

「卵子、受精卵に対して効率的な蛍光免疫染色を可能とする新たな手法を開発

—秋田発の電界攪拌技術を用いた効率的な染色手法—

英国科学誌「Scientific Reports」に研究成果を発表

秋田大学大学院医学系研究科の白澤弘光非常勤講師（秋田県厚生農業協同組合連合会かづの厚生病院・産婦人科科長）、大学院医学系研究科医学専攻産婦人科学講座の寺田幸弘教授、大学院医学系研究科胸部外科学講座の南谷佳弘教授、医学部附属病院病理部の南條博准教授及び秋田県産業技術センターの赤上陽一副所長らの研究チームは、電界攪拌技術を用いて、哺乳類の卵子、受精卵に対する新たな蛍光免疫染色手法を開発しました。

微小液滴内部に卵を留置した後に、電界によって液滴内部の攪拌を生じさせることで抗原抗体反応を促進し、効率的な染色を可能としました。本技術によって、非常に薄い抗体濃度、短い抗体反応時間においても、目的とする蛋白の観察が可能となることが確認されました。また、その原理についても明らかにしております。

今後はこの技術を用いることで、貴重な抗体の節約や、実験時間の短縮など、発生学の発展に大きく寄与する事が期待されます。また、電界攪拌技術は秋田発の新技术です。本研究成果は、ネイチャー・パブリッシング・グループ（NPG）が出版するオープンアクセスの電子ジャーナル「**Scientific Reports**」に掲載されます（情報解禁日：2015年10月19日10時：英国サマータイム、2015年10月19日18時：日本時間）。

Scientific Reports : www.nature.com/articles/srep15371

• Hiromitsu, S. *et al. Sci. Rep.* 5, 15371; doi: 10.1038/srep15371 (2015).

【研究成果のポイント】

- 1) これまで手術中の病理標本などに対する免疫染色に使用されていた「非接触電界攪拌技術」を、初めて3次元の構造物である「卵」、「胚(受精卵)」の蛍光免疫染色に応用しました。
- 2) 通常は数時間かかる抗体反応時間を、各抗体5分間ずつと短縮し、通常使用する抗体濃度を10倍以上希釈し、微小管の染色強度、退色の程度を検討しました。今回の手法では、このような条件下でも観察が可能かつ、退色が軽減されることを確認しました。
- 3) 電界攪拌技術による染色手法については、原理について未解明な点が多くありました。今回攪拌中における液滴の挙動、液滴内の電流変化などを検討し、液滴内部には電流が流れず、抗原と抗体と物理的な接触頻度が亢進することで、効率的な蛍光免疫染色が行われていることを確認しました。
- 4) 卵の形態は攪拌で損なわれず、今後蛍光免疫染色以外にも、発生学の研究に対して電界攪拌技術の応用が期待されます。

【お問い合わせ先】

秋田大学大学院医学系研究科

非常勤講師 白澤 弘光（秋田県厚生農業協同組合連合会かづの厚生病院・産婦人科科長）

TEL : 0186-23-2111 E-mail : shirasawah@doc.med.akita-u.ac.jp

OPEN

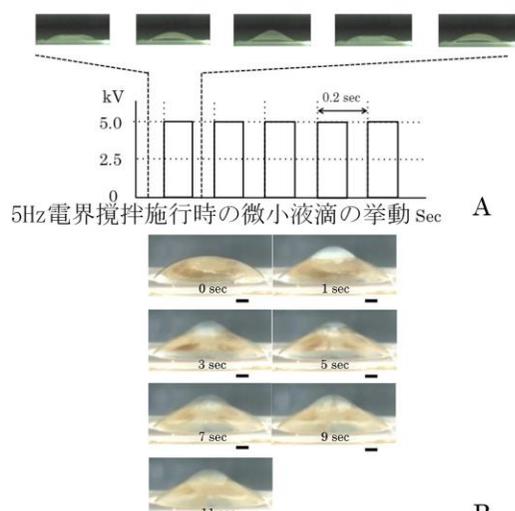
Novel method for immunofluorescence staining of mammalian eggs using non-contact alternating-current electric-field mixing of microdroplets

Received: 24 March 2015
Accepted: 24 September 2015

Shirasawa Hiromitsu¹, Kumagai Jin², Sato Emiko³, Kabashima Katsuya⁴, Kumazawa Yukiyo⁵, Sato Wataru⁵, Miura Hiroshi⁵, Nakamura Ryuta², Nanjo Hiroshi³, Minamiya Yoshihiro⁴, Akagami Yoichi² & Terada Yukihiro²

「微小液滴に対する非接触電界攪拌を用いた、哺乳類の卵に対する新たな蛍光免疫染色手法」

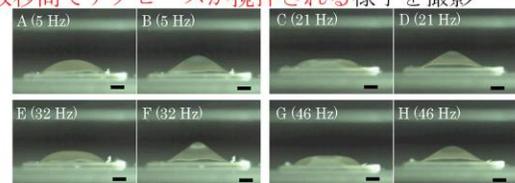
秋田発の技術:電界攪拌技術を用いて、3次元の構造物である卵に対する新たな蛍光免疫染色手法を開発: 早く染まり(プロセス短縮)、抗体節約につながる新たな手法



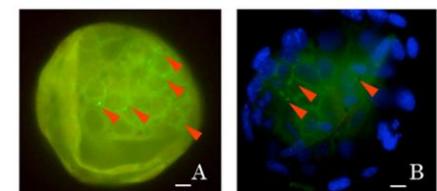
ナノビーズを微小液滴内に入れて電界攪拌を施行数秒間でナノビーズが攪拌される様子を撮影



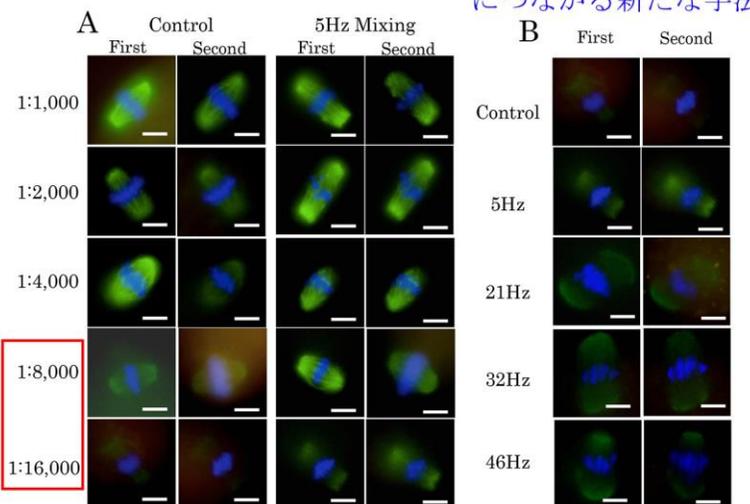
上)Histo-Tek® R-IHC®の外観
下)電極上のプレパラートに15 μlの液滴を留置し、その内部に卵を静置。



各周波数により、微小液滴の形態変化は異なる

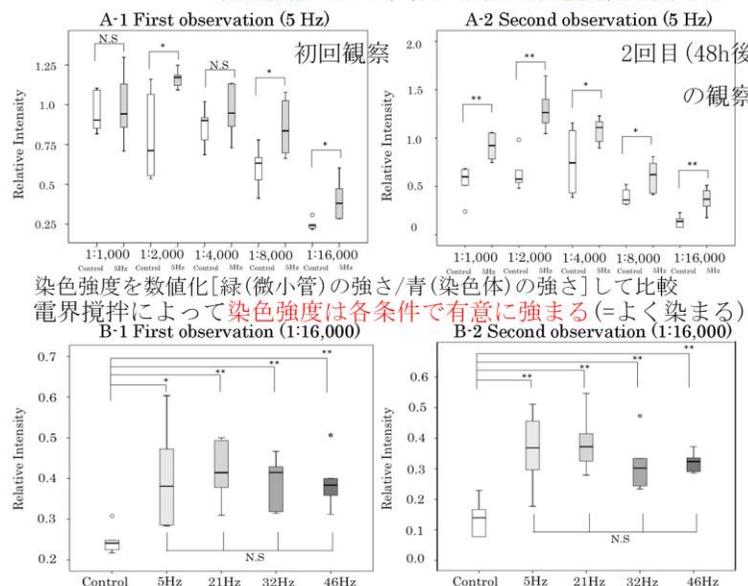


受精卵も形態を損なうことなく染色が可能

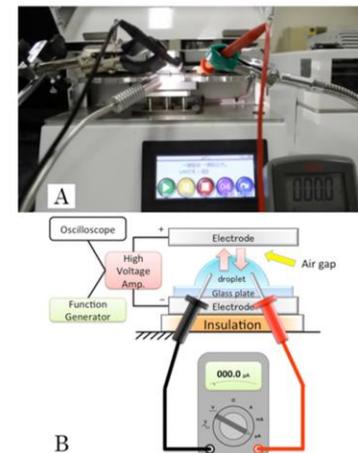


通常使用する1次抗体の濃度より10倍以上希釈すると、電界攪拌の優位性が明らか。

周波数の変化による差は明らかではない。



染色強度を数値化[緑(微小管)の強さ/青(染色体)の強さ]として比較
電界攪拌によって染色強度は各条件で有意に強まる(=よく染まる)。



原理の考察: 微小液滴内部には電流が流れていない
=卵に影響なく実験、検査を施行できる