

# 개불과 군소肉의 蛋白質 및 아미노酸 組成

崔 暎 準 · 韓 榮 實  
釜山水產大學 食品營養學科  
(1985년 10월 5일 수리)

## Protein and Amino Acid Compositions in Echiurid and Sea Hare Muscles

Yeung-Joon CHOI and Young-Sil HAN

Department of Nutrition and Food Science, National Fisheries University of Pusan,  
Nam-gu, Pusan 608, Korea  
(Received October 5, 1985)

In order to evaluate the marine mollusc muscle as foodstuff not only from the biochemical aspect but also from the view point of food science, we have analyzed the protein and amino acid compositions of the echiurid (*Urechis unicinctus*) and sea hare (*Aplysia kurodai*) muscle.

The protein quality of the muscles was also investigated using *in vitro* methods based on *in vitro* digestibility, predicted digestibility, computed PER (C-PER) and discriminant computed PER(DC-PER).

The remarkable feature of the protein compositions of the both muscles was that water soluble protein occupied a large amount of the muscle protein with fairly lower contents of the salt soluble protein.

From the analysis of SDS-PAG electrophoresis, the sarcoplasmic proteins in the echiurid and the sea hare muscles were composed of 15 and 10 subunits, respectively.

The free amino acid compositions of the total amino acids in the echiurid and sea hare muscle were characterized with 75% of glycine and alanine, and with 78% of taurine, respectively.

The amino acid analysis of both muscle proteins showed that the echiurid muscle was rich in glycine, aspartic acid, glutamic acid, arginine and lysine, but was poor in cysteine, while the sea hare muscle was rich in glycine, glutamic acid, aspartic acid and arginine, but was negligible in cysteine and tryptophan. In the total amino acid profiles of the freeze dried muscles in echiurid and sea hare, there was not found a significant difference compared to the amino acid compositions of the muscle proteins. Predicting the protein quality of the echiurid and sea hare muscles using the *in vitro* method, it was apparently low compared to the muscle protein of fishes.

### 緒 論

水産無脊椎動物의 筋肉蛋白質에 관하여는 各 構成蛋白質의 生化學的 및 生理的 性質을 中心으로 하여 많은 研究가 이루어져 있다(Migita 等, 1959; 丸山,

1959; Hanson and Lowy, 1960; 下, 1973; 渡部, 1976; 土屋, 1978)

그러나 이들 研究는 大部分이 軟體動物中 重要貝類나 頭足類 等に 集中되어 있고 環形動物中의 개불이나 腹足類中의 군소와 같은 特殊한 種類에 대하여

는 乾燥개불의 엑스成分中 遊離아미노酸에 관한 研究(李, 1968)와 개불과 군소의 消化管組織에 分布하는 蛋白質分解酵素에 관한 部分的인 研究(卞等, 1982; 趙等, 1983)等 極히 制限된 研究에 그치고 있다.

本 研究는 水産無脊椎動物中 特徵있는 風味와 組織感을 보이는 이들 개불과 군소에 대하여 蛋白質 및 아미노酸의 組成을 밝히고 肉蛋白質의 營養評價를 위하여 試圖하였다.

## 材料 및 方法

### 1. 材 料

개불(*Urechis unicinctus*; 體長, 6~9cm; 體重 31~45 g)은 慶南三千浦市近海에서 1985年 4월에 捕獲한 것을, 군소(*Aplysia kurodai*; 體長16~19 cm; 體重, 650~910 g)는 釜山市南區廣安洞近海에서 1985年 5월에 捕獲한 것을 各各 生存中에 低溫室(2±2°C)로 옮겨 採肉 細切한 것을 試料로 하였다.

### 2. 分析方法

#### (1) 蛋白質의 組成

金 등(1982)의 方法에 따라 測定하였다. 그리고 組成分析에서 量的으로 많은 比率을 占한 水溶性蛋白質의 一部에 대하여는 그 subunit의 分布를 檢討하기 위하여 Weber와 Osborn(1969)의 方法에 따라 sodium dodecyl sulphate-polyacrylamide gel (SDS-PAG) 電氣泳動을 實施하고 gel上에 分離된 subunit帶의 移動距離는 micrometer로 測定하여 그 移動度를 計算하고 分子量의 測定基準으로 하였다. 이때 subunit의 分子量은 同一條件으로 電氣泳動한 SDS molecular weight markers (cross-linked hemoglobin과 cross-linked albumin, Sigma 化學製)의 相對移動度로써 作圖한 分子量 相對移動度의 關係曲線에서 求하였다.

#### 2) 肉의 總아미노酸組成과 蛋白質構成아미노酸 및 遊離아미노酸의 組成

肉의 總아미노酸組成은 凍結乾燥한 肉을 粉碎하여 6N HCl로써 眞空密封狀態로 110°C에서 24時間 加水分解한 것을 아미노酸自動分析計(LKB製, 4150- $\alpha$ 型)로써 分析하였다. 그리고 蛋白質構成 아미노酸과 遊離아미노酸의 組成分析을 위한 試料는 金 등(1982)의 方法에 따라 調製하였으며, 調製된 試料中の 아미노酸組成은 前記 아미노酸自動分析計로써

分析하였다. 또 肉의 總아미노酸組成分析과 蛋白質構成아미노酸의 分析에서 cysteine은 Mason et al (1980)의 方法으로, 그리고 tryptophane은 Hugli와 Moore(1972)의 方法으로 各各 處理하여 前記 아미노산 自動分析計로써 測定하였다.

(3) In Vitro Digestibility, Predicted Digestibility, Computed PER (C-PER) 및 Discriminant Computed PER(DC-PER)의 測定計算

**In Vitro Digestibility:** porcine pancreatic trypsin, porcine intestinal peptidase, bovine pancreatic  $\alpha$ -chymotrypsin 및 *Streptomyces griseus* protease의 混成酵素를 써서 ANRC sodium caseinate를 對照로 하여 AOAC(1982)의 方法에 따라 測定하였다.

**Predicted Digestibility, C-PER, DC-PER:** C-PER은 AOAC(1982)의 修正法(Ryu, 1983)으로 計算하였으며, Predicted digestibility와 DC-PER은 Ryu(1983)가 採擇한 方法으로 計算하였다.

## 結果 및 考察

### 肉의 一般成分 및 蛋白質의 組成

개불과 군소의 肉을 細切磨碎하여 測定한 一般成分의 組成을 Table 1에 나타내었다. 개불에 있어서는 다른 軟體動物의 組成과 극히 類似한 편이었으나 脂質의 含量은 조금 높은 값을 보였다.

Table 1. Proximate composition of echiurid and sea hare muscle

Sample	Moisture	Crude protein	Fat	Ash
Echiurid	83.97	10.19	1.71	1.42
Sea hare	89.38	6.33	1.60	2.47

군소는 蛋白質의 含量이 다른 軟體動物에 比하여 낮았으나 水分과 灰分은 보다 높은 含量을 보였다. (土屋, 1973). 그러나 固形物中の 蛋白質이 차지하는 比率은 개불이 76.50%, 군소가 60.86%를 各各 占하여 높은 比率을 차지함을 알 수 있었다.

이들 肉蛋白質에 대하여 그 組成을 分析한 結果는 Table 2와 같다. 개불에 있어서는 全體 窒素化合物中 非蛋白態窒素가 40.6%를 차지하였고, 蛋白態窒素中에서는 水溶性 蛋白質態窒素가 全體 窒素化合物의 58.9%를 차지하여 이 두割分의 窒素가 全體 窒素量의 大部分을 이루고 있었다. 蛋白態窒素의 區分中에서는 鹽溶性 蛋白質과 基質蛋白質에 속하는 窒素의

Table 2. Composition of muscle protein in echiurid and sea hare

Sample	Non-proteinous N. (mg-N/g-muscle)	Protein fraction (mg-N/g-muscle)			
		Water soluble	Salt soluble	Alkali soluble	Stroma
Echiurid	9.56(40.6)*	13.86(58.9)	0.05(0.2)	0.04(0.2)	0.02(0.1)
Sea hare	7.55(38.8)	11.07(56.9)	0.49(2.5)	0.32(1.6)	0.03(0.2)

\* Percentile ratio was described in parentheses.

비율이 극히 微微한 것이 特徵이었다. 또 근소에 있어서도 非蛋白態窒素가 全體 窒素의 38.8%까지 占하였으며 蛋白態窒素中の 水溶性蛋白質에 속하는 窒素가 56.9%로써 이들 두區分の 窒素는 全體 窒素의 95% 以上에 이르고 있다. 鹽溶性蛋白質 및 基質蛋白質에 속하는 窒素는 근소에서 그 量이 극히 적었다.

개불과 근소肉中の 이같은 非蛋白態窒素의 量은 海産軟體動物의 一般的인 傾向인 것으로 알려져 있으며(池田, 1981), 새우나 게 등 甲殼類의 非蛋白態窒素의 量과 비슷한 水準임을 알 수 있다(二國와 秦 1966).

蛋白態窒素中에서, 높은 比率을 보인 水溶性蛋白質 區分에 대하여는 蛋白質을 이루는 subunit의 分布를 電気泳動의으로 分析하고 그 電気泳動像을 Fig. 1에 그리고 移動度에 따른 分子量別 subunit의 分布를 Table 3에 整理하여 나타내었다,

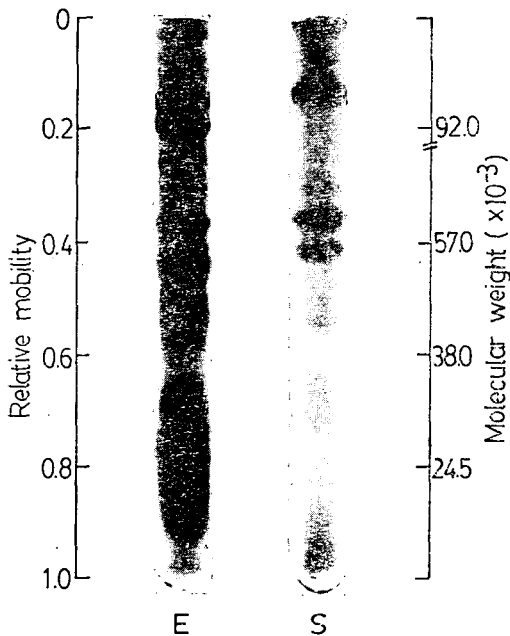


Fig. 1. SDS-PAGE electrophoretograms of the water soluble proteins in echiurid(E) and sea hare (S) muscle

Table 3. Subunit distribution on SDS-acrylamide gel electrophoretograms by relative mobility in the water soluble proteins of echiurid and sea hare muscles

Relative mobility	Dalton unit ( $\times 10^{-3}$ )	Subunit distribution in water soluble proteins	
		Echiurid	Sea hare
0.006	220	+	-
0.020	200	+	-
0.038	195	+	-
0.064	166	+	+
0.073	160	-	+
0.091	148	+	-
0.132	124	+	-
0.150	116	-	+
0.158	111	-	+
0.180	101	+	-
0.193	95	-	+
0.225	83	-	+
0.230	74.5	+	-
0.291	69.5	+	-
0.340	61.5	+	+
0.414	55	-	+
0.425	53.5	+	-
0.482	47.5	+	-
0.523	44	+	-
0.542	42	-	+
0.661	33	-	+
0.686	31.5	+	-
0.780	25.5	+	-

개불의 水溶性蛋白質은 모두 15個의 subunit가 分子量 25,500에서 220,000까지 廣範圍하게 構成되고 있었으며, 근소의 水溶性蛋白質은 개불에 比하면 훨씬 적은 10個의 subunit가 分子量 33,000에서 166,000에 걸쳐 構成되고 있었다. 그리고 개불과 근소의 水溶性蛋白質을 이루는 subunit 中 共通的인 것은 分子量 61,500과 166,000의 두 subunit를 들 수 있다. 개불과 근소의 水溶性蛋白質의 subunit의 分布는 魚類中 방어肉 筋形蛋白質의 subunit 分布(金等, 1982)와 보리새우肉 筋形蛋白質의 subunit 分布(卞等, 1984)에 比하면 各各 많은 差異가 있음을 알 수 있었다. 이들 結果에 비추어 水産動物의 筋形

개불과 군소肉의 蛋白質 및 아미노酸組成

質蛋白質을 이루는 subunit의 組成은 動物種에 따라 많은 差異가 있음을 알 수 있었다.

이들 두 動物種의 肉中에 分布하는 遊離아미노酸의 組成을 알아보기 위하여 70% 알콜로서 抽出濃縮한 엑스分中의 遊離아미노酸의 分析結果를 Table 4에 나타내었다. 먼저 개불에 있어서는 glycine이 肉

Table 4. Free amino acid profiles of the alcohol extracts from echiurid and sea hare muscles

(mg/100g-wet muscle)		
Amino acid	Echiurid	Sea hare
Lys	73.79	1.49
His	—	1.61
Arg	238.97	7.91
Tau	366.41	277.41
Asp	163.21	16.66
Thr	18.66	1.11
Ser	16.33	0.98
Glu	—	16.19
Pro	—	1.32
Gly	2113.07	5.18
Ala	707.44	14.04
Cys	—	—
Val	1.23	0.31
Met	3.92	5.61
Ile	4.68	0.43
Leu	2.95	0.55
Tyr	—	0.50
Phe	3.71	0.32
NH <sup>3</sup>	33.17	2.51
Total	3747.53	354.11

100 g 中 2113.07 mg 로써 總遊離아미노酸 3747.53 mg 의 約 56%를 차지하였으며 그 다음으로 alanine 은 約 19%인 707.44 mg 을 含有하고 있어 두 아미노酸을 含有 量은 總遊離아미노酸의 75%에까지 이르러 glycine, alanine, taurine, arginine, aspartic acid 를 含有 比率는 總遊離아미노酸의 約 96%까지 차지하며 이들 아미노酸은 개불의 獨特한 風味에 絕對的인 影響을 끼칠것으로 判斷되었다.

한편, 군소에 있어서는 總遊離아미노酸의 量이 개불에 比하여 不過 1/10에 지나지 않아 아미노酸으로 인한 味覺效果는 期待하기 어려울것으로 豫測되었다.

군소肉의 總遊離아미노酸 354.11 mg/100 g-muscle 中 가장 많은 아미노酸은 taurine 으로서 約 78%를 차지하여 개불의 境遇와는 顯著한 差異가 있었다.

개불의 遊離아미노酸에 關하여 李(1968)는 乾燥개

불의 엑스分中에 遊離아미노酸을 分析한 結果 glycine 과 alanine 및 taurine 을 含有 量이 總遊離아미노酸의 約 87%를 차지하는것으로 報告하였으나, 本 實驗에서 많은 量이 含有되어 있는 arginine 과 aspartic acid 가 위의 乾燥된 개불에서는 含有되어 있지 않거나 微量 含有되어 있다는 點이 差異를 보였다. 개불과 군소의 肉을 溶媒抽出로서 脂質 및 非蛋白質窒素를 除去한 後에 乾燥 磨碎하여 6N HCl 加水分解하고 그 아미노酸組成을 分析한 結果를 Table 5에 나타내었다.

Table 5. Amino acid profiles of free proteins of defatted and non-proteinous nitrogen compounds in echiurid and sea hare muscles (N g-A.A./16 g-N)

Amino acid	Echiurid	Sea hare
Ile	0.28	0.22
Leu	0.55	0.45
Lys	1.02	0.60
Phe	0.19	0.18
Tyr	0.14	0.15
Cys	0.01	Tr
Met	0.35	0.11
Thr	0.38	0.31
Trp	0.22	Tr
Val	0.36	0.32
Arg	1.19	1.25
Gly	1.93	3.69
Asp	1.75	1.59
Ser	0.47	0.52
His	0.24	0.28
Ala	0.68	0.60
Glu	1.72	1.81
Pro	0.34	0.31
NH <sup>3</sup>	1.63	1.50
Total	13.43	13.96
g-N/100 g-sample protein	14.50	14.81
Recovery (%)	92.62	94.26

Tr: Trace amounts are detected.

窒素 16 g 당으로 보았을때 개불에 있어서는 아미노酸分析에 있어서의 窒素回收率이 92.62% 로써 아미노酸分析試料의 調製中의 加水分解過程에서 相當한 損失이 있었음을 暗示하였다. 量的으로 많은 아미노酸은 glycine, aspartic acid, glutamic acid, arginine, lysine 등을 들수있으며, 鹽基性아미노酸에 比하면 酸性아미노酸과 中性아미노酸이 比較的 높은 比率로 含有되어 있음을 알 수 있었다.

Table 6. Total amino acid profiles in freeze-dried muscle of echiurid and sea hare

Amino acid	Echiurid		Sea hare	
	g-A. A. /100 g-wet muscle	g-A. A. /16 g-N	g-A. A. /100 g-wet muscle	g-A. A. /16 g-N
Ile	0.28	3.06	0.16	2.38
Leu	0.54	5.96	0.27	4.85
Lys	0.55	6.11	0.20	3.58
Phe	0.23	2.56	0.14	2.44
Tyr	0.20	2.17	0.12	2.22
Cys	0.02	0.17	Tr	Tr
Met	0.19	2.10	0.08	1.40
Thr	0.34	3.79	0.17	3.02
Trp	0.17	1.89	Tr	Tr
Val	0.32	3.55	0.17	3.04
Arg	0.54	6.03	0.33	5.98
Gly	1.30	14.53	1.26	22.71
Asp	1.76	19.53	0.97	17.40
Ser	0.37	4.08	0.25	4.47
His	0.09	1.04	0.07	1.22
Ala	0.53	5.87	0.25	4.40
Glu	1.89	21.09	1.22	21.93
Pro	0.28	3.21	0.24	4.24
NH <sub>3</sub>	0.21	2.34	0.11	1.96

Tr: Trace amounts are detected.

군소에 있어서도 아미노酸分析에서의窒素의回收率은 조금 낮은 편이었으나全體적으로 많이含有되어 있는 아미노酸으로는 glycine 으로서總 아미노酸中の 26.43%까지含有되어있었고 glutamic acid와 aspartic acid 및 arginine이比較的 많은量含有되어있었으며, 특히 cysteine과 tryptophan은痕跡量에不過하였다.肉中の構成아미노酸의組成을 밝히기 위하여肉을凍結乾燥한後에分析한 아미노酸組成을 Table 6에 나타내었다.개불의肉에는 glutamic acid, aspartic acid, glycine, lysine, arginine, leucine이比較的 많은含量이었으나含黃아미노酸에屬하는 cysteine과 methionine 및 그밖에 histidine 등은그量이比較的 적었다.그리고 군소에있어서는 glycine, glutamic acid, aspartic acid, leucine, serine 등이比較的 많았으나, histidine, taurine, isoleucine 등은그量이 적었으며 특히 cysteine과 tryptophan은痕跡量에不過하였다.

Table 6에 나타낸 amino acid profile과複合酵素系에 의하여 *in vitro* 法으로測定한消化率을適用하여計算한蛋白質의營養的質을推定한結果를 Table 7에提示하였다. *in vitro* digestibility는 casein에比하여 조금씩 떨어졌으나 predicted digestibility는 casein 보다 높은 값을 보였다.그리고 C-PER와 DC-PER은개불과 군소가 함께 casein에比하여 많

Table 7. Predicting the protein quality of echiurid and sea hare muscle using *in vitro* methods

Sample	<i>In vitro</i> dig.	Predicted dig.	C-PER	DC-PER
Casein (ANRC)	90.00	87.20	2.50	2.50
Echiurid	82.79	96.63	0.91	1.56
Sea hare	86.51	95.31	1.38	2.07

이 떨어져蛋白質의營養質의인見地에서는 많이 떨어지는 것임을 알 수 있었다.그리고개불은必須아미노酸의含量面에서는含黃아미노酸中 cysteine이量的으로不足한點을除外하면 상당히良好한 것이었는데도不拘하고 C-PER이나 DC-PER이 군소에 조차 못미친 것은或은酵素의作用阻害劑까지影響이 있는것으로推測되었다.

한편,개불의蛋白質價가 낮은것은含黃아미노酸이第一制限아미노酸이었기 때문이며, 군소는 tryptophan이檢出되지 않은 것이 그原因으로 되었다.

그러나개불이나 군소의肉은鹽基性아미노酸에屬하는 lysine이나 arginine이動物性蛋白質의特徵을反映하여 어느程度 많은量含有하고 있으므로植物性蛋白質에 대한營養上的補足効果는 클것으로判斷되었다.

要 約

水産無脊椎動物에 屬하는 개불과 군소의 食品學的 評價를 위하여 肉의 蛋白質 및 아미노酸組成을 分析 檢討하였으며, *in vitro* 法에 의한 蛋白質의 品質推定을 위한 實驗도 並行하였다.

개불과 군소의 肉은 各各 10.19%와 6.33%의 粗蛋白質을 含有하고 있었다.

이들 各 肉은 개불에 있어서는 非蛋白質窒素; 40.6%, 水溶性蛋白質; 58.9%, 鹽溶性蛋白質; 0.2%, 알칼리可溶性蛋白質; 0.2% 및 基質蛋白質; 0.1%, 그리고 군소에 있어서는 非蛋白質窒素; 38.8%, 水溶性蛋白質; 55.5%, 鹽溶性蛋白質; 2.5%, 알칼리可溶性蛋白質; 1.6% 및 基質蛋白質; 0.2%로 構成되어 있었다.

量的으로 많은 比率을 占하는 水溶性蛋白質의 subunit 組成을 測定한 結果, 개불은 15個 subunit, 군소는 10個 subunit 가 檢出되었다.

遊離아미노酸의 組成을 分析한 結果, 개불은 glycine 과 alanine 이 總遊離아미노酸의 約 75%를 차지 하였고, glycine, alanine, taurine, arginine 및 aspartic acid 는 總遊離아미노酸의 約 96%를 차지 하였다. 군소의 總遊離아미노酸의 量은 개불의 總遊離아미노酸量의 約 1/10에 不過하였으며 taurine 이 總遊離아미노酸의 約 78%를 차지하였다.

蛋白質의 아미노酸組成을 分析한 結果, 개불의 肉蛋白質에는 glycine, aspartic acid, glutamic acid, arginine, lysine 이 많이 含有되어 있었고 cysteine 은 그 含量이 적었다.

그리고, 군소의 肉蛋白質에는 glycine, glutamic acid, aspartic acid, arginine 이 많이 함유되어 있었으며 cysteine 과 tryptophan 은 痕跡量에 不過하였다.

한편, 개불과 군소肉의 加水分解 試料中에는 개불은 glutamic acid, aspartic acid, glycine, arginine, leucine 이 그리고 군소는 glycine, glutamic acid, aspartic acid, leucine, serine 이 比較的 많은 含量을 보였다.

*in vitro* 法으로 이들 두 動物의 肉蛋白質의 營養價를 推定한 結果, 이미 알려진 水産動物의 肉蛋白質에 比較하여 떨어짐을 알 수 있었다.

謝 辭

本 研究를 遂行함에 있어 始終 助言하여 주신 釜

山水産大學 食品營養學科 卞在亨 教授께 甚深한 謝意를 表한다.

文 獻

- AOAC. 1982. Calculated protein efficiency ratio (C-PER and DC-PER) Official first action. J. of AOAC, 65, 496-499.
- 趙得文·卞在亨·卞大錫·金章亮. 1983. 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, 韓水誌. 16(3), 216-224.
- Hanson, J. and J. Lowy. 1960. Structure and function of the contractive apparatus in the muscle of invertebrate animals. Vol.1. pp. 265-335, Academic Press, N. Y.
- Hugli, T. E. and S. T. Moore. 1972. Determination of tryptophan content of protein by ion exchange chromatography of alkaline hydrolysates. J. Biol. Chem. 247, 2828-2834.
- 池田靜徳. 1981. 魚介類의 微量成分, その生化學と食品化學; pp. 2-28, 恒星社厚生閣, 東京.
- 金章亮·崔瑛準·卞在亨. 1982. 방어普通肉과 血合肉의 蛋白質 및 아미노酸組成의 死後變化, 韓水誌. 15(2), 132-136.
- 李應吳. 1968. 乾燥개불의 extract 에 대하여. 釜山水大研報. 8(1), 59-62.
- 丸山工作. 1955. 比較生化學, pp. 393-442, 醫學書院, 東京.
- Mason, V. C., S. B. Anderson and M. Rudemo. 1980. Hydrolysate preparation for amino acid determinations in feed constituents. Proc. 3rd EAAP Symp. on protein metabolism and nutrition. Vol. 1.
- Migita, M., J. J. Matsumoto and N. Aoe. 1959. A Comparative study on the extractibility of muscle protein of some animals. 日水誌. 24, 751-795.
- 二國二郎, 秦 忠夫, 1965. 基礎食品化學ハンドブック, pp. 173-197, 朝倉書店, 東京.
- 卞在亨·趙得文·崔瑛準·卞大錫·鄭克和. 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.
- Pyeun, J. H., K. Hashimoto and F. Matsuura. 1973. Isolation and characterization of abalone

崔 暎 準・韓 榮 實

- paramyosin. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish. 39(4), 395-402.
- Ryu, H. S. 1983. Nutritional evaluation of protein quality in some seafoods. Ph.D. thesis. of National Fisheries Univ. of Pusan.
- 土屋清彦. 1973. 改訂水産化学, 水産学全集, 17, pp. 8-10, 恒星社厚生閣, 東京.
- 土屋隆英. 1978. イカ外套膜斜紋筋の生化学的研究—構成タンパク質と収縮機構—, 上智大学博士學位論文.
- 渡部終五. 1976. ホタテガイ閉殻筋の蛋白質に関する研究, 東京大学博士學位論文.
- Weber, K. and M. Osborn. 1969. The reliability of molecular weight determinations by dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis, J. Biol. Chem. 244(16), 4406-4412.