

A-1

Intracellular pH measurement
during zoosporogenesis in
*Phytophthora cinnamomi*Suzaki E^{1,2} Kataoka K²

¹Plant Cell Biology Group, Research School of
Biological Sciences, The Australian National
University, ²Department of Anatomy,
Hiroshima University School of Medicine

目的：植物疫病菌の1種である*Phytophthora cinnamomi* (PC)は、貧栄養条件において多核の孢子嚢を形成する。この孢子嚢は寒冷などの刺激を受けると細胞質分裂を開始し、単核の遊走子を形成して新しい宿主への感染を開始する(zosporogenesis)。この細胞質分裂の開始及び進行は、高等動物における発生分化にも共通する過程として興味深く、シグナル伝達機構を探ることを目的に、細胞内pH (pHi)の測定を試みた。

方法：PCの孢子嚢内にpH測定用蛍光試薬(BCECF dextran)を注入し、寒冷刺激(19°C 20分間;成育温度は24°C)により開始する細胞質分裂過程でのpHi変化を蛍光のratiometryにより測定した。

結果：寒冷刺激開始に伴い、pHiは急速に2段階的に約0.2pHunit上昇し15分でほぼピークに達した。一方、細胞質分裂の進行しなかった例では、第1段階目の約0.1pHunitの上昇のみが観察され、刺激終了後は速やかに刺激前pHiレベルにまで下降した。以上の結果は、細胞質分裂開始に際してpHi上昇が起り、特に第2段階目の上昇が重要であることを示している。このpHi上昇の意義及び細胞内Ca²⁺動態との関連について併せて討議したい。

A-2

EELS-ImagingによるCa²⁺、
Cl⁻イオン局在の検出Mizuhira, V¹, Hasegawa, H², Ogata, T³

¹ Medical Res. Inst., Tokyo Med. & Dent. Univ.; ² Develop. Res. Inst., Shionogi Co. & Ltd. Osaka; ³ Dept. Surg., Kochi Med. College, Kochi.

【研究法】 ラット大脳、肋間筋、心筋、胃の新鮮組織片を①マイクロウェーブ照射固定、あるいは②凍結置換、Spurrに包埋した。③Ca²⁺イオンは蓚酸・アンチモン酸カリウム二重固定法により、④Cl⁻イオンは酢酸銀沈殿法と凍結置換法を用いた。⑤分析は微小部X線分析法EDXとZeiss EM-902A/CEM-902Aによるデジタル画像化により元素分布像を得た。またEELS電顕像はFuji IPによる画像をFDL-5000でデジタル画像化して比較した。

【結果】 Ca²⁺イオンはEDX, EELS共にその大脳内シナプス小胞、シナプス膜に分布し; 肋間筋と心筋では筋小胞体、特にその終囊部、並びにミトコンドリア内にCa²⁺イオンの分布を認めた。Cl⁻イオンは胃壁細胞内、特に細胞内分泌細管と滑面小胞体内に分布するのを見た。特に凍結置換切片で明確に認められた。コンピュータ化されたEDXによりCa²⁺イオン濃度を正確に知り得るが、電顕像の上に重ねてその分布を画像として捕らえることは生物切片では困難である。しかしEELS-Imaging法によれば、沈殿法はもとより凍結置換法を用いれば、約、250 eVの暗視野様の鮮明画像に重ねて求める元素の分布デジタル画像を人工彩色により美しく知ることが出来る。