.2), B용매; 0.1% TFA를 포함하는 100% CH<sub>3</sub>CN, B용매의 농도구배; 0→60% (60 min), 유속; 1.0 mL/min, 파장; 220 nm, 온도; 40°C. 분리한 분획에 대해 활성을 측정한 결과, 두 개의 분획에서 phasic contraction에 대한 억제반응이 나타났다.

반응을 나타낸 2개의 분획은 양이온 교환 column인 TSKgel SP-5PW (7.5×75 mm, Tosoh, Japan)에 각각 적용하여 다음과 같은 분리조건으로 정제하였다: A용매; 10 mM phosphate buffer (pH 6.7), B용매; 1.0 M NaCl을 포함하는 10 mM phosphate buffer (pH 6.7), B용매 농도구배; 0→40% (40 min), 유속; 0.5 mL/min, 파장; 220 nm, 온도; 40°C. 계속해서 활성을 나타낸 분획은 세 번째 분리 단계로서 C18 (ODS-80<sub>TM</sub>, Tosoh) column에 적용하여 정제하였으며 분리조건은 다음과 같다 (Fig. 2): A용매; 0.1% TFA/H<sub>2</sub>O (pH 2.2), B용매; 0.1% TFA를 포함하는 100% CH<sub>3</sub>CN, B용매의 농도구배; 20→40% (40 min), 유속; 0.5 mL/min, 파장;

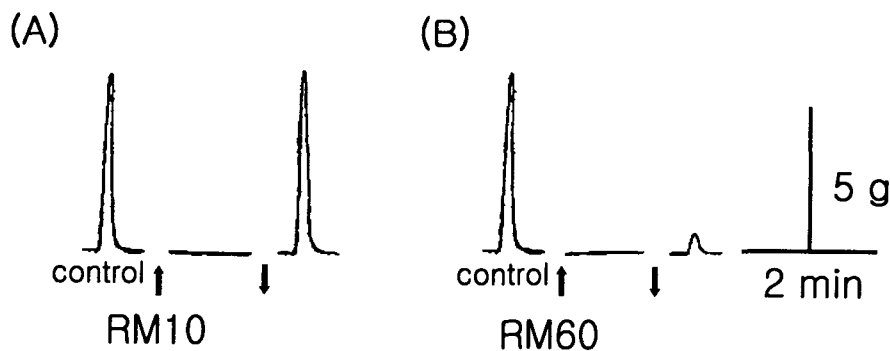


Fig. 1. Effects of RM10 (A) and RM60 (B) on the phasic contraction in response to repetitive electrical stimulation (23 V, 3 msec, 50 Hz) in the *Mytilus edulis* (*M. edulis*) ABRM. RM10 and RM60 were eluted by 10% and 60% methanol on the sep-pak C<sub>18</sub> cartridge, respectively.

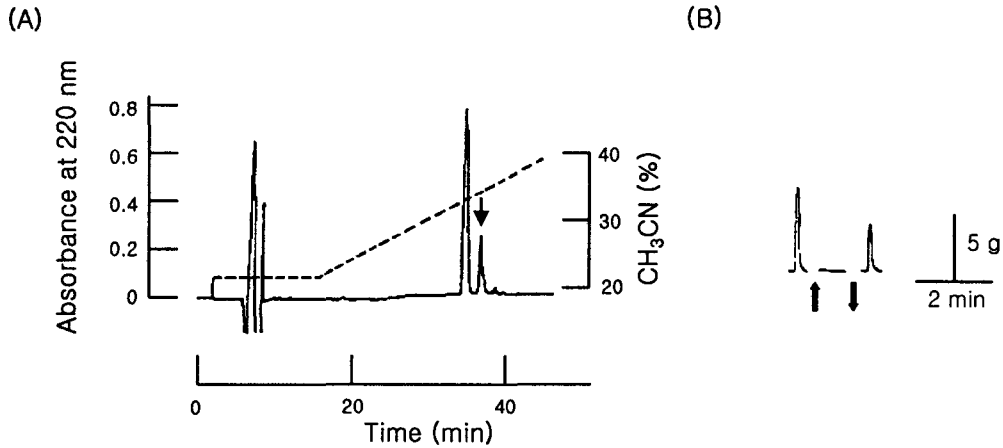


Fig. 2. Reversed-phase HPLC profile of the 3rd step of purification ( $C_{18}$  column, ODS-80<sub>TM</sub>). The dashed line shows the concentration of acetonitrile in the elution. The arrowed peak shows an inhibitory effect on phasic contraction in the *M. edulis* ABRM.

220 nm, 온도; 40°C.

Fig. 2에서 활성을 나타낸 peak는 동일한 역상  $C_{18}$  column에 주입하여 다음과 같은 분리조건으로 정제하였다 (Fig. 3): 용매; 32%  $CH_3CN$ , 유속; 0.3 mL/min, 파장; 220 nm, 온도; 40°C.

5. 펩타이드의 합성 및 정제

이전에 보고된 Fmoc-법을 사용하여 고상법으로 펩타이드를 합성하였고 (Park et al., 1997), HPLC를 이용하여 최종 정제하였다.

6. 펩타이드의 분자량 및 아미노산 서열 결정

펩타이드들의 분자량 측정은 MALDI-TOF-MASS Spectrometer (Voyager-DE<sup>TM</sup> PRO, Perseptive Biosystems사, U.S.A.)를 이용하여 측정하였다. Protein sequencer (Shimadzu PSQ-1 protein sequencer, Japan)를 사용하여 아미노산 서열을 분석하였다.

7. 진주담치의 ABRM에 대한 생리활성 측정

진주담치의 좌우 패각을 열고, 면실을 이용하여 ABRM을 길이가 약 1cm가 되도록 윗부분과 아랫부분을 묶은 다음 적출하였다. 적출한 ABRM은 인공해수로 채워진 2mL의 chamber에 고정시켰다. 인공해수 (ASW)의 조성은 다음과 같다: NaCl 445 mM,  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$  55 mM,  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$  10 mM, KCl 10 mM. 이 용액은 Tris-HCl 완충액을 이용하여 pH 7.8로 보정하였다.

준비한 ABRM의 아래쪽 부분을 반응조의 지지대에 고정시키고 윗부분을 transducer에 연결하여 5g의 장력을 걸었으며, 반복적인 전기자극 (23 V, 3 msec, 50 Hz)을 하여 각 분획에 대해 활성여부를 측정하였다. Phasic contraction은 10분 간격으로 행하였으며, 각 시료 용액은 phasic contraction의 8분 전에 적용하였다.

결과 및 고찰

1. 군소의 중추신경계로부터 추출한 추출물의 생리활성

일반적으로 진주담치의 ABRM에는 amine류, choline류의 물질 및 신경성 펩타이드에 대해 반응하는 다양한 receptor를 소유하고 있다고 알려져 있다 (Muneoka and Kamura, 1982; Muneoka and Saito, 1986). 이러한 여러 물질들에 대해 반응이 뛰어난 ABRM을 이용하여 군소의 중추신경계로부터 부분 정제한 RM10과 RM60의 phasic contraction 활성을 측정하였다. RM60은 진주담치 ABRM의 control phasic contraction에 대해 약 87.5%의 수축 억제 효과를 보였지만, RM10은 활성을 나타내지 않았다 (Fig. 1).

2. 군소로부터 myomodulin의 정제

군소의 신경절 추출물인 RM60으로부터 진주담치 ABRM의 phasic contraction에 대한 조절 활성을 가지는 peptide를 분리하기 위해서 역상 column과 양이온 교환 column을 반복적으로 사용하였다.

첫단계로서 Capcell Pak  $C_{18}$  (4.6×300 mm) column을 이용하여 분리하였다. 각 1 mL씩 분취한 분획의 1/250 (v/v)을 이용하여 ABRM에 대한 phasic contraction의 조절활성을 측정된 결과, 두 분획에서 ABRM의 control phasic contraction에 대하여 60% 정도의 저해작용이 나타났다. Phasic contraction을 저해하는 두 분획을 각각 10 mM phosphate buffer (pH 6.7)으로 평형화되어 있는 양이온 교환 SP-5PW column을 사용하여 분리하였다. 이들 분획을 양이온 교환 column으로 분리한 후, 각각의 분획을 1/200 (v/v) 취하여 측정된 결과 retention time 23분의 peak에서 control phasic contraction의 20% 저해 활성을 나타내었다 (data not shown).

Fig. 2(A)는 ODS-80<sub>TM</sub> column을 사용하여 활성 분획의 세 번째 분리 단계를 나타낸다. 분리한 분획을 사용하여 활성을 측정된 결과 retention time 38분에서 용출된 peak가 ABRM의 control phasic contraction에 대하여 44.4% 수축을 저해하였다 (Fig. 2 (B)). 이 peak를 계속해서 같은 ODS-80<sub>TM</sub> column을 사용하여 32%  $CH_3CN$ 의 isocratic 조건으로 분리하였다 (Fig. 3(A)). 그 결과 각각 6분과 44분의 retention time을 지닌 2개의 peak로 분리되

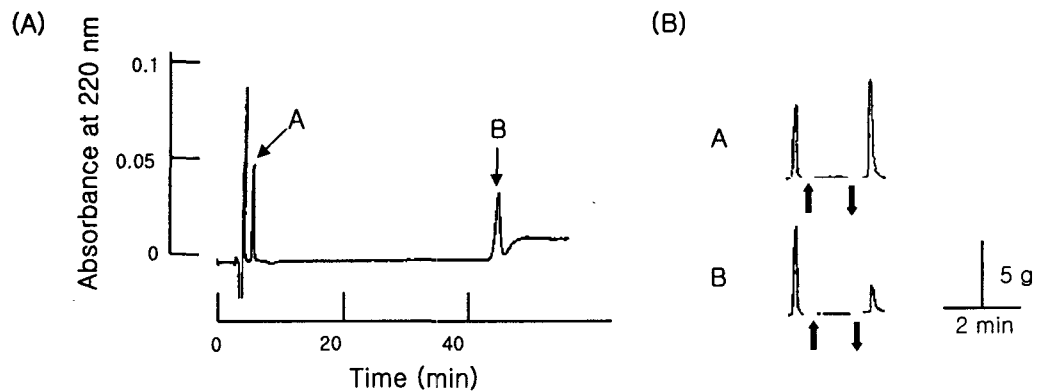


Fig. 3. Reversed-phase HPLC profile of the final step of purification ( $C_{18}$  column, ODS-80<sub>TM</sub>). The peptides were eluted isocratically with 32% acetonitrile in 0.1% TFA. The active peaks are indicated by arrows. The peak A and the peak B show potentiating effect and inhibitory effect on phasic contraction in response to repetitive electrical stimulation.

었다. Fig. 3(B)에 나타난 바와 같이 retention time 6분에서 용출된 peak A는 진주담치 ABRM에 대해 phasic contraction을 약 25% 가량 수축을 촉진하였으며, retention time 44분에서 용출된 peak B는 phasic contraction에 대하여 약 70% 정도의 수축 억제 효과를 나타내었다.

### 3. Myomodulin의 일차구조

군소의 중추신경계로부터 정제한 2개의 peak에 대한 아미노산의 서열과 분자량을 알아보기 위하여 질량분석기와 Edman 분해법을 이용한 아미노산 서열 분석기를 사용하였다.

최종 정제한 peak A 및 B의 일차구조를 알아보기 위해 아미노산 서열을 분석한 결과, 각각 Pro-Met-Ser-Met-Leu-Arg-Leu과 Gly-Leu-Gln-Met-Leu-Arg-Leu의 7개의 아미노산으로 구성된 heptapeptide로 밝혀졌다. 또한 이들 물질들의 분자량을 질량분석기를 사용하여 측정된 결과 peak A는  $m/z$  847.41 ( $M+H$ )<sup>+</sup>, peak B는 830.50 ( $M+H$ )<sup>+</sup>이었다. 이러한 결과들로 미루어 이들 펩타이드의 C-말단이 amidation 되어 있음을 알 수 있었다.

GenBank<sup>TM</sup>/EMBL Data Bank를 사용하여 본 연구에서 정제한 물질과 이전에 밝혀져 있는 단백질 서열과의 상동성을 조사한 결과, peak A와 B는 본 연구에서 사용한 종과 다른 종의 군소 (*Aplysia californica*)에서 분리된 myomodulin A 및 E와 동일하였다 (Cropper et al., 1987). 따라서 peak A를 myomodulin A (MMA), peak B를 myomodulin E (MME)로 명명하였다. 또한, 이러한 연구 결과는 MMA와 MME가 *Aplysia*의 종에 상관없이 폭넓게 존재할 수 있음을 시사한다.

### 4. 펩타이드의 합성 및 정제

정제한 MMA와 MME는 고상합성법으로 합성하였다. 합성한 펩타이드와 천연 펩타이드와의 동일성을 확인하기 위해서 MALDI-TOF-Mass와 역상 및 양이온 교환 HPLC를 이용하여 비교하였다. 합성한 펩타이드를 MALDI-TOF-Mass로 측정된 결과, 두 물질의 이론치와 측정치는 서로 잘 일치하였다: myomodulin A,  $C_{36}H_{67}O_8N_{11}$

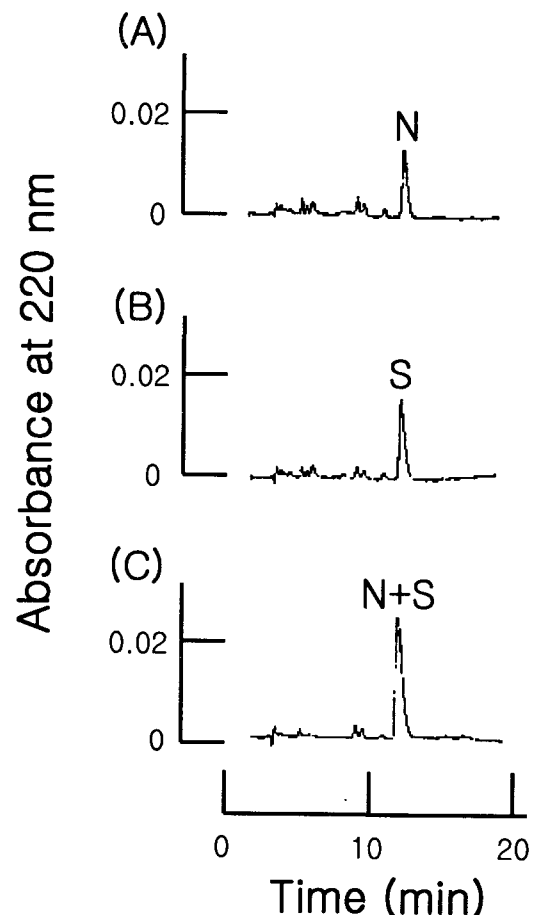


Fig. 4. Comparison between reversed-phase HPLC profile of the native (N) and synthetic MMA (S). Reversedphase HPLC profile of the native and the synthetic MMA expressed (A) and (B). The mixture of two peptides was coeluted as a single peak (C).

$S_2$  846.04, ( $M+H$ ) 847.41; myomodulin E,  $C_{36}H_{68}O_8N_{12}S$  829.00, ( $M+H$ )<sup>+</sup> 830.50.

그리고, 합성물과 천연물의 동일성을 비교하기 위하여 Spherisorb ODS2 column을 사용하여 펩타이드들의 retention time을 측정하였다. Fig. 4는 Sepherisorb ODS2 column을 사용하여 측정 한 천연 및 합성물과 이들을 혼합한 MMA의 retention time을 나타낸다. Fig. 4A와 Fig. 4B는 천연물과 합성물의 크로마토그램을 나타내고 있으며, 두 물질 모두 동일한 시간대의 retention time (12 min)을 가지고 있음이 확인되었다. 또한 천연물 MMA와 합성물 MMA를 혼합하여 주입하였을 때 단일 peak를 나타내었고, retention time은 각 물질을 주입하였을 때와 일치하였다 (Fig. 4 C). MME 또한 MMA와 동일한 방법과 조건을 사용하여 천연물과 합성물의 동일성을 확인하였으며 동일한 시간대의 retention time (13 min)을 가졌다 (data not shown).

이러한 결과로부터 합성 MMA와 MME는 모두 천연 peptide와 동일 물질인 것으로 판명되었다. 따라서 합성 펩타이드를 사용하여 ABRM의 phasic contraction에 대한 조절활성을 농도 의존적으로 조사하였다. MMA는 저농도 ( $10^{-10} \sim 10^{-7}$  M)에서 phasic contraction의 수축을 증가시켰으나, 고농도 ( $10^{-6}$  M)에서는 phasic contraction을 억제하였다. 그러나, MME는 phasic contraction을 모든 농도에서 억제하는 것으로 나타났다.

요 약

근소의 중추신경계로부터 myomodulin A (MMA)과 myomodulin E (MME)의 정제에 대해 보고하고자 한다. 500마리 근소의 중추신경계를 산조건으로 추출한 후 4종류의 HPLC column system에 적용하여 두가지 신경성 펩타이드를 정제하였다. HPLC 분리과정에서 얻어진 모든 분획의 활성을 조사하기 위하여 bioassay system으로 진주담치 (*Mytilus edulis*)의 ABRM을 이용하였다.

최종 정제된 신경성 펩타이드는 Edman 분해법을 이용한 아미노산 서열 분석기, 질량분석기와 화학합성을 통해 완전한 일차구조를 밝힐 수 있었다. 정제한 MMA와 MME의 일차구조는 각각 Pro-Met-Ser-Met-Leu-Arg-Leu-NH<sub>2</sub> (847.41 Da)과 Gly-Leu-Gln-Met-Leu-Arg-Leu-NH<sub>2</sub> (830.50 Da) 이었다. 또한 이들 합성 펩타이드는 진주담치의 ABRM에 대해 phasic contraction의 조절활성을 나타내었다.

감사의 글

본 연구는 1999년도 부경대학교 해양산업개발연구 센터를 통한 한국과학재단 우수연구 센터 지원금에 의한 것입니다.

참 고 문 헌

Brezina, N., B. Bank, E.C. Crooper, S. Rosen, F.S. Vilim, I. Kupfermann and K.R. Weiss. 1995. Nine members of the myomodulin family of peptide cotransmitters at the B16-ARC neuromuscular junction of *Aplysia*. *J. Neurophysiol.*, 74, 54~70.  
 Brown, R.D., D. Gusman, A.I. Basbaum and E. Mayeri. 1985. Identifica-

tion of *Aplysia neurons* containing immunoreactive FMRFamide. *Neuropeptides*, 6, 517~526.  
 Brown, R.E. 1994. An introduction to neuroendocrinology (book), pp. 260~301.  
 Cropper, E.C., M.W. Miller, R. Tenenbaum, M.A.G. Kolks, I. Kupfermann and K.R. Weiss. 1988. Structure and action of buccalin: A modulatory neuropeptide localized to an identified small cardioactive peptide-containing cholinergic motor neuron of *Aplysia californica*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 85, 6177~6181.  
 Elliott, G.R. and J.D. Barchas. 1979. Neuroregulators: Neurotransmitters and neuromodulators. *Behavioral and Brain Sciences*, 2, 423~424.  
 Fujisawa, Y., I. Kubota, T. Ikeda, H. Minakata and Y. Muneoka. 1991. A variety of *Mytilus inhibitory* peptides in the ABRM of *Mytilus edulis*: Isolation and characterization. *Comp. Biochem. Physiol.*, 100C, 525~531.  
 Hirata, T., I. Kubota, N. Iwasawa, I. Takabatake, T. Ikeda and Y. Muneoka. 1988. Structures and actions of *Mytilus inhibitory* peptides. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 152, 1376~1382.  
 Kobayashi, M. and Y. Muneoka. 1990. Structure and action of molluscan neuropeptide. *Zool. Sci.*, 7, 801~814.  
 Krieger, D.T. 1983. Brain peptide: what, where, and why? *Science*, 222, 975~985.  
 Lloyd, P.E., I. Kupfermann and K.R. Weiss. 1987. Sequence of small cardioactive peptide A: A second member of a class of neuropeptides in *Aplysia*. *Peptides*, 8, 179~184.  
 Lloyd, P.E., A.C. Mahon, I. Kupfermann, J.L. Cohen, R.H. Scheller and K.R. Weiss. 1985. Biochemical and immunocytochemical localization of molluscan small cardioactive peptides in the nervous system of *Aplysia californica*. *J. Neurosci.*, 5, 1851~1861.  
 Lo, L.-T., J.H. Byrne and L.J. Cleary. 1987. Distribution of three modulatory transmitters within the pleural ganglion of *Aplysia*. *Soc. Neurosci. Abstr.*, 13, 1073.  
 Miller, M.W., S. Beushausen, E.C. Cropper, K. Eisinger, S. Stamm, F. Vilim, A. Vitek, A. Zajc, I. Kupfermann, J. Brosius and K.R. Weiss. 1993. The myomodulin-related neuropeptides: characterization of a gene encoding a family of peptide cotransmitters in *Aplysia*. *J. Neurosci.*, 13, 3358~3367.  
 Morris, H.R., M. Panico, A. Karplus, P.E. Lloyd and B. Riniker. 1982. Elucidation by FAB-MS of the structure of a new cardioactive peptide from *Aplysia*. *Nature*, 300, 643~645.  
 Muneoka, Y. and H. Saito. 1986. Pharmacology of FMRFamide in *Mytilus* catch muscle. *Comp. Biochem. Physiol.*, 85C, 207~214.  
 Muneoka, Y. and M. Kamura. 1982. The multiplicity of neurotransmitters and neurohormones controlling *Mytilus* muscle. *Comp. Biochem. Physiol.*, 73C, 149~156.  
 O'Shea, M. 1985. Neuropeptide function: The invertebrate contribution. *Ann. Rev. Neurosci.*, 8, 171~198.  
 Park, N.G., J-K. Seo, H-J. Ku, S. Lee, G. Sugihara, K-H. Kim, J-S. Park and S-W. Kang. 1997. Conformation and biological activity of mastoparan B and its analogs I. *Bull. Korean. Chem. Soc.*, 18, 50~56.  
 Price, D.A., N.W. Davies, K.E. Dobbie and M.J. Greenberg. 1987. The variety and distribution of the FMRFamide-related peptides in molluscs. *Zool. Sci.*, 4, 395~410.  
 Price, D.A. and M.J. Greenberg. 1977. Structure of a molluscan cardioexcitatory neuropeptide. *Science*, 197, 670~671.  
 Santama, N., C.H. Wheeler, J.K. Burke and P.R. Benjamin. 1994. Neuro-

peptides myomodulin, small cardioactive peptide, and buccalin in the central nervous system of *Lymnaea stagnalis*: Purification, immunoreactivity and artifacts. *J. Comp. Neurol.*, 342, 335~351.

Vilim, F.S., E.C. Crooper, S.C. Rosen, R. Tenenbaum, I. Kupfermann and K.R. Weiss. 1994. Structure, location, and action of buccalin B: A bioactive peptide from *Aplysia*. *Peptides*, 15, 959~969.

---

2001년 3월 31일 접수

2001년 5월 12일 수리