

9: ウシ初乳由来odorant-binding proteinの生体内分布

畜産衛生学研究部門 福田 健二

メールアドレス fuku@obihiro.ac.jp

研究の概要

【目的】

ウシ初乳には、匂い分子やフェロモンなどの疎水性低分子化合物の結合および運搬に関与する odorant-binding protein (OBP) が存在する。我々の研究室では、当該タンパク質に対するモノクローナル抗体を作製した。同抗体を用い、ウェスタンブロット法によりウシ初乳由来 OBP の生体内分布を調査する。

【方法】

ウシ(Friesian-Holstein)5頭から、(1)スポイトなどでの吸い取り、(2)布や紙などでの拭き取り、(3)注射器を用いた採血により、体液(涙、鼻粘液、唾液、汗、血液、乳、臍粘液、羊水、尿)を必要量(1~100 ml 程度)採取する。採集した試料から 80%飽和硫酸アンモニウム添加によりタンパク質沈殿画分を回収し、同画分を PBS に再溶解したのち、12.5% SDS-PAGE に供する。泳動後のゲルから PVDF 膜にタンパク質を転写し、ウェスタンブロット法によりウシ初乳由来 OBP を検出する。

【結果】

ウシ初乳、常乳、鼻粘液、血液、臍粘液、羊수에ウシ初乳由来 OBP の存在を確認した。涙、唾液、汗では、同タンパク質は検出限界以下であった。初乳では常乳と比較して約 2 倍程度の発現量を示した。

【考察】

ウェスタンブロット法により種々のウシ体液に OBP の存在を認めた。また、OBP が血液中に存在することを明らかにしたのは、本研究が初めてである。今後、種々の組織における OBP の mRNA 発現を確認するとともに組織免疫染色をおこない、OBP の発現器官を特定することが必要である。

では、ウシ初乳由来 OBP の生理機能とはどのようなものであろうか。Guiraudie-Capraz らは、乳、鼻粘膜および羊수에共通して含まれ、かつ母性フェロモン androstenol を結合する唯一のタンパク質として、ブタ乳中に OBP を見出した (Guiraudie-Capraz et al, Chem Senses 30, 241-251, 2005)。彼らは、乳由来 OBP が新生仔の鼻粘膜組織由来 OBP のカウンターパートとして働く、すなわちフェロモン知覚を介した母体認識に関与する、と推察している。今回の実験で、ウシ初乳由来 OBP が鼻粘液および羊水にも含まれることが明らかとなった。これは Guiraudie-Capraz らの実験結果と一致しており、同タンパク質がフェロモン運搬に関与する可能性が示された。本実験において、興味深いことに臍粘液と血液中にも OBP の発現を認めた。メカニズムは不明ながら、ウシ気道粘膜に存在する OBP が抗炎症性に関与すると示唆されていることから (Mitchell et al, Vet Pathol, in press)、臍粘液中に含まれる OBP も同様の生理機能を示すことが予想される。一方、血液中に OBP が存在するという報告は本研究が初めてであり、その生理機能は全くの未知である。これまでに発表された文献から、OBP は疎水性低分子化合物を結合・運搬する機能を持つことが知られているが、その生理機能は諸説あり、また、同一の OBP 分子が複数の生理機能を示すことも十分に考えられる。ウシ初乳由来 OBP の生理機能を明らかとするには、同タンパク質の天然リガンドの同定など更なる知見が必要である。