

『NanoSuit 溶液 II』 病理標本・CLEM 用 (使用説明書)

本溶液 (NanoSuit 溶液 Type II) は、スライドガラスに密着した標本に用いて、CLEM (Correlative light and electron microscopy) 法のために用いる NanoSuit 溶液です。

光学顕微鏡の特長である色情報を得た後、SEM で 3 次元情報と共に高解像度・高倍の情報を獲得することができ、さらに SEM 観察後 HE 染色等の再染色ができるので貴重な検体を傷つけずに再度保存することが可能となります。また光学顕微鏡で観察した部分に本溶液を微量滴下して SEM 観察時にマーカーとすることも可能です。

EDX (エネルギー分散型 X 線) 分析にも用いることも可能ですので、スライドガラスのまま生体試料がもつ元素の分析を行うことができます。

本溶液によって可能になるこれらの観察手法により、世界で現在保存中の膨大な病理標本や生物学試料の標本を SEM 観察することで、新たな病理所見や生命科学の新知見を発見していただければ幸いです。

使用方法

1. パラフィン切片を切り出したものをスライドガラスに貼り付け、その後、脱パラする。HE 染色などを施し、検鏡し、必要な部分を写真撮影する。必要であれば Buffer 溶液などを用いてカバーガラスを乗せて写真撮影する。
2. 既に光学顕微鏡で観察され保存されている古いスライド標本の場合は、まずそのまま検鏡し、必要な部分を写真撮影する。スライドに張り付いた試料の上にカバーガラスが封入剤で密着しているスライドは、スライドガラスのままキシレンなどの溶液に浸し、カバーガラスを外す (保存状態、保存期間、用いられている封入剤の種類などによってカバーガラスを剥がすために時間がかかる場合がある)。
3. 上記、1 および 2 の、光学顕微鏡で観察した部位の切片の反対側 (つまり、スライドガラスの裏面) に、マーク (キシレンなどの溶液でも溶けにくいマーカーを使用) する。
4. NanoSuit 溶液 Type II を 1~3 滴程度、切片上に滴下し、速やかにスピncerターを用いて NanoSuit 溶液 Type II スライドガラス一面に薄く広げる。スピncerターがない場合は、NanoSuit 溶液 Type II を滴下した後、スライドガラスをしっかり持って、大きく振って液を飛ばす。NanoSuit 溶液 Type II を濾紙やキムワイプで吸い取る操作をする場合は、十分に液が拭えていることを確認する。
5. SEM 用のマークをしたい場合は、スライドガラスの裏面にマークした点を指標に、切

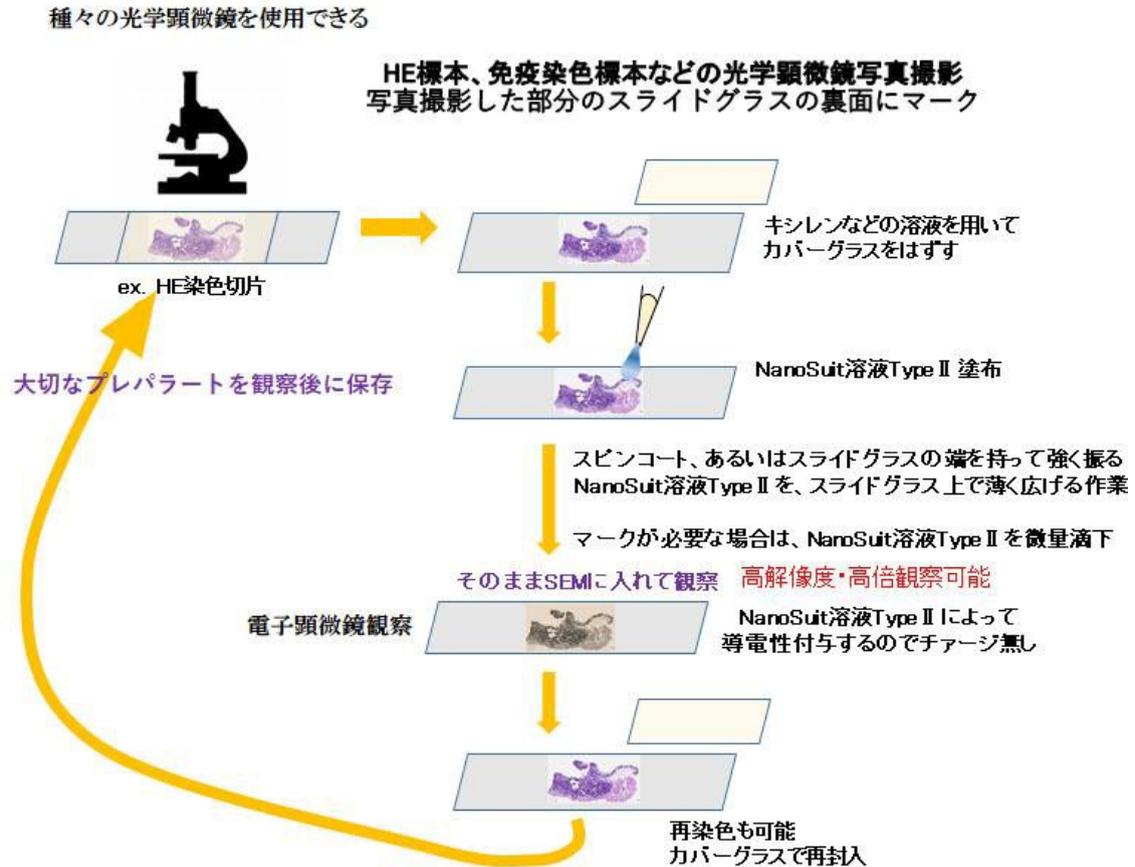
片上に NanoSuit 溶液 Type II を数カ所に微量滴下する。このマークは SEM で見ることができる。この微量滴下しマークに用いた NanoSuit 溶液 Type II は、SEM 観察後、再度染色するための溶液などを通すことで除くことが可能。

6. 上記5を、そのまま SEM 内に入れて、真空が引けたらすぐに観察を開始し、撮影する。
7. EDX（エネルギー分散型X線）分析が必要な場合は、6の状態のまま測定をする。
8. 上記6あるいは7の観察の後、必要な場合は再染色した後、封入剤を用いてカバーガラスをかけて保存する。EDX 分析で高エネルギーをかけた場合、試料が痛むこともあるので、貴重なサンプルの場合、注意が必要。

ご注意

- NanoSuit 溶液 Type II はパラフィン固定等がなされた標本観察専用です。有機溶媒が基材に含まれていますので、Fresh な生体組織試料に用いると試料に影響を及ぼす可能性があります。その場合は NanoSuit 溶液 Type I（微小生物・個体・生体組織用）をお使いください。
- この溶液は、病理観察用および生物学試料の標本観察用のスライドガラス標本などの観察のために開発されています。他の目的のための使用はお控えください。
- 作業は、メガネやゴーグルを着用して、ガラスの飛散などから身を守るようにして下さい。作業中に万が一 NanoSuit 溶液 Type II が皮膚に付着した場合は、流水あるいは洗剤を用いて洗ってください。
- NanoSuit 溶液 Type II 溶液を試料に滴下した際、溶液が一か所に留まっているとムラを生じたり、試料に悪影響を与える可能性があります。滴下後は速やかにスピコート用剤を用いて溶液を薄く延ばすか、スライドガラスを持って強く振るなどして溶液を拡げる作業をお勧めします。溶液が厚く残ったまま電子線をあてると形成する膜が厚くなりすぎて、SEM 像がぼやけることがあります。
- NanoSuit 法は、電子線ないしプラズマ照射によって重合して被膜を試料表面に形成させる技術です。真空引きが終わりましたら速やかに電子顕微鏡観察を開始してください。光学顕微鏡と SEM の機種を選ぶことはありません。

使用方法概略図



NanoSuit 法は全世界にある膨大なガラス上にあるパラフィン切片を破壊することなく、走査型電子顕微鏡で高倍率・立体的に観察し、元素分析できる技術です。電子顕微鏡観察後には元の標本の状態に戻すことができます。