**CD31免疫組織化学的染色**

1. 6μm厚の凍結横断切片を作成、風乾
2. 冷アセトンで10分固定
3. 風乾
4. 0.01M PBSにて5分洗浄、3回
5. 0.3%H2O2メタノールに30分浸漬し、内因性ペルオキシダーゼ抑制
6. パップペンで切片を囲む
7. 3%　BSAを滴下し、1時間ブロッキング
8. 一次抗体反応

Anti PECAM-1 Goat Poly (SCB, SC-1506) を3%　BSAで250倍に希釈

4℃で一晩反応

1. 0.01M PBSにて5分洗浄、3回
2. 二次抗体反応

Biotinylated Anti-Goat IgG (VEC BA-5000)を3%　BSAで500倍に希釈

ラット血清を二次抗体と同量加える。前日に作成。

1. 0.01M PBSにて5分洗浄、3回
2. ABC反応　30分

ABC液は、0.01M PBS　2.5mlにA液とB液を1敵ずつ加える

1. 0.01M PBSにて5分洗浄、3回
2. DABにて発色

DAB溶液：0.05M Trisバッファー 100mlにDAB10mgと30% H2O2を10μl溶解する

1. 水洗
2. ヘマトキシリンで対比染色
3. 水洗
4. 脱水、透徹、封入