

研究用試薬

ヒストファイン

第一抗体

CD30 (JCM182) モノクローナル抗体

(動物種：マウス)

包装：50テスト (6mL) Code：418311

製造販売元

株式会社ニチレイバイオサイエンス

〒104-8402

東京都中央区築地 6-19-20

TEL. 03(3248)2208 FAX. 03(3248)2243

■特異性および抗原分布：TNF レセプタースーパーファミリーに属する I 型膜貫通性の糖タンパクである CD30 抗原と特異的に反応する⁽²⁾。正常では活性化 B 細胞、活性化 T 細胞に発現がみられ、非活性型 T 細胞や単球にはみられない⁽²⁾。腫瘍では古典的ホジキンリンパ腫(CHL：classic Hodgkin lymphoma)のホジキン細胞、Reed-Sternberg 細胞や、未分化大細胞型リンパ腫(ALCL：anaplastic large cell lymphoma)などに発現がみられる⁽²⁾⁽³⁾また、HIV、EBV などに感染した細胞⁽⁴⁾や胎児性癌、悪性黒色腫などにもみられる場合がある⁽¹⁾⁽²⁾⁽⁵⁾。染色は、細胞膜および核近傍のゴルジ野にみられる⁽⁶⁾。

■クローン名：JCM182

■抗体のサブクラス：IgG1

■免疫原：CD30 タンパクの細胞内ドメインに相当するリコンビナントタンパク

■製法：ハイブリドーマの培養上清より得ている。

1. 内容

第一抗体・・・CD30(JCM182)モノクローナル抗体 (動物種：マウス)

液状。

ウシ血清アルブミン(BSA)と 0.1%アジ化ナトリウムを含むリン酸緩衝生理食塩水(PBS)にて、即時使用可能な抗体濃度に希釈済み。

1 バイアル中に 6mL を含む。

2. 使用目的

組織・細胞中のヒト CD30 抗原の染色。

3. 使用方法

パラフィン包埋切片の免疫組織化学および免疫細胞化学染色に使用できる第一抗体である。

パラフィン包埋切片の場合、前処理(抗原賦活化)としてヒストファイン 抗原賦活化液 pH9 (Code:415201 または Code:415211)を用いた温浴処理が必要である(裏面の操作手順参照)。

スライド上の組織切片が完全に覆われるように第一抗体を2滴(100 μ L)滴下し、常温(15-25 $^{\circ}$ C)で30分~1時間インキュベートする。

この反応時間は、ヒストファイン シンプルステインMAX-PO(M)を使用する場合の目安であり、他のキットを使用する場合は、研究者自身が至適反応時間を調べる必要がある。

■参考：組織の固定条件等により前処理(抗原賦活化)としてヒストファイン 抗原賦活化液 pH9 (Code:415201 または Code:415211)を用いたオートクレーブ処理で良好な染色結果が得られる場合がある。(裏面の■参考参照)。

4. 貯法および使用上の注意

1. 2-8 $^{\circ}$ C 保存。

2. 使用期限はラベルに記載されているので使用前に確認すること。

3. 使用前に室温に戻すこと。

4. 使用後は速やかに冷蔵保存すること。

5. 異なるロットの試薬や他製品の試薬を混ぜたりしないこと。

5. 取扱上(危険防止)の注意

1. 使用期限の過ぎた試薬は使用しないこと。

2. 本製品に関する安全情報は安全データシートを参照すること。

3. 本品を吸い込んだり、眼、口、皮膚、衣類などへの接触を避けること。

4. 本製品の廃棄の際には、各施設や地域および国のルールに従い、適切に廃棄すること。

5. 本品は、動物由来成分を含むので、取扱に注意が必要である。

6. アジ化ナトリウムは有毒化学薬品である。本製品の含有量は危険なものとして分類されないが、蓄積されたアジ化ナトリウムは爆発性の金属アジ化物として形成され、水道管に含まれる銅、鉛と反応する可能性がある。そのようなリスクを避けるために大量の水とともに洗い流すこと。

7. ヒト由来の検体は、取扱者に感染をひき起こす危険性がある。従って、適切な取扱および廃棄法を用いるとともに、この免疫組織(細胞)化学染色法を施行するに際し、関連技術および操作法に充分習熟しておかなければならない。

6. 参考文献

- (1) Mechttersheimer G., et al: Cancer 66(8) 1732-1737, 1990
- (2) Falini B., et al: BLOOD 85(1): 1-14, 1995
- (3) Stein H., et al: BLOOD 96(12): 3681-3695, 2000
- (4) Flavell KJ., et al: Mol Pathol. 53(5): 262-269, 2000
- (5) Durkop H., et al: J Pathol. 190(5): 613-618, 2000
- (6) D.J.Dabbs: Diagnostic Immunohistochemistry, 5th ed.: ELSEVIER:162,2018

■研究用としてのみ使用すること。

免疫染色における操作手順および前処理(抗原賦活化)

■操作手順

[切片の準備]

1. 50℃で十分に湯伸ばしした切片(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、37℃の恒温器内で16時間以上乾燥させる。

[脱パラフィン]

2. 脱パラフィン → 親水化 → PBS

[抗原賦活化処理]

3. 前処理(抗原賦活化): 温浴処理

- ① 温浴槽をあらかじめ95-99℃に温めておく。以下の操作を行うにあたり、手袋等を用いて高温による火傷に注意する。
- ② 調製した抗原賦活化液(下記記載)を耐熱性の染色バットに入れ、ゆるく蓋をする。これを恒温槽に入れ、95-99℃に温める。
- ③ 抗原賦活化液の温度が95-99℃に達したら、スライドを抗原賦活化液に浸漬させ、ゆるく蓋をする。
- ④ 抗原賦活化液の温度が再び95-99℃まで上昇したことを温度計で確認してから、40分間、95-99℃でインキュベートする。
- ⑤ 染色バットを温浴槽から取り出し、蓋をはずす。スライドを浸したまま常温(15-25℃)で20分間放置しゆっくり熱を冷ます。
- ⑥ スライドを抗原賦活化液から取り出し、PBSで洗浄する(洗浄用容器を2度かえ3分間の洗浄操作を3回繰り返すか、または洗浄びんを使用する)。

[染色手順] <ヒストファイン シンプルステインMAX-PO(M)使用の場合>

- | | | | |
|----------------------------|-----------------------|---|-------|
| 4. 内因性ペルオキシダーゼの除去 | 10~15分間/常温 | → | PBS洗浄 |
| 5. 第一抗体の添加・反応 | 30分~1時間/常温 | → | PBS洗浄 |
| 6. シンプルステインMAX-PO(M)の添加・反応 | 30分間/常温 | → | PBS洗浄 |
| 7. 基質溶液の添加・反応 | DAB発色 | → | 水洗 |
| 8. 対比染色 | 核染(ヘマトキシリン) → 封入 → 乾燥 | → | 検鏡 |

■注意

- ・「PBS洗浄」は5分間ずつ容器を2度かえるか、または洗浄びんを使用する。
- ・抗原賦活化液
「抗原賦活化液pH9」の調製方法

- | |
|---|
| ・ Code : 415201 抗原賦活化液pH9 (調製済)は、そのまま用いる。 |
| ・ Code : 415211 抗原賦活化液pH9 (10倍濃縮)は、精製水で10倍希釈する。 |

■参考: ヒストファイン 抗原賦活化液pH9 (Code:415201またはCode:415211)を用いたオートクレーブ処理を用いる場合(おもて面の■参考参照)
前処理(抗原賦活化): オートクレーブ処理

- ①調製した抗原賦活化液(上記記載)を耐熱性の染色バットに入れ、スライドを浸漬させる。
 - ②染色バットに蓋をする。蓋が取れないように輪ゴムでとめる。
 - ③120℃、20分間オートクレーブ処理する。
 - ④圧力が十分下がった後、染色バッドをオートクレーブから取り出し、蓋をはずす。スライドを浸したまま常温(15-25℃)で20分間放置しゆっくり熱を冷ます。
- ※オートクレーブ処理後は、染色バットおよび抗原賦活化液等が高温になっている。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。
- ⑤スライドを抗原賦活化液から取り出し、PBSで洗浄する(洗浄用容器を2度かえ3分間の洗浄操作を3回繰り返すか、または洗浄びんを使用する)。