

Title	家兔小腸スクラーゼ
Author(s)	武居, 能樹
Citation	大阪大学, 1968, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/29872
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名・(本籍)	武 居 能 樹
	たけ すえ よし き
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	第 1 5 1 2 号
学位授与の日付	昭 和 4 3 年 6 月 1 9 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当
学位論文題目	家 兎 小 腸 ス ク ラ ー ゼ
論文審査委員	(主査) 教 授 佐 藤 了
	(副査) 教 授 殿 村 雄 治 教 授 二 国 二 郎

論 文 内 容 の 要 旨

小腸粘膜細胞は多くの二糖類水解活性を含有する。これがいくつの酵素蛋白種に依るものであるかは、どの酵素もまだ純粋に得られていないため、不明である。特に sucrase は小腸の糖吸収機構への関与の推測されるので、その精製は、吸収機構の解明にとっても重要である。

Sucrase が粘膜細胞の微絨毛膜に局在することを確認し、同時にリンタングステン酸負染色法による電子顕微鏡的観察により、単離した微絨毛膜に直径約 50 \AA の微粒子が密に存在することを見出した。可溶化実験と形態観察より、この微粒子の少くとも一部は sucrase と同一か、これを含有すると推定された。

Sucrase は papain, ficin, bromelain などの植物性 SH proteinase で特異的に可溶化された。可溶化酵素は Sephadex G-200 に対して著しく温度依存性の吸着現象を示した。この吸着性は Sephadex の G 値に依存し、酵素活性に関連があると考えられる。

これを利用すると、すなわち papain で可溶化後低温で Sephadex G-200 カラムに吸着させた sucrase を、ゲル濾過温度を昇げて Sephadex から溶離させ、次に Bio-Gel でゲル濾過すると、超遠心的・電気流動的に均一な sucrase 標品が高収率で容易に得られた。精製標品は分子量約 24 万の糖タンパク質である。その基質特異性からみて、これは α -glucosidase であるが、 α, α -trehalase 活性はもたない。ホモジェネートの maltase 活性は、精製過程中、sucrase 活性と全く挙動と同じにするから、両活性は単一の酵素タンパクに依ると思われる。

精製酵素に対するヤギおよびモルモット抗血清は、sucrase を定量的に沈降させるが、酵素活性そのものは全く阻害しない。精製酵素は免疫電気流動的にも単一であった。低温で Sephadex に吸着されない微量の sucrase は精製 sucrase とは免疫化学的にも異なる。

精製酵素のクンタングステン酸負染色電子顕微鏡像はタンパク濃度によって大きく変わる。それが

高濃度のときは、内・外径がそれぞれ約 40, 100Å のドーナツ形構造のみであるが、低濃度のときにはこのドーナツ形は極くまれにしか見られず、ほとんどが約 40×80 Å のより小さな単位粒子がこれが2個結合したらしいものである。このことは sucrase が数個のサブユニットから成り、それがタンパク濃度に依存して容易に解離会合していることを示唆する。微絨毛膜の形態を再検討した結果、上記ドーナツを全く類似の構造物が多数膜面に存在しているのが観察された。これを直ちに精製 sucrase のものと同一とは断定できないが、少くとも部分的にはその可能性が強いと思われる。先述の微粒子はドーナツを構成するサブユニットに相当するらしい。

論文の審査結果の要旨

小腸上皮細胞の細胞は消化腔に面した部分において特異な分化をとげ微小絨毛とよばれる構造を形成している。武居君は家兎小腸上皮細胞より Crane の方法によって微小絨毛部分を単離し、これに局在する sucrase について詳細な研究を行なった。

まず、微小絨毛膜の外面に直径約 50 Å 程度微粒存が密に付着していることを負染色法による電子顕微鏡的観察によって発見し、この微粒子が植物性プロテアーゼ処理によって膜から消失するに並行して、sucrase と leucine amino-peptidase が可溶化されることを知った。このことから微粒子の少くとも一部は sucrase 分子であることを推定した。

次に、このようにして可溶化された sucrase と leucine aminopeptidase を Sephadex ゲルに対する温度依存性の吸着挙動を利用して分離し、sucrase を均一な状態にまで精製することに成功した。精製酵素は分子量約24万で多量のヘキソサミンを含む。負染色電子顕微鏡的観察によって、この酵素は数個のサブユニットから成るドーナツ形の構造をもち、濃度低下に伴ってサブユニットに解離することが明らかになった。

さらに、この酵素に対する抗体をモルモットおよびヤギを用いてつくり、これが sucrase を定量的に沈降させ、Ouchterony 試験において単一の沈降線を形成することを証明したが、この抗体は sucrase 活性を中和する能力はもっていなかった。武居君は以上の生化学的、免疫化学的ならびに形態学的知見にもとずいて、この sucrase が小腸における糖が吸収に関与していることを想定し、さらに活発な研究を続行中である。

以上のように、武居君の業績は生化学と形態学的方法を併用して小腸微小絨毛 sucrase の腸管吸収における役割を明らかにしようとする意欲的な研究であり、多くの新知見を提供している。よって理学博士の論文として十分な価値あるものと認める。