

**免疫組織染色手順** (前処理なし)

1. 脱パラフィン 30 分
2. 脱キシレン
3. 内因性ペルオキシダーゼ処理：メタノール中 0.3 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 溶液 室温 30 分
4. 80 % エタノール→70 % エタノール→60 % エタノール→流水洗浄 1 分
5. TBS-T にて軽くリンス洗浄
6. 正常血清ブロッキング処理：室温 30 分  
Goat Whole Serum (IBL #17301)を 5 %に希釈して使用 (※2 次抗体の動物血清を使用)
7. TBS-T にて軽くリンス洗浄
8. 1 次抗体反応：4 °C 一昼夜インキュベーション  
※組織の固定条件や用いる組織により反応条件が異なる場合がありますので、各施設での設定をおすすめ致します
9. TBS-T 洗浄 5 分×3 回
10. 2 次抗体反応：室温 30 分  
一次抗体がウサギポリクローナル抗体の場合：  
Anti-Rabbit IgG (H+L) Goat IgG-Biotin (IBL #17542) 10 µg/mL  
一次抗体がマウスモノクローナル抗体の場合：  
Anti-Mouse IgG (H+L) Goat IgG-Biotin (IBL#17641) 10 µg/mL
11. TBS-T 洗浄 5 分×3 回
12. ABC 試薬の反応：室温 30 分 (Vectastain ABC Kit, PEROXIDASE STANDARD PK-4000)
13. TBS-T 洗浄 5 分×3 回
14. 発色：室温 1 - 10 分  
(DAB "DOJINDO 349-00903" 30 mg, 30 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 25 µL/50 mM Tris-HCl, pH 7.6, 150 mL)
15. 流水洗浄 3 分
16. 核染色 (ヘマトキシリン)
17. 色出し 5 分
18. 脱水
19. 透徹
20. 封入