

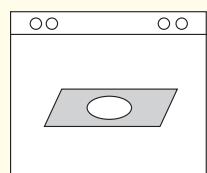
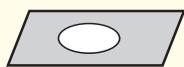
温浴処理による抗原賦活化

* 各ステップでの反応温度、反応時間は厳密に守ること。

* 特に温度指定のない場合は、常温(15~25°C)で操作すること。

* 染色結果に影響を及ぼす為、必ず下記の操作手順に従って操作を行うこと。

●検体準備



50°Cで十分に湯伸ばしした切片
(3~4 μm厚)をシランなどのコーティングスライド上に貼り付ける。

切片を恒温器で十分乾燥させる。
(37°C 24時間)

●脱パラфин



* 各ステップごとによく液を切る。

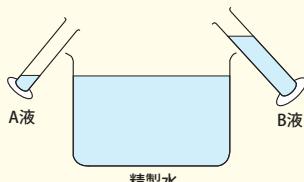
* 脱パラфинを完全にするために、各溶液はスライド40枚ごとに取り換えることが好ましい。

●抗原賦活化液の調製

ヒストファイン 抗原賦活化液pH9(コード:415201または415211)を用いる場合

- ・調製済(コード:415201)は、そのまま使用する。
- ・10倍濃縮(コード:415211)は、精製水で10倍希釀する。

10mMクエン酸ナトリウム緩衝液(pH6.0)を用いる場合



10mMクエン酸ナトリウム緩衝液(pH6.0)の調製方法
A液9mL+B液41mL+精製水450mL(用時調製)

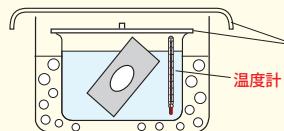
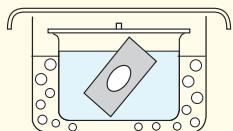
A液 (0.1Mクエン酸水溶液) クエン酸一水和物(<chem>C6H8O7 · H2O</chem>) 2.1g/精製水100mL
B液 (0.1Mクエン酸ナトリウム水溶液) クエン酸三ナトリウム二水和物(<chem>C6H5O7Na3 · 2H2O</chem>) 14.7g/精製水500mL

精製水450mLにA液9mLおよびB液41mLを加えよく混和する。緩衝液は用時調製する。

● 抗原賦活化処理

注：高温に気をつけ、手袋等用いる。

染色結果に大きな影響を及ぼす為、温度確認、時間等を正確に行う。

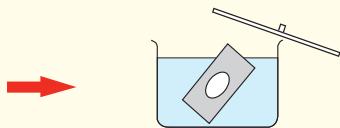


温度計

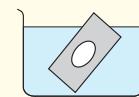
注：
・95-99°Cを保つ為には染色パット及び温浴槽にふたをすることが効果的である。
・ふたは過剰な水分蒸発防止にも役立つが、完全に密閉すると染色パット及び温浴槽を破損することがあるのでゆるくふたをすること。

抗原賦活化液を耐熱性の染色パットに入れ、ゆるくふたをする。これを温浴槽に入れ95-99°Cに温める。抗原賦活化液の温度が95-99°Cに達したら、スライドを抗原賦活化液に浸漬させ、ゆるくふたをする。

抗原賦活化液の温度が95-99°Cまで上昇したことを温度計等で確認してからインキュベートする。
(95-99°C、40分間)

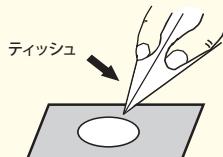


染色パットを温浴槽から取り出し、ふたをはずす。スライドを浸したまま放置しゆっくり熱を冷ます。(常温、20分間)

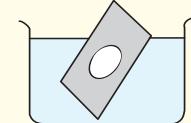


PBSで洗浄する。
(常温、3分間、3回)

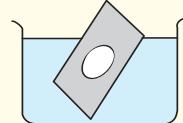
● ブロッキング試薬Ⅰによる処理(3%過酸化水素加メタノールによる内因性ペルオキシダーゼ除去)



切片の周囲の余分な水分を拭き取る。



3%H₂O₂加メタノールに浸す。
(常温、10-15分間)



PBSで洗浄する。
(常温、3分間、3回)

*温浴処理後は、染色パットおよび抗原賦活化液等が高温になっているため、これらを取り扱う際は、手袋等を使用して火傷に注意する。