

## 乳製品中のタンパク質ペプチドの プロフィール分析とその品質管理への応用

島 崎 敬 一

家畜生産科学科酪農化学研究室

### 1. 目 的

特に乳製品に限られた事ではないが、タンパク質が主成分である食品中に異種タンパク質を添加して、栄養面での改良あるいは機能特性の改善などを図る製品が最近多く出廻っている。その様な食品中に含まれるタンパク質やペプチド成分を分析する方法を確立する事は困難ではあるが、その食品の栄養的価値を知ったり質的向上を図るために重要である。各種クロマトグラフィーや電気泳動法が、タンパク質やペプチドの分析に用いられているが、本実験では通常の電気泳動法より分離能が優れていると考えられる2次元電気泳動法を用いて、牛乳タンパク質に混合されている異種タンパク質の分析を行った。異種タンパク質として、大豆タンパク質を対象とした。

### 2. 方 法

A) 実験材料：当大学附属農場より得た生乳，市販パック牛乳（当大学附属乳製品工場生産），豆乳（M社製），牛豆乳（N社製，乳飲料）をまず凍結乾燥し，エタノール，アセトン，エーテルの順に洗って脂肪分を除いて分析用試料とした。

B) 2次元電気泳動法：1次元目の泳動は，4%ポリアクリルアミドゲル（含8.5M尿素，2%TX-100，4%アンフォライン（LKB社製））を用いる等電点電気泳動を行った。泳動の終了したゲルをトリスバッファー（pH6.8，0.0625M，含2%SDS，5%2-メルカプトエタノール）で平衡化した後，15%ポリアクリルアミド平板ゲル（含0.2%SDS）にて2次元目の泳動を行った。平板ゲルの大きさは巾90mm，長さ80mmである。泳動用バッファーにはU. K. Laemmliの不連続バッファー系を用いた。泳動終了後，ゲルを各種色素で染色し電気泳動プロフィールを得た。

### 3. 結 果

脱脂乳の2次元電気泳動プロフィールにおいて，各カゼイン成分（ $\alpha_s$ -， $\beta$ -， $k$ -カゼイン）と主なホエータンパク質（ $\alpha$ -ラクトアルブミン， $\beta$ -ラクトグロブリン，血清アルブミン）のスポットが確認された。豆乳の2次元電気泳動プロフィールからは， $\beta$ -コングリシニン（ $\alpha'$ ， $\alpha$ ， $\beta^1$ ， $\beta^2$ ， $\beta^3$ ， $\beta^4$ サブユニット），レクチン，グリシニン，Kunizトリプシンインヒビターおよびその他の数多くのスポットが観察された。各タンパク質スポットの同定には，それぞれのpIと分子量から推定し，さらに可能な限り精製されたタンパク質を標準として泳動プロフィールを得，それと比較した。

ゲルは3種の色素で染色し、各々のプロフィールを比較した。クマシーブリリアントブルーGによる染色では、全てのタンパク質、ペプチドがスポットとして検出された。さらにPAS染色法を行い、糖タンパク質のみを検出した。また、stains-all（イーストマンコダック社制）による染色も各スポットの同定に大いに役立った。この染色法ではタンパク質が赤色に、リンタンパク質と糖タンパク質が青色に染め分けられるからである。

牛乳タンパク質に大豆タンパク質を混合した試料について2次元電気泳動のプロフィールを得たところ、各々の混合比を変える事によりそれらのプロフィールも変化した。両タンパク質のそれぞれに特徴的なパターンあるいはスポットに着目すると、両タンパク質の混合の有無が判別出来た。混合比は最低20%から試みたが、10%程度の混合でも判別は可能であろう。判断の際、全体的なプロフィールの変化と共に、牛乳タンパク質ではカゼインのスポットが、大豆タンパク質では $\beta$ -コングリシニンサブユニットのスポットがマーカースポットとして見えようである。

#### 4. 考 察

各種乳製品に含まれる異種タンパク質の識別を行う方法を確立する事を目標として、まず牛乳タンパク質、大豆タンパク質およびそれらの混合物を2次元電気泳動法にて分析した。泳動後のゲルにタンパク質染色や糖染色などの処理を行う事により、牛乳タンパク質および大豆タンパク質のそれぞれに特有の電気泳動プロフィールが得られた。この方法による異種タンパク質混合の有無の判定は、従来行なわれていた1次元のみの電気泳動法による識別法に較べると、はるかに有効である。異種タンパク質の混合比が低い場合の検出感度の向上と定量化、さらに未知のタンパク質が混入している場合、その同定も本方法を基礎として可能であろう。