

染色中の切片の剥離について

染色中の Cryofilm からの切片の剥離の原因

Cryofilm の粘着支持力は組織により異なり。脂肪が多く含まれている組織では粘着力は弱くなります。また脂肪が少なくても組織成分により粘着力は変わり軟骨、筋組織、靭帯等でも同様に粘着力は弱くなります。

上記以外でも試料の処理方法によって同じ組織でも Cryofilm の粘着支持力は大きく変化します。肝臓、腎臓、分泌腺等は Cryofilm が強く貼りつく組織ですが、PFA 等で化学固定を行なうと Cryofilm の粘着力は低下し、強く固定した試料では凍結切片を粘着支持できなくなります。また切片を粘着支持できたとしても染色処理中に切片が Cryofilm から剥離しやすくなります。注意して処理した場合でも試料の凍結を迅速に行なわなければ凍結試料中に氷晶が大きくなり Cryofilm が貼りつきにくくなります。

「川本法」では強い固定は避け、軽く固定した試料あるいは新鮮試料を急速凍結することが重要です。

「川本法」では切片の厚みも重要で、2～10 μ m の厚みを推奨しており、切片が厚くなると切片が Cryofilm から剥離しやすくなります。通常の組織染色、免疫染色では4～7 μ m で行ないます。

「川本法」の性能を発揮させるには、試料採取、試料処理、試料の凍結包埋、凍結薄切、染色等を「川本法」で推奨されている材料・方法で実施することが重要です。従来法と「川本法」をミックスして切片を作製することができる場合もありますが、良好な切片を作製できなくなった場合の解決が難しくなります。