

1. パラフィン切片 / LSAB法

処理	温度	時間	回数	
パラフィン切片				
↓				
ベーキング	60℃	1時間		<input type="checkbox"/>
↓				
脱パラフィン				
↓キシレンまたは代替剤1	室温	10分間		<input type="checkbox"/>
↓キシレンまたは代替剤2	室温	10分間		<input type="checkbox"/>
↓100%エタノール1	室温	10分間		<input type="checkbox"/>
↓100%エタノール2	室温	10分間		<input type="checkbox"/>
↓90%エタノール	室温	5分間		<input type="checkbox"/>
↓80%エタノール	室温	5分間		<input type="checkbox"/>
↓蒸留水	室温	5分間	3回	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
↓				
PBS	室温			<input type="checkbox"/>
↓				
抗原賦活化処理				<input type="checkbox"/>
・熱処理				
・酵素処理				
・無処理				
↓				
0.3%過酸化水素 / メタノール	室温	30分間		<input type="checkbox"/>
↓				
TBS	室温	5分間	3回	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
↓				
ブロッキング G-Block (ジェノスタッフ社)	室温	10分間		<input type="checkbox"/>
↓				
TBS				<input type="checkbox"/>
↓				
Avidin/Biotin Block Kit (Vector Laboratories社)				
↓ sol.1 (avidin)	室温	15分間		<input type="checkbox"/>
↓ TBS	室温	5分間		<input type="checkbox"/>
↓ sol.2 (biotin)	室温	15分間		<input type="checkbox"/>
↓ TBS	室温	5分間		<input type="checkbox"/>
↓				
一次抗体	4℃	一晚		<input type="checkbox"/>
1%G-Block/TBSで希釈				
抗体濃度 <u> </u> ug/mL (精製抗体) or <u> </u> 倍希釈 (抗血清)				
<u> </u> ug/mL (精製抗体) or <u> </u> 倍希釈 (抗血清)				
<u> </u> ug/mL (精製抗体) or <u> </u> 倍希釈 (抗血清)				
↓				
TBST	室温	5分間	2回	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
↓				
TBS	室温	5分間		<input type="checkbox"/>
↓				
二次抗体	室温	30分間		<input type="checkbox"/>
1% G-Block/TBSで製品添付文書の濃度に従い希釈				
抗体濃度 <u> </u> ug/mL or <u> </u> 倍希釈				
↓				
TBST	室温	5分間	2回	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
↓				
TBS	室温	5分間	1回	<input type="checkbox"/>
↓				
SAB-PO (ニチレイバイオサイエンス社 #426061)	室温	5分間		<input type="checkbox"/>
↓				
TBST	室温	5分間	2回	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
↓				
TBS	室温	5分間	1回	<input type="checkbox"/>
↓				
DABで発色	室温	検鏡しながら停止		<input type="checkbox"/>
↓				
流水	室温	10分間		<input type="checkbox"/>
↓				
G-DAPup (ジェノスタッフ社 #DCE-01)	室温	10分間		<input type="checkbox"/>
↓				
蒸留水で洗浄				<input type="checkbox"/>
↓				
ヘマトキシリン	室温	2~3秒		<input type="checkbox"/>
↓				
流水	室温	10分間		<input type="checkbox"/>
↓				
脱水系列				
↓70%エタノール	室温	5分間		<input type="checkbox"/>
↓90%エタノール	室温	5分間		<input type="checkbox"/>
↓100%エタノール1	室温	5分間		<input type="checkbox"/>
↓100%エタノール2	室温	5分間		<input type="checkbox"/>
↓キシレンまたは代替剤1	室温	5分間		<input type="checkbox"/>
↓キシレンまたは代替剤2	室温	5分間		<input type="checkbox"/>
↓				
封入 マリノールなど				<input type="checkbox"/>

2. パラフィン切片 / イムノポリマー法

処理	温度	時間	回数	
パラフィン切片				
↓				
ベーキング	60℃	1時間		<input type="checkbox"/>
↓				
脱パラフィン				
↓キシレンまたは代替剤1	室温	10分間		<input type="checkbox"/>
↓キシレンまたは代替剤2	室温	10分間		<input type="checkbox"/>
↓100%エタノール1	室温	10分間		<input type="checkbox"/>
↓100%エタノール2	室温	10分間		<input type="checkbox"/>
↓90%エタノール	室温	5分間		<input type="checkbox"/>
↓80%エタノール	室温	5分間		<input type="checkbox"/>
↓蒸留水	室温	5分間	3回	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
↓				
PBS	室温			<input type="checkbox"/>
↓				
抗原賦活化処理				<input type="checkbox"/>
・熱処理				
・酵素処理				
・無処理				
↓				
0.3%過酸化水素 / メタノール	室温	30分間		<input type="checkbox"/>
↓				
TBS	室温	5分間	3回	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
↓				
ブロッキング G-Block (ジェノスタッフ社)	室温	10分間		<input type="checkbox"/>
↓				
TBS				<input type="checkbox"/>
↓				
一次抗体	4℃	一晚		<input type="checkbox"/>
1% G-Block/TBSで希釈				
抗体濃度 <u> </u> ug/mL (精製抗体) or <u> </u> 倍希釈 (抗血清)				
<u> </u> ug/mL (精製抗体) or <u> </u> 倍希釈 (抗血清)				
<u> </u> ug/mL (精製抗体) or <u> </u> 倍希釈 (抗血清)				
↓				
TBST	室温	5分間	2回	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
↓				
TBS	室温	5分間		<input type="checkbox"/>
↓				
二次抗体	室温	30分間		<input type="checkbox"/>
ポリマー試薬 (シンプルステイン, EnVisonなど)				
↓				
TBST	室温	5分間	2回	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
↓				
TBS	室温	5分間	1回	<input type="checkbox"/>
↓				
DABで発色	室温	検鏡しながら停止		<input type="checkbox"/>
↓				
流水	室温	10分間		<input type="checkbox"/>
↓				
G-DAPup (ジェノスタッフ社 #DCE-01)	室温	10分間		<input type="checkbox"/>
↓				
蒸留水で洗浄				<input type="checkbox"/>
↓				
ヘマトキシリン	室温	2~3秒		<input type="checkbox"/>
↓				
流水	室温	10分間		<input type="checkbox"/>
↓				
脱水系列				
↓70%エタノール	室温	5分間		<input type="checkbox"/>
↓90%エタノール	室温	5分間		<input type="checkbox"/>
↓100%エタノール1	室温	5分間		<input type="checkbox"/>
↓100%エタノール2	室温	5分間		<input type="checkbox"/>
↓キシレンまたは代替剤1	室温	5分間		<input type="checkbox"/>
↓キシレンまたは代替剤2	室温	5分間		<input type="checkbox"/>
↓				
封入 マリノールなど				<input type="checkbox"/>

3. パラフィン切片 / マウスonマウス（マウスの組織をマウス抗体で染色する方法）

処理	温度	時間	回数	
パラフィン切片				
↓				
ベーキング	60℃	1時間		<input type="checkbox"/>
↓				
脱パラフィン				
↓キシレンまたは代替剤1	室温	10分間		<input type="checkbox"/>
↓キシレンまたは代替剤2	室温	10分間		<input type="checkbox"/>
↓100%エタノール1	室温	10分間		<input type="checkbox"/>
↓100%エタノール2	室温	10分間		<input type="checkbox"/>
↓90%エタノール	室温	5分間		<input type="checkbox"/>
↓80%エタノール	室温	5分間		<input type="checkbox"/>
↓蒸留水	室温	5分間	3回	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
↓				
PBS	室温			<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
↓				
抗原賦活化処理				<input type="checkbox"/>
・熱処理				
・酵素処理				
・無処理				
↓				
0.3%過酸化水素 / メタノール	室温	30分間		<input type="checkbox"/>
↓				
PBS	室温	5分間	3回	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
↓				
ブロッキング試薬A（ニチレイ マウスステインキット付属）	室温	1時間		<input type="checkbox"/>
↓				
PBS	室温	5分間	3回	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
↓				
一次抗体	4℃	一晚		<input type="checkbox"/>
1% G-Block/PBSで希釈				
抗体濃度 <u> </u> <u> </u> <u> </u>				
<u> </u> <u> </u> <u> </u>				
<u> </u> <u> </u> <u> </u>				
↓				
PBS	室温	5分間	3回	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
↓				
ブロッキング試薬B（ニチレイ マウスステインキット付属）	室温	10分間		<input type="checkbox"/>
↓				
PBS	室温	5分間	3回	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
↓				
二次抗体	室温	10分間		<input type="checkbox"/>
シンプルステインマウスMAX-PO(M)（キット付属）				
↓				
PBS	室温	5分間	3回	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
↓				
DABで発色	室温	検鏡しながら停止。		<input type="checkbox"/>
↓				
流水	室温	10分間		<input type="checkbox"/>
↓				
G-DAPup（ジェノスタッフ社 #DCE-01）	室温	10分間		<input type="checkbox"/>
↓				
蒸留水で洗浄				<input type="checkbox"/>
↓				
ヘマトキシリン	室温	2～3秒		<input type="checkbox"/>
↓				
流水	室温	10分間		<input type="checkbox"/>
↓				
脱水系列				
↓70%エタノール	室温	5分間		<input type="checkbox"/>
↓90%エタノール	室温	5分間		<input type="checkbox"/>
↓100%エタノール1	室温	5分間		<input type="checkbox"/>
↓100%エタノール2	室温	5分間		<input type="checkbox"/>
↓キシレンまたは代替剤1	室温	5分間		<input type="checkbox"/>
↓キシレンまたは代替剤2	室温	5分間		<input type="checkbox"/>
↓				
封入 マリノールなど				<input type="checkbox"/>

4. 既固定凍結切片 / LSAB法

処理	温度	時間	回数	
既固定凍結切片				
↓				
PBS (コンパウンド除去)	室温	5分間	3回	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
染色中に組織が剥がれる場合、PBSを10% NBFに変更すると改善することがある。10% NBFの後はPBSで洗浄する (室温 5分間×3回)				
↓				
抗原賦活化処理				<input type="checkbox"/>
・熱処理				
・酵素処理				
・無処理				
↓				
0.3%過酸化水素 / メタノール	室温	30分間		<input type="checkbox"/>
↓				
TBS	室温	5分間	3回	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
↓				
ブロッキング G-Block (ジェノスタッフ社)	室温	10分間		<input type="checkbox"/>
↓				
TBS				<input type="checkbox"/>
↓				
Avidin/Biotin Block Kit (Vector Laboratories社)				
↓ sol.1 (avidin)	室温	15分間		<input type="checkbox"/>
↓ TBS	室温	5分間		<input type="checkbox"/>
↓ sol.2 (biotin)	室温	15分間		<input type="checkbox"/>
↓ TBS	室温	5分間		<input type="checkbox"/>
↓				
一次抗体	4℃	一晚		<input type="checkbox"/>
1%G-Block/TBSで希釈				
抗体濃度 <u> </u> $\mu\text{g/ml}$ (精製抗体) or <u> </u> 倍希釈 (抗血清)				
<u> </u> $\mu\text{g/ml}$ (精製抗体) or <u> </u> 倍希釈 (抗血清)				
<u> </u> $\mu\text{g/ml}$ (精製抗体) or <u> </u> 倍希釈 (抗血清)				
↓				
TBS	室温	5分間	3回	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
↓				
二次抗体	室温	30分間		<input type="checkbox"/>
1%G-Block/TBSで製品添付文書の濃度に従い希釈				
抗体濃度 <u> </u> $\mu\text{g/ml}$ or <u> </u> 倍希釈				
↓				
TBS	室温	5分間	3回	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
↓				
SAB-PO (ニチレイバイオサイエンス社 #426061)	室温	5分間		<input type="checkbox"/>
↓				
TBS	室温	5分間	3回	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
↓				
DABで発色	室温	検鏡しながら停止。		<input type="checkbox"/>
↓				
流水	室温	10分間		<input type="checkbox"/>
↓				
G-DAPup (ジェノスタッフ社 #DCE-01)	室温	10分間		<input type="checkbox"/>
↓				
蒸留水で洗浄				<input type="checkbox"/>
↓				
ヘマトキシリン	室温	2~3秒		<input type="checkbox"/>
↓				
流水	室温	10分間		<input type="checkbox"/>
↓				
脱水系列				
↓70%エタノール	室温	5分間		<input type="checkbox"/>
↓90%エタノール	室温	5分間		<input type="checkbox"/>
↓100%エタノール1	室温	5分間		<input type="checkbox"/>
↓100%エタノール2	室温	5分間		<input type="checkbox"/>
↓キシレンまたは代替剤1	室温	5分間		<input type="checkbox"/>
↓キシレンまたは代替剤2	室温	5分間		<input type="checkbox"/>
↓				
封入 マリノールなど				<input type="checkbox"/>

5. 既固定凍結切片 / イムノポリマー法

処理	温度	時間	回数	
既固定凍結切片				
↓				
PBS (コンパウンド除去) 染色中に組織が剥がれる場合、PBSを10% NBFに変更すると改善することがある。10% NBFの後はPBSで洗浄する (室温 5分間×3回)	室温	5分間	3回	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
↓				
抗原賦活化処理 ・熱処理 ・酵素処理 ・無処理				<input type="checkbox"/>
↓				
0.3%過酸化水素 / メタノール	室温	30分間		<input type="checkbox"/>
↓				
TBS	室温	5分間	3回	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
↓				
ブロッキング G-Block (ジェノスタッフ社)	室温	10分間		<input type="checkbox"/>
↓				
TBS				<input type="checkbox"/>
↓				
一次抗体 1%G-Block/TBSで希釈 抗体濃度 <u> </u> $\mu\text{g/ml}$ (精製抗体) or <u> </u> 倍希釈 (抗血清) <u> </u> $\mu\text{g/ml}$ (精製抗体) or <u> </u> 倍希釈 (抗血清) <u> </u> $\mu\text{g/ml}$ (精製抗体) or <u> </u> 倍希釈 (抗血清)	4℃	一晚		<input type="checkbox"/>
↓				
TBS	室温	5分間	3回	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
↓				
二次抗体 ポリマー試薬 (シンプルステイン、EnVisionなど)	室温	30分間		<input type="checkbox"/>
↓				
TBS	室温	5分間	3回	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
↓				
DABで発色	室温	検鏡しながら停止。		<input type="checkbox"/>
↓				
流水	室温	10分間		<input type="checkbox"/>
↓				
G-DAPup (ジェノスタッフ社 #DCE-01)	室温	10分間		<input type="checkbox"/>
↓				
蒸留水で洗浄				<input type="checkbox"/>
↓				
ヘマトキシリン	室温	2~3秒		<input type="checkbox"/>
↓				
流水	室温	10分間		<input type="checkbox"/>
↓				
脱水系列				
↓70%エタノール	室温	5分間		<input type="checkbox"/>
↓90%エタノール	室温	5分間		<input type="checkbox"/>
↓100%エタノール1	室温	5分間		<input type="checkbox"/>
↓100%エタノール2	室温	5分間		<input type="checkbox"/>
↓キシレンまたは代替剤1	室温	5分間		<input type="checkbox"/>
↓キシレンまたは代替剤2	室温	5分間		<input type="checkbox"/>
↓				
封入 マリノールなど				<input type="checkbox"/>

6. 既固定凍結切片 / マウスonマウス (マウスの組織をマウス抗体で染色する方法)

処理	温度	時間	回数	
既固定凍結切片				
↓				
PBS (コンパウンド除去) 染色中に組織が剥がれる場合、PBSを10% NBFに変更すると改善することがある。10% NBFの後はPBSで洗浄する (室温 5分間×3回)	室温	5分間	3回	□□□
↓				
抗原賦活化処理 ・熱処理 ・酵素処理 ・無処理				□
↓				
0.3%過酸化水素 / メタノール	室温	30分間		□
↓				
PBS	室温	5分間	3回	□□□
↓				
ブロッキング試薬A (ニチレイ マウスステインキット付属)	室温	1時間		□
↓				
PBS	室温	5分間	3回	□□□
↓				
一次抗体 1% G-Block/PBSで希釈 抗体濃度 <u> </u> μg/ml (精製抗体) or <u> </u> 倍希釈 (抗血清) <u> </u> μg/ml (精製抗体) or <u> </u> 倍希釈 (抗血清) <u> </u> μg/ml (精製抗体) or <u> </u> 倍希釈 (抗血清)	4℃	一晚		□
↓				
PBS	室温	5分間	3回	□□□
↓				
ブロッキング試薬B (ニチレイ マウスステインキット付属)	室温	10分間		□
↓				
PBS	室温	5分間	3回	□□□
↓				
二次抗体 シンプルステインマウスMAX-PO(M) (キット付属)	室温	10分間		□
↓				
PBS	室温	5分間	3回	□□□
↓				
DABで発色	室温	検鏡しながら停止。		□
↓				
流水	室温	10分間		□
↓				
G-DAPup (ジェノスタップ社 #DCE-01)	室温	10分間		□
↓				
蒸留水で洗浄				□
↓				
ヘマトキシリン	室温	2~3秒		□
↓				
流水	室温	10分間		□
↓				
脱水系列				
↓70%エタノール	室温	5分間		□
↓90%エタノール	室温	5分間		□
↓100%エタノール1	室温	5分間		□
↓100%エタノール2	室温	5分間		□
↓キシレンまたは代替剤1	室温	5分間		□
↓キシレンまたは代替剤2	室温	5分間		□
↓				
封入 マリノールなど				□

7. 未固定凍結切片 / LSAB法

処理	温度	時間	回数	
未固定凍結切片				
↓				
固定 (以下のいずれか)				<input type="checkbox"/>
・ 4%PFA または 10%中性緩衝ホルマリン	室温	10分間		
・ メタノール	室温	10分間		
・ 冷アセトン	4℃または-20℃	10分間		
メタノール, 冷アセトンの場合は, 固定後にドライヤーの冷風で5~10分間乾燥させる。				
↓				
PBS	室温	5分間	3回	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
↓				
0.3%過酸化水素 / メタノール	室温	30分間		<input type="checkbox"/>
↓				
TBS	室温	5分間	3回	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
↓				
ブロッキング G-Block (ジェノスタッフ社)	室温	10分間		<input type="checkbox"/>
↓				
TBS				<input type="checkbox"/>
↓				
Avidin/Biotin Block Kit (Vector Laboratories社)				
↓ sol.1 (avidin)	室温	15分間		<input type="checkbox"/>
↓ TBS	室温	5分間		<input type="checkbox"/>
↓ sol.2 (biotin)	室温	15分間		<input type="checkbox"/>
↓ TBS	室温	5分間		<input type="checkbox"/>
↓				
一次抗体	4℃	一晚		<input type="checkbox"/>
1%G-Block/TBSで希釈				
抗体濃度 <u> </u> ug/ml (精製抗体) or <u> </u> 倍希釈 (抗血清)				
<u> </u> ug/ml (精製抗体) or <u> </u> 倍希釈 (抗血清)				
<u> </u> ug/ml (精製抗体) or <u> </u> 倍希釈 (抗血清)				
↓				
TBS	室温	5分間	3回	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
↓				
二次抗体	室温	30分間		<input type="checkbox"/>
1%G-Block/TBSで製品添付文書の濃度に従い希釈				
抗体濃度 <u> </u> ug/ml or <u> </u> 倍希釈				
↓				
TBS	室温	5分間	3回	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
↓				
SAB-PO (ニチレイバイオサイエンス社 #426061)	室温	5分間		<input type="checkbox"/>
↓				
TBS	室温	5分間	3回	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
↓				
DABで発色	室温	検鏡しながら停止。		<input type="checkbox"/>
↓				
流水	室温	10分間		<input type="checkbox"/>
↓				
G-DAPup (ジェノスタッフ社 #DCE-01)	室温	10分間		<input type="checkbox"/>
↓				
蒸留水で洗浄				<input type="checkbox"/>
↓				
ヘマトキシリン	室温	2~3秒		<input type="checkbox"/>
↓				
流水	室温	10分間		<input type="checkbox"/>
↓				
脱水系列				
↓ 70%エタノール	室温	5分間		<input type="checkbox"/>
↓ 90%エタノール	室温	5分間		<input type="checkbox"/>
↓ 100%エタノール1	室温	5分間		<input type="checkbox"/>
↓ 100%エタノール2	室温	5分間		<input type="checkbox"/>
↓ キシレンまたは代替剤1	室温	5分間		<input type="checkbox"/>
↓ キシレンまたは代替剤2	室温	5分間		<input type="checkbox"/>
↓				
封入 マリノールなど				<input type="checkbox"/>

8. 未固定凍結切片 / イムノポリマー法

処理	温度	時間	回数	
未固定凍結切片				
↓				
固定 (以下のいずれか)				<input type="checkbox"/>
・ 4%PFA または 10%中性緩衝ホルマリン	室温	10分間		
・ メタノール	室温	10分間		
・ 冷アセトン	4℃または-20℃	10分間		
メタノール, 冷アセトンの場合は, 固定後にドライヤーの冷風で5~10分間乾燥させる。				
↓				
PBS	室温	5分間	3回	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
↓				
0.3%過酸化水素 / メタノール	室温	30分間		<input type="checkbox"/>
↓				
TBS	室温	5分間	3回	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
↓				
ブロッキング G-Block (ジェノスタッフ社)	室温	10分間		<input type="checkbox"/>
↓				
TBS				<input type="checkbox"/>
↓				
一次抗体	4℃	一晚		<input type="checkbox"/>
1%G-Block/TBSで希釈				
抗体濃度 <u> </u> <u> </u> <u> </u> <u> </u> <u> </u> <u> </u>				
<u> </u> <u> </u> <u> </u> <u> </u> <u> </u> <u> </u>				
<u> </u> <u> </u> <u> </u> <u> </u> <u> </u> <u> </u>				
↓				
TBS	室温	5分間	3回	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
↓				
二次抗体	室温	30分間		<input type="checkbox"/>
ポリマー試薬 (シンプルステイン, EnVisionなど)				
↓				
TBS	室温	5分間	3回	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
↓				
DABで発色	室温	検鏡しながら停止。		<input type="checkbox"/>
↓				
流水	室温	10分間		<input type="checkbox"/>
↓				
G-DAPup (ジェノスタッフ社 #DCE-01)	室温	10分間		<input type="checkbox"/>
↓				
蒸留水で洗浄				<input type="checkbox"/>
↓				
ヘマトキシリン	室温	2~3秒		<input type="checkbox"/>
↓				
流水	室温	10分間		<input type="checkbox"/>
↓				
脱水系列				
↓ 70%エタノール	室温	5分間		<input type="checkbox"/>
↓ 90%エタノール	室温	5分間		<input type="checkbox"/>
↓ 100%エタノール1	室温	5分間		<input type="checkbox"/>
↓ 100%エタノール2	室温	5分間		<input type="checkbox"/>
↓ キシレンまたは代替剤1	室温	5分間		<input type="checkbox"/>
↓ キシレンまたは代替剤2	室温	5分間		<input type="checkbox"/>
↓				
封入 マリノールなど				<input type="checkbox"/>

9. 未固定凍結切片 / マウスonマウス (マウスの組織をマウス抗体で染色する方法)

処理	温度	時間	回数	
未固定凍結切片				
↓				
固定 (以下のいずれか)				<input type="checkbox"/>
・ 4%PFA または 10%中性緩衝ホルマリン	室温	10分間		
・ メタノール	室温	10分間		
・ 冷アセトン	4℃または-20℃	10分間		
メタノール, 冷アセトンの場合は, 固定後にドライヤーの冷風で5~10分間乾燥させる.				
↓				
PBS	室温	5分間	3回	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
↓				
0.3%過酸化水素 / メタノール	室温	30分間		<input type="checkbox"/>
↓				
PBS	室温	5分間	3回	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
↓				
ブロッキング試薬A (ニチレイ マウスステインキット付属)	室温	1時間		<input type="checkbox"/>
↓				
PBS	室温	5分間	3回	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
↓				
一次抗体 1% G-Block/PBSで希釈 抗体濃度 <u> </u> <u> </u> <u> </u> <u> </u> <u> </u> <u> </u> <u> </u> <u> </u> <u> </u> <u> </u> <u> </u> <u> </u> ug/mL (精製抗体) or 倍希釈 (抗血清) ug/mL (精製抗体) or 倍希釈 (抗血清) ug/mL (精製抗体) or 倍希釈 (抗血清)	4℃	一晚		<input type="checkbox"/>
↓				
PBS	室温	5分間	3回	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
↓				
ブロッキング試薬B (ニチレイ マウスステインキット付属)	室温	10分間		<input type="checkbox"/>
↓				
PBS	室温	5分間	3回	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
↓				
二次抗体 シンプルステインマウスMAX-PO(M) (キット付属)	室温	10分間		<input type="checkbox"/>
↓				
PBS	室温	5分間	3回	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
↓				
DABで発色	室温	検鏡しながら停止。		<input type="checkbox"/>
↓				
流水	室温	10分間		<input type="checkbox"/>
↓				
G-DAPup (ジェノスタッフ社 #DCE-01)	室温	10分間		<input type="checkbox"/>
↓				
蒸留水で洗浄				<input type="checkbox"/>
↓				
ヘマトキシリン	室温	2~3秒		<input type="checkbox"/>
↓				
流水	室温	10分間		<input type="checkbox"/>
↓				
脱水系列				
↓ 70%エタノール	室温	5分間		<input type="checkbox"/>
↓ 90%エタノール	室温	5分間		<input type="checkbox"/>
↓ 100%エタノール1	室温	5分間		<input type="checkbox"/>
↓ 100%エタノール2	室温	5分間		<input type="checkbox"/>
↓ キシレンまたは代替剤1	室温	5分間		<input type="checkbox"/>
↓ キシレンまたは代替剤2	室温	5分間		<input type="checkbox"/>
↓				
封入 マリノールなど				<input type="checkbox"/>