分娩前乳、初乳及び犢血清蛋白質の電気泳動的觀察

II. 出産後の犢血清蛋白質の変化 特にその初乳血清蛋白質との関連について

東京大学農学部

葉 緑 孫
山 内 邦 男

Electrophoretic Observation on Proteins of Parturition Milk, Colostrum and Calf's Blood Serum

II. Change of Blood Serum Proteins of Calf after Birth; —Especially on its Relationship to Colostrum Whey Proteins

R. Yoh and K. Yamauchi

(Faculty of Agriculture, Tokyo University)

Electrophoretic observation was carried out on blood sera of three calves. Sera of new born calves contained no γ -globulin. It appeared after ingestion of colostrum, but its content was very low for two Holstein calves, it may be, as their initial suckling of colostrum was too late after birth (one day after birth). The serum of another calf (Guernsey) which received colostrum within 10 hours after birth contained it considerably.

This globulin which appeared in the serum of calf during ingestion period of colostrum fairly agreed with colostrum globulin electrophoretically. The slowest moving component, which is present in cow's serum, was apparently appreciable in the serum of calf after three months of birth, but it was still less than that of cow's serum. This component is probably no related to ingestion of colostrum.

Als in new born goat's serum, no γ -globulin was found. But appearance of this component was not successfully found within several hours after initial suckling.

緒 言

ラクトグロブリンが多量に存在するのが初乳の一特徴といわれている。前報のごとく¹⁾ 分娩前に分泌される乳汁にもこのグロブリン (以下 colostrum globulin と呼ぶ) が多量に存在することが乳清の電気泳動的觀察により認められる。この成分は母牛の血液から乳房を経て直接移行するものと想像されているが、Askonas 等²⁾ の S^{35} -メチオニンを用いた山羊による実験からもこのことは裏付けられる。この蛋白が仔畜の生理に何らかの意義を有するものか、或いは泌乳開始期の偶然的生産物に過ぎないかは興味ある問題であるが、古く Howe³⁾ は初乳を飲むことによって犢血清中に新しい蛋白が出現する事

実を認め、Smith 等⁴⁾ も犢に対する初乳の意義を主張した。仔畜に初乳を飲ませることがその死亡率を減少させることが統計的な研究からも知られている^{5,6)}。

一方生れた直後の犢の血清中には γ -グロブリンが殆んど存在しないが初乳給与中に γ -グロブリン様の蛋白が著しく増加することが電気泳動的にも確認されるようになった^{7~11)}。犢の血清に新しく出現するこのグロブリン成分については種々の論議がなされているが、Smith⁹⁾ によればこれは電気泳動的には γ -グロブリンとは一致せず、colostrum globulin と一致するといわれている。以上のごとく初乳のグロブリンが直接犢の血清に移行するかどうかは未だ確実に断言はできないが、犢血清蛋白が初乳給与期間中に著しく変化して易動度の遅いグロブリン

ン成分が出現することは明らかと思われる。しかしこれらの点に関して本邦では研究が極めて乏しいので、未だ小数例ではあるが今迄得た結果を初乳乳清蛋白質と関連して報告する次第である。

実験材料ならびに方法

用いた家畜に関する詳細はつぎのごとくである。

No. 1. 牛, Holstein 種, 農業技術研究所畜産部所有。11 月分娩, 犢の血清を分娩直後, 4 日後, 9 日後および 3 カ月後 4 回に亘って採血。出産後最初の哺乳まで 24 時間以上経過している。

No. 2. 牛, Holstein 種, 東大農学部附属農場所有。6 月分娩, 分娩直後母牛および犢より採血, この際初乳も採取, 最初の初乳給与後 24 時間 (出産後約 48 時間) して犢より再び採血。この間初乳給与量は約 4.5 kg。

No. 3. 牛 Guernsey 種, 神奈川県高座郡ガンジー牧場所有, 9 月分娩, 分娩直後の採血は行い得ず。初乳給与後約 13 時間 (分娩後約 23 時間) に採血。この際初乳も採取。

Fig. 1 犢血清蛋白質の電気泳動図

a. No. 1 (Holstein)

1. 犢血清出産直後 (初乳給与前)
2. " 出産後 4 日
3. " " 9 日
4. " " 3 カ月
5. 2 の血清に初乳の $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.4 飽和沈澱蛋白質を 30% となるように添加。

No. 4. 山羊 Saanen 種, 農林省関東東山農試所有。5 月 2 頭の仔山羊分娩。1 頭は全く哺乳せしめず約 7 時間後に採血, 他の 1 頭は哺乳後約 5 時間後 (出産後約 7 時間) に採血し夫々出産直後の血清と比較。

これらの家畜の採血は凡て注射針を用い頸静脈より行った。電気泳動分析は前報と同様に行った。血清総蛋白質量は日立蛋白計を以て測定し, 各成分の百分率は分離の明瞭な上昇側の写真を引伸し各峰の面積比を重量法で算出して求めた。

実験結果ならびに考察

出産直後および哺乳後の犢の血清蛋白泳動図は Fig. 1 a~c に示す。母牛血清または初乳乳清も供試したものは比較のため図示した。

b. No. 2 (Holstein)

1. 母牛血清 分娩直後
2. 犢血清 出産直後 (初乳給与前)
3. " 出産後 2 日 (初乳給与後約 24 時間)
4. 母牛初乳乳清

c. No. 3 (Guernsey)

1. 犢血清 出産後 23 時間 (初乳給与後 13 時間)
2. 母牛初乳乳清

0.1 N 磷酸緩衝液 pH 8.0

- a. 1~5; 11 mA, 85 分
- b. 1~4; 12 mA, 80 分
- c. 1; 12 mA, 100 分
- c. 2; 12 mA, 70 分

初乳給与前の犢の血清には易動度の遅いγ-グロブリン様蛋白が欠損しており, 母牛血清とは明らかに異なる (Fig.

1-b, 1, 2). これが初乳給与後に出現するごとくであるが, No. 3 Guernsey 種の例を除いてはその出現量は僅かであり, 文献に認められるごとく明瞭ではなかった. 而して Hansen 等⁷⁾によれば, 出産直後の犢に初乳を飲ませると犢血清に γ -グロブリンが多量出現するが, 24 時間以上経過した犢では初乳給与の影響が現れ難くなるという. これはおそらく出産後日時の経過と共に犢の消化器の機能が変化するためと思われる. 供試した 3 例については No. 1, No. 2 は共に出産後 1 日経過した後始めて初乳を与えているが, No. 3 の牧場では出産後可及的早く初乳を多量に飲ませるのを方針としているので, No. 1, No. 2 との差は種属差または個体差の他に初乳給与期の差も大きな原因となったものと考えられる. しかしこれは更に多数の例から統計的に検討しないと如何ともいい難い現状である. また初乳給与期間における犢血清蛋白質の変化が colostrum globulin の直接的な移行

によるといわれているが, これも多数例について対照との比較研究を行わねば確言はできないようである. 唯 Hansen 等⁷⁾は精成した colostrum globulin を犢に給与して明らかに犢血清の γ -グロブリンが増加する事実を認めている. また出産後新たに出てくるこの γ -グロブリン様蛋白質は電気泳動的にはよく colostrum globulin と一致すると思われる. 著者等が初乳乳清について観察した条件下では colostrum globulin は Polson¹⁰⁾ のいうごとく 2 つの峰 (γ_1 , γ_2) として電気泳動的には識別できなかったが, 母牛血清ではアルブミン, α -および β -グロブリンの外に易動度のおそい 2 種の蛋白が認められた. これらを Polson のごとく γ_1 , γ_2 (Smith⁸⁾ によれば夫々 T 成分および γ -グロブリンとなる) と考えて上の colostrum globulin と比較するとつぎのごとくである. 初乳中の易動度のもっとも早い成分 (V) は同一条件で電気泳動を行うと血清アルブミンと一致する. 乳清に

表 1 牛の乳清, 血清及び犢の血清蛋白質の相対易動度による比較

		Albumin	Globulin				
			α	β_1	β_2	γ_1	γ_2
No. 2 Holstein	母牛血清	100	84	58	45	31	20
	犢血清 (初乳給与前)	100	85	48	38	•	•
	犢血清 (初乳給与後)	100	84	58	50	30	•
	V	IV	IV	III	II	I	—
	初乳乳清	100	82	58	51	31	—
No. 3 Guernsey	犢血清 (初乳給与後)	100	84	60	53	29	—
	V	IV	IV	III	II	I	—
	初乳乳清	100	84	58	—	30	—
	常乳乳清*	100	80	55	—	30	—

* 混合常乳の乳清

表 2 出産後の犢血清蛋白組成の変化

	血清別	採血日	全蛋白 G/dl	各成分相対濃度 (%)				
				Al.	α -Gl.	β -Gl.	γ_1 -Gl.	γ_2 -Gl.
No. 1 Holstein	犢血清	出産直後	4.9	62.1	20.1	17.8	0	0
	"	出産後 4 日	5.4	52.1	22.8	19.2	5.9	0
	"	" 9 日	•	56.3	27.7	8.8	7.2	0
	"	" 3 カ月	7.5	42.0	14.5	9.7	21.0	12.8
No. 1 Holstein	母牛血清	分娩直後	8.2	35.2	13.5	6.0	21.0	24.3
	犢血清	出産直後	6.8	46.8	17.8	35.4	0	0
	"	出産後 2 日	9.0	46.7	16.9	32.8	3.6	0
No. 3 Guernsey	犢血清	出産後 23 時間 (初乳給与後 15 時間)	6.8	34.5	15.7	31.8	18.0	0

は血清アルブミンと同一蛋白と見做されたアルブミンが結晶状にも得られているから¹²⁾, 成分 V を血清アルブミンと同様に 100 として乳清および血清の各峰の相対易動度を算定すると表 1 のごとくなる。即ち colostrum globulin (I) は、犢血清が初乳給与後に最初に現れるグロブリン成分 (γ_1) と実験誤差内でよく一致し、母牛血清の γ_2 とは一致しない。これは硫酸分別により得た colostrum globulin を犢血清に添加した実験からも明らかと思われる (Fig. 1-a, 5) 出産後 3 カ月後の犢血清には γ_2 -グロブリンも認められるようになる (Fig. 1-a, 4)。即ち母牛血清の γ_1 -グロブリン——colostrum globulin——犢血清の γ -グロブリンの間には一連の関係がありそうであるが、少くとも γ_2 -グロブリンは全く犢の出産後の自家生産により出現するものと考えられる。これら各成分の百分率は表 2 のごとくである。

犢と同様出産直後の仔山羊の血清にも γ -グロブリンは全く認められなかった。而して哺乳せしめないものもせしめたものも出産後数時間内には未だ γ -グロブリンの存在は認められなかった (Fig. 2)。但しこの母山羊は分娩前既にかなりの回数搾乳を行ったため、その初乳が正常の初乳とは若干異ったためとも考えられた。

総 括

出産後の犢の血清蛋白質を初乳乳清蛋白質と関連して電気泳動的に観察した。出産直後の犢血清には γ -グロブリンまたはその類似の蛋白質が欠損しているが、初乳給与後数日内に出現する。然しその量は出産後 10 時間して初乳を与えた Guernsey 種 1 例を除いては僅かであり、おそらく Hansen 等のいうごとく、出産後可及的速かに初乳を与えないと犢の血清に著しい影響はないのではないかと考えられる。母牛血清には少くとも 5 コの峰 (Al., α , β , γ_1 , γ_2 -Gl.) が認められ、初乳給与期間に犢血清に出現するグロブリンはこの第 4 の峰 (γ_1) に相当し第 5 の峰に該当するものは見当らない。またこの第 4 の峰は初乳の所謂 colostrum globulin と一致した。出産後 3 カ月経た犢血清には第 5 の峰も認められるようになるが、これは初乳給与による直接の影響ではなく

て犢自体により生産されるのではないかと考えられる。また出産直後の仔山羊血清にも γ -グロブリンが全く存在しないことが確かめられた。

前報および本報を併せ御校閲御指導を戴いた佐々木清綱、佐々木林治郎、内藤元男、津郷友吉の諸先生に厚く謝意を表する。また電気泳動装置は東大生化学教室にて使用させていただいた。とくに種々御便宜を与えられた

Fig. 2 出産直後の仔山羊血清蛋白質の電気泳動図

平井秀松、島尾和男両先生および試料を提供して戴いた東大田無農場浅見教官、農林省関東東山農事試験場吉岡技官に厚く謝意を表する。

文 献

- 1) 葉縁孫・山内邦男; 生物物理化学, 2, 284 (1955)
- 2) B. A. Askonas *et al*; *Biochem. J.*, 56, 597 (1954)
- 3) P. E. Howe; *J. Biol. Chem.*, 49, 93 (1921)
- 4) T. Smith and R. B. Little; *J. Exp. Med.*, 36, 181 (1922)
- 5) E. Jameson *et al*; *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, 51, 163 (1942)
- 6) P. L. Ingram; *Intern. Dairy Congr. Proc.* 13th, 3, 1369 (1953)
- 7) R. G. Hansen and P. H. Phillips; *J. Biol. Chem.*, 171, 223 (1947)
- 8) E. L. Smith; *J. Dairy Sci.*, 31, 127 (1948)
- 9) A. Polson; *Nature*, 152, 413 (1943)
- 10) A. Polson; *Onderstepoort J. of Veterinary Research*, 25, 7 (1952)
- 11) 田中享一・清水武彦; 生物物理化学, 1, 56 (1951)
- 12) D. Polis *et al*; *J. Biol. Chem.*, 187, 349 (1950)