Korean J. Vet. Res., Vol. 13, No. 1 (1973)

*Bordetella bronchiseptica*의 菌體成分에 관한 硏究

特히 DEAE-cellulose Chromatography에 의한 分劃精製에 대하여

康 炳 奎

全南大學校 農科大學 獸醫學科

緖 論

最近 世界 各國에서 豚의 傳染性 萎縮性 鼻炎(infectious atrophic rhinitis of swine, AR)이 豚傳染性 肺炎(swine enzootic pneumonia, SEP)과 더부러 急激히 流行하여 畜產上 큰 被害를 주고 있어 注目을 끌고 있다.

AR의 病因에 관하여서는 1830年 Franque[5]에 依하여 本病이 報告된 以來, 遺傳的 素因說, 不均衡한 飼料의 給與에 依한다는 說 등이 있었으나 현재는 傳染病이라는 것이 확인되었다[1,26,27].

本病의 病原體에 對하여서는 各種細菌, 原虫, 바이러스, 리켓치아 등 여러 가지로 의심을 하였으나 현재에는 *Bordetella bronchiseptica*(*Alcaligenes bronchisptica*, *B*菌)가 가장 有力한 原因菌으로 생각되고 있다.[1,3,7,8,22,23]

著者는 AR의 原因菌으로서 有力視되고 있는 B菌과 AR 自然感染豚의 臨床所見, 病理解剖學的變狀 및 鼻腔內細菌叢과의 關連性을 相互 檢討하여 病原學的 考察을 試圖함과 同時에 B菌感染에 대한 血淸學的診斷法의 確立 및 vaccine開發을 위한 一連의 檢討를 實施하여 報告한 바 있다.[12~14,31] 特히 菌分離, 病變 및 菌에 대한 抗體檢出을 同時에 檢査한 135例의 AR自然感染豚例에서 B菌의 關與度를 比較 檢討하였던 바, 病變이 認定된 110例中 85例(77.3%)에서 B菌에 대한 抗體가 檢出되었던 事實로 보아 現在 流行하고 있는 AR에 B菌이 가장 有力한 原因體로서 關與하고 있음을 알았다.

B菌이 AR와 密接한 關係가 있음은 明白하여져 가고 있으나, B菌에 依한 AR病變 形成機轉에 대하여서는 아직 確實히 밝혀진 바 없다. 다만 Switzer[28]는 鼻骨에 있어서 B菌의 菌體內 毒素가 칼슘(Ca) 및 燐(P) 代謝 過程의 어느 一部를 遮斷시킴으로서 病變이 形成될 것이라 推論하였고, 이어 Haris[6,9]등은 細胞膜 阻害物質을 含有하고 있는 B菌의 Boivin 抗原性物質이 mitochondria의 Ca 및 P蓄積을 抑制한다고 報告한 바 있다.

Flosdorf 등[4]은 isoelectric 및 ammonium sulfate 沈澱法에 依하여 超音波處置菌液의 上淸으로 부터 agglutinogen을 分離하였고, Smolens 등[25]은 菌浮遊液을 picric acid 및 ammonium sulfate 飽和法에 의하여 agglutinogen을 얻을 수 있었다고 報告하고 있다. Zenyoji[29]는 Smolens 등[25]의 方法에 의하여 얻어진 agglutinogen은 nucleoprotein으로서 皮膚反應抗原으로 有效함을 證明하였고, 또 Onoue 등[21]은 DEAE-cellulose chromatography에 依하여, Schuchardt[24]등은 sodium sulfate 分劃法에 依하여 agglutinogen을 分離精製하였고, 이 agglutinogen은 易熱性 毒素를 包含치 않는 單純蛋白임을 밝혀냈다. 그런데 Onoue 등[21]이 分離精製한 agglutinogen은 *B. pertussis* 菌 腹腔內 注入攻擊에 對하여 防禦力을 갖고 있음을 認定하였으나,[11] Schuchardt등[24]은 感染防禦性 物質을 證明키 어려웠다고 報告하고 있다. 最近 Nakase 등,[17,19]은 Onoue 등[21], Schuchardt 등[24]이 報告한바와 같이 agglutinogen은 單純蛋白임을 再確認하였으나, agglutinogen과 感染防禦性物質과는 全혀 關聯이 없다고 報告하고 있다.

本報에서는 B菌의 病因論的 位置의 確立과 精製抗原의 診斷面에의 應用 및 有效한 感染防禦性物質의 獲得을 爲한 基礎資料를 얻기 위한 目的으로 우선 DEAE-cellulose chromatograph에 의하여 分劃된 菌體成分에 대하여 몇가지 性狀을 檢討하여 그 結果를 報告코저 한다.

材料 및 方法

使用菌株: AR自然感染豚에서 分離한 *B. bronchiseptica*, W-1029 株, I相菌을 使用하였다. 分離由來, 保存 및 相變異의 確認方法은 前報[12~14]에 記述한 바와 같다.

供試抗血劑: I相菌 및 Ⅲ相菌의 生菌 및 死菌抗原

으로 家兎에 免疫하여 얻은 抗血淸을 供試하였으며, 免疫에 使用한 菌株 및 抗血淸의 製作方法은 前報[13,14]와 같다.

粗抗原：5%血液寒天平板培地를 사용하여 37°C에서 2日間 培養한 菌을 pH 7.4의 0.005 M phosphate buffer solution(PBS)에 50 mg/ml가 되겠금 浮遊시킨 다음 超音波發生器(東陽理工, Model 6803)로 4°C에서 10 kC, 30分間 處理한 후 同一한 溫度에서 5,000 r.p.m.으로 30分間 遠心하여 얻어진 上淸液을 粗抗原 또는 音波處理抽出液(crude antigen or sonic extracted antigen)으로 사용 하였다.

DEAE-cellulose chromatography: DEAE-cellulose (Brown Co., lot. 1394, 0.74 meq/g)를 pH 7.4, 0.005M의 PBS에 緩衝시킨 다음 2.7×50 cm의 column에 充塡시켰다. 이어 粗抗原 10 ml를 吸着시킨 다음 2°C~4°C, 每分當 2 ml 流出速度의 條件下에서 0.005, 0.01, 0.02, 0.05, 0.2 M PBS 및 0.2 M PBS+1M NaCl로 stepwise elution法에 의하여 통과 시켰다. fraction collect에 의하여 20 ml 씩 分劃된 溶出液을 蛋白量 및 K 凝集素 吸收能을 測定하여 이를 5個 分劃으로 區分하였고 各分劃은 硫酸암모니아 飽和法[30]에 의하여 濃縮시켜 生成된 沈澱物을 0.005 M PBS 및 蒸溜水로 5日間 透折하여 최종 용량이 各分劃의 1/0이 되겠금 농축 조정하여 -20°C에 保存하였다가 本 實驗에 使用하였다.

蛋白量의 測定：分劃採取한 溶出液의 蛋白量의 測定은 Lowry-Folin 法으로 測定하였다.

K 凝集素吸收試驗：Flosdorf 등[4]의 述式에 準하여 다음과 같이 實施하였다. 즉 I 相菌 抗血淸을 III 相菌으로 吸收하여 만든 因子血淸[32](凝集素價 1,280倍)의 10倍 稀釋液 0.2 ml에 溶出液 0.8 ml를 混合한 다음 37°C에서 2時間 및 4°C에서 24時間 作用시킨후 遠心하였다. 이 遠心上淸의 吸收因子 血淸에 I 相菌 formalin 死菌液(濃度는 MacFarland 第3管에 比等하게 調整)을 同量 加하여, 위와 同一한 方法으로 殘餘凝集素價를 測定하였다.

沈降反應：Crowl[2]의 microtechnique에 의한 agar-geldouble diffusion 法으로 實施하였다.

血球凝集能의 檢査：Kasuga[33] 및 Nakase[23]의 述式에 準하여 實施하였다.

毒性試驗：皮膚壞死毒性試驗은 Kasuga[33]등의 述式에 準하여 實施하였다. 즉 350~400 g의 Hartlay系 白色 guinea pig의 胸腹側皮膚의 털을 깎고 各分劃의 倍數 稀釋系列液의 0.02 ml를 皮下接種한 다음, 24時間과 48時間後에 그 腫脹의 程度 및 壞死部의 크기로써 判定하였으며, 各 分劃의 毒性 試驗은 約 15 g의 ddS系의 mouse 대한 腹腔內注射(0.5 ml)로써 20日 以內에 그 生死를 指標로 하여 結果를 判定하였다.

電氣泳動 및 免疫電氣泳動：粗抗原의 電氣泳動과 I 相菌 生菌免疫血淸과의 免疫電氣泳動은 Okoshi 등[20]의 方法에 準하여 實施하였다.

結　　果

音波處理抽出液의 諸性狀： *B. bronchiseptica*, W-1029株, I 相菌으로 만든 粗抗原과 W-1029株, I 相菌 生菌 및 死菌 免疫血淸과 H-969株, III相菌 生菌 및 死菌 免疫血淸과의 沈降反應을實施한 結果는 Fig. 1과 같다. 즉 粗抗原과 1相菌 生菌 및 死菌 免疫血淸間에 一本의 共通性인 反應線을 보였고, 生菌 免疫 血淸間에 또 다른 一本의 反應線이 나타났으나 粗抗原과 III相菌 抗血淸間에는 全혀 反應線을 認定할 수 없었다.

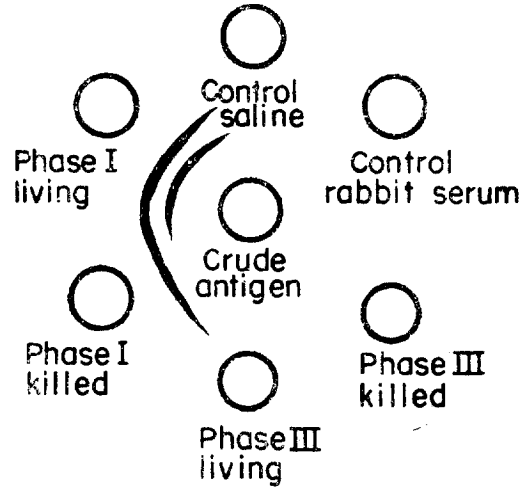

Fig. 1. Gel-diffusion precipitation tests between the crude antigen and hyperimmunized rabbit antisera prepared with the living and 100°C killed cells of each phase.

粗抗原의 電氣泳動 및 免疫電氣泳動을 實施한 結果는 Fig. 2 에 나타난 바와 같다. 즉 原點을 中心으로 陽極과 陰極側에 3個의 分劃으로 泳動되었고(Fig. 2A), 이 各 分劃은 I 相菌 抗血淸과 各各 反應하는 沈降線을 明白히 볼 수 있었다(Fig. 2B).

Table 1. K-Agglutinin Adsorbing Ability of the Fractions Obtained by DEAE-cellulose Column Chromatography

Effluents		Reciprocal Dilution of K-factor Serum*						
Fractions	Tube No.	40	80	160	320	640	1,280	2,560
DEAE-F1	1	3	3	2	0	0	0	0
	2	3	3	3	0	0	0	0
	3	3	3	3	0	0	0	0
	4	3	3	0	0	0	0	0
	5	3	3	0	0	0	0	0
	6	3	3	3	0	0	0	0
	7	3	3	3	1	0	0	0
DEAE-F2	9~19	3	3	3	3	3	1	0
DEAE-F3	20~24	3	3	3	3	3	1	0
DEAE-F4	25~31	3	3	3	3	3	1	0
DEAE-F5	33~45	3	3	3	3	3	1	0
Control**		3	3	3	3	3	1	0

*: 0.2 ml of the sample was mixed with 0.8ml of the diluted K-factor serum, and the remaining agglutinin titer was read with *B. bronchiseptica* phase I cells.

**: K-factor serum with 1 : 1,280 agglutinin titer was used.

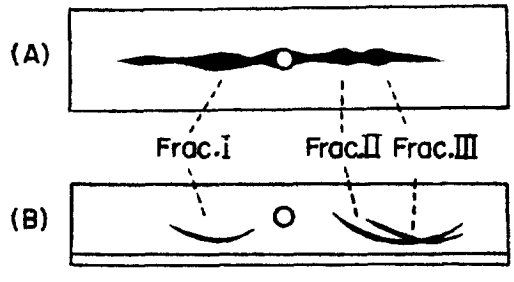

Fig. 2. Diagrammatic representation of electrophoresis and immunoelectrophoresis of *B. bronchiseptica*.
(A): Electrophoresis of the sonic extracted antigen.
(B): Immunoelctrophoresis of the antigen vs. anti-*B. bronchiseptica* phase I serum.

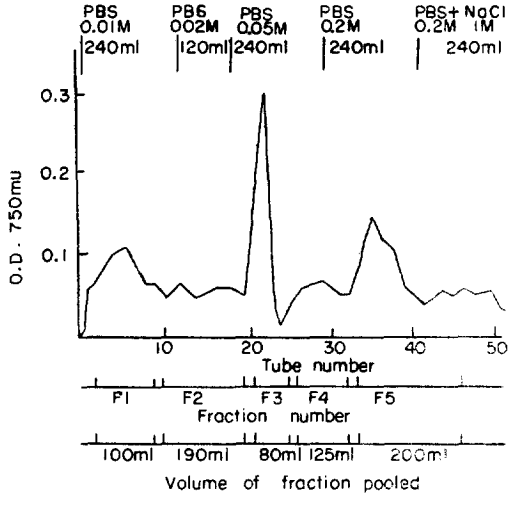

Fig. 3. DEAE-cellulose column chromatography of *B. bronchiseptica*, W-1029, phase I sonic extracted.

DEAE-cellulose Chromatography 精製分劃의 性狀: 粗抗原의 DEAE-cellulose column chromatography를 實施한 結果는 Fig. 3에 一括 表示하였다.

蛋白含量의 程度에 따라 5個分劃으로 區分하고 이를 濃縮한 各 分劃의 K-凝集素 吸收能을 조사한 바 이 吸收能은 分劃 DEAE-F1에만 存在하였으며(表 1), 皮膚壞死毒性은 第 3, 4 및 5 分劃에서 證明할 수 있었고, 特히 第5分劃은 粗抗原에 比較하여 16倍나 더 强한 毒性을 保有하고 있었다(表 2). 赤血球凝集能은 第3分劃에서만이 證明할 수 있었고, 粗抗原에서와 비슷한 凝集價를 보이고 있었다(表 3). 그리고 各分劃의 마우스 腹腔內注射에 依한 毒性은 各分劃이 다 같이 1~3日 內에 斃死시키는 毒性을 保有하고 있었으며, 第

Table 2. Skin-Necrotic Toxicity of the Fractions Obtained by DEAE-celluloose Column Chromatography

Fraction	Serial Dilution of Fraction*					
	0	2	4	8	16	32
DEAE-Fl	—	—	—	—	—	—
DEAE-F2	—	—	—	—	—	—
DEAE-F3	++	++	+	—	—	—
DEAE-F4	++	+	—	—	—	—
DEAE-F5	+++	+++	++	+	+	—
Crude	+	—	—	—	—	—

*: 0.02 ml of the samples was injected intradermally.

Table 3. Hemagglutinin Titer of the Fractions Obtained by DEAE-cellulose Column Chromatography

Fraction	Serial Dilution of Fraction					
	0	2	4	8	16	32
DEAE-F1	—	—	—	—	—	—
DEAE-F2	—	—	—	—	—	—
DEAE-F3	+++	+++	++	+	+	—
DEAE-F4	—	—	—	—	—	—
DEAE-F5	—	—	—	—	—	—
Crude	+++	++	++	+	—	—

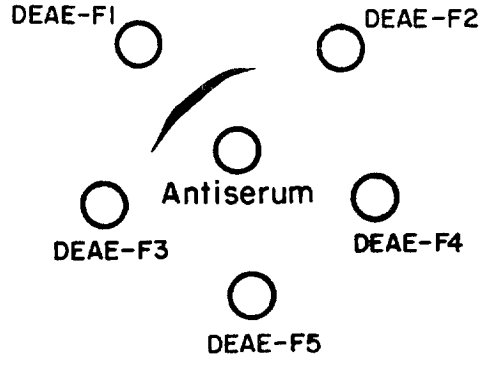

Fig. 4. Gel-diffusion precipitation tests beween the anti-*B. bronchiseptica*, phase I serum and the fractions obtained by DEAE-cellulose column chromatography.

I 分劃이 가장 毒性이 甚한 傾向을 보이고 있었다.

各分劃의 I 相菌抗血清과의 沈降反應을 實施한 結果는 Fig. 4에 表示한 바와 같이 第 I 分劃에서만이 一本의 反應線을 보이고 있는데, 이는 凝集素 吸收檢査 結果와 아울러 생각컨데 血清學的 活性物質은 主로 第 I 分劃에 存在함을 示唆하는 結果라고 보여진다.

考　　察

本報는 AR의 主要 原因菌으로 注目을 받고 있는 *B. bronchiseptica*의 菌體成分에 對한 檢討인바 菌體成分이 갖는 生物學的, 血清學的 그리고 免疫學的 諸性狀을 究明함으로써 AR感染에 있어서 B菌의 病因論的 位置의 確立에 어떤 資料를 菌側의 立場에서 究明하려 함에 있다.

우선 그 첫段階로서 B菌 I 相菌의 音波處理 上清液을 바로 DEAE-cellulose column chromatography로 分劃하여 K-agglutinogen, necrotic toxin 및 hemagglutinogen 등의 生物學的 諸性狀을 血清學的性狀과의 關聯下에서 比較檢討 하였다.

*B. bronchiseptica*의 菌體는 音波處理하여 검토한 결과 音波處理 上清液中에 大部分의 可溶性菌體成分이 含有되어 있었다. 이것은 Flosdorf 등[4]이 보고한 결과와 비슷하다. 特히 血清學的 活性成分인 agglutinogen에 DEAE-Fl이 證明할 수 있었고, 또 DEAE-F 3에 hemagglutinogen을, 그리고 DEAE-F 3, F 4 및 F 5에 皮膚壞死毒性이 있었다. 그러나 以上 몇 가지의 生物學的 및 血清學的 活性을 나타내는 成分의 感染防禦能에 대하여서는 앞으로 硏究가 더 계속되어야 규명될 것으로 본다.[11,21,24]

音波處理 上清과 生菌免疫抗血清 및 死菌免疫抗血清間에는, 生菌免疫抗血清에만이 特有한 反應線이 認定되었고 또 生菌 및 死菌免疫抗血清에 共通의 反應線이 認定되었다. 이러한 二本의 反應線 가운데 前者는 易熱性 抗原 成分이고, 後者는 耐熱性分에서 由來한 反應이며, 또한 音波處理 上清液인 粗抗原에는 I 相菌 特有의 抗原性 物質이 移行存在하고 있다. 이것은 *B. pertussis*가 두가지의 K-agglutinogen 즉 易熱抗原인 L抗原과 耐熱抗原인 S抗原을 가지고 있음을 보고한 Nakase 등[18] 및 Kasuga 등[15]의 結果와 일치된다.

I 相菌과 III 相菌이 가지고 있는 粗抗原에 依한 反應이 나타나지 않는 理由는 分明치않다. 凝集素吸收試驗 結果와 關連하여 생각할 때, 血清反應에 活性을 보이는 分劃은 分明히 DEAE-Fl에 存在하고 있음을 알 수 있다.

最近 Harris 등[6,9]은 B菌에서 抽出한 Boivin 抗原性 物質이 mitochondria의 Ca^{++}ion의 轉移에 影響을 준다는 事實을 觀察하였으며, 또 B菌의 어떤 菌體成分이 感染部位인 鼻骨成分中의 水酸化燐石灰(hydro-

apatite)로 Ca^{++}ion의 沈着을 妨害하기 때문에 病變이 形成되는 것으로 알고 있다.

本 實驗에서는 마우스에 대한 定量的 毒性試驗을 實施 못하였기 때문에 어느 分劃에 가장 毒成分이 많이 含有되어 있는지 如何는 分明치 않으나, 各分劃 共히 毒性(生菌量 約3.5 mg에 該當)을 나타내고 있었으며, 더욱 DEAE-F3, F4 및 F5에는 皮膚壞死毒性을 나타내고 있음을 볼 수 있었다. 以上의 結果에서 보건데 보다 더 純粹한 毒性分劃의 必要性이 認定되며, 또한 그 性狀을 상세히 究明함이 B菌의 AR起病性 또는 病變形成機轉의 解明에 도움이 있으리라 본다.

結　　論

Bordetella bronchiseptica, W-1029, I 相菌의 超音波處理 上淸을 DEAE-cellulose column chromatography 및 ammonium sulfate 沈澱法에 依하여 分劃하여 얻어진 各 分劃의 生物學的 및 血淸學的諸性狀을 檢討하였다.

音波處理 上淸에는 I 相菌 特有의 易熱性 抗原(L 抗原) 및 耐熱性 抗原(S 抗原)과 더불어 K凝集原, 血球凝集原 및 皮膚壞死毒性이 含有되고 있음을 證明할 수 있었다.

參 考 文 獻

1. Cross, R.F. and Claflin, R.M.: Bordetella bronchiseptica-induced porcine atrophic rhinitis., J. Am. Vet. Med. Ass., 1962, 141 : 1467.
2. Crowl, A.J.: A simplified micro double diffusion agar precipitation technique. J. Lab. Clin. Med., 1958. 52 : 784.
3. Duncan, J.R., Ross, R.F. and Switzer, W.P.: Pathology of experimental Bordetella bronchiseptica infection in swine: Atrophic rhinitis. Am. J. Vet. Res., 1966. 27 : 457.
4. Flosdorf, E.W. and Kimball, A.C.: Comparison of various physical means of liberation of the agglutinogen from H. pertussis in phase I. J. Immunol., 1940. 39 : 287.
5. Franque.: Was ist die Schnuffelkrankheit der Schweine? Deutsche Z. ges. Tierheilk., 1830. 1 : 75.
6. Harris, R.A., Harris, D. L. and Green, D.E.: Effect of Bordetella endotoxin upon mitochondrial respiration and energized process. Archs. Biochem. Biophys., 1968. 128 : 219.
7. Harris, D.L. and Switzer, W.P.: Turbinate atrophy in young pigs exposed to Bordetella bronchiseptica, Pasteurella multocida, and combined inoculum. Am. J. Vet. Res., 1968. 29 : 777.
8. Harris, D.L., Ross, R.F. and Switzer, W.P.: Incidence of certain microorganisms in nasal cavities of swine in Iowa. Am. J. Vet. Res., 1969. 30 : 1621.
9. Harris, D.L., Switzer, W.P. and Harris, R.A.: Suggested Mechanism for the pathogenesis of infectious atrophic rhinitis. Can. J. Comp. Med., 1971. 35 : 318.
10. Hink, J.H. and Johnson, F.I.: Preparation of an antigen mixture from Hemophilus pertussis by selective denaturation. J. Immunol., 1947. 57 : 323.
11. Ishii, T.: Studies on the pathogenity of intraperitoneal infection of Bordetella pertussis in mouse. 9) Studies on the role of purified agglutinogen and toxin in intraperitoneal infection and immunity. Jap. J. Bact., 1963. 18 : 458. (in japanese).
12. Kang, B.K., Koshimizu, K. and Ogata, M.: Studies on the etiology of infectious atrophic rhinitis of swine. IV. Experimental infection and protection studies with Bordetella bronchiseptica in mice. Jap. J. Vet. Sci., 1969. 31 : 34 (supplement).
13. Kang, B.K., Koshimizu, K. and Ogata, M.: Studies on the etiology of infectious atrophic rhinitis of swine. II. Agglutination test on Bordetella bronchiseptica infection. Jap. J. Vet. Sci., 1970. 32 : 295.
14. Kang, B.K., Koshimizu, K. and Ogata, M.: Studies on the etiology of infectious atrophic rhinitis of swine. III. Field survey by agglutination test in relation to incidence of B. bronchiseptica and turbinate atrophy. Jap. J. Vet. Sci., 1971. 33 : 17.
15. Kasuga, T., Nakase, Y., Ukishima, K. and Takatsu, K.: Studies on Hemophilus pertussis. I. Antigen structure of H. pertussis and its phases. Kitasato Arch. Exp. Med., 1953. 26 : 121.
16. Nakase, Y.: Studies on Hemophilus bronchisepticus. III. Differentiation of biological properties between

phase I and phase III of H. bronchisepticus. Kitasato Arch. Exp. Med., 1957. 30 : 77.
17. Nakase, Y. and Kasuga, T.: Studies on the constituents of B. pertussis. Kitasato Arch. Exp. Med., 1962. 35 : 1.
18. Nakase, Y. and Kasuga, T.: Purified K-agglutinogen of Bordetella pertussis and its properties. Jap. J. Microbiol., 1971. 15 : 247.
19. Nakase, Y., Yujita, M., Takatsu, K., Yoshioka, M. and Kasuga, T.: Immunochemical studies on antigenic components of Bordetella pertussis. Jap. J. Med. Sci. Biol., 1965. 18 : 170.
20. Okoshi, S., Tomoda, I. and Makimura, S.: Analysis of normal dog serum by immunoelectrophoresis. Jap. J. Vet. Sci., 1967. 29 : 233.
21. Onoue, K., Kitagawa, M. and Yamamura, Y.: Chemical studies on cellular components of Bordetella pertussis. I. Purification and properties of agglutinogen. J. Bact., 1961. 82 : 648.
22. Ross, R.F., Duncan, J.R. and Switzer, W.P.: Turbinate atrophy in swine produced by pure cultures of bordetella bronchiseptica. Vet. Med., 1963. 58 : 566.
23. Ross, R.F., Switzer, W.P. and Mare, C.J.: Incidence of certain microorganisms in lowa swine. Vet. Med., 1963. 58 : 562.
24. Schuchardt, L.F., Munoz, J., Verway, W.F. and Sagin, J.F.: The relationship of agglutinogen to other antigens of Bordetella pertussis. J. Immunol., 1963. 91 : 107.
25. Smolens, J. and Mudd, S.: Agglutinogen of Hemophilus pertussis, Phase I for skin-testing; theoretical consideration and a simple method of preparation. J. Immunol., 1943. 47 : 155.
26. Switzer, W.P.: Studies on infectious atrophic rhinitis of swine. III. Review of literature. J. Am. Vet. Med. Ass., 1955, 127 : 340.
27. Switzer, W.P.: Studies on infectious atrophic rhinitis. V. Concept that several agents may cause turbinate atrophy. Am. J. Vet. Res., 1956, 17 : 478.
28. Switzer, W.P.: 豚の 傳染性 萎縮性鼻炎(講演要旨) 日本家畜衛生週報, 1968. 986.
29. Zen-yoji, H.: Studies on the skin test antigen of whooping cough. Gumma. J. Med. Sci., 1952. 1 : 223.
30. 傳染病研究學友會篇：細菌學實習提要. 丸善, 東京 1958. 215.
31. 尾形 學, 輿水 馨, 康炳奎, 跡部ヒサエ, 山本孝史, 木野津南夫, 池田讃成：豚の 傳染性 萎縮性鼻炎の 病原學的研究 1. 鼻腔內細菌叢と 疾病の 關係. 日本獸醫學雜誌, 1970. 32 : 185.
32. 春日忠善, 中瀨安清, 浮島光威, 高津邦芳：百日咳菌の 研究. (1) 百日咳菌の 抗原構造と 菌型. 日本細菌學誌, 1953. 8 : 841.
33. 春日忠善, 中瀨安清, 浮島光威, 高津邦芳：百日咳菌に 關する 研究 Ⅲ各型 百日咳菌の 諸性狀. 日本細菌學誌, 1954. 9 : 53.

Studies on the Constituents of *Bordetella bronchiseptica*. Purification and Properties of the Fractions Obtained by DEAE-cellulose Column Chromatography

Byong Kyu Kang, D.V.M., M.S., Ph.D.

Department of Veterinary Medicine, College of Agriculture, Jeonnam National University

Abstract

An attempt was carried out to purify the cell components of *Bordetella bronchiseptica* by the mild procedures. From the supernatant of sonic treated colls, the K-agglutinogen, hemagglutinogen and skin necrotizing factor were separated by a successive use of DEAE-cellulose column chromatography and ammonium sulfate precipitation.

The specific activity of purified K-agglutinogen was demonstrated by a gel-diffusion test and was also found to be free from other biologically active substances of *B. bronchiseptica:* namely hemagglutinin, skin-necrotizing factor and O-antigen.