



研究用試薬

ヒストファイン

第一抗体

抗ビメンチンウサギモノクローナル抗体(SP20)

(動物種：ウサギ)

包装：50テスト(6mL)

Code：413541

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：ヒト組織中の57-60kDaのビメンチンと特異的に反応する。ビメンチンは、間葉系細胞に特有の中間径フィラメントである。正常では、内皮細胞、線維芽細胞および平滑筋細胞など多種の間葉系細胞と反応する。腫瘍では、肉腫、黒色腫等で反応が見られる。また、未分化腫瘍の分類に有用である。

■クローン名：SP20

■抗体のサブクラス：ウサギ IgG

■免疫原：リコンビナントヒトビメンチン

■製法：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・・・抗ビメンチンウサギモノクローナル抗体(SP20)(動物種：ウサギ)。

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・細胞中のヒトビメンチンの染色。

*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)は必要としない(裏面の操作方法参照)。

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(R)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：組織の固定状況等により弱めの前処理(抗原賦活化)：10mMクエン酸緩衝液(pH6.0)を用いたマイクロウェーブ処理(照射1回のみ)をすることで、より良好な染色結果が得られる場合がある(裏面の■参考参照)。

4. 貯法

2-8 $^{\circ}$ C保存。

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。

■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)をスライド上に貼り付け、60℃の恒温器内で一晩乾燥させる。
2. 脱パラフィン → 親水化 → PBS

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

3. 内因性ペルオキシダーゼの除去 10~15分間/常温 → PBS洗浄
4. 第一抗体の添加・反応 30分~1時間/常温 → PBS洗浄*
5. シンプルステインMAX-PO(R)の添加・反応 30分間/常温 → PBS洗浄
6. 基質溶液の添加・反応 DAB発色 → 水洗
7. 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。

■ 参考：10mMクエン酸緩衝液(pH6.0)、マイクロウェーブ処理を用いる場合(おもて面の■参考参照)

前処理(抗原賦活化)：マイクロウェーブ(MW)処理

- ① 10mMクエン酸緩衝液(pH6.0)をバットに入れ、MW照射し沸騰させる。
 - ② 沸騰した緩衝液に切片を浸し、MWを5分間照射する。
 - ③ バットごと切片を常温に20分以上放置し、ゆっくり熱を冷ます。
※MW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。
 - ④ 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)。
- ・ MW処理を実施する場合、切片は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時間以上乾燥させたものを使用してください。
 - ・ MW処理を実施した場合、メチルグリーンによる核染の染色性が低下する場合がありますのでメチルグリーンの使用は避けてください。

- ・ 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(C ₆ H ₈ O ₇ ・H ₂ O) 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 ₆ H ₅ O ₇ Na ₃ ・2H ₂ O) 14.7g/精製水 500mL
ここから必要な時に調製する。