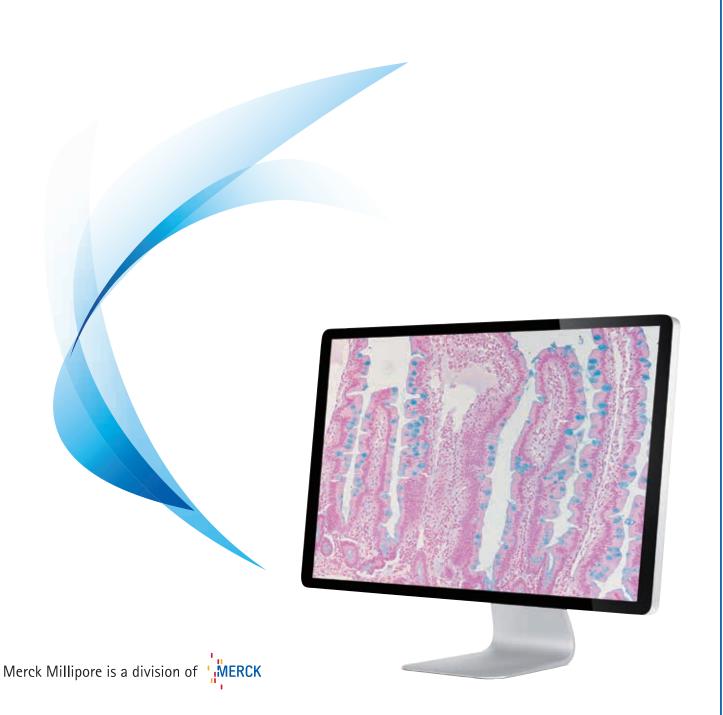


Alcian Blue Stain アルシャンブルー染色

アルシャンブルー染色はフタロシアニン系の塩基性色素で酸性粘液多糖類を 選択的に染め出す染色法として最も多く用いられている。



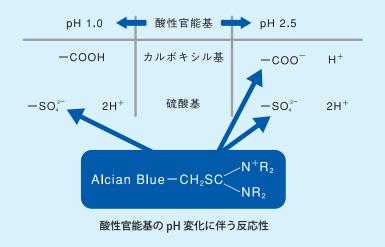
Alcian Blue Stain アルシャンブルー染色 pH2.5

目的

ステッドマンは、フタロシアニン系の塩基性色素アルシャンブルー 8GS を用いて選択的に酸性粘液多糖類を染色できることを見いだした。以来、生体に存在する酸性粘液物質を検出する方法として、用いられるようになった。酸性粘液は上皮細胞から分泌される粘液、細胞膜表面を構成するサーフェス・コート、および間葉系組織の構成成分として存在している。またこれらの組織から発生する腫瘍細胞も、各々の母細胞固有の粘液を産出している場合が多い、したがって粘液を染色することで腫瘍組織の性格を識別することが可能となる。

原理

この染色液は、フタロシアニン系の塩基性色素であるアルシャンブルーと酸性粘液物質の酸性基のイオン結合を利用した方法でアルシャンブルー液の pH によって特異性が変化する。pH1.0 以下のアルシャンブルー液では硫酸基と、pH2.5 のアルシャンブルー溶液では、硫酸基とカルボキシル基の両者に結合する。通常行われる pH2.5 について述べる。



試薬

アルシャンブルー 8GX 染色液 (カタログ番号: 1.01647.0500)

0.1% ヌクレアファーストレッド(ケルンエヒトロート)染色液(カタログ番号: 1.00121.0500)

3% 酢酸水溶液

手順

- 1 脱パラフィン
- 2 流水水洗(2~3分)後、純水を通す
- 3 3% 酢酸 (2~3分)*1
- 4 アルシャンブルー染色液 pH 2.5 (15~30分)
- 5 3% 酢酸:2槽(各1~2分)
- 6 流水水洗 (2~5分) *2
- 7 0.1% ケルンエヒトロート液(30 秒~ 1 分)後、 純水を通す*3
- 8 流水水洗 (1~2分)*4
- 9 脱水・透徹・封入

染色および染色液使用上のポイント

- *1: 3% 酢酸を通すことによって染色液の劣化を防ぐ。
- *2: 非特異的な沈着(共染)を防ぐために余分な染色液を洗い流す。
- *3: 共染に注意する。
- *4: 十分に水洗を行う。



結果

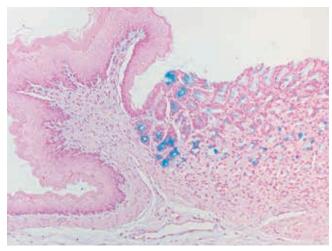
アルシャンブルー 陽性

青

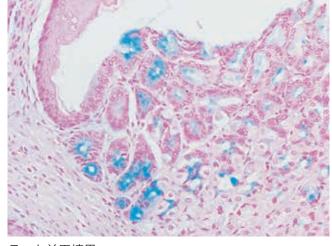
酸性粘液多糖類、酸性粘液のシアロムチン、スルフォムチン、 硫酸ムコ多糖類、ヒアルロン酸、ムコ多糖類など。

*具体的には、腸の杯細胞、軟骨基質、肥満細胞の顆粒、唾液腺の粘液細胞、皮下結合識、気管支・鼻腔の上皮性粘液、臍帯などが陽性である。

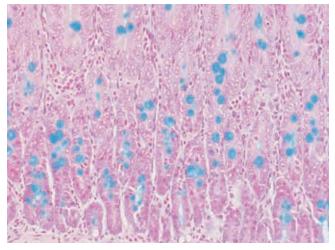
アルシャンブルー染色



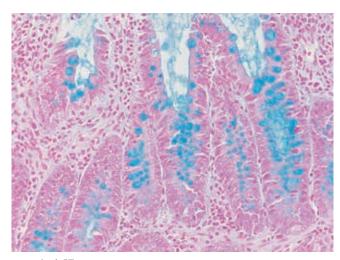
ラット前胃境界



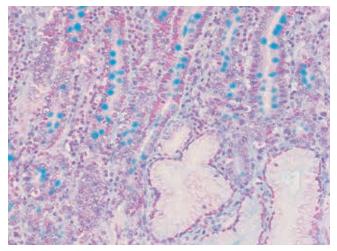
ラット前胃境界



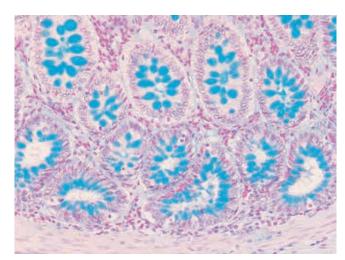
ラット小腸



ラット小腸

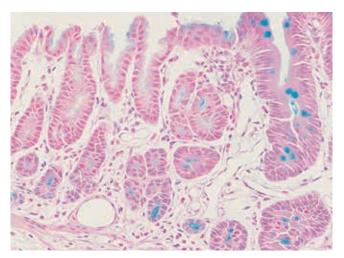


イヌ小腸

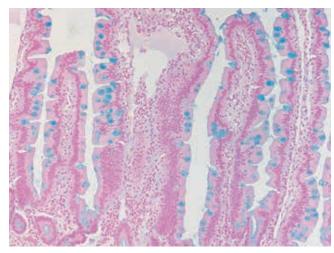


イヌ大腸

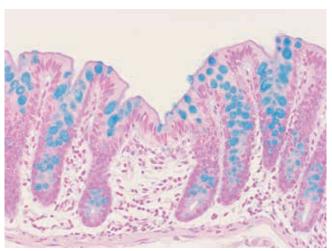
染色例 アルシャンブルー染色



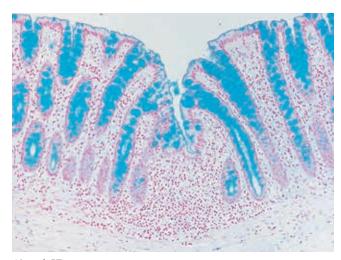
サル胃・幽門



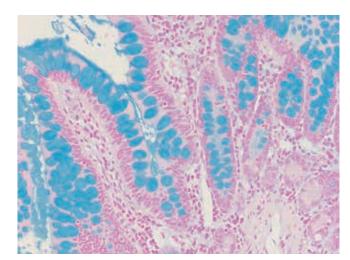
サル小腸



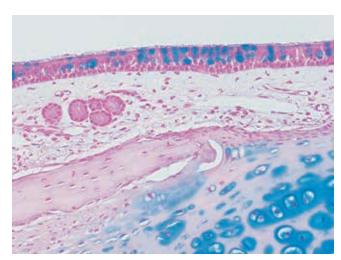
サル大腸



サル大腸



サル大腸



サル肺の気管軟骨と気管上皮

アルシャンブルー・PAS 重染色法

原理

酸性ムコ物質の染色としてアルシャンブルーが使用される。その後に PAS 染色で多糖類に含まれるグリコール基を呈色する。 また、核染色も必要であればマイヤーへマトキシリンもしくはケルンエヒトロートで行う。

手順

- 1 脱パラフィン
- 2 流水水洗(2~3分)後、純水を通す
- 3%酢酸*1
- 4 アルシャンブルー染色液(15~30分)
- 5 3% 酢酸:2 槽(各 1 ~ 2 分)*2
- 6 流水水洗(2~5分)後、純水を通す
- 7 0.5% 過ヨウ素酸で酸化(10分)*3
- 8 軽く水洗後、純水で数回洗う
- 9 シッフ液で反応させる*4
- 10 亜流酸水 | 、||、||で洗浄(各3分)
- 11 水洗(5~15分)
- **12** 必要があれば核染色を行う*5
- 13 水洗、脱水、透徹、封入



染色および染色液使用上のポイント

- *1: 3% 酢酸を通すことによって染色液の劣化を防ぐ。
- *2: 非特異的な沈着(共染)を防ぐために余分な染色液を洗い流す。
- *3: 過ヨウ素酸での酸化は、時間を守り毎回新調する。
- *4: シッフ試薬は密栓し、冷暗所に保存する。 赤味着色か亜硫酸臭のしない場合は新調する。
- *5: 核染はマイヤーへマトキシリンもしくはケルンエ ヒトロートで行う。

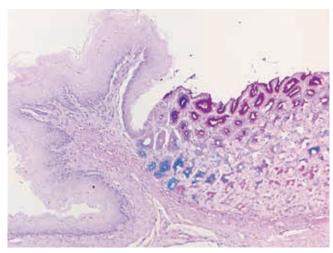
結果

アルシャンブルー陽性部位:青~青紫色に染まる

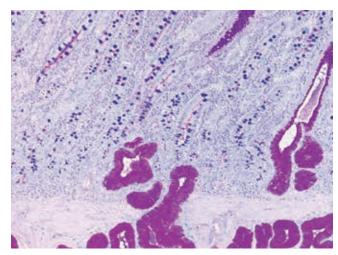
PAS 陽性部位:赤~赤紫色に染まる

^{*}この方法では酸性粘液と中性粘液が混在することが多いので比率により青紫一赤紫色に 染まる。

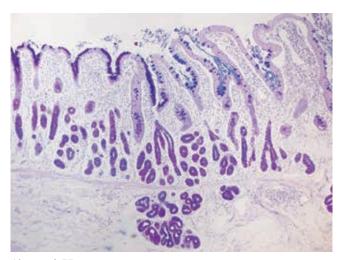
染色例 アルシャンブルー・PAS 重染色



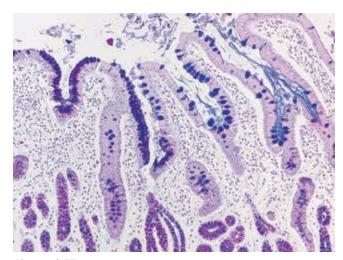
ラット前胃境界



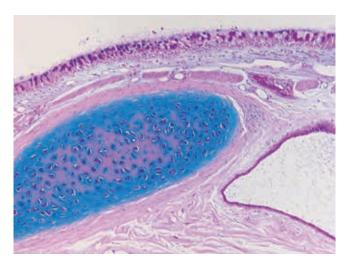
イヌ小腸



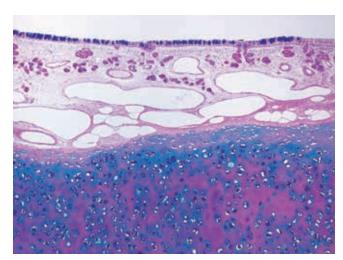
サル胃幽門



サル胃幽門



サル肺の気管軟骨と気管上皮



サル鼻腔の鼻中隔軟骨と呼吸部上皮

試薬および関連製品

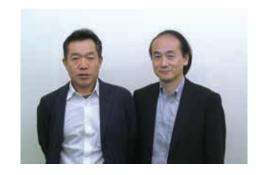
▼ 染色液

製品名	カタログ番号	包装単位
アルシャンブルー 8GX 染色液 Alcian blue 8GX solution 酸性ムコ物質染色用 1% アルシャンブルー染色液 pH2.5. 細胞診,組織切片両用染色液.	1.01647.0500	500 mL
0.1%ヌクレアファーストレッド(ケルンエヒトロート) - 硫酸アルミニウム液 Nuclear fast red-aluminum sulfate solution 0.1% for microscopy 対比染色および核染色等染色用	1.00121.0500	500 mL
シッフ試薬 Schiff's reagent for microscopy and electrophoresis PAS 染色,電気泳動用発色液.パラローズアリニンから調製したシッフ試薬.	1.09033.0500	500 mL
PAS 染色キット PAS staining kit ムコ多糖類等染色用(シッフ試薬および過ヨウ素酸溶液,各 500 mL×1本)	1.01646.0001	1 Kit
マイヤーへマトキシリン染色液 Mayer's hemalum solution 細胞核染色液.マイヤー原法より多量のヘマトキシリンを含み,染色力が強く迅速に核染色が可能.	1.09249.0500	500 mL

▼封入剤

製品名	カタログ番号	包装単位
デーピーエックス非水性封入剤 DPX non-aqueous mounting medium n ₀ ²⁰ =1.518-1.521, 粘度:600-700mPa·s/20℃. 退色がほとんどなく, 気泡の混入もほとんどない速乾性の封入剤.	1.01979.0500	500 mL

協力



順天堂大学 小林 良光 先生(写真左)

順天堂大学 阿部 寛 先生(写真右)

株式会社 新日本科学 株式会社 DIMS 医科学研究所 富士フイルム株式会社

顕微鏡用試薬の最新情報はこちらから >> www.merckmillipore.jp/microscopy

本紙記載の製品は試験・研究用です。ヒト、動物への治療、もしくは診断目的として使用しないようご注意ください。また化粧品や食品など他の用途には使用しないでください。 本紙記載の製品構成は諸般の事情により予告なく変更となる場合がありますのであらかじめご了承ください。 本文中のすべてのブランド名または製品名は特記なき場合、Merck KGaA の登録商標もしくは商標です。Merck Millipore and the M mark are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany.

メルク株式会社

メルクミリポア事業本部 ラボエッセンシャルズ事業部

〒153-8927 東京都目黒区下目黒1-8-1 アルコタワー5F

製品の最新情報はこちら www.merckmillipore.jp

お問合せ▶0n-Line:www.merckmillipore.jp/jpts Tel: 0120-013-828 Fax: 03-5434-4706

[LEM065-1306] 3K/M