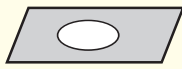


免疫組織化学染色における抗原性の賦活化

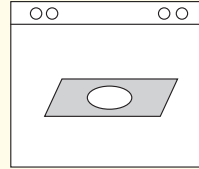
マイクロウェーブ (MW) 照射による抗原賦活化

- *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℃)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

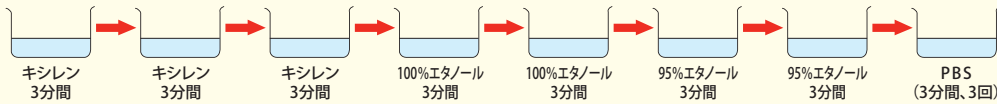


50℃で十分に湯伸ばした切片(3-4μm厚)をシランなどのコーティングスライド上に貼り付ける。



切片を恒温器で十分乾燥させる。(37℃ 24時間)

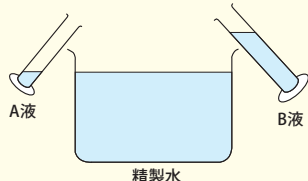
●脱パラフィン



- *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

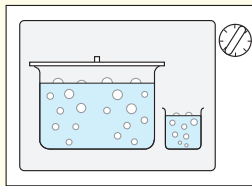


精製水450mLにA液9mLおよびB液41mLを加えよく混和する。緩衝液は用時調製する。

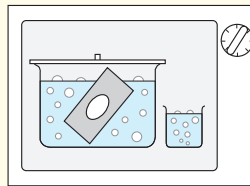
10mMクエン酸ナトリウム緩衝液 (pH6.0) の調製方法
A液9mL+B液41mL+精製水450mL (用時調製)

- A液 (0.1Mクエン酸水溶液)：常温で保存可能
クエン酸一水和物 (C₆H₈O₇ · H₂O) 2.1g/精製水100mL
- B液 (0.1Mクエン酸ナトリウム水溶液)：常温で保存可能
クエン酸三ナトリウム二水和物 (C₆H₅O₇Na₃ · 2H₂O) 14.7g/精製水500mL

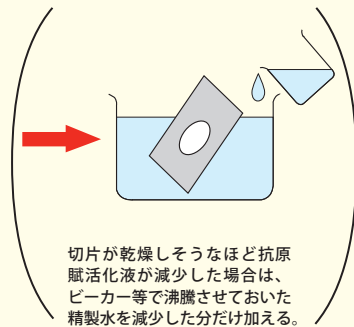
●MW (500W) 処理



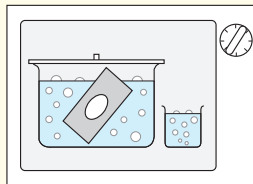
調製した抗原賦活化液を耐熱性の染色バットに入れ、MW照射し沸騰させる。精製水をビーカー等に入れ一緒に沸騰させる。



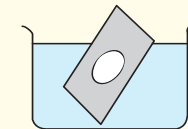
沸騰した抗原賦活化液に切片を浸し、抗原賦活化液の水面の位置に印をつける。沸騰により抗原賦活化液が減少して切片が乾かないように気をつけながら、MWを照射する。(5分間)



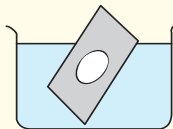
切片が乾燥しそうなほど抗原賦活化液が減少した場合は、ビーカー等で沸騰させておいた精製水を減少した分だけ加える。



MW照射をもう1-2回繰り返す。

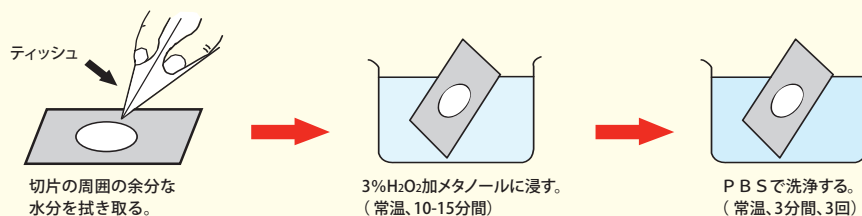


染色バットごと切片を自然放置し、ゆっくり熱を冷ます。(常温、20分以上)



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処理の前に行ってもよい。

*MW処理後は、染色バ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。

※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.