

## ImmPRESS Reagent 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。  
 ※図中の製品の外觀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

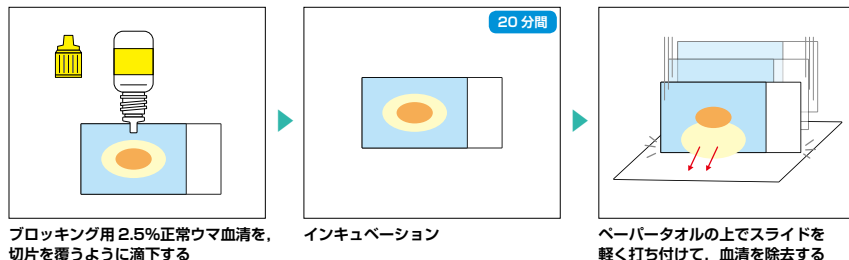
オ1～オ5…別紙オプション操作参照

### ステップ1 切片の前処理 [別紙参照]



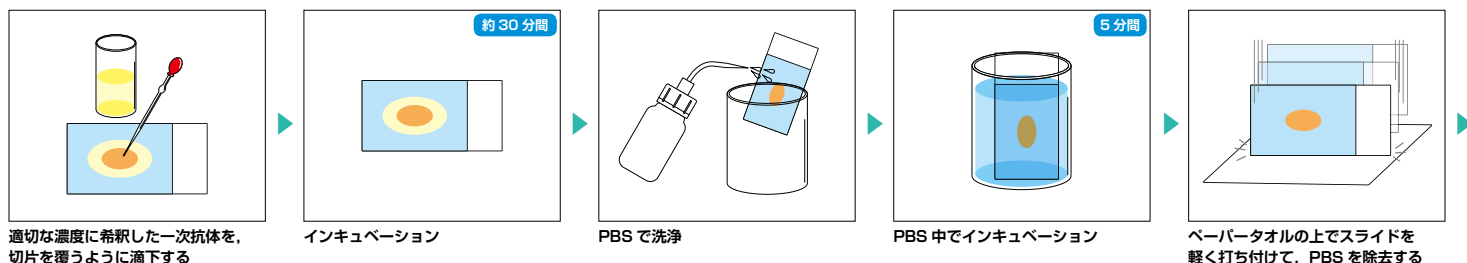
### ステップ2 正常動物血清によるブロッキング処理

※ブロッキング用 2.5%正常ウマ血清は希釈の必要はありませんので、そのままご使用下さい。



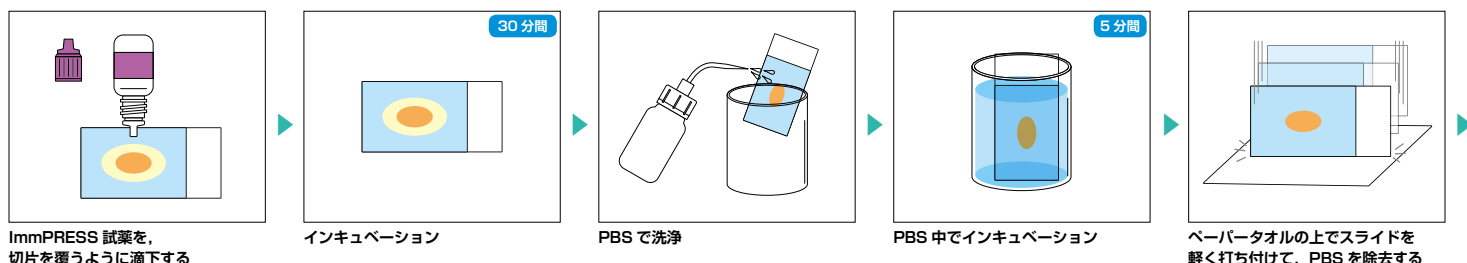
### ステップ3 一次抗体反応

※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。  
 ※PBSの調製方法は共4をご覧ください。



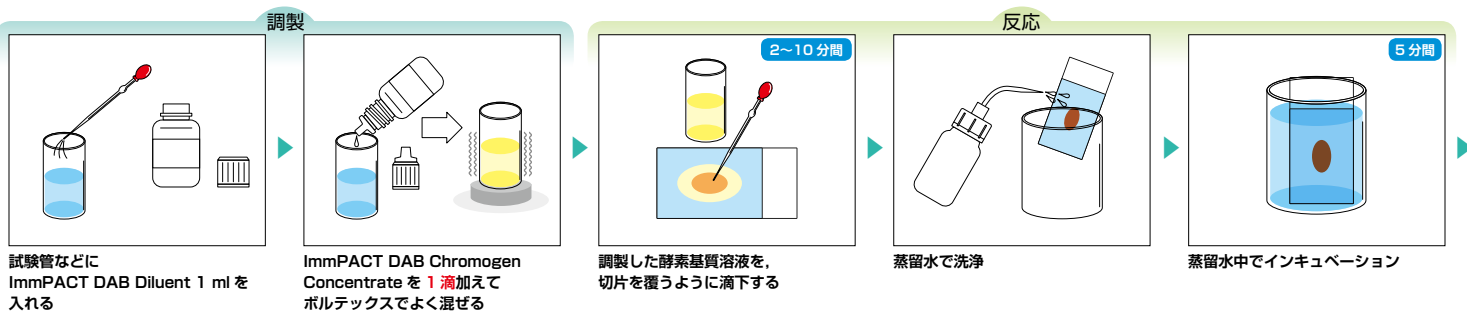
### ステップ4 ImmPRESS 試薬反応

※ImmPRESS 試薬は希釈の必要はありませんので、そのままご使用下さい。



### ステップ5 酵素基質溶液 ImmPACT DAB の調製/反応

※酵素基質はImmPRESS Reagentには含まれておりません。別途ご用意下さい。  
 ※詳細は「VECTASTAIN ABC システム実験マニュアル（第6版）」または各酵素基質のプロトコルをご覧ください。  
 ※以下はImmPACT DAB（# SK-4105）の調製方法です。DAB（# SK-4100）については共5をご覧ください。



### ステップ6 切片の後処理 [別紙参照]



# 図解操作マニュアル [別紙]

## 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。



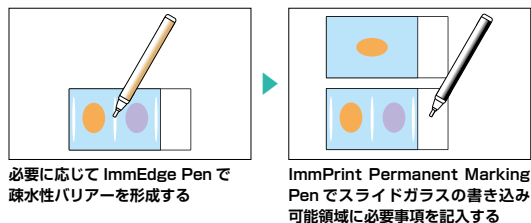
### 共 2 水和 / 洗浄

※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により、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。



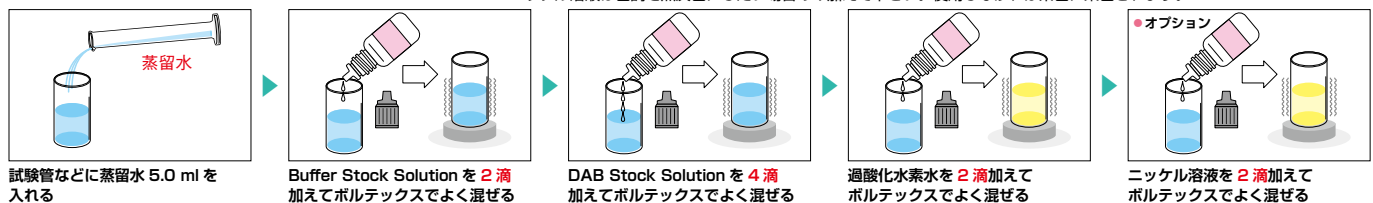
### 共 4 PBS の調製方法

※以下の調製方法は一例です。



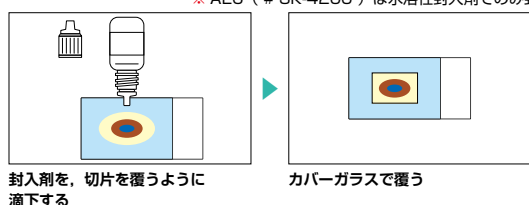
### 共 5 酵素基質溶液 DAB の調製方法

※以下は DAB ( # SK-4100 ) の調製方法です。  
 その他の酵素基質の調製方法は「VECTASTAIN ABC システム実験マニュアル ( 第 6 版 )」または各プロトコルをご覧ください。  
 ※ニッケル溶液は色調を黒灰色にしたい場合のみ加えて下さい。使用しなければ茶色に染色されます。



### 共 6 封入

※永久封入をする場合は、②4 脱水、②5 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。

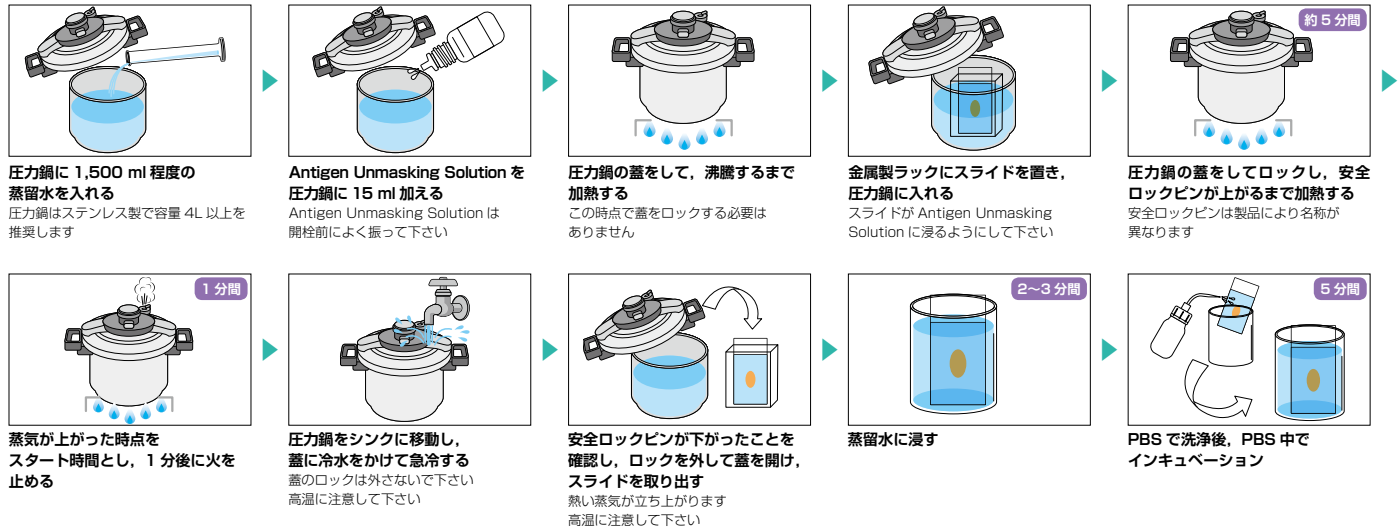


# 図解操作マニュアル [別紙]

## 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。圧力鍋以外の高温賦活化方法にも対応しています。



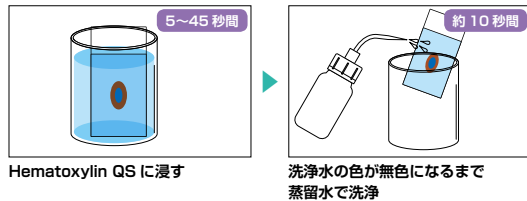
### オ2 内在性酵素のブロッキング処理

- ※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。



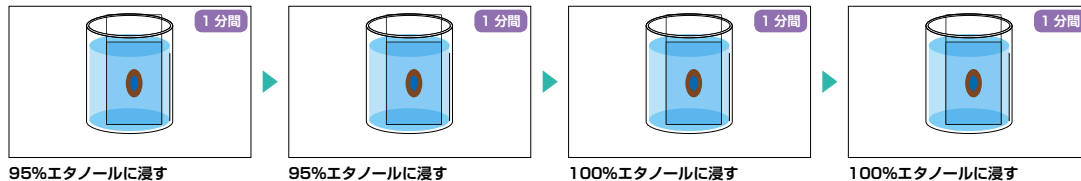
### オ3 対比染色

- ※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 分の間で調節して下さい。

