



HISTOFINE

**2019年 8月改訂(第6版)

*2019年 4月改訂(第5版)

2005年 6月作成

体外診断用医薬品

クラスⅢ免疫組織学検査用シリーズ
ヒストファイン SAB-PO(R)キット
ニューロン特異エノラーゼ

第一抗体
抗ニューロン特異エノラーゼポリクローナル抗体
(動物種：ウサギ)

包装： 50テスト (6mL) Code： 422081

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

- 本品は、クラスⅢ免疫組織学検査用シリーズ ヒストファイン SAB-PO(R)キットの構成試薬 第一抗体である。
- 本品を使用する際は、ヒストファイン SAB-PO(R)キットの添付文書をよく読んで使用すること。
- 特異性および抗原分布：ヒトニューロン由来エノラーゼの γ -サブユニットと反応する。脳のニューロン、膵臓のランゲルハンス島および皮膚の末梢神経と反応する。
- 製法：ウシ脳から精製したニューロン特異エノラーゼを免疫したウサギ血清より得ている。

1. 内容

第一抗体・・・抗ニューロン特異エノラーゼ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)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 抗原賦活化液 pH9 (Code:415211 または Code:415201)を用いて温浴処理することを推奨する(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。

■参考：組織の固定条件等により4 $^{\circ}$ C、一晚のインキュベートで良好な染色が得られる場合もある。

3. 貯法および使用上の注意

1. 2-8 $^{\circ}$ C保存。
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. 使用前に室温に戻すこと。
4. 使用後は速やかに冷蔵保存すること。
5. 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。

4. 取扱上(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、各施設や地域および国のルールに従い、適切に廃棄すること。
5. 本品は、動物由来成分を含むので、取扱に注意が必要である。
6. 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。
7. 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。

5. 主要文献

- (1) Rode, J. et al: Diagn. Histopathol. 5: 205, 1982

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): 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、軍手等を用いて高温に気をつける。
 - ②緩衝液(下記記載)を調製し、耐熱性染色ドーズに入れて蓋をする。これを温浴槽に入れ、95-99℃に温める。(ドーズは温浴終了まで、水分蒸発を防ぐため、蓋をしておく。)
 - ③②の緩衝液が95-99℃に達したら、スライドを緩衝液に浸漬させ、ゆるくふたをする。
 - ④緩衝液の温度が再び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染色ドーズ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。
※温浴処理後は、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]

4. ブロッキング試薬 I による処理 10~15分間/常温 → PBS洗浄
5. アビジン溶液(試薬 A)**¹の添加・反応 10~15分間/常温 → PBS洗浄
6. ビオチン溶液(試薬 B)**¹の添加・反応 10~15分間/常温 → PBS洗浄
7. ブロッキング試薬 II の添加・反応 10分間/常温 → PBS洗浄
8. 第一抗体の添加・反応 30分~1時間/常温 → PBS洗浄
9. 第二抗体の添加・反応 10分間/常温 → PBS洗浄
10. 酵素試薬の添加・反応 5分間/常温 → PBS洗浄
11. 基質溶液の添加・反応 DAB発色 → 水洗
12. 対比染色 核染(ヘマトキシリン) → 封入 → 乾燥 → 検鏡

※1: Code: 415041 ヒストファイン 内因性アビジン・ビオチンブロッキングキット
アビジン溶液(試薬 A)は、そのまま用いる。
ビオチン溶液(試薬 B)は、そのまま用いる。

■ 注意

- ・「PBS洗浄」はPBSに浸し、5分間ずつ3回放置する。
- ・緩衝液「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。 |
|---|