

Biocytin - Streptavidin Fluorescent Conjugate Staining

遮光

1. 神経細胞に GFP を発現した脳から急性スライスを作製する。
2. パッチ電極に 0.5% biocytin を含め、20 分程度ホールセル記録後を保つ。
3. 細胞から静かに電極を外す。
4. 24 穴 well プレートに移し、PB wash
5. 4%PFA / 0.1MPB 4°C ON

以下室温

6. PB wash x 2 (5 min, 5 min)
7. PBS wash (10 min)
8. PBS-X, 30 min 振盪 → Nakaba Box
9. 蛍光標識 Streptavidin 溶液 (Vector 社、SA-5006: Texas Red Streptavidin、1:100) PBS-X
30 min (遮光) 振盪

10. ~~PB~~ wash (5 min) ~~PBS-X~~
11. PBS wash x 2 (10 min, 10 min)
12. 2% gelatin, 15 min (in PBS)
13. スライドガラスにマウント
14. 50% (v/v) glycerol/2.5% (w/v) triethylene diamine in PBS または VECTASHIELD Hard set、Aquapoli
で封入 ② マウント剤
15. 観察

先んずく

特

2014.6.16

Fluoro Nissle

PBS 30min

↓

Neuro Trace (714-) 30分

↓

PBS wash

↓

PBS-X 10min

↓

PBS wash 10min x 3

↓

2% せうけい 15min

↓

マウント