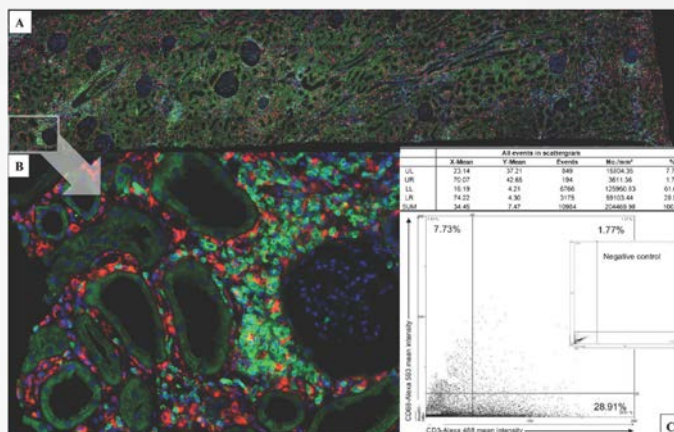


## ■ 蛍光多重染色した組織切片中の各ポピュレーションの検出

Kozakowski N, *et al.*, Monocytes/macrophages in kidney allograft intimal arteritis: no association with markers of humoral rejection or with inferior outcome. 2009, *Nephrology Dialysis Transplantation* 24(6):1979-86.

体液性免疫の特徴と移植臓器の生着率との関連性を調べるために、血管性拒絶反応を伴う臓器移植者由来の切片を2重染色し、Intimal arteritisと間質のmonocytes/macrophages (MO)とT細胞の割合 (CD68とCD3陽性細胞の比で表した)を分析しました。

パラフィン切片のCD68 (Alexa 594, red signal, MO)と CD3 (Alexa 488, green signal, T細胞)及び核 (DAPI)を蛍光染色しました。右図Aが染色した組織切片の一部を、Bが更に拡大した写真を示しています。Cは解析結果でY軸にA568を、X軸にA488の強度を示したドットプロットです。クアドラントマーカの左上がCD68陽性となりMO数で、右下がCD4陽性となりT細胞数です。この切片ではMO/T細胞比は1以下となり、T細胞優勢でした。しかし、MOの割合は生着率に因果関係はありませんでした。

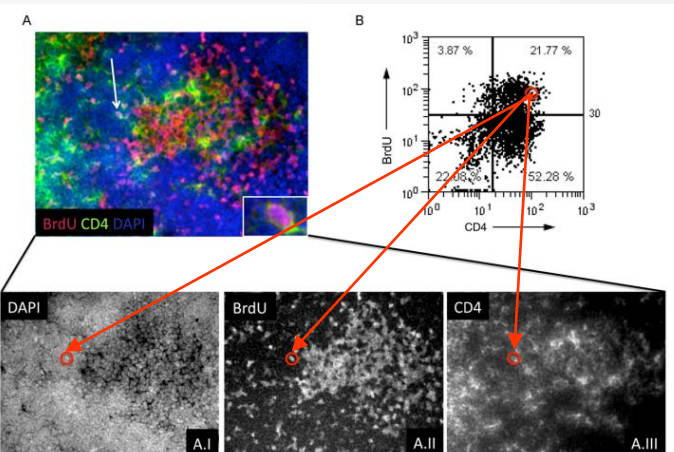


## ■ 蛍光多重染色した組織切片のダブルポジティブの細胞数と位置情報の同定

Florian C, *et al.*, An advanced approach for the characterization of dendritic cell-induced T cell proliferation *in situ.*, 2010, *Immunobiology*, 215(9-10):855-62

これまで、増殖性T細胞の分析をする際、細胞懸濁液を用いていましたが、組織中の位置情報が失われてしまうという欠点がありました。そこで位置情報を持ったままの増殖性T細胞の分析法を確立することを目的としました。

凍結切片をBrdU (red), DAPI (blue), CD4 (green) で蛍光染色を行った。右図Aは、染色した組織切片の全ての色を重ね合わせた写真と各色素ごとの写真です。Bは解析結果でY軸にBrdU、X軸にCD4の強度を示したドットプロットです。クアドラントマーカの右上がBrdU+/CD4+細胞で、全体の21.77%でした。また、ドットプロットと位置情報がリンクしているため、増殖性T細胞が切片中のどこに位置するか示すことができます。



## ■ 細胞内ドットの検出

FISHなどの細胞内にあるドットを認識し、任意の数のドットを持つ細胞数や、任意のドットの蛍光強度を持つ細胞数を定量することができます。

## ■ 培養細胞の検出

複雑な形の培養細胞も下図のように認識し、定量化することができます。

