

病理組織検査 (3)

免疫染色

医学研究科附属総合解剖センター

医学博士 戸田 好信

Yoshinobu Toda Ph.D.

免疫染色

染色手順

1. 脱パラフィン

- | | |
|-------------------------|-----|
| (1) キシレン・Ⅰ | 5分間 |
| (2) キシレン・Ⅱ | 5分間 |
| (3) キシレン・Ⅲ | 5分間 |
| (4) 100%エタノール | 2分間 |
| (5) 100%エタノール | 2分間 |
| (6) 90%エタノール | 2分間 |
| (7) 70%エタノール | 2分間 |
| (8) 水洗 | 2分間 |
| (9) PAPペンで組織の輪郭をなぞる。PBS | |

2. 内因性ペルオキシダーゼ処理20分

0. 3%過酸化水素水／メタノール：

メタノール（100ml）＋30%過酸化水素水
（1ml）

3.洗淨

(1) 蒸留水 2分間, 2回交換

(2) PBS洗淨 3分間, 3回交換

4.ブロッキング血清20分間

5.一次抗体の反応 4℃, 4/ON

1次抗体

A：全班

B-1：1.2.3.班

B-2：4.5.6.班

B3：7.8.班

Rabbit polyclonal 抗体

Negative control

Desmin

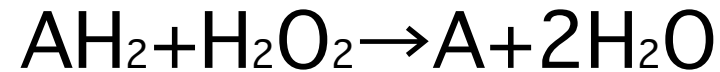
Factor8

Keratin

S-100

- | | | |
|-------------------|-------------|-----|
| 6.PBS洗淨 | (3分間, 4回交換) | |
| 7.ビオチン標識抗 * IgG抗体 | | 30分 |
| 8.PBS洗淨 | (3分間, 4回交換) | |
| 9.HRP標識ストレプトアビジン | | 30分 |
| 10.PBS洗淨 | (3分間, 4回交換) | |

11.DAB発色 顕微鏡で確認しながら



水素供与体

POD

12.PBS洗浄 浸すだけでよい

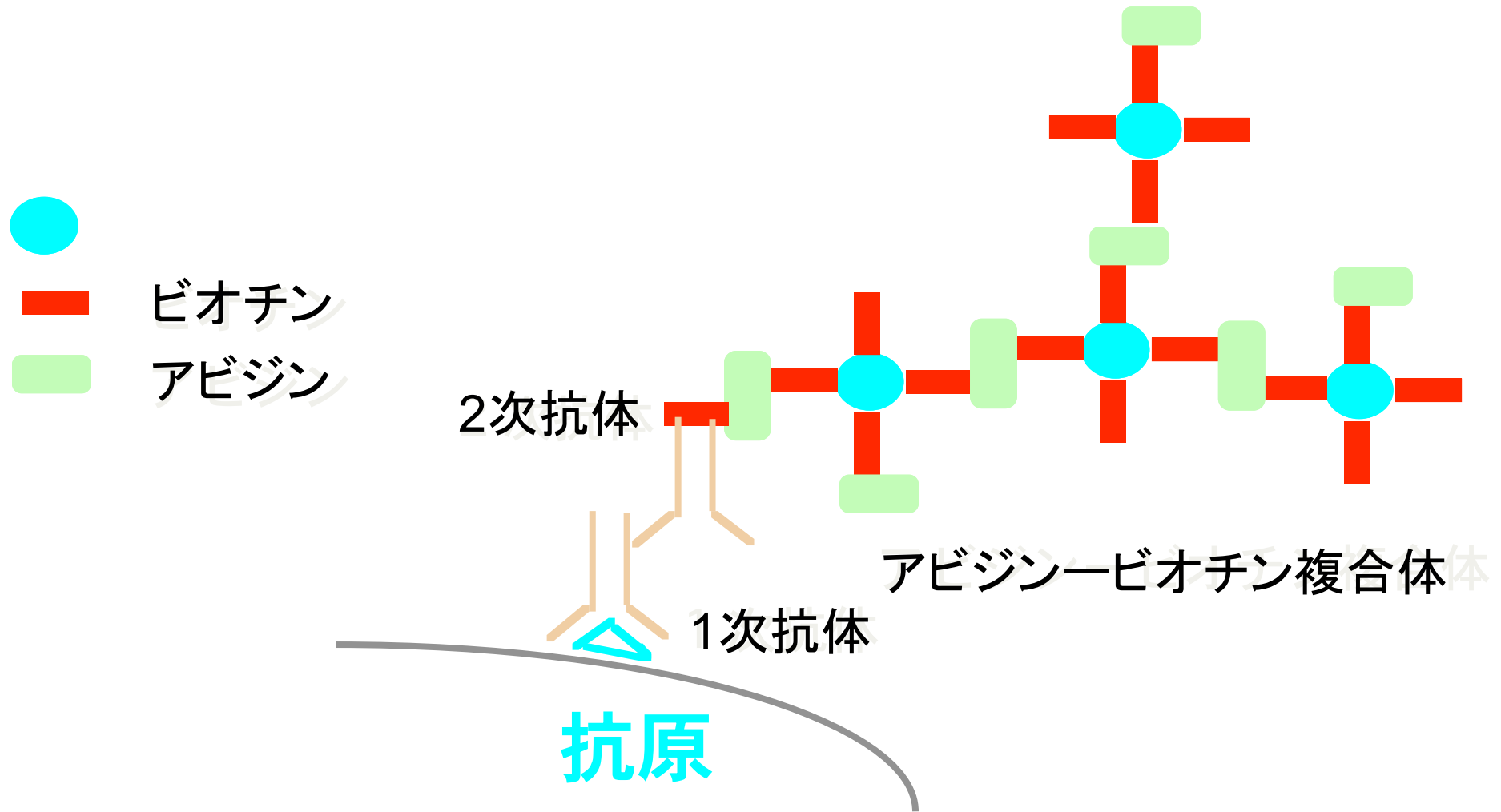
13.水洗 1分間

14.ヘマトキシリン 1分間

15.水洗

16.脱水／封入／鏡検

ABC system

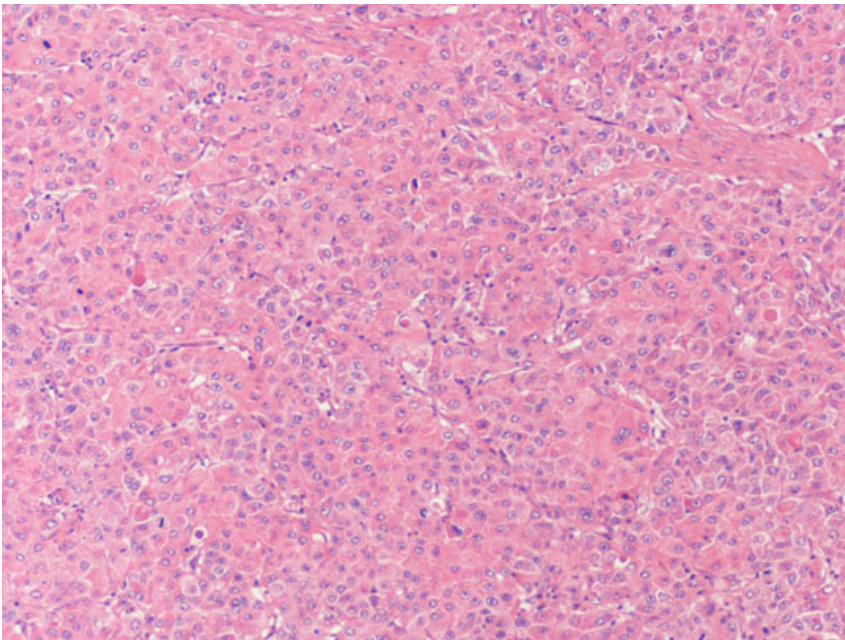


染色に際しての注意点

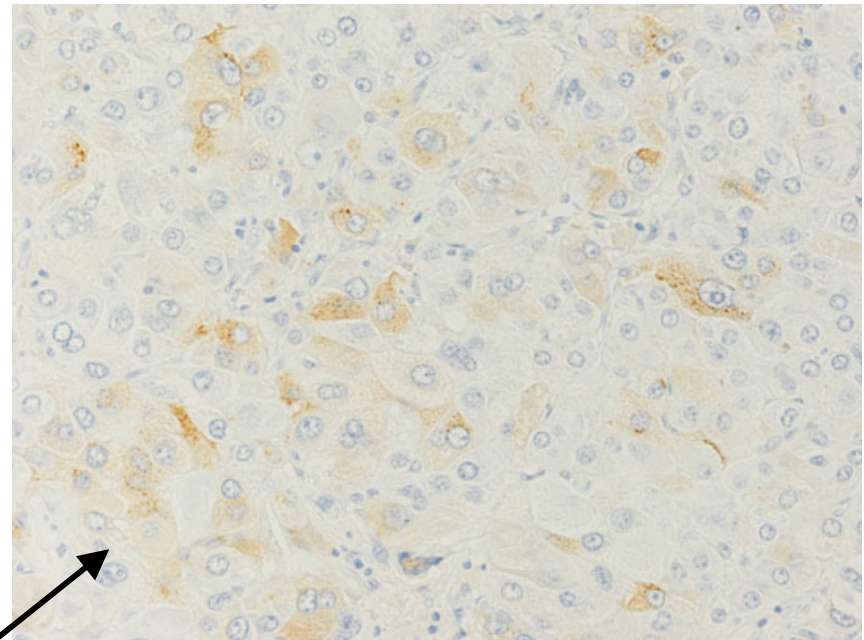
- ・パラフィンが残っているとバックグラウンド染色が強くなるので、脱パラフィンは十分に行う。
- ・染色中は切片を乾燥させない。
- ・使用する抗体は、そのつど確認しながら行う。
- ・包埋のパラフィン温度は上げすぎないように。
- ・洗浄用PBSは4℃に冷やしておく。

肝細胞癌の肝組織

HE標本



免疫染色標本



HE標本ではどの組織の腫瘍か判別しにくいですが、免疫染色を行うと肝細胞癌に特有のタンパクを証明することにより原発巣が明らかになる(茶色の部位)