

【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.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.使用する自動染色装置の添付文書および取り扱い説明書をよく読んでから使用すること。
- 6.使用する自動染色装置固有の特性等により、検査結果を正しく判定できない恐れがあるため、コントロールスライドなどを用いて事前に確認をしてから使用すること。

【形状・構造等(キットの構成)】**

HER2 キット(MONO) 自動染色装置用キット

構成試薬*1 成分		製品区分 ユニバーサルキット 50 テスト
①	ブロッキング試薬 I 3vol%過酸化水素水	20mL×1 本
②	抗原賦活化液 プロテアーゼ	20mL×1 本
③-1	第一抗体 抗ヒト HER2/neu 遺伝子産物モノクローナル抗体 (SV2-61γ) (動物種：マウス) 5μg/mL	10mL×1 本
③-2	陰性コントロール マウスイムノグロブリン	10mL×1 本
④	酵素・第二抗体標識ポリマー ペルオキシダーゼ標識抗マウス IgG ポリクローナル抗体(Fab')(動物種：ヤギ) 6μg/mL	20mL×1 本
⑤-1	発色基質 3,3'-ジアミノベンジジン・4HCl 20mg/mL	2mL**×2 本**
⑤-2	発色試薬 0.025vol%過酸化水素水	50mL×2 本
—	PBS*2 リン酸緩衝液(洗浄用 10 倍濃縮液)	—
—	コントロールスライド*3 ホルマリン固定パラフィン包埋細胞株 2 種類を貼付したスライド ・陽性コントロールスライド(HER2/neu タンパク発現量：3+) ・陰性コントロールスライド(HER2/neu タンパク発現量：0)	スライド

※自動染色装置専用試薬ボトル用ラベル(各1枚)付

付属品	製品区分
	ユニバーサルキット 50 テスト
目盛り付き試験管	1本

- ※1：各試薬は、組織切片(約 1cm×1cm)あたり、100μL を設定する。
なお、各試薬は、組織の大きさに応じて 200μL まで設定できるように用意されている。
- ※2：PBS は販売していないので、別売りの研究用試薬「PBS(ヒストステイナー用) Code:715224」(0.5%TWEEN20 含む)を使用すること。また、PBS の代わりに TBS(トリス塩酸緩衝液)(0.5%TWEEN20 含む)を使用してもよい。
- ※3：コントロールスライドは、ヒストファイン HER2 キット(MONO)の構成試薬として販売していないので、別売りの研究用試薬「ヒストファイン HER2 コントロールスライド」を使用すること(下表参照)。

製品名	コード	包装単位
HER2コントロールスライド	417091	5スライド

【使用目的】

組織、細胞中の HER2/neu 遺伝子産物の検出(悪性腫瘍の診断補助等)

【測定原理】

HER2^{※4}/neu 遺伝子は 1986 年に山本らにより発見され、その遺伝子配列が決定された¹⁾。この遺伝子産物である HER2/neu タンパクは、チロシンキナーゼ活性を有する分子量 185kDa の細胞膜貫通型受容タンパクであり、乳癌、前立腺癌および胃癌の組織において高頻度にタンパク過剰発現、あるいは遺伝子増幅していることが報告されている^{2),3)}。特に、HER2/neu タンパクの過剰発現、あるいは遺伝子増幅が認められた乳癌患者は、予後が不良であることが多いと報告されている⁴⁾。このため米国で、癌細胞に発現された HER2/neu タンパクを標的としてヒト化されたモノクローナル抗体 ハーセプチン(トラスツマブ。ジェネンテック社)が HER2 過剰発現の転移性乳癌の抗体治療薬として開発され、1998 年に米国食品衛生局(FDA)から承認された。日本においても 2001 年、「HER2/neu タンパク過剰発現が確認された転移性乳癌」の抗体治療薬としてハーセプチン(中外製薬株式会社)が発売された。その後、2008 年には、「HER2/neu タンパク過剰発現が確認された乳癌における術後補助化学療法」の効能・効果で承認された。更に、2011 年 3 月に、「HER2/neu タンパクの過剰発現、あるいは遺伝子増幅が認められた治療切除不能な進行・再発の胃癌」の治療薬として適用拡大された。HER2/neu タンパクの過剰発現あるいは遺伝子増幅の有無を知ることが治療上必要不可欠となった。

本品は、免疫組織化学染色法を用いて腫瘍細胞中の HER2/neu 遺伝子産物(HER2/neu タンパク抗原)を検出し、そのタンパクの過剰発現の有無を判定する。最初に、腫瘍細胞中の HER2/neu タンパク抗原に対する特異的な第一抗体^{注1)}を反応させ、次にアミノ酸ポリマーに酵素と第二抗体を結合させた試薬である酵素・第二抗体標識ポリマー^{注2)}を反応させる。その結果、抗原・抗体・ポリマー・酵素の複合体を形成させ、この複合体の酵素活性を利用して基質を発色させる。これにより抗原部位を視覚化し、光学顕微鏡により抗原の有無を確認する。

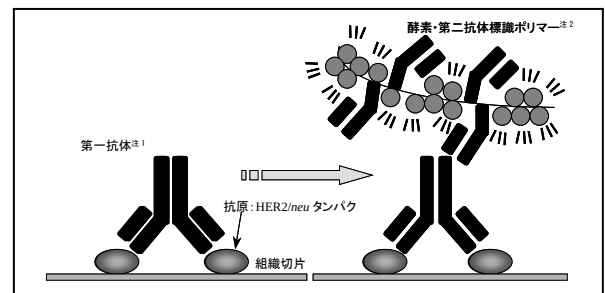
※4:HER2: Human Epidermal Growth Factor Receptor Type2

注 1) 第一抗体：

抗ヒト HER2/neu 遺伝子産物モノクローナル抗体(SV2-61γ) (動物種：マウス)

注 2) 酵素・第二抗体標識ポリマー：

ペルオキシダーゼ標識抗マウス IgG ポリクローナル抗体 (Fab')(動物種：ヤギ)

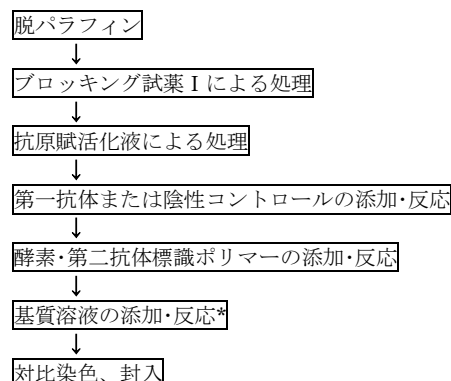


【操作上の注意】

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)】

○フローチャート



○検体の準備

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

○切片および標本の準備

[パラフィン包埋切片]

切片を 4μm に薄切し、poly-L-lysine またはシランコーティングスライドに付着させる。37℃の乾燥器内で 24 時間乾燥させる。

[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陰性コントロールを使用して染色操作を行う。

[検体対照スライドまたはコントロールスライド※5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 HER2/*neu* タンパクの過剰発現があ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 HER2/*neu* タンパクの過剰発現がないことを確認している組織切片スライドを準備する。

※5：各施設において HER2/*neu* タンパクの過剰発現の基準となる検体対照スライドが確定するまで、別売りの、「ヒストファイン HER2 コントロールスライド(コード：417091)」を標準として、使用することを推奨する。
「ヒストファイン HER2 コントロールスライド」にはホルマリン固定しパラフィン包埋した陽性コントロール細胞株 SK-BR-3 と陰性コントロール細胞株 SR が 1 枚のスライドに 1 つずつ貼付されている。

・陽性コントロールスライド

HER2/*neu* タンパク発現量の判定スコア 3+

・陰性コントロールスライド

HER2/*neu* タンパク発現量の判定スコア 0

以上の検体対照スライドまたはコントロールスライドを用意し、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・機器]

- ・スライドガラス(poly-L-lysine またはシランコーティングスライド)
- ・乾燥器
- ・染色ドーゼ
- ・キシレン
- ・洗浄用容器
- ・PBS(リン酸緩衝塩：研究用試薬「PBS Code:715224」)または TBS(トリス塩酸緩衝生理食塩水)(0.05%TWEEN20 含む)
- ・試験管
- ・自動染色装置
- ・スライドスタンド
- ・対比染色試薬(ヘマトキシリン)
- ・カバーガラス
- ・ティッシュペーパー
- ・使い捨てゴム手袋
- ・タイマー
- ・温度計
- ・95%エタノール
- ・100%エタノール
- ・洗浄ビン
- ・自動染色装置専用試薬ボトル
- ・精製水
- ・封入剤(非水溶性封入剤)
- ・光学顕微鏡

[構成試薬]

- ◆ヒストファイン HER2 キット(MONO) 自動染色装置用キット
- ・抗原賦活化液
- ・陰性コントロール
- ・発色基質
- ・ブロッキング試薬 I
- ・酵素・第二抗体標識ポリマー
- ・第一抗体
- ・発色試薬
- ・PBS

[試薬の調製方法]*

(1)基質溶液の調製方法*

⑤-1 発色基質、⑤-2 発色試薬を用いて、⑤基質溶液を調製する。
付属の目盛り付き試験管に、⑤-2 発色試薬 500μL あたり、⑤-1 発色基質 1 滴(約 20μL)の割合で加え、泡立てないように注意して混合する。
遮光して冷蔵(2-8℃)保存し、調製日中に使用する。*

注 1) 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。

注 2) 目盛り付き試験管は、精製水で洗浄した後、完全に乾燥して再利用する。

(2)PBS(バッファー)の調製方法

・研究用試薬「PBS(ヒストステイナー用)Code:715224(10 倍濃縮)」を使用する場合(使用時に 0.05%TWEEN20 含有となるよう調製済)
研究用試薬「PBS(ヒストステイナー用) Code:715224(10 倍濃縮)」1 バイアル(1L)全量を精製水で 10 倍に希釈して攪拌し、10L にメスアップし、バッファーとする。
調製後のバッファーは 2-30℃で保存することができる。保存中、混濁した場合は使用しないこと。

・TBS(トリス塩酸緩衝生理食塩水)を使用する場合、下記用量にて調製し使用すること。)

(1)トリス 12.11 g を精製水に溶かし塩酸で pH 7.5 に調製後、精製水で全量を 1L とする(A 液)。

(2) NaCl 87.66 g を精製水に溶かし、精製水で全量を 1L とする(B 液)。

(3) A 液と B 液をそれぞれ 100mL ずつとり、精製水を 700mL 程加え、TWEEN20 0.5 mL を加え、精製水で全量を 1L とする。

その他の試薬は、そのまま用いる。

[染色方法の設定]

使用する自動染色装置の操作法に従って染色方法のプログラムおよび反応時間を下記のように設定する。

- (1)ブロッキング試薬 I 5 分間
 - (2)洗浄 1 回
 - (3)抗原賦活化液 5 分間
 - (4)洗浄 1 回
 - (5)第一抗体 30 分間
- 検体標本スライド、検体対照(陽性対照、陰性対照)スライド、陽性および陰性コントロールスライドには第一抗体、試薬対照スライドには陰性コントロールを反応させる。

- (6)洗浄 2 回
- (7)酵素・第二抗体標識ポリマー 30 分間
- (8)洗浄 2 回
- (9)基質溶液 10 分間
- (10)洗浄 1 回
- (11)核染色(ヘマトキシリン)[※] 1 分間
- (12)洗浄[※] 1 回
- (13)洗浄(精製水) 1 回

滴下する試薬の用量は、組織切片(約 1cm×1cm)あたり、100μL を推奨する。なお、各試薬は、200μL まで設定できるよう用意されている。

注：使用する自動染色装置では設定不可能の場合、(11)(12)は設定せず、
(10)洗浄 1 回
(13)洗浄(精製水) 1 回
と設定して染色終了し、以下、核染色を行う。

[対比染色]

- (1)全てのスライドを自動染色装置から取り出し、流水洗する。
- (2)対比染色試薬にスライドを浸す。
- (3)流水洗する。
- (4)[免疫染色の終了、封入]を行う(下記参照)。

[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)余分な液を振り払い、さらに別のキシレンに 3 分間浸す。
- 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)余分な液を振り払い、95%エタノールに 3 分間浸す。
 - (4)余分な液を振り払い、別の 95%エタノールに 3 分間浸す。

3.洗浄

余分な液を振り払い、PBS でよくすすぐ(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、または洗浄ビンを使用する)。

[免疫染色の準備・開始]

(1)①ブロッキング試薬 I、②抗原賦活化液、③-1 第一抗体、③-2 陰性コントロール、④ 酵素・第二抗体標識ポリマー、⑤ 基質溶液を取り扱いに注意し、静かに自動染色装置用試薬ボトルに移し、付属のラベルを貼付する。

(2)自動染色装置用試薬ボトルに移した試薬およびPBS、精製水を自動染色装置の所定の位置にセットする。

(3)検体標本スライド、試薬対照スライド、検体対照(陽性対照、陰性対照)スライドまたは陽性および陰性コントロールスライドを自動染色装置の所定の位置にセットする。

洗浄ビンにバッファーを入れておき、セット後、すぐに組織が覆われるようにバッファーをかけておく。

注)染色開始までの間に切片が乾燥しないように注意する。バッファーをかけた後、30分以上放置する場合は、30分おきにバッファーを組織が覆われるようにかけること。

(4)使用する自動染色装置の操作法の添付文書に従って染色を開始する。

[免疫染色の終了、封入]*

- (1)全てのスライドを自動染色装置から取り出す。
- (2)脱水、キシレンによる透徹後、非水溶性封入剤で封入する。
- (3)セットした①～④の試薬を自動染色装置から取り出し、2-8℃で保存する。
- (4)残った⑤基質溶液は廃棄する。*

【測定結果の判定法】

1.判定方法

光学顕微鏡によって陽性反応を観察する。検体組織中に HER2/*neu* タンパクが存在する場合、腫瘍細胞の膜および細胞質が茶褐色を呈する。染色強度の結果判定は、腫瘍細胞の膜における染色のみを対象とし、細胞質は判定の対象外である。

- (1) 検体対照スライドおよびコントロールスライドの特異染色性および染色強度を観察し、染色手順および構成試薬の性能を確認する。
- (2) すべての検体標本スライドを観察し、HER2/*neu* タンパク陽性所見を示す検体標本スライドを選択し、HER2/*neu* タンパク染色像を確認する。
- (3) 乳癌検体の場合、非浸潤性の癌細胞は検索対象から除外する。
- (4) まず、光学顕微鏡の 4 倍対物レンズを使用して、検体標本内の癌細胞の HER2/*neu* タンパク陽性染色像、陽性染色強度、陽性細胞率を観察する。
- (5) 次に対物レンズを 10 倍に切り替え、陽性所見が細胞膜か細胞質に局在するかを検索する。細胞質のみに陽性所見が見られるものは陰性と判定する。
- (6) ほとんどの検体組織において、10 倍対物レンズで細胞膜に局在する陽性像が確認できるが、陽性像が確認できない場合はさらに 20 倍対物レンズで検索する。

参考情報 5) (HER2 検査ガイド 胃癌編 トラスツマブ病理部会作成資料より、抜粋)
・胃癌検体の場合、胃癌の原発巣または転移巣の組織が検討対象となる(切除標本および生検標本)。

【試薬対照スライドの染色性】

腫瘍細胞に HER2/*neu* タンパクの過剰発現がない判定結果を認める。このスライドが腫瘍細胞に HER2/*neu* タンパクの過剰発現ありの判定結果を認めた場合、非特異的なタンパク結合による非特異的反応が考えられる。

【検体対照スライドまたはコントロールスライド※6の染色性】

- ・陽性対照スライド
腫瘍細胞に HER2/*neu* タンパクの過剰発現がある判定結果を認める。
- ・陰性対照スライド
腫瘍細胞に HER2/*neu* タンパクの過剰発現がない判定結果を認める。このスライドが腫瘍細胞に HER2/*neu* タンパクの過剰発現ありの判定結果を認めた場合、非特異的なタンパク結合による非特異的反応が考えられる。

※6：各施設において HER2/*neu* タンパクの過剰発現の基準となる検体対照スライドが確定するまで、別売りの「ヒストファイン HER2 コントロールスライド」を標準として、使用することを推奨する。

- ・コントロールスライド上の陽性細胞株 SK-BR-3
細胞膜に強い茶褐色の染色強度(3+)を認める。
- ・コントロールスライド上の陰性細胞株 SR
細胞膜に陽性を呈する細胞が認められない。

注) 染色写真(別紙)参照のこと。

2.判定基準

染色パターン	判定スコア	HER2/ <i>neu</i> タンパクの過剰発現の有無
検体組織中の腫瘍細胞の中で HER2/ <i>neu</i> 陽性を呈している細胞がない。または 10%に満たないもの。	0	なし
検体組織中の腫瘍細胞の中で HER2/ <i>neu</i> 陽性を呈している細胞が 10%以上あるが、腫瘍細胞の一部の膜に局限した弱い染色強度を有するもの。	1+	なし
検体組織中の腫瘍細胞の中で HER2/ <i>neu</i> 陽性を呈している細胞が 10%以上あり、腫瘍細胞の膜に局限した中程度の染色強度を有するもの。	2+	あり
検体組織中の腫瘍細胞の中で HER2/ <i>neu</i> 陽性を呈している細胞が 10%以上あり、腫瘍細胞の膜に局限した強度の染色強度を有するもの。	3+	あり

参考情報 5) (HER2 検査ガイド 胃癌編 トラスツマブ病理部会作成資料より、一部改変)

染色パターン	判定スコア	HER2/ <i>neu</i> タンパクの過剰発現の有無
細胞膜に陽性染色なし、あるいは細胞膜の陽性染色がある癌細胞が一切片に 10%未満である	0	なし
弱／ほとんど識別できないほどかすかな細胞膜の染色がある癌細胞が一切片に 10%以上認められる癌細胞は細胞膜のみが部分的に染色されている	1+	なし
弱～中程度の完全な側方あるいは側方・基底膜側の細胞膜の陽性染色がある癌細胞が一切片に 10%以上認められる	2+	境界域 (Equivocal)
強い完全な側方あるいは側方・基底膜側の細胞膜の陽性染色がある癌細胞が一切片に 10%以上認められる 全周性に認められない場合もある	3+	あり

染色パターン	判定スコア	HER2/ <i>neu</i> タンパクの過剰発現の有無
陽性染色なし、あるいは細胞膜の陽性染色がある癌細胞なし	0	なし
癌細胞の染色割合に関係なく、弱／ほとんど識別できないほどかすかな細胞膜の陽性染色がある癌細胞クラスター(集塊)*が 1 つ以上あり	1+	なし
癌細胞の染色割合に関係なく、弱～中程度の完全な側方あるいは側方・基底膜側の細胞膜の陽性染色がある癌細胞クラスター(集塊)*が 1 つ以上あり	2+	境界域 (Equivocal)
癌細胞の染色割合に関係なく、強い完全な側方あるいは側方・基底膜側の細胞膜の陽性染色がある癌細胞クラスター(集塊)*が 1 つ以上あり	3+	あり

※：5 個以上の腫瘍細胞の集塊と定義される

以上の判定基準により、染色結果を判定すること。
注) 染色写真(別紙)参照のこと。

3.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、各試薬対照スライド、各コントロール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) 細胞質および核に陽性染色が確認されることがある。染色強度の判定は腫瘍細胞の細胞膜の陽性染色強度により判定すること。
- (4) 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。
- (5) 一般的にタンパク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。
- (6) 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易いので、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) 検体組織から剥離した部分は評価対象としないこと。

参考情報

- (1) 小さい胃検体や胃食道接合部の生検標本を用いて検査をする場合は、免疫組織化学染色に十分な腫瘍細胞の存在を確認すると共に、腫瘍の形態学的損傷がないことを確認する。
- (2) 胃や胃食道接合部の検査においては、腫瘍組織のみを評価対象とし、腸上皮化生組織は対象にしない。生検標本の場合は、5 個以上の癌細胞の集塊を形成するクラスターを評価対象にする。

【性能】

用法・用量の操作方法に基づいて感度試験、正確性試験及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)感度試験

第一抗体および第一抗体を 0.01mol/L リン酸緩衝生理食塩水 (PBS) で 2 倍に希釈したものを試料として用いて、陽性コントロールスライド又は管理用組織スライドを染色する時、第一抗体では、所定のスコア (3+) が得られ、2 倍に希釈した第一抗体では、所定のスコア (3+) かそれよりもグレードが少し下がったスコア (2+) が得られる。

(2)正確性試験

第一抗体を試料として用いて、陽性コントロールスライド又は管理用組織スライドを染色するとき、所定のスコア (3+) が得られる。また、第一抗体のかわりに陰性コントロールを試料として用いて、同様に染色するとき、所定のスコア (0) が得られる。

(3)同時再現性試験

陽性コントロールスライド又は管理用組織スライド 3 枚を染色するとき、いずれのスライドにおいても所定のスコア (3+) が得られる。

○相関性

乳癌患者検体 60 例における本品と既承認品の染色性について、HER2/*neu* タンパク過剰発現の有無による相関性、スコア別の判定による相関性を検討した結果を下記に示す。また、乳癌患者検体 50 例について HER2/*neu* タンパク過剰発現の有無と遺伝子増幅の相関性を検討した結果も下記に示す。

＜相関性 1＞HER2/*neu* タンパク過剰発現の有無による相関性

本 品	既承認品			
		陽性 (2+、3+)	陰性 (0、1+)	合計
	陽性 (2+、3+)	22	0	22
	陰性 (0、1+)	2 注1	36	38
	合計	24	36	60

陽性一致率＝ 91.7%(22 検体/24 検体)

陰性一致率＝100.0%(36 検体/36 検体)

全体一致率＝ 96.7%(58 検体/60 検体)

注 1: 本品で陰性を示した 2 例は FISH 法でも陰性であったことから、臨床使用上の問題は生じないものと解釈した。

＜相関性 2＞スコア別 (0, 1+, 2+, 3+) の判定による相関性

		既承認品				
本品		3+	2+	1+	0	合計
	3+	19	1	0	0	20
	2+	0	2	0	0	2
	1+	0	2	10	1 注2	13
	0	0	0	8 注2	17	25
	合計	19	5	18	18	60

全体一致率＝95.0% (57 検体/60 検体)

注 2: 判定 1+および 0 と判定された検体は臨床検査上の取り扱いが同じため、全体一致率を算出する際は区別しなかった。

＜相関性 3＞HER2/*neu* タンパク過剰発現の有無と遺伝子増幅との相関性

本 品	既承認品			
		陽性 (FISH+)	陰性 (FISH-)	合計
	陽性 (2+、3+)	11	1	12
	陰性 (0、1+)	0	38	38
	合計	11	39	50

陽性一致率＝100.0%(11 検体/11 検体)

陰性一致率＝ 97.4%(38 検体/39 検体)

全体一致率＝ 98.0%(49 検体/50 検体)

【使用上又は取り扱い上の注意】

1. 取り扱い上 (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ものもあるので、取り扱いには十分注意すること。
- (3) すべての試薬の皮膚などへの接触を避けること。
- (4) 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。
- (5) 発色試薬には 0.025vol%過酸化水素水、ブロッッキング試薬 I には 3vol%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) キット内の構成試薬は 2－8℃で保存すること。
- (2) すべての試薬は常温(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) 異なるロットの試薬や他製品の試薬を混ぜたり、組み合わせて使用しないこと。
- (5) 染色開始前は、いかなる過程でも切片を乾燥させないようにすること。なお、バッファーを洗浄ビンに入れておき、自動染色装置にセットした後すぐに、組織が覆われるようにバッファーをかけておく。その後30分以上放置する場合は、30分おきにバッファーを、洗浄ビンを用いて組織が覆われるようにかけること。
- (6) 抗原は熱に弱いので、組織を包埋する際、必要以上にパラフィンの温度を上げないこと。使用するパラフィンの説明書をよく読んで使用すること。
- (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 枚処理するごとに取り替える。
- (8) 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。パラフィンを完全に除去して染色すること。
- (9) 薄切後 6 週間以上経過した組織切片を用いた場合、切片中の抗原が劣化して、偽陰性の染色結果を示す場合がある。薄切後 6 週間以内の組織切片を用いて染色すること。

3. 廃棄上の注意

- (1) 本品の第一抗体、陰性コントロール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は多量の水を流すこと。
- (2) 調製した⑤基質溶液には 3,3'-ジアミノベンジジンが含まれている。各施設のルールに従い、適切に処理すること。
- (3) 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 1.0vol% 次亜塩素酸などの消毒液に浸して一晩処理すること。

トラブル解決法

本キットの操作で遭遇する可能性のある問題点を以下に示す。

問題点	考えられる原因	対策
陽性対照スライド、陽性コントロール細胞株及び検体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。	① 切片を湿潤させた後は、乾燥させない。
	② 固定液の洗浄が不十分	② パラフィン包埋前に組織片の流水洗浄を行う。
	③ 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。	③ 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。 ③ キシレン、エタノール溶液を取り替える。
	④ 抗原賦活化処理(プロテアーゼ処理)や抗体反応が不十分。	④ 指定されたインキュベーション時間の設定となっているかを確認する。
	⑤ 抗原賦活化処理(プロテアーゼ処理)時の室内温度が低い。	⑤ 常温(15-25℃)にコントロールする。
	⑥ 抗原賦活化処理(プロテアーゼ処理)時間が短い。	⑥ 組織の固定状態によっては、処理時間を10分間で行う。
全ての染色スライドのバックグラウンドが強く染色される。	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。	① ブロッッキング試薬 I の処理時間を確認する。処理不足である場合は処理時間を延長する。
	② 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。	② できるだけ新鮮な組織を包埋する。
	③ 不完全なパラフィン除去。	③ キシレン、エタノール溶液を取り替える。
	④ 不十分な抗体の洗浄。	④ 抗体の洗浄の回数を増やす。
	⑤ 室内温度が高すぎて抗原賦活化処理(プロテアーゼ処理)が強すぎる。	⑤ 常温(15-25℃)にコントロールする。
反応中に組織切片がスライドからはがれてしまう。	① 室内温度が高すぎて、抗原賦活化処理(プロテアーゼ処理)が強すぎる。	① 常温(15-25℃)にコントロールする。
	② 抗原賦活化処理(プロテアーゼ処理)を必要とするためはがれ易くなる。	② 0.02%poly-L-lysine、シランなどの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：

ヒストファイン HER2 キット(MONO)自動染色装置用キット：12 ヶ月

【包装単位】

製品名	コード	包装単位
ヒストファイン HER2 キット(MONO)		
自動染色装置用キット	427047	50 テスト

【主要文献】

- 1) Yamamoto, T., et al : Nature 319 : 230-234, 1986
- 2) Slamon D.J., et al : Science 235, 177- 182, 1987
- 3) Yamada Y., et al : Jpn. J. Cancer Res. 80, 1192- 1198,1989
- 4) Robert C. Bast, et al : J Clin Oncol vol.19 No.6, 1865-1878, 2000
- 5) HER2 検査ガイド 胃癌編 トラスツズマブ病理部会

【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

この添付文書をよく読んでから使用してください。

体外診断用医薬品

**2015 年 11 月改訂(第 6 版)

*2014 年 8 月改訂(第 5 版)



組織検査用腫瘍マーカーキット

ヒストファイン HER2 キット(MONO)

自動染色装置用キット

貯 法：2-8℃保存

承認番号：21600AMZ00563000

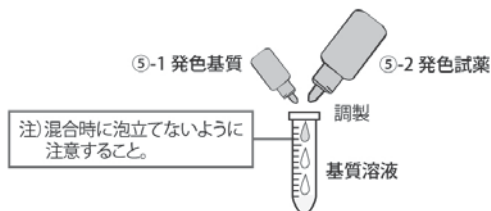
包 装：50 テスト

有効期間：製造後 12 ヶ月

Code：427047

操作手順

●基質溶液の調製



⑤-2発色試薬 500 μ Lに、⑤-1発色基質1滴(約20 μ L)を加え泡立てないように注意して混合する。
自動染色装置用試薬ボトルへ移した後、泡の有無を確認し、泡をピペットなどで取り除いて使用すること。
(遮光して冷蔵(2-8℃)保存し、調製日中に使用する。)

【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