



研究用試薬

ヒストファイブ

第一抗体

CD15 モノクローナル抗体 (MCS-1)

(動物種: マウス)

包装: 1mL (未希釈抗体) Code: 413471

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**: 糖鎖抗原であるヒト CD15 抗原(X-ハプテン、LewisX、lacto-N-fucopentaose III) と特異的に反応する。CD15 は血液型抗原、分化抗原に広く分布している。腫瘍では古典的ホジキンリンパ腫の 75-85%^{1,2,4,5,6,7)}、大腸癌、胃癌、肺癌、骨髄性白血病細胞に発現がみられる。正常では成熟顆粒球、骨髄系前駆細胞、単球および星状膠細胞に発現がみられるが、リンパ球、好塩基球にはみられない。結節性リンパ球著明ホジキンリンパ腫^{2,6,7)}には染まらないため古典的ホジキンリンパ腫との鑑別に有用である。

■**国際抗体分類**: First, Third and Fifth International Workshop and Conference on Human Leucocyte Differentiation Antigens(1982, 1986,1995)で CD15 に分類されている。

■**クローン名**: MCS-1

■**抗体のサブクラス**: IgG3

■**製法**: ①免疫原・・・ヒト急性骨髄性白血病細胞株 ML-1

②免疫法・・・免疫原で免疫した Balb/c マウスの脾細胞とマウスミエローマ細胞 NS-1 との融合細胞(ハイブリドーマ)から抗体産生クローンを得ている。

■**由来**: ハイブリドーマの培養上清より、プロテイン A アフィニティークロマトグラフィーを用いて精製している。

1. 内容

第一抗体・・・CD15 モノクローナル抗体(MCS-1)(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、溶解された状態である。

1 バイアル中に未希釈抗体 1mL を含む。

2. 使用目的

組織・細胞中の CD15 陽性細胞の染色。

**3. 使用方法

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

抗体は、抗体希釈用緩衝液(例 0.1%BSA、0.1%NaN₃を含む PBS)を用いて 25-50 倍に希釈する。

パラフィン包埋切片の場合、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°C)で 30 分~1 時間インキュベートする。**

この反応時間は、ヒストファイブ 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)の代わりにヒストファイブ 抗原賦活化液 pH9(Code: 415201 または 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)。

4. 貯法

-20°C以下で保存。繰り返しの凍結融解を避けるため小分け分注して凍結保存すること。

保存期間中沈殿が生じる場合があるが、染色性には、影響がないという確認を行っている。

5. 使用上又は取扱上の注意

ヒト由来の検体は、取扱者に感染を引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. 主要文献

- (1) Stein H et al : Int J Cancer 29 : 283-290, 1982
- (2) Hsu SM et al : AmJ Clin Pathol 82 : 29-32,1984
- (3) Falini B et al : Histopathology 11(1-2) : 1229-1242, 1987
- (4) Amini RM et al : Int J Cancer 71 : 510-516, 1997
- (5) Stein H et al : World Health Organization Classification of Tumours ; Pathology and Genetics of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues : 244-253, 2001
- (6) 田丸純一：新 WHO 分類による白血病・リンパ系腫瘍の病態学：245-257,2004
- (7) 田丸純一：血液・腫瘍科 第 49 巻：173-178,2004

■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**

■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。
2. 脱パラフィン → 親水化 → PBS
3. 前処理(抗原賦活化)：オートクレーブ処理
 - ①緩衝液(下記記載)を耐熱性バットに入れ、切片を浸す。
 - ②バットに蓋をする。蓋が取れないように輪ゴムでとめる。
 - ③120℃、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、バットごと切片を取り出す。
 - ⑤バットの蓋をはずし、バットごと切片を常温に 20 分間以上放置し、ゆっくり熱を冷ます。※オートクレーブ処理後は、バットおよび緩衝液等が高温になっている。これらを取り扱う際は、手袋等を使用し火傷に注意する。
- ⑥スライドを緩衝液から取り出し、PBSでよくすすぐ(3分間ずつ容器を2度かえるか、または洗浄ビンを使用する)。

[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 PBS に浸し、5 分間ずつ 3 回放置する。
- ・ 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) の作り方

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 (C₆H₈O₇・H₂O) 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 (C₆H₅O₇Na₃・2H₂O) 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 または Code：415211)、オートクレーブ処理を用いる場合(おもて面の■参考参照)

・抗原賦活化液 pH9 の作り方

- ・ 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。