



Title	Microautoradiography に於ける「かぶり」防止膜について
Author(s)	百瀬, 郁光
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1958, 17(12), p. 1432-1436
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/14960
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

Microautoradiography に於ける「かぶり」防止膜について

東京大学医学部放射医学教室 (主任 宮川正教授)

助手 百瀬 郁光

(昭和32年8月28日受付)

I 緒言

Micrautoradiography (以下「オ」と略記する)に對しては高度の解像力が要求されるが、これについては少なくとも次に示めすような種々の條件について検討する必要がある。

- (i) 感光乳劑の解像力.
- (ii) 試料の厚さ及び放射性物質の種類.
- (iii) 感光乳劑試料間距離.
- (iv) 「かぶり」の有無

(i) 乳劑の感度と同時に解像力を上げる必要がある。

(ii) 試料中の目的物例えば細胞からの放射線のみが現出される爲めには、結局試料は薄い方がよいわけである。

放射性物質の種類に就いては、エネルギーの小さな程解像力はよくなるが、實驗目的に従つて放射性物質を選択使用するので種類は、自ずから定まる。

(iii) 兩者の距離の小さい程解像力がよい。

(iv) 當然かぶりの少ない方がよい。

以上のうち本報では (iii) および (iv) につき特に、「オ」の技術上の問題となるべき點を述べることにする。

「オ」の試料の作製に當り試料によつては乳劑に對し往々にして化學的「かぶり」(Chemical fog)を發生する。例えば染色液、Giemsa, Hemataxylin, Cystein等を使用する場合の如くである。

従つて「かぶり」を防止する必要がおこるが、これに對しては一般に「かぶり」防止膜分離膜、(Separate layer, Protect layer, Protect film等以下 S.L と略す)と稱するものを使つている。

この膜も前述の (iii) から見て出来るだけ薄くする方が解像力が優秀なことは勿論であるが、この「S. L」についても種々の具備すべき條件がある。

例えば (i) 膜自身乳劑に對して「かぶり」を發生せしめないこと。

(ii) 膜の溶劑が試料に對して有害な影響を及ぼさないこと (脱染色性、試料の破壊等)

(iii) 水に對して非透過性であること。

(iv) 膜厚が薄く均等であること。

(v) 膜にピンホールを作らないこと。

(vi) 膜が剝離しないこと。

(vii) 粒子が微細で粘着性大なること。

(viii) 膜面が平滑にしてかつ膨脹係數の小さなこと。

(ix) 乾燥迅速に行われること。

残念ながら上記諸條件を満す様な材料は現在のところ見出されない。たとえば目下使用されている1%セロイゼンは、使用易やすいが、脱染色性があり、膜厚は厚く、水分の透過性が大である爲め、高感度乳劑に對しては適しない。

筆者は放射性物質を含まない試料上に種々の厚さの S. L を覆い、S. L の膜厚と感光乳劑との關係を「かぶり」の發生度によつて比較検討した。

II 實驗方法

(1) 血液塗抹標本 (固定, Giemsa 染色, 水洗乾燥) を作る。

(2) 以下に述べる5種 (A-E) の S.L. で試料を覆う。

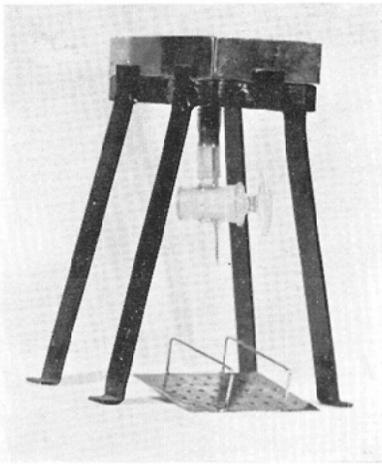
(A) 1% Celloidin (溶劑 Ethyl-Alcohol + Ether の等量液) : 試料上に本液を滴下し余分の液をはい乾燥する。これを何回かくりかえし1

～4層のスライドを作成する。

この際 Celloidin 溶液内にスライドを入れると、試料の脱染色を起し溶液が染色稀釋液になるので「かぶり」を発生せしめる原因となるから絶対に行なつてはいけない。

(B) 3% Nitrocellulose (溶劑醋酸アミール) : (第1圖) の様な容器 (水温30°C) の水底に試料を置き、本液を一滴おとし徐々に水底より水を放出すれば試料上に膜が覆われる。

第 1 図



(C) 2% Metacryl-resin (精製エステルと醋酸ビニールの共重合) (溶劑シンナー) (A) の場合と同様の操作を行う。

(D) 1～2% Saran (F 120) (溶劑 Methyl-Ethyl-Keton) : (A) と同様の操作を行なう。

(E) 1～2% Vinyl (Vyns) (鹽化ビニール90%+醋酸ビニール10%) (溶劑 Methyl-Ethyl-Keton)

(A) と同様の操作を行なう。

なお (D), (E) の場合にはスライドを多少熱して周囲の空気を乾燥させて前述の操作を行う必要がある。これは Methyl-Ethyl-Keton が蒸発する際スライドが冷却し、水滴を生じ完全な膜を作らなくなり「かぶり」発生の原因ともなる為めである。この際膜面が白色になるからすぐにわかる。Saran, Vinyl については第1表参照。

第 1 表

PROTECTIVE FILMS STUDIED BY GOMBERG		
Commercial Name	Technical Name	Solvent
Saran 2000*	Vinylidene chloride	Methyl ethyl ketone
Saran E 120*	Vinylidene chloride	Methyl ethyl ketone
Vynlite VYDR ^b	Vinyl chloride, 95%; Vinyl acetate, 5%	Cyclohexanone
Vynlite VYNS ^b	Vinyl chloride, 90%; Vinyl acetate, 10%	Methyl ethyl ketone
Vynlite VYHH ^b	Vinyl chloride, 87%; Vinyl acetate, 13%	Methyl ethyl ketone

* Dow Chemical Company, Midland, Michigan.

^b Union Carbide and Carbon Corp., New York, New York.

(3) (A) 使用感光乳劑としては、富士フィルム會社 E T-2 E, 6 B による Stripping Method. 小西六フィルム會社 NR-M1, M2, Iiford 會社の G-5 による Coating Method. を行う。

(B) スライドを黒紙に包み乾燥箱に入れ +2°C ~ +5°C にて 10~30 日露出した。

(C) 現像 Kodak D-19, 4分20°C.

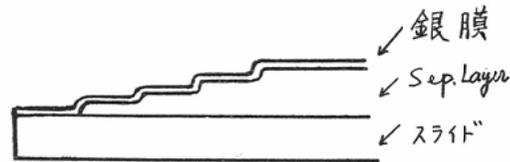
定着 20% チオ硫酸ソーダ又はチオ硫酸アンモン. 10~20分間水洗。

(D) 顯微鏡 (675倍) 下にて「かぶり」發生の有無と膜の種類との關係を比較觀察する。

(4) 「かぶり」防止膜々厚測定

(A) 前記の5種の S. L を (第2圖) の如く平滑かつ清潔なスライド上に階段狀に密着させ、更にその上に厚さ 50Å の銀の眞空蒸着を行う。

第 2 図



(B) この各スライドを Talansky 氏のくりかえし反射干渉法 (Multiple-Beam Interferometry) により、2730Å の波長で膜厚を測定 (2回再試験) した。

III 結果および考按 (第2表参照)

(1) 1% Celloidin を2回密着させた場合の E T-2 E では「かぶり」は陰性、E T-6 B では3回で陰性で、S.L. の厚みは 0.68μ となつ

第2表 かぶり防止膜の膜厚とA. R. G.のかぶりとの関係

Separat. Layer	Solvent	%	Coating	Exposure	Coating	Exposure
Celloidin	Ethyl alcohol Ethyl ether	1	1	0.022	++	
		2	2	0.38	+	
		3	3	0.68	—	
		4	4	0.98	—	
Nitrocellose	Amyl acetate	3	水 5 油 1	0.04	++	
		4	水 5 油 1	0.04	++	
Metacryl-resin	シナー	2	1	0.21	++	
		2	2	0.64	— +	— +
		3	3	1.0	— +	
		4	4	1.36	—	
Saran F-120	Methyl-Ethyl- Keton	1	1	0.03	++	
		2	1	0.12	+	
		2	2	0.25	—	—
		3	3	0.36	—	
4	4	0.47	—			
Vinyl (Vyns)	Methyl-Ethyl- Keton	0.5	1	0.04	++	
		1	1	0.08	++	
		2	1	0.27	+	
		2	2	0.35	—	—
3	3	0.43	—			
4	4	0.51	—			

た。

高感度の乳剤を必要とする場合は S.L. としての Celloidin 膜は厚くなることが考えられる。又 Giemsa 染色液の脱色が見られる。

Gonberg によると 1.5μ では4時間ぐらいか $2.5\sim 3\mu$ では24時間ぐらしか、「かぶり」防止出来ないと言つて居るが、本実験と相當の開きがある。

(2) 3% Nitrocellulose 400\AA では E T-2 E の場合は「かぶり」を発生しなかつたが E T-6 B では完全に「かぶり」を発生している。膜厚は薄いが使にたえない。その後%を増し膜厚を厚くしてみたが膜が収縮して使用出来なかつた。

Chapman, Anderson は Nylon FM 6901 を用いて前述と同様の原理により S.L. の作成に應用したところ優秀な結果を得たと言う。

(3) 2% Metacryl-resin

2層では全般的に「かぶり」を発生しないが、所々に「かぶり」が密集しているのがみられる。

これは溶液が蒸発する際、ガスを発生し、その部分に穴があき「かぶり」が起るので厳密には S.L. を低温乾燥をすればある程度防止出来ると思う。

又血液の標本では細胞がまばらでその上に前述の「かぶり」が細胞の上に無ければ結構使用出来る。

(4) 2% Saran (F 120)

2層にした場合 0.25μ になり「かぶり」を防止

する Ilford-G-5 を使用せる場合も完全に「かぶり」を防止している。

(5) 2% Vinyl (Vyns)

2層にて 0.35μ Saran と同様「かぶり」を防止するが、多少「かぶり」を見た。

Saran, Vinyl は Stripping Method

を行なつた際、血液標本では露出中乳剤の剝離のある場合がある。組織標本の際は乳剤の剝離は見られなかつた。又多少脱染色があるが細胞染色には影響ない。Methyl-Ethyl-Keton 自身乳剤に對して「かぶり」をおこさせるということが言われて居るが、本実験では「かぶり」陰性である。

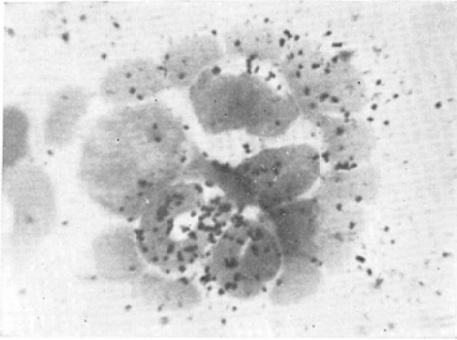
以上の様な実験であり以後 Saran F 120 を S.L. として使用し Coating Method による「オ」を行なつて成績良好であるが、最近では 1% Saran を血液塗抹標本上に覆い、少し放置してから液を流し乾燥して「オ」を作成している。

(稿を終るに臨み、日日御指導を賜まわりたる中泉名誉教授、宮川教授江藤助教授に対し厚く感謝す。又富士フィルム会社研究所古関氏、小西六フィルム会社若林森両氏、理工研田幸氏、応用化学山田氏、東大電子顕微鏡研究室坂田氏に御援助御指導を賜まわり厚く感謝す)

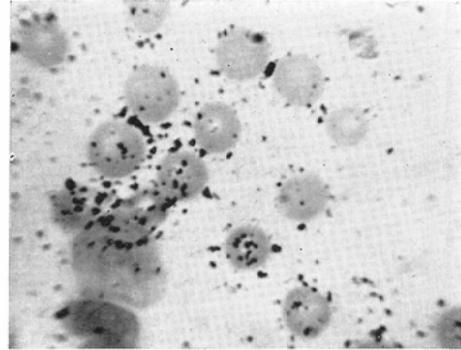
文 献

- 1) Erik Adebled: *Artefact in Autoradiography Acta Radiologica* Vol. 39, 192~203, 1953. —
 - 2) George-Boyd: *Autoradiography* 1953. —
 - 3) Gonberg: *A High Resolution System of Autoradiography Nucleonics* 9, No. 4, 28~43, 1951. —
 - 4) R.H. Herz: *Photographic Fundamentals of Autoradiography Neucleonics* Vol. 9, No. 3, P24~39, Sep. 1951. —
 - 5) Saran resin: F 120 Coating Technical Service November 1954 The Dow Chemical Company Midland Michigan. —
 - 6) 古関靖夫: オートラジオグラフィ。—
 - 7) 真島正市, 磯部孝: 計測法概論上巻, P 107, 昭25年。写真1~3は慢性骨髄性白血病の治療に P^{32} 1 mc 投与6時間後採血(末梢)し「オ」作製。
- SL. Metacryl-resin, 乳剤 Ilford-G 5 Coating Method 露出7日
写真4. P^{32} 投与24時間後の白ねずみ骨髄細胞「オ」
S.L. Saran F 120, 乳剤小西六NR-M2. 露出7日。
写真5~7 P^{32} 投与7日後の白ねずみ骨髄細胞「オ」
S.L. Saran F 120, 乳剤小西六MR-M2. 露出14日。
写真8. R. I. を含まない標本に S.L. Nylon を使用した時の化学的かぶりである。

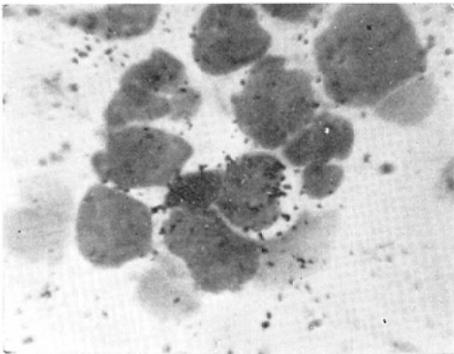
写 真 1



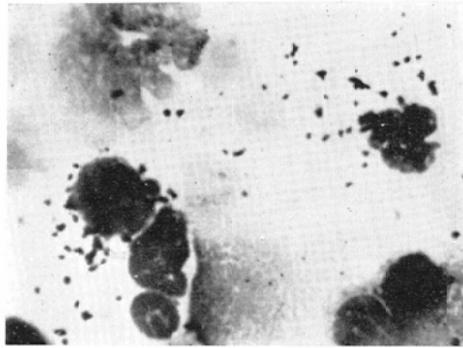
写 真 2



写 真 3



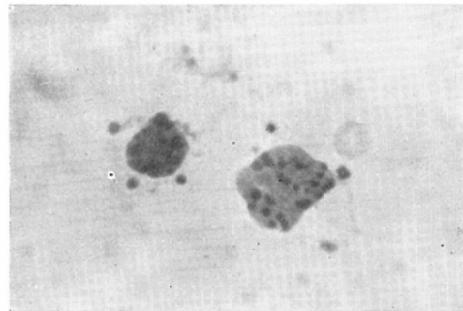
写 真 4



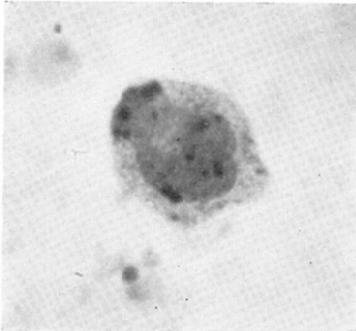
写 真 5



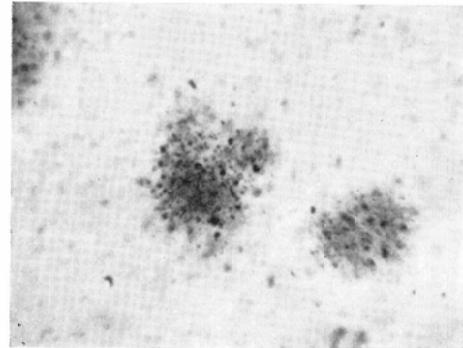
写 真 6



写 真 7



写 真 8



On the Protection Layer for the fog in the
Microautoradiographic Technique

By

I. Momose

Department of Radiology, Faculty of Medicine The University of Tokyo

(Director, Prof. T. Miyakawa)

There are, many factors which must be considered in the microautoradiographic technique, but one of the important problems is how to decrease fogging and to obtain the highest resolution.

Author studied on the properties of several materials, such as 1% Celloidin 3% Nitrocellulose, 2% Metacryl resin, and 2% Saran 2% Vinyl, used as protecting layer for fogging.

From the experimental results, it was found that 1% Celloidin used in general was unsuitable owing to its property of discolor and the difficulty of obtaining the thin layer, while Saran, Vinyl of 0.2-0.3 μ thickness was most satisfactory especially for high sensitive emulsion.
