The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	小腸におけるPhosphoprotein Phosphataseについて
Author(s)	西田, 勝
Citation	大阪大学, 1964, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/28617
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【21】

氏　名・(本籍)	西　田　　勝（にし だ まさる）
学位の種類	医　学・博　士
学位記番号	第　504　号
学位授与の日付	昭和39年3月25日
学位授与の要件	医学研究科内科系 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	**小腸における Phosphoprotein Phosphatase について**
論文審査委員	(主査)　教授 蒲生 逸夫 (副査)　教授 萩原 文二　教授 坂本 幸哉

論文内容の要旨

（目　的）

当教室小池は，人乳栄養児の腸管内に生棲するビフィズス菌に人乳カゼインにのみ作用する Phosphoprotein Phosphatase（以下 PPPase と略）を見出した。Phosphoprotein は各種乳汁をはじめ鳥類，両棲類の卵にも存在し，仔動物の迅速な発育期の栄養素をなしている。そこで小腸組織の PPPase の存在を確認し，その性質を明らかにすると共にそのカゼイン消化分解に対する役割の検討を目的とした。

（方法並びに成績）

1．シロネズミおよびウサギ小腸のカゼインに対する Phosphatase 活性

各成長期のシロネズミおよびウサギ小腸粘膜をホモジネートし，p,H 5.8 で α カゼインに対する脱燐作用を検したところ，両者共哺乳期にその活性が高かった。この結果から哺乳期動物の小腸に PPPase の存在の可能性が考えられるので次にその純化抽出を試みた。

2．仔牛小腸からの PPPase の精製

仔牛小腸粘膜をかきとり酢酸緩衝液を含む生理食塩水でホモジネートし，ブタノール抽出を行い不活性物質を除き，アセトン20〜50容量%で生ずる沈澱をとり透析した。この段階では PPPase 酵素単位は22.9であった。ホモジネート液では1.5酵素単位であるので約15倍精製されたことになるが，しかし Phosphomonoesterase は 18.3 酵素単位でかなりその活性を残している。この酵素をふたたび透析することにより PPPase は90.1酵素単位となり，Phosphomonoesterase は5.1酵素単位に減少した。しかしながら protease に関しては前段階で 7.5酵素単位であったのが48酵素単位となり，PPPase の性質を追求するためには十分除去されたとは云えない。この酵素を TEAE カラムに通して 280mμ における吸収で蛋白量を測定した結果，最初の頂点に PPPase を証明し，その酵素単位は100.0で最初の粗材料にくらべて60倍に精製された。なお protease, phosphomonoesterase の活性は認められなかった。

3. 本酵素の各種性状

0.2μg 原子の燐を含む α カゼインに pH 5.8 で酵素を作用させたところ，15分で30%，30分で54%，1時間87%，2時間94%の燐が分解された。このことは TEAE カラムで得た酵素は α カゼインを容易に脱燐することを示している。至適 pH を α カゼイン，ホスホペプトン，フェニル燐酸について調べ，pH 5～6の間に各々最高活性を見出した。各種燐エステルに対する作用を見ると，カゼイン群では牛乳 α カゼインにもっとも良く働き，次は牛乳 β カゼインであり，牛乳全カゼインと人乳全カゼインに対してはほぼ同程度に作用した。phasphomonoester については芳香族にぞくする phenylphosphate, p-nitrophenyl phosphate にきわめて良く作用したが，脂肪族である β-glycerol phosphate, Phosphoserine には作用しなかった。Phosphodiester にも作用がなく，Pyrophosphate はある程度脱燐された。Phosphopepton では pH 5.8で，α カゼインに比し約½程度の作用しか受けなかったが，pH 5.0では約2倍の作用をうけた。チオグリコール酸は本酵素の活性を約4倍に高め，Mg^{++}, Co^{++}, Mn^{++} はほとんど影響を与えぬか，もしくは軽度の阻害を示したが，Zn^{++} はかなりの阻害を示した。

以上の諸成績から，小腸に PPPase が存在することは明らかである。

4. ホスホペプトン消化におよぼす PPPase の影響

PPPase がカゼインの分解にいかなる意義を有するかを知るためにこの酵素作用により燐を脱した後の蛋白分解の進行状況を検した。基質はホスホペプトンを用い，酵素は上記方法では極く少量しかえられないので，牛の脾臓より Hofman の方法で protease 作用を持たない PPPase を精製し用いた。初めホスホペプトンに PPPase を4時間作用させ燐を100%遊離させた後，protease を12時間作用させた。あらかじめ PPPase 処理しないものは12時間後 98γ アミノNの分解であったが，PPPase 処理したものは 205γ アミノN分解を認めた。即ち PPPase で十分ホスホペプトンの燐を遊離させた後，protease を作用させると容易に消化がおこなわれることを示している。

（総　括）

1. シロネズミ，ウサギの小腸粘膜ホモジネートの α カゼインに対する脱燐作用は pH 5.8では成熟期より哺乳期の方が活性が高い。

2. Hofman のアセトン分劃の方法を使い，さらにこの酵素を透析し，これを TEAE カラムに通し仔牛小腸粘膜に PPPase が存在することを認めた。その酵素は protease 作用なしに α カゼインの燐の94%を水解するが β グリセロ燐酸を分解しない。そして従来 PPPase はホスホペプトンにほとんど作用しないか，もしくは中等度の作用しか示さないといわれていたが，pH 5.0では100%脱燐した。

3. 小腸内 PPPase はホスホペプトン消化に関与するものと考える。

論文の審査結果の要旨

シロネズミおよびウサギ小腸粘膜液 homogenate を pH 5.8で α casein に作用させ，脱燐作用を調べたところ哺乳期において活性がもっとも高く，成熟するに従って減少した。このことは哺乳期動物の小腸に Phosphoprotein Phosphatase の存在する可能性を示しているので，アセトン分劃及び TEAE column

を使用して仔牛小腸粘膜から Phosphoprotein Phosphatase を精製し，その存在を確認した。本酵素は α casein の燐を94%水解し，phosphomonoester に対しては芳香族にのみ作用した。そして至適 pH では phsphopepton にもきわめて良く作用した。そこで phosphopepton に対して phosphoprotein phosphatase を作用させて，その燐を完全に水解させると，protease 作用が容易に進行することを認めた。

燐蛋白は卵や乳汁中に存在し，幼若動物が旺盛な発育をとげる時期の栄養材料を提供している。かかる燐蛋白を大量に摂取する哺乳期動物の小腸に，燐蛋白及び Phosphopepton にきわめて良く作用する Phosphoprotein Phosphatase 存在を明らかにしたことは，意義深い研究である。