

비색법에 의한 한우 혈청단백질의 분획정량 시험

가축위생연구소

조 종 후

서 론

혈청 단백질의 분획 정량법으로는 중성염에 의한 염석법, 전기영동법, 초원심분리법이 널리 이용되고 있다. 특히 전기 영동법은 혈청 단백질상의 분획과 특성에 대한 규명을 용이하게 하므로 면역혈청 분석에 많이 이용되고 있으며 초원심분리법에 의한 혈청 단백질상의 분획정량법도 외국에서는 많이 이용되고 있다. 그러나 위석법에 의한 혈청단백질의 분리, 정량, 및 재조가 비교적 용이하게 이루어질 수 있는점에 비추어 전기영동법이나 초원심 분리법은 조작상의 난점과 각 분획의 단리가 어려우며 수득율이 적으므로 아직도 염석법에 의한 혈청단백질의 분획, 정량 및 재조가 기본 방법으로 인정되고 있다.

한우의 혈청 단백질에 관한 연구는 鄭^(4,5) 등에 의하여 혈청 총단백량이 보고 되었고 林⁽⁶⁾에 의하여 여지전기 영동법에 의한 혈청단백질의 비율이 보고되었다. 한우 혈청총단백량은 鄭⁽⁶⁾에 의하여 암소에서 6.832 ± 0.063 g/100ml, 숫소에서 7.366 ± 0.062 g/100ml. 로 보고 되었고 鄭⁽⁴⁾은 연령의 증가에 따라 혈청단백도 증가 한다고 하였다. 林⁽⁶⁾은 한우의 혈청단백질을 여지전기영동법으로 분획하여 albumin, globulin, α -globulin, β -globulin, γ -globulin의 백분율을 구하고 A/G ratio를 구하였는데 2~5세의 한우에서 A/G ratio는 1.03이 62%, 0.57이 1.9%, 0.4가 10%, 1.87이 9%로서 시험우의 62%에서 albumin과 globulin이 대등한량으로 함유되었음을 보고하였다. 徐⁽⁷⁾는 10두의 어린 한우의 혈청단백질을 여지전기영동법으로 분획, 정량 하였는데 A/G ratio 0.5 이하임을 보고하였다.

총혈청 단백질이나 단백질 각 분획의 보고된 수치는 보고자에 따라 다르며 그것은 성별, 연령, 사료, 환경 등에 따라 차이가 있을것임을 보고하고있고 특히 전염성질병에 감염되어 있거나 보균상태에 있을때 혈청 단백질상에 많은 차이가 있을 것이다⁽¹⁾.

이 실험에서는 화산 축산시험장에서 사육되고 있는

2세 이상의 건강한 암소 20두와 성환 국립종축장에서 사육되고 있는 건강한 암소 20두, 그리고 도살장에서 채취한 숫소 20두의 혈청을 분리하고 Cohn-Wolfson 등이 창안한 방법에 의하여 염석법으로 각 혈청단백질을 분획하고 광전비색계에 의하여 각 분획을 정량하여 의의있는 성적을 얻었으므로 그 성적을 보고한다.

재료 및 방법

1. 공시혈청

공시혈청은 8부 시험관에 약 20ml씩 채취한 혈액을 경사, 정치하여 응고시킨 후 분리한 혈청을 즉시 혈청 단백질의 분석에 사용하였으며 부득이 보관해야할 필요가 있을때에는 3°C 냉장조에 보존하여 사용하였다.

2. 분석기기로는 Micro-Kjeldahl 장치와 Junior Coleman Spectrophotometer, Model 6A를 이용하였다.

3. 실험방법중 혈청총단백과 각 분획의 정량은 Cohn-Wolfson 등의 방법에 준하여 실시하였다^(2,3).

4. 표준곡선을 만들기 위하여 한우 혈청을 Micro-Kjeldahl 변법에 의하여 단백질을 정량하고 이 혈청을 표준혈청으로 하여 단계적으로 희석시킨 혈청 각 3ml에 Biuret 시약 각 3ml을 가하여 혼합한뒤 30분후에 최대 흡수파장 535m μ 에서 흡광도를 측정하여 표준곡선을 작성하였다. (Fig. 1)

5. 혈청 총단백을 정량하기 위하여 각 개체의 혈청을 일정하게 희석하여 3ml.을 취하고 Biuret 시약 3ml을 가하여 30분후 비색 측정간것을 표준곡선상에서 계산하여 정량하였다.

6. Albumin + α -globulin의 정량을 위하여 0.2ml의 혈청에 23% Sodium sulfate 2.3ml을 가하여 37°C에서 작용시켜 α -globulin과 γ -globulin을 염석시킨후 원심분리하고 투명한 상층을 분리하여 Biuret 시약을 가하여 비색한것을 표준곡선상에서 계산하였다.

7. Albumin을 정량하기 위하여 0.2ml의 혈청에 28% Sodium sulfite 4.8ml을 가하여 globulin을 염석 시

킨후 원심분리하고 투명한 상층액에 Biuret 시약을 가하고 비색한 것을 표준곡선상에서 계산하였다.

8. γ -globulin을 정량하기 위하여 0.2ml의 혈청에 $\text{NaCl}-(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 용액 4.8ml을 가하여 γ -globulin을 염색시켜 원심분리하고 분리된 침전물을 생리식염수에 용해시켜 여기에 Biuret 시약을 가하여 발색 시킨후 비색한것을 표준곡선상에서 계산하였다.

9. Total globulin의 계산은 총단백량에서 Albumin량을 감하여 계산하였다. α -globulin량은 Albumin+ α -globulin량에서 Albumin량을 감하여 계산하였다. 그리고 β -globulin은 Globulin량에서 α -globulin과 γ -globulin을 감하여 계산하였다.

시험성적

화산 축산시험장에서 사용하고있는 암소 20두, 성환종 축장에서 사용하고있는 암소 20두, 도살장에서 채취한 숫소 20두분의 혈청에 대한 총단백질 및 각 단백질 분획에 대한 정량시험은 하였으나 다음과 같은 성적은 없었다.

1. 혈청 총단백량

혈청 총단백량은 Table 1에 표시된바와 같으며, A, B 두지역에서 암소의 평균 총단백은 $7.66 \pm 0.690 \text{ gm}/100 \text{ ml}$, $7.74 \pm 0.71 \text{ gm}/100 \text{ ml}$ 로 지역차를 인정할수 없었으며 C 지역의 숫소의 평균 총단백은 $7.66 \pm 0.93 \text{ gm}/100 \text{ ml}$ 로 성별차도 인정되지않았다.

2. 혈청 Albumin량에 대한 성적은 Table 2에 표시된바와 같으며 총단백에 대한 평균 비율은 27.89%였다.

Fig. 1. Standard Curve of Serum Protein: Junior-Coleman Spectrophotometer, Model 6 A. Wave: 535 $m\mu$

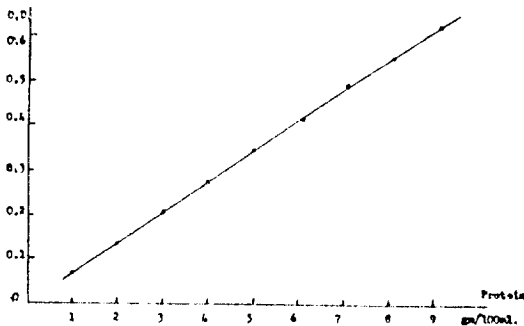


Table 1. Serum total protein of 3 groups of Koeran cattle

Test Group	Sex	No. of Serum	Mean Ratio (W/V %)	Range (W/V %)
A	Female	20	7.66 ± 0.69	5.80-8.55
B	Female	20	7.74 ± 0.71	5.40-8.80
C	Male	20	7.66 ± 0.93	6.36-8.80
Total		60	7.69 ± 0.77	5.40-8.80

※ A: 축산 시험장 우
B: 국립 종축장 우
C: 도살장 우

Table 2. Serum Albumin of 3 groups of Korea Cattle

Test Group	Sex	No. of Test Serum	Mean Ratio (W/V %)	Range (W/V %)	Alb/T.P. $\times 100$
A	Female	20	2.10 ± 0.38	1.50-2.85	27.42
B	Female	20	1.98 ± 0.31	1.42-2.65	25.58
C	Male	20	2.24 ± 0.26	1.87-2.58	30.38
Total		60	2.12 ± 0.32	1.42-2.85	27.89

Table 3. Serum Globulin of 3 groups of Korean Cattle

Test Group	Sex	No. of Test Serum	Mean Ratio (W/V %)	Range (W/V %)	Glob./T.P. $\times 100$
A	Female	20	5.56 ± 0.81	3.94-7.50	72.58
B	Female	20	5.75 ± 0.80	3.60-6.88	74.29
C	Male	20	5.41 ± 0.59	4.35-6.38	69.37
Total		60	5.57 ± 0.73	3.60-7.50	72.08

3. 혈청 globulin량에 대한 성적은 Table 3에 표시된바와 같으며 총단백에 대한 평균 비율은 72.08%였다

4. 혈청 α -globulin량에 대한 성적은 Table 4에 표시된 바와 같으며 총단백에 대한 평균 비율은 18.69%, Globulin에 대한 평균 비율은 25.82%였다.

5. 혈청 β -globulin에 대한 성적은 Table 5에 표시된바와 같으며 총단백에 대한 평균 비율은 23.98%, Globulin에 대한 평균 비율은 32.45%였다.

6. 혈청 γ -Globulin량에 대한 성적은 Table 6.에 표시된바와 같으며 총단백에 대한 평균 비율은 30.01%, Globulin에 대한 평균 비율은 41.11%였다.

7. 각 혈청군에 대한 A/G ratio는 Table 7.에 표시된바와 같으며 암소의 평균 A/G ratio는 0.36, 숫소의 평균 A/G ratio는 0.41, 로서 암소가 숫소보다, Albumin에서 약간 적었다.

고 찰

1. 혈청 총단백량

Table 4. Serum α -Globulin of 3 groups of Korean Cattle

Test Group	Sex	No. of Test Serum	Mean Ratio	Range	α -Gl./T.P. \times 100	α -Gl./T.G. \times 100
A	Female	20	1.49 \pm 0.68	0.65-2.94	19.45	27.00
B	Female	20	1.51 \pm 0.46	0.65-2.58	16.51	26.26
C	Male	20	1.31 \pm 0.26	0.80-1.82	17.10	24.21
Total		60	1.44 \pm 0.47	0.65-2.94	18.69	25.82

Table 5. Serum β -Globulin of 3 groups of Korean Cattle

Test Group	Sex	No. of Test Serum	Mean Ratio	Range	β -Gl./T.P. \times 100	β -Gl./T.G. \times 100
A	Female	20	1.74 \pm 0.44	0.57-2.59	22.72	31.29
B	Female	20	1.95 \pm 0.65	1.21-3.22	25.19	33.91
C	Male	20	1.82 \pm 0.36	1.30-2.91	23.76	32.15
Total		60	1.84 \pm 0.48	0.57-3.22	23.98	32.45

Table 6. Serum γ -Globulin of 3 groups of Korean Cattle

Test Group	Sex	No. of Test Serum	Mean Ratio	Range	γ -Gl./T.P. \times 100	γ -Gl./T.G. \times 100
A	Female	20	2.32 \pm 0.20	1.62-3.30	30.29	41.72
B	Female	20	2.30 \pm 0.32	1.62-3.06	29.72	40.00
C	Male	20	2.30 \pm 0.48	1.63-3.18	30.02	42.51
Total		60	2.31 \pm 0.33	1.62-3.30	30.01	41.11

Table 7. Albumin/Globulin ratio of 3 groups of Korean Cattle

Test Group	Sex	No. of Test Serum	Albumin	Globulin	A/G Ratio
A	Female	20	2.10	5.56	0.38
B	Female	20	1.98	5.75	0.34
C	Male	20	2.24	5.41	0.41
Total		60	2.11	5.57	0.38

지역적으로 다른 3군의 혈청분석결과는 성적차이를 인정할 수 없었으며 암소와 숫소의 차이도 인정되지 않았다. 그러나 시험우가 3세 내지 10세까지의 광범위한 연령분포를 가졌으며 같은 연령에 대한 지역차 또는 암숫차이는 확실하게 밝힐 수 없다. 대체로 3군의 혈청 총단백은 7.69 \pm 0.77W/V%로 기존의 성적보다 많았으며 큰 차이를 보여주고 있다. 鄭⁵⁾은 암소에서 6.83 \pm 0.06%, 숫소에서 7.37W/V%를 보고하였고 鄭⁴⁾은 6세 이상의 리코치에서 암소에서 6.92 \pm 0.53W/V%, 숫소에서 6.99 \pm 0.41W/V%로 보고한데 비하여 본 시험성적이 원통히 높게 나온것은 정의 보고에 따라 계절적 영향이 거의 없음을 고려한다면 실험방법이나 실험자에 따른 오차를 고려할 수도 있을 것이다.

지역차 및 성별차가 거의 없음을 나타내었고, 2세 이상의 한우에서 Albumin 양이 높은것으로 보고된데 비하여 혈청 Albumin 이 혈청 Globulin 보다 거의 전부가 적은량을 보인것은 더 많은 실험방법의 검토와 실험방법의 비교시험이 필요한 것으로 생각된다.

2. 혈청 Albumin 량과 혈청 Globulin 량

혈청 Albumin 과 혈청 globulin 의 비율은 보통 A/G ratio 로 표시되며 본 시험성적을 보면 A/G ratio 0.38 전후로서 기존성적에 비하여 Albumin 이 Globulin 보다 매우 적었음을 나타내었고 鄭, 林, 徐 등^{4,5,6,7)}이 보고한 Globulin 량 보다 많은차이를 보인것은 유의 할만하다. 일반적으로 혈청 단백질의 변동은 연령, 성별, 품종, 사료, 환경조건에 따라 다소의 변동이 알려져 있으나

3. α , β , γ -Globulin

α , β , γ -globulin 량은 지역차와 성별차는 인정되지 않았다. 그러나 개체차이가 매우 심하였다. 林이 서술한 宇井僑生氏 등의 성적 α -gl. 13.0, β -gl. 8.2, γ -gl. 38.7 과 비교하면 α -gl. 과 γ -gl. 에서 근사치를 보여주고 있으며 β -gl. 은 매우 많은량으로 나타나있다. 일반적으로 globulin 량이 높게 나오는것은 특종의 질환이나 새끼감

염에 의한 항체증가로서 설명되기도 하며 이러한점은 특히 개체차이를 크게하는 요인으로 생각된다.

결 론

2세 이상의 한우로서 20 두를 1 군으로하여 지역이 다른 2 군에서는 암소의 혈청, 1 군에서는 숫소의 혈청을 분리하고 비색법에 의하여 혈청 총단백량을 정량하였다. 각 혈청단백은 다시 염색법에 의하여 분획한 다음 각 분획을 비색법에 의하여 정량한 결과 다음과 같은 성적을 얻었다.

1. 혈청 총단백량은 지역별 또는 성별에 따라 유의차가 없었으며 암소에서 7.70 ± 0.70 (W/V)%, 숫소에서 7.66 ± 0.93 (W/V)%였다.

2. A/G ratio는 암소 2 군에서 각각 0.38 0.34, 숫소 1 군에서 0.41로 Albumin 량이 Globulin 량보다 매우 적었다.

3. α -globulin 량은 암소 2 군에서 1.49(W/V)%, 1.51(W/V)%, 숫소 1 군에서 1.31(W/V)%였다.

4. β -globulin은 암소 2 군에서 1.74(W/V)%, 1.95(W/V)%, 숫소 1 군에서 1.82(W/V)%였다.

5. γ -globulin은 암소 2 군에서 2.32(W/V)%, 2.30(W/V)%, 숫소 1 군에서 2.30(W/V)%였다.

참 고 문 헌

1. Abraham Cantaraw, Bernard Schepartz; Biochemistry, 3rd ed. W.B. Saunders Co. 1960.;804-807
2. Bernard L. Oser; Hawk's Physiologic Chemistry, 14 ed. McGraw-Hill Book Co. 1965.;1080-1081
3. 藤井暢三; 血清中總蛋白質 Albumin Globulin の比色定量 生化學實驗法, 定量篇. 13 版, 1963:372-374
4. 鄭淳東, 許麟亨, 李榮韶; 韓牛와 乳牛의 血清 總蛋白質量에 關하여. 大韓獸醫學會誌 6:37. 1966.
5. 鄭昌國; 韓國成牛의 血液學值 및 血液化學值에 關한 研究. 大韓獸醫學會誌 5:67. 1965.
6. 林鳳鎬; 濾紙電氣泳動에 依한 韓牛 及 豚의 正常 血清 蛋白質 分割에 對한 研究. 大韓獸醫學會誌 4:1, 1964.
7. 徐富甲; 濾紙電氣泳動法에 依한 氣腫痘 免疫血清 蛋白質의 分析試驗 大韓獸醫學會誌 8:45, 1968.

Studies on Separation and Determination of Korean Bovine Serum Protein by Colorimetric Method

J. H. Cho, DVM, MS

Institute of Veterinary Research

ABSTRACT

Serum Samples from adult of Korean cattles including 40 females and 20 males were analyzed by sodium salt precipitation and colorimetric method in the purpose of the determination of total serum protein, albumin, globulin, α -globulin, β -globulin and γ -globulin. The results obtained are summarized as follows:

1. Mean value of total serum protein showed a slight variation from 7.6%, and its regional and sex differences were not found to be significant.

2. Contents of albumin in serum showed lower level than that of globulin as low level of A/G ratio 0.4 in proportion.

3. Contents of Serum α -globulin showed 1.49w/v% and 1.51 ± 0.46 w/v% in each group of female, and 1.31 ± 0.26 w/v% in the group of male.

4. Contents of serum β -globulin showed 1.74w/v%, 1.95w/v%, in each group of female, and 1.82w/v% in the group of male.

5. Contents of serum γ -globulin showed 2.32w/v%. 2.30w/v% in each group of female, and 2.30w/v%, in the group of male.