

## 인유 및 우유의 획분에 존재하는 표지효소들의 효소활성과 분포

조진국 · 武田安弘\* · 김천제 · 김창한  
건국대학교 동물자원연구센터, \*日本 森永乳業(株)

### Enzymatic Activity and Distribution of Marker Enzymes between Human Milk and Bovine Milk with Their Separated Milk Fractions

J. -K. Cho, Y. Takeda\*, C. J. Kim and C. H. Kim

Animal Resources Research Center, Kon-Kuk University, Seoul, Korea,

\*Morinaga Milk Industry Co., Ltd, Zama, Japan 228

#### Abstract

Human milk and bovine milk in normal stage were fractionated four parts: cream, whey, skim milk membrane, and casein pellet. The specific activity (nmole/min/mg protein) and distribution ratio(%) of suborganella marker enzymes in each separated milk fraction were determined. Especially, neutral  $Ca^{2+}$ -ATPase, acid  $Ca^{2+}$ -ATPase, NADH-cytochrome C reductase, and acid phosphatase were higher in human milk than in bovine milk. However, both  $Ca^{2+}$ -ATPases were not detected in all fractions of bovine milk. On the other hand, 5'-nucleotidase, phosphodiesterase I, alkaline phosphatase, and  $\gamma$ -glutamyl transpeptidase activities in bovine milk were higher than in human milk. Most of the marker enzymes were highly distributed in cream fraction of either human milk or bovine milk, and their specific activities were high to 24 fold from 3 fold when compared with that of whole milk.

These results suggest that marker enzymes in mammary epithelial cell are transferred into cream fraction by the membrane rearrangement, and different biochemical reaction between human and bovine exists for milk secretion in mammary gland.

Key words : marker enzymes, human milk, bovine milk, MFGM.

## 서 론

유선세포의 세포질에는 유성분의 합성의 초기단계에 관여하는 대부분의 효소가 존재한다. 우유에는 약 60종류의 효소가 포함되어 있는 것으로 보고되어 있고<sup>(1)</sup>, 그중 활성이 인정되는 효소로는 15종류를 예를 들수 있으며 주로 유성분의 합성과 분해에 관계하고 있다고 고찰되고 있다<sup>(2)</sup>. 이들 중의 일부는 혈액에서 이행하여 오는 것도 있지만 대부분은 유선에서 합성되어 비유과정을 통하여 우유중에 이행하여 casein micell이나 유지방구막에 흡착하거나 또는 whey중에 분산하여 존재하고 있다<sup>(2,3)</sup>.

그러나, 유선세포 중에서는 이들 효소가 한결 같은 기관이나 조직에 분포하고 있지 않으며 각 세포기관에 존재하는 효소의 종류도 틀리다. 따라서 표지효소(marker enzyme)활성은 특정한 세포내 소기관의 존재나 상태를 측정하는 중요한 지표의 역할을 한다<sup>(4)</sup>.

일반적으로 분비유에는 유선의 세포내 소기관 유래의 막과 정단세포막 유래의 표지효소가 존재한다<sup>(5)</sup>. 특히, 유지방구막(milk fat globule membrane)은 유선세포의 정단세포막에 존재하고 있던 표지효소들을 포함하고 있으며, 이러한 유선세포막의 표지효소활성은 유지방구막에서 실제 검출되고 있다<sup>(2,3)</sup>.

유지방구막은 약 45% 단백질과 55%의 지질로 구성된 구조지질단백질이며<sup>(6)</sup>, 유선세포내 합성된 지방적은 정단세포막 부근까지 이동되어 정단세포막에서 유래하는 유지방구막에 의

Corresponding author : J. K. Cho, Animal Resources Research Center, Kon-Kuk University, 93-1, Mojin-dong, Kwangjn-ku, Seoul 143-701, Korea

해 피복되어 세포밖으로 분비된다<sup>(7,8)</sup>. 이러한 사실은 1959년에 Bargmann과 Knoop<sup>(9)</sup>에 의해 전자현미경으로 관찰되었고, 그 후 유지방을 피복하고 있는 유지방구막에 관해서 많은 연구가 진행되어 왔다<sup>(6,10)</sup>. 그러나 그 성상은 매우 복잡하며 특히 효소들이 어떤 과정을 통하여 우유 중에 함유되는지 아직 밝혀지지 않고 있다.

본 연구에서는 유선의 유지방구막을 중심으로 한 분비기구를 설명하는데 기초자료를 얻고자 인유와 우유를 cream 및 whey, skimmilk membrane, casein pellet 획분으로 분리한 후, 인유중에서 발견한  $Ca^{2+}$ -ATPase를 비롯하여 세포내 소기관의 표지효소의 활성과 분포를 측정하여 비교하였다.

## 재료 및 방법

### 재 료

인유는 Tochigi국립병원(일본)을 통하여 건강한 산모들로부터 분만후 30일경의 상유(normal milk)를 제공받았다. 우유는 일본 Utsunomiya대학 부속농장의 Holstein유우군(4두)으로부터 채취하였다. Imidazole, L-histidine, L-ascorbic acid, ammonium molybdate, sodium acetate 등은 Wako Co. (일본)에서 구입하였다. 5'-ATP, Tris (hydroxymethyl) amino methane, sodium dodecyl sulfate, folin-ciocalteu phenol reagent, bovine serum albumin, phenylmethanesulfonyl fluoride(P-MSF)는 생화학공업(일본)에서 각각 구입하였으며, 그밖의 시약들은 순도가 높은 분석용급을 사용했다.

### 전유의 분획

Hitachi 원심분리기(RPS27-2 Rotor)를 이용하여, 인유와 우유를 100,000×g, 4℃에서 90분간 원심분리하여, cream 및 skimmilk membrane, whey, casein pellet 획분으로 분리한 후, 순차적으로 회수하였다. cream은 중량을 재고 그 중량의 2.5배량의 증류수를 첨가하여 분산시키고, 얼음에 일정시간동안 냉각하고 맹렬히 진탕하여 churning이 되었는가를 확인한 후, 유지방구막을 포함하고 있는 buttermilk를 정량적으로 회수하여 시료로 이용

하였다. casein pellet은 그 중량과 동량의 10 mM Tris-HCl 완충액(pH 7.0)에 분산시켜 시료로 사용하였다.

## $Ca^{2+}$ -ATPase 및 표지효소의 활성측정

### 1) $Ca^{2+}$ -ATPase의 활성측정

중성 $Ca^{2+}$ -ATPase의 활성측정은 1 mM NaCl, 1 $\mu$ M ouabain, 0.45 mM  $CaCl_2$ 를 포함하는 20 mM imidazole-histidine완충액(pH 7.0)에 효소단백질을 첨가하여 37℃에서 5분간 예비가온한 뒤, 1mM ATP기질을 첨가하여 37℃에서 30분간 반응시켰다. 반응개시 30분후 9% trichloroacetic acid를 1ml 가하여 얼음에 넣어 반응을 정지시키고, 3,000rpm에서 5분간 원심분리하여 유리된 무기인(Pi)을 Chen 등의 방법으로 측정하여 ATPase활성을 계산하였다<sup>(11)</sup>. 무기인의 정량은 인정량시약(10% ascorbic acid: 2.5% molybden ammonium: 2N  $H_2SO_4$ , 1:1:3, v/v/v)을 1ml 더하여 45℃에서 20분간 발색시켜 비색계로 820nm에서 측정하였다. 산성 $Ca^{2+}$ -ATPase의 활성측정은 207 mM  $CaCl_2$ 를 포함하는 20 mM sodium acetate완충액(pH 5.0)을 이용하여 중성ATPase와 같은 방법으로 측정하였다.

### 2) 표지효소의 활성측정

$\gamma$ -glutamyl transpeptidase<sup>(12)</sup>,  $Na^+$ ,  $K^+$ -ATPase<sup>(11)</sup>, NADH-cytochrome C reductase<sup>(5)</sup>, phosphodiesterase I<sup>(13)</sup>, 5'-nucleotidase<sup>(14)</sup>, acid phosphatase<sup>(15)</sup>, alkaline phosphatase<sup>(15)</sup> 등의 각 표지효소활성 측정은 참고 문헌의 방법을 약간 수정하여 37℃에서 30분간 incubation한 후 비색법에 의하여 측정하였다.

각 효소활성은 비활성 ( $\mu$ mole/min/mg protein)으로 나타내었고, 활성의 분포도는 전유의 효소활성을 100%로 하여 각 획분이 차지하는 상대활성을 전유의 효소활성으로 나누어 백분율(%)로 표시하였다.

### 단백질농도 측정

단백질농도는 Lowry방법<sup>(16)</sup>을 개량한 Markwell법<sup>(17)</sup>으로 측정하였고 표준물질로는 bovine serum albumin을 이용하였다.

## 결 과

본 실험에서는 분만후 30일이 경과한 상유기의 인유와 우유를 이용하여 cream, whey, skim milk membrane, casein pellet으로 분획하고 각 획분에 있는 유선세포 표지효소의 활성과 분포변화를 조사하였다. 효소활성은 비활성(nmole/min/mg) 및 상대활성의 분포도(%)로 각각 나타내었다.

비활성의 측정과 유획분 중의 단백질량의 분포를 고찰하기 위해 우선 원심분리하여 분획한 각 획분의 단백질 농도와 함량을 측정하였다. 각 획분의 평균중량(%)는 cream이 4.4%, whey가 80.2%, skim milk membrane이 6.0%이고, casein이 8.0%였다. Table 1에 나타낸 바와 같이, 분리한 인유와 우유획분의 단백질의 함량은 whey에서 각각 89%와 45%로 가장 높고, 우유의 경우에는 casein에도 42%가 분포하고 있었다.

Table 2는 인유를 분획하였을 때 나타난 유선세포 표지효소의 활성과 분포의 결과이다. 모유중에는 pH 7.0에서 0.45mM의  $Ca^{2+}$ 에 의해 최대활성을 나타내는  $Ca^{2+}$  감수성 ATPase와 pH 5.0에서 204mM의  $Ca^{2+}$ 에 의해 최대활성을 나타내는  $Ca^{2+}$  감수성 ATPase가 존재하는 것이 발견되었다(각각 중성과 산성  $Ca^{2+}$ -ATPase라고 호칭함)<sup>(18)</sup>.

중성 및 산성  $Ca^{2+}$ -ATPase의 비활성은, 인유의 다른 표지활성보다도 높아 각각 10.8 및 14.3nmole/min/mg이었다. Cream에 있는 중성  $Ca^{2+}$ -ATPase의 비활성은 118.7nmole/min/mg로 전유의 활성을 1로 한다면 비활성

은 11배로 상승하였고, 효소활성의 분포는 55%를 차지하였다. 그 다음으로는 skim milk membrane의 비활성이 3.3배로 높고, 효소활성의 분포는 whey에 26% 및 skim milk membrane에 14%로 높은 비율을 나타냈다. 그리고, 산성  $Ca^{2+}$ -ATPase의 활성은 cream에 약 67%가 분포되어 있었고, 비활성은 158.3nmole/min/mg로 전유에 비하여 11배 높았다. 다른 획분에 있는 산성  $Ca^{2+}$ -ATPase는 skim milk membrane에서 높은 비활성을 나타냈고(28.2nmole/min/mg), 활성분포는 whey와 skim milk membrane에 각각 20%와 8%를 차지하고 있었다. 그러나, 우유와 그의 각 획분을 이용하여 중성 및 산성  $Ca^{2+}$ -ATPase의 활성을 측정하였을 때, 양 효소활성은 Table 3에 나타낸 우유의 측정결과와 같이 전혀 검출이 되지 않았다.

$Na^+$ ,  $K^+$ -ATPase는 우유(0.8nmole/min/mg)보다도 인유(1.2nmole/min/mg)에서 비활성이 높고, 활성분포는 cream(49%)과 skim milk membrane(25%)을 합친 세포막 유래의 획분에 약 70% 이상이 분포하고 있었다(Table 2). 그러나, 우유획분에서의  $Na^+$ ,  $K^+$ -ATPase활성은 전반적으로 낮았으며, 중성 및 산성  $Ca^{2+}$ -ATPase의 casein획분에의 분포가 각각 5.8% 및 5.5%인 것에 대하여  $Na^+$ ,  $K^+$ -ATPase는 casein획분에 17% 분포하고 있었다.  $Ca^{2+}$ -ATPase와  $Na^+$ ,  $K^+$ -ATPase가 ATP를 분해하는 효소이기는 하나 두 효소가 서로 다른 효소임을 시사하고 있다.

이외에 우유보다도 인유에서 활성이 높은 효소는 소포체외막의 표지효소인 NADH-cytochrome C reductase<sup>(5)</sup>이었다. NADH-cyto-

**Table 1. Protein recovery ratio (%) in separated milk fractions of human milk and bovine milk**

Fraction	Protein recovery (%)	
	Human milk	Bovine milk
Whole milk	100.0	100.0
Cream	3.6±1.8	2.2±0.5
Whey	88.9±9.1	44.9±3.5
Skim milk membrane	3.6±1.7	10.9±1.9
Casein	3.4±2.0	41.7±13.3

Protein amount (mg of protein) was expressed as the ratio (%) over whole milk. Numerals show the mean±SD (n=8~14 for human milk and n=3 for bovine milk).

Table 2. Enzymatic activity and distribution of suborganella marker enzymes in human milk and their separated milk fractions

	Whole milk		Cream		Whey		Skimmilk membrane				Casein	
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
	Neutral Ca <sup>2+</sup> -ATPase	10.8±7.1	100	118.7±31.3	54.5±15.0	2.9±2.0	25.5±11.5	35.8±27.7	14.3±5.1	17.6±13.9	5.8±3.8	
Acid Ca <sup>2+</sup> -ATPase	14.3±4.8	100	158.3±1.3	66.7±8.1	2.5±1.3	19.6±4.7	28.2±19.4	8.2±2.9	14.3±9.9	5.5±3.6		
Na <sup>+</sup> , K <sup>+</sup> -ATPase	1.2±1.2	100	15.3±7.2	49.4±8.0	0.2±0.4	7.9±14.9	11.1±8.3	25.4±12.7	6.7±7.3	17.3±15.4		
5'-Nucleotidase	0.1±0.1	100	0.6±1.0	30.8±3.8	0.1±0.1	57.4±18.7	0.1±0.2	2.0±1.3	0.4±0.5	9.8±11.5		
Phosphodiesterase I	0.6±0.6	100	2.1±2.1	25.8±2.8	0.2±0.4	58.5±25.5	0.4±1.9	5.4±5.3	1.3±1.9	10.1±8.5		
γ-Glutamyl transpeptidase	89.3±13.3	100	898.2±34.8	53.3±12.9	20.1±8.9	34.7±10.8	125.2±80.7	7.9±2.7	83.5±43.4	4.2±1.4		
Alkaline Phosphatase	2.0±1.4	100	14.3±14.9	28.7±16.5	0.7±0.5	48.5±15.2	4.2±4.7	7.0±3.7	7.3±6.4	16.4±7.1		
Acid phosphatase	1.4±1.1	100	11.6±9.0	42.6±22.6	0.4±0.3	42.0±20.2	0.7±0.4	3.2±1.8	4.0±4.6	12.1±5.3		
NADH-cytochrome C reductase	11.3±9.1	100	15.2±6.4	10.9±12.1	11.0±9.7	83.1±13.1	7.6±8.3	4.4±5.1	2.2±1.1	1.4±1.1		

A, Specific activity (nmole/mg of protein/min); B, Relative activity was expressed as the ratio (%) over whole milk. Numerals show the mean±SD (n=8~14)

chrome C reductase의 비활성은 인유에서 11.3nmole/min/mg인 것에 비하여, 우유에서는 1.5nmole/min/mg이었다. 분획한 어느 경우에 있어서도 우유보다는 인유 획분의 비활성이 높았다. 인유 및 우유의 각 획분에 있는 NADH-cytochrome C reductase의 활성분포를 비교하면 whey에 있어서 현저하게 높아 각각 83% 및 79%를 차지하고 있었다.

lysosome의 표식효소이나 유지방구막에서도 검출되는 acid phosphatase<sup>(10)</sup> 및 인유의 비활성이 1.4nmole/min/mg으로 우유(0.5nmole/min/mg) 보다 약 3배 높았고, cream의 비활성은 인유가 11.6nmole/min/mg인 것에 비하여 우유의 활성은 10.0nmole/min/mg으로 증가한 활성을 나타내고 있으나 다른 획분들에 있어서의 큰 차이는 없었다. Cream획분 및 whey에 있는 효소분포는 인유에서 43% 및 42%, 우유에 있어서는 33% 및 28%로 약간의 차이를 나타내었다.

반면에, 우유에 활성이 높게 나타난 효소는 소유선세포막의 표지효소인 5'-nucleotidase와 인산의 monoester를 분해하는 phosphodiesterase I<sup>(5)</sup>의 활성으로 17.4와 214.2nmole/min/mg으로 인유와 비교하여 매우 높은 수치를 나타냈다(Table 3). 특히, cream에 있는 비활성은 인유가 5'-nucleotidase와 phosphodiesterase I이 0.6과 2.1nmole/min/mg인 것에 비하여 우유의 비활성은 397.4와 770.3nmole/min/mg으로 각각 인유의 660배와 360배이었다. 그리고, 인유의 5'-nucleotidase 및 phosphodiesterase I의 cream과 skimmilk membrane의 막성분에 있는 분포는 33% 및 31%인 것에 비하여, 우유에서는 각각 80% 및 60%를 점유하고 있었다. 5'-nucleotidase 및 phosphodiesterase I의 결과로 볼 때, 소의 유선분비세포가 사람의 경우보다 더욱 핵산의 대사가 활발한 것으로 추정된다.

Alkaline phosphatase의 활성은 우유(12.8nmole/min/mg)가 인유(2.0nmole/min/mg)보다 비활성이 6.2배 높았다. 활성분포는 인유의 경우 whey가 49%로 높고, cream이 29%로 낮은 것에 비하여, 우유에서는 cream이 46%로 높고, whey에서는 20%로 낮았다. 우유의 cream층에 존재하는 alkaline phosphatase활성의 분포경향은 Worth<sup>(20)</sup>의 결과

Table 3. Enzymatic activity and distribution of suborganelle marker enzymes in bovine milk and their separated milk fractions

	Whole milk			Cream		Whey		Skimmilk membrane			Casein	
	A	B	100	A	B	A	B	A	B	A	B	
	Neutral Ca <sup>2+</sup> -ATPase	-	-	100	-	-	-	-	-	-	-	-
Acid Ca <sup>2+</sup> -ATPase	-	-	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Na <sup>+</sup> , K <sup>+</sup> -ATPase	0.8 ± 0.8	0.8 ± 0.8	100	4.8 ± 1.4	43.1 ± 8.0	1.7 ± 1.7	17.7 ± 1.2	1.5 ± 0.3	31.6 ± 1.3	0.4 ± 0.3	7.6 ± 0.4	
5'-Nucleotidase	17.4 ± 0.9	17.4 ± 0.9	100	397.4 ± 4.3	50.5 ± 7.5	3.9 ± 1.4	11.8 ± 5.9	51.1 ± 22.6	28.9 ± 2.7	4.2 ± 1.0	8.8 ± 1.2	
Phosphodiesterase I	214.2 ± 65.1	214.2 ± 65.1	100	770.3 ± 210.4	36.1 ± 7.0	39.0 ± 17.7	36.5 ± 11.3	105.5 ± 33.1	22.9 ± 7.7	7.4 ± 5.0	4.8 ± 0.4	
γ-Glutamyl transpeptidase	150.1 ± 1.8	150.1 ± 1.8	100	1832.6 ± 279.5	25.6 ± 5.2	146.0 ± 48.3	43.0 ± 14.1	353.7 ± 225.1	20.2 ± 9.2	48.4 ± 19.2	11.2 ± 2.7	
Alkaline phosphatase	12.8 ± 1.4	12.8 ± 1.4	100	254.6 ± 35.2	45.7 ± 8.5	5.3 ± 1.9	19.9 ± 6.6	28.7 ± 8.9	22.4 ± 5.7	4.2 ± 2.0	12.0 ± 1.9	
Acid phosphatase	0.5 ± 0.1	0.5 ± 0.1	100	10.0 ± 1.4	33.4 ± 3.6	0.4 ± 0.1	28.1 ± 7.2	1.4 ± 0.2	10.7 ± 4.1	1.0 ± 0.3	27.9 ± 5.7	
NADH-cytochrome C reductase	1.5 ± 0.1	1.5 ± 0.1	100	11.3 ± 2.4	5.2 ± 1.1	5.6 ± 1.7	79.3 ± 18.1	0.6 ± 0.1	3.0 ± 1.1	2.0 ± 0.1	12.5 ± 2.1	

A, Specific activity (nmole/mg of protein/min); B, Relative activity was expressed as the ratio (%) over whole milk. Numerals show the mean ± SD (n=3)

(30~40%)와 유사한 것으로 보인다. 그러나 cream을 세정하면 alkaline 및 acid phosphatase의 활성은 감소한다고 하므로<sup>(19)</sup>, 유지방 구막에 가볍게 결합하고 있으며 비교적 다른 효소들 보다는 유지방구막에 대한 기여도가 적을 것으로 사료된다.

소의 유선세포막과 우유지방구막에 존재하는 것으로 알려진 γ-glutamyl transpeptidase<sup>(5)</sup>는 Ca<sup>2+</sup>-ATPase와 같이 다른 효소들보다 높은 비활성을 나타냈다. 인유는 전유(89.3nmole/min/mg)와 비교하여 cream에의 비활성이 898.2nmole/min/mg으로 10배 증가되었으며 활성분포는 53% 였다. 그것에 비하여 우유는 cream에의 비활성이 전유(150.1nmole/min/mg)에 비하여 12배 (1832.6nmole/min/mg) 높았으나 활성의 분포율은 whey에서 43%로 가장 높았다(Table 3). 우유의 이러한 분포결과는 Sobiech과 Wieczorek의 결과<sup>(21)</sup>와 유사한 것으로 나타났다.

### 고 찰

본 논문에서는 유선세포내 소기관의 막 또는 정단세포막에 존재하는 것으로 예상되는 표지효소의 활성을 인유 및 우유를 이용하여 측정하였다. 인유와 우유를 분리하여 각 핵분을 조제하였을 때, 나타난 단백질 분포결과는 일반적으로 알려진 whey(20%)와 casein(80%)의 단백질 분포와는 약간 차이가 있는 결과가 얻어졌다(Table 1). 이는 초원심분리에 의한 조제방법에 기인하는 것으로 사려된다. 표지효소들은 우유보다 인유에 있어서 활성이 높은 중성 및 산성Ca<sup>2+</sup>-ATPase, acid phosphatase 및 NADH-cytochrome C reductase와 우유에서 활성이 더 높은 5'-nucleotidase, phosphodiesterase I 및 alkaline phosphatase, γ-glutamyl transpeptidase로 분류되어졌다. 인유는 5'-nucleotidase, phosphodiesterase I와 같이 핵산에 필요한 효소의 활성이 우유보다 상당히 낮은 것에 비하여 nucleotide 3인산을 가수분해하는 ATPase의 활성이 높은 것이 특징으로 나타났다(Table 2). 인유를 cream 및 whey, skimmilk membrane, casein핵분으로 분획한 경우, 중성과 산성 Ca<sup>2+</sup>-ATPase의 활성은 cream핵분에 각각 55%와 67%의 고비율로 차

율로 차지하였다.  $Ca^{2+}$ -ATPase의 활성이 whey에도 약 20% 이상 차지하고 있는 것은 인유 중에 다량으로 포함되어 있는 proteases에 의하여 이 효소들이 유지방구막으로부터 이탈되어<sup>(23)</sup> whey 및 skimmilk membrane에 이행한 것으로 추정된다.

인유에서 다른 효소들의 활성보다 높게 나타난 중성 및 산성 $Ca^{2+}$ -ATPase 활성이 우유에서 특별히 검출되지 않은 것은 소와 사람의 유즙의 분비기구에  $Ca^{2+}$ 과 ATP의 대사를 둘러싼 생화학적 차이가 있을 것으로 사료된다.

인유의 전유와 cream에 있는 다른 인산분해 효소는 5'-nucleotidase가 0.1과 0.6nmole/min/mg protein, phosphodiesterase I가 0.6과 2.1, alkaline phsphatase가 2.0과 14.3으로 cream 획분에서 증가된 비활성이 관찰되었고 분포도도 높은 것으로 나타났다. 이외에 skimmilk membrane 획분에서도 다른 획분보다 비교적 높은 비활성을 나타냈다(Table 2).

한편, 인유의 5'-nucleotidase 및 phosphodiesterase I의 cream과 skimmilk membrane에 있는 분포는 26% 및 31%인 것에 비하여 우유에서는 각각 80% 및 60%를 점유하고 있었다. 5'-nucleotidase 및 phosphodiesterase I의 결과로 볼 때, 소의 유선분비세포가 사람의 경우보다 더욱 핵산의 대사가 활발한 것으로 추정된다.

이상의 결과를 종합하면 유선세포막 표지효소들은 지방구를 피복하여 분비된 지방구막 중에 포함되어 cream층으로 이행되는 것이 시사되었으며, skimmilk membrane의 효소들은 이러한 지방구막이 재편성의 결과 원심분리에 의하여 이 구획분에 이행한 것으로 사료된다.

본문의 표지효소들의 생성시기는 불명확하나 Baldwin<sup>(23)</sup>은 소의 비유기에 있는 효소는 이미 임신중에 합성되어 있고, 합성개시후 다른 인자에 의하여 활성이 변하는 것을 보고하고 있다. 이러한 표지효소들의 유선에서의 역할은 지방구가 피복·방출될 때 지방대사 및 유당, 단백질등의 생합성에 관계하고 있는 것으로 추정이 되나 아직 밝혀지지 않고 있다.

이러한 시점에서 이들 결과는 유선에 있는 표지효소의 역할과 유지방구막의 형성기구에 있어서 사람과 소의 차이점을 고찰하는데 기초 자료가 되리라 사료되며 이를 위해 한층 연구

가 주어져야 할 것이다.

## 요 약

본 연구결과, 우유보다 인유에 있어서 활성이 높은 표지효소는 중성 및 산성 $Ca^{2+}$ -ATPase, acid phosphatase 와 NADH-cytochrome C reductase로 분류되었으며, 우유는 5'-nucleotidase, phosphodiesterase I와 같이 핵산의 대사에 필요한 효소와 alkaline phosphatase,  $\gamma$ -glutamyl transpeptidase의 활성이 인유보다 상당히 높은 것으로 나타났다. 반면에 nucleotide-3-인산을 가수분해하는 ATPase의 활성이 낮아  $Ca^{2+}$ -ATPase 활성은 우유에서 전혀 검출되지 않았다. 그리고, 유선세포막 표지효소의 활성은 대부분이 cream에 높게 분포되어 있었으며, 이 획분중의 대부분의 비활성은 전유보다 3배 내지는 24배 높았다.

이상의 결과들은 유선세포내 표지효소들이 분비시 지방구막 중에 포함되어 재편성의 결과 막단백질을 포함하는 cream층으로 이행되는 것과 소와 사람의 유즙의 분비기구에 생화학적인 차이가 있는 것을 시사하고 있다.

## 참고문헌

1. Shahani, K.M., Harper, W.J., Jensen, R. G., Parry Jr. R. M., Zittle, C. A. : Enzymes in bovine milk: A review, *J. Dairy Sci*, 56, 531 (1973).
2. 足立 達, 伊藤敏敏, 乳とその加工, 酵素, けんぱく社, p.100 (1987).
3. 渡 乾二 : 酵素, ミルクのサイエンスI, 全國農協乳業プラント協會, (株)日本出版制作センター, p. 121 (1992).
4. 宇井信生 外8人 : 生化學辭典, 東京化學同人, p. 452 (1989).
5. Kanno, C. and Yamauchi, K. : Selective extration of marker enzymes of bovine milk fat globule membrane by nonion detergents, *J. Biochem.*, 85, 529 (1979).
6. 菅野長右エ門 : 牛乳脂肪球皮膜に関する最近の研究, 日畜會報, 51, 75 (1980).
7. Keenan, T.W., Morre, D.J. and Huang, C.M. : In lactation. Vol. 2, (Larsdn, B.

- L. and Smith ed, V.R.) Academic Press, New York and London, 191 (1974).
8. Deeney, J.T., Valivullah, H.M., Dapper, C.H., Daniel, D.P., Dylewski, P. and Keenan, T.W. : Microlipid droplets in milk secreting mammary epithelial cells: evidence that they originate from endoplasmic reticulum and are precursors of milk lipid globules. *Eur. J. Cell Biol.*, 38 (1985).
  9. Bargmann, W. and Knoop, A. : Formation of milk fat and milk proteins, *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.*, 49, 334 (1959).
  10. Kanno, C. : Secretory membranes of the lactating mammary gland, *Proto-plasma*, 159, 184 (1990).
  11. Chen, P.S., Toribara, T.Y., Yard, H., and Warner, J. : Micro determination of phosphorous, *Anal. Chem.*, 28, 1756 (1956).
  12. Tate, S.S., and Meister, A. : Interaction of  $\gamma$ -glutamyltranspeptidase with amino acids, dipeptides, and derivatives and analogs of glutathione, *J. Biol. Chem.*, 249, 7593 (1974).
  13. Aronson, N.N. Jr. and Touster, O. : In *Methods in Enzymol.* (S. Fleischer and L. Packer eds.) Academic Press, New York vol. 31, 90 (1974).
  14. Christopher, C.W., and Uniceless, J.C. : Partial purification of lipoprotein with 5'-nucleotidase activity from membranes of rat liver cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 61, 1050 (1968).
  15. Bingham, E.W., and Zittle, C.A. : Purification and properties of acidphosphatase in bovine milk. *Arch. Biochem. Biophys.*, 101, 471 (1963).
  16. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., and Randall, R.J. : Protein measurement with the folin phenol reagent, *J. Biol. Chem.*, 193, 265 (1951).
  17. Markwell, M.A.K., Haas, L.L. and Tolbert, N.E., : A modification of the Lowry procedure to simplify protein determination in membrane and lipoprotein samples, *Anal. Biochem.*, 206 (1978).
  18. Cho, J.K. : Biochemical study on  $Ca^{2+}$ -ATPase in human milk, Doctoral thesis, Tokyo University of Agriculture Technology (1993).
  19. Davis, D.T., Holt, C.J. and Christie, W. W. : *Biochemistry of lactation*, Elsevier Science Publisher B. V., p. 70 (1983).
  20. Worth, G.K., Retallack, R.W., Gutteridge, D.H., Jefferies, M. Kent, J. and Smith, M. : Serum and milk alkaline phosphatase in human lactation, *Clin. Chim. Acta*, 115(2), 171 (1981).
  21. Sobiech, K.A. and Wiczorek, E. : Gamma-glutamyl transpeptidase activity in human colostrum, *Enzyme*, 26, 153 (1981).
  22. Storrs, A.B. and Hull, M.E., : Proteolytic enzymes in human and cow's milk, *J. Dairy Sci.*, 39, 1097 (1956).
  23. Baldwin, R.L. : Enzymatic Activities in mammary glands of several species, *J. Dairy Sci.*, 49, 1533 (1966).

---

(1998년 8월 6일 접수)