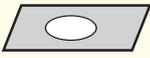


操作手順

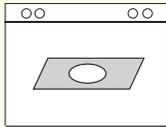
*各ステップでの反応温度、反応時間は厳密に守ること。
 *特に温度指定のない場合は、常温(15~25℃)で操作すること。
 *染色結果に影響を及ぼす為、必ず下記の操作手順に従って操作を行うこと。

ヒストファイン ER/PgR (MONO) ユニバーサルキット

●検体準備



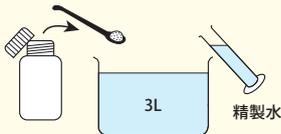
50℃で十分に湯伸ばした切片(4μm厚)をシランなどのコーティングスライド上に貼り付ける。



切片を恒温器で十分乾燥させる。(37℃、24時間)

●PBS(洗浄用)の準備

研究用試薬「PBS Code:415223」を使用することを推奨する。



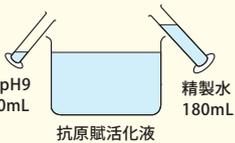
PBS 28.65g 精製水 3L
 PBS(洗浄用)
 PBS28.65gを精製水で3L(9.55g/L)にメスアップする。

1回洗浄で150mL使用した場合、全工程で約2.5L必要。

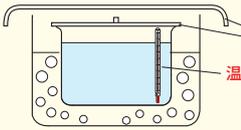
●抗原賦活化液の調製・準備

研究用試薬「抗原賦活化液pH9 Code:415211(10倍濃縮)」を使用することを推奨する。
 注:高温に気をつけ、手袋等用いる。

(200mL作製の場合)



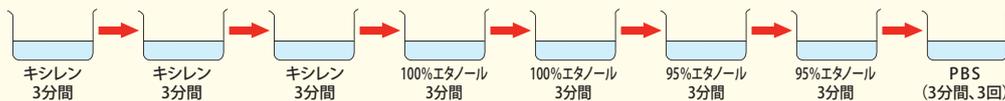
抗原賦活化液pH9(10倍濃縮)20mL 精製水 180mL
 抗原賦活化液
 抗原賦活化液pH9(10倍濃縮)を精製水で10倍希釈し、抗原賦活化液とする。



抗原賦活化液を耐熱性の抗原賦活化用染色ドーズに入れ、ふたをする。さらにふたをした温浴槽中にて抗原賦活化液を95-99℃に温める。

注:
 ・95-99℃に温める為には抗原賦活化用染色ドーズ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、完全に密閉すると抗原賦活化用染色ドーズ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。

●脱パラフィン



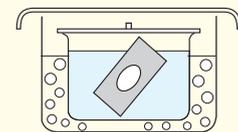
キシレン 3分間 → キシレン 3分間 → キシレン 3分間 → 100%エタノール 3分間 → 100%エタノール 3分間 → 95%エタノール 3分間 → 95%エタノール 3分間 → PBS (3分間、3回)

*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。

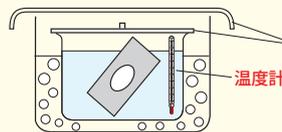
●抗原賦活化処理

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。

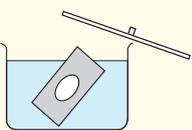


95-99℃に温めた抗原賦活化液にスライドを浸漬させ、ゆるくふたをする。さらに抗原賦活化液の温度を高温に保つ為に温浴槽にゆるくふたをする。

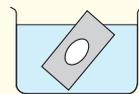


抗原賦活化液の温度が95-99℃まで上昇したことを温度計等で確認してからインキュベートする。(95-99℃、40分間)

注:
 ・95-99℃を保つ為には抗原賦活化用染色ドーズ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、完全に密閉すると抗原賦活化用染色ドーズ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。

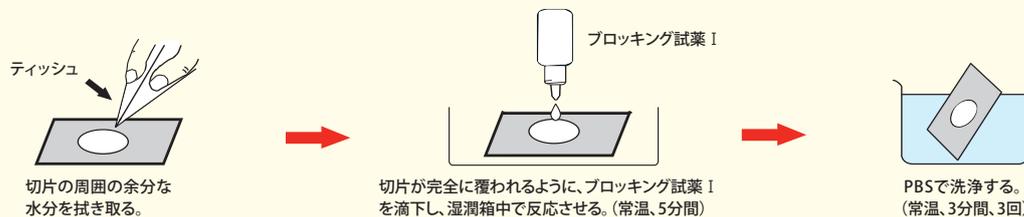


抗原賦活化用染色ドーズを温浴槽から取り出し、ふたをはずす。スライドを浸したまま放置しゆっくり熱を冷ます。(常温、20分間)

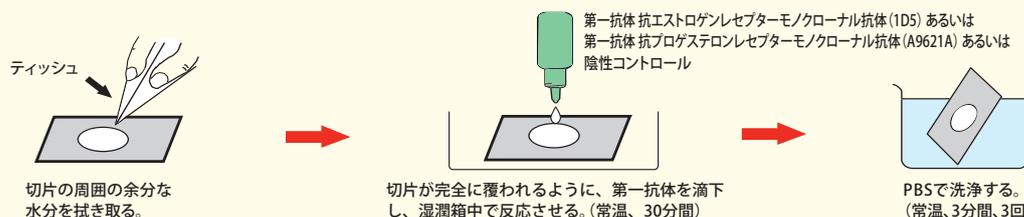


PBSで洗浄する。(常温、3分間、3回)

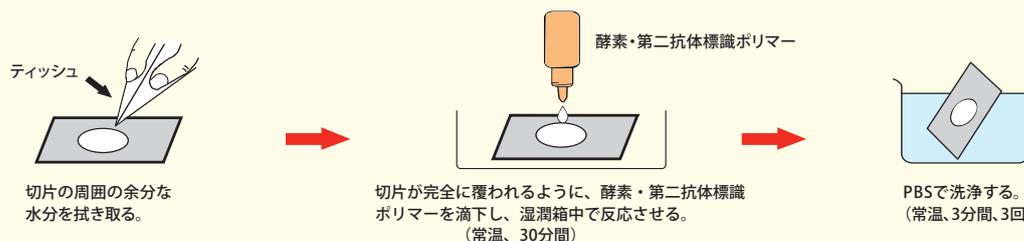
●ブロッキング試薬 I による処理 (3vol%過酸化水素水による内因性ペルオキシダーゼ処理)



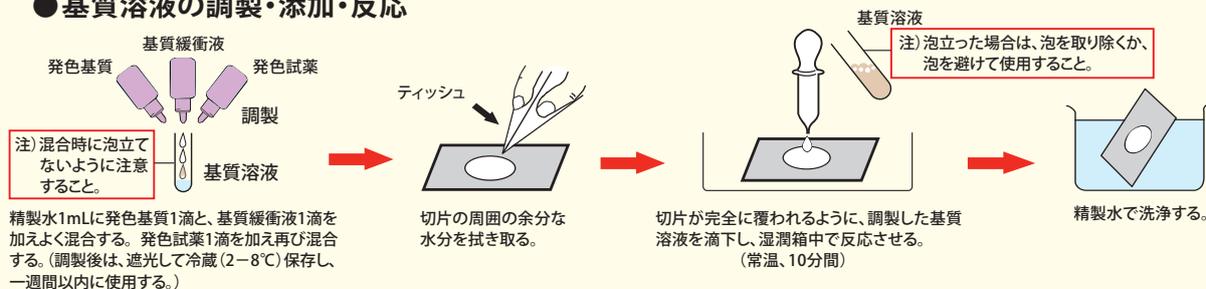
●第一抗体の添加・反応



●酵素・第二抗体標識ポリマー [ペルオキシダーゼ標識抗マウスIgGポリクローナル抗体 (Fab') (動物種:ヤギ)] の添加・反応



●基質溶液の調製・添加・反応



●対比染色

対比染色試薬(ヘマトキシリン)にスライドを浸した後、流水でよくすすぐ。

●封入

水洗、脱水、キシレンによる透徹後、非水溶性封入剤で封入する。

