

前列腺病变组织免疫组化双染三标检测试剂盒

(第三版)

产品编号: KIT-8801/8802

前言

迈新前列腺病变组织免疫组化双染检测试剂盒采用组合式单克隆抗体和双酶标记方法, 在一张前列腺组织切片中同时检测三种抗原: AMACR/p504s (α -Methyl-coaldehyde CoA Racemase)、p63 和 HMW CK 存在状态。AMACR 是前列腺癌特异标记物, 在前列腺癌 (PC) 中高表达, 正常前列腺组织中不表达, 但在前列腺上皮内瘤变 (PIN) 及不典型增生 (AAH) 组织中可有散在弱表达^[1, 2]。p63 和 HMW CK 分别标记前列腺基底细胞的细胞核和细胞质, 二者联合应用可提高基底细胞的检出率。正常前列腺腺体有两层细胞 (基底细胞和腺上皮细胞), 而前列腺癌则没有或仅残留少量基底细胞, 这样采用三种组合式抗体就能在同一张切片中直接观察各种病变, 便于比较, 有利于 PC、PIN、AAH 和正常前列腺组织鉴别, 尤其对疑难病例提供极大的帮助。试剂盒采用非生物素检测系统, 较传统双染实验大大缩短了实验时间, 并规避了内源性生物素对实验结果的干扰。

应用范围

本试剂盒适用于前列腺切除标本、针刺活检标本、电切标本、经尿道切除标本进行 PC、PIN、AAH 及正常前列腺组织的鉴别, 尤其适用于常规福尔马林固定石蜡包埋切片。

试剂盒组成

试剂 1:	双染试剂盒专用抗原修复液 (50x)		100ml
试剂 2:	即用型内源性过氧化物酶阻断剂		6ml/3ml
试剂 3:	即用型组合一抗 (AMACR+p63+HMW CK)	绿色溶液	6ml/3ml
试剂 4:	即用型酶标第二抗体	紫色溶液	6ml/3ml
试剂 5A:	显色剂 A1 (1x)		6ml/3ml
试剂 5B:	显色剂 A2 (1x)		6ml/3ml
试剂 6A:	显色剂 B1 (即用型)		12ml/6ml
试剂 6B:	显色剂 B2 (20x)		1ml/0.5ml
试剂 7:	即用型苏木素复染液		12ml/6ml
其他组成:	阳性片		2 张

需要但不提供的材料和试剂

用于显微镜下观察的切片、温度能维持在 $70^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ 的烘箱、10%中性缓冲福尔马林、染色盒、定时器、二甲苯、95%/85%/无水乙醇、染色架、冲洗瓶、中性树胶、盖玻片、光学显微镜。

<http://www.maxim.com.cn>

E-mail: info@maxim.com.cn

免费电话: 800-8581156 400-8899853

传真: 0591-83720685

免疫组化染色步骤流程图



免疫组化染色步骤

1. 石蜡切片脱蜡、水化。
2. 对组织进行有效的抗原修复：双染试剂盒专用抗原修复液（试剂1）与蒸馏水按 1：50进行配制，100℃煮沸20分钟，自然冷却至室温，流水冲洗，PBS冲洗3×3分钟。
3. 除去PBS液，每张切片加1滴或50μl内源性过氧化物酶阻断剂（试剂2），室温下孵育10分钟。PBS冲洗3×3分钟。
4. 除去PBS液，每张切片加1滴或50μl组合一抗（试剂3），室温下孵育60分钟。PBS冲洗3×3分钟。
5. 除去PBS液，每张切片加1滴或50μl酶标第二抗体（试剂4），室温下孵育15分钟。PBS冲洗3×3分钟。
6. 除去PBS液，每张切片加100μl显色液A（试剂5：显色剂A1与显色剂A2按1:1进行配制，现配现用，30分钟内有效），显色8-20分钟，可在显微镜下观察掌握染色时间，阳性染色为红色。PBS冲洗2×3分钟。
7. 除去PBS液，每张切片加100μl显色液B（试剂6：显色剂B1与显色剂B2按20:1进行配制或1ml显色剂B1中加入1滴显色剂B2），显色3-10分钟，可在显微镜下观察掌握染色时间，阳性染色为棕黄（褐）色。PBS冲洗2×3分钟。
8. 除去PBS液，每张切片加100μl显色液A（试剂5：显色剂A1与显色剂A2按1:1进行配制，现配现用，30分钟内有效），显色8-20分钟，可在显微镜下观察掌握染色时间，阳性染色为红色。蒸馏水冲洗三次。
9. 除去蒸馏水，每张切片加2滴苏木素复染液（试剂7）浅染15-30秒，流水冲洗干净；PBS蓝化，流水冲洗干净。
10. 除去多余的水分，切片烘干并冷却至室温时直接滴加中性树胶封固或切片经梯度乙醇脱水和二甲苯透明（各5-10秒）、中性树胶封固。

结果分析

AMACR主要表达于前列腺癌、前列腺上皮内瘤变及前列腺上皮非典型性增生的瘤细胞的细胞质中，呈棕黄（褐）色；p63和HMW CK分别表达于基底细胞的细胞核和细胞质，呈红色。

试剂盒贮存条件

本试剂盒宜2-4℃保存，稳定期12个月。

<http://www.maxim.com.cn>

E-mail: info@maxim.com.cn

免费电话: 800-8581156 400-8899853

传真: 0591-83720685

表1 前列腺主要组织学类型双染三标表达判读说明

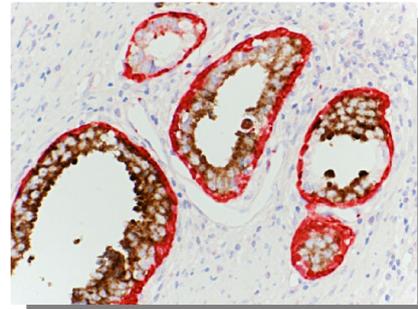
	AMACR/p504s	p63+ HMW CK	备注
正常前列腺组织	-	+	腺体周围基底细胞完整
PIN、AAH	+	+	腺体周围基底细胞完整或不完整
PC	+	-	腺体周围未见基底细胞

注意事项

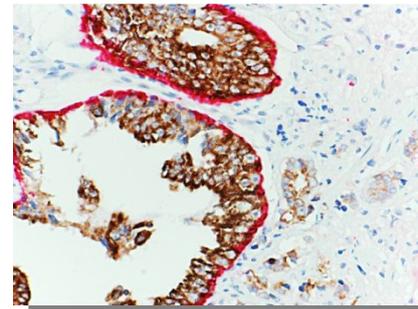
1. 若将本试剂盒中的任一试剂与其他公司的试剂混合使用，我们将不能保证染色结果的有效性。
2. 过有效期的试剂盒中的一种或多种试剂的活性可能降低，因此建议不使用过期的试剂，以保证结果的可靠。
3. 提供的试剂已为最佳滴度，进一步稀释将导致抗原染色的减弱，任何此类的改变都应由使用者确认。组织处理和技术过程的不同将可能导致必备的常规染色内部对照的结果的显著不同。
4. 不同于指定说明的孵育时间和温度将可能导致错误结果，任何此类的变化都应由使用者确认。
5. 避免试剂受到微生物污染，否则会出现错误结果，试剂及操作过程应避免长时间暴露在强光下。
6. 本试剂盒仅供研究使用。

参考文献

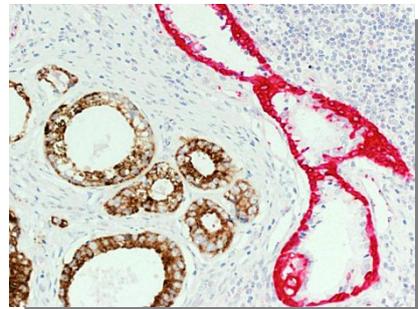
1. Jiang Z, Woda BA, Rock KL, et al. AMACR: a new molecular marker for the detection of prostate carcinoma. *AMJ Surg Pathol*, 2001, 25: 1397-1404.
2. 陈光勇, 刘丽娜, 周小鸽, 张长淮, 黄受方. α 甲酰基辅酶A消旋酶AMACR在前列腺癌诊断和鉴别诊断中的作用. *中华病理学杂志*, 2004, 5: 419-423.
3. Zhong Jiang, MD, Cuizhen Li, MD, PhD, Andrew Fischer, MD, Karen Dresser, and Bruce A. Woda, MD, Using an AMACR (AMACR)/34 β E12/P63 Cocktail for the Detection of Small Focal Prostate Carcinoma in Needle Biopsy Specimens, *Anatomic Pathology*,



前列腺穿刺标本，PIN II级，腺体中AMACR阳性（棕黄/褐色），腺体周围基底细胞完整，p63/HMW CK阳性（红色）。



前列腺穿刺标本，右边前列腺癌AMACR阳性（棕黄色），其周无基底细胞。左边PIN III级，腺上皮AMACR阳性（棕黄/褐色）；p63/HMW CK阳性（红色），显示基底细胞完整。



前列腺穿刺标本，左边前列腺癌AMACR阳性（棕黄色），其周无基底细胞。右边见一残留正常腺体，可见p63/HMW CK阳性（红色）。