

Cellulose Acetate膜 電氣泳動法에 의한 種牡牛의 血清蛋白分割에 관한 調査

李 昌 雨

서울大學校 獸醫科大學

緒 論

소의 질병의 진단이나 病態生理의 이해를 위해서 血清蛋白分割像을 이용하려는 노력은 오래 전부터 시작되어, 각종 요인에 따르는 혈청단백분획상의 생리적 변동(2, 4~6, 8, 9, 11, 14~17, 19~26, 28, 29, 31)과 각종 질병상태에서의 변동(3, 7, 9~11, 18, 19, 22, 23, 26~28, 31)이 선인들에 의해 많이 보고되었다.

혈청단백분획 방법으로서의 沈澱法, 電氣泳動法, chromatography, 電氣泳動法, 濾過法, 等電點分劃法, 超遠心分離法, 濾過法, 免疫學的方法 등 많은 방법들이 이용되고 있지만 각 임상적사실에서는 cellulose acetate膜(이하 CAM으로 표기)을 이용한 zone電氣泳動法이 일차적으로 常用되고 있다. 그러나 CAM과 常用 barbital완충액을 이용하여 牛血清을 전기영동하던 대부분의 경우 α -글로부린(이하 α -gl로 표기)이 α_1 -gl과 α_2 -gl로 분리되지 않기 때문에 이 방법에 의한 조사결과는 대부분 알부민(이하 Al로 표기), α -gl, β -글로부린(이하 β -gl로 표기), γ -글로부린(이하 γ -gl로 표기)의 4개 분획으로만 보고되어 있다. 그런데 1974년 Kawamura²⁾는 완충액을 개량하여 35두중 30두(80%)의 혈청 α -gl을 α_1 -gl과 α_2 -gl로 분리분획하는데 성공하였다고 보고하였다.

저자는 현재까지 충분히 조사되어 있지않다고 생각되는 종모우의 혈청단백분획을 조사하여 보고함과 동시에 Kawamura 方法²⁾을 이용해서 혈청 α -gl을 세분하여 조사하려고 시도하였던 바 약간의 지견을 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

材料 및 方法

調査對象動物은 가축개량사업소에서 보유하고 있는 종모우 중에서 임상적검사, 혈액학적검사, 일반장내기생검검사, 혈청요소질소와 sorbitol dehydrogenase의 측정결과 이상이 발견되지 않는 종모우 60두를 선택하

였다. 이 종모우들은 품종별로 샤로레 17두, 홀스타인 28두, 한우 15두이었다. 이 소들에게 급여된 사료는 두당 1일 농후사료 5~6kg과 건초 약 12kg이었으며 건초의 초종은 주로 오차드그라스이었다. 가검물의 채취는 1982년 3월과 4월에 실시하였다. 대상동물의 품종별 연령분포는 Table 1과 같다.

Table 1. Age Distribution of the Bulls

Breeds Age	Charolais	Holstein	Korean	Total
Under 2 years	5			5
" 3	7	3	2	12
" 4	4	5	1	10
" 5	1	13		14
" 6		1	6	7
" 7			3	3
" 8		2	2	4
" 9		3		3
" 10		1	1	2

電氣泳動에 사용한 CAM은 Sepraphore III (Gelman)이었으며, 泳動箱은 Deluxe Chamber(Gelman)이었고, automatic computing densitometer(Gelman DCD-16)를 사용하여 525nm로 각 분획의 백분율을 측정하였다. 완충액은 barbital calcium 완충액(pH8.6, 이온강도 0.08)²⁾을 사용하였고, 通電시간은 60분이었다. 電流는 膜幅 1cm당 0.4mA群, 0.6mA群 및 1.0mA群으로 분류하여 通電한 후 泳動像을 비교관찰하였다. 膜의 염색은 ponceau-S을 사용하였고 투명화는 Septra Clear II (Gelman)를 사용하였다.

血清總蛋白量的 측정은 A-O Spencer의 refractometer를 사용하였다.

結果 및 考察

血清總蛋白量은 전체의 평균이 7.50 ± 0.50 (Mean \pm

SD, 이하 동일) g/dl이었으며, 품종별로는 샤르레가 7.04 ± 0.37 g/dl, 홀스타인은 7.62 ± 0.40 g/dl, 한우는 7.81 ± 0.43 g/dl이었는데, 분산분석결과 품종간에 유의성이 인정되었다($P < 0.01$). Kramer의 多重檢定결과는 Table 2와 같다.

종모우의 혈청총단백량에 대하여 籠田²⁰⁾은 7.37 g/dl(홀스타인, refractometer法), 趙³⁶⁾는 7.66 g/dl(한우, 뷰렛트反應), 鄭³⁵⁾은 7.37 g/dl(한우, 뷰렛트反應), 鄭³³⁾은 연령에 따라 평균 $6.16 \sim 6.99$ g/dl(한우, refractometer法)이라고 보고하였다. 友田³⁰⁾는 臼井 등의 報文을 인용하여 종모우의 혈청총단백량이 연령에 따라 평균 $6.8 \sim 7.4$ g/dl(품종미상, CAM電氣泳動法)이라고 하였다. 많은 연구자들은 소의 연령이 증가함에 따라 혈청총단백량이 증가된다는 사실에 일치하고 있으며^{1,14,16,17,30,34)}, 이 조사에서 나타난 품종간의 차이는 대상동물의 연령분포가 품종별로 균일하지 못하고, 샤르레가 홀스타인이나 한우에 비해 비교적 젊었다는 사실과 관련이 있을 것으로 사료된다.

血清A/G比는 전체의 평균이 0.93 ± 0.24 이었으며, 품종별로는 샤르레가 0.96 ± 0.16 , 홀스타인이 0.97 ± 0.24 , 한우는 0.82 ± 0.28 이었고, 분산분석결과 품종간의 차이는 인정되지 않았다. 이러한 결과는 소의 혈청단백중 Al과 gl량이 같거나, gl이 약간 많다고 한 Benjamin¹⁾의 저술과 일치하는 결과이었으나 籠田²⁰⁾은 종모우의 A/G比가 0.58 (홀스타인), 林³²⁾는 1.03 (한우), 趙³⁶⁾는 0.41 (한우), 鄭³⁵⁾은 0.86 (한우)이라고 보고하여 조사자와 실험방법에 따라 많은 차이를 나타내고 있다.

電氣泳動像은 膜幅 1cm당 0.6mA나 1.0mA를 통전시켰을 때 보다 0.4mA를 통전시켰을 때 α -gl이 더욱 선명하게 α_1 -gl과 α_2 -gl로 분리되었다. 이 결과는 통전량이 많을수록 α_1 -gl과 α_2 -gl이 넓게 전개되며, 그 결과 희미하게 염색되기 때문인 것으로 사료된다. 膜幅 1cm당 0.4mA를 통전했을 때에도 육안적으로 60두중

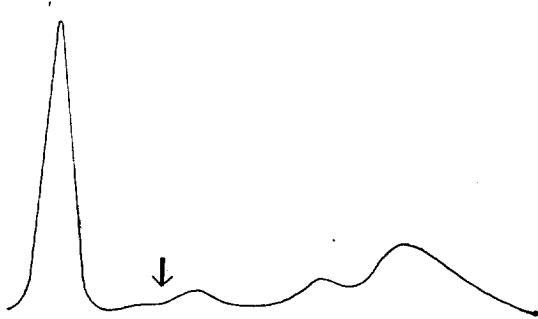


Fig. 1. Arrow indicates incomplete partition between α_1 -globulin and β_2 -globulin.

51두(85%)에서는 혈청 α -gl이 α_1 -gl과 α_2 -gl으로 분리된 것을 확인할 수 있었으나 9두에서는 확인할 수 없었다. 더욱 densitometer로 판독하였을 때에는 Fig. 1과 같이 α_1 -gl과 α_2 -gl의 분리가 분명하지 않기 때문에 α_1 -gl과 α_2 -gl의 자동측정이 불가능하였다. 그러므로 이 방법을 α_1 -gl과 α_2 -gl의 분리측정을 위한 常法으로 이용하기 위해서는 좀 더 기술적인 보완이 필요한 것으로 생각된다.

膜幅 1cm당 0.4mA의 전류로 1시간 전기영동한 단백질상을 Al, α -gl, β -gl, γ -gl, 등의 4분획으로만 분리 측정된 결과는 다음과 같다.

Al量은 전체의 평균이 3.54 ± 0.42 g/dl이었으며, 품종별로는 샤르레가 3.42 ± 0.26 g/dl, 홀스타인은 3.69 ± 0.38 g/dl, 한우는 3.39 ± 0.55 g/dl이었고, 분산분석결과 품종간의 유의성이 인정되었다($P < 0.05$). Kramer의 多重檢定 결과는 Table 3과 같다.

血清 Al量에 대해서 籠田 등²⁰⁾은 2.72 g/dl(홀스타인, 濾紙電氣泳動法), 趙³⁶⁾는 2.23 g/dl(한우, 沈澱法), 鄭³⁵⁾은 3.41 g/dl(한우, 沈澱法), 友田³⁰⁾는 臼井 등의 報文을 인용하여 연령에 따라 평균 $3.17 \sim 3.74$ g/dl(품종미상, CAM電氣泳動法)이라고 하였다.

α -gl量은 전체의 평균이 0.62 ± 0.14 g/dl이었으며, 품종별로는 샤르레가 0.61 ± 0.07 g/dl, 홀스타인은 0.60 ± 0.11 g/dl, 한우는 0.67 ± 0.22 g/dl이었고, 분산분석결과 품종간의 유의성이 인정되지 않았다. 종모우의 血清 α -gl量에 대하여 籠田 등²⁰⁾은 0.83 g/dl(홀스타인, 濾紙電氣泳動法), 趙³⁶⁾는 1.31 g/dl(한우, 沈澱法), 友田³⁰⁾는 臼井 등의 報文을 인용하여 연령에 따라 평균 $0.66 \sim 0.82$ g/dl(품종미상, CAM 電氣泳動法)이라고 하였다.

β -gl量은 전체의 평균이 0.85 ± 0.21 g/dl이었으며, 품종별로는 샤르레가 0.74 ± 0.11 g/dl, 홀스타인은 0.83 ± 0.14 g/dl, 한우는 1.02 ± 0.30 g/dl이었고, 분산분석결과 품종간의 유의성이 인정되었다($P < 0.01$). Kramer의 多重檢定결과는 Table 4와 같다.

종모우의 血清 β -gl量에 대해서 籠田 등²⁰⁾은 0.98 g/dl(홀스타인, 濾紙電氣泳動法), 趙³⁶⁾는 1.82 g/dl(한우, 沈澱法), 友田³⁰⁾는 臼井 등의 報文을 인용하여 연령에 따라 평균 $0.82 \sim 0.99$ g/dl(품종미상, CAM電氣泳動法)이라고 하였다.

γ -gl量은 전체의 평균이 2.48 ± 0.45 g/dl이었으며, 품종별로는 샤르레가 2.27 ± 0.37 g/dl, 홀스타인은 2.48 ± 0.44 g/dl, 한우는 2.72 ± 0.47 g/dl이었고, 분산분석결과 품종간의 유의성이 인정되었다($P < 0.05$). Kramer의 多重檢定결과는 Table 5와 같다.

Table 2. Total Serum Protein Levels of Three Breeds

Charolais	Holstein	Korean
7.04	7.62	7.81

Table 3. Serum Albumin Levels of Three Breeds

Korean	Charolais	Holstein
3.39	3.42	3.69

Table 4. Serum β -Globulin Levels of Three Breeds

Charolais	Holstein	Korean
0.74	0.83	1.02

Table 5. Serum γ -Globulin Levels of Three Breeds

Charolais	Holstein	Korean
2.27	2.48	2.72

종모우의 血清 γ -gl量에 대해서 籠田 등²⁰⁾은 2.84g/dl (홀스타인, 濾紙電氣泳動法), 趙³⁶⁾는 2.30g/dl(한우, 沈澱法), 友田³⁰⁾는 臼井 등의 報文을 인용하여 연령에 따라 평균 1.62~2.67g/dl(품종미상, CAM電氣泳動法) 이라고 하였다.

이상의 혈청단백분획상을 종합하면 연구자의 報告值 간에 많은 차이가 나타나는데 이러한 차이는 사양과 환경조건, 품종, 연령, 실험실조건 등의 영향 때문인 것으로 생각된다.

結 論

refractometer와 cellulose acetate膜 電氣泳動法을 이용하여 종모우의 血清總蛋白量과 血清蛋白分劃像을 조사하였다. 대상동물은 품종별로 샤로레 17두, 홀스타인 28두, 한우 15두이었다.

血清總蛋白量은 전체의 평균이 7.50 ± 0.50 (Mean \pm

SD, 이하통일)g/dl이었고, 품종별로는 샤로레 7.04 ± 0.37 g/dl, 홀스타인 7.62 ± 0.40 g/dl, 한우 7.81 ± 0.43 g/dl이었다.

barbital calcium완충액을 사용한 cellulose acetate膜 電氣泳動法으로 소의 혈청단백을 분획한 결과 膜幅 1cm당 1시간동안 0.6mA나 1.0mA를 通電시켰을 때 보 다, 0.4mA를 通電시켰을 때 α_1 -글로부린과 α_2 -글로부린의 분리가 선명하게 보였다. 그러나 automatic scanning densitometer에 의한 α_1 -글로부린과 α_2 -글로부린의 자동측정은 불가능 하였다.

血清알부민量은 전체의 평균이 3.54 ± 0.42 g/dl이었고 품종별로는 샤로레 3.42 ± 0.26 g/dl, 홀스타인 3.69 ± 0.38 g/dl, 한우 3.39 ± 0.55 g/dl이었다.

血清 α -글로부린量은 전체의 평균이 0.62 ± 0.14 g/dl이었으며, 품종별로는 샤로레 0.61 ± 0.07 g/dl, 홀스타인 0.60 ± 0.11 g/dl, 한우 0.67 ± 0.23 g/dl이었다.

血清 β -글로부린量은 전체의 평균이 0.85 ± 0.21 g/dl이었으며, 품종별로는 샤로레 0.74 ± 0.11 g/dl, 홀스타인 0.83 ± 0.14 g/dl, 한우 1.02 ± 0.30 g/dl 이었다.

血清 γ -글로부린量은 전체의 평균이 2.48 ± 0.45 g/dl이었으며, 품종별로는 샤로레 2.27 ± 0.37 g/dl, 홀스타인 2.48 ± 0.44 g/dl, 한우 2.72 ± 0.47 g/dl이었다.

參 考 文 獻

1. Benjamin, M.M.: Outline of Veterinary Clinical Pathology. 3rd. ed. The Iowa State University Press, Ames Iowa (1978) p.108.
2. Curtain, C.C.: The influence of environment upon serum immunoglobulin levels in cattle. Br. Vet. J. (1971) 127: 442.
3. Fey, H., Nicolet, J., Fellenberg, R.v. and Margadant, A.: Immunologische, serologische and immunochemische methoden zum Nachweis der Agammaglobulinämie des Kalbes. Zentrabl. Vet-med. (1964) 11: 584.
4. Fujii, S. and Yashimoto, T.: Blood compositions and their seasonal changes in dairy cattle raised by pasturing. J. Fac. Fish. Anim. Husband., Hiroshima Univ. (1973)12: 155.
5. Hansen, R.G. and Phillips, P.H.: Studies on proteins from bovine colostrum. I. Electrophoretic studies on the blood serum proteins of calves fed colostrum at various ages. J. Biol.

- Chem. (1947) 171 : 223.
6. Jameson, E., Alvarez-Tostado, C. and Sortor, H.H.: Electrophoretic studies on new-born calf serum. Proc. Soc. Exptl. Biol. & Med. (1942) 51 : 163.
 7. Kawamura, S., Yasuda, Y., Tayama, H., Moki, H., Takase, K. and Ogasawara, S.: Cellulose acetate membrane electrophoresis of bovine serum proteins using a barbital calcium buffer. Jap. J. Vet. Sci. (1974) 36 : 285.
 8. Larson, B.L. and Kendall, K.A.: Changes in specific blood serum protein levels associated with parturition in the bovine. J. Dairy Sci. (1957) 40 : 659.
 9. McLennan, M.W. and Willoughby, R.A.: Observations of serum protein values of cows during estrus, lactation, parturition and milk fever. Can. Vet. J. (1973) 44 : 233.
 10. Murray, M., Rushton, A. and Selman, I.: Bovine renal amyloidosis. A clinico-pathological study. Vet. Rec. (1972) 90 : 210.
 11. Patterson, D.S.P., Allen, W.M., Berrett, S., Ivins, L.N. and Sweasey, D.: Some biochemical aspects of clinical Johne's disease in cattle. Res. Vet. Sci. (1968) 9 : 117.
 12. Pierce, A.E.: Electrophoretic and Immunological studies on sera from calves from birth to weaning. I. Electrophoretic studies. Hyg. (1955) 53 : 247.
 13. Pierce, A.E.: Electrophoretic and immunological studies on sera from calves from birth to weaning. II. Electrophoretic and serological studies with special reference to the normal and induced agglutinins to *Trichomonas foetus*. Hyg. (1955) 53 : 261.
 14. Tennant, B., Harrold, D., Reina-Guerra, M. and Laben, R.C.: Neonatal alterations in serum gamma globulin levels of Jersey and Holstein Friesian calves. Am. J. Vet. Res. (1969) 30 : 347.
 15. 林 朝舜, 川島 毅: 乳牛における血清蛋白の研究. 日獣會誌 (1961) 14 : 109.
 16. 林 信一: 乳牛の血清蛋白分劃, とくに年齢および妊娠による變動. 獣畜新報 (1975) 636 : 352.
 17. 藤田 孝: 管内乳牛の電気泳動法による一所見. 獣畜新報 (1975) 636 : 353.
 18. 福田幾光, 戸田光敬, 齋藤保二: いわゆる牛流行性感胃の感染経過における血清蛋白の電気泳動的研究. 日獣會誌 (1957) 10 : 328.
 19. 飯塚三喜, 野口一郎, 常包 正, 杉浦邦紀, 岩田神之助, 勝屋茂實, 吉田信行: 乳牛營養の野外實態調査. III. 血清蛋白質, A/Gおよびグロブリン反応について. 獣畜新報 (1959) 268 : 1325.
 20. 籠田勝基, 其田三夫, 小林好作: 乳牛血清蛋白量の正常値に関する研究. 日獣會誌 (1960) 13 : 69.
 21. 小林好作: セルローズアセテート膜電気泳動による臨床的健康牛の血清蛋白像について. 獣畜新報 (1967) 454 : 970.
 22. 小峰仙一, 白井和哉, 渡邊昇藏, 杉浦邦紀: 牛肝蛭虫卵と血清絮状反應及び血清總蛋白, 同分屑比の關係について. 日獣會誌 (1955) 8 : 11.
 23. 森 貫一: 日立蛋白計による乳牛の血清蛋白量に関する調査. 日獣會誌 (1958) 11 : 155.
 24. 新林恒一, 米村壽男: 放牧に伴うホルスタイン育成牛の血清蛋白質, 尿素, 遊離アミノ酸濃度の變化. 日畜會報 (1972) 43 : 677.
 25. 西村 正美: 乳牛の血液生化學的分析値について. 獣畜新報 (1975) 636 : 352.
 26. 郷間和夫, 村松梅太郎, 高橋雅人, 中根淑夫, 矢澤嗣夫, 小野口勝巳, 森重直橋: 乳用種 去勢牛の肝膿瘍と肝機能検査法について. 獣畜新報 (1977) 667 : 95.
 27. 島田保昭: 牛の臨床診斷における生化學的検査の應用について. 獣畜新報 (1969) 500 : 869.
 28. 島田保昭, 齋藤健光, 溝内高充, 山崎宗延, 楠統一郎: 牛における肝てつ 人工感染に伴う血液性状の變化と Bromsulphalein fractional clearance 試験. 日獣會誌 (1976) 29 : 319.
 29. 友田 勇: 家畜血清蛋白に関する濾紙電気泳動學的研究. I. 健康家畜の血清蛋白像. 日獣會誌. (1962) 24 : 337.
 30. 友田 勇: 臨床血液化學検査の考え方 (IV). II. 血漿蛋白質. 日獣會誌 (1978) 31 : 284.
 31. 山岡弘二: 佐々木良和, 池田義文, 山崎一男, 瀬尾和範, 藤井彰人: セルローズアセテート膜による, と畜の血清蛋白電気泳動法の應用. 日獣會誌 (1976) 29 : 327.
 32. 林鳳鎬: 濾紙電気泳動法에 의한 韓牛 및 豚斗 正常血清蛋白質分劃에 對한 研究. 大韓獸醫學會誌 (1964) 4 : 1.

33. 鄭淳東, 許麟洙, 李榮韶 : 韓牛와 乳牛의 血清總蛋白量에 關하여. 大韓獸醫學會誌 (1966) 6 : 37.
34. 鄭淳東, 曹熙澤, 李榮韶 : 乳山羊과 乳牛의 血清總蛋白量에 關하여. 大韓獸醫學會誌 (1968) 8 : 65.
35. 鄭昌國 : 韓牛成牛의 血液學值 및 血液化學值에 關한 研究. 大韓獸醫學會誌 (1965) 5 : 97.
36. 조종후 : 미세법에 의한 한우혈청단백질의 분획정량 시험. 大韓獸醫學會誌 (1971) 11 : 145.

Cellulose Acetate Membrane Electrophoresis of Bull Serum Protein

Chang-Woo Lee, D. V. M., M. S., Ph. D.

College of Veterinary Medicine, Seoul National University

Abstract

Total protein levels of 60 bovine bull sera were measured with refractometer and the serum proteins were fractionated by cellulose acetate membrane electrophoresis and the relative amount of each fraction was measured with automatic scanning densitometer. The sixty bovine bulls consisted of 17 Charolais bulls, 28 Holstein bulls and 15 Korean bulls.

Mean total serum protein level of the total bulls was 7.50 ± 0.50 (Mean \pm SD), with the mean of Charolais 7.04 ± 0.37 g/dl, the mean of Holstein 7.62 ± 0.40 g/dl and the mean of Korean 7.81 ± 0.43 g/dl.

As barbital-calcium buffer was used in fractionating the bovine serum protein with cellulose acetate membrane, electric current of 0.4 mA per centimeter width of the membrane for an hour resulted in more clear separation between α_1 -globulin and α_2 -globulin than electric current of 0.6 or 1.0 mA for an hour. However α_1 -globulin and α_2 -globulin could not be measured separately with automatic scanning densitometer.

Mean serum albumin level of total bulls was 3.54 ± 0.42 g/dl, with the mean of Charolais 3.42 ± 0.26 g/dl, the mean of Holstein 3.69 ± 0.33 g/dl and the mean of Korean 3.39 ± 0.55 g/dl.

Mean serum α -globulin level of the total bulls was 0.62 ± 0.14 g/dl, with the mean of Charolais 0.61 ± 0.07 g/dl, the mean of Holstein 0.60 ± 0.11 g/dl and the mean of Korean 0.67 ± 0.23 g/dl.

Mean β -globulin level of the total bulls was 0.85 ± 0.21 g/dl, with the mean of Charolais 0.74 ± 0.11 g/dl, the mean of Holstein 0.83 ± 0.14 g/dl and the mean of Korean 1.02 ± 0.30 g/dl.

Mean serum γ -globulin level of the total bulls was 2.48 ± 0.45 g/dl with the mean of Charolais 2.27 ± 0.37 g/dl, the mean of Holstein 2.48 ± 0.44 g/dl and the mean of Korean 2.72 ± 0.47 g/dl.