



ユーザー様製品ご使用例

STAINperfect Immunostaining Kit を用いた グルタミン酸, GABA の免疫組織化学染色



慶應義塾大学医学部 薬理学教室 塗谷睦生 准教授

① はじめに

脳神経系の研究においては、様々な条件下での情報伝達の変化の解析が重要となる。細胞間の化学情報伝達はグルタミン酸や GABA といった種々の低分子量神経伝達物質が担っており、よって脳神経系の生理・病態生理・薬理的解析において、これら伝達物質の局在や量の変化を可視化して捉えることが非常に重要となる。しかし、これらの伝達物質はアミノ酸やその誘導体などであるため**サイズが非常に小さく、通常の免疫組織化学的手法による検出は困難**であった。このような中、我々は近年開発され神経伝達物質の免疫組織化学検出を実現するとされる STAINperfect 試薬の使用を試み、大変良好な結果を得たので、ここに報告する。

② 実験方法

コラーゲンとポリリジンでコートしたカバーガラス上で培養したラット由来大脳皮質あるいは線条体初代培養神経細胞を用い、ImmuSmol 社 STAINperfect Immunostaining Kit を用いて染色した後、共焦点顕微鏡により可視化した。固定・可溶化・安定化などはこのキットに付属の試薬を用いて行い、グルタミン酸および GABA の染色は ImmuSmol 社の抗体（グルタミン酸：#IS018, GABA：#IS1006）を、共染色の Tau-1 は Merck Millipore 社のもの（#MAB3420）を用い、二次抗体には Alexa 488 および Alexa 555 ラベルのものを用いた。

③ 結果

初代培養大脳皮質神経細胞を用い、グルタミン酸の免疫組織化学染色を行った結果を **図-1**（培養 25 日目）に、グルタミン酸と GABA を共染色した結果を **図-2**（培養 14 日目）に示す。

グルタミン酸, GABA 共に非常に高いシグナル・ノイズ比で可視化でき、抗体間のシグナルの交雑無しに神経細胞の染色ができていたことが分かる。

また、培養 21 日目の初代培養線条体神経細胞を用い、GABA と軸索マーカーの Tau-1 を共染色した結果を **図-3** に示す。ここから抗 Tau-1 抗体による染色も同時に可能であることが分かり、細胞種や細胞微細構造の可視化と合わせて神経伝達物質の局在を明らかにできることが分かった。

④ まとめ

ImmuSmol 社の STAINperfect Kit（免疫組織化学染色用試薬類と抗体のセット）を用いることで、これまで十分なシグナル・ノイズ比をもって検出することが困難であった**神経伝達物質の免疫組織化学染色ができる**ことが分かった。培養細胞のみならず組織標本でも有効性を確認しており、他の抗体との共染色ができることも併せ、脳神経系の研究に非常に有効な試薬となることが期待される。

図-1 初代培養大脳皮質神経細胞のグルタミン酸染色画像

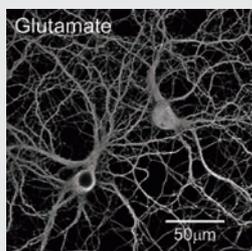


図-3 初代培養線条体神経細胞の GABA と軸索マーカー Tau-1 の共染色画像

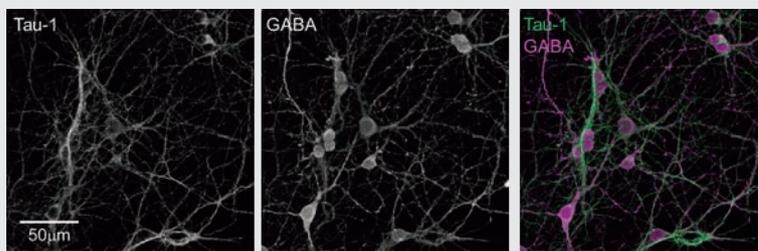


図-2 初代培養線条体神経細胞のグルタミン酸と GABA の共染色画像



試料：初代培養大脳皮質神経細胞
グルタミン酸と GABA を染め分けることができています。