

ホルスタイン種乳牛における初乳中のタンパク質結合型糖鎖成分の経時的変化

田中正仁・岩間裕子・塩谷 繁 (九州農業試験場)

Masahito TANAKA, Yuko IWAMA and Shigeru SHIOYA :
Postpartum Changes of Glycan Moiety in Colostrum Proteins from Holstein Cow

新生子牛の生体防御には初乳中の免疫グロブリンが関与している。しかし、重篤な下痢症を引き起こす病原性大腸菌やロタウイルス、コロナウイルスなどの有害微生物の感染初期には細胞表面にある糖鎖成分の関与が知られており、感染防止の目的で類似の構造を持った糖鎖成分投与の有効性が示唆されている¹⁾。

そこで、有害微生物の感染防御に関与する糖鎖成分を検出・同定する目的で、初乳中のタンパク質結合型糖鎖成分の量的・質的な変動を経時的に調べた。

1. 材料および方法

当場で分娩したホルスタイン種乳牛の初乳を分娩直後から1日2回、約1週間経時的に採取した。各時期の初乳をSDSポリアクリルアミド電気泳動法 (SDS-PAGE) により分画しCBBでタンパク質染色した。また、電気泳動後ポリビニリデンジフルオリド (PVDF) 膜に転写し過よう素酸反応による糖鎖染色および DSA, MAA, PNA, GNA, SNA (各種レクチンと対応する糖鎖構造は第1表を参照) を用いたレクチン染色を行い、解析ソフトによりおのおのの泳動像を解析し各種成分の量的・質的な変動を調べた。

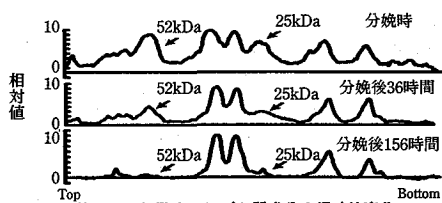
第1表 レクチンが認識する糖鎖構造

GNA (Galanthus nivalis agglutinin)	Man α (1-6) -Man . . .
	Man α (1-3) -Man . . .
	Man α (1-2) -Man . . .
SNA (Sambucus nigra agglutinin)	SA α (2-6) -Gal . . .
	SA α (2-6) -GlcNAc . . .
MAA (Maackia amurensis agglutinin)	SA α (2-3) -Gal . . .
PNA (Peanut agglutinin)	Gal β (1-3) -GalNAc . . .
DSA (Datura stramonium agglutinin)	Gal β (1-4) -GlcNAc . . .

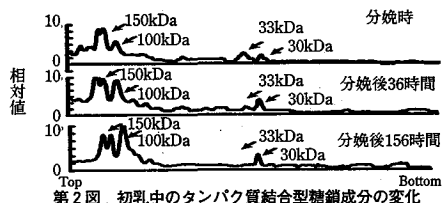
2. 結果および考察

初乳中のタンパク質濃度は常乳の3倍以上あり分娩後の時間経過とともに急速に低下した。その過程をSDS-PAGEのパターン変化で見ると分子量および酸沈殿性からカゼインと推定される画分の濃度には顕著な変化は見られなかったが、サブユニットの分子量からIgG画分と思われる52kDa, 25kDa等の成分は時間経過とともに顕著に減少し、分娩後156時間ではほぼ常乳レベルまで低下した(第1図)。この結果は、これまでに報告されている多くの知見とよく対応するものであった。SDS-PAGEとPVDF膜にブロッティングした後の糖鎖染色像(第2図)はタンパク質染色像と大きく異なり実験期間中に糖鎖成分の全体量はあまり変化しなかった。しかし、150kDaおよび33kDa成分が分娩後減少したのに対して100kDaおよび30kDa成分は増加する傾向を示した。これらの各成分の詳細については現在検討中である。さ

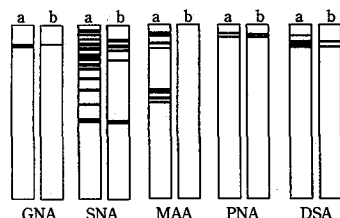
らに、分娩直後と分娩後156時間目の材料を用いて DSA, MAA, PNA, GNA, SNA の各種レクチンへの結合性から構成する糖鎖の構造的な変化を調べた(第3図)。PNAに結合する糖鎖成分濃度は分娩直後と分娩後156時間目の乳汁でほとんど変化しなかったのに対して、DSA, MAA, GNA, SNAに陽性の糖鎖成分はそれぞれ減少した。とくに、SNAに結合する糖鎖成分の減少の程度が一



第1図 初乳中タンパク質成分の経時的変化



第2図 初乳中のタンパク質結合型糖鎖成分の変化



第3図 分娩時 (a) と分娩後156時間目 (b) の乳汁における糖タンパク質のレクチン反応性

番大きく、ついで MAA に陽性の鎖糖成分の減少が顕著であった。つまり、構成糖鎖の末端にシアル酸を持つ糖鎖が分娩直後には比較的多く、分娩後の時間経過とともに減少することを示している。シアル酸はロタウイルスが細胞に付着・感染するとき大きく関与することが知られている²⁾。詳細な構造は不明であるが初乳に含まれるシアル酸は第4胃のpHが不安定に高く、生体内の免疫機構が未発達である新生子牛をロタウイルスが引き起こす下痢症から防御している可能性がある。

引用文献

- 1) Newburg, D.S., J.Nutr. 127: 980S-984S. 1997.
- 2) Mendez, E., C.F. Arias and S. Lopez, J.Virol. 70: 1218. 1996.