

オートラジオグラフィによる魚類黒色素胞アドレナリン性 α 受容体の検定

宮田清司, 山田耕司(広島大・理・動物), 小松浩一郎(鶴見大・歯・薬理)

Autoradiographic demonstration of α -adrenergic receptors in fish melanophores

SEIJI MIYATA, KOJI YAMADA, KOICHIRO KOMATSU

魚類黒色素胞のメラノソーム凝集反応は、アドレナリン性 α 受容体刺激を介して起こることが明らかにされている。本実験では α 作動薬の標識化合物、 $[^3\text{H}]$ -paraaminoclonidine ($[^3\text{H}]$ -PAC, 56.5 Ci/mol) を用いたオートラジオグラムにより、黒色素胞における α 受容体の分布を調べた。野生メダカのうろこを用い、10mM EDTA で表皮を除去後、純エタノールで10分固定。凝集状態の黒色素胞は、10 μM ノルアドレナリンで処理後、固定して得た。固定後、36nM $[^3\text{H}]$ -PAC で30分常温で処理し、洗滌後スライドに貼付、乳剤(サクラ NR-M₂)に浸漬後乾燥、4°C で1週間露出現象した。拡散状態の黒色素胞標本では、銀粒子は細胞全面に様に分布し、部位による局在は認められず、平均密度は0.55/ μm^2 であった。1mM 非標識フェントラミン(α 拮抗剤)共存処理した対照標本での非特異的結合による銀粒子の密度は0.12/ μm^2 。従って、0.43/ μm^2 が α 受容体との特異的結合部位と推定される。凝集状態の標本では、銀粒子は細胞中心部(メラノソーム凝集部)にのみ分布し、その密度は拡散時の密度とほぼ等しく、突起部にはほとんど認められなかった。クリオスタットによる凍結切片についてのオートラジオグラムでは、銀粒子は黒色素胞膜上に様に分布するが、凝集黒色素胞では全体標本の場合と同様、銀粒子は細胞中心部にのみ存在し、突起部には認められなかった。本実験の結果は、 α 受容体は黒色素胞表面に均等に分布存在するが、凝集時には突起部の受容体のリガンド結合能が消失したことを示唆する。これが膜構造の変化に基づくものか受容体のリガンドに対する親和性の変化によるものかは今後検討を要する。

タイリクバラタナゴの稚魚における黒色素胞の光に対する反応

太田忠之(愛教大・生物)

Responses of *Rhodeus fry* melanophores to illumination

TADAYUKI OHTA

タイリクバラタナゴの稚魚(媒精後2~4週間、水温25°C)を用い、それらの体表上の黒色素胞に対する光の作用について検討した。ホロスライドガラスに少量の綿を敷き、その上に種々の液に浸した稚魚を横たえ、頭部を黒い布で覆った。顕微鏡の照明装置を利用し、約3,500および20,000ルクスの光を約2mmの光径で局所的に照射した。暗黒下の稚魚の黒色素胞は凝集状態を保った。そこで、淡水あるいは塩類溶液に浸された稚魚における凝集状態の黒色素胞に光を照射した。その結果、照射後20~30秒して顆粒の拡散が起り、黒色素胞は約1分で最大に拡散した。その拡散の程度には個体差がみられた。拡散後、暗黒にすると10分以内で最初の状態近くまで凝集したものと拡散したままのものとがみられた。凝集した黒色素胞は、その後照射・暗黒の繰り返しによって、可逆的に拡散・凝集反応を示した。用いた稚魚は背地反応を示し、黒背地上で拡散した黒色素胞は稚魚をM/7.5KClあるいはアドレナリン水溶液に保つと凝集した。そこで、それらの持続的作用下で凝集状態の黒色素胞に照射・暗黒を繰り返すと、淡水あるいは塩類溶液の場合に比べ拡散度は小さいが、可逆的な拡散凝集反応を示した。次に、暗黒下の稚魚を断頭し、塩類溶液中に保っても黒色素胞は凝集していた。この状態の黒色素胞に照射・暗黒を繰り返したところ黒色素胞は可逆的な拡散・凝集反応を示した。この場合、3,500に比べ20,000ルクスでより顕著であった。以上のことから、バラタナゴの稚魚の黒色素胞は光の直接作用により拡散反応を示し、その反応程度は光の強さに依存することがわかった。