各種家禽卵の性状ならびに成分の比較

3. SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動法によるニワトリ、ウズラ、キンケイ、ハッカ、ン、アヒル、バリケンおよびハト卵白タンパク質の比較

田名部 尚 子・小 川 宣 子

岐阜女子大学家政学部，岐阜市太郎丸 〒501-25

著者らは前報^{1,2)}において各種家禽卵の構成成分，化学成分について比較検討し，それらが品種間および種間で異なることを報告した。さらにポリアクリルアミドグラジェントゲルディスク法によって，卵黄タンパク質の電気泳動像に種の差のあることを認めた³⁾。鳥類の卵白タンパク質については，でんぷんゲル電気泳動法や免疫電気泳動法などによって，種の間に差があることが報告されている⁴⁾。近年ニワトリ卵白タンパク質については，リゾチームばかりでなく種々のグリコプロテインについて分離精製が可能となり，それぞれのタンパク質の化学構造もかなり明らかになってきている⁴⁻⁷⁾。そこで本実験では，ニワトリ，ウズラ，キンケイ，ハッカ、ン，アヒル，バリケンおよびハトの卵白タンパク質を SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動法^{8,9)}によって調べ，各泳動帯に分離された構成タンパク質について種間の比較検討を行った。

材料および方法

白色レグホーン種ニワトリ 10 個体，ロードアイランドレッド種ニワトリ 10 個体*，東天紅種ニワトリ 2 個体*，ウズラ 2 個体*，キンケイ 2 個体*，ハッカ、ン 1 個体*，カーキキャンベル種アヒル 10 個体*，ベキン種アヒル 10 個体*，ナキアヒル 2 個体*，バリケン 4 個体*およびハト 1 個体の卵より卵白を採取し，それぞれ -20°C に冷凍保存した。なお，*印のものは前報³⁾と同じ卵より卵白を採取したものである。電気泳動は Weber と Osborn による SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動法^{8,9)}を若干変更して行った。

ゲル作成には 0.3 M リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 7.0) を用いた。アクリルアミド液は，10% ゲル作成用として，アクリルアミド 22.2 g とメチレンビスアクリルアミド 0.6 g を水に溶かして 100 ml とした。7.5% ゲル作成用としては，アクリルアミド 15.9 g を用い，同様にしてアクリルアミド液を作成した。ゲル用緩衝

液 20.25 ml，アクリルアミド液 20.25 ml，TEMED 0.0675 ml を脱気しながら 2 分間攪拌混合し，さらに過硫酸アンモニウム (15 mg/ml) 2.25 ml 加えて攪拌した後，直径 0.5 cm のゲル管に 6 cm の長さに注入してゲル化させ，7.5% および 10% ゲルを作成した。

各種鳥卵より採取し冷凍しておいた卵白は，解凍した後，水で 20 倍に希釈した。20 倍希釈卵白試料 1 容と，2-メルカプトエタノール 1.33 ml，13.1% SDS-リン酸緩衝液 1.64 ml，グリセリン 0.83 ml，0.4% ブロムフェノールブルー (tracking dye) 0.3 ml を混合したものの 1 容を混合し， 100°C で 10 分加熱処理した後 1 昼夜室温に放置したものを泳動用試料とした。泳動用試料は各種，各品種の各個体ごとに作成し，10% ゲルを用いて泳動した。また，白色レグホーン種ニワトリ卵白およびカーキキャンベル種アヒル卵白を 1 個ずつえらび，両者を 1:0，7:3，5:5，3:7，0:1 に混合したものを用いて，7.5% と 10% ゲルで泳動した。

電気泳動にはゲルカラム 1 本あたりタンパク質約 0.075 mg を含む 30 μl の泳動用試料を用いた。通電は，ゲルカラム 1 本あたり 8 mA の定電流で約 3 時間行なった。泳動後ゲルをガラス管より取り出し，コーマシーブリリアントブルー (CBBR-250) で染色後，メタノール酢酸水溶液で弁色した。各ゲルに分離された泳動帯について移動距離を測定し，tracking dye の移動距離に対する相対移動度を算出し，分子量を推定した。分子量推定のための標品としては，分子量測定マーカー L (分子量 14,300~71,500，BDH Chemicals Ltd., England) を用いた。また，染色した 10% ゲルについて，デンスitomーター (オズマー 82-D) によって各泳動域のタンパク質の相対量を比較した。

成 績

白色レグホーン種ニワトリ卵白とカーキキャンベル種アヒル卵白を混合して行った SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動像を図 1 に示した。ニワトリ卵白とアヒ

ル卵白はいずれも No. 1 から No. 14 の泳動域の分離が認められた。これら泳動域のタンパク質の推定分子量は, No. 1 約 13×10^3 , No. 2 約 $14 \sim 15 \times 10^3$, No. 3 約 16×10^3 , No. 4 約 $21 \sim 22 \times 10^3$, No. 5 約 $25 \sim 26 \times 10^3$, No. 6 約 $27 \sim 30 \times 10^3$, No. 7 約 $31 \sim 35 \times 10^3$, No. 8 約 $36 \sim 43 \times 10^3$, No. 9 約 46×10^3 , No. 10 約 53×10^3 , No. 11 約 60×10^3 , No. 12 約 $70 \sim 75 \times 10^3$, No. 13 約 150×10^3 , No. 14 は 150×10^3 以上であった。このうち No. 2, No. 8, No. 12 は従来の文献^{4,6,10)}により, それぞれリゾチーム, オボアルブミンおよびオボ

トランスフェリンであると同定された。このうち 7.5% ゲルに分離された No. 2 のリゾチームの泳動帯において, アヒル卵白のものよりニワトリ卵白のものの易動度はやや高かった。No. 2 を除く他の泳動帯において, アヒルとニワトリの間に染色濃度に差が認められたが, 易動度に差は認められなかった。

図 2 に白色レグホーン種, ロードアイランドレッド種および東天紅種ニワトリそれぞれ 1 個体ずつ, ウズラ 1 個体, キンケイ 2 個体, ハッカシ 1 個体, ナキアヒル種, ペキン種およびカーキキャンベル種アヒルそれぞれ

図 1. ニワトリ および アヒル卵白の SDS 電気泳動像. I 白色レグホーン種ニワトリ卵白, V カーキキャンベル種アヒル卵白, II, III および IV は I と V の卵白をそれぞれ 7:3, 1:1 および 3:7 に混合したもの。

Fig. 1. SDS gels of White Leghorn chicken and Khaki Campbell duck egg white. I: Chicken egg white, II, III and IV: mixture of chicken and duck egg white by 7:3, 1:1 and 3:7, respectively, and V: duck egg white.

図 2. 10% ゲルによる卵白の SDS 電気泳動像. 1. 白色レグホーン種ニワトリ, 2. ロードアイランドレッド種ニワトリ, 3. 東天紅種ニワトリ, 4. ウズラ, 5~6. キンケイ, 7. ハッカシ, 8. ナキアヒル, 9. ペキンアヒル, 10. カーキキャンベル種アヒル, 11. バリケン, 12: ハト。

Fig. 2. SDS gels (10% acrylamide) of egg white of 1: White Leghorn chicken, 2: Rhode Island Red chicken, 3: Totenko chicken, 4: quail, 5 and 6: Golden pheasants, 7: Silber pheasant, 8: Naki duck, 9: Pekin duck, 10: Khaki Campbell duck, 11: Muscovy duck and 12: Pigeon.

1 個体ずつ、バリケン 1 個体、ハト 1 個体の 10% ゲルの泳動像を示した。またニワトリ、ウズラ、キンケイ、ハッカン、アヒル、バリケン、ハトの 10% ゲルのデンシトメトリーを図 3 および図 4 に示した。ニワトリ卵白において、分離された 14 泳動域のうち、No. 7 においてのみ細い泳動帯が 1~3 本のものがあり、個体差が認められた。しかし他のすべての泳動域には品種差や個体差は認められなかった。ニワトリ卵白の泳動域で最も染色の濃かったのは No. 8 と No. 12 であり、そのつぎに濃いのは No. 2 であった。No. 7 と 14 は細いが染色がやや濃く、はっきりした泳動像を示した。No. 9

も染色がやや濃かったが、No. 3~5 と No. 13 はかなり薄かった。デンシトメータによる測定の結果、各泳動域のタンパク質の比率は、No. 8~No. 11 域約 65%，No. 4~7 域約 21%，No. 2~3 域約 7%，No. 12~13 域約 7% であった。ウズラ卵白では、No. 8 から No. 12 域の泳動帯の染色がニワトリ卵白とよく似ていた。No. 6 は染色がかなり薄い、ニワトリ卵白と比べると染色がやや濃かった。No. 2 と No. 7 の染色はかなり薄かった。デンシトメータ測定の結果、ウズラ卵白の No. 8~11 域は約 66%，No. 12~13 は約 9% でニワトリ卵白に近かったが、No. 4~7 域は 24% でニワトリ卵白

図 3. キジ目の卵白の 10% ゲルのデンシトメトリー

Fig. 3. Densitometric traces of SDS gels of egg white of Galliformes birds.

図 4. ガンカモ目およびハト目の 10% ゲルのデンシトメトリー

Fig. 4. Densitometric traces of SDS gels of egg white of Anseriformes and Columbiformes birds.

よりやや多く、No. 2~3 は約 0.5% でかなり少なかった。キンケイ卵白の泳動像はニワトリとかなりよく似ており、7 域の泳動帯にもニワトリ卵白と同じような変異がみられた。キンケイ卵白の各泳動域に分離されたタンパク質の比率は、No. 2~3 は約 4% でニワトリ卵白より少なかったが、No. 12~13 は約 10% でやや多く、No. 8~11 約 65%，No. 4~7 約 21% であった。ハッカン卵白の泳動像は、キンケイ卵白の泳動像とかなり異なっており、各泳動域に分離されたタンパク質の比率は No. 1 約 9%，No. 2~3 約 16%，No. 4~7 約 22%，No. 8~11 約 45%，No. 12~13 約 8% であった。

アヒル卵白の泳動像はニワトリ卵白とかなり異なっ

ており、No. 4~6, No. 9~11, No. 14 の染色がニワトリ卵白にくらべてかなり濃かった。No. 12 の染色は濃い、ニワトリ卵白のものに比べて細く、No. 2 はニワトリ卵白のものより染色が薄かった。No. 7 にはニワトリと同じように個体差が認められた。アヒル卵白の各泳動域に分離されたタンパク質の比率は、No. 1 は 0%，No. 2~3 約 2%，No. 4~7 約 32%，No. 8~11 約 48%，No. 12~13 約 5%，No. 14 約 11% であった。バリケン卵白の泳動像はアヒル卵白とやや異なっており、各泳動域のタンパク質の比率は、No. 1 は 0%，No. 2~3 約 7%，No. 4~7 約 28%，No. 8~11 約 48%，No. 12~13 約 12%，No. 14 約 5% であった。ハト卵白は、ニワトリ、アヒル卵白の No. 8 域に相当

すると思われる最も巾も広く染色の濃い泳動帯の易動度がやや小さく、その推定分子量は $48 \sim 50 \times 10^3$ であった。また No. 12 域にやや染色の濃い 2 本の泳動帯が認められた。No. 7 の泳動帯もやや染色が濃かったが、No. 1~6 の染色はかなり薄く、No. 2 の泳動帯は検出されなかった。

考 察

本実験において、キジ目のニワトリ 3 品種、ハッカ、キンケイ、ウズラ、ガンカモ目のアヒル 3 品種、バリケン、ハト目のハトについて、SDS ポリアクリルアミド電気泳動法を用いて、10% ゲルに分離された卵白タンパク質の泳動像を比較した。その結果、ニワトリおよびアヒルにおいて、各泳動域の染色の程度において、それぞれの品種間にほとんど差のないことが示されたが、属間には差が認められた。さらに異なる目の間では、同一目内属間よりも泳動像の差が大きかった。とくに 10% ゲルに分離された泳動域の易動度には、キジ目とガンカモ目のものに差は認められなかったが、ハト目における易動度は、差がみられ、キジ目、ガンカモ目のものに比べて易動度が小さかった。鳥類の卵白タンパク質については、SIBLEY (1960)¹¹⁾ による濾紙電気泳動を用いた比較研究があるが、本実験の成績はこれとかなりよく一致している。

本実験で 14 の泳動域に分離された卵白タンパク質のうち、No. 2~3 域に分離されたリゾチームを主体とするタンパク質の比率は、キジ目では、ニワトリはウズラの約 10 倍、キンケイの約 1.7 倍であったが、ハッカはニワトリの約 2 倍であった。またガンカモ目では、アヒルはニワトリの約 1/3、バリケン、ハト目ではリゾチームは検出されなかった。No. 12~13 域のトランスフェリンを主体とするタンパク質の比率は、ガンカモ目とハト目のものがキジ目のものに比べて小さかった。これらの成績は FEENEY & ALLISON⁴⁾ によって示されたものとかなりよく一致した。

No. 2, No. 12 域以外の泳動域では、ガンカモ目のものの No. 4~6, No. 9, No. 14 域の染色が、キジ目、ハト目のものより濃いことが認められた。またハト目において No. 8~No. 10 の泳動域のタンパク質の比率が、キジ目、ガンカモ目より高いことが認められた。これらの泳動域に分離されたタンパク質は、本実験における推定分子量と ROBINSON (1972)⁵⁾ の総説で示された分子量から、No. 1 はアビジン、No. 7 はフラボプロティン、No. 8 はオボアルブミン、No. 9 はオボインヒビターではないかと推定される。No. 4 と No. 5 は、オボグリ

コプロテインまたはオボムコイドのいずれかである可能性がある。オボムチンについては、ニワトリ卵白のゲル構造とその水様化の機構に関連して近年かなり徹底した研究が行なわれた^{7,12,13)}。それによるとオボムチンには、 α オボムチンと β オボムチンがあり、このうち α オボムチンの分子量は 210×10^3 でその単位ポリペプチド鎖の分子量は 145×10^3 であると報告されている⁷⁾。また β オボムチンの分子量は 720×10^3 で、112,300 のサブユニットからなると報告された¹⁴⁾。本実験で分離された泳動域でオボムチンのものである可能性のあるものは No. 14, No. 13 であると思われる。これらの泳動域の染色は、ガンカモ目のものの方がキジ目のものよりもかなり濃かった。このことは、25°C で 100 日保存したカーキキャンベル種アヒル卵白において濃厚卵白が存在し、ニワトリ卵白に比べて濃厚卵白の消失がかなり遅いという著者らの前報¹⁾の成績とも関連があるのではないかと考えられる。

要 約

SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動法によってキジ目のニワトリ (白色レグホーン、ロードアイランドレッド、東天紅の 3 品種)、ウズラ、キンケイおよびハッカ、ガンカモ目のアヒル (カーキキャンベル、ペキン、ナキアヒルの 3 品種) およびバリケン、ハト目のハトの卵白タンパク質は、10% ゲル内で 14 の泳動域に分離された。キジ目、ガンカモ目において、各泳動域の泳動帯の易動度はほとんど同じであったが、泳動帯の染色の程度には異なる目の間に差が認められた。No. 4~6, No. 9, No. 14 の泳動帯の染色がキジ目のものに比べてガンカモ目のものの方がかなり濃かった。ハト目では No. 1~6, No. 13~14 の染色がかなり薄く、染色の濃い No. 7~12 の易動度が他の 2 つの目より小さかった。キジ目では属間においても泳動像に差がみられ、リゾチーム (No. 2) の染色がハッカが最も濃く、次いでニワトリ、キンケイの順で薄くなり、ウズラは最も薄かった。ガンカモ目でも属間に差がみられ、リゾチーム (No. 2) とオボトランスフェリン (No. 12) の染色が、アヒルではいずれもニワトリより薄かったが、バリケンではニワトリと同じくらいであった。泳動像の属間の差は日間の差より小さく、品種間には差は認められなかった。

文 献

- 1) 田名部 尚子・小川 宣子: 家禽会誌, **15**, 18, 1978.
- 2) 田名部 尚子・小川 宣子: 家禽会誌, **16**, 329, 1979.
- 3) 田名部 尚子・小川 宣子: 家禽会誌, **16**, 337, 1979.
- 4) FEENEY, R. E. & R. G. ALLISON: Evolutionary Biochemistry of Proteins. pp 58-91, John

- Wiley & Sons, New York, 1969.
- 5) ROBINSON, D.S.: Egg Formation and Production, Ed. by B.M. FREEMAN & P.E. LAKE, pp 65-86, Brit. Poultry Sci. Ltd., Edinburgh, 1972.
 - 6) BOARD R.G. & D.J. HORNSEY: Chemical Zoology, Ed. by M. FLORKIN & B. T. SCHERR, vol X, pp 61-74, Academic Press, 1978.
 - 7) ROBINSON, D.S. & J.B. MONSEY: Biochem. J. **121**, 537, 1971.
 - 8) WEBER, K. & M. OSBORN: J. Biol. Chem. **244**, 4406, 1969.
 - 9) 中埜栄三: 最新電気泳動法, 青木幸一郎・永井裕編, p 406, 広川書店, 1978.
 - 10) JOLLÈS, J.F., F. SCHOENTGEN, P. JOLLÈS, E.M. PRAGER, & A.C. WILSON: J. Mol. Evol., **55**, 165, 1976.
 - 11) SIBLEY, C.G.: Ibis, **102**, 215, 1960.
 - 12) KATO, A. & Y. SATO: Agr. Biol. Chem. **36**, 831, 1972.
 - 13) 佐藤 泰: 家禽会誌 **12**, 167, 1975.
 - 14) ROBINSON, D.S. & J.B. MONSEY: Biochem. J. **147**, 55, 1975.

Comparative Studies on Physical and Chemical Property of Avian Eggs.

3. SDS-polyacrylamide Gel Disc Electrophoretograms of Egg White of the Chicken (*Gallus domesticus*), Quail (*Coturnix coturnix japonica*), Golden Pheasant (*Chrysolophus pictus*), Silver Pheasant (*Gennaeus nycthemerus*), Duck (*Anas platyrhynchos domestica*), Muscovy Duck (*Cairina moschata*) and Pigeon (*Columba livia*).

Hisako TANABE and Noriko OGAWA

Department of Human Nutrition and Food Science, Gifu Women's College,
Taromaru, Gifu 501-25

SDS-polyacrylamide gel electrophoretograms of egg white of the chicken (White Leghorn, Rhode Island Red and Totenko-a Japanese native breed), quail, golden pheasant, silver pheasant, duck (Khaki Campbell, Pekin and Naki- a Japanese native breed), muscovy duck and pigeon were compared.

The egg white proteins were separated into 14 bands (Nos 1-14) in 10% gels. The mobility of the same protein bands in 10% gels were almost same among the species used except pigeon. The density of the band Nos 4, 5, 6, 9, and 14 was higher in Anseriformes species than in Galliformes species. In Columbiformes (pigeon), the bands Nos 1-6 were faint and Nos 7-12 were dense and the mobility of the bands was slower than those of Galliformes and Anseriformes species.

In Galliformes species, the density of lysozyme band (No. 2) was the highest in the silver pheasant, the second highest in the chicken, the third highest in the golden pheasant and faint in the quail. In Anseriformes species, the density of lysozyme (No. 2) and ovotransferrin (No. 12) of the muscovy duck was higher than those of the duck.

(Japan. Poultry Sci., **17**, 74~79, 1979)