

モリアオガエル幼生の皮膚にとり入れられた ^{131}I の分画

越 田 豊

大阪大学理学部生物学教室

昭和 33 年 5 月 16 日 受領

オートラジオグラフィーによつて検出されるアイソトープは、一般に組織内に固定されて不溶性となつたものに限られる。著者は前に両生類幼生の皮膚にとり入れられた ^{131}I の大部分が、エタノールでたやすく抽出されてしまうことを見出した(越田, 1958)。組織中にとり入れられた可溶性 ^{131}I について定量的な知見を得ることは、オートラジオグラフィーを行うための資料としても重要であると思われる。

ここに報告するのは、モリアオガエル幼生に ^{131}I をとり入れさせた時、その皮膚内の ^{131}I の可溶性部分と固定された部分について計数した結果である。

材 料 と 方 法

モリアオガエル *Rhacophorus schlegelii* var. *arborea* Okad et Kawano の幼生(後肢蕾期)を $2.7 \mu\text{Ci/ml}$ の $^{131}\text{I}(\text{Na } ^{131}\text{I})^*$ をふくむ汲置水の中で 24 時間飼育、アイソトープをふくまぬ水で数回洗つて汚染をとりぞいた後、これを 2 群に分ち、1 群はただちに麻酔して皮膚をはぎとつた。他の 1 群はさらに 24 時間アイソトープをふくまぬ水中で飼育後、同様に皮膚をはぎとつた。2.0 g (ほぼ 10 個体に相当)をおのおの 10 ml の無水エタノール、エタノール/エーテル (3:1)、アンモニア性メタノール(アンモニア終濃度 1.2%)で順次 24 時間ずつ抽出した。残渣は 5% ペプシン液 (pH 2.0) で 24 時間 (37°C) 処理、遠沈して上澄を移し取り、沈澱は $\frac{\text{N}}{5}$ NaOH に溶かした (40°C, 24 時間)。抽出液および処理液は計数の直前にそれぞれ全量が 10 ml となるように蒸発分を補つて後、その中よりおのおの 0.5 ml のサンプルをとつて乾燥、G-M 測定を行つた。計数についての考慮は原 (1952) の論文に従つた。

結 果 と 考 察

結果は第 1 表にまとめたようになる。

パラフィン切片によるラジオオートグラフィーでは、標本製作の途中に有機溶媒による抽出は不可避であり、この間に失われる部分についてはあまり考察されていない。これがどの位に達するかを知るためにこの実験を行つたが、結果はいわゆる可溶性部分が意外に多いことが見出された。しかし蛋白にとり入れられて固定されたもの、およびメラニン部分にとり入れられたものは時間が経つに従つて増加するし、可溶性の ^{131}I も一度とり入れられるとかなりよく皮膚中に保持されており、24 時間後でも 80% は残存していることが示された。この実験では 5 フラクシオンに分けたが、エタノール/エーテル抽出はリポイド部分と共に抽出されるものについて、またアンモニア性メタノール抽出はプテリン系化合物の抽出に伴つて出て来るものについて注目するために行つた。これら 3 つのフラクシオンは前報の剥皮標本について行つた実験と対応させるためであり、切片標本について得た結果はすべてこの第 4、第 5 のフラクシオンにふくまれる部分の ^{131}I に関するものであるといえる。

このようなフラクシオンにふくまれる ^{131}I の生理的意義、メラニン部分および蛋白消化液の中にふくまれる ^{131}I が、はじめの 3 つのフラクシオンから徐々にとり入れられて行くものであるか、または甲状腺系を経てとり入れられて行くものであるかについては今後の検討を要する。イモリの成体について行つた予備実験

* 英国放射化学センター製。0.01N チオ硫酸ソーダ中にキャリアー・フリーで Na^{131}I を含む。pH 8-10, 全固形物 $< 0.5 \text{ mg/ml}$, α 活性なし, 有機物なし。

Table I. Amounts of Radioiodine in Five Fractions of Skin (2.0 g)
of *Rhacophorus* Larvae.

Fractions	(1) Immediately after radioiodine treatment		(2) 24 hrs. elapsed after radioiodine treatment	
	cpm	%	cpm	%
(1) Ethanol extract	10,350±114	90.3	8,044±106	86.6
(2) Ethanol/ether extract	284± 23.4	2.5	374± 27.5	4.0
(3) Ammoniacal methanol extract	574± 28.5	5.0	229± 18.9	2.5
(4) Supernatant of pepsin digested fluid	94± 22.6	0.82	285± 26.7	3.1
(5) Residue dissolved in N/5 NaOH (melanin fraction)	163± 25.7	1.4	350± 32.7	3.8
Total	11,463±216	100	9,280±212	100

でも同様の結果がえられている。ただしこの場合は幼生と異なつて皮膚の細胞層が厚く、したがつて蛋白部分が増加することが考えられるが、結果ははたしてモリアオガエル幼生の場合にくらべて第 4 のフラクションの値が大きかつた。第 1 のフラクションの値は小さかつたが、とり入れられた全 ^{131}I の 70% 以上が可溶性部分にふくまれていた。

要 約

(1) オートラジオグラフィーを行うための基礎的な資料の 1 つとして、 ^{131}I をとり入れさせたモリアオガエル幼生の皮膚から、標本製作の途中で失われるアイソトープの量を測定した。

(2) エタノール、エタノール/エーテル、アンモニア性メタノールで順次に抽出すると、 ^{131}I をとり入れさせた直後の幼生の皮膚では摂取した ^{131}I のうちの約 98%、 ^{131}I 処理後 24 時間の幼生では約 93% が抽出された。したがつて蛋白部分に保持されてオートラジオグラフィーにあずかると考えられる ^{131}I は意外に少量であることが示された。

(3) 一度皮膚にとり入れられた ^{131}I は、処理後 24 時間の間に約 20% しか失われていなかった。

終始かわらぬ御指導と御校閲を頂いた佐藤磐根教授および本城市次郎教授、ならびに研究室の方々に心より御礼申上げる。

文 献

原 富 之 '52 生理生態, 5, 31. Koshida, Y. '58 Annota. Zool. Jap., 31, 3.

Résumé

On the Fractionation of Radioiodine in the Skin of *Rhacophorus* Larvae

Yutaka KOSHIDA

Department of Biology, Faculty of Science, Osaka University

Radioiodine taken up into the skin of *Rhacophorus* larvae was fractionated for the purpose of getting fundamental informations on the autoradiography.

昭和 33 年 (1958) 9 月 モリアオガエル幼生にとり入れられた ^{131}I

263

The skin was flaked either immediately after radioiodine treatment (1) or after the animal had been left for 24 hours in inactive water (2). The flaked skin (2.0 g) was extracted successively by ethanol, ethanol/ether and ammoniacal methanol and the residue was digested by pepsin.

It was found that a considerable amount of radioiodine—97% in (1) and 93% in (2)—had been lost during the successive extractions. Beyond our expectation, radioiodine was but little left in the skin prepared for autoradiography, though the amount was enough capable of sensitizing the films.

会 記 I

中国四国支部広島例会

昭和 33 年 6 月 28 日, 広島大学理学部で行われた。

講 演

- 1) カミキリムシ幼生期の形態・習性からみた亜科の類縁関係 (予報) ... 中 村 慎 吾 (広島・上高中)
- 2) 哺乳動物成熟卵子の極性 山 根 甚 信 (広島農業短大)

中国四国支部鳥取例会

昭和 33 年 7 月 6 日, 鳥取県倉吉市保育専門学校で行われた。

講 演

- 1) 中海の遺骸群集 高 橋 稔 (米子・第二中)
- 2) ウナギ養殖池の水かわりの被害と赤潮による被害との類似性 岸 岡 務 (米子・弓浜中)
- 3) メダカの耐塩性についての一考察 高 橋 稔 (米子・第二中)
- 4) 個体群の週期活動 恩 藤 芳 典 (鳥大・学芸・生)

会員 榎並 仁氏 は 5 月 23 日逝去されました。つつしんで哀悼の意を表します。