



## 研究用試薬

## ヒストファイン

## 第一抗体

## 抗免疫グロブリンGポリクローナル抗体

(動物種：ウサギ)

包装：50テスト (6mL)

Code：418531

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

■**特異性及び抗原分布**：ヒト免疫グロブリンGの重鎖( $\gamma$ )と反応する。免疫グロブリン(Ig)は形質細胞により産生される糖タンパク質であり、2本の重鎖と2本の軽鎖からなる<sup>(1)</sup>。ヒト免疫グロブリンは、重鎖の種類( $\alpha$ 、 $\delta$ 、 $\epsilon$ 、 $\gamma$ 、 $\mu$ )に基づき、IgA、IgD、IgE、IgG、IgMの5つのクラスに分類される<sup>(1)(2)</sup>。ヒトIgGには、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4の4つのサブクラスが存在し、分子量は約150kDaで、ヒト免疫グロブリン全体の約75%、循環血漿タンパク質全体の10～20%を占めている<sup>(1)~(3)</sup>。免疫組織化学染色においては、正常および腫瘍性の形質細胞の細胞質に発現がみられ、結合組織や血清中のIgGも検出される。自己免疫性肝疾患においては、IgM/IgG陽性形質細胞比が自己免疫性肝炎(AIH)と原発性胆汁性胆管炎(PBC)の判別に役立つと報告されている<sup>(4)</sup>。IgG4関連疾患においては、IgG4陽性形質細胞の多数の浸潤が見られ、IgG4/IgG陽性形質細胞比が判別補助に用いられている<sup>(5)</sup>。

■**製法**：抗血清から得ている。

## 1. 内容

第一抗体・・・抗免疫グロブリンGポリクローナル抗体(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)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・細胞中の免疫グロブリンGタンパク質の染色。

ホルマリン固定パラフィン包埋切片の免疫染色に使用できる。

研究用としてのみ使用すること。

## 3. 使用方法

組織切片の場合、前処理(抗原賦活化)としてプロテアーゼ溶液(Code: 415231)を用いた25℃で5分間のタンパク質分解酵素処理が必要である(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 $\mu$ L)滴下し、常温(15～25℃)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 シンブルステイン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プロテアーゼ溶液(Code: 415231)を用いるタンパク質分解酵素処理の代わりに抗原賦活化液pH9(Code: 415201またはCode: 415211)を用いた温浴処理を行うことで、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)。

※組織の固定状況等が染色結果に影響を及ぼすため学会等が推奨する固定液や固定時間を遵守し、検体の取扱いには十分注意すること。染色条件を変更することで良好な染色結果が得られる場合があるが、組織へのダメージや偽陽性化、偽陰性化が起こるおそれがあるため、研究者自身の責任において至適条件をよく検討すること。

## 4. 貯法及び使用上の注意

- 2～8℃保存。
- 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。
- 使用前に室温に戻すこと。
- 使用後は速やかに冷蔵保存すること。
- 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。

## 5. 取扱い上(危険防止)の注意

- 使用期限の過ぎた試薬は使用しないこと。
- 本品に関する化学物質の安全情報は安全データシート(SDS)を参照すること。
- 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。
- 本品の廃棄の際には、各施設や地域および国のルールに従い、適切に廃棄すること。
- 本品は、動物由来成分を含むので、取扱いに注意が必要である。
- 本品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水道管に含まれる銅、鉛との反応によって爆発の危険性があるので、多量の水とともに洗い流すこと。
- ヒト由来の検体は、感染の恐れがあるので適切な取扱いおよび廃棄法を用いるとともに、免疫染色を実施するにあたって、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)Patel P, et al. Immunoglobulin. [Updated 2023 Aug 28]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK513460/>
- (2)Janeway CA Jr, et al. Immunobiology: The Immune System in Health and Disease. 5th edition. New York: Garland Science; 2001. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK10757/>
- (3)Kdimati S, et al. Cancer-Cell-Derived IgG and Its Potential Role in Tumor Development. Int J Mol Sci. 2021 Oct 27;22(21):11597.
- (4)Moreira RK, et al. Diagnostic utility of IgG and IgM immunohistochemistry in autoimmune liver disease. World J Gastroenterol. 2010 Jan 28;16(4):453-7.
- (5)Umehara H, et al. The 2020 revised comprehensive diagnostic (RCD) criteria for IgG4-RD. Mod Rheumatol. 2021 May;31(3):529-533.

## 免疫染色における操作手順及び前処理(抗原賦活化)

### ■ 操作手順

[切片の準備]

1. 切片を3-6 $\mu$ mに薄切し、poly-L-lysineまたはシラン等の切片用接着剤をコーティングしたスライドに貼り付け、37℃の恒温器で十分に乾燥させる。

[脱パラフィン]

2. 脱パラフィン → 親水化 → PBS

[抗原賦活化処理]

3. 前処理(抗原賦活化): タンパク質分解酵素処理

プロテアーゼ溶液(Code: 415231)を用いて、25℃で5分間反応させる。 → PBS洗浄

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

4. ブロッキング試薬による処理(3%過酸化水素加メタノール) 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(R)の添加・反応 30分間/常温 → PBS洗浄
7. 基質溶液(DAB)の添加・反応 5~20分間/常温 → 水洗
8. 対比染色
9. 非水溶性封入剤で封入

### ※注意

- ・「PBS洗浄」は5分間ずつ容器を2度かえるか、または洗浄びんを使用する。
- ・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。

※参考: 抗原賦活化液pH9 (Code: 415201またはCode: 415211)を用いた温浴処理を行う場合

前処理(抗原賦活化): 温浴処理

- 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(下記参照)を耐熱性の染色バットに入れ、ゆるく蓋をする。これを温浴槽に入れ、95-99℃に温める。
- ③抗原賦活化液の温度が95-99℃に達したら、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、PBSで洗浄する(洗浄用容器を2度かえ3分間の洗浄操作を3回繰り返すか、または洗浄びんを使用する)。

### ・ 抗原賦活化液の調製

「抗原賦活化液pH9」の調製方法

- |   |
|---|
| <ul style="list-style-type: none"><li>・ Code: 415201 抗原賦活化液pH9 (調製済)は、そのまま用いる。</li><li>・ Code: 415211 抗原賦活化液pH9 (10倍濃縮)は、精製水で10倍希釈する。</li></ul> |
|---|