

虾夷扇贝横纹肌和平滑肌的蛋白分布及理化性质

宋扬, 张晴, 周晏琳, 刘慧慧,
郑尧, 田元勇*, 刘俊荣

(大连海洋大学食品科学与工程学院, 辽宁大连 116023)

摘要: 为探讨虾夷扇贝闭壳肌中横纹肌(ST)和平滑肌(SM)蛋白分布特征及理化性质差异。对肌肉组织进行切片、苏木精—伊红染色后,在光学显微镜下观察肌肉组织形态,SDS-PAGE分析蛋白组成,通过盐溶性和Ca²⁺-ATPase对理化性质进行了比较研究。研究表明,横纹闭壳肌的肌纤维更粗,肌细胞间更致密;Myorod蛋白仅存在于平滑闭壳肌中,在横纹闭壳肌中不存在;副肌球蛋白在平滑闭壳肌中含量为31%,横纹肌中仅为11%。2种肌肉盐溶曲线也完全不同,在0.05~1.0 mol/L盐浓度范围内平滑肌的溶解性呈S型曲线上升,而横纹肌呈直线型上升,这种差异可能与副肌球蛋白含量有关。此外,平滑肌和横纹肌肌原纤维蛋白Ca²⁺-ATPase最适温度分别为35和30 °C,活化能分别为23.4和11.3 kJ/mol。

关键词: 虾夷扇贝; 横纹肌; 平滑肌; 蛋白分布; 溶解性

中图分类号: S 917.4

文献标志码: A

据2016年中国渔业年鉴统计,我国2015年海水养殖量为1875.63万t,贝类养殖量为1358.38万t,其中扇贝养殖量占贝类养殖总量的13.14%,辽宁地区占全国扇贝产量的23.25%^[1]。虾夷扇贝(*Patinopecten yessoensis*)个体大、肉质鲜美,是我国重要的经济贝类。目前围绕着其活品的品质变化^[2]、风味变化^[3-5]、闭壳肌的加工及贮藏性^[6-7]、蛋白质的结构性质^[8-11]等方面已进行了大量的研究。其中,杨婷婷等^[3]通过模拟虾夷扇贝供应链对其捕后的风味品质及品质变化与生理代谢关联性进行了系统研究,捕捞过程中的胁迫因素会导致扇贝活力下降,品质降低。Fukuda等^[6]对虾夷扇贝闭壳肌中肌球蛋白、副肌球蛋白进行了分离纯化,并对凝胶机理进行了研究。Nozawa等^[12]对虾夷扇贝横纹肌(striated muscle, ST)中转谷氨酰胺酶分离纯化,并研究盐诱导转谷氨酰胺酶构象的变化。Sohma等^[13]针对平滑肌(smooth muscle, SM)肌球蛋白轻链磷酸化机制进行研究。

在日本,虾夷扇贝主要用于制作刺身,以去壳后闭壳肌的形式进行销售,日本科学家围绕着闭壳肌的贮藏温度^[14-16]、清洗方法^[17]等前处理对贮藏特性的影响进行了大量的研究。我国刺身级虾夷扇贝的销售较少,相关基础理论研究也比较薄弱。由于生鲜闭壳肌的质地特性与肌肉蛋白特性有紧密的内在关联,本研究从食品原料学角度出发,对虾夷扇贝闭壳肌的肌肉类型、蛋白分布特性及理化特性开展初步研究,为下一步肌球蛋白、副肌球蛋白的功能特性研究、各种蛋白和闭壳肌质地内在关联等深入研究提供依据。完善我国优势养殖贝类食品原料学基础理论研究。

1 材料与amp;方法

1.1 原料处理

活品虾夷扇贝,体质量为(89.2±8.5)g,壳长(90.6±3.1)mm,5月中旬购于大连新长兴水产品

收稿日期: 2017-01-08 修回日期: 2017-05-26

资助项目: 国家自然科学基金(31671790, 31271980); 辽宁省教育厅科学研究一般项目(L2015082)

通信作者: 田元勇, E-mail: tianyuanrong@foxmail.com

市场, 活体运输到实验室备用。

1.2 实验试剂及仪器

SDS-聚丙烯酰胺电泳试剂、 β -巯基乙醇, 美国Sigma公司; 尿素、苏木精—伊红染色液、二甲苯、石蜡、乙醇、Tris、氯化钾、氢氧化钠、高氯酸等, 国药集团化学试剂有限公司, 其他试剂均为分析纯。

HG-200高速分散均质机, 日本HSIANGTAI; Leica DMI3000B倒置荧光显微镜, 德国徕卡有限公司; GL-21M高速冷冻离心机, 德国HERMLE公司; AE-6500平板电泳槽, 日本ATTO株式会社; Synergy H1酶标仪, 美国伯腾仪器有限公司; Lambda 25紫外可见分光光度计, 珀金埃尔默仪器有限公司。

1.3 肌肉组织形态观察

参照Mizuta等^[18]的方法并适当修改。分别取扇贝闭壳肌的横纹肌及平滑肌, 沿着肌纤维伸缩方向进行纵切, 垂直肌纤维伸缩方向进行横切(图1)。切取1.5 cm×1 cm×1 cm的长方体样品, 经10%福尔马林固定24 h后, 切取0.5 cm厚度薄片, 在30%、50%、70%、80%、90%各级乙醇溶液中脱水各40 min, 95%、100%乙醇中脱水各2次, 每次20 min, 经无水乙醇和二甲苯混合液15 min, 二甲苯30 min (2次)达到透明目的。用常规石蜡包埋, 制成切片后经二甲苯脱蜡10 min, 再用无水乙醇洗去二甲苯, 放入95%、90%、85%乙醇各1 min, 蒸馏水洗2 min, 达到复水目的。最后苏木精染色5 min、伊红染色3 min, 经85%(20 s)、90%(30 s)、95%(1 min, 2次)、100%酒

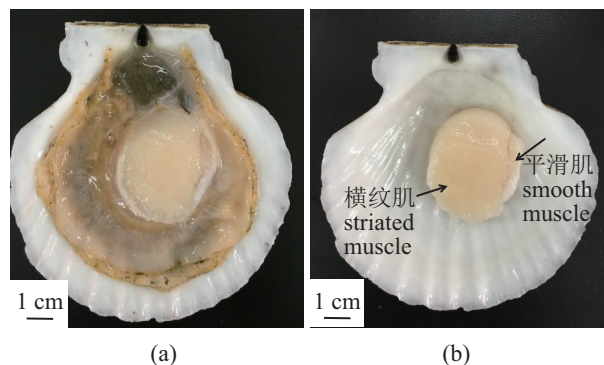


图1 虾夷扇贝解剖图

(a) 软体部分; (b) 肌肉部分

Fig. 1 Anatomy of *P. yessoensis* scallop

(a) soft body; (b) striated and smooth muscle

精(2 min, 2次)脱水, 二甲苯(2 min)透明, 中性树脂封片, 在光学显微镜下观察组织形态。

1.4 横纹肌和平滑肌的蛋白组成

称取平滑和横纹闭壳肌肌肉各5 g, 加入4倍体积的0.05 mol/L NaCl和20 mmol/L Tris-HCl (pH 7.0)缓冲溶液, 在10 000 r/min条件下均质3次, 每次30 s, 间隔30 s, 所有操作在0 °C完成。用双缩脲法测定蛋白浓度后, 将均质后样品浓度调为10 mg/mL, 分别取2种肌肉匀浆液400 μ L加入600 μ L电泳上样液[含有2% SDS、8 mol/L尿素、2% β -巯基乙醇、50 mmol/L Tris-HCl (pH 8.0)], 混匀后于100 °C加热5 min制得电泳样品。采用垂直板聚丙烯酰胺凝胶电泳分析, 浓缩胶质量分数5%, 分离胶质量分数7.5%, 考马斯R-250染色, 醋酸甲醇溶液进行脱色。使用Multi-mate Gauge软件对电泳图谱进行定量分析。

1.5 两种类型肌肉盐溶性的差异

按照“横纹肌和平滑肌的蛋白组成”中的方法制备匀浆液, 将盐浓度分别调节至0.05、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、1.0 mol/L, 蛋白浓度至5 mg/mL, 在冰水中放置10 min后离心(12 000×g, 4 °C, 15 min), 用双缩脲法测定上清液的蛋白浓度。实验取不同批次原料, 重复3次, 每个样品3个平行样, 取蛋白浓度平均值作为上清液的终蛋白浓度。溶解度计算公式:

$$\text{溶解度}(\%) = \frac{A_1}{A_2} \times 100$$

式中: A_1 为离心后上清液蛋白浓度; A_2 为离心前匀浆液的蛋白浓度。

1.6 肌原纤维蛋白的制备及 Ca^{2+} -ATPase活性测定

肌原纤维蛋白(myofibrillar, Mf)提取参照Hashimoto等^[19]的方法, 并适当修改。分别取平滑肌及横纹肌, 加入10倍体积0.1 mol/L KCl-20 mmol/L Tris-HCl (pH 7.5)缓冲溶液, 10 000 r/min均质3次, 每次30 s, 然后5000×g条件下离心10 min, 取沉淀, 按以上方法重复洗脱3次。所得沉淀悬浊于0.1 mol/L KCl-20 mmol/L Tris-HCl (pH 7.5)缓冲溶液中, 双层纱布过滤后所得滤液作为Mf。Mf的 Ca^{2+} -ATPase活性测定参考Wakameda等^[20]的方法进行。9 mL反应液[2 mmol/L ATP、5 mmol/L CaCl_2 、25 mmol/L Tris-马来酸(pH 7.0)、

0.5 mol/L KCl]中加入1 mL Mf溶液(平滑肌0.4 mg/mL、横纹肌0.025 mg/mL), 在20、25、30、35、40、45、50 °C下分别反应0、2、5、10、15、20 min, 反应结束时, 取1 mL上述反应溶液加入0.5 mL 15%高氯酸溶液终止反应。采用钼酸铵法^[21]测定反应中释放的无机磷(Pi)的量, 取反应后的上清液0.5 mL, 加入1.75 mL钼酸铵溶液及0.25 mL米吐尔, 反应45 min后于640 nm下测定吸光度值。Ca²⁺-ATPase比活性定义为1 mg Mf在1 min内分解ATP产生的无机磷酸的量, 单位为 $\mu\text{mol Pi/min/mg}$ 。

2 结果

2.1 横纹肌与平滑肌组织形态比较

在光学显微镜下对扇贝平滑闭壳肌及横纹闭壳肌组织切片进行观察, 肌原纤维呈亮红色, 细胞核呈蓝色。50倍镜下观察, 对比横切面, 横纹肌肌纤维间更加致密, 且纤维束直径更大(图版)。200倍镜下观察, 对比纵切面发现, 2种肌肉的纤维丝走向存在显著差异, 平滑肌纤维丝呈波浪状, 横纹肌纤维丝呈直线柱状, 且横纹肌纤维丝直径更大。

2.2 蛋白组成分析

肌肉蛋白主要由肌浆蛋白、肌原纤维蛋白及肌纤维鞘等基质蛋白组成, 其中肌原纤维蛋白含量比例最大。将2种类型肌肉蛋白组成进行对比, 结果显示副肌球蛋白(paramyosin, PM)含量存在显著差异, 平滑肌中PM含量更多(图2)。此外, 特有蛋白Myorod (MR)只存在于平滑肌中。2种类型肌肉中肌球蛋白轻链的分子量也略有差异。肌球蛋白重链在横纹肌中含量为30.5%, 远大于平滑肌的17.6%。副肌球蛋白在横纹肌中含量为11.53%, 在平滑肌中为31.15%。肌球蛋白和副肌球蛋白的总量在2种肌肉中均占50%左右。横纹肌中PM与肌球蛋白重链(myosin heavy chain, MHC)含量比率为0.38, 平滑肌中PM与

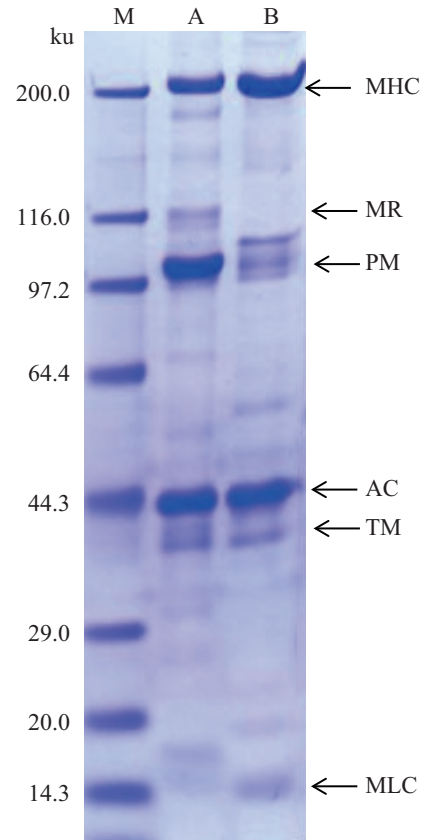


图2 平滑闭壳肌与横纹闭壳肌的电泳图谱

M. 标准蛋白, A. 平滑肌, B. 横纹肌; MHC. 肌球蛋白重链; MR. Myorod; PM. 副肌球蛋白; AC. 肌动蛋白; TM. 原肌球蛋白; MLC. 肌球蛋白轻链, 下同

Fig. 2 SDS-PAGE patterns of smooth and striated muscle

M. Marker; A. smooth muscle; B. striated muscle; MHC. myosin heavy chain; MR. Myorod; PM. paramyosin; AC. actin; TM. tropomyosin; MLC. myosin light chain, the same below

MHC含量比率为1.77(表1)。此外, 原肌球蛋白含量差别不大, 横纹肌中为9.91%, 平滑肌中为8.83%。MR作为平滑肌中特有蛋白, 含量为5.04%, 相对比例最小。

2.3 两种类型肌肉盐溶性

在0.05~0.2 mol/L的低离子强度下, 平滑肌与横纹肌盐溶性几乎相同。当盐离子强度大于

表1 平滑肌与横纹肌中主要蛋白的含量比较

Tab. 1 Comparison of main protein contents between smooth and striated muscle							%
肌肉 muscle	肌球蛋白重链 MHC	副肌球蛋白 PM	肌动蛋白 AC	原肌球蛋白 TM	肌球蛋白轻链 MLC	Myorod蛋白 MR	
平滑闭壳肌 smooth muscle	17.6±0.67	31.15±0.15	27.01±0.16	8.83±0.54	10.35±0.25	5.04±0.42	
横纹闭壳肌 striated muscle	30.5±0.49	11.53±0.29	39.51±0.18	9.91±0.28	8.53±0.37	0	

0.2 mol/L时,二者溶解性有很大差异,平滑肌盐溶性呈S型曲线上升,盐离子强度在0.5 mol/L时接近最大溶出点,溶解度在90%左右。盐离子强度大于0.5 mol/L时,溶解度不再随离子强度改变而改变。而横纹肌的盐溶性几乎直线上升,在盐离子强度1.0 mol/L时,溶解度达80%左右,仍未达到最大溶出点(图3)。

盐浓度在0.2 mol/L以下时,平滑肌的溶出蛋白中未观察到MHC,而在横纹肌的溶出蛋白中却能观察到MHC(图4)。在0.3 mol/L的条件下,

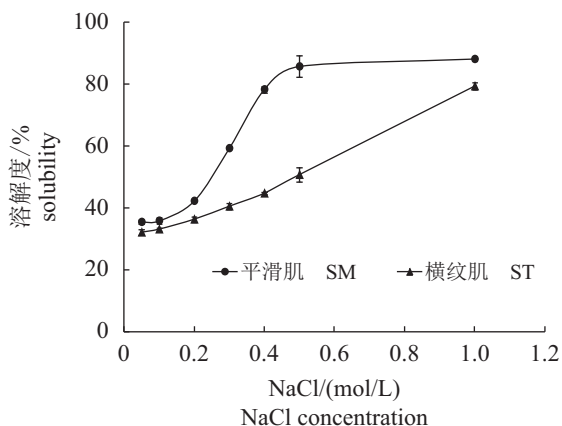


图3 NaCl浓度对平滑肌与横纹肌溶解性的影响

Fig. 3 Effect of NaCl concentration on the solubility of smooth and striated muscle

平滑肌的MHC、PM、MR含量显著增加,与图3中所显示S曲线的变化一致。其中PM和MR在0.3 mol/L时,几乎完全溶出,MHC的溶出在0.4 mol/L时达到最大,原肌球蛋白的溶出和MHC几乎一致(图4)。

2.4 Ca^{2+} -ATPase活性

肌球蛋白头部具有 Ca^{2+} -ATPase活性,横纹肌Mf最适温度在30 °C左右,当温度达35 °C时,蛋白已发生变性。平滑肌Mf的 Ca^{2+} -ATPase活性的最适温度为35 °C左右,当温度上升到40 °C时,蛋白发生变性(图5)。但横纹肌Mf的 Ca^{2+} -ATPase明显高于平滑肌Mf。反应10 min时,在各自最适温度条件下比较,横纹肌Mf活性大约是平滑肌Mf的10倍,说明横纹肌肌肉伸缩过程中ATP消耗量远大于平滑肌。

两种Mf的 Ca^{2+} -ATPase阿伦尼乌斯曲线如图6所示,两曲线均向下弯曲,横纹肌在30 °C出现拐点,平滑肌在35 °C出现拐点。横纹闭壳肌与平滑闭壳肌 Ca^{2+} -ATPase活化能分别为11.3和23.4 kJ/mol。

3 讨论

虾夷扇贝闭壳肌的肌肉类型包括平滑肌和横纹肌,2种肌肉的差异宏观上表现为肌纤维形状、直径大小均不相同,微观上在蛋白质组成

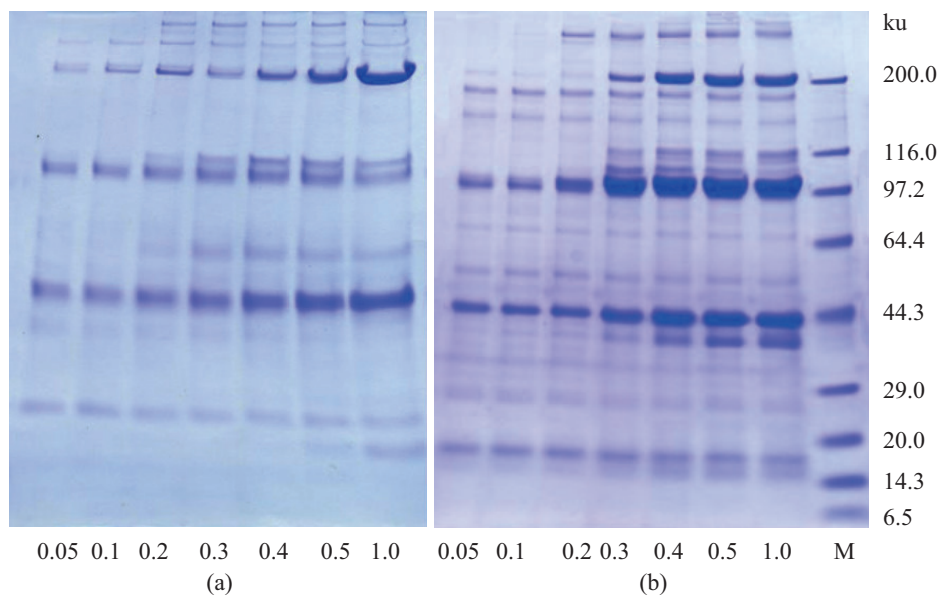


图4 不同NaCl浓度溶出蛋白的电泳图谱

(a) 横纹肌ST; (b) 平滑肌SM; M. 标准蛋白

Fig. 4 SDS-PAGE of dissolution of protein under different NaCl concentration

(a) striated muscle; (b) smooth muscle; M. Marker

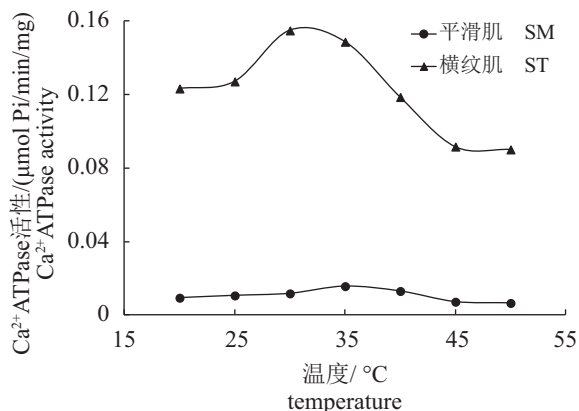


图5 温度对两种闭壳肌ATP酶活性的影响

Fig. 5 Effects of temperature on ATPase activity of two kinds of muscles

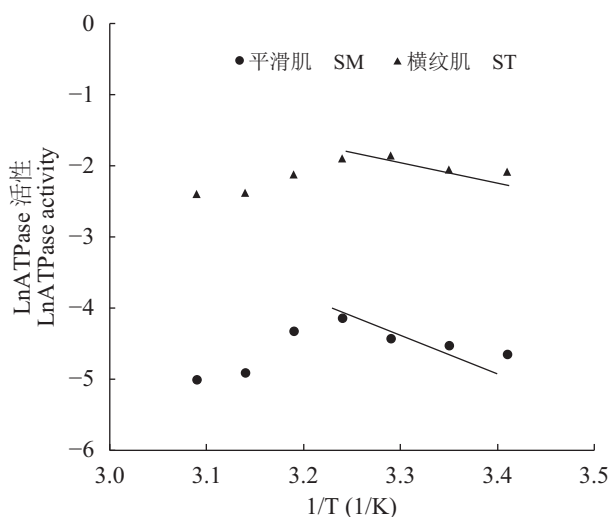


图6 两种闭壳肌的Ca²⁺-ATP酶活性阿伦尼乌斯曲线

Fig. 6 Arrhenius Curves of Ca²⁺-ATPase in two kinds of adductor

方面,肌球蛋白、副肌球蛋白、肌动蛋白等的比例存在显著差异。且MR蛋白只存在于平滑肌中,Shelud'ko等^[22]也报道了双壳贝类中MR只存在于平滑肌中,横纹肌和斜纹肌中则没有。MR分子量为110~130 ku,该蛋白可作为区分平滑肌的标志蛋白。此外,平滑肌中副肌球蛋白含量更高。Levine等^[23]报道了扇贝横纹闭壳肌中PM与MHC含量比率为0.065,肌球蛋白含量居多,而硬壳蛤(*Mercenaria mercenaria*)平滑闭壳肌中PM与MHC含量比率为5.5,副肌球蛋白居多,与本研究结果一致。

副肌球蛋白对肌肉的溶解性、凝胶性等功能特性产生重大影响。副肌球蛋白在两种肌肉

中含量的差异,导致了2种肌肉盐溶性不同。Yeung等^[24]对硬壳蛤副肌球蛋白盐溶性研究发现,其在离子强度0.2~0.5 mol/L时溶解度急剧升高,与本实验中平滑肌盐溶性曲线趋势一致。此外,扇贝横纹肌与鱼类横纹肌的溶解性存在显著差异,王瑛^[25]报道了尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)肌球蛋白溶解性在0.2~0.5 mol/L时溶解度升高,大于0.5 mol/L溶解度开始降低。Lin等^[26]也报道了大鳞大麻哈鱼(*Oncorhynchus tshawytscha*)肌球蛋白溶解性在盐离子强度0.1~0.5 mol/L时随盐浓度增加而增加,在0.2 mol/L时显著增大,大于1 mol/L时溶解性降低。溶解性差异可能对肌肉蛋白的凝胶性、持水性、乳化性、起泡性产生重大影响。Fukuda等^[6]研究了虾夷扇贝副肌球蛋白与肌动球蛋白凝胶形成过程中流变学特性,当温度大于30 °C,副肌球蛋白储能模量(G')显著升高,温度至80 °C时,副肌球蛋白G'值远高于肌动球蛋白,副肌球蛋白形成的凝胶弹性更强。

进一步对2种肌肉Ca²⁺-ATPase进行比较,横纹肌Ca²⁺-ATPase活性是平滑肌的10倍左右,而平滑肌的最适温度比横纹肌高5 °C。Satoh等^[27]对虾夷扇贝肌球蛋白热变性的研究发现,在0.1 mol/L盐离子条件下,加热过程中肌球蛋白溶解性降低速率是Ca²⁺-ATPase降低速率19倍,因此在肌球蛋白头部Ca²⁺-ATPase失活前,肌球蛋白已大部分失去溶解性,肌球蛋白头部的稳定性高于尾部。此外,在Ca²⁺不存在时,扇贝变性模式与Abe等^[28]报道的太平洋褶柔鱼(*Todarodes pacificus*)外套膜肌球蛋白变性模式相似。吴忠等^[11]通过对虾夷扇贝肌原纤维蛋白Ca²⁺-ATPase失活速率进行分析,扇贝肌原纤维蛋白稳定性高于冷水性的黄线狭鳕(*Theragra chalcogramma*)、南极磷虾(*Euphausia superba*),低于太平洋褶柔鱼。

综上所述,虾夷扇贝2种闭壳肌的组织形态、蛋白质组成、溶解性、Ca²⁺-ATPase活性均存在显著差异。副肌球蛋白在平滑肌中含量更高,MR蛋白可作为区分2种肌肉的标志蛋白。2种肌肉的组织形态、理化性质的差异与副肌球蛋白的比例存在相关性。肌球蛋白及副肌球蛋白的性质对闭壳肌的质地特性及其贮藏特性的影响还有待于深入研究。

参考文献:

[1] 农业部渔业局. 2016年中国渔业统计年鉴[M]. 北京:

- 中国农业出版社, 2016.
- The Ministry of Agriculture Fisheries Bureau. 2016 China Fishery Statistical Yearbook[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2016 (in Chinese).
- [2] Jiang W W, Li J Q, Gao Y P, *et al.* Effects of temperature change on physiological and biochemical responses of Yesso scallop, *Patinopecten yessoensis*[J]. *Aquaculture*, 2016, 451: 463-472.
- [3] 杨婷婷, 刘俊荣, 俞微微, 等. 活品流通过程中虾夷扇贝风味品质的变化[J]. *水产学报*, 2015, 39(1): 136-146.
- Yang T T, Liu J R, Yu W W, *et al.* Flavor attributes of scallop *Patinopecten yessoensis* along the live supply chain[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2015, 39(1): 136-146(in Chinese).
- [4] 杨婷婷, 刘俊荣, 沈建, 等. 活品底播虾夷扇贝 (*Patinopecten yessoensis*) 感官评价描述词的建立[J]. *食品科学*, 2014, 35(19): 16-22.
- Yang T T, Liu J R, Shen J, *et al.* Development of sensory descriptors for live bottom cultured scallop *Patinopecten yessoensis*[J]. *Food Science*, 2014, 35(19): 16-22(in Chinese).
- [5] 傅润泽, 沈建, 王锡昌. 底播虾夷扇贝活品流通前后挥发性成分的对比分析[J]. *食品科学*, 2015, 36(2): 110-113.
- Fu R Z, Shen J, Wang X C. Volatile compounds in sowing enhanced yesso scallop before and after transport[J]. *Food Science*, 2015, 36(2): 110-113 (in Chinese).
- [6] Fukuda N, Fujiura M, Kimura M, *et al.* Thermally induced gelation of paramyosin from scallop adductor muscle[J]. *Fisheries Science*, 2006, 72(6): 1261-1268.
- [7] 王小利, 朱蓓薇, 董秀萍, 等. 虾夷扇贝贝糜冻藏过程中部分理化性质的变化[J]. *食品科学*, 2012(4): 267-270.
- Wang X L, Zhu B W, Dong X P, *et al.* Partial biochemical properties of scallop (*Patinopecten yessoensis*) mince during frozen storage[J]. *Food Science*, 2012(4): 267-270(in Chinese).
- [8] Miyanishi T, Maita T, Morita F, *et al.* Amino acid sequences of the two kinds of regulatory light chains of adductor smooth muscle myosin from *Patinopecten yessoensis*[J]. *Journal of Biochemistry*, 1985, 97(2): 541-551.
- [9] Dong X P, Ma L L, Zheng J, *et al.* Effect of pH on the physicochemical and heat-induced gel properties of scallop *Patinopecten yessoensis*, actomyosin[J]. *Fisheries Science*, 2014, 80(5): 1073-1082.
- [10] Funabara D, Watabe S, Kanoh S. Phosphorylation properties of twitchin from yesso scallop catch and striated muscles[J]. *Fisheries Science*, 2015, 81(3): 541-550.
- [11] 吴忠, 刘俊荣, 田元勇. 虾夷扇贝闭壳肌和外套膜肌原纤维蛋白的特性分析[J]. *水产学报*, 2015, 39(11): 1640-1649.
- Wu Z, Liu J R, Tian Y Y. Characteristics of the adductor and mantle myofibrils from *Patinopecten yessoensis*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2015, 39(11): 1640-1649(in Chinese).
- [12] Nozawa H, Seki N. Purification of transglutaminase from scallop striated adductor muscle and NaCl-induced inactivation[J]. *Fisheries Science*, 2001, 67(3): 493-499.
- [13] Sohma H, Yazawa M, Morita F. Phosphorylation of regulatory light chain a (RLC-a) in smooth muscle myosin of scallop, *Patinopecten yessoensis*[J]. *Journal of Biochemistry*, 1985, 98(2): 569-572.
- [14] Kawashima K, Yamanaka H. Effects of storage temperatures on the post-mortem biochemical changes in scallop adductor muscle[J]. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 1992, 58(11): 2175-2180.
- [15] Jiménez-Ruiz E I, Ocaño-Higuera V M, Maeda-Martínez A N, *et al.* Effect of seasonality and storage temperature on rigor mortis in the adductor muscle of lion's paw scallop *Nodipecten subnodosus*[J]. *Aquaculture*, 2013, 388-391: 35-41.
- [16] Kimura M, Narita M, Imamura T, *et al.* High quality control of scallop adductor muscle by different modified atmosphere packaging[J]. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 2000, 66(3): 475-480.
- [17] Kimura M, Narita M, Nomada H, *et al.* Effects of washing methods on the rigor of scallop adductor muscle[J]. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 1999, 65(1): 103-107.
- [18] Mizuta S, Miyagi T, Nishimiya T, *et al.* Partial characterization of collagen in several bivalve molluscs[J]. *Food Chemistry*, 2004, 87(1): 83-88.
- [19] Hashimoto K, Watabe S, Kono M, *et al.* Muscle protein composition of sardine and mackerel[J]. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 1979, 45(11): 1435-1441.

- [20] Wakameda A, Nozawa S, Arai K I. Effect of neutral salts on thermal denaturation of myofibrillar Ca-ATPase of fish[J]. *Nsugaf*, 1983, 49: 237-243.
- [21] Kato S, Konno K. Isolation of carp myosin rod and its structural stability[J]. *Nihon Suisan Gakkaishi*, 1993, 59(3): 539-544.
- [22] Shelud'ko N S, Tuturova K F, Permyakova T V, *et al.* A novel thick filament protein in smooth muscles of bivalve molluscs[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 1999, 122(3): 277-285.
- [23] Levine R J, Elfvin M, Dewey M M, *et al.* Paramyosin in invertebrate muscles. II. Content in relation to structure and function[J]. *Journal of Cell Biology*, 1976, 71(1): 273-279.
- [24] Yeung A T, Cowgill R W. Structural difference between α -paramyosin and β -paramyosin of *Mercenaria mercenaria*[J]. *Biochemistry*, 1976, 15(21): 4654-4659.
- [25] 王瑛. pH值调节诱导罗非鱼肌球蛋白结构和性质的变化[D]. 湛江: 广东海洋大学, 2013.
- Wang Y. pH-shifting induced changes in the structure and properties of myosin from tilapia[D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University, 2013(in Chinese).
- [26] Lin T M, Park J W. Solubility of salmon myosin as affected by conformational changes at various ionic strengths and pH[J]. *Journal of Food Science*, 1998, 63(2): 215-218.
- [27] Satoh A, Kinoshita Y, Konno K. Myosin denaturation in heated myofibrils of scallop adductor muscle[J]. *Fisheries Science*, 2013, 79(1): 149-155.
- [28] Abe K, Kinoshita Y, Konno K. Effect of calcium ion on the thermal denaturation of subfragment-1 and rod regions of squid myosin upon the heating of myofibrils[J]. *Fisheries Science*, 2012, 78(1): 163-168.

Protein distribution and physicochemical properties in striated muscle and smooth muscle of *Patinopecten yessoensis*

SONG Yang, ZHANG Qing, ZHOU Yanlin, LIU Huihui,
ZHENG Yao, TIAN Yuanyong*, LIU Junrong

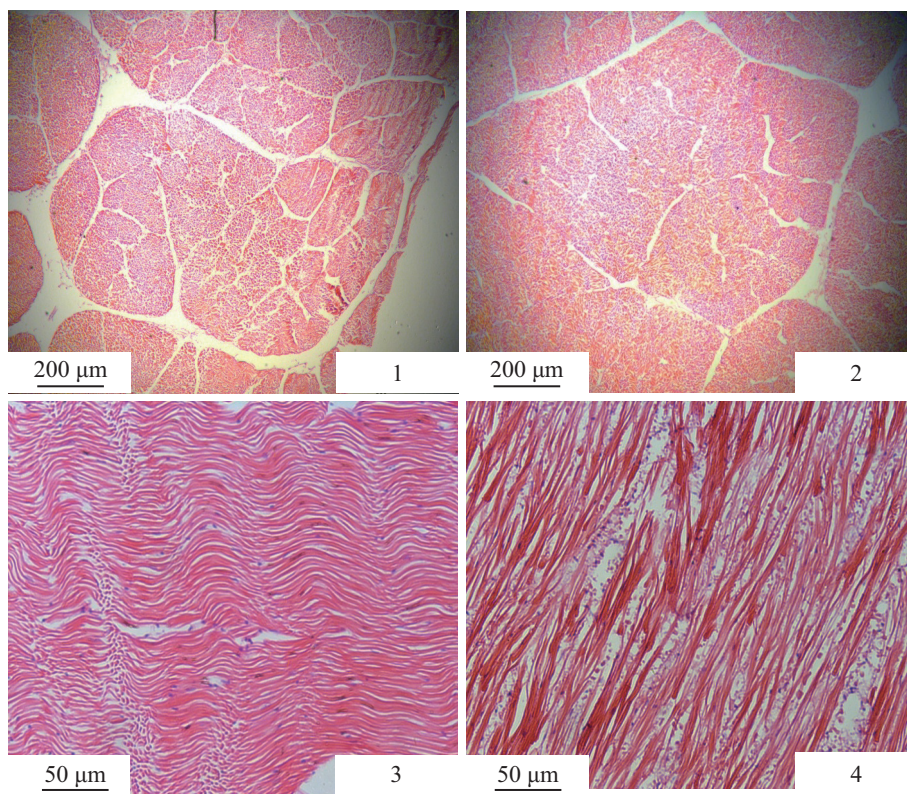
(College of Food Science and Engineering, Dalian Ocean University, Dalian 116023, China)

Abstract: To explore the protein distribution and physicochemical properties differences between striated(ST) and smooth(SM) muscle of *Patinopecten yessoensis*, muscle tissue sections were stained with hematoxylin and eosin and observed under microscope. Protein composition was analyzed by SDS-PAGE. The physicochemical properties were compared by salt-soluble and Ca^{2+} -ATPase. It was found that the striated muscle fibers were thicker and denser than smooth muscle. Myorod only existed in the smooth muscle and was not present in the striated muscle. The content of paramyosin in the smooth muscle was 31%, however, it was only 11% in striated muscle. There was a complete difference between the two kinds of salt solution curves. The smooth muscle solubility was characterized by S-shaped curve, which was different from the striated muscle and showed a linear rise in the range of 0.05–1.0 mol/L salt concentration. Such differences were probably caused by paramyosin content. In addition, the optimal temperature of Ca^{2+} -ATPase in smooth muscle myofibrillar and striated muscle myofibrillar was 35 °C and 30 °C, and the activation energy was 23.4 kJ/mol and 11.3 kJ/mol, respectively.

Key words: *Patinopecten yessoensis*; striated muscle; smooth muscle; protein distribution; solubility

Corresponding author: TIAN Yuanyong. E-mail: tianyuanyong@foxmail.com

Funding projects: National Natural Science Foundation of China (31671790, 31271980); Liaoning Provincial Department of Education Science Research General Project (L2015082)



图版 虾夷扇贝闭壳肌组织形态

图中1、2分别为平滑闭壳肌及横纹闭壳肌横切面组织切片, 50倍镜下观察。3、4分别为平滑闭壳肌及横纹闭壳肌纵切面组织切片, 200倍镜下观察

Plate Muscular histological structure of *P. yessoensis* adductor

Figure 1, 2, respectively, smooth muscle and striated adductor muscle cross-sectional tissue sections, 50 times under the microscope. 3, 4, respectively, smooth muscle and striped adductor muscle longitudinal section of tissue sections, 200 times microscope observation