2P189

海藻味刺激によるアメフラシ CB_M3 ニューロンのスパイク応答

○成末 憲治、長濱 辰文（神戸大・理・生物）

【目的】アメフラシの脳神経節内 M-cluster 領域 ventral 面には口球神経節に軸索を伸ばす 4 個のニューロン細胞体 (CB_M) が存在する。我々は昨年の本学会で、カテコールアミン様物質を含有する CB_M1 が、マクサにより誘発される吐き出し応答の発現に寄与する可能性を示した。そこで今回はこの領域の他の CB_M について、摂食、または吐き出し応答を誘発する海藻の味刺激（アオサ、またはマクサ）に対し、異なる応答性を示すものがあるかを調べた。

【結果】実験では、口唇部への摂食または吐き出し海藻味刺激に対する CB_M のスパイク応答をカルシウムイメージング法を用いて調べた。 Ca^{2+} 感受性色素の導入には、脳神経節と口球神経節を結ぶ神経束（脳-口球連合）の断端から逆行性に導入する Backfill 法、または個々のニューロン細胞体に刺入した微小電極から電気泳動的に導入する Injection 法の 2 種類の手法を用いた。今回の Backfill 法では外科的手術により脳-口球連合断端に色素を充填した導入器を取り付け、3~4 日後に再び解剖して測定用試料を作製し、口唇部への味刺激に対する CB_M のスパイク応答を調べた。施術した動物の 85 個体のうち 78 個体が麻酔から回復し再び行動を開始し、そのうち 36 個体がニューロン細胞体が染色された。このうち GABA 様物質を含有する CB_M3 のスパイク応答を調べたところ ($n=5$)、摂食や吐き出し味刺激に対してどちらもスパイク活動が増大したが、摂食味刺激ではより高頻度でリズムカルなスパイク活動が誘発され、その活動は数十秒間持続した。Injection 法を用いて CB_M3 のスパイク応答を調べたところ ($n=10$)、同様に吐き出し味刺激に比べ摂食味刺激に対して、より高頻度でリズム性のスパイク活動が誘発された。そこで CB_M3 は摂食行動の発現に特に寄与している可能性が示唆された。摂食、吐き出し神経回路網解明のために CB_M3 のさらなる機能解析が必要である。

K. Narusuye and T. Nagahama : Responses of *Aplysia* CB_M3 neuron to taste stimulation of seaweeds

2P191

ホヤ幼生の感覚胞のレーザー破壊と高速 CCD カメラによる行動解析

○合田 宗樹、櫻井 大介、津田 基之（姫路工大・理・生命科学）

脊椎動物の祖先型に近い動物とされるホヤの幼生はヒトの脳と共通の基本設計がみられる。ホヤのオタマジャクシ幼生は、全身で 2600 個程の細胞からなり、頭部における中枢ニューロンに限れば感覚器（平衡器・眼点）を加えても 79 個といたって少数から成り立っている。2 つの感覚器で受容した信号を 25 個の中枢ニューロンからなる後部感覚小胞で情報処理した後、6 個の運動ニューロンで 40 個の尾部の筋肉細胞を駆動し、魚類の最も基本的な遊泳パターン（S 字状運動）を示す。本研究ではホヤ幼生の神経回路網と遊泳行動制御の関連を調べるため、まず黒色色素を有する平衡器と眼点をレーザー照射により破壊した幼生の遊泳行動を解析した。C.elegans などでは、レーザー細胞破壊装置を用いた研究は盛んではあるがホヤの幼生への試みは前例がなく、まずレーザー細胞破壊の際の試料室構築や麻酔条件の検索を行なった。ホヤ幼生における 2 つの感覚胞のうち、後方に位置する眼点は黒色色素を有する眼杯の中に、視細胞の光受容体の位置する微絨毛が存在する。ホヤの幼生はふ化後 4 時間以降 10 時間までは減光により遊泳行動を示す。光応答を確認した幼生を MS222 で麻酔し、径 8 mm 厚さ 150 μ m のセルに封じ込め眼点に種々の強さのレーザー（波長 450 nm）を照射し、10 分以内に海水に戻す。レーザー照射した幼生の光に対する応答を測定したところ、その多くが光応答を失っていた。もう一つの黒色色素は 20 μ m 程度の耳石である。耳石機械受容細胞と共に平衡器の一部となっている。耳石に種々のレーザー強度で照射し高速 CCD カメラ（250 フレーム/秒）で水平方向の遊泳行動を解析した。S 字行動が C 字行動に変化するものも見られたが、基本的な行動形態は変わらないと考えられた。垂直方向の行動変化を解析中である。

M.Gouda, D.Sakurai, M.Tsuda : Motion analysis of ascidian tadpoles by laser ablation experiments and high-speed digital microscopy

2P190

画像不変モーメントの時系列解析によるヒドラのグルタチオン応答の解析

○花井 一光¹、竹山 幸治²、塚田 章²、佐々木 和男²（¹京都府立医大・物理、²富山大・工・電気）

ヒドラが酸性型繊維芽細胞成長因子存在下・非存在下でグルタチオン刺激に応じて引き起こす行動応答を、経時的にテレビカメラを接続した画像キャプチャボードを介してコンピュータに取り込み、解析した。画像の取り込みには NIHImage を利用し、解析には、独自に開発した視覚情報モデルに基づくしきい値選定法を利用したプログラムを利用した。今回は、各画像の画像特徴量として、文字認識などで利用される画像不変モーメントで解析することを試みた。n 次の画像モーメントとは 2 値化された目的画像のすべての画素の座標 x、y について、 $x^p y^q$ ($n=p+q$) を加算したものである。得られたモーメントを並進、大きさに対して不変化するために、座標 x、y は目的画像の重心を原点とするものを利用し、面積（ゼロ次の画像モーメント）の適当なべきの商を利用する。回転に対して不変にするために、こうして得られたモーメントを組み合わせて得られる回転不変量を利用した。4 次までの画像不変モーメント 12 個を各画像について計算し、それらを時系列データとして、文部科学省統計数理研究所で公開されている AR モデルによる時系列解析プログラム ARDock で解析してみた。微量の繊維芽細胞成長因子の存在下（200 例）、非存在下（250 例）で得られた応答を解析してみると、2 次以下の画像不変モーメントのパワースペクトルには顕著な差は見られなかったが、3-4 次のいくつかのモーメントでは差が見られた。画像不変モーメントは複雑な動きをする対象の解析に有用であることが分かった。

K.Hanai, K.Takeyama, A.Tsukada and K.Sasaki : Time series analysis of image invariant moments on the glutathione-induced response of Hydra

2P192

ホヤ幼生の連続明暗刺激に対する鋭敏化と慣れ（2）刺激光強度依存性

○川上 功、吉川 陽、津田 基之（姫路工大・理・生命科学）

ホヤは孵化してから変態までの幼生期、オタマジャクシ型をしており、光、重力等の外環境を感知して、着生場所を求めて遊泳する。我々は、ホヤ幼生の光に対する行動の変化を研究し、1) 孵化後 4 時間目から暗刺激（消光）による遊泳行動が現れ、8 時間目に最大に、10 時間目には着生に伴い減少すること、2) その作用スペクトルは脊椎動物ロドプシンの吸収スペクトルと良い相関性があることを示した。3) また、明暗刺激を連続で与えると、孵化後 2 時間から 4 時間の幼生では、初回の明暗刺激には応答しないが、刺激を重ねてゆくに従い応答が現れる「鋭敏化」が見られ、孵化後 5 時間以後の幼生では、刺激を重ねてゆくと、明刺激による遊泳速度の減少・停止が起きにくくなる「明刺激に対する慣れ」が見られる。今回、この鋭敏化と慣れの現象について、刺激に用いる光（波長 490 nm）の強度を 1300 $\text{erg/cm}^2 \cdot \text{sec}$ から、1/2、1/4、1/8、1/16、1/32、1/64、と減光してゆき、その光強度依存性を調べた。鋭敏化は光強度 320 $\text{erg/cm}^2 \cdot \text{sec}$ 以上、慣れは 160 $\text{erg/cm}^2 \cdot \text{sec}$ 以上で観察された。また鋭敏化については、孵化後 3、4 時間の幼生に、強い白色光 ($5.0 \times 10^4 \text{ erg/cm}^2 \cdot \text{sec}$) による刺激を与えた後、単独では反応を示さない弱い光刺激 (80 $\text{erg/cm}^2 \cdot \text{sec}$, 490 nm) に対し応答が現れるかどうかを調べた。幼生は、白色光による強い刺激を受けると、その 30 sec 後に与えた弱い光刺激に対し応答するようになった。以上の結果から、ホヤ幼生は明暗刺激に対し、鋭敏化、慣れ行動を示し、これらはある一定の光強度以上から現れる事が示唆される。

I.Kawakami, A.Yosikawa and M.Tsuda : Sensitization and habituation of ascidian tadpole larvae to repeated light-dark stimuli