



研究用試薬

ヒストファイブ

第一抗体

抗 CDX-2ウサギモノクローナル抗体

(動物種：ウサギ)

包装：50 テスト (6mL)

Code：418011

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 CDX2(caudal-related homeodomain protein 2)タンパク質と特異的に反応する。CDX2 遺伝子¹⁾は、Homeobox gene family のひとつであり、転写因子機能を有し、主に、腸粘膜の発達と維持に関与している。正常では、腸管上皮(十二指腸～直腸)の核に発現がみられる。腫瘍では、大腸腺癌^{3),7),15)}、十二指腸腺腫、胃腺癌^{2),5),11)}、食道腺癌、卵巣粘液性腺癌等^{8),9),10)}で高い頻度で発現がみられる⁶⁾。膵腺癌、胆管癌、胆嚢癌、カルチノイド^{14),16)}でも発現がみられ、頻度は低いが、肺非小細胞癌⁶⁾でもみられる場合がある。肝細胞癌、非粘液性卵巣癌、膀胱移行上皮癌、扁平上皮癌、肺腺癌^{4),13)}、肺小細胞癌等ではみられない⁶⁾。

注) 組織の固定状態等により、肝細胞の細胞質に染色所見(弱から中程度の強度)がみられる場合がある。

■ **クローン名**：EPR2764Y■ **抗体のサブクラス**：ウサギ IgG■ **免疫原**：ヒト CDX-2 の N 末端近くの残基に対応する合成ペプチド■ **製法**：培養上清から得ている。

1. 内容

第一抗体・・・抗 CDX-2ウサギモノクローナル抗体(動物種：ウサギ)。

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)中にて、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 CDX-2 の染色。

*3. 使用方法

パラフィン包埋切片の免疫組織化学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 抗原賦活化液 pH9 (Code:415201 または Code:415211)を用いたオートクレーブ処理が必要である(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 $^{\circ}$ C)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(R)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抗原賦活化液 pH9(Code：415201 または Code：415211)の代わりに 10mM クエン酸緩衝液 (pH6.0)を用いたオートクレーブ処理をすることで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 $^{\circ}$ C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. 参考文献

- (1) F. Drummond, et al: Ann. Hum. Genet. 61: 393-400, 1997
- (2) Seno H, et al: Int J Oncol. 21(4) : 769-774, 2002
- (3) Moskaluk CA, et al: Mod Pathol 16(9): 913-919, 2003
- (4) Barbareschi M, et al: Am J Surg Pathol. 27(2): 141-149, 2003
- (5) Mizoshita T, et al: J Cancer Res Clin Oncol. 129(12): 727-734, 2003
- (6) Robert W. Werling, et al: Am J Surg Pathol. 27(3): 303-310, 2003
- (7) Saad RS, et al: Cancer. 25;102(3): 168-173, 2004
- (8) Raspollini MR, et al: Appl Immunohistochem Mol Morphol. 12(2): 127-131, 2004
- (9) Kim MJ.: J Korean Med Sci. 20(4): 643-648, 2005
- (10) Mazziotta RM, et al: Appl Immunohistochem Mol Morphol. 13(1): 55-60, 2005
- (11) Fan Z, et al: Clin Cancer Res. 11(17): 6162-6170, 2005
- (12) José A Ortiz-Rey, et al: Appl Immunohistochem Mol Morphol. 13(2): 142-146, 2005
- (13) Levine PH, et al: Diagn Cytopathol. 34(3): 191-195, 2006
- (14) Jaffee IM., et al: Arch Pathol Lab Med 130: 1522-1526, 2006
- (15) Tanaka S, et al: Oncol Rep. 18(1): 87-92, 2007
- (16) Lin X, et al: Appl Immunohistochem Mol Morphol. 15(4): 407-414: 2007

■ 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

[切片の準備]

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) : オートクレーブ処理
 - 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)。

[染色手順] < ヒストファイン シンプルステインMAX-PO(R)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(R)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.まで行いSABキットの操作方法に従って染色を行う。
- ・抗原賦活化液pH9の作り方

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

■ 参考 : 10mMクエン酸緩衝液(pH6.0)、オートクレーブ処理を用いる場合(おもて面の■参考参照)

・ 10mM クエン酸緩衝液 (pH6.0) の作り方

A液9mL+B液41mL+精製水450mL (用時調製)

- | |
|--|
| <p>A液 : 0.1M クエン酸水溶液 : 常温で保存可能
クエン酸一水和物 (C₆H₈O₇ · H₂O) 2.1g/精製水 100mL</p> <p>B液 : 0.1M クエン酸ナトリウム水溶液 : 常温で保存可能
クエン酸三ナトリウム二水和物 (C₆H₅O₇Na₃ · 2H₂O) 14.7g/精製水 500mL</p> |
|--|

ここから必要な時に調製する。