

Anti-HLA class I (HLA-A,B,C) (Human) mAb 染色プロトコール

1. 材料

1.1 試薬

1) 一次抗体

Anti-HLA class I (HLA-A,B,C) (Human) mAb (Clone : EMR-8-5.1)

(MBL; Code No. D370-3H, Lot No. 001)

2) 陰性コントロール抗体

Mouse IgG1 Negative Control (Dako; Code No. X0931, Lot No. 20032923)

3) 検出キット

Bond Polymer Refine Detection (Leica; Code No. DS9800, Lot No. 60366)

<キット構成品>

内因性 POD ブロッキング試薬、ポストプライマリー試薬、ポリマー試薬、発色基質、
基質緩衝液、対比染色試薬

4) その他試薬

- Bond Dewax Solution (Leica; Code No. AR9222)
- Bond Epitope Retrieval Solution 1 (Leica; Code No. AR9961)
クエン酸を主成分とした酸性 (pH 6.0) の抗原賦活化液
- Bond Epitope Retrieval Solution 2 (Leica; Code No. AR9640)
EDTA を主成分としたアルカリ性 (pH 9.0) の抗原賦活化液
- Bond Wash Solution 10x Concentrate (Bond RX 用) (Leica; Code No. AR9590)

1.2 病理組織標本作製材料

- 1) 検体種 : パラフィンブロック
- 2) 臓器名 (ヒト) : 乳癌、腎臓癌、大腸癌 各1検体
- 3) 固定方法 : 10% 中性緩衝ホルマリン

2. 染色方法

Step	Vol (μL)	Name	Temperature	Time	Count
BAKING			60°C	0:30:00	
DEWAX					
Wash Slide		Bond Wash Solution			3
PEROXIDASE BLOCK					
Apply Reagent	150	Peroxidase Block			
Incubate Slide			RT	0:05:00	
Wash Slide		Bond Wash Solution			3
Antigen Retrieval					
Apply Reagent	150	BOND Epitope Retrieval Solution			
Apply Reagent	150	BOND Epitope Retrieval Solution			
Apply Reagent	150	BOND Epitope Retrieval Solution			
Apply Reagent	150	BOND Epitope Retrieval Solution			
Incubate Slide			100°C	0:20:00	
Wash Slide		Bond Wash Solution			4
Wash Slide		Bond Wash Solution		0:03:00	2
ANTIBODY					
Apply Reagent	150	Anti-HLA class I (HLA-A,B,C) (Human) mAb			
Incubate Slide			RT	0:15:00	
Wash Slide		Bond Wash Solution			3
Post Primary antibody					
Apply Reagent	150	Post Primary antibody			
Incubate Slide			RT	0:08:00	
Wash Slide		Bond Wash Solution		0:02:00	3
POLYMER HRP					
Apply Reagent	150	Polymer-HRP			
Incubate Slide			RT	0:08:00	
Wash Slide		Bond Wash Solution		0:02:00	2
Wash Slide		Deionized Water			1
DAB Working					
Apply Reagent	150	DAB Solution			
Apply Reagent	150	DAB Solution			
Incubate Slide			RT	0:10:00	
Wash Slide		Deionized Water			3
HEMATOXYLIN					
Apply Reagent	150	Hematoxylin			
Incubate Slide			RT	0:05:00	
Wash Slide		Deionized Water			1
Wash Slide		Bond Wash Solution			1
Wash Slide		Deionized Water			1

以上