

製品データ No. 207

FluoroMyelin™ Red を用いたマウス坐骨神経と脳の蛍光染色

2005 年 9 月

データの提供 : 自然科学研究機構 生理学研究所 分子生理研究系 分子神経生理研究部門

渡辺啓介、小野勝彦

はじめに :

FluoroMyelin™ Red、NeuroTrace® 蛍光試薬を用いて神経系の組織凍結切片染色の有用性を検討した。

方法 :

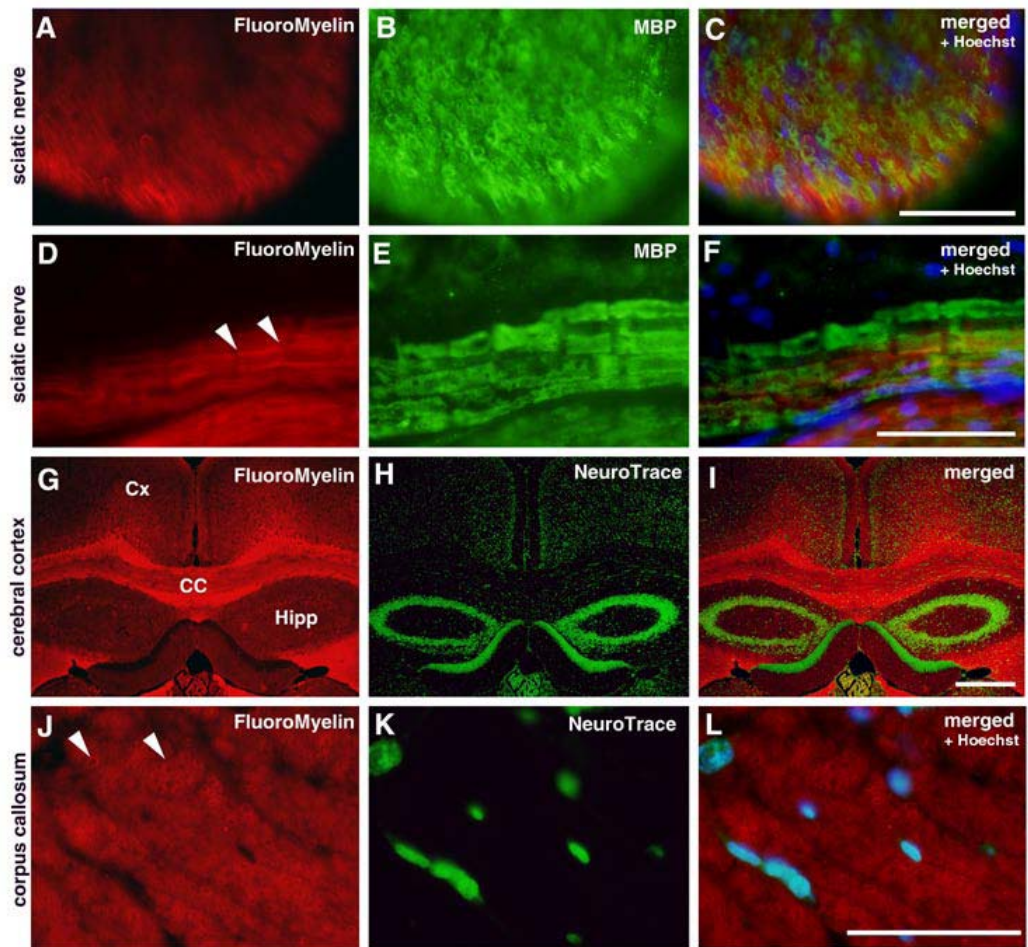
- 使用したマウス ; ICR 系 成体マウス (性別不詳 主にオスを使用)。
- 固定 ; 4% パラフォルムアルデヒドにて心臓より灌流固定、同固定液に 1 晩つける。
その後、20% シュークロース PBS につけて cryoprotection。
- 切片 ; 坐骨神経と脳をクリオスタットに薄切。坐骨神経は 20 µm、脳は 10 µm にて薄切後、染色。
- 蛍光染色 :
 - NeuroTrace® 500/525 は 1000 倍希釈、FluoroMyelin™ Red は 600 倍希釈 [PBS(Triton® X-100 を 0.1% 含む) で希釈]、室温にて 20 分反応させ同時染色。Olympus, BX51 落射蛍光顕微鏡にて観察、同 DP70 で撮影した。蛍光検出の励起波長 / 蛍光波長は NeuroTrace® 500/525:(Abs/Em: 495/519)、FluoroMyelin™ Red:(Abs/Em: 599/617)。
 - Hoechst33342(他社 ; 0.1 µg/ml) にて核染色。
 - 坐骨神経の一部の切片は、あらかじめ、ウサギ抗 myelin basic protein(MBP) 抗体 (Nichirei; 1:5 dilution) と、2 次抗体として Alexa Fluor® 488 標識抗ウサギ IgG を用いて免疫染色しておいた。蛍光検出の励起波長 / 蛍光波長 :(Abs/Em: 495/519)。

結果 :

- A-C; 坐骨神経の輪切り。MBP ではミエリンのリング状の形態が見えるが、FluoroMyelin™ ではやや不明瞭である。また、リング状の構造が見えても、MBP で見えるそれとはあまり重ならない。スケールは 50 µm。
- D-F; 坐骨神経の縦切り。FluoroMyelin™ でも MBP の免疫染色でも、ランビエの絞輪もしくはシュミット - ランターマンの切痕と思われる構造が認められる (矢頭)。しかし、両者の染色は重ならない傾向にある。スケールは 50 µm。
- G-I; 大脳の前額断。大脳皮質 (Cx) と海馬 (Hipp) の前端部。脳梁 (CC) などの白質がきれいに染まる。20 分でクリューバー - バレラ染色と同等の染色が行える。スケールは 200 µm。
- J-L; 脳梁の拡大。1 本 1 本の軸索を取り巻くミエリンのリング状の構造がわかる。スケールは 50 µm。

考察：

中枢神経組織では短時間で、蛍光版のクリューバー-バレラ染色 (KB 染色法) を行うことができ、染色のハイスループット化が可能となったといえる。非常に有用だと思われる。パラフィン切片でも可能かどうかを今後確かめてみたい。末梢神経で MBP の免疫染色と陽性構造が重ならないことは非常に疑問であり、今後の課題である。



参考文献：渡辺啓介、小野勝彦；脳の形態解析テクノロジー；19 世紀から 21 世紀まで。バイオテクノロジージャーナル 2005 年 12 月号掲載予定

製品情報

製品名	製品番号	サイズ
FluoroMyelin™ Red Fluorescent Myelin Stain	F34652	1 ml
NeuroTrace™ 500/525 green fluorescent Nissl stain	N21480	1 ml
Alexa Fluor® 488 Goat Anti-rabbit IgG, 2 mg/ml	A11008	0.5 ml

Triton® は Rohm & Haas, Co. の登録商標です。

研究用에만使用できます。診断目的およびその手続き上での使用は出来ません。

記載の社名および製品名は、弊社または各社の商標または登録商標です。

標準販売条件はこちらをご覧ください。www.lifetechnologies.com/TC

The trademarks mentioned herein are the property of Life Technologies Corporation or their respective owners.

© 2012, Life Technologies Japan Ltd. All rights reserved. Printed in Japan.

ライフテクノロジーズジャパン株式会社

本社：〒108-0023 東京都港区芝浦 4-2-8

TEL.03 (6832) 9300 FAX.03 (6832) 9580

www.lifetechnologies.com

大阪：〒564-0052 大阪府吹田市広芝町 10-28

TEL.06 (6339) 8165 FAX.06 (6339) 8138

life
technologies™