



【全般的な注意】

1. 本製品は体外診断用であり、それ以外の目的に使用しないこと。
2. 診断は他の関連する検査結果や臨床症状等に基づいて総合的に判断すること。
3. 電子化された添付文書の記載から逸脱した使用方法については保証しない。
4. ヒト由来の検体は、感染の危険があるものとして取り扱いに注意すること。
- ** 5. 使用する機器の電子化された添付文書および取扱説明書をよく読んでから使用すること。

【形状・構造等(キットの構成)】

構成試薬成分	製品区分			
	ユニバーサルキット		第一抗体	DAB基質キット
	500 テスト	50 テスト	50 テスト	500 テスト
ブロッキング試薬Ⅰ ^{※1} 3%過酸化水素加メタノール	—	—	—	—
ブロッキング試薬Ⅱ 10%ヤギ正常血清	17mL ×3 本	6mL ×1 本	—	—
第一抗体 **ポリクローナル抗体 別表	—	—	6mL ×1 本	—
第二抗体 **ビオチン標識抗ウサギ IgG 抗体 (動物種：ヤギ)	17mL ×3 本	6mL ×1 本	—	—
酵素試薬 **ペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジン	17mL ×3 本	6mL ×1 本	—	—
ネガティブコントロール ^{※1} ウサギ正常血清	—	—	—	—
発色基質(試薬A) ^{※2} **3,3'-ジアミノベンジジン・4HCl	—	—	—	3mL ×1 本
基質緩衝液(試薬B) ^{※2}	—	—	—	3mL ×1 本
発色試薬(試薬C) ^{※2} **過酸化水素水	—	—	—	3mL ×1 本

* 別表 第一抗体の成分

構成製品名	第一抗体の成分
第Ⅷ因子関連抗原 (ⅧR : Ag)	抗第Ⅷ因子関連抗原ポリクローナル抗体 (動物種：ウサギ)
α-フェトプロテイン (AFP)	抗α-フェトプロテインポリクローナル抗体 (動物種：ウサギ)
グリア線維性酸性プロテイン (GFAP)	抗グリア線維性酸性プロテインポリクローナル抗体 (動物種：ウサギ)
グルカゴン	抗グルカゴンポリクローナル抗体 (動物種：ウサギ)
ケラチン/サイトケラチン	抗ケラチン/サイトケラチンポリクローナル抗体 (動物種：ウサギ)
リゾチーム/ムラミダーゼ	抗リゾチーム/ムラミダーゼポリクローナル抗体 (動物種：ウサギ)
ニューロン特異エノラーゼ	抗ニューロン特異エノラーゼポリクローナル抗体 (動物種：ウサギ)
S-100 タンパク	抗S-100 タンパクポリクローナル抗体 (動物種：ウサギ)
サイログロブリン	抗サイログロブリンポリクローナル抗体 (動物種：ウサギ)

注 1：ブロッキング試薬Ⅰおよびネガティブコントロールは販売していないので、自家調製すること。

注 2：発色基質、基質緩衝液、発色試薬はヒストファイン SAB-PO(R)キットの構成試薬として販売していないので、別売りの体外診断用医薬品「ヒストファイン SAB-PO(M)キット DAB 基質キット」を使用すること。(下表参照)

構成試薬	製品名	コード	包装単位
発色基質(試薬A) 基質緩衝液(試薬B) 発色試薬(試薬C)	DAB 基質キット	425011	500 テスト

* 【使用目的】

構成製品名	使用目的
第Ⅷ因子関連抗原 (ⅧR : Ag)	組織、細胞中の第Ⅷ因子関連抗原の染色
α-フェトプロテイン (AFP)	組織、細胞中の AFP の染色
グリア線維性酸性プロテイン (GFAP)	組織、細胞中の GFAP の染色
グルカゴン	組織、細胞中のグルカゴンの染色
ケラチン/サイトケラチン	組織、細胞中のケラチン/サイトケラチンの染色
リゾチーム/ムラミダーゼ	組織、細胞中のリゾチーム/ムラミダーゼの染色
ニューロン特異エノラーゼ	組織、細胞中のニューロン特異エノラーゼの染色
S-100 タンパク	組織、細胞中の S-100 の染色
サイログロブリン	組織、細胞中のサイログロブリンの染色

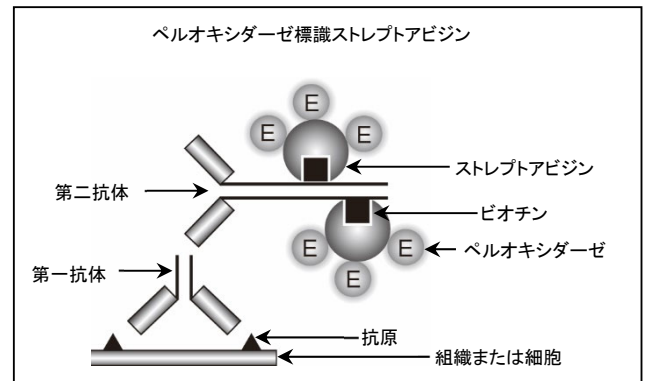
【測定原理】

組織や細胞塗抹標本、サイトスピン標本中の抗原同定は、免疫組織学および免疫細胞学的技術によって可能になる。本キットはこの技術を用い、第二抗体にはビオチンを結合、また、ビオチンと高い親和性を示すストレプトアビジンには酵素を標識して、効率的にかつ鋭敏に免疫組織化学染色を行う試薬システムである。特にストレプトアビジンに酵素を直接結合させているのが、本キットのユニークな特長である。

ストレプトアビジンは微生物(*streptomyces avidinii*)から分離された分子量 6 万のアビジン類似物(analog)で、卵白から分離されたアビジン(分子量 6 万 8 千)と同様に、4 つの同一サブユニットで構成されている。この各サブユニットは、小さな水溶性ビタミンであるビオチン(分子量 244)を非常に高い親和性($K_d=10^{-15}$)で結合することができる。この結合は共有結合ではないが、抗原抗体結合に比べ 100 万倍以上も強く、実質的には不可逆結合であると考えられている。卵白アビジンやその修飾物質のかわりにストレプトアビジンおよびその誘導体を使用することの利点は、アビジンでみられる非特異的な結合を除去できることである。非特異的結合の有無は、これら 2 つの蛋白質の等電点および糖含有量の違いに起因する。アビジンの等電点は pH10 であるため、生理的な状態では陽性に荷電して非特異的結合を示す。これに対し、ストレプトアビジンの等電点は中性付近にある。また、非特異的結合は、組織上のレクチン様蛋白と糖鎖の相互作用によっておこるが、ストレプトアビジンは糖を含まないため、糖を 7% 含むアビジンと比べてバックグラウンドが低く、高い S/N(signal/noise)比が得られる。すなわち、ストレプトアビジン-ビオチン(SAB)法により、従来から行われているアビジンビオチン複合体(ABC)を用いるよりも、すぐれた感度が得られる。さらに、ストレプトアビジン-ビオチン法は、1 種類の標識試薬があらゆる場合に使用できるという点で、第一抗体の動物種に応じて何種類もの PAP 複合体が必要なペルオキシダーゼ抗ペルオキシダーゼ(PAP)法と比べて、たいへん有利である。

このシステムで用いる酵素は、EIA グレードの西洋わさびペルオキシダーゼである。また、第二抗体は、アフィニティ精製されアミノヘキサノイルビオチンと結合しており、ヒト血清タンパクで吸収済である。

酵素抗体法により、組織中の抗原を検出する。組織、または細胞に、まず第一抗体(検出の対象となる抗原に対するウサギポリクローナル抗体)を反応させ、次に第二抗体(ビオチン標識抗ウサギ IgG 抗体)を反応させる。続いてペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジンを反応させると、ビオチンとストレプトアビジンの特異的な結合を介した、抗原-第一抗体-第二抗体-酵素標識物が形成される。この酵素活性を利用して発色基質を発色させ、抗原部位を染色する。こうして視覚化し、光学顕微鏡観察によって抗原の有無を判定する。



【操作上の注意】

- (1) 高濃度の固定液にさらしたり、長時間の固定を行ったりすると、組織崩壊や抗原変性を生じさせることがあるので、指定された固定液を使用する。

【用法・用量(操作方法)】

○検体の準備

【パラフィン包埋切片】

組織形態や抗原活性を維持した最適固定を得るため、できるだけ新鮮で小さな組織切片(約 1cm×1cm×0.5cm)の使用と、下表の固定液の使用を勧める。

固定液	固定時間
10%(緩衝)ホルマリン	24 - 48 時間
20%ホルマリン	12 - 24 時間

○切片および標本の準備

【パラフィン包埋切片】

切片を4-6 μ mに薄切し、スライドに付着させる。もし、穏和なトリプシン処理が必要な場合は、0.02% poly-L-lysine、0.1%ネオブレンあるいはシランなどの組織切片用接着剤を使用する。

【検体標本スライドの準備】

検体標本スライドとして1検体あたり、2枚準備する。

1枚は、試薬対照スライドとして、第一抗体のかわりにネガティブコントロール（ウサギ正常血清）を使用して染色操作を行う。

【検体対照スライドの準備】

・陽性対照スライド

検体標本スライドと同様の方法で作製され、あらかじめ目的抗原が存在することを確認している組織切片スライドを準備する。

・陰性対照スライド

検体標本スライドと同様の方法で作製され、あらかじめ目的抗原が存在しないことを確認している組織切片スライドを準備する。

以上の検体対照スライドを用意し、検体標本スライドおよび試薬対照スライドと並行して、検体の準備から染色処理、検鏡までの全工程を行う。

○操作方法

【必要な試薬、器具】

- | | |
|---------------------------------------|----------|
| ・キシレン | ・対比染色試薬 |
| ・100%エタノール | ・光学顕微鏡 |
| ・95%エタノール | ・精製水 |
| ・3%過酸化水素加メタノール | ・湿潤箱 |
| (30%過酸化水素水をメタノールで10倍希釈) | ・非水溶性封入剤 |
| ・リン酸緩衝生理食塩水(PBS)(pH7.6 $\pm$ 0.2) | ・タイマー |
| NaCl 7.75g | ・洗浄用容器 |
| K ₂ HPO ₄ 1.50g | |
| KH ₂ PO ₄ 0.20g | 精製水 1L |
-
- | | |
|---|---------|
| ・ティッシュペーパーあるいはキムワイブ | ・カバーガラス |
| ・組織切片用接着剤(0.02%poly-L-lysine、0.1%ネオブレン、シランなど) | |
| ・ネガティブコントロール（ウサギ正常血清） | |

【構成試薬】

- | | | |
|------------|-------|--------|
| ・ブロッキング試薬Ⅱ | ・第一抗体 | ・第二抗体 |
| ・酵素試薬 | ・発色基質 | ・基質緩衝液 |
| | | ・発色試薬 |

【試薬の調製方法】

(1)基質溶液の調製方法

発色基質(試薬A)1滴(約20 μ L)と基質緩衝液(試薬B)1滴(約20 μ L)を精製水1mLに加え、泡立ないように注意して混合する。次に発色試薬(試薬C)1滴(約40 μ L)を加え、再び泡立ないように注意して混合する。基質溶液は、遮光して冷蔵(2-8℃)保存し、調製後一週間以内に使用する。

注)混合時、溶液表面が泡立った場合は、使用時に泡を取り除くか、泡を避けて使用すること。

その他の試薬は、そのまま用いる。

【脱パラフィン】

1.キシレン処理

- (1)スライドをキシレンに3分間浸す。
- (2)余分な液を振り払い、別のキシレンに3分間浸す。
- (3)さらにもう1つ別のキシレンで、上記ステップ1.(1)の操作をする。

2.エタノール処理

- (1)100%エタノールに3分間浸す。
- (2)余分な液を振り払い、別の100%エタノールに3分間浸す。
- (3)さらに95%エタノールで、上記のように2回処理する。

3.洗浄

- (1)余分な液を振り払い、PBSに5分間浸す。
- (2)もし、固定液として、B5やZenker's液を使用した場合は、水銀の除去処理をする。

【操作方法（染色手順）】

1.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

- (1)余分な水分を取り除くためスライド上の切片周辺を注意深く拭く。
- (2)切片が完全に覆われるように、すべてのスライドをブロッキング試薬Ⅰ(3%過酸化水素加メタノール)に浸し、常温で10-15分間反応させる。
- (3)PBSでよくすすぐ(5分間ずつ容器を2度かえるか、洗浄びんを使用する)。

2.ブロッキング試薬Ⅱによる処理

- (1)スライド上の切片周辺を注意深く拭く。
- (2)切片が完全に覆われるように、すべてのスライドにブロッキング試薬Ⅱを1-2滴(50-100 μ L)滴下し、常温で10分間反応させる。
- (3)余分なブロッキング試薬Ⅱを振り払う。

3.第一抗体の添加・反応

- (1)スライド上の切片周辺を注意深く拭く。
- (2)切片が完全に覆われるように第一抗体を2滴(100 μ L)検体標本スライド、陽性対照スライドおよび陰性対照スライドに滴下する。
- (3)試薬対照スライドには第一抗体の代わりにネガティブコントロール(ウサギ正常血清)を2滴(100 μ L)滴下する。
- (4)常温あるいは4℃で反応させる(各第一抗体についている添付書のインキュベーション時間を守る)。
- (5)PBSでよくすすぐ。

4.第二抗体の添加・反応

- (1)スライド上の切片周辺を注意深く拭く。
- (2)切片が完全に覆われるように第二抗体を2滴(100 μ L)すべてのスライドに滴下する。常温で10分間反応させる。
- (3)PBSでよくすすぐ。

5.酵素試薬の添加・反応

- (1)スライド上の切片周辺を注意深く拭く。
- (2)切片が完全に覆われるように酵素試薬を2滴(100 μ L)すべてのスライドに滴下する。常温で5分間反応させる。
- (3)PBSでよくすすぐ。

6.基質溶液の添加・反応

- (1)スライド上の切片周辺を注意深く拭く。
- (2)切片が完全に覆われるように基質溶液を2滴(100 μ L)すべてのスライドに滴下する。常温で5-20分間インキュベートする。
- (3)精製水でよくすすぐ。

【対比染色】

- (1)対比染色試薬にスライドを浸す。
- (2)流水洗する。

【封入】

- (1)水洗、脱水、キシレンによる透徹後、非水溶性封入剤で封入する。

【測定結果の判定法】

○判定方法

光学顕微鏡によって陽性反応を観察する。

染色結果の判定は、3種類の対照スライドとの比較により行う。

・陽性対照スライド

陽性所見が得られる。

・陰性対照スライド

陽性を呈する細胞が認められない。

・試薬対照スライド

陽性を呈する細胞が認められない。このスライドが染色されれば、非特異的なタンパク結合などによる非特異的反応が考えられる。

○判定上の留意事項

- (1)検出結果に基づく臨床診断は、臨床症状や他の検査結果等とあわせて、担当医師が総合的に判断すること。
- (2)必ず各検体対照スライドの染色結果と比較して、染色結果を判定すること。
- (3)明瞭な染色を得るには、包埋剤を完全に除去することが大切である。パラフィンの残存物は、バックグラウンド染色を強める原因となる。
- (4)一般的にタンパク質や基質反応生成物の非免疫的結合により、偽陽性結果が観察される場合がある。偽陽性結果は赤血球による偽ペルオキシダーゼ反応やサイトクロームCによる内因性ペルオキシダーゼ反応によっても起きることがある。
- (5)検体組織の壊死部分は、抗体が非特異的に結合しやすく、非特異染色の原因となりやすいので、陰性対照スライドと比較し、十分注意して判定すること。
- (6)間質系のコラーゲンは固定後疎水性となって抗体と結合しやすくなり、また、陰性に帯電しているため陽性に帯電している抗体と結合しやすく、非特異染色の原因となりやすいので、陰性対照スライドと比較し、十分注意して判定すること。
- (7)顆粒球の一部およびマクロファージなどは細胞膜表面にFcレセプターを有するため、抗体のFc部分と結合する可能性がある。抗体本来の特異的反応部位以外に染色が現れることがあるため、必ず陰性対照スライドと比較し、十分注意して判定すること。

【性能】

○性能

用法・用量の操作方法に基づいて感度試験、正確性試験および同時再現性試験を行った場合、下記の規格に適合する。

(1)感度

第一抗体を 0.01M リン酸緩衝生理食塩水(PBS)で、2 倍希釈したものをを用い、陽性対照スライド、またはあらかじめ陽性であることが確認されている組織標本の近傍切片スライドを染色する時、明らかな特異染色像(茶褐色)が確認される。

(2)正確性

陽性対照スライド、またはあらかじめ陽性であることが確認されている組織標本の近傍切片スライドを染色する時、明らかな特異染色像が観察される。第一抗体の代わりにネガティブコントロールを用いて染色する時は特異染色像(茶褐色)は観察されない。

(3)同時再現性

陽性対照スライド 3 枚、またはあらかじめ陽性であることが確認されている組織標本の近傍切片スライド 3 枚を染色する時、いずれのスライドにおいても明らかな特異染色像(茶褐色)が観察される。

* ○相関性

構成製品(1)：第Ⅷ因子関連抗原(VⅢR:Ag)

肺血管内皮細胞を含む組織及びその他、計 34 種類の組織(総検体数 50 例)について本品と既承認品の染色性を比較した結果を下記に示す。本品と同一の原理を用いた既承認品とを比較した場合、同等の染色結果が得られた。

本品	既承認品			全体一致率=100%(50 検体/50 検体)
		陽性	陰性	
	陽性	50	0	
	陰性	0	0	

構成製品(2)：α-フェトプロテイン(AFP)

肝細胞を含む組織(検体数 50 例)について本品と既承認品の染色性を比較した結果を下記に示す。本品と同一の原理を用いた既承認品とを比較した場合、同等の染色結果が得られた。

本品	既承認品			全体一致率=100%(50 検体/50 検体)
		陽性	陰性	
	陽性	50	0	
	陰性	0	0	

構成製品(3)：グリア線維性酸性プロテイン(GFAP)

大脳皮質内星状膠細胞を含む組織及びその他、計 9 種類の組織(総検体数 50 例)について本品と既承認品の染色性を比較した結果を下記に示す。本品と同一の原理を用いた既承認品とを比較した場合、同等の染色結果が得られた。

本品	既承認品			全体一致率=100%(50 検体/50 検体)
		陽性	陰性	
	陽性	50	0	
	陰性	0	0	

構成製品(4)：グルカゴン

膵ランゲルハンス島α細胞を含む組織(検体数 50 例)について本品と既承認品の染色性を比較した結果を下記に示す。本品と同一の原理を用いた既承認品とを比較した場合、同等の染色結果が得られた。

本品	既承認品			全体一致率=100%(50 検体/50 検体)
		陽性	陰性	
	陽性	50	0	
	陰性	0	0	

構成製品(5)：セラチン／サイトセラチン

舌上皮内刺層細胞を含む組織及びその他、計 20 種類の組織(総検体数 50 例)について本品と既承認品の染色性を比較した結果を下記に示す。本品と同一の原理を用いた既承認品とを比較した場合、同等の染色結果が得られた。

本品	既承認品			全体一致率=100%(50 検体/50 検体)
		陽性	陰性	
	陽性	50	0	
	陰性	0	0	

構成製品(6)：リゾチーム／ムラミダーゼ

肺細胞内マクロファージを含む組織及びその他、計 18 種類の組織(総検体数 50 例)について本品と既承認品の染色性を比較した結果を下記に示す。本品と同一の原理を用いた既承認品とを比較した場合、同等の染色結果が得られた。

本品	既承認品			全体一致率=100%(50 検体/50 検体)
		陽性	陰性	
	陽性	50	0	
	陰性	0	0	

構成製品(7)：ニューロン特異エノラーゼ

胃マイスナー神経叢を含む組織及びその他、計 22 種類の組織(総検体数 50 例)について本品と既承認品の染色性を比較した結果を下記に示す。本品と同一の原理を用いた既承認品とを比較した場合、同等の染色結果が得られた。

本品	既承認品			全体一致率=100%(50 検体/50 検体)
		陽性	陰性	
	陽性	50	0	
	陰性	0	0	

構成製品(8)：S-100 タンパク

胃アウエルバッハ神経叢を含む組織及びその他、計 26 種類の組織(総検体数 50 例)について本品と既承認品の染色性を比較した結果を下記に示す。本品と同一の原理を用いた既承認品とを比較した場合、同等の染色結果が得られた。

本品	既承認品			全体一致率=100%(50 検体/50 検体)
		陽性	陰性	
	陽性	50	0	
	陰性	0	0	

構成製品(9)：サイログロブリン

甲状腺濾胞上皮細胞を含む組織及びその他、計 2 種類の組織(総検体数 50 例)について本品と既承認品の染色性を比較した結果を下記に示す。本品と同一の原理を用いた既承認品とを比較した場合、同等の染色結果が得られた。

本品	既承認品			全体一致率=100%(50 検体/50 検体)
		陽性	陰性	
	陽性	50	0	
	陰性	0	0	

**【使用上又は取扱い上の注意】

** 1.取扱い上（危険防止）の注意

- (1)ヒト由来の検体は、取り扱い者に感染を引き起こす危険性がある。従って、適切な取り扱いを必要とする。
- (2)検体組織には、HIV、HBV など、感染のおそれがあるので、取り扱いには十分注意すること。
- (3)皮膚などへの接触は避けること。
- (4)第一抗体にはアジ化ナトリウムが含まれているので、取り扱いに際しては十分注意すること。
- (5)発色基質である 3,3'-ジアミノベンジジン・4HCl は変異原性が認められているので、取り扱いに際しては十分注意すること。
- (6)発色試薬には過酸化水素水が含まれているので、取り扱いに際しては十分注意すること。

2.使用上の注意

- (1)試薬は 2－8℃にて保存する。
- (2)すべての試薬は使用前に常温（15－25℃）に戻して使用すること。
- (3)使用期限の過ぎた試薬は使用しないこと。
- (4)他製品の試薬を混ぜて使用しないこと。
- (5)染色過程のいかなる時点においても切片を乾燥させてはならない。試薬と反応させている間、切片を湿潤箱に入れておく乾燥を防ぐことができる。
- (6)抗原は熱に弱いので、組織を包埋する際に、パラフィンの温度を 58℃以上に上げてはならない。
- (7)脱パラフィンに用いるキシレンおよびエタノールは、スライドを 40 枚処理するごとに置き替える。
- (8)ステロイドやその他小さな分子は、有機溶媒に極めて溶けやすく、抗原の損失を防ぐには、固定剤の選択に注意する必要がある。
- (9)各構成試薬は、個別に補充できる。

3.廃棄上の注意

- (1)キット中の第一抗体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、鉛の反応によって爆発の危険性があるので、これらの試薬を排水管より処分した後には多量の水を流すこと。
- (2)検体組織に接触した器具・試薬および試薬容器等は感染の危険性があるので、オートクレーブで 120℃、20 分間滅菌処理するか、または 1.0V/V% 次亜塩素酸などの消毒液に浸して一晚処理すること。
- (3)試薬が飛散した場合は、アルコールスプレーなどを用いてふき取りと消毒を行うこと。

妨害物質と問題対策

問題点	考えられる原因	その対策
○陽性対照スライドおよび標本スライドの染色が認められない、あるいは弱い。	① 切片が乾燥している。	・切片を湿潤させた後は、湿潤箱などを用いて乾燥させない。
	② 包埋剤が不適当あるいはパラフィン包埋組織からのパラフィン除去が不完全である。	・適当な包埋剤を選択する。また、包埋組織から、パラフィンを完全に除去する。 ・キシレン、エタノール溶液を取り替える。
	③ 緩衝液中の微量のアジ化ナトリウムがペルオキシダーゼを不活性化し、染色を不可能にする。	・アジ化ナトリウムを含有しない緩衝液を使用する。 ・緩衝液を取り替える。
	④ 酵素や抗体反応が不十分。	・各ステップでの、水分の拭き取りを完全にする。 ・抗体との反応時間を十分ににする。特に、第一抗体では添付書のインキュベーション時間を守る。
	⑤ 基質溶液の反応が不十分。	・基質溶液を調製してから1日以上経過している場合には、基質溶液を再調製し、調製当日中に使用する。
	⑥ 強度が弱い原因が不明。	・精製水 1mL に対して、発色基質(試薬 A) 2 滴(約40 μ L)、基質緩衝液(試薬 B) 2 滴(約40 μ L)、発色試薬(試薬 C) 1 滴(約40 μ L)の基質溶液を調製し、使用する。
○陽性対照スライドは染色されるが、標本スライドは染色されない。	① 抗原が固定あるいは包埋過程で変性したり、マスクされている。	・抗原の中には、固定や包埋に敏感なものがあるので、穏やかな固定剤を使用し固定時間を短縮する。 ・場合によっては、染色前に抗原を露出させるため、熱による抗原賦活化処理あるいはトリプシンなどのタンパク分解酵素処理を行う。
	② 自己消化により抗原が破壊されている。	・可能な限り、生検あるいは外科組織を使用する。
	③ 組織に存在する抗原が少ない。	・インキュベーション時間を長くする。
○全ての染色スライドにバックグラウンドが見られる。	① 内因性ペルオキシダーゼを不活性化するための処理が不十分。	・ブロッッキング試薬 I (3%過酸化水素加メタノール)による処理を確実にを行う。
	② 内因性ビオチン(ビタミン B ₇)が多量に存在する。	・内因性アビジン・ビオチンブロッッキングキット(コード: 415041)などによる処理を行う。
	③ 非特異結合成分がブロッックされていない。	・ブロッッキング試薬 II (10%ヤギ正常血清)の操作を確実にを行う。
	④ 自己消化の結果、組織液に遊離した抗原が過剰に存在する。	・可能なならば、新鮮な組織を包埋する。
	⑤ 不完全なパラフィン除去。	・キシレン、エタノール溶液を取り替える。
	⑥ 不十分な抗体の洗浄。	・抗体の洗浄を十分にを行う。
	⑦ 室内温度が高すぎて、酵素反応が早すぎる。	・常温(15－25℃)にコントロールする。 ・反応時間を短縮する。
○反応中に組織切片がスライドからはがれてしまう。	① 抗原によってはその同定のために、熱による抗原賦活化処理あるいは第一抗体との長時間の反応を必要とする。このような場合には、はがれ易くなる。	・0.02%poly-L-lysine、0.1%ネオブレン、シランなどの組織切片用接着剤を使用する。

【貯蔵方法・有効期間】

貯蔵方法：2－8℃で保存

有効期間：製造後 1 年 6 ヶ月（使用期限は外箱に表示）

【包装単位】

構成試薬	製品名	コード	包装単位
ブロッッキング試薬 II 第二抗体 酵素試薬	ヒストファイン SAB-PO(R)キット	424031	50 テスト
		424032	500 テスト
ブロッッキング試薬 II	10%ヤギ正常血清	426041 426042	6mL 17mL
第二抗体	ビオチン標識抗ウサギ IgG 抗体	426011 426012	6mL 17mL
酵素試薬	ペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジン	下記参照	
発色基質(試薬 A) 基質緩衝液(試薬 B) 発色試薬(試薬 C)	DAB 基質キット	下記参照	
第一抗体	【形状・構造等(キットの構成)】参照	各第一抗体の 添付書参照	50 テスト

以下の製品は SAB-PO(R)キットの構成試薬として単独では発売していないが、SAB-PO(M)キットの構成試薬が使用できる。

構成試薬	製品名	コード	包装単位
酵素試薬	ペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジン	426061 426062	6mL 17mL
		425011	500 テスト
発色基質(試薬 A) 基質緩衝液(試薬 B) 発色試薬(試薬 C)	DAB 基質キット	500 テスト	

【主要文献】

- Guesdon JL, et al. The use of avidin-biotin interaction in immunoenzymatic techniques. J Histochem Cytochem. 1979 Aug;27(8):1131-9.
- Warnke R, et al. Detection of T and B cell antigens hybridoma monoclonal antibodies: a biotin-avidin-horseradish peroxidase method. J Histochem Cytochem. 1980 Aug;28(8):771-6.
- Kitamoto T, et al. Formic acid pretreatment enhances immunostaining of cerebral and systemic amyloids. Lab Invest. 1987 Aug;57(2):230-6.
- **4) 大谷明夫, 名倉宏. 血管内皮細胞の免疫機能・炎症性腸疾患を場として・. 日本網内系学会会誌. 1991;31(4):303-311.
- Suzuki K, et al. Immunohistochemical demonstration of proliferating cell nuclear antigen(PCNA) in formalin-fixed, paraffin-embedded sections from rat and human tissues. Acta Histochem. Cytochem. 1992;25:13-21.
- Gomi T, et. al. Immunocytochemical survey of the neuroepithelial endocrine system in the respiratory tract of the Tokyo salamander, Hynobius nebulosus tokyoensis T'Ago. Histochemistry. 1994 Dec;102(6):425-31.
- Kogawa K, et al. T-cell mediated polyclonal B-cell activation in a case of B-cell lymphoma associated with polyclonal hypergammaglobulinemia. Int J Hematol. 1995 Dec;62(4):253-7.
- **8) Satoh F, et al. Double adenomas with different pathological and hormonal features in the left adrenal gland of a patient with Cushing's syndrome. Clin Endocrinol (Oxf). 1997 Feb;46(2):227-34.

【問合せ先、製造販売元、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