

トランプサンショウウオ網膜錐体の細胞内 pH 調節

高 橋 恭 一

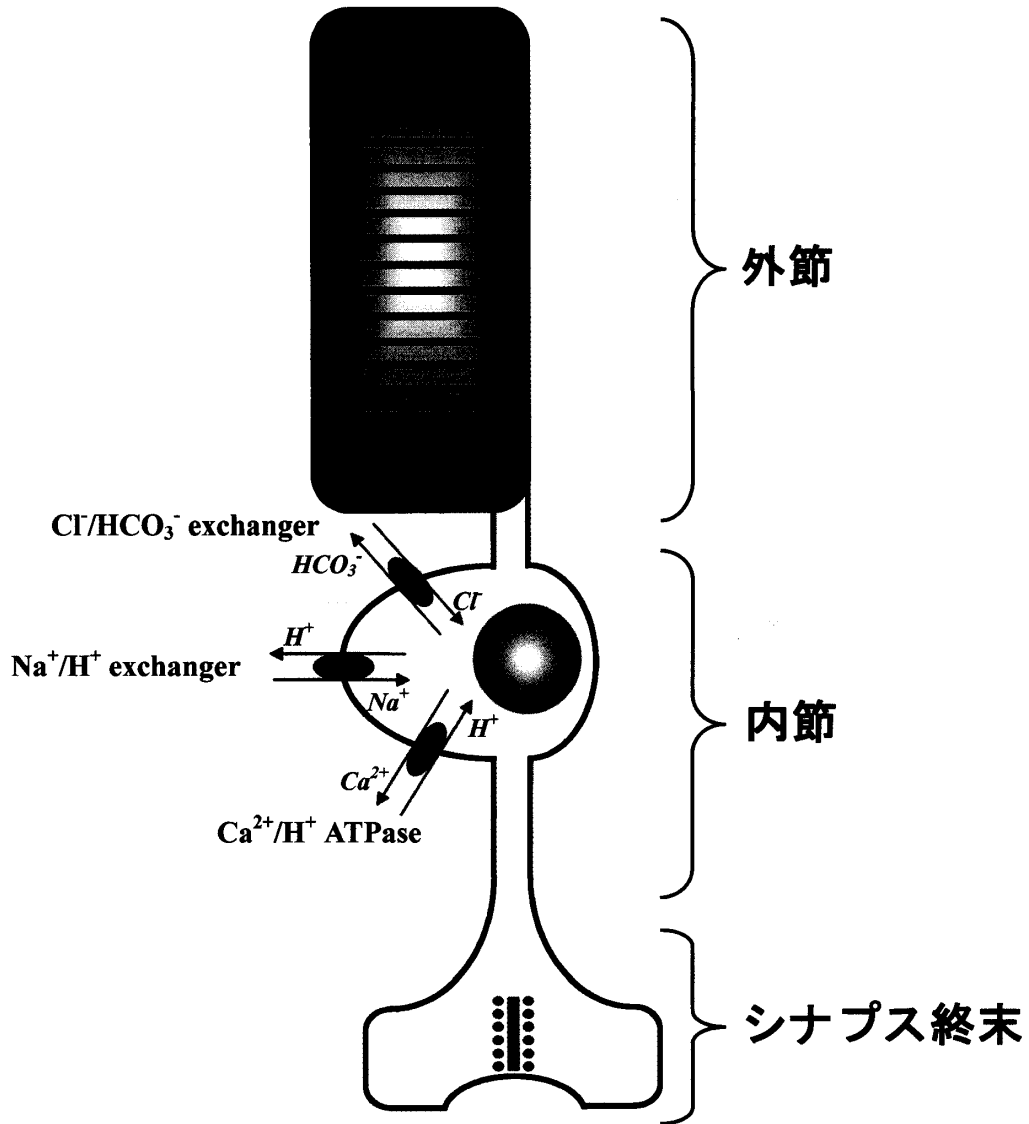
(受付 2002 年 5 月 7 日)

序 論

脊椎動物網膜視細胞は、機能的・形態的に大きく異なる 2 種類（錐体と桿体）に分類される。錐体は光に対する感受性が低く昼間の視覚に、また桿体は感受性が高く薄明（夕方及び夜間）の視覚に役立っている。錐体では、外節の形質膜が内側に折り畳まれ層状構造を形成し、この層状構造に錐体視物質が存在している。一方、桿体では、外節内に二重膜円盤が数百枚以上重なり層状構造を形成し、この円盤膜（形質膜との物理的な繋がりはない）上にロドプシン（桿体視物質）が存在している。

視物質が光を受容するメカニズムに関しては、桿体でよく調べられている。光が桿体外節内の円盤膜に存在するロドプシンにヒットすると、ロドプシンはフォトロドプシン→バソロドプシン→ルミロドプシン→メタロドプシン I→メタロドプシン II へと変化する。メタロドプシン II はトランスデューシンを、そしてトランスデューシンはホスホジエステラーゼを活性化する。この結果、細胞質の cyclic Guanosine 3', 5'-monophosphate (cGMP) は Guanosine 5'-monophosphate に分解され、一連の光化学反応は終了する（例えば、Kawamura, 1993, 1994）。桿体外節の形質膜内側（細胞質側）には、cGMP の結合に伴い開口するナトリウムチャンネル（cGMP 依存性イオンチャンネルと呼ばれる）が存在する。暗時には大量の cGMP が細胞質に存在するため、cGMP 依存性イオンチャンネルが開口している。この結果、ナトリウムイオン (Na^+) は電気化学的勾配に従い細胞外から内に流入し、桿体は脱分極する。光受容に伴い細胞質の cGMP 濃度が減少すると、このチャンネルは閉塞し、 Na^+ の流入が減少あるいは消失するため、桿体は過分極する（例えば、Pugh & Lamb, 1990, 1993; Kawamura, 1993, 1994）。錐体でも、桿体と同様のメカニズムで光信号が膜電位変化に変換されると考えられている（Haynes & Yaw, 1985; Watanabe & Murakami, 1991; Picones & Korenbrot, 1994）。

視細胞外節で発生した膜電位変化は、内節に存在するカルシウムチャンネル、h（内向き整流性陽イオン）チャンネル、カルシウム依存性カリウムチャンネル、カルシウム依存性クロライドチャンネルによる修飾（Bader *et al.*, 1979; Attwell & Wilson, 1980; Fain *et al.*, 1978a, 1978b, 1980a, 1980b; Takahashi, 1986; Barnes, 1994）を受け、シナプス終末に伝導される。シナプ



第1図 脊椎動物網膜桿体形質膜に発現する細胞内 pH 調節機構

脊椎動物網膜の桿体は、薄明視（夕方及び夜間の視覚）に関与している。桿体は、外節、内節及びシナプス終末の3つの部位からなる。光受容装置として機能するのは、外節のみである。桿体外節では細胞内に非常に薄い二重膜円盤が浮かんでおり、これが数百枚以上積み重なり層状構造を形成している。この円盤膜（形質膜との物理的な繋がりはない）に、ロドプシン（桿体視物質）が局在する。桿体の場合、ロドプシンに光が当たると、フォトロドプシン→バソロドプシン→ルミロドプシン→メタロドプシンⅠ→メタロドプシンⅡという中間体を経て、オールトランス型レチナール+オプシンにまで分解される。メタロドプシンⅡはトランスデューシン（GTP結合タンパク質）を活性化し、次にホスホジエステラーゼを活性化する。このホスホジエステラーゼは、細胞内のcGMPを5'GMPに分解する。桿体外節の形質膜にはcGMP依存性イオンチャネル（Na⁺を選択的に透過させるイオンチャネル）が存在し、このチャネルは細胞内cGMPの増減により開閉する。暗時（細胞内cGMPが多量に存在する状態）にはチャネルが開いており、電気化学勾配に従いNa⁺が細胞内に流入するため、桿体は脱分極している。光受容に伴い細胞内cGMP濃度が減少すると、このチャネルは閉塞し、Na⁺の細胞内への流入が減少するため桿体は過分極する。桿体でのエネルギー産生に伴う細胞内のH⁺濃度上昇を抑えるため、細胞内液のpH緩衝作用と形質膜に発現するpH調節機構（Na⁺/H⁺ exchanger, HCO₃⁻/Cl⁻ exchanger および Ca²⁺/H⁺ ATPase）が重要な役割を果たしている（Katz & Oakley, 1990; Saarikoski *et al.*, 1997; Krizaj & Copenhagen, 1998）。

ス終末では、この膜電位変化に応じた量の伝達物質（L-グルタミン酸）が放出される（Trifonov, 1968; Miller & Schwartz, 1983; Murakami & Takahashi, 1987, 1988; Takahashi & Murakami, 1987, 1991; Copenhagen & Jahr, 1989; Ayoub *et al.*, 1989; Murakami *et al.*, 1995）。視細胞からの伝達物質放出は中枢神経系シナプスでの放出機構と同じであり、脱分極（視細胞では暗時）で増加し、過分極（視細胞では明時）で減少する（例えば、Copenhagen & Jahr, 1989）。

視細胞は、網膜内で最もエネルギーを消費する細胞である。このエネルギーは、好氣的解糖作用を経て産生される。このエネルギー産生の副産物として水素イオン（ H^+ ）が細胞内に増大する。これを防ぐため、桿体には細胞内から H^+ を積極的に排出するメカニズム（ Na^+/H^+ exchanger, HCO_3^- [重炭酸イオン]/ Cl^- [クロライドイオン] exchanger および Ca^{2+} [カルシウムイオン]/ H^+ ATPase）が備わっている（第 1 図参照）（Katz & Oakley, 1990; Saarikoski *et al.*, 1997; Krizaj & Copenhagen, 1998）。錐体にも桿体と同様のメカニズムが備わっていると考えられているが、その詳細は不明である。

近年、細胞内 H^+ は視細胞の光-電気変換機構に影響するのみならず、各種イオンチャネル活性を修飾することも報告され、細胞内 Ca^{2+} と同様に生理機能調節に必須の因子であることが明らかになってきた（例えば、Liebman *et al.*, 1984; Dixon *et al.*, 1993; Kaila, 1994; Picco *et al.*, 1996）。本研究では、解析が未だ行われていない錐体に着目し、この細胞の細胞内 pH 調整機構を調べた。

実験材料と方法

実験には、体長約 25 cm~35 cm の幼生期のトランプサンショウウオ（*Ambystoma tigrinum*）を用いた。トランプサンショウウオを約 2 時間暗順応した後、低温麻酔下で断頭し、眼球を摘出した。前眼部、水晶体及び硝子体を除去した後、網膜を剥離した。剥離網膜は 2 mm 角に切断し、Papain 処理して視細胞を単離した（Tachibana, 1981）。Concanavalin A を塗布した円型（直径 12 mm）のカバーガラス上に視細胞の浮遊したリンガー液を置き、細胞がカバーガラスに付着したのを確認し、実験を開始した。断頭以降の手術と単離操作は、室内灯による照明下で行った。このため、視細胞外節の cGMP 依存性イオンチャネルは完全に閉塞していると推測される。

トランプサンショウウオ網膜の視細胞は、形態学的に桿体 2 種類と錐体 4 種類に分類されている（Mariani, 1986）。細胞の大きさや形態的特長から、網膜から単離した視細胞の分類は容易であった。本実験では、桿体（Red rod）とサイズの大きな錐体（Large single cone）を使用した。視細胞の付着したカバーガラスを倒立顕微鏡（TMD, Nikon）ステージ上に装着した

記録槽内に置き、リンガー液を細胞から約 200 μm の距離に置いた Y-tube (直径 150 μm) を用いて灌流し、実験した。

トラフサンショウオ用正常リンガー液の組成は、97.0 mM 塩化ナトリウム (NaCl), 2.0 mM 塩化カリウム (KCl), 2.0 mM 塩化カルシウム (CaCl_2), 2.0 mM 塩化マグネシウム (MgCl_2), 1.0 mM ピルビン酸ナトリウム, 0.3 mM アスコルビン酸, 0.5 mM グルタチオン, 20.0 mM ブドウ糖 (Glucose), 10.0 mM *N*-2-Hydroxyethylpiperazine-*N'*-2-ethanesulfonic acid (HEPES) であった。細胞内 pH (H^+ 濃度) を変化させるため、20 mM の塩化アンモニウム (NH_4Cl) をリンガー液に添加し用いた (アンモニウムリンガー液)。リンガー液中の NH_4Cl はアンモニウムイオン (NH_4^+) とクロライドイオン (Cl^-) に解離する。さらに、 NH_4^+ はアンモニア (NH_3) と H^+ に解離する。 NH_4^+ と NH_3 は細胞内に移動し、 NH_3 は H^+ と反応して NH_4^+ を形成する。この結果、細胞内はアルカリ化する。 NH_4Cl を洗い流すと、細胞内形成された NH_4^+ と最初に細胞内に入った NH_4^+ は解離し、 NH_3 と H^+ になる。 NH_4^+ は細胞内で形成された量と最初に細胞内に入った量の和であるから、 H^+ の量はアンモニウムリンガー液灌流前よりも多くなる。この結果、細胞内は酸性化する。また、 NH_3 は細胞外に排出される。このアンモニウムリンガー液の組成は 77.0 mM NaCl, 20.0 mM NH_4Cl , 2.0 mM KCl, 2.0 mM CaCl_2 , 2.0 mM MgCl_2 , 1.0 mM ピルビン酸ナトリウム, 0.3 mM アスコルビン酸, 0.5 mM グルタチオン, 20.0 mM Glucose, 10.0 mM HEPES であった。必要に応じて、正常リンガーの NaCl を *N*-methyl-D-glucamine-Cl (NMDG-Cl) に置換し、 Na^+ -free リンガー液を作成し、灌流した。何れのリンガー液も、1N-水酸化ナトリウムあるいは 1N-水酸化カリウムを用いて pH7.6 に調整し、用いた。Amiloride は浸透圧を考慮せずに、これらリンガー液に添加し、Y-tube で投与した。

単離した錐体の細胞内 pH 測定には、pH 感受性蛍光色素である 2',7'-bis-(2-carboxyethyl)-5-(and6) Carboxyfluorescein, acetoxymethyl ester (BCECF-AM) を用いた。BCECF-AM (5 μM) を含むリンガー液中に視細胞 (桿体および錐体) を 5 分間放置し、その後リンガー液で洗い流した。約 40 分後 pH 測定を開始した。測定は視細胞内節の中心部分の直径 30 μm の円形部で行った。バンドパスフィルターを用いて 440 nm (Omega Optical, Inc.) と 490 nm (Omega Optical, Inc.) の波長光を 200 msec 間視細胞に照射し、励起された蛍光から 535 nm (Omega Optical, Inc.) の単色光だけを冷却デジタル CCD カメラ (Photometrics, Inc.) で積算・検出し、コンピュータ上のソフトウェア (Metafluor; Universal Imaging Co.) を用いて比を求め、細胞内 pH の指標とした。比の増大はアルカリ化、減少は酸性化であった。実験終了後、nigericin 法を用いて比を細胞内 pH に換算した。データ処理には、Excel 2002 (Microsoft Co.) を用いた。

薬品類の多くは、Sigma Chemical Co. から購入した。Papain は Worthington Biochemi-

cal Co. から、BCECF-AM 及び nigericin は Molecular Probes, Inc. から購入した。

実験結果

視細胞の細胞内 pH

脊椎動物桿体の形質膜には Na^+/H^+ exchanger, $\text{HCO}_3^-/\text{Cl}^-$ exchanger および $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$ ATPase が発現し、細胞内 pH 調節に与っていることが明らかとなっている (Katz & Oakley, 1990; Saarikoski *et al.*, 1997; Krizaj & Copenhagen, 1998)。本実験では、リンガー液の pH 緩衝剤として HEPES のみを使用しているため、リンガー液中の二酸化炭素 (CO_2) と HCO_3^- の濃度は非常に低く、 $\text{HCO}_3^-/\text{Cl}^-$ exchanger が細胞内 pH 調節に関与している可能性は殆ど無い。また、単離した視細胞の膜電位は -60 mV 付近にある (Krizaj, personal communication) ため、カルシウムチャネルの活性化は起こらず、細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇が生じる可能性は極めて低い。従って、 $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$ ATPase が細胞内 pH 調節に関与していると考えるのは難しい。これらを総合すると、本実験条件下では、 Na^+/H^+ exchanger だけが細胞内 pH 調節機構として機能していると推測される。

正常リンガー液中で、桿体の細胞内 pH は 7.02 ± 0.16 (平均 \pm 標準偏差, 細胞数 [n]=14) であった。また、錐体の細胞内 pH は 7.07 ± 0.06 (n=36) であった。桿体と錐体には機能的・形態的に大きな差異があるにもかかわらず、静止時の細胞内 pH に顕著な変化は認められなかった。

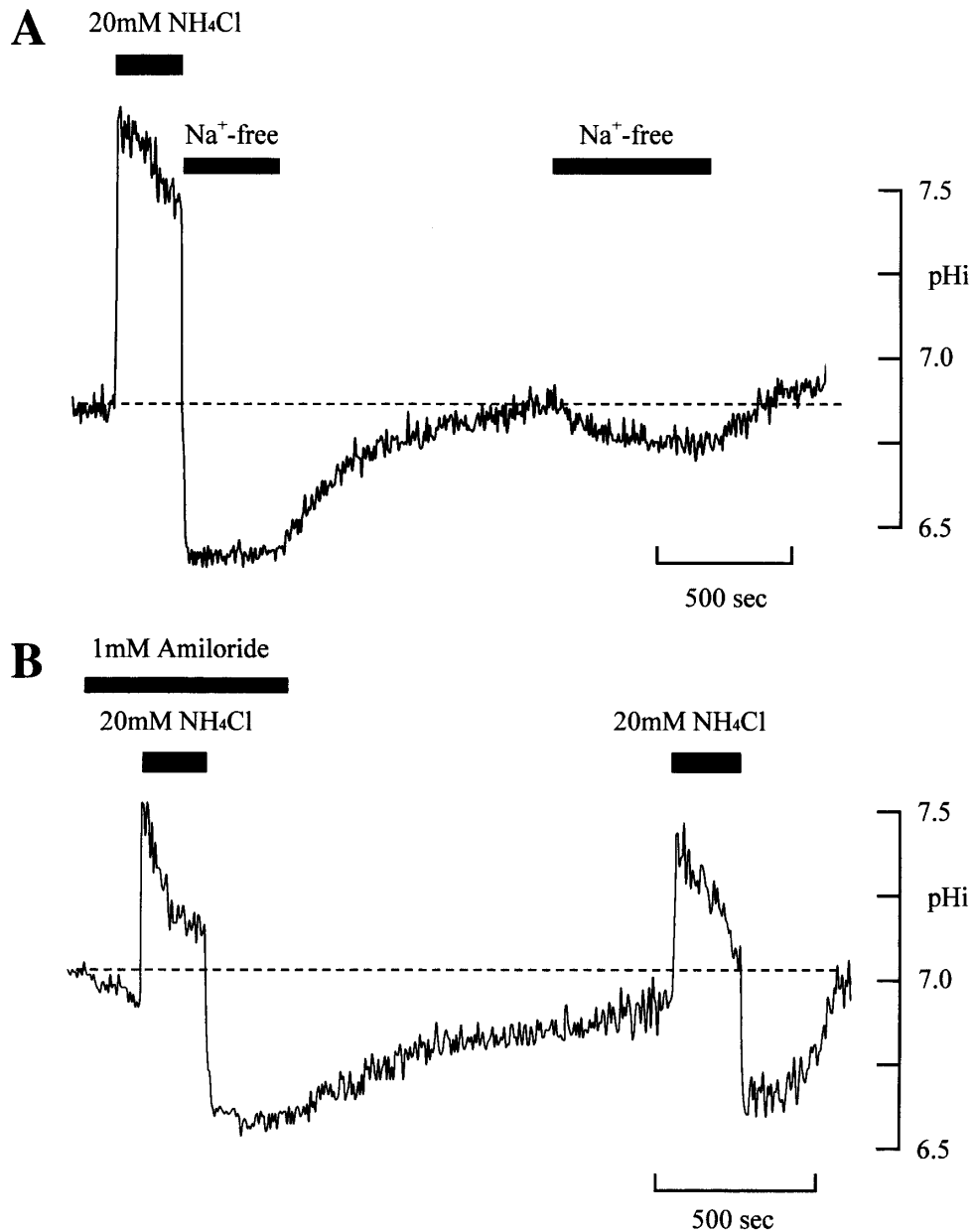
以上の結果は、桿体と錐体が同一のメカニズムによって細胞内 pH を調節していることを示唆している。

桿体の細胞内 pH 調節機構

本実験条件下で、トラフサンショウウオ網膜ミユラー細胞の細胞内 pH 調節機構として、 Na^+/H^+ exchanger が機能していることを確かめるため、以下の実験を行った。

桿体を灌流する細胞外液を正常リンガー液からアンモニウムリンガー液に交換すると、細胞内 pH は約 0.65 上昇 (アルカリ化) した。4 分後、アンモニウムリンガー液を Na^+ -free リンガー液に交換すると、細胞内 pH は直ちに低下 (酸性化) し、このレベルで維持された (第 2 図 A)。 Na^+ -free リンガー液を正常リンガー液に戻すと、細胞内 pH はゆっくりと元のレベルへと向かった。細胞内 pH が元のレベルに回復した後、正常リンガー液を Na^+ -free リンガー液を置換すると、細胞内 pH は低下した。9 分後、 Na^+ -free リンガー液を正常リンガー液に戻すと、直ちに回復した。

Na^+ 除去による効果が Na^+/H^+ exchanger の阻害によるのかどうかを明らかにするため、



第2図 サンショウウオ網膜桿体の細胞内 pH 調節

A: 正常リンガー液をアンモニウムリンガー液に交換し灌流すると、細胞内 pH は約0.65ユニット上昇した。アンモニウムリンガー液を Na⁺-free リンガー液に交換すると、細胞内 pH は急速に低下（酸性化）し、このレベルで維持された。Na⁺-free リンガー液を正常リンガー液に戻すと、細胞内 pH はゆっくりと元のレベルに回復した。細胞内 pH レベルが元のレベルにまで回復した後、Na⁺-free リンガー液を灌流すると、細胞内 pH は低下した。正常リンガー液に戻すと、速やかに元の細胞内 pH レベルへと回復した。B: 正常リンガー液に Amiloride (1 mM) を添加し灌流投与すると、細胞内 pH は速やかに低下し始めた。Amiloride を含む正常リンガー液を Amiloride を含むアンモニウムリンガー液に交換すると、細胞内 pH は約0.5ユニット上昇した。Amiloride を含むアンモニウムリンガー液から Amiloride を含む正常リンガー液に戻すと、速やかに細胞内は酸性化したが、酸性化からの回復は認められなかった。Amiloride を除去すると、細胞内 pH はゆっくりと回復した。同じ実験を、Amiloride が存在しない条件で実施した。アンモニウムリンガー液から正常リンガー液に戻した後の酸性化からの回復は、速やかであった。以上の結果は、桿体の細胞内 pH 調節に Na⁺/H⁺ exchanger が機能していることを示している。

Amiloride (Na^+/H^+ exchanger の阻害剤) (1 mM) の影響を調べた (第 2 図 B)。正常リンガー液に Amiloride (1 mM) を添加し灌流投与すると、細胞内 pH は速やかに低下し始めた。このとき、Amiloride を含む正常リンガー液を Amiloride を含むアンモニウムリンガー液に交換すると、細胞内 pH は約 0.5 ユニット上昇した。Amiloride を含むアンモニウムリンガー液から Amiloride を含む正常リンガー液に戻すと、細胞内 pH は直ちに低下 (酸性化) した。この酸性化は、Amiloride が存在する限り持続した。Amiloride を除去すると、ゆっくりと回復に向かった。同じ実験を、Amiloride が存在しない条件で実施した。アンモニウムリンガー液から正常リンガー液に戻した後、酸性化からの回復は速やかであった。

以上の結果は、これまでの報告どおり、桿体には Na^+/H^+ exchanger が存在し、細胞内 pH 調節に関与していることを示している。

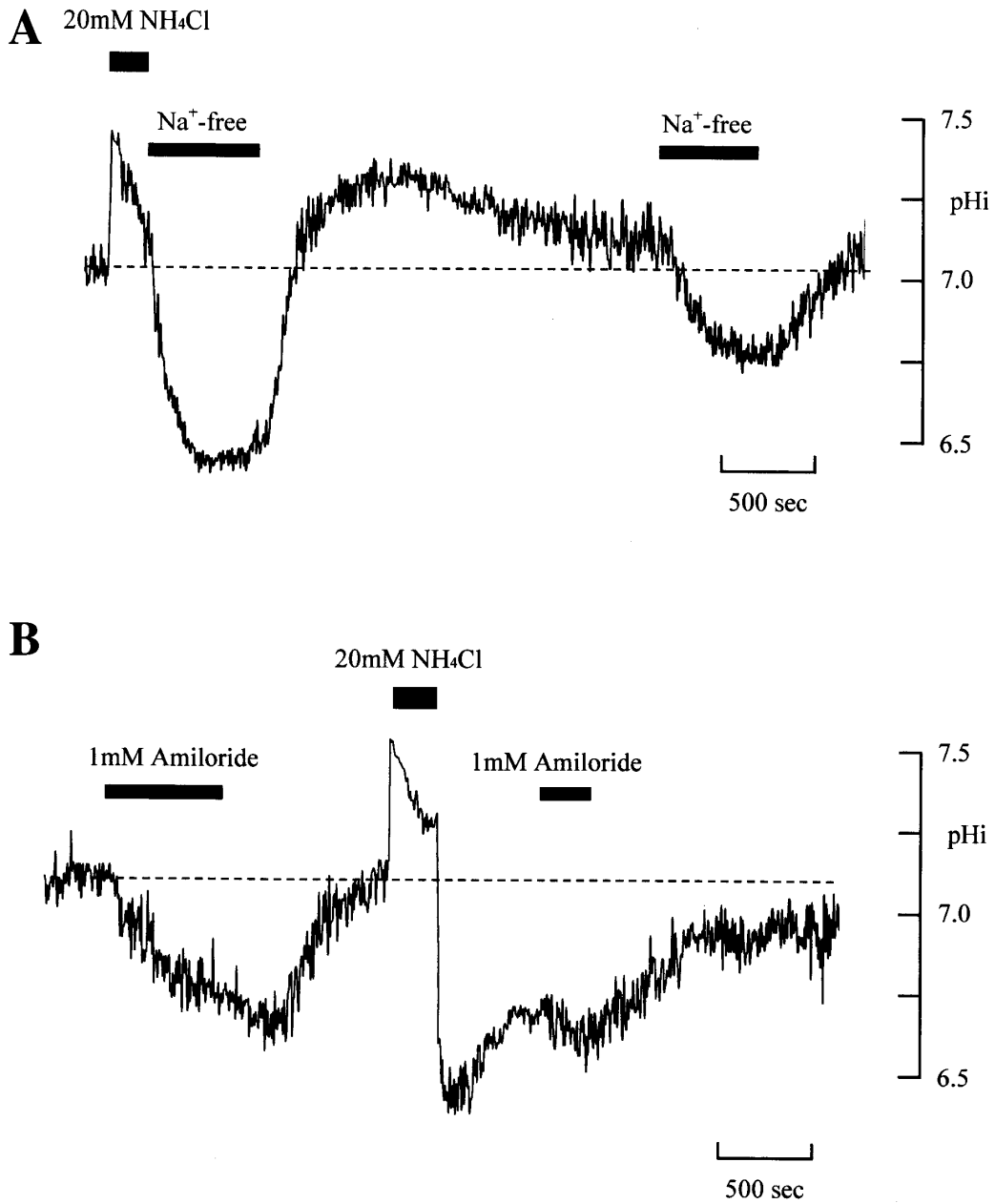
錐体の細胞内 pH 調節機構

既述したように、単離した桿体と錐体の細胞内 pH に大きな差異は認められなかった。この結果は、両視細胞が同じメカニズムによって細胞内 pH を調整していることを示唆している。桿体で実施した実験 (第 2 図) のとはほぼ同様の実験を錐体でも実施し、 Na^+/H^+ exchanger が機能しているのかどうかを調べた (第 3 図 A と B)。

正常リンガー液をアンモニウムリンガー液に交換し灌流すると、錐体はアルカリ化した。アンモニウムリンガー液を Na^+ -free リンガー液に交換すると、細胞内 pH は低下 (酸性化) し、このレベルで維持された (第 3 図 A)。 Na^+ -free リンガー液を正常リンガー液に戻すと、細胞内 pH はゆっくりと元のレベルへと回復した。この錐体では元のレベルを凌駕する pH まで上昇し、ゆっくりと元のレベルへと回復した。細胞内 pH レベルが元のレベルに回復した後、 Na^+ -free リンガー液を灌流すると細胞内 pH は低下し、正常リンガー液に戻すと元のレベルまで速やかに回復した。

Na^+ 除去による効果が Na^+/H^+ exchanger の阻害によるのかどうかを明らかにするため、Amiloride (Na^+/H^+ exchanger の阻害剤) (1 mM) の影響を調べた (第 3 図 B)。正常リンガー液に Amiloride を添加し灌流投与すると、細胞内 pH は速やかに低下 (酸性化) した。これを洗い流すと、元のレベルにまで回復した。細胞外液を正常リンガーからアンモニウムリンガー液に交換すると細胞内 pH は上昇 (アルカリ化) し、正常リンガー液に戻すと急速に酸性化した。酸性化からの回復途中、Amiloride を添加すると、回復が停止し、酸性化した。Amiloride を洗い流すと、回復へと転じた。

以上の結果は、錐体でも細胞内 pH 調節に Na^+/H^+ exchanger が機能していることを示している。



第3図 サンショウウオ網膜錐体の細胞内 pH 調節

A: 正常リンガー液をアンモニアリンガー液に交換し灌流すると、細胞内 pH は約0.35ユニット上昇した。アンモニウムリンガー液を Na⁺-free リンガー液に交換すると、細胞内 pH は低下（酸性化）し、このレベルで維持された。Na⁺-free リンガー液を正常リンガー液に戻すと、細胞内 pH は元のレベルを凌駕する pH まで上昇し、ゆっくりと元のレベルへと回復した。細胞内 pH レベルが元のレベルにまで回復した後、Na⁺-free リンガー液を灌流すると、細胞内 pH は低下し、正常リンガー液に戻すと元のレベルにまで回復した。B: 正常リンガー液に Amiloride (1 mM) を添加し灌流投与すると、細胞内 pH は速やかに低下し、これを洗い流すと元のレベルにまで回復した。次に、正常リンガー液をアンモニウムリンガー液に交換し灌流すると、細胞内 pH は約0.4ユニット上昇した。正常リンガー液に戻すと、錐体は速やかに酸性化し、その後ゆっくりと回復した。回復途中、Amiloride を添加すると、細胞内 pH の回復が停止し、酸性化した。Amiloride を洗い流すと、細胞内 pH は上昇し始め、15分に元のレベルに戻った。以上の結果は、錐体の細胞内 pH 調節に Na⁺/H⁺ exchanger が機能していることを示している。

考 察

エネルギー産生により細胞内が酸性化することはよく知られている。この酸性化を防ぐため、細胞内液は強い pH 緩衝作用を持ち、また形質膜は Na^+/H^+ exchanger, $\text{HCO}_3^-/\text{Cl}^-$ exchanger, Na^+ 依存性 $\text{HCO}_3^-/\text{Cl}^-$ exchanger あるいは $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$ cotransporter などの細胞内 pH 調整機能を備えている (例えば, Moody, 1984; Kaila, 1994)。中でも, Na^+/H^+ exchanger は総ての動物細胞に普遍的に存在する細胞内 pH 調整機構である。

脊椎動物網膜の視細胞は暗時に cGMP 依存性イオンチャネルが開口し, Na^+ が細胞内に流入するため, 細胞内に Na^+ が蓄積する。 Na^+ を細胞内から排出するため, Na^+/K^+ (カリウムイオン) pump が機能している。この pump は濃度勾配に逆らってそれぞれのイオンを交換輸送するため, 生体エネルギーである Adenosine triphosphate (ATP) を必要としている。ATP を産生する際, 細胞内に H^+ が増え, 結果として細胞内は酸性化する。この酸性化を防ぐため, 脊椎動物の桿体では Na^+/H^+ exchanger が機能し, 細胞内の H^+ を積極的に排出している (Katz & Oakley, 1990)。これ以外に, 細胞内 pH 調節機構として $\text{HCO}_3^-/\text{Cl}^-$ exchanger と $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$ ATPase が機能していることも明らかとなっている (Saarikoski *et al.*, 1997; Krizaj & Copenhagen, 1998)。錐体でも同様のメカニズムが機能していると考えられているが, これを証明する研究は未だ行われていない。本研究では錐体の細胞内 pH 調節機構を調べ, 桿体と同様に Na^+/H^+ exchanger が機能していることを見出した。

Saarikoski *et al.* (1997) は, リンガー液の pH 緩衝剤として HEPES に加え, HCO_3^- と $98\% \text{O}_2/2\% \text{CO}_2$ の混合ガスを用いた。このリンガー液中で, サンショウウオ (*Ambystoma mexicanum*) 網膜桿体の pH は 7.09 ± 0.02 ($n=46$) であった。この値は, リンガー液の pH 緩衝剤として HEPES のみを用いた本実験において測定された桿体の 7.02 ± 0.16 ($n=14$) および錐体の 7.07 ± 0.06 ($n=36$) と概ね一致していた。Saarikoski *et al.* (1997) と本実験とでは pH 緩衝条件が異なるにもかかわらず, 測定値に差異が認められないのは, 静止時の細胞内 pH 調節に Na^+/H^+ exchanger が中心的な役割を果たしており, $\text{HCO}_3^-/\text{Cl}^-$ exchanger や $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$ ATPase の貢献が小さいためと考えられる。

今後, 錐体に Na^+/H^+ exchanger 以外にどのような細胞内 pH 調節機構が存在しているのかを, さらに詳細に解析していく必要がある。

引用文献

- Attwell, D., and Wilson, M. (1980), Behaviour of the rod network in the tiger salamander mediated by membrane properties of individual rods, *J. Physiol. (Lond.)*, **309**: 287–315.
- Ayoub, G. S., Korenbrot, J. and Copenhagen D. R. (1989), Release of endogenous glutamate from isolated cone photoreceptors of the lizard, *Neurosci. Res.*, **Suppl. 10**: 47–57.
- Bader, C. R., Macleish, P. R. and Schwartz, E. A. (1979), A voltage clamp study of the light response in solitary rods of the tiger salamander, *J. Physiol. (Lond.)*, **296**: 1–26.
- Barnes, S (1994), After transduction: Response shaping and control of transmission by ion channels of the photoreceptors inner segment, *Neuroscience*, **3**: 447–459.
- Copenhagen, D. R. and Jahr, C. E. (1989), Release of endogenous excitatory amino acids from turtle photoreceptors, *Nature*, **341**: 536–539.
- Dixon, D. B., Takahashi, K.-I. and Copenhagen, D. R. (1993), Glutamate suppresses HVA calcium currents in catfish horizontal cells by raising intracellular proton concentration, *Neuron*, **11**: 267–277.
- Fain, G. L., Gerschenfeld, H. M. and Quandt, F. N. (1980a), Calcium spikes in the toad rods, *J. Physiol. (Lond.)*, **303**: 495–513.
- Fain, G. L. and Quandt, F. N. (1980b), The effects of tetraethylammonium and cobalt ions on responses to extrinsic current in the toad rods, *J. Physiol. (Lond.)*, **303**: 515–533.
- Fain, G. L., Quandt, F. N., Bastian, B. L. and Gerschenfeld, H. M. (1978a), Contribution of a caesium sensitive conductance increase to the rod photoreceptors, *Nature*, **272**: 467–469.
- Fain, G. L., Quandt, F. N. and Gerschenfeld, H. M. (1978b), Calcium-dependent regenerative responses in rods, *Nature*, **269**: 707–710.
- Haynes, L. W. and Yaw, K.-W. (1985), Cyclic GMP-sensitive conductance in outer segment membranes of catfish cones, *Nature*, **317**: 61–64.
- Kaila, K. (1994), Ionic basis of GABA_A receptor channel function in the nervous system, *Prog. Neurobiol.*, **42**: 489–537.
- Kawamura, S. (1993), Molecular aspects of photoreceptor adaptation in vertebrate retina, *Int. Rev. Neurobiol.*, **35**: 43–86.
- Kawamura, S. (1994), Photoreceptor light-adaptation mediated by S-modulin, a member of a possible regulatory protein family of protein phosphorylation in signal transduction, *Neurosci. Res.*, **20**: 293–298.
- Katz, B. J. and Oakley, B. (1990), Evidence for Na⁺/H⁺ exchanger in vertebrate rod photoreceptors, *Exp. Eye Res.*, **51**: 199–207.
- Krizaj, D. and Copenhagen, D. R. (1998), Compartmentalization of calcium extrusion mechanisms in the outer and inner segments of photoreceptors, *Neuron*, **21**: 249–256.
- Liebman, P. A., Muller, P. and Pugh, E. N. (1984), Protons suppress the dark current of frog retinal rods, *J. Physiol. (Lond.)*, **347**: 85–110.
- Mariani, A. P. (1986), Photoreceptors of the larval tiger salamander retina, *Proc. R. Soc. Lond. B*, **227**: 483–492.
- Miller, A. M. and Schwartz, E. A. (1983), Evidence for the identification of synaptic transmitters released by photoreceptors of the toad retina, *J. Physiol. (Lond.)*, **334**: 325–349.
- Moody, W. Jr. (1984), Effects of intracellular H⁺ on the electrical properties of excitable cells, *Ann. Rev. Neurosci.*, **7**: 257–278.
- Murakami, M. and Takahashi, K.-I. (1987), Calcium action potential and its use for measurement of reversal potentials of horizontal cell responses in carp retina, *J. Physiol. (Lond.)*, **386**: 165–180.
- Murakami, M. and Takahashi, K.-I. (1988), Calcium action potentials in retinal cells of the carp, *Neurosci. Res.*, **Suppl. 8**: 137–149.
- Murakami, M., Miyachi, E.-I. and Takahashi, K.-I. (1995), Modulation of gap junctions between horizontal cells by second messengers, *Prog. Ret. Eye Res.*, **14**: 197–221.

- Picones, A. and Korenbrot, J. I. (1994), Analysis of fluctuations in the cGMP-dependent currents of cone photoreceptor outer segments, *Biophys. J.*, **66**: 360–365.
- Picco, C., Sanfilippo, C., Gavazzo, P. and Menini, A. (1996), Modulation of internal protons of native cyclic nucleotide-gated channels from retinal rods, *J. Gen. Physiol.*, **108**: 265–276.
- Pugh, E. N. Jr. and Lamb, T D. (1990), Cyclic GMP and calcium: The internal messengers of excitation and adaptation in vertebrate photoreceptors, *Vision Res.*, **30**: 1923–1948.
- Pugh, E. N. Jr. and Lamb, T D. (1993), Amplification and kinetics of the activation steps in phototransduction, *Biochim. Biophys. Acta*, **1141**: 111–149.
- Saarikoski, J., Ruusuvuori, E., Koskelainen, A. and Donner, K. (1997), Regulation of intracellular pH in salamander retinal rods, *J. Physiol. (Lond.)*, **498.1**: 61–72.
- Tachibana, M. (1981), Membrane properties of solitary horizontal cells isolated from goldfish retina, *J. Physiol. (Lond.)*, **321**: 141–161.
- Takahashi, K.-I. (1986), Ion channels in *in situ* rod of the frog retina as revealed by intracellular current injection, *Keio Journal of Medicine*, **35**: 162–179.
- Takahashi, K.-I. and Murakami, M (1987), Reversal potentials of rod horizontal cells in the carp retina, *Neurosci. Res.*, **Suppl. 6**: 165–174.
- Takahashi, K.-I. and Murakami, M (1991), Reversal potentials of color opponent responses in horizontal cells of the carp retina, *Vision Res.*, **31**: 1159–1165.
- Trifonov, Yu. A. (1968), Study of synaptic transmission between photoreceptors and horizontal cells by means of electrical stimulation of the retina, *Biofizika*, **13**: 809–817.
- Watanabe, S.-I. and Murakami, M. (1991), Similar properties of cGMP-activated channels between cones and rods in the carp retina, *Vis. Neurosci.*, **6**: 563–568.