

## 泌乳牛の血漿タンパク質における酸化タンパク質の検出とその変動

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 :  
Detection and Some Profiles of Oxidized Proteins in Plasma of Dairy Cattle

高い生産負荷が掛かっている泌乳牛についてはその代謝特性から高度の酸化ストレス下にさらされていると考えられるが、泌乳牛の生体内で発生するフリーラジカルについての定性および定量的な報告は少ない。体内で発生したフリーラジカルは一部の脂質やタンパク質を酸化して過酸化脂質や酸化タンパク質に変化させる。酸化タンパク質はフリーラジカルの酸化反応によってアミノ酸側鎖にカルボニル基などが導入された構造を持ち<sup>1)</sup> 容易に検出できる。そこで、ホルスタイン種泌乳牛の酸化ストレスの程度を把握する目的で、血漿中に存在する酸化タンパク質の検出とその相対的な変動について飼育環境温度の影響を加味して検討した。

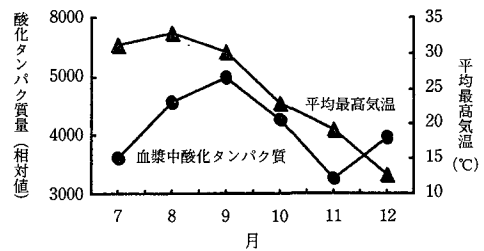
## 1. 材料および方法

血漿は当场で分娩し泌乳中のホルスタイン種搾乳牛より1998年7月から12月まで毎月一回各8頭から採血し、タンパク質量を測定した後-20℃で保存した。そして、分析時に解凍してタンパク質濃度を一定に調整した後にフェニルヒドラジン処理によりタンパク質側鎖に導入されたカルボニル基をフェニルヒドラゾン誘導体にして、RVDF膜にドットプロットした。また、一部は酸化タンパク質の分子量別の分布を調べるためにSDS-PAGEで展開した後、PVDF膜にプロットした。膜上の酸化タンパク質にはフェニルヒドラゾン特異性を持つ一次抗体を反応させた後、パーオキシダーゼ標識された二次抗体を結合させた。発色は化学発光法を用いフィルム上の感光強度から酸化タンパク質の相対量を求めた。

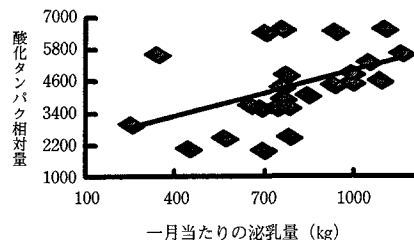
## 2. 結果および考察

7月から9月までの暑熱環境下と10月から12月までに得た血漿のタンパク質濃度およびSDS-PAGEパターンには顕著な差が見られなかった。ドットプロット法を用いた酸化タンパク質の分析では全ての個体の血漿中から酸化タンパク質が検出され、その相対値には大きな個体差が認められた。血漿中の酸化タンパク質の分子量別分布については、150kDa以上の領域に主要なバンドが認められたが30kDa以下の分子量をもつタンパク質には明瞭なバンドが認められなかった。泌乳牛各8個体の酸化タンパク質の平均相対量は飼育環境温度の影響を受け、気温の高い7-9月に上昇してその後、気温の低下とともに減少傾向を示した(第1図)。また、血漿中の酸化タンパク質の量と泌乳牛各個体の一月乳量との間には一定の関係が見られ、特に7-9月の夏季高温環境

下では有意な正の相関関係が認められた(第2図)。泌乳牛においてよく観察される低栄養性貧血傾向の指標となる血液中のヘモグロビン濃度と酸化タンパク質の関係を見るとヘモグロビン濃度が減少し貧血傾向にある個体ほど酸化タンパク質が多い傾向にあった。さらに、高温環境下では生乳中においても酸化タンパク質の量が増加傾向にあることが報告されており<sup>2)</sup>、これらのことは、フリーラジカルの発生に伴う酸化タンパク質の蓄積が泌乳牛の受ける低栄養ストレスや高温ストレスの指標となりうることを示唆している。そして、夏季高温環境下において、特に泌乳量の多い個体についてはアポトーシス(自発的細胞死)の誘発因子<sup>3)</sup>となるフリーラジカルの発生や、それに伴う酸化タンパク質の生成と蓄積に留意した対策が西南暖地の乳牛の生涯生産性向上にとって重要であると考えられる。



第1図 泌乳牛の血漿中酸化タンパク質の変動



第2図 7-9月期の血漿中の酸化タンパク質量と一月泌乳量の関係

- 1) Stadtman, E R, Ann Rev Biochem, 62 : 797-821, 1993
- 2) 田中正仁 岩間裕子 織田 潤 塩谷 繁・九州農業研究 61, 102, 1999
- 3) Tan, S, Y Sagara, Y Liu, P Maher, and D Schubert, J Cell Biol 141 : 1423-1432, 1998