HISTOFINE

*2023年12月 改訂(第2版)
2019年 3月 作成

研究用試薬

ヒストファイン

第一抗体
抗α-フェトプロテインウサギモノクローナル抗体
（動物種：ウサギ）

包装：50 テスト（6mL）　　Code：418291

製造販売元
株式会社ニチレイバイオサイエンス
〒104-8402
東京都中央区築地 6-19-20
TEL. 03(3248)2208 FAX. 03(3248)2243

■**特異性及び抗原分布**：ヒトα-フェトプロテイン(AFP)と特異的に反応する。AFPはヒト胎児期の肝臓及び卵黄嚢で生成される糖タンパク質である[4]。成人の正常血清及び正常肝臓組織では検出されない[4][7]。腫瘍では、肝細胞癌[5][7]、肝様腺癌[6][8]、卵黄嚢腫瘍(Yolk Sac腫瘍)[1]~[3]、胎芽性癌[1][3]、セルトリ・ライディッヒ細胞腫[9]などの腫瘍において免疫染色による反応がみられる。肝細胞癌[5][7]・肝様腺癌[6][8]・卵黄嚢腫瘍[1]~[3]の区別に有用である。
■ **クローン名**：EP209
■ **抗体のクラス/サブクラス**：ウサギ IgG
■ **免疫原**：ヒト AFP 全長リコンビナントタンパク質
■ **製法**：培養上清より得ている。

1. 内容
第一抗体・・・抗α-フェトプロテインウサギモノクローナル抗体(動物種：ウサギ)。
液状。
ウシ血清アルブミン(BSA)と、0.1%アジ化ナトリウムを含むリン酸緩衝生理食塩水(PBS)中にて、即時使用可能な抗体濃度に希釈済み。
1 バイアル中に 6mL を含む。

*2. 使用目的
組織・細胞中のα-フェトプロテインの染色。
ホルマリン固定パラフィン包埋切片の免疫染色に使用できる。
研究用としてのみ使用すること。

*3. 使用方法
組織切片の場合、前処理(抗原賦活化)としてヒストファイン　抗原賦活化液 pH9 (Code:415201 又は Code:415211)を用いたオートクレーブ処理が必要である(裏面の■**操作手順**参照)。
スライド上の組織切片が完全に覆われるように第一抗体を 2 滴(100μL)滴下し、常温(15－25℃)で 30 分～1 時間インキュベートする。この反応時間は、ヒストファイン　シンプルステインMAX-PO(R)を使用する場合の目安であり、他のキットを使用する場合は、研究者自身が至適反応時間を調べる必要がある。
■**参考**：組織の固定条件等により前処理(抗原賦活化)としてヒストファイン　抗原賦活化液pH9(Code:415201またはCode:415211) を用いた温浴処理で良好な染色結果が得られる場合がある。(裏面の■**参考**　参照)
■組織の固定状況等が染色結果に影響を及ぼすため学会等が推奨する固定液や固定時間を遵守し、検体の取扱いには十分注意すること。染色条件を変更することで良好な染色結果が得られる場合があるが、組織へのダメージや偽陽性化、偽陰性化が起こるおそれがあるため、研究者自身の責任において至適条件をよく検討すること。

4. 貯法及び使用上の注意
1. 2－8℃保存。
2. 使用期限はラベルに記載されているので使用前に確認すること。
3. 使用前に室温に戻すこと。
4. 使用後は速やかに冷蔵保存すること。
5. 異なるロットの試薬や他製品の試薬を混ぜたりしないこと。

5. 取扱い上(危険防止)の注意
1. 使用期限の過ぎた試薬は使用しないこと。
*2. 本品に関する化学物質の安全情報は安全データシート(SDS)を参照すること。
3. 本品を吸い込んだり、眼、口、皮膚、衣類などへの接触を避けること。
4. 本品の廃棄の際には、各施設や地域及び国のルールに従い、適切に廃棄すること。
5. 本品は、動物由来成分を含むので、取扱いに注意が必要である。
*6. 本品にはアジ化ナトリウムが含まれている。アジ化ナトリウムは水道管に含まれる銅、鉛との反応によって爆発の危険性があるので、多量の水とともに洗い流すこと。
*7. ヒト由来の検体は、感染の恐れがあるので適切な取扱い及び廃棄法を用いるとともに、免疫染色を実施するにあたって、関連技術及び操作法に充分習熟しておかなければならない。

6. 参考文献

(1) Furumoto M. Cellular localization of AFP, hCG and its free subunits, and SP1 in embryonal carcinoma of the testis and ovary. Pathol Res Pract. 1981 Dec;173(1-2):12-21.
(2) Harms D, et al. Germ cell tumours of childhood. Report of 170 cases including 59 pure and partial yolk-sac tumours. Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol. 1986;409(2):223-39.
(3) Niehans GA, et al. Immunohistochemistry of germ cell and trophoblastic neoplasms. Cancer. 1988 Sep 15;62(6):1113-23.
(4) Lazarevich NL. Molecular mechanisms of alpha-fetoprotein gene expression. Biochemistry (Mosc). 2000 Jan;65(1):117-33.
(5) Lau SK, et al. Comparative immunohistochemical profile of hepatocellular carcinoma, cholangiocarcinoma, and metastatic adenocarcinoma. Hum Pathol. 2002 Dec;33(12):1175-81.
(6) Terracciano LM, et al. Hepatoid adenocarcinoma with liver metastasis mimicking hepatocellular carcinoma: an immunohistochemical and molecular study of eight cases. Am J Surg Pathol. 2003 Oct;27(10):1302-12.
(7) Yusof YA, et al. Immunohistochemical expression of pi class glutathione S-transferase and alpha-fetoprotein in hepatocellular carcinoma and chronic liver disease. Anal Quant Cytol Histol. 2003 Dec;25(6):332-8.
(8) Su JS, et al. Clinicopathological characteristics in the differential diagnosis of hepatoid adenocarcinoma: a literature review. World J Gastroenterol. 2013 Jan 21;19(3):321-7.
(9) Liggins CA, et al. Sertoli-Leydig cell tumor of the ovary: A diagnostic dilemma. Gynecol Oncol Rep. 2016 Dec 24;15:16-9.

*免疫染色における操作手順及び前処理(抗原賦活化)

■ 操作手順

[切片の準備]

1. 50℃で十分に湯伸ばしした切片(3－4μm厚)をシランなどのコーティングスライド上に貼り付け、37℃の恒温器内で16時間以上乾燥させる。

[脱パラフィン]

2. 脱パラフィン　→　親水化　→　PBS

[抗原賦活化処理]

3. 前処理(抗原賦活化)：オートクレーブ処理
   ① 調製した抗原賦活化液(下記記載)を耐熱性の染色バットに入れ、スライドを浸漬させる。
   ② 染色バットに蓋をする。蓋が取れないように輪ゴムでとめる。
   ③ 120℃、20分間オートクレーブ処理する。
   ④ 圧力が十分下がった後、染色バットをオートクレーブから取り出し、蓋をはずす。スライドを浸したまま常温(15－25℃)で20分間放置しゆっくり熱を冷ます。
   ※オートクレーブ処理後は、染色バット及び抗原賦活化液等が高温になっている。これらを取り扱う際は、手袋等を使用して火傷に注意する。
   ⑤ スライドを抗原賦活化液から取り出し、PBSで洗浄する(洗浄用容器を2度かえ3分間の洗浄操作を3回繰り返すか、又は洗浄びんを使用する)。

[染色手順] ＜ヒストファイン シンプルステインMAX-PO(R)使用の場合＞

4.	内因性ペルオキシダーゼの除去		10～15分間／常温			→	PBS洗浄
5.	第一抗体の添加・反応		30分～1時間／常温			→	PBS洗浄
6.	シンプルステインMAX－PO(R)の添加・反応		30分間／常温			→	PBS洗浄
7.	基質溶液の添加・反応		DAB発色			→	水洗
8.	対比染色	核染(ヘマトキシリン) →	封入	→	乾燥	→	検鏡

■ 注意

・「PBS洗浄」は5分間ずつ容器を2度かえるか、又は洗浄びんを使用する。
・4.のプロセスは3.の前に行ってもよい。
・ヒストファインSABキットを使用する場合は上記1.～4.まで行いSABキットの操作方法に従って染色を行う。

・抗原賦活化液
「抗原賦活化液pH9」の調製方法

・Code：415201　抗原賦活化液pH9 (調製済)は、そのまま用いる。
・Code：415211　抗原賦活化液pH9 (10倍濃縮)は、精製水で10倍希釈する。

■参考：ヒストファイン 抗原賦活化液pH9 (Code:415201又はCode:415211)を用いた温浴処理を用いる場合
前処理(抗原賦活化)：温浴処理
①温浴槽をあらかじめ 95－99℃に温めておく。以下の操作を行うにあたり、手袋等を用いて高温による火傷に注意する。
②調製した抗原賦活化液(上記参照)を耐熱性の染色バットに入れ、ゆるく蓋をする。これを温浴槽に入れ、95－99℃に温める。
③抗原賦活化液の温度が 95－99℃に達したら、スライドを抗原賦活化液に浸漬させ、ゆるく蓋をする。
④抗原賦活化液の温度が再び95－99℃まで上昇したことを温度計で確認してから、40 分間、95－99℃でインキュベートする。
⑤染色バットを温浴槽から取り出し、蓋をはずす。スライドを浸したまま常温(15－25℃)で 20 分間放置しゆっくり熱を冷ます。
⑥スライドを抗原賦活化液から取り出し、PBSで洗浄する(洗浄用容器を2度かえ3分間の洗浄操作を3回繰り返すか、又は洗浄びんを使用する)