

한우 복강 및 피하지방 감소 다클론 항체가 반추위 발효패턴 및 혈액 대사물질에 미치는 영향

최창원* · 백경훈** · 김성진* · 오영균* · 홍성구* · 권응기* · 송만강*** · 최창본**
농촌진흥청 국립축산과학원*, 영남대학교**, 충북대학교***

Effects of Polyclonal Antibodies to Abdominal and Subcutaneous Adipocytes on Ruminal Fermentation Patterns and Blood Metabolites in Korean Native Steers

Chang Weon Choi*, Kyung Hoon Baek**, Sung Jin Kim*, Young Kyoon Oh*, Seong Koo Hong*, Eung Gi Kwon*,
Man Kang Song*** and Chang Bon Choi**

National Institute of Animal Science, RDA*, Yeungnam University**, Chungbuk National University***

ABSTRACT

Sixteen ruminally cannulated Korean native steers (Hanwoo; 626.2 ±47.72 kg) were used to investigate the effects of polyclonal antibodies against abdominal (AAb) and subcutaneous adipocyte membrane proteins (SAb) on ruminal fermentation patterns and blood metabolites. The body weight (BW) of Hanwoo was decreased 2-weeks after AAb and SAb injection, BW reduction was also observed in control and non-immunized serum groups, indicating that stress induced by other factors (e.g. blood sampling etc.) rather than antibodies injection may affect the BW reduction. Antibodies treatment did not affect ($P > 0.05$) rumen pH, volatile fatty acids and ammonia-N concentration. The ranges were similar with typical ranges of those in Hanwoo. Compared with control, blood urea N concentration was decreased in AAb group and increased ($P < 0.05$) in SAb group before antibodies treatment. However, none of the groups were significantly ($P > 0.05$) affected at 2- or 4-weeks after the treatment. Concentration of plasma glucose in the non-immunized serum group was significantly higher ($P < 0.05$) than the other groups at 0-week after treatment. However, antibodies treatment did not affect the concentration of plasma glucose. Concentration of plasma triglyceride showed no difference ($P > 0.05$) between the groups and ranged from 11.4 to 19.9 mg/dl, which is the perfect range of plasma triglyceride of Hanwoo fed concentrate based diets. In conclusion, these results may indicate that the present AAb and SAb have safety in nutritional physiological metabolism in Hanwoo. Further study on *in vivo* fat reduction of the antibodies against abdominal and subcutaneous adipocytes PMPs of Hanwoo is required for inedible fat-reduced high quality beef production.

(Key words: Hanwoo, Polyclonal antibody, Ruminal fermentation, Blood metabolites, Fat)

I. 서 론

영양생리학적으로 동물의 근내 지방 축적은 체지방 축적의 마지막 단계로써 근육의 증가와 동시에 복강지방 등 불가식 체지방의 증가도 동반되어 육량 등급이 낮아지기 때문에, 가축 체내 과도한 불가식 지방 함량은 식육 산업에서 고려해야 할 중요한 부분 중 하나이다 (Flint, 1992). 이에 따라 불가식 지방을 감소시켜 생산비를 절감하고 지방 함량이 낮은 육제품을 소비자에게 제공하기 위한 많은 방법들이 연구되어 왔다 (Choi 등, 2008; Kim 등, 2007). Flint 등 (1986)에 의해 wister 흰쥐 지방세포 원형질막 단

백질에 대한 항혈청으로 시작된 지방세포 감소 항체 연구는 면양 (Nassar 등, 1991a, b), 돼지 (Kestin 등, 1993; Choi와 Lee, 1996; Choi 등, 1998)로 확대하게 되었고, 우리나라 고유 축종인 한우 (Choi 등, 1997)에서도 시도되었다. 한편, Choi 등 (2008)은 타장기 (심장, 신장, 간장, 폐, 근육 및 비장세포)에 영향을 주지 않으면서도 지방부위별 선택적 감소가 가능한 다클론 후보항체 결과를 발표하였다. Choi 등 (2008)이 개발한 복강 및 피하지방 항체들은 *in vitro* 시험에서 모두 항원으로 이용된 부위의 지방세포 원형질막 단백질과 가장 높은 반응을 보여 선택적 지방감소 항체 가능성이 시사하였다. 하지만, 현재까지의 연구들은 항체의

Corresponding author : Chang Weon Choi, National Institute of Animal Science, RDA, Suwon 441-706, Korea. Tel: +82-31-290-1646, Fax: +82-31-290-1660, E-mail: cwchoi@korea.kr

생산 및 항체가 가지는 지방세포 독성효과 등에 초점이 맞춰져 항체 접종 시 가축의 소화생리 등 영양생리학적 안전성에 대한 연구는 전무하다. 특히 동물복지에 대한 관심이 최근 높아지면서 동물을 이용한 연구 등에서 실험 처리로 발생할 수 있는 동물의 생리학적 변화에 미치는 영향을 구명하는 것은 선행되어 해결하여야 할 문제이다.

따라서, 본 연구는 한우 체지방 감소 쇠고기 생산을 위해 개발한 복강(AAb) 및 피하지방 감소 항체(SAb)(Choi 등, 2008)를 이용하여 생체 주사 처리 시 한우의 체중, 사료의 반추위 발효패턴 및 혈액대사물질에 미치는 영향을 조사하고자 실시되었다.

II. 재료 및 방법

1. 한우 부위별 체지방 감소 항체 생산

본 연구에서는 Choi 등(2008)에 의해 발표된 한우 부위별(복강 및 피하) 체지방 감소 항체를 사용하였다. 간략하게 체지방 감소 항체 생산 방법을 설명하면 다음과 같다.

2. 한우 지방세포 원형질막 단백질 분리

Kestin 등(1993)의 방법을 이용하여 한우 복강 및 피하 지방세포 원형질막 단백질을 분리하였다. 지방조직에서 혈관 및 결합조직 등을 최대한 제거하면서 가위로 잘게 세절한 후, digestion media (DMEM (Hyclone SH30243.01), 0.1% collagenase (Sigma, C6885), 30% bovine serum albumin (BSA, Sigma A2153))와 지방의 비율을 2:1로 하여 shaking water bath에서 collagenase digestion (42°C, 90 min)을 실시하였다. Digestion 후 37°C에서 5분간 정치하여 미성숙한 지방세포들로 구성된 하층을 제거한 후 성숙한 지방세포들을 선택적으로 추출한 후 collagenase를 제거한 digestion media (washing media)로 2~3회 세척하여 순수한 지방세포만을 추출하였다. Membrane extraction medium (MEM: 0.25M sucrose, 0.01M Na₂HPO₄, 2 mM EGTA, 200 ml distilled water, pH 7.4)을 이용하여 지방세포를 파괴하고 중성지방 층 제거 후, 하층액을 4°C, 110,000 × g에서 1시간 동안 초고속 원심분리 하였다. 생성된 pellet을 32% sucrose media와 함께 현탁하고, 다시 원심분리 후 원심분리관에 생성된 단백질 밴드만을 따로 취하였다. Pellet의 양에 따라 적당량의 MEM을 첨가한 뒤 DC Protein assay kit (Bio-rad 500-0116, USA)를 이용해 단백질 농도를 측정 한 뒤, 항원으로 사용하였다.

3. 한우 부위별 지방 특이 항체의 생산 및 역가 측정

한우 부위별 지방 특이 항체의 생산을 위한 면역주사는 Baek 등(2005)의 방법에 따라 면양을 이용하여 실시하였다. 수컷 면양 (Corriedale, 60 kg)의 피하 3 부위에 분리된 지방세포 원형질막 단백질을 면역주사 하였으며, 최초 면역주사 이후 2차례 더 boosting 면역주사를 3주 간격으로 실시하였다. 1차 면역접종 전 면양의 경정맥을 통해 혈액을 채취한 뒤 상온에서 1시간 정치시켜 혈액을 응고시키고, 2,800 rpm에서 30분간 원심분리 하여 비면역혈청을 분리하였다. 또한, 마지막 면역접종이 끝난 후 12일째에 채혈한 후 비면역혈청 분리 시와 동일한 방법으로 항혈청(항체)을 분리하였다. 위의 방법으로 생산한 한우 부위별 지방에 대한 항혈청들은 Kestin 등(1993)과 Choi 등(1997) 방법에 따라 405nm에서 흡광도를 측정하여 항체의 역가를 확인하였다. 본 연구에 사용된 항체는 희석배율 1:1,000배를 기준으로 비면역혈청은 항원-항체 결합 반응이 거의 측정되지 않았으나, AAb 및 SAb는 희석배율 각각 1:128,000배 및 1:64,000배까지 항원-항체 반응이 감지되어 본 연구에서 사용된 부위별 지방 특이 다클론 항체가 지방세포 원형질막 단백질에 대해 매우 강한 역가를 가진 것으로 판단된다 (Choi 등, 2008).

4. 한우 부위별 체지방 항체 처리

Choi 등(2008)에서 개발한 AAb 및 SAb를 반추위 캐놀라가 장착된 거세한우 16두에 주사하여 주사 처리 전 및 주사 후 4주간 체중, 반추위 발효패턴 및 혈액대사물질에 미치는 영향을 실시하였다 (Fig. 1).

5. 시험동물의 공시 및 사양관리

공시축으로는 반추위 캐놀라가 장착된 거세한우 16두 (626.2 ± 47.72 kg)를 처리구당 4 두씩 4 처리구 (무처리구, 비면역혈청 처리구, AAb 처리구 및 SAb 처리구)로 임의 배치 하였다. 사료는 사료적응기에 볏짚과 배합사료를 2:

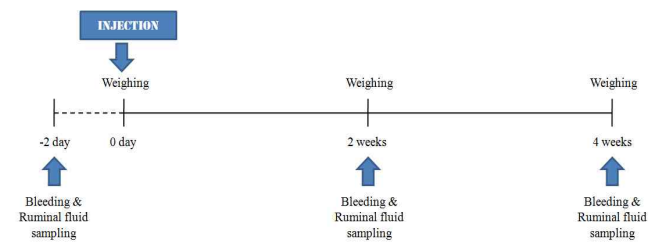


Fig. 1. Experiment outline for investigating the effects of immunization of antisera developed against abdominal or subcutaneous fats from Korean native steers (Hanwoo) on ruminal fermentation patterns and blood metabolites in Hanwoo.

8의 비율로 급여하고, 시험기간 동안은 볏짚과 배합사료 모두 사료적응기 섭취량의 90% 수준으로 급여하여 공시 축이 전량 섭취하도록 하였으며, 일일 2회 (09시 및 17시) 급여하였고 미네랄 블록과 음수는 자유채식 시켰다. 사료 섭취량은 사료적응기 뿐만 아니라 전 시험기간 동안 매일 측정하였으며, 시험개시 후부터는 일일 사료섭취량을 1주일 간 평균 사료섭취량(처리구별 주간 사료섭취량)으로 계산해 결과로 제시하였다. 체중은 항체주사 전(0주), 항체주사 후 2주 및 4주에 개체별로 측정하였다.

6. 체지방 항체 처리

개발된 항체인 AAb 및 SAB는 0.45 µm filter로 정제된 뒤 사용하였으며, 주사는 정제된 항체 50 ml를 시험개시일 (0 day)에 5 부위 (10 ml/site)에 1 회 피하주사 하였다. 무처리구(음성대조군)는 주사처리를 하지 않았고, 비면역혈청 처리구(양성대조군)는 항원주사를 하지 않은 면양의 혈액을 채취하여 항체처리구와 동일한 방법으로 주사 처리하였다.

7. 반추위 발효패턴 및 혈액대사물질 분석

(1) 반추위 pH, VFA 및 암모니아

반추위액은 항체 주사 전, 항체주사 후 2주 및 4주되는 날 각각 채취하였으며, 사료급여 30분 전에 0시간대 sampling을 시작으로 사료급여 후 1, 3, 5, 7 시간대 별로 채취한 뒤 8겹의 cheesecloth로 걸러주어 사료입자를 제거하였다. 반추위 pH 측정은 반추위액 채취 즉시 pH meter (Corning Pinnacle model 530 pH meter, Artington, UK)를 이용하여 실시하였다.

휘발성지방산 (volatile fatty acid, VFA)은 채취한 반추위액을 8겹의 cheesecloth로 여과한 후, 미생물의 활력을 정지시키기 위해 위액 5 ml당 HgCl₂ 0.05 ml를 첨가하고 gas chromatography (GC) 분석을 위한 internal standard인 pivalic acid를 0.2 ml 넣고 vortexing 하였다. 그 후 sample을 3,000 rpm에서 20분간 원심분리 하고 상층액 만을 취하여 1.5 ml microtube에 냉동보관(-70°C) 하였다. VFA 분석 시에는 sample을 해동하여 12,000 rpm에 5분간 원심 분리한 뒤 다시 상층액을 취하여 Erwin 등 (1961)의 방법을 이용하여 GC (Varian model CP-3800, USA)로 분석하였다. VFA 함량은 VFA 표준용액의 검량선과 비교하여 결정하였으며, VFA 표준용액은 5% metaphosphoric acid, 0.1% iso-butyric acid, 0.1% acetic acid, 0.1% valerate, 0.1% propionic acid, 0.1% iso-valerate 및 0.1% butyric acid를 혼합하여 제조하였다.

암모니아 함량은 Chaney와 Marbach (1962)의 방법으로

분석하였다. VFA 분석과 마찬가지로 반추위액을 채취 및 여과한 후 HgCl₂를 첨가하여 3,000 rpm에서 20분간 원심분리 하여 상층액을 1.5 ml microtube에 담아 냉동보관(-70°C) 하였다. 분석 시 시료를 해동하여 12,000 rpm에 5분간 원심 분리한 뒤 상층액 0.02 ml를 취하여 phenol color reagent와 alkali-hypochlorite reagent를 1 ml씩 첨가한 뒤 37°C에서 15분간 정치시켰다. 정치 후 증류수 8 ml를 혼합하여 spectrophotometer (UVIKON 923 Double beam UV/VIS, Milan, Italy)를 이용하여 630 nm에서 optical density값을 측정하였으며, 시료 내의 최종 암모니아 함량은 표준물질(암모니아 표준용액 (2.5, 5, 10, 20, 40 mg NH₃-N/100ml))의 검량선과 비교하여 계산하였다.

(2) 혈액 대사물질 분석

부위별 체지방 감소항체 주사 처리 전, 주사 후 2주 및 4주에 경정맥을 통해 각각 채혈을 실시하였다. Heparin 처리된 10ml vacutainer (BD Vacutainer Systems Preanalytical Solutions, BD Vacutainer, USA)로 채혈한 후, 원심분리 (3,000 rpm, 15 분)를 통해 혈장을 분리하여 분석 전까지 -70°C에서 냉동보관 하였다. 본 연구에서는 혈액 대사물질 중 사료영양소의 이용 효율을 가늠할 수 있는 중요한 지표인 blood urea nitrogen (BUN), glucose 및 triglyceride (TG) 농도를 생화학 자동분석기 (CIBA-Corning, Express Plus, USA)를 이용하여 분석하였다.

8. 통 계

본 연구에서 도출된 반추위 발효패턴 및 혈액 대사물질 결과에 대한 실험구 간 및 항체처리 전·후 간 통계분석은 SAS 통계 package (2002)에 포함된 일반선형모형 (GLM procedure)를 이용하여 분산분석을 실시하였으며, 유의성 검증은 Duncan (1955)의 다중검정법으로 95% 신뢰수준에서 검증하였다. 단, 사료섭취량은 4마리씩 실험처리구별 사료를 급여한 바, 두당 사료섭취량에 대한 통계처리는 실시하지 않았다.

III. 결과 및 고찰

1. 한우 부위별 체지방 감소 항체 생산

본 연구의 주 목적인 한우 부위별 체지방 감소 항체의 생체 주사 시 반추위 발효패턴 및 혈액 대사물질에 미치는 영향을 탐색하기 위해 생산된 항체는 기 발표 (Choi 등, 2008)된 바와 같이 높은 항체의 역가를 나타내었음은 물론 *in vitro* 시험을 통해 타장기 안전성 역시 확인하였다. 또한, *in vitro* 세포배양을 통해 지방세포에 대해 매우

강한 결합력(파괴효과)을 가진 항체임을 확인하였다(see Choi 등, 2008). 따라서, 본 고에서는 항체 개발관련 결과 및 고찰은 생략하기로 한다.

2. 사료섭취량 및 체중

Fig. 2는 한우 체지방 감소항체 주사 시 사료섭취량의 변화를 측정된 것이다. 사료적응기의 사료섭취량과 비교하여 항체 주사 처리시점 (Treatment 표시) 이후 사료섭취량이 전체적으로 감소되는 것으로 나타난 것은 항체의 처리로 인한 영향이 아니라 시험설계에 따라 사료적응기 대비 90% 제한급여로 나타난 현상이다. 하지만 1 주치의 사료섭취량을 살펴보면 대조구 및 비면역혈청 처리구의 사료섭취량과는 달리 항체 처리구 (AAb 및 SAb)에서 다소 낮아지며 그 후 회복되어 시험종료 시(4주)까지 각 처리구 간 특이한 차이를 나타내지 않았다. 본 연구에서와 같이 체지방 감소를 목적으로 생산한 다클론 항체에 의해 사료섭취량이 급격히 감소한 경우가 여러 차례 보고되어져 왔는데, Futter 등 (1992)은 Wistar 흰쥐에 지방세포에 대한 항체를 처리한 경우, 항체처리구의 사료 섭취량이 대조구에 비해 유의적으로 감소하고, 항체처리구의 체중도 감소하였다고 보고하였으며, Flint (1998)는 암컷 Zucker rat에 항혈청을 처리한 경우, 사료섭취량이 약 40% 감소하였으며, 초기 면역주사 후 항혈청을 처리한 쥐는 비정상적인 움직임을 나타내었다고 하였다. 국내에서는 Baek과 Choi (2002)는 흰쥐를 이용한 시험에서 흰쥐 체지방 다클론 항체 처리 시 항체처리구에서 일시적인 사료섭취량의 감소를 나타내었으나 점차 회복되어 시험종료 시 각 처리구간 차이는 없음을 보고하였다.

본 연구에서 한우에 직접적으로 주사 처리된 AAb 및 SAb에 대한 공시축 의 체중 변화는 Fig. 3과 같다. 무처리

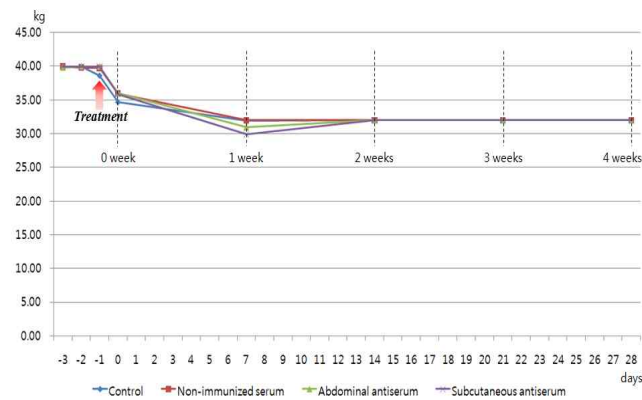


Fig. 2. Effect of immunization of antiserum developed against abdominal or subcutaneous fats from Korean native steers (Hanwoo) on feed intake in Hanwoo.

구를 포함하여 실험처리구 모두 항체 주사 시점을 지나면서 체중이 수치적으로 감소하는 패턴을 나타내었으나 ($P > 0.05$), 시험 종료시점에는 체중이 다시 시험 전 수준으로 회복됨을 확인할 수 있었다. 처리시점 후 체중의 감소가 무처리구에서도 일어나는 것으로 봐서 2주에 관찰된 체중의 감소는 항체의 처리 영향 보다는 혈액채취 및 반추위 sampling 등 다른 요인의 stress에 의한 일시적 체중 감소인 것으로 생각된다. 또한 항체 주사 처리 후 4주차의 모든 실험처리구에서 유사한 형태로 체중이 회복되는 것으로 봐서 본 연구에서 사용된 AAb 및 SAb는 한우의 성장에 특별한 영향을 미치지 않는 것으로 사료된다. Baek (2004)은 한우 전체지방을 이용한 다클론 항체 개발 연구에서 한우 체지방 감소 항체 주사 시 한우의 체중에 특이한 영향을 미치지 않는다고 보고하여 본 연구의 결과와 유사하였다. 또한, 비록 축종은 다르지만 돼지의 지방세포 원형질막 단백질에 대한 항체를 이용한 연구에서도 항체 처리가 동물의 체중에 특이한 영향을 미치지 않는다고 보고하였다 (Baek 등, 2007).

따라서, 사료섭취량 및 체중 변화 결과를 볼 때, 사료섭취량 감소 이후 두 항체 처리구 모두 무처리구 및 비면역항체 처리구와 마찬가지로 급여한 사료를 모두 섭취하였고, 일반적으로 서로 밀접한 관계가 있는 사료섭취량과 체중 변화에 있어서 처리구간 차이가 없었던 것은 한우 부위별 체지방 감소 항체 처리에 의한 한우의 육성성적에 미치는 영향은 없다고 판단된다.

3. 영양생리 안전성

현재까지 체지방 감소를 위한 지방 다클론 항체 주사 처리 시 반추위 발효 패턴 등 영양생리대사에 미치는 영향에 대한 연구는 본 연구가 최초이다. 따라서, 기존 연구

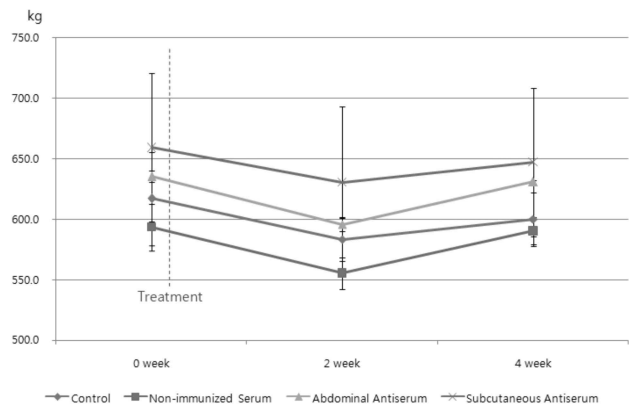


Fig. 3. Effect of immunization of antiserum developed against abdominal or subcutaneous fats from Korean native steers (Hanwoo) on the change of body weight in Hanwoo.

결과와 현재 결과와의 비교 및 고찰은 불가능하였으며, 다만 일반적인 사료 급여 시 나타나는 영양생리적 반응 수준 등에 대한 기존 연구와 비교하여 현재 개발된 항체에 대한 생체 영양생리 안전성 유무를 고찰하였다.

4. 반추위 pH 및 휘발성 지방산

Fig. 4는 항체 처리에 의한 반추위 pH 변화를 나타낸 결과이다. 반추위 pH는 항체 처리 전, 처리 후 2 주 및 처리 후 4주에 시간대별로 측정하였다. 실험처리구 모두 사

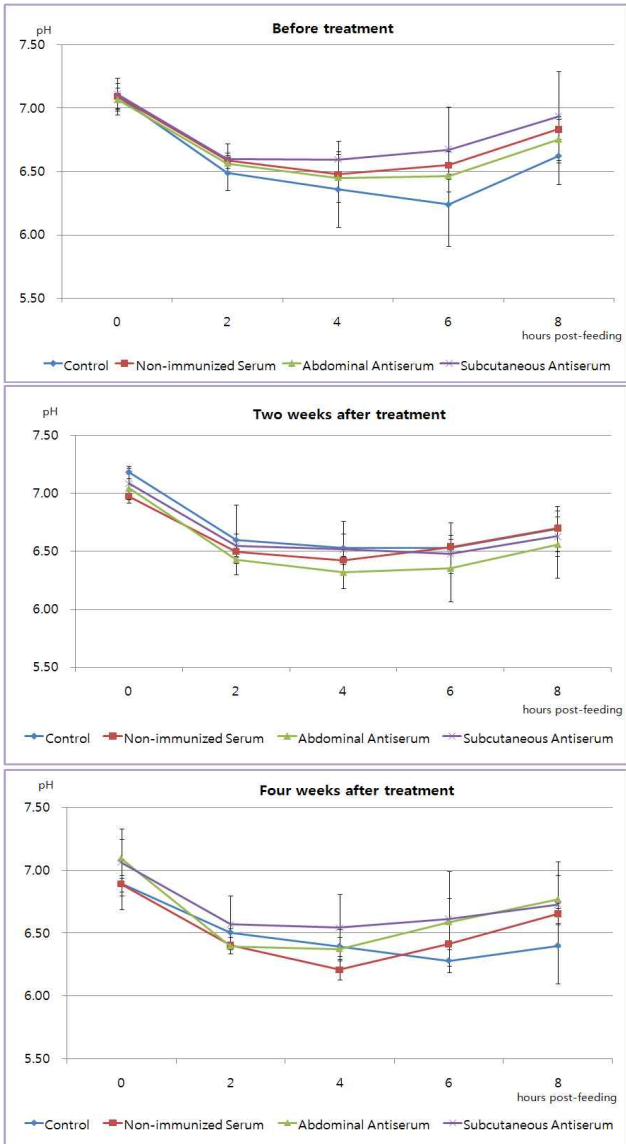


Fig. 4. Effect of immunization of antiserum developed against abdominal or subcutaneous fats from Korean native steers (Hanwoo) on ruminal pH in Hanwoo.

료섭취 후 pH가 감소하기 시작하여 사료섭취 후 6 hr 및 8 hr에 다시 증가하는 전형적인 반추위 pH 패턴을 보였고 실험처리구간 및 항체 주사 처리 전·후 간 유의적 차이도 나타나지 않았다($P > 0.05$). 또한 휘발성 지방산 역시 항체 처리 및 시험처리구간 유의적 차이가 나타나지 않았다($P > 0.05$; Fig. 5). 사료 섭취 전인 0 hr보다 사료 섭취 후 반추위의 pH가 떨어지는 것은 본 연구에서 급여한 사료의 농후사료 비율이 높기 때문에 나타나는 일반적인 특징으로, 저작이 많이 요구되는 조사료에 비해 농후사료가 섭취속도가 빠르고 (Putnam 등, 1967), 농후사료가 빛질에 비해 반추위에서의 분해속도가 빠르므로 (Lee 등, 2004), 사료급여 직후 pH가 감소되는 것은 반추위내의 농후사료 분해율이 높아졌다는 것을 의미하는 결과이다. 본 시험에서 나타난 반추위 pH 수준은 대조구 및 처리구에서 공히 6.2 이상의 pH를 유지하는 것으로 미루어 볼 때, 항체의 처리로 인한 반추위 pH의 저하로 섬유소의 분해율이 감소하는 결과는 나타나지 않는 것으로 판단되며 (Hoover, 1986), 정상적인 미생물체단백질 합성을 위한 적정 pH 범위 (6.3~ 7.4; McCullough, 1973)에서 유지되는 것으로 확인되었다. 본 연구에서 반추동물의 에너지 이용효율을 확인하는 중요한 지표 중 하나인 VFA 농도 차이가 없음은, 항체 처리가 반추동물의 에너지 이용성 등에 특이적 영향을 미치지 않는다는 사실을 시사한다. 따라서 본 연구에서 사용된 한우 부위별 체지방 감소항체는 반추위 pH 및 VFA에 어떠한 영향도 미치지 않는 것으로 확인되었다.

5. 반추위 암모니아 N

Fig. 6에 나타난 바와 같이 항체 주사 처리 전 암모니아 수준에서 비면역혈청 처리구의 암모니아 수준이 AAb 및 SAb 처리구에 비해 높은 것으로 나타났으나 ($P < 0.05$), 이는 항체를 처리하기 전의 수준이기 때문에 항체 처리와는 무관한 것으로 사료되며, 단지 개체 차이에 기인한 결과라 생각된다. 또한 항체 주사 처리 전·후 간에는 실질적으로 항체를 처리한 AAb 및 SAb 처리구 간에는 유의적 차이가 나타나지 않았다 ($P > 0.05$). Satter와 Slyter (1974)에 따르면 반추위 내 암모니아 농도가 50 mg/L 이상을 유지할 때 미생물체 단백질의 합성량을 극대화 할 수 있으며, 특별히 반추위 미생물의 발효를 억제하지 않는다고 하였다 (Wilson and Kennedy, 1996). 본 연구에서 항체 주사 처리 후 시험구 모두에서 사료처리 후 2시간 경과 시 최고치를 나타내었고 이후 서서히 감소하는 경향을 보였다. Erdman 등 (1986)과 Tamminga (2006)에 의하면 반추위 내 암모니아 농도는 사료의 소화(분해) 속도가 빠를수록 미생물이 이용할 수 있는 질소의 양이 많아져 증가하게 되며, 사료 내 단백질의 농도와 그에 따른 사료 내 미생물의 단

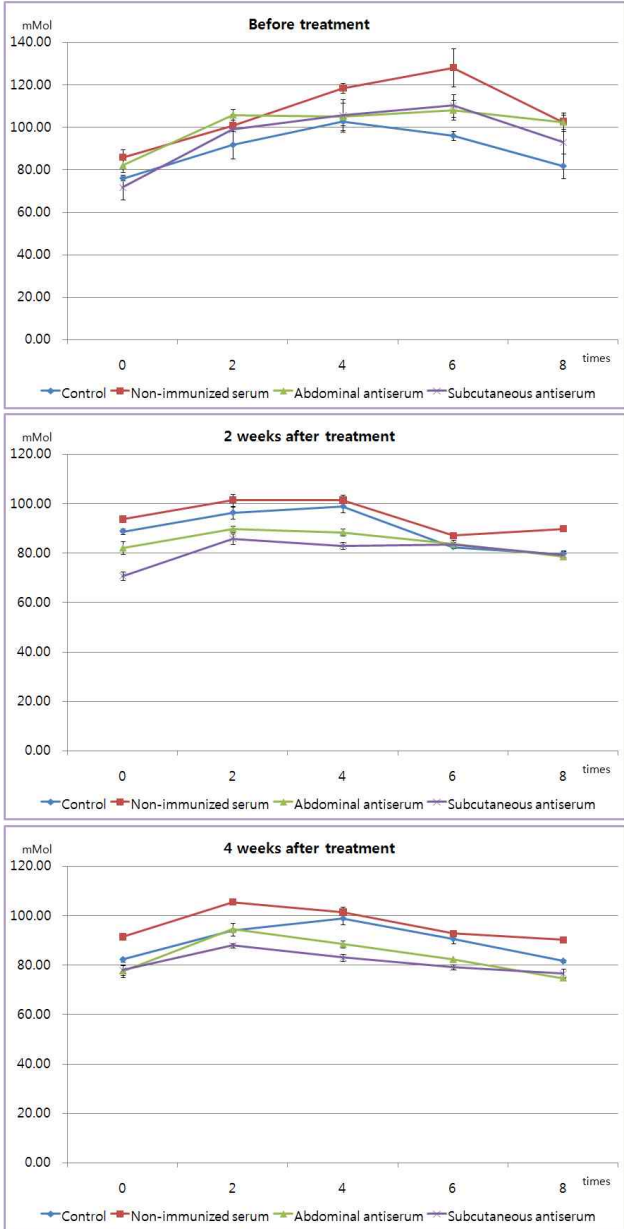


Fig. 5. Effect of immunization of antiserum developed against abdominal or subcutaneous fats from Korean native steers (Hanwoo) on total volatile fatty acid concentration in the rumen of Hanwoo.

백질 분해도의 증가는 암모니아의 생성량을 증가시킨다고 보고하였다 (Armentano 등, 1993). 본 시험에서 시험처리군 모두 같은 양의 단백질을 함유한 사료를 급여하였으므로, 암모니아 생성량의 증가는 반추위 미생물의 사료단백질 분해를 증가와 연관 지어 생각할 수 있다. 또한 암모니아의 농도는 pH의 영향을 받는데, Ahn (2007)은 반추위내의 pH가 낮아짐에 따라 암모늄염(NH₄⁺)의 농도가 높아지고,

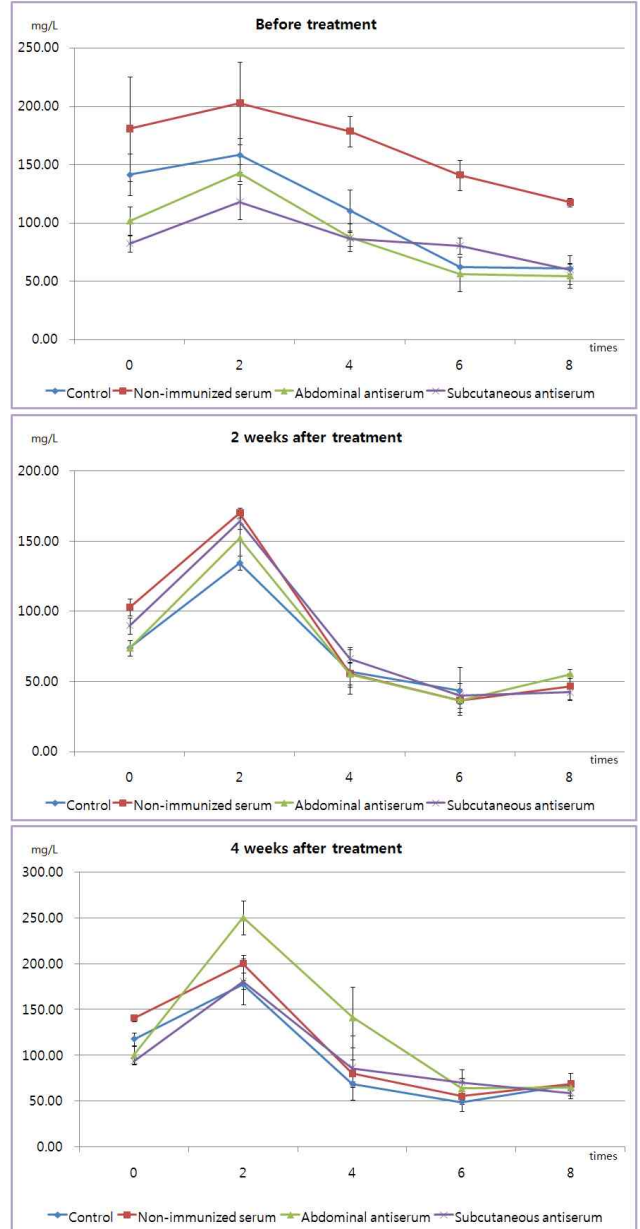


Fig. 6. Effect of immunization of antiserum developed against abdominal or subcutaneous fats from Korean native steers (Hanwoo) on ammonia-N concentration in the rumen of Hanwoo.

암모늄염은 유리 형태의 암모니아보다 반추위 내에서의 흡수율이 낮아 pH와 암모니아 농도는 반비례 관계를 보이게 된다고 하였으며, 이는 본 연구의 결과와도 일치하는 것이다. 결론적으로 본 시험 전반에서 나타난 암모니아 수준은 정상적인 수준 및 패턴으로 본 연구에서 개발한 항체가 반추위 암모니아 수준에 어떠한 영향도 미치지 않은 것으로 판단된다.

6. 혈액 대사물질

혈액 대사물질의 농도는 혈류 내로 유입된 대사물질의 농도를 통해 가축의 영양소 이용과 대사를 직접적으로 측정할 수 있어 반추위의 발효성상과 함께 영양생리 연구에 있어서 중요한 지표로 알려져 있다 (Kwon 등, 2005; Raghuvansi 등, 2006). Fig. 7-9는 항체의 주사 처리에 의한 한우 혈액 내 BUN, glucose 및 TG 농도 변화를 나타낸 것이다. 0주차(처리 전)의 혈액 내 BUN 수준을 보면 무처리를 기준으로 AAb 처리구는 낮게, 반면에 SAb 처리구는 높게 나타났다 ($P < 0.05$). 그러나, 이는 처리 전 한우의 혈액 내 BUN 함량이므로 항체 처리에 의한 효과가 아닌 시험축 간의 개체차이라고 추정될 수 있으며, 또한 비면역혈청처리구(처리 전) 역시 유의적으로 높게 나타남을 미루어 볼 때 ($P < 0.05$) 시험처리보다는 다른 요인들(채혈, 반추위 샘플링 등)에 의한 스트레스에 기인하는 것으로 추정된다. 처리 후 2 주 및 4 주차의 혈액 내 BUN 함량을 살펴보면 처리구간 특이한 차이를 확인할 수 없었으며 ($P > 0.05$), 농도 또한 10~20 mg/dl로 일반적인 수준 범위에 있는 것으로 나타났다 (Kwon 등, 2005). 한편, AAb 처리구에서 항체 주사 처리 전·후 간 통계적 유의성이 나타났는데 ($P < 0.05$), 항체 주사 처리 후 2주 및 4주차의 BUN 수준이 오히려 항체 주사 처리 전 수준보다 일반적인 수준인 것으로 판단되고 (Kwon 등, 2005), 항체 주사 후 실험처리구 간 유의적 차이가 나타나지 않는 것으로 미루어 볼 때 항체 주사 처리에 의한 영향은 미미하다고 사료된다. 반추동물에 있어서 질소의 이용 효율을 가늠할 수 있는 중요한 지표인 혈액 내 BUN 농도의 증감은 단백질 합성이 일어나는 조직에서 질소의 축적현상을 반영하는 것이라고 볼 수 있다 (Enright 등, 1990). 일반적으로 반추위 내 암모니아 생성량이 증가하게 되면 반추위 벽으로 흡수되는 암모니아의 양이 늘어나게 되고 이것은 간에서 요소 합성량을 증가시켜 궁극적으로 혈액 내 BUN 수치가 높아지게 된다 (Ahn, 2007). 따라서 본 시험에서 항체 주사 처리 후 실험처리구 간 BUN 농도에 유의적 차이가 없는 것은 항체의 처리에 의한 반추위 내 암모니아 수준에 미치는 영향이 없는 것과 동일한 결과라고 판단된다.

본 시험에서 나타난 혈액 내 glucose 농도는 BUN과 유사하게 항체 주사 처리 전 비면역혈청처리구에서 유의적 차이를 나타내었으나 ($P < 0.05$), 항체 주사 처리 전이므로 큰 의미를 부여할 수 없다 (Fig. 8). 실제 항체 주사 처리 후 2 주 및 4 주에서는 처리구별 유의적 영향은 없었고 ($P > 0.05$), 항체 주사 처리 전·후 간 통계적 유의성도 나타나지 않았다 ($P > 0.05$). 본 연구에서 나타난 혈액 내

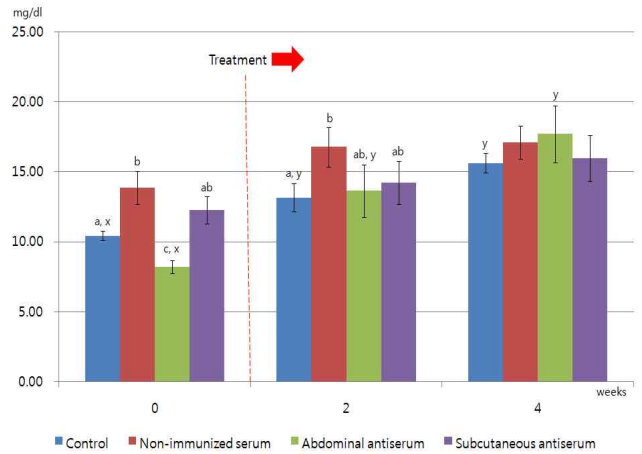


Fig. 7. Effect of immunization of antiserum developed against abdominal or subcutaneous fats from Korean native steers (Hanwoo) on blood urea-N concentration in Hanwoo. Mean±S.E. (n=4). Values with different letters a, b or c are different between 4 groups within the same time and x or y are different between 3 times (0, 2 and 4 weeks) by the same group ($P < 0.05$).

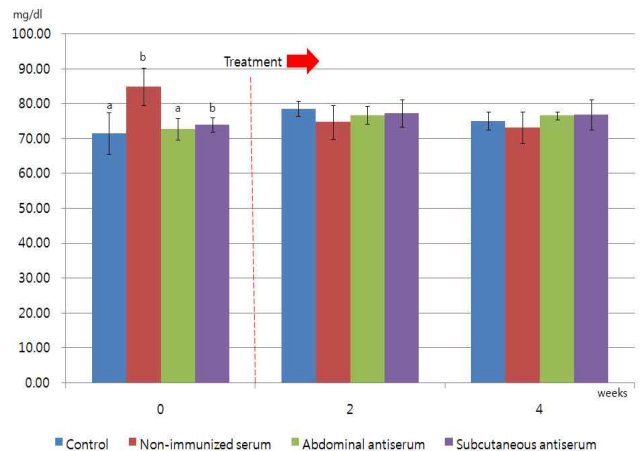


Fig. 8. Effect of immunization of antiserum developed against abdominal or subcutaneous fats from Korean native steers (Hanwoo) on plasma glucose concentration in Hanwoo. Mean±S.E. (n=4). Values with different letters a or b are different between 4 groups within the same time ($P < 0.05$).

glucose 농도 수준은 일반적인 고에너지 사료 다급 시 나타나는 수준의 glucose 농도라고 판단된다 (Kwon 등, 2006). 사료에서 분해된 탄수화물은 혐기상태에서 VFA를 생성하기 때문에 (Campbell and Farrell, 2003), 혈중 glucose 농도가 높다는 것은 반추위에서의 propionate의 흡수가 증

가하여 gluconeogenesis를 통해 많은 양의 glucose가 생성되었거나 소장에서 glucose 흡수율이 높아진 것으로 해석된다. 일반적으로 반추동물에 있어서 지방산 합성의 주요 탄소원은 단위동물과 달리 glucose 보다는 acetate를 이용한다고 알려져 있지만 (Bauman, 1976; Smith, 1984), 중성지방 합성에는 지방산 외에도 glycerol-3 phosphate가 요구되며 이는 지방산과는 달리 재합성이 되지 않고 전적으로 glucose로부터 유래된다는 점을 고려하면 glucose 역시 반추동물의 지방합성에 있어서도 매우 중요한 요소라고 할 수 있다 (Vernon, 1992).

Fig. 9는 항체 주사 처리에 의한 혈액 내 중성지방 농도에 미치는 영향을 보여주고 있다. 혈액 내 중성지방 농도는 비록 수치적으로 처리기간 차이가 다소 나타났지만, 항체 주사 처리 전(0주) 및 처리 후(2 및 4주) 중성지방 변화 패턴에 유의적 차이가 없었고 ($P > 0.05$), 각 주별 실험처리구 간 통계적 유의성도 없는 것으로 볼 때 ($P > 0.05$) 단순한 개체 특성에 오는 차이일 것으로 추정된다. 본 시험에서 나타난 혈액 내 중성지방의 농도 (11.4~19.9 mg/dl)는 일반적인 농후사료 위주의 사료가 급여된 한우 거세우(20개월령 이상 기준) 혈액 내 중성지방의 수준으로 판단되며 (5.2~20.7 mg/dl; Kwon 등, 2005), 따라서 한우 체지방 감소 항체 주사 처리에 의한 혈액 내 중성지방 농도에 미치는 영향은 없는 것으로 사료된다.

이상의 결과를 종합해보면, 본 연구에서 이용된 한우 복강 및 피하 체지방 감소항체는 *in vitro* 결과 (Choi 등, 2008) 뿐만 아니라 *in vivo* 영양생리대사에 부정적 영향을 미치지 않는 안전한 항체로 판단된다.

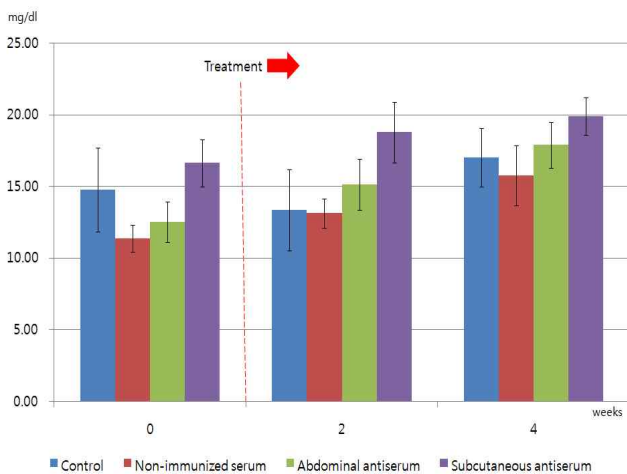


Fig. 9. Effect of immunization of antiserum developed against abdominal or subcutaneous fats from Korean native steers (Hanwoo) on plasma triglyceride concentration in Hanwoo. Mean±S.E. (n=4).

IV. 요약

본 연구는 반추위 캐놀라가 장착된 거세한우 16두 (626.2 ± 47.72 kg)를 이용하여 한우 복강 및 피하지방 감소 항체를 생체 주사 처리 시 사료섭취량, 반추위 발효패턴 및 혈액 대사물질 등 영양생리대사에 미치는 영향을 조사하고자 실시하였다. Choi 등 (2008)에서 개발된 한우 복강 (AAb) 및 피하지방 감소 항체 (SAb)을 피하 주사하였을 때, 주사 후 2주차에서 수치적으로 체중의 감소가 발생했으나, 무처리구 및 비면역항체처리구에서도 체중의 감소가 발생해 항체 주사에 의한 처리의 영향이라기 보다는 다른 요인(혈액채취 등)에 의한 스트레스에서 기인하는 것으로 판단된다. 항체 주사 처리 시 반추위 pH 패턴, 휘발성 지방산 및 암모니아 농도에는 유의적 변화 ($P > 0.05$)가 나타나지 않았고, 그 수준 또한 일반적인 수준 범위에서 벗어나지 않았다. 혈액 대사물질의 변화에서는 항체 주사 처리 전 BUN 농도에서 무처리구 기준, AAb 처리구는 낮게, 반면에 SAb 처리구는 높게 나타났으나 ($P < 0.05$), 오히려 항체 주사 처리 후에서 유의적 차이가 나타나지 않았다 ($P > 0.05$). 혈액 내 glucose 농도 역시 항체 주사 처리 전 비면역항체처리구에서만 유의적 차이를 보였고 ($P < 0.05$), 항체 주사 처리 후에는 처리구별 유의적 영향은 없었다. 혈액 내 중성지방의 농도는 항체 주사 처리에 의한 유의적 차이는 나타나지 않았고, 그 농도도 11.4~19.9 mg/dl로 일반적인 농후사료 위주의 사료 급여 시 거세한우의 혈액 내 중성지방의 수준으로 판단되었다. 따라서, 이상의 결과를 볼 때, 본 연구에서 이용된 AAb 및 SAb는 *in vivo* 영양생리대사에 부정적 영향을 미치지 않는 안전한 항체로 사료된다.

(Key words: 한우, 다클론 항체, 반추위 발효, 혈액 대사물질, 지방)

V. 감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 시험연구사업 수행결과의 일부로 연구비 지원에 감사드립니다.

VI. 인용 문헌

1. Ahn, G. C. 2007. Studies on rumen fermentation, nutrient metabolism and digestibility by dietary supplementation of non-ionic surfactant in Hanwoo steer. Master thesis. Konkuk University.
2. Armentano, L. E., Bertics, S. J. and Riesterer, J. 1993. Lack of response to degradable protein to a low protein diet fed to

- midlactation dairy cows. *J. Dairy Sci.* 76:3755-3762.
3. Baek, K. H. 2004. Studies on the production of lean meats and the identification of Hanwoo (Korean Cattle) brand beef using immunological techniques. Ph.D. thesis. Yeungnam Univ., Gyeongsan, Korea.
 4. Baek, K. H. and Choi, C. B. 2002. Effects of polyclonal antiserum against adipocyte plasma membrane proteins on body composition of passively immunized Sprague-Dawley male rats. *J. Anim. Sci. & Technol. (Kor.)* 44:39-44.
 5. Baek, K. H., Choi, C. W., Choi, C. B. and Lee, B. S. 2007. Passive immunization approach to reduce body fat in pigs using fat-specific polyclonal antiserum. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 20(10):1594-1599.
 6. Baek, K. H., Kwak, T. H., Oh, Y. S., Choi, C. W., Jung, K. K. and Choi, C. B. 2005. Studies on the development and utilization of polyclonal antibodies against swine adipocyte plasma membrane proteins. *J. Anim. Sci. & Technol. (Kor.)* 47:19-28.
 7. Bauman, D. E. 1976. Intermediary metabolism of adipose tissue. *Federation Proc.* 35:2308-2313.
 8. Campbell, M. K. and Farrell, S. O. 2003. *Biochemistry*. Thomson Learning, Inc. 4 ed.
 9. Chaney, A. L. and Markbach, E. P. 1962. Modified reagents for determination of urea and ammonia. *Clin. Biochem.* 8: 130-137.
 10. Choi, C. B., Lee, M. J. and Kwon, E. J. 1997. Development of polyclonal antibody to adipocyte plasma membrane proteins isolated from Korean Naive Cattle. *Korean J. Anim. Sci.* 39:669-674.
 11. Choi, C. B., Lee, M. J. and Kwon, E. J. 1998. Production of polyclonal antibodies specific to porcine adipocyte plasma membrane proteins in sheep. *Korean J. Biomed. Lab. Sci.* 4:57-63.
 12. Choi, C. B. and Lee, S. R. 1996. Studies on the production of lean pork by immunological approach-Development of antibodies to porcine adipocyte plasma membrane-Korean *J. Anim. Sci.* 38:369-374.
 13. Choi, C. W., Kim, Y. H., Kim, S. J., Song, M. K., Kwon, E. K., Oh, Y. K., Hong, S. G. Choi, S. H. and Baek, K. H. 2008. Development of polyclonal antibodies to abdominal and subcutaneous adipocytes for fat-reduced Hanwoo beef production. *Korean J. Food Sci. Ani. Resour.* 28:651-659.
 14. Duncan, D. B. 1955. Multiple range and multiple F test. *Biometrics.* 11:1-42.
 15. Enright, W. J., Quirke, J. F., Gluckman, P. D., Breier, B. H., Kennedy, L. G., Hart, I. C., Rochecoert, J. F. and Allen, P. 1990. Effects of long-time administration of pituitary-derived bovine growth hormone and estradiol on growth in steers. *J. Anim. Sci.* 68:2345-2356.
 16. Erdman, R. A., Proctor, G. H. and Vandersall, J. H. 1986. Effect of rumen ammonia concentration on *in situ* rate and extent of digestion of feedstuffs. *J. Dairy Sci.* 69:2312-2320.
 17. Erwin, E. S., Marco, G. T. and Emery, E. M. 1961. Volatile fatty acid analysis of blood and rumen fluid by gas chromatography. *J. Dairy Sci.* 44:1768-1771.
 18. Flint, D. J., Coggrave, H., C. E. Futter, Gardner, M. J. and Clarke, D. J. 1986. Stimulatory and cytotoxic effects of an antiserum to adipocyte plasma membranes on adipose tissue metabolism *in vitro* and *in vivo*. *Int. J. Obes.* 10:69-77.
 19. Flint, D. J. 1992. Immunological manipulation of adiposity. *Proc Nutr Soc.* 51:433-439.
 20. Flint, D. J. 1998. Effects of antibodies to adipocytes on body weight, food intake, and adipose tissue cellularity in obese rats. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 252:263-268.
 21. Futter, C. E., Panton, D., Kestin, S. and Flint, D. J. 1992. Mechanism of action of cytotoxic antibodies to adipocytes on adipose tissue, liver, and food intake in the rat. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* 16(8):615-622.
 22. Hoover, W. H. 1986. Chemical factor involved in ruminal fiber digestion. *J. Dairy Sci.* 69:2755-2766.
 23. Kestin, S., Kennedy, R., Tonner, E., Kiernan, M., Cryer, A., Griffin, H., Butterwith, S., Rhind, S. and Flint, D. J. 1993. Decreased fat content and increased lean in pigs treated with antibodies to adipocyte plasma membranes. *J. Anim. Sci.* 71, 1486-1494.
 24. Kim, S. H., Byun, S. H., Lee, S. M., Hwang, J. H., Jeon, B. T., Moon, S. H. and Sung, S. H. 2007. Effects of supplementation period and levels of fermented mineral feed (Power-Mix[®]) on the growth and carcass characteristics of Hanwoo steer. *Korean J. Food Sci. Ani. Resour.* 27, 450-456.
 25. Kwon, E. G., Hong, S. K., Seong, H. H., Yun, S. G., Park, B. K., Cho, Y. M., Cho, W. M., Chang, S. S., Shin, K. J. and Paek, B. H. 2005. Effects of ad libitum and restricted feeding of concentrates on body weight gain, feed intake and blood metabolites of Hanwoo steers at various growth stages. *J. Anim. Sci. & Technol. (Kor.)* 47, 745-758.
 26. Lee, S. S., Kim, H. S., Moon, Y. H., Choi, N. J. and Ha, J. K. 2004. The effects of a non-ionic surfactant on the fermentation characteristics, microbial growth, enzyme activity and digestibility in the rumen of cows. *Anim. Feed Sci. Technol.* 115, 37-50.
 27. McCullough, M. E. 1973. Optimum feeding of dairy animals

- for meat and milk. The University of Georgia Press. Athens.
28. Nassar, A. H. and Hu, C. Y. 1991a. Growth and carcass characteristics of lambs passively immunized with antibodies developed against ovine adipocyte plasma membranes. *J. Anim. Sci.* 69, 578-586.
 29. Nassar, A. H. and Hu, C. Y. 1991b. Antibodies to ovine adipocyte plasma membranes recognize tissue and species specific plasma membrane components. *Comp. Biochem. Physiol.* 98B, 361-367.
 30. Putnam, P. A., Lehmann, R. and Davis, R. E. 1967. Ration selection and feeding patterns of steers fed in drylot. *J. Anim. Sci.* 26, 647-650.
 31. Raghuvansi, S., Tripathi, M., Mishra, A., Chaturvedi, O., Prasad, R., Saraswat, B. and Jakhmola, R. 2006. Feed digestion, rumen fermentation and blood biochemical constituents in Malpura rams fed a complete feed-block diet with the inclusion of tree leaves. *Small Rumin. Res.* 71, 21-30.
 32. SAS. 2002. SAS User's Guide, Statistics, Version 9.1 Ed. SAS Inst., Inc., Cary, NC.
 33. Satter, L. D. and Slyter, L. L. 1974. Effects of ammonia concentration on rumen microbial protein production *in vitro*. *Br. J. Nutr.* 32, 199-208.
 34. Smith, S. B. 1984. Evidence that phosphofructokinase limits glucose utilization in bovine adipose tissue. *J. Anim. Sci.* 58:1198-1204.
 35. Tamminga, S. 2006. The effect of the supply of rumen degradable protein and metabolisable protein on negative energy balance and fertility in dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.* 96(3):227-239.
 36. Vernon, R. G. 1992. Control of lipogenesis and lipolysis. *In* : The control of fat and lean deposition (Eds. Boorman, K. N., Buttery, P. J. and Lindsay, D. B.). Butterworth, Heinemann, Oxford. pp. 59-81.
 37. Wilson, J. R. and Kennedy, P. M. 1996. Plant animal constraints to voluntary feed intake associated with fiber characteristics and particle breakdown and passage in ruminants. *J. Agric. Res.* 47:199-225.
- (접수일자 : 2009. 4. 29. / 수정일자 : 2009. 6. 15. / 채택일자 : 2009. 6. 18.)