Nissle 染色

クレシルバイオレット、チオニン等の塩基性タール色素により、ニッスル小体（好塩基性）を染めだす方法。他に細胞核や核膜、核小体も染色される。これはこれらがニッスル小体と同様に多量のRNAを持っているためと考えられる。

■用途：凍結切片、クリオスタット切片のニッスル染色

■方法：

　①前処理：DW（5 min）

　②脱脂（メモ１）：

70% Al. (5 min)

95% Al. (5 min)

100%Al. (5 min x 2)

キシレン (15 min x 3)

100% Al. (5 minx 2)

95% Al. (5 min)

70% Al. (5 min)

　③水洗：DW (5 min)

　④染色：0.1~0.2% クレシルバイオレット水溶液に浸漬する（RT, 5-10 min)

　⑤水洗：軽く染色液を洗う程度

　⑥分別・脱水・透徹

酢酸入り95% EtOH. ( さっと通す)

95% EtOH. (1 min)　x1

100% EtOH. (1 min) x2

キシレン (1min)x3

　⑦封入：オイキッドで封入する。

メモ１：ステップ①と②は飛ばすことは可能である。

メモ２：0.1% クレシルバイオレット水溶液作成法

　　　　クレシルバイオレット0.1 gをDW 100 ml に溶解する。

(0.1%クレシルバイオレット水溶液 武藤化学薬品Cat#4100でも購入可　\1200)

さらに染色液30 ml につき10% 酢酸5 滴の割合で加える。

メモ３：95%EtOHにさ150 mlに対し、１０%氷酢酸5滴を加える

神経回路標識法プロトコル集より

G.　神経組織の一般染色

1．クレシルバイオレット染色（図2）

■用途：凍結切片、クリオスタット切片のニッスル染色

■方法：

　①前処理：DW（5 min）

　②脱脂（メモ１）：70% Al. (5 min)→95% Al. (5 min)→100%

Al. (5 min x 2) →キシレン (15 min x 3)→100% Al. (5 min

x 2)→95% Al. (5 min)→70% Al. (5 min)

　③水洗：DW (5 min)

　④染色：0.1̃0.2% クレシルバイオレット水溶液　(メモ２）に

浸漬する（RT, 5-10 min)

　⑤水洗：軽く染色液を洗う程度

　⑥分別・脱水・透徹：70% Al. (1 min)→80% Al. (1 min)→

95% Al. (2 min)→（KBr+95%）液（メモ３；10秒) →95%

Al. (1 min x 2)→100% Al. (5 min x 3)→キシレン（5 min x 3)

　⑦封入：Biolet 等で封入する。

メモ１：ステップ①と②は飛ばすことは可能である。

メモ２：0.1% クレシルバイオレット水溶液作成法

　　　　クレシルバイオレット　0.1 gをDW 100 ml に溶解する。さらに染色液30 ml につき10% 酢酸

5 滴の割合で加える。

メモ３：臭化カリ含有アルコール(KBr + 95% アルコール）作成法

　　　　95% Alchohol 100 ml について飽和KBr を2-3 滴 加える。この溶液 にて分別する。染色が強

すぎる場合、一つ前の95% アルコールに切片を戻して、再度 KBr + 95% アルコール溶液にて分

別を繰り返す。