

사료의 아미노산 조성에 따른 돼지의 단백질 축적을 나타내는 수치모델

이옥희[†] · 김강성

용인대학교 식품영양학과

A Simulation Model for the Protein Deposition of Pigs According to Amino Acid Composition of Feed Proteins

Ok-Hie Lie[†] and Kang-Sung Kim

Dept. of Food Science and Nutrition, Yongin University, Yongin 449-714, Korea

Abstract

This study was conducted to develop a simulation model for the growth dynamics of pigs and to describe quantitatively protein deposition depending on the amino acid composition of feed protein. In the model it is assumed that the essential processes that determine the utilization of feed protein in the whole body are protein synthesis, breakdown of protein, and oxidation of amino acid. Besides, it is also assumed that occurrence of protein deposition depends on genetic potential and amino acid composition of feed protein. The genetic potential for the protein deposition is the maximum capacity of protein synthesis, being dependent on the protein mass of the whole body. To describe the effect of amino acid composition of feed on the protein deposition, a factor, which consist of ten amino acid functions and lie between 0 and 1, is introduced. Accordingly a model was developed, which is described with 15 flux equations and 11 differential equations and is composed of two compartments. The model describes non-linear structure of the protein utilization system of an organism, which is in non-steady-state. The objective function for the simulation was protein deposition(g/day) calculated according to the empirical model, PAF(product of amino acid functions) of Menke. The mean of relative difference between the simulated protein deposition and PAF calculated values, lied in a range of 11.8%. The simulated protein synthesis and breakdown rates(g/day) in the whole body showed a parallel behavior in the course of growth.

Key words: simulation model, amino acid composition, protein deposition

서 론

1900년대 이래로 영양학 분야에서 식이단백질의 질을 평가하고 아미노산의 필요량을 추정하는 척도로써 화학적, 생화학적 분석에 기초한 다양한 공식들이 개발, 사용되어 왔다(1). 이와 함께 컴퓨터의 발달 및 사용 증가와 더불어 최근에는 모델을 사용하여 인체나 흰쥐, 닭, 돼지에서 채취된 시료의 측정치로 식이단백질의 이용률을 평가하고 체내 단백질 대사계의 kinetics을 산출하는 경향이 증가하고 있다(2-7). 이때 사용되는 모델로는 수치모델(simulation model)(3-5), 실험적 모델(empirical model)(6), 반응곡선 모델(response-curve

model)(7,8) 등이 있다. 그 중 유일하게 수치모델은 대사시스템의 생리학적, 또는 생화학적 과정에 대한 수식이나 구조에 관한 설명을 포함하고 있다. 또한 이 모델의 경우 동위원소로 표지한 아미노산을 체내에 투입한 후 측정된 해당 아미노산의 radioactivity를 단백질 및 아미노산의 시스템 분석에 이용하고 kinetics을 추정한다(5). 따라서 이 모델은 식이섭취 변화에 따른 시스템의 동적 행위(dynamic behavior)와 생화학적인 적응기전을 나타내어, 시스템의 작용에 대해 새로운 통찰력을 제시하여, 최근의 단백질대사 연구에 많이 이용되고 있다(5,6).

단백질 및 아미노산 대사를 나타내는데 사용되는 수

[†]To whom all correspondence should be addressed

[§]이 연구는 독일 사민당(SPD)의 Friedrich-Ebert-Stiftung의 지원으로 시행되었습니다.

치모델은 확률모델(probabilistic model, stochastic model)(3,4)과 compartmental model(5)의 두가지로 대별된다. 확률모델은 단백질대사계에 존재하는 compartment 등 시스템의 구조를 고려하지 않아 모델의 구조가 명확하지 않다. 그리고 예측하기 어려운 시스템이나 시스템 구성요소들의 작용을 확률을 사용하여 나타내어 대사계의 총 반응크기만을 다루고 있다. 따라서 체조직에서 측정된 아미노산의 동위원소 activity를 이 모델을 사용하여 분석하면, 체내에 투입된 tracer가 대사pool에서 사라지는 비율만 계산할 수 있을 뿐, 단백질 대사 시스템의 내부구조나 pool들 사이의 상호작용에 대한 정보를 얻을 수 없다. 그 반면에 compartmental model은 확정모델(deterministic model)(5-7)에 속하여 모델의 구조가 확정되어 있고, 모델방정식에는 확률변수가 포함되지 않으며, 구성변수들의 값은 상호작용규칙에 의해 결정된다. 즉 compartmental model의 대사시스템은 해부학적으로나 kinetics상 구분이 되는 몇 개의 compartment들로 구성되어 있으며, 모델은 이들 사이의 물질교환을 나타내고 있다. 따라서 이 모델을 통해 아미노산대사 시스템의 내부구조와 작용방식에 대해 많은 정보를 획득할 수 있다. 이런 이유들로 확률 모델보다는 compartmental model이 단백질 대사시스템을 나타내는데 자주 사용된다(3,9).

단백질대사의 연구에 사용되는 대부분의 compartmental model은 Waterlow(9)의 모델이거나 또는 그의 모델을 기초로 구조가 변형된 것들이다(4,10). Waterlow의 모델은 precursor pool과 protein pool로 구성된 two-compartmental model이다. 그러나 Waterlow의 모델 및 이것의 구조를 변형한 기존의 모델들은 오직 평형상태에 있는 사람이나 동물의 단백질대사계를 추정하기 위한 것이어서 단백질대사상 비현실적인 가정들에 기초하고 있다(5,6). 생리적, 실용적으로 문제가 되는 주요 가정들은 다음과 같다. 첫째 단백질 및 아미노산 대사시스템은 평형상태에 있어 각 pool의 크기는 일정하다. 이런 가정에 따르면 이 모델들은 단백질 또는 아미노산의 섭취가 변화되거나, 성장기와 같이 시스템 pool의 크기가 변하는 비평형상태의 단백질대사를 나타낼 수 없다. 둘째로 각 compartment간의 단위 시간당 물질이동은 단순하게 각 pool의 크기에 비례하여 직선적으로 증가한다고 가정하였다. 이에 따르면 항상 precursor pool의 아미노산중 일정한 비율이 단백질 pool에 가기 때문에, 단백질 합성량은 precursor pool의 유리아미노산 함량 증가에 따라 무한정 증가할 수 있다. 그러나 이 점은 성장기에 식이의 단백질함량이나 필수 아미노산의 양이 증가함에 따라 체단백질 합성량이 증

가하지만 일정한 plateau 수준을 넘지 못하는 사실(11)이나, *in vitro* 상태에서 세포내 단백질 합성이 precursor pool의 유리아미노산 농도 증가에 따라 포화되는 현상과(12) 모순된다. 셋째로 단백질분해에서 방출된 아미노산 및 tracer amino acid는 동위원소 activity를 측정하는 동안에는 단백질 합성에 재이용되지 않는다. 그러나 이 가정은 단백질 분해에서 방출된 아미노산이 동일한 조직계, 또는 다른 조직계에서 단백질 합성(internal and external recirculation)(3)에 이용되는 양을 무시하였다. 이런 문제점들로 인해 발표된 기존의 모델들은 성장기간이나 식이단백질 질의 변화와 같은 비평형상태에 있는 체내 단백질이용계를 나타내기는 적절하지 않는 것으로 사려된다.

따라서 본 연구에서는 단백질의 아미노산조성이 다른 사료를 섭취시켰을때 성장기 돼지의 단백질 대사에 미치는 영향을 나타내는 수치모델을 개발하고자 하였다. 이때 모델 개발에는 Waterlow의 two-compartmental model을 변형하여 사용하였다.

연구 방법

식이 및 simulation 대상

본 연구의 simulation 대상은 성장기에 있는 돼지를 단백질 질이 다양한 식이로 사육시 매일 축적되는 단백질량이다. 이때 모델의 타당성을 검증하기 위해서는 모델에서 산출된 수치와 비교될 수 있는 실험 측정치가 필요하다. 그러나 문헌에는 다양한 질의 식이단백질을 성장 전기간을 통해 공급한 경우에 단백질의 이용계를 미치는 영향을 나타내는 실험 측정치가 부족하다. 그래서 본 연구에서는 Menke 등(6)에 의해 개발되어 돼지의 식이단백질 질을 잘 나타내는 것으로 타당성이 인정된 PAF(product of amino acid functions)이라는 실험적 모델을 이용하여 매일 성장기의 단백질 축적량을 계산하였고, 이를 실험측정치를 대신하여 simulation 대상으로 사용하였다. 즉 PAF식을 사용하여 필수아미노산 조성이 다른 18가지 식이로 체중 20kg인 돼지를 120일간 사육시 매 30일마다의 하루 축적되는 단백질량을 계산하여, 이를 simulation에 사용하였다. 이때 식이내 단백질 함량은 소화될 수 있는 단백질량 대 대사열량의 비율로 나타낼 때 11.4g/MJ이다. 이 단백질 농도는 ARC(13)에 의하면 돼지의 성장을 위한 필요량을 충족시키는 수준이다. 본 연구에 사용된 식이의 아미노산 조성은 Table 1에 나타나 있다. 여기에서 PAF은 생물가치럼 그 값이 높을수록 식이단백질의 질이 높음을 나타낸다.

Table 1. Amino acid concentrations in feeds

(g/100g protein)

Diet	PAF ¹⁾	Lys	M+C ²⁾	Trp	Thr	Ile	Val	His	Leu	P+T ³⁾	Arg
1	0.331	2.2	4.0	1.1	2.8	5.2	6.5	2.7	8.4	9.6	4.1
2	0.407	5.2	4.8	1.0	2.7	3.3	4.0	2.3	6.3	9.0	11.2
3	0.495	4.0	3.3	1.0	3.3	3.7	4.5	2.4	9.0	7.7	5.1
4	0.512	4.5	3.8	1.0	3.7	4.1	5.1	2.6	10.1	8.8	5.0
5	0.518	4.0	3.6	1.2	3.2	3.6	4.9	2.5	6.6	7.6	5.1
6	0.540	4.6	3.5	1.3	3.4	3.9	5.2	2.4	6.9	8.0	5.8
7	0.547	5.2	3.7	1.0	4.0	3.7	5.0	2.5	7.5	7.7	6.3
8	0.561	5.3	3.6	1.3	3.7	4.3	5.0	2.4	7.3	8.2	6.4
9	0.566	5.2	3.9	1.3	4.0	4.1	5.1	2.3	10.5	7.4	5.4
10	0.576	5.0	3.6	1.2	3.7	4.1	5.1	2.3	7.1	7.5	5.5
11	0.581	5.5	3.3	1.3	3.3	3.8	4.5	2.5	6.9	7.3	6.8
12	0.619	6.3	3.4	1.3	3.8	4.6	5.4	2.6	7.9	8.8	6.8
13	0.633	6.9	3.2	1.1	3.9	2.8	7.2	4.3	9.7	8.9	4.4
14	0.638	6.2	3.2	1.2	4.5	4.4	5.0	2.6	7.3	7.4	5.1
15	0.650	6.3	3.2	1.4	3.6	3.4	4.3	2.6	6.8	8.9	5.1
16	0.670	7.5	2.9	1.0	4.1	4.3	5.6	2.9	8.4	10.0	3.4
17	0.676	7.7	3.5	1.4	4.7	5.8	6.5	2.9	10.2	9.4	3.5
18	0.741	7.0	3.5	1.0	4.2	3.8	4.9	2.3	7.0	6.7	3.4

¹⁾The product of amino acid functions, ²⁾Methionine+cystine, ³⁾Phenylalanine + tyrosine

시스템 분석

이 과정에서는 연구자가 제기한 문제에 따라, 구조화가 안된 초기자료(non-structured starting-point data)를 분석하여 실제 시스템을 파악한 후, 그 계에 대한 하나의 개념틀 세우고, 시스템 상태에 대한 기술을 하여 모델을 설립한다(14). 이 때 한 시스템에서 관찰되는 여러가지 현상 중 제기된 문제에 필수적인 요소들만 선별하여 모델 설립시 고려한다. 본 연구의 대상은 단백질 섭취 수준이 일정할 때 식이 단백질의 필수아미노산 조성에 따른 체내의 단백질 이용 시스템으로, 시스템분석은 먼저 문헌에 나타난 실험연구의 결과들에 대한 검토를 통해 이루어졌다. 그리고 이때 섭취된 단백질의 체내 이용에 영향을 미치는 여러 요소들 중에서 단백질 대사에 필수적인 요소들만을 선택하여 이를 모델로 나타내었다.

따라서 본 연구의 단백질 대사 모델은 다음과 같은 개념틀에 기초하고 있다. 첫째, 성장기 돼지의 단백질 대사를 결정하는 pool은 단백질 pool과 유리아미노산의 precursor pool이다. 둘째, 성장기에 하루에 축적될 수 있는 최대 단백질량이나 성장 전기간을 통하여 축적될 수 있는 최대 단백질량은 유전에 의해 정해진 잠재력에 의해 결정된다(15,16). 셋째, 단백질 축적에 있어서 이 유전적 잠재력이라는 내적 인자를 이용하는 효율은 식이의 아미노산 양과 그 조성이라는 외적 인자에 의해 결정된다(17,18). 따라서 식이 단백질의 필수 아미노산의 양과 조성이 각각 필요량에 맞게 이상적으로 균형 잡힌 경우 섭취된 단백질의 이용율은 유전에 의해 주어

진 범위내에서 증가한다. 하나의 필수아미노산이라도 부족시 성장기중 단백질 축적량은 저하된다. 돼지의 단백질 합성과 축적에 필수적인 아미노산들은 lysine, leucine, valine, isoleucine, histidine, threonine, tryptophan, arginine, methionine+cystine, phenylalanine+tyrosine의 열가지이다(17,18). 넷째, 체단백질의 일부는 분해되어 유리아미노산을 방출하고 이들은 precursor pool에 혼합되어, 체단백질 합성에 재이용되거나 비가역적으로 산화된다. 따라서 단백질 분해는 식이의 아미노산 공급에 간접적인 영향을 받는다. 다섯째, 돼지의 총 단백질 대사는 우선적으로 근육단백질의 대사에 의해서 좌우된다(3,19).

이와 같은 개념틀에 따라 본 연구의 성장기 체내 단백질 대사 시스템은 두개의 pool로 구성되며, 섭취된 단백질은 주로 단백질 합성, 아미노산 산화 및 단백질 분해에 의해 대사된다.

모델 설립(Model construction)

본 연구에 있어서 이 과정은 다음과 같은 세 단계로 구성된다

- 환경적 요인으로부터 분리(dissociation from environment)

생물체는 현실 세계의 다른 외적환경요인과 상호작용하여 시스템의 행동에 변화를 일으킨다. 본 연구의 모델설립 대상인 성장기 돼지의 단백질이용 시스템은 식이의 아미노산 조성 뿐 아니라 식이섭취량 및 식이내 열량과 단백질 합량이라는 두 외적 인자들에 의해서도

크게 영향을 받는다(20,21). 이런 환경적 요인들을 배제하고자 모델 설립시 두가지 제한점을 두었다. 첫째 사료의 열량 및 단백질 농도는 체내 열량 및 단백질대사에 균형을 이룰 수 있는 수준으로, 따라서 성장기 중이 두 요인에 의해 본 연구의 아미노산 조성에 따른 식이 단백질의 이용이 제한되지 않는다. 둘째 식이 섭취량과 그에 따른 단백질 섭취량은 외적 요인인 체중에 의해 결정된다.

- 모델대상 및 모델특성치 확정(determination of model object and attributes)

본 연구에서 모델이 나타내야 할 대상은 단백질 대사시스템의 행위를 결정하는데 필수적인 구성요소들로, 혈액과 조직의 열가지 필수유리아미노산, 체단백질 및 그것의 아미노산 조성이다. 이런 대상들을 나타내는 특성치(attributes)는 함량(mass)을 사용하며, 이때 각 유리아미노산의 양과 체단백질량의 단위로써 전체크기를 나타내기 위해 kg을, 체단백질의 아미노산 조성은 % 또는 g/100g protein을 사용했다.

- 모델구조 및 방정식의 정립(definition of model structure and equations)

본 연구 모델의 구조와 방정식들은 Fig. 1과 Table 2에 각기 제시하였다.본 모델은 두개의 compartment로 구성되며, 이 중 compartment 1은 조직과 혈액의 유리아미노산 pool을, compartment 2는 체단백질 또는 근육 단백질 pool을 각각 나타낸다.

식이 단백질의 아미노산은 흡수된 후 compartment 1으로 가서 유리아미노산 pool에 섞인 후 대사되는데, 이때 아미노산 대사과정은 다음과 같은 세가지 과정에 의해서 일어난다.

- i) 단백질 합성으로 아미노산의 이용
- ii) 아미노산의 산화
- iii) 체조직단백질의 분해

그리고 체조직 단백질의 분해에서 나온 아미노산은

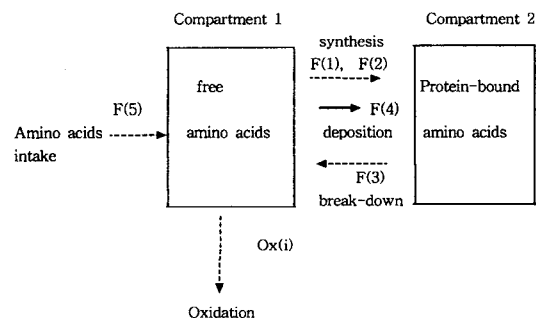


Fig. 1. The structure of model.

Table 2. Model equations

Flux equations:

- 1) $F(1) = \frac{K1 + K2 \times M}{K3 + K4 \times M}$; maximal protein synthesis capacity
- 2) $F(2) = F(1) \times \text{Factor}$; protein synthesis
- 3) $F(3) = M \times K5$; protein break-down
- 4) $F(4) = F(2) - F(3)$; net protein synthesis
- 5) $F(5) = M \times K6$; amino acid intake
- 6) $Ox(i) = AA(i) \times KO(i)$; amino acid oxidation

Differential equations:

- 7) $d AA(i)/dt = F(5) \times AAF(i) - F(4) \times AAR(i) - Ox(i)$
- 8) $d M/dt = F(4)$

Function equations:

- 9) $\text{Conc}(i) = \frac{AA(i)}{M}$
- 10) $AF(i) = \frac{\text{conc}(i)}{KA(i) + \text{conc}(i)}$
- 11) $\text{Factor} = AF(1) \times AF(2) \times \dots \times AF(10)$

Symbol

(i)=No. of lysine, methionine+cystine, tryptophan, threonine, isoleucine, valine, histidine, leucine, phenylalanine + tyrosine, and arginine

a) State variables

M=fat-free protein mass(kg)

AA(i)=quantity of individual free amino acid in blood and all tissues(kg)

b) Parameter

K1-K4=parameter for the maximal protein synthesis capacity

K5=parameter for the protein break-down

K6=parameter for the amino acids intake

KA(i)=parameter for the amino acid affinity

KO(i)=parameter for the amino acid oxidation

AAR(i)=amino acid requirement for the protein deposition(% or g/100g protein)

c) Function

conc(i)=concentration of individual free amino acid in blood and all tissues(kg/kg fat-free protein mass)

AF(i)=amino acid function

Factor=efficiency of maximal protein synthesis capacity

d) Flux

OX(i)=oxidation flux of the individual amino acids

e) Amino acids composition of feed

AAF(i)=percentage or amount of the individual amino acids of feed protein(% or g/100g protein)

compartment 1의 유리아미노산 pool로 가서 단백질 합성에 재이용되거나 산화 분해된다. 그리하여 체조직 단백질 합성을 위한 precursor pool로서 유리아미노산 pool은 두가지의 efflux와 influx를 갖는다. 그에 따라 compartment 1의 각 유리아미노산의 양과 비율은 다음과 같은 요인들에 의해 결정된다.

- i) 섭취된 단백질의 양(influx, F(5))과 그것의 각

유리아미노산의 비율

ii) 체조직단백질의 분해량과 체조직단백질의 아미노산 조성(influx, $F(3)$)

iii) 합성된 단백질량과 체조직단백질의 아미노산 조성(efflux, $F(2)$)

iv) 각 아미노산의 산화 분해량(efflux, $Ox(i)$)

따라서 단백질 합성은 식이로 섭취된 각 아미노산의 양과 체조직 단백질의 분해량 및 그것의 각 아미노산 비율에 의해 영향을 받는다.

본 모델에서 단백질 합성의 기본이 되는 식은 체단백질량과 네 parameter로 구성되어 포화방정식의 형태를 갖는 단백질 최대 합성용량(maximal protein synthesis capacity, equation 1)으로, 단백질 합성에 있어서 체중에 의해 결정되는 유전적 잠재력을 나타낸다. 그리고 섭취된 필수아미노산에 의해 이것이 이용되는 효율을 나타내기 위해 factor(equation 11)를 도입했다. 이 factor는 compartment 1의 필수 유리아미노산의 농도 및 그 조성에 의존하여 단백질 합성에 있어서 유전적 잠재력이 발휘되는 효율을 결정하므로써, 단백질 합성량에 영향을 미친다. Factor의 값은 equation 11에서 보듯이 각 아미노산의 활성도를 나타내는 10개의 $AF(i)$ (equation 10)에 의해 결정된다. 각 $AF(i)$ 는 Michaelis-Menten식과 유사하게 precursor pool의 유리아미노산 농도(equation 9)와 parameter $KA(i)$ 에 의해 결정되며, 유리아미노산의 농도 증가에 따라 증가하여 1이라는 포화치에 근접하게 된다. 이때 parameter $KA(i)$ 는 enzyme kinetics의 K_m 과 유사하게, 단백질 합성을 하는데 있어서 각 아미노산의 활성도를 결정한다. 따라서 각 $AF(i)$ 의 값은 equation 10의 형태에서 보듯이 0과 1사이에서 움직이고, 그에 따라 factor의 값도 0과 1사이에 존재한다. 즉 식이로의 아미노산 공급이 변화하면, compartment 1의 아미노산의 농도는 변화하여 각 $AF(i)$ 의 값과 더불어 factor의 값이 변화하여 maximal protein synthesis capacity의 이용 효율이 결정된다. 본 모델에서는 위와 같이 단백질 합성량(equation 2)은 결국 체중에 따른 유전적 잠재력이라는 한도 내에서 식이로의 아미노산 공급이라는 외적 요인에 의해 결정된다.

단백질 분해는 equation 3에 나타난 바와 같이 체단백질량에 비례하여 일어난다. 그에 따라 net protein synthesis(equation 4)는 식이로 아미노산 공급에 따른 factor와 최대 합성 용량을 나타내는 maximal protein synthesis capacity에 의해 결정되는 단백질 합성량에서 체단백질 분해량(equation 3)을 감한 것이다. 이것은 성장기에서 단백질 축적은 식이로의 아미노산 공급

과 유전인자에 의해 주어진 잠재력에 의해 결정된다는 것을 나타낸다.

단백질 섭취 및 아미노산 흡수는 체단백질량에 의해 비례하여 일어난다(equation 5). 아미노산의 산화 분해는 compartment 1에 존재하는 유리아미노산의 양에 비례하여 일어난다(equation 6).

이제까지 언급한 반응식들에서 보듯이, 본 모델에서는 식이로 공급된 아미노산의 양과 조성은 체단백질 합성에 있어서 각 아미노산의 활성도인 $AF(i)$ 와 아미노산의 산화량을 결정하여, 체내 단백질 이용 시스템에 독자적인 기능을 발휘한다.

상태변수와 parameter의 초기치

모델을 구성하는 요소들은 일련의 서술변수들로 표현되며 이 구성 요소들의 상호작용을 명시하는 규칙에 따라 상태변수의 시간에 따른 변화 양상이 결정된다(22). 여기에서 상태변수란 대사시스템의 행위를 나타내는 변수이다. 본 모델의 상태변수는 precursor pool의 10가지 아미노산과 체단백질 pool이다. 상태변수의 초기치들은 Table 3에 나타내었다. Precursor pool에 속한 유리아미노산의 초기치로써, Wiesmüller(23)가 제시한 체중 10kg 돼지의 각 장기 및 조직, 그리고 혈장의 유리아미노산 함량을 이용하여 체중 20kg 돼지에 함유된 체내 총 유리아미노산 양으로 환산하여 사용했다. 이 때 유리아미노산의 함량 및 체중에 대한 각 장기의 비율은 체중 10kg에서 20kg으로 성장하는 동안 크게 변화하지 않는다고 가정하였다. 체단백질 pool의 초기치로써 총 체단백질량은 체중의 14%를 차지한다는 Berschauer의(24) 연구 보고에 따라, 체중 20kg의 경우 2.8kg으로 가정하였다.

Parameter는 시스템 각 구성요소들의 반응속도를

Table 3. Starting values of the variables of simulating model

Free amino acid AS(i)	kg
Lys	0.002588
M+C	0.005096
Trp	0.000008
Thr	0.005168
Ile	0.003216
Val	0.004044
His	0.033376
Leu	0.002192
P+T	0.006608
Arg	0.000968
Sum of free amino acids	0.063264
Protein mass, M	2.8

결정되는 coefficient이다. 일반적으로 parameter의 수가 적은 단순한 모델의 경우 실험측정치에서 parameter의 초기치를 구할 수 있다. 그러나 본 모델에는 많은 수의 parameter를 포함하고 있고, 또 돼지의 경우 체내 단백질 이용에 대한 parameter 값에 대한 실험측정치가 문헌에 거의 전무하다. 그래서 본 연구에서는 parameter의 초기치를 얻기 위해 다음과 같은 처리를 하였다.

i) 모델 개발의 시작단계에서 먼저 단백질 이용계에 관한 몇개의 간단한 모델version들을 세웠다. 이런 version들은 단백질 축적에 있어서 각 필수아미노산의 영향은 고려하지 않고, 단순하게 최대한의 단백질 합성과 단백질 분해만 고려하여, 두 flux(F1, F3)로 구성된 한 개의 미분식만 포함하고 있다. 더 발전된 모델 version에서는 methionine과 같은 한 아미노산만 고려하였다.

ii) 이런 version들이 나타내야 할 대상 기능으로써, PAF를 사용하여 단백질의 아미노산 조성이 다른 18가지의 사료로 돼지를 120일 사육시 성장곡선과 매 30일마다 측정되는 단백질량을 계산한 후, 모든 식이에서 평균해서 성장기간 네 시점에서의 단백질 축적량을 계산하였다.

iii) 이와 같이 구한 단백질 축적량을 위 version들이 나타내야 할 비교치로 투입하여, 각 version들의 parameter인 K1-K6, KO(i), ASB(i) 등을 산출하였다. 이때 초기치로써 K5의 경우 Waterlow 등(3)이 제시한 돼지의 fractional breakdown rate를, KO(i)의 경우 Agular 등(25)이 제시한 흰 쥐의 methionine 산화율을 이용하였다. 아미노산 섭취를 나타내는 parameter K6의 초기치로써, Reeds 등(26)의 연구에서 나타난 대사체중 (metabolic weight, $W^{0.75}$) 1kg당 일일 단백질 섭취량 4.42g을, 체중 20kg 돼지로 환산하여 사용했다. 본 연구에서는 Reeds 등(26)의 값을 체중 20kg 돼지의 대사체중과 곱해 먼저 하루에 섭취되는 아미노산 전체량을 구하고 이것을 다시 체단백질량으로 나누어 K6의 초기치로써 사용했다.

iv) 위의 간단한 모델 version들을 이용하여 산출한 parameter값들을 각각 본 모델의 parameter K1-K6, 그리고 methionine과 다른 아미노산의 KO(i)의 초기치로써 사용했다. Parameter ASB(i)의 초기치로써는 Menke의 PAF식에서 산출된 아미노산 조성을 사용했다. Parameter KA(i)의 초기치로써는 PAF식에서 섭취된 아미노산이 단백질로 축적될때 최대 축적량의 1/2를 나타내는 위치에서의 아미노산량을 체단백질량 초기치로 나누어 사용했다. 문헌에는 단백질대사의 각 과정에 대한 반응속도를 나타내는 실험측정치가 부족하

기 때문에, 본 연구에서는 모델 parameter의 초기치로써 PAF의 수치를 일부 사용하였다.

모델의 수치적 검증 및 parameter의 추정

본 모델의 경우 복잡한 상호관계를 나타내기 위해 많은 수의 parameter와 상태변수를 포함하고 있어, 시간에 대한 상태변수의 변화율을 나타내는 미분방정식을 푸는데 분석적 해결방법(analytical solution)을 적용하기는 어렵다(27). 그리하여 대신 수치적방법(numerical method)을 사용하여 시각 0에서 상태변수의 주어진 값에 대해 미분방정식을 수치적으로 적분하는 simulation 방법을 사용하였다. 이때 simulation으로 구한 본 모델의 값과 simulation 대상 기능이 되는 PAF의 값이 근접할 때, 본 모델의 타당성이 확정된다고 보았다. Simulation 방법은 Lie(28)와 같으며, 이때 사용된 적분연산자는 자동보정기법과 후방차분법에 근거한 Gear(27)의 표준적분연산자이다.

Parameter의 추정은 최소자승법에 기초한 parameter estimation technique을 사용하였다. 이때 기준치로서 본 모델로 계산된 하루 단백질 축적량과 대상기능 사이에서 계산된 값사이의 상대적 차이를 제공한 후 이것을 비교 시점마다 더해서 구한 Q²-value가 사용되었다. 이때, Q²-value의 계산에 사용된 전체 비교시점 수는 18가지의 식이와 120일 동안 매 30일마다의 단백질 축적량을 사용하여 도합 72개의 비교시점이 사용되었다. Q²-value의 계산 공식은 Lie(28)의 방법과 같다.

Simulation 결과의 처리

Simulation 결과와 PAF-식에서 계산된 단백질 축적량과의 일치정도를 나타내기 위해 각 식이마다 두 값사이의 상대적 차(relative difference, % diff)를 계산하였다. 상대적 차이의 계산은 다음의 공식을 따른다.

$$\%Diff = \frac{S-E}{\text{Min}(E, S)} \times 100$$

Min(E, S)=smaller value between simulation model (S) and PAF-empirical model(E)

Simulation으로 산출된 단백질 축적량과 단백질 대사의 관계는 MS-chart program을 사용하여 나타내었다.

결과 및 고찰

본 연구는 단백질 섭취가 필요량 수준일 때 아미노산 조성이 다른 식이의 공급이 성장과정 중의 돼지의

단백질 축적에 미치는 영향을 나타내는 모델을 개발하고자 하였다.

모델

Simulation을 통해 산출된 본 모델의 단백질 축적량, PAF식에서 계산된 양 및 두 크기 사이의 일치정도를 나타내는 상대적 차등은 Table 4에 나타나 있다. 상대적 차등의 전체 평균은 11.8%이다. 수치모델의 타당성을 가장 명확하게 검증하는 방법은 모델의 출력자료가 실제 시스템에서 획득한 측정치에 근접한가를 조사하는 것이다. 그러나 돼지를 장기간 동안 다양한 단백질 사료로 사육하여 구한 실험 측정치가 문헌에 존재하지 않기 때문에, 본 연구에서는 Menke 등(6)에 의해 개발된 실험적 모델인 PAF식에 의해 계산된 성장률과 매일의 단백질 축적량을 모델의 타당성 검증을 위한 목적함수(object function)로 사용하였다. 대개의 수치모델은 실험치와의 일치도가 60% 정도인 사실을 감안하면, 본 연구의 상대적 차의 전체 평균은 전혀 크지 않다. 그러므로 본 모델의 값이 PAF식에서 계산된 단백질 축적량에 전체적으로 근접하며, 모델의 타당성이 확인된다. 그리하여 본 연구의 모델을 이용하여 목적함수에서 나타난 식이의 아미노산 조성에 따른 단백질 이용의 차를 정확하게 나타낼 수 있다고 하겠다. 나아가 Menke 등

(6)의 모델 자체가 생물가와 6.3%의 표준오차를 갖는 (29)점을 비추어 볼때, simulation대상으로 PAF의 단백질 축적량 대신 실제 실험에서 구한 측정치를 사용한 경우, 본 수치모델이 PAF모델보다 단백질 질의 효과를 더 잘 반영할 가능성을 배제할 수 없다.

성장기간별로 보면 사육 120일 동안에 11.0~12.9% 사이에 있으며, simulation시간에 따른 별다른 차이를 보이지 않는다. 이는 본 연구의 모델이 PAF-식을 사용하여 계산한 단백질 축적량을 성장기 전기간 동안 고르게 나타낼 수 있음을 뜻한다. 그리고 식이단백질의 아미노산 조성에 따라 상대적 차가 큰 차이를 보여, 본 모델의 단백질 축적량과 목적함수와의 상대적 차는 2.4~39.0% 사이에서 존재한다. 그 중 사료 단백질 100g당 lysine함량이 낮은 식이의 경우 상대적으로 lysine함량이 높은 식이에 비해 상대적 차가 비교적 낮았다. Lysine이 대부분 사료단백질의 제 1 제한아미노산임을 비추어볼 때, 위의 결과는 본 모델이 PAF으로 계산된 단백질 축적량보다, 실제적으로 lysine의 함량이 낮은 일 반사료로 사육한 돼지의 단백질 축적을 나타내는데 더 적당함을 보여준다.

본 연구의 모델은 Waterlow의 모델을 기초로 한 two-compartmental model이지만, 그와 달리 본 모델은 비선형 구조를 사용하여, 단백질대사 kinetics가 유전적

Table 4. Comparison of simulated protein deposition(g/day) in the whole body(S) with one calculated by PAF-model(E)

Simulation time	30th day			60th day			90th day			120th day			Diff	
	Method	E	S	%Diff	E	S	%Diff	E	S	%Diff	E	S		%Diff
Diet														
1		31	31	0.0	41	40	-2.5	51	50	-2.0	58	61	5.2	2.4
2		39	43	10.3	53	57	7.5	68	74	8.8	80	92	15.0	10.4
3		48	49	2.1	69	67	-3.0	92	86	6.9	107	104	-2.9	3.7
4		50	60	20.0	72	86	19.4	97	115	18.6	113	138	22.1	20.0
5		51	50	-2.0	74	69	-7.2	99	90	-10.0	115	109	-5.5	6.2
6		53	56	5.7	78	78	0.0	106	103	-2.9	123	125	1.6	2.6
7		54	64	18.5	80	92	15.0	108	121	12.0	126	142	12.7	14.6
8		56	63	12.5	83	91	9.6	113	121	7.1	131	142	6.9	9.0
9		56	68	21.4	84	99	17.9	114	132	15.8	133	151	13.5	17.2
10		57	60	5.3	86	86	0.0	118	114	3.5	136	134	-1.5	2.6
11		58	54	-7.4	88	75	-17.3	119	98	-21.4	139	118	-17.8	16.0
12		63	67	6.3	96	98	2.1	133	133	0.0	153	155	1.3	2.4
13		64	69	7.8	99	103	4.0	137	140	2.2	157	166	5.7	4.9
14		65	71	9.2	101	104	3.0	140	137	-2.2	160	153	-4.6	4.8
15		67	60	-11.7	104	86	-20.9	145	114	-27.2	165	135	-22.2	20.5
16		69	65	-6.2	109	94	-16.0	151	126	-19.8	172	147	-17.0	14.8
17		70	90	28.6	111	140	26.1	155	187	20.6	175	192	9.7	21.3
18		79	64	-23.4	128	92	-39.1	182	121	-50.4	199	139	-43.2	39.0
Diff			11.0			11.7			12.9			11.6		11.8

%Diff=Relative difference between PAF-model(E) and simulation(S)

Diff=Mean of relative differences

인이나 식이로 아미노산 공급의 변화에 따라 체단백질 pool의 크기, 유리 아미노산 pool의 크기와 조성이 변화하는 비평형 상태를 나타낼 수 있다. 본 모델에서는 식이로 공급되는 단백질의 아미노산 양 및 그 조성은 대사과정중 우선적으로 체내 단백질 합성에 영향주어 단백질 축적률을 변화시킨다는 개념에서 출발하였다. 이에 따라 본 모델에서는 단백질 합성은 유전적으로 정해진 내적 인자를 나타내는 maximal protein synthesis capacity와 아미노산 공급이라는 외적 요인을 나타내는 factor라는 두가지 요소에 의해 결정된다고 제시하였다. 이는 생리적으로 단백질 합성이 m-RNA, t-RNA, ribosome 등과 같이 소위 “단백질 합성 기구”의 크기를 나타내는 ribosomal capacity와 이것의 활성도를 나타내는 ribosomal activity에 의해 결정되는 사실(3)을 반영한다. 식이로의 아미노산 공급은 이 때 ribosomal capacity보다는 ribosomal activity처럼 단백질 합성기구의 활성도를 우선적으로 변화시켜 단백질 합성에 영향준다고 한다(12,30). 이 점을 본 모델에서는 factor-값의 변화를 통해 단백질 합성에 영향을 미치는 것으로 나타내었다. 그리고 식이아미노산의 공급에 따라 체단백질량이 변화하므로, maximal protein synthesis capacity도 필수아미노산의 공급에 간접적으로 영향받게 된다. 즉 식이로 필수아미노산의 공급이 감소하면 precursor pool의 유리아미노산 농도가 감소하여 아미노산의 활성도를 나타내는 AF(i)-치가 낮아지므로써, 단백질합성 기구의 이용효율을 나타내는 factor의 값이 감소하고, 따라서 단백질 합성량이 저하된다. 이는 이차적으로 성장기의 단백질 축적량, 체단백질량의 증가 및 성장율의 감소를 초래하여, 결국 성장에 따른 maximal protein synthesis capacity의 증가를 저하시킨다. 이와 같은 모델개념 및 구성에 따라 성장기 동안의 체단백질 축적이 식이단백질의 질 또는 아미노산 공급에 민감하게 영향받는 것을 나타내었으며, simulation을 통해 위의 개념을 명확하고 편견없이 시험할 수 있었다.

시간에 따른 단백질 대사 dynamics

본 연구의 simulation을 통해 성장기 동안 매일의 단백질 축적량(g/day) 이외에도 단백질 대사 시스템을 구성하는 체단백질량(kg)과 하루 분해되는 단백질의 양(g/day)이 산출되었다. 매일 합성되는 단백질량(g/day)은 단백질 축적량과 단백질 분해량을 합산하여 구하였다. Fig. 2에 예로써 단백질 질이 높은 diet17로 돼지를 150일 사육하였을 때 매 15일마다의 체단백질 축적량 및 단백질 회전률(turnover rate, g/day), 체단백질량 등 성장하는 동안의 단백질 대사 dynamics을 나타내었다.

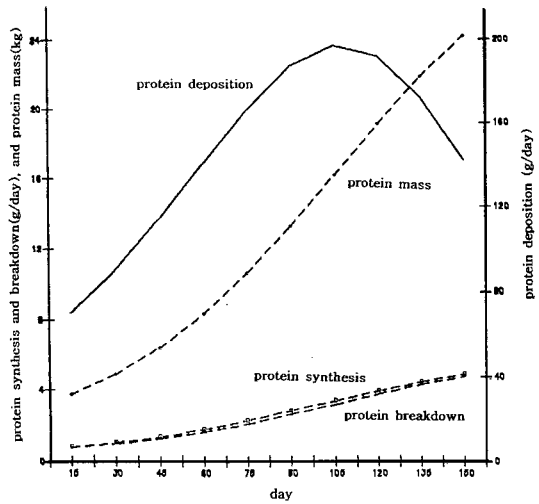


Fig. 2. Protein deposition(F4) and protein mass(M), rate of protein synthesis(F2) and protein breakdown (F3) during simulation time from 15 to 150day (diet17).

체단백질량은 매일의 단백질 축적량을 반영하여 성장함에 따라 증가한다. 마찬가지로 단백질 합성량도 증가하나 그와 병행해서 매일의 단백질 분해량도 증가한다.

일반적으로 ribosome의 활성도는 성장함에 따라 크게 변화하지 않는다(3). 그리고 본 모델에서도 단백질합성의 효율을 나타내는 factor나 각 아미노산의 AF(i)는 식의 구조상 체단백질량이나 체중의 증가와 같은 요인들을 전혀 포함하지 않아, 성장과 직접적인 관련은 없다. 또한 여러 연구들(3,31-33)에 따르면 성장에 따라 체단백질의 크기는 증가하지만, 조직의 ribosome 농도 자체는 감소한다. 이러한 사실들로 미루어 볼 때, 본 연구에서 성장하면서 단백질 합성량이 증가하는 것은, ribosome 농도는 감소하더라도 체중의 증가에 따라 체단백질량의 증가와 그에 따른 maximal protein synthesis capacity의 증가율이 ribosome 농도의 감소를 상쇄하기 때문으로 생각된다. 또한 분해되는 단백질량의 시간에 따른 증가도 성장에 따른 이러한 체단백질량의 증가에 기인한다.

한편 본 연구에서 simulation 시간의 흐름에 따라 단백질 회전률의 두 요소간의 격차는 점차 커져, 마침내 성장 전기간 중 사육 105일째 단백질 축적량이 최대량에 도달한다. 그 후 성장에 따라 회전률 두 요소간의 차는 감소하여 매일의 단백질 축적량은 급격히 저하하지만, 단백질 회전 자체는 계속 증가한다. 따라서 본 연구의 simulation시각을 지나 단백질 축적이 더 이상 진행되지 않는 steady-state에 도달해서도 단백질 회전율이 활

발하게 일어날 것으로 보여, 이미 여러 연구보고들(3, 19,26)의 단백질 합성과 분해의 양상과 일치한다.

일반적으로 모델은 실제 시스템의 상태를 기술하고 simulation은 모델을 가지고 computer화 실험을 수행하여 시스템의 동적 행위를 나타낼 수 있게 한다. 본 연구를 통해 단백질 축적량 뿐 아니라 개별 실험연구에서 조사하기 힘든 장기간 동안의 단백질 turnover의 변화 등 성장기 대사의 dynamics를 나타낼 수 있는 것은 수치모델만이 가지는 장점이다. 일반적으로 모델의 신뢰성은 모델 데이터가 실험에서 측정된 수치들에 근접할 뿐만 아니라, 모델의 행위가 실제 시스템을 정확히 표현할 때 한층 크다. 본 simulation 연구 결과 성장하는 동안 단백질 회전의 두 요소가 성장하면서 항상 병행하여 증가하는 현상은 본 모델이 나타내고자 하였던 근육 단백질의 대사(3)를 반영하고 자라는 돼지의 체내 총 단백질대사는 근육에 의해 주로 결정됨(34)을 확인해 주어, 본 모델의 신뢰성을 더 높여 준다.

Parameter

사료의 단백질 농도가 일정할 때 다양한 질의 사료 단백질의 체내 이용을 나타내는 parameter K1-K6, affinity parameter KA(i)와 oxidation parameter KO(i)의 값은 Table 5에 나타내었다. 이 상수들은 식이로써의 아미노산 공급과 유전적인 잠재력에 의해 성장기의 단백질 축적량을 결정한다. 그 중 parameter KA(i) 및 KO(i)는 각 아미노산의 단백질 합성에 있어서의 활성도와 산화율을 나타내는 상수이다. 대부분의 연구에서는 아미노산대사의 parameter는 섭취량에 기준한 비율을 나타내는 반면, 본 연구의 KA(i)와 KO(i)값은 모델의 유리아미노산 양에 관여한다. 또 본 연구의 이 상수들은 시간 단위가 simulation에 사용되는 미분시각에 기준을 두고 있으며, 미분 시각은 시스템의 적분상태에 따라 변화하기 때문에(28), 문헌에 보고된 연구결과들과 직접적 수치비교는 어렵다.

KA(i)-값은 아미노산간에 큰 차이를 보였으며, arginine과 tryptophan의 KA(i)-값이 낮은 반면, lysine의 경우 KA(i)-값이 가장 높았다. 이는 일반적으로 아미노산의 농도가 낮을때 arginine과 tryptophan은 다른 아미노산보다 단백질 합성을 촉진하는 반면, lysine은 단백질 합성에 있어서의 활성도가 가장 낮음을 보여 준다. 이미 언급한 바와 같이 본 대사모델에서는 식이단백질의 각 아미노산은 각각의 AF(i)-값에 영향을 주어 단백질 합성용량이 이용되는 효율을 나타내는 "factor"의 값에 영향을 미친다. AF(i)는 효소-kinetics의 Michaelis-menten식과 유사하게 구성되어 precursor pool

Table 5. Parameter of the model

Parameter Amino acid	KA(i) ¹⁾	KO(i) ²⁾
Lys	0.76E-5	1.4
M+C	0.22E-5	8.3
Trp	0.32E-6	6.9
Thr	0.27E-5	6.2
Ile	0.54E-6	6.9
Val	0.24E-5	7.0
His	0.89E-6	12.4
Leu	0.12E-5	4.2
P+T	0.31E-5	8.2
Arg	0.81E-7	4.0
	K1 ³⁾ =0.0078	K2 ³⁾ =0.975
	K3 ³⁾ =3.367	K4 ³⁾ =0.034
	K5 ⁴⁾ =0.198	K6 ⁵⁾ =0.020
Q ² -value ⁶⁾	2.178	

¹⁾KA(i)=Affinity parameter

²⁾KO(i)=Oxidation parameter

³⁾K1-K4=Parameter for the maximal protein synthesis

⁴⁾K5=Parameter for the protein break-down

⁵⁾K6=Parameter for the protein intake

⁶⁾Q²-value=Sum of squares of the relative difference between simulation and PAF-calculated protein deposition

의 아미노산 농도와 KA(i)-값에 따라 단백질 합성 효율을 결정한다. 이때 KA(i)는 Michaelis-menten식의 Km과 유사한 역할을 한다. 즉 식이로 공급된 필수아미노산은 precursor pool의 아미노산 농도를 변화시키며 자신의 KA(i)-값에 따라 단백질합성에 있어서 활성도를 결정하게 된다. KA(i)-값이 낮은 아미노산일수록 precursor pool의 유리아미노산 농도가 낮을 경우, KA(i)-값이 높은 아미노산에 비해 단백질 합성을 효율적으로 촉진할 수 있으며, 또한 유리아미노산 pool의 농도 증가에 따라 AF(i)는 포화치인 1에 빨리 근접하여, "factor", 즉 단백질합성 효율을 증가시킨다. 이런 모델 개념은 아미노산 공급은 translation과정의 initiation에 영향주어 ribosome의 turnover보다 ribosomal activity에 영향주며, 이때 각 아미노산의 부족은 단백질 합성효율에 미치는 영향에 차이를 보인다(30,35,36)는 사실에 기초하고 있다.

KA(i)-값에 따르면 다른 아미노산의 섭취 부족보다 lysine과 phenylalanine + tyrosine의 부족은 체단백질 합성을 특히 제한하는 반면, arginine과 tryptophan의 결핍은 체단백질 합성을 크게 영향주지 않는다. 이 결과는 부분적으로 methionine과 tryptophan부족시 poly-some aggregation과 단백질 합성의 감소가 가장 컸던 Flaim 등(12)과 Everson 등(37)의 결과와는 배치된다. 그러나 위 실험결과들은 흰쥐의 간을 사용한 반면, 본 연구에서는 돼지의 총 체조직 또는 근육의 단백질대사

를 다루어 위의 연구결과와 직접적 비교는 어렵다. 그리고 대부분의 돼지 사료에서 제 1 제한 아미노산으로 단백질 축적을 제한하는 lysine이 가장 높은 KA(i)를 갖는 반면 반 필수아미노산인 arginine이 가장 낮은 값을 갖는 것은 주목할 점이다. 본 연구에서 lysine의 이런 낮은 활성도는 lysine이 세포내에 다른 아미노산이나 측쇄아미노산보다 훨씬 높은 농도로 존재함에도 불구하고 사람과 흰쥐의 absorptive state에서 net protein synthesis를 유지하기 위해서는, 유리 아미노산 pool에서 농도가 가장 낮은 leucine의 식이로 섭취 필요량만큼 높은 섭취가 필요하다는 보고와 일치한다(38). Lysine이 다른 아미노산에 비해 상대적으로 단백질 합성축진을 이 낮은 것은 유리 lysine이 세포내 cation 균형의 유지(39)와 같이 대사상의 다른 이유에 기인하는 것으로 본다. 그리고 arginine이 단백질합성을 촉진할 때 다른 아미노산보다 높은 활성도를 보이는 것은 arginine의 경우 필요량의 2/3를 체내에서 생합성이 되는데(17), 내인성 arginine보다 식이로 공급된 arginine은 분해되지 않고 우선적으로 단백질 합성에 이용되지 않나 생각된다. 본 연구에서 나타난 바와 같이 식이로의 arginine 공급 부족이 체조직 단백질합성을 크게 제한하지 않는다는 점은 아미노산의 섭취가 부족할 때 흰쥐의 단백질 축적에 나타난 imbalance 영향이 가장 약했다는 연구결과(40)와 일치한다. 그리고 측쇄아미노산들에 비해 lysine의 affinity parameter KA(i)-값이 높다. 측쇄아미노산은 세포내와 세포외액의 농도가 같으나 lysine은 차이를 보이며(41), 또 단백질 합성을 위한 precursor pool의 위치가 아미노산에 따라 다르다(3). 이러한 점들은 아미노산 사이의 단백질 합성으로의 이용률의 차이를 갖게 하는 부분적인 요인이 될 수 있다. 본 연구에서는 이러한 유리아미노산 pool의 compartmentation과 precursor pool의 차이를 고려하지 않았기 때문에, KA(i)-값에 이러한 단백질 합성에 있어서 아미노산의 이용성과 아미노산들의 compartment간의 상대적 농도의 차이가 반영되었다고 생각된다. 그에 따라 체내 단백질 생합성이 일어날 때 아미노산의 활성도를 나타내는 AF(i)도 아미노산간에 차이를 보인다.

KO(i)-값은 각 아미노산간에 큰 차이를 보여 histidine, phenylalanine + tyrosine, methionine + cystine의 경우 높았으나, lysine, arginine, leucine 및 threonine은 낮았다. 본 연구에서 KO(i)-값은 미분시간 단위당 아미노산의 산화율을 나타내는 상수이다. 위와 같은 KO(i)-값의 차이는 실험연구에서 나타난 선택적 산화현상(42-44)과 같은 차이를 반영하였다. 아미노산의 산화는 비가역적과정으로, 본 모델에서는 Krebs(45)의 주장

에 따라 아주 단순화시켜 나타내었다. Krebs(45)에 따르면 아미노산의 산화는 substrate의 농도와 Km에 따라 민감하게 변하는데, 아미노산 산화과정의 대부분의 transaminase나 rate-limiting step의 효소는 대개 Km이 체내 생리적인 유리아미노산 함량보다 훨씬 높기(38) 때문에, 본 모델의 아미노산 산화방정식은 precursor pool의 아미노산함량에 비례하여 산화량은 직선적으로 증가한다고 가정하고 있다. 그리고 lysine과 threonine의 산화율이 높았는데 이는 lysine-oxoglutarate-reductase와 serine-threonine-dehydratase의 michales constant, Km이 다른 아미노산들의 transaminase의 Km보다 높기(38) 때문으로 보여진다. Methionine의 높은 KO(i)-값은 쥐를 사용한 성장실험에서 다른 아미노산보다 이용 효율이 낮은 결과와(25), 높은 산화율을 보인 연구결과(44)와 일치한다. 이는 methionine의 경우 대사중 sulfate 및 methyl기 donor로써 작용하며, 다른 아미노산과 달리 transamination과 transsulfation의 두 경로에(46) 의해 분해되기 때문에 precursor pool에서의 사라지는 비율이 증가한다고 본다. Histidine의 높은 산화율은 Aguilar 등(25)의 흰쥐를 사용한 성장조사에서 CO₂ 배출이 낮았던 결과와는 상반되지만 아미노산의 공급수준에 무관하게 흰쥐 혈장에서 다른 필수아미노산에 비해 그 농도가 낮았던 연구결과(47)와는 일치한다.

식이로 섭취된 아미노산이 단백질 합성과 아미노산 산화로의 이용은 이미 언급한 바와 같이, 단백질 합성의 precursor pool의 아미노산 농도와 효소의 michalelis constant, Km 및 효소의 활성도 등이 복합적으로 작용함으로써 결정된다(45). 이 때 아미노산 공급 부족에 가장 빠른 반응으로써 무엇보다 아미노산 산화효소의 높은 Km값에 비해 amino acyl-tRNA의 낮은 Km값(48)에 의해 체단백질 합성에 효율적으로 이용되는 반면, 아미노산의 산화율은 낮아졌다(49,50)고 한다. 그리고 아미노산이 단백질 축적에 미치는 영향은 아미노산에 따라 다르며(51,52), 또한 식이단백질의 각 아미노산의 농도에 따라 달라진다(52-54). 마찬가지로 상기에 언급한 바처럼 본 연구의 아미노산 affinity와 oxidation parameter의 양상과 아미노산 간의 차이는 섭취된 아미노산이 우선적으로 단백질 축적에 이용되며, 이때 그 효율은 아미노산의 종류 및 그 아미노산의 섭취수준에 따라 다른 점을 반영하는 것으로 본다. 즉 본 연구는 식이로의 각 아미노산의 공급이 각 아미노산의 분해 효소들의 specific activity와 단백질합성계 효소들의 affinity 차이에 의해 단백질 축적에 영향을 준다는 점을 확인해 준다. 이와 같이 본 연구는 복합적이고 비선형적 상호

작용으로 구성된 단백질 대사 시스템을 나타내고, 대사상의 동적 변화를 성장기라는 전기간에 걸쳐 나타낼 수 있어, 정상적으로 수행하기 어려운 실험을 simulation을 통해 가능함을 보여준다.

요 약

본 연구는 돼지에서 사료의 아미노산 조성에 따른 단백질 이용에 미치는 영향을 나타내는 모델을 개발하고자 하였다. 그에 따라 Waterlow의 two-compartmental model을 변형하여 non-steady-state를 나타내며 15개 flux식과 11개 미분방정식으로 구성된 비선형구조의 수치모형을 개발하였다. 본 연구의 모델에서는 체내 흡수된 아미노산은 단백질 합성, 분해, 및 아미노산의 산화라는 세과정에 의해 대사된다고 가정하였다. 또한 본 모델에서는 성장기의 단백질축적은 내적 인자로서 유전적 잠재력을 나타내며 포화곡선 형태를 갖는 maximal protein synthesis capacity와 외적 인자로서 식이단백질의 아미노산 양과 그 조성에 의해 결정된다고 가정하였다. Simulation 대상으로 Menke의 실험적 모델, PAF를 사용하여, 18종류의 다양한 아미노산 조성의 사료로 돼지를 120일간 사육시 하루에 측정되는 단백질량을 계산하여 투입하였다. Simulation의 결과 수치모델이 나타내어야 할 대상기능과 상대적 차이는 11.8%를 보여 본 연구 모델의 타당성이 확인되었다. 그리고 단백질 회전률의 두요소는 성장 전제 기간을 통해 병행하면서 증가하여, 돼지와 같이 체중이 큰 organism의 총 체단백질 대사는 근육단백질 대사에 의해 결정됨을 확인해 주었다. 그리고 본 연구는 동위원소를 부착한 아미노산을 이용한 실험없이도 단백질 축적량에 대한 자료만 있으면, 모델을 사용하여 성장기라는 장기간 동안의 단백질 회전률과 체단백질량의 동적 행위를 나타낼 수 있음을 보여준다. 이와 같이 모델링과 computer simulation은 단백질 이용계와 같이 복잡적이고 비선형적 상호작용으로 구성된 대사 시스템의 연구에 큰 가치가 있다. 그리고 모델의 상대적 차를 더욱 감소하기 위해서는 simulation대상으로 실험에서 측정된 단백질 축적량을 사용하는 것이 필요하다

문 헌

1. Thomas, K.: Über die biologische Wertigkeit der Stickstoffsubstanz in verschiedenen Nahrungsmitteln. *Arch. Anat. Physiol. Abst.*, **219**, 1018(1909)
2. Boorman, K. N. and Burgess, A. D.: Response to amino acids. In "Nutrient requirements of poultry and nutritional research" Fisher, C. and Boorman, K. N.(eds.), *Poultry science symposium* no. 19, p.99(1986)
3. Waterlow, J. C., Garlic, P. J. and Millward, D. J.: *Protein turnover in mammalian tissues and in the whole body*. North-Holland Publishing Co., Amsterdam, p.225 (1978)
4. Young, V. R., Fugawa, N., Bier, D. M. and Matthews, D.: Some aspects of *in vivo* human protein and amino acid metabolism with particular reference to nutritional modulation. In "Wahl der Nahrungsprotein, Grundlagen und Diätetik" Barth CA, Furst P(Hrsg.), J.F. Bergman Verlag, Munchen, p.1(1988)
5. Carson, E. R., Cobelli, C. and Finkelstein, L.: The mathematical modeling of metabolic and endocrine systems-model formation, identification and validation. Wiley interscience publ., New York(1983)
6. Menke, K. H., Gruber, F. and Gaus, G.: The product of amino acid functions(PAF) as a measure of protein quality for pigs. In "Protein metabolism and nutrition" Pion, R., Arnal, M., Bonin, D.(eds.), 4th Int. Symp Clermont-Ferrand INRA Publ., **16**, II: 431(1983)
7. Curnew, R. N.: The statistical approach to nutrient requirements. In "Nutrient, requirements of poultry and nutritional research" Fisher, C. and Boorman, K. N.(eds.), *Poultry science symposium* no. 19, Butterworth & Co. Ltd. London, p.79(1986)
8. Phillips, R. D.: Modification of the saturation kinetics models to produce a more versatile protein quality assay. *J. Nutr.*, **112**, 468(1982)
9. Waterlow, J. C.: Lysine turnover in man measured by intravenous infusion of L-[U-¹⁴C]- lysine. *Clin. Sci.*, **33**, 507(1967)
10. Irving, C. S., Thomas, M. R., Malphus, E. W., Marks, L., Wong, W. W., Bouton, T. W. and Klein, P. O.: Lysine and protein metabolism in young women subdivision based on the model-use of multiple stable labels. *J. Clin. Invest.*, **77**, 1321(1986)
11. Millward, D. J.: Human protein requirements, the physiological significance of changes in the role of whole-body protein turnover. In "Substrate and energy metabolism in man" Garrow, J. S. and Halliday, D.(eds.), John Libbey Press, London, p.531(1985)
12. Flaim, K. E., Peavy, D. E., Everson, W. V. and Jefferson, L. S.: The role of amino acids in the regulation of protein synthesis in perfused rat liver. 1. Reduction in rates of synthesis resulting from amino acid deprivation and recovery during flow through perfusion. *J. Biol. Chem.*, **257**, 2932(1982)
13. ARC: *The nutrient requirement of pigs*. Agricultural research council(ed.), Commonwealth Agricultural Bureaux, London(1981)
14. Schmidt, B.: *Systemanalyse und Modelaufbau-Grundlagen der Simulationstechnik*. Springer Verlag, Berlin, Vol. 1, p.295(1985)
15. Whittemore, C. T.: The use of a computer model in determining the nutrient requirement of pigs. *Proc. Nutr. Soc.*, **39**, 205(1980)
16. Wiesemuller, W.: Physiological basis of the protein requirements of pig. *Ubers. Tierernähr.*, **12**, 85(1984)

17. Erbersdobler, H. : Stoffwechselfysiologie der protein und Aminosäuren. *Fette Seifen Anstrichmittel*, 80 Jahrgang Sonderheft, 508(1978)
18. Menke, K. H. and Huss, W. : *Tierernaehung und Futtermittelkunde*. Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart(1987)
19. Bergner, H. : N-Stoffwechsel und seine Regelmechanismen. *Arch. Tiernahr.*, **39**, 377(1989)
20. Aguilar, J. F. and Prieto, C. : Effect of protein quality on energy requirements for maintenance in growing rats. *Arch. Tierernahr.*, **37**, 881(1987)
21. Millward, D. J. : The endocrine response to dietary protein : the anabolic drive on growth. In "Milkproteins: nutritional, clinical, functional and technical aspects" Barth, C. A. and Schlimme, E.(eds.), Steinkopf Verlag, Darmstadt, p.49(1989)
22. James, D. S., 박석순 역 : 생물전산화. 대광문화사, 한국학술진흥재단 번역역서, p.362(1990)
23. Wiesmuller, W. : Die Dynamik des Aminosäurenstoffwechsels monogastrischer Tierarten unter verschiedenen Leistungsbedingungen. *Wiss. Z. Univ. Rostock*, **22**, Math-Naturwiss. Reihe 899(1973)
24. Berschauer, F. : Der Proteinansatz beim Schwein und seine Beeinflussung durch exogene und endoge Faktoren. *Ubers. Tierernahr.*, **5**, 123(1977)
25. Aguilar, T. S., Harper, A. E. and Benevenga, N. J. : Efficiency of utilization of indispensable amino acids for growth by the rat. *J. Nutr.*, **102**, 1199(1972)
26. Reeds, P. J., Fuller, M. F., Cadenhead, A. and Lobly, G. E. : The effects of dietary energy and protein on protein turnover and nitrogen balance in growing pigs. In "Protein metabolism and nutrition" Olsage, H. J. and Rohr, K.(eds.), Proc. third EAAP symp. *EAAP publ.* **27**, Vol. 1, p.67(1980)
27. Gear, C. W. : Numerical initial value problems in ordinary differential equations. Prentice-hall Inc. Englewood(1971)
28. Lie, O. H. : Simulation of the effect of protein quality at the different protein intake level on protein metabolism. *Kor. J. Nutr.*, **26**, 1033(1993)
29. Menke, K. H. : Abschluss-Bericht aus dem SFB 142-A. 4 Universität Hohenheim, Stuttgart(1987)
30. Omstedt, P. T. and Von der Decken, A. : Dietary amino acids : effect of depletion and recovery on protein synthesis in vitro in rat skeletal muscle and liver. *Brit. J. Nutr.* **31**, 67(1974)
31. Muramatsu, T. K., Kita, A., Tasaki, A. and Okumura, J. : Influence of dietary protein intake on whole-body protein turnover in chicks. *Brit. Poul. Sci.*, **28**, 471(1987)
32. Bates, P. C. and Millward, D. J. : Characteristics of skeletal muscle growth and protein turnover in a fast growing rat strain. *Brit. J. Nutr.*, **46**, 7(1981)
33. Goldspink, D. F. and Kelly, F. J. : Protein turnover and growth in the whole body, liver and kidney of the rat from foetus to senility. *Biochem. J.*, **217**, 507(1984)
34. Mulvaney, D. R., Merkel, R. A. and Bergen, W. G. : Skeletal muscle protein turnover in young male pigs. *J. Nutr.*, **115**, 1057(1985)
35. Kino, K. and Okumura, J. I. : Whole-body protein turnover in chicks fed control-histidine or methionine plus cystine-free diet. *Poul. Sci.*, **66**, 1392(1987)
36. Martinez, J. A., Goena, M., Santidrian, S. and Lorrage, J. : Response of muscle, liver and whole-body turnover to two different source of protein in growing rats. *Ann. Nutr. Metabol.*, **31**, 146(1987)
37. Everson, W. V., Flaim, K. E., Susco, D. M., Kimball, S. R. and Jefferson, L. S. : Effect of amino acid deprivation on initiation of protein synthesis in isolated rat hepatocytes. *Am. J. Physiol.*, **256**, C18(1989)
38. Waterlow, J. C. and Fern, F. B. : Free amino acid pools and their regulation. In "Nitrogen metabolism in man" Waterlow, J. C. and Stephen, J. M. C.(eds.), Applied science publishers, London, p.1(1981)
39. O'Dell, B. L. and Savage, J. E. : Arginine-lysine antagonism in the chick and its relationship to dietary cations. *J. Nutr.*, **90**, 364(1966)
40. Peng, Y., Meliza, Vavich, M. C. and Kemmerer, A. R. : Effects of amino acid imbalance and protein content of diets on food intake and preference of young, adult and diabetic rat. *J. Nutr.*, **105**, 1395(1975)
41. Fürst, P. : Regulation of intracellular metabolism of amino acids. In "Nutrition in cancer and trauma sepsis" Boulzett, F. and Dionigi, P.(eds.), Proc. 6th Cong. ESPEN, p.21(1985)
42. Neale, R. J. and Waterlow, J. C. : The metabolism of ¹⁴C-labelled essential amino acids given by intragastric or intravenous infusion to rats in normal and protein-free diets. *Brit. J. Nutr.*, **32**, 11(1974)
43. Kim, K. and Bayley, H. S. : Amino acid oxidation by young pigs receiving diets with varying levels of sulphur amino acids. *Brit. J. Nutr.*, **50**, 383(1983)
44. Immura, K. and Walser, M. : Rate of whole-body protein synthesis in the rat as calculated from fractional oxidation of leucine, valine or methionine. *Metab.*, **37**, 591(1988)
45. Krebs, H. A. : Some aspects of the regulation of fuel supply in omnivorous animals. In "Advances in enzyme regulation" Weber, G.(ed.), Pergamon press, New York, Vol. 10, p.397(1972)
46. Smolin, L. A. and Benevenga, N. J. : Methionine, homocyst(e)ine, cyst(e)ine-metabolic interrelationships. In "Absorption and utilization of amino acids" Friedmann, M.(ed.), CRC Press, Boca Raton, Vol. 1, p.157(1989)
47. Lunn, P. G., Whitehead, R. G. and Baker, B. A. : The relative effects of low-protein-high carbohydrate diet on the free amino acid composition of liver and muscle. *Brit. J. Nutr.*, **36**, 219(1976)
48. Harper, A. E. : Some recent developments in the study of amino acid metabolism. *Proc. Nutr. Soc.*, **42**, 437(1983)
49. Heger, J. and Frydrych, Z. : Efficiency of utilization of essential amino acids in growing rats at different levels of intake. *Brit. J. Nutr.*, **54**, 499(1985)
50. Cieslak, D. J. and Benevenga, N. T. : The effect of amino acid excess on utilization by the rat of limiting amino acid-lysine and threonine at equalized food intake. *J. Nutr.*, **114**, 1878(1984)
51. Kirchgessner, M. W., Staudauer, W. and Steinhart, H.

- S. : Ansatz und Verwertung von Aminosäuren bei frueh abgesetzt Ferkeln nach qualitativ und quantiativ unterschiedlichen Proteinyufuhr. *Z. Tierphysiol. Tierernärg. Futtermittelkde.*, **61**, 93(1984)
52. Young, V. R. : Kinetics of human amino acid metabolism: nutritional implications and some lessens. *Am. J. Clin. Nutr.*, **46**, 709(1987)
53. Meredith, C. N., Wen, Z. W., Bier, D. M., Matthews, D. E. and Young, V. R. : Lysine kinetics at graded lysine intake in young men. *Am. J. Clin. Nutr.*, **43**, 787(1986)
54. Kang-Lee, T. A. and Harper, A. E. : Effect of histidine intake and hepatic histidase activity on the metabolism of histidine *in vivo*. *J. Nutr.*, **107**, 1427(1977)

(1998년 11월 16일 접수)