

심장근과 골격근의 Malate dehydrogenase(MDH)에 관한 연구

신완철 · 송재철
식품영양학과

<요약>

본 연구는 산화적 대사계를 형성하고 있는 심장근세포와 골격근의 red muscle에 대하여 TCA cycle의 key enzyme의 하나인 MDH를 분리하여 그 생화학적 성질을 비교한 것이다. MDH의 활성에 있어서는 골격근의 MDH활성을 1.0으로 하였을 때 심장근의 MDH 활성은 2.8로 심장근이 산화능력이 큰 조직임을 나타내었고, 심장근과 골격근에 있어서 MDH의 분포는 cMDH가 mMDH보다 더 높은 함량을 나타내었으며, cMDH와 mMDH의 비활성은 심장근과 골격근 사이에 차이를 나타내었다. 열안정성에 있어서는 심장근의 MDH가 골격근의 MDH보다 높은 것으로 나왔으며, 한편 cMDH의 열안정성은 mMDH의 열안정성보다 높았다. 기질친화도에 있어서는 mMDH의 경우 심장근이 골격근보다 높은 기질친화도를 나타내 근육에 따른 세포내에서의 MDH의 기능에 차이가 있을 수 있음을 나타내었다.

Studies on the Malate dehydrogenase in Cardiac muscle and Skeletal muscle

Shin, Wan-Chul · Song, Jae-Chul
Dept. of Food Science and Nutrition

<Abstract>

Malate dehydrogenase was extracted from cardiac muscle and skeletal muscle, and biochemical characteristics were compared each other. Malate dehydrogenase activity in cardiac muscle was 2.8 times as high as that of skeletal muscle. In cardiac muscle and skeletal muscle, the content of cytoplasmic malate dehydrogenase was higher than that of mitochondrial malate dehydrogenase. Malate dehydrogenase of cardiac muscle was

more thermostable than that of skeletal muscle. Thermostability of cytoplasmic malate dehydrogenase was higher than that of mitochondrial malate dehydrogenase. The K_m value of mitochondrial malate dehydrogenase from cardiac muscle showed higher than that of skeletal muscle.

I. 서론

Malate dehydrogenase(MDH)(EC 1.1.1.37)는 malate에 대하여 가역적 환원반응을 촉매하는 효소로 1910년 Batteli와 Stein에 의하여 발견되었다(1,2). MDH는 세포내에서 cytosol에 존재하는 cMDH와 mitochondria에 존재하는 mMDH의 두 종류의 isozyme으로 존재하며(3,4) 이들 isozyme들은 구조적으로 동일하거나 유사한 subunit(MW 30,000~35,000)가 2개 혹은 4개가 결합된 dimer나 tetramer의 형태로 존재한다고 보고되고 있다(5~7).

cMDH와 mMDH는 서로 다른 gene의 생성물로 알려지고 있는데(8~10) ribosome에서 생합성된 후 cMDH는 cytosol에 남아있게 되나 mMDH는 mitochondria matrix로 이동된다고 보고 하고 있다(11,12). 또한 cMDH와 mMDH는 amino acid sequence 및 항원·항체반응에서 서로 다른 특성을 나타내는데(7,13) 서로 다른 장소에서 세포기능의 수행을 원활하게 함으로써 세포기능상 대단히 중요한 위치를 차지하고 있다(14). 즉, Fig. 1에 나타낸 바와 같이 mMDH는 kreb cycle에서 key enzyme.으로서의 기능을 가지고 있는가 하면, cMDH는 malate aspartate shuttle에서 NADH의 전자를 malate의 형태로 전자전달체로 이송시키는 역할을 하고 있다.

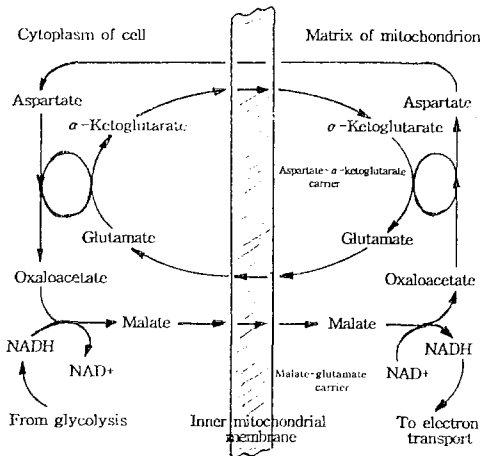


Fig. 1. The malate-aspartate shuttle for the transport of electrons from NADH across the inner membrane of the mitochondrion.

동물체의 운동을 담당하고 있는 근세포는 크게 골격근, 심장근 및 평활근에 따라 분자형태와 생화학적 특이성에서 차이가 있는가 하면, 골격근도 red muscle과 white muscle로 분류되어 그 특성이 분석 비교되고 있다(15,16). 일반적으로 red muscle은 white muscle보다 myoglobin 및 mitochondria의 함량이 많으며 산화적 대사계(oxidative metabolic system)를 형성하고 있는 것으로(17), 보다 지속적인 운동이 가능하도록 체제화되어 있는 것으로 보고되고 있다(18~20). 그런데 근세포중에서 가장 산화적 대사계를 형성하면서 지속적인 수축·이완을 수행하고 있는 것은 심장근의 작업근세포라 할 수 있다.

본 연구는 산화적 대사계를 형성하고 있는 심장근의 작업근세포와 골격근의 red muscle에 대하여 대표적인 에너지 대사계인 TCA cycle의 MDH에 대하여 생화학적으로 비교 분석하고자 한다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험재료

실험동물로는 쥐와 돼지를 선택하였다. 쥐로부터는 심장근과 trapezius근을 취하였고, 돼지로부터는 심장근과 soleus근을 취하여 각각 지방과 결체조직을 제거한 후 사용하였다.

2. MDH의 활성 측정

Smith(21)와 Glatthaar 등(22)의 방법에 따라 340nm에서 NAD^+ 의 환원속도로부터 MDH의 활성을 구하였다. cMDH의 활성은 반응액의 양을 3ml로 하였고 각 반응물의 최종농도는 0.1M diethanolamine-HCl buffer(pH 9.2), 2.9mM NADH, 25mM oxaloacetate로 하였으며 37°C에서 3분간 반응시킨 후 340nm에서 흡광도를 측정하였다. 활성은 1분간 1 μ M의 NADH를 산화시키는 효소량을 1unit로 했으며 NADH의 몰흡광계수는 $6.22 \times 10^3 \times M^{-1}$ 을 사용하였다.

mMDH의 활성은 반응액의 양을 3ml로 하였고 각 반응물의 최종농도는 0.1M diethanolamine-HCl buffer(pH 9.2), 2.9mM NAD^+ , 25mM malate로 하였으며 37°C에서 3분간 반응시킨 후 cMDH와 동일하게 행하였다

3. MDH의 조제 및 정제

MDH는 Gerding 등(23)의 방법을 수정하여 조제하였다. Muscle의 결체조직을 제거하고 분쇄기로 마쇄한 후 muscle양의 2.5배의 증류수로 균질화 하였다. 이 균질화된 액을 14,000 \times g로 20분간 원심분리하여 침전물을 제거한 후 상등액을 acetic acid로 pH 5.0으로 등전 침전시키고 2~3시간 방치 후 pH 7.0으로 환원시켜서 vacuum filtration과정을 거친 상등액을 취하여 4°C에서 50% 포화 암모늄용액에 완전히 녹인 다음 하루밤 방치 후 10,000 \times g에서 30분간 원심분리하여 침전물을 제거하고 다시 상등액을 80% 포화 암모늄용액에 녹인 후 원심분리하여 침전물을 회수하였다.

50~80% 분획으로 얻어진 침전물을 0.01M phosphate buffer(pH 7.0)에 녹인 다음 하루 밤 동안 투석을 실시 후 0.01M phosphate-buffer(pH 7.0)로 평형시킨 CM-cellulose column에 통과시킨 다음 동일한 완충액으로 280nm에서 단백질이 검출되지 않을 때까지 column을 세척하였다. 이렇게 하여 cation column에 결합하지 못한 단백질을 완전히 제거한 후 0.01M에서 0.05M 사이의 동일한 완충용액의 이온강도에 따른 농도 직선구배를 사용하여 25ml/hr의 용출속도로 각 단백질을 분리 용출하여 malate dehydrogenase의 활성도를 나타내는 부분들을 모아 분획하였다. 이어서 DEAE-cellulose column에서 각각 cMDH와 mMDH를 정제하였다.

4. 단백질 농도의 측정

MDH 정제과정중의 단백질 농도는 Lowry법(24)에 의해서 측정하였으며 검량선은 egg albumin을 표준단백질로 하여 작성하였다. 또한 column chromatography에서 얻어진 분획액의 단백질농도는 Warburg-Christian법(A_{250} / A_{280})(25)으로 측정하였다.

5. 열안정성 실험

단백질의 가열처리는 1mg/ml 단백질용액(diethanolamine-HCl buffer, pH 9.2)을 항온조상에서 55°C에서 일정시간 간격으로 가열한 후 ice bath상에 있는 활성 측정용액에 넣어서 가열을 정지시킨 다음 25°C에서 기질을 첨가하여 효소의 실패를 측정하였다.

III. 실험결과 및 고찰

1. 심장근세포와 골격근세포의 단위 중량당 MDH의 활성 비교

Red muscle은 산화적 대사계를 형성하고 있다고 하나(17) 평활근이면서도 수의근으로 알려진 심장근 보다는 호흡대사속도가 낮을 것으로 예상되었다. 따라서 이들간의 차이를 알아보기 위하여 TCA cycle 관련효소인 MDH를 조제하여 그 활성을 비교하여 보았다.

Table 1에 나타난 바와 같이 동물간의 MDH활성에 차이를 보이고 있으나 쥐와 돼지 두 동물 모두가 심장근의 MDH활성이 골격근인 soleus근과 trapezius근 보다 약 2.8배 더 높은 활성을 보이고 있다. 이같은 결과들로 보아 에너지 대사에서 골격근과 심장근 사이에 대단히 큰 차이점이 있다는 것을 알 수 있으며, 근육의 대사분화가 특정대사계 효소량과 밀접한 관계가 있다는 Lawrie(26)의 결과와 일치하는 것으로 심장근이 골격근에 비해 산화적 대사작용이 대단히 큰 근육임을 나타내고 있다.

Table 1. Comparison of MDH activity of cardiac muscle and skeletal muscle.

Muscle type	Heart	Soleus
Porcine MDH activity(U/ml)	6244	2203
Ratio of enzyme activity	2.83	1
Muscle type	Heart	Trapezius
Rat MDH activity(U/ml)	8419	2912
Ratio of enzyme activity	2.89	1

2. MDH의 함량 비교

Table 1의 결과로 부터 심장근이 골격근에 비하여 단위 중량당 MDH의 활성이 큰 조직으로 나타나 각각의 근육으로부터 MDH를 추출하여 isozyme별로 추출수율 및 활성을 검토하였다. Table 2와 Table 3은 쥐의 심장근과 골격근으로부터 MDH를 추출, 정제하는 과정중의 총단백질 함량, 총활성, 비활성 그리고 수율을 나타낸 것으로서 둘다 정제과정이 진행됨에 따라 대체적으로 비슷한 양상을 보였으며, cMDH의 함량이 심장근과 골격근 양쪽에서 mMDH보다 높은 값을 나타내었다. 즉 심장근과 골격근의 MDH 활성분포는 cMDH가 각각 14.7% 및 14.5%로 mMDH의 4.9% 및 6.6% 보다 높았다. 그런데 cMDH와 mMDH의 비활성은 심장근과 골격근사이에 차이를 보이고 있으므로 이 점에 관하여서는 보다 자세한 분석이 필요한 것으로 생각되었다. 그러나 분리정제과정의 비교에 있어서는 Fig.2, Fig.3, Fig.4 그리고 Fig.5에 나타낸 바와 같이 CM-cellulose column chromatogram과 DEAE-cellulose column chromatogram상에서는 심장근과 골격근의 cMDH와 mMDH가 같은 위치에서 용출되므로 분자형태나 분자의 표면전하량에 있어서는 차이가 없는 것으로 나타났으며, 또한 본 연구 결과의 elution pattern은 Glatthaar(22)이 보고한 elution pattern과 일치하는 것으로 나타났다. 한편, 본 논문에는 나타내지 않았지만 우리의 예비실험 결과에서 돼지의 골격근의 cMDH와 mMDH는 쥐의 그것과는 다른 elution pattern을 나타내었다. 따라서 이같은 결과로 보아 같은 기능을 가진 mMDH가 동물의 종류 그리고 동물의 국제 부위에 따라 차이를 나타낼 수 있는 것으로 해석되었다.

Table 2. Purification of cytoplasmic MDH and mitochondrial MDH from rat cardiac muscle.

Procedure	Isozyme	Volume (ml)	Total protein (mg)	Total activity (units $\times 10^3$)	Specific activity (units/mg)	Recovery (%)
Extraction	MDH	160	1716.0	5.70	3319	100
Acid precipitation	MDH	160	1530.0	5.27	3444	92.5
Ammonium sulfate fractionation	MDH	30	525.0	4.42	8419	77.5
CM-cellulose	mMDH	210	33.6	0.32	9642	5.6
	cMDH	80	113.3	2.03	18246	35.6
DEAE-cellulose	mMDH	110	33.1	0.28	8458	4.9
	cMDH	210	53.0	0.84	15792	14.7

Table 3. Purification of cytoplasmic MDH and mitochondrial MDH from rat trapezius muscle.

Procedure	Isozyme	Volume (ml)	Total protein (mg)	Total activity (units $\times 10^6$)	Specific activity (units/mg)	Recovery yield(%)
Extraction	MDH	650	4745.0	8.97	1890	100.0
Acid precipitation	MDH	700	4013.0	8.60	2143	95.9
Ammonium sulfate fractionation	MDH	63	1449.0	4.22	2912	47.0
CM-cellulose	mMDH	245	24.5	0.72	29346	8.0
	cMDH	150	137.0	1.97	14379	22.0
DEAE-cellulose	mMDH	80	16.0	0.59	36957	6.6
	cMDH	280	90.0	1.30	14444	14.5

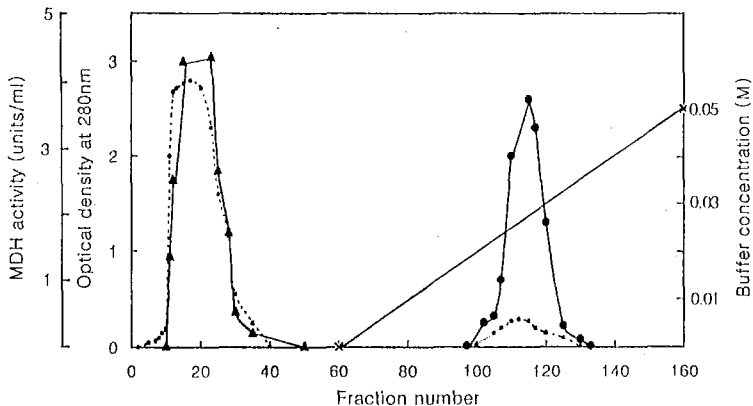


Fig. 2. CM-cellulose column chromatogram of malate dehydrogenase from rat trapezius muscle.

Column size : 4.2 × 25cm, Elution buffer : 0.01M phosphate buffer(pH 7.0)

Linear gradient : 0.01~0.05M phosphate buffer(pH 7.0)

..... : Protein concentration, ▲-▲ : cytoplasmic malate dehydrogenase activity

●-● : mitochondrial malate dehydrogenase activity

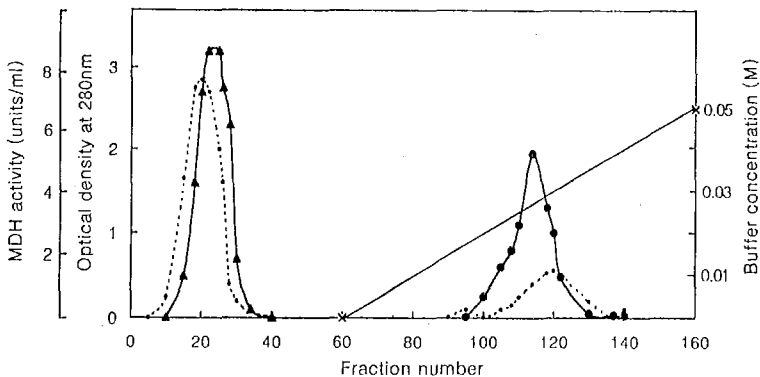


Fig. 3. CM-cellulose column chromatogram of malate dehydrogenase from rat cardiac muscle.

Column size : 4.2 × 25cm, elution buffer : 0.01M phosphate buffer(pH 7.0)

Linear gradient : 0.1~0.05M phosphate buffer(pH 7.0)

..... : Protein concentration, ▲-▲ : cytoplasmic malate dehydrogenase activity

●-● : mitochondrial malate dehydrogenase activity

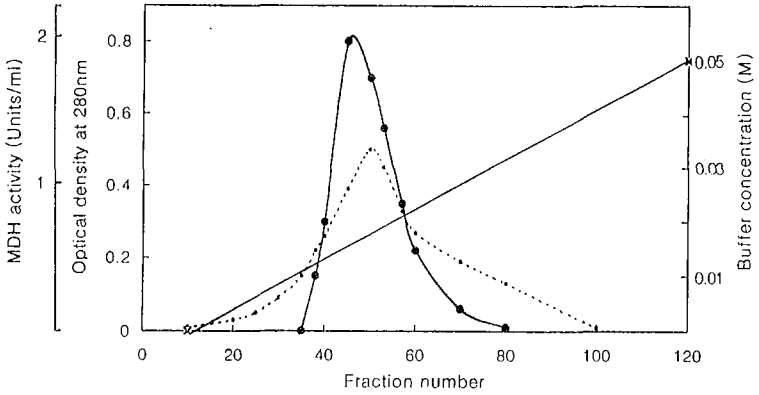


Fig. 4. DEAE-cellulose column chromatogram of malate dehydrogenase from rat trapezius muscle.

Column size : 4.2×20 cm, elution buffer : 0.01M phosphate buffer(pH 7.0)
 Linear gradient : 0.01~0.05M phosphate buffer(pH 7.0)
 : Protein concentration, ●-● : malate dehydrogenase activity

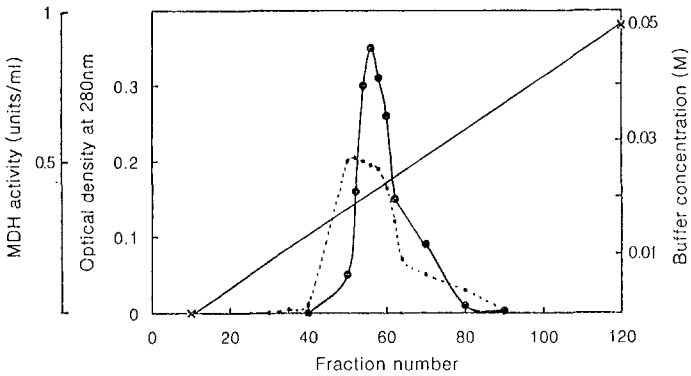


Fig. 5. DEAE-cellulose column chromatogram of malate dehydrogenase from rat cardiac muscle.

Column size : 4.2×20 cm, elution buffer : 0.01M phosphate buffer(pH 7.0)
 Linear gradient : 0.01~0.05M phosphate buffer(pH 7.0)
 : Protein concentration, ●-● : malate dehydrogenase activity

3. MDH의 생화학적 성질의 비교

(1) 최적 pH의 비교

MDH는 urea 등의 변성제가 존재하거나 강한 산성이나 강알칼리 조건에서는 subunit로 해리되어 효소활성을 나타내지 않는 것으로 알려지고 있다(27,28). Fig. 6에 나타낸 바와 같이 porcine MDH는 산성쪽에서 낮은 활성이 증가하고 pH 10부근에서 최대 활성을 보인 다음 강알칼리쪽에서 활성이 급격히 저하되고 있다. 한편 rat MDH는 pH 10.5에서 최대 활성을 보이고 있는데(Fig.7), porcine MDH보다 강알칼리쪽에서 안정성이 큰 것으로 생각된다.

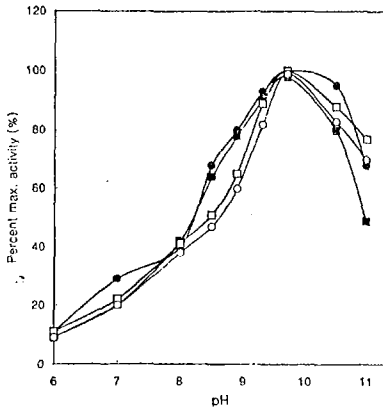


Fig. 6. Effect of pH on the activity of malate dehydrogenase isozyme from porcine soleus and cardiac muscle.

buffer system :
 pH 6.0-7.0 : 0.1M phosphate buffer
 pH 8.0-9.7 : 0.1M diethanolamine-HCl buffer
 pH 10.0-11.0 : 0.1M carbonate-bicarbonate buffer
 ●-● : soleus cytoplasmic malate dehydrogenase
 ■-■ : soleus mitochondrial malate dehydrogenase
 ○-○ : cardiac cytoplasmic malate dehydrogenase
 □-□ : cardiac mitochondrial malate dehydrogenase

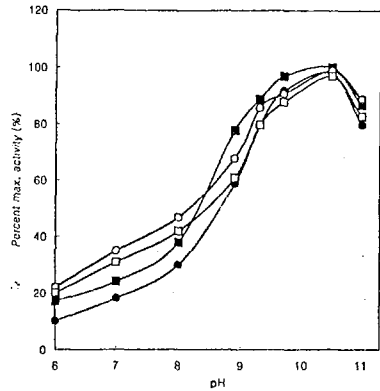


Fig. 7. Effect of pH on the activity of malate dehydrogenase isozyme from rat trapezius and cardiac muscle.

buffer system :
 pH 6.0-7.0 : 0.1M phosphate buffer
 pH 8.0-9.7 : 0.1M diethanolamine-HCl buffer
 pH 10.0-11.0 : 0.1M carbonate-bicarbonate buffer
 ●-● : trapezius cytoplasmic malate dehydrogenase
 ■-■ : trapezius mitochondrial malate dehydrogenase
 ○-○ : cardiac cytoplasmic malate dehydrogenase
 □-□ : cardiac mitochondrial malate dehydrogenase

이 결과가 동물의 종류에 따른 종 특이성과 관련된 것인지는 보다 자세한 분석이 요구된다. 최적 pH는 돼지의 MDH와 쥐의 MDH사이에 차이가 있으나 중성 이하의 pH영역에서 낮은 활성을 나타낸다는 점에서는 공통되고 있다. 이와 같이 pH 9이상에서 높은 활성을 나타내는 것은 MDH, coenzyme 및 substrate의 복합체 형성이 알칼리쪽에서 보다 용이하고 중성 이하의 pH에서는 해리되기 때문이라고 보고되고 있다(29).

(2) 열안정성 비교

Kitto(30)는 MDH isozyme에서 열안정성에 차이가 있으며 mMDH에 비해 cMDH가 열에 안정하다고 하였다. Fig. 8에 나타낸 바와 같이, 심장근의 cMDH는 55°C에서 20분간 열처리를 받아도 약 80%의 활성이 유지되었으나 mMDH는 5분간의 처리로 잔존활성이 20%에 그치고 있다. 그런데 soleus근의 cMDH의 열안정성은 심장근의 mMDH와 유사한 수준의 열안정성을 보이고 있으며, 더욱 mMDH는 1분간의 처리로 잔존활성은 5%에 불과하다. 이 결과는 예상외의 특이한 사실로 앞으로 보다 철저한 검토가 요구된다.

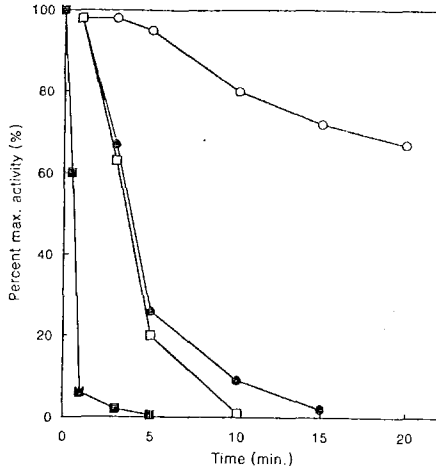


Fig. 8. Heat inactivation of malate dehydrogenase from porcine muscle at 55°C.

- : Cardiac mitochondrial malate dehydrogenase
- : Cardiac cytoplasmic malate dehydrogenase
- : Soleus mitochondrial malate dehydrogenase
- : Soleus cytoplasmic malate dehydrogenase

(3) MDH의 기질친화성 비교

앞의 열안정성 실험의 결과에서 mMDH와 cMDH사이에 현저한 차이를 보일 뿐만 아니라 심장근과 골격근 사이에서도 명료한 차이를 나타내 이러한 차이가 기질친화성에서도 나타나는지를 비교, 검토하여 보았다.

Fig. 9에 나타낸 바와 같이 골격근과 심장근 둘다 기질농도에 따라 거의 유사한 곡선을 나타내었으나 골격근의 mMDH가 심장근의 mMDH에 비해 malate에 의한 저해현상이 약간 큰 것으로 나타났다. 이러한 결과는 Fig. 10의 심장근과 골격근에서 얻어진 각각의 MDH의 반응속도와 기질과의 관계를 나타낸 Lineweaver-Burk plot에서도 나타났는데 mMDH의 Km값은 골격근의 경우 1.75×10^{-3} , 심장근의 경우 1.47×10^{-3} 으로 심장근이 높은 기질친화도를 나타내었다.

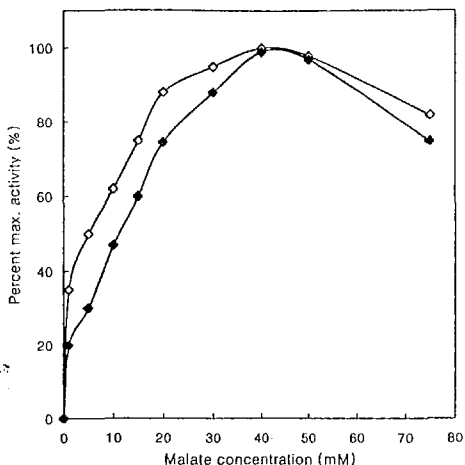


Fig. 9. Effect of malate concentration on the activity of rat cardiac and trapezius muscle in mitochondrial malate dehydrogenase.

Enzyme assay : 1-75mM malate, 2.9mM NAD⁺, 37°C
0.1M diethanolamine-HCl buffer(pH9.2)

◇-◇ : Rat cardiac muscle
◆-◆ : Rat trapezius muscle

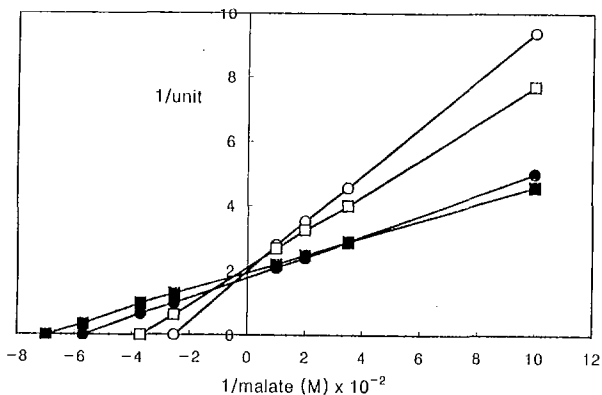


Fig. 10. Lineweaver-Burk plot of malate dehydrogenase from rat and porcine muscle.

Enzyme assay : 2.9mM NAD⁺, 2.9mM NADH, 25mM malate,
25mM oxaloacetate, 0.1M diethanolamine-HCl buffer(pH 9.2)

●-● : Rat trapezius mitochondrial malate dehydrogenase
■-■ : Rat cardiac mitochondrial malate dehydrogenase
○-○ : cytoplasmic malate dehydrogenase
□-□ : mitochondrial malate dehydrogenase

한편 돼지의 골격근의 mMDH와 cMDH의 기질친화성에 있어서는 mMDH의 K_m 값이 2.7×10^{-3} 인 반면 cMDH의 K_m 값은 4.0×10^{-3} 으로 mMDH의 기질친화성이 높은 것으로 나타났다. 이와 같은 현상은 mMDH는 mitochondria내에서 oxaloacetate의 환원을 억제하는 반면 cMDH는 cytoplasm내에서 malate의 산화를 억제하는 세포내에서의 MDH의 기능의 차이를 반영한 것으로 해석되었다.

IV. 결 론

본 연구는 심장근과 골격근의 red muscle에 대하여 TCA cycle의 key enzyme의 하나인 MDH를 분리하여 그 생화학적 성질을 비교한 것인데 심장근의 MDH 활성은 골격근의 것보다 2.8배 높고 분포는 심장근이 근육근보다 더 높은 것으로 나타났다. 열안정성에 있어서는 심장근의 MDH의 경우가 골격근보다 높았으며 기질친화도는 심장근이 골격근보다 높게 나타났다.

감사의 글

본 논문은 1999년도 교내연구비에 의해 이루어진 것으로서 연구비를 지원하여 준 학교 당국에 감사드립니다.

참고문헌

1. Davies,D.D. and Kun,E. : Isolation and properties of malic dehydrogenase from ox-heart mitochondria., *Biochem. J.*, 66, 307-316(1957)
2. Wolfe,R.G. and Neilands,J.B. : Some molecular and kinetic properties of heart malic dehydrogenase., *J. Biol. Chem.*, 221, 61-69(1956)
3. Vilee,C.A. : Multiple molecular forms of L-malate dehydrogenase in sea-urchin eggs and embryos., *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 151, 222-231(1968)
4. Rudolf,R., Fuchs,I. and Jaenicke,R. : Reassociation of dimeric cytoplasmic malate dehydrogenase is determined by slow and very slow folding reaction., *Biochemistry*, 25, 1662-1669(1986)
5. Mann,K.G.and Vestling,C.S. : Isozyme of rat liver mitochondrial malate dehydrogenase.(Evidence for the existence of nonidentical subunits.), *Biocemistry*, 9, 3020-3025(1970)
6. Shore,J.D. and Chakrabarti,S.K. : Subunit dissociation of mitochondrial malate dehydrogenase., *Biocemistry*, 15, 875-879(1976)
7. Musrati,R.A., Kollarova,M., Mernik,N. and Mikulasova,D. : Malate dehydrogenase: Distribution, function and properties., *General Physiology and Biophysic*, 17(3), 193-210(1998)
8. Edward,Y.M. and Hopkinson,D.A. : In *Isozymes, "Current topic in biological and medical research"* , Liss, New York, Vol. 1, 19-78(1977)
9. Abdelmordy,M.B. : Organ distribution of lactate and malate dehydrogenase isozymes in two species of the genus *Gerbillus*., *Biologia*, 54(3), 325-332(1999)
10. Kulokawa,T. and Nakano,H. : Changes in isozymes of soluble and mitochondrial malate dehydrogenase of carp(*Cyprinus-carpio* L) during thermal acclimation., *Comperative Biochem. and Phy.B-Biochem. & Mol. Biol.* 99(4), 911-915(1991)
11. Roderick,S.L. and Banaszak,L.J. : The three-dementional structure of porcine heart mitochondrial malate dehydrogenase at 3.0-Å resolution., *J. Biol. Chem.*, 261, 9461-9464(1985)
12. Roderick,S.L. and Banaszak,L.J. : The conformation of mitochondrial malate dehydrogenase derived from an electron density map at 5.3-Å resolution., *J. Biol. Chem.*, 259, 11636-11642(1983)
13. Gandhi,B.S. and Kanungo,M.S. : Modulation of malate dehydrogenase of young and old rats by various effectors., *Exep. Geront.*, 9, 199-207(1974)
14. Moss, D. W. : *Isozymes*, Chapman and Hall, 113(1982)
15. Barton,P.J.R. and Buckingham,M.E. : The myosin alkali light chain proteins and their genes., *Biochem. J.*, 231, 249-261(1985)
16. Hartshorne,D.J. : *Phosphorylation of myosin and the regulation of smooth-muscle actomyosin. In cell and muscle motility II*, New York,Plenum, 188-220(1982)

17. Peter, J.B., Barnard, R.J., Edgerton, V.R., Gillespie, C.A. and Stempel, K.E. : Metabolic profiles of three fiber types of skeletal muscle in guinea pigs and rabbits., *Biochemistry*, 11, 2627-2633(1972)
18. Shin, W.C., Oh, D.W., Jhin, H.S., Kim, K.T. and Yang, R. : Comparison of Myosin ATPase Activities from Red Muscle and White Muscle., *Korean J. Food Sci. Technol.*, 18(3), 181-186(1986)
19. Yang, R., Shin, W.C., Oh, D.W., Jhin, H.S. and Kim, K.T. : Thermostability of Myofibrillar Proteins from Red Muscle and White Muscle., *Korean J. Food Sci. Technol.*, 18(3), 226-233 (1986)
20. Yang, R., Park, H.J., Kim, Y.H., Jhin, H.S. and Shin, W.C. : Comparative Biochemical Study on the Myofibrillar Proteins from Porcine Muscle. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 18(6) 443-449 (1986)
21. Smith, A.F. : "Malate dehydrogenase" in "Method of Enzymatic Analysis" , Vol. 3, 166(1983)
22. Glatthaar, B.E., Barbarash, G.R., Noyes, B.E., Banaszak, L.J. and Bradshaw, R.A. : The preparation of the cytoplasmic and mitochondrial forms of malate dehydrogenase from pig heart by a single procedure., *Annal. Biochem.*, 57, 432-451(1974)
23. Gerding, R.K. and Wolfe, R.G. : Malic dehydrogenase., *J. Biol. Chem.*, 244, 1164-1171(1968)
24. Lowey, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J. : Protein measurement with the folin phenol reagent., *J. Biol. Chem.*, 193, 265-275(1951)
25. Warberg, O. and Christian, W. : Isolierung und Kristallisation des garungsferments enolase., *Biochem. Z.* 310, 384-423(1942)
26. Lawrie, R.A. : The activity of cytochrome system in muscle and its relation to myoglobin., *Biochem. J.*, 55, 298-305(1953)
27. Jaenicke, R., Rudolph, R. and Heider, I. : Quaternary structure, subunit activity and in vitro association of porcine mitochondrial malic dehydrogenase., *Biochem.*, 18, 1217-1223(1979)
28. Wood, D.C., Jurgensen, S.R., Geesin, J.C. and Harrison, J.H. : Subunit interactions in mitochondrial malate dehydrogenase., *J. Biol. Chem.*, 256, 2377-2382(1981)
29. Bernstein, L.H. and Everse, J. : Studies on the mechanism of the malate dehydrogenase reaction., *J. Biol. Chem.*, 253, 8702-8707(1978)
30. Kitto, G.B. : Purification and properties of ostrich heart malate dehydrogenases., *B. B. A.*, 139, 16-23(1967)