

오늘의 血清學

서울大學校 獸醫科大學

全 允 成

百年有餘의 歷史를 지니고 있는 血清學은 그 동안 細菌이나 바이러스로 因한 疾病을 診斷하는데 가장 有用하게 쓰여져 왔다. 우리가 잘 알고 있는 血清學的 術技로는 血清(바이러스)中和 反應, 補體結合反應, 沈降反應 그리고 凝集反應(血球凝集反應包含) 등이 있다.

獸醫血清學에서는 주로 人醫의 分野에서 發見되고 研究된 것을 그동안 應用함으로서 獸醫血清學으로서의 한 새로운 學問이 지니는 體制를 가추게 되었다. 그러든 가운데 世界各國의 獸醫血清學者들은 家畜의 抗體 抗原系에 알맞는 여러 術技이나 또는 動物에서 많이 볼수 있는 特異한 여러 現象을 發見하기에 이르렀다.

오늘의 血清學은 醫學的 또는 微生物學的인 면에서 볼 때 하나의 絕對不可欠의 分野로 되었고, 거이 種別 血清에 立脚한 研究에 그 重點이 두어져 있다고 할 수 있다. 다시 말해서 醫學面에서의 血清學은 그것의 理論과 實察가 研究됨으로서 醫學別이나 分野別의 血清學이 아니고 動物의 種類別로 되어가는 傾向이 있고 이 分野에는 醫師와 獸醫師를 爲始해서 많은 生物學者와 化學者가 일하고 있다.

따라서 最近에 이르러 血清學은 다른 分野와 相關의 인 關係에 놓여지고 있다. 卽 物質의 均一性與否를 決定하기에 利用하게된 蛋白質化學에서의 利用, 抗原抗體反應의 純粹한 理論을 研究하는 生化學者들의 利用, 그리고 診斷을 目的으로 하는 寄生蟲病學에서의 導入 등은 우리의 注目거리이다. 그밖에도 血清學은 生理, 藥理, 醫化學 및 臨床家들에 依해서 利用되는 傾向이 있다 위에서 말한 血清學的 다른 學問과의 相關의 인 關係는 血清學自體에도 많은 發展을 갖어 오게 하였는데 그 가운데에서도 生化學, 數學, 統計學, 物理化學, 그리고 同位原素學의 導入은 血清學으로 하여금 보다 더 完全한 體制를 갖추게 하였고 우리로 하여금 그 眞理을 보다 더 잘 알게 하여 주고 있다.

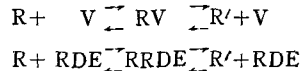
위에 적은 『오늘의 血清學』은 생각나는 몇 가지의 術技를 中心으로 最近에 이룩된 血清學的 發展相을 主題로 삼았다. 便宜上 이들의 實驗的인 根據은 全部 省略했다.

血球凝集反應

免疫 및 血清學的 術技가 發展되면서 物理學的 그리

고 生化學的인 理論과 術技의 導入은 이 反應의 基礎的인 究明에 많은 進展이 있게 하였다. Myxovirus를 中心으로 한 이 分野의 最近의 業績을 살펴보면 대략 다음과 같다.

1. 血球凝集反應은 그 機構이 基質에 作用하는 酵素의 作用과 같다. 이 事實을 뒷받침해주는 實驗結果로는 다음과 같은 것이 있다. 卽 1) 適當한 反應條件下에서는 赤血球(R)와 Virus(V)의 結合인 (RV)가 생기면서 產物(R')을 만들고 V가 遊離되는데 產物R'는 基質R와 다른 性狀을 띄우게 된다는 것. 2) 高溫(室溫以上)에서의 RV形成能力은 減退 또는 消失된다는 것. 3) 反應前의 V와 反應後의 V는 血清學的으로 同一한 性狀을 보유한다는 것. 4) 反應溫度가 낮으면 (0°C) RV의 解離가 없다는 것. 5) R에 대한 V의 作用機構이 R와 RDE (V. cholera)에 依해서 모델化 될 수 있다는 것 등으로 이것을 考로 그리보면 다음과 같다.



여기에서 위의 問題에 덧붙여 말해야 할 것으로 Virus의 酵素系에 關한 것이다. 이것은 極少數의 例에서 ATPase를 비롯한 lipase 그리고 아직 잘 研究되어 있지 않은 水分分解酵素系에 關한 것이 報告되어 있다 그러나 Myxovirus의 우경 攝合體에 關한 研究가 이루어 짐으로써, 最少 Influenza Virus의 血球凝集反應에 關與되는 酵素가 알려지기 始作했던 것이다.

2. 赤血球의 Virus攝合體에 關한 發展이 있었다. Virus와 赤血球와의 結合轉이 酵素와 基質이 結合하는 것과 같다는 것을 알기 까지에는 赤血球의 攝合體에 關한 많은 研究가 있으므로 부터이다 지금까지 알려지고 있는 赤血球攝合體의 理化學性狀은 1) 熱이나 1% 드랄신에 대한 低抗性이 있고 2) 酸化劑, 特히 過沃素酸(0.005M)에 破壞되고 3) 水溶性이고 4) 赤血球의 elinin分層에 들어있고 5) 窒素 2.5%에 多糖類 50%로 되어있다는 등이다. 그중 赤血球攝合體에 對한 過沃素酸이 미치는 影響이 많이 研究됨으로서 그 攝合體는 炭素原子 群에 Cis의 狀態로 水酸基가 붙은 炭水化合物의 側鎖構造를 가진 것이라고 알려지고 있다. 이에 연달아 밝혀진 것이 바이러스의 赤血球攝合體에 吸着하는 速度와 吸着數이다. 卽 豚인푸루엔저 바이러스가 닭

赤血球에 붙는 速度와 數는 $1.3 \times 10^{-8} \text{ cm}_3 / (\text{Rbc} \times \text{min})$ 에 300內外이며 뉴켓슬바이러스는 $2.4 \times 10^{-9} \text{ cm}_3 / (\text{Rbc} \times \text{min})$ 에 亦是 300內外이다. 이것은 赤血球 表面의 約 $\frac{1}{100}$ 에 該當하는 表積이 되는 셈이다. 기니픽의 赤血球에는 攝合體의 數가 많아서 約 5000乃至 7000의 바이러스粒子가 吸着한다는 것이다. 이밖에 바이러스에는 두 攝合部位(體)가 있어서 마침내는 우리가 볼수 있는 血球凝集現象을 일으킨다 함은 比較的 오래前부터 알려져 있는 것이다.

3. 바이러스에 의한 血球凝集反應의 機轉의 研究가 거듭되고 있다. 위에서 말한 酵素的인 反應機轉을 가지고 있다는 것은 主로 產物의 性狀과 反應速度論에 그 根柢를 두고 있는 것이고 여기서 말하는 것은 그와 같은 機轉의 보다 詳細한 다른 機轉을 말하는 것이다. 理論의으로 妥當하여 支持를 받고있는 說에 依하면 다음과 같다. Cis-水酸基의 末端分子構造를 가지고 있는 赤血球의 攝合體는 陰性으로 荷電되어 있고 여기에 陽性이온이 結合하게 된다. 바이러스의 粒子도 陰性으로 荷電되어 있어 適當한 反應條件下에서는 바이러스-陽이온-赤血球攝合體인 結合물이 생기게 된다. 다음에는 바이러스가 解離되거나 또는 다른 攝合體로 옮겨가게 된다는 것이다. 이러한 結論을 가져오게 하는 것으로서는 陽이온(특히 Ca^{++})의 反應促進作用을 들 수 있다. 하기가 이 陽이온은 단지 바이러스와 赤血球 攝合體의 兩陰이온의 反應作用을 強化시켜 주는데 不過하다는 사람도 있다. (특히 PH 7.0에서) 또 反應PH의 影響을 그다지 받지 않는다는 것은 PH 4.0~9.0에서도 荷電될 수 있는 아미노基와 카복시基의 例를 들어 說明하고 있다.

應用面에서의 顯著한 發展으로는 別로 例揭할 것이 없으나 그래도 美國에서 盛行되고있는 PPLO (Myco plasma gallinarum)와 腸內바이러스(各種)의 HAI는 우리가 앞으로 利用할 수 있을 것이라고 하겠다. 그 밖에 우리가 할 수 있는 것으로는 1) NDV나 PPLO의 HAI의 特異성에 關한 研究, 2) 아직 血球凝集反應이 不可能한 바이러스의 直接 또는 間接 血球凝集反應에 關한 研究 3) 組織培地에서의 血球凝集(吸着)反應에 關한 研究 등이 있다.

螢光抗體反應

螢光物質에 紫外線이나 可視線을 쬐어 그것이 가지고 있는 Energy level을 높혀주면 所謂 Ist Excited State로 되면서 即時 그 物質에서는 波長이 큰 螢光이 나오게 된다. 波長의 長短에 따라 우리가 볼수 있는

色은 區區하며 이러한 光을 낼수있는 物質로 數 100種이 알려져 있다. 그러나 이 物質을 凝集反應에 利用하는데는 적지 않은 選擇의 制限을 받는다 다시 말해서 1) 抗原이나 抗體 또는 이들의 結合物이나 나아가서는 反應系를 構成하는 여러 物質에 아무런 物理化學的인 變化를 가져오지 않아야 하고 2) 抗血清에 結合(吸着)할수 있어야 하고 3) 組織에있는 螢光物質이내는 波長이 別異해야 되는 것과 4) 物質自體가 極히 安定性을 지니고 있어야 한다는 것이 子先 必須條件이다.

이와같은 見地에서 fluorescein isocyanate가 合成되고 利用되어 온지 벌써 10년이 지나갔고 그 동안 이 術式은 美國, 和蘭을 爲始한 歐洲諸國에서 널리 愛用되어 왔다. 이 術式으로 해서 알려진 基礎的인 事實로는 다음과 같은 것이 있다.

1. 微生物(細菌, 原虫)과 赤血球에 있어서의 抗原性 物質의 分布像에 關한 研究.
2. 生體內에서의 抗體形成部位 및 速度에 關한 研究.
3. 組織培地에서의 Virus의 侵攻 및 抗原形成機轉에 關한 研究.
4. 生體 및 試驗管內에서의 噬菌作用에 關한 研究.
5. Heterophile 抗原의 分布에 關한 研究 등을 들 수 있다.

이 術式自體에 이루어진 發展相을 더듬어 보면 다음과 같다.

1. Fluorescein isocyanate 代身에 fluorescein isothiocyanate를 利用하게 되었다.
2. 非特異的인 螢光物質을 除去시키는 吸着劑와 그 밖의 試藥 등이 完全히 商品化되었다.
3. 單一光源裝置에 많은 發展이 있었다.
4. 直接이나 間接法外에도 補體結合法이 創案되었다.
5. 各種螢光物質이 各各 다른 抗血清에 붙여서 만들어진 것을 可檢物(混合抗原)에 써서 各種抗原을 鑑別鏡檢할수 있게 되었다.

獸醫微生物學界에서 가장 널리 利用되고 있는 것을 狂犬病의 診斷(可檢抗原을 特異螢光抗體로 檢出하는 것이 主)이고 그밖에 이 術式이 利用될바 있는 細菌이나 Virus로는 Salmonella, E. Coli, Brucella, Pasteurella Streptococci Staphylococci, mycobacterium Malleomyces pseudomallei leptospira 그리고 Canine distemper, Canine hepatitis, Cowpox, Shope papilloma, feline pneumonitis, Orithosis, Newcastle disease, fowl plague 등이 있다.

우리나라에서의 이 術式이 지니는 將來性은 高價의

化學劑와 光學器具가 外國에서 購入되어야 한다는 點에서 그다지 좋다고는 할 수 없으나 우리도 이것을 利用하게 되면 여러가지로 자마나는 研究가 이루어 질수 있지 않을까 생각된다.

Gel 擴散術技

Gel 擴散의 原理 또는 各要素의 關係를 說明해주는 數式은 아직 만들어지지 않은 것 같다. 只今 우리가 알고 있는 것으로는 다음과 같은 것이 있다. 抗原 이나 抗體의 粒子가 擴散하는 速度, h/\sqrt{t} 는 抗原이나 抗體의 濃度에 영향을 입는다는 것이다. 卽 $h/\sqrt{t} = \gamma \log \frac{agn}{agno}$ $h/\sqrt{t} = \gamma \log \frac{aby}{abyo}$ 球形粒子(6π7r)가 水溶液에서 擴散할때 擴散恒數, D는 氣恒數 그리고 絕對溫度에 正比例하고 마찰係數에 反比例하니까 Gel 擴散을 滿足시킬수 있는 數式에는 적어도 實驗溫度와 Gel의 濃度가 左右하게 될 마찰係數만이라도 考慮되어야 할 것이다. 最近에는 抗原, 抗體粒子의 電氣泳動性을 利用해서 擴散을 돕되 所謂 二面雙擴散法 (Ouchterlomy)이 가장 널리 利用되게 되었다. 勿論 自然擴散에 依據한 一面雙擴散法이나 單擴散法 (Oudin)도 널리 利用되고 있음은 言及할 必要없다. 이方法이 急作스럽게 發展되게 된 原因으로 는 다음과 같은 것이 있다. 1) 抗原이나 抗體의 均一性 (homogenity)를 알수 있다. 2) 精製하지 않는 抗原도 좋은 結果를 찾아온다. 3) 理化學的으로 區分키 어려운 血清成分層(抗體)을 찾아 낼 수 있다. 4) 다른 血清學的方法으로 不可能한 抗原-抗體結合物을 찾아 낼 수 있다. 5) 原抗-抗體結合物을 證明하기 爲해서 可能한 變傳이 創案될 수 있다. 6) 抗原-抗體反應을 寫眞術로 記錄할 수 있다. 7) 少量의 反應物質이 所要 된다는 等이다.

위에서 말한 일곱가지 事實을 具現할 必要가 있을 경우 이 方法은 다른 어떤 方法보다 그 優秀性이 發揮될 수 있으나 그 反面에 이 方法에는 다음과 같은 것이 더 發展되어야 하겠다. 卽 1) 理論의 뒷바침이 아직 充分치 못하다. 2) 單一沈降層의 確實性이 적다. 3) 定量的으로 同一한 實驗結果를 反覆해서 얻기힘든다. 4) 非特異的인 沈降層이 보다 더 顯하게 나타 날 수가 있다.

그러나 이 方法은 아직 抗原-抗體의 結合物이 證明되어 있지 않은 여러 系에 適用코져 널리 研究되고 있다. 이것 亦是 基礎的인 그 使用義意만이 獸醫血清學에서는 있을 뿐이다.

補體結合反應

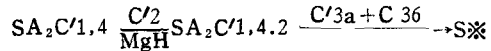
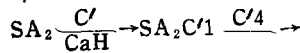
Von Krough의 數式, $x = K \left(\frac{y}{1-y} \right) \frac{1}{n}$ 는 오늘날 우리가 알고 있는 여러 基礎的이고 理論的인 知識을 갖게 하는데 끊임없이 쓰여오고 있다. X를 補體의 量, y를 溶血의 程度로 하는 이 式은 고쳐써서 $\log x = \log k + \frac{1}{n} \log \left(\frac{y}{1-y} \right)$

가 됨으로서 $\log x$ 를 $\log \frac{y}{1-y}$ 로 그릴때 接線 $\log k$ 는 補體의 $\log CH_{50}$ 單位가 된다. 補體結合反應의 거이 大部分의 理論的인 研究는 CH_{50} 으로 이루어 길에 위에서 말한 Von krough의 數式이 얼마나 큰 利用價値를 갖이고 있었는가는 여기서 再言할 必要조차 없고 앞으로 이 것이 널리 쓰여진다는 것도 거이 틀림이 없다.

補體結合反應에 둘째로 많은 貢獻을 한 것이 Speer-photometer의 利用이다. Beer와 Lambert의 法則이 溶血現象에 適用 될 수 있었기 때문이다.

셋째로는 反應速度論의 活用이다. 이 세가지의 主要한 要素가 補體結合反應에 適合됨으로서 大略 다음과 같은 것이 밝혀졌다.

- 1) 補體와 赤血球의 溶血系에서의 函數的인 關係,
- 2) CaH과 MgH의 關與 및 이의 作用機轉
- 3) 反應에 미치는 이온強度, 溫度, 反應時間, 反應物의 分量等의 關係,
- 4) chelating 劑로서의 EDTA의 利用
- 5) 反應物質 (補體成分, 補體成分의 中間產物)의 人爲的인 形成 및 化學的인 分析精製
- 7) 同位原素 抗原 (Cr^{51})을 利用한 分子溶血素結合說의 證明等이다. 그中 우리가 가장 興味를 가지는 것의 하나가 溶血系에서의 補體成分의 作用機轉의 구별인데 이것은 다음과 같이 알려져 있다.



補體結合反應은 廣範圍한 抗原-抗體系에 쓰일 수 있고 여러 作用物質과 時間溫度로 잘 調整함으로써 보다 特異한 免疫反應을 成立시킬 수 있다는 點에서 이 數式的 理論과 實際는 다른 어느것 보다 더 깊고 넓게 研究되어 왔다. 그가운데서도 動物(家畜)의 血清에 알맞은 術式으로 發見된 間接補體結合反應은 우리의 耳目을 끈 方法이다. 한 마디로 말해서 이것의 原理는 닭의 抗體量을 토끼의 抗體가 닭과 토끼의 抗體에 特異한 抗原에 結合할때 그 結合程度는 닭의 抗體量에 反比例하고 正常鷄血清은 아무런 影響도 주지 않는다

(20頁하단 계속)

- 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 드룰수 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. 그러니 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 時間的으로 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