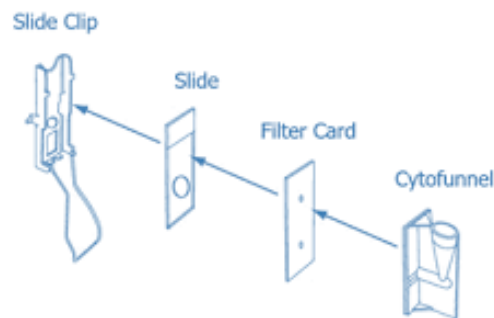


Cytospin 을 사용하여 세포 염색

20230809 Quan HL

1. 1.5ml tube 를 2,500 rpm, 5 분, 20°C에서 BAL 세척액을 원심 분리.
2. 상층 액을 모아서 냉동 (-20°C)에서 보관, 추후 ELISA 진행.
3. 위해 세포 pellet 은 ACK 200 μ L 에서 resuspension. 37°C에서 3 분동안 인큐베이션. (RBC 제거).
4. ACK 희석하기 위하여 PBS 1 mL를 추가.
5. 2,500 rpm, 5 분, 20°C에서 원심 분리.
6. 상층액을 제거하고 200 μ L PBS 로 resuspension.
7. Cell counting 후 최대 1×10^4 의 세포를 cytopsin 을 이용하여 슬라이드에 붙임.



8. Cytospin 조건: 100 g, 3 분, RT 에서 원심 분리.
9. Slide 에 붙은 세포 주위를 Dako Pen 으로 표기 후 고정하여 H&E 염색진행
10. H&E staining
 - Fixation: 1% PFA 로 RT 에서 20 분
 - DW 가 담겨 저 있는 스티로폼 박스에 넣어서 워싱
 - Hematoxylin: RT 에서 3 분
 - DW 가 담겨 저 있는 스티로폼 박스에 넣어서 워싱
 - Eosin: RT 에서 30s
 - DW 가 담겨 저 있는 스티로폼 박스에 넣어서 워싱

(염색 후 현미경 아래에서 염색 정도를 확인하여 염색 시간으로 조절하여야 함)