免疫組織染色受託解析の注意事項

固定溶液で提出

1. 固定液は、10％中性緩衝ホルマリン溶液か4％中性緩衝パラホルムアルデヒドに漬けた状態で提出してください。
2. 固定液に漬けた時間を記載してください。
3. ３mm以上の組織は、固定液が浸透するようにメスで切り口を入れるか灌流固定を行ってください。
4. 3mm以上の組織は24時間固定を行いますので、固定後、12時間以内に到着するようにお願いします。
5. 3mm未満の組織は、8時間固定を行いますので、固定液に入れたら直ぐにサンプルを提出してください。
6. 組織を入れた固定液は室温に保存してください。
7. 固定が長時間になるときは、冷蔵保存するかPBS溶液に移し替えるなど過固定にならないよう注意してください。

スライド標本の提出

1. スライドガラスは、シランまたはポリリジンコーティングしたものを使用してください。
2. 組織切片はフロスト端から15mm以上、スライド端から2mm以上離して、なるべく中央に貼り付けてください。
3. 組織は3-4µmの厚さに薄切してスライドガラスに貼付ください。
4. 薄切後、スライドガラスを37℃で一晩しっかり乾燥させてください。
5. ベーキングは行わないでください。どうしても必要な場合は１時間以内にしてください。
6. 切片作製後のスライド標本は、遮光して冷蔵庫（4℃）に保存してください。

抗体の提出

１．1サンプル当たり抗体希釈溶液は120ul必要になります。

100倍希釈の時は、抗体は1.2ulが必要になります。

２. 抗体に添付しているサンプルシートも一緒に提出してください。

３．サンプルシートで免疫組織染色の実績があることを確認してください。

４．抗体は希釈せず、4℃で提出してください。

５．初めて染色される抗体は、抗体濃度など条件検討が必要な場合があります。

６．ロッシュ病理検査カタログで購入した抗体は、条件検討が不要です。

染色

明視野DAB染色

１．持ち込み抗体やロッシュ研究用抗体は、クロモマップキットを使用します。これは2次抗体に複数のHRPが結合しており、高感度に染色できます。

２．ロッシュの体外診断薬抗体の場合は、ベンタナUltraViewDABユニバーサルキットを使用します。染色感度が不足する場合は、ベンタナOptiViewユニバーサルキットに変更することもできます。これはヒドロキシキノキサリン（HQ）をリンカーとして使用し、感度が向上します。

３．感度が不足する場合は、増感試薬（タイラマイド, Tyramide）を使用することもできます。

４．核染色を希望する場合はヘマトキシレンでの核染色できます。

５．DAB（茶）以外にもPurple（紫）、Silver（銀）、Teal（緑）での染色が可能です。

蛍光染色

1. 蛍光染色はディスカバリーキットを使用します。
2. このキットには増感試薬タイラマイド(Tyramide)が使用されています。
3. 蛍光試薬は、FITC(490nm/525nm)、Rhodamine(542nm/568nm)、DCC(436nm/480nm)、Cy5(650nm/670nm)が使用可能です。
4. 核染色を希望される場合は、封入剤にDAPI(345nm/455nm)が入っている試薬を使用します。
5. 超解像顕微鏡など高分解能の顕微鏡で観察する場合、局在がずれる可能性があります。
6. 超解像顕微鏡（STED）ではDAPI(345nm/455nm)入り封入剤は使用できません。
7. 蛍光染色では明視野染色と感度が異なりますので、抗体濃度に注意してください。