

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 シンプルステインMAX-PO (MULTI)
 エストロゲンレセプター (ER)

第一抗体

抗ヒトエストロゲンレセプターウサギモノクローナル抗体(SP1)

(動物種：ウサギ)

包装：0.5mL (未希釈抗体) Code：423931

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 シンプルステインMAX-PO(MULTI)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 シンプルステインMAX-PO(MULTI)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**：ヒトエストロゲンレセプター(ER)α(67kD)と特異的に反応する。ヒト乳癌細胞株MCF-7とも反応する。細胞の核に反応がみられる。正常では、子宮の内膜上皮や筋層、乳腺の上皮細胞に反応がみられる。腫瘍では、ホルモン依存性腫瘍に反応がみられる。ホルモン依存性腫瘍の場合、その増殖にERが関与している。ER陽性の乳癌はホルモン療法によく反応し予後がよい。このため、ERの発現の有無を同定することが、ホルモン療法の効果の指標として重要である。

■**クローン名**：SP1

■**抗体のサブクラス**：ウサギ IgG

■**免疫原**：ヒトエストロゲンレセプターのC末端領域から得られた合成ペプチド

■**製法**：ハイブリドーマの培養上清から得ている。

1. 内容

第一抗体・・・抗ヒトエストロゲンレセプターウサギモノクローナル抗体(SP1) (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)に、溶解された状態である。

1バイアル中に未希釈抗体 0.5mLを含む。

2. 使用目的

組織、細胞中のエストロゲンレセプター(ER)の検出(悪性腫瘍の診断補助)

**3. 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。

抗体は、抗体希釈用緩衝液(例 0.1%BSA、0.1%NaN₃を含むPBS)を用いて20-30倍に希釈する。

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:415211 または Code:415201)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。*

4. 判定基準

別添のヒストファイン シンプルステイン MAX-PO(MULTI)の添付文書、P3【測定結果の判定法】を参照し、判定を行うこと。

染色パターン	判定	ERの発現
検体組織中の腫瘍細胞の中でエストロゲンレセプター(ER)陽性を呈している細胞がない、または10%に満たないもの。	陰性	なし
検体組織中の腫瘍細胞の中でエストロゲンレセプター(ER)陽性を呈している細胞が10%以上あるもの。	陽性	あり

以上の判定基準により、陰性判定はエストロゲンレセプター(ER)の発現なし、陽性判定はエストロゲンレセプター(ER)の発現があるものとする。

5. 貯法

2-8℃保存。

6. 使用上又は取扱上の注意

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。

7. 主要文献

- (1) Ferrero-Pous M., et al: Appl Immunohistochem Mol Morphol 9 : 267-275, 2001
- (2) Zhida H., et al: Appl Immunohistochem Mol Morphol 13 : 91-95, 2005
- (3) 日本乳癌学会「適切なホルモンレセプター検索に関する研究」班研究報告書(平成 17 年 6 月 11 日)
- (4) Maggie C. U. Cheang, et al: Journal of Clinical Oncology 20 : 5637-5644, 2006
- (5) Benita K. T., et al: Clin Cancer Res 14(2) : 461-469, 2008

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)：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、軍手等を用いて高温に気をつける。
 - ②緩衝液(下記記載)を調製し、耐熱性染色ドーズに入れて蓋をする。これを温浴槽に入れ、95-99℃に温める。(ドーズは温浴終了まで、水分蒸発を防ぐため、蓋をしておく。)
 - ③②の緩衝液が95-99℃に達したら、スライドを緩衝液に浸漬させ、ゆるくふたをする。
 - ④緩衝液の温度が再び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染色ドーズ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。
※温浴処理後は、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. 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(MULTI)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PBSに浸し、5分間ずつ3回放置する。

・緩衝液「抗原賦活化液pH9」の作り方

- | |
|---|
| <ul style="list-style-type: none">・ 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。 |
|---|