

—グラビア—

## 急速凍結技法によるラット網膜視細胞外節の超微形態

瀧澤 俊広

日本医科大学大学院医学研究科分子解剖学

## Ultrastructure of Rat Rod Outer Segments Demonstrated by Quick-freezing Techniques

Toshihiro Takizawa

Division of Molecular Medicine and Anatomy, Graduate School of Medicine, Nippon Medical School

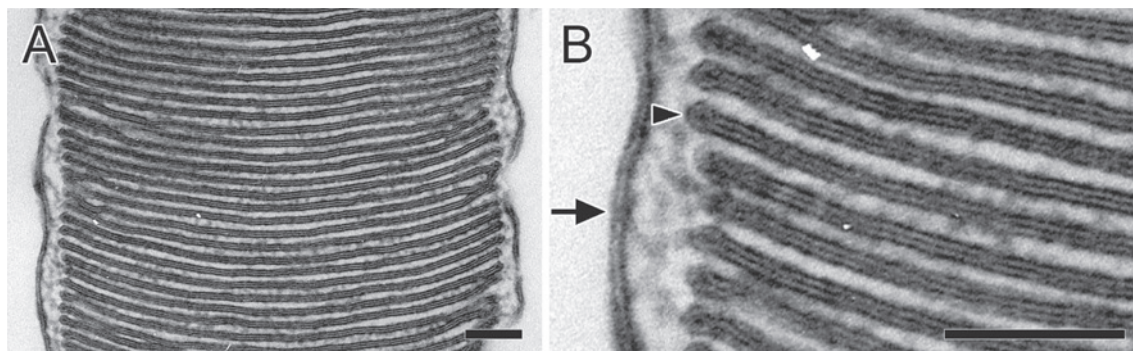


図 1

急速凍結固定法は、生物試料を急速凍結することにより、瞬時に細胞の分子運動を止めるため、秒単位で細胞を物理固定し、より生体に近い微細構造の観察が可能である。光情報は、網膜視細胞外節に存在する光受容膜（円板膜）で受け止められ、電気的（神経）信号に変換され、脳へ情報が伝えられる。外節は、密に積み重なった円板膜で構成されている。従来の化学固定法では、固定剤（グルタルアルデヒドや四酸化オスミウムなど）の組織・細胞中への浸透と分子の架橋に最低数十分を要するため、視細胞外

節円板膜の配列が乱れ、円板膜内腔が拡張したかたちで観察されていた。しかし、急速凍結固定法を用いた超微形態観察から、円板膜は、見事な平行配列を呈し、円板膜内腔は密接して閉じていることが明らかとなった<sup>1</sup>。イギリスの詩人 John Keats の頌歌にある “Beauty is truth, truth beauty,” —that is all (Ode on a Grecian Urn) の言葉のごとく、美しい超微形態は解剖学者を魅了する真の対象である。

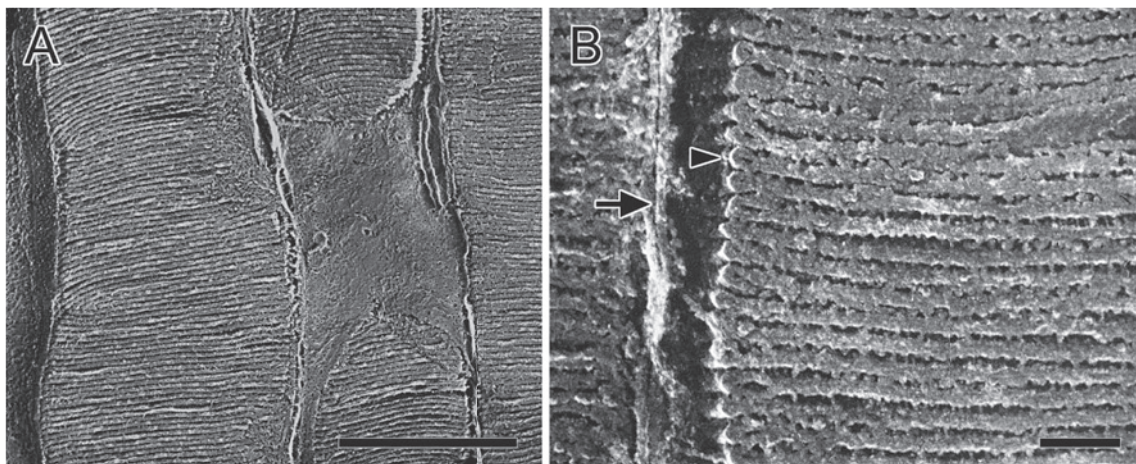


図2

図1 急速凍結置換固定法によるラット桿体視細胞外節の電子顕微鏡像。

ラット網膜を液体窒素温度（ $-196^{\circ}\text{C}$ ）に予備冷却した純銅ブロックに圧着して急速凍結し（金属圧着法による急速凍結）、 $-80^{\circ}\text{C}$ の置換固定液（グルタルアルデヒド-アセトン）中に3日間浸漬して凍結置換固定（ガラス状に凍結した試料内の水を、アセトンにより置換するとともに、グルタルアルデヒドで固定を同時に行う）を行った。四酸化オスミウムによる後固定を行い、エポン樹脂包埋後、型のごとく超薄切片を作製し、透過型電子顕微鏡で観察した。A：ラット桿体視細胞外節の低倍像。B：高倍像。円板膜の内腔は閉じており円板縁ではループ状に反転している（矢尻）。矢印は視細胞の細胞膜を示している。スケールバー  $0.1\ \mu\text{m}$ 。

図2 急速凍結ディープエッチングレプリカ法によるラット桿体視細胞外節の電子顕微鏡像。

急速凍結したラット網膜試料を、フリーズレプリカ作製装置の中で凍結切断し、引き続きディープエッチング（冷却したままの真空中で、切断面の氷を昇華させ、切断面より下の三次元構造を露出）を行い、白金-炭素の蒸着をし、レプリカ膜を作製した。蒸着した試料の細胞成分を次亜塩素酸処理で溶解させ、レプリカ膜を回収し、透過型電子顕微鏡で観察した。A：桿体視細胞外節の低倍像。B：高倍像。ディープエッチングにより、円板膜が密に積み重なった外節の微細構造が、高解像力で立体観察されている。矢印は視細胞の細胞膜、矢尻は円板を示している。スケールバー A =  $1\ \mu\text{m}$ , B =  $0.1\ \mu\text{m}$ 。

#### 文献

1. Yamada E : Morphology of vertebrate

photoreceptors. In *Methods in Enzymology* (Packer L, ed), vol. 81. 1982; pp 3-17, Academic Press, New York.