



Title	牛乳カゼインの遺伝的変異
Author(s)	三河, 勝彦; MIKAWA, Katsuhiko; 上ヶ島, 裕 他
Citation	北海道大学農学部附属農場報告, 18, 75-80
Issue Date	1972-03-15
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/13325">https://hdl.handle.net/2115/13325</a>
Type	departmental bulletin paper
File Information	18_p75-80.pdf



# 牛乳カゼインの遺伝的変異

三河勝彦・上ヶ島裕\*・安井勉

## I. 緒言

牛乳カゼインの遺伝的変異については、1961年 ASCHAFFENBURG<sup>1)</sup> によって  $\beta$ -カゼインに3種類の変異 A, B, C およびその組合せが発見されて以来、多くの研究者により  $\alpha_{s1}$ -,  $\kappa$ -,  $\gamma$ - および TS- カゼインのそれぞれについても変異が報告されている<sup>2,4,5,7,11,12,13,19,25,26,27)</sup>。

わが国では中西ら<sup>18)</sup> の報告があり、81試料中  $\alpha_{s1}$ -カゼインはすべて B,  $\beta$ - では A が 78/81 を占め、 $\kappa$ -カゼインの場合は A が 53/81, B が 4/81 として AB は 24/81 を占めている。

この検定にはデンブングル電気泳動 (SGE) またはポリアクリルアミド電気泳動が普通用いられるが、ディスク電気泳動が使用される事もある<sup>5)</sup>。

本報は北大附属農場第二畜産部で飼育されているホルスタインのうち16頭と、ゲルンジー2頭、それにブラウンスイス1頭についてカゼインの遺伝的変異を SGE により検定し、あわせて泌乳期の経過に伴うカゼイン成分の増減をも調べた結果である。

## II. 試料および実験方法

### 1. 試料

北大附属農場第二畜産部で飼育している泌乳中の供試牛より 150~200 ml の個乳を採取した。搾乳後、2,000 rpm で 30 分間脱脂を行ない、水で 2 倍に希釈して 0.5 N-HCl で pH を 4.6 に調整した。生ずる沈澱を水で 2 回洗浄した後、もとの量になるよう水にけん濁させ、0.5 N-NaOH で pH を 7.0 に調整した。この溶液を再び pH 4.6 にし、生じた沈澱を水で 2 回洗浄して得られたカゼインは  $-25^{\circ}\text{C}$  で凍結保存した。

泳動パターン標準として用いた Whole-,  $\alpha_{s1}$ -,  $\beta$ - および  $\kappa$ -カゼインは、それぞれ等電点沈澱による常法、THOMPSON & KIDDY の方法<sup>24)</sup>、PAYENS & MARKWIJK の方法<sup>20)</sup> および ZITTLE & CUSTER の方法<sup>31)</sup> によるもので、これらはすべて混合乳より精製し、凍結乾燥して保存中のものを使用した。

遺伝的変異の知られている試料としては、カナダ NRC の Dr. Y. K. KIM\*\* の提供による、エアシヤ種 の Whole- カゼイン ( $\alpha_{s1}$ -B,  $\beta$ -A,  $\kappa$ -A) の凍結乾燥標品<sup>30)</sup> を用いた。

### 2. デンブングル電気泳動 (SGE)

WAKE & BALDWIN の原法<sup>29)</sup> では  $\kappa$ -カゼインの遺伝的変異が検定出来ないので、NEELIN<sup>19)</sup> や SCHMIDT<sup>21)</sup> の方法に準じて  $\kappa$ -カゼインの S-S 結合を還元するために、デンブングルに 2-メルカプトエタノールを加えた。

その組成は 200 ml あたりデンブングル (Connaught Med. Res. Lab., Tronto, Canada) 24.4 g, pH 8.6 のトリスクエン酸緩衝液 20 ml, 尿素 84 g, 2-メルカプトエタノール 0.4 ml それに水 120 ml である。

このゲルを直垂法によって泳動させるためビニールシートをかけて固定し、電極液には飽和 NaCl の代わりに 5% KCl を、ブリッジには濾紙の代わりに 5% KCl を含む寒天ブリッジを用いた。泳動は定電圧電源に接続して 160 V で 21 時間  $2^{\circ}\text{C}$  で行なった。終了後、ゲルを 2 層に切断して上層を除き、下層はアミドブラック 10B を 0.5% 含むメタノール:酢酸:水 = 5:1:5 溶液に 20~30 分間浸して染色し、2~3 時間水洗の後、染色液に用いた同じ溶媒で過剰色素の脱色を行なった。

SGE に用いる試料のうち凍結保存中のものは

\* 現在森永乳業 (株)

\*\* 現在高麗大学校農科大学 (Seoul, KOREA)

室温で解凍し、その0.04 gを秤量してこれに7M-尿素を含むpH 8.6のトリスクエン酸緩衝液を0.8 ml加えてカゼインを溶かした。凍結乾燥して保存中のカゼインは0.01 gを秤量して上と同様に溶かした。カゼインが完全に溶けた後、0.05 gのデンプンを加えてペースト状とし、このうちから約0.1 mlをゲルの試料溝に注入した。

### III. 結果および考察

0.2%の2-メルカプトエタノールを含むデンプ

ンゲル電気泳動(pH 8.6, 7M-尿素)によるWhole- $\alpha_{s1}$ -,  $\beta$ -および $\kappa$ -カゼインの泳動パターンをFig. 1に示した。

この図においてaおよびbは両方ともWhole-カゼインであるが、前者はホルスタインの混合乳、後者は遺伝的変異が $\alpha_{s1}$ -B,  $\beta$ -A,  $\kappa$ -Aと判定済のエアシャーの個乳から調製したカゼインである。試料cは $\alpha_{s1}$ -, dは $\beta$ -それにeは $\kappa$ -カゼインであるが、この3者はいずれもホルスタインの混合乳によるものである。

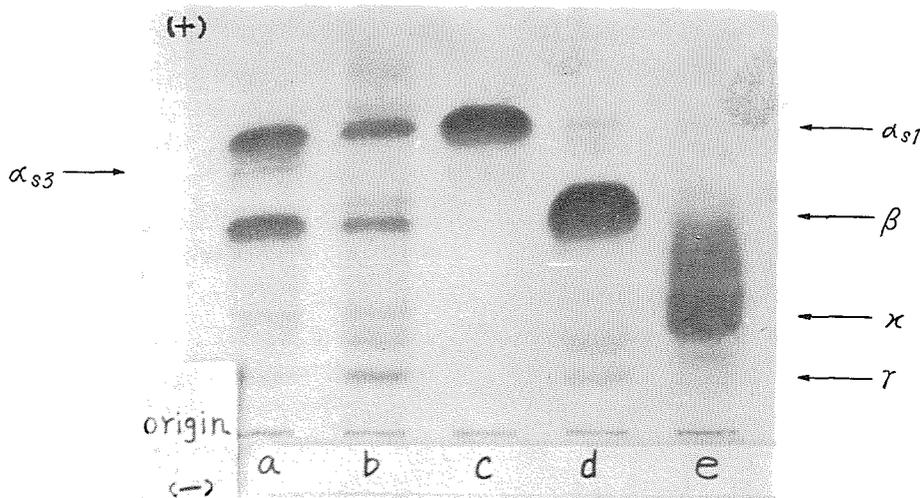


Fig. 1. Standard SGE Patterns of Purified Casein.

- a: whole-casein (pooled milk from Holstein-Friesian)
- b: individual Ayrshire whole-casein ( $\alpha_{s1}$ -B,  $\beta$ -A,  $\kappa$ -A)
- c:  $\alpha_{s1}$ -casein (pooled milk from Holstein-Friesian)
- d:  $\beta$ -casein ( " )
- e:  $\kappa$ -casein ( " )

bに示したエアシャー牛の個乳カゼイン泳動パターンのうち $\alpha_{s3}$ -カゼインを1.00<sup>5,29)</sup>としてその相対易動度を計算すると、 $\alpha_{s1}$ -(1.11),  $\beta$ -(0.78), および $\kappa$ -カゼイン(0.45)となり、現在迄に知られているSGEにおける $\kappa$ -カゼインの相対易動度<sup>22,28)</sup>(Table 1,  $\kappa$ -A:0.60)と比較してエアシャーの $\kappa$ -カゼインの易動度が低い値を示している。

個乳試料のSGEパターンの例はFig. 2に示し、全試料19頭の相対易動度を計算したのがTable 2である。これらのデータのうち $\kappa$ -Aおよび $\kappa$ -Bカゼインに相当する相対易動度は、前述のエアシャ

Table 1. Relative Mobility of Casein Genetic Variants on Staph Gel Electrophoresis (SGE) listed in the Literatures<sup>22,28)</sup>.

Variant	Relative Mobility
$\alpha_{s1}$ -A	1.18
$\alpha_{s1}$ -B	1.10
$\alpha_{s1}$ -C	1.07
(?)	1.04
Reference zone ( $\alpha_{s3}$ )	1.00
(?)	0.86
$\beta$ -A	0.80
$\beta$ -B	0.76
$\beta$ -C	0.70
$\kappa$ -A	0.60
$\kappa$ -B	0.52

一個乳 (Fig. 1) との比較, さらに  $\kappa$ -カゼインの変異が A と B それに両方を含む AB の 3 型しかない事<sup>3)</sup> を考え合わせると, 前者が 0.45~0.48, 後者が 0.37~0.41 の範囲であると結論される。

従って, 本実験条件においてエアシャーの  $\kappa$ -カゼインが 0.45 を示したのもこの範囲に含まれる事になる。中西ら<sup>18)</sup> は仙台近郊のホルスタイン個乳カゼインの遺伝的変異を調べ, 本実験の場合と同様その程度は少ないながら,  $\kappa$ -カゼインの相対易動度が文献値に比べ低い事を認め,  $\kappa$ -A では 0.55,  $\kappa$ -B の場合は 0.49 であった事を報告している。

一方,  $\alpha_{1s}$ -カゼインについてみると, エアシャー個乳  $\alpha_{1s}$ -B カゼインの易動度が 1.11, これに対し

本実験の場合は 1.09~1.12 (Table 2) であり文献値の 1.10 とよく一致していた。また,  $\beta$ -カゼインの場合, エアシャーでは  $\beta$ -A で 0.78, 本実験値の範囲は A 型で 0.79~0.81, B 型で 0.76 であり, 文献値の  $\beta$ -A (0.80) および  $\beta$ -B (0.76) に比べるとエアシャーでやや低い以外は良く一致していた。

以上のように  $\alpha_{1s}$ - や  $\beta$ -カゼインの場合は本実験におけるように実験条件が多少異なってもよく一致した値を示し, もちろん同じ実験条件では異なった実験室で判定を行なっても同じ結果を示す<sup>23)</sup> のに対し,  $\kappa$ -カゼインの場合には相対易動度が同じ値になりにくいという現象についてはさらに検討を要すると思われる。

変異の分布に関しては, 本実験では例数が少な

Table 2. Distribution of Casein Genetic Variants of 19 Cows' Milk from Hokkaido University Herd.

	$\alpha_{1s}$ -Casein		$\beta$ -Casein		$\kappa$ -Casein	
	RM*	Variant	RM	Variant	RM	Variant
H 606**	1.10	B	0.79	A	0.47	A
H 614	1.11	B	0.79	A	0.45	A
H 623	1.11	B	{0.80 0.76}	AB	0.48	A
H 630	1.10	B	0.79	A	0.46	A
H 635	1.10	B	0.79	A	0.47	A
H 642	1.11	B	0.79	A	0.45	A
H 652	1.10	B	0.79	A	0.46	A
H 654	1.12	B	0.81	A	{0.45 0.37}	AB
H 659	1.11	B	0.79	A	{0.45 0.37}	AB
H 660	1.11	B	0.80	A	{0.46 0.39}	AB
H 664	1.12	B	0.80	A	{0.45 0.37}	AB
H 665	1.11	B	0.80	A	0.45	A
H 666	1.11	B	0.80	A	{0.45 0.37}	AB
H 670	1.09	B	0.80	A	{0.45 0.39}	AB
H 671	1.10	B	0.80	A	0.39	B
H 672	1.11	B	0.80	A	{0.45 0.38}	AB
G 296	1.10	B	0.80	A	{0.48 0.41}	AB
G 302	1.10	B	0.81	A	0.48	A
B 15	1.09	B	0.81	A	0.48	A

\* Relative mobility

\*\* H: Holstein-Friesian, G: Guernsey, B: Brown-Swiss

いため一般的な結論は出来ないが、 $\alpha_{s1}$ -では全部がB型であり、 $\beta$ -カゼインは1例(AB型)を除いて全部A型である事が特徴的である。

ASCHAFFENBURGはその乳タンパクの遺伝的変異に関する総説<sup>3)</sup>の中で、 $\alpha_{s1}$ -カゼインにおいてB型の染色体頻度が西洋品種の牛については0.90

を越し、特にエアシャーでは1.00に達する、また $\beta$ -カゼインでは全品種にわたってA型の割合が多い事を述べている。KIDDYら<sup>11)</sup>も $\alpha_{s1}$ -Bの頻度はAB, BCをも含めると調査した1,337頭の牛の97.0%を占める事を報告している。本実験のデータはこの一般的傾向とよく一致した結果を示し、

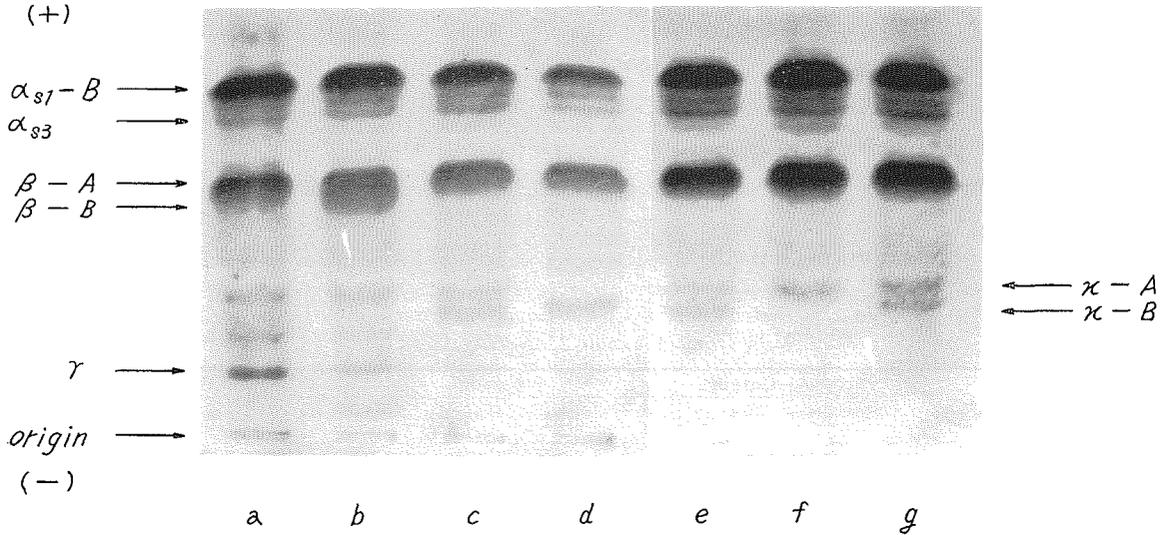


Fig. 2. Some Typical SGE Patterns of Holstein-Friesian Casein.

- a : H 614 ( $\alpha_{s1}$ -B,  $\beta$ -A,  $\kappa$ -A)
- b : H 623 ( $\alpha_{s1}$ -B,  $\beta$ -AB,  $\kappa$ -A)
- c : H 670 ( $\alpha_{s1}$ -B,  $\beta$ -A,  $\kappa$ -AB)
- d : H 671 ( $\alpha_{s1}$ -B,  $\beta$ -A,  $\kappa$ -B)
- e : H 664 ( $\alpha_{s1}$ -B,  $\beta$ -A,  $\kappa$ -AB)
- f : H 665 ( $\alpha_{s1}$ -B,  $\beta$ -A,  $\kappa$ -A)
- g : H 670 ( $\alpha_{s1}$ -B,  $\beta$ -A,  $\kappa$ -AB)

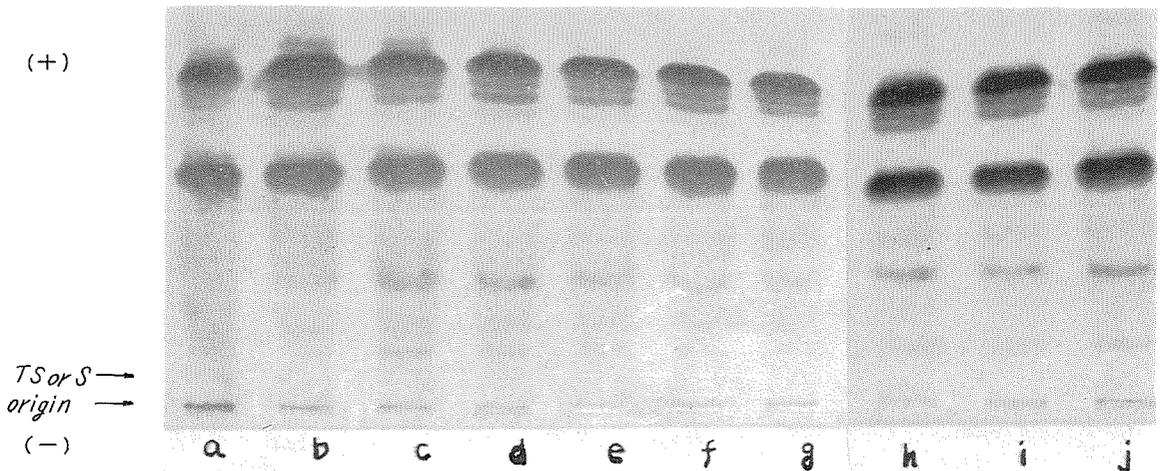


Fig. 3. Difference in Casein Components during Lactation Period.

The whole-casein was prepared from milk, a (one day after parturition), b (2 days), c (3 days), d (5 days), e (7 days), f (10 days), g (20 days), h (one month), i (2 months) and j (3 months).

同時に中西らの報告<sup>18)</sup>とも同じ傾向を示した。

$\kappa$ -カゼインについては、 $\kappa$ -A がホルスタイン 16 頭のうちの 8 頭とゲルンジーおよびブラウンスイス各 1 頭ずつで全体の約半数を占め、AB 型はホルスタインの 7 頭とゲルンジー 1 頭、残りのホルスタイン 1 頭は  $\kappa$ -B であって、A 遺伝子の占める割合が多い事<sup>3)</sup>が本実験においても認められた。

次に泌乳期の経過に伴うカゼイン成分の増減を知るため、1967年9月17日に分娩したホルスタイン牛630号の泌乳期の経過(1, 2, 3, 5, 7, 10 および 20 日目, それに 1, 2 および 3 カ月目)に従ってその個乳から Whole-カゼインを調製し, SGE によってカゼイン成分の分布を調べた (Fig. 3)。

泳動図に変化が認められるのは第 1 日目の試料のみであって、この試料において  $\alpha_{s1}$ - および  $\beta$ - の 2 種の主なカゼインは他のすべての泌乳期におけるカゼインと全く変わらないが、より相対易動度の低い  $\kappa$ -カゼイン以下が不明瞭であり、一方、2 日目以後の試料には殆んど認められない TS-カゼインあるいは S-カゼインのバンド<sup>5)</sup>がはっきりと認められた。

初乳の成分にはカゼイン以外のタンパクが多く、カゼインにおいてもその分布は常乳と異なっている事はよく知られている。KIM ら<sup>14,15)</sup>は DEAE セルロースクロマトグラフィーによるカゼインの分析において、分娩後 6 時間および 42 時間の初乳中の  $\kappa$ -フラクションが常乳のそれに比べて少ない事、さらに DEAE セルロースで最初に溶出してくるフラクションが多いという結果を得ている。

この後者のフラクションは主として  $\gamma$ -, TS-, R- および S-カゼインであるといわれる<sup>5,16,17)</sup>。また上野川ら<sup>9)</sup>は牛乳プロテアーゼをカゼインに作用させると、いわゆる minor components<sup>5)</sup>に相当する画分が得られる事から、常乳に存在しているこれら minor components ( $\gamma$ -, TS-, R-, S-カゼインなど)は major component である  $\beta$ -カゼインにプロテアーゼが作用して生じた成分ではないかと推察している<sup>8,10)</sup>。さらに GROVES ら<sup>6)</sup>は  $\gamma$ -カゼインと  $\beta$ -カゼインの遺伝的変異の関連を調べ、この 2 種のカゼイン間の関連度が高い事を指摘し

ている。以上の事がらを総合して考えると、1 日目の初乳においてそのカゼイン成分中に TS- あるいは S-カゼインが多く存在している事、および初乳にはシアル酸が多い<sup>14)</sup>にもかかわらず  $\kappa$ -フラクションが少ない事実は、乳タンパクの合成またはその逆の分解に関与している酵素系と何らかの関連があるのではないかと考えられよう。

なお、分娩後 2 日目よりあとのカゼインは、3 カ月経過後のカゼインと比較しても殆んど変化がなく、THOMPSON ら<sup>26)</sup>の結果と一致した。

#### IV. 要 約

デンブング電気泳動を用いて北大附属農場で飼育しているホルスタイン 16 頭, ゲルンジー 2 頭, ブラウンスイス 1 頭の個乳カゼインの遺伝的変異を調べた。その結果,  $\alpha_{s1}$ -カゼインは全部が B 型,  $\beta$ -カゼインは AB 型のホルスタイン 1 頭を除いた 18 頭が A 型であり,  $\kappa$ -カゼインでは A 型が 10 頭, AB 型が 8 頭, そして  $\kappa$ -B は 1 頭のみであった。これらの分布は現在迄に報告されているデータとよく似た傾向を示した。

つぎに泌乳期の経過を分娩後 1 日目から 3 カ月目までたどってカゼイン成分の増減を調べた結果, 分娩後 1 日目において認められた TS- または S-カゼインに相当するバンドが 2 日目以後には消失した。また, 1 日目では  $\kappa$ -カゼインが認められず, 2 日目以後に出現したが, 2 日目以後 3 カ月目までの各カゼイン成分に変化は見られなかった。

#### 引用文献

- 1) ASCHAFFENBURG, R.: Nature, **192**, 431-432, 1961.
- 2) ASCHAFFENBURG, R.: J. Dairy Res., **30**, 251-258, 1963.
- 3) ASCHAFFENBURG, R.: J. Dairy Res., **35**, 447-460, 1968.
- 4) EL-NEGOUMY, A. M.: Biochim. Biophys. Acta, **140**, 503-506, 1967.
- 5) GROVES, M. L.: J. Dairy Sci., **52**, 1155-1165, 1969.
- 6) GROVES, M. L., W. G. GORDON, and C. A. KIDDY: J. Dairy Sci., **51**, 946, 1968.
- 7) GROVES, M. L., and C. A. KIDDY: Arch. Biochem. Biophys., **126**, 188-193, 1968.

- 8) 上野川修一, 山内邦男: 農化講演要旨集, 116, 1971.
- 9) KAMINOGAWA, S., K. YAMAUCHI, and T. TSUGO: Jap. J. Zootech. Sci., **40**, 559-565, 1969.
- 10) 上野川修一, 山内邦男, 津郷友吉: 日畜会報, **41**, (学会号), 63, 1970.
- 11) KIDDY, C. A., J. O. JOHNSTON, and M. P. THOMPSON: J. Dairy Sci., **47**, 147-151, 1964.
- 12) KIDDY, C. A., R. F. PETERSON, and F. C. KOPFLER: J. Dairy Sci., **49**, 742, 1966.
- 13) KIDDY, C. A., M. P. THOMPSON, J. O. JOHNSTON, and L. PEPPER: J. Dairy Sci., **46**, 626, 1963.
- 14) KIM, Y. K., S. ARIMA, and Y. HASHIMOTO: Jap. J. Zootech. Sci., **37**, 32-41, 1966.
- 15) KIM, Y. K., S. ARIMA, and Y. HASHIMOTO: J. Facul. Agr. Hokkaido Univ. Sapporo, **55**, 133-143, 1967.
- 16) MIKAMI, M.: Jap. J. Zootech. Sci., **41**, 44-50, 1970.
- 17) MIKAMI, M.: *ibid.*, **42**, 281-288, 1971.
- 18) 中西武雄, 伊藤敏敏, 阿部智二: 酪農科学の研究, **18**, A 75, 1969.
- 19) NEELIN, J. M.: J. Dairy Sci., **47**, 506-509, 1964.
- 20) PAYENS, T. A. J., and B. W. Van MARKWIJK: Biochim. Biophys. Acta, **71**, 517-530, 1963.
- 21) SCHMIDT, D. G.: Biochim. Biophys. Acta, **90**, 411-414, 1964.
- 22) SCHMIDT, D. G., P. BOTH, and P. J. de KONING: J. Dairy Sci., **49**, 776-782, 1966.
- 23) THOMPSON, M. P.: J. Dairy Sci., **47**, 1261-1262, 1964.
- 24) THOMPSON, M. P., and C. A. KIDDY: J. Dairy Sci., **47**, 626-632, 1964.
- 25) THOMPSON, M. P., C. A. KIDDY, J. O. JOHNSTON, and R. M. WEINBERG: J. Dairy Sci., **47**, 378-381, 1964.
- 26) THOMPSON, M. P., C. A. KIDDY, L. PEPPER, and C. A. ZITTLE: Nature, **195**, 1001-1002, 1962.
- 27) THOMPSON, M. P., C. A. KIDDY, L. PEPPER, and C. A. ZITTLE: J. Dairy Sci., **45**, 650, 1962.
- 28) THOMPSON, M. P., N. P. TARASSUK, R. JENNENESS, H. A. LILLEVIK, U. S. ASHWORTH, and D. ROSE: J. Dairy Sci., **48**, 159-169, 1965.
- 29) WAKE, R. G., and R. L. BALDWIN: Biochim. Biophys. Acta, **47**, 225-239, 1961.
- 30) YAGUCHI, M., D. T. DAVIES, and Y. K. KIM: J. Dairy Sci., **51**, 473-477, 1968.
- 31) ZITTLE, C. A., and J. H. CUSTER: J. Dairy Sci., **46**, 1183-1188, 1963.

## Genetic Variants of Cows' Milk Casein

Katsuhiko MIKAWA, Yutaka KAMIGASHIMA  
and Tsutomu YASUI

(Department of Animal Science, Faculty of Agriculture,  
Hokkaido University, Sapporo, Japan)

### Summary

Sixteen individual milks of Holstein-Friesian, 2 Guernsey and one Brown-Swiss from Hokkaido University herd were examined on casein genetic variants by using starch gel electrophoresis.

All individuals had  $\alpha_{s1}$ -B casein, all  $\beta$ -casein were A type with one exception of AB type (Holstein-Friesian), and  $\kappa$ -casein were typed 10 as A, 8 as AB and one as B. This type distribution of casein is similar to the data in literatures.

Furthermore, casein components of individual milk of a cow were analyzed throughout a lactation period from one day to three months after parturition. TS- or S-casein was found only in colostrum of one day after parturition and abolished thereafter.  $\kappa$ -Casein was not found in colostrum of one day after parturition. From two days to three months after parturition, all casein components showed the same patterns on starch gel electrophoresis.