



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(M) キット  
ビメンチン

第一抗体

## 抗ビメンチンモノクローナル抗体

(動物種：マウス)

包装：50テスト(6mL) Code：422101

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(M)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(M)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：ヒト組織中の57kDaのビメンチンと特異的に反応する。グリア線維性酸性プロテインやデスミンとは反応しない。内皮細胞、線維芽細胞および平滑筋細胞など多種の間葉系細胞と反応する。悪性線維性組織球腫などの軟部腫瘍組織には、ビメンチン以外の中間フィラメントは存在しない。

■クローン名：V9

■抗体のサブクラス：IgG1、 $\kappa$

■免疫原：ブタの目のレンズから精製したビメンチン。

■製法：ハイブリドーマの培養上清より得ている。

#### 1. 内容

第一抗体・・・抗ビメンチンモノクローナル抗体(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)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)は必要としない(裏面の操作方法参照)。

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 $^{\circ}$ C)で30分~1時間インキュベートする。\*\*

■参考：組織の固定状況等により弱めの前処理(抗原賦活化)：10mMクエン酸緩衝液(pH6.0)を用いたマイクロウェーブ処理(照射1回のみ)をすることで、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)。

#### 3. 貯法

2-8 $^{\circ}$ C保存。

#### 4. 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。

#### 5. 主要文献

(1) Gabbiani, G. et al: Am. J. Pathol. 104: 206, 1981

(2) Denk, H. et al: Am. J. Pathol. 110: 193, 1983

(3) Miettinen, M. et al: Arch. Dermatol. 121: 736, 1985

(4) Osborn, et al: J. Cell. Biol. 34: 137, 1984

(5) Azumi, et al: Am. J. Pathol. 88: 286, 1987

(6) Buley, et al: J. Clin. Pathol. 40: 136, 1987

# 免疫染色における操作手順\*\*

## ■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)をスライド上に張り付け、60℃の恒温器内で一晚乾燥させる。
2. 脱パラフィン → 親水化 → PBS

### [染色手順] < SAB-PO(M)キット使用の場合 >

3. 内因性ペルオキシダーゼの除去 10~15分間/常温 → PBS洗浄
4. ブロッキング試薬IIの添加・反応 10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. 第二抗体の添加・反応 10分間/常温 → PBS洗浄
7. 酵素試薬の添加・反応 5分間/常温 → PBS洗浄
8. 基質溶液の添加・反応 DAB発色 → 水洗
9. 対比染色 核染 (ヘマトキシリンまたはメチルグリーン) → 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。

## ■参考：10mMクエン酸緩衝液(pH6.0)、マイクロウェーブ処理を用いる場合(おもて面の■参考参照)

前処理(抗原賦活化)：マイクロウェーブ(MW)処理

- ① 10mMクエン酸緩衝液(pH6.0)をバットに入れ、MW照射し沸騰させる。
  - ② 沸騰した緩衝液に切片を浸し、MWを5分間照射する。
  - ③ MW照射による沸騰で緩衝液は蒸発する。蒸発により緩衝液が減少し、切片の乾燥が危惧される場合は、ピ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る。
  - ④ 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。  
※MW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。  
※MW照射時間10・15分間程度にて行っても良い。
  - ⑤ 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)。
- ・ MW処理を実施する場合、切片は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時間以上乾燥させたものを使用してください。
  - ・ MW処理を実施した場合、メチルグリーンによる核染の染色性が低下する場合がありますのでメチルグリーンの使用は避けてください。

- ・ 10mM クエン酸緩衝液 (pH6.0) の作り方  
A液9mL+B液41mL+精製水450mL (用時調製)

A液：0.1M クエン酸水溶液：常温で保存可能  
クエン酸一水和物 (C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>7</sub>・H<sub>2</sub>O) 2.1g/精製水 100mL  
B液：0.1M クエン酸ナトリウム水溶液：常温で保存可能  
クエン酸三ナトリウム二水和物 (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub>Na<sub>3</sub>・2H<sub>2</sub>O) 14.7g/精製水 500mL

ここから必要な時に調製する。