HISTOFINE

**2024年　3月 改訂(第5版)
*2013年　4月 改訂(第4版)

研究用試薬

ヒストファイン

第一抗体
CD79αモノクローナル抗体(JCB117)
（動物種：マウス）

包装：　0.5mL(未希釈抗体)　　Code:413321

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

■**特異性及び抗原分布**：ヒト B 細胞抗原受容体複合体(B cell receptor complex、BCR)を形成する CD79α(mb－1 蛋白)と特異的に反応する。preB 細胞の未熟な段階から一部の形質細胞の細胞質に反応する。preB 細胞性の急性白血病や B 細胞リンパ腫、いくつかの骨髄腫とも反応する。
■**クローン名**：JCB117
■**抗体のクラス/サブクラス**：IgG1、κ
■**免疫原**：リコンビナント mb－1(CD79α 抗原)の細胞外ドメイン。
■**由来**：ハイブリドーマの培養上清より得ている。

1. 内容
第一抗体・・・CD79αモノクローナル抗体(JCB117)(動物種：マウス)。
液状。
0.01%アジ化ナトリウムを含む培養上清。
1 バイアル中に未希釈抗体 0.5mL を含む。

**2. 使用目的
組織・細胞中のヒト B 細胞の染色。
ホルマリン固定パラフィン包埋切片の免疫染色に使用できる。
研究用としてのみ使用すること。

**3. 使用方法
抗体は、抗体希釈用緩衝液(例 0.1%BSA、0.1%NaN_3 を含む PBS)を用いて 25－100 倍に希釈する。
組織切片の場合、前処理(抗原賦活化)として 10mM クエン酸緩衝液(pH6.0)を用いたオートクレーブ処理が必要である(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(100μL)滴下し、常温(15－25℃)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**：10mM クエン酸緩衝液(pH6.0)の替わりにヒストファイン　抗原賦活化液 pH9(Code：415201 又は Code：415211)を用いたオートクレーブ処理をすることで良好な染色が得られる場合がある（裏面の**■参考**参照)。
■組織の固定状況等が染色結果に影響を及ぼすため学会等が推奨する固定液や固定時間を遵守し、検体の取扱いには十分注意すること。染色条件を変更することで良好な染色結果が得られる場合があるが、組織へのダメージや偽陽性化、偽陰性化が起こるおそれがあるため、研究者自身の責任において至適条件をよく検討すること。

**4. 貯法及び使用上の注意
1. 2－8℃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. 取扱い上(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. 本品に関する化学物質の安全情報は安全データシート(SDS)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. 本品の廃棄の際には、各施設や地域及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、取扱いに注意が必要である。
6. 本品にはアジ化ナトリウムが含まれている。アジ化ナトリウムは水道管に含まれる銅、鉛との反応によって爆発の危険性があるので、多量の水とともに洗い流すこと。
7. ヒト由来の検体は、感染の恐れがあるので適切な取扱い及び廃棄法を用いるとともに、免疫染色を実施するにあたって、関連技術及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) Mason DY, Cordell JL, Brown MH, Borst J, Jones M, Pulford K, Jaffe E, Ralfkiaer E, Dallenbach F, Stein H, et al. CD79a: a novel marker for B-cell neoplasms in routinely processed tissue samples. Blood. 1995 Aug 15;86(4):1453-9.
(2) Christgau M, Caffesse RG, Newland JR, Schmalz G, D'Souza RN. Characterization of immunocompetent cells in the diseased canine periodontium. J Histochem Cytochem. 1998 Dec;46(12):1443-54.
(3) van Noesel CJ, van Lier RA, Cordell JL, Tse AG, van Schijndel GM, de Vries EF, Mason DY, Borst J. The membrane IgM-associated heterodimer on human B cells is a newly defined B cell antigen that contains the protein product of the mb-1 gene. J Immunol. 1991 Jun 1;146(11):3881-8.
(4) Mason DY, van Noesel CJ, Cordell JL, Comans-Bitter WM, Micklem K, Tse AG, van Lier RA, van Dongen JJ. The B29 and mb-1 polypeptides are differentially expressed during human B cell differentiation. Eur J Immunol. 1992 Oct;22(10):2753-6.

**免疫染色における操作手順及び前処理(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)：オートクレーブ処理
   ① 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、スライドを浸漬させる。
   ② 染色バットに蓋をする。蓋が取れないように輪ゴムでとめる。
   ③ 120℃、20分間オートクレーブ処理する。
   ④ 圧力が十分下がった後、染色バットをオートクレーブから取り出し、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。
   ※オートクレーブ処理後は、染色バット及び抗原賦活化液等が高温になっている。これらを取り扱う際は、手袋等を使用して火傷に注意する。
   ⑤ 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、又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、又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。

・ 10mM クエン酸緩衝液(pH6.0)の調製方法

A 液 9mL+B 液 41mL+精製水 450mL(用時調製)

A 液：0.1M クエン酸水溶液：常温で保存可能
クエン酸一水和物 ($C_6H_8O_7$・H_2O) 2.1g/精製水 100mL
B 液：0.1M クエン酸ナトリウム水溶液：常温で保存可能
クエン酸三ナトリウム二水和物 ($C_6H_5O_7Na_3$・$2H_2O$) 14.7g/精製水 500mL
ここから必要な時に調製する。

■参考：ヒストファイン 抗原賦活化液pH9(Code：415201又はCode：415211)、オートクレーブ処理を用いる場合
「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。