

泌乳牛の血漿に含まれるタンパク質結合型糖鎖の季節変動

田中正仁・岩間裕子・神谷 充・塩谷 繁
(九州農業試験場)

Masahito TANAKA, Yuko IWAMA, Mitsuru KAMIYA and Shigeru SHIOYA :
Effect of Environmental Temperature on Profiles of Glycan Moieties in Plasma Proteins from Holstein Cow

血漿中には多くの種類の糖鎖成分が存在し、細胞間の接着やシグナル伝達等に深く関与している。また、人においてある種の血漿中糖鎖成分の変動は、その変動様式と臨床症状の変化から疾病診断の指標として用いられている。しかし、泌乳牛においては血漿中糖鎖成分の種類や分布、その変動要因についての情報は少なく、生産形質や各種疾病などの生理状態との関係解明はほとんどなされていない。そこで、泌乳牛血漿中のタンパク質結合型糖鎖の種類や分布状態を環境温度の異なる時期で比較検討した。

1. 材料および方法

1998年にみかけ上、蹄病、乳房炎その他の疾病に罹病していない当場のホルスタイン種泌乳牛から、環境温度の高い7-9月(夏季)と環境温度が比較的低い11-12月(冬季)に延べ16頭から採血した。血漿を分離してブレット法によりタンパク質濃度を測定した後、一定タンパク質量をSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動(SDS-PAGE)で展開してクマシーブリアントブルーでタンパク質染色した。また、電気泳動したのち、PVDF膜に転写して過ヨウ素酸反応による糖鎖染色および各種レクチンとしてDSA, MAA, PNA, GNAおよびSNA(各レクチンと対応する糖鎖の構造を第1表に示す)を用いた糖鎖の構造別特異染色を行い、採血時期の環境温度と糖鎖成分の関係を調べた。

2. 結果および考察

血液採取時期の日最高気温の平均は、夏季では31.4℃で冬季では16.5℃であり、その差は約15℃であったが、両時期の血漿タンパク質濃度には差がみられなかった。各個体の血漿のSDS-PAGE像には個体差がみられたが、各個体の年齢、産次および血漿採取時期による違いは認められなかった。

SDS-PAGEの後、PVDF膜に転写して過ヨウ素酸反応による糖鎖染色を行ったところ、血漿採取時期による違いがみられた。第1図に示す代表的なパターンのように、約200kDaから30kDaまでの糖タンパク質成分の全体量は夏季で冬季の約2倍の値を示した。全体波形に顕著な差はみられなかったが、ほとんどのピークにおいてその量が夏季で高かった。特に、100kDa以下の分子量領域での差が顕著であった。

DSA, MAA, PNA, GNAおよびSNAを用いた各種レクチン染色では、夏季と冬季を通してMAAおよびGNAやDSA陽性の糖タンパク質は分子量が50kDa以上の高分子領域に多く分布していたのに対して、SNAやPNAでは約200kDaから30kDaまでの全領域において広く分布していた。そして、DSA, MAA, PNAおよびGNAの染色像に顕著な季節差はみられなかったが、SNAの染色像では冬季に比較して夏季の血漿で染色強

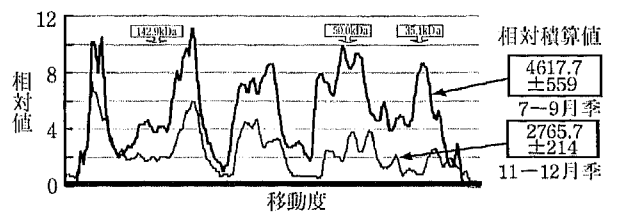
度が高くなった(第2図)。しかし、SNA陽性糖鎖分布の季節による違いは、糖タンパク質全体の季節差とはパターンが異なり、糖タンパク質全体の差にはその他の糖鎖成分も大きく関与しているものと考えられた。SNA陽性糖タンパク質の分子量別分布状態をみると、ほぼ全領域について夏季で高い傾向にあり、特に、35kDa以上で50kDa以下のピークでの増加が顕著であった。このピークは、血漿中に比較的多く存在し、SNA染色陽性なシアル酸に富んだ成分で、分子量がほぼ44kDaであることなどから、 α -酸性糖タンパク質である可能性がある。 α -酸性糖タンパク質は、人などで体内に炎症がある場合に血中の濃度が上昇することが知られており、炎症に関する臨床診断の指標として用いられている¹⁾。泌乳牛において、 α -酸性糖タンパク質と炎症の関係については不明な点が多い。しかし、夏季高温環境下では泌乳ストレスと高温ストレスによって、外見上は健常であるが内部に炎症疾患を抱えている個体が多い可能性があり、今後詳細な検討が必要である。

引用文献

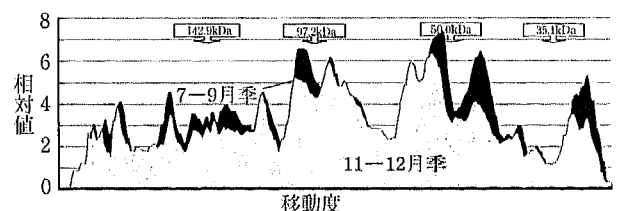
- 1) Fournier, T., N. Medjoubi-N and D. Porquet, Biochim. Biophys. Acta 1482 (1-2): 157-171, 2000.

第1表 各種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



第1図 夏季および冬季の血漿糖タンパク質分布の比較



第2図 血漿中の単位タンパク質量当たりのSNA陽性糖鎖成分の季節変動