



研究用試薬

ヒストファイブ

第一抗体

抗ケラチン/サイトケラチン20モノクローナル抗体(Ks20.8)

(動物種: マウス)

包装: 50 テスト (6mL) Code: 413491

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

■特異性および抗原分布: ヒト組織中のタイプ I (酸性) に属するヒトケラチン 20 (分子量 46kD) と特異的に反応する。ケラチンは分子量(MW)、等電点(pI)により、タイプ I (酸性)、II (塩基性) に分類される。正常では、腸上皮細胞、胃小窩の上皮、幽門腺の上部にある内分泌細胞や、移行上皮、表皮中のメルケル細胞に反応がみられる。腫瘍では、胆嚢および胆管の腺癌、粘液性卵巣腫瘍、移行上皮癌およびメルケル細胞癌に反応がみられるが、胃の腺癌では反応が低く、乳腺、肺、子宮内膜の腺癌および非粘液性卵巣腫瘍では反応がみられない。また膵臓の腺癌では反応がみられるが、肺小細胞癌、腸および膵臓の内分泌腫瘍では反応がみられないことがある。

■クローン名: Ks20.8

■抗体のサブクラス: IgG2a、 κ

■免疫原: ヒト十二指腸粘膜の絨毛から単離した細胞骨格画分。

1. 内容

第一抗体・・・抗ケラチン/サイトケラチン 20 モノクローナル抗体(Ks20.8) (動物種: マウス)。

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)にて、即時使用可能な抗体濃度に希釈済み。

1 バイアル中に 6mL を含む。

2. 使用目的

組織・細胞中のヒトケラチン/サイトケラチン 20 の染色。

**3. 使用方法

パラフィン包埋切片の免疫組織化学染色および免疫細胞化学染色に使用できる第一抗体である。

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ブ プロテアーゼ溶液(Code: 415231)を用いて5-15分間(25℃)の酵素処理が必要である(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(100 μ L)滴下し、常温(15-25℃)で30分~1時間インキュベートする**

この反応時間は、ヒストファイブ シンプルステイン MAX-PO(M)を使用する場合の目安であり、他のキットを使用する場合は、研究者自身が至適反応時間を調べる必要がある。

■参考: 組織の固定状況等によりプロテアーゼ処理の代わりにヒストファイブ 抗原賦活化液 pH9(コード: 415201 またはコード: 415211)を用いたオートクレーブ処理をすることで、より良好な染色結果が得られる場合がある(裏面の■参考参照)。

4. 貯法

2-8℃保存。

5. 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。

6. 主要文献

- (1) Moll, R., et al : Journal of Cell Biology 111 : 567-580, 1990
- (2) Moll, R., et al : American Journal of Pathology 140(2) : 427-447, 1992
- (3) Jianyou T., et al : HUMAN PATHOLOGY 29 : 390-396, 1998
- (4) S N Leech, et al : Journal of Clinical Pathology 54 : 727-729, 2001
- (5) Subramanian V., et al : BMC Urology 2:7 : 2002
- (6) Ren-Jeng P., et al : Med Electron Microsc 37 : 114-118, 2004

■研究用としてのみ使用すること。

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

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): プロテアーゼ処理 5-15分間/25℃ → PBS洗浄**

[染色手順] <シンプルステインMAX-PO(M)キット使用の場合>

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(M)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。
- ・ 4.のプロセスは3.の前に行ってもよい。
- ・ ヒストファインSABキットを使用する場合は上記1.~4.までを行いSABキットの操作方法に従って染色を行う。

■参考: ヒストファイン 抗原賦活化液pH9(コード: 415201またはコード: 415211)、オートクレーブ処理を用いる場合(おもて面の■参考参照)
前処理(抗原賦活化): オートクレーブ(AC)処理

- ①緩衝液(下記記載)を耐熱性バットに入れ、切片を浸す。
 - ②バットに蓋をする。蓋が取れないように輪ゴムでとめる。
 - ③120℃、20分間オートクレーブ処理する。
 - ④圧力が十分下がった後、バットごと切片を取り出す。
 - ⑤バットの蓋をはずし、バットごと切片を常温に20分以上放置し、ゆっくり熱を冷ます。
- ※オートクレーブ処理後は、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)。

・ 抗原賦活化液pH9の作り方

- | |
|---|
| <ul style="list-style-type: none">・ コード: 415201 抗原賦活化液pH9 (調製済)は、そのまま用いる。・ コード: 415211 抗原賦活化液pH9 (10倍濃縮)は、精製水で10倍希釈する。 |
|---|