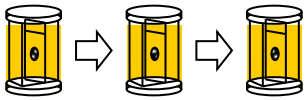
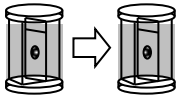
パラフィン組織標本前処理

1.脱パラフィン



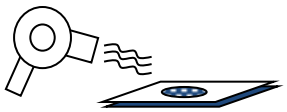
キシレン　常温　5分×3回

2.アルコール脱水



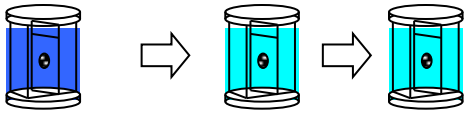
100%EtOH
常温 5分×2回

3.風乾



コーティングスライド

4.前処理（プレトリーメント処理）

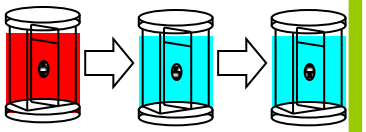


前処理液
(Pretreatment Solution)
95-100℃ 30分間
(重要)

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。



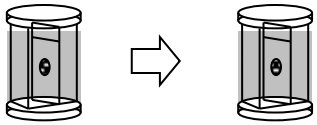
プロテアーゼ溶液
37℃ 10－20分間

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500μl加える。

プロテアーゼの保存
長期保存　：－20℃保存
1ヶ月程度　：4℃保存

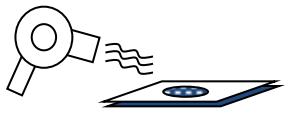
6.洗浄、脱水　（常温）



70%
EtOH
1分間
1回

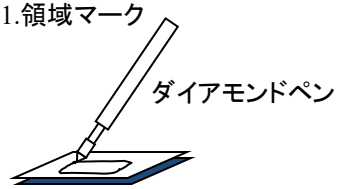
100%
EtOH
1分間
1回

7.風乾



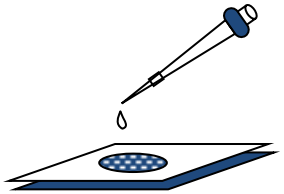
FISH染色体操作簡易法

1.領域マーク

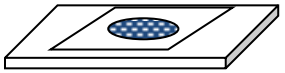


裏側にマークすること

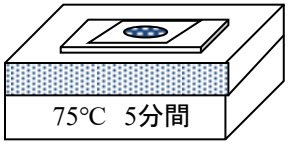
2.DNAプローブを10μl添加する



3.カバーグラスをのせ
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

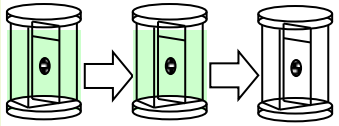
1.インキュベーション



湿潤箱にいれ遮光する
37℃　16～72時間

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グラスを剥がす。



（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℃ 1～2min

2X SSC
常温 5min

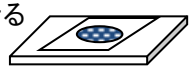
対比染色

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.カバーグラスをのせる



☆マニキュアでシールすると検鏡時カバーグ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。

株式会社GSP研究所　電話：078-599-8635　Fax：078-599-8636　e-mail：info@gsplab.co.jp