



HISTOFINE

*2006年5月改訂
2006年1月作成

研究用試薬

ヒストファイン

抗原賦活化液 pH9

包装： 500mL×2 本

Code : 415201

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

1. 内容

抗原賦活化液 pH9。

液状。

1バイアル中に 500mL を含み、2バイアルで構成されている。

2. 使用目的

抗原賦活化液 pH9 を用いた抗原賦活化(オートクレーブ、マイクロウェーブ、熱水)処理は、ホルマリン固定したパラフィン包埋切片の免疫組織化学染色を行う際、その染色強度を増強する目的で行われる。抗原賦活化液 pH9 を用いた抗原賦活化処理に適する抗体は、ヒストファイン 第一抗体を参照のこと。

3. 試薬の調製

そのまま使用する。

4. 使用方法

1) 切片をシランなどのコーティングスライド上に張り付ける。

2) スライドを脱パラフィンし、PBSで洗浄する。

3) 抗原賦活化(オートクレーブ、マイクロウェーブまたは熱水)処理を行う。

注)常に新しい溶液を使用し、繰り返しの使用は避けること。

・抗原賦活化：オートクレーブ(AC)処理

①抗原賦活化液pH9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(15-25℃)に20分間以上放置し、ゆっくり熱を冷ます。

※AC処理後は、バットおよび抗原賦活化液pH9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スライドを抗原賦活化液pH9から取り出し、PBSにて洗浄する。

・抗原賦活化：マイクロウェーブ(MW)処理

①抗原賦活化液pH9を耐熱性バットに入れ、MW照射し沸騰させる。

②沸騰した抗原賦活化液pH9に切片を浸し、MWを5分間照射する。

③再度、MWを5分間照射する。必要であれば、さらにもう一回、MWを5分間照射する。

※MW照射による沸騰で抗原賦活化液pH9は蒸発する。蒸発により抗原賦活化液pH9が減少し、切片の乾燥が危惧される場合は、ビーカー

等であらかじめ沸騰させておいた精製水を減少した分だけ加えてからMW照射を行うこと。

※MW照射を1回(照射時間10-15分間程度)のみで行っても良い。

④バットごと切片を常温(15-25℃)に20分間以上放置し、ゆっくり熱を冷ます。

※MW処理後は、バットおよび抗原賦活化液pH9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。

⑤スライドを抗原賦活化液pH9から取り出し、PBSにて洗浄する。

・抗原賦活化：熱水処理

①温浴槽をあらかじめ95-99℃に温めておく。

②抗原賦活化液pH9をバットに入れ、温浴槽またはMW照射などで95-99℃になるまで温める。過剰な水分蒸発を防ぐ為、バットにゆるく蓋をする。(完全に密閉するとバットを破損することがある。)

③95-99℃になるまで温めた抗原賦活化液pH9に切片を浸し、バットごと温浴槽へ入れる。

④抗原賦活化液pH9の温度が95-99℃まで上昇したことを温度計で確認してから、バットにゆるく蓋をし、40分間、95-99℃でインキュベートする。

⑤バットの蓋をはずし、バットごと切片を常温(15-25℃)に20分間以上放置し、ゆっくり熱を冷ます。

※熱水処理後は、バットおよび抗原賦活化液pH9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スライドを抗原賦活化液pH9から取り出し、PBSにて洗浄する。

4) 内因性ペルオキシダーゼの除去を行う(必要な場合)。

5) 免疫組織化学染色を行う

5. 貯法

2-8°C保存。

6. 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ぬ。