

## ウシ唾液中のラクトフェリンと相互作用するタンパク質の探索

北條 晶子

共生基盤学専攻 食品安全・機能性開発学講座

[背景・目的]ラクトフェリンは鉄・銅などの金属イオン、さらに核酸、多糖類、タンパク質など、非常に多様な物質と結合する。それらの結合物質の多くは生物学的に何らかの機能を持った物質である。しかし、これらの物質がラクトフェリンと結合し、生体内でどのような機能を発揮しているかについては未知の部分が多い。ラクトフェリンが他の物質と結合、相互作用することを考えると、ラクトフェリンはそれ自体とは全く異なる構造あるいは機能を持った物質と結合し、キャリアーとして働き、さらに結合した物質の機能が表に出るという複雑な働きを生体内で発揮していると考えられる。ラクトフェリンは主にミルク中に分泌されるが、その他に涙、唾液、尿、羊水などの殆ど全ての外分泌液にも存在する。これまでに牛ミルクや血液からラクトフェリン結合性タンパク質が分離され、これらのタンパク質は生物学的活性を有することが報告されている。ラクトフェリンを含む唾液にもラクトフェリン結合性を示す機能性タンパク質が存在すると考えた。本研究では、生体内での機能発現機構の解明するために、牛唾液に含まれる成分にラクトフェリン結合性を有するタンパク質をスクリーニングすることを目的とした。

[方法・結果]ラクトフェリンを固定化したカラムを使用してアフィニティークロマトグラフィーを行い、唾液からラクトフェリンと結合するタンパク質を分離した。さらに、ビオチン化牛ラクトフェリン-ストレプトアビジン-ペルオキシダーゼ系を用いたファーウエスタンプロット法を行ったところ、唾液タンパク質でラクトフェリンとの結合を示すバンドがいくつか確認できた。それら成分のアミノ酸配列分析を行ったところ、30 kDa に相当するタンパク質の N 末端アミノ酸配列が 20 残基まで決定され、ホモロジー検索によって **Bovine salivary protein(BSP) 30a** であろうと推定された。さらに、エンドグリコシダーゼ H で糖鎖を切断したラクトフェリンと C ロープをリガンドとしてイムノブロットティングを行ったところ、糖鎖を切断したラクトフェリンとも反応性を示したが、C ロープとは反応しなかった。

[考察]本研究により、ラクトフェリンと **BSP 30a** が結合することによって口腔内の免疫機能を調節している可能性が示唆された。