魚類消化管中の各種消化酵素の精製と 作用機作に関する研究

平成16年度日本食品保蔵科学会奨励賞

谷口 (山田) 亜樹子^{*1}

Purification and Active Site of Digestive Enzymes in the Fish Digestive Tract

TANIGUCHI YAMADA Akiko^{*1}

^{*1} Department of Applied Biology and Chemistry, Faculty of Applied Bioscience, Tokyo University of Agriculture
1-1-1, Sakuragaoka, Setagaya-ku, Tokyo 156-8502

近い将来、世界人口は100億人を超えると予想¹⁾されており、その後さらに人口が増加すると食糧タンパク質の不足が予想され、陸地の資源を最大限に利用しても限界があるといわれている。このような問題を解決する方策のひとつとして、天然魚類資源の確保と魚類の養殖の効率化は急務となっている。養殖を行うためには、対象魚の生理、生態ならびに食性に関する研究が必要であるが、魚類の生態ならびに生理などについての基礎的な問題が解明されていない。

現在の養魚飼料は、主に家畜の飼料をベースに、体重増加等の成長速度との相関を主体とし開発されているのが現状である。魚類の消化器官の様相はほ乳類と大きく異なり、魚類専用の合理的な養魚飼料を開発するためには、魚類の生理および生態に関する知見を得ること、さらに、経済効率が高く、環境汚濁の少ない飼料を開発する必要がある。筆者は、従来の飼料開発研究とは観点を大きく変え、対象魚種の食性や飼料消化について詳細を解明し、合理的な飼料開発ならびに未利用資源の飼料としての有効活用化を進めるための一連の研究を行っている。

本稿は、雑食魚で養殖魚として優れた特性²⁾をもつテラピア *Tilapia nilotica* を用いて、主要な消化器官である胃および腸管より消化酵素を分離精製し、その性状を明らかにし、さらに、これらの結果を基に魚類の消化酵素による飼料原料の分解挙動ならびに分解生成物の様相について検討した成果をまとめたものである。

1. 魚類の消化管の形態および機能

養魚飼料の開発で、初めに考えなければならないのが、対象魚の消化管の形態、機能である。魚類には一般に膵

臓がなく、その消化酵素の様相はほ乳類と大きく異なる³⁾。図1に示した肉食性のニジマスなどでは膵臓機能をもつ幽門垂をもち、幽門垂から胃と腸管の間の幽門部に消化酵素が分泌されるが、雑食性魚のコイ、テラピアなどは幽門垂がなく、腸間膜の脂肪体から腸管全域に消化酵素が分泌されるといわれている。また、テラピアは胃が存在するが、コイやフナなどには胃がないなど、魚種により消化器官の形態および機能が多様であり、水産動物は、哺乳類に比べ消化に関しては未解明な部分が多いのが現状である。

テラピアは、1年間で体長30cm、体重約1kgに成長し、胃がト型であり、腸管の長さは体長の約6倍と非常に長いのが特徴である (図2)。

2. 胃および腸管の消化酵素の存在

表1にテラピアの主要な消化器官である胃と腸管におけるデンプン、タンパク質および脂質分解酵素の活性量について示した。

胃抽出液中にはアミラーゼ、 α -グルコシダーゼ、プロテアーゼ、カルボキシペプチダーゼおよびリパーゼ、腸管抽出液中にはアミラーゼ、 α -グルコシダーゼ、プロテアーゼ、アミノペプチダーゼ、カルボキシペプチダーゼおよびリパーゼの各活性が認められた。胃ではアミノペプチダーゼ活性は、検出されなかった。これらの消化酵素の存在はテラピアの特徴であり、ハマチでは胃にほとんどデンプン分解酵素がないなど魚種により酵素の存在が異なる⁴⁾。一般に雑食性魚の方が、アミラーゼ活性が高いといわれている⁵⁾。また、雑食性魚は食性に反映し、肉食性魚と比較し消化管中の β -グルカン分解酵素の活性が高いことも知られている^{5), 6)}。胃と腸管の組織当たり

^{*1} 東京農業大学応用生物科学部生物応用化学科 (〒156-8502 東京都世田谷区桜丘1-1-1)
E-mail: akiko@nodai.ac.jp

図1 ニジマス, コイ, テラピアの消化管の形態

図2 テラピア *Tilapia nilotica*

A: 魚体 B: 胃および腸管

表1 胃および腸管の主な消化酵素の活性量

(ユニット/消化器官あたり)

	消化酵素	基 質	胃	腸管
デンプン分解酵素	アミラーゼ	可溶性デンプン	316	2,590
	α -グルコシダーゼ	PNPG	14	112
タンパク質分解酵素	プロテアーゼ	カゼイン	1,020	25,500
	アミノペプチダーゼ	Leu-pNA	0	270
	カルボキシペプチダーゼ	Bz-Gly-Phe	15	244
		Bz-Gly-Arg	13	282
脂質分解酵素	リパーゼ	オリーブ油	100	64
PNPG: <i>p</i> -ニトロフェニル- α -D-グルコピラノシド			Leu-pNA: ロイシン <i>p</i> -ニトロアニリド	
Bz-Gly-Phe: ベンゾイル-グリシル-フェニルアラニン			Bz-Gly-Arg: ベンゾイル-グリシル-アルギニン	

の各酵素の活性量を比較すると、腸管アミラーゼおよび α -グルコシダーゼ活性は胃の約8倍、腸管プロテアーゼは胃の25倍、カルボキシペプチダーゼ活性は16~21倍を示した。これらの酵素は、胃に比べ腸管のほうが、活性が高かった。しかし、リパーゼ活性は腸管より胃のほうが約1.5倍高い活性を示した。ほ乳類の胃のリパーゼ⁷⁾は微弱であるといわれているが、テラピアではリパーゼの存在が認められた。

3. 消化酵素の精製およびその特性

各種クロマトグラフィー (図3) を用いて、胃からア

ミラーゼ⁸⁾、プロテアーゼ⁹⁾、リパーゼ¹⁰⁾を各1種類ずつ精製した。同様に、腸管からアミラーゼ2種¹¹⁾、グルコシダーゼ2種¹²⁾、プロテアーゼ2種¹³⁾、アミノペプチダーゼ2種¹⁴⁾、カルボキシペプチダーゼ3種¹⁵⁾、リパーゼ1種¹⁶⁾の計12種類を精製し、いずれの酵素も電気泳動にて単一であることを確認した (図4)。

これら15種類の精製酵素について、以下その特性を述べる。

(1) デンプン分解酵素

胃よりアミラーゼ1種、腸管よりアミラーゼ2種 (I, II) および α -グルコシダーゼ2種 (I, II) のデンプン

図3 胃の消化酵素の精製方法

図4 腸管の消化酵素の精製方法

分解酵素を得た。表2に、各デンプン分解酵素の各種基質に対する分解性について示した。多糖に対する作用性は可溶性デンプンに対する分解率を100として相対活性で示している。

胃アミラーゼは、可溶性デンプンと同様にアミロペクチンおよびアミロースをよく分解し、特に高分子アミロースに対し、高い作用性を示した。腸管アミラーゼは胃のアミラーゼと異なり、アミロペクチン、アミロースよりも可溶性デンプンをもっともよく分解した。また、腸管アミラーゼⅠとⅡでは低分子アミロースに対する作用性に違いがみられ、Ⅰに比べⅡは低分子アミロースをよく分解した。

胃と腸管アミラーゼはマルトオリゴ糖に対する作用性が大きく異なり、胃ではマルトオリゴ糖を分解し、特にマルトヘptaオースからマルトテトラオースのマルトオリゴ糖をよく分解したが、腸管アミラーゼはマルトオリゴ糖を全く分解せず、このように基質の選択性に大きな相違がみられた。胃のアミラーゼは分子量の大きく異なる多糖とオリゴ糖の両者を分解することが明らかとなり、他の動物ではこのような作用を示すアミラーゼの存在については報告されていない。この結果から、一般に分解物は腸管で吸収されるといわれているが、魚の場合、胃でも吸収される可能性があると考えられた。今後、このような特異性をもつ意義についてさらに検討したいと考えている。 α -グルコシダーゼはマルトオリゴ糖をよく分解したが、イソマルトース、サッカロースおよび環状オリゴ糖は分解しなかった。

各デンプン分解酵素の一般性状を表3にまとめた。反

応生成物として、胃のアミラーゼはマルトヘキサオースからマルトースのマルトオリゴ糖が生成され、腸管アミラーゼはマルトテトラオースからマルトースの各マルトオリゴ糖と、両者の分解生成物に違いがあった。腸管 α -グルコシダーゼは各糖をグルコース単位に分解した。

いずれの酵素も Hg^{2+} 、PCMBおよびDTNBなどのSH阻害剤に著しく阻害を受け、活性発現にSH基の関与が推察された。

(2) タンパク質分解酵素

胃よりプロテアーゼ1種、腸管よりプロテアーゼ2種(Ⅰ, Ⅱ)、アミノペプチダーゼ2種(Ⅰ, Ⅱ)およびカルボキシペプチダーゼ3種(Ⅰ, Ⅱ, Ⅲ)を単離精製した。

表4に精製プロテアーゼの基質特異性を示した。胃プロテアーゼは、カルボキシ末端がチロシン、フェニルアラニンなどの疎水性のアミノ酸からなる合成基質によく作用し、また、アンジオテンシンの切断点からペプシン様酵素であったが、ブタペプシンなどの特異的基質であるアセチルフェニルアラニンジヨードチロシンには全く作用しないことから、ほ乳類と魚ではペプシンの性状が大きく異なることが考えられた。

腸管プロテアーゼⅠはポリペプチド鎖中のTry-XおよびPhe-Xなどのペプチド結合を水解し、キモトリプシンの合成基質に作用し、腸管プロテアーゼⅡはポリペプチド鎖中のArg-XおよびLys-Xなどのペプチド結合を水解し、トリプシンの特異的合成基質に作用し、両者の作用性に違いがみられた。

精製プロテアーゼの一般性状を表5に示した。胃のプロテアーゼはアスパラテックエンザイムの阻害剤である

表2 精製アミラーゼおよび α -グルコシダーゼの基質特異性

基 質	相対活性 (%)				
	胃		腸 管		
	アミラーゼ	アミラーゼⅠ	アミラーゼⅡ	グルコシダーゼⅠ	グルコシダーゼⅡ
多糖類 ¹⁾					
可溶性デンプン	100	100	100		
アミロペクチン	88	69	65		
アミロース (M.W.160,000)	118	77	66		
アミロース (M.W.29,000)	104	48	82		
プルラン	0	0	0		
少糖類 ²⁾					
マリトース (G_2)	7	0	0	100	100
マルトトリオース (G_3)	15	0	0	82	92
マルトテトラオース (G_4)	85	0	0	84	84
マルトペンタオース (G_5)	97	0	0	100	100
マルトヘキサオース (G_6)	46	0	0	100	100
マルトヘptaオース (G_7)	100	0	0	100	100
イソマルトース				0	0
サッカロース				0	0
α -サイクロデキストリン	0	0	0	0	0
β -サイクロデキストリン	0	0	0	0	0

基質濃度: 1) 1%, 2) 10 mM

表3 精製アミラーゼおよび α -グルコシダーゼの性状

性 状	胃		腸 管		
	アミラーゼ	アミラーゼ I	アミラーゼ II	グルコシダーゼ I	グルコシダーゼ II
最適pH	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
最適温度 (°C)	35	40	40	55	55
pH安定性	5.5~7.0	5.5~7.5	5.5~7.5	5.5~7.5	5.5~7.5
温度安定性 (°C)	<45	<45	<45	<60	<60
分子量	40,000	54,000	56,000	25,000	17,000
等電点 (pI)	6.8	7.7	7.4	4.9	4.6
Km値	5.80 ¹⁾	0.48 ¹⁾	0.67 ¹⁾	2.61 ²⁾	1.65 ²⁾
生成物	G ₆ -G ₂	G ₄ -G ₂	G ₄ -G ₂	G ₁	G ₁
賦活剤	Mg ²⁺	Ca ²⁺	Ca ²⁺	Ca ²⁺	Ca ²⁺
阻害剤	Hg ²⁺ , Pb ²⁺ , Cu ²⁺ , Zn ²⁺ , PCMB, DTNB	PCMB, DTNB, Hg ²⁺ , EDTA, CH ₂ ICOOH	PCMB, DTNB, Hg ²⁺ , EDTA, CH ₂ ICOOH	DTNB, Hg ²⁺ , Cu ²⁺	Hg ²⁺ , Cu ²⁺ , DTNB

基質：1) 可溶性デンプン (mg/ml) 2) *p*-ニトロフェニル- α -D-グルコピラノシド (mM)

阻害剤：PCMB：*p*-クロル安息香酸第二水銀 DTNB：5, 5'-ジチオビス (2-ニトロ安息香酸)

EDTA：エチレンジアミン四酢酸

表4 精製プロテアーゼの基質特異性

相対活性 (%)				
胃		腸管		
合成基質	プロテアーゼ	合成基質	プロテアーゼ I	プロテアーゼ II
CBZ-Gly-Tyr	100	BZ-Try- <i>p</i> NA	100	0
CBZ-Glu-Tyr	84	CBZ-Phe- <i>p</i> NA	19	0
CBZ-Glu-Phe	63	BZ-Arg- <i>p</i> NA	0	100
BZ-Gly-Phe	94	Lys- <i>p</i> NA	0	14
BZ-Gly-Arg	0			
BZ-Gly-Lys	0			
Ac-Phe-Tyr (I ₂)	0			

BZ：ベンゾイル CBZ：カルボキシベンゾイル Ac：アセチル *p*NA：*p*-ニトロアニリド

表5 精製プロテアーゼの性状

性 状	胃		腸 管	
	プロテアーゼ	プロテアーゼ I	プロテアーゼ II	
最適pH	3.5	9.0	8.5	
最適温度 (°C)	50	40	40	
pH安定度	3.5~5.5	7.0~10.0	7.0~10.5	
温度安定性 (°C)	<50	<55	<55	
分子量	54,000	32,000	21,000	
等電点 (pI)	3.7	6.3	8.6	
Km値 (mg/ml)	5.4 ¹⁾	0.03 ²⁾	0.03 ²⁾	
阻害剤	DAN, EPNP, ペプスタチン	PCMB, TPCK	DFP, TLCK, STI, COM	

基質：1) ヘモグロビン 2) カゼイン

阻害剤：DAN：チアゾアセチル-DL-ノルロイシンメチルエステル

EPNP：1,2-エポキシ-3-(*p*-ニトロフェノキシル)プロパン

PCMB：*p*-クロル安息香酸第二水銀

TPCK：N-トシル-L-フェニルアラニンクロルメチルケトン

TLCK：N-トシル-L-リジンクロルメチルケトン

STI：大豆トリプシンインヒビター

COM：チキンオボムコイド

DAN, EPNPおよびペプシン阻害剤のペプスタチンにより阻害されたことから、ペプシン様酵素と推察された。

腸管プロテアーゼⅠはキモトリプシンに類似した切断部位を示したが、セリンプロテアーゼの阻害剤DFPに阻害されず、SH基阻害PCMB、フェニルアラニンのアナログであるTPCKに阻害された。また、腸管プロテアーゼⅡは、セリンプロテアーゼの阻害剤のアナログTLCK、大豆トリプシンインヒビター、チキンオボムコイドにより阻害されることから、トリプシン様酵素であった。

各種ペプチダーゼの基質作用性について合成基質を用いて調べた結果を表6に示した。アミノペプチダーゼⅠはアミノ末端のAla-X、アミノペプチダーゼⅡはLue-XおよびAla-Xなどのペプチド結合に作用した。アミノペプチダーゼはは乳類でも一般にアミノ末端がロイシンとアラニンのペプチドに作用する2種あり、魚類も同様に各々が存在することがわかった。カルボキシペプチダーゼⅠはカルボキシル末端のX-Phe、X-Tryなどのペプチ

ド結合に、カルボキシペプチダーゼⅡおよびⅢはX-Arg、X-Lysなどのペプチド結合に作用し、ⅠとⅡ、Ⅲとの作用性に大きな違いがあった。

各種ペプチダーゼの性状について表7に示した。アミノペプチダーゼは一般に高分子であるが、セラピアの精製酵素も24万および30万と高分子量であった。アミノペプチダーゼおよびカルボキシペプチダーゼともに、*o*-フェナントロリンやEDTAによって活性が阻害され、亜鉛やコバルトの添加によって活性が回復する金属酵素であった。

(3) 脂質分解酵素

胃および腸管から各々1種のリパーゼを分離精製した。リパーゼを各種グリセリド、モノエステルに作用させた結果を表8に示した。胃リパーゼはトリオレインをもっともよく分解することから、トリアシルグルセロールに対する作用性がもっとも大きく、一方、腸管リパーゼはトリオレインに比べ、1、2-ジオレイン、1-モノオレ

表6 精製ペプチダーゼの基質特異性

相対活性 (%)			相対活性 (%)			
合成気質	アミノペプチダーゼ		合成基質	カルボキシペプチダーゼ		
	I	II		I	II	III
Leu- <i>p</i> NA	36	100	BZ-Gly-Phe	100	11	1
Ala- <i>p</i> NA	100	89	CBZ-Glu-Phe	18	2	2
Arg- <i>p</i> NA	23	21	CBZ-Gly-Tyr	50	3	1
Gly- <i>p</i> NA	6	12	CBZ-Glu-Tyr	54	15	5
Lrs- <i>p</i> NA	13	10	CBZ-Phe-Tyr	4	2	2
Phe- <i>p</i> NA	13	10	CBZ-Gly-Leu	4	2	2
Pro- <i>p</i> NA	3	6	BZ-Gly-Arg	5	100	100
Val- <i>p</i> NA	4	6	BZ-Gly-Lys	2	81	86
			CBZ-Gly-Pro	0	0	0

BZ: ベンゾイル CBZ: カルボキシベンゾイル pNA: *p*-ニトロアニリド

表7 精製ペプチダーゼの性状

性 状	アミノペプチダーゼ		カルボキシペプチダーゼ		
	I	II	I	II	III
最適pH	7.0	6.5	8.5	8.5	8.5
最適温度 (°C)	45	50	30	30	30
pH安定性	6.5~9.0	7.5~8.5	6.0~9.0	6.0~9.0	6.5~9.5
温度安定性 (°C)	<45	<50	<45	<45	<45
分子量	240,000	300,000	35,000	32,000	28,000
等電点 (pI)	5.7	5.5	8.1	6.4	5.8
K _m 値 (mg/ml)	0.2 ¹⁾	0.2 ¹⁾	0.2 ²⁾	0.2 ³⁾	0.1 ³⁾
切断点	Ala-X	Leu-X, Ala-X	X-Phe, X-Tyr	X-Arg, X-Lys	X-Arg, X-Lys
阻害剤	<i>o</i> -Phen, EDTA	<i>o</i> -Phen, EDTA	<i>o</i> -Phen	<i>o</i> -Phen, PCMB	<i>o</i> -Phen, EDTA, CH ₂ ICOOH
賦活剤	Zn ²⁺ , Co ²⁺ , Mg ²⁺	Zn ²⁺ , Co ²⁺ , Mg ²⁺	Zn ²⁺ , Co ²⁺ , Ni ²⁺	Zn ²⁺ , Co ²⁺ , Ni ²⁺	Zn ²⁺ , Co ²⁺ , Ni ²⁺ , Cd ²⁺

基質: 1) ロイシン-*p*-ニトロアニリド 2) ベンゾイル-グリシル-フェニルアラニン 3) ベンゾイル-グリシル-アルギニン

阻害剤: *o*-Phen: *o*-フェナントロリン EDTA: エチレンジアミン四酢酸 PCMB: *p*-クロル安息香酸第二水銀

表8 精製リパーゼの基質特異性

基 質	相対活性 (%)	
	胃	腸管
トリオレイン	100	100
1-モノオレイン	58	122
2-モノオレイン	41	85
1, 2-ジオレイン	72	141
1, 3-ジオレイン	88	62
メチルブタン酸	26	32
ブチルオレイン酸	28	48

表9 精製リパーゼの性状

性状	胃リパーゼ	腸管リパーゼ
最適pH	6.5	7.5
最適温度 (°C)	40	35
pH安定度	5.0~7.0	6.5~8.5
温度安定性 (°C)	<50	<40
分子量	54,000	46,000
等電点 (pI)	6.2	4.9
K _m 値 (mM) ¹⁾	0.6	0.7
基質特異性	TG	DG, MG
阻害剤	Hg ²⁺ , Cu ²⁺ , Cd ²⁺ , EDTA ²⁾ , PCMB ³⁾	Hg ²⁺ , Cu ²⁺ , Cd ²⁺ , CH ₃ COOH, PCMB

1) 基質：オリーブ油

2) EDTA：エチレンジアミン四酢酸

3) PCMB：*p*-クロル安息香酸第二水銀

インに対する分解性が高いことから、ジアシルグルセロールやモノアシルグルセロールに対する作用性が高いことがわかった。この分解性から、胃から腸管にかけて、トリアシルグルセロールの分解は1, 2-ジアシルグリセロール, 1-モノアシルグリセロールを経て脂肪酸, グルセロールに効率よく分解されることが示唆された。

精製リパーゼの性状を表9に示した。胃のリパーゼはトリアシルグルセロールに、腸管リパーゼはジアシルグリセロール, モノアシルグリセロールに対する作用性が高く、グリセロールに対する分解性に違いがみられた。両リパーゼともに、PCMBで活性が阻害され、活性発現に対するSH基の関与が示唆された。

数種の魚種では胃にリパーゼが存在することが知られている^{17)~19)}が、単離、精製し、詳細な性状を明らかにしている例は他にみられない。テラピアのような雑食魚の配合飼料に油脂を投与することによって、油脂は胃で速やかに分解が始まることが示唆され、飼料に油脂を入れる効果が十分あると考えられた。

5. *in vitro*における胃および腸管の酵素活性の様相

上述の酵素による分解性をもとに、*in vitro*における各部位の飼料成分分解の様相を明らかにした結果を次に述べる。なお、テラピア腸管は体長の6倍と非常に長いので、部位により酵素の存在に相違が考えられたので、

腸管を上部、中部、下部の3等分にした。

(1) デンプン質分解能について

アミラーゼおよび α -グルコシダーゼ活性は、いずれも胃に比べ腸管各部位で大きく、またアミラーゼ活性は腸管上部および中部で、 α -グルコシダーゼ活性は腸管下部で高い値であった(表10)。

小麦、米、トウモロコシ、ジャガイモの生デンプンに胃および腸管各部位より調製した酵素を各6時間ずつ順次作用させ、計24時間反応させた。いずれの部位の酵素においても小麦デンプンの分解率が大きく、米およびトウモロコシデンプンがこれにつぎ、ジャガイモデンプンはほとんど分解されなかった。なお、糊化デンプンでは、デンプンの種類による分解率に大きな差はみられなかった(図5)。

(2) タンパク質分解能について

プロテアーゼ活性は腸管中部がもっとも高く胃の約12.4倍、腸管上部および下部の約2倍であった。アミノペプチダーゼ活性は腸管上部、中部で高く、カルボキシペプチダーゼ活性は腸管中部、下部が高かった(表11)。

飼料原料の脱脂大豆、ブラウンフィッシュミール(BFM)、コーングルテンミール(CGM)、養魚用配合飼料(日本農産工業、EPS)およびカゼインに胃および腸管各部位より調製した酵素を順次作用させ、タンパク質分解率および遊離アミノ酸生成量を調べると共に、分解の様相について検討した。

その結果(図6)、各タンパク質の24時間後における分解率はカゼインおよびCGMが約85%ともっとも高く、配合飼料約70%、BFM約60%、脱脂大豆約30%であった。遊離アミノ酸生成率は、配合飼料が38%でもっとも高く、BFM 29%、CGM 26%、脱脂大豆23%であった。配合飼料のタンパク質原料には、コーングルテンミールがもっとも有用であった。コーングルテンミールは、配合飼料原料としての単価は安い、アミノ酸のバランスから今まであまり使用されていない。消化の観点から今後の使用が考えられる。

(3) 脂質分解能について

リパーゼの活性は胃でもっとも高く、腸管上部は胃の約63%であり、中部および下部ではわずかであった(表12)。

各部位の酵素による大豆油の分解生成物を調べたところ、胃の酵素処理では1, 2-ジアシルグリセロールが1, 3-ジアシルグリセロールおよびモノアシルグリセロールの約2倍認められたが、この1, 2-DGは腸管上部の酵素によってMGに分解された。

大豆油、ヤシ油、オリーブ油に各部位の酵素を順次作用させ遊離脂肪酸の生成量を調べると共に、脂質分解の様相を検討した(図7)。24時間後の脂肪酸の遊離率は大豆油で約45%、ヤシ油約30%、オリーブ油約25%であり、大豆油がもっともよく分解され、配合飼料の油脂原料では大豆がもっとも有用であった。現在、油脂原料に

表10 胃および腸管各部に存在するデンプン分解酵素の活性量
(ユニット/消化器官あたり)

消化酵素	胃	腸管		
		上部	中部	下部
アミラーゼ ¹⁾	315.8	937.6	1,010.2	644.0
α -グルコシダーゼ ²⁾	13.5	40.5	47.5	63.8

基質：1) 可溶性デンプン

2) *p*-ニトロフェニル- α -D-グルコピラノシド

図5 各部位のデンプン分解酵素によるデンプン分解の様相

表11 胃および腸管各部に存在するタンパク質分解酵素の活性量
(ユニット/消化器官あたり)

消化酵素	胃	腸管		
		上部	中部	下部
プロテアーゼ ¹⁾	1,020	6,300	1,2600	6,600
プロテアーゼ ²⁾	0	49	51	22
プロテアーゼ ³⁾	0	119	126	69
アミノペプチダーゼ ⁴⁾	0	117	129	24
カルボキシペプチダーゼ ⁵⁾	15	37	101	106
カルボキシペプチダーゼ ⁶⁾	15	30	118	134

基質：1) カゼイン

2) ベンゾイル-チロシン-*p*-ニトロアニリド

3) ベンゾイル-アルギニン-*p*-ニトロアニリド

4) ロイシン-*p*-ニトロアニリド

5) ベンゾイル-グリシン-*p*-ニトロアニリド

6) ベンゾイル-グリシン-*p*-ニトロアニリド

図6 各部位のタンパク質分解酵素によるタンパク質分解の様相

表12 胃および腸管各部に存在する脂質分解酵素の活性量
(ユニット/消化器官あたり)

基 質	胃	腸 管		
		上部	中部	下部
活性量 (ユニット/消化器官)	19.9	12.6	0.3	0.3
トリオレイン	100 ¹⁾	100	100	100
1, 2-ジオレイン	79	167	233	50
1, 3-ジオレイン	85	58	166	75
1-モノオレイン	57	134	200	50
2-モノオレイン	57	88	233	75

1) 相対活性 (%)

図7 各部位の脂質分解酵素による油脂分解の様相

についてはほとんど研究がなされていない。このような試験が今後、飼料開発に必要と考える。

消化生理の試験については、テラピア以外の魚種では報告がなく、試験されていない。このように未解明な消化生理を明らかにし、*in vitro*の機序を解明することにより、飼料の開発の知見を得ることができるものと確信している。*in vitro*試験の重要性がこの結果からもよく示され、*in vitro*試験の結果が*in vivo*と同様な役割を示すものと考えられる。今後、*in vivo*での分解の様相を解析し、食性解明を行い、養殖に適した合理的な魚類の飼料の開発について基礎的知見を得、さらに酵母タンパク質、草類タンパク質などの未利用資源の飼料原料化について消化生理の立場から解析を行い、それらの有効利用について検討し、食糧問題の解決に寄与したいと考える。

謝 辞 本研究の遂行にあたり、多大なるご指導を賜りました東京農業大学教授高野克己先生に心から感謝申し上げます。永年ご懇篤なるご指導を賜りました故東京農業大学名誉教授鴨居郁三先生に深く感謝申し上げます。多くのご指導、ご鞭撻をいただきました東京農業大学応用生物科学部生物応用化学科の先生方および卒業生の皆様に心から感謝いたします。

文 献

- 1) 農林統計協会：食生活データブック，(財団法人食生活情報サービスセンター編，東京)，p.136 (2003)
- 2) 矢田敏晃：新養殖講座 1 ティラピア II ティラピアの概要 (緑書房，東京)，pp.3~25 (1988)
- 3) 竹内俊郎：魚類生理学 3.消化と栄養 (板沢靖男・羽生功編) (恒星社厚生閣，東京)，pp.67~101 (1991)
- 4) 池田静徳：魚類生理 (川本信之編) (恒星社厚生閣，東京)，pp.134~147 (1970)
- 5) 池田静徳：魚類生理，蛋白質・核酸・酵素，24，pp.292~300 (1979)
- 6) TANIGUCHI, Y. A. and TAKANO K.: Purification and properties of β -galactosidase from *Tilapia* intestine: Digestive enzyme of *Tilapia*-X, *Fisheries Science*, **70**, 688~694 (2004)
- 7) 高柳一成：薬理学 11.消化器官の生理化学 (南山堂，東京)，p.88 (1998)
- 8) 山田亜樹子・高野克己・鴨居郁三：テラピア胃アミラーゼの精製ならびに性状，日水誌，**62**，269~274 (1996)
- 9) 山田亜樹子・高野克己・鴨居郁三：テラピア胃プロテアーゼの精製ならびに性状，日水誌，**59**，1903~1908 (1993)
- 10) 谷口 (山田) 亜樹子・高野克己・鴨居郁三：テラピア胃リパーゼの精製ならびに性状，日水誌，**67**，96~101 (2001)
- 11) 山田亜樹子・高野克己・鴨居郁三：テラピア腸管アミラーゼの精製ならびに性状について，日水誌，**57**，1903~1909 (1991)
- 12) 山田亜樹子・高野克己・鴨居郁三：テラピア腸管 α -グルコシダーゼの精製ならびに性状，日水誌，**58**，2189~2195 (1992)
- 13) 山田亜樹子・高野克己・鴨居郁三：テラピア腸管プロテアーゼの精製ならびに性状について，日水誌，**57**，1551~1557 (1991)
- 14) 谷口 (山田) 亜樹子・高野克己：テラピア腸管アミノペプチダーゼの精製ならびに性状，日水誌，**68**，382~388 (2002)
- 15) 谷口 (山田) 亜樹子・高野克己：テラピア腸管カルボキシペプチダーゼの精製ならびに性状，日水誌，**67**，1096~1102 (2001)
- 16) 谷口 (山田) 亜樹子・高野克己・鴨居郁三：テラピア腸管リパーゼの精製ならびに性状，日水誌，**67**，78~84 (2001)
- 17) 北御門学・立野新光：ニジマスの消化酵素の研究，日水誌，**26**，691~694 (1960)
- 18) 高橋喬：イカ内蔵の生化学的研究，日水誌，**26**，1006~1009 (1960)
- 19) SANTA, N. and BOTTESCH, A.: Lipases in cultured carp, *Ser. Biol. Animala*, **13**, 143~153 (1961)