

VECTASTAIN *Elite* ABC Kit 図解操作マニュアル



VECTASTAIN *Elite* ABC Kit を用いたパラフィン包埋切片染色法

※特に指定のない限り、操作は常温（20～25℃）で行って下さい。

※図中の製品の的外観は実際のものとは異なります。

共1～共6…別紙共通操作参照

オ1～オ5…別紙オプション操作参照

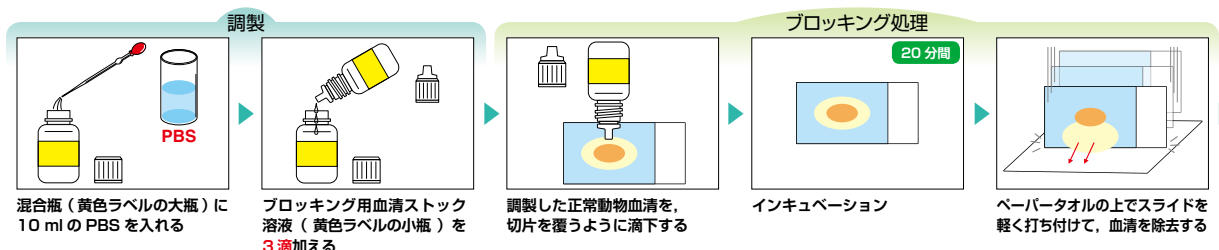
ステップ1 切片の前処理 [別紙参照]



ステップ2 正常動物血清の調製/ブロッキング処理

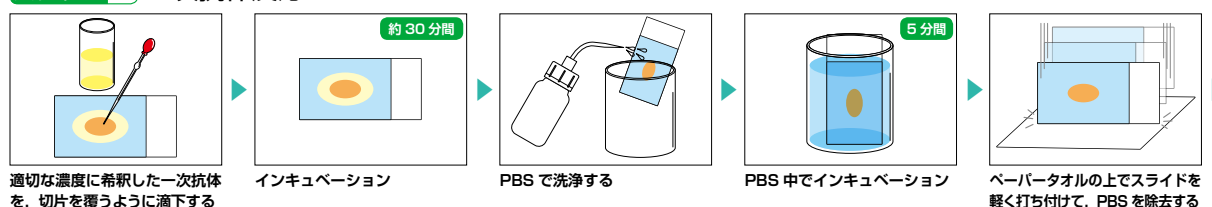
※血清は二次抗体を作製した動物（免疫動物）と同じ動物種の正常血清を用います。

※PBSの調製方法は共4をご覧ください。

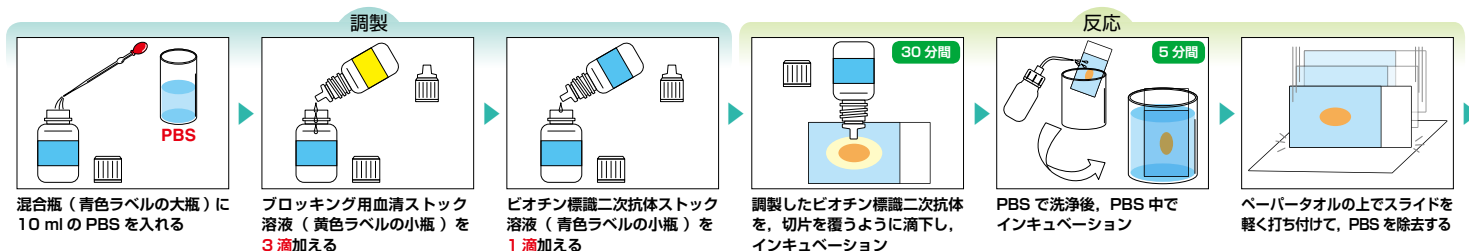


ステップ3 一次抗体反応

※抗体の希釈濃度、使用するバッファー、反応時間については、製品のプロトコルをご覧ください。

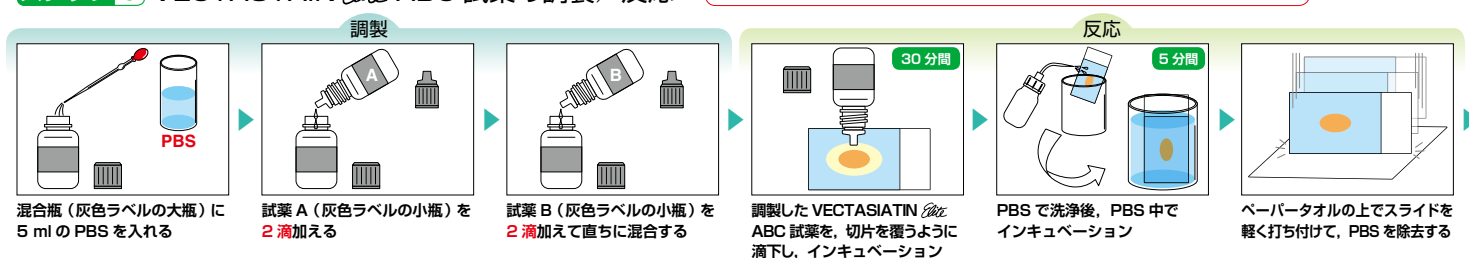


ステップ4 ビオチン標識二次抗体の調製/反応



ステップ5 VECTASTAIN *Elite* ABC 試薬の調製/反応

VECTASTAIN *Elite* ABC 試薬の調製は、使用する30分前に行って下さい。

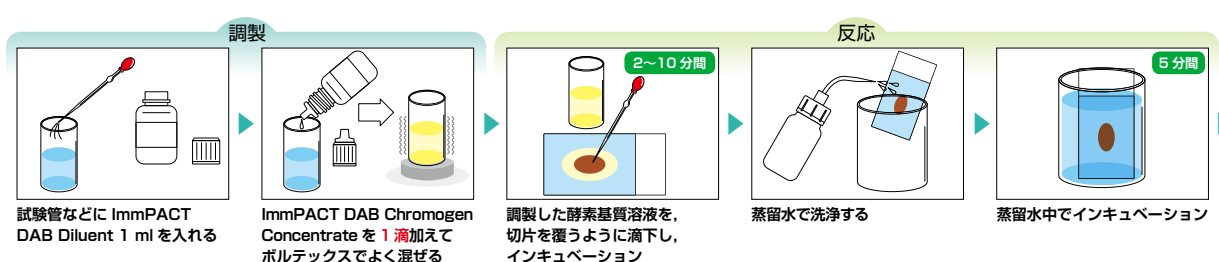


ステップ6 酵素基質溶液 ImmPACT DAB の調製/反応

※酵素基質は VECTASTAIN *Elite* ABC Kit には含まれておりません。別途ご用意下さい。

※詳細はペルオキシダーゼ基質キット図解操作マニュアルをご覧ください。

※以下は ImmPACT DAB（# SK-4105）の調製方法です。



ステップ7 切片の後処理 [別紙参照]



パラフィン包埋切片染色法 共通操作

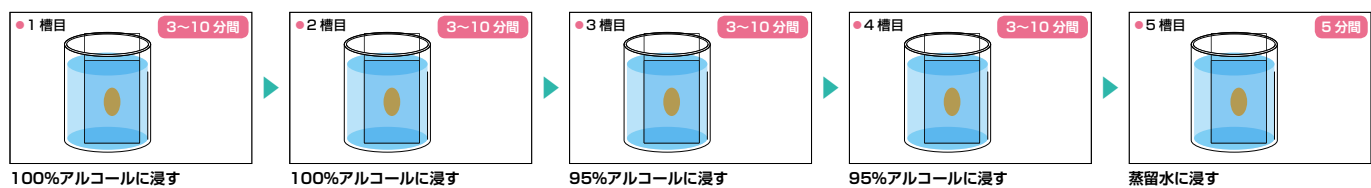
共 1 脱パラフィン

- ※キシレンまたはキシレン代替品で脱パラフィン化します。
- ※キシレン代替品の場合は製品のプロトコルに従って下さい。
- ※脱パラフィンには様々な方法があります。以下の処理時間は一例です。



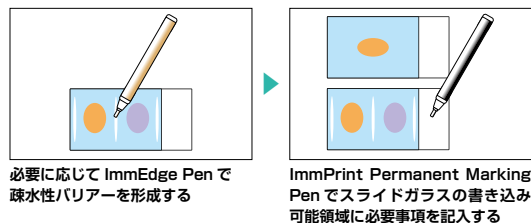
共 2 水和／洗浄

- ※アルコール濃度を段階的に下げて水和します。
- ※水和には様々な方法があります。以下の処理濃度および時間は一例です。



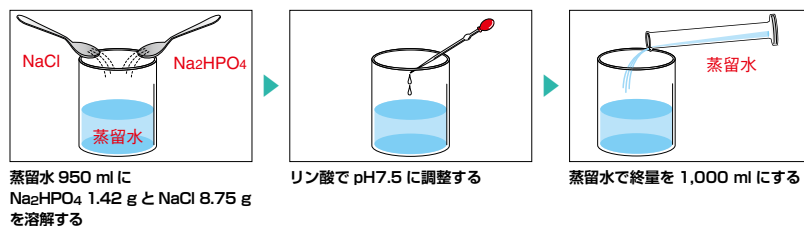
共 3 疎水性バリアー形成／スライドガラスのマーキング

- ※同スライドガラス上で二種類の切片を染色する場合、ImmEdge Pen (# H-4000) で境界線を作ることで、染色液等の混入を防ぐことができます。
- ※スライドガラスのマーキングには ImmPrint Permanent Marking Pen (# H-6100) をご使用下さい。



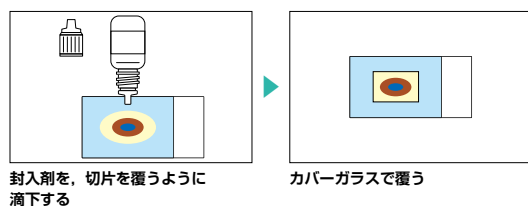
共 4 PBS の調製方法

- ※以下の調製方法は一例です。



共 5 封入

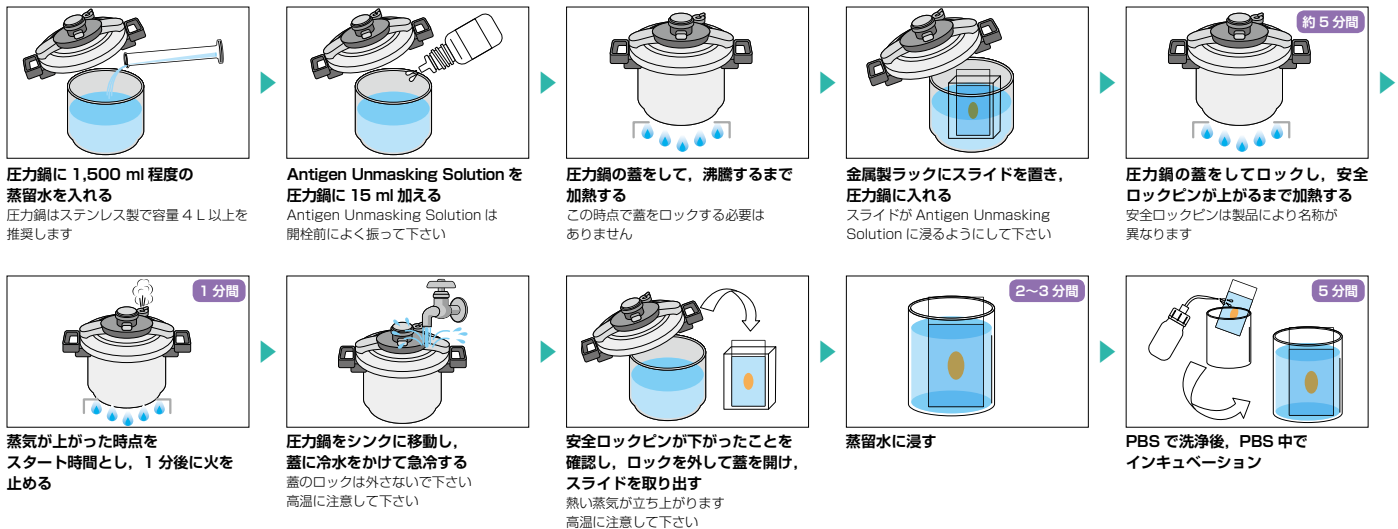
- ※永久封入をする場合は、**オ4** 脱水、**オ5** 透徹の処理を先に行ってください。
- ※永久封入をする場合は、非水溶性封入剤 VectaMount Permanent Mounting Medium (# H-5000) をご使用下さい。
- ※水溶性封入剤 VectaMount AQ Aqueous Mounting Medium (# H-5501) も使用方法は同じですが、永久封入はできません (約 1 年間保存可能)。
- ※ImmPACT DAB (# SK-4105)、VECTOR SG (# SK-4700) は非水溶性／水溶性封入剤のいずれも使用可能です。
- ※AEC (# SK-4200) は水溶性封入剤でのみ封入できます。



パラフィン包埋切片染色法 オプション操作

オ1 抗原賦活化処理

※抗原や抗体の性質により、必要に応じて抗原賦活化処理を行います。
 ※抗原賦活化処理には様々な方法があります。以下の方法は一例です。
 ※以下は Antigen Unmasking Solution (# H-3300, # H-3301) の使用例です。圧力鍋以外的高温賦活化方法にも対応しています。



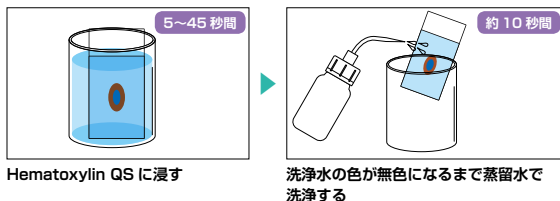
オ2 内在性酵素のブロッキング処理

※内在性酵素（ペルオキシダーゼ）の影響が考えられる組織の場合は、ブロッキング処理を行います。
 ※ブロッキング処理には様々な方法があります。以下の方法は一例です。
 詳細は『 VECTASTAIN ABC システム実験マニュアル（第 6 版）』p.52 をご覧下さい。



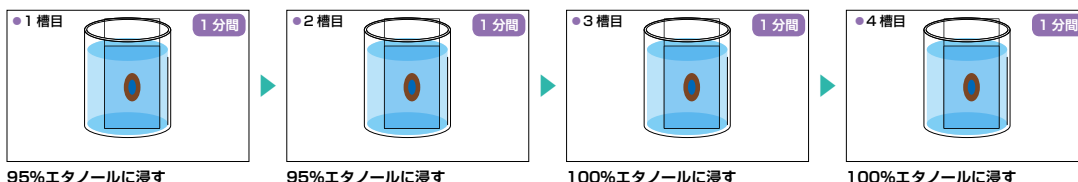
オ3 対比染色

※様々な対比染色（核染色）液があります。必要に応じて行って下さい。
 ※詳細は各対比染色液のプロトコルおよび『 VECTASTAIN ABC システム実験マニュアル（第 6 版）』p.94 をご覧下さい。
 ※以下は VECTOR Hematoxylin QS (# H-3404) の使用例です。



オ4 脱水処理

※非水溶性封入剤で封入する場合は、脱水およびオ5の透徹処理を行って下さい。水溶性封入剤の場合は不要です。
 ※以下は ImmPACT DAB (# SK-4105), DAB (# SK-4100), TMB (# SK-4400), VECTOR VIP (# SK-4600), VECTOR SG (# SK-4700) 用の脱水方法の一例です。
 ※各処理時間は切片の厚みに応じて、15 秒~3 分の間で調節して下さい。
 ※VECTOR NovaRED (# SK-4800) を使用する場合は、それぞれ 2 分間ずつ行って下さい。



オ5 透徹処理

※オ4脱水処理に引き続いて行います。
 ※各処理時間は切片の厚みに応じて、3 ~ 5 分の間で調節して下さい。

