

P 3

臨界点乾燥による全載細胞接着面の coated vesicle 観察法

荒木伸一, 小川和朗  
(京都大・医・第2解剖)

coated vesicle (CV) の三次元的構造は Heuser ら (J. Cell Biol. 1980. 84, 560) の急速凍結・ディープエッティング法により、白金レプリカ膜として透過電顕で観察されている。今回、我々は、レプリカ膜としてではなく、臨界点乾燥した全載細胞接着面で、直接 CV を透過電顕で観察しうる方法を考案した。

〔材料と方法〕 ラット肺より採取した肺胞マクロファージを、ホルムバール支持膜を張ったグリッド上に、30~180分間単層培養し、これを 0.1% Triton X-100 (in PHEM buffer, pH 6.8) で 1 分間室温にて extract 後、1% glutaraldehyde + 0.2% tannic acid で室温固定、1% 四酸化オスミウムで室温固定、エタノール脱水したものを酢酸イソアミルで置換し、臨界点乾燥を行った。ついで、グリッドの水平方向からフレオンガスプレーを噴射することにより、細胞上部を吹きとばし、直接 100 KV 透過電顕で観察した。

〔結果と考察〕 接着面細胞膜の内表面に籠状構造をもつ多数の CV や、細胞骨格が観察された。本法は、レプリカでないので、CV 内部の構造まで観察可能な上、金コロイド・フェリチン等を用いた細胞化学や酵素細胞化学的研究への応用も可能な利点がある。

P 4

電子二重染色後脂肪滴周囲人工産物に及ぼす鉛染色液pHの影響

中尾家藏、柳徳子、鶴原敬三、  
四方伸明、森井外吉  
(関西医大・第2病理)

我々は、前回、超薄切片電子二重染色後に肝細胞内粗大脂肪滴周囲にみられる高電子密度な物質拡散は鉛染色操作中に惹起されることを発表し、その機序として、鉛染色液の高アルカリ性が脂肪滴内溶存オスミウムを脂肪滴周囲に拡散させ、それに鉛が染着することを分析電顕観察で指摘した。今回は、試験管内でもオスミウムと鉛は高アルカリ領域でのみ沈殿を生ずることを確認すると共に、Reynolds の鉛染色液 (pH12) の pH を下げることで、脂肪滴周囲の人工産物を形成せずに、生体膜になお良好なコントラストをもつ電顕像が観察できないかを検討した。硝酸鉛 0.68g とクエン酸ナトリウム 0.88g の混液に 1 N 苛性ソーダを滴下し、pH 9、10、11 および 12 とし、溜水添加後全量 25 ml の同一鉛濃度の各染色液を調製し、連続切片を染色して電顕観察した。pH 10 以上で人工産物が生じ始め、pH が高い程その程度が強くなる。一方、生体膜の染色性は pH が低い程低下し、pH 10 以下では pH 12 程の良好なコントラストの電顕像は得られない。現在、Reynolds 処方以外の鉛染色液も高アルカリであるが、一応それらによる上記人工産物形成状態を比較しているが、本難点解決のためのブロック染色も検討している。