

# はじめに

近年、生命科学の研究において、組織化学、酵素組織化学、免疫組織化学等にくわえて、遺伝子組織化学が広く利用されている。それに伴い生体成分や抗原性に加えて、遺伝情報を正確に保持した切片が望まれている。従来の切片作製法では、軟組織は形態維持のために固定され、さらに骨や歯などの硬組織は薄切を容易にするために脱灰されています。これらの処理は蛋白の変性や遺伝子を含めた生体成分の流出を引き起こすことから、新鮮試料から切片を作製することが望ましく、それに適した方法の一つとして凍結切片作製法がある。比較的小さい軟組織は、従来法で凍結切片を作製することができるが、大きな試料、あるいは全身のように性状の異なった臓器・組織を含んだ試料から形態が保たれた凍結切片を作製することは非常に困難である。また、小さい試料についても厚さ2  $\mu\text{m}$ 程度の薄い凍結切片作製することは非常に困難である。骨等の硬組織の非脱灰凍結切片作製は更に困難を伴い、形態が保たれた凍結切片を作製する事は不可能である。

本法は、従来の試料に加え、そのような凍結切片の作製が困難な試料からも再現性よく、しかも形状が保持された凍結切片を作製するために川本忠文博士(鶴見大学歯学部 RI 研究センター)によって開発実用化されました。凍結切片は、専用の凍結切片支持用粘着フィルム(Cryofilm)を用いて、切片の損傷を回避しながら作製されます。作製された切片は、粘着フィルムに貼り付いた状態で染色され、最終的に粘着フィルムとスライドガラスの間に封入保存されます。専用の封入剤を使用することにより永久標本として保存することもできます。

- ① 硬組織、大きな試料から薄い凍結切片を作製できる。
- ② 組織成分が完全に保持されている。
- ③ 組織の形状が保たれている(収縮のない切片)。
- ④ 色々な試料から凍結切片を作製できる。
- ⑤ 切片を多目的に利用できる(切片の応用を参照)。
- ⑥ 未固定非脱灰切片を用いて酵素組織化学、免疫染色を行える。
- ⑦ 専用包埋剤を使用することにより切片を永久標本として保存できる。
- ⑧ 切片を粘着フィルムからスライドガラスに転写できる。
- ⑨ 試料採取から 20 分で永久標本を作製できる。
- ⑩ 切片を LMD 法に使用できる。
- ⑪ 特別な訓練や技術を必要としない。
- ⑫ 低ランニングコスト

すでに凍結切片を作製することが非常に困難とされている非脱灰硬組織(骨、歯、貝等)、実験動物の全身(肺、眼球、皮膚等を含む)、植物(葉・花粉、穀類)等の凍結切片作製に利用されています。粘着フィルムに貼り付いた凍結切片は、その状態で組織学的染色、組織化学的染色、免疫組織化学的染色等をおこなって顕微鏡で詳細に観察することができます。近年実用化されましたレーザーマイクロダイセクション装置を使用することにより、LMD フィルムで作製した凍結切片から遺伝子解析用微小試料片を採取できます。

[次ページあり](#)

本法で作製される未固定非脱灰試料の凍結切片は、「切片の応用」に示しているように多くの目的に利用することができます。本切片は未固定非脱灰であることから、免疫組織化学的研究や遺伝子組織化学的研究において、連続切片を用いて、未固定非脱灰切片、固定切片、脱灰切片の各染色結果を比較検討することにより固定液や脱灰液の影響をより正確に評価することができます。また、連続切片を用いた各種染色結果を容易に関連付けすることができます。