

## 濟州馬의 hemoglobin型에 關한 研究

玄海成·金宇權·韓邦根

全南大學校 獸醫科大學

(1990. 12. 28 접수)

### Studies on hemoglobin type in Cheju native horse

Hae-sung Hyun, Woo-kwon Kim, Bang-kuen Han

College of Veterinary Medicine, Chonnam National University

(Received Dec 28, 1990)

**Abstract:** The hemoglobin phenotypes and the gene frequencies of 223 Cheju native horses were studied by starch gel electrophoresis. The results obtained were as follows:

1. In the hemoglobin phenotypes, three phenotypes, HbAA, HbAa and Hbaa, which were controlled by two allelic genes, Hb<sup>A</sup> and Hb<sup>a</sup>, were observed and their frequencies of appearance were 65.47%, 30.04% and 4.48% respectively.
2. The distribution of gene frequency was calculated as 0.805 in Hb<sup>A</sup> and 0.195 in Hb<sup>a</sup>.

**Key words:** Cheju native horse, hemoglobin, phenotypes, allelic genes.

### 緒 論

Hemoglobin은 呼吸色素를 含有한 蛋白質로 그 生理作用에 對해서는 詳細히 밝혀져 있으며, hemoglobin의 多型에 關한 研究는 各種 動物에서 많이 報告되어 있으나 말에 있어서는 研究가 微弱한 실정이다. Cabannes와 Serain<sup>1</sup> 이 2個 型의 存在를 밝힌 후 Bangham과 Lehmann<sup>2</sup> 이 2個 成分의 存在를 認定했으나 多型의 存在에 對해서는 報告하지 않았다. Braend와 Stormont<sup>3</sup>의 研究에서도 모두가 똑같은 2個의 成分을 갖고 있다고 報告하였다. 그 후 Schleger와 Soos<sup>4</sup>는 表現型이 2種類로 識別되는 것을 처음으로 밝혔으며 그 表現型은 常染色體性的인 한쌍의 共優性 對立遺傳子 Hb<sup>A</sup>와 Hb<sup>a</sup>에 의해 支配되고 그 遺傳子型은 Hb<sup>A</sup>/Hb<sup>A</sup>, Hb<sup>A</sup>/Hb<sup>a</sup> 및 Hb<sup>a</sup>/Hb<sup>a</sup>인 것을 報告하였으며, Nishimura等<sup>5</sup>은 Schleger와 Soos<sup>4</sup>의 報告와 一致함을 再確認 하였다.

한편, 國內家畜의 血液蛋白質 遺傳型에 關한 研究는 犬과 反芻類를 中心으로 상당히 研究 되어 있으나<sup>6-13</sup> 말에 關한 研究는 韓等<sup>14-19</sup>과 林等<sup>20</sup>의 競走馬에 對한 報告와 韓等<sup>21</sup>과 鄭等<sup>22</sup>의 濟州馬 血清蛋白質型에 關한 報告가 있었으며, 最近에 韓等<sup>23-25</sup>은 同種免疫에 의한

말 抗血清製造에 關한 研究와 이 抗血清에 의한 濟州馬의 血液型을 分類한 바 있다. 그러나 아직까지 濟州馬의 hemoglobin型에 關한 研究는 報告되어 있지 않은 實情이다.

따라서 本 研究는 濟州在來馬의 血統에 對한 學術的인 基礎資料를 일부나마 마련하고자 濟州在來馬의 赤血球內의 hemoglobin型에 對한 分析을 澱粉 gel 電氣泳動法으로 試圖하였던 바, 그 結果를 여기에 報告 한다.

### 材料 및 方法

**血液試料:** 濟州家畜改良事業所 및 인근牧場과 濟州大學 附屬牧場에서 飼育되고 있는 濟州馬중에서 外觀上 健康하다고 認定되는 말 223頭를 無作為로 選定하여 경정맥에서 5ml의 血液을 採血 하였다. 採血時는 血液에 對하여 1% ethylenediaminetetraacetate(EDTA)를 混合하여 凝固抑制 處理를 하였으며, 바로 金<sup>6</sup>의 方法으로 hemoglobin溶液을 만들어 -20°C에 冷凍 보관한 것을 融解시켜 使用하였다.

**實驗方法:** Hemoglobin 分析은 水平式 澱粉 gel을 利用한 阿部等<sup>26</sup>의 方法을 應用하여 電氣泳動을 實施하였다. Electrolyte buffer는 tris(hydroxymethyl) amino-

methane 30.2g, EDTA 3.0g 및 boric acid 2.3g을 再蒸溜水로 溶解하여 1,000ml로한 pH8.6의 緩衝液을 使用하였다. Gel plate는 electrolyte buffer 溶液에 蒸溜水를 5.35배 稀釋 한후 12% 濃度の 澱粉 gel (Connaught Laboratory Limited Willowdale, Ontario, Canada)을 120×150×6mm의 크기로 만들어 使用하였다. 試料는 6×6mm의 濾紙片 (Toyo filter paper No.2)에 묻혀서 gel에 挿入하고 室溫(8~15°C)에서 3mA/cm의 電流로 約 4시간 泳動 시켰으며, 이때의 電壓은 250~350 volt이었다. gel을 0.1%의 amido black 10 B 溶液에 15분간 染色시킨 후 methanol : water : acetic acid=5 : 5 : 1(容積比)의 混合液으로 24時間 이상 脫色시켜 檢出하였다.

### 結果

Hemoglobin용액을 澱粉 gel 電氣泳動法으로 泳動하여 檢出된 hemoglobin의 전기영동상은 Fig. 1에서 보는 바와 같이 2個의 band로 分離되었으며 Schleger와 Soos<sup>4</sup>에 의해 報告된 것처럼 移動도가 늦은 것을 HbA band, 빠른 것은 HbB band라 하였을 때 HbB band는 모든 個體에서 같은 模樣으로 나타났으나 HbA band

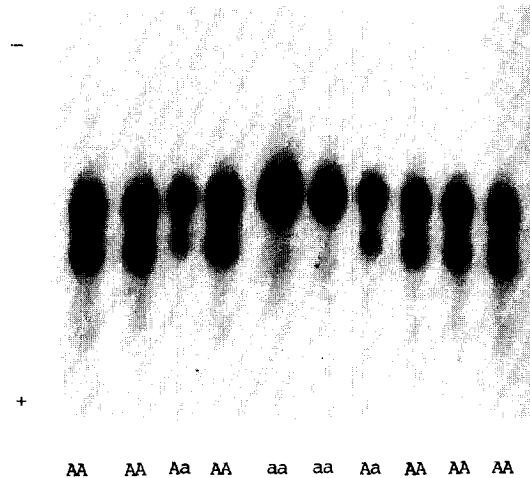


Fig. 1. Hemoglobin phenotypes in Cheju native horse by starch gel electrophoresis.

Table 1. Hemoglobin phenotypes in Cheju native horse

Breed	No. of animal tested	Phenotypes			x <sup>2</sup>	df.	Probability
		HbAA	HBAa	Hbaa			
Cheju native horse	223	146(65.47)	67(30.04)	10(4.48)	0.408	1	0.750-0.500
	*	144.5	70.0	8.5			

Figures in parentheses represent percentage.

\* Expected numbers calculated by Hardy-Weinberg's law.

는 3個型으로 나타났다. 즉 HbA band가 HbB band와 同一한 濃度を 나타내는 것(濃染色帶), HbA band가 HbB band보다 약간 얇은 濃度を 나타내는 것(淡染色帶), 그리고 HbA band가 아예 存在하지 않고 HbB band만 있는 것(無染色帶)으로 구별되었다.

Schleger와 Soos<sup>4</sup>는 이같은 HbA band의 세가지 表現型이 한쌍의 共優性因子 Hb<sup>A</sup>와 Hb<sup>a</sup>의 組合方法에 따라 결정된 것으로 結論하고 있는데, 이에 따른다면 HbA band의 濃染色帶 染色個體의 遺傳因子型은 HbAA, 淡染色帶 染色個體의 遺傳因子型은 HbAa, 無染色個體의 遺傳因子型은 Hbaa가 되며, 이들 表現型의 出現頻度는 Table 1에서 보는 바와 같이 全體 實驗馬 223頭 중 각각 HbAA型이 65.47%(146두), HbAa型이 30.04%(67두), 그리고 Hbaa型이 4.48%(10두)이었으며, HbA band의 表現型에서 算出된 各 對立遺傳子의 出現頻度는 Table 2에서 보는 바와 같이 Hb<sup>A</sup> 遺傳子가 0.805이었고 Hb<sup>a</sup> 遺傳子는 0.195로서 Hb<sup>A</sup>가 Hb<sup>a</sup> 보다 훨씬 높게 나타났다.

Table 2. Frequencies of gene for hemoglobin types in Cheju native horse

Breed	Frequencies of gene	
	Hb <sup>A</sup>	Hb <sup>a</sup>
Cheju native horse	0.805	0.195

### 考 察

말에 있어서 hemoglobin型에 관한 研究는 澱粉 gel 電氣泳動法으로 Cabannes와 Serain<sup>1</sup>이 2個型의 存在를 報告 하였으며, Bangham과 Lehmann<sup>2</sup> 및 Braend와 Stormont<sup>3</sup>의 研究에서도 一致하였으나 遺傳的 變異의 存在를 밝히지는 못하였다. 그후 Schleger와 Soos<sup>4</sup>가 表現型이 2種類로 識別되는 것을 처음으로 밝혔으며, 그 表現型은 常染色體性的 한쌍의 共優性 對立遺傳子 Hb<sup>A</sup>와 Hb<sup>a</sup>에 의해 支配되고 있음을 報告 하였으며, Nishimura等<sup>5</sup>은 이것을 再確認하였다.

本 實驗에서는 Schleger와 Soos<sup>4</sup>가 報告한 바와 같

이 移動도가 느린 것을 HbA band, 빠른 것을 HbB band라고 命名하였으며, HbB band는 모든 個體에서 같은 模樣으로 나타났으나 HbA band는 3個의 型으로 區分되었다. 이들 表現型은 常染色體性的 顯성의 共優性 對立遺傳子 Hb<sup>A</sup>와 Hb<sup>a</sup>에 의해서 遺傳적으로 支配되며, 각 遺傳子型은 Schleger와 Soos<sup>4</sup>의 報告와 같이 각각 Hb<sup>A</sup>/Hb<sup>A</sup>, Hb<sup>A</sup>/Hb<sup>a</sup> 및 Hb<sup>a</sup>/Hb<sup>a</sup>로 表現되었다. Hemoglobin phenotype의 出現頻度は Table 1에서 보는 如와 같이 Hardy-Weinberg의 法則으로 계산된 期待値와 一致(df=1 p>0.5)한 것으로 認定되며, 全體 實驗馬 223頭 中 表現型의 出現頻度は 각각 HbAA型이 65.47%(146頭), HbAa型이 30.04%(67頭), 그리고 Hbaa型이 4.48%(10頭)로 HbAA型이 HbAa型이나 Hbaa型보다 높은 出現頻度を 나타내고 있었다. Nishimura等<sup>5</sup>의 報告에 依하면 濟州馬의 表現型은 HbAA型과 HbAa型만이 認定되고 Hbaa型은 認定되지 않았다고 報告하였는데, 本 實驗結果에서는 Hbaa형도 나타나고 있었다. 또 Nishimura等<sup>5</sup>은 유럽의 pony와 태국, 말레이시아 在來馬는 HbAA型만이 存在하고 日本 在來馬중에서도 北海島와 對馬島 在來馬를 除外하고는 대부분이 Hbaa型은 認定되지 않았다고 報告하고 있다. 濟州馬의 HbAA型과 HbAa型의 出現頻도에 있어서도 Nishimura等<sup>5</sup>은 HbAA(87.67%)가 HbAa(12.33%)보다 훨씬 높은 出現頻도를 나타낸다고 報告하였는데, 本 實驗에서도 정도의 差異는 있으나 HbAA가 HbAa보다 높은 出現頻도를 보였다. 實驗 結果 다른 研究者들이 4°C에서 約 2時間 電氣泳動한 것에 비해 本 實驗에서는 室溫(8~15°C)에서 4時間으로 電氣泳動 時間을 延長한 結果 HbAA型과 HbAa型의 구별이 容易하였으며, Nishimura等<sup>5</sup>과 같이 2時間으로 電氣泳動할 경우 HbAA型과 HbAa型의 구별이 어려웠다.

한편 遺傳子 出現頻도에 있어서 Nishimura等<sup>5</sup>에 의하면 유럽의 Hackney pony와 Welshmountain pony, 아시아의 태국과 말레이시아 在來馬에서는 Hb<sup>A</sup>만이 認定되고, 유럽의 Shetland pony와 日本 및 韓國의 在來馬에서는 Hb<sup>A</sup>가 Hb<sup>a</sup>보다 훨씬 높은 出現頻도가 認定된다고 報告 하였으며, 특히 濟州在來馬에서는 Hb<sup>A</sup>가 0.938로 나타나 0.062의 出現頻도를 보인 Hb<sup>a</sup>보다 훨씬 높은 出現頻도를 보인다고 報告하였다. 本 實驗에서도 Hb<sup>A</sup> 遺傳子가 0.805이었고, Hb<sup>a</sup> 遺傳子는 0.195로서 Hb<sup>A</sup>가 Hb<sup>a</sup>보다 높은 出現頻도를 나타내고 있었다. 이상의 結果를 綜合해 볼때 濟州馬의 hemoglobin phenotype은 다른 品種에 比해서 多型으로 나타나고 있었다.

## 結 論

濟州馬의 赤血球내 hemoglobin phenotype 및 그 支配遺傳子의 出現頻度を 檢討하고자 濟州島에서 飼育되고 있는 濟州馬 223頭를 對象으로 하여 水平式 澱粉 gel 電氣泳動法을 實施하여 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. Hemoglobin의 전기영동상에서 移動도가 빠른 HbB band는 모두 같은 模樣으로 나타났으나, 移動도가 느린 HbA band는 3型으로 나타났던 바, 이들 HbA band에 의해서 hemoglobin型을 구분 하였을때 hemoglobin phenotype은 HbAA型, HbAa型 및 Hbaa型의 3型으로 나타났으며, 이들의 出現頻度は HbAA型이 65.47%, HbAa型이 30.04% 그리고 Hbaa型이 4.48%이었다.

2. Hemoglobin型의 支配遺傳子는 Hb<sup>A</sup>와 Hb<sup>a</sup>의 2種으로 그 出現頻度は Hb<sup>A</sup>가 0.805이었고 Hb<sup>a</sup>가 0.195이었다.

## 參 考 文 獻

1. Cabannes R, Serain CR. Etude electrophoretique des hemoglobins des mammifer es domestiques d'Algerie. Societe de Biologie et de ses Filiales. 1955;149:1193~1197.
2. Bangham AD, Lehmann H. Multiple hemoglobin in the horses. Nature, London. 1958;181:267~269.
3. Braend M, Stormont C. Studies on hemoglobin and transferrin types of horses. Nord, Vet Med. 1964;16:31~37.
4. Schleger W, Soos P. Serum transferrin and hemoglobin polymorphism in Lipizzaner horses. Proc. 11th European Conference on Animal Blood Groups and Biochemistry. Polymorphism (Warsaw). 1968;477~480.
5. Nishimura T, Watanabe S, Matsushima Y. Studies on the polymorphism of erythrocyte catalase isozyme and hemoglobin in pony. J Agr Sci. Tokyo Univ. Agr. 1975;20:23~28.
6. 金宇權. 濾紙 및 寒天電氣泳動法에 依한 韓牛의 Hemoglobin Phenotype에 對한 研究. 全南大 農漁村開發研究誌. 1973;7:35~40.
7. 金宇權. 개의 Hemoglobin, Albumin 및 Transferrin의 型에 關한 研究. 大韓獸醫學會誌. 1974;14(2):191~200.

8. 金字權, 韓邦根, 金子淑. 珍島犬의 血液像과 血液蛋白質型에 관한 研究. II. 珍島犬의 血液蛋白質型. 大韓獸醫學會誌. 1988;28(2):299.
9. 金字權, 李載洪, 金五南等. 反芻動物의 Hemoglobin型에 관한 研究. 全南大 農漁村開發研究誌. 1977;12:33~39.
10. 金字權, 李載洪, 林貞澤等. 乳牛의 血液蛋白質型에 관한 研究. 全南大論文集. 1979;25:355~370.
11. 李載洪, 金字權. 山羊의 血清 Transferrin型에 관한 研究. 全南大 農漁村開發研究誌. 1975;10:219~225.
12. 韓相基, 李基萬. 韓牛 및 혼스타인종의 Hemoglobin型에 관한 研究. 韓國畜產學會誌. 1982;24(6):517~521.
13. 林英在, 宋永義, 鈴木正三等. 꽃사슴의 血清蛋白質에 관한 研究. 大韓獸醫學會誌. 1985;25(1):19~26.
14. 韓相基, 鄭義龍, 姜熙日. 競走馬의 血液型에 관한 研究. I. 血清 Transferrin의 遺傳的 多型. 韓國畜產學會誌. 1986;28:454~461.
15. 韓相基, 鄭義龍, 姜熙日. 競走馬의 血液型에 관한 研究. II. 血清 Albumin의 遺傳的 多型. 韓國畜產學會誌. 1986;28:462~467.
16. 韓相基, 鄭義龍, 姜熙日. 競走馬의 血液型에 관한 研究. III. 血清 Prealbumin의 遺傳的 多型. 韓國畜產學會誌. 1986;28:701~707.
17. 韓相基, 鄭義龍, 姜熙日. 競走馬의 血液型에 관한 研究. IV. 血清 Esterase 酵素의 遺傳的 多型. 韓國畜產學會誌. 1989;31:132~138.
18. 韓相基, 鄭義龍, 姜熙日. 競走馬의 血液型에 관한 研究. V. 血清 Xk 蛋白質의 遺傳的 多型. 韓國畜產學會誌. 1990;32:61~65.
19. 韓相基, 鄭義龍, 姜熙日. 競走馬의 血液型에 관한 研究. VI. 赤血球 Catalase, Carbonic anhydrase 및 Acid phosphatase 酵素의 遺傳的 多型. 韓國畜產學會誌. 1990;32(2):66~73.
20. 林英在, 엄영호. 競走馬 生産을 위한 血液型 研究. I. 血清 Albumin型에 對하여. 大韓獸醫學會誌. 1989;29(4):457~460.
21. 鄭義龍, 韓相基, 申裕澈等. 濟州在來馬의 血清, 血球 蛋白質 및 酵素의 生化學的 遺傳形質에 관한 研究. I. 血清蛋白質의 遺傳的 多型 現象. 韓國畜產學會誌. 1990;32(6):298~308.
22. 鄭昌朝, 金重桂, 李賢鍾. 濟州馬의 血統定立 및 保存에 관한 研究. 濟州大 畜產問題研究所 1985;35~72.
23. 韓邦根, 松本寬, 張德支. 同種免疫에 의한 말抗血清 製造에 관한 研究. 大韓獸醫學會誌. 1990;30(2):145~156.
24. 韓邦根, 張德支, 玄海成等. 標準 抗血清에 의한 濟州馬 血液型 分類. 濟州大 畜產問題研究所. 1988;17~28.
25. 韓邦根, 張德支, 玄海成. 濟州馬의 血液成分에 미치는 年齡, 季節 및 性의 影響. 大韓獸醫學會誌. 1990;30(4):525~532.
26. 阿部, 大石, 茂木. 牛胎兒ヘモクロビンの 生後の 消長と 免疫學的 特性. 畜試研報. 1969;20:7~12.