



研究用試薬

ヒストファイン

第一抗体

CD68モノクローナル抗体(PG-M1)

(動物種：マウス)

包装：50テスト(6mL)

Code：413791

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 CD68 抗原(110kDa)と特異的に反応する。CD68 は、酸性で糖鎖に富んだライソゾーム糖タンパク(LAMP/LGP family)の1つで、CD107(LAMP - 1、LAMP - 2)と高い相同性をもつ。骨髄、肺胞、赤脾髄、消化管などのマクロファージや肝臓のクッパー細胞などに発現がみられる。また、単球/マクロファージ起源と考えられている plasmacytoid T cell にも発現がみられるが、濾胞樹状細胞、指状嵌入細胞などの抗原提示細胞や骨髄前駆細胞、末梢顆粒球などには発現がみられない。腫瘍では、慢性および急性骨髄単球性白血病細胞の細胞質に強い顆粒状の発現がみられる。また、腎癌、髄膜腫、黄色肉芽腫などにも発現がみられる場合がある。

■ **国際抗体分類**：Fifth International Workshop and Conference on Human Leucocyte Differentiation Antigens (1993)でCD68に分類されている。

■ **クローン名**：PG-M1

■ **抗体のサブクラス**：IgG3 κ

■ **免疫原**：ゴーシェ病細胞

■ **製法**：培養上清から得ている。

1. 内容

第一抗体・・・CD68モノクローナル抗体(PG-M1)(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)中にて、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 CD68 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(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**：組織の固定状況等により抗原賦活性化液 pH9 を用いたオートクレーブ処理の代わりに、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が得られる場合がある。

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。

6. 参考文献

(1) Fallini B, et al: American Journal of Pathology 142(5):1359-1372,1993

(2) Christine P. Hans, et al: BLOOD 103:275-282,2004

■ 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。
- ・ 抗原賦活化液pH9の作り方

- | |
|---|
| <ul style="list-style-type: none">・ 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。 |
|---|