



研究用試薬

ヒストファイン

第一抗体

抗免疫グロブリンGモノクローナル抗体(A57H)

(動物種：マウス)

包装： 50テスト(6mL)

Code：413271

製造販売元

株式会社ニチレイバイオサイエンス

〒104-8402

東京都中央区築地6-19-20

TEL. 03(3248)2208 FAX. 03(3248)2243

■ **特異性および抗原分布**：すべてのヒト免疫グロブリンG(IgG)サブクラスのH鎖と特異的に反応する。ヒトIgAやヒトIgMとは反応しない。組織中のヒト正常および腫瘍性形質細胞のIgGを検出できるが、結合組織や血管内にみられる細胞外IgGも同時に染色される。

■ **クローン名**：A57H

■ **抗体のサブクラス**：IgM、 κ

■ **由来**：培養上清より得ている。

1. 内容

第一抗体・・・抗免疫グロブリンGモノクローナル抗体(A57H)(動物種：マウス)。

液状。

ウシ血清アルブミン(BSA)と、0.1%アジ化ナトリウムを含むリン酸緩衝生理食塩水(PBS)にて、即時使用可能な抗体濃度に希釈済み。

1バイアル中に6mLを含む。

2. 使用目的

組織・細胞中のヒトIgGの染色。

**3. 使用方法

パラフィン包埋切片の免疫組織化学および免疫細胞化学染色に使用できる第一抗体である。

パラフィン包埋切片の場合、前処理(抗原賦活化)としてヒストファイン 抗原賦活性化液 pH9(Code:415201 または Code:415211)を用いた温浴処理が必要である(裏面の操作手順参照)。**

スライド上の組織切片が完全に覆われるように第一抗体を2滴(100 μ L)滴下し、常温(15-25 $^{\circ}$ C)で30分~1時間インキュベートする。*

この反応時間は、ヒストファイン シンプルステイン MAX-PO(M)を使用する場合の目安であり、他のキットを使用する場合は、研究者自身が至適反応時間を調べる必要がある。

■ **参考1**：組織の固定状況等によりヒストファイン 抗原賦活性化液 pH9(Code：415201 または Code：415211)を用いた温浴処理の代わりに、ヒストファイン プロテアーゼ溶液(Code:415231)にて5-15分間(25 $^{\circ}$ C)処理することで良好な染色結果が得られる場合がある。**

■ **参考2**：腎生検組織や骨髄穿刺液を前処理することにより、酵素抗体法にて良好な染色結果が得られることがある。この場合、研究者自身が至適抗体濃度、至適反応時間を調べる必要がある⁽²⁾⁽³⁾⁽⁴⁾。

詳細は6.参考文献(2)(3)(4)記載の文献、または(株)ニチレイバイオサイエンス ホームページ 技術情報：技術レポート▶固定前組織片洗浄法と免疫組織化学染色法(http://www.nichirei.co.jp/bio/technical/tech_support/koteizen.html)を確認ください。

**4. 貯法および使用上の注意

1. 2-8 $^{\circ}$ C保存。
2. 使用期限はラベルに記載されているので使用前に確認すること。
3. 使用前に室温に戻すこと。
4. 使用後は速やかに冷蔵保存すること。
5. 異なるロットの試薬や他製品の試薬を混ぜたりしないこと。

**5. 取扱上(危険防止)の注意

1. 使用期限の過ぎた試薬は使用しないこと。
2. 本製品に関する安全情報は安全データシートを参照すること。
3. 本品を吸い込んだり、眼、口、皮膚、衣類などへの接触を避けること。
4. 本製品の廃棄の際には、各施設や地域および国のルールに従い、適切に廃棄すること。
5. 本品は、動物由来成分を含むので、取扱に注意が必要である。
6. アジ化ナトリウムは有毒化学薬品である。本製品の含有量は危険なものとして分類されないが、蓄積されたアジ化ナトリウムは爆発性の金属アジ化物として形成され、水道管に含まれる銅、鉛と反応する可能性がある。そのようなリスクを避けるために大量の水とともに洗い流すこと。
7. ヒト由来の検体は、取扱者に感染をひき起こす危険性がある。従って、適切な取扱および廃棄法を用いるとともに、この免疫組織(細胞)化学染色法を施行するに際し、関連技術および操作法に充分習熟しておかなければならない。

6. 参考文献

- (1) Nelson PN, et al: Characterisation of anti-IgG monoclonal antibody A57H by epitope mapping: Biochem Soc Trans. 1997 May;25(2):373S.
- (2) 濱川真治他:腎生検における酵素抗体法の有用性. 病理技術 56 卷 9-12,1997
- (3) 濱川真治他:当院における骨髄穿刺液の検体処理法の新しい試み. 病理技術 58 卷 4-5,1998
- (4) 濱川真治他:酵素抗体法による免疫グロブリンの染色に有効な検体処理法. MedicalTechnology 28, 19-20,2000

■ 研究用としてのみ使用すること。

免疫染色における操作手順および前処理(抗原賦活化)**

■ 操作手順

[切片の準備]

1. 50℃で十分に湯伸ばした切片(3-4μm厚)をシランなどのコーティングスライド上に貼り付け、37℃の恒温器内で16時間以上乾燥させる。

[脱パラフィン]

2. 脱パラフィン → 親水化 → PBS

[抗原賦活化処理]

3. 前処理(抗原賦活化): 温浴処理

- ① 温浴槽をあらかじめ95-99℃に温めておく。以下の操作を行うにあたり、手袋等を用いて高温による火傷に注意する。
- ② 調製した抗原賦活化液(下記記載)を耐熱性の染色バットに入れ、ゆるく蓋をする。これを恒温槽に入れ、95-99℃に温める。
- ③ 抗原賦活化液の温度が95-99℃に達したら、スライドを抗原賦活化液に浸漬させ、ゆるく蓋をする。
- ④ 抗原賦活化液の温度が再び95-99℃まで上昇したことを温度計で確認してから、40分間、95-99℃でインキュベートする。
- ⑤ 染色バットを温浴槽から取り出し、蓋をはずす。スライドを浸したまま常温(15-25℃)で20分間放置しゆっくり熱を冷ます。
- ⑥ スライドを抗原賦活化液から取り出し、PBSで洗浄する(洗浄用容器を2度かえ3分間の洗浄操作を3回繰り返すか、または洗浄びんを使用する)。

[染色手順] <ヒストファイン シンプルステインMAX-PO(M)使用の場合>

- | | | | |
|----------------------------|-----------------------|---|-------|
| 4. 内因性ペルオキシダーゼの除去 | 10~15分間/常温 | → | PBS洗浄 |
| 5. 第一抗体の添加・反応 | 30分~1時間/常温 | → | PBS洗浄 |
| 6. シンプルステインMAX-PO(M)の添加・反応 | 30分間/常温 | → | PBS洗浄 |
| 7. 基質溶液の添加・反応 | DAB発色 | → | 水洗 |
| 8. 対比染色 | 核染(ヘマトキシリン) → 封入 → 乾燥 | → | 検鏡 |

■ 注意

- ・「PBS洗浄」は5分間ずつ容器を2度かえるか、または洗浄びんを使用する。
- ・4.のプロセスは3.の前に行ってもよい。
- ・ヒストファインSABキットを使用する場合は上記1.~4.まで行いSABキットの操作方法に従って染色を行う。
- ・抗原賦活化液
「抗原賦活化液pH9」の調製方法

- | | |
|-----------------|---------------------------------|
| ・ Code : 415201 | 抗原賦活化液pH9 (調製済)は、そのまま用いる。 |
| ・ Code : 415211 | 抗原賦活化液pH9 (10倍濃縮)は、精製水で10倍希釈する。 |