種豚精漿蛋白の各種電気泳動法による泳動像について

吉田治弘・池本卯典*

(自治医科大学法医学教室*東京農業大学総合研究所)

Fig. 1. Electrophoresis of boar seminal plasma on Disc-polyacrylamide gel.

ヒト精液の遺伝標識としては ABO, Rh, Tja, Lewis 抗原, HLA 抗原, α_1 -Antitrypsin, Amylase, Phosphoglucomutase, Phosphoglucose isomerase, Adenylate kinase, Esterase D, Glucose-6-phosphate dehydrogenase などがすでに検出されている¹⁻³⁾。動物精液の遺伝標識について, SARTORE ら⁴⁾はウシ精子溶解液を Polyacryl amide gel を支持体として泳動し蛋白染色を施して約 30 本のバンドを検出し, 個体間差異を見

い出している。また, DOSTAL⁵⁾, 大石⁶⁾らは, ブタ精漿を酸性澱粉ゲルを支持体とした電気泳動法により約 19 本のバンドを染別して, 5 泳動域に区分し (I~V 域), I 域のバンドについては出現の有無, II, III 域については染色濃度によって個体識別を試みている。

著者らは, ブタ精漿を Disc-polyacrylamide gel electrophoresis, Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis および Horizontal-polyacrylamide gel electrophoresis などによって泳動したところ, その泳動像に変異を見出したので報告する。

材料および方法

ブタ精液は, 栃木県内の種豚場に飼育されているハンブシャー種 3 頭, ラージホワイト種 3 頭, デュロック種 2 頭, ランドレース種 2 頭, 計 10 頭の精液を分与して

Electrophoretic analysis of seminal plasma of boars.

YOSHIDA, Haruhiro, Shigenori IKEMOTO* (Department of Legal Medicine Jichi Medical School, Minamikawachi-machi, Tochigi 329-04, *Nodai Research Institute, Tokyo University of Agriculture, Setagaya, Tokyo 156)

Japan. J. Anim. Reprod., 27 (3・4), 1981.

Fig. 2. Electrophoresis of boar seminal plasma on SDS-disc-polyacrylamide gel.

もらい、3000 rpm (4°C) 20 分間遠沈して精漿と精子を分離し実験に供した。

Disc-polyacrylamide gel electrophoresis (Disc-PAGE) は ORSTEIN & DAVIS の方法^{7,8)}に従った。

Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) は、WEBER & OSBONE の方法⁹⁾に従った。

Horizontal-polyacrylamide gel electrophoresis (Horizontal-PAGE) は、荻田らの方法¹⁰⁾に従った。

結 果

1. Disc-PAGE による泳動像

図1に示すように、2例 (No. 3, 4) の精漿は Preal-

Fig. 3. Electrophoresis of boar seminal plasma and human seminal plasma on horizontal polyacrylamide gel.

bumin (Prealb.), Albumin (Alb.), Postalbumin (Postalb.) と推定される蛋白を認めた。しかし、他の8例 (No. 1, 2, 5~10) にはそれを認めなかった。また、これら8例の精漿すべてに認められる原点から3目目のバンドは前述の2例 (No. 3, 4) には認められなかった。

2. SDS-PAGE による泳動像

図2に、前記8例の代表として試料2, 6の泳動像を、また前記2例の代表として試料4の泳動像を、低分子量 (LMW) および高分子量 (HMW) のマーカータンパク質 (Kit) をそれらと併列して示した。図から明らかなように、No. 2, 6 には原点付近に1本のバンドを認めたが、No. 4 では認められなかった。通常、精漿の SDS-PAGE では前述の原点に最も近いバンド以外に、分子量 22 万付近に1本、分子量 10 万付近に淡く3本、分子量 67,000, 60,000 付近に各1本宛、20,000~10,000 に分離不明瞭な 2~3 本のバンドを認めた。

3. Horizontal-PAGE による泳動像

図3に示すように、ヒト精漿には Alb. Postalb. α_2 -globulin, Transferrin (Tf), γ -globulin と推定される

Fig 4. Electrophoresis of boar seminal plasma on horizontal polyacrylamide gel.

蛋白が認められ、ブタ精漿（試料 2, 8 を供試）には、Alb 領域と原点付近に 5~6 本のバンドを認めた。そこで泳動時間を延長し、原点付近を拡大して観察したところ、図 4 に示すように、原点から陽極側へ向かって最も多いもので 5 本のバンドを認めた。原点に最も近いバンドは、No. 3, 4 は欠落ないし、極めて微量であり、他の 8 例にはすべて認められた。3 番目のバンドは No. 2, 4 番目のバンドは No. 2, 6, 9 にそれぞれ認められた。また、5 番目のバンドは No. 1, 2, 5~10 にいずれも認められた。

考 察

ブタの精漿について、Disc-PAGE, SDS-PAGE, Horizontal-PAGE などによる泳動像を比較検討したと

ころ、No. 3, 4 の精漿と No. 1, 2, 5~10 の精漿には際だった相違を認めた。すなわち、No. 1, 2, 5~10 の 8 例は Alb. Postalb. 領域の蛋白はほとんど染色されないにもかかわらず、No. 3, 4 の 2 例は濃染された。しかもこの 2 例の精漿は、Disc-PAGE では原点から 3 本目のバンドを、SDS-PAGE においては原点に最も近いバンドの欠落を認めた。

種豚精液の精漿に、このような泳動像の相違を認めることは極めて興味ある現象といえるのではなかろうか、この泳動像は、支持体ゲルの pH が 7.2 (SDS-PAGE), 8.8 (Horizontal-PAGE), 8.9 (Disc-PAGE) の 3 種であり、いずれも中性ないし弱アルカリ性である。DOSTAL⁵⁾、大石⁶⁾らの泳動法に用いられた pH はいずれも 1.7 で強酸性である。従って、得られた泳動像を著者の泳動像と直接比較して、その異同を論ずることは、電気泳動法の原理に照らして妥当とは言えないと考える。

著者らは、ヒト精漿について分離能の優れている方法で検査し若干の知見を報告した¹⁾。さらに、その方法を用いて精漿の比較生物学的検討を試みたものである。その成績は、前述のように、精漿の泳動像には動物種による変異を推定せしめるものがあり、なお実験を重ねたいと考えている。

要 約

種豚 10 頭の精漿を Disc-PAGE, SDS-PAGE, Horizontal-PAGE により泳動し、その泳動像を比較した。Disc-PAGE では、約 7~8 本のバンドを認める。しかし、2 例 (No. 3, 4) には原点から 3 本目のバンドの欠落を認めた。SDS-PAGE では、通常 8~9 本のバンドを認めた。しかし、2 例 (No. 3, 4) は原点に最も近いバンドを欠いていた。Horizontal-PAGE では、原点付近に約 4~5 本のバンドを認め、原点に最も近いバンドは 2 例 (No. 3, 4) には欠落していた。

種豚精漿蛋白にこのような電気泳動の変異を認めることは興味深く、これらの遺伝的変異性ならびに繁殖生理上の意義などについては、今後検討したいと考えている。

本研究を支援して頂いた東京農業大学鈴木正三教授、東京農業大学総合研究所 杉二郎教授に感謝する。

(1981. 3. 11 受付)

文 献

- 1) BLAKE, E. T. & G. F. SENSABAUGH: *J. Forensic*

- Sci.*, **21**, 784, 1976.
- 2) SENSABAUGH, G. H.: *J. Forensic Sci.*, **23**, 106, 1978.
 - 3) SCHWERD, W. & H. D. FEHRER: *Z. Rechtsmed.*, **83**, 129, 1979.
 - 4) SARTORE, G., C. FACELLO & F. CRISTOFORI,: *Proc. of XVI th Int. Conf. Anim. Blood Groups and Biochemical Polymorphism II.* p. 176, Leningrad, 1979.
 - 5) DOSTAL, J.: *Immunogenet. Lett.*, **5**, 117, 1968.
 - 6) 大石(孝): 畜試年報, **29**, 37, 1973.
 - 7) ORNSTEIN, L.: *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **121**, 321, 1964.
 - 8) DAVIS, B. J.: *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **121**, 404, 1964.
 - 9) WEBER, K. & M. OSBORNE: *J. Biol. Chem.*, **244**, 4406, 1969.
 - 10) 荻田(善)・佐古山(豈)・千葉(泰)・益沢(学): 生物物理化学, **17**, 15, 1973.
 - 11) 吉田(治)・日野原(博)・池本(卯): 生物物理化学, **24**, 53, 1980.

Summary

Electrophoretic analysis on seminal plasma from 10 boars of 4 breeds was carried out in this study.

Test samples were separated into 7-8 protein bands by disc-polyacrylamide gel electrophoresis. In two samples which were stained intensely on albumin and postalbumin bands, the 3rd band which was close to original point was lacking. The same samples of seminal plasma were also analysed SDS-polyacrylamide gel electrophoresis or horizontal polyacrylamide gel electrophoresis, and resolved into 8-9 protein bands. Again in the two samples one band which located close to the original point was lacking.