



Title	免疫細胞化学的手法によるレチノクロムのイカ視細胞内局在の研究
Author(s)	福島, 久
Citation	大阪大学, 1981, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/32729
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed をご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

【 9 】

氏名・(本籍)	福 島 久
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	第 5 1 9 1 号
学位授与の日付	昭 和 5 6 年 3 月 2 5 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	免疫細胞化学的手法によるレチノクロムのイカ視細胞内局在の研究
論文審査委員	(主査) 教 授 原 富之 (副査) 教 授 松原 央 教 授 越田 豊 助教授 鬼頭 勇次

論 文 内 容 の 要 旨

頭足類の視細胞には二種類の感光性色素蛋白質が含まれている。一つは視物質ロドプシンで、その発色団は11-cis形であり、感桿を構成する微絨毛膜に含まれている。他の色素は発色団として all-trans形レチナールを持つレチノクロムで、光を吸収するとその発色団は11-cis形にかわる。従って、レチノクロム系は視物質の再生に必要な11-cis形レチナールを供給するものとして重要視されてきた。しかしながら、レチノクロムの視細胞内での機能や所在の詳細についてはなお未知な点が多い。レチノクロムが視細胞内にどのように分布し、どのような構造体上にあるのかという問題は、視細胞の光受容機構に対するその役割を理解するために重要で、本研究ではこの問題を免疫細胞化学的手法で検討した。

まず、スルメイカ (*Todarodes pacificus*) のレチノクロムを視細胞から抽出し、高度に純化して、SDSポリアクリルアミドゲル電気泳動法で単一バンドを示すものを用意し、これを免疫原としてウサギに投与した。得られた抗レチノクロム血清は二重拡散法および二次元免疫電気泳動法により、その特異性が確かめられた。網膜の凍結切片をFITC標識抗レチノクロムIgGと反応させ、レチノクロムの細胞内分布をしらべた。外節基端部と核を除く内節部とに、FITCによる強い緑色蛍光が現われた。黒色色素層より前の外節部分にはレチノクロムは検出されなかった。ところで頭足類の視細胞には、電顕による観察によって、扁平な袋状の膜が多数積み重なった特異な膜構造体の存在することが知られている。ミエロイド小体と呼ばれるこの構造体は、外節基端部と核を除く内節部とに存在するので、上述の結果から、レチノクロムはこの構造体上にあるのではないかと予想された。そこで両者の関連を確かめるべく、下記のように電顕レベルでの検証をおこなった。

視細胞の外節部を除き、内節部からなる網膜を摩砕し、その細胞片をポリ-L-リジンで覆ったガラス片に貼着して試料とした。他方 T₄ ファージ標識抗レチノクロム IgG を用意し、これを試料と反応させたのち、走査型電顕で観察した。透過型電顕での知見により、巾 5 μm で平坦な表面をもち、外縁にふくらみのみられる膜片がミエロイド小体であると判断された。このタイプの膜片にはすべて T₄ ファージが多数に付着していた。ファージの着かなかった膜片がどのような細胞下構造体に由来しているかを断定することは困難であった。ともあれこの実験によって、内節部にあるミエロイド小体の膜表面にはレチノクロムの存在することが明らかとなった。

ところで、レチノクロムは最初外節を除去した網膜が赤く呈色していることから見出されたが、網膜の全面が一様に赤いわけではなくそのほぼ半円だけが赤色を帯び、残りの半円部分はうすい褐色を帯びている。これらの半円はそれぞれ個体の腹側および背側と対応していた。そこで網膜の腹側と背側の半円部分について、レチノクロム含量を比較し、ミエロイド小体との関係を調べた。それぞれの半円部分からジギトニンでレチノクロムを抽出すると、腹側には全体の 70~80% のレチノクロムが偏在していることがわかった。さらに SDS 電気泳動法、二次元免疫電気泳動法でしらべたところ、レチノクロムの蛋白質部分についても腹側の方がより多いという偏りが認められた。次に両半円の中央部分の組織片をとって電顕用に固定包埋し、1 μm 切片を作って糸状に観察されるミエロイド小体を数えた。その数はいずれの切片でもほぼ同じであった。したがって、網膜の腹側と背側とではミエロイド小体の性質に違いのあることが示唆された。

論文の審査結果の要旨

レチノクロムは、視物質ロドプシンとともに、頭足類の視細胞に含まれている感光性色素蛋白質である。この色素の光化学反応や物理・化学的諸性質については既に多くの知見が蓄積され、その結果両色素は、互に共通する発色団レチナールの代謝を通じて、共役して視細胞の光受容機能を司ると考えられるようになった。しかしながら、生体内におけるその実態を理解するには、網膜および視細胞内におけるレチノクロムの分布と座に関する知見はなお不足がちであった。福島君はレチノクロムに関して、免疫細胞化学的方法を中心とする一連の研究を行い、それが細胞内のどのような膜構造と結びついているかを究明した。

まず、スルメイカのレチノクロムを抽出・純化して、SDS-PAGE によって単一バンドを示す試料を作り、これを免疫原として抗レチノクロム血清を得たのち、FITC 標識抗レチノクロム IgG を用意した。これを用いて網膜の凍結切片を染色し、蛍光を観測することにより、レチノクロムはロドプシンの存在する視細胞外節内の感桿部には存在せず、感桿に接する外節基端部およびそれにつづく内節部の細胞質に偏在することが示された。つづいて、T₄ ファージ標識抗レチノクロム IgG を用意し、これを網膜内節部のホモジェネートと反応させ、電子顕微鏡観察による T₄ ファージ検出を行い、多くの細胞下膜構造体のうち、ミエロイド小体に由来する膜片には確実にレチノクロムの存在することが証

明された。云いかえれば、従来機能不明であったミエロイド小体が光受容膜としての性格を備えることが確実となった。なお、同君はレチノクロムおよびミエロイド小体の網膜内分布を比較検討し、イカ網膜が全面に亘って均一な性質をもつものではなく、背側と腹側では性格が異なるなど、興味深い事実をも明らかにした。

以上、網膜内および視細胞内におけるレチノクロムの存在様式に関する一連の研究は、ロドプシンとの関連などその生理学的役割を解明する上に重要な知見をもたらした。従って3部からなる福島君の提出論文は理学博士の学位論文として十分な価値があると認められる。