

2000.01.26.

## ステント挿入冠状動脈切片作製プロトコール

ライカマイクロシステムズ(株)

SP グループ 新田 浩

- |      |  |   |       |         |
|------|--|---|-------|---------|
| 1 .  | 固定                                     | : 4 %パラフォルムアルデヒド固定液<br>または、10 %ホルマリン固定液 | 4     | 30 分間   |
|      |  | : 70 %エタノール                             | 4     | 24 時間   |
| 3 .  | 脱水(1)                                  | : 2 × 70 %エタノール                         | 室温    | 24 時間以上 |
|      |  | 2 × 80 %エタノール                           | 室温    | 24 時間以上 |
|      |  | 2 × 90 %エタノール                           | 室温    | 24 時間以上 |
|      |  | 2 × 95 %エタノール                           | 室温    | 24 時間以上 |
|      |  | 2 × 100 %エタノール                          | 室温    | 24 時間以上 |
| 4 .  | 脱脂                                     | : 2 × 100 %キシレン                         | 室温    | 24 時間以上 |
|      |  | 100 %キシレン                               | 室温    | 3 日間    |
| 5 .  | 脱水(2)                                  | : 2 × 100 %エタノール                        | 室温    | 24 時間   |
|      |  | 2 × 100 %エタノール                          | 室温    | 24 時間   |
|      |  | * 脱水・脱脂操作では、液交換のたびに20分間の要真空引き。          |       |         |
| 6 .  | ヒストレジンプラス浸透液                           |   | 4     | 24 時間   |
|      | (基剤 100ml + 反応開始剤 0.6g)                |   |       |         |
|      | ヒストレジンプラス浸透液                           |   | 4     | 一週間     |
|      |  | * 毎日、一日20分間の要真空引き。                      |       |         |
| 7 .  | ヒストレジンプラス包埋液(重合)                       |   | 0 ~ 4 | 約6 時間   |
|      | (ヒストレジンプラス浸透液 30ml + 硬化剤 1ml)          |   |       |         |
|      |  | * 5 分間標本といっしょに要攪拌。                      |       |         |
| 8 .  | 3 mm 間隔で動脈ブロックを切断                      |   |       |         |
|      |  | * ライカ SP1600 を使用。                       |       |         |
| 9 .  | 切断した各々の動脈ブロックヒストレジンプラス包埋液にて再包埋。        |   | 0 ~ 4 | 約6 時間   |
|      |  | * 専用のテフロンモールドトレイを使用。                    |       |         |
| 10 . | マウント剤を使用して、ブロックホルダーの取り付け(重合)           |   |       | 約10 分間  |
|      | (マウント剤: マウント液1 に対してマウントパウダー 2 ~ 3 の割合) |   |       |         |
| 11 . | ライカの回転マイクロトームとタングステンカーバイトナイフを使用して薄切    |   |       |         |
|      |  | * 切片厚: 3 ~ 5 μm、蒸留水にて伸展。                |       |         |
| 12 . | 乾燥                                     |   | 3 7   | 2 時間    |
| 13 . | 一般染色、及び免疫染色                            |   |       | 以上      |