

Title	Biochemical Study on Intestinal Phytase
Author(s)	梁, 元鎮
Citation	大阪大学, 1990, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37077
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、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 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)	やん 梁	うおん 元	じん 鎮
学位の種類	理	学	博 士
学位記番号	第	9 0 6 2	号
学位授与の日付	平成 2 年 3 月 24 日		
学位授与の要件	理学研究科生物化学専攻 学位規則第 5 条第 1 項該当		
学位論文題目	Biochemical Study on Intestinal Phytase (小腸フィターゼに関する生化学的研究)		
論文審査委員	(主査) 教授	中川 八郎	
	(副査) 教授	浅野 朗	教授 畠中 寛

論 文 内 容 の 要 旨

フィチン酸(イノシトール六リン酸)は穀類などに大量に存在し、リン酸供給源として利用されるが、哺乳動物の消化器官におけるその分解機構はほとんど知られていない。そこで、私はラット小腸におけるフィチン酸分解酵素(フィターゼ、EC 3. 1. 3. 8)を同定、単離し、その性質を明らかにすることを目的として本研究を行った。

1. フィターゼの性質

ラット小腸粘膜よりフィターゼを約 1000 倍精製した。精製酵素は SDS-PAGE によって、分子量 90 K と 70 K の 2 本のバンドに分離されたが、これらの 2 種の分子は共に抗 90 K フィターゼ抗血清と反応した。また、両者はペプチドマッピングパターンが類似し、N-末端 9 残基のアミノ酸配列が一致したことから、それらの構造は非常に類似するものと推定された。さらに、この精製酵素がアルカリ性ホスファターゼ活性をも示し、同活性が上記抗血清によって沈降することから、フィターゼはアルカリ性ホスファターゼと同一酵素であることが示唆された。しかし、両活性の諸性質を比較すると、pH 依存性、阻害作用、熱安定性などの種々の点で著明な相違が認められた。したがって、本酵素内のフィターゼとアルカリ性ホスファターゼの活性中心は異なるものと考えられる。

2. 糖鎖構造解析

本酵素の 2 種の蛋白質は、Endoglycosidase H の作用を受けないが、Glycopeptidase F 処理によって 90 K → 83 K、70 K → 52 K の分子量の減少を示したことから、複合型のアスパラギン結合型糖鎖を含むと考えられる。また、全ての糖鎖構造を分解する化学的処理を行った結果、それぞれ 90 K → 72 K、70 K → 52 K の分子量変化を生じた。これらの結果から、90 K 蛋白質にはセリン、

トレオニン結合型糖鎖も存在することが明らかになった。さらに、本酵素はノイラミニダーゼ処理による影響を受けないことから、シアル酸を含まないと推定された。また、種々のレクチンの特異的結合性を利用して、いくつかの糖鎖構造上の特徴を明らかにした。以上の解析結果より、本酵素を構成する2種の蛋白質の分子量の差は糖鎖構造の相違によるものではなく、蛋白質部分に基づくとの結論に達した。

3. 成長過程におけるフィターゼの変化と、食餌による誘導

フィターゼ活性は小腸にのみ見出され、抗フィターゼ抗血清との免疫反応性も小腸以外では認められなかった。

小腸のフィターゼ活性はラットの成長と共に増加した。さらに、胎児期の小腸には本酵素が存在しないこと、新生児期には70 K酵素のみが認められ、離乳期以降に90 K酵素が現れることなども明らかにした。さらに、合成飼料の摂取を開始した離乳ラットに速やかな90 K酵素の発現や酵素活性の上昇が認められること、また、フィチン酸添加カゼイン食を投与された離乳ラットは、非添加食のラットに比べ、高いフィターゼ活性(約2倍)と90 K酵素の発現促進を示すことをも証明した。

以上の実験結果から、ラットの腸では、70 Kフィターゼは小腸組織に固有のものとして出生後常在するが、90 K酵素は離乳後、基質物質の摂取に伴って誘導されることが示唆された。

論文の審査結果の要旨

植物におけるリン酸貯蔵体であるフィチン酸は、穀類中に大量に含まれ、これを摂取した動物ではリン酸供給源として利用され得る反面、金属イオンをキレート結合する性質のために、消化吸収が不十分な場合には必須微量金属の吸収阻害を生じ、栄養不良を招くとされている。ところが、その重要な生理、病理作用にもかかわらず、これまで高等動物の消化管におけるフィチン酸の分解、吸収機構に関する知見は少なく、その分解酵素フィターゼに焦点を合わせた研究はほとんどなされていない。梁君は、米を始めとする穀物を主食とするアジア民族にとって、フィチン酸の分解機構を明らかにすることは特に重要であるとの観点から、本酵素を同定・単離し、その性質を明らかにするべく研究に取り組み、以下のような実験事実を明らかにした。

- 1) フィターゼは従来より知られている小腸型アルカリ性ホスファターゼと同一酵素である。しかし、それらの活性に関する諸性質の比較の結果、活性中心は異なると推定した。
- 2) 本酵素は分子量70,000及び90,000の2種類のサブユニットより構成され、いずれも糖タンパク質である。両者は免疫化学的に相関する構造を有し、N-末端アミノ酸配列にも高い類似性を示す。さらに、酵素処理あるいはレクチン結合性の検索から、糖鎖構造の一部を明らかにした。
- 3) 本酵素の2種のサブユニットは、ラットの発育過程の異なる時期に発現される。即ち、70 K分子は出生時より発現し、90 K分子は離乳に伴う小腸上皮刷子縁構造の成熟と時期を同じくして現れることを明らかにした上、食餌を通してのフィチン酸摂取によってその誘導が促進されることも見出した。

アルカリ性ホスファターゼについては、古くから数多くの詳細な研究がなされてきたが、その基質

特異性の低い脱リン酸化活性に対して明確な生理的意義は提示されていない。本研究において、梁君は、フィターゼ活性が生理的 pH で最大値を示すことや、本酵素が検定したリン酸化合物の中ではフィチン酸に最も高い親和性を示すこと等を明らかにすることによって、小腸型アルカリ性ホスファターゼの生理的役割の一つがフィターゼ作用にあることを強く示唆した。さらに、本酵素の構造と機能についてさまざまな面から性質を調べた上で、その発現誘導機構の一端をも証明した本研究は、フィターゼ並びにアルカリ性ホスファターゼに関する従来知識に新たな重要な知見を加えるものであり、理学博士の学位論文として十分価値あるものと認める。