

マウス、ラット組織の凍結切片の染色に

参考

ヒストファイン製品の各動物組織専用試薬（パラフィン包埋切片用）は、凍結切片を用いた免疫組織化学染色法へもご使用できます。注意事項、操作方法を参考にしてください。

凍結切片を用いて染色を行う場合の注意（マウスステインキットの場合）

- ◆凍結切片作製方法について
組織は、固定組織^注を使用してください。
- ◆固定液について
第一抗体により適する固定液は異なるので、固定液の検討は十分に行ってください。
- ◆各構成試薬の反応時間について
各構成試薬は、パラフィン包埋切片用に濃度、反応時間を設定していますが、凍結切片でも同様の濃度、反応時間で使用してください。
ただし、凍結切片の作製方法によっては、バックグラウンド染色がみられる場合があります。

染色例

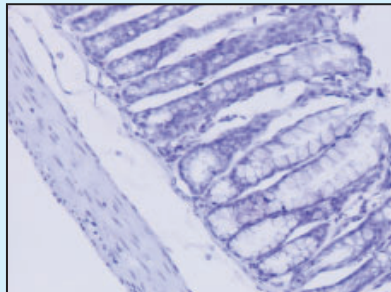
マウス組織を用いて免疫組織化学染色を行った。
第一抗体のかわりにPBSを用いた。発色には、DAB基質キット（茶色）を用いた。

これらは
当社の検討結果です。
マウスの系統・組織により
バックグラウンド染色が
みられる場合があるので、
十分確認の上、
使用してください。

■マウスステインキット

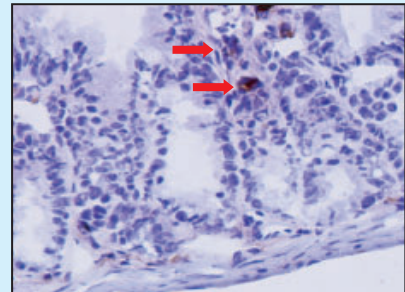
操作方法の変更、追加なくそのままご使用いただけます。
組織は、固定組織を使用してください。
未固定組織^注を使用すると、良好な結果が得られない場合があります。

【固定組織、固定液：4%PFA^注（4℃、一晚）】
：マウス正常結腸



■形質細胞にバックグラウンド染色がみられない。

【未固定組織、固定液：4%PFA（4℃、10分間）】
：マウス正常結腸



■形質細胞にバックグラウンド染色がみられる。

注) 固定組織：固定後、凍結・薄切された組織 未固定組織：凍結・薄切後に組織を固定させた組織（新鮮凍結組織） PFA：パラホルムアルデヒド溶液

マウス組織専用

パラフィン包埋切片用

組み合わせる第一抗体の動物種	品名	コード	包装
マウス	ヒストファイン マウスステインキット	414321	50テスト
		414322	500テスト
ウサギ	ヒストファイン シンプルステインマウス MAX-PO (R)	414341	170テスト
ヤギ	ヒストファイン シンプルステインマウス MAX-PO (G)	414351	170テスト
ラット	ヒストファイン シンプルステインマウス MAX-PO (Rat)	414311	170テスト

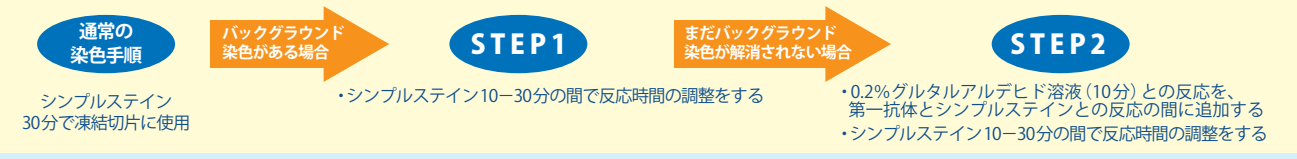
ラット組織専用

パラフィン包埋切片用

組み合わせる第一抗体の動物種	品名	コード	包装
マウス	ヒストファイン シンプルステインラット MAX-PO (M)	414171	170テスト
ウサギ	ヒストファイン シンプルステインラット MAX-PO (R)	414181	170テスト
ヤギ	ヒストファイン シンプルステインラット MAX-PO (G)	414331	170テスト
マウス・ウサギ両用	ヒストファイン シンプルステインラット MAX-PO (MULTI)	414191	170テスト

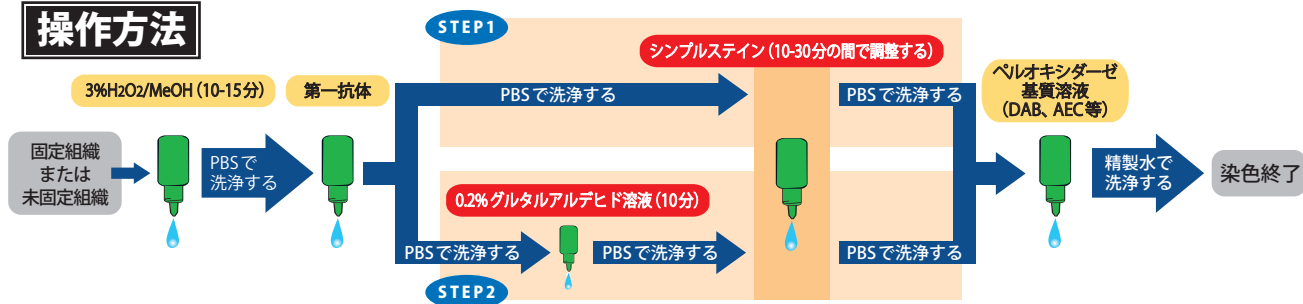
凍結切片を用いて染色を行う場合の注意 (マウスステインキット以外の場合)

通常の染色手順においてバックグラウンド染色が認められる場合、下記のステップにて調整することを推奨します。



- ◆凍結切片作製方法について
組織は、固定組織、未固定組織いずれも使用できます。
 - ◆固定液について
第一抗体により適する固定液は異なるので、固定液の検討は十分に行ってください。
 - ◆シンプルステインの反応時間について
シンプルステインは、パラフィン包埋切片用に濃度、反応時間(30分)を設定しています。凍結切片で、シンプルステインを30分間反応させ、バックグラウンド染色(非特異染色)が認められた場合には、シンプルステインの反応時間を10-30分の間で調整してください。マウス、ラットの系統・組織・固定方法により、至適時間が異なるので、十分検討を行ってください。
 - ◆0.2%グルタルアルデヒド溶液の使用について
試薬の反応時間を短縮しても、バックグラウンド染色(非特異染色)が認められる場合、0.2%グルタルアルデヒド溶液でのブロッキングにより、バックグラウンド染色(非特異染色)が低下する場合があります。0.2%グルタルアルデヒド溶液の作製方法・使用方法については、下記、操作方を参照してください。なお、0.2%グルタルアルデヒド溶液を併用する場合、使用する第一抗体の反応を阻害しないかどうかの確認を必ず行ってください。
また、マウス、ラットの系統・組織・固定方法により、効果に差があるので、十分確認の上、使用してください。
- ※0.2%グルタルアルデヒド溶液：50%グルタルアルデヒド(SIGMA社：コードG7651)をPBSで0.2%となるように250倍希釈

操作方法

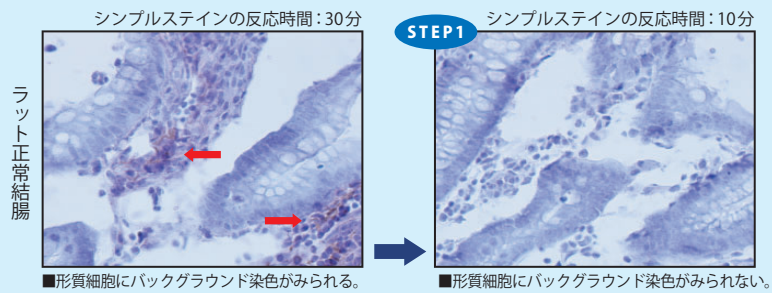


染色例

マウス、ラット組織を用いて各組織専用試薬による免疫組織化学染色を行った。第一抗体のかわりにPBSを用いた。発色には、DAB基質キット(茶色)を用いた。

ステップ1の手順で解消された例 [シンプルステインの反応時間を短くした例]

【使用キット：シンプルステインラット MAX-PO (MULTI)】 【固定組織、固定液：4%PFA (4℃、一晚)】



これらは当社の検討結果です。マウス、ラットの系統・組織・固定方法により、効果に差があるので、十分確認の上、使用してください。

ステップ2の手順で解消された例 [シンプルステインの反応時間の短縮と0.2%グルタルアルデヒド溶液を使用した例]

【使用キット：シンプルステインマウス MAX-PO (R)】 【未固定組織、固定液：4%PFA (4℃、10分間)】

