

## 우유 단백질 (Proteins of Cows' Milk)

金 榮 教\* (Yong Kyo Kim)

### 서 론

우유의 진소화합물은 매우 복잡한 여러 종류의 성분으로 되어있지만 그 대부분은 단백질 중에 존재한다. 우유 단백질은 pH 4.6에서 침전하는 casein과 용해되는 유청 단백질로 크게 나눌 수 있으며 casein은 우유중에서 micelle 상태로 존재하고 있다. 이 micelle은 각종 casein과 칼슘, 마그네슘, 인, 구연산염 등으로 형성되어 있어서 그 구조에 대해서는 아직도 분명하지 않은 점이 많다. 최근 새로운 단백질 분석법의 진보에 의해서 과거 수 년 사이에 우유 단백질에 관한 지식의 축적은 현저하다. Starch gel, polyacrylamide gel 등의 지지체를 사용한 zone 전기영동법은 종래의 자유계면 전기영동법에 대신하여 보다 예민한 방법으로서 성질이 유사한 유전적 변이체까지도 분리 검출할 수가 있으며 또 DEAE-cellulose chromatography, Sephadex gel filtration 등은 우유 단백질의 분별에 널리 사용되고 있다.

지면 관계상 광범위한 우유단백질 전반에 걸쳐서 총괄 하기는 어려운 일이므로 여기서는 주로 현재 까지 알려지고 있는 우유 단백질의 종류와 각 단백질 간의 상호작용에 대해서 중점적으로 요약하기로 한다.

### I. 우유 단백질의 종류 및 분리방법

우유 단백질의 대부분을 차지하는 casein에 관한 오랜 연구 과정에서 casein이 단일성분이 아니라는 사실이 밝혀진 것은 Linderström-Lang과 그의 동료들<sup>(1,2,3)</sup>의 공적이었고 그후 Pedersen<sup>(4)</sup>에 의해서 casein은 이질적이라는 것이 증명되었다. 1939년 Mellander<sup>(5)</sup>는 전기영동에 의해서 처음으로 casein을  $\alpha$ -casein,  $\beta$ -casein,  $\gamma$ -casein으로 분리했으며 Warner<sup>(6)</sup>는 casein의 등전점의 차이를 이용해서 casein을  $\alpha, \beta, \gamma$ 의 세 성분으로 분별했다. 그 후 casein의 분리 방법은 Hipp등의 요소법<sup>(7)</sup>에 의해서 개량 되었으며 1950년대 후반에 이르러서 Hippel과

Waugh<sup>(8-9)</sup>에 의한  $\kappa$ -casein의 발견은 우유 단백질의 연구 발전에 획기적인 공헌을 하게 되었다.

우유 단백질의 분리 방법으로는 starch gel 전기영동법<sup>(10-12)</sup>, polyacrylamide gel 전기영동법<sup>(13-20)</sup>, ion exchange chromatography<sup>(21-23)</sup>, Sephadex gel 분리법<sup>(25-31)</sup> 등이 많이 사용되고 있으며 크로마토그래피에 의한 우유단백질의 분리 방법에 대해서는 최근에 Taguchi와 Rose<sup>(32)</sup>에 의해서 요약 되고 있다.

Casein의 화학적 분별법으로서의 다음의 문헌에서 사용된 방법들이 현재 널리 사용되고 있다.<sup>(9,28,29,33-38)</sup>

유청 단백질은 과거에는 발포과 황산알모니움 또는 프와 황산마그네슘에 의해서 침전하는 부분을 lactoglobulin, 침전하지 않은 부분을 lactalbumin이라고 불렀으나 그 후 lactoglobulin으로부터 변역 단백질인 euglobulin과 pseudoglobulin이 분리 되었으며<sup>(39)</sup>, lactoglobulin으로부터는  $\beta$ -lactoglobulin<sup>(4,40,41)</sup>, 혈청 albumin<sup>(42)</sup>,  $\alpha$ -lactalbumin<sup>(41)</sup>이 분리되었다. 현재 변역 단백질은 Ig G, Ig M, Ig A immunoglobulin이라고도 불려워지고 있다.<sup>(43)</sup> 기타 우유 단백질로서는 proteose-peptone<sup>(44-46)</sup> 및 미량의 serum transferrin<sup>(46,47-48)</sup>, lactoferrin<sup>(50)</sup>, 피막 단백질(lactoferrin)<sup>(46,47-52)</sup>, serum albumin<sup>(53,54)</sup>, fat globule membrane protein<sup>(55-56)</sup>, glycoprotein-a<sup>(51)</sup>, kininogen<sup>(60)</sup>, M-1 glycoproteins<sup>(61-63)</sup> 등과 각종의 효소 단백질 등이 알려지고 있다<sup>(64)</sup>.

주요 우유 단백질의 종류와 성질에 대해서는 Table I을 참조 하기 바란다.

### Caseins

**$\alpha$ s-Casein:**  $\alpha$ -Casein으로부터 분리된 calcium-sensitive  $\alpha$ s-casein은 Waugh등<sup>(33)</sup>에 의해서  $\alpha$ <sub>1,2</sub>-casein이라고 명명 되었으나 Thompson과 Kiddy<sup>(76)</sup>  $\alpha$ s-casein의 세 개의 유전적 변이체를 확인하고 각각  $\alpha$ s-casein A, B, C라고 명명 했으며  $\alpha$ <sub>1,2</sub>-casein은  $\alpha$ <sub>1</sub>-B와  $\alpha$ <sub>1</sub>-C의 유전적 변이체라고 시사했다. 후에  $\alpha$ s-casein의 변이체 A, B, C는  $\alpha$ <sub>1</sub>-casein A, B, C로 명명 되었다<sup>(77)</sup>.  $\alpha$ <sub>1</sub>-Casein

\* 고려대학교 농과대학

Table 1. Proteins of cow's milk and some of their properties<sup>(43)</sup>

Contemporary nomenclature	Approx. % of skimmilk protein	Electrophoretic mobility	pI	Sedimentation constant (S <sub>20</sub> )	Molecular weight	Components
$\alpha$ s-Casein	45 to 55	-6.7 <sup>(116)</sup>	4.1 <sup>(116)</sup>	3.99 <sup>(73)</sup>	23,000 <sup>(71)</sup>	$\alpha$ s <sub>1</sub> -variants A,B,C,D, $\alpha$ s <sub>2</sub> , - $\alpha$ s <sub>3</sub> -
$\kappa$ -Casein	8 to 15	-6.7 <sup>(116)</sup>	4.1 <sup>(38)</sup>	1.4 <sup>(28)</sup>	19,000 <sup>(76)</sup>	Variants A and B, subvariants containing 0 to 5 carbohydrate chains
$\beta$ -Casein	25 to 35	-3.1 <sup>(116)</sup>	4.5 <sup>(116)</sup>	1.57 <sup>(73)</sup>	24,100 <sup>(73)</sup>	Variants A <sup>1</sup> , A <sup>2</sup> , A <sup>3</sup> , B,C,D,E*
$\gamma$ -Casein	3 to 7	-2.0 <sup>(116)</sup>	5.8 to 6.0 <sup>(116)</sup>	1.55 <sup>(69)</sup>	30,650 <sup>(69)</sup>	Variants A <sup>1</sup> , A <sup>2</sup> , A <sup>3</sup> , B, components R,S, and TS.
$\alpha$ -Lactalbumin	2 to 5	-4.2 <sup>(67)</sup>	5.1 <sup>(63)</sup>	1.75 <sup>(67)</sup>	14,437 <sup>(65)</sup>	Variants A, B in Zebu
$\beta$ -Lactoglobulin	7 to 12	-5.3	5.3	2.7 <sup>(74)</sup>	36,000 <sup>(74)</sup>	Variants A, A <sub>D</sub> , B, B <sub>D</sub> , C, D
Blood serum albumin	0.7 to 1.3	-6.7 <sup>(70)</sup>	4.7 <sup>(70)</sup>	4.0 <sup>(68)</sup>	69,000 <sup>(70)</sup>	A1 and A2 allotypes recognized on
LgG immunoglobulins						
IgG1	1 to 2	-2.0 to 2.2		6.3	150,000 to	serum IgG
IgG2	≈0.2 to 0.5	-1.1 <sup>(72)</sup>		6.6	170,000	Insufficient data
IgM Immunoglobulin	≈0.1 to 0.2	.....		18 to 19	900,000 to 1,000,000	Insufficient data
IgA Immunoglobulin	≈0.05 to 0.10	.....		10 to 12	300,000	
Proteose-peptone fraction	2 to 6	-3.8 to 9.3	3.3 to 3.7	0.8 to 4.0	500,000 to 200,000	Multiple, including Glycoproteins

D는 Grosclaude<sup>(78)</sup> 등에 의해서 발견 되었으며 de Koning 등<sup>(79)</sup>에 의해서 재 확인 되었다.  $\alpha$ s<sub>2</sub>-와  $\alpha$ s<sub>3</sub>-casein은  $\alpha$ s<sub>1</sub>-casein의 유전적 변이체와는 다른 것으로 알려지고 있다<sup>(76)</sup>.  $\alpha$ s<sub>1</sub>의 변이체인 A,B,C,D의 성질을 비교해 보면 N-말단 아미노산(Arg)과 C-말단 아미노산(Try)은 모두 같으며<sup>(76,80)</sup> 아미노산 조성에 있어서  $\alpha$ s<sub>1</sub>-B와 D는  $\alpha$ s<sub>1</sub>-C에 비해서 일본자당 glycine 한개가 부족하며,  $\alpha$ s<sub>1</sub>-D는  $\alpha$ s<sub>1</sub>-B,C, 보다 serine 한개가 부족하며 그 외에는 별다른 차이가 없다. 그러나 A는 B,C 및 D와는 각 종 아미노산 조성에 있어서 많은 차이가 있다.<sup>(76-82)</sup> 이러한 유전적 변이체는 전기영동에 의한 이동도의 차이에 의해서 결정되며 소의 품종에 따라서 변이체의 출현율은 다르다.  $\alpha$ s<sub>1</sub>-Casein A는 홀스타인 종에만 나타나며 에아샤 종에는 B형만이 존재한다<sup>(83)</sup>.

$\alpha$ s<sub>1</sub>-Casein의 분자량에 관해서는 많은 보고가 있으나<sup>(84-89)</sup> 그 결과들은 일치하지 않으며 대체로 24,000~29,000의 범위 내에 있는 것으로 보고되고 있다.

$\alpha$ s-Casein은 칼슘 이온에 대해서 예민하게 작용한다.  $\alpha$ s<sub>1</sub>-Casein B와 C는 1~35°C 사이에서 0.4M 칼슘농도의 존재하에서는 불용성이나, A형은 1°C에서 0.4M 칼슘 농도에서 용해한다. A형과 B형의 동량 혼합물은 1°C에서 용해하며 18°C에서 B형은 침전한다. 그러나 칼

슘 존재하에서도  $\kappa$ -casein이  $\alpha$ s<sub>1</sub>-casein과 공존할 때에는  $\alpha$ s<sub>1</sub>-casein은  $\kappa$ -casein의 보호 작용을 받아서 용해 상태로 존재한다.  $\kappa$ -casein에 의한  $\alpha$ s<sub>1</sub>-casein의 안정도에 관해서는 많은 보고가 있으며  $\alpha$ s<sub>1</sub>-casein A는 B,C와 비교해서  $\alpha$ s<sub>1</sub>/ $\kappa$ -casein 비율이 낮아도 보다 더 안정화 된다<sup>(9,76,90-95)</sup>.

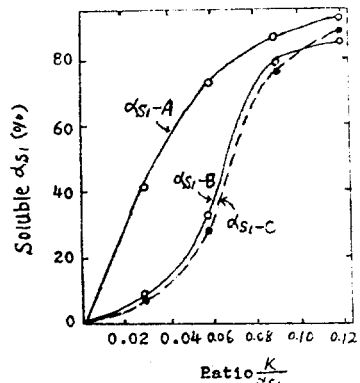


Fig. 1. Stabilization curves for  $\alpha$ s-caseins A,B, and C obtained by the method of Zittle<sup>(91)</sup> from Thompson and Kiddy<sup>(76)</sup>

$\beta$ -Caseins: Aschaffenburg<sup>(96)</sup>는 여지전기영동법에 의해서  $\beta$ -casein에 세 종류의 변이체가 존재하는 것을 발

전하고 이동도의 큰 순서로 A, B, C로 명명했으며 Thompson 등<sup>(76)</sup>에 의해서 확인 되었다. 또  $\beta$ -casein A ( $A^1, A^2, A^3$ )에도 유전적 변이체가 세개 있는 것으로 알려지고 있으며<sup>(67, 68)</sup>  $\beta$ -casein D의 존재도 보고 되고 있다.<sup>(99)</sup> Bz는 African Zebu 에서 발견 되었으나 이것은 특별한 예라고 할수 있다<sup>(99)</sup>.

$\beta$ -Casein A, B, C의 N말단 아미노산은 알기닌으로 알려지고 있으며<sup>(98, 100, 101)</sup> C말단 아미노산은 베아린이며  $\beta$ -casein A, B, C의 분자량은 24,000~25,000 으로 보고 되고 있다<sup>(101)</sup>.  $\beta$ -Casein의 유전적 변이체에 대한 아미노산 분석은 보고 되고 있으나<sup>(98, 101, 102)</sup> 각자간의 분석치에 차이가 있어서 각 변이체의 차이점은 확인 되어 있지 않다.

$\beta$ -Casein은 monomer와 polymer가 평형상태를 유지하고 있으며 이 평형 상태는 온도와 단백질 농도에 의존한다. 4°C, pH 7.5에서는  $\beta$ -casein은 분자량 약 25,000의 monomer로 존재하나 8.5°C에서는 약 22개의 monomer로 되는 polymer가 생성되어 monomer와 공존한다. Polymer의 침강정수는 농도 의존성이 높으며 또 monomer와 polymer의 혼재율도 농도 의존성이 높으나  $\beta$ -casein은 온도가 상승하며는 응고 현상을 일으키지 마는 그 원인은 명백 하지않다<sup>(104, 105)</sup>.

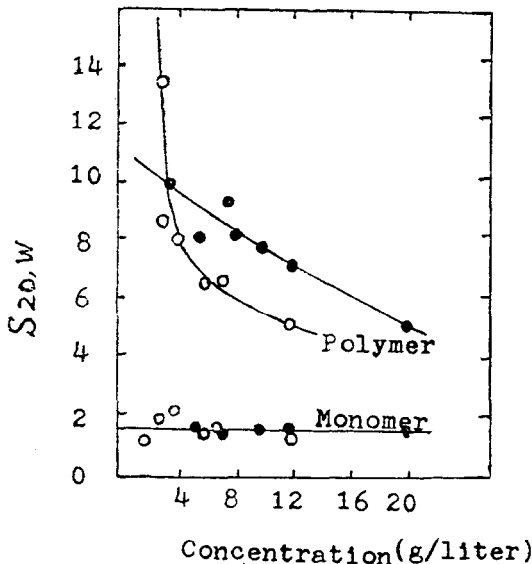
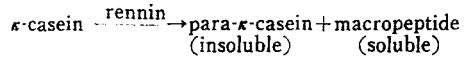


Fig. 2. Concentration dependence of the sedimentation coefficient of  $\beta$ -casein  
Monomers and polymers; —●—: Experiment at 8.5°C —○—: Experiments at 13.5°C<sup>(104)</sup>

$\kappa$ -Casein : Hippel과 Waugh<sup>(6, 9)</sup>에 의해서 발견된  $\kappa$ -casein은  $\alpha$ -casein 복합체로부터 분리된 calcium insensitive casein이며 렌닌 작용을 받는 유일한 우유 단백질이다.

두 종류의 유전적 변이체 (A, B)가 있으며<sup>(12, 106, 107)</sup> A형은 B형 보다 아스파르긴산, 아라닌, 스테오닌 잔기가 분자당 하나씩 많고 아이소루신 잔기가 한개 부족하다<sup>(75, 107)</sup>. 전기영동 또는 DEAE-Cellulose 커럼 분석에 의하면은 A형 및 B형은 각각 수개의 성분 (monomer)으로 분리 되는데 각 성분의 차이점은 성분 중에 들어있는 탄수화물의 량에 의한 것이다<sup>(22, 75, 94)</sup>.  $\kappa$ -Casein에는 galactose, galactosamine, N-acetyl-neuraminic acid가 결합되어 있다.

$\kappa$ -Casein A, B의 C말단 아미노산은 베이린으로 인정되고 있으나<sup>(108-110)</sup> N말단 아미노산은 아직 확인 되어 있지 않다. 분자량은 여러 사람들의 보고에 차이가 있으며 그 범위는 17,000~20,000 인 것으로 알려지고 있다<sup>(22, 75, 110, 111)</sup>.  $\kappa$ -Casein은 렌닌 작용에 의해서 para- $\kappa$ -casein과 macropeptide로 절단되며<sup>(20, 112)</sup> para- $\kappa$ -casein은 침전한다. 이 반응 과정을 요약 하면 다음과 같다.



$\kappa$ -Casein A 또는 B에 정제한 결정 렌닌을 작용시켰을 때 생성되는 para- $\kappa$ -casein은 이질적인 것으로 보고되어 왔으며<sup>(28, 75, 113, 114, 115)</sup>, Mackinlay 등<sup>(116)</sup>은 para- $\kappa$ -casein의 주성분은  $\kappa$ -casein의 주성분으로, para- $\kappa$ -casein의 미량성분은  $\kappa$ -casein의 미량성분으로부터 생성되는 것이라고 보고했다. 이러한 분명치 않은 사실에 대해서 김등<sup>(20)</sup>은 요소를 사용하지 않고 조제된  $\kappa$ -casein에 렌닌을 작용 시키므로써 단 하나의 주성분인 para- $\kappa$ -casein만을 생성 시키는데 성공했다. 즉 미량의 para- $\kappa$ -casein은 요소 중에 존재하고 있는 cyanate와  $\kappa$ -casein의 타이신이 결합하여 새로운 물질인 homocittruline을 형성하기 때문에 net charge의 변화에 따른 인위적인 물질이라도 사실이 관명 되었다. 그리고  $\kappa$ -casein A 또는 B로 부터 생성되는 para- $\kappa$ -casein의 아미노산 수는 동일하며 A형과 B형의 차이는 macropeptide 부분에 있는 것으로 알려지고 있다<sup>(10, 112)</sup>.

$\gamma$ -Casein : Mellander<sup>(5)</sup>가 전기 영동에 의해서 처음으로 casein을  $\alpha$ -,  $\beta$ - 및  $\gamma$ -casein으로 분리했는데 이에 대해서 Jennes 등<sup>(118)</sup>은  $\gamma$ -casein을 casein의 기본성분의 하나로 인정 했었다. 그 후 Murthy와 Whitney<sup>(60)</sup>는  $\gamma$ -casein은 면역 단백질과는 다르며 그 분자량은 30,650 이고 pH, 이온강도, 온도 등의 의존성이 크다고 보고했다. 1960년 이후 단백질 분석 방법의 진보에 따라서  $\gamma$ -casein에도 유전적 변이체가 확인되고<sup>(96)</sup>, El-Negoumy<sup>(117)</sup>는  $\gamma$ -casein은 다섯 성분( $\gamma_1, \gamma_2, \gamma_5$ )으로 구성되어 있다는 것을 실증하고 그 중 세 성분은 A형과 B형의 변이체라고 했다. 최근 Groves 등<sup>(119)</sup>은 gel 전기영동과

커럼 크로마토그래피를 사용해서 네 종류의  $\gamma$ -casein 의 에 R, S, Ts, 라고 명명된 세 종류의 미량 단백질이 존재함을 증명 했다. R 단백질은  $\gamma$ -casein A 의 존재시에만 나타나고, S 단백질은  $\gamma$ -casein B 의 존재시에만 나타난다. Ts 단백질에도 유전적 변이체(A,B)가 있는 것으로 알려지고 있으며  $\gamma$ -casein A 는 알카리 용액에서 A<sup>1</sup>, A<sup>2</sup>, A<sup>3</sup>의 세 변이체를 나타내었다.

#### 유청 단백질

**$\alpha$ -Lactalbumin :** 유청 단백질 중에서 두번째로 많이 많은  $\alpha$ -lactalbumin 은 Zefu 에서 두개의 유전적 변이체가 발견되었다<sup>(119,120,121)</sup>. 최근  $\alpha$ -lactalbumin 은 생물학적 활성을 가지고 있으며 유당 합성에 기여하고 있는 것으로 알려지고 있다. 효소적인 유당합성에 있어서  $\alpha$ -lactalbumin 은 합성 최종 단계에서 촉매작용을 한다<sup>(122)</sup>. Brodbeck와 Ebner<sup>(123,124)</sup>는 유당을 합성하는 활성적 요소가 유선 및 우유에 있는 것을 발견하고 그 단백질을 "A 및 B protein subunits"라고 명명했다. B Protein subunit 의 많은 양이 우유로부터 결정체로 분리 되었으며  $\alpha$ -lactalbumin과 동일하다는 것이 증명되었<sup>(125)</sup>. A Protein subunit 는 유선 조직의 세포 돌기와 결합되고 있으나 순수한 상태로는 결정화되고 있지않다<sup>(123,124,126,127)</sup>.  $\alpha$ -Lactalbumin 으로 확인된 단백질이 사람, 변양, 돼지, 염소, 쥐에서 분리 되었으며<sup>(128)</sup> 이상과 같은 동물로부터 분리된  $\alpha$ -lactalbumin 은 순수한 소의 A protein subunit 와 공존할 때 B protein subunit 와 같은 활성을 나타내었다<sup>(128)</sup>.  $\alpha$ -Lactalbumin 의 생물학적 역할에 대해서는 Ebner와 Brodbeck 에 의해서 총괄 되고 있다<sup>(122)</sup>.

**$\beta$ -Lactoglobulin :** 이 단백질의 유전적 변이체(A,B)에 대해서는 Aschaffenburg와 Drewry에 의해서 보고되었고<sup>(129)</sup>  $\beta$ -lactoglobulin C는 Belle에 의해서 발견 되었다.<sup>(130)</sup>  $\beta$ -Lactoglobulin A와 B<sup>(131,132)</sup> 및 C<sup>(133)</sup>의 아미노산 조성도 알려지고 있는데 A,B,C간의 차이점은 다음과 같다. Asp-32, 30, 30; Glu-50, 50, 48; Gly-6, 8, 8; Ala-28, 30, 30; Val-20, 18, 18; His-4, 4, 6. C형은 B형보다 알카리측에서 이등도가 약간 느리며 A 또는 B와 같이 또는 단독으로 존재하지마는 출현율이 낮다. D 변이체는 Glosclaude<sup>(78)</sup>에 의해서 발견 되었으며 후에 확인되었다.<sup>(134,135,136)</sup> 최근 오스트리아의 Droughtmaster란 소로부터 A와 B의 변이체인 A<sub>D</sub>, B<sub>D</sub>이 발견 되었으며 A<sub>D</sub>에는 탄수 화물이 함유되어 있는 것으로 보고 되고 있다<sup>(137,138)</sup>.

## II. 우유 단백질의 상호작용

### (1) Casein계의 상호작용

$\alpha$ s-Casein과  $\kappa$ -casein은 화학량론적으로 복합체(4:1의 비율)를 형성한다<sup>(8,9,33)</sup>. 칼슘 존재 하에서는  $\alpha$ s-casein 은 칼슘과 결합해서 침전하는 성질을 가지고 있으나 일정한 량의  $\kappa$ -casein이 공존할 때에는  $\kappa$ -casein의 보호작용에 의해서  $\alpha$ -casein은 침전 되지않고  $\kappa$ -casein과 결합해서 micelle을 형성한다<sup>(9,90)</sup>.  $\alpha$ s-,  $\kappa$ -Casein의 복합체는 37°C에서 형성되며 2°C 및 20°C에서는 형성 되지 않는다. 그러나 양자를 혼합한 후 4.5M의 요소 처리를 해서 투석 또는 pH 12에서 중화하면 20°C에서도 복합체가 형성 된다. 그러나 2°C에서는 이러한 처리를 하여도 복합체는 형성되지 않는다<sup>(95,147)</sup>. 한편 Garnier등<sup>(139)</sup>은 복합체를 형성할 때의  $\alpha$ s-,  $\kappa$ -casein의 비율은 1:1이라고 한다. 복합체의 형성은 단순한 것이 아니고 단백질의 조제법 기타 여러가지 요인에 의해서 다르며 이 상호작용이  $\alpha$ -casein과  $\kappa$ -casein의 어떠한 장소들 통해서 이루어지고 있는지는 아직 확인 되어 있지 않다. Thompson과 Pepper는  $\kappa$ -casein으로 부터 탈 시아루산(sialic acid) 또는 탈 인산을 하여도  $\alpha$ s<sub>1</sub>-casein에 대한 안정화 작용에는 아무런 영향도 미치지 않았다고 보고하고있다.<sup>(92,93)</sup> 그러나  $\alpha$ s-casein의 인 잔기를 제거하면은 이  $\alpha$ s-casein은  $\kappa$ -casein에 의해서 안정화 되지 않았다고 한다<sup>(93)</sup>.

Zittle와 Walter는 30°C, 0.03 M 칼슘농도에서  $\beta$ -casein 은  $\kappa$ -casein의 안정화 작용에 의해서 침전 되지 않았으며 0.15%의  $\beta$ -casein 농도에서  $\kappa$ -casein의 안정화 작용은 가장 높으며 그 이상의  $\beta$ -casein 농도에서는  $\kappa$ -casein의 안정화 작용은 감소 되었다.  $\beta$ -casein과  $\kappa$ -casein의 상호작용에 있어서의 최적 pH는 7.2였다<sup>(140)</sup>.

### (2) 유청 단백질계의 상호작용

$\beta$ -Lactoglobulin은 등전점에서는 구상의 subunit가 두개 결합한 분자량 36,000의 상태로 존재 하지마는 pH 3.5 이하에서는 분자량이 18,000의 subunit로 해리되어 침강정수가 감소한다. 이 해리는 가역적이며  $\beta$ -lactoglobulin A 또는 B에서는 동일하게 일어나지마는 양자를 혼합해서 pH 5.0에 두면은 A는 A, B는 B 끼리 재결합해서 A,B의 혼성체(hybrid)는 생성 되지 않는다<sup>(141,142)</sup>. pH 3.5~5.1에서 실은 이하로 냉각 시키면 subunit 8개로 되는 테트라마(분자량 144,000)가 된다. A형이 테트라마를 쉽게 형성하며, C형은 형성하기 힘들다. 테트라마의 형성에는 carboxyl기 간의 상호작용이 관계한다고 한다. 테트라마 형성에 있어서는 A형과 B형을 혼합해 두면 혼합체를 형성한다<sup>(143)</sup>.

$\alpha$ -Lactalbumin은 알카리 측에서는 상호작용이 약하나 산성 측에서도 강한 작용을 일으켜서 포리마를 형성한다. 이 반응은 단백질 농도, 온도, 방치시간 등에 의해

서 다르다(144).

### III. Micelle구조

Casein 단백질은 우유 중에서 micelle을 형성해서 존재하며 직경의 크기도 50~300 m $\mu$ 이며 분자량은 천만으로 부터 수억에 달한다. 이 micelle의 모형이 Payens(144) Morr(145), Waugh(64), Rose(146) 등에 의해서 제시되고 있으나 그 구조가 매우 복잡하여서 아직 해명되어 있지 않다. Micelle 형성에 참여하는 casein은 주로  $\alpha$ s-,  $\kappa$ - 및  $\beta$ -casein인데  $\alpha$ s-,  $\kappa$ -casein의 결합율이 1:1이라고 하면은  $\alpha$ s-casein의 일부는 단독 또는  $\alpha$ s- $\beta$  복합체로서 존재할 가능성이 있다. Yaguchi등(27)은 pH 8.0에서 용해한 산 casein을 4°C에서 Sephadex gel G-200의 커럼을 사용해서 인산 완충액으로 용출한 결과는 다음 도표와 같다.

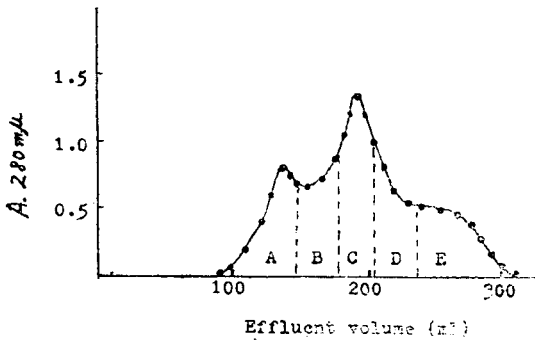


Fig. 3. Gel filtration of whole casein on a 2.5 by 80 cm column of Sephadex G-200 at 4°C  
Eluant: 0.02 M Na-phosphate containing 1 M NaCl, pH 8.0. (27)  
A,  $\alpha$ s-Casein,  $\beta$ -casein,  $\kappa$ -casein;  
B,  $\alpha$ s-Casein,  $\beta$ -casein,  $\kappa$ -casein;  
C,  $\alpha$ s-Casein >  $\beta$ -casein;  
D,  $\alpha$ s-Casein  $\geq$   $\beta$ -casein;  
E,  $\beta$ -Casein,

각 fraction을 전기 영동으로 조사한 결과 A fraction은 분자량이 내략 20만 이상 B는 15만~20만이며 양쪽 모두  $\alpha$ s-,  $\beta$ - 및  $\kappa$ -casein을 함유하고 있다. C는 분자량 10만~15만이며  $\kappa$ -casein은 함유되어 있지않고  $\alpha$ s-,  $\beta$ -casein의 복합체(분자비율 4:1)라고 생각된다. D는 분자량 5만~10만으로서  $\alpha$ s-,  $\beta$ -casein이 1~2:1의 복합체이다. E는 분자량 5만 이하로서 거의  $\beta$ -casein만이 존재하며  $\beta$ -casein의 모노마로 생각된다. 이결과는  $\alpha$ s- $\kappa$ - $\beta$ -casein 복합체와 같이  $\alpha$ s- $\beta$ -casein 복합체가 존재한다는 것을 시사한다. Noble등(65)은  $\alpha$ s- $\kappa$ -casein계의 칼슘에 의한 micelle 형성시험에서  $\alpha$ s- $\kappa$  casein의 비율을 10:1(10 mg/ml of  $\alpha$ s-casein과 1 mg/ml의  $\kappa$ -casein)로한

혼합물을 중성의 염화칼슘 완충액에 용해해서 37°C에서 여러가지 농도의 염화칼슘을 첨가해서 저속(400×g/분)으로 원심분리를 해서 상정액 중의 단백질을 정량한 결과 다음과 같은 흥미있는 곡선을 나타냈다.

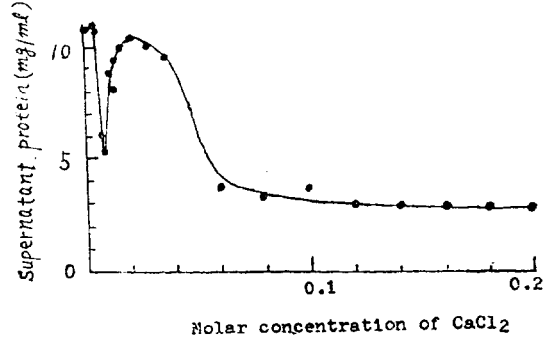


Fig. 4. Supernatant protein, resulting from single-aliquot addition of calcium, plotted as a function of CaCl<sub>2</sub> concentration for two  $\alpha$ s- $\kappa$ -casein mixtures in standard KCl buffer at 37°C. The curve represents data for a solution initially containing 10 mg/ml of  $\alpha$ s-casein and 1 mg/ml of  $\kappa$ -casein

즉 0.004M의 칼슘농도에서는 침전물은 형성되지 않고 탁도로 증가 되지않으나 0.004M~0.006M의 칼슘농도에서는 상정액중의 단백질은 현저하게 감소 되었다. 이때에 침전 하는 것은 Ca-caseinate이다. 첨가 칼슘농도가 이보다 높을 때는  $\alpha$ s- $\kappa$ -casein 복합체의 칼슘염을 생성하여 이것이 Ca-caseinate를 둘러싸서 안정한 micelle을 형성하기 때문에 침전량이 감소 되는 것이라고 설명하고 있다.

이와 같은 실험의 결과를 종합하면  $\alpha$ s- $\kappa$ -casein의 micelle은 표면과 중심부에서 동일한 조성을 하지않고  $\alpha$ s/ $\kappa$ 의 비율이 낮은  $\alpha$ s- $\kappa$  복합체가 외각이 되어  $\alpha$ s-casein을 중심부에 둘러싼 구조를 하고 있다고 생각할 수 있다. 또  $\beta$  casein이 혼재하며는 이것이  $\alpha$ s-casein과 같이 중심부에 존재할 가능성도 지적되고 있다(65,147). 한편 Rose(146)는 micelle중의 인산 칼슘은 제3 또는 제2 인산칼슘만이 아니고 구연산기 또는 수산기가 인산칼슘과 결합해서 중심부로부터 들어가 apatite와 유사한 구조를 하고있는 것으로 생각하고 있다.

### 참 고 문 헌

- 1) Linderström-Lang, K.: C.R. Trav. Lab. Carlsberg, 16. 48 (1925).
- 2) Linderström-Lang, K.: C.R. Trav. Lab. Carlsberg, 17, (No.9) 1 (1929).
- 3) Linderström-Lang, K. and Kodama, S.: C.R. Trav. Lab. Carlsberg, 16 (No.1) (1925).

- 4) Pedersen, K. O.: *Biochem. J.*, **30**, 948 (1936).
- 5) Mellander, O.: *Biochem. Z.*, **300**, 240 (1939).
- 6) Warner, R. C.: *J. Am. Chem. Soc.*, **66**, 1725 (1944).
- 7) Hipp, N. J., Groves, M. L., Custer, J. H. and Me Mee Kin, T. L.: *J. Dairy Sci.*, **35**, 272 (1952).
- 8) Von Hippel, P. H. and Waugh, D. F.: *J. Am. Chem. Soc.*, **77**, 4311 (1955).
- 9) Waugh, D. F. and von Hippel, P. H.: *J. Am. Chem. Soc.*, **78**, 4576 (1956).
- 10) Wake, R. G. and Baldwin, R. L.: *Biochim. Biophys. Acta*, **47**, 225 (1961).
- 11) Neelin, J. M., Rose, D. and Tessier, H.: *J. Dairy Sci.*, **45**, 153 (1962).
- 12) Schmidt, D. G.: *Biochim. Biophys. Acta*, **90**, 411 (1964).
- 13) Raymond, S. and Wang, Y.: *Anal. Biochem.*, **1**, 391 (1960).
- 14) Peterson, R. F.: *J. Dairy Sci.*, **46**, 1136 (1963).
- 15) Aschaffenburg, R.: *Biochim. Biophys. Acta*, **82**, 188 (1964).
- 16) Groves, M. L.: *Biochim. Biophys. Acta*, **100**, 154 (1965).
- 17) Hartman, G. H. Jr. and Swanson, A. M.: *J. Dairy Sci.*, **48**, 1161 (1965).
- 18) Payens, T. A. J.: *Biochim. Biophys. Acta*, **46**, 441 (1961).
- 19) Hanson, L. A. and Johannson, B.: *Experientia*, **15**, 377 (1959).
- 20) Kim, Y. K., Yaguchi, M. and Rose, D.: *J. Dairy Sci.*, **52**, 316 (1969).
- 21) Yaguchi, M., Tarassuk, N. P. and Hunziker, H. G.: *J. Dairy Sci.*, **44**, 589 (1961).
- 22) Mackinlay, A. G. and Wake, R. G.: *Biochim. Biophys. Acta*, **104**, 167 (1965).
- 23) Rose, D., Davis, D. T. and Yaguchi, M.: *J. Dairy Sci.*, **51**, 8 (1968).
- 24) Kim, Y. K., Arima, S. and Hasbimoto, Y.: *J. Fac. Agr. Hokkaido Univ.*, **55**, 133 (1967).
- 25) Hill, R. D.: *J. Dairy Res.*, **31**, 291 (1964).
- 26) Morr, C. V., Kenkare, D. B. and Gould, A.: *J. Dairy Sci.*, **47**, 621 (1964).
- 27) Yaguchi, M. and Tarassuk, N. P.: *J. Dairy Sci.*, **50**, 1985 (1967).
- 28) Yaguchi, M., Davies, D. T. and Kim, Y. K.: *J. Dairy Sci.*, **51**, 473 (1968).
- 29) Hill, R. D.: *J. Dairy Res.*, **30**, 101 (1963).
- 30) Nakanisi, T. and Ito, T.: *J. Agr. Chem. Soc. (Japan.)*, **43**, 306 (1969).
- 31) Boulet, M., Yang, A. and Riel, R. R.: *Canadian J. Biochem.*, **48**, 816 (1970).
- 32) Yaguchi, M. and Rose, D.: *J. Dairy Sci.*, **54**, 1725 (1971).
- 33) Waugh, D. F., Ludwig, M. L., Gillespie, J. M., Melton, B., Foley, M. and Kleiner, E. S.: *J. Am. Chem. Soc.*, **84**, 4929 (1962).
- 34) Zittle, C. A., Gerbulis, J., Pepper, L. and Della Monica, E. S.: *J. Dairy Sci.*, **42**, 1827 (1959).
- 35) Zittle, C. A. and Custer, J. H.: *J. Dairy Sci.*, **46**, 1183 (1963).
- 36) McKenzie, H. A. and Wake, R. G.: *Biochim. Biophys. Acta*, **47**, 240 (1961).
- 37) Aschaffenburg, R.: *J. Dairy Res.*, **30**, 259 (1963).
- 38) Swaisgood, H. E. and Brunner, J. R.: *J. Dairy Sci.*, **45**, 1 (1962).
- 39) Smith, E. L.: *J. Dairy Sci.*, **31**, 127 (1948).
- 40) Larson, B. L. and Jennes, R.: *Biochem. Prep.*, **4**, 23 (1955).
- 41) Gordon, W. G. and Ziegler, J.: *Biochem. Prep.*, **4**, 16 (1955).
- 42) Polis, B. D., Shmukler, H. W. and Custer, J. H.: *J. Biol. Chem.*, **187**, 369 (1950).
- 43) Rose, D., Brunner, J. R., Kalan, E. B., Larsen, B. L., Melnychyn, P., Swaisgood, H. E. and Waugh, D. F.: *J. Dairy Sci.*, **53**, 1 (1970).
- 44) Ashaffenburg, A. and Drewry, J.: *Proc. XVth Intern. Dairy Congr.*, **3**, 1631 (1959).
- 45) Jennes, R.: *J. Dairy Sci.*, **42**, 895 (1959).
- 41) Brunner, J. R. and Thompson, M. P.: *J. Dairy Sci.*, **44**, 1224 (1911).
- 47) Szuchet-Derechin, S. and Johnson, P.: *Nature*, **194**, 473 (1962).
- 48) Gahne, B., Rendel, J. and Venge, O.: *Nature*, **186**, 907 (1960).
- 49) Baker, E., Shaw, D. C. and Morgan, E. H.: *Biochemistry*, **7**, 1371 (1968).
- 50) Groves, M. L.: *J. Am. Chem. Soc.*, **82**, 3345 (1960).
- 51) Srensen, M. and Srensen, S. P. L.: *C. R. Trav. Lab. Carlsberg. Ser. Chim.*, **23**, 55 (1939).

- 52) Morton, R. K.: *Biochem. J.*, 55, 795 (1953).
- 53) Roller, G. D., Larson, B. L. and Touchberry, R. W.: *J. Dairy Sci.*, 39, 1683 (1956).
- 54) Larson, B. L. and Kendall, R. A.: *J. Dairy Sci.*, 40, 377 (1957).
- 55) Jennes, R. and Palmer, L. S.: *J. Dairy Sci.*, 28, 611 (1945).
- 56) Morton, R. K.: *Biochem. J.*, 57, 231 (1954).
- 57) Swope, F. C., Rhee, K. C. and Brunner, J. R.: *Milchwissenschaft*, 23, 744 (1968).
- 58) Cheeseman, G. C. and Mabbit, L. A.: *J. Dairy Res.*, 35, 135 (1968).
- 59) Groves, M. L. and Gordon, W. G.: *Biochemistry*, 6, 2388 (1967).
- 60) Leach, B. E., Blalock, C. R. and Pallansch, M. J.: *J. Dairy Sci.*, 50, 763 (1967).
- 61) Bezkorovainy, A.: *Arch. Biochem. Biophys.*, 110, 558 (1965).
- 62) Bezkorovainy, A.: *J. Dairy Sci.*, 50, 1368 (1967).
- 63) Bezkorovainy, A. and Grolich, D.: *Biochem. J.*, 115, 817 (1968).
- 64) McKenzie, H. A.: *Milk Protein II*, Academic Press, New York, P. 385 (1971).
- 65) Brew, K., Vanaman, T. C. and Hill, R. L.: *J. Biol. Chem.*, 242, 3747 (1967).
- 66) Ehrenpreis, S., Maurer, P. H. and Ram, J. S.: *Arch. Biochem. Biophys.*, 67, 178 (1957).
- 67) Gordon, W. G. and Semmet, W. E.: *J. Am. Chem. Soc.*, 75, 328 (1953).
- 68) Klostergaard, H. and Pasternak, R. A.: *J. Am. Chem. Soc.*, 79, 5674 (1957).
- 69) Murthy, G. K. and Whitney, R. McL.: *J. Dairy Sci.*, 41, 1 (1958).
- 70) Polis, B. D., Shmukler, H. W. and Custer, J. H.: *J. Biol. Chem.*, 187, 349 (1950).
- 71) Schmidt, D. G., Payens, T. A., Van Markwijk, B. W. and Brinkhous, J. A.: *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 27, 448 (1967).
- 72) Smith, E. L.: *J. Biol. Chem.*, 164, 345 (1946).
- 73) Sullivan, R. A., Fitzpatrick, M. M., Stanton, E. K., Annino, R., Kessel, G. and Palermite, F.: *Arch. Biochem. Biophys.*, 55, 455 (1955).
- 74) Townsend, R. E., Herskovits, T. T., Swaisgood, H. E. and Timasheff, S. N.: *J. Biol. Chem.*, 239, 1946 (1964).
- 75) Woychik, J. H., Kalan, E. B. and Noelken, M. E.: *Biochemistry*, 5, 2276 (1966).
- 76) Thompson, M. P. and Kiddy, C. A.: *J. Dairy Sci.*, 47, 626 (1964).
- 77) Thompson, M. P., Tarassuk, N. P., Jennes, R., Lillevik, H. A., Ashworth, U. S. and Rose, D.: *Dairy Sci.*, 48, 159 (1965).
- 78) Grosclaude, F., Pujolle, J., Garnier, J. and Ribadeau-Dumas, B.: *Biochim. Biophys.*, 6, 215 (1966).
- 79) de Koning, P. J. and van Rooijen, P. J.: *Nature*, 213, 1028 (1967).
- 80) Kalan, E. B., Thompson, M. P., and Greenberg, R.: *Arch. Biochem. Biophys.*, 107, 521 (1964).
- 81) Gordon, W. G., Bash, J. J. and Thompson, M. P.: *J. Dairy Sci.*, 48, 1010 (1965).
- 82) de Koning, P. J. and van Rooijen, P. J.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 20, 241 (1965).
- 83) Kiddy, C. A., Johnston, J. O. and Thompson, M. P.: *J. Dairy Sci.*, 47, 147 (1964).
- 84) Nielsen, H. C. and Lillevik, H. A.: *J. Dairy Sci.*, 40, 598 (1957).
- 85) Dreizen, P., Noble, R. W. and Waugh, D. F.: *J. Am. Chem. Soc.*, 84, 4938 (1962).
- 86) Melnychyn, P. and Wolcott, J. M.: *J. Dairy Sci.*, 48, 780 (1965).
- 87) Schmidt, D. G., Payens, T.A.J., van Markwijk, B. W. and Brinkhuis, J. A.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 27, 448 (1967).
- 88) Noelken, M.: *Biochim. Biophys. Acta*, 140, 537 (1967).
- 89) Garnier, J.: *Biopolymers*, 5, 473 (1967).
- 90) Waugh, D. F.: *Discuss. Faraday Soc.*, 25, 186 (1958).
- 91) Zittle, C. A.: *J. Dairy Sci.*, 44, 2101 (1961).
- 92) Thompson, M. P. and Pepper, L.: *J. Dairy Sci.*, 45, 794 (1962).
- 93) Pepper, L. and Thompson, M. P.: *J. Dairy Sci.*, 46, 764 (1963).
- 94) Schmidt, D. G., Both, P. and de Koning, P. J.: *J. Dairy Sci.*, 49, 776 (1966).
- 95) Noble, R. W. and Waugh, D. F.: *J. Am. Chem. Soc.*, 87, 2236 (1965).
- 96) Aschaffenburg, R.: *Nature*, 192, 431 (1961).
- 97) Kiddy, C. A., Peterson, R. F. and Kopfler, F. C.: *J. Dairy Sci.*, 49, 742 (1966).

- 98) Peterson, R. F., Numan, L. W. and Hamilton, D. F.: *J. Dairy Sci.*, **49**, 601 (1966).
- 99) Aschaffenburg, R., Sen, A. and Thompson, M. P.: *Comp. Biochem. Physiol.*, **25**, 177 (1968), **27**, 621 (1968).
- 100) Mellon, E. F., Korn, A. H. and Hoover, S. R.: *J. Am. Chem. Soc.*, **75**, 1675 (1953).
- 101) Kalan, E. B., Thompson, M. P., Greenberg, R. and Pepper, L.: *J. Dairy Sci.*, **48**, 884 (1965).
- 102) Pion, R., Garnier, J., Ribadeau-Kumas, B. de Koning, P. J. and van Rooijen, P. J.: *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **20**, 246 (1965).
- 103) Thompson, M. P., Gordon, W. G., Pepper, L. and Greenburg, R.: *Comp. Biochem. Physiol.*, **30**, 91 (1969).
- 104) Payens, T. A. J. and van Markwijk, B. W.: *Biochim. Biophys. Acta.* **71**, 517 (1963).
- 105) Hoagland, P. D.: *J. Dairy Sci.*, **49**, 783 (1966).
- 106) Neelin, J. M.: *J. Dairy Sci.*, **47**, 506 (1964).
- 107) Woychik, J. H.: *Arch. Biochem. Biophys.*, **109**, 542 (1965).
- 108) Jolles, P., Alais, C. and Jolles, J.: *Biochim. Biophys. Acta*, **69**, 511 (1963).
- (109) de Koning, P. J., van Rooijen, P. J. and Kok, A.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **24**, 616 (1966).
- 110) Pujolle, J., Ribadeau-Dumas, B., Garnier, J. and Pion, R.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **25**, 285 (1966).
- 111) Swaisgood, H. E. and Brunner, J. R.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **12**, 148 (1963).
- 112) 김영교 : 한국축산학회지, **13**, 82 (1971)
- 113) El-Negoumy, A. M.: *J. Dairy Sci.*, **51**, 1013 (1968).
- 114) Kalan, E. B. and Woychik, J. H.: *J. Dairy Sci.*, **48**, 1423 (1965).
- 115) Mackinlay, A. G., Hill, R. J. and Wake, R. G.: *Biochem. Biophys. Acta*, **115**, 103 (1966).
- 116) Jennes, R., Larson, B. L., McMeekin, T. L., Swanson, A. M., Whitnah, C. H. and Whitney, R. McL.: *J. Dairy Sci.*, **39**, 536 (1956).
- 117) El-Negoumy, A. M.: *Biochim. Biophys. Acta.* **140**, 503 (1967).
- 118) Groves, M. L., Gordon, W. G. and Kiddy, C. A.: *J. Dairy Sci.*, **51**, 946 (1968).
- 119) Ashaffenburg, R.: London, *Royal Anthropological Institute*, **50**, 54 (1963).
- 120) Bhattacharys, S. D., Roychoudbury, A. K., Sinha, N. K. and Sen, A.: *Nature*, **197**, 797 (1963).
- 121) Blumberg, B. S. and Tombs, M. P.: *Nature*, **181**, 683 (1958).
- 122) Ebner, K. E. and Brodbeck, U.: *J. Dairy Sci.*, **51**, 317 (1968).
- 123) Brodbeck, U. and Ebner, K. E.: *J. Biol. Chem.*, **241**, 762 (1966).
- 124) Brodbeck, U. and Ebner, K. E.: *J. Biol. Chem.*, **241**, 5526 (1966).
- 125) Brodbeck, U. and Denton, W. L., Tanahashi, N. and Ebner, K. E.: *J. Biol. Chem.*, **242**, 1391 (1967).
- 126) Babad, H. and Hassid, W. Z.: *J. Biol. Chem.*, **241**, 2672 (1966).
- 127) Coffey, R. G. and Reithel, F. J.: *Biochem. J.*, **109**, 169 (1968).
- 128) Tanahashi, N., Brodbeck, U. and Ebner, K. E.: *Biochim. Biophys. Acta*, **154**, 247 (1968).
- 129) Aschaffenburg, R. and Drewry, J.: *Nature*, **180**, 376 (1957).
- 130) Bell, K.: *Nature*, **195**, 705 (1962).
- 131) Gordon, W. G., Basch, J. J. and Kalan, E. B.: *J. Biol. Chem.* **236**, 1908 (1961).
- 132) Piez, K. A., Davie, E. W., Folk, J. E. and Gladner, J. A.: *J. Biol. Chem.*, **236**, 2912 (1961).
- 133) Kalan, E. B., Greenberg, Walter, M. and Gordon, W. G.: *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **16**, 199 (1964).
- 134) Larsen, B. and Thymann, M.: *Acta Vet. Sand.*, **7**, 189 (1966).
- 135) Meyer, H.: *Dairy Sci. Abstr.*, 4482 (1967).
- 136) Michalak, W.: *J. Dairy Sci.*, **50**, 1319 (1967).
- 137) Bell, K., McKenzie, H. A. and Murphy, W. H.: *Australian J. Sci.*, **29**, 87 (1966).
- 138) McKenzie, H. A.: *Advan. Protein Chem.*, **22**, 55 (1967).
- 139) Garnier, J., Yon, J. and Mocquot, G.: *Biochim. Biophys. Acta*, **82**, 481 (1964).
- 140) Zittle, C. A. and Walter, M.: *J. Dairy Sci.*, **46**, 1189 (1963).
- 141) Timascheff, S. N.: *Symposium on Foods, Proteins and their Reactions*, Ed. by Schultz, H. W., 179,



- 1964, AVI Pub. Co.
- 142) Timasheff, S. N. and Towned, R.: *J. Dairy Sci.*, 45, 259 (1962).
- 143) Bell, K. and Mckenzie, H. A.: *Nature*, 204, 1275 (1964).
- 144) Payens, T. A. J.: *J. Dairy Sci.*, 49, 1317 (1966).
- 145) Morr, C.V.: *J. Dairy Sci.*, 50, 1744 (1967).
- 146) Rose, D.: *Dairy Sci. Abstr.*, 31, 171 (1969).
- 147) Waugh, D. F. and Noble, R. W. Jr.: *J. Am. Chem. Soc.*, 87, 2246 (1965).