

디스템과 患犬의 血清蛋白質에 關한 研究

— 濾紙 크로마토구라피法에 依한
血清蛋白質의 移動距離에 關하여 —

서울大學校 獸醫科大學 生化學教室

韓 壽 南

I. 緒 論

蛋白質은 動物의 物質代謝에 있어서 서로 相互關係를 密接히 維持하고 있는것은 옛날부터 周知하는바이며 蛋白質의 量과種類 變化等은 個體의 健康 疾病에 依하여 變動되므로 筆者는 이에 대한 研究를 하고자 하는바이다

第一報에서는 于先 크로마토구라피(3 4 5 6)의 濾紙上에 蛋白質의 行動을 報告하는바이다 (1) Distemper(78)은 우리 韓國뿐만이 아니라 널리 世界各國에서 많이 罹患되며 犬 Distemper의 罹病率은 犬病中 第一位이며 致死率은 60%以上 病徵은 複雜하다(2) 또 犬Distemper의 類似病인 Hard pad disease 및 Infection Canine Hepatitis (犬傳染性肝炎)에 대한 認識이 높아짐에따라 그의 臨床的鑑別診斷法에 至大한 關心이 表示되어 지고있다

濾紙電氣泳動法에 依한 血清蛋白質에 대한 研究는 文獻를 通해서 紹介되었다 (16 17 18 19 20 21)

여기에서 筆者는 Distemper에 罹患된 犬에대한 血清蛋白質의 移動狀態를 濾紙 크로마토구라피法으로 測定하기위하여 여기에 于先健康犬과 Distemper犬에 대하여 몇가지 實驗한 結果를 報告하는바이다

이 結果는 患犬의 蛋白質調査의 基礎가 될것이다

II. 實驗方法 및 實驗材料

A 對照動物

서울市內 李家畜病院에 入院中인 患犬과 健康犬에 對하여 1961年11月 12日 1962年 1月 3個月間에 걸쳐서 實施하였으며 年令은 6個月부터 1年前後의 犬이다

B 採血法

健康犬과 Distemper로 確診한 患犬에 對하여 3cc의 血液을 採血하였으며 試驗管으로 받아서 즉시 實驗室로 運搬하였고 凝固한후에 2000R.P.M 30分間 遠心分

離하여 4°C에 保存貯藏하고 稀釋하지않는 血清(全血清)과 蒸溜水로 5倍稀釋한 血清0.01cc를 各各 使用하였다

C 測定法

(1) 血清蛋白質 移動距離의 測定

(a) 試藥 및 材料

- ① Vernal 緩衝劑(液) PH8.8
- ② 1%昇汞水 HgCl₂
- ③ 0.05% Brom thymol Blue
- ④ 4% Ammonia水 (Solvent)
- ⑤ 2% 酢酸水溶液
- ⑥ 5% 酢酸水溶液 (藍色液)
- ⑦ 濃 Ammonia水 (Gas發生用)
- ⑧ Whatman No.1

以上은 日本片山會社製及 美國 Fisher 會社製인 最純試藥과 濾紙이다

(b) 測定法

B에서 얻은 血清은 5倍로 蒸溜水에 稀釋한것과 稀釋하지 않은 血清(全血清)을 各各 試料로하고 溫度 18°C에서 미리 緩衝劑 11 12 13 을 塗布한 濾紙原點에 約 0.01cc 滴下하고 乾燥한後 濾紙에 다시 滴下하는것을 10回 反復한後 4% Ammonia水를 溶媒로하여 上昇法에 依하여 2~3時間 20cm程度 展開하였다

後에 濾紙를 110°C에서 乾燥後 昇汞을 1% Brom thymol Blue를 0.05% 含有하는 2% 酢酸水溶液에 浸出시킨다

黃色이된 濾紙를 5% 酢酸水溶液으로 4回 洗였으면 過잉한 色素는 流去하여 蛋白質(昇汞으로 固定됨)存在部分만의 色素가殘留하여 있으므로 濾紙를 Ammonia Gas 에 接觸시키면 靑色斑點의 크로마토구라피를 얻는다

(C) 移動距離判定基準

上面 2.5cm 下面 1.5cm 기리 25cm의 濾紙를 使用하여 原點은 濾紙下部로부터 4cm 位置에 定하고 原點에서 20cm程度까지 Ammonia水가 上昇하였을때 管

에서 쓰인다

移動斑點에 最下點을 取하여 測定하였다

III. 實驗結果

第1表 健康犬의 血清蛋白質에 移動距離及移動率 (RF)

A. 稀釋하지 않는 경우 (全血清)

實驗犬의 番號	實驗 番號	移動距離 (cm)	移動率 (RF)	實驗犬의 番號	實驗 番號	移動距離 (cm)	移動率 (RF)
1	1	10.5	0.525	16	16	9.5	0.475
2	2	10.2	0.51	17	17	12.5	0.625
3	3	10.9	0.545	18	18	10.5	0.525
4	4	10.8	0.54	19	19	11.7	0.585
5	5	11.7	0.585	20	20	10.5	0.525
6	6	12.5	0.625	21	21	10.9	0.545
7	7	12.7	0.635	22	22	10.3	0.515
8	8	12.5	0.625	23	23	12.7	0.635
9	9	13.8	0.69	24	24	10.5	0.525
10	10	13.8	0.69	25	25	9.5	0.475
11	11	10.8	0.54	26	26	12.5	0.625
12	12	9.5	0.475	27	27	10.8	0.54
13	13	9.5	0.475	28	28	10.2	0.51
14	14	12.5	0.625	29	29	12.5	0.625
15	15	12.7	0.635	30	30	10.2	0.51

平均 10.8±0.11cm (移動距離)

平均 0.57±0.01 (移動率)

B. 5倍로 稀釋한 경우

實驗犬의 番號	實驗 番號	移動距離 (cm)	移動率 (RF)	實驗犬의 番號	實驗 番號	移動距離 (cm)	移動率 (RF)
1	31	12.5	0.625	9	39	14.8	0.74
2	32	12.2	0.61	10	40	14.8	0.74
3	33	12.9	0.654	11	41	10.5	0.525
4	34	13.5	0.675	12	42	9.7	0.485
5	35	14.2	0.71	13	43	10.5	0.525
6	36	13.5	0.675	14	44	14.3	0.715
7	37	14.2	0.71	15	45	14.2	0.71
8	38	14.3	0.715	16	46	14.6	0.73

17	47	14.6	0.73	24	54	12.9	0.645
18	48	14.3	0.715	25	55	12.5	0.625
19	49	12.2	0.61	26	56	14.6	0.73
20	50	12.9	0.654	27	57	12.2	0.61
21	51	9.7	0.485	28	58	12.5	0.625
22	52	11.9	0.575	29	59	12.2	0.61
23	53	13.5	0.675	30	60	13.5	0.675

平均 14.3±0.13cm (移動距離)

平均 0.66±0.03 (移動率)

第2表 健康犬의 血清蛋白質의 移動率 (RF)

表A' 稀釋하지 않는 경우 表B' 5倍로 稀釋한 경우

RF	例數	%
0.40	4	13.3
0.50	15	50.0
0.60	11	36.7

RF	例數	%
0.40	2	6.7
0.50	3	10.0
0.60	14	46.6
0.70	11	36.7

第3表 罹患中(進行期) 血清蛋白質의 移動距離 及 移動率(RF)

C. 稀釋하지 않는 경우 (全血清)

實驗犬의 番號	實驗 番號	移動距離 (cm)	移動率 (RF)	實驗犬의 番號	實驗 番號	移動距離 (cm)	移動率 (RF)
1'	61	9.2	0.46	16'	76	9.8	0.49
2'	62	10.5	0.545	17'	77	9.9	0.495
3'	63	10.0	0.50	18'	78	10.5	0.545
4'	64	9.2	0.49	19'	79	9.8	0.49
5'	65	10.0	0.50	20'	80	10.8	0.54
6'	66	9.0	0.45	21'	81	9.8	0.49
7'	67	10.5	0.545	22'	82	10.8	0.54
8'	68	9.9	0.51	23'	83	10.9	0.545
9'	69	9.9	0.495	24'	84	10.0	0.50
10'	70	11.5	0.575	25'	85	9.9	0.495
11'	71	10.2	0.51	26'	86	10.5	0.545
12'	72	9.8	0.49	27'	87	9.2	0.46
13'	73	9.2	0.46	28'	88	10.9	0.545
14'	74	10.5	0.545	29'	89	10.8	0.54
15'	75	9.0	0.45	30'	90	10.2	0.51

平均 10.5±0.05cm (移動距離)

平均 0.54±0.05 (移動率)

D. 5倍로 稀釋한 경우

實驗犬의 番號	實驗番號	移動距離 (cm)	移動率 (RF)	實驗犬의 番號	實驗番號	移動距離 (cm)	移動率 (RF)
1'	91	10.5	0.545	16'	106	10.5	0.545
2'	92	12.2	0.64	17'	107	11.7	0.585
3'	93	11.8	0.59	18'	108	10.0	0.50
4'	94	10.7	0.535	19'	109	12.0	0.60
5'	95	11.2	0.56	20'	110	11.6	0.58
6'	96	10.7	0.535	21'	111	12.5	0.625
7'	97	12.5	0.625	22'	112	10.7	0.535
8'	98	11.5	0.575	23'	113	12.0	0.60
9'	99	11.6	0.58	24'	114	11.5	0.575
10'	100	13.2	0.66	25'	115	11.8	0.59
11'	101	12.5	0.625	26'	116	11.6	0.58
12'	102	10.7	0.535	27'	117	10.5	0.525
13'	103	11.5	0.575	28'	118	11.2	0.56
14'	104	10.0	0.50	29'	119	12.0	0.60
15'	105	12.5	0.625	30'	120	11.8	0.59

平均 11.9±0.08cm (移動距離)

平均 0.58±0.08 (移動率)

第4表 罹患中(進行期)의 血清蛋白質의 移動率(RF)
表C' 稀釋하지 않는 경우 表D' 5倍로 稀釋한 경우

R F	例數	%	R F	例數	%
0.40	13	43.3	0.50	21	70.0
0.50	17	56.7	0.60	9	30.0

第5表 罹患後(恢復期)의 血清蛋白質에 移動距離及 移動率(RF)

E 稀釋하지 않는 경우

實驗犬의 番號	實驗番號	移動距離 (cm)	移動率 (RF)	實驗犬의 番號	實驗番號	移動距離 (cm)	移動率 (RF)
1''	121	10.2	0.51	5''	125	11.0	0.55
2''	122	10.5	0.525	6''	126	10.4	0.52
3''	123	10.3	0.515	7''	127	11.2	0.56
4''	124	10.0	0.50	8''	128	10.8	0.54

9''	129	11.0	0.55	20''	140	10.2	0.51
10''	130	10.2	0.51	21''	141	9.0	0.45
11''	131	9.0	0.45	22''	142	11.2	0.56
12''	132	9.5	0.475	23''	143	10.8	0.54
13''	133	9.0	0.45	24''	144	10.5	0.545
14''	134	11.5	0.575	25''	145	9.5	0.475
15''	135	11.0	0.57	26''	146	12.3	0.615
16''	136	10.3	0.515	27''	147	10.8	0.54
17''	137	11.5	0.575	28''	148	10.2	0.51
18''	138	10.4	0.52	29''	149	12.3	0.615
19''	139	10.0	0.50	30''	150	10.2	0.51

平均 10.8±0.09cm (移動距離)

平均 0.53±0.09 (移動率)

F 5倍로 稀釋한 경우

實驗犬의 番號	實驗番號	移動距離 (cm)	移動率 (RF)	實驗犬의 番號	實驗番號	移動距離 (cm)	移動率 (RF)
1''	151	12.0	0.60	16''	196	14.0	0.70
2''	152	12.0	0.60	17''	167	14.0	0.70
3''	153	12.6	0.63	18''	168	13.6	0.68
4''	154	12.5	0.625	19''	169	12.8	0.64
5''	155	13.2	0.66	20''	170	12.5	0.52
6''	156	12.8	0.64	21''	171	10.4	0.52
7''	157	13.4	0.67	22''	172	11.9	0.585
8''	158	13.6	0.68	23''	173	12.8	0.64
9''	159	13.2	0.66	24''	174	12.6	0.63
10''	160	10.9	0.545	25''	175	12.5	0.625
11''	161	10.9	0.545	26''	176	15.1	0.755
12''	162	10.4	0.52	27''	177	12.0	0.60
13''	163	11.9	0.585	28''	178	11.9	0.585
14''	164	13.2	0.66	29''	179	12.6	0.63
15''	165	13.6	0.68	30''	180	13.4	0.67

平均 12.9±0.12cm (移動距離)

平均 0.63±0.02 (移動率)

第5表 罹患後(恢復期)의 血清蛋白質에 移動率(RF)

表E' 稀釋하지 않은 경우 表F' 5倍로 稀釋한 경우

R F	例數	%	R F	例數	%
0.40	5	16.7	0.50	7	23.3
0.50	23	76.6	0.60	20	66.6
0.60	2	6.7	0.70	3	10.0

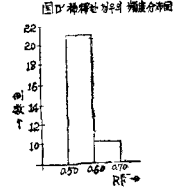
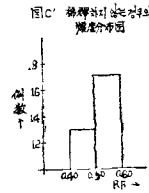
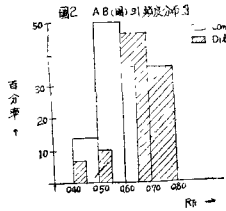
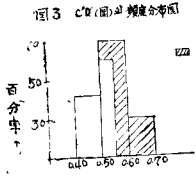
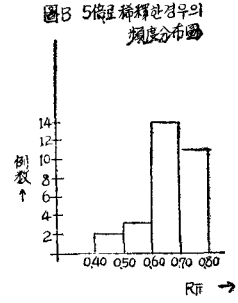
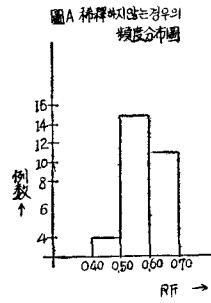
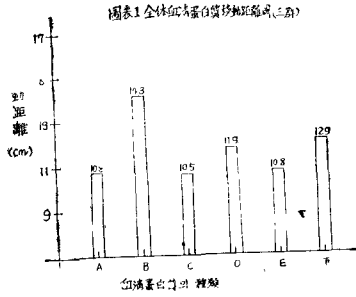
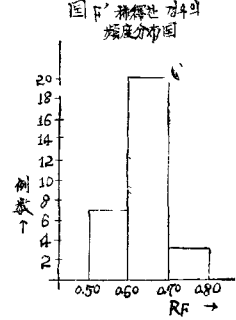
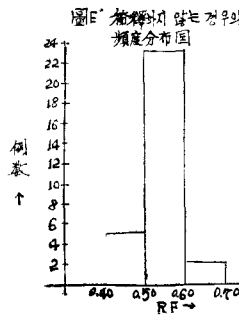
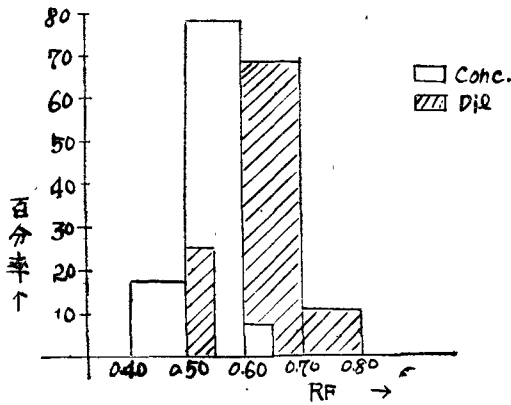


圖4 E' F'의 頻度分布圖



IV. 考 察

1. 健康犬의 血清蛋白質에 移動距離
 稀釋하지 않는 경우에 血清蛋白質의 移動距離는 $10.8 \pm 0.11\text{cm}$ 가 되고 5倍로 稀釋한 경우는 $14.3 \pm 0.13\text{cm}$ 로써 移動距離가 前者보다 約 4cm 더 높다.

2. 罹患中(進行期)의 血清蛋白質의 移動距離
 稀釋하지 않는 血清蛋白質의 移動距離는 $10.5 \pm 0.05\text{cm}$ 가 되고 5倍로 稀釋한것은 $11.9 \pm 0.08\text{cm}$ 로써 移動距離가 前者보다 約 1cm 더 높다.

3. 罹患後(恢復期)의 血清蛋白質의 移動距離
 稀釋하지 않는 血清蛋白質의 移動距離는 $10.8 \pm 0.09\text{cm}$ 가 되고 5倍로 稀釋한 경우는 $12.9 \pm 0.12\text{cm}$ 로써 移動距離가 前者보다 2cm 더 높다.

以上 圖表에 依하면 稀釋하지 않는 경우보다 稀釋한 경우의 移動距離가 크다.

이것은 試料에 毛細管現象과 그 親和力에 關係되어 變動이 左右되며 여기에는 三群을 比較할때 罹患中(進

行期)에 있어서 血清蛋白質의 移動距離가 第一적은것을 觀察할수 있다. 또 이것은 Distemper疾患으로 인한 蛋白質의 血中濃度에 減少로서 變化된다고 볼수 있다.

V. 總 括

1961年11월부터 1962年 1月까지 健康犬 30頭 患犬 60頭에 對하여 實驗한 結果 아래와같은것을 알았다.

1. 健康犬의 血清蛋白質의 移動距離는 稀釋하지 않는 경우에 平均 $10.8 \pm 0.11\text{cm}$ 이며 5倍로 稀釋한것은 平均 14.3 ± 0.13 이다.

2. 罹患中(進行期)의 血清蛋白質의 移動距離는 稀釋하지 않는 경우는 平均 $10.5 \pm 0.05\text{cm}$ 이며 5倍로 稀釋한 경우는 平均 $11.9 \pm 0.08\text{cm}$ 이다.

3. 罹患後(恢復期)의 血清蛋白質의 移動距離는 稀釋하지 않는 경우는 平均 10.8 ± 0.09 이며 稀釋한 경우는 平均 12.9 ± 0.12 이다.

參 考 文 獻

1. 佐竹一夫 : 크로마토구리피. 出立全書. 12. 1950,
2. 農林部 畜政局 : 獸醫衛生統計 1959
3. West & Todd : Text Book of Biochemistry, Macmillan Company, 1957.
4. Harrow & Mazur : Text Book of Biochemistry W.B. Seaudn Company, 1958.
5. Contarow & Trumper: Clinical Biochemistry, W.B.Seaudn Company, 1950,
6. Harold A. Harper : Review of physioiological Chemistry, Lange Med Publications. 1959
7. D.H. Udall : The practice of Veterinary Medicine. Ithaca, 1947
8. Brumley : Disease of the small domestic animals, Lea & Febiger 1950
9. Cola, R. Daudid : A Chromatographic study of Trypsin, Biol Chem Vol. 236. No.9. 2443. 1961. Sept.
10. Connelly & Eathrine : Chromatographic Fraction phosvithrin, Biol Vol.236.No.5 1314.1961.May.
11. Cole. R.David : Lon Exchange Chromatography of prolactin in Urea Containing Euffers, Biol, Chem, Vol.236. No.5. 1317. 1961. May
12. Cole. R.David : The Chromatography of insulin in urea Containing Buffer. Biol. Chem Vol.235.No.8. 2294. 1960. Augst.
13. Cole.R. David : Lon Exchange chromatography of glucogen in urea containing Buffers, Biol. Chem., Vol. 235.No.8 2300. 1960. Augst.
14. Wynston & Free : Further chromatographic studies on Beef Comparasion of Beef and whale thyrotropins, Biol. Chem., Vol. 235.No.1.85. 1960. June.
15. D ickman & Arupin : Extraction and chromatography of mouse and Bovine pahcreatic Ribomu cleases. Boil. Chem., Vol. 235. No.1. 169. 1960. June.
16. Dessauer : Characterstic electrophoretic patterns of plasma protein of orders of amphibia and reptilia, science 1957, Feb
17. Richard. J.Henry : Some of the Variable involved in the fractionation of serum protein by paper electrophoresis, Vol.3 No.1 1957. Feb.

- 18. C.B. Laurell : Buffer Composition in paper electrophoresis, Clinical Chem., Vol.2. No.2 1956
- 19. L.D. Meller : Paper electrophoresis of serumprotein Vol.3 No.3 Biol. Chem., 1957. June
- 20. H.F.Deutsch : An electrophoresis servey of various animal plasma Biol. Chem., Vol.161. 1945 Nov. Dec
- 21. Gerald. P.Rodam : Paper electrophoresis of animal hemoglobin Exp. Biol. Med., Vol 95.No.2 1957 June

Abstract:

A study on serum protein of distemper infected dog with paper chromatography

The moving distance of serum protein was determined in the blood of normal, convalescent, and dogs in active progress of the diseases with paper chromatography. The following results were obtained.

- 1. The moving distance of serum protein in normal dogs were 10.8 ± 0.11 cm when serum was undiluted and 14.3 ± 0.13 cm when diluted 5 times
- 2. The moving distance of serum Protein in the dogs which were in the progressive stage of the disease were 10.5 ± 0.05 cm when serum was undiluted and 11.9 ± 0.08 cm when diluted 5 times
- 3. The moving distance of serum protein in the dogs which were in the convalescent stage of the disease were 10.8 ± 0.09 cm when serum was undiluted and 12.9 ± 0.12 cm when diluted 5 times

(42頁하단 계속)

는 것이다. 바꿔 말해서 抗原은 닭의 抗體와 結合함으로써 토끼의 抗體抗原結合物은 적어지며 따라서 기니픽의 補體가 免疫系에 結合되지 않게된다. 우리가 알고 있는 間接補體結合反應으로 이루어진 主要한 抗原-抗體系로는 鷄痘와 닭의 살모넬라시스를 드를수 있다.

닭의 血清을 中心으로한 改良補體結合反應이 있다. 닭의 抗體-抗原結合物에는 닭의 補體成分인 Chc'1과 Chc'4가 必要하되 量과 比率이 重要하며 이들로 하여금 抗原-抗體結合物은 기니픽의 C/2를 結合한다는 것

이다. 그러나 溶血系는 GPC/2의 結合 또는 欠乏으로 陽性 또는 陰性을 띠우게 된다. 이 改良直接法은 짧은 時間이 所要되는 長點이 있어 하루나 이틀이 所要되는 間接法보다 時間적으로 便利하고 그밖의 여러 長點이 있다. 이 方法으로 밝혀진 抗原-抗體系로는 IB, FP, ND 그리고 七面鳥의 CELO等이 있다. 앞으로 알려져야 할 것으로는 돼지, 개, 綿羊, 山羊의 補體結合反應에서의 體制確立이다. 이 術式은 앞으로 많은 發見이 凝約되는 것이다.

서울牛乳協同組合

組合長 洪 淳 教

專 務 李 在 昱

서울特別市西大門區貞洞 8

電話 ② 1361·9094