

軟骨染色

染色液の調製

- * 70% EtOH/1%HCl: EtOH 70ml + 29ml DW + 1ml HCl
- * 0.1% Alcian Blue in 70% EtOH/1%HCl: 上液 100ml に 0.1g Alcian Blue8GX を溶解

試料の固定と保存

1. 4% PFA/PBS or 10%ホルマリン/PBS で試料を 1 夜固定 (4C)
 2. PBST で 3 回洗浄 (各 10 分)
 3. 半量ずつ MtOH に置き換えていく (50, 75, 92, 5, 100% MtOH の順) (各 5 分以上/サンプルのサイズによる)
 4. -20C で保存 (長期保存可能)
-

染色手順

1. サンプルを MtOH から 0.1% Alcian Blue に移し、2 時間以上染色 (1 晩でもよい)
2. 70% EtOH/1%HCl で 2 回洗浄 (各 10 分)
3. 半量ずつ MtOH の順に置換 (50, 75, 92, 5, 100%)
4. 70% glycerol/DW で 1 時間攪拌
5. 90% glycerol/DW で 1 時間攪拌

オプション

(色素が多いサンプルの漂白)

70% EtOH/1%HCl での洗浄後に行う

1. DW で 2 回洗浄 (各 5 分)
2. 1% H₂O₂/1% KOH (1% KOH に H₂O₂ 原液を 1%加える/使用直前) で脱色。10 分ぐらいすると脱色がはじまる。
3. 眼が透明になったら、脱色液を除去、DW で 2 回洗浄 (10 分ずつ)
4. グリセロールに置換

観察

軟骨基質が鮮やかな青に染まる (長期保存可能)