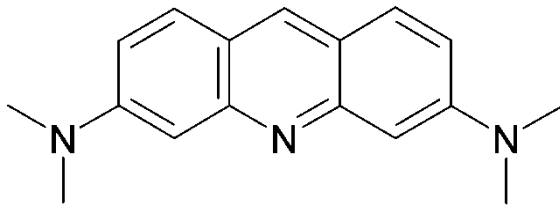


図1 Acridine Orange 染色の原理
A O (Acridine Orange) の分子構造



DNA、RNA と結合性の塩基性蛍光色素である。

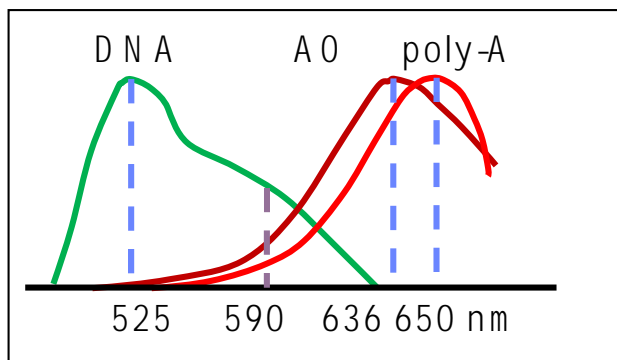
DNA、RNA との結合様式と蛍光波長

RNA に対しては、D/P 比が 1 : 1 になるほどにたくさんの A O が結合し、A O 分子間でスタッキングを起こし、波長の長い赤色の蛍光を発する。

dsDNA に対しては、2 本鎖の間にインターカーレートし、各 A O 分子が、緑 (525nm) ~ 黄色 (590nm) の蛍光を出す。インターカーレートは D/P 比 (染料 Dye と核酸・リン酸基 Phosphate の比) が約 1/6 で飽和する。

dsDNA はしかし、高濃度の A O の場合には、RNA と同様、D/P 比が 1 : 1 になるほどにたくさんの A O が結合し赤色蛍光へシフトする。その理由としては、スタッキングと A O による 2 本鎖解離の二つの理論がある。

適切な A O 濃度の場合の、A O の蛍光スペクトル



高濃度の A O で DNA が染まると、RNA のような蛍光スペクトルになる

図 2 改良 AO 染色法の Scheme

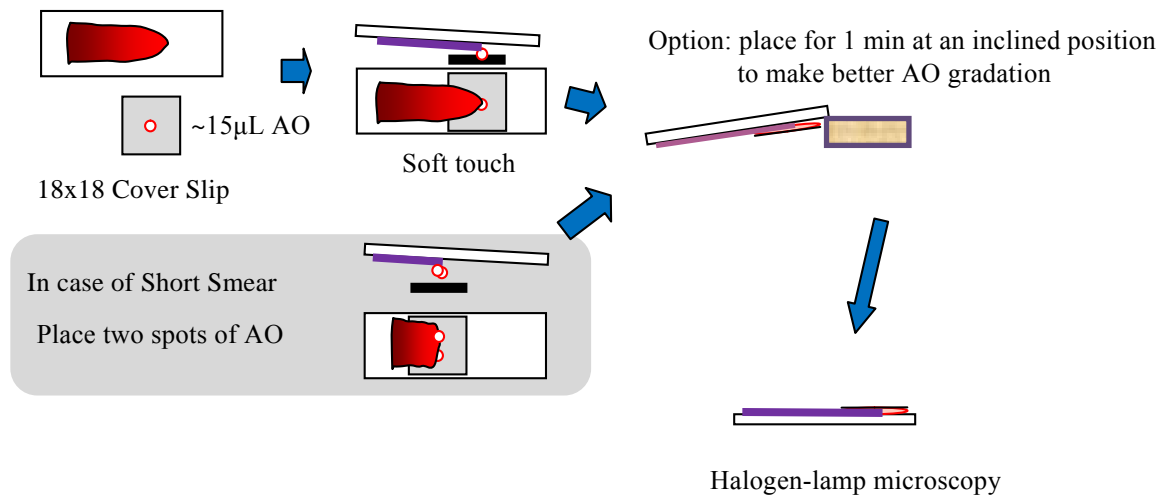
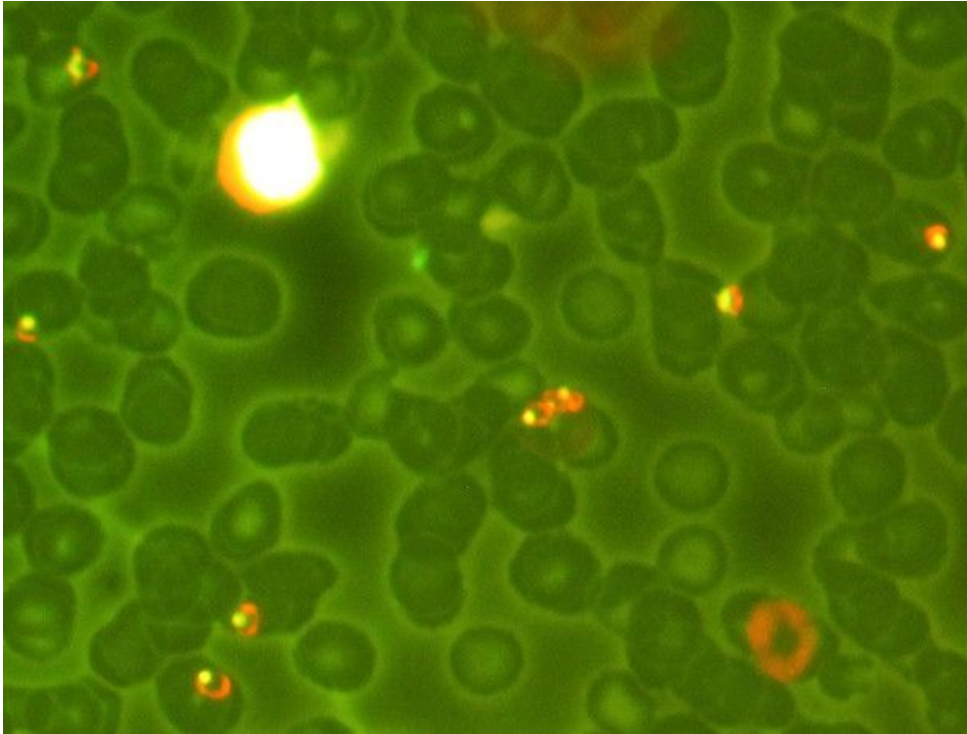


図3 A0 染色例

(a) 適切に染色されている場合：白血球（左上）が2色に染め分けられている周辺を観察する。8この原虫が明瞭に識別できる。右下は網状赤血球。



(b) 不適切な染色例：恐らく赤血球が積み重なっている影響で、マラリア原虫は核しか染まっていない。今の場合には多数あるためマラリア原虫と判別できたが、通常は判別不能。

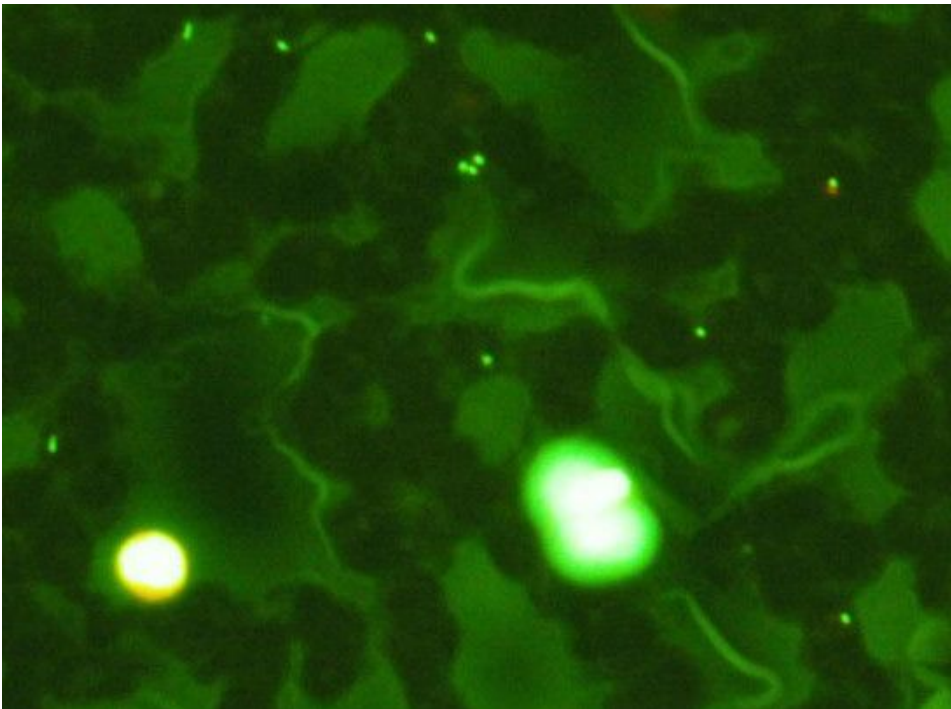


表 1 : 1 日の来訪者中、脾臓肥大と判定された 108 人全てについて A0 染色によるマラリア検査を実施し、他の検査データと比較した。PCR 陰性の 3 例は、他の検出系でも全て陰性であった。

Sample	PCR	RDT	A0	Giemsa
PCR - positive	105	90	77	64
Pos. Rate	97.2%	83.3%	71.3 %	59.3%

この元データは次の Supplement 1 にある

Supplement 1

ビクトリア湖畔 Ungoye 地区の 108 人の患者について、A O 迅速診断法と他の検出法を比較した。このなかで、患者がいるところで迅速に結果が出たのは R D T 法（抗体による熱帯熱マラリア感染原虫検出）と A O 法だけである。

No	IDNo	PCR	RDT ¹	A0	Giemsa ²
1	20130813-1	-	-	-	-
2	20130813-2	FM	-	-	-
3	20130813-3	FM	Pos	1+	-
4	20130813-4	F	-	-	-
5	20130813-5	F	-	-	-
6	20130813-6	FMO	Pos	-	-
7	20130813-9	FMO	Pos	1+	-
8	20130813-10	F	Pos	-	-
9	20130813-11	F	Pos	-	-
10	20130813-16	FM	Pos	2+	F49
11	20130813-20	F	Pos	1+	-
12	20130813-25	FM	Pos	1+	-
13	20130813-27	FM	Pos	3+	F8
14	20130813-28	F	Pos	1+	-
15	20130813-36	FM	Pos	1+	-
16	20130813-37	F	Pos	-	-
17	20130813-39	FMO	-	1+	-
18	20130813-41	FMO	Pos	2+	F56
19	20130813-45	F	Pos	4+	F325
20	20130813-48	F	Pos	1+	-
21	20130813-49	F	Pos	2+	F24
22	20130813-51	FM	Pos	1+	F11
23	20130813-52	FM	Pos	1.5+	F5fg1
24	20130813-54	FMO	Pos	1+	F8
25	20130813-55	F	Pos	3+	F4
26	20130813-56	FMO	Pos	1+	-
27	20130813-57	FMO	Pos	2+	F56
28	20130813-59	FM	Pos	-	F19
29	20130813-61	FM	Pos	2+	F360
30	20130813-63	FM	Pos	2+	F20
31	20130813-65	FM	Pos	-	F2
32	20130813-68	F	Pos	3+	F150
33	20130813-70	FM	Pos	3+	F95
34	20130813-80	F	Pos	1+	F33
35	20130813-81	FM	Pos	-	-
36	20130813-82	FM	Pos	1.5+	F2

37	20130813-84	F	Pos	2+	F70
38	20130813-85	FO	Pos	1.5+	F18
39	20130813-86	F	Pos	2+	F18
40	20130813-87	F	Pos	1.5+	F5
41	20130813-88	FM	Pos	3+	F110
42	20130813-90	F	Pos	1+	F12
43	20130813-91	F	Pos	1+	-
44	20130813-92	FM	Pos	1+	F35
45	20130813-94	FM	-	-	-
46	20130813-96	FM	Pos	-	F17
47	20130813-97	F	Pos	4+	F600
48	20130813-100	F	Pos	-	F4
49	20130813-101	FM	Pos	-	F13
50	20130813-104	FM	-	-	-
51	20130813-106	F	-	1+	-
52	20130813-108	FM	Pos	-	-
53	20130813-110	F	Pos	1+	-
54	20130813-111	FM	Pos	1+	-
55	20130813-112	FM	-	-	-
56	20130813-113	FM	Pos	4+	F178
57	20130813-115	-	-	-	-
58	20130813-124	FMO	Pos	2+&PM	F18
59	20130813-128	FM	Pos	3+	F14
60	20130813-130	F	-	-	-
61	20130813-131	F	-	1+	-
62	20130813-133	FM	Pos	-	F17
63	20130813-136	FM	-	1+	-
64	20130813-139	F	Pos	1+	-
65	20130813-144	F	-	1+	F20
66	20130813-154	FM	-	-	F2
67	20130813-155	F	Pos	3+	F95
68	20130813-165	F	Pos	4+	F205
69	20130813-167	FMO	-	-	-
70	20130813-171	FM	Pos	2+	F36
71	20130813-175	FMO	Pos	1+	-
72	20130813-177	F	Pos	1.5+	-
73	20130813-178	F	Pos	1+	F25
74	20130813-181	-	-	-	-
75	20130813-183	F	Pos	1+	F18
76	20130813-184	F	Pos	1+	-
77	20130813-188	F	Pos	3+	F45
78	20130813-192	FM	Pos	-	F17
79	20130813-196	FMO	Pos	1+	F150
80	20130813-197	F	Pos	3+	F400
81	20130813-198	FO	Pos	-	F33
82	20130813-201	F	Pos	4+	F476
83	20130813-203	F	Pos	3+	F7
84	20130813-208	FM	Pos	2+ Fsch	FM121
85	20130813-209	FM	Pos	1+	-
86	20130813-211	F	Pos	-	-
87	20130813-216	F	Pos	1+	F30
88	20130813-217	F	Pos	1+	-
89	20130813-220	F	Pos	2+	F24
90	20130813-221	FM	Pos	1+	F14
91	20130813-222	F	-	1+	-
92	20130813-223	FM	Pos	-	-
93	20130813-229	F	Pos	1+	F6
94	20130813-232	FM	Pos	1+	-
95	20130813-233	F	Pos	1+	F12
96	20130813-234	F	Pos	-	-
97	20130813-235	F	Pos	2+	-
98	20130813-240	FM	Pos	2+	F17
99	20130813-245	FM	Pos	1+	F5

100	20130813-253	F	Pos	4+	F625
101	20130813-258	FM	Pos	1+	F140
102	20130813-274	F	Pos	1+	F20
103	20130813-275	FM	Pos	2+	F119
104	20130813-285	F	Pos	1.5+	F52
105	20130813-288	FM	Pos	1+	F25fg1
106	20130813-289	FM	Pos	2+	FM215
107	20130813-297	FMO	Pos	-	F7
108	20130813-307	FM	Pos	-	F3

¹ F = 熱帯熱マラリア; M = 四日熱マラリア; O = 卵形マラリア; V = 三日熱マラリア

² 末梢血厚層塗抹標本のギムザ染色。数値は 200W B C あたりの原虫数、数字の前の記号は、fg=熱帯熱マラリア原虫ガメトサイト、その他の文字は、注¹に同じ