

(114×210mm Size)

FUJIFILM

Wako

コード No. 297-56001

OsteoResin™ Embedding Kit

オステオレジン™ 包埋キット

本キットは非脱灰硬組織（骨・歯）の樹脂包埋キットとして開発しました。特長として、樹脂重合開始剤に弊社が独自で開発したV-601*を用いています。樹脂は疎水性樹脂のメタクリル酸メチル、モノマー（MMA）を基剤としています。得られた非脱灰硬組織の切片は脱樹脂後、一般染色をはじめ、ビラスエバ染色、免疫組織染色などの硬組織標本作製に使用できます。

*V-601重合開始剤は非ニトリル系アゾ化合物であり、従来から用いられている過酸化ベンゾイル化合物と比較して一般に衝撃に対して安定で、爆発等の危険性も少なく、操作・輸送および保管中の取扱いが安全です。
しかしながら、熱分解によって急激な反応が進行し窒素ガスを発生することがありますので取扱いには十分注意して下さい。

*V-601は航空輸送規則（IATA）における禁止対象品目です。

〔キット成分〕

i) 樹脂基剤（メタクリル酸メチル、モノマー：MMA）	500 mL
ii) 重合開始剤（V-601）	1g × 5
iii) 脱樹脂剤（1-アセトキシ-2-メトキシエタン：AME）	500 mL
iv) コロジオン（10%）	100 mL

〔保 存〕 各成分を下記条件で保存して下さい。

i), iii), iv) : 火気のない、なるべく涼しい場所保存
但し、キット全体で保存する場合は、防爆型冷蔵庫に保存して下さい。

ii) : 2～10℃保存
(1年以上長期保存される場合は -20℃で保存して下さい)

〔非脱灰樹脂包埋標本作製法〕

1. 固定

- 方法1. ① 40%エタノール 4℃ 24時間
② 70%エタノール 4℃ 24時間～7日間
方法2. 10%中性緩衝ホルマリン 4℃ 48時間～2週間

固定後の組織の切り出しについて：大きな組織の場合はマウント調製液で組織表面をコーティングした後、薄切面が出るようにトリミングすると組織の剥離や欠損が防止できます。

2. 洗浄

ホルマリン固定した場合は、30分間流水洗浄する。（エタノール固定した場合は洗浄操作は不要）

3. 脱水・脱脂

- ① 70%エタノール 室温 24時間
（最初の30分間は真空引き*する）
② 80%エタノール 室温 24時間
（最初の30分間は真空引きする）
③ 90%エタノール 室温 24時間
（最初の30分間は真空引きする）
④ 100%エタノール 室温 24時間
（最初の30分間は真空引きする）
⑤ 100%エタノール 室温 24時間
（最初の30分間は真空引きする）

*：真空引きの時間は目安です。以下同様ですが、気泡が収まるまで行って下さい。

4. 中間剤処理

- ① キシレンⅠ 室温 24時間
（最初の30分間は真空引きする）
② キシレンⅡ 室温 3日間
（最初の30分間は真空引きする）

* 中間剤処理が不十分な場合は100%エタノールからやり直す。

5. 浸透液の作製

樹脂基剤（MMA）100 mL に対し、重合開始剤（V-601）1 g を溶かす。容器はガラス製のものを使用して下さい。* V-601 は容器の内圧が高くなることがありますので、開栓する時はよく冷却し、保護眼鏡および保護手袋を用いて下さい。

浸透液は作製後、冷蔵保存で約1ヶ月間使用可能です。この間に半重合が進み、以下の樹脂浸透、包埋の工程で反応し易い状態になります。

6. 樹脂浸透

- ① 適当なガラス容器に浸透液を入れ、組織を浸漬する。
4℃ 24時間（最初の30分間は真空引きする）
- ② 浸透液を一度交換する。
4℃ 1週間（毎日、最初の30分間は真空引きする）

7. 包埋

樹脂浸透が完了した組織を包埋容器に入れ、組織が隠れる程度に5. で作製した浸透液を包埋液*として加える。37℃ 2日間要密栓

（包埋容器は密栓可能なガラス製品を使用して下さい）

*：包埋液は半重合の状態にあることが望ましい為、使用する2週間程度前に作製し、冷蔵保存しておくことをお勧めします。

（注意）包埋容器は重合熱を吸収させるため、水を張ったシャーレに浸した状態で37℃恒温器に入れて下さい。

（注意）樹脂基剤（MMA）は気化しやすいので必ず密栓可能な容器を使用して下さい。

（注意）5 mL以上の容量で重合することは、非常に高温の重合熱が一気に発生して樹脂が発泡するためお勧めしません。

8. 薄切

包埋容器からブロックを取り出す。（包埋容器ごと冷却すると取り出しやすくなる。又、ガラス瓶中で包埋させた場合は、瓶を割って取り出す）トリミング後、マウント調製液を用いてブロックホルダーに取り付ける。

タングステンカーバイトナイフを装着した樹脂専用のミクロトームを用い、ブロック面に30%エタノールを塗りながら、2～5 μ mの間で薄切する。（ビラスエバ染色処理検体のブロックの場合は30%エタノールの代わりに蒸留水を使用して下さい）

9. 伸展

96%エタノールに切片を入れ、5～10分程度放置して伸展させる。

10. 皺伸ばし

切片をスライドグラスにすくい取り、大きなしわが残らない様に刷毛でならす。その上に、10 cm×10 cmにカットしたポリエチレン袋またはラップ（あらかじめ96%エタノールに浸漬させておいたもの）、ろ紙、スライドグラスの順に重ねてサンドイッチ状にする。これをプレスクランプで加圧し37℃オープンに1～2日入れ、細かな皺伸ばしとスライドグラスへの固定を行う。

ビラスエバ染色した切片は以下11. 12. 13. の工程は省略し、14. 封入の操作に進んで下さい。

11.剥落防止

慎重にポリエチレン袋またはラップを剥がし、コロジオン溶液*をスライドグラス全面に滴下し、乾燥させる。(約一晚放置)

*コロジオン溶液の作製方法

脱樹脂剤 (AME) : コロジオン (10%) = 72 mL : 8.2 mL で混合

12.脱樹脂

①前処理：脱樹脂剤 (AME) をスライドグラス上に十分量滴下する。約10分後、スライドグラス上の液をスポイドで静かに吸い取り、切片を自然乾燥 (30～60分) させる。

②脱樹脂剤に浸漬 1時間 × 2 (途中、液を1回交換する)

③70%エタノール 30秒

④40%エタノール 30秒

⑤蒸留水に浸漬

13.染色

14.封入

(関連試薬および器具)

コードNo.	品 名	規 格	容 量
062-01661	10%中性緩衝ホルマリン液	組織固定用	1 L
060-01667			20 L
057-00456	エタノール (99.5)	試薬特級	500 mL
057-00451			3 L
053-00453			9 L
055-00457			18 L
245-00717	キシレン, モレキュラーシーブスパック入り	病理研究用	15 kg

製造発売元

富士フイルム 和光純薬株式会社

大阪市中央区道修町三丁目1番2号

Tel : 06-6203-3741

1801KA1