

## 氣腫痘 豫防注射 韓牛에 對한 血清學의 研究

### [I] 濾紙電氣泳動法에 依한 氣腫痘 免疫血清蛋白의 分析試驗

서울市立農業大學 獸醫學科

徐 富 甲

#### I 緒 論

1937年 Sweden의 Tiselius<sup>(1)</sup>가 Schliren光學系를 利用한 電氣泳動法을 開發한 以來 本原理를 基礎로하여 Turba와 Enekel<sup>(2)</sup>兩氏는 血清蛋白을 證明함에 있어 0.1M의 Veronal buffer salt(V.B.S) solution, pH 8.6을 使用하여 110V로 12~24時間 泳動시켰을 印畫紙에다 옮기므로서 1個의 albumin과 3個의 globulin 分割을 發見 區別하였고, Jolle's等<sup>(3)</sup>은 0.02M의 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>緩衝液에 저신 濾紙에다 材料를 滴下하여 410~450V(2.2~3.5mA/cm)로 5時間 泳動시켜 amino acid와 人血清蛋白을 分離해낸 바가 있다.

이밖에도 Boyd<sup>(4)</sup>는 血清中の lipoprotein을 分離하기 依하여 pH 8.6의 V.B.S를 써서 300V(6mA/cm)로 8時間 動作시켜 蛋白質을 檢出한 바 있고, Kawaeran<sup>(5)</sup>은 血清이나 尿蛋白을 pH 8.6, V.B.S中에서 0.2mA/cm로 16~18時間 泳動시켜 그 泳動像의 染色으로는 Bromphenol blue(B.P.B)代身에 Naphthaleneblack 12B-200을 使用한바 그 中에 含有된 糖類를 檢出하는데 成功하였으며, Francois外 3名<sup>(6)</sup>은 本 濾紙電氣泳動法으로 사람과 各種動物의 水晶體內에 含有된 水溶性 蛋白을 分離하여 動物의 種類나 年齡에 따라 定性 定量的으로 볼때 서로 相異함을 밝힌 바 있다.

또 Hardwicke<sup>(7)</sup> 등은 前記한 Turba法의 變法으로서 緩衝液의 濃度, 動作電壓, 染色素의 種類를 變更 代置시켜 본 結末 濾紙 電氣泳動法으로 分離한 像의 定量이 可能하다는 점을 主張하는 한편 Albanese<sup>(8)</sup>는 사람의 血清中에 含有된 albumin과 globulin과를 定量 考지하는 微量法과 그 裝置에 對하여 報告하였는데 여기서는 Michaelis緩衝液으로 55V(2mA/cm)로 3時間 泳動시켜 血漿을 2成分으로 分離한 後, B.P.B로 染色한 것을 Densitometer로 그 色調에 對한 強度를 測定한 바 있고, Wahab外 2名<sup>(9)</sup>은 血清蛋白을 V.B.S와 硼酸鹽緩衝液(pH 8.6)으로 分離하는 多數의 例를 判定하였는데 여기서 V.B.S.에서 나타난  $\alpha_2$ 와  $\beta$ -globulin

은 後者를 使用하였을 때 더욱 뚜렷한 泳動像을 나타내었으나 albumin과 全 globulin의 比率値는 어떤 緩衝液을 使用하여도 變함이 없음을 報告하고 있다.

이와 같은 濾紙電氣泳動法의 發展 結果 本原理를 利用하여 Larson<sup>(10)</sup>는 人血清 albumin에 對한 連續濾紙電氣泳動法과 0.3%의 寒天塔을 使用하는 方法으로 改良 發展시켰으며, Smithits<sup>(11)</sup>는 人血清蛋白을 分離할 目的으로 starch-gel法을 考案하게 되었으며, 또 Engle<sup>(11, 22)</sup> 등은 各種 動物別의 血清組成의 變化를 比較 調查하게 이르렀다. 한편 Bessler와 Jacobson兩氏<sup>(13)</sup>는 Slide板上에다 V.B.S.와 Methyl-cellulose를 加入한 寒天 film을 利用하는 方法을 發表하였고 이어서 Kohn<sup>(23)</sup>은 蛋白質을 거의 吸着치 않고도 短時間內에 泳動이 可能하며 各 分割의 分離가 鮮명한 同時에 透明化가 거의 完全하게 이루어지는 cellulose acetate membrane法을 세로히 開拓함으로써 龜谷<sup>(24)</sup>는 本方法을 利用하여 말에서 血清蛋白分割의 分析報告를 한바 있고, 乳牛 血清蛋白의 正常 分割値를 明白化하기 爲하여 試料塗沫量 染色時間의 策定 及 定量法을 細密하게 檢討한 成績을 發表한바 있다<sup>(25)</sup>.

그 後 Uriel外 2名<sup>(12)</sup>과 其他 學者들은(2, 4, 5, 6) agar-gel를 利用하여 濾紙法에서 볼 수 없었던 蛋白分割을 더욱 細密하게 發見할 수 있는 immunoelectrophoresis로 까지 發展시켰으므로 醫學的 價値가 濃厚한 免疫及 臨床學 診斷에 있어 一層 더 많은 活用이 되고 있는 實情이다.

要컨데 本 濾紙電氣泳動法은 過去에 흔히 使用되던 paperchromatography와 比較한다면 그 操作法이나 利用面이 類似한 點을 지녔기는 하지만 chromatography에 依해서 分離되기 어려운 物質들을 容易하게 分離할 수 있을 뿐만 아니라 分析時間의 短縮과 試料의 使用量이 節約되고 操作處理上 매우 經濟的이라는 點을 들어 매우 높히 評價받고 있는 實情이다.

우리 나라에서의 家畜에 對한 本法으로는 다만 韓牛와 豚의 正常血清內 蛋白分割 比率에 對한 研究<sup>(7)</sup>가 있

을 정도로 알고 있다.

그러나各種傳染病은勿論,氣腫痘免疫牛血清에對한 **paperelectrophoresis**로서의蛋白質割變動에對한研究는 아직 없는 것이다. 따라서著者는本實驗研究에 있어서韓牛에對한氣腫痘의血清學的類症鑑別診斷法을改良發展시킬目的으로氣腫痘第2苗豫防液注射牛에對하여1年間을繼續하여月別,個體別로總130頭로부터採血한血清과10首를1群으로한2kg以上된家兔에다Vaccine으로免疫시켜 얻은連10首로부터採取한高度免疫血清을各各對象으로하여濾紙電氣泳動法을實施하여그의具體的인成績을 얻었기로우선1次로發表하는바이다.

## II 材料 및 方法

### 1. 實驗器材

(a) 電氣泳動裝置—Paper electrophoresis cell Durrum Type Model R. Series D (Backman).

(b) 吸光器—Densitometric analytol.

準히었다.

(c) 緩衝液—pH 8.6 Ion強度 = 0.1, (sodium diethyl baturate 12.75g, diethyl barbituric acid 1.66g, deionized distilled water 1000ml.)

(d) 濾過紙—Whatman No. 1.

(e) 染色液—Brom Phenol Blue Solution (B.P.B 0.05g mercuric chloride 1.0g acetic acid 2.0ml, deionized distilled water 100ml.).

(f) 豫防液—氣腫痘 第二苗 Vaccine.

(g) 檢査血清—滿1~2歲內的幼韓牛10頭를1群으로하여花山牧場으로부터試驗區를策定받고(Table 1).豫防注射前에正常血清을注射前에우선採取한다음豫防注射後1週, 2週, 3週, 1個月順으로12個月間에 걸쳐全牛群의個體別, 또는月別로血清을採取하여各各56°C, 30分間加熱로서非動化한것을-40°~-60°C의冷凍器中에保存하였다가必要時마다溶解使用하였다. 한편 다음 Table 2에서 보는 바와 같은家兔의實驗區를10頭1群으로策定하여牛血清採取와保存法에

Table 1. The Group of Tested Bovines.

Head No.	Tssted No.	Neck No.	Sex.	Age.	Date of Vacc.	Remark
1.	418-1.	217	male	1-4-65	4-18-66	Hwa-San Farm (Korean cattle)
2.	418-2.	224	"	2-15-65	"	"
3.	418-3.	234	"	4-19-65	"	"
4.	418-4.	238	"	5-31-65	"	"
5.	418-5.	239	"	6-18-65	"	"
6.	418-6.	212	female	11-11-64	"	"
7.	418-7.	222	"	1-25-65	"	"
8.	418-8.	225	"	2-16-65	"	"
9.	418-9.	231	"	2-26-65	"	"
10.	418-10.	241	"	7-12-65	"	"

\* Harvesting of serum from the blood in befor vaccination.

Table 2. Vaccinated Rabbits

Rabbit No.	Sex	Weight (kg)	Inoculum/Route of Vaccination	Color
1	male	2.5	*1.0ml/s. c	White
2	"	"	"	"
3	"	3.0	"	"
4	"	2.8	"	"
5	"	2.0	"	"
6	"	2.7	"	"
7	"	2.5	"	"
8	"	2.4	"	"
9	"	2.0	"	"
10	"	2.6	"	"

Remarks ※ is Black-leg No. 2 Vaccine S. C is subcutaneous Injection of Vaccine(route)

## 2. 實驗方法 :

濾紙電氣泳動에 使用할 血清量은 1회에 0.01ml로 定하고, Ion強度  $u=0.1$ 의 pH 8.6 V.B.S(Veronal buffer salt solution) 에다가 浸漬시킨 Whatman No. 1濾紙의 陰極側 1/3點을 出發點으로 하여 strip의 幅보다 좁은 길이인 1cm程度로 線狀으로 塗沫하여 15°~20°C의 環境下에서 電氣泳動器를 利用하여 current는 2.5mA/cm/cell(8-trips), 70Vol의 電壓을 通過시키면서 14~16時間 동안 泳動시킨 다음 105°C의 恒溫乾燥器中에서 完全하게 乾燥시켰다.

乾燥된 strip는 B. P. B溶液에다 3分間浸漬染色 한 다음 1% acetic acid溶液中에서 15分間 洗滌하여 蛋白質과 結合되지 못한 部分의 色素가 完全히 脫色된 것을 다시 室溫에다 放置하여 乾燥된 것은 비로소 Densitometer에 動作시켜 吸光度曲線을 描寫케하여 其의 面積比分劃率을 測定하였다.

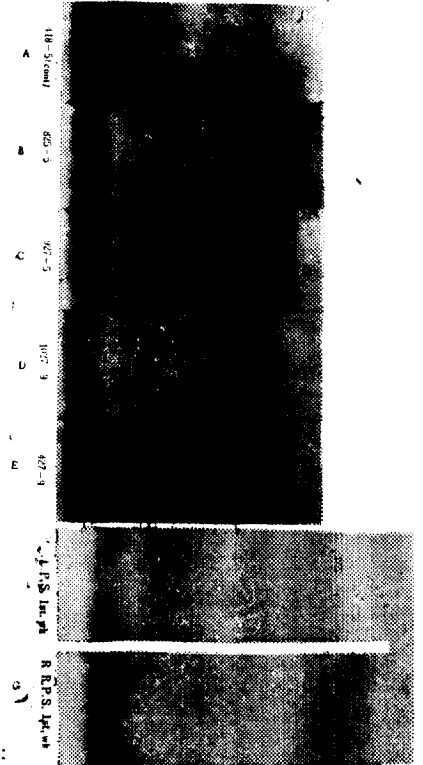
## III 實驗成績

豫防注射를 하기에 앞서 먼저 對象牛群과 家兔群으로부터 採取한 正常血清과 豫防注射한 다음의 各牛免疫血清 및 家兔免疫血清에 對하여 濾紙電氣泳動 操作을 하여 얻은 strip의 分劃像中 代表的인 것 몇 가지만을 골라서 記載해 보면 Fig 1과 같다.

다음은 以上과 같이 泳動시킨 strip를 總頭數別로 Densitometer에 걸어서 吸光度曲線을 描寫시킨 것들中에서 몇 가지 比較될만한 것을 記載하겠다(Fig 2).

그리고 이들 描寫曲線을 基礎로 하여 各分劃에 對한 面積比率을 算出하여 豫防注射後의 年中 個體番號別로

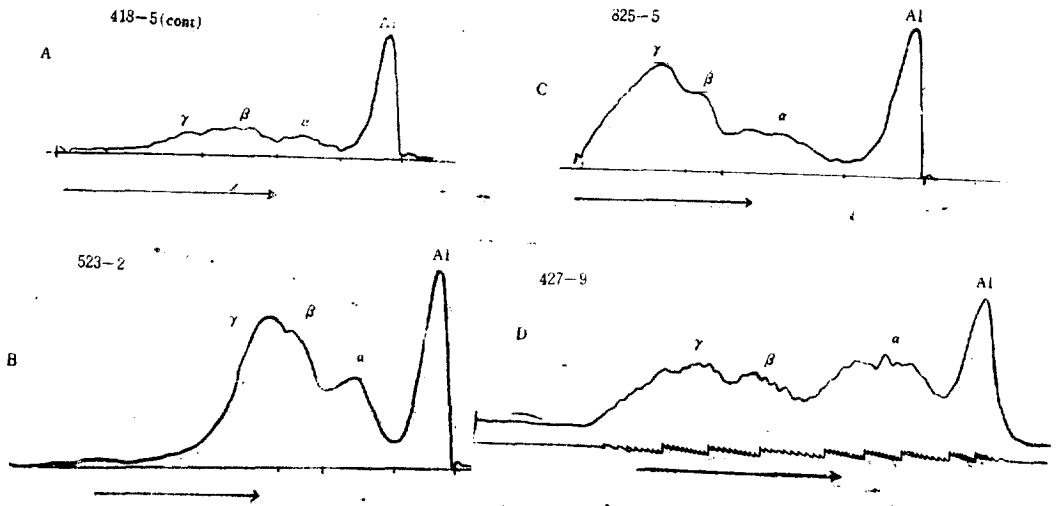
Fig 1. Comparative Typical Pattern of the Few Samples by the Paper Electrophoresis.



Remarks :

- A : Non Vaccinated Bovine Group-Serum.
- B, C, D, E, etc Vaccinated Monthly Bovine Group-Serum.
- F : Vaccinated Weekly(Ist week) Bovine Positive Serum.
- G : Vaccinated Weekly(Ist week) Rabbit Positive serum.

Fig 2. Comparison of Diagram in a N. B. S. D Monthly Few B. P. S by the Densitometer



綜合 統計整理를 하였으며 (Table 3), 또한 豫防注射後의 策定牛群에 對한 月別 各 蛋白分劃의 面積比率도 算出 統計整理 하였으며 (Table 4), 正常 非豫防注射 韓牛 血清의 總平均과 豫防注射를 實施한 韓牛 血清에 對한 總年中 連頭數 120頭에 對한 各 分劃別 全體 總 平均率을 算出하여 比較 分析하였던 바 다음과 같은 成績을 얻었다 (Table 5).

이밖에도 牛豫防注射後血清(B. P. S)과 家兎豫防注射

後血清(R. P. S)에 對한 血清蛋白의 分析 結果는 Table 6과 같다.

다음의 各 表는 아래의 統計公式에 準하여 整理 算出한 것이다.

$$\bar{x} = \frac{\sum xi}{\sum fi}$$

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2 fi}{\sum fi}}$$

Table 3. Data of Annually Individual Serum protein Fraction by the Paper Electrophoresis.

Fraction Tested No.	Total Protein g/dl		Albumin %		Globulin %		A/G %		α-globulin %		β-globulin %		γ-globulin %	
	$\bar{x}$	$\sigma$	$\bar{x}$	$\sigma$	$\bar{x}$	$\sigma$	$\bar{x}$	$\sigma$	$\bar{x}$	$\sigma$	$\bar{x}$	$\sigma$	$\bar{x}$	$\sigma$
1	6.38±0.84		27.98±8.32		72.02±8.32		0.41±0.18		30.73±9.99		14.59±4.45		28.28±5.32	
2	6.89±0.80		29.07±7.27		70.93±7.65		0.43±0.16		28.30±10.77		14.70±3.27		31.49±5.61	
3	6.36±1.03		28.79±8.22		71.20±7.67		0.42±0.18		29.30±10.10		15.10±4.03		36.79±10.8	
4	7.14±1.01		30.01±7.96		61.59±7.85		0.45±0.19		27.67±10.68		14.18±3.77		28.22±6.96	
5	7.58±0.88		29.80±5.69		70.20±7.63		0.44±0.18		28.06±10.54		14.72±3.49		27.41±6.74	
6	8.16±0.70		31.17±8.14		68.83±8.16		0.48±0.19		27.94±12.25		14.78±2.93		24.94±6.41	
7	7.13±0.87		30.43±2.68		69.56±8.07		0.36±0.29		28.90±11.36		13.20±3.29		27.41±6.49	
8	6.95±0.74		26.54±9.21		71.13±5.95		0.45±0.26		28.60±10.15		15.36±2.96		27.15±6.46	
9	7.07±1.21		29.26±3.27		69.98±5.36		0.33±0.17		28.25±12.23		14.27±1.44		27.44±6.81	
10	6.93±0.56		30.71±7.47		69.29±7.57		0.46±1.61		28.52±10.50		14.79±2.72		25.80±4.68	

Remark :  $\sum fi = 12$  (month)

Table 4. Comparative Monthly Data of Vaccinated Bovine Serum by the Paper Electrophoresis.

Fraction Date	T. Pg/dl		Al %		Gl %		A/G %		α %		β %		γ %	
	$\bar{x}$	$\sigma$	$\bar{x}$	$\sigma$	$\bar{x}$	$\sigma$	$\bar{x}$	$\sigma$	$\bar{x}$	$\sigma$	$\bar{x}$	$\sigma$	$\bar{x}$	$\sigma$
* 4/18	7.73±0.61		27.75±2.84		72.15±2.80		0.39±0.06		42.82±1.40		11.24±1.70		18.90±1.50	
** 5/23	7.20±0.81		31.12±6.98		68.88±6.98		0.46±0.07		22.56±3.80		17.92±3.42		28.40±2.37	
6/21	6.83±0.67		34.39±2.91		65.61±2.87		0.52±0.04		20.79±2.53		15.71±1.69		29.11±1.30	
7/20	6.87±0.45		41.41±3.58		58.59±3.58		0.76±0.01		16.67±2.84		12.17±1.59		29.81±0.64	
8/25	7.68±0.57		42.72±3.49		57.82±3.55		0.75±0.01		15.11±2.35		10.76±2.34		31.41±1.70	
9/27	7.36±1.10		32.17±1.81		67.83±1.72		0.48±0.01		15.30±2.43		11.08±2.63		41.45±4.48	
10/27	6.61±1.33		32.11±3.63		67.86±2.33		0.48±0.02		22.38±3.38		14.28±2.20		31.21±3.14	
11/29	6.57±0.69		24.49±2.23		75.46±2.23		0.33±0.04		3.356±3.06		16.25±2.56		25.65±2.64	
12/30	7.51±0.99		21.74±2.22		78.26±2.41		0.28±0.03		36.88±4.46		18.63±2.43		23.25±1.93	
1/26	6.51±1.01		21.67±1.87		78.33±1.87		0.28±0.03		38.25±1.49		16.95±1.58		23.13±1.93	
2/28	6.76±0.61		22.57±0.48		77.43±0.92		0.29±0.02		40.14±1.34		15.75±0.92		22.54±1.32	
3/30	7.19±0.93		25.26±1.03		74.74±1.08		0.34±0.02		40.72±1.30		13.28±1.48		20.82±0.54	
4/27	7.81±0.92		26.58±3.31		73.42±8.57		0.36±0.04		41.73±1.53		11.99±1.52		19.70±0.61	

Remark :  $\sum fi = 10$  (One Group is 10 heads)

\* is None Vaccinated Normal Bovine Serum

\*\* etc. are Vaccinated Bovine Positive Serum (5/23~4/27)

#### IV 考 察

本來 正常 牛血清蛋白分割의 變動은 年齡差, 成熟度差, 性別, 體重差, 季節差, 品種別, 其他 環境差 飼養條件 等々の 諸條件에 따라 多少의 變化가 있는 것으로 알려져 있는데 即 幼牛는 成熟한 成牛에 比하여 T.P와  $\gamma$ -gl%이 增加하고 反對로 Al%는 減少되며, 또한 舍飼牛는 放牧牛보다 T.P와 Al%가 높은데 特히 放牧牛라도 草地條件이 極히 不良한 高冷地 放牧牛에 있어서는 T.P와 Al%가 顯著하게 낮아 지는것이 常例로 알려져 있다.

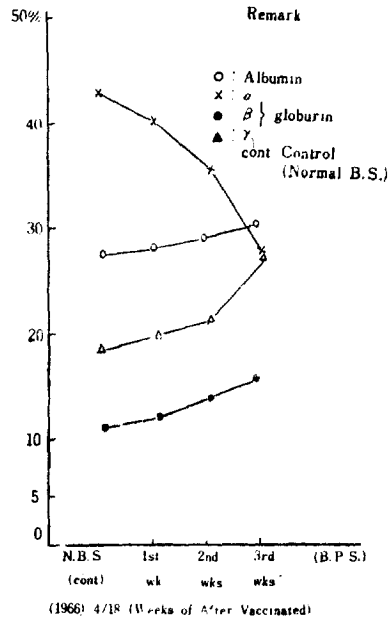
이러한 觀點에서 本 研究中 Table. 4와 Fig. 2를 통하여 非豫防注射 正常牛群 血清蛋白分割(對照)만을 分析檢討해 본다면, 2歲 以上인 轉牛의 Al%이 높은 것으로 報告되어 있지만(?) 本 檢査對象 牛群은 平均年齡이 1~2歲 以內의 幼牛인 탓으로 27.75%±2.84인 低率을 보이고 있다.

그러나 濾紙電氣泳動法에 依한 特殊한 病的血清의 組織에 큰 變化가 있어 Al%와  $\gamma$ -gl%의 增減을 分析調査할 수 있다 하였기로(26·27). 이를 豫防注射牛血清에다 應用 動作시켜 얻은 Table 3, 4를 基礎로 하여 非豫防注射牛血清蛋白 總 平均率과 豫防注射牛血清蛋白에 對한 注射後 月別 總 平均率과의 相互 關係를 比較한 diagram(Fig3, 4)을 檢討해 보면 豫防注射前에 낮았던 Al,  $\beta$ ,  $\gamma$ -globulin은 다같이 豫防注射後 1週日부터 漸進的인 上昇率을 보이기 始作하였고, 그 中 Al%은 注射後 4個月(8/25)만에 42.72%±3.49인 頂點을 보이며 control(4/18)인것 보다 約 15%의 增加를 보였으며,  $\beta$ -globulin%는 一旦 注射後 1個月(5/23)에 17.92%±3.42로 上昇하였다가 다시 control보다 低下되어 4個月(8/25)만에 最低率인 10.76%±2.34를 보이다가 8個月後(12/30)만에 다시 上昇하여 18.63%±2.43이라는 頂點을 나타냈으며 同時에 control보다 約 7.39%가 增加하였고 免疫抗體와 가장 因緣이 많은  $\gamma$ -globulin分割은 豫防注射後 5個月(9/27)만에 41.45%±4.48이라는 高率을 表示하고 있어 control(4/18)에 比하여 22.55%의 큰 增加率을 보이고 있다.

그런데 이와 反對로  $\alpha$ -globulin은 豫防注射後 4個月(8/25)만에 最低率인 15.11%±2.35이어서 control보다도 27.71%의 큰 減少率을 보이더니 그 後 繼續 上昇하여 終末에는 Control과 近似한 率을 보이기 始作하고 있다. 即 豫防注射後 4~6個月 期間中에는 Al%와  $\gamma$ -globulin fraction%이 最高率을 보이고  $\alpha$ ,  $\beta$ -globulin fraction%은 反對로 最低率을 나타내고 있다.

A/G ratio에 있어서는 豫防注射後 3, 4個月에 가서는 control fraction보다도 約 2倍率을 보이다가 1個年

Fig 3. Weekly Comparative Diagram of N. B. S D B. P. S by the Paper Electrophoresis.



後에 이르러서는 他 fraction과 같이 原狀으로 되돌아감을 認定할 수가 있었다.

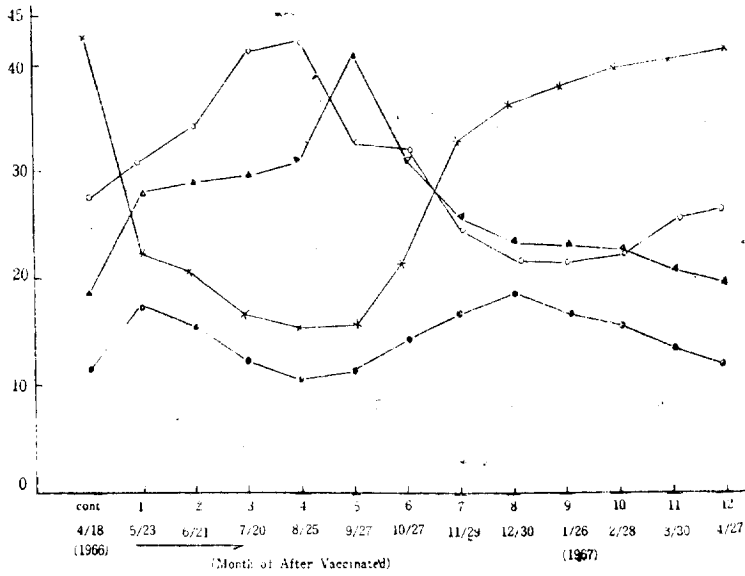
T.P率은 豫防注射後 季節의 異나 性別에 따라 큰 差異가 없으나 다만 非豫防注射 牛群(control)에 比한다면 多少 減少됨을 알수 있다.

다음은 豫防注射牛 全頭數(120頭)에 對한 連續 總 年中 平均率을 分析하여 對照群(N. B. S)과 比較하였던 바 (Table 5), 全體 globulin fraction은 多少 減少되었다 할지라도  $\alpha$ -globulin%, 14.15% 減少를 除外하고는  $\beta$ -gl%의 3.28%增加와  $\gamma$ -gl%가 8.21%나 增加되어 있으며, albumin%도 約 2% 增加되었는데 反하여 T.P(Total Proten)은 0.65%가 減少되고 있다.

그러나 A/G ratio에 있어서는 約 0.05%가량이 增加하였다. 여기서 볼 때 免疫抗體와 關係가 깊다고 認定되는  $\gamma$ -gl%의 8.21% 增加는 分明히 正常 非豫防注射牛血清蛋白에 比하여 그의 有効性을 反證할 수 있다고 보다 重要視된다.

다음은 2.0kg以上된 家兎 10首를 1群으로하며 豫防

Fig 4. Monthly Comparative Diagram of N.B.S & B.P.S by the Paper Electrophoresis.



Remark :

- .....Albumin
- ×..... $\alpha$ -globulin
- ..... $\beta$ -globulin
- ▲..... $\gamma$ -globulin
- B.P.S.....Vaccinated Bovine Serum (Bovine Positive Serum)
- N.B.S.....Normal Bovine Serum

Table 5. Data of Serum Protein Fraction in Annually Total Individuals of the Non Vaccinated N. B. S & Vaccinated B.P.S by the Paper Electrophoresis.

S. P. F Samples	T. P g/dl		Al %		Gl %		A/G %		$\alpha$ %		$\beta$ %		$\gamma$ %	
	$\bar{x}$	$\sigma$	$\bar{x}$	$\sigma$	$\bar{x}$	$\sigma$	$\bar{x}$	$\sigma$	$\bar{x}$	$\sigma$	$\bar{x}$	$\sigma$	$\bar{x}$	$\sigma$
(B. P. S) Vaccinated	7.08	±1.03	29.70	±7.66	7.031	±7.69	0.44	±0.21	28.67	±3.46	14.52	±3.35	27.11	±6.71
(N. B. S) Non Vaccinated*	7.73	±0.61	27.75	±2.84	72.15	±2.80	0.39	±0.06	42.82	±1.40	11.24	±1.70	18.90	±1.50

Remarks

- △..... $\Sigma fi = 120$
- ※..... $\Sigma fi = 10$
- ∧.....Increase

∧.....Decrease

- S. P. F.....Serum Protein Fraction
- B. P. S.....Bovine Positive Serum.
- N. B. S.....Normal Bovine Serum.

注射하고 幼犊牛群을 同一한 豫防液으로 量的으로 同量注射를 한 다음 每週 1回式 採血하여 3週間の 血清을 濾紙 電氣泳動시커서 分析한 相互比較表(Table 6)인데 Control에 있어서는 **albumin fraction**만이 N.B.S (Normal Bovine Serum)보다 N.R.S(Normal Rabbit Serum)가 高率이었지만 其他  $\alpha, \beta, \gamma$ -globulin fraction

은 各各 低率을 보이였으며, 同時に B.P.S의 Al%은 週數가 經過해 감에 따라 正比例로 增加되어 갔었으나, R.P.S에서는 오히려 減少되어 감을 認定할 수 있었다.  $\alpha$ -globulin fraction에서는 albumin fraction과 正反對 現象을 보이고 있으며  $\alpha$ 와  $\gamma$ -globulin fraction은 兩者 모두 數週經過에 따라 增加되어 감을 알수었다.

**Table 6.** Paper Electrophoretic Analyzed Table to the Serum of Bovine & Rabbit Inoculated with Black-leg Vaccine.

WK	T. S	Fraction	Albumin %	$\alpha$ -gl %	$\beta$ -gl %	$\gamma$ -gl %
Non-Vacci.	N. B S		27.8 ^	42.8 v	11.3 v	18.9 v
(Control)	N. R. S		45.0	38.3	9.4	12.3
Veccinates	B. P. S		28.0	40.8	12.1	19.1
Ist, Week	R. P. S		44.3	32.7	9.6	13.4
	B. P. S		29.2	35.7	14.1	21.1
2nd, Week	R. P. S		42.9	31.6	9.8	15.7
	B. P. S		30.1	27.3	16.1	26.5
3rd, Week	R. P. S		41.7	31.1	10.9	16.3

Remarks : N. B. S; Normal Bovine Serum.  
 N. R. S : Normal Rabbit Serum.  
 R. P. S : Rabbit Positive Serum.  
 ^ : Decrease

T. S : Tested Sample  
 B. P. S : Bovine Positive Serum  
 v : Increase

### V 結 論

1~8歲 未滿의 幼犍牛 10頭를 1群으로 策定하고 氣腫痘第2苗豫防液을 注射하기 前에 正常牛血清을 採取해 놓고 그에 對하여 豫防注射을 實施한 다음 個體別, 月別로 1年間을 두고 每月 1回式 採血하고, 또한 家兎를 免疫시킨 다음 週別로 3週間을 採血한 各 血清에 對한 濾紙電氣泳動法을 實施하여 얻은 各 血清蛋白分劃率을 統計 比較한 結果는 다음과 같다.

1) 統計對象數에 差異( $\Sigma fi = 10 : 120$ )가 있기는 하나 正常牛血清은 豫防注射後의 免疫牛血清에 比하여 albumin과  $\beta$ , 및  $\gamma$ -globulin%가 低下하며, T.P%와  $\alpha$ -globulin%은 高率이었다.

2) 免疫牛血清中에서도 個體別, 性別에 있어 多少間의 差異가 있어 母보다 公의 globulin fraction%가 若干 높았으며, 年齡差에서 볼때 幼犍牛의 albumin fraction%은 既報되어 있는 바와 같이 成犍牛에서 보다 낮았다.

3) 免疫牛血清의 月別 分析을 統計해 보면, 豫防注射後 1週日 부터 次次 血清蛋白分劃에 變動을 招來하여 注射後 4個月만에 albumin fraction이 最高率(42.72  $\pm$  3.49%)을 表示하고, 正常牛血清보다는 1.490%가량 增加하였고, 이 때  $\alpha$ -globulin fraction은 最低率(15.11  $\pm$  2.35%)을 表示하며 正常牛血清보다 約 7.71%가량 減少되었다.

그리고  $\beta$ -globulin fraction은 注射後 1個月에 1次로 若干 增加하였다가 8個月만에 二次로 最高率에 到達하되 正常血清과 큰 差異는 없다.

$\gamma$ -globulin fraction은 注射後 5個月만에 41.45  $\pm$

4.48%인 最高率을 나타내며 正常牛血清에 比하여 約 22.55%가량 增加함을 認定하였는데 이것은 大體로 氣腫痘第2苗豫防液의 免疫 効果에 있어 注射後 5個月에 免疫抗體가 最高價에 達한다는 反證이 될 수 있다고 본다

4) 豫防注射을 實施한 家兎와 幼犍牛 血清蛋白分劃中 3週間의 成績에 있어 B.P.S의 Albumin fraction은 注射後 週數에 比例해서 漸增되고 R.P.S는 反比例로 漸減되었으나  $\gamma$ -globulin fraction에 있어서는 兩者 모두 漸增하여감을 認定할 수 있다.

### VI 參 考 文 獻

1. A. Tiselius.,; Trans. Faraday Soc., 33, 524 (1937).
2. P. L Carpenter ; Immunology and Serology.
3. Turba, F. und Enekel, H. J.; Naturwiss. 37, 93(1950).
4. M. D. Poulik; J. Immunol. 82,502(1959).
5. Halbert, S. P., and Auerbach, T.; J. Experi. Med. 113, 131(1961).
6. Elliott, F. Osserma; J. Immunol.84,27(1960).
7. B. H. Rim.; Korea J. Vet. Res., Vol. 4, No. 1, 1-6(1964).
8. Jolles, P. et repentigny, J. de; Biochem. Biochem. Biophys. Aceta 15, 161(1954).
9. Hardwicke, j.; Biochm J. 57, 166(1954).
10. Albamese, A. A., Orto, L and Rossym J.; Arch. Biochem. Biophys 54, 304(1955).
11. R. L. Engle, Jr., and K. R. Woods; The Plasma Proteins(ed. F. W. Putam) II P, 183

- Academic Press Inc., New York(1960).
12. Uriel, J., [Lewin, H. and Grabar, R.; Nature 176, 976(1955).
  13. Bessla, N. and Jacobson, S. D. : Science 122, 1088(1955).
  14. Smithies, O.; Biochem. J. 61, 629(1955).
  15. Lavson, D. L, and Feinberg, R.; Science 120 426(1954).
  16. Francois, J., Wieme, R., Rabaey, M. et Neetiens, A.; Experientia 10, 79(1955).
  17. Kawaerau, E.; Analyst 79, 681(1954).
  18. Boys, G. S.; Biochem. J. 58, 680(1954).
  19. Wahab, E. A., Adjustantis, G. and Laurence, D.J.R.; Biochem. J. 60, Xiii(1955).
  20. J. H. Pert, R. E. Engle, Jr., k. R, Woods and M.H.Slesenger; J. Lab. Clin. Me d., 54 572(1959).
  21. J.P. Binette and K. Schmid, Nature, 192, 732(1961).
  22. S.H. Lawrence, P.J. Melnick and H.E. Weimer, Prace. Soc. Exptl. Biol. Med., 105, 572(1960).
  23. J. Kohn; Clin. Chem. Acta, 2, 297(1957).
  24. Kame-Ya; Jour, vet, Med, of Japan. 18, 584(1960).
  25. K5-Bayashi; Jour. Vet. Med, of Japan. 9, 1 1967.

## The Serological Studies for the Korean Bovine Serum of Vaccinated with Black-leg living Vaccine

[ ] Analysis of Immune Serum by Paper Electrophoresis

Boo Kap Seo, D.V.M.

*Seoul Municipal College of Agriculture, Seoul, Korea*

### ABSTRACT

1. The albumin,  $\beta$ -globulin and  $\gamma$ -globulin fractions of non-vaccinated bovine serum (Control) int declined, and a total protein and  $\alpha$ -globulin level are advanced on the reversibile rather than of vaccinated immunized bovine serum. (Table 5.)
2. Some few exists the to bring about changed in the individuals and sexual in a vaccinated bovine serum, however, **Male serum globulin fractions** are higher than **Female globulin fractions** percentage. (Table 1 and 3.)
3. **Albumin fractions** are Age-ably variable, so that, younger's are rather lower than adult's such reported as in the another litratures.
4. In the monthly analysis of immunized bovine serum the first week to at dulation for third weeks were slowly advanced as variably in serum-protein fractions of ater by the Black-leg No. 2 vaccination, then, **albumin fractions** were illustated as maximum ratio (42.73 3.49%) and increased much as 14.9% more than non-vaccinates, and  **$\alpha$ -globulin fractions** indicated the minimum ratio(15.11 2.35%) at for 4th month after vaccination decrease much as about 7.71 % rather non-vaccinated normal bovine serum. (Table 4. and Fig 3.)

Next, continuous advanced the  **$\beta$ -globulin fractions** at first month as primary crisis in a diagram, and indicated the maximum ratio at 8th months as the second crieir on the its diagram of after vaccinati on, however, few changed in non-vaccinated bovine serum. (Figs 4.)

Especially,  **$\gamma$ -globulin fractions** are advanced the maximum ratio as 41.45% 4.48% anp advanced to be widely range much as about 22.55% more than control serum at 5th months of after the vaccination.



That is one of the most considerable evaluation in Black-leg No. 2 vaccination to Korean calves as great presence of the maximum immune antibodies at for 5th month after the vaccination. (Table 4. and Fig 4.)

5. In the relationship between vaccinated rabbit and Korean calves, serum protein fractions were to be changed within the 3 weeks, so that **albumin fractions** of vaccinated immune bovine serum are increased as directly ratio, while vaccinated rabbit immunized serum showed the decrease as to reciprocal ratio.

Although, conclude that  **$\gamma$ -globulin fractions** are increased gradually by and large on the vaccinated immune bovine serum(B.P.S.) and vaccinated immune rabbit serum(R.P.S.) together. (Table 6).