

FFPE Embedding

このチュートリアルでは、FFPE(ホルマリン固定パラフィン包埋)の組織をどのように処理するか概要をお見せします。

サンプルを精密なレーザーマイクロダイセクションにかけ、DNA、RNA、タンパク質の高精度なダウンストリーム解析に持って行くことがこの準備の目標です。

Materials:

- ・ 10%中性緩衝ホルマリン
- ・ パラフィンワックス
- ・ ティッシュプロセッサ
- ・ 組織包埋カセット
- ・ ミクロトーム、ミクロトーム関連アクセサリ
- ・ パラフィン化に必要な溶媒と試薬
- ・ ドライインキュベーションオープン
- ・ MMIメンブレンスライド (PN: 50102, 50103)
- ・ ウォーターバス
- ・ ヌクレアーゼ フリーの水
- ・ 作業場の除染に必要な試薬

Method:

組織の入手と固定:

遺伝子関連物質を固有のヌクレアーゼで分解させないため、切除後に集めた組織を素早く固定に持って行くことが最重要課題となります。組織のサンプルサイズは最大で0.5 x 0.5 x 1.0 cmが望ましいでしょう。8-16時間、10%中性バッファーホルマリンで固定します。

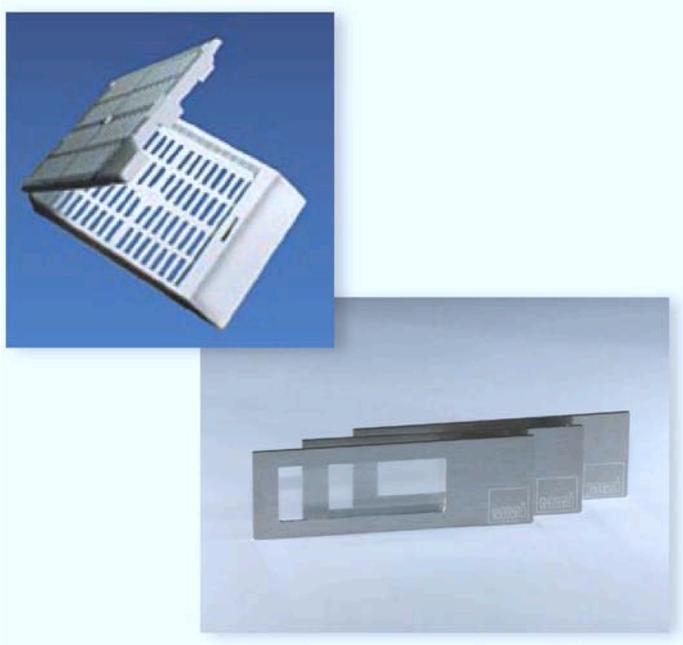
パラフィン処理:

一度組織を固定したら、脱水・洗浄・パラフィンの浸潤を下記のステップで行います。

- ・ 湿った固定組織(水溶液中)は一連の濃度のエタノールで脱水。(e.g.70%, 95%, 100%)
- ・ 脱水剤(エタノール)とキシレン(若しくはHistoClear)を洗浄に使用。
- ・ 包埋試薬、パラフィンでの組織浸潤(浸透し易くするため、ティッシュプロセッサ内のバキュームにアプライ)
- ・ 上記のステップで、組織内の湿潤な部分が固いパラフィンに置き換えられ、硬化するために液体パラフィンを含んだ組織包埋カセットに設置できるようになります。

切片化:

- ・ 5-10ミクロンに組織をカットするために、ミクロトームを使用する。
 - ・ しわを除くため、カットしたいセクションをヌクレアーゼフリーのお湯に浮かべる。
 - ・ 切片を回収するにはMMIメンブレンスライドを使用。
 - ・ 水が流れるようにスライドを傾け、室温で60-90分インキュベートする(サンプルを焼かないこと)
 - ・ これで今後の使用のためにスライドを室温保存しておけるようになりました。
 - ・ 注意: 染色とマイクロダイセクションの前に、スライドを最初に脱パラフィンする必要があります。



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®