

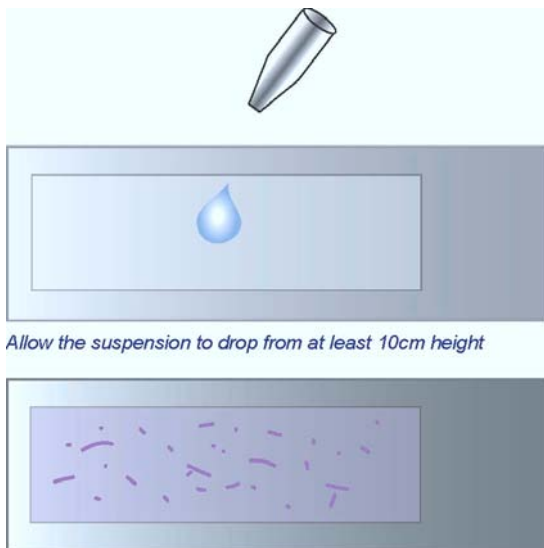
Protocol

Chromosome LCM

MMI CellCut Plusは精密であるため、シングルセルよりも小さい染色体のような構造物を、簡単に位置を選択して切り出すことが可能です。下記プロトコールでは、臨床や分子細胞遺伝学で染色体の構造や機能を研究するためによく使用される、散在した染色体のレーザーマイクロダイセクション用の準備方法をお見せします。

Materials:

細胞培養液
ピペット
コルヒチン、コルセミド
遠心機
遠心用チューブ
クエン酸ナトリウム溶液
細胞培養液
蒸留水
固定液
ギムザ染色
MMIメンブレンスライド (PN: 50102, 50103)
カバーガラス
ガラススライド
キシレン
MMIアイソレーションキャップ (PN: 50202-50212)
インキュベーター



Allow the suspension to drop from at least 10cm height

The chromosome spread must be on the flat side of the slide (where the membrane is attached to the metal frame)

Method:

中間期の細胞の作成:

1. 0.5mMのコルセミド溶液 (Sigma D1925)か、コルヒチン (Sigma C3915)を素早く分裂細胞に加える
2. 細胞を回収し、15mlのチューブに移す (コルセミド処理約2-8時間後、コルヒチン処理72時間後)
3. 500g、15分で細胞を沈降させる
4. 細胞を低浸透圧の生理食塩水10mlにけん濁させる (例 超純水 : 培地 = 1:4)
5. 細胞を37度のインキュベーターで15~20分膨潤させる
6. 500g、15分で細胞を沈降させ、5mlの固定液にけん濁させる (例 氷冷したエタノール : 酢酸 = 3:1)
7. 5分間固定

染色:

染色体の染色方法としてギムザが一般的に使用されますが、他の染色方法でリバーシFISH解析も同様に使用されます。

1. ギムザ染色液 : 蒸留ろ過水 = 1 : 10
2. 最大30分室温でインキュベート
3. サンプルはスライドにのせるように準備

注意点: メンブレンスライドとサンプルの接着具合を高めるために、MMIメンブレンスライドを0.1%ポリ-L-リジン溶解液で37°C、最低1時間インキュベートして下さい。(代替品として、ゼラチンやアガロースも可)

スライドの準備:

1. エタノール中で1.5~24時間、メンブレンスライドをインキュベートし、使用前に蒸留水でリンス
2. スライドを45度に傾けて置き、10cm以上の高さから細胞けん濁液を1~3滴スライドに垂らす
3. 空気中で乾燥
4. 準備完了

トミーデジタルバイオロジー株式会社

住所: 〒110-0008 東京都台東区池之端 2-9-1

E-mail: support@digital-biology.co.jp

HP: <http://www.digital-biology.co.jp>

TEL:03-5834-0810 FAX:03-5834-1888



Digital Biology®