家畜牛におけるヘモグロビン- β 鎖の変異 ——特にバリ牛型変異(β^{Bali})を中心として——

並 河 鷹 夫

名古屋大学農学部, 名古屋市 464

Hemoglobin- β Variants in the Domestic
Cattle, with Special Reference to the
 β^{Bali} of Bali Cattle

Takao Namikawa

Faculty of Agriculture, Nagoya
University, Nagoya-shi 464

Schroeder ら (1967) は牛のヘモグロビンの電気泳動的変異 Hbb-A と Hbb-B を分析し、これらの変異の β -鎖に複数のアミノ酸残基置換の存在することを示した。それは少なくとも 3 個のアミノ酸残基置換で 4 個のコドン塩基置換を意味するものであった。Hbb-A と Hbb-B はインド型ゼブ牛を中心として世界の家畜牛に広く多型現象を示している (Naik ら 1969 ; Osterhoff 1975 ; 並河 1980)。これらの変異の分子レベルの進化が単一の突然変異によって起ったとは考え難く、3 段階のアミノ酸置換によって生じたものであろう。もしこれが事実とすれば両者の変異の移行型変異が 2 種存在するはずである。Schroeder ら (1972) はアフリカの牛で発見された Hbb-C^{Rhodesia} および Hbb-D^{Zambia} の一次構造を分析したがこれらの変異の分化は β^{A} β^{B} の分化と独立であった。

Namikawa (in press) は Hbb-X (ゼブ牛にまれに存在する Hbb-X および Hbb-C と同じ電気泳動的変異) が東南アジアの在来牛に広く存在し、特にバリ牛においてはその遺伝子頻度が 80% 近くに達することを報告している。この電気泳動的変異は Hbb-A と Hbb-B の中間の易動度を示すので β^{A} と β^{B} を結ぶ中間の変異である可能性もある。この予報的報告においては β^{Bali}

(Hbb-X) の一次構造について従来報告されている β -鎖変異と比較し、家畜牛にみられるヘモグロビン型変異の由来について考察してみる。

Hbb-X ホモ型赤血球は数個体のバリ牛から採取し、Teale (1959) の方法に従って脱ヘムし、グロビン蛋白を抽出した。 β^{Bali} グロビンは Clegg ら (1966) の方法による Whatman CM32 を用いたクロマトグラフィによって α 鎖とともに分画した。 β^{Bali} はカルボキシメチル化し、トリプシン (1/200 W/W) によって消化した (20 時間, 38℃)。 β^{Bali} のトリプシン消化ペプチドは Aminex-A-5 (Bio Rad Rab) によるカラムクロマトグラフィによって分画した。そのバッファー・システムは 0.2 M ピリジン・酢酸 (pH3.1) から同 2.0 M (pH5.0) のグラ

ジェント法によった。各々の分画された大部分のペプチドはさらに適当なペーパークロマトグラフィによって精製した。 β -グロビンおよびそのトリプシン消化ペプチドのアミノ酸組成はアミノ酸自動分析計 (JEOL JLC-6 AM) によって決定した。チロシンおよびトリプトファン含量はこれらの特異的な紫外線吸収曲線より分光光度計 (Hitachi 124) によっても確認した。これらの分析の全てを通してヘレフォード種より採取した β^A -グロビンも平行して分析した。なおトリプシン消化ペプチドの命名法は Schroeder ら (1967) に従った。

Table 1

Amino acid compositions of bovine hemoglobin- β^A and $-\beta^{Bali}$ hydrolyzed for 24, 48 and 72 hours.

(N) ¹⁾	β^A			β^{Bali}		
	24	48	72	24	48	72
Asp (16)	16.1	15.3	16.0	16.3	16.0	15.8
Thr (6)	5.8	5.8	5.4	6.0	5.6	5.4
Ser (5)	4.9	4.5	4.4	5.0	4.5	4.4
Glu (11)	10.2	10.3	10.7	11.3	11.3	11.0
Pro (4)	not tested					
Gly (11)	11.3	11.5	11.6	12.0	11.8	11.4
Ala (16)	16.5	16.9	15.9	16.4	16.5	16.1
CMCys (1)	0.7	0.4	0.8	0.7	0.9	1.0
Val (18)	17.4	17.4	17.1	17.0	17.5	17.6
Met (3)	2.7	2.7	2.6	2.7	2.4	2.6
Leu (17)	16.8	17.0	17.6	17.2	17.0	17.0
Tyr (2)	1.7	2.0	1.8	2.0	1.9	1.9
Phe (10)	9.7	9.9	9.8	9.0	9.1	9.3
His (6)	6.3	6.2	6.3	7.0	6.9	7.5
Lys (13)	13.7	13.4	13.0	11.7	11.9	12.4
Arg (4)	4.0	4.0	3.8	3.5	4.0	3.9
Trp (2)	(2.3) ²⁾			(2.0) ²⁾		

1) expected number for β^A proposed by Schroeder et al. (1967).

2) spectrophotometric estimation in the peptides analyses.

表1に β^{Bali} と β^{A} -グロビンにおけるアミノ酸組成を比較した結果を示した。ヘレフォードから分画した β^{A} はSchroederら(1967)が同種の牛より分画した β^{A} と極めてよく一致したアミノ酸組成を示した。しかし一方 β^{Bali} のアミノ酸組成を β^{A} のそれと比較するとリジンが少くヒスチジンが多い傾向を示した。これは β^{Bali} においてリジンからヒスチジンへの置換が存在することを示唆している。これは後に述べるペプチド段階での分析で確認された。フェニールアラニンも β^{Bali} において少い傾向を示したがペプチドの分析においては確認できなかった。

Schroederら(1967)によれば牛のヘモグロビン β 鎖は18個のトリプシン消化ペプチド(T1, 2, 3^a, 3^b, 4, ……13, 14^a, 14^b, 15および16)から成る。 β^{Bali} のペプチドのうちT13とT15については現在さらに分析を必要としているが、他の16種のペプチドについては分画精製し、それぞれのアミノ酸組成を決定し β^{A} のそれらと比較した。 β^{Bali} と β^{A} のペプチドを比較した結果、T3^aとT3^bにおいて異っていることが発見されたので表2に示した。

Schroederら(1967)が述べているようにT3^aとT3^bの間に存在する β^{A} のリジン・バリン

Table 2
Amino acid compositions of T3^a, T3^b and T3^{a•b}.

	(N)	$\frac{\text{T3}^{\text{a}}+\text{T6}^{(1)}}{\beta^{\text{A}}}$	$\frac{\text{T6}^{(2)}}{\beta^{\text{Bali}}}$	(N)	$\frac{\text{T3}^{\text{b}}}{\beta^{\text{A}}}$	(N)	$\frac{\text{T3}^{\text{a•b}}}{\beta^{\text{A}}}$	β^{Bali}
Asp		0.04	0.02	(1)	1.30	(1)	1.19	1.20
Thr								
Ser		0.09	0.03		0.30		0.07	
Glu		0.05	0.02	(2)	1.87	(2)	1.99	2.16
Pro								
Gly		0.09	0.03	(3)	2.94	(3)	3.00	3.00
Ala				(1)	0.98	(1)	1.03	1.20
Val	(1)	1.02	1.01	(2)	1.94	(3)	2.76	3.04
Met					0.09			
Leu				(1)	1.07	(1)	1.18	1.03
Tyr								
Phe					0.24			
His								0.90
Lys	(1)	0.98	0.99		0.17	(1)	0.93	
Arg				(1)	0.89	(1)	0.93	0.83
CMCys								
Trp								

1)T3^a is identical with T6 in β^{A} (Fig. 1). The peptide was yielded significantly higher than that of β^{Bali} .

2)Since there was no yield for T3^b of β^{Bali} , the peptide could originate only from T6.

されたと信じられている。これらの野生および家畜種は一般の家畜牛から形態学的あるいはその分布域においても明確に区別され、別種（*Bos banteng*，その他の命名もある）として分類されてきた。ゼブ牛を中心に広く存在する β^B はバリ牛に存在する β^{Bali} よりもさらに β^A から分化しており（表3），一般家畜牛において β^A と β^B がどのような経過で多型現象を示すに到ったかは興味ある問題である。これら両者を結ぶ移行的変異と考えられる β^{Bali} の存在はゼブ牛型の家畜牛が多元的起源を有していることを示唆するものである。

文 献

- Clegg, J. B., M. A. Naughton and D. J. Weatherall, 1966 *J. Mol. Biol.*, 19 : 91-108.
- Dayhoff, M. O. (ed.), 1972 *Atlas of Protein Sequence and Structure Vol. 5*. Nat. Biochem. Res. Found., Washington, D. C.
- Naik, S. N., P. K. Sukumaran, and L. D. Sanghvi, 1969 *Heredity*, 24 : 239-247.
- 並河鷹夫, 1980 日畜会報, 51 : 235-246.
- Namikawa, T., 1980 *Z. Tierz. Züchtbiol.*, in press.
- Schroeder, W. A., J. R. Shelton, J. B. Shelton, B. Robberson, and D. R. Babin, 1967 *Arc. Bioch. Biophys.*, 120 : 124-135.
- Schroeder, W. A., J. R. Shelton, J. B. Shelton, G. Apell, T. H. J. Huisman, L. L. Smith and W. R. Carr, 1972 *Arc. Bioch. Biophys.*, 152 : 222-232.
- Teale, F. W. J., 1959 *Biochim. Biophys. Acta*, 35 : 543.