



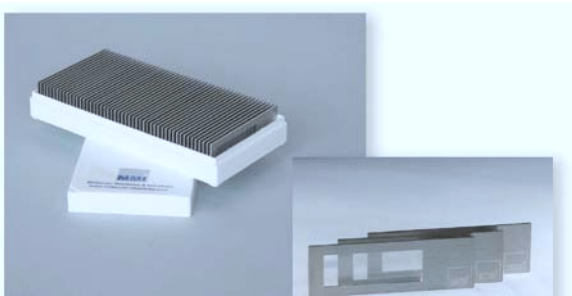
Protocol FFPE Sectioning

パラフィン包埋組織は、細胞構造を保存するためにホルマリン固定され、長期保存と切片作成の簡易化のためにパラフィン内に包埋された検体です。病理学の解析に理想的であるよう、主に生きた組織の形態を保存するために固定されています。

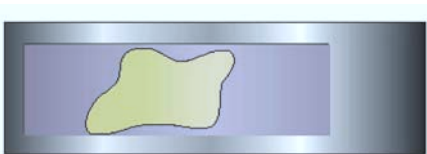
FFPE組織では核酸が分解されてしまうため抽出が困難です。核酸の解析が目標の場合は、他の方法で組織を保存した方が良いでしょう。パラフィン包埋を切片化したりマウントしたりするには、またレーザーマイクロダイクセクションに適したスライドを準備するには、下記のガイドラインに従って下さい。

Materials:

- パラフィン型
- ナイフ、使い捨てできるブレード
- 低融点のパラフィン
- ブラシ、ピン
- ウォーターバス
- 加温板
- MMI MembraneSlides (PN: 50102, 50103)
- パラフィン化された組織サンプル



注意点: 染色やマイクロダイクセクション前に、スライドは最初に脱パラフィンしておくこと



注意点: MMI MembraneSlideの平らな面に断面を置くこと

Method:

準備:

1. パラフィンブロックが室温であることを確認
2. ミクロトームホルダーにパラフィンブロックを置く
3. 清潔で切れ味の良いミクロトームの刃か、使い捨てのブレードを使用する
4. 5-10 μm 以下の厚さにカットする
5. 脱イオン水(若しくはRNaseフリーの水)にパラフィンリボン浮かべ、パラフィンの融点より少し下の温度まで温める(通常40~42°C)
6. 浮遊している組織切片を下から上に、スライドの平らな面でゆっくりすくい、MMI MembraneSlideに切片をマウントする。上記のようにすることで、組織切片がメンブレンウィンドウの真ん中にくる。
7. スライドを斜めにして水が流れるようにし、室温で60~90分放置する。
8. スライドは室温で保存可能。
9. 染色のプロトコールへ進む。

スライドの殺菌と接着向上のためのUV処理(任意):

スライドとサンプルを接着させるために、スライドをUVライトの下で15~30分インキュベートします。UV滅菌機を使用するのが一番効果的でしょう。UV光でメンブレンがやや分解し粘着性が出るため、接着が上手く行きます。更にスライドの殺菌もできます。メンブレンにダメージを与えないようにするためにも、インキュベートは30分以上しないようにご注意ください。

脂肪がある、固い、繊維質、軟骨や骨を含むような組織には、追加のコーティング(ポリ-L-リジン、アガロースまたはゼラチン)がおすすめです。

0.1% ポリ-L-リジン溶液でMMI MembraneSlideをコーティングするのが最も一般的です。室温で1時間か、37°Cで30分インキュベートして下さい。ゼラチンやアガロースを使用する場合は、0.01%の溶液を用意し、上記のガイドライン同様にインキュベートして下さい。

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®