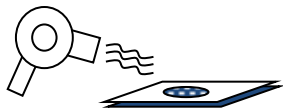


凍結組織標本前処理

1. クリオスタットで薄切

2. 風乾



シランコーリングスライド(DAKO S3003.J)

3. アルコール脱水



95%EtOH

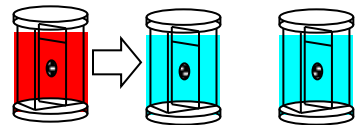
20分

4. 風乾



5. 酵素処理

組織蛋白の特にコラーゲンを消化する。
DNAプローブのハイブリダイゼーション
効率に大きく影響する。



プロテアーゼ溶液

洗浄緩衝液

37°C 10~20分間

(Wash Buffer

2 × SSC)

5分間 2回

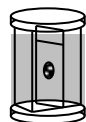
☆プロテアーゼ溶液の作製法

・プロテアーゼ溶液50mlにプロテアーゼを50 μl
加える。

長期保存 : -20°C保存

1ヶ月程度 : 4°C保存

6. 洗浄、脱水 (常温)



70%

EtOH

1分間

1回



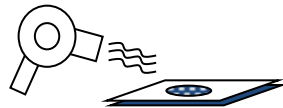
100%

EtOH

1分間

1回

7. 風乾



☆凍結組織標本以外に塗末
標本もこの方法で大丈夫です。

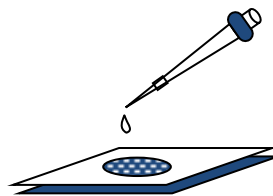
FISH染色体操作簡易法

1. 領域マーク

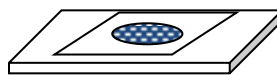


裏側にマークすること

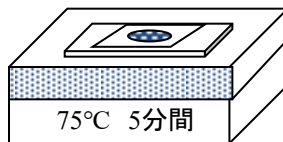
2. DNAプローブを10μl添加する



3. カバーガラスをのせ
ペーパーバンドでシールする



4. 標本をホットプレートにのせる



☆ホットプレートの上で標本とプロ
ーブを変性する。

ハイブリダイゼーション

1. インキュベーション

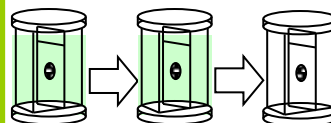


湿潤箱にいれ遮光する

37°C 16~72時間

洗浄

ペーパーバンドを取り除き1個目の
コプリンジャーに入れカバーガラス
を剥がす。



(ポストハイブリダイゼーション
洗浄緩衝液: PH7~7.5)

2X SSC /0.3% NP-40 2X SSC /0.3% NP-40 2X SSC
常温 5min 常温 5min 72±1°C 1~2min

対比染色

1. DAPI 10μlを
スライドターゲットに添加



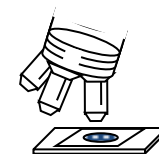
☆DAPI
パラフィン組織標本の場合
150ng/mlのDAPIを使用する。

2. カバーガラスをの
せる



☆マニキュアでシールすると
検鏡時カバーガラスのずれを
防ぐことができます。
☆封入をやり直したいときは
スライドガラスをDWや2×SSC
にいれると簡単にはずせませ

観察



対物レンズ40Xで細胞のエリ
アをスキャンし核が適当に分
布しているエリアを選ぶ。そ
の後63Xまたは100Xの対物
レンズを用いて油浸で検鏡
する。