

組織のアセトン固定(免疫染色用)

準備

ドライアイス(輸送用)、アセトン(1個体につき 20~30 ml)、発泡スチロール、氷、エッペンチューブ(1.5 ml or 2 ml; これもあらかじめアセトンを入れ氷中で冷やしておく)

手順

1. 発泡スチロール内に氷を敷き詰め、その中にアセトン(20~30 ml)入りのバイアル瓶を入れ、あらかじめよく冷やす。
2. アセトンが十分に冷えたら、妊娠マウスより胎生 16.5 日あるいは胎生 17.5 日のマウスを帝王切開にて素早く取り出す(plag+の PM12:00 を E0.5 とする)。
(胎児すべてを固定し、genotyping 後に wt と Homo だけを輸送する)
3. 膜をきれいに取り除き、胎児のしっぽを切り取り、genotyping。
4. 取り出した胎児のお腹を開いて、肺を取り出しそのうちの片方(心臓や食道、気管などと一緒に)をアセトン内に入れる。
5. もう片方(肺のみ)は電顕用固定液(パラホルムアルデヒド+グルタルアルデヒド+カコジル酸)に入れる。
(電顕用固定液もあらかじめ準備しておく。1 個体あたり 15 ml ほど必要)
6. 30 分ほど氷中で振盪し、組織を 1~2 ml アセトン入りのエッペン内に入れ、-80°C のディープフリーザーで保存する。
電顕用の方は、2 時間ほど振盪させた後、バイアル瓶あるいは 15 ml のファルコンチューブ内に密閉する。
7. ドライアイスを十分に敷き詰めた発泡スチロールにて冷凍輸送。
電顕用は、室温にて輸送。