

図解操作マニュアル

VECTOR LABORATORIES 社

VECTASTAIN Elite ABC Kit 図解操作マニュアル [Web ページ番号 : 138]



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

※本マニュアルでは、別売のドロップパーボトル3本 (#MXB-3100) を試薬調製用混合瓶として使用した例を示しています。ドロップパーボトルを用いない場合は、15 ml チューブなどで調製し、ピペットで切片に滴下して下さい。
※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異なります。

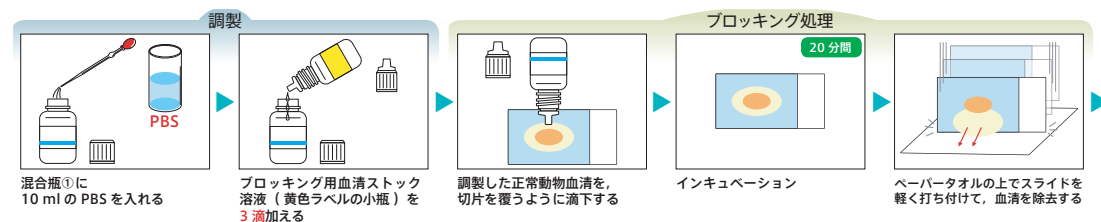
オ1~オ5...オプション操作参照

ステップ1 切片の前処理



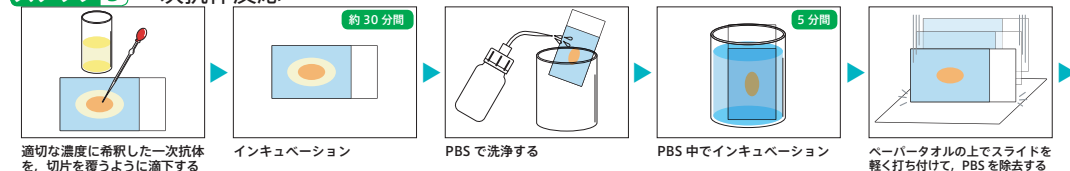
ステップ2 正常動物血清の調製/ブロッキング処理

※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 をご覧下さい。

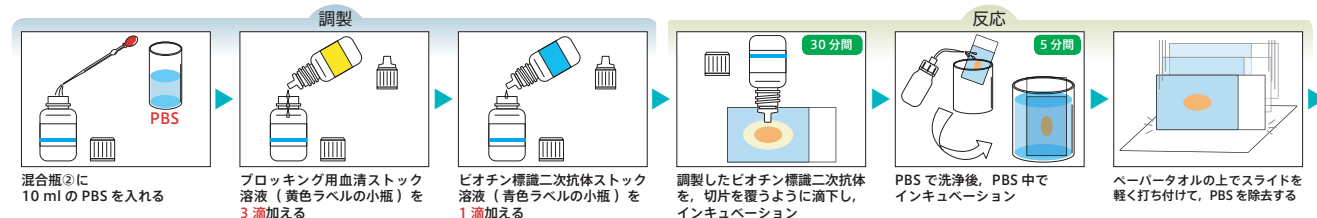


ステップ3 一次抗体反応

※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。

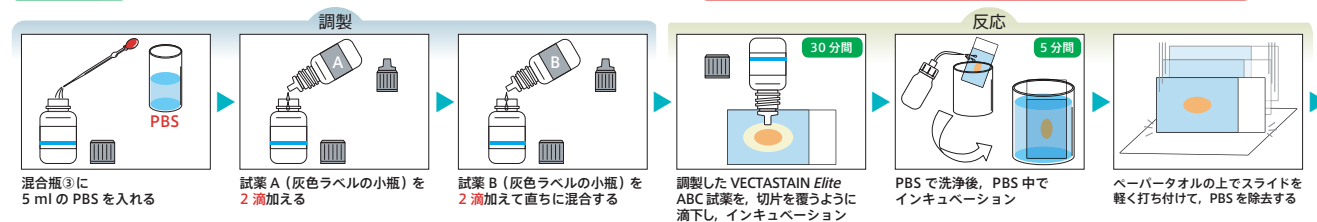


ステップ4 ビオチン標識二次抗体の調製/反応



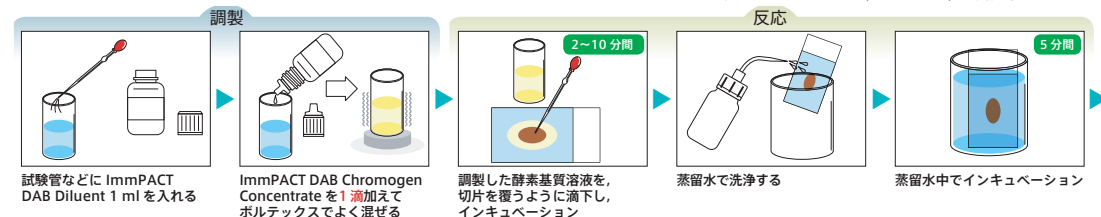
ステップ5 VECTASTAIN Elite ABC 試薬の調製/反応

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

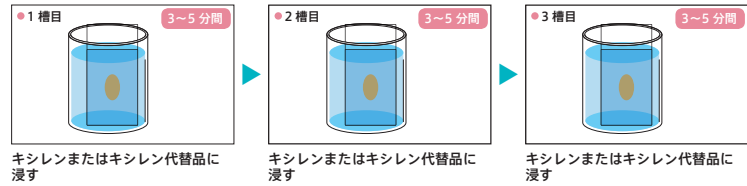


共通操作

パラフィン包埋切片染色法

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。右記の処理時間は一例です。



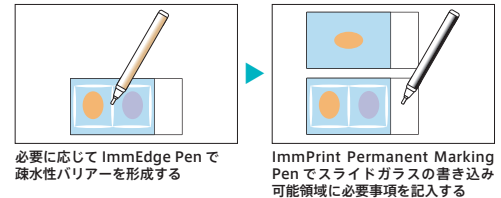
共 2 水和／洗浄

- ※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。



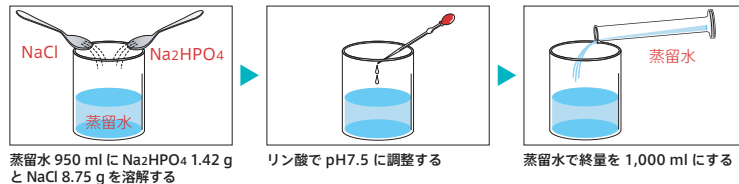
共 3 疎水性バリアー形成／スライドガラスのマーキング

- ※同一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

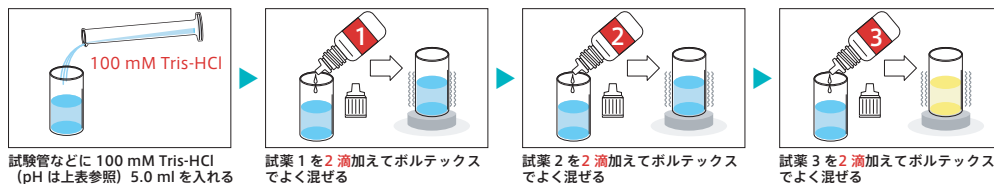
- ※右記の調製方法は一例です。



共 5 酵素基質溶液の調製方法

100 mM Tris-HCl の推奨 pH は基質の種類により異なります。下表をご確認の上、調製して下さい。

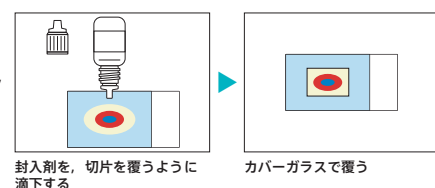
基質	呈色	100 mM Tris-HCl の推奨 pH	封入剤	キャップの色	ラベルの色	商品コード
I (VECTOR Red)	赤	8.2 ~ 8.5	非水溶性／水溶性	白	赤	SK-5100
II (VECTOR Black)	茶／黒	9.5	非水溶性	茶	茶	SK-5200
III (VECTOR Blue)	青	8.2	非水溶性／水溶性	青	青	SK-5300
IV (BCIP/NBT)	青／紫	9.5	非水溶性／水溶性	紫	紫	SK-5400



- ※左記のキャップ／ラベルの色は VECTOR Red (# SK-5100) のイメージ色です。

共 6 封入

- ※永久封入をする場合は、2-4 脱水、2-5 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、非水溶性封入剤をご使用下さい。
- ※水溶性封入剤も使用方法は同じですが、永久封入はできません。
- ※ImmPACT DAB (# SK-4105), VECTOR SG (# SK-4700), VECTOR Red (# SK-5100), VECTOR Blue (# SK-5300), BCIP/NBT (# SK-5400) は非水溶性／水溶性封入剤のいずれも使用可能です。
- ※VECTOR Black (# SK-5200) は非水溶性封入剤でのみ封入できます。
- ※AEC (# SK-4200) は水溶性封入剤でのみ封入できます。

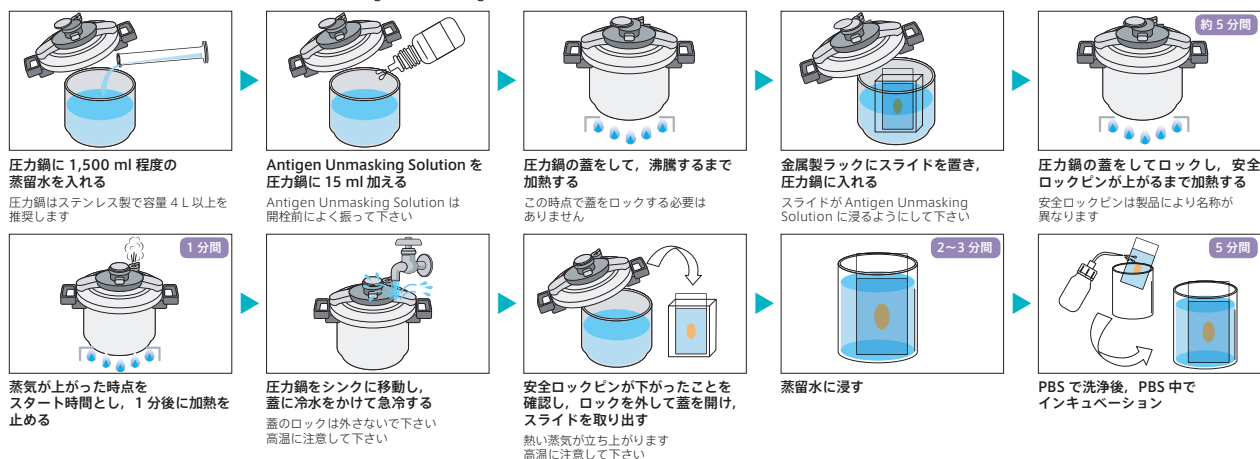


オプション操作

パラフィン包埋切片染色法

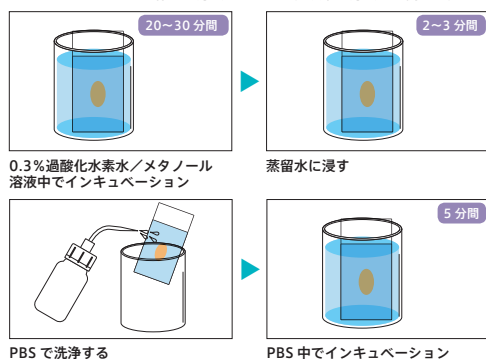
オ1 抗原賦活化処理

※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。圧力鍋以外の高温賦活化方法にも対応しています。



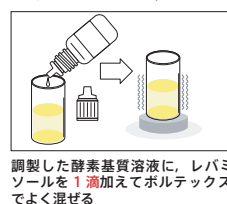
オ2 内在性酵素POのブロッキング処理

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
※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。



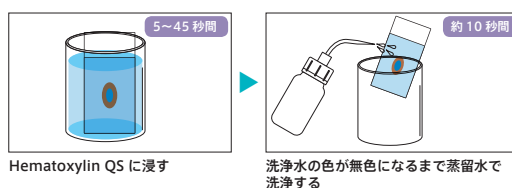
内在性酵素APのブロッキング処理

内在性酵素（アルカリホスファターゼ）の影響が考えられる組織の場合
※以下は Levamisole (# SP-5000) の使用例です。



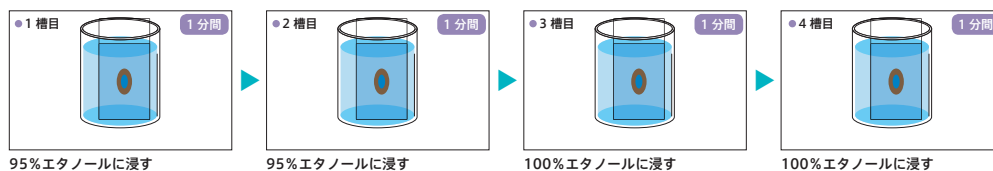
オ3 対比染色

※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をご覧ください。
※右図は VECTOR Hematoxylin QS (# H-3404) の使用例です。



オ4 脱水処理

※非水溶性封入剤に封入する場合は、脱水および 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), VECTOR 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

※5 の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 分間で調節して下さい。

