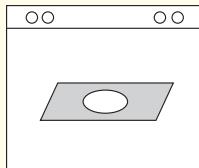


免疫組織化学染色における抗原性の賦活化

マイクロウェーブ(MW)照射による抗原賦活化

* 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。

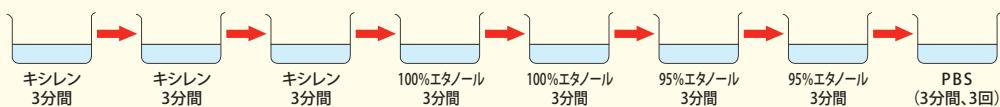
●検体準備



50°Cで十分に湯伸ばした切片
(3-4 μm厚)をシランなどのコート
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)

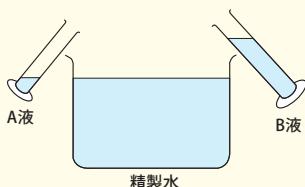
●脱パラフィン



* 各ステップごとによく液を切る。
 * 脱パラフィン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(抗原賦活化液は、第一抗体の種類により使い分ける。)

10mMクエン酸ナトリウム緩衝液(pH6.0)を用いる場合

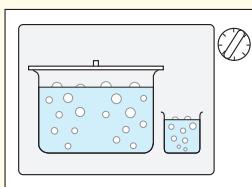


精製水450mLにA液9mLおよびB液41mLを
加えよく混和する。緩衝液は用時調製する。

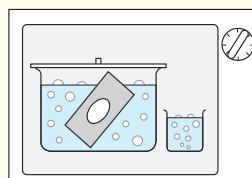
10mMクエン酸ナトリウム緩衝液(pH6.0)の調製方法
A液9mL+B液41mL+精製水450mL(用時調製)

A液 (0.1Mクエン酸水溶液) クエン酸一水和物(C ₆ H ₈ O ₇ ·H ₂ O) 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(C ₆ H ₅ O ₇ Na ₃ ·2H ₂ O) 14.7g/精製水500mL

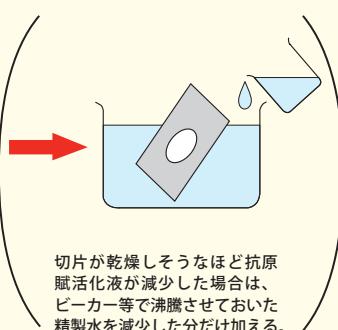
●MW(500W)処理



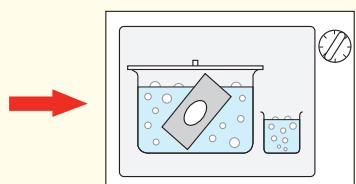
調製した抗原賦活化液を耐熱性の
染色バットに入れ、MW照射し沸騰
させる。
精製水をビーカー等に入れ一緒に
沸騰させる。



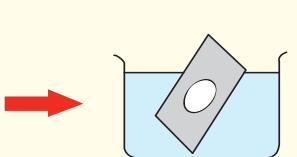
沸騰した抗原賦活化液に切片を浸し、抗原
賦活化液の水面の位置に印をつける。
沸騰により抗原賦活化液が減少して切片が
乾かないように気をつけながら、MWを
照射する。(5分間)



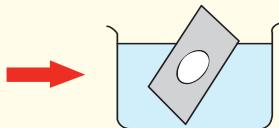
切片が乾燥しそうなほど抗原
賦活化液が減少した場合は、
ビーカー等で沸騰させておいた
精製水を減少した分だけ加える。



MW照射をもう1-2回繰り返す。

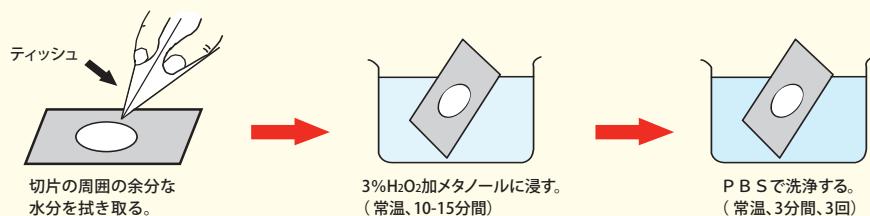


染色バットごと切片を自然放置し、
ゆっくり熱を冷ます。
(常温、20分間以上)



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)



* ブロッキング試薬 I による内因性ペルオキシダーゼ除去はMW処理の前に行つてもよい。
 * MW処理後は、染色バットおよび抗原賦活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。

※参考文献

Taylor CR, et al. Antigen retrieval for immunohistochemistry status and need for greater standardization. Applied Immunohistochemistry and Molecular Morphology. 1996 Dec 1;4(3):144-166.

Shi SR, et al. Antigen retrieval in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues: an enhancement method for immunohistochemical staining based on microwave oven heating of tissue sections. J Histochem Cytochem. 1991 Jun;39(6):741-8.