

## 50歳からのリスタート、マウス組織標本作製はじめました

玉谷 貴志<sup>a) b)</sup>

<sup>a)</sup>金沢大学 総合技術部、<sup>b)</sup>金沢大学 医学系神経解剖学講座

### 1. はじめに

金沢大学総合技術部は5周年を迎えることができました。技術職員の業務に対する評価体制は整ってきてはいるものの、業務内容は各々の技術職員の実質的な配属先となる基礎講座や施設等によりバラツキがあります。また、自己研鑽のための活動も個人的な活動になることが多く医学系においては配属先との業務エフォート等の兼ね合いを考慮する必要があります。

そこで、筆者の自己研鑽例として令和2年秋から配属先の神経解剖学講座の協力を得て始めた「組織標本作製の自己研鑽を兼ねた代替ホルマリンの検証」で得た知見や失敗例を紹介することにしました。筆者が組織標本作製に従事するのは実に15年振りになります。ほぼゼロからのリスタートになります。そのため、すでに知られている一般的な知見を紹介しているかもしれません。その際は優しい心でご理解をいただけますと幸いです。

### 2. 報告1 マウス脳組織標本の作製は難しい

脳組織と他の一般的な臓器との違いはまず「頭蓋骨に覆われている」ことになります。まずは脳組織を傷つけないように頭蓋骨を剥がすことが難しかったです。次に脳は他の組織と比べ脂質を多く含むため、4%パラホルムアルデヒドで固定されたマウス脳のパラフィンブロックを作製するとき、パラフィン中間剤として代替キシレンを選択し脱脂工程を設けずパラフィン包埋を実施すると脱脂不足となることを確認しました（肝臓、腎臓、脾臓ではパラフィン中間剤として代替キシレンを使用しても特に問題がなかったことも確認しています）。そこで包埋プロトコルを見直し70%エタノールの脱水工程を1週間とし、パラフィン中間剤はキシレンに戻し脱脂剤として代替キシレン G-NOX を使用することで脱脂不足が改善されました。

### 3. 報告2 グリオキサールを固定液として使用した場合のメリット

4%グリオキサール・10%エタノール・1%酢酸混合液で固定されたマウス脳をパラフィン包埋するときパラフィン中間剤として代替キシレンを使用しても脱脂不足とはならないことを確認しました。グリオキサールを固定液として使用する際には触媒や反応促進剤が必要なため、エタノールと酢酸を加えた混合固定液として使用しています。そのため脱脂作用がグリオキサールによるものであるか、あるいはエタノールや酢酸の脱脂作用によるものかどうかは確認する必要があります。

またグリオキサールは殆どのエピトームの免疫反応性を阻害しないため抗原賦活化を省略した免疫組織化学染色を実施したところマウス脳パラフィン組織標本では抗GFAP抗体の検出、マウス膵臓パラフィン組織標本では抗インスリン抗体の検出（図1、図2）を確認することができました。

### 4. 報告3 凍結組織標本作製スキルが向上しない

凍結組織標本作製において厚さ7 $\mu$ mの薄切を目標としていたが、作製することができなかった。今後の課題であるが改善するためのノウハウが全くない状況である。

### 5. おわりに

その他、パラフィンブロックを薄切する際に改善したことやスモールスケールでの染色プロトコル等

についても発表で紹介する予定です。今回の報告が組織標本作製に携わる方々にとって参考となれば幸いです。

今後も組織標本作製に関する知見を増やし、研究や業務に貢献できるように取り組む所存です。

#### 参考文献

- [1] 大久保和央 細胞・組織化学染色の達人 羊土社 2018年
- [2] 組織細胞化学 2023 日本組織細胞化学会

#### 謝辞

この取り組みは金沢大学医学系神経解剖学講座 堀修教授の下、課題名「代替ホルマリンで固定されたマウス組織標本の品質評価（承認番号 AP-204195）」により実施しました。この場を借りてお礼申し上げます。

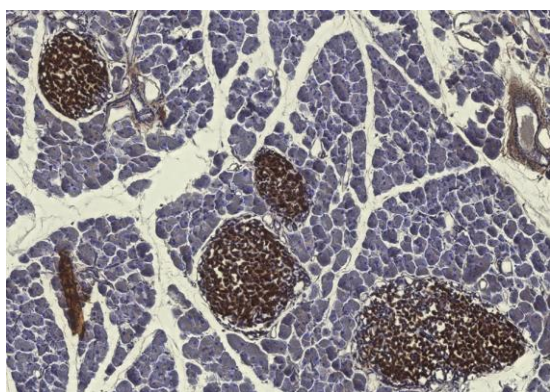


図1 酵素抗体法 マウス膵臓 抗インスリン抗体

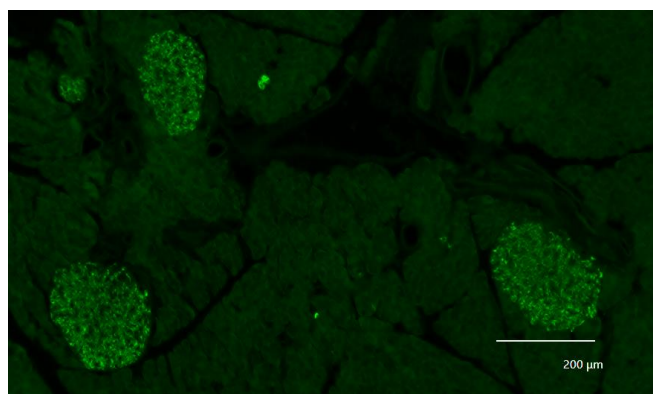


図2 蛍光抗体法 マウス膵臓 抗インスリン抗体