

白鼠顎下腺細胞의 蛋白合成과 移動에 關한 自記放射法의 研究

서울大學校 齒科大學 口腔解剖學敎室

(指導 金 明 國 副敎授)

林 正 均

RADIOAUTOGRAPHIC STUDY OF PROTEIN SYNTHESIS AND MIGRATION IN THE MICE SUBMANDIBULAR GLAND CELLS

Jung Kyun Lim, D.D.S.

Dept. of Oral Anatomy, College of Dentistry, Seoul National University, Seoul, Korea.

(Director: Myung Kook Kim, D.D.S., M.S.D., Ph.D.)

.....> Abstract <.....

Male, young adult, mice weighing 20 gm were used. Each mice received an injection through the intraperitoneal of $3\mu\text{c/gm}$ body weight of leucine- ^3H .

They were killed at 5, 15, 30, 45 minutes, 1, 1.25, 2, 2.30, 3, 4, and 7 hours after leucine- ^3H .

The submandibular glands were removed, fixed in 2% paraformaldehyde-glutaraldehyde EM, dehydrated, and embedded in epon embedding solution.

Radioautographs of 1μ sections were prepared by the dipping technique by use of liquid emulsion.

The emulsion-coated slides were stored in the dark at 4°C for two weeks in the presence of a desiccant.

After optimum exposure, the slides were developed and fixed. The slides were washed in running tap water for one hour, and stained through the emulsion with toluidine blue O.

Intracellular protein synthesis and migration in the mice submandibular gland were studied with light microscopic radioautography.

The results were as follows;

1. At five minutes after the injection of radioisotope, the radioautographic reaction was too weak to yield a well defined distribution pattern of labeled proteins.
2. At fifteen minutes after injection, silver grains were concentrated in the proximal ergastoplasm region of the acinar cells of gland.
3. A large number of the silver grains were found in the distal ergastoplasm region of the acinar cells at one hour.

4. At two hours after injection, radioactive protein was distributed in the proximal zymogen region of the acinar cells of gland.
5. At four hours after injection of radioisotope, radioactive protein was located principally in the distal zymogen region of the acinar cells.
6. At seven hours after injection of leucine-³H, labeled proteins were shown in the excretory duct lumen.
7. The results of the present radioautographic study show that the secretory cells of the mouse submandibular gland also function within this intracellular pattern of protein synthesis and migration.

I. 緒 論

白鼠顎下腺은 解剖學的으로 顎部の 前正中線의 兩側에 位置하고, 小葉으로 되고, 動物에서는 三大唾液腺中 가장 長大하고, 解剖하기가 簡便한 腺組織의 하나이다. 顎下腺은 복관상포상선이고, 混合腺이며, 大部分이 漿液細胞이고, 粘液細胞는 極少數이다.

顎下腺에 關한 研究는 그동안 細胞 및 組織化學의 方法 自記放射法, 組織構成의 Differential Centrifugation 및 電子顯微鏡等의 見地에서 새로운 研究結果를 얻었고 이를 根據로하여 여러 方面에서 活潑히 研究되어 오고 있다.

顎下腺은 다른 消化系의 外分泌細胞와 같이 分泌細胞의 機能은 便利上 Resting Phase, Elaborating Phase 및 secreting Phase로 區分되고, 蛋白質을 合成하여, 이를 非泄管의 管腔內로 放出한다고 한다.

지금까지 알려진 顎下腺細胞의 超微細構造는 糸粒體, 小胞體, Golgi 裝置, 接着板, 接合提 및 分泌顆粒等 을 볼 수 있다고 하였고, 特히 小胞體의 Chromidial Material은 Protein-Synthesizing Secretory Cell에서 發見되는 것이고, 이는 Cytoplasmic Protein과 RNA를 含有하고있다 한다.

Allfrey 外 2人(1953)¹⁾, Babkin(1950)²⁾, Caro(1964)³⁾, Jamieson 外 1人(1967)^{13,14)}, Leblond(1957)^{15,16)} 및 Warshawsky 外 2人(1963)²⁸⁾等은 膵臟細胞의 蛋白合成과 移動에 關하여 여러 角度와 見地에서 研究하였다.

趙(1972)²⁹⁾는 白鼠舌下腺細胞의 蛋白合成과 移動에 關하여 研究하였고, Tiber(1971)²⁷⁾는 Hamster의 顎下腺細胞의 蛋白合成과 移動에 關하여 研究한 바 있다. 著者는 今般 Leucine-³H을 追跡者로하여 白鼠顎下腺細胞의 蛋白合成과 移動에 關하여 調査하였고, 其 結果를 기에 報告하는 바이다.

II. 實驗材料 및 研究方法

實驗材料는 20g 內外의 雄性白鼠 44頭를 使用하였고, Leucine-³H을 體重 g當 3 μ c(Specific Activity 5-10 c/mM)를 腹腔內注射하였고, 犧牲時間에 따라서 11群으로 區分하였다.

Leucine-³H을 注射한 後 5分, 15分, 30分, 45分, 1時間, 1時間 25分, 2時間, 2時間 30分, 3時間, 4時間 및 7時間마다 動物을 犧牲시켰고, 11群의 各各에 4頭씩 配定하였다.

組織標本製作; 組織標本製作은 電子顯微鏡標本製作法에 依하였다. 即 3.5% Chloral Hydrate를 體重 100g當 1cc를 腹腔內注射하여 全身麻醉下에서 施術하였다. 前胸壁를 떼어내어 心臟을 露出하고, 右心房을 切開하여 開放시키고, 左心室에 注射針을 挿入하여 2% Paraformaldehyde-Glutaraldehyde EM을 徐徐히 注入하고, 全身의 灌流로 第一次 固定을 하였다. 다음은 顎部의 前面正中線의 兩側에 있는 顎下腺의 一部를 떼어내어 두터운 종이위에 있는 固定液에 沈水시키고, 沈水된 狀態에서 面刀로 組織을 0.5mm³의 크기로 만든다. 이를 다시 2% Paraformaldehyde-Glutaraldehyde (24.5%) in Phosphate Buffer에 3時間 固定하고, 이를 Phosphate Buffer(with 4% Sucrose)로 洗滌하였다. 다음은 脫水過程으로서 組織을 50% Alcohol, 70%, 80%, 95%, 100% Alcohol과 Propylene Oxide+100% Alcohol, Propylene Oxide를 各各 15分씩 通過하였고, Epon 埋沒溶液을 만들어 Plastic Capsule에 넣고, 여기에 組織을 넣었다(Epon 埋沒溶液 : 1. Mixture A: Epon 812+DDSA, 2. Mixture B: Epon 812+NMP, 3. Mixture A+B+DMP-30).

組織이 Capsule 內에서 밀으로 가라앉은 後 이를 Oven 60°C에 2~3日間 넣어 두어 重化시켰다. 重化된

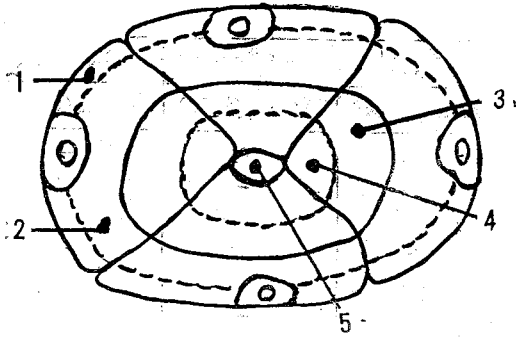


Fig. 1. Outline Drawing used for the Quantitative Estimation of the Number of Silver Grains and of the Areas of Each Acinar Region.

1. Proximal Ergastoplasm Region
2. Distal Ergastoplasm Region
3. Proximal Zymogen Region
4. Distal Zymogen Region
5. Lumen of Acinus

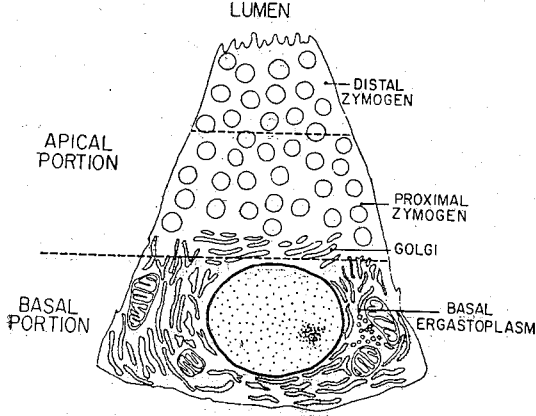


Fig. 2. Cell Topography of Exocrine Gland Cell with Cytoplasmic Regions and Components.

Epon Resin을 Capsule에서 떼어내어 Biocular Dissecting Microscope下에서 Block을 Trimming 하였다. Knife는 LKB 7800B Knife Maker로 Glass Knife를 만들었고, MT-1 Sorvall Porter-Blum Ultramicrotome을 사용하여 1μ厚徑의切片을 만들었다.

自記放射法; 自記放射法은 組織이 올려져 있는 슬라이드를 染色그릇에 넣어 完全暗室로 옮기고, 暗室內에서 모든 조작을 하는데, 먼저 Kodak NTB, Nuclear Track Emulsion을 45°C의 Oven에 넣어 溶解시키고, 使用할 때에는 45°C의 Water Bath에 담가놓고 使用한다. 슬라이드를 Emulsion에 2~3 秒間浸漬시키고, 곧 60度傾斜의 木溝板에 꽃아서 乳液이 밑으로 흘러내리게

한다. 이 木溝板을 45°C의 Oven에 30分間 넣어 完全히 乾燥 시키고, 乾燥된 슬라이드를 25枚入 特殊 플라스틱製 標本箱子에 넣었다. 箱子의 틈사이를 Black Electric Tape로 감아 光線이 들어가지 않도록 하고 여기에 鉛板를 縱橫二重으로 감고, 은종이에 曬後 비닐 주머니 속에 넣고, 다시 포장지로 싸다. 이를 4°C의 冷蔵庫에 保管 하고, 2週後에 冷蔵庫에서 꺼내어 現像 및 固定을 하였다.

現像液은 Dolmi液(2.4-Diaminophenol Dihydrochloride 0.9g, Sodium Sulfite 10.0g, Potassium Bromide 0.2g, Water 200ml)이고. 固定液은 Kodak의 Rapid Fixer를 使用하였다. 다시 脫水의 過程을 거쳐 Toluidine Blue O로 染色 하였다.

定量分析法; 顎下腺細胞에 散在하여 있는 銀粒子의 數를 合理的方法으로 統計하므로써 Radioautographic Density를 評價하고자 하는 것이다. 腺胞는 蛋白合成을 하고, 合成된 蛋白은 移動하여 排泄管의 管腔內로 分泌하는데, 이런 關係를 Cell Topography의 立場에서 區分하면 다음과 같다(第1圖 및 第2圖 参照). 外分泌細胞는 腺胞와 腺胞와의 境界가 明確하고, Ergastoplasm과 Zymogen Region이 잘 區分된다.

1. Proximal Ergastoplasm Region—基底膜에 가까운 곳.
2. Distal Ergastoplasm Region—Proximal Ergastoplasm Region과 Proximal Zymogen Region과의 사이에 該當하는 곳.
3. Proximal Zymogen Region—Distal Ergastoplasm Region과 Distal Zymogen Region과의 사이에 該當하는 곳.
4. Distal Zymogen Region—排泄管의 管腔에 가까운 곳.

以上과 같이 Acinar Cell을 4部位로 區分하고, 24個의 Acinar Cell을 選擇하고, 各 Acinar Cell의 部位마다 區分하여 各各 銀粒子를 세고, 한 Acinar Cell은 몇 個의 Acini로 區分되므로 이를 다시 Acini의 數로 나누었다. 統計的處理로는 算術平均(M) 및 標準偏差(S.D.)를 各各 求하였다.

III. 實驗成績

白鼠顎下腺細胞의 蛋白合成과 이들의 移動關係는 第1表에서 보는 바와 같이 Leucine-³H을 注射한 後 5分에는 銀粒子가 Acinar Cell에 出現하지 않았고, Leucine-³H을 注射한 後 15分, 30分, 45分에는 銀粒子가

Table 1. Protein Synthesis and Intracellular Migration in Submandibular Gland Cells After Leucine-³H in the Mice.

Time	Region	Proximal Ergastoplasm	Distal Ergastoplasm	Proximal Zymogen	Distal Zymogen	Lumen
		Mean ± (S. D.)	Mean ± (S. D.)	Mean ± (S. D.)	Mean ± (S. D.)	Mean ± (S. D.)
5 minutes		—	—	—	—	—
15 "		5.3(0.9)	—	—	—	—
30 "		5.1(0.4)	—	—	—	—
45 "		6.8(1.0)	—	—	—	—
1 hour		3.4(0.5)	4.3(0.7)	—	—	—
1 hour 25 minutes		1.6(0.2)	8.9(0.9)	—	—	—
2 hours		2.3(0.4)	8.6(1.1)	9.1(1.5)	—	—
2 hours 30 minutes		1.2(0.4)	7.3(1.0)	10.3(1.8)	—	—
3 hours		1.8(0.2)	4.8(0.8)	12.7(1.9)	—	—
4 hours		—	2.1(0.4)	5.8(0.9)	8.4(1.8)	—
7 hours		—	—	3.2(0.6)	5.3(1.1)	8.8(1.3)

Proximal Ergastoplasm Region에만 出現하였고, Leucine-³H을 注射한 後 1時間, 1時間 25分에는 銀粒子가 Proximal Ergastoplasm Region과 Distal Ergastoplasm Region에 나타나고, Leucine-³H을 注射한 後 2時間, 2時間 30分, 3時間에는 銀粒子가 Proximal Ergastoplasm Region, Distal Ergastoplasm Region 및 Proximal Zymogen Region等に 出現하였다. 이 時期를 仔細히 보면, 2時間에는 銀粒子가 Proximal Ergastoplasm Region에 2.3, Distal Ergastoplasm Region에 8.6, Proximal Zymogen Region에 9.1이었고, Leucine-³H을 注射한 後 2時間 30分에는 銀粒子가 Proximal Ergastoplasm Region에 1.2, Distal Ergastoplasm Region에 7.3, Proximal Zymogen Region에 10.3이었고, 3時間에는 銀粒子가 Proximal Ergastoplasm Region에 1.8, Distal Ergastoplasm Region에 4.8, Proximal Zymogen Region에 12.7이었다.

Leucine-³H을 注射한 後 4時間에는 銀粒子가 Proximal Ergastoplasm에는 볼수가 없었고, Distal Ergastoplasm Region, Proximal Zymogen Region 및 Distal Zymogen Region等に 出現하였는데, 이 時期에 關하여 仔細히 보면 第1表에서 보는바와 같이 銀粒子가 Distal Ergastoplasm Region에 2.1, Proximal Zymogen Region에 5.8, Distal Zymogen Region에 8.4이었다고, Leucine-³H을 注射한 後 7時間에는 銀粒子가 Proximal Ergastoplasm Region과 Distal Ergastoplasm Region에는 전혀 出現하지 않았고, 但只 Zymogen Region과 Lumen 內에서 發見되었다. 即 Proximal Zymogen Region에는 3.2, Distal Zymogen Region에는 5.3, Lumen에는 8.8이었다.

以上の 結果를 綜合하여 보면 Leucine-³H을 白鼠에

注射한 後 15分에는 銀粒子가 Proximal Ergastoplasm Region에 出現하고, 1時間에는 Distal Ergastoplasm Region에, 2時間에는 Proximal Zymogen Region에 나타나고, 4時間에는 Distal Zymogen Region에, 7時間에는 排泄管의 管腔內에 出現하였다.

IV. 總括 및 考察

同位元素를 붙인 아미노酸을 動物에 注射하면 細胞에서 새로이 合成된 蛋白質이 Label 되는 것으로 알고 있고, 이를 立證하기 爲하여 그동안 自己放射法에 依한 研究가 活潑히 進行되어 왔다.

Labeled Amino Acid를 動物에 注射하면 한 細胞內에서도 蛋白質合成이 이루어지는 部位에 먼저 Label 되고 새로 合成된 蛋白質은 時間의 經過에 따라서 腺胞의 管腔內로 移動한다고 한다. 臟器의 種類에 따라서 Turnover Time이 相異하고, 이中에서도 [Ergastoplasm에서 蛋白質合成하는 時間과 合成된 蛋白質이 排泄管의 管腔內로 放出할 때까지의 時間이 各各 相異하므로, 蛋白質合成關係의 實驗에는 Turnover Time이 매우 重要하다고 본다. 超微細構造에 依한 顎下腺細胞의 蛋白質合成과 移動過程은 Secretory Protein이 粗面小胞體의 Ribosome에서 合成되고, 合成된 蛋白質이 小胞體의 膜을 通過하여 Cisternal Space로 가고, 小胞體의 遠位端에 뭉쳐 小囊을 만들고, 이 小囊이 Golgi 裝置의 細胞膜과 結合한다. 이들이 Golgi 裝置內로 流入하여 遠位端에 뭉치고, 이 部分이 잘라지면서 Condensing Vacuoles 即 分泌顆粒이 된다. 이 分泌顆粒은 排泄管의 管腔內로 放出하게 된다고 한다.

本 實驗의 結果를 綜合하여 보면, Leucine-³H을 白

Table 2. Intracellular Protein Synthesis and Migration in the Mouse Submandibular Gland Cells Compared with Other Data.

Author	Region		Proximal Ergastoplasm	Distal Ergastoplasm	Proximal Zymogen	Distal Zymogen	Lumen
	Kind of Gland						
Warszawsky 外 2人(1963) ²⁸⁾	Pancreas		5 mins	10 mins	30 mins	4 hrs	36 hrs
Tiber (1971) ²⁷⁾	Submandibular Gland (Hamster)		15 mins	45 mins	1 hr_15 mins	2 hrs	7 hrs
Cho(1972) ³³⁾	Sublingual Gland		10 mins	30 mins	1 hr	6 hrs	After 6 hrs
Lim(1974)	Submandibular Gland (Mouse)		15 mins	1hr	2 hrs	4 hrs	7 hrs

鼠에注射한後5分에는腺腔內에銀粒子가없었고,15分에는銀粒子가Proximal Ergastoplasm Region에出現하였고,1時間에는Proximal Ergastoplasm Region과Distal Ergastoplasm Region에,2時間에는Proximal Zymogen Region까지,4時間에는Proximal Zymogen Region에는銀粒子가없었고Distal Zymogen Region까지移動하였고,7時間에는排泄管의管腔內에나타났다.

Warszawsky 外 2人(1963)²⁸⁾은 Leucine-³H을 白鼠에注射하여 腺臟의 外分泌細胞의 蛋白合成과 이들의 移動關係를 調査하였는데, Leucine-³H을注射한後5分에는銀粒子가Proximal Ergastoplasm Region에出現하였고,10分에는Distal Ergastoplasm Region에,30分에는Proximal Zymogen Region에,4時間에는Distal Zymogen Region에,36時間에는排泄管의管腔內에出現한다고하였다. 本實驗의 結果를 消化腺의 外分泌細胞에 關하여 研究한 다른 例와 比較하면 第2表와 같다.

Tiber(1971)²⁷⁾는 Leucine-³H을 Hamster에注射하여 顎下腺의 Acinar Cells, Granular Duct Cells, Striated Duct Cells의 蛋白合成과 移動關係를 調査하였는데, Leucine-³H을注射한後15分에는銀粒子가Proximal Ergastoplasm Region에出現하고,45分에는Distal Ergastoplasm Region에,1時間 15分에는Proximal Zymogen Region에 2時間에는Distal Zymogen Region에,7時間에는排泄管의管腔內에出現한다고하였고,趙(1972)³³⁾는 Leucine-³H을 白鼠에注射하여 舌下腺細胞의 蛋白合成과 移動에 關하여 研究하였는데, Leucine-³H을注射한後10分에는銀粒子가Proximal Zymogen Region에出現하고,30分에는Distal Ergastoplasm Region에,1時間에는Proximal Zymogen Region에,6時間에는Distal Zymogen Region에,6時間以後에는排泄管의管腔內에出現한

다고하였다.

Desnuelle 外 1人(1961)³⁵⁾은 蛋白合成이 Ergastoplasm에서 이루어지고 이는 Exportable Protein(腺腔排泄管으로 곧放出하는것)과 Sedentary Protein(一는 Basal과 Intergranular Ergastoplasm에 남아 있는것)으로 區分된다고하였고, Leblond 外 2人(1957)³⁶⁾은 Methionine-³⁵S를 動物에注射하여 腺臟細胞의 蛋白合成關係를 調査하였는데,腺腔에서 蛋白合成이 이루어진後 곧排泄管의管腔內로放出한다고하였고,

Hansson(1959)¹¹⁾은 Labeled Amino Acid를 動物注射하면 Ergastoplasm에 제일먼저 Label 된다고하였고,

Borsook 外 4人(1950)³⁴⁾은 蛋白은 Ergastoplasm에서 繼續 合成되어 利用되고 있다고하였고, Siekevitz 外 1人(1960)³⁸⁾은 Leucine-³H을 Guinea Pig에注射하여 腺臟細胞를 蛋白合成關係를 調査하였는데, 제일먼저 Ribosome에 Label이되고, 옮겨져서 Zymogen Granules에 Label 된다고하였고, Droz 外 1人(1963)⁷⁾은 自記放射法은 Newly Synthesized Protein을 追求하는데 가장 敏感하고 確實한 方法이라하였고, Revel 外 1人(1963)²¹⁾, Ross 外 1人(1965)²³⁾, Nadler 外 2人(1964)¹⁸⁾ 및 Reith(1968)²²⁾ 등은 Intracellular Synthesis 및 Migration은 消化腺 細胞의 外分泌腺에는 勿論 軟細胞, 腺維母細胞, 甲狀腺小泡 및 造齒細胞等에서도 같은 樣相으로 이루어진다고하였고, Shackelford 外 1人(1964)²⁵⁾은 Hamster Submandibular Cells는 電顯微鏡의으로는 分泌型의 Serozygomatic Cell 이지만 組織化學的으로는 Mucosubstances의 主根源이라하였고, Devi 外 1人(1966)⁶⁾은 Zymogen Granules가 Acinar Cell의 尖部에 集合한 것은 Bromophenol Blue Millon 反應이 있는 것으로서 Low Protein Content라하였고, Kunkel 外 1人(1951)³⁸⁾과 Rasch 外 1人(1960)³⁹⁾은 Low Protein Content의 理由는 Pepti-

hain의 Side Groups에 該當된다고 하였고, Kent(1977)⁹⁾는 이 Low Protein Content는 Reactive Sites가 attached Carbohydrate Moieties의 高濃度에 依하여 생겨져 있기 때문이라고 하였다.

以上の 研究業績을 보면, 白鼠顎下腺細胞도 다른 消化腺系의 外分泌細胞와 똑같이 蛋白質을 合成하고, 合成된 蛋白質은 排泄管의 管腔內로 移動함을 알수 있었다.

V. 結 論

體重 20g 内外의 雄性白鼠 44頭를 使用하였고, leucine-³H을 體重 g當 3 μ C(Specific Activity 5-10 /mM)를 腹腔內注射하고, 注射한 後 11群 即 5分, 15分, 30分, 45分, 1時間, 1時間25分, 2時間, 2時間30分, 3時間, 4時間 및 7時間 되는 때마다 動物을 犧牲시킴으로써, 顎下腺을 떼어냈다. 組織標本製作法은 電子顯微鏡標本製作法에 依하였고, 組織을 Epon 埋沒溶液에 包埋하고, MT-I "Sorvall" Ultramicrotome으로 1 μ 의 片을 만들었고, 自記放射法으로 處理한後 Toluidine blue O로 染色하였다.

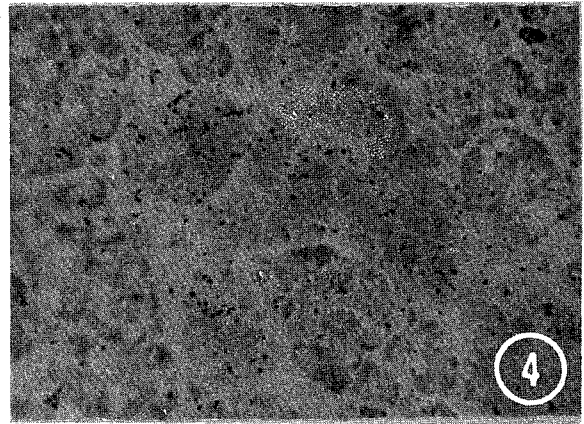
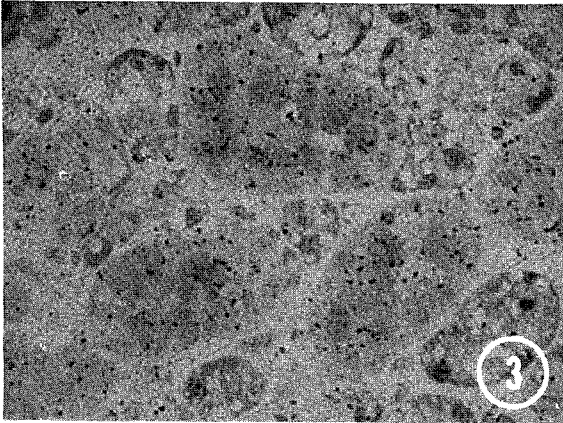
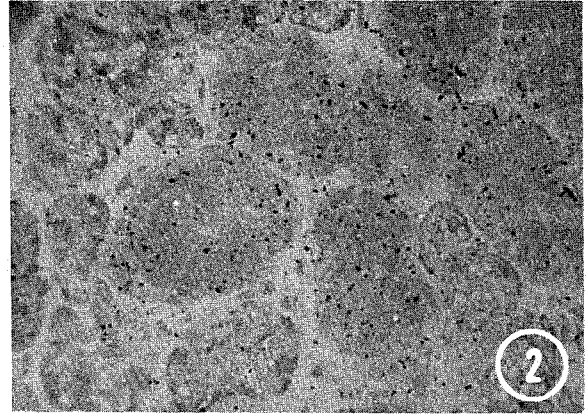
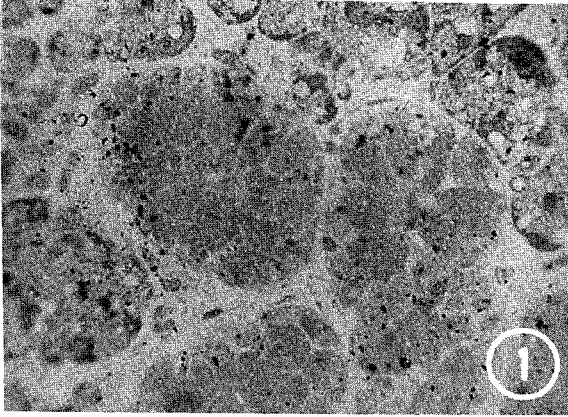
本 實驗은 Labeled Amino Acid를 Mouse에 注射하여 顎下腺細胞의 蛋白質合成과 移動關係를 追求한 것으로 其 結果를 要約하면 다음과 같다.

1. Leucine-³H을 白鼠에 注射한後 5分에는 顎下腺細胞內에 銀粒子를 全히 發見할 수 없었다.
2. Leucine-³H을 白鼠에 注射한後 15分에는 銀粒子가 顎下腺細胞의 Proximal Ergastoplasm Region에 出現하였다.
3. Leucine-³H을 白鼠에 注射한後 1時間에는 銀粒子가 顎下腺細胞의 Proximal Ergastoplasm Region과 distal Ergastoplasm Region에 나타났다.
4. Leucine-³H을 白鼠에 注射한後 2時間에는 銀粒子가 顎下腺細胞의 Proximal Zymogen Region까지 移動하였다.
5. Leucine-³H을 白鼠에 注射한後 4時間에는 銀粒子가 顎下腺細胞의 Proximal Ergastoplasm Region은 볼수가 없었고, Distal Zymogen Region까지 移動되었음을 알수 있었다.
6. Leucine-³H을 白鼠에 注射한後 7時間에는 銀粒子가 排泄管의 管腔內에 出現하였다.
7. 이 實驗의 價値는 Mouse Submandibular Gland cells에도 다른 消化腺의 外分泌細胞와 같이 蛋白質合成과 移動의 이루어지고 있음을 알수 있었고, 이런 結果가 次 어떤 다른 目的下에서 研究할時에 參考點이 될것이다.

REFERENCES ;

- 1) Allfrey, V. A., Daly, M. M. and Mirsky, A. E.: Synthesis of Protein in the Pancreas. *J. Gen. Physiol.* 37: 157, 1953.
- 2) Babkin, B. P.: *Secretory Mechanism of the Digestive Glands.* 2nd Edit., New York, Paul B. Haeber. Inc., 1950.
- 3) Belanger, L. F.: Autoradiographic Visualization of the Entry and Transit of S³⁵-Methionine and Cystine in the Soft and Hard Tissues of the Growing Rat. *Anat. Rec.* 124: 555, 1956.
- 4) Caro, L. G.: Electron Microscopic Radioautography of Thin Sections. The Golgi Zone as a Site of Protein Concentration in Pancreatic Acinar Cells. *J. Biophysic and Biochem. Cytol.* 10: 37, 1961.
- 5) Caro, L. C. and Palade, G. E.: Protein Synthesis, Storage and Discharge in the Pancreatic Exocrine Cell: An Autoradiographic Study. *J. Cell Biol.* 20: 473, 1964.
- 6) Devi, N. S. and Jacoy, F.: The Submaxillary Gland of the Golden Hamster and Its Postnatal Development. *J. Anat.* 100: 269, 1966.
- 7) Droz, B. and Warshawsky, H.: Reliability of the Radioautographic Technique for the Detection of Newly Synthesized Protein. *J. Histochem. Cytochem.* 11: 426, 1963.
- 8) Farquhar, M. G. and Wellings, S. R.: Electron Microscopic Evidence Suggesting Secretory Granule Formation Within the Golgi Apparatus. *J. Biophysic and Biochem. Cytol.* 3: 319, 1957.
- 9) Flon, H. and Gerstner, R.: Salivary Glands of the Hamster. I. The Submandibular Gland: A Histochemical Study After Preservation with Various Fixatives. *Acta Histochem.* 31: 234, 1968.
- 10) Gromet-Elhanan, Z. and Winnick, T.: Microsomes as Sites of α -Amylase Synthesis in the Rat Parotid Gland. *Biochem. Biophys. Acta* 69: 85, 1963.
- 11) Hansson, E.: The Formation of Pancreatic Juice Proteins Studied with Labeled Amino

写真附图



- Acids. *Acta Physiol.* 46 : 161, 1959.
- 12) Hultin, T. and Decken, A. : Incorporation of Labeled Amino Acids Into Proteins by Ribonucleoprotein Particles from Rat Liver Microsomes in Protein Biosynthesis. New York, Academic Press. Inc. 83, 1961.
 - 13) Jamieson, J.D. and Palade, G.E. : Intercellular Transport of Secretory Proteins in the Pancreatic Exocrine Cell: 1. Role of the Peripheral Elements of the Golgi Complex. *J. Cell Biol.* 34 : 577, 1967.
 - 14) Jamieson, J.D. and Palade, G.E. : Intracellular Transport of Secretory Proteins in the Pancreatic Exocrine Cell. 2. Transport to Condensing Vacuoles and Zymogen Granules. *J. Cell Biol.* 34 : 597, 1967.
 - 15) Leblond, C.P., Everett, N.B. and Simmons, B. : Sites of Protein Synthesis as Shown by Radioautography After Administration of S³⁵-Labeled Methionine. *Am. J. Anat.* 101 : 225, 1957.
 - 16) Leblond, C.P. and Warren, K.B. : The Use of Radioautography in Investigating Protein Synthesis. *Symposia of the International Society for Cell Biology* 4 : 330, Academic Press. 1965.
 - 17) Morris, A. J. and Diekman, S.R. : Biosynthesis of Ribonuclease in Mouse Pancreas. *J. Biol. Chem.* 235 : 1404, 1960.
 - 18) Nadler, N.J., Young, B.A. and Leblond, C. P. : Elaboration of Thyroglobulin in the Thyroid Follicle. *Endocrinol.* 74 : 333, 1964.
 - 19) Provenza, D.V. : *Oral Histology.* 406-441, Lippincott, 1964.
 - 20) Redman, C.M.O., Siekevitz, P. and Palade, G.E. : Synthesis and Transfer of Amylase in Pigeon Pancreatic Microsomes. *J. Biol. Chem.* 241 : 1150, 1966.
 - 21) Revel, J.P. and Hay, E.D. : An Autoradiographic and Electron Microscope Study of Collagen Synthesis in Differentiating Cartilage. *Z. Zellforsch.* 61 : 110, 1963.
 - 22) Reith, E.J. : Collagen Formation in Developing Molar Teeth of Rats. *J. Ultrastruct. Res.* 21 : 383, 1968.
 - 23) Ross, R. and Benditt. E.P. : Wound Healing and Collagen Formation. *J. Cell. Biol.* 27 : 1965.
 - 24) Schour, I. : *Noyes' Oral Histology and Embryology.* 8th Edit. 257, Lea & Febiger, 1966.
 - 25) Shackelford, J.M. and Schneyer, C.A. : Structural and Functional Aspects of Rodent Salivary Glands Including Two Desert Species. *Amer. J. Anat.* 115 : 279, 1964.
 - 26) Sicher, H. : *Orban's Oral Histology and Embryology.* 6th Edit. : 257, Mosby, 1966.
 - 27) Tiber, A. : Radioautographic and Histochemical Study of Protein Synthesis in the Hamster Submandibular Gland. *J. Dent. Res.* 50 : 819, 1971.
 - 28) Warshawsky, H., Leblond, C.P. and Droz, B. : Synthesis and Migration of Proteins in the Cells of the Exocrine Pancreas as Revealed by Specific Activity Determination from Radioautographs. *J. Cell Biol.* 16 : 1, 1963.
 - 29) Warshawsky, H. and Droz, B. : Reliability of the Radioautographic Technique for the Detection of Newly Synthesized Protein. *Anat. Rec. (Proc)*, 112 : 289, 1962.
 - 30) Warshawsky, H. and Leblond, C.P. : Steps in the Secretion of Protein Material by the Acinar Cells of the Pancreas as Visualized by Radioautography in Rats and Mice. *Anat. Rec. (Proc)*. 139 : 284, 1961.
 - 31) Warshawsky, H. : Synthesis and Secretion of Pancreatic Enzymes as Shown by Radioautography Using Tritiated Amino Acids. Master Thesis. McGill University, 1961.
 - 32) Zilversmit, O.B., Entenman, C. and Fisher, M.C. : On the Calculation of "Turnover Time" and "Turnover Rate" from Experiments Involving the Use of Labeling Agents. *J. Gen. Physiol.* 26 : 325, 1943.
 - 33) 趙鏞明 : 自記放射法에 의한 白鼠舌下腺細胞의 蛋白質合成과 移動. *대한치과의사협회지* 10 : 587-599, 1972.
 - 34) Borsook, H., Deasy, C.L., Haagen-Smit, A.J., Keighley, G., and Lowy, P.H. : Metabolism of C¹⁴-Labeled Glycine, L-Histidine

L-Leucine and L-Lysine. *J. Biol. Chem.* 187: 839, 1950.

Desnuelle, P. and Rovey, M.: The Proteins of the Exocrine Pancreas. *Adv. Protein Chem.* 16: 139, 1961.

Siekevitz, P. and Palade, G.E.: A Cytochemical Study on the Pancreas of the Guinea Pig. *J. Biophysic and Biochem. Cytol.* 7: 619, 1960.

Kent, P.W.: Structure and Function of Glycoproteins. *Essays in Biochemistry*, Academic Press. 105, 1967.

38) Kunkel, H.G. and Tiselius, H.: Electrophoresis of Proteins on Filter Paper. *J. Gen. Physiol.* 35: 89, 1951.

39) Rasch, E. and Swift, H.: Microphotometric Analysis of the Cytochemical Millon Reaction. *J. Histochem. Cytochem.* 8: 4, 1960.

40) Leeson, T.S. and Leeson, C.R.: *Histology*. 2nd Edit.: 289, Saunders, 1970.

41) Snell, G.D.: *Biology of the Laboratory Mouse*. 112, Dover Publications, Inc. New York, 1956.

—EXPLANATION OF FIGURES—

Fig. 1. Mouse submandibular gland cells at 15 minutes after injection of leucine-³H.

Silver grains are concentrated in proximal ergastoplasm region of acinar cells (x450).

Fig. 2. Toluidine blue O stained radioautograph of submandibular acinar cells at two hours after leucine-³H.

Silver grains are concentrated in proximal zymogen region of acinar cells (x450).

Fig. 3. Submandibular acini at 4 hours after injection of leucine-³H.

Labeling of acinar cells is concentrated in distal zymogen region (x450).

Fig. 4. Mouse submandibular gland cells at seven hours after injection of leucine-³H. The grain density in acinar cells has decreased. Principal labeling is now in apical region of acinar cells (x450).