木村康一*1,野呂征男*2:ポリビニールアルコールを基剤とした 顕微鏡標本用の水溶性封入剤と封止剤について

Kōiti Kimura and Yukio Noro: On Water Soluble Mounting and Sealing Agents for the Preparation.

(Faculty of Pharmacy, Kyoto University*1 and School of Pharmacy, Nagoya City Univeitrsy*2)

- (1) The water-soluble, colourless, unfluorescent mounting agent for the preparation is made, which consists of 10 parts of water, 2 parts of polyvinyl alcohol (PVA), 1 parts of suger and 0.6 parts of glycerol.
- (2) The specimen made clear with chloral hydrate can be kept as the permanent preparation by sealing around the cover-glass with the concentrated PVA solution.
 - (3) The merits are as follows:
- i) The process is simple and the settlement is in short time $(2\sim24\,\mathrm{hrs.})$, compared with these of Balsam method.
 - ii) The transparence is high, compared with one of Gum-Arabic-Sugar method.
- iii) The transformation and contraction of cells and tissues due to the process of dehydration are not observed.

(Received October 2, 1964)

顕微鏡用永久標本の封入剤として、従来からカナダバルサム等の非水溶性天然樹脂が広く用いられてきた。しかしこの標本製作過程には繁雑な脱水操作と多くの試薬及び時間を要し、経費も低廉ではない。特に生薬学において重要な対照の一つである精油、脂肪、色素等の細胞内含有物は溶出するために、これらは永久プレパラートに作製することができない。これに対して水溶性封入剤は操作が簡単で、脱水操作によつておこる組織や細胞膜の変形、収縮もなく、脂肪染色を行なった資料も永久プレパラートになし得て、かつ経費も低廉である等の多くの利点がある。そのたに今までにも多くの考案や処方が発表されている。例えば、田中等1)はグリセリン、糖類、ゼラチン等を組合わせためものや APÁTHY のゴムシロップ(アラビアゴム,庶糖の濃厚混合水溶液)を挙げており、木島等2)も "ゴム・白糖液"を推賞している。また "ゴム・クロラール液"(抱水クロラール混和アラビアゴム濃厚水溶液)も用いられている。しかしグリセリン系のものはバルサム系の封入剤に比べて耐久性が劣り、アラビアゴム系のものは耐入性は高いが透明度について劣り、また使用法や調製法に技術を要するものが多く、各々一長一短があるために一般に広く普及するに至つていない。これらの欠点を改善して、より優れた水溶性封入剤を得る目的で、基剤としてポリビニールアルコール (PVA) を用いて実験し、良い結果を得たのでここに報告する。

PVA は白色粉末で水に溶けやすく、粘性のあるほとんど無色透明、ほぼ中性の水溶液となる. この 濃厚溶液は、 資料を抱水クロラールで透明化を行ない、そのまま永久プレパラート化するための封止剤として用いれば、優れた結果が得られる. しかしこの液を、そのまま直接に封入剤として用いた場合は、固化が進むにしたがい内部に多くの気泡を生ずる故に、封入剤としては用い得ない. この点を改善するために、PVA の可塑剤として知られているグリセリン、庶糖等を種々の割合に添加して実験を行なつた結果、次に示す組成の場合、気泡の発生もほとんどなく、固化も早く、良好な結果が得られた.

PVA· 白糖液

精 製 水 10 ml PVA 2 g

- *1 Yoshida-shimoadachi-cho, Sakyo-ku, Kyoto. *2 Hagiyama-cho, Mizuho-ku, Nagoya.
- 1) 田中克己, 浜 清: "顕微鏡標本の作り方" 第四版, 236 裳華房 (1961)。
- 2) 木島正夫,杉山弘幸,布藤昌一:本誌, 12,53 (1958).

白 糖

1 g

グリセリン

0.6 ml

調製法: PVA は低粘度のものの使用が望ましい。この実験では、半井化学製、けん化度 $86\sim89\ mol\ \%$ 、粘度 $4\sim6\ c.p.$ ($4\%\ sol.\ 20°$ C) を使用した。まず水に PVA を少量ずつかき混ぜながら加える。一部はゲル化して固まる。つづいて白糖およびグリセリンを加え、ときどきかき混ぜながら $80\sim95°$ C に数時間保ち、均一の液となし気泡を消失させる。ほとんど無色透明の粘性の高い液となる。数週間はこのまま保存して使用できるが、それ以上保存する場合は適宜に防腐剤を少量加えておく(この実験では安息香酸を約 0.1% 添加した)。

PVA・白糖液の封入剤としての特徴

- 1. 水溶性封入剤としての一般的利点をすべて有する。
- 2. 無色透明で、かつ無けい光性で紫外線の透過度が高いから、けい光観察用、紫外線顕微鏡観察用封入剤として適する. (この場合は防腐剤は添加しない方が安全である)
 - 3. 資料あるいはその含有物と誤認されるおそれのある顕微鏡的異物, 夾雜物が含まれない.
 - 4. 品質の一定のものが得られやすく、調製容易で、固化が早いので便利である.
- 5. グリセリン水の代りに用いて、そのまま永久プレパラートとして保存でき、また不必要ならばグラスの回収も容易にできる。
 - 6. 耐久性は実験中であるが、1年以上経過しても変化は見られず、相当永く保存できるものと期待される.
 - 7. 粘度の高いことは欠点であるが、さらに低い粘度の PVA を用いることにより改善できる.
 - 8. ヨウ素試液と PVA が反応して紫色を呈する故に、この試液と同時には使用できない。

プレパラート製作法:水または低~中濃度アルコール中から、切片をスライドガラス上に取り整置し、過剰の液を 濾紙片で吸い取る. 切片上に PVA・白糖液を細ガラス棒を用い滴下し、カバーガラスで覆い封入する. このとき粘 度が高いから気泡の入らぬ様に注意する. 小気泡でも固化にしたがい大きくなり、観察の妨げになることが多い. 水 平に静置約一昼夜で固化する.

抱水クロラール透明化プレパラートの永久化:このプレパラートは一時観察用で保存ができない。その必要のある場合は、カバーガラスの周囲をパラフイン等で封ずることによつて、短時日の保存に耐える。しかしパラフインの代わりに PVA 濃厚水溶液を用いて封ずれば、ほとんど永久的に保存が可能であり、しかも機械的に丈夫である。

その操作は濃厚拘水クロラール液で透明化し気泡を除いたプレパラートを取り、カバーガラスの周囲に滲み出た液を濾紙片で吸い取り拭き去る。PVA 液(約 25 % 水溶液)を細いガラス棒あるいは 金属 ヘラで、カバーガラスの周囲に $3\sim5\,\mathrm{mm}$ の幅にやや厚く塗り封止する。(抱水クロラール液が封止の済んでいない部分 から 滲み出てくるときは、そのたび毎に濾紙片で吸い取る)全周を封止後数時間ないし一夜水平に静置すれば固着する。資料の厚いとき、その他必要があればさらに重ねて塗布し封止を厚くする。なおグリセリン水で封入したプレパラートは PVA 液で封止しても結果は良くない。

この実験にあたり、その機会を与えられ終始御鞕達いただいた名古屋市立大学薬学部稲垣勲教授、ならびに種々の 便宜をはかつていただいた京都大学薬学部秦清之博士に深く感謝の意を表します.

京都大学薬学部, 名古屋市立大学薬学部