

꽃사슴(Formosan deer)의 Hemoglobin型에 관한 研究

林 英 在 · 鈴 木 正 三*

龍仁自然農園 · 東京農業大學*

(1984.4.4 接受)

Studies on the Hemoglobin Phenotype in Formosan Deer (*Cervus nippon*)

Young-jae Lim and Shozo Suzuki*

Yong-In Farm Land Animal and Hospital, Tokyo University of Agriculture*

(Received April 4, 1984)

Abstract: The hemoglobin phenotype and the gene frequencies of 44 Formosan deer (*Cervus nippon*) in Kyung-Gi area were examined by using cellulose acetate and starch gel electrophoresis.

1. The method of cellulose acetate electrophoresis was simpler, more clear and preservative than starch gel electrophoresis.

2. The hemoglobin phenotype was appeared 3 types as Hb^F HL^F and Hb^S. The frequencies of appearance were Hb^F 47.7%, Hb^F 47.7% and Hb^S 4.5%, respectively.

3. The genetic factors of hemoglobin were observed as Hb^F and Hb^S and the rates of gene frequencies were 71.6% and 28.4%, respectively.

緒 論

一般家畜에 관한 血液型의 研究는 Ehrlich 및 Morgenthau¹⁾에 依해서 牛 및 山羊의 赤血球에 個體의 差가 있다는 것이 發見된 以來 많은 研究者에 依해서 여러動物의 血液型, 唾液型 및 血清型에 관한 研究가 發表^{1,3,17~38)} 되었으며, 最近에는 hemoglobin型(Hb型), transferrin型(Tf型), albumin型(Alb型) 등의 血液蛋白質과 血清의 alkaline phosphatase型, amylase型, ceruloplasmin型, 血球의 carbonic anhydrase型 등의 酵素型(isozyme)에 關해서 많은 研究 結果가 發表되었^{31~33)} 우리나라에서도 一般家畜에 對한 血液蛋白質型에 對해서 金 및 많은 研究者들^{17~24)}에 依해서 發表되었^다.

牛의 Hb型에 關한 研究는 Cabannes와 Serain⁵⁾이 濾紙電氣泳動法에 依하여 Algerian Hill 牛에서 2個의 Hb型 變異體를 發見함으로써 시작되었^다. 그후 Bangham과 Blumberg²⁾는 移動도가 빠른 Hb-A와 移動도가 느린

Hb-B의 遺傳에 對하여 調査한 結果 이들은 常染色體上의 遺傳子에 依하여 支配된다고 報告하였^다. 그後 Crockett 등⁷⁾은 電氣泳動時 Hb-A와 Hb-B의 中間에서 檢出되는 第三의 變異體를 發見하여 Hb-C로 命名하였^다. Carr⁶⁾는 Zambia의 Angoni種으로부터 Hb-D Zambia, Oishi 등¹¹⁾은 韓牛와 黃牛로부터 Hb-X 및 Hb-y, Braend⁴⁾는 Hb-G, 金 등¹⁹⁾은 反芻動物의 hemoglobin型에 關한 研究에서 韓牛의 Hb型을 AA, AB, BB, AC 및 AD型을 報告하였^{으며}, Han과 Suzuki¹⁰⁾는 韓牛에서 Hb-A보다 移動도가 느린 變異體를 發見하여 Hb-H로 命名하는 등 많은 研究가 進行되었^{으며} 羊 및 山羊에 있어서는 Suzuki 및 李 등의 많은 研究者^{8,12~16,19,22,23,25,28~30,33,37,38)}에 依하여 調査되었^다.

그러나 사슴에 關해서는 그 報告를 接할 수 없는 狀態임으로 本 研究는 꽃사슴의 Hb型을 starch gel 電氣泳動法과 cellulose acetate(Titan® III-H)에 依하여 分析하여 꽃사슴의 Hb型의 遺傳子 構成을 把握함과 同時

에 他品種과의 遺傳의 近緣性을 檢討하여 꽃사슴 및 他 사슴(Wapiti, Red deer 등)과의 交雜에 對한 根原의 把握과 앞으로 사슴類의 血統改良에 도움이 될 知識을 얻 爲자 本 實驗을 實施하였다.

材料 및 方法

採血 및 hemoglobin液製法

主로 京畿地域의 사슴農場에서 飼育하고 있는 꽃사슴의 鹿茸採取時 혹은 移動이나 其他 理由에서 捕獲時 頸靜脈이나 鹿茸切角部에서 採血하였다. 大部分의 境遇 抗凝劑를 使用하지 않았으며 凝固된 血液의 血清을 分離한 後 나머지 血塊를 applicator로 粉碎한 後 血塊와 分離된 赤血球를 4~5倍量의 生理的 食鹽水로 3回以上 洗滌하였다. 이 洗滌된 血球에 血球의 約 1.5倍量의 蒸溜水를 添加하여 溶血시키고 chlorform을 血球와 거의 同量加한 後 즉시 密栓하여 甚하게 (약 2~3分間) 振盪한 것을 5000~6000 rpm으로 10分間 遠心分離하여 strroma를 除去하였다. 이 溶血液에 蒸溜水를 添加하여 2% hemoglobin溶液을 만들어 使用하였다.

電氣泳動方法

a. starch gel method: 電氣泳動은 水平式 澱粉 gel 電氣泳動法에 依하여 實施하였다. 즉 阿部 등³¹⁾의 方法에 依하여 electrode buffer와 gel buffer를 만들었고 starch gel의 濃度는 12%로 하였다. 試料은 2% hemoglobin 液을 7mm×4mm 크기의 濾紙(Toyo filter paper, No.2)에 浸透시켜서 gel內에 插入시켰다. 電氣泳動은 50°C內외의 冷室에서 200 Volt로 3시간 泳動하였으며, amido black 10B의 飽和溶液에 10分間 染色하고 methanol : water : acetic acid(5 : 5 : 1)의 混合液으로 1~2日間 脫色하였다.

b. cellulose acetate method: 電氣泳動에 使用된 cellulose acetate膜은 Titan® III-H (Helena 社製)를

利用하였으며 Titan® III-H를 super-Heme buffer (Tris-EDTA-Boric acid, pH8.6, $\mu=0.025$)에 1~2時間 沈積한 後 濾紙로 가며게 눌러 餘分의 緩衝液을 除去하고 固定板위에 acetate膜을 固定한후 super z (Helena applicators)로 約 0.25 μ l씩 塗布한 後 Zip zone chamber (Helena)의 各極에 上記의 緩衝液을 50ml씩 넣고 350 Volt에 25分間 常溫에서 泳動하였다. Ponceau S에 1~3分間 沈積染色 하였으며 5% acetic acid로 본 바탕이 白色이 될 때까지 脫色液을 交換하면서 脫色하였다.

結 果

國內에 飼育중인 健康한 꽃사슴(*Cervus nippon*) 44頭(♂ : 39, ♀ : 5)에 對하여 hemoglobin을 水平式 澱粉 gel 電氣泳動法과 cellulose acetate法에 依하여 電氣泳動을 實施한 結果 Fig. 1 및 Fig. 2와 같이 hemoglobin이 分離되었으며 hemoglobin의 泳動像은 hemoglobin의 型에 따라서 泳動帶의 移動度에 差異가 있음을 發見할 수 있었으나 澱粉 gel法과 cellulose acetate法과는 같은 結果를 나타내었다. 同一 個體의 hemoglobin의 泳動像은 서로 비슷하여 hemoglobin phenotype의 分類에 있어서는 一致한다고 하겠다. 그러나 澱粉 gel法 보다는 cellulose acetate에 依한 分析方法이 더 簡單하고 便利하며 더 細密한 것으로 나타났다.

사슴의 hemoglobin phenotypes을 泳動帶의 移動度에 依하여 分類하면 Fig. 1 및 Fig. 2와 같이 移動度가 빠른 F type과 移動도가 느린 S type 그리고 S type과 F type이 同時에 나타나는 FS type 등 3型으로 나타났다.

各型의 出現頻度는 Table 1에 表示된 바와 같이 總 44頭中 F type이 21頭(47.7%), FS type이 21頭(47.7%)였고 S type은 2頭(4.5%)밖에 없었다. hemoglobin



Fig 1. Hemoglobin phenotypes in Formosan deer by starch gel electrophoresis.

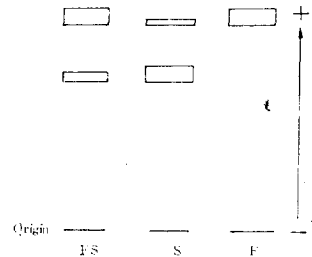


Fig 1-1. Schematic diagram of hemoglobin phenotype in Formosan deer by starch gel electrophoresis.

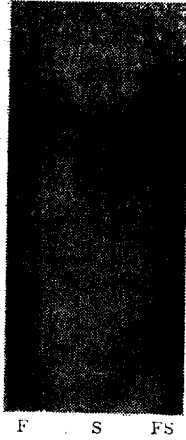


Fig 2. Hemoglobin phenotypes in Formosan deer by cellulose acetate electrophoresis.

Table 1. Hemoglobin types and gene frequencies of Formosan deer

No. of Formosan deer	Phenotypes			Gene frequency	
	F	FS	S	Hb ^F	Hb ^S
44	21	21	2	0.716	0.284

型和 그 出率頻도에 依해서 hemoglobin型 支配遺傳子 는 Hb^F 및 Hb^S가 存在함을 알 수 있으며 그 遺傳子의 出現頻도는 Table 1에서 보는 바와같이 Hb^F는 0.716이 었으며 Hb^S는 0.284였다.

考 察

反芻動物인 牛에 있어서 佐佐 등³²⁾은 Hb型을 AA, BB, CC, AB, BC, AC, AX 및 CY의 6型으로 그리고 水牛 에 있어서는 F와 FS型으로 분류하였다. 緬羊에 있어서는 佐佐 등³²⁾과 金 등¹⁹⁾에 依해서 A, AB 및 B型으로 보고되었으며, 山羊에 있어서는 金 등¹⁹⁾은 1種의 Hb型 을 報告하였으나 Efremo와 Braend⁸⁾은 緬羊과 같이 3 型으로 分類된다고 하였다.

京畿地域에서 採血된 꽃사슴의 hemoglobin pheno type의 調査成績은 F型, FS型 및 S型으로 分類되었으 며 앞으로 더 넓은 地域과 더 많은 頭數의 檢査에 依해 서 Hb型의 數가 더 늘어날 것으로 推定된다. 現在 一 部農場에서는 品種改良을 目的으로 꽃사슴과 Red deer (赤鹿)와의 交雜種을 만들거나 Red deer와 Wapiti(一 名 Elk)와의 交雜種을 만들고 있다. 이것은 交雜에 依

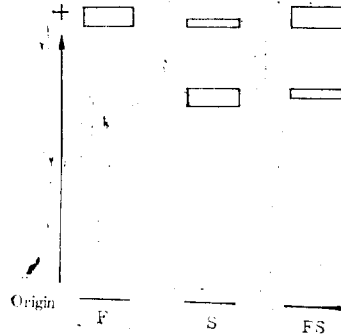


Fig. 2-1. Schematic diagram of hemoglobin phenotype in Formosan deer by cellulose acetate electrophoresis.

한 더 많은 Hb型이 나타날 것을 示唆하는 것이다. 즉 現在까지 몇頭 안되는 Red deer와 Wapiti의 Hb型을 調査했는데 Red deer에서 3型의 Hb型을 發見할 수 있 었고, Wapiti에서 2가지型의 Hb型을 發見할 수 있었다. Wapiti의 2種類의 Hb型중 1種은 꽃사슴의 F型보다 더 빠른 移動度를 보였으며 다른 1種은 꽃사슴의 FS型 과 비슷하나 F와 S사이의 間隔이 더욱 좁은 것으로 나 타났다. 以上에서 言及한 바와같이 더 많은 頭數의 檢 査에 依해서 Hb型의 數가 늘어날 것으로 推定되며 또 交雜에 依하여 더 많은 hemoglobin의 表現型이 나타날 것으로 생각된다.

結 論

꽃사슴의 hemoglobin phenotype과 그 出現頻도를 調査하기 위하여 主로 京畿地域의 꽃사슴 44頭에 對하 여 cellulose acetate 電氣泳動法과 水平式 澱粉 gel 電 氣泳動法에 의하여 電氣泳動을 實施하여 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. cellulose acetate에 依한 電氣泳動法이 澱粉 gel 電氣泳動法에 依한 것보다 簡便하며 더 鮮明할 뿐 만 아니라 永久保存이 可能하다.
2. hemoglobin phenotypes은 Hb^F, Hb^{FS}, Hb^S의 3 型으로 分離되었으며 이들의 出現頻도는 Hb^F가 47.73%, Hb^{FS}가 47.73%, Hb^S 4.54%였다.
3. hemoglobin型 支配 遺傳子는 Hb^F, Hb^S로 그 出 現頻도는 Hb^F가 71.6%, Hb^S가 28.4%이었다.

謝辭; 本 論文에 關하여 積極協助하여 주신 全南大學

校 金宇權教授님 그리고 龍仁自然農園의 孫炳鎬理事님
과 職員 여러분께 感謝드립니다.

參 考 文 獻

1. Abe, T.: The phlogeny of the East Asian cattle studied by blood typing. Japan Agr. Res Quart. (1970) 5 : 35
2. Bangham, A.D. and Blumberg, B.S.: Distribution of electrophoretically different hemoglobins among some cattle breeds of Europe and Africa. Natre. Lond. (1958) 181 : 1551.
3. Braend, M.: Hemoglobin and transferrin type in the American buffralo. Nature. (1963) 197 : 910.
4. Braend, M.: Hemoglobin variants in cattle. Animal Blood. Grps biochem. (1971) 2 : 15.
5. Cabannes, R. and Serain, C.: Heterogeneity 1. Hemoglobines Bovides, Indentification electrophoretique de deux Hemoglobines bovines. C.R., Soc. Biol. Paris (1955) 149 : 7.
6. Carr, W.R.: The hemoglobins of indigenouse breeds cattle in central africa. Rhod. J. agrie (1964) 9 : 94.
7. Crockett, J.R., Koger, M. and Chapman, Jr. H.L.: Genetic variation in hemoglobin of beef cattle. J. Anim. Sci. (1963) 22 : 173.
8. Efremov, G. and Braend, M.: Hemoglobines, transferris and albumins of sheep and goats. Europ. Anim. Blood Group. Conf. (1964) 9 : 313.
9. Ehrlich, P. and Morgenoth, T.: Aus dem Institut für experimentelle Therapie in Frankfurt a M. Über Haemolysine. Berliner Klinische Wochenschrift. (1900) 37 : 453.
10. Han, Sang Kee. and Suzuki, S.: Studies on hemoglobin variants in Korean cattle, anim. Blood Grps biochem. Genet (1976) 7 : 21.
11. Oishi, T., Abe, T., Suzuki, S. and Namikawa, T.: Hemoglobin pholymorphisms in East Asia cattle and Formosan water Buffalo. Immunogenetics Letter (1968) 5 : 170.
12. Suzuki, S. and Watanabe, S.: Studies on the serological constitution of goats. anim. blood grps biochem. (1968) 7 : 513.
13. Shimaoka, T., Tanaka, K. and Suzuki, S.: Availability as paternity test of nine loci on blood protein polymorphisms in six sheep breeds. J. Agr. Sci. (1981) 3 : 251.
14. Watanabe, S., Nozawa, K. and Suzuki, S.: Studies on the transferrin of goat. 1. Typing of transferrin of goat serum by starch gel electrophoresis. Furu hats. M.J.A. (1935) 4 : 326.
15. Watanabe, S. and Suzuki, S.: Studies on the transferrin of goat. II. Inheritance mode of serum transferrin types. Proceedings of Japan Academy (1966) 42 : 178.
16. Watanabe, S. and Suzuki, S.: Studies on the transferrins of goats 3. Evidence for a third transferrin allele. Anim. Blood Grps biochem. (1973) 4 : 23.
17. 金宇權 : 獸의 血液型에 관한 研究. 農漁村開發研究 (1970) 5 : 123.
18. 金宇權 : 개의 Hemoglobin, Albumin 및 Transferrin의 型에 관한 研究. 大韓獸醫學會誌 (1974) 14 : 11.
19. 金宇權, 李載洪, 金五南, 林貞澤, 韓邦根 : 反芻動物의 Hemoglobin型에 관한 研究. 農漁村開發研究 (1977) 12 : 33.
20. 金宇權, 李載洪, 林貞澤, 韓邦根 : 乳牛의 血液蛋白質型에 관한 研究. 全南大論文集 (1979) 25 : 355.
21. 李載洪 : 韓牛의 血液型에 관한 研究. 農漁材開發研究 (1970) 5 : 151.
22. 李載洪, 金宇權 : 山羊의 血清 Transferrin型에 관한 研究. 農漁村開發研究 (1975) 10 : 219.
23. 李載洪 : 澱粉 gel 電氣泳動法에 의한 염소의 血清 Albumin型에 관한 研究. 大韓獸醫學會誌 (1975) 15 : 19.
24. 林鳳鎬 : 血清蛋白質分劃에 對한 研究. 大韓獸醫學會誌 (1965) 5 : 1.
25. 勝又誠, 天野卓, 田中一榮, 野澤謙, 朴根植, 朴鳳祥, 李載洪 : 韓國在來山羊における 血液蛋白質의 遺傳子構成. 日畜會報 (1982) 53 : 521.
26. 日本在來家畜調查團 : 日本在來家畜調查團報告 (1969) 3 : 92.
27. 日本在來家畜調查團 : 日本在來家畜調查團報告 (1970) 4 : 49.
28. 赤木昭治, 渡邊誠喜, 鈴木正三 : 緬羊의 血清學的體質에 關する 研究. 1. 血球抗原의 分類. 日本畜産學會報 (1968) 39 : 511.
29. 赤木昭治, 渡邊誠喜, 鈴木正三 : 緬羊의 血清學的體

- 質に関する研究. IV. 緬羊血球と他種動物血球間の共通性抗原について. 日本畜産學會報(1970)41:63.
30. 赤木昭, 渡邊誠喜, 鈴木正三: 緬羊の血清學的體質に関する研究. IV. 血液型抗原 およびその抗體の免疫化學的性狀について. 日畜會報(1971) 42:513.
31. 阿部恒夫, 大醇雄, 鈴木清三, 天野卓, 近藤恭司, 野澤謙, 並河鷹夫, 熊崎一雄, 古賀修, 林田重幸, 大塚閔一: 東亞の在來家畜に 關する研究. 1. 東アジアにおける牛の血液型存うびに蛋白質の多型現象について. 日畜會報(1968) 39:523.
32. 佐佐木清綱監修: 家畜の血液型とその應用. (1971) 養賢堂. 東京.
33. 島岡達朗, 田中一榮, 角田健司, 鈴木正三: め人羊における血球中の Hemoglobin α . β . X-protein 及び NADH diaphorase 並びに血漿中の Alkaline phosphatase 及び Transferrin の 遺傳的變異. 東京農業大學 農學集報(1980) 25:145.
34. 池本卯典: 人類の血液型と動物の血液型(上). 獸醫畜産新報(1966) 434:1212.
35. 池本卯典: 人類の血液型と動物の血液型(中) 獸醫畜産新報(1966) 437:1388.
36. 池本卯典: 人類の血液型と動物の血液型(下) 獸醫畜産新報(1967) 439:72.
37. 鈴木正三, 渡邊誠喜: 緬羊の血液型に関する研究. 1. 血球抗原の分類と型特異的抗原物質の血清化學的性質. 東京農業大學 家畜育種學研究室創設15周年記念論文集(1965):29.
38. 鈴木正三, 茂木一重, 細田達雄: 山羊の血液型に関する研究. II. 型物質の血清化學的性狀並びに山羊の血清型. 日畜會報(1956) 27:191.