

B-2

切片における免疫染色強度に及ぼす抗体濃度の影響

渡辺 淳、美濃和人、天津 健、
浅香庸子、金村秦輔

関西医科大学・第一解剖

切片において、抗原量を反映した免疫染色強度を得るためには、切片を過剰量の抗体と反応させることが必須とされてきた。しかしながら、高濃度の抗体を切片と反応させると、非特異反応の増強とともに、しばしば原因不明の染色強度の低下がおこる。一方、飽和状態より低い濃度の抗体を用いた場合、免疫染色強度が抗原濃度と乖離することが予測されているが、その乖離の程度は明らかでない。そこで、本研究では、切片における免疫染色強度に及ぼす抗体濃度の影響について、定量免疫組織化学法を用いて調べた。ラット肝の切片におけるシトクロームP-450還元酵素および α -fetoprotein の場合、切片の染色強度は飽和抗体濃度の1/20まで増加してプラトーに達した。ところが、albuminでは、飽和濃度をピークとして、それより高濃度では染色強度が低下した。また、いずれの抗原の場合も、切片の濃染した部位と淡染した部位との間における染色強度の比は、飽和濃度の1/40までは飽和状態での結果とほぼ一致し、この範囲内では飽和濃度抗体を用いた場合と同様の結果が得られることが明らかとなった。

B-3

側線器有毛細胞への蛍光色素FM1-43の取り込み

西川純雄、佐々木史江

鶴見大学・歯学部・生物

【目的】アフリカツメガエル(*Xenopus laevis*)幼生側線器有毛細胞の不動毛にはmechanosensitive nonselective cation channelが存在すると考えられている。蛍光色素であるFM1-43がこの細胞のcation channel tracerとして作用しているか否かを検討した。

【方法】遊泳幼生(st.41-47)の飼育水へFM1-43(2 μ M)を加え5分間標識した。幼生の取り込み部位を蛍光顕微鏡下またはphotooxidation法により電子顕微鏡的に観察した。また前処理としてアミノグリコシド系抗生物質またはamilorideを飼育水に加えFM1-43に対する取り込み阻害効果について検討した。さらにamiloride蛍光をprobeとして、その標的細胞を調べた。

【結果】FM1-43は側線器有毛細胞に急速かつ選択的に取り込まれた。細胞内の取り込み部位は主にミトコンドリア、核膜を含む粗面小胞体である。この取り込みは、また上記抗生物質及びamilorideによって阻害された。amiloride蛍光は側線器有毛細胞に特異的に認められた。従って、有毛細胞へのFM1-43の選択的取り込みは、頂部不動毛に存在すると考えられているamiloride感受性cation channelを介して起きていると結論される。