



HISTOFINE

**2014年10月改訂(第4版)

*2013年 4月改訂(第3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(MULTI)キット
L26

第一抗体

L26 モノクローナル抗体

(動物種: マウス)

包装: 1mL (未希釈抗体) Code: 422741

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(MULTI)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(MULTI)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 pan-B 細胞抗原の細胞内ドメインと特異的に反応する。B 細胞の分化段階の中で pre-pre-B cell の一部から免疫芽球の一部まで強く反応し、形質細胞には反応しない。生細胞の膜表面にはわずかししか反応しないが、固定したスメアや組織切片には強く反応する。T 細胞、骨髄球系細胞、マクロファージとは反応しない。
- 国際抗体分類: Fifth International Workshop and Conference on Human Leucocyte Differentiation Antigens(1993)で CD20 に分類されている。
- クローン名: L26
- 抗体のサブクラス: マウス IgG2a
- 製法: マウスの腹水より精製し、免疫グロブリン分画を得ている。

1. 内容

第一抗体・・・L26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)中に溶解された状態である。

1バイアル中に未希釈抗体1mL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。

抗体は、抗体希釈用緩衝液 (例 0.1%BSA、0.1%NaN₃を含む PBS) を用いて 50-100 倍に希釈する。

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:415201 または Code:415211) を用いたオートクレーブ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、希釈した第一抗体を 2 滴(100 μL)滴下し、常温(15-25℃)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抗原賦活化処理なしで良好な染色結果が得られる場合がある。

3. 貯法

2-8℃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) shii Y, Takami T, Yuasa H, Takei T, Kikuchi K,: Two distinct antigen systems in human B lymphocytes: identification of cell surface and intracellular antigens using monoclonal antibodies. Clin. exp. Immunol. 58: 183-192, 1984
- (2) Ishii Y, Takami T, Yuasa H, Takei T, Kokai Y, Kikuchi K,: Six distinct antigen systems of human B cells as defined by monoclonal antibodies. Leucocyte Typing II (2): 109-119, 1986 (Springer-Verlag 社)
- (3) Takami T, Ishii Y, Yuasa H, Kikuchi K: Three distinct antigen systems on human B cell subpopulations as defined by monoclonal antibodies. J. Immunol. 134(2): 828-834, 1985
- (4) 高見 剛: 免疫異常疾患のモノクローナル抗体による免疫組織学的解析。免疫と疾患 8(6): 785-791, 1984
- (5) 高見 剛、菊池浩吉: T、B リンパ球およびそれらのサブセット関連抗原の免疫組織化学。病理と臨床 2(12): 1624-1633, 1984

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): オートクレーブ処理
 - ①緩衝液(下記記載)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に20分間以上放置し、ゆっくり熱を冷ます。※オートクレーブ処理後は、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. ブロッキング試薬Ⅱの添加・反応 10分間/常温 → PBS洗浄
6. 第一抗体の添加・反応 30分~1時間/常温 → PBS洗浄
7. 第二抗体の添加・反応 10分間/常温 → PBS洗浄
8. 酵素試薬の添加・反応 5分間/常温 → PBS洗浄
9. 基質溶液の添加・反応 DAB発色 → 水洗
10. 対比染色 核染 (ヘマトキシリン) → 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。

・抗原賦活化液pH9の作り方

- ・ 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。