

**S-MPF(soft micropore filter)による CTC 分離後
ホルダー内パパンニコロウ染色参考手順
ご協力：奈良県立医科大学附属病院 病院病理部様**

【使用物品（1 検体あたり）】

- | | |
|-----------------------------|---------------|
| ・ CTC 分離後の S-MPF とフィルターホルダー | ・ OG-6（武藤化学） |
| ・ サイトロップ固定液（アルフレッサ） | ・ EA-50（武藤化学） |
| ・ 100%アルコール | ・ キシレン |
| ・ 95%アルコール | ・ スライドガラス |
| ・ 70%アルコール | ・ カバーガラス |
| ・ 1.0%塩酸 70%アルコール | ・ 封入剤 |
| ・ 0.25%アンモニア 70%アルコール | ・ スポイト |
| ・ ギル・ヘマトキシリン V（武藤化学） | |

【操作手順】

- 奈良県立医大では分離後の S-MPF に 0.5~1.0mL の液体が 5~10 秒程度で通液することを確認しています。事前に液量の通液する速度を確認することをお勧めします。
- ホルダー内に気泡が発生するとフィルター全体に液体がかからないため、スポイトをシリンジバレルのチップに差し込んで気泡を除去すると全体が染まります。
- 液量が多く染色時間が長くなってしまった場合には、シリンジバレルにプランジャーのゴム部分を嵌めて加圧することで通液を終了させることができます。

1. S-MPF01 CTC 分離マニュアルに従ってサンプルから CTC を分離する。
2. ホルダー内にサイトロップ固定液を滴下し固定する。
3. 95%アルコールを 0.5~1.0mL 滴下して 5~10 秒通液する。
4. 100%アルコールを 0.5~1.0mL 滴下して 5~10 秒通液する。
5. 水を 0.5~1.0mL 滴下して 5~10 秒通液する。
6. ギル・ヘマトキシリン V を 5.0~6.0mL 滴下して 60 秒通液する。
7. 水を 0.5~1.0mL 滴下して 5~10 秒通液して水洗。
8. 1.0%塩酸 70%アルコールを 0.5~1.0mL 滴下して 5~10 秒通液して分別。
9. 水を 0.5~1.0mL 滴下して 5~10 秒通液して水洗。
10. 70%アルコールを 0.5~1.0mL 滴下して 5~10 秒通液する。
11. 0.25%アンモニア 70%アルコールを 0.5~1.0mL 滴下して 5~10 秒通液して色だし。
12. 70%アルコールを 0.5~1.0mL 滴下して 5~10 秒通液する。
13. 95%アルコールを 0.5~1.0mL 滴下して 5~10 秒通液する。
14. OG-6 を 0.5~1.0mL 滴下して 5~10 秒通液する。
15. 95%アルコールを 0.5~1.0mL 滴下して 5~10 秒通液する（1 回目）。

16. 95%アルコールを 0.5~1.0mL 滴下して 5~10 秒通液する (2 回目)。
17. EA-50 を 6~7mL 滴下して 90 秒染色する。
18. 95%アルコールを 0.5~1.0mL 滴下して 5~10 秒通液する (1 回目)。
19. 95%アルコールを 0.5~1.0mL 滴下して 5~10 秒通液する (2 回目)。
20. 100%アルコールを 0.5~1.0mL 滴下して 5~10 秒通液する (1 回目)。
21. 100%アルコールを 0.5~1.0mL 滴下して 5~10 秒通液する (2 回目)。
22. 100%アルコールを 0.5~1.0mL 滴下して 5~10 秒通液する (3 回目)。
23. 100%アルコールを 0.5mL、キシレン 0.5mL をバレルにて混合して通液する。
24. キシレンを 0.5~1.0mL 滴下して 5~10 秒通液する (1 回目)。
25. キシレンを 0.5~1.0mL 滴下して 5~10 秒通液する (2 回目)。
26. キシレンを 0.5~1.0mL 滴下して 5~10 秒通液する (3 回目)。
27. しっかりとキシレンを抜き、フィルターホルダーからバレルを外す。
28. フィルターホルダーから S-MPF を取り出し、スライドガラスにのせる。
29. 封入剤を用いて封入する。

【参考動画 URL】 [S-MPF による CTC 分離後のホルダー内パパニコロウ染色 参考手順 \(youtube.com\)](#)

以上