HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	走査型電子顕微鏡による植物細胞内小器官の観察
Author(s)	伊藤, 利章
Description	研究・技術発表
Citation	北海道大学大学院農学研究科技術部研究・技術報告, 9, 4-6
Issue Date	2002-03
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/35428
Type	departmental bulletin paper
File Information	9_p4-6.pdf



Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

＜研究・技術発表＞

走査型電子顕微鏡による植物細胞内小器官の観察

電子顕微鏡室　伊藤　利章

はじめに

通常、走査型電子顕微鏡は表面構造の観察に適しているが、細胞内にある細胞内小器官（以下、小器官）を観ようとすると切断、割断などして細胞内を剖出しなければならない。また、うまく内部が現れたとしても、細胞質基質（以下、基質）が豊富な細胞では、それに埋もれてしまい小器官だけを立体的に観察することは困難である。この問題を解決するためには、小器官を残したまま邪魔者となる基質を除去しなければならない。この方法を浸軟処理という。これは希薄なオスミウム水溶液に長時間漬けることによって、一度化学固定された組織・細胞が徐々に破壊される性質を持つが、その破壊の度合いは、基質が最も影響を受けやすく小器官等の膜成分は比較的強固である。この性質を利用し基質が破壊される間だけ希薄オスミウム水溶液に漬けることによって、小器官だけが残存し、立体的な観察が可能になる。

この手法を用いて、基質の豊富な根端細胞を実際に観察する。

方法

材料は、アスパラガスの根を採取後、根の先端部分から１mm程度細切し、固定液（０．５％グルタルアルデヒド、０．５％パラフォルムアルデヒド、１／１５Mカコジル酸緩衝液、ｐＨ７．２）中で前固定後、緩衝液で洗浄し、固定液（１％オスミウム酸、１／１５Mカコジル酸緩衝液、ｐＨ７．２）で後固定した。そして、凍結割断後、固定液（１％オスミウム酸、D.W.）で再固定した。洗浄後、浸軟液（０．１％オスミウム酸、D.W.）で、２０℃で３日間（７２時間）処理し、１％タンニン酸水溶液で導電処理を施した。その後固定液（１％オスミウム酸、D.W.）で再固定し、常法の通りエタノールシリーズで脱水後、臨界点乾燥し、白金―パラジウムをコーティングし観察した。

結果

根端部全体像を図に示す（図１）。中心柱を通るように縦軸方向に割断したものである。表面が平滑な部分と凸凹な部分が観察される。平滑な部分を拡大してみると、個々の細胞の形態と核および小器官の割断面は認識できるが、その立体構造は、基質に埋もれてしまいまったく観察することができない（図２、３）。しかしながら、凹

凸な部分を拡大してみると基質がすっぽりと抜け、核および小器官の立体構造がよくわかる（図４）。

粗面小胞体は、偏平状またはチューブ状に膜形成され互いに接続しあい、その表面にはたくさんのリボゾームが付着しているのがよくわかる（図５、６）。また、表面が平滑でバクテリア様構造物は、プラスチドである（図７）。ゴルジ体は小胞が無数集まりその中央部には偏平な膜構造がある。球状あるいはラグビーボール状にみえるのがミトコンドリアである（図８）。

まとめ

透過型電子顕微鏡による切片像は、試料を薄くスライスし観察することから奥行きのない平面的な像でしかないが、この方法を用いると小器官の立体構造およびその配置が、手にとるように明確である。しかし、部分的にまったく基質が除去されないところもあり、おそらくこれは、基質の密度が他の細胞より高いために、十分な浸軟効果が現れなかったのだと思われる。ひとつの試料でもこれだけ浸軟効果にばらつきがあるのだから、組織あるいは植物がかわれば、その効果の違いはより顕著に現れることだろう。したがって、浸軟処理温度を一定に保ち処理時間を少しずつ変えながら、その時間を的確に判断することで、基質の「ヌケ」のよい、立体的な像が観察されるのである。

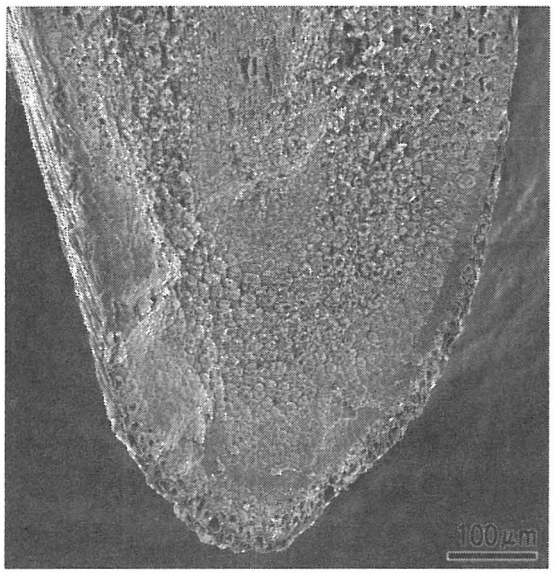


図１　根冠細胞より内側は平滑で，より内側になると凸凹面が多い。

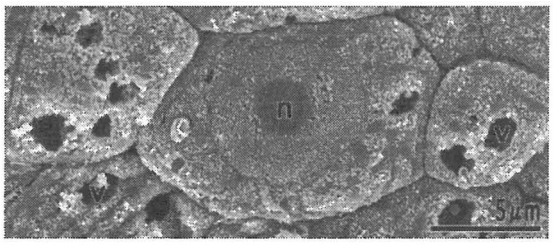


図２　個々の細胞および核の形態は認識できる。核(n)，液胞(v)

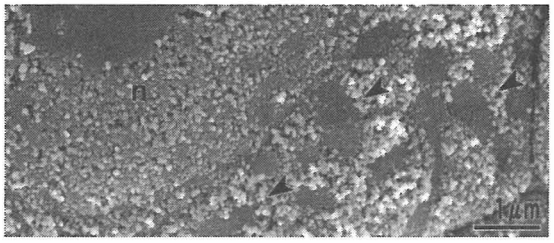


図３　図２の拡大像。小器官は基質に埋もれ立体構造は観察されない。核(n)，小器官（矢尻）

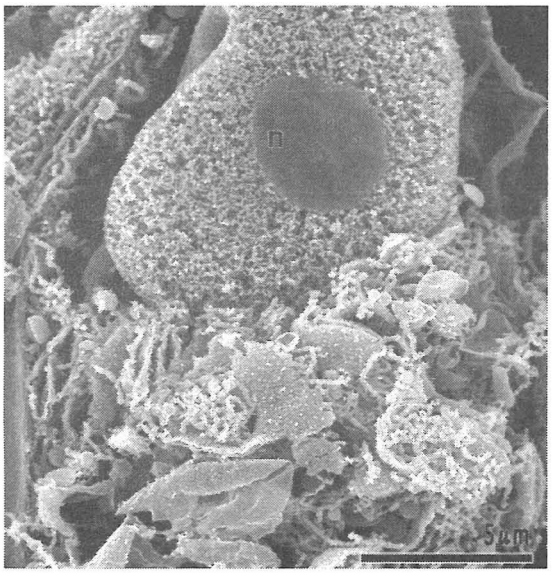


図４　凸凹部分の拡大像。基質は除去され，細胞内が立体的に観察される。核(n)

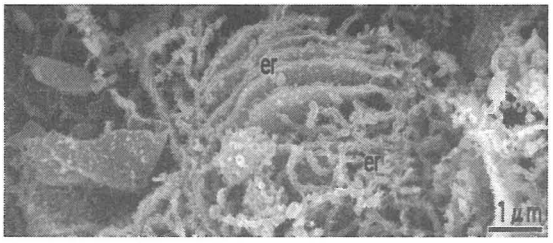


図５　偏平・チューブ状小胞体の割断面が観察される。小胞体(er)

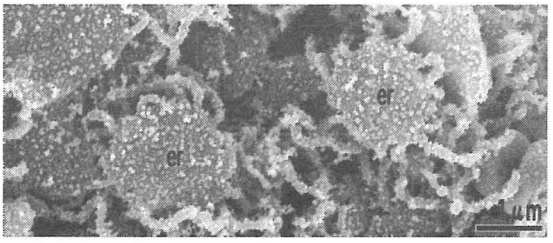


図６　偏平・チューブ状の小胞体は接続しあい，表面にはリボゾームが付着している。小胞体(er)

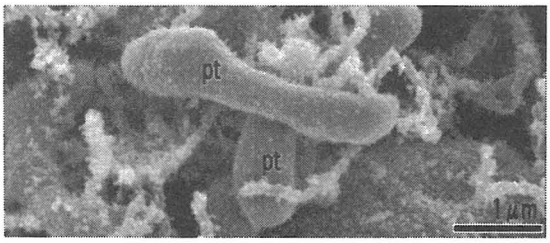


図７　表面が平滑でバクテリア様構造物は，プラスチドである。プラスチド(pt)

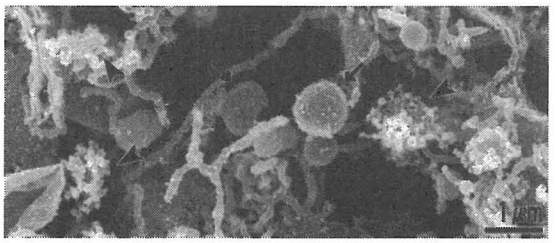


図８　ミトコンドリアは，球状あるいはラグビーボール状の構造をし，表面は平滑である（矢印）。ゴルジ体は，球状の小胞がたくさん集まり，その中央部には偏平な小胞がある（矢尻）。