

研究用試薬

ヒストファイン

第一抗体

抗 ERG 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：418111

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

■ **特異性及び抗原分布**：ヒト ERG(Ets-related gene; ETS 関連遺伝子)タンパクと特異的に反応する。ERG は、DNA 結合転写因子で、41kDa の核タンパクである。細胞の発生、分化、増殖、アポトーシス、組織の再構築などにおいて重要な役割を果たす ETS(erythroblast transformation-specific)転写因子ファミリーのメンバーである。ERG を含むいくつかの ETS 転写因子ファミリー遺伝子の転座は、腫瘍の発生と進行に関連していることが報告されている⁽¹⁾⁽²⁾。正常組織では、多くの組織の血管内皮細胞やリンパ球、骨髄前駆細胞などの核に反応がみられるが腺上皮には反応はみられない。腫瘍組織では、前立腺癌⁽³⁾⁻⁽⁹⁾⁽¹⁴⁾⁽¹⁵⁾(欧米では全体の 50%程度⁽¹⁰⁾⁽¹³⁾、日本では全体の 16-28%程度)、高度異型前立腺上皮内腫瘍(high grade prostatic intraepithelial neoplasia; HGPIN)(10-20%)等の腫瘍細胞の核に反応がみられる。また、多種の血管腫瘍等の腫瘍細胞の核にもみられる⁽¹²⁾。良性前立腺過形成(benign prostatic hyperplasia; BPH)や増殖性炎症性萎縮(proliferative inflammatory atrophy; PIA)では反応はみられない。前立腺癌において TMPRSS2-ERG 遺伝子融合が確認されている場合、より悪性度の高い前立腺癌に関連しているとの報告がある。

■ クローン名：EP111

■ 抗体のクラス/サブクラス：Rabbit IgG

■ 免疫原：ヒト ERG タンパクの C 末端残基に対応する合成ペプチド

■ 製法：アフィニティー精製して得ている。

1. 内容

第一抗体・・・抗 ERG 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 ERG タンパクの染色。

ホルマリン固定パラフィン包埋切片の免疫染色に使用できる。

研究用としてのみ使用すること。

*3. 使用方法

組織切片の場合、前処理(抗原賦活化)としてヒストファイン 抗原賦活化液pH9(Code:415201又は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、ヒストファイン 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。

■ 組織の固定状況等が染色結果に影響を及ぼすため学会等が推奨する固定液や固定時間を遵守し、検体の取扱いには十分注意すること。染色条件を変更することで良好な染色結果が得られる場合があるが、組織へのダメージや偽陽性化、偽陰性化が起こるおそれがあるため、研究者自身の責任において至適条件をよく検討すること。

4. 貯法及び使用上の注意

1. 2-8 $^{\circ}$ C保存。

*2. 使用期限はラベルに記載されているので使用前に確認すること。

3. 使用前に室温に戻すこと。

4. 使用後は速やかに冷蔵保存すること。

5. 異なるロットの試薬や他製品の試薬を混ぜたりしないこと。

5. 取扱い上(危険防止)の注意

*1. 使用期限の過ぎた試薬は使用しないこと。

*2. 本品に関する化学物質の安全情報は安全データシート(SDS)を参照すること。

3. 本品を吸い込んだり、眼、口、皮膚、衣類などへの接触を避けること。

4. 本品の廃棄の際には、各施設や地域及び国のルールに従い、適切に廃棄すること。

5. 本品は、動物由来成分を含むので、取扱いに注意が必要である。

*6. 本品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、鉛との反応によって爆発の危険性があるので、多量の水とともに洗い流すこと。

*7. ヒト由来の検体は、感染の恐れがあるので適切な取扱い及び廃棄法を用いるとともに、免疫染色を実施するにあたって、関連技術及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) Reddy ES, et al. The erg gene: a human gene related to the ets oncogene. Proc Natl Acad Sci U S A. 1987 Sep;84(17):6131-5.
- (2) Oikawa T. ETS transcription factors: possible targets for cancer therapy. Cancer Sci. 2004 Aug;95(8):626-33.
- (3) FitzGerald LM, et al. Association of TMPRSS2-ERG gene fusion with clinical characteristics and outcomes: results from a population-based study of prostate cancer. BMC Cancer. 2008 Aug 11;8:230.
- (4) Kumar-Sinha C, et al. Recurrent gene fusions in prostate cancer. Nat Rev Cancer. 2008 Jul;8(7):497-511.
- (5) Leong M, et al. Overexpression of truncated ERG from TMPRSS2-ERG fusion and prostate cancer development. Pathol Lab Med Int 2009;1:13-21
- (6) Furusato B, et al. ERG oncoprotein expression in prostate cancer: clonal progression of ERG-positive tumor cells and potential for ERG-based stratification. Prostate Cancer Prostatic Dis. 2010 Sep;13(3):228-37.
- (7) Minner S, et al. ERG status is unrelated to PSA recurrence in radically operated prostate cancer in the absence of antihormonal therapy. Clin Cancer Res. 2011 Sep 15;17(18):5878-88.
- (8) Falzarano SM, et al. ERG gene rearrangement status in prostate cancer detected by immunohistochemistry. Virchows Arch. 2011 Oct;459(4):441-7.
- (9) Chaux A, et al. Immunohistochemistry for ERG expression as a surrogate for TMPRSS2-ERG fusion detection in prostatic adenocarcinomas. Am J Surg Pathol. 2011 Jul;35(7):1014-20.
- (10) Park K, et al. Antibody-based detection of ERG rearrangement-positive prostate cancer. Neoplasia. 2010 Jul;12(7):590-8.
- (11) Huang L, et al. The oncogenic gene fusion TMPRSS2: ERG is not a diagnostic or prognostic marker for ovarian cancer. Int J Clin Exp Pathol. 2011;4(7):644-50. Epub 2011 Sep 15.
- (12) Miettinen M, et al. ERG transcription factor as an immunohistochemical marker for vascular endothelial tumors and prostatic carcinoma. Am J Surg Pathol. 2011 Mar;35(3):432-41.
- (13) Rosen P, et al. Clinical potential of the ERG oncoprotein in prostate cancer. Nat Rev Urol. 2012 Feb 14;9(3):131-7.
- (14) Braun M, et al. ERG protein expression and genomic rearrangement status in primary and metastatic prostate cancer—a comparative study of two monoclonal antibodies. Prostate Cancer Prostatic Dis. 2012 Jun;15(2):165-9.
- (15) Hoogland AM, et al. ERG immunohistochemistry is not predictive for PSA recurrence, local recurrence or overall survival after radical prostatectomy for prostate cancer. Mod Pathol. 2012 Mar;25(3):471-9.

*免疫染色における操作手順及び前処理(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。

[脱パラフィン]

2. 脱パラフィン → 親水化 → PBS

[抗原賦活化処理]

3. 前処理(抗原賦活化): オートクレーブ処理

- ① 調製した抗原賦活化液(下記記載)を耐熱性の染色バットに入れ、スライドを浸漬させる。
- ② 染色バットに蓋をする。蓋が取れないように輪ゴムでとめる。
- ③ 120℃、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、染色バットをオートクレーブから取り出し、蓋をはずす。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。
※オートクレーブ処理後は、染色バット及び抗原賦活化液等が高温になっている。これらを取り扱う際は、手袋等を使用して火傷に注意する。
- ⑤ 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、又は洗浄びんを使用する)。

[染色手順] <ヒストファイブ 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5分間ずつ容器を2度かえるか、又は洗浄びんを使用する。
- ・4.のプロセスは3.の前に行ってもよい。
- ・ヒストファイブ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。

・抗原賦活化液

「抗原賦活化液pH9」の調製方法

- ・ 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。