岡山大學醫學部，解剖學教室（主任：關教授）。
Anat. Inst. d. Med. Fak. Okayama (Vorstand: Prof. M. SEKI).

構密度測定染料の電子鏡檢.

Elektronenmikroskopie von Farbstoffen, die zur Messung
der Strukturdichte der Gewebsteile verwandt werden.

大倉卓治と神山幸俊 Takuji ŌKURA u.
Yukitoshi KOYAMA.

(昭和25年5月1日原稿受附.)

組織染色に用ひられる染料の粒子の大きさに就ては，早く Möllendorff (1924) や 關 (1932, 1936) が寒天ゲル内の擴散速度やコロヂウム膜の透過性からこれを研究し，また Czaja (1930) は限外濾過により，Nistler (1930) や Gicklhorn (1931) は擴散鏡檢により精しく檢した。最近著者の一人なる大倉 (1950) は數種の酸性染料溶液の相對粘度を測定し，染料の比体積を求めて溶媒和した染料粒子の大小を比較した。要するにこれ等の諸研究から染料はその分子原子數が多いほど分子やその集合体なる微粒子の体積の大きとなることが知られた。本研究では構密度測定用の7種の酸性染料の電子顯微鏡による觀察を試み，從來の結果が正しいことを確めたのである。

I. 實驗の方法.

蒸留水を用ひピクリン酸，オレンジ G，ボンソー P.R.，酸性フクシン，アツォカルミン B，アニリン青，リヒト綠 F.S. (ピクリン酸のほかは何れも Grüber 製品) の1% 水溶液を同時に作り，これ等を48時間後にコロヂウムの支持膜に塗り，同じ條件で同時に乾燥させたものについて電子顯微鏡で撮影した。撮影時の倍率は7,500倍であり，何れも更に30,000倍に擴大して染料粒子の大きさを測定した。

別にオレンジ G，アツォカルミン B，アニリン青では，溶媒や濃度をこれ等がアツァン染色に用ひられる時のものに近くし，即ちオレンジ G では8% 醋酸にて0.25% 溶液を，アツォカルミン B では1% 醋酸にて0.12% 溶液を，アニリン青では8% 醋酸にて0.25% 溶液を作り，上述の場合と同様な注意と方法により染料微粒子の大きさを測定した。

II. 實驗の結果と考察.

實驗は確實のため4—5回反覆した。結果を表に纏め，各染料の微粒子の大ききの分布を百分率で示した。第1表と第1圖は溶媒が蒸留水の場合であり，第2表と第2圖は溶媒が醋酸溶液の場合である。

第 1 表. 純水で作った酸性染料溶液の微粒子の
 大きさ (m μ) と数 (%).

	10—20 m μ	21—30 m μ	31—40 m μ	41—50 m μ
ビ ク リ ン 酸	76	20	4	—
オ レ ン ジ G	21	79	—	—
ア ツ オ カ ル ミ ン B	15	85	—	—
ボ ン ソ ー P. R.	—	97	3	—
酸 性 フ ク シ ン	—	75	25	—
ア ニ リ ン 青	—	47	53	—
リ ヒ ト 緑 F. S.	—	4	75	21

第 2 表. 醋酸溶液で作った酸性染料溶液の微粒子の
 大きさ (m μ) と数 (%).

	10—20 m μ	21—30 m μ	31—40 m μ	41—50 m μ	51—60 m μ
オ レ ン ジ G	25	75	—	—	—
ア ツ オ カ ル ミ ン B	6	70	23	1	—
ア ニ リ ン 青	—	—	42	46	12

表から知られる重要な事實は、染料の分子の原子数が多いほど溶液に小径の微粒子の数が少く、大径の微粒子の数が多いことである。各染料に就き最も多数を占める微粒子の大きさを互に比較すると、溶媒が純水でも醋酸溶液でも染料粒子の大きさの順は共に、ビクリン酸<オレンジ G<アツォカルミン B<ボンソー P.R.<酸性フクシン<アニリン青<リヒト緑 F.S.である。即ち電子鏡検から知り得た染料微粒子の大きさの順は、先に物化學的方法から推定された結果とほぼ一致する。

次に第 1 表と第 2 表を比較すれば、醋酸溶液を溶媒とした場合には純水の場合に比して、溶液の濃度は小なるにも拘らず、微粒子の径は明らかに増し、且つ大分子染料ほどこの事實の著しいことが判る。蓋し染料溶液内の水素イオン濃度が増せば酸性染料の解離が抑制せられ、未解離の分子の数が増し、分子の一部は相互に凝結して大形の微粒子となるのである。その際大なる微粒子ほど易く凝結するから、大分子染料では小分子染料に比し大形の微粒子を生ずることが著しい。

III. 結 語.

7 種の酸性染料の溶液を乾したものを電子鏡検し、染料微粒子の大きさを

測定した。

1. 酸性染料の分子原子数の大なるものほど染料微粒子の直径も大で、その大さの順は、ピクリン酸<オレンジ G<アツォカルミン B<ボンソー P.R.<酸性フクシン<アエリン青<リヒト緑 F.S. である。

2. オレンジ G, アツォカルミン B, アエリン青の溶媒や濃度をこれ等がアツァン染色に用ひられるものに似させ、微粒子の大きさを檢したが、このときも順は、オレンジ G<アツォカルミン B<アエリン青であつた。

3. 酸性染料の溶液は水素イオン濃度が増せば微粒子の徑が増し、この事は大分子染料ほど著しい。

Autoreferat.

In der histologischen Praxis ist die Farbstoffmethode für die submikroskopische Dichtemessung sehr vorteilhaft. Die dabei am öftesten angewandten sauren Farbstoffe wurden elektronenmikroskopisch untersucht. Die Farbstoffe wurden zuerst in reinem Wasser gelöst, getrocknet und graphiert. Die Teilchengröße ist: Pikrinsäure < Orange G < Azokarmin B < Ponceau P.R. < Säurefuchsin < Anilinblau < Lichtgrün F.S. Bei der Azanfärbung, bei welcher Essigsäure der Farblösung zugesetzt wird, nimmt die Teilchengröße der sauren Farbstoffe zu, die Reihenfolge der Teilchengröße, Orange G < Azokarmin B < Anilinblau, bleibt aber immer die gleiche. Die Differenz der Teilchengrößen wächst infolge des Essigsäurezusatzes und wird mehr oder weniger deutlich.

文 献

Czaja, A. Th.: Die Analyse der metachromatischen Färbungen von Pflanzengewebe mit organischen Farbstoffen. Ber. deut. Bot. Ges. 48 (1930). — Gicklhorn, J.: Zur Diskussion der Grundlagen und Beweise der Ultrafiltertheorie der Permeabilität. Protoplasma 13 (1931). — Nistler, A.: Dispersitätsuntersuchungen an Farbstoffen. Kolloidchem. Beih. 31 (1930). — Möllendorff, W. v. u. M. v.: Untersuchungen zur Theorie der Färbung fixierter Präparate. III. Erg. Anat. 25 (1924). — 大倉卓治: 構密度と染色性の関係のモデル實驗. 日組録. 1 (昭 25). — Seki, M.: Zur physikalischen Chemie der histologischen Färbung. I. Fol. anat. jap. 10 (1932). — Zur physikalischen Chemie der histologischen Färbung XI. Z. Zellforsch. 24 (1936).

附圖の説明

第 1 圖. 純水での酸性染料溶液の乾燥標本の電子微寫眞. 30,000 倍.

a ピクリン酸, b オレンジ G, c アツォカルミン B, d ボンソー P.R., e 酸性

フクシン, **f** アニリン青, **g** リヒト緑 F.S.

第 2 圖. 醋酸溶液中での酸性染料溶液の乾燥標本の電子微寫眞. 30,000 倍.

a オレンジ G, **b** アツォカルミン B, **c** アニリン青.

Erklärung der Tafelabbildungen.

Abb. 1. Elektronenmikrographien der getrockneten Präparaten von sauren Farbstofflösungen, die mit reinem Wasser bereitet wurden. 30,000×.

a Pikrinsäure, **b** Orange G, **c** Azokarmin B, **d** Ponceau P. R., **e** Säurefuchsin, **f** Anilinblau, **g** Lichtgrün F.S.

Abb. 2. Dieselben von sauren Farbstofflösungen, die aber mit Essigsäurelösung bereitet wurden. 30,000×.

a Orange G, **b** Azokarmin B, **c** Anilinblau.

大倉-神山論文附圖

a

b

c

d

e

f

g

第 1 圖

a

b

c

第 2 圖