

研究用試薬

ヒストファイン

第一抗体

抗AMACRウサギモノクローナル抗体(13H4)

(動物種：ウサギ)

包装：50テスト(6mL)

Code：418431

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**：AMACR(Alpha-methylacyl-CoA racemase)タンパクと特異的に反応する。AMACR(別名:P504S)は染色体5p13上のAMACR遺伝子にコードされる382アミノ酸からなる酵素で、胆汁酸生合成と分岐鎖脂肪酸のβ酸化に関与する⁽¹⁾⁻⁽⁴⁾。正常では、肝細胞、胆嚢の粘膜上皮細胞、腎臓の尿管上皮細胞(近位及び遠位)、肺の気管支上皮細胞などの細胞質に反応がみられる⁽⁵⁾。腫瘍では、前立腺癌(82~100%)に反応がみられるほか⁽⁵⁾⁻⁽⁹⁾、腎細胞癌や肝細胞癌、大腸癌、尿路上皮癌、乳癌などにも反応がみられる⁽⁵⁾⁽⁶⁾。AMACRは正常前立腺にほとんど反応がみられないため、前立腺癌の陽性マーカーであることが示されている⁽⁵⁾⁽⁸⁾。しかしながら、AMACRは高悪性度前立腺上皮内腫瘍(high grade prostatic intraepithelial neoplasia: HGPIN)や異型腺腫様過形成(atypical adenomatous hyperplasia: AAH)に反応がみられることがあるため⁽²⁾⁽⁶⁾⁽⁸⁾、前立腺針生検のうち判別が困難な標本において、基底細胞に特異的なため前立腺癌の陰性マーカーとして知られているp63や高分子量サイトケラチン(34βE12)を同時に免疫組織化学染色に使用することは前立腺癌の判別補助に有用であると報告されている⁽²⁾⁽⁶⁾⁽⁸⁾⁽⁹⁾。

■**クローン名**：13H4■**抗体のクラス/サブクラス**：ウサギIgG■**免疫原**：ヒトAMACRの合成ペプチド■**製法**：培養上清より精製して得ている。

1. 内容

第一抗体・・・抗AMACRウサギモノクローナル抗体(13H4)(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AMACRタンパクの染色。

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 抗原賦活性化液pH9 (Code:415201又はCode:415211)を用いた温浴処理が必要である(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。

■**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

- 2-8℃保存。
- 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。
- 使用前に室温に戻すこと。
- 使用後は速やかに冷蔵保存すること。
- 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

- 使用期限の過ぎた試薬は使用しないこと。
- 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。
- 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。
- 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。
- 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。
- 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。
- 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) Xu J, et al. Identification of differentially expressed genes in human prostate cancer using subtraction and microarray. *Cancer Res.* 2000 Mar 15;60(6):1677-82.
- (2) Evans AJ. Alpha-methylacyl CoA racemase (P504S): overview and potential uses in diagnostic pathology as applied to prostate needle biopsies. *J Clin Pathol.* 2003 Dec;56(12):892-7.
- (3) Ferdinandusse S, et al. Subcellular localization and physiological role of alpha-methylacyl-CoA racemase. *J Lipid Res.* 2000 Nov;41(11):1890-6.
- (4) Ferdinandusse S, et al. Peroxisomes and bile acid biosynthesis. *Biochim Biophys Acta.* 2006 Dec;1763(12):1427-40.
- (5) Jiang Z, et al. Expression of alpha-methylacyl-CoA racemase (P504s) in various malignant neoplasms and normal tissues: a study of 761 cases. *Hum Pathol.* 2003 Aug;34(8):792-6.
- (6) Jiang Z, et al. Discovery and clinical application of a novel prostate cancer marker: alpha-methylacyl CoA racemase (P504S). *Am J Clin Pathol.* 2004 Aug;122(2):275-89.
- (7) Beach R, et al. P504S immunohistochemical detection in 405 prostatic specimens including 376 18-gauge needle biopsies. *Am J Surg Pathol.* 2002 Dec;26(12):1588-96.
- (8) Rathod SG, et al. Diagnostic utility of triple antibody (AMACR, HMWCK and P63) stain in prostate neoplasm. *J Family Med Prim Care.* 2019 Aug 28;8(8):2651-2655.
- (9) Rubin MA, et al. alpha-Methylacyl coenzyme A racemase as a tissue biomarker for prostate cancer. *JAMA.* 2002 Apr 3;287(13):1662-70.

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): 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(下記参照)を耐熱性の染色バットに入れ、ゆるく蓋をする。これを恒温槽に入れ、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)。

[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。 |