



HISTOFINE

**2016年11月改訂(第4版)

*2013年 4月改訂(第3版)

2005年 5月作成

体外診断用医薬品

クラスⅢ免疫組織学検査用シリーズ
ヒストファイン SAB-PO(M)キット
前立腺特異抗原(PSA)

第一抗体

抗前立腺特異抗原モノクローナル抗体

(動物種：マウス)

包装：50テスト(6mL)

Code：422611

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

- 本品は、クラスⅢ免疫組織学検査用シリーズ ヒストファイン SAB-PO(M)キットの構成試薬 第一抗体である。
- 本品を使用する際は、ヒストファイン SAB-PO(M)キットの添付文書をよく読んで使用すること。
- 特異性および抗原分布**：ヒト前立腺の腺房および導管の上皮細胞にみられる糖タンパク質である前立腺特異抗原(PSA)と特異的に反応する。PSAは分子量33kDa、等電点はpH6.8-pH7.5である。PSAは正常組織、良性肥大組織および悪性腫瘍組織で認められるが、他のヒト組織では認められない。
- クローン名**：ER-PR8
- 抗体のサブクラス**：IgG1、 κ
- 免疫原**：精製したヒト前立腺特異抗原。
- 製法**：ハイブリドーマの培養上清より得ている。

1. 内容

第一抗体・・・抗前立腺特異抗原モノクローナル抗体(動物種：マウス)。

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)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. 使用方法

パラフィン包埋切片の免疫組織化学および免疫細胞化学染色に使用できる第一抗体である。

パラフィン包埋切片の場合、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 または Code:415211)を用いたオートクレーブ処理することを推奨する(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(100 μ L)滴下し、常温(15-25 $^{\circ}$ C)で30分~1時間インキュベートする。*

**注)組織の部位や固定条件により、加熱による抗原賦活化処理によって内因性ビオチンが復活するため、内因性ビオチンのブロッキング処理が必要になる場合がある。その際は、ブロッキング試薬 I(3%過酸化水素加メタノール)による処理と、ブロッキング試薬 II(10%ウサギ正常血清)による処理に加え、ヒストファイン 内因性アビジン・ビオチンブロッキングキット(Code:415041)を用いた処理を行うこと。(裏面の操作手順参照)

**■参考1：組織の固定条件等により4 $^{\circ}$ C、一晩のインキュベートで良好な染色が得られる場合もある。

**■参考2：組織の固定条件等により抗原賦活化液 pH9 (Code:415201 または Code:415211)の代わりにヒストファイン トリプシン溶液(Code:415101)にて10分間(37 $^{\circ}$ C)処理することで、より良好な染色結果が得られる場合がある。

**3. 貯法および使用上の注意

1. 2-8 $^{\circ}$ C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。

**4. 取扱上(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. 本製品に関する安全情報は安全データシートを参照すること。
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. 本製品の廃棄の際には、各施設や地域およ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、取扱に注意が必要である。
6. アジ化ナトリウムは有毒化学薬品である。本製品の含有量は危険なものとして分類されないが、蓄積されたアジ化ナトリウムは爆発性の金属アジ化物として形成され、水道管に含まれる銅、鉛と反応する可能性がある。そのようなリスクを避けるために大量の水とともに洗い流すこと。
7. ヒト由来の検体は、取扱者に感染をひき起こす危険性がある。従って、適切な取扱および廃棄法を用いるとともに、この免疫組織(細胞)化学染色法を施行するに際し、関連技術および操作法に充分習熟しておかなければならない。

5. 主要文献

- (1) Wang, M. C. et al: Prostate 2: 89, 1981
- (2) Papsidero, L. D. et al: J. Nat. Cancer Inst. 66: 37, 1981
- (3) Nadji, M., Morales, A. R.: Ann. Acad. Sci. 420: 134, 1983
- (4) Chan, D. W.: Clin. Chem. 33: 1916, 1987
- (5) Gallee, et al: Prostate 9: 33, 1986

免疫染色における操作手順および前処理(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。
2. 脱パラフィン → 親水化 → PBS
3. 前処理(抗原賦活化): オートクレーブ処理
 - ① 緩衝液(下記記載)を耐熱性バットに入れ、切片を浸す。
 - ② 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、バットごと切片を取り出す。
 - ⑤ バットの蓋をはずし、バットごと切片を常温に20分以上放置し、ゆっくり熱を冷ます。
※オートクレーブ処理後は、バットおよび緩衝液等が高温になっている。これらを取り扱う際は、手袋等を使用し火傷に注意する。
 - ⑥ スライドを緩衝液から取り出し、PBSでよくすすぐ(3分間ずつ容器を2度かえるか、または洗浄ビンを使用する)。

[染色手順]

- | | | | |
|--------------------------------------|------------|---|-------|
| 4. ブロッキング試薬 I による処理 | 10~15分間/常温 | → | PBS洗浄 |
| 5. アビジン溶液(試薬 A) ^{※1} の添加・反応 | 10~15分間/常温 | → | PBS洗浄 |
| 6. ビオチン溶液(試薬 B) ^{※1} の添加・反応 | 10~15分間/常温 | → | PBS洗浄 |
| 7. ブロッキング試薬 II の添加・反応 | 10分間/常温 | → | PBS洗浄 |
| 8. 第一抗体の添加・反応 | 30分~1時間/常温 | → | PBS洗浄 |
| 9. 第二抗体の添加・反応 | 10分間/常温 | → | PBS洗浄 |
| 10. 酵素試薬の添加・反応 | 5分間/常温 | → | PBS洗浄 |
| 11. 基質溶液の添加・反応 | DAB発色 | → | 水洗 |
| 12. 対比染色 核染(ヘマトキシリン) → 封入 → 乾燥 → | | | 検鏡 |

※1: Code: 415041 ヒストファイン 内因性アビジン・ビオチンブロッキングキット
アビジン溶液(試薬 A)は、そのまま用いる。
ビオチン溶液(試薬 B)は、そのまま用いる。

■ 注意

・「PBS洗浄」はPBSに浸し、5分間ずつ3回放置する。

・抗原賦活性化液pH9の作り方

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