

*この電子化された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

組織検査用腫瘍マーカーキット

ヒストファイン シンプルステイン MAX-PO(MULTI) ALK

ヒストステイナー用

**2026 年 10 月改訂（第 4 版）
*2025 年 2 月改訂（第 3 版）



承認番号：30200EZX00015000

【全般的な注意】

- 1.本キットは悪性リンパ腫における ALK タンパクを測定するよう検出感度が最適化されているため、非小細胞肺癌における ALK 陽性肺癌の診断および ALK 阻害剤の適応判定に用いないこと。
- 2.本キットは体外診断用であり、それ以外の目的に使用しないこと。
- 3.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。
- *4.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。
- 5.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。
- *6.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 注1 成分	**製品		
	**ヒストファイン シンプルステイン MAX-PO(MULTI) (ヒストステイナー用) 600 テスト	**DAB基質キット (ヒストステイナー用) 600 テスト	**抗 ALK モノクローナル抗体(AL1-2963) (ヒストステイナー用) 20 テスト
第一抗体 *抗 ALK モノクローナル抗体 (クローン: AL1-2963)(動物種: マウス)	—	—	4mL×1 本
陰性コントロール 注2 マウスイムノグロブリン	—	—	—
酵素標識第二抗体 注3 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) ペルオキシダーゼ標識抗ウサギ IgG ポリクローナル抗体(Fab') (動物種: ヤギ)	12mL×1 本 110mL×1 本	—	—
発色基質 (試薬 A) 注4 3,3'-ジアミノベンジジン・4HCl	—	3mL×2 本	—
基質緩衝液 (試薬 B) 注4	—	3mL×2 本	—
発色試薬 (試薬 C) 注4 過酸化水素水	—	3mL×2 本	—

付属品	製品区分
抗原賦活化液 注5	50mL×10 本
ブロッキング試薬 注6	12mL×1 本、110mL×1 本
PBS 注7	191g (20L 用)
洗浄液 注8	1L (10L 用)×8 本
基質溶液用専用試薬ボトル 注4	2 本

- 注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。
- 注2 陰性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3 酵素標識第二抗体(共通試薬)
酵素標識第二抗体は、以下の2品目で共通して使用可能である。使用に際しては、それぞれの電子化された添付文書をよく読んでから使用すること。

承認番号：21300AMZ00321000 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)
承認番号：30200EZX00015000 組織検査用腫瘍マーカーキット ヒストファイン シンプルステインMAX-PO(MULTI) ALK

別売りのヒストファイン シンプルステインMAX-PO(MULTI) (ヒストステイナー用) (下表参照)を使用すること。

構成試薬	製品名	コード	包装単位
酵素標識第二抗体	ヒストファイン シンプルステイン MAX-PO(MULTI) (ヒストステイナー用)	724152	600 テスト (12mL×1 本、 110mL×1 本)

- **注4 発色基質、基質緩衝液、発色試薬(共通試薬)
発色基質、基質緩衝液、発色試薬は以下の2品目で共通して使用可能である。使用に際しては、それぞれの電子化された添付文書をよく読んでから使用すること。

承認番号：21300AMZ00321000 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)
承認番号：30200EZX00015000 組織検査用腫瘍マーカーキット ヒストファイン シンプルステインMAX-PO(MULTI) ALK

別売りのDAB基質キット(下表参照)を使用すること。

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 (ヒストステイナー用)	725191	600 テスト (3mL×2 本 3mL×2 本 3mL×2 本)

基質溶液用専用試薬ボトル(空ボトル) 2本付

- 注5 抗原賦活化液は付属していないので、別売りの研究用試薬「ヒストファイン 抗原賦活化液pH9 コード: 415211 (10倍濃縮)」を使用すること。
- 注6 ブロッキング試薬は付属していないので、別売りの研究用試薬「ヒストファイン 過酸化水素水(ヒストステイナー用) コード: 715242」を使用すること。
- 注7 PBSは付属していないので、別売りの研究用試薬「ヒストファイン PBS コード: 415223」を使用すること。
- 注8 洗浄液は付属していないので、別売りの研究用試薬「ヒストファイン PBS(ヒストステイナー用) コード: 715224」を使用すること。

【使用目的】

組織、細胞中の ALK タンパクの検出(悪性リンパ腫の診断補助)

【測定原理】

本キットは、組織、細胞に対する免疫組織化学染色法により、腫瘍細胞中の ALK(Anaplastic Lymphoma Kinase)タンパクを検出する。染色操作は、自動染色装置(ヒストステイナーおよびそれと同等の装置)を用いて行う。組織または細胞に、まず ALK タンパクに対する特異的な第一抗体を反応させ、次に酵素と第二抗体を結合させたアミノ酸ポリマー(酵素標識第二抗体)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。このようにして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。

【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が生じることがあるので、指定された固定液を使用する。
- (2)抗原は熱に弱いので、組織を包埋する際には、使用するパラフィンの融解温度を大きく超えないように注意すること。
- (3)薄切切片を長期保存すると、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 4-6 週間以内に染色することを推奨する。

【用法・用量(操作方法)】

○検体の準備

腫瘍を含む組織を用いて、ホルマリン固定パラフィン包埋(Formalin-Fixed Paraffin-Embedded：FFPE)ブロックを作製する。
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%(緩衝)ホルマリン	

固定後、水洗い、エタノールに浸して脱水、キシレンに浸して脱アルコールを行い、パラフィン浸透をしてパラフィン包埋ブロックを作製する。

○切片および標本の準備

【パラフィン包埋切片】

切片を 3－6μm に薄切し、poly-L-lysine またはシラン等の切片用接着剤をコーティングしたスライドに貼り付ける。37℃の恒温器で十分に乾燥させる。

【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、第一抗体の代わりに陰性コントロール(マウスイムノグロブリン)を使用して染色操作を行う。

【検体対照スライドの準備】

(1) 陽性コントロールスライド

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、細胞スライドを準備する。

(2) 陰性コントロールスライド

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、細胞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。

【スライドバーコードラベルの印字と貼付】

- (1) ヒストステイナーの操作法に従って各スライドのスライドバーコードラベルを作成する。
- (2) スライドバーコードラベルをスライドのフロスト部分に貼り付ける。この時、バーコードが切片側にくるように注意する。

○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)
- ・恒温器
- ・キシレン、エタノール
- ・試験管
- ・温浴槽(95－99℃で加温できるもの)
- ・温度計
- ・自動染色装置ヒストステイナーシステム
- ・スライドバーコードラベル(ヒストステイナー用)
- ・試薬ボトル(ヒストステイナー用)
- ・吸水紙
- ・スライドスタンド
- ・対比染色試薬(ヘマトキシリン)
- ・封入剤(非水溶性封入剤)
- ・カバーガラス
- ・タイマー
- ・洗浄用容器または洗浄びん
- ・染色バット
- ・軍手、使い捨て手袋
- ・精製水
- ・光学顕微鏡

【構成試薬】

- ・第一抗体
- ・陰性コントロール
- ・酵素標識第二抗体
- ・発色基質
- ・基質緩衝液
- ・発色試薬

【付属品】

- ・抗原賦活化液
- ・ブロッキング試薬
- ・PBS
- ・洗浄液
- ・基質溶液用専用試薬ボトル

【構成試薬の調製方法】

- (1) 酵素標識第二抗体の調製方法
そのまま用いる。ヒストステイナーにセットする際、110mL のボトルから 12mL のボトルに移しかえて使用する。
 - (2) 基質溶液の調製方法
発色基質、基質緩衝液、発色試薬より基質溶液を調製する。
発色基質(試薬 A) 1 滴(約 20μL)と基質緩衝液(試薬 B) 1 滴(約 20μL)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 40μL)を加え、再び泡立ないように注意して混合する。取り扱いに注意し、静かに基質溶液用専用試薬ボトルに移す。遮光して冷蔵(2－8℃)保存し、調製後 1 週間以内に使用する。
注 1) 調製日の異なる基質溶液は、混合して使用しないこと。
注 2) 基質溶液用専用試薬ボトル中の液面上に泡があるとヒストステイナーのノズルが、泡の表面を液面と誤認識することがあり、その結果、液面までノズルが下がり、設定された試薬量を採取できない場合がある。試薬を基質溶液用専用試薬ボトルに移した後やヒストステイナーにセットする前には必ず、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。
 - (3) 陰性コントロールの調製方法
マウスイムノグロブリンを用意する。
- その他の構成試薬はそのまま用いる。

【付属品の調製方法】

- (1) 抗原賦活化液の調製方法
精製水で 10 倍に希釈する。

(2) PBS の調製方法

PBS(粉末)9.55g を精製水に溶解して 1L とする。

(3) 洗浄液の調製方法

精製水で 10 倍に希釈する。

その他の付属品はそのまま用いる。

【染色方法の設定】

ヒストステイナーの操作法に従って下記染色方法のプログラムを設定する。

注)()内の名称はヒストステイナープログラム内の「プロトコール要素」設定の際の名称である。

- (1)ブロッキング試薬(End. Enz. Block) 5 分間
- (2)バッファー(Rinse Buffer) 1 回
- (3)第一抗体(Primary Antibody) 30 分間
検体標本スライド、検体対照(陽性コントロール、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。
- (4)バッファー(Rinse Buffer) 2 回
- (5)酵素標識第二抗体(Labelled Polymer) 30 分間
- (6)バッファー(Rinse Buffer) 2 回
- (7)基質溶液(Substrate) 10 分間
- (8)バッファー(Rinse Buffer) 1 回
- (9)精製水(Rinse Water) 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。組織切片の大きさに応じて 150μL、200μL、400μL あるいは 600μL に設定することが可能である。

*【試薬バーコードラベル】

試薬バーコードラベルを使用する場合は、自動染色装置ヒストステイナーのプログラムにバーコードラベル情報を入力する必要がある。本製品が未登録の場合は、下記データを入力(漢字のみ全角、他半角入力)し、登録すること。

専用ボトルに貼付されているバーコードラベル内の情報	
登録するカテゴリ	Primary Antibody
試薬名	抗 ALK モノクローナル抗体 (AL1-2963)
試薬略称(10 文字)	ALK-AL1MM
バーコード	ALK-AL1MM
時間(分)	30

登録するカテゴリ	Labelled Polymer
試薬名	ジシアノベンゼン MAX-PO (Mu)
試薬略称(10 文字)	MAXPO-Mu
バーコード	MAXPO-Mu
時間(分)	30

上記以外の構成試薬の試薬バーコードラベル内の情報は、各試薬の使用説明書参照のこと。

【脱パラフィン】

明瞭な染色所見を得るには、包埋剤を完全に除去することが大切である。パラフィンが残存すると、バックグラウンド染色の原因となるため、パラフィンを完全に除去すること。
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。
キシレンがスライドバーコードラベルに接しないように注意する。キシレンがラベルに接すると、印字が消えやすくなる。もしラベルがキシレンで濡れたり、キシレンを取り扱った手袋で触れた場合、完全に乾燥するまでラベルに触れないようにスライドを扱うこと。

- 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
 - (1)余分な液を振り払い、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、または洗浄びんを使用する)。

【抗原賦活化処理】

- (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)調製した抗原賦活化液を耐熱性の染色バットに入れ、ゆるく蓋をする。これを温浴槽に入れ、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、蓋ははずす。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、または洗浄びんを使用する)。

【免疫染色の準備・開始】

- (1)ブロッキング試薬、第一抗体、陰性コントロール、酵素標識第二抗体、基質溶液は試薬ラック(ヒストステイナー用)にセットし、洗浄液、精製水は各給液ボトルにセットする。
- (2)検体標本スライド、試薬対照スライド、検体対照(陽性コントロール、陰性コントロール)スライドをスライドラック(ヒストステイナー用)にセットする。洗浄びんに洗浄液を入れておき、セット後、すぐに組織が覆われるように洗浄液をかけておく。
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。洗浄液をかけた後、30分以上放置する場合は、30分おきに洗浄液を組織が覆われるようにかけること。
- (3)ヒストステイナーの操作法に従って染色を開始する。

【免疫染色の終了、対比染色】

- (1)全てのスライドをスライドラック(ヒストステイナー用)から取り出し、流水洗する。
- (2)対比染色試薬(ヘマトキシリンなどの細胞核を染色する試薬)にスライドを浸す。
- (3)流水洗する。
- (4)セットした試薬を試薬ラック(ヒストステイナー用)から取り出し、2ー8℃で保存する。
- (5)基質溶液用専用試薬ボトルに残った基質溶液を保存せず廃棄する場合、基質溶液のみを廃棄後、ボトル内を精製水で洗浄し、完全に乾かしてボトルは再利用する。

【封入】

脱水、キシレンによる透徹後、非水溶性封入剤で封入し、カバーガラスをかける。
キシレンがスライドバーコードラベルに接しないように注意する。キシレンがラベルに接すると、印字が消えやすくなる。

【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。
検体組織中の腫瘍細胞の細胞質、核、もしくは細胞膜に染色が認められるとき、これを陽性所見とする。

【検体対照スライド、試薬対照スライドの染色性】

- ・陽性コントロールスライド
ALK タンパクの発現がある判定結果を認める。
- ・陰性コントロールスライド
ALK タンパクの発現がある判定結果を認めない。
- ・試薬対照スライド
ALK タンパクの発現がある判定結果を認めない。このスライドに陽性所見が認められた場合、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。

○判定基準

- (1) 陽性
検体組織中に、明らかな特異染色像(茶褐色)を呈している腫瘍細胞がある。
- (2) 陰性
検体組織中に、明らかな特異染色像(茶褐色)を呈している腫瘍細胞がない。

【判定不可】

各対照スライドにおいて以下の結果を得た場合は、検鏡を停止し、判定をしないこと。

現象	原因
(1)陽性コントロールスライド上に陽性所見が認められない場合	・陽性コントロールスライドが不適切であった。 ・染色操作に誤りがあった。
(2)陰性コントロールスライド上に陽性所見を認めた場合	・陰性コントロールスライドが不適切であった。 ・染色操作に誤りがあった。
(3) 試薬対照スライド上に陽性所見を認めた場合	・組織に対し、何らかの非特異的反応があると考えられるので、本検体については判定をしないこと。

○判定上の留意事項

- (1)染色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)神経系に分化した細胞を含む組織の一部に第一抗体による染色性が認められるので、それら組織を検体として使用する場合には、注意すること。
- (4)ALK 陽性未分化大細胞型リンパ腫と非小細胞肺癌における ALK 陽性肺癌は、いずれも ALK 融合遺伝子の形成がその原因となるが、腫瘍細胞における ALK タンパクの発現レベルは異なることが知られており、検出にあたってはそれぞれ適切な検出感度の設定が必要となる。^{文献(1) 文献(2)} 本キットは ALK 陽性未分化大細胞型リンパ腫における ALK タンパクを測定するよう検出感度が最適化されているため、非小細胞肺癌における ALK 陽性肺癌の診断および ALK 阻害剤の適応判定に用いないこと。
- (5)甲状腺のコロイドおよび脾臓の脾柱に検出系試薬由来の弱い非特異染色が見られることがあるので、試薬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。

- (6)以下のような場合には偽陽性反応が生じることが考えられるので、必ず検体対照スライドおよび試薬対照スライドの染色結果と比較して十分に注意して判定すること。
 - ・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。偽陽性反応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。
 - ・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。
 - ・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。
 - ・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。

【臨床的意義】

本キットは、免疫組織化学染色法により、腫瘍細胞中の ALK(Anaplastic Lymphoma Kinase)タンパクを検出する。
ALK はインスリン受容体ファミリーに属する受容体型チロシンキナーゼであり、ALK 融合遺伝子の存在により、ATP キナーゼドメインが恒常的に活性化して癌化をもたらす。ALK 融合遺伝子は、ALK 陽性未分化大細胞型リンパ腫の原因となることが知られており、腫瘍細胞中の ALK タンパクの発現を測定・評価することは、ALK 陽性未分化大細胞型リンパ腫の鑑別診断を行うにあたって極めて有用である。^{文献(3)}

○臨床性能試験

検体 189 例について、本キットと他社品(研究用試薬)との染色性を比較したところ、良好な相関性が得られた。

他社品(研究用試薬)		本 キ ッ ト	陽性一致率：100%(29 検体／29 検体) 陰性一致率：100%(160 検体／160 検体) 全体一致率：100%(189 検体／189 検体)
	陽性		
陽性	29	0	
陰性	0	160	
合計	29	160	189

検体 189 例について、WHO 分類第 4 版に基づき事前に検体採取施設でなされた診断を基準として、本キットの陽性一致率、陰性一致率を算出したところ、良好な一致率を示した。

WHO 分類第 4 版に基づくリンパ腫分類	検体数	陽性一致率
Anaplastic large cell lymphoma, ALK positive	29	96.6%(28 例/29 例)*
ALK positive large B-cell lymphoma	0	—(0 例/0 例)
合計		96.6%(28 例/29 例)

※不一致の 1 例は、ALK FISH 解析を行ったが判定不能であった。

WHO 分類第 4 版に基づくリンパ腫分類	検体数	陰性一致率
Chronic lymphocytic leukaemia /small lymphocytic lymphoma	2	100%(2 例/2 例)
Plasma cell neoplasms	1	100%(1 例/1 例)
Extranodal marginal zone lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue (MALT lymphoma)	26	100%(26 例/26 例)
Nodal marginal zone lymphoma	1	100%(1 例/1 例)
Follicular lymphoma	27	100%(27 例/27 例)
Mantle cell lymphoma	7	100%(7 例/7 例)
Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL), NOS	59	100%(59 例/59 例)
EBV positive DLBCL of the elderly	1	100%(1 例/1 例)
Plasmablastic lymphoma	1	100%(1 例/1 例)
Burkitt lymphoma	2	100%(2 例/2 例)
Adult T-cell leukaemia/lymphoma	2	100%(2 例/2 例)
Extranodal NK/T-cell lymphoma, nasal type	1	100%(1 例/1 例)
Enteropathy-associated T-cell lymphoma	1	100%(1 例/1 例)
Peripheral T-cell lymphoma, NOS	1	100%(1 例/1 例)
Angioimmunoblastic T-cell lymphoma	4	100%(4 例/4 例)
Anaplastic large cell lymphoma, ALK negative	11	90.9%(10 例/11 例)*
Nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma	1	100%(1 例/1 例)
Classical Hodgkin lymphoma	5	100%(5 例/5 例)
Other iatrogenic immunodeficiency-associated lymphoproliferative disorders	4	100%(4 例/4 例)
Others		
Atypical lymphoid infiltration/Low grade lymphoma susp	1	100%(1 例/1 例)
Castleman disease	1	100%(1 例/1 例)
Lymphoid hyperplasia	1	100%(1 例/1 例)
合計		99.4%(159 例/160 例)

※不一致の 1 例は、ALK FISH 解析によって *ALK* 遺伝子の転座が確認された。

【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)感度試験

第一抗体および、第一抗体を第一抗体希釈液にて2倍希釈したものを用い、陽性コントロール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とき、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。

(2)正確性試験

陽性コントロール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とき、明らかな特異染色像(茶褐色)が観察される。第一抗体の代わりに陰性コントロールを用いて染色するとき、特異染色像は観察されない。

(3)同時再現性試験

陽性コントロールスライド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枚を染色するとき、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。

- 注1) 第一抗体希釈液
ウシ血清アルブミン(BSA)とアジ化ナトリウムを含むリン酸緩衝生理食塩水(PBS)
- 注2) 陽性コントロールスライド
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、細胞スライド。

*【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)検体組織には、HIV、HBVなどの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。
- (2)検査にあたっては、感染の危険を避けるため、使い捨て手袋等を着用すること。
- (3)試薬が皮膚などへ接触しないようにすること。万が一、誤って眼や口に入ったり、皮膚に付着したりした場合は、水で十分に洗い流す等の応急処置を行い、必要ならば、医師の診断を受けること。
- (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、取り扱いには十分注意すること。

2.使用上の注意

- (1)すべての試薬は2-8℃で保存すること。
- (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)異なるロットの試薬や他製品の試薬を混ぜて使用しないこと。
- (5)調製日の異なる基質溶液を混ぜて使用しないこと。
- (6)各構成試薬は個別に補充できる。

3.廃棄上の注意

- (1)第一抗体にはアジ化ナトリウムが含まれており、使用後は非有害廃液ボトルへ蓄積される。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、蓄積された試薬は多量の水とともに洗い流すこと。
- (2)調製した基質溶液には3,3'-ジアミノベンジジンが含まれており、使用後は有害廃液ボトルへ蓄積される。蓄積された試薬は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、廃棄する前に、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晚処理した後、医療廃棄物等に関する規定および水質汚濁防止法等の規制に従って処理すること。
- (4)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	対策
○陽性コントロールスライドおよ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。	・切片を湿潤させた後は、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 酵素や抗体反応が不十分。	・基質溶液をヒストステイナーにセットする直前に調製する。 ・抗体との反応時間を十分ににする。特に、第一抗体では指定された反応時間を設定する。
	④ 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。
	⑤ 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40μL)、基質緩衝液(試薬B)2滴(約40μL)、発色試薬(試薬C)1滴(約40μL)の基質溶液を調製し、使用する。
○陽性コントロールスライドは染色されるが、検体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。
	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。	・試薬の反応時間を長くする。
○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。	・ブロッキング試薬による指定された処理を設定する。または、設定処理時間を5分間から10分間に延長する。
	② 非特異結合成分がある。	・第一抗体の添加前に10%ヤギ正常血清で処理する。
	③ 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。	・可能な限り、新鮮な組織を包埋する。
	④ 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。
	⑤ 不十分な抗体の洗浄。	・抗体の洗浄の回数を増やす。
	⑥ 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。
○反応中に組織切片がスライドからはがれてしまう。	① スライドへの切片の貼り付けが不十分。	・0.02%poly-L-lysine、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：18ヶ月

【包装単位】

製品名	コード	包装単位
第一抗体 抗 ALK モノクローナル抗体 (AL1-2963) (ヒストステイナー用)	728321	20 テスト (4mL×1本)
**酵素標識第二抗体 ヒストファイン シンプルステイン MAX-POCMULTI(ヒストステイナー用)	724152	600 テスト (12mL×1本、110mL×1本)
**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 (ヒストステイナー用)	725191	600 テスト (3mL×各2本、基質溶液用専用試薬ボトル2本)

*【主要文献】

- 1) Martelli MP, et al. EML4-ALK rearrangement in non-small cell lung cancer and non-tumor lung tissues. Am J Pathol. 2009 Feb;174(2):661-70.
- 2) Rodig SJ, et al. Unique clinicopathologic features characterize ALK-rearranged lung adenocarcinoma in the western population. Clin Cancer Res. 2009 Aug 15;15(16):5216-23.
- 3) 中澤温子. 未分化大細胞型リンパ腫・ALK陽性型. 中村 栄男 他編. リンパ腫アトラス. 第5版. 東京: 文光堂; 2018. p.258-61

【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