

凍結標本の病理検体の取り扱い注意とお願い

202305

本資料は病理受託部へ材料を発送される際の注意事項を記載しています。
内容を参考いただきますようお願いいたします。

取り扱う検体の種類

① 湿固定検体(固定液の種類; 10%中性緩衝ホルマリン、4%PFA、ブアン等)

- 固定液に浸漬させた検体(臓器、細胞、植物、昆虫 etc)です。
- 輸送は常温(5月~10月は冷蔵輸送:保冷剤を入れること。高温になると過固定となるため)

② 凍結ブロック

- 検体を専用包埋材を用いて急速凍結させたブロックです。
- マイナス80℃(“冷凍”輸送指定)での移送が必要です。
- 輸送に十分な量のドライアイスを準備して、保冷容器(発砲スチロール箱)に梱包して発送してください。

① 凍結スライド標本

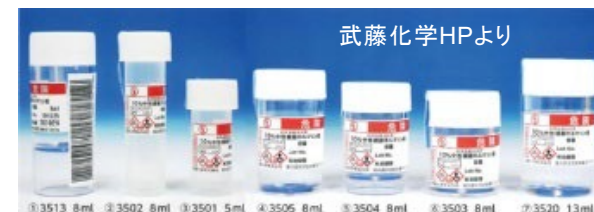
- 凍結切片を貼付したスライド
- 輸送は冷凍(ドライアイスを入れること)

①湿固定検体

(固定液の種類; 10%中性緩衝ホルマリン、4%PFA、ブアン等)

容器について

- ・ マイクロチューブや遠沈管、試料用広口容器、ヒストパックの利用を指定する。以下参考例です。
 - 武藤化学: 空容器、各種ホルマリン充填済みで発売
 - ・ 5ml, 8ml, 25ml, 30ml, 35ml, 40ml, 50ml, 100ml, 150mlと多彩
- https://www.mutokagaku.com/products_search/reagent/pathological_solvents/formalin_neutral
- 市販遠沈管: 基本規格は同じです。15ml, 50ml容量
 - 組織の大きさよりひと回り以上余裕のある経口の大きさの容器を選ぶようにしてください。解剖直後の臓器は柔らかく、容器の口が小さくても中に押し込めることができちゃうので注意。
 - 固定検体に対して10倍以上の固定液が入る容器を選択してください。
 - 重要; 当社から容器・固定液を提供することは違法行為※になるので出来ません。(※: 利益供与、毒劇物取締法)
- ・ 破損や液漏れ防止のため、下記の容器は使用しないでください。
 - 必ず有機溶剤、危険物の輸送に耐える容器で発送してください。
 - 例: 入口が狭い容器(検体を取り出せなくなる)、不透明な容器(中身が見えない)、空瓶(特にガラスは破損しやすい)、弁当箱・タッパ容器・ペットボトル、チャック付きビニール袋(液漏れしやすい)



武藤化学HPより



遠沈管



サンプルチューブ



ヒストパック

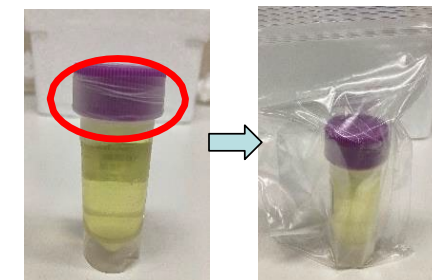


固定液量について

- ・ 湿臓器受けでは、容器の口までフルに固定液等が入っていることを確認して発送ください。空間があると、乾燥、輸送時の振動による検体の破損等が発生します。
 - 専用容器以外のマイクロチューブや遠沈管、広口容器をご利用の場合は、必ずパラフィルムにより厳重に液漏れを防止していることを確認ください。
 - キャップが確実に閉まっていることを確認してください。
 - ヒストパックの場合、製品能書の専用シーラーで圧着してください。
 - 万一の液漏れに備えて容器をビニール袋に入れて二重もしくは三重で包装して下さい。
- ・ 固定液の量
 - 固定する臓器(個体)の10倍量以上の量で固定してください。



固定液が「多め十分量」に入っていることを確認
組織の大きさの10~20倍量



キャップをしっかり閉め、パラフィルムを巻く

二重三重に袋で包装する

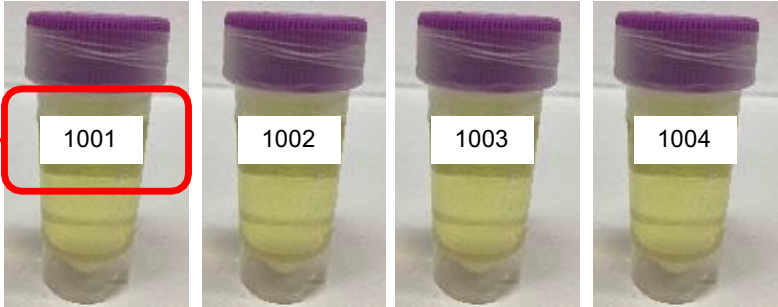
固定時の注意点

- ・ 実質臓器、大型組織について
 - 固定不足や自己融解を防ぐため、必要に応じて断面を入れて固定してください。
 - 標本作製する部位を避けて割を入れてください。
- ・ 腸管など筒状の組織について
 - 粘膜面は自己融解しやすいため速やかに固定液を注入するなどしてしっかり固定してください。
- ・ 固定液の注入や灌流固定の必要な組織
 - 肺など空気量の多い組織は、固定液の注入や灌流固定を行ってください。
- ・ 組織の変形防止
 - 皮膚や開いた腸管などは、組織の丸まりを防ぐため、表皮側/粘膜面を上にして平板にピン止めしてください。
- ・ 内容物(食物残渣、血液)などの多い組織
 - 腸管内容物や心臓内の血液は組織を傷つけない程度で除いてください。

検体の識別作業のお願い

- ・ 検体の提出に際して以下をお願いします。
 - 各検体に識別ID(検体名)を明記してください。識別IDは英数字20文字以内、日本語が1文字でも入る場合10文字以内としてください。これを超える文字数はお受けできません。
 - ・ マジック等は有機溶剤で消えてしまう可能性があります。
 - ・ 印字シール等を利用いただくことが望ましいです。ただし、凍結検体ではシールが脱落する場合があります。
 - ・ 手書きの場合は「0(ゼロ)」と「O(オー)」、「1」と「I(エル)」、「9」と「6」の識別ができるようにしてください。
 - 「検体リスト」を準備ください。
 - ・ 識別IDを同じ内容を記載した検体リスト(デジタルデータ:EXCEL等)を準備ください。
 - ・ **弊社で準備しているフォーマット**もありますので、ご要望ください。
 - デジタルデータには、連番、識別名を記入してください。
 - 検体名と検体リスト、検体数が一致していることを確認ください。

連番	検体名	カ セ ッ ト 及 ビ ス									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	1001	1	0	0	1						
2	1002	1	0	0	2						
3	1003	1	0	0	3						
4	1004	1	0	0	4						
5											



②凍結ブロック

凍結ブロックの作製方法

- ・ 解剖後の検体を生理食塩水にて洗浄し、水分を優しくふき取る
- ・ 凍結用皿(クライオモールド)とOCTコンパウンドを用いて、包埋を実施
 - クライオモールドへ検体識別を記載する
 - クライオモールドにコンパウンドを擦切りに入れ、クライオモールド底面に標本作製面が来るよう、検体を静かに沈める(気泡が混入しないように注意が必要)
 - 砕いたドライアイスとヘキサンあるいは液体窒素を用いて急速凍結を実施
 - 白く完全に硬化した後、チャック付きポリ袋に1ブロックずつ小分けにする
 - ブロックが複数ある場合、上記状態にしたブロックを大きめの袋にひとまとめとして輸送する

材料を輸送していただく場合(梱包例)

図3



凍結ブロックは小分けで包装し、一つの袋にまとめて入れる



試薬はドライアイスに直接触れないように緩衝材などに包む

図4



発泡スチロールの箱を用意する



ドライアイスを底に敷き詰める



輸送物を入れる



ドライアイスで輸送物を覆う



輸送中に動かないように緩衝材などを入れる

③凍結スライド標本

材料を輸送していただく場合（梱包例）

図3



緩衝材を入れて検体が箱の中で動かないようにする



緩衝材で箱を保護する



チャック付きポリ袋にスライドケースを収納する

図4



発砲スチロール内に砕いたドライアイスを敷詰めその上にスライドケースを置き、緩衝材で輸送時に動かないように固定する



セルブロック用の細胞の固定と輸送について

セルブロック作製依頼については、お使いになる研究目的によって固定方法を配慮頂く必要があります。

固定方法

- ・ 組織を用いた免疫組織染色のControlを想定している場合（強制発現細胞、ノックダウン細胞等）
 - 通常、ヒト組織の固定液には「10%中性緩衝ホルマリン液」が繁用されております。
 - セルブロックでの検討後に「保有または購入ヒト組織材料」を染色する可能性がある研究の場合には、「ヒト組織」と同じ固定を行ない当社へお送りください。
- ・ セルブロック由来の薄切切片を研究目的に利用する場合
 - 実験動物を対象として固定方法に拘らない場合は、「4%PFA(4°C)にて2時間固定後、1%中性緩衝ホルマリンに液交換し、この固定液に浸漬した状態」で弊社へ速やかに配送ください。

材料細胞の処理と輸送方法

- ・ 接着細胞の場合：
 - 培養容器から剥離後に細胞数をカウントしていただき提示細胞数以上あることを確認してください。(弊社希望、 5×10^6 個以上。多い分には問題ありません。)
 - 遠心後、上清を除去し、そこに固定液(前述)を入れて頂き、固定した状態で送付ください。(この時に固定液中の細胞数を再度確認頂いたほうが良いかと思えます。)
- ・ 浮遊細胞の場合：
 - 細胞数をカウント頂き、提示細胞数以上になるだけのカルチャースープの状態です。遠心後、上清を除去し固定液(前述)を入れて、固定した状態で送付ください。(弊社希望、 5×10^6 個以上。多い分には問題ありません。)

材料細胞の処理と輸送方法

・ 輸送方法:

- 輸送容器一杯に固定液を入れてお送りください。空間があると細胞が乾燥してしまうこと、固定細胞が容器に吸着してしまうことがあります。
- 固定液浸漬後、冷蔵で12-24時間以内に当社に到着する様に手配をお願いします。
- 上記時間を超えての弊社到着の場合には、PBSに交換してお送りください。(土日休日は検体の受取はできませんことご了承ください。)