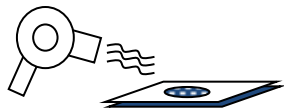


凍結組織標本前処理

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 S3003J)

3. アルコール脱水



95% EtOH

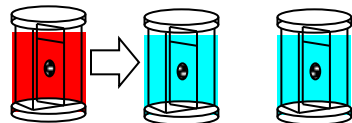
20分

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

37°C 10～20分間

洗浄緩衝液

(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

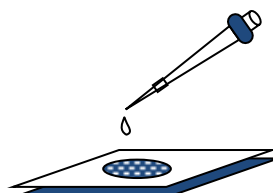
1. 領域マーク



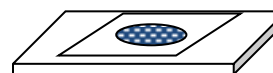
ダイヤモンドペン

裏側にマークすること

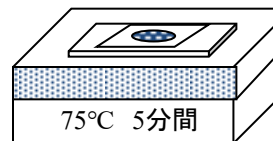
2. DNAプローブを10μl添加する



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



75°C 5分間

☆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

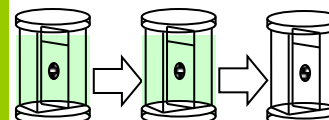
1. インキュベーション



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。

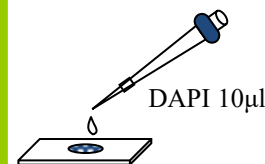


(ポストハイブリダイゼーション
洗浄緩衝液: PH7～7.5)

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

対比染色

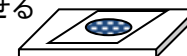
1. DAPI 10μlを
スライドターゲットに添加



DAPI 10μl

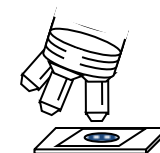
☆DAPI
パラフィン組織標本の場合
150ng/ml のDAPIを使用する。

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。