

## 가열 변성에 따른 방어 Myosin과 갈색띠 매물고등 Paramyosin의 소수성, 용해도, SH기 및 단백질간 상호작용의 변화

최영준 · 변재형

부산수산대학 식품영양학과

### Changes of Hydrophobicity, Solubility, SH Group and Protein-Protein Interaction in Yellowtail Myosin and Whelk Paramyosin During Thermal Denaturation

Yeung-Joon Choi and Jae-Hyeung Pyeun

Department of Nutrition and Food Science, National Fisheries University, Pusan.

#### Abstract

The denaturation mechanism of the protein during heating of myosin and paramyosin extracted from the ordinary muscle of yellowtail (*Seriola quinqueradits*) and the adductor muscle of whelk (*Neptunea arthritica cumingi*) were investigated by analyzing the hydrophobicity, solubility, SH group and protein-protein interaction. The free hydrophobic residue of the two proteins were increased by increase of heating temperature up to 65°C and then decreased for further temperature raise. The protein-protein interaction was proportional to the increment of the free hydrophobic residue. The aggregation of protein was begun from 65°C with the decrease of the free hydrophobic residues. The results of Arrhenius equation for the data on protein-protein interaction showed that the denaturation course was made up with multi-steps in the myosin and two-steps in the paramyosin. The number of free hydrophobic residue and SH group, solubility and protein-protein interaction were significantly differed with the denaturation temperature ( $p < 0.01$ ).

#### 서 론

저자들은 전보<sup>(1)</sup>에서 방어 보통육 myosin과 갈색띠 매물고등 paramyosin을 각각 추출하여 그 물리 화학적 성질을 비교·검토하였다.<sup>(1)</sup>

어육 염용성단백질의 가열변성에 관한 연구를 살펴 보면, Hayakawa 등<sup>(2)</sup>은 잉어 actomyosin은 가열중에 단백질의 응집이 크게 증가한다고 하였으며, Liu 등<sup>(3)</sup>과 Parker와 Dalgleish<sup>(4)</sup>는 단백질을 가열하면 단백질 분자가 응집하여 거대분자를 형성한다고 보고하였다. 한편, 가열중에 일어나는 단백질 분자의 구조변화는 소수성기의 상호작용과 SH기의 변화를 수반하며, 단백질 분자의 기능성을 예측하기 위하여는 소수성기의 측정이 필수적이라고 하였다. 그러나 가열변성에 따른 단백질 구성아미노산 측쇄간의 화학결합의 변화 및 이로 인해 야기되는 물리화학적 성질의 변화등을 분석하여 가열변성에 따른 변성 기구를 구명코자 한 연구는 충분히 되어 있지 않다. 따라서 본 연구는 가열에 따른 변성의 기구를 펩티드의 구성아미노산 측쇄의 상호 반응과 관련하여 해명할 목적으로, 소수성 잔기의 노

출정도, S-S결합 및 단백질간 상호작용의 정도를 측정함으로써 검토하였다.

#### 재료 및 방법

##### 재료

전보<sup>(1)</sup>에서와 같은 재료를 시료로 하였다.

##### 방법

가. myosin 및 paramyosin의 추출

전보<sup>(1)</sup>의 방법에 따라 추출하였다.

나. 소수성의 측정

추출된 myosin과 paramyosin과 30°C에서 90°C까지 10°C 간격으로 30분씩 가열시킨 단백질 시료와 40°C, 60°C 및 80°C에서 시간의 경과에 따라 가열변성 시킨 경우 및 pH 변화에 따른 소수성 잔기의 노출 정도를 전보의 방법<sup>(1)</sup>에 따라 1-anilino-8-naphthalene sulfonate(ANS)를 사용하여 형광법으로 측정한 후, 형광강도를 단백질의 %농도( $w/v$ )로 나누어서 소수성의 노출·정도를 표시하였다. 이때 pH는 전보와 동일한 방법<sup>(1)</sup>으로 조절하였으며, 단백질

의 농도가 0.05~0.40mg/ml인 단백질을 70°C에서 30분간 가열했을 때 단백질 농도와 형광강도간에는 직선의 상관성이 성립하는 것에 비추어 형광도에 미치는 탁도의 영향은 무시하였다. 그리고 myosin의 경우는 SH기가 소수성 잔기의 노출에 미치는 영향을 검토하기 위하여  $\beta$ -mercaptoethanol을 최종농도가 10mM이 되도록 첨가했을 때의 소수성 잔기의 노출 정도와, 동시에 각 단백질을 10°C에서 80°C까지 가열했을 때의 소수성 잔기의 노출정도도 아울러 측정하였다.

한편 단백질의 용해도 변화는 각 온도별로 가열한 시료용액 (1.30~1.80mg/ml)을 원심분리 (70,000×g, 60min)하여 상층액 중 단백질의 농도를 Lowry법<sup>10)</sup>에 따라 측정하였다.

다. SH기의 측정

가열온도와 시간에 따른 myosin의 유리SH기의 변화는 Ellman의 방법<sup>10)</sup>으로 측정하였으며, 분당 0.45°C로 가열온도를 상승시켰을 때의 온도변화에 따른 유리SH기의 변화도 아울러 측정하였다.

라. 단백질-단백질 상호작용의 측정

가열변성의 과정에서 나타나는 단백질 용액의 혼탁정도를 분광광도계(Shimadzu, UV 140-02)로써 측정하였다. 즉, myosin은 파장 390nm에서, 그리고 paramyosin은 350nm에서 단백질-단백질 상호작용에 의하여 나타나는 탁도의 변화를 구하여 단백질간의 상호작용 정도를 나타내었다.

가열변성시 myosin과 paramyosin의 가열속도는 각각 0.45°C/min과 0.64°C/min으로 하였으며, 10°C에서 80°C까지 가열하였다. 가열에 따른 온도의 변화는 thermoprobe온도계 (Jenway, PHM6)로 측정하였다. 또한 가열변성시 단백질 상호간의 작용에 미치는 pH의 영향은 myosin을 각기 다른 pH조건의 0.6M KCl·50mM phosphate buffer중에서, paramyosin은 0.6M KCl·10mM phosphate buffer중에서 24시간 투석한 후, 단백질의 탁도를 측정함으로써 검토하였다. 그리고 단백질 상호간의 작용을 분석하기 위하여 가열변성에 따라 탁도를 측정할 때는 단백질의 농도차에 따른 영향도 아울러 검토하였다. 실험값은 탁도와 온도의 변화를 미분하여 작도함으로써 단백질의 전이온도를 구하고, 이를 Arrhenius식에 적용하여 열역학적 함수 관계로써 해석하였다.

결과 및 고찰

소수성 잔기의 노출

방어 보통육 myosin과 갈색띠 매물고둥 paramyosin

용액을 각 온도에서 30분간 가열변성 시킨 후에 측정 한 표면 소수성잔기의 변화를 나타낸 것이 Fig. 1이다. 특히 방어 보통육 myosin은  $\beta$ -mercaptoethanol을 10mM이 되도록 첨가하여 표면 소수성잔기를 측정하여 함께 나타내었다.

Fig. 1에서 알수 있는 바와 같이 방어 보통육 myosin은 60°C까지는 소수성잔기가 비교적 빠른 속도로 노출 하였으며, 60~90°C에서는 거의 일정한 수준을 유지하다가 90°C에서 30분간 가열했을 때는 소수성잔기의 노출이 다소 감소하는 경향을 보였다.

그리고 갈색띠 매물고둥 paramyosin의 표면 소수성 잔기의 노출정도는 55°C까지는 거의 일정한 수준을 유지하였고, 55°C 이상에서는 서서히 증가하였다. 한편, 10mM의  $\beta$ -mercaptoethanol을 함유한 myosin은 50°C 이상에서는  $\beta$ -mercaptoethanol의 첨가에 따라 소수성잔기의 노출이 다소 둔화됨을 알 수 있었다.

가열온도에 따른 방어 보통육 myosin과 갈색띠 매물고둥 paramyosin의 용해도 변화를 측정한 결과, 소수성 잔기의 노출과는 반대되는 경향을 보여주었다. 즉, 용해도는 45°C 부근에서 급격히 감소하여 60°C 부근에서부터는 거의 일정한 수준을 유지하였다.

Cherry<sup>11)</sup>는 11S 대두단백질의 가열변성시, 초기에는 소수성기의 상호작용이 관여하는 가역적인 응집이 일어나나, 이어서 가교결합(架橋結合, cross-linkage)이 관여하는 불가역적인 응집이 일어난다고 보고하였으

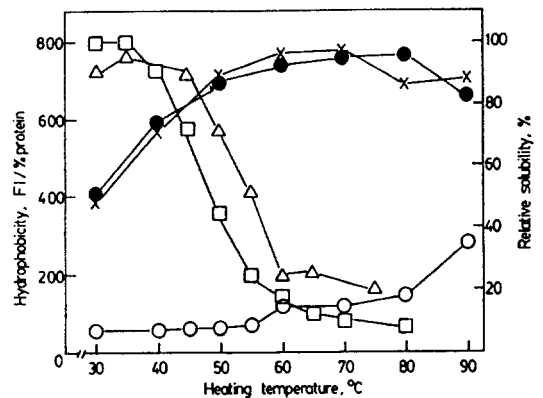


Fig. 1. Relationship between protein solubility and hydrophobicity. Sample solution was preheated for 30 min at indicated temperature before measuring

- : Surface hydrophobicity of myosin with 10 mM  $\beta$ -mercaptoethanol
- : Surface hydrophobicity of paramyosin
- ×: Surface hydrophobicity of myosin without 10 mM  $\beta$ -mercaptoethanol
- : Solubility of myosin
- △: Solubility of paramyosin

며, Nakai<sup>(8)</sup>는 하전빈도와 소수성은 단백질 분자의 척력(斥力)과 회합(會合)에 중요한 인자가 된다고 보고하였다. Hayakawa와 Nakai<sup>(2)</sup>는 달걀과 콩단백질의 열변성시에 ANS소수성은 단백질의 불용성과 밀접한 상관을 가지며, 방향족 아미노산의 소수성은 단백질의 불용화에 커다란 영향을 미친다고 보고하였다.

이같은 보고들과 본 실험의 결과에 비추어 가열변성시 myosin과 paramyosin은 가열온도가 60°C에 이를 때까지 단백질 분자는 다량의 소수성 잔기가 노출되고 하전빈도가 낮아짐으로서 분자간 인력이 감소하여 단백질 분자가 응집하게 되고 결국 불용성 침전을 형성하는 것으로 예상된다.

Fig. 2는 40°C, 60°C 및 80°C에서 시간의 경과에 따른 방어 보통육 myosin의 표면소수성의 변화를 나타낸 것으로서 10mM β-mercaptoethanol의 첨가여부에 관계없이 60°C 및 80°C에서는 공통적으로 가열까지 15분 표면소수성은 급속히 증가하였고, 이후부터는 거의 일정한 수준을 유지하였다. 그리고 40°C에서 가열한 경우는 β-mercaptoethanol첨가에 따른 효과가 비교적 뚜렷이 나타났다.

한편, myosin과 동일한 조건에서 측정된 갈색띠 매물고등 paramyosin의 표면 소수성의 변화를 보면(Fig. 3), 40°C에서는 가열시간의 경과에 따른 소수성의 변화는 거의 나타나지 않았으며, 60°C에서는 가열 45분까지 표면소수성잔기의 노출이 급격히 증가하였으나, 그 이후부터는 거의 일정한 수준이었고, 80°C에서는 가열까지는 30분 증가하다가 그 이후부터는 감소하는 경향을 보였다.

그리고 myosin과 paramyosin은 80°C에서 가열한 것에 비하여 60°C에서 가열한 것이 소수성 잔기의 노출 정도가 높았다. 이같은 결과로 미루어 동일 온도에서

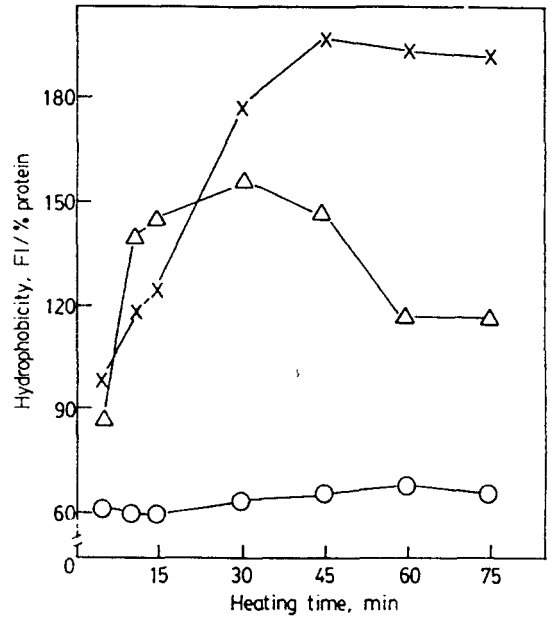


Fig. 3. Changes of hydrophobicity of whelk paramyosin by heating time at 40°C(O), 60°C(x) and 80°C(Δ)

의 변성은 myosin이 paramyosin분자에 비하여 빨리 일어나며, 60°C 이상의 고온에서는 소수성 잔기의 노출에 의한 상호작용 보다는 하전빈도의 변화, S-S가교 결합 등이 단백질 분자의 응집에 보다 큰 영향을 미칠 것으로 판단된다.

丹羽<sup>(12)</sup>는 가자미 actomyosin의 소수성을 측정된 결과, 동일한 단백질 농도에서는 가열온도가 상승할수록 소수성 잔기의 노출은 더욱 커지고, 60°C에서 가열한 것이 90°C에서 가열한 것에 비하여 소수성이 높다고 보고하였으며, 川畠 등<sup>(13)</sup>은 잉어 myosin을 가열했을 때 가열 5분까지는 소수성이 거의 변화를 보이지 않았다고 보고하였다. 본 실험의 결과는 이들 보고 내용과 큰 차이가 없음을 알 수 있었다.

Fig. 4는 방어 보통육 myosin과 갈색띠 매물고등 paramyosin이 용해되어 있는 용매의 pH변화에 따른 표면소수성과 용해도의 관계를 나타낸 것이다. myosin의 표면 소수성은 pH 6이상에서는 거의 변화가 없었으며, 용매의 pH가 감소함에 따라 크게 증가하였으나, paramyosin의 경우, 용매의 pH변화에 따른 표면소수성의 차이는 없었다. 이같은 결과를 pH의 저하에 따른 용해도의 감소와 관련시켜 보면, myosin이 paramyosin에 비하여 산성측의 pH에서 단백질 구조가 풀어져서 소수성 잔기가 더욱 노출되기 때문이며, paramyosin의 구조가 myosin의 막대구조와 비슷한 것

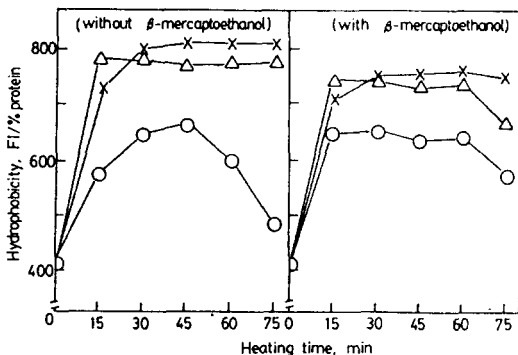


Fig. 2. Changes of hydrophobicity of yellowtail myosin by heating time at 40°C(O), 60°C(x) and 80°C(Δ) with or without 10 mM β-mercaptoethanol

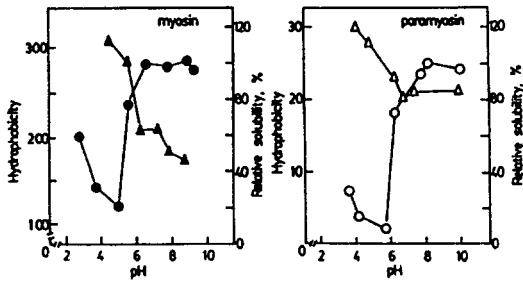


Fig. 4. Relationship between solubility and surface hydrophobicity by pH variation. The solubility and hydrophobicity were measured after dialysing against the various pH solutions for 24 hr ●, ○; solubility: ▲, △; surface hydrophobicity

을 감안한다면 pH변화에 의하여 myosin의 소수성이 크게 변화하는 것은 myosin의 subfragment-1부분이 pH변화에 민감하기 때문인 것으로 판단된다.

Chan 등<sup>(11)</sup>은 조피볼락의 염용성 추출물은 45°C 이상의 가열에서, 또는 pH 5.5이하에서는 분산능이 감소하고 표면소수성은 증가하며, SH기의 수는 다소 감소한다고 보고하였다.

Fig. 5는 pH별로 myosin과 paramyosin을 가열했을 때의 소수성 잔기와 용해도의 변화를 나타낸 것이다. myosin은 분당 0.45°C, paramyosin은 분당 0.64°C로 가열변성 시켰을 때 소수성 잔기의 노출정도와 용해도의 변화간에는 역의 상관관계를 보였으며, 용해도와 소수성 잔기의 노출정도는 단백질 변성의 좋은 지표가 될 수 있고, 단백질 구조변화에 관한 유력한 지식을

얻을 수 있는 자료가 될 것으로 생각된다.

S-S 결합

20°C에서부터 5°C 간격으로 85°C에 이르기까지 10분간 가열처리한 방어 보통육 myosin의 유리 SH기의 변화를 Fig. 6에 나타내었다. Fig. 6에서 알 수 있듯이 55°C에서 유리 SH잔기 수는 최대에 달하였고, 가열온도의 상승과 더불어 유리 SH기의 수는 급격히 감소하

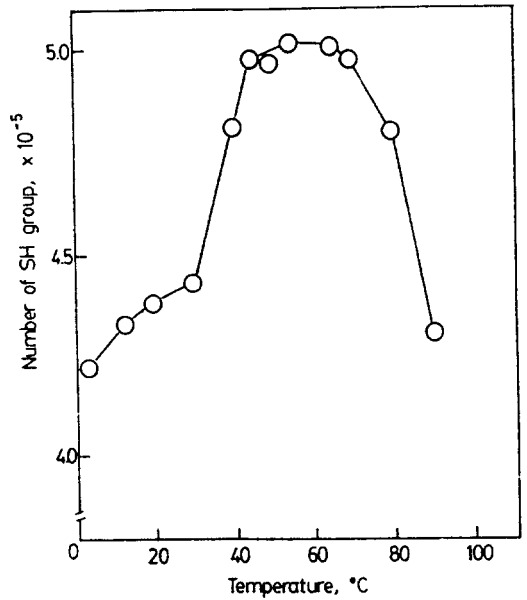


Fig. 6. Change of number of SH group in yellowtail myosin by heating temperature for 10 min

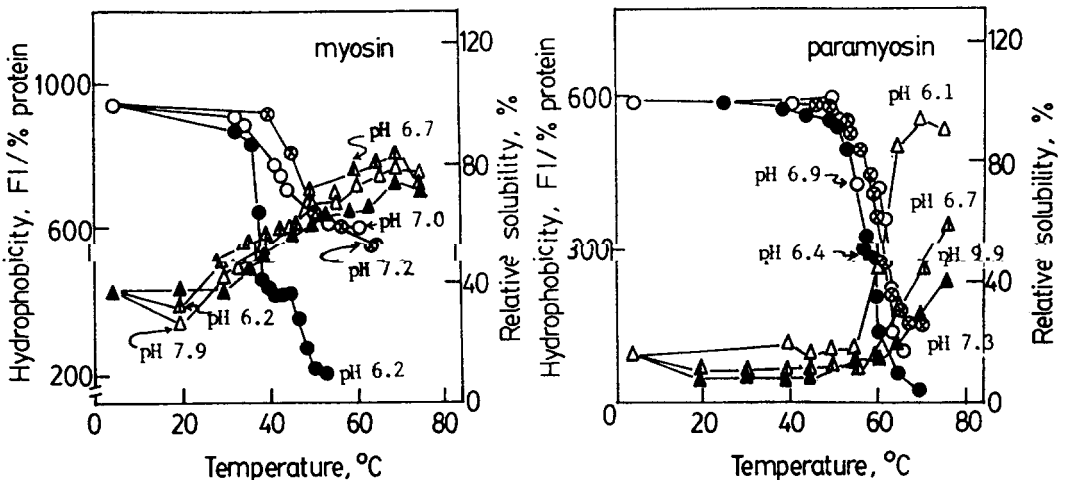


Fig. 5. Relationship between solubility and surface hydrophobicity. Heating rate: myosin, 0.45°C/min; paramyosin, 0.64°C/min

●, ○, ○: Relative solubility ▲, △, △: Surface hydrophobicity

었다. 이같은 결과는 伊藤 등<sup>(13)</sup>이 잉어 actomyosin의 SH기의 수는 가열변성 온도가 상승함에 따라 대체로 감소하는 경향을 보인다고 보고한 것과 chan 등<sup>(14)</sup>이 조피볼락의 염용성 추출물의 유리 SH기 수는 변성온도의 상승과 더불어 대체로 감소하는 경향이지만, 55°C 부근에서 증가하는 현상을 보인다고 보고한 것과는 다소 차이를 나타내고 있었다. 그리고 방어 보통육 myosin을 40°C, 60°C 및 80°C에서 가열했을 때의 온도의 변화와 시간의 경과에 따른 유리 SH기의 변화를 Fig. 7에 나타내었다. 40°C에서 가열한 것은 60분 이후부터 유리 SH기는 급속히 증가하였고, 60°C에서 가열한것은 가열시간이 길어짐에 따라 유리 SH잔기의 수는 감소하는 경향을 보였다. 또 80°C에서 가열했을 때의 방어 보통육 myosin의 유리 SH기의 수는 45분까지는 급속히 증가하였다가 그 이후는 가열시간의 경과와 더불어 격감함을 알 수 있었다.

한편, Fig. 8은 방어 보통육 myosin을 분당 0.45°C로 가열했을 때 유리 SH잔기수의 변화를 나타낸 것으로서 동일한 pH 및 가열속도 일때의 소수성잔기의 노출정도를 측정한 결과(Fig. 5)와 매우 비슷한 경향을 보여주고 있었다.

이상의 결과에 비추어, 방어 보통육 myosin은 변성시에 가열온도의 상승과 더불어 유리 SH기는 일정수

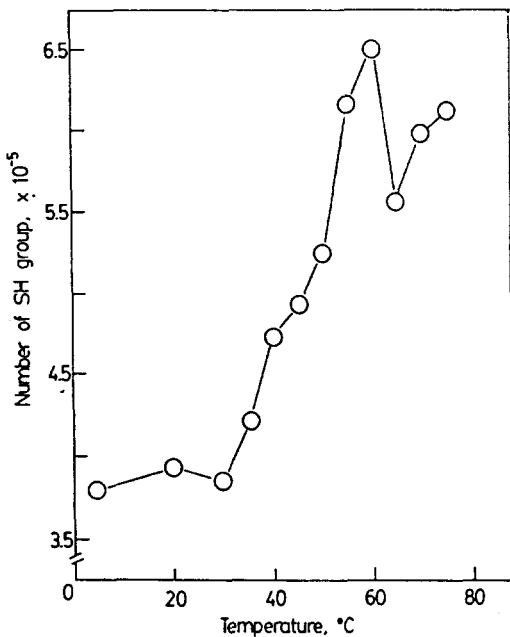


Fig. 7. Change of number of SH group in yellowtail myosin by heating time at 40°C(O), 60°C(□) and 80°C(Δ)

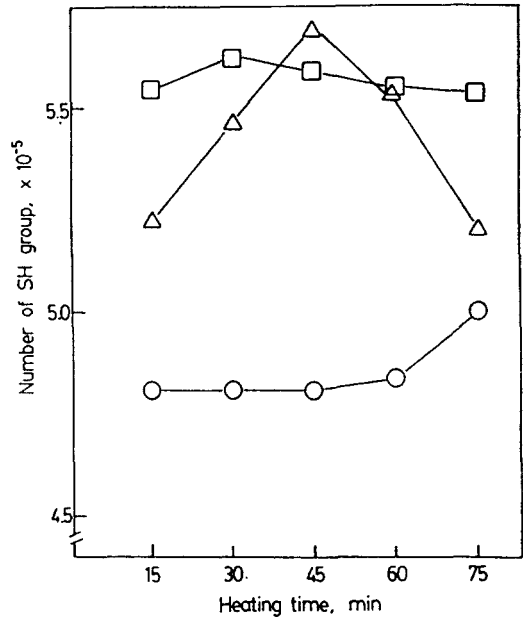


Fig. 8. Change of number of SH group in yellowtail myosin by heating time. Temperature as a function of time = 0.45(time) + 8.54. Heating rate: 0.45°C/min in the range of 9°C to 70°C

준까지 증가하다가 55°C 이상에서는 단백질 분자간 상호작용에 관여함에 따라 유리 SH잔기는 감소하는 것으로 판단되었다. 그리고 정전기적 결합, 소수성잔기의 노출 및 용해도의 변화와 비교해보면, 40°C 이하에서는 용매극성의 변화로 인한 화학결합의 변화가 변성을 주도하고, 50°C 이상에서는 소수성, S-S결합이 분자간 상호작용에 영향함으로써 비가역적인 변성을 주도하는 것으로 판단된다. 이 결과와 관련하여, 丹羽와 三宅<sup>(15,16)</sup>은 어육의 gel에 존재하는 SH기의 수는 영점(setting)과정 중에 거의 일정한 수준으로 남아 있다고 하였으며, Voutsinas 등<sup>(7)</sup>은 단백질이 gel화 할 때 표면소수성과 SH기간에는 유의적인 상관성이 있다고 보고하였다.

단백질 상호간의 작용

Fig. 9와 Fig. 10은 방어 보통육 myosin은 pH 6.7에서, 갈색띠 매물고등 paramyosin은 pH 6.0에서 pH 7.3까지, 각각 분당 0.45°C와 0.64°C로 가열하면서 단백질간 상호작용을 탁도의 변화로 측정하여 용매의 pH와 절대온도에 의한 흡광도 변화를 Arrhenius식으로 도식화 한 것으로서, 그 기울기로부터 활성화에너지를 계산하여 Table 1에 나타내었다. pH 6.7인 용매에 용존되어 있는 방어 보통육 myosin은 Arrhenius식에 의

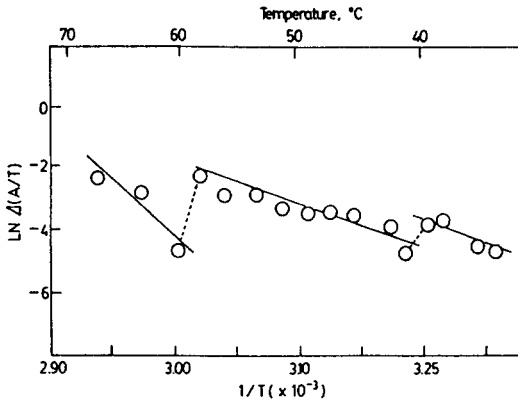


Fig. 9. Arrhenius plots for the protein-protein interaction in yellowtail myosin at pH 6.7

하면 두개의 전이구간이 나타났으며, 20~40°C, 40~57°C, 57~70°C에서의 활성화에너지 값은 각각 2.3, 2.0 및 1.5kcal이었다. 그리고 paramyosin은 pH 6.9에서 한개의 전이구간을 갖고 있는 것이 확인되었으며, 20~53°C와 53~70°C에서의 활성화에너지 값은 2.6과 0.6kcal이었다.

한편, Freire와 Biltonen<sup>(16,17)</sup>은 거대분자의 다단계 전이를 특징지우는 열역학적 함수는 평균엔탈피이며, 분배함수로서 계의 모든 열역학적인 양, 온도함수에 따른 상대적인 각 상태 및 이들간의 엔탈피변화와 엔트로피변화, 불가역적인 거대에너지 상태의 수를 계산할 수 있으며, 이 이론을 거대분자의 협동전이에 적용할 수 있다고 보고하였다.

방어 보통육 myosin과 갈색띠 매물고등 paramyosin에 있어서 용매의 pH가 저하함에 따라서 활성화에너지

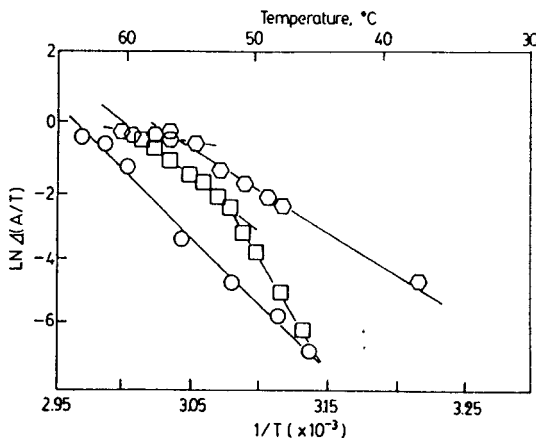


Fig. 10. Arrhenius plots for the protein-protein interaction in whelk paramyosin at pH 6.4(○), pH 6.9(□) and pH 7.3(○)

Table 1. Effect of solvent pH on the activation energy for the protein-protein interaction in yellowtail myosin and whelk paramyosin by heat treatment

	Solvent pH	Temperature (°C)	Activation energy (Kcal/mole)
Myosin	6.7	20-40	2.3
		40-57	2.0
		57-70	1.5
Paramyosin	6.4	20-55	1.4
		55-70	0.4
	6.9	20-53	2.6
		53-70	0.6
	7.3	20-70	3.5

값이 현저히 감소하는 것은 단백질의 구조의 안정화에 중요한 역할을하는 아미노산의 전리정도가 단백질의 안정성에 영향을 미칠 것으로 생각된다. 그리고 Arrhenius식의 기울기가 온도구간에 따라 다른 것은 활성화에너지의 다양함을 반영하는 것으로서 이들 myosin과 paramyosin의 변성에는 몇 단계의 특징적인 변성단계가 존재함을 나타내는 것으로 판단된다.

Deng 등<sup>(18)</sup>은 actomyosin용액의 단백질 상호 반응은 40°C이하, 40~60°C 및 60°C 이상의 세가지 온도역으로 나누어지며, 40°C이하에서 단백질간 상호반응의 속도와 크기는 온도의존성이 매우 크다고 보고 하였다. 또한 Liu 등<sup>(19)</sup>은 보구치의 actomyosin을 분당 1°C씩 온도를 상승시키면서 변성시킬때 37~40°C에 달하기 전에는 단백질 응집의 징후가 보이지 않았다고 하였으며, 30~35°C에서의 점도증가는 비공유적인 힘에 의해 단백질분자가 상호작용 한 결과라고 보고하였다. 한편 pH 6.7과 pH 7.2에서 방어 보통육 myosin의 단백질간 상호작용을 가열온도에 따른 탁도변화로 미분하여 도식한 것이 Fig. 11이며, 동일한 방법으로 pH 6.4, pH 6.7 및 pH 7.3에서 paramyosin에 대하여 착도한 것이 Fig. 12이다. Fig. 11에서 알 수 있는 바와 같이 방어 보통육 myosin은 두개의 전이온도를 갖는 것으로 나타났으며, 이때 pH에 따른 전이온도는 pH 6.7에서는 44°C와 56°C이었고, pH 7.2에서는 48°C와 68°C로 나타났다. 또한 Fig. 12에서 알 수 있는 바와 같이 paramyosin은 한개의 전이온도를 가지는 것으로 나타났으며, pH 6.4에서는 53°C, pH 6.9에서는 58°C, pH 7.3에서는 60°C이었다.

본 실험의 결과, 용매의 pH가 낮아짐에 따라 전이온도가 낮아지는 것을 확인 할 수 있는데, 이는 수소가 온농도가 단백질의 구조전이를 일으키는 데 있어서 많

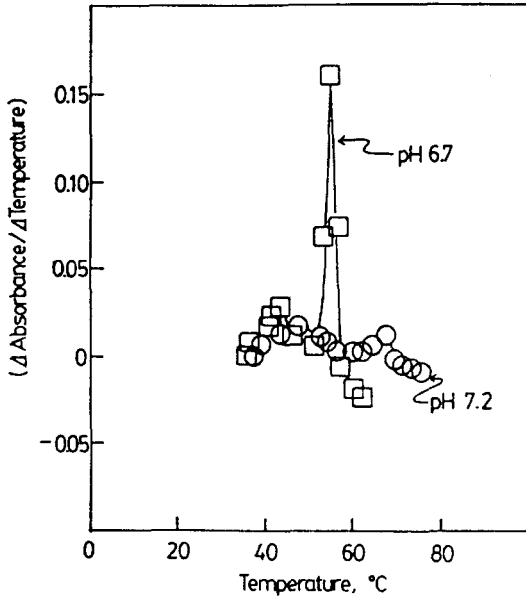


Fig. 11. Derivative curves of the protein-protein interaction in yellowtail myosin at pH 6.7 and pH 7.2

은 에너지를 필요로 하지 않는 양자-coupling기구를 통하여 전이온도값을 낮추기 때문으로 판단된다. Samejima 등<sup>(19)</sup>은 scanning calorimeter를 사용하여 토끼 골격근 myosin과 그 subfragment의 구조적인 전이를 측정된 결과, 45°C와 56°C 부근의 전이온도는

myosin의  $\alpha$ -helix구조의 전이에 해당하는 온도이고, 52.5°C는 myosin subfragment-1과 myosin subfragment-2의 혼합 전이온도값에 해당한다고 보고하였다.

이같은 보고에 비추어, 방어 보통육 myosin의 첫째 전이온도는 light meromyosin의 변성에 관여하는 온도인 것으로, 두번째의 전이온도는 myosin head의 구조변화에 관여하는 온도인 것으로 생각되었다. 그리고 paramyosin은 대체로  $\alpha$ -helix구조로 되어있음을 감안할 때 pH 7.3에서 60°C의 전이온도는  $\alpha$ -helix구조의 변화에 관여하는 전이온도인 것으로 판단되었다.

Fig. 13은 pH에 따른 전이온도의 변화를 나타낸 것으로서 대체로 pH 6.0이상에서는 pH의 증가와 더불어 전이온도는 상승하는 것으로 나타났다. 그리고 Fig. 14는 단백질의 농도변화에 따른 구조 전이온도의 변화를 도식화한 것으로서, 단백질 농도가 증가함에 따라 전

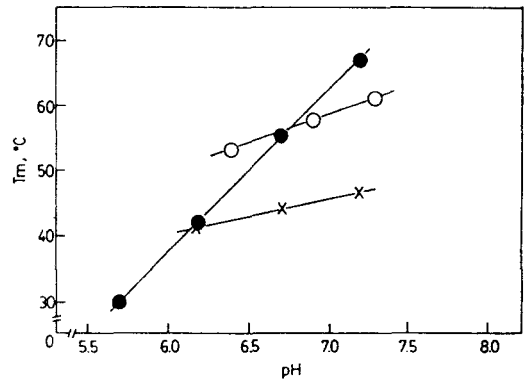


Fig. 13. Effect of pH on the transition temperature in yellowtail myosin and whelk paramyosin: x, myosin(Tm1); ●, myosin(Tm2); ○, paramyosin(Tm)

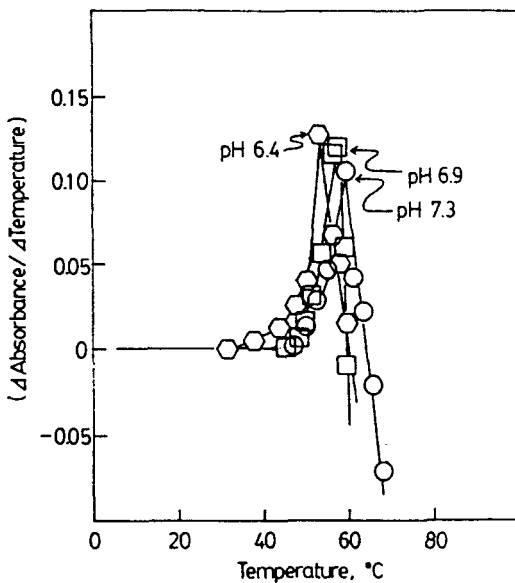


Fig. 12. Derivative curves of the protein-protein interaction in whelk paramyosin at pH 6.4, pH 6.9 and pH 7.3

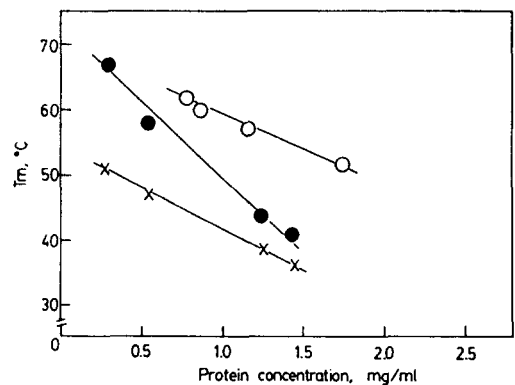


Fig. 14. Effect of protein concentration on the transition temperature in yellowtail myosin and whelk paramyosin: x, myosin(Tm1); ●, myosin(Tm2); ○, paramyosin(Tm)

이온도는 낮아지는 것으로 나타났으며, 특히 myosin분자 중 light meromyosin이 단백질의 응집 및 gel화에 참여하는 것으로 판단되었다.

Privalov<sup>20)</sup>는 단백질 단위체사이의 결합은 어떤 물분자가 유리되고 두개의 소수성 단백질이 서로 접촉하게 될 때 더욱 무질서한 형태로 되며, 응집의 안정성은 응집물이 갖는 결합의 수와 단위체의 수에 비례한다고 보고하였다.

이같은 보고에 비추어, 방어 보통육 myosin과 갈색띠 매물고등 paramyosin의 응집은 소수성잔기가 단백질 표면에 극대로 노출된 후에 더욱 안정한 불용성 응집을 형성하는 것으로 판단되었다.

## 요 약

방어와 갈색띠 매물고등에서 myosin과 paramyosin을 추출하고, 이들 단백질의 가열중에 일어나는 변성기구를 아미노산 잔기와 SH기의 변화 및 단백질간의 상호작용 등을 측정하므로써 분석하였다. 각 단백질을 이루는 구성아미노산의 측재중 소수성 잔기의 유리정도는 가열온도 65°C까지는 증가하였으나, 그 이상의 가열온도에서는 감소하는 경향을 보였다. 유리 소수성 잔기가 증가하여 감에 따라, 단백질간 상호작용도 활발하여 갔으며, 소수성 잔기의 유리정도가 감소하는 가열온도 65°C부터는 단백질의 응집이 일어나기 시작하였다. 단백질간의 상호작용을 탁도로써 분석하여 Arrhenius식으로 해석한 결과, 방어 myosin은 3단계 이상의 변성과정으로 구분할 수 있었으며, 갈색띠 매물고등 paramyosin은 2단계의 변성과정으로 구분할 수 있었다. 이들 두 단백질의 소수성, 용해도, 유리 SH기의 수 및 단백질간의 상호작용 등은 온도함수와 밀접한 상관관계를 보였다.

## 문 헌

1. 변재형 · 최영준 : 한국식품과학회지, 19, 29(1987)
2. Hayakawa, S. and Nakai, S.: *J. Food Sci.*, 50, 486(1985)

3. Liu, Y.M., Liu, T.S. and Lanier, T.C.: *J. Food Sci.*, 47, 1916(1982)
4. Parker, T.G. and Dalgleish, D.G.: *Biopolymers*, 16, 2533(1977)
5. 丹羽榮二 · 三宅正人 : 日本水産學會誌, 37, 877(1971)
6. 丹羽榮二 · 三宅正人 : 日本水産學會誌, 37, 884(1971)
7. Voutsinas, L.P., Nakai, S. and Harwalker, V.R.: *Food Sci. Technol. J.*, 16, 185(1983)
8. Nakai, S.: *J. Agric. Food Chem.*, 31, 676(1983)
9. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Ranall, R.J.: *J. Biol. Chem.*, 193, 265(1951)
10. Ellman, C.L.: *Arch. Biochem. Biophys.*, 82, 70(1959)
11. Cherry, J.P.: *Protein Functionality in Foods*. American Chemical Society. Washington D.C., p. 89(1981)
12. 丹羽榮二 : 日本水産學會誌, 48, 907(1975)
13. 川合祐史 · 羽田野六男 · 座間宏一 : 北大水産彙報, 34, 131(1983)
14. Chan, E.L., Nakai, S. and Wood, D.F.: *J. Food Sci.*, 50, 1034(1985)
15. 伊藤慶明 · 吉中禮二 · 池田靜徳 : 日本水産學會誌, 48, 1015(1979)
16. Freire, E. and Biltonen, R.L.: *Biopolymers*, 17, 463(1978)
17. Freire, E. and Biltonen, R.L.: *Biopolymers*, 17, 481(1978)
18. Deng, J., Toledo, R.T. and Lillard, D.A.: *J. Food Sci.*, 41, 273(1976)
19. Samejima, K., Ishioroshi, M. and Yasui, T.: *Agric. Biol. Chem.*, 47, 2373(1983)
20. Privalov, P.L.: in *Adv. Protein Chem.*, Affinsen, C.B., Esdall, J.T. and Richard, F.H.(ed.) Academic press, New York, vol 33, p.167(1979)

(1986년 10월 27일 접수)