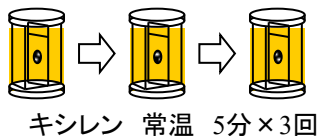
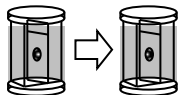


パラフィン組織標本前処理

1. 脱パラフィン



2. アルコール脱水



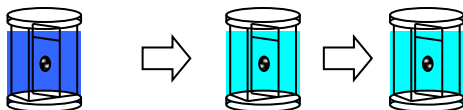
100%EtOH
常温 5分×2回

3. 風乾



コーティングスライド

4. 前処理 (プレトリートメント処理)

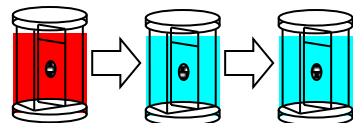


前処理液
(Pretreatment
Solution)
95-100°C 30分間
(重要)

洗浄緩衝液
(Wash Buffer)
2×SSC)
5分間 2回

5. 酵素処理

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。

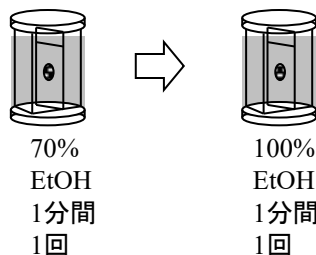


プロテアーゼ溶液 洗浄緩衝液
(Wash Buffer)
37°C 10-20分間 2×SSC)
5分間 2回

☆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500μl加える。

プロテアーゼの保存
長期保存 : -20°C保存
1ヶ月程度 : 4°C保存

6. 洗浄、脱水 (常温)

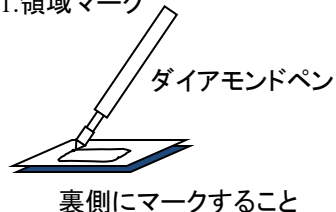


7. 風乾

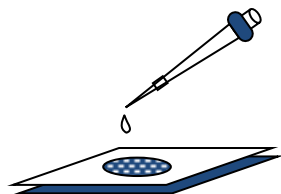


FISH染色体操作簡易法

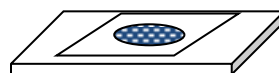
1. 領域マーク



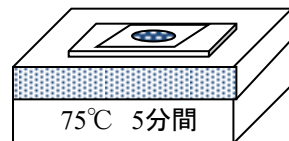
2. DNAプローブを10μl添加する



3. カバーガラスをのせ ペーパーボンドでシールする



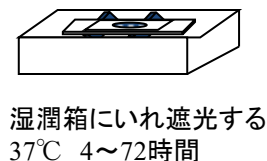
4. 標本をホットプレートにのせる



☆ホットプレートの上で標本とプローブを変性する。

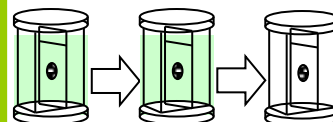
ハイブリダイゼーション

1. インキュベーション



洗浄

ペーパーボンドを取り除き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 常温 5min
2X SSC /0.3% NP-40 72±1°C 1~2min
2X SSC 常温 5min

対比染色

1. DAPI 10μlを スライドターゲットに添加



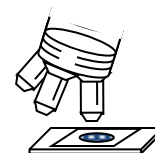
☆DAPI
パラフィン組織標本の場合
1500ng/mlのDAPIを使用する。

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す。

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。