



研究用試薬

ヒストファイン

脱パラフィン/親水化/抗原賦活化

脱パラ抗原賦活化液 pH9

包装：試薬 A 50mL × 10本 Code：415291
試薬 B 50mL × 10本

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

10倍濃縮の脱パラ抗原賦活化液 pH9 は次の試薬から構成される。

液状。

試薬 A

… 50mL × 10本

試薬 B

… 50mL × 10本

*2. 使用目的

本品は、パラフィン包埋切片に対し、組織切片上のパラフィン除去(脱パラフィン)及び親水化、熱による抗原賦活化処理を同時に行うための試薬である。

パラフィン包埋切片の免疫組織(細胞)化学染色を行う際、パラフィン固定組織ブロックを 3-6 μ m に薄切してスライドに貼付した組織切片上から、キシレンを用いてパラフィンを除去後、エタノールを用いて親水化を行う必要がある。さらに、使用する第一抗体の特性によっては、目的抗原を検出するために、その染色強度を増強する目的で、熱による抗原賦活化(オートクレーブ、マイクロウェーブ、温浴等)処理を必要とする。本試薬は、それらの前処理(脱パラフィン、親水化、熱による抗原賦活化処理)を必要とする切片のオートクレーブ処理、温浴処理に使用することができる。また、脱パラフィン及び親水化を目的とした使用や、脱パラフィン及び親水化がなされた切片に対して熱による抗原賦活化処理を目的として使用することもできる。

注1) マイクロウェーブ処理には適さないので使用しないこと。

注2) 各施設で包埋に用いているパラフィンの融点や含有物の有無により、脱パラフィンが不十分になる場合がある。

注3) 第一抗体によって適さない場合があるため、脱パラ抗原賦活化液 pH9 に適するヒストファイン 第一抗体については弊社までお問い合わせください。

*3. 試薬の調製

脱パラ抗原賦活化液 pH9 A液：脱パラ抗原賦活化液 pH9 B液：精製水 = 1 : 1 : 8になるようにそれぞれはかり、十分混和後、溶液を静かに耐熱性染色バットに移す。

*4. 使用方法

1. 切片の準備：切片をシランなどのコーティングスライド上に貼り付ける。
2. 脱パラフィン/親水化/抗原賦活化(オートクレーブ処理又は温浴処理)を行う。

注1) 常に新しい溶液を使用し、繰り返しの使用は避けること。

注2) 使用後の溶液は、一般廃液として廃棄すること。

・脱パラフィン/親水化/抗原賦活化：オートクレーブ処理

1) 脱パラフィン/親水化/抗原賦活化：オートクレーブ処理を行う。

- ①調製した脱パラ抗原賦活化液 pH9(以下、抗原賦活化液)を耐熱性の染色バットに入れ、パラフィン包埋されたままの組織切片が貼付されている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。
- ③120 $^{\circ}$ C、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 $^{\circ}$ C)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。これらを取扱う際は、手袋等を使用し火傷に注意する。
※この時軽く数回、振とうを行うとスライドガラス上のパラフィンが溶解しやすい。
- ⑤スライドを抗原賦活化液から取り出し、0.05% TWEEN20含有のPBSにて洗浄する。
- ⑥スライドを0.05% TWEEN20含有のPBSから取り出し、PBSにて洗浄する。

2) 免疫組織化学染色を行う。

注) 脱パラフィン及び親水化の目的のみで使用することは推奨しない。

・脱パラフィン/親水化/抗原賦活化：温浴処理

1) 脱パラフィン/親水化/抗原賦活化：温浴処理を行う。

- ①温浴槽をあらかじめ95-99℃に温めておく。以下の操作を行うにあたり、手袋等を用いて高温による火傷に注意する。
- ②調製した抗原賦活化液を耐熱性の染色バットに入れ、ゆるく蓋をする。これを恒温槽に入れ、95-99℃に温める。
- ③抗原賦活化液の温度が95-99℃に達したら、パラフィン包埋されたままの組織切片が貼付されているスライドを抗原賦活化液に浸漬させ、ゆるく蓋をする
- ④抗原賦活化液の温度が再び95-99℃まで上昇したことを温度計で確認してから、40分間、95-99℃でインキュベートする。
- ⑤染色バットを温浴槽から取り出し、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。
- ⑥スライドを抗原賦活化液から取り出し、0.05% TWEEN20含有のPBSにて洗浄する。
- ⑦ 0.05% TWEEN20含有のPBSから取り出し、PBSにて洗浄する。

2) 免疫組織化学染色を行う。

注) 脱パラフィン及び親水化の目的のみで使用する場合

- ・ 1) ②③④の温度を65℃、④のインキュベート時間を5分間にする。
- ・ 1) ②スライドを染色バットに入れる際、軽く数回振とうを行ってからインキュベートを開始すること。
※振とうすることでスライドガラス上のパラフィンが溶解しやすくなる。

*5. 貯法及び使用上の注意

1. 2-30℃保存。ただし、開封後のバイアルは2-8℃にて保存すること。また、調製後の溶液は2-8℃にて保存し、調製後1ヶ月以内に使用し、繰り返しの使用は避けること。
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. 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。

*6. 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. 本製品に関する化学物質の安全情報は安全データシートを参照すること。
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. 本製品の廃棄の際には、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. 試薬A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有毒化学薬品である。本製品の含有量は危険なものとして分類されないが、蓄積されたアジ化ナトリウムは爆発性の金属アジ化物として形成され、水道管に含まれる銅、鉛と反応する可能性がある。そのようなリスクを避けるために大量の水とともに洗い流すこと。
6. 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、適切な取扱い及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、関連技術及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。