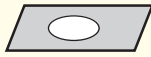


操作手順

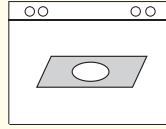
*各ステップでの反応温度、反応時間は厳密に守ること。
 *特に温度指定のない場合は、常温(15~25℃)で操作すること。
 *染色結果に影響を及ぼす為、必ず下記の操作手順に従って操作を行うこと。

ヒストファインHER2キット (POLY)

●検体準備

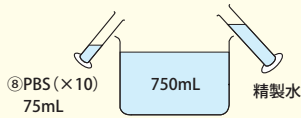


50℃で十分に湯伸ばした切片(4μm厚)をシランなどのコーティングスライド上に貼り付ける。



切片を恒温器で十分乾燥させる。(37℃、24時間)

●PBS(洗浄用)の調製



⑧PBS(×10) 75mL

⑧PBS(×10) 75mLを精製水で750mLにメスアップする。

1回洗浄で45mL使用した場合、全工程で750mL必要^{参考1}。

●抗原賦活化液の調製・準備

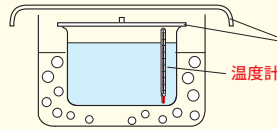
注：高温に気をつけ、手袋等用いる。

(100mL作製の場合)



⑦濃縮抗原賦活化液(×10) 10mL

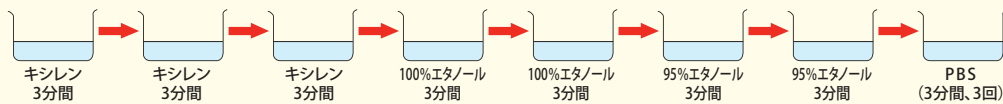
⑦濃縮抗原賦活化液(×10)を精製水で10倍希釈し、抗原賦活化液とする^{参考2}。



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



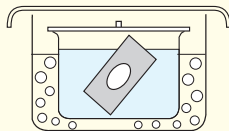
*各ステップごとによく液を切る。

*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。

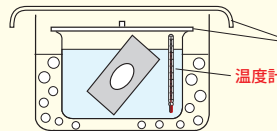
●抗原賦活化処理

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。

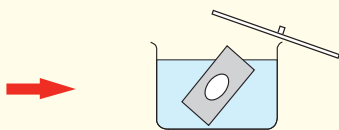


95-99℃に温めた抗原賦活化液にスライドを浸漬させ、ゆるくふたをする。さらに抗原賦活化液の温度を高温に保つ為に温浴槽にゆるくふたをする。

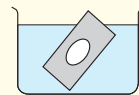


抗原賦活化液の温度が95-99℃まで上昇したことを温度計等で確認してからインキュベートする。(95-99℃、40分間)

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。



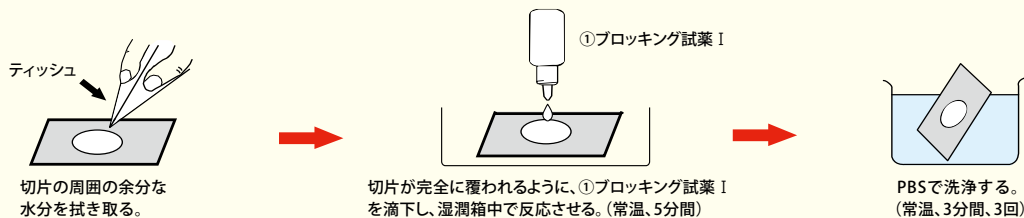
抗原賦活化用染色ドーズを温浴槽から取り出し、ふたをはずす。スライドを浸したまま放置しゆっくり熱を冷ます。(常温、20分間)



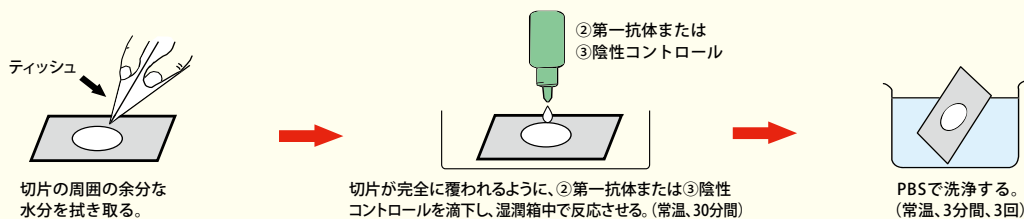
PBSで洗浄する。(常温、3分間、3回)

ヒストファインHER2抗体染色試薬

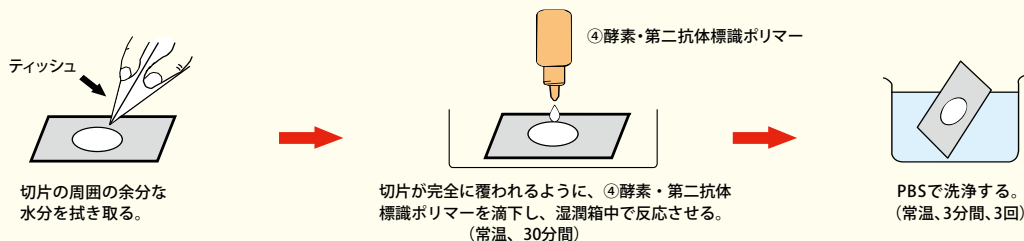
●ブロッキング試薬 I による処理 (3vol%過酸化水素水による内因性ペルオキシダーゼ処理)



●第一抗体 [抗ヒトHER2/*neu* 遺伝子産物ポリクローナル抗体 (動物種:ウサギ)] または陰性コントロール [ウサギイムノグロブリン] の添加・反応

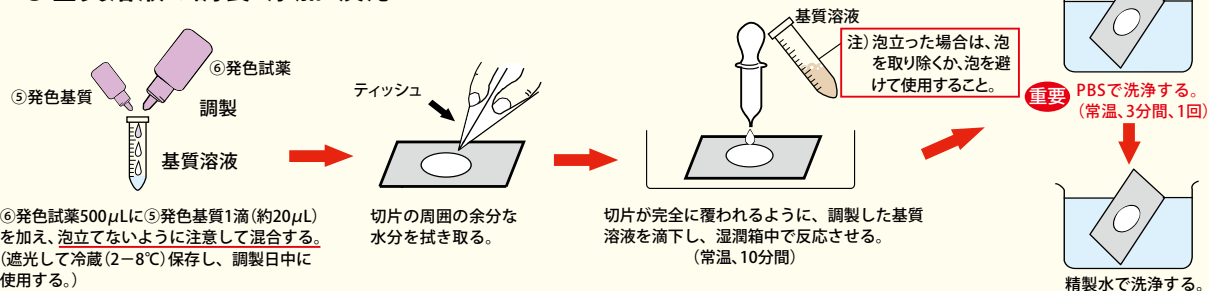


●酵素・第二抗体標識ポリマー [ペルオキシダーゼ標識抗ウサギIgGポリクローナル抗体 (Fab') (動物種:ヤギ)] の添加・反応



●基質溶液の調製・添加・反応

注: 試薬の取り扱いに気をつけ、使い捨て手袋等用いる。



●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。

●参 考

参考1: PBS 洗浄用

- ・HER2キット(POLY)20テスト包装の場合、750mL×20回作製できる。
- ・HER2キット(POLY)40テスト包装の場合、750mL×40回作製できる。

参考2: 抗原賦活液

- ・HER2キット(POLY)20テスト包装の場合、100mL×20回作製できる。
- ・HER2キット(POLY)40テスト包装の場合、100mL×40回作製できる。