給与飼料とルーメンプロトゾアのトランスアミナーゼ活性

星 野 貞 夫

三重大学農学部, 津市 514

(1973. 10. 1 受付)

反芻獣の第一胃内容物中に各種トランスアミナーゼの活性が認められることは既に報告¹⁻³⁾されている。これらの酵素活性は主として第一胃内容物中の微生物分画にみられ、微生物のアミノ酸代謝に関与していることが想定される。トランスアミナーゼはアミノ酸のアミノ基をケト酸に転移することによってアミノ酸の新生に役割を果たすが、アミノ酸の分解によってアミノ酸から糖を生産する反応系へも寄与できる。どちらの反応が支配的になるかは微生物がおかれた栄養条件に規制されるのである。本実験は給与飼料によるグルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ (GPT, E.C. 2. 6. 1. 2) の活性の変化からプロトゾアでの本酵素の役割を推定しようとしたものである。

ルーメンフィステルを装着した 成めん羊, 体重 41, 32, 25 kg の 3 頭を供試し, 表 1 に掲げたような飼料をその順序で与え飼養した。ルーサンペレット単用のときにはそれぞれ体重の重い順に 800, 600, 500 g を朝夕 2 回に分けて与えた。尿素などを添加給与した場合にはルーサンペレットの給与日量をそれぞれ 100 g 少なくし, 700, 500, 400 g を朝夕 2 回に分けて与えた。尿素, 大豆粕, カゼインの給与日量は 3 頭ともそれぞれ 10, 110, 30 g とし, この全量を朝の給餌の際にルーサンペレットの粉末になった部分とよく混ぜて給与した。各給与飼料を 1~2 ケ月給与し続け, 前の給与飼料の影響が残らないよう充分きりかえ後の日数をとって第一胃液を採取調査した。水は自由に飲水できるようにした。朝の飼料給与後 2 時間めと 6 時間めにフィステルから第一胃液を採取し, 既報³⁾ のようにしてプロトゾア分画の酵素標品を得た。即ち 4 層のガーゼでろ過した第一胃液を 130×g, 1 分間遠心分離, 沈殿物を pH 6.8 のリン酸緩衝液で 3 回洗い, その後ホモジナイザーでプロトゾアが殆んど破壊されるまでホモジナイズし, ホモジネートを 7000×g, 10 分間遠心分離, 上澄液を注意して分

離, この上澄液をプロトゾア分画の酵素標品とした。プロトゾア分画の GTP 活性は REITMAN らの方法⁴⁾, タンパク量は LOWRY らの方法⁵⁾ で測定した。第一胃液のアンモニア態窒素は VAN SLYKE-CULLEN の方法⁶⁾ で定量した。同時にサンプル中のプロトゾア数を栗原の方法⁷⁾ によって計測した。プロトゾアの種別は *Entodinium* 属では *E. nanellum*, *E. longinucleatum*, *E. simplex*, *E. caudatum*, *Diplodinium* 属では *Polyplastron* 亜属, *Diplodinium* 亜属, *Isotricha* 属では *I. prostoma*, *Dasytricha* 属では *D. ruminantium* が 3 頭ともよくみられた。供試動物のうちの 1 頭 (体重 32 kg) はルーサンペレット単用期には *Epidinium* 属がよくみられたが, 尿素添加給与期以降は殆んどみられなくなり, *Polyplastron* 亜属がみられるようになった。各飼料給与期間中各動物とも 4~5 回測定を行ない, 結果は 3 頭の平均値として表わした。

実験結果は表 1 に示した。GPT 活性は飼料給与後 2, 6 時間めに採取したサンプルのどちらでも大豆粕の添加によって有意に減少した。尿素, カゼインの添加では有意な差はみられなかった。アンモニア態窒素は尿素, 大豆粕, カゼインのいずれの添加でも有意に増加し, 添加区間内でも有意な差がみられた。よく知られているように尿素添加ではアンモニアの生成速度は速く, 大豆粕, カゼインの添加では 6 時間後にもかなり高い濃度がみられた。プロトゾア数は給餌後 2 時間めでいずれの添加区でも増加の傾向を示し, 特に大豆粕の添加で増加が顕著であった。しかし給餌後 6 時間めでは *Diplodinium* 属以外は給与飼料による差は少なくなった。

カゼインのようなタンパク質または尿素とコーンミールなどを一緒に添加給与すると第一胃液のトランスアミナーゼ活性が高まると報告されている²⁾ が, それは酵素の基質になる物質がタンパク質の分解によって豊富に供給されるので合理的と思われる。しかし本実験のプロト

第1表 給与飼料による GPT 活性, プロトゾア数, アンモニア態窒素の変化

飼料給与後2時間めに採取した第一胃液					
給 与 飼 料	プロトゾア分画の GPT 活性 (μ moles pyruvate/ mg protein/hr)	プ ロ ト ゾ ア 数			ア ン モ ニ ア 態 窒 素 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)
		Entodinium ($\times 10^6/\text{ml}$)	Diplodinium ($\times 10^3/\text{ml}$)	Isotricha, Dasytricha ($\times 10^3/\text{ml}$)	
ルーサンベレット	3.07 $\pm$ 0.32 ^a	2.52 $\pm$ 0.47 ^a	1.39 $\pm$ 0.30 ^a	2.01 $\pm$ 0.38 ^a	217 $\pm$ 18 ^a
〃	2.57 $\pm$ 0.15 ^a	3.13 $\pm$ 0.37 ^{a,b}	2.93 $\pm$ 0.45 ^b	3.69 $\pm$ 0.55 ^b	690 $\pm$ 27 ^b
〃	1.59 $\pm$ 0.14 ^b	3.43 $\pm$ 0.43 ^c	5.97 $\pm$ 0.75 ^c	4.38 $\pm$ 0.82 ^b	558 $\pm$ 44 ^c
〃	2.52 $\pm$ 0.20 ^a	4.11 $\pm$ 0.44 ^{b,c}	3.40 $\pm$ 0.74 ^b	1.95 $\pm$ 0.49 ^c	435 $\pm$ 25 ^d
飼料給与後6時間めに採取した第一胃液					
ルーサンベレット	2.82 $\pm$ 0.25 ^a	3.45 $\pm$ 0.47 ^a	1.43 $\pm$ 0.24 ^a	2.09 $\pm$ 0.49 ^a	111 $\pm$ 9 ^a
〃	2.80 $\pm$ 0.18 ^a	3.58 $\pm$ 0.37 ^a	3.84 $\pm$ 0.92 ^b	1.43 $\pm$ 0.29 ^{a,b}	286 $\pm$ 29 ^b
〃	1.38 $\pm$ 0.12 ^b	4.66 $\pm$ 0.39 ^a	7.22 $\pm$ 0.51 ^c	2.40 $\pm$ 0.26 ^{a,c}	449 $\pm$ 52 ^c
〃	2.56 $\pm$ 0.35 ^a	4.64 $\pm$ 0.63 ^a	4.40 $\pm$ 0.90 ^b	1.48 $\pm$ 0.19 ^{a,b}	323 $\pm$ 27 ^{b,c}

注 1) 各数値は平均値 $\pm$ 標準誤差
2) 数値の肩文字で同じ文字を含んでいない各サンプルの各項目の数値間では 1~5% 水準で統計的に有意。但し、6時間めサンプルの *Isotricha*, *Dasytricha* 数では ab-ac 間に有意な差がある。

ゾア分画の GPT 活性はカゼインの添加で高まらず、大豆粕の添加では活性の有意な低下がみられた。これらの結果の不一致は給与飼料の量、質面での相異によっているのであろうがよくわからない。*Tetrahymena pyriformis* をグルコースや酢酸塩を添加した培地で培養すると GPT 活性やアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼなどの酵素活性が低下し、アミノ酸からのグリコーゲン新生が減少すると報告されている⁸⁾。*Tetrahymena* とルーメンプロトゾアの貯蔵多糖類の性質やその合成機構は同一には論じられないであろうが、上記の結果はルーメンプロトゾアの炭水化物またはタンパク質からの多糖類の合成に GPT などの酵素がどのように関与するのかについて示唆を与えている。今後カゼインや尿素などに炭水化物を添加した場合また炭水化物を主成分とした飼料を与えた場合の GPT などの酵素活性の変化、プロトゾアの多糖類合成へのタンパク質の利用度の変化などを検討すべきであろう。

文 献

1) PALMQUIST, D.L., and R.L. BALDWIN, Appl Microbiol 14: 60-69. 1966.
2) REKIB, A., and D.P. SADHU, Br J Nutr 22: 325-329. 1968.
3) TSUBOTA, H., and S. HOSHINO, J Dairy Sci 52: 2024-2028. 1969.
4) REITMAN, S., and S. FRANKEL, Amer J Clin Pathol 28: 56-60. 1957.
5) LOWRY, O.H., N.J. ROSEBROUGH, A.L. FARR., and R.J. RANDALL, J Biol Chem 193: 265-275. 1951.
6) VAN SLYKE D.D., and G.E. CULLEN, J Biol Chem 19: 141-152. 1914.
7) 栗原 康, 日獣会誌 22: 132-153. 1969.
8) MAVRIDES, C., Can J Biochem 51: 323-331. 1973.