

# Starch Gel Electrophoresis에 媒質로 써질수있는 可溶性澱粉의 生産과 適用

## Production and Application of Soluble Starch Usable as Medium in/to Starch Gel Electrophresis

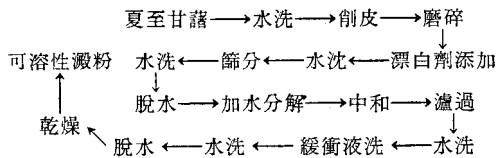
서울대학교 醫科大學 生理學教室

이 종 완

### 緒 論

Smithies가 starch gel electrophoresis를 發表(1955)<sup>1)</sup>한以來 이 方面의 研究는 一般의 큰 興味를 誘發하였다. 特히 血清蛋白成分 分析에 있어서 從前에 比해서 훨씬 더 많은 成分들이 甚히 精密하게 分離됨으로 그것들이 새로운 知識을 結果한바가 크다. 그 媒質로 使用되는 可溶性澱粉이 輕便하게 生産될 수 있으면 starch gel electrophoresis는 急速히 普及될 수 있는 素地를 充分히 갖었다. 그동안 이 方面 研究家들 (Smithies<sup>1)</sup>, Poulik<sup>2,3,5,8)</sup>, Morretti<sup>6)</sup>, Pert<sup>7)</sup>, Volkmar<sup>9)</sup>等)이 使用한 可溶性澱粉은 特殊生産者의 完全製品이였거나 或은 自家加工品이였는데 그들은 各各 任意의 半製品을 採擇하여서 이것에 適合한 加工을 하였기때문에 그들의 加工方式은 相當히 相異하였다. 따라서 可溶性 澱粉을 新規로 自家生産할 境遇에 適合한 加工方式을 發見하는데 勞力과 時間이 浪費될뿐만 아니라 어떤 半製品으로는 아무리 加工해보아도 所期의 目的物을 만들어내지 못한例도 報告되어 있다<sup>1)</sup>. 따라서 可溶性澱粉의 統一된 標準製法이 要望된다. 이 目的을 達하기 爲해서 著者는 半製品代身에 조금도 加工되지 않은 新鮮한 夏至甘藷를 그 原料로하고 이것에 一定한 處理를 加하였다.

### 可溶性澱粉의 生産



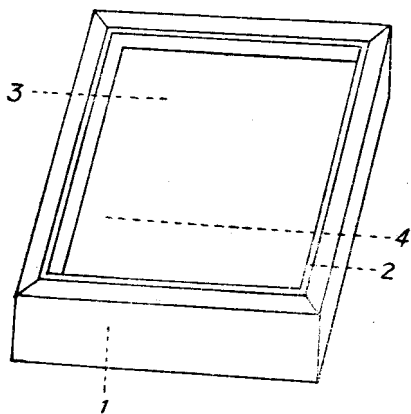
서울市場에서 購入된 굵고 新鮮한 夏至甘藷(3.75kg)에 附着된 土砂를 水道水로 씻어버리고 그 皮質을 削除한후에 그것을 다시 淨水에서 행겨낸다. 다음에 그것이 두번 磨碎機를 通過한후에 乳液狀態로 되었을때에 漂白과 分離를 增進하기 爲해서 亞硫酸을 原料의 0.003% 程度로 加하고 充分히 攪拌한다. 約 20分 經過후 多量의

물을 注加하는 同時에 그것을 많이 저어서 澱粉浮游液이 생기면 24時間 室溫에 放置하여서 澱粉粒子들의 沈澱을 招來한다. 이 沈澱物을 纖細한 網篩로 걸러서 混雜物을 除去하고 分離된 澱粉泥(約 380ml, S.G. 1.4)를 1000ml 入廣口瓶에 옮기고 여러번 充水와 傾瀉를 反復한다. 傾瀉할때에 가려 앉은 澱粉이 바닥에서 흘러내리지 않을때에는 脫水하기 爲해서 澱粉의 1.5倍 容量의 純 acetone을 注加하고 充分히 흔들어서 가려앉은 澱粉을 다시 淨游시킨다. 2時間후에 acetone을 更新하고 다시 澱粉을 浮游시킨 다음에 密栓한것을 保溫器(38.5°C)에 夜間 넣어둔다. 翌朝에 栓을 열고 甁에 들어있는 acetone에 濃鹽酸을 6%로 注加하고 다시 密栓한후에 充分히 흔들어서 內容을 混合시킨 다음에 保溫器(38.5°C)에 160分間 넣어둔다. 鹽酸 acetone을 傾瀉한후 即時 13.6% CH<sub>3</sub>COONa 水溶液을 澱粉의 半容量만큼 注加하고 輕하게 內容을 흔들어서 混合시킨 다음에 室溫에 約 30分間 놓아둔다. 濾過紙를 바친 Büchner's funnel을 通하여 濾過된것에 蒸溜水를 1000cc 까지 채우고 많이 흔들어 두었다가 上清을 傾瀉하는 일을 여러번 反復한다. PH의 安定을 얻기爲하여 澱粉의 1.5倍 容量의 0.025M borate buffer로 澱粉을 浮游시켜서 30分間 放置한후 다시 蒸溜水로 두번 水洗한다. 脫水하기 爲해서 澱粉의 1.5倍 容量의 acetone을 붓고 흔들어서 內容이 잘 混合되면 2時間 놓아둔다. 上清을 버리고 다시 同量 acetone으로 또한번 그렇게 한후 2時間만에 內容을 清潔한 甁은 그릇에 流出하고 澱粉이 가라앉은 후에 上清을 버리고 그것을 保溫器(45°C)에 넣어서 充分히 乾燥한다.

### 生産된 可溶性澱粉의 適用

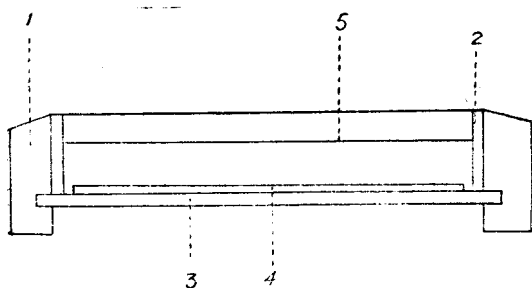
可溶性澱粉을 緩衝液과 混合  $\xrightarrow{\text{加熱}}$  澱粉溶液  $\xrightarrow{\text{注型}}$  膠質板  
 → 可檢物載荷 → 電流供給(泳動) → 水平割開 → 染色  
 → 脫色 → 觀察

만들어진 可溶性澱粉 14gm을 0.015M (PH 8.5) borate buffer 100ml에 投入한것을 加熱할때에 充分히



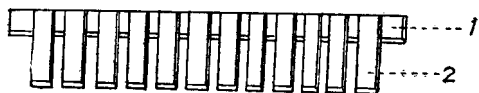
1. 外廓(木)
2. 內壁(硝子)
3. 膠質
4. 載物凹所의 位置 (—內緣에서 4cm)
5. 盤의 內部容積 (13.5×13.5×1.0cm)

第1圖 膠質盤



1. 外廓(木)
2. 內壁(硝子)
3. 底(硝子)
4. 載物板(硝子) (13×12×0.2cm)

第2圖 膠質盤의 斷面

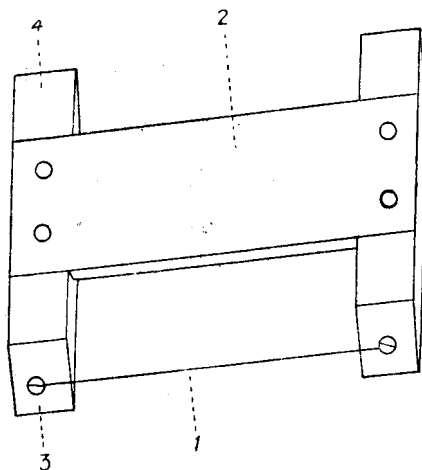


1. 台(硝子)
- 2) 齒列(硝子) (14×1×0.2cm) 되는 硝子=葉間에 1.8×0.6×0.06cm 되는 齒 12個를 0.4cm 間隔으로 固着할 때에 齒의 兩端部에는 各各 1.05cm의 空間을 둔다

第3圖 遺凹具

攪拌하여서 透明한 澱粉溶液을 만든다.

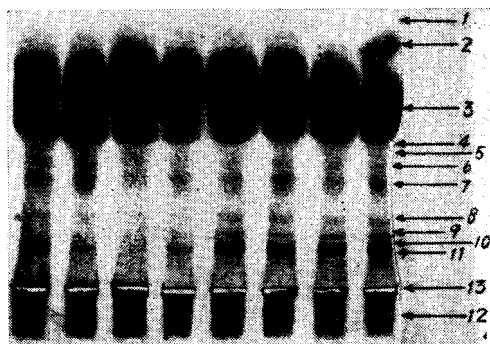
그 液속에서 氣泡를 吸引器로 빨아낸 다음에 그것을 膠質盤(第1圖) 바닥에 노인 載物板(第2圖4)에 流下하고 遺凹具(第3圖)를 膠質盤의 一內緣에서 4cm 되는 位置(第1圖4)에 그緣에 平行으로 即時 固定할 때에 그齒狀突起들의 下部가 뜨거운 澱粉液에 들어가서 못치게 한다. 膠質盤에 蒸發을 防止하기 爲해서 被覆을 加한 후 室溫에 水平으로 5時間以上 노아둔다. 被覆을 除去하고 膠質凹緣部가 損傷되지 않도록 操心해서 遺凹具를 膠質板



1. 絃(鋼線)
2. 橫木
3. 螺旋(絃緊張用)
4. 臂(木) (兩臂間 16cm)

第4圖 絃刀

에서 分離한다. 各凹所에 그上緣까지 相異한 可檢物(血清 또는 血漿)을 pipette로 流下한 후 이 膠質盤을 電氣泳動裝置內에 水平으로 据置하고 이것에 電流(5V/cm, 0.8mA/cm, 5250Ω)를 室溫에서 8時間 通한다. 그 다음에 載物板上的 膠質을 四圍壁에서 分離하고 小槓杆의 尖端을 載物板의 一角下에 作用시켜서 그것을 盤에서 들어낸다. 그것을 水平面上에서 絃刀(第4圖)로 膠質層의 中間을 通하여 水平으로 割開한다. 載物板에 附着된 膠質層의 割面에 常用蛋白染色液을 充分히 滴下하고 一分間있다가 그것을 脫色液속으로 옮긴다. 脫色液을 數次 更新하여서 背景이 適當히 脫色된 다음에 膠質面에 出現한 蛋白成分들의 分離像(第5圖)을 觀察한다.



- |                    |                     |
|--------------------|---------------------|
| 1) Pre albumin 1   | 8) α                |
| 2) " " 2           | 9) β                |
| 3) Albumin         | 10) αβ              |
| 4) Post albumin 1  | 11) Sα <sub>2</sub> |
| 5) " " 2           | 12) γ(gamma)        |
| 6) Fα <sub>2</sub> | 13) 凹所(出發場所)        |
| 7) β               |                     |

第5圖 血清蛋白成分의 電氣泳動像

### 成 績

第5圖는 위에 말한 生産 適用過程을 거쳐서 만들어진 同一膠質板(媒質)上에 出現한 相異健康人 8名의 血清蛋白成分의 電氣泳動分離像을 보이는 寫眞이다. 各單一像에서 上部로부터 順次로 Pre-albumin 1과 2, Albumin, Post-Albumin 1과 2, F $\alpha_2$ ,  $\beta$ ,  $\alpha\beta$ 의 3條, S $\alpha_2$ , 凹所(出發場所)와  $\gamma$ (gamma)의 各分帶가 整然明確하게 分離된것을 볼 수 있다. 이 澱粉으로 얻은 다른 標本에서는 Post  $\beta$ , Post Albumin 3과 Lipid protein(S $\alpha_2$ 와 凹所間)의 分帶를 往往 發見할 수 있었다.

澱粉 14%로 만들어진 溶液은 쉽게 膠質化하였고 充分한 彈度를 갖어서 여러가지 加工(造凹, 分離, 移動, 割開, 染色 及 脫色等)에 便益을 주었다. 以上の 成績은 既往에 他研究家들<sup>1,2,6,7,8)</sup>에 依해서 紹介된 다른 可溶性澱粉의 그것에 比해서 아무런 遜色도 없는 것이라고 著者は 생각하고 있다.

### 結 論

1. 서울市場에 出廻하는 任意의 夏至 甘藷를 土臺로 하여 starch gel electrophoresis 에 medium 으로 써질 수 있는 可溶性澱粉을 生産하는 處理過程을 明示하였다.

2. 이렇게 生産된 可溶性澱粉을 膠質로 만들어서 starch gel electrophoresis 를 實施하는 過程을 說明하였다.

3. 이 實驗에서 얻은 成果를 寫眞으로 보였다.

### Abstract

#### Production and Application of Soluble Starch Usable as Medium in/to Starch Gel Electrophoresis

Chongwhan Lee, M.D.

1) Experimental procedures for production of soluble starch are written from the potato available commercially in Seoul.

2) Soluble starch, produced thus, supplied suitable gels as medium in starch gel electrophoresis when fol-

lowed the process of application described in this paper.

3) Results obtained are shown photographically.

### REFERENCES

- 1) Smithies, O.: *Zone electrophoresis in starch gels: Group variations in the serum proteins of normal human adults.* *Biochem. J.* 61, 629, 1955.
- 2) Poulik, M.D. and Smithies, O.: *Comparison and combination of the starch gel and filter paper electrophoretic methods applied to human sera: Two Dimensional Electrophoresis.* *Biochem. J.* 68, 636, 1957.
- 3) Poulik, M.D.: *Separation of pre-albumins by starch gel electrophoresis.* *Nature* 184, 1067, 1968.
- 4) Smithies, O.: *An improved procedure for starch gel electrophoresis: Further variations in the serum proteins of normal individuals.* *Biochem. J.* 71, 585, 1959.
- 5) Poulik, M.D.: *Separation of human albumins of serum by 2 dimension electrophoresis (paper and starch-gel) in a discontinuous system of buffers.* *Nature* 188, 506, 1959.
- 6) Jean Morretti et al: *Recherche des correspondances entre les resultats des electrophoreses sur papier, a travers un gel d'amidon et de l'immuno-electrophorese on gelose des proteines du serum.* *Bull. soc. chim. biol.*, 41, 1, 79, 1959.
- 7) James, H. Pert et al: *Preliminary studies on quantitative zone electrophoresis in starch gel.* *J. Lab. and Clin. Med.* 54, 572, 1959.
- 8) Poulik, M.D.: *Starch-gel Immuno-electrophoresis.* *J. Immunolog.* 82, 502, 1959.
- 9) Volkmar, L.: *Zur Methodik der Zonenelectrophorese in Staerkegel zugleich eine Mitteilung ueber die Verteilung der Haptoglobintypen in Frankfurt am Main.* *Biochem. Zeitschr.* 333, 503, 1961.