

研究用試薬

ヒストファイン

第一抗体

抗ウロプラキンIIモノクローナル抗体

(動物種：マウス)

包装：50テスト(6mL)

Code：418121

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**：ヒトウロプラキン II (Uroplakin II)と特異的に反応する。ウロプラキン II は分子量約 15kDa の膜糖タンパク質で、ウロプラキン Ia、Ib、III とともに尿路系上皮を形成する移行上皮の被蓋細胞であるアンブレラ細胞の形成に関与し、尿路上皮の透過性バリアー機能を高めている⁽⁴⁾。Uroplakin II の mRNA は膀胱がん組織や原発性または転移性膀胱癌患者の末梢血で発現していることが報告されている⁽¹⁾⁻⁽³⁾。正常ではヒト腎盂、尿管、尿道、膀胱などの移行上皮の細胞膜と細胞質に強い染色がみられる。腫瘍では尿路(腎盂、尿管、膀胱、尿道)上皮癌の細胞膜と細胞質に反応がみられる。前立腺癌や腎細胞癌を含むその他の腫瘍とは反応がみられないため、転移性の由来が不明な腫瘍において尿路系のマーカーとして非常に有用である⁽⁵⁾。

■**クローン名**：BC21■**抗体のクラス/サブクラス**：IgG1、 κ ■**免疫原**：ヒトウロプラキン II のリコンビナントタンパク■**製法**：アフィニティー精製して得ている。

1. 内容

第一抗体・・・抗ウロプラキン II モノクローナル抗体(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)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・細胞中のヒトウロプラキン II 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ン 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、ヒストファイン 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。

*4. 貯法および使用上の注意

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. 本製品に関する安全情報は安全データシートを参照すること。
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. 本製品の廃棄の際には、各施設や地域およ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、取扱に注意が必要である。
6. アジ化ナトリウムは有毒化学薬品である。本製品の含有量は危険なものとして分類されないが、蓄積されたアジ化ナトリウムは爆発性の金属アジ化物として形成され、水道管に含まれる銅、鉛と反応する可能性がある。そのようなリスクを避けるために大量の水とともに洗い流すこと。
7. 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) Li SM, et al. Detection of circulating uroplakin-positive cells in patients with transitional cell carcinoma of the bladder. J Urol. 1999 Sep;162(3 Pt 1):931-5.
- (2) Lu JJ, et al. Detection of circulating cancer cells by reverse transcription-polymerase chain reaction for uroplakin II in peripheral blood of patients with urothelial cancer. Clin Cancer Res. 2000 Aug;6(8):3166-71.
- (3) Wu X, et al. Uroplakin II as a promising marker for molecular diagnosis of nodal metastases from bladder cancer: comparison with cytokeratin 20. J Urol. 2005 Dec;174(6):2138-42, discussion 2142-3.
- (4) Wu XR, et al. Uroplakins in urothelial biology, function, and disease. Kidney Int. 2009 Jun;75(11):1153-1165.
- (5) Ogino S, et al. Molecular pathological epidemiology of epigenetics: emerging integrative science to analyze environment, host, and disease. Mod Pathol. 2013 Apr;26(4):465-84.

■ 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。

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、染色バッド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、染色バットおよ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、または洗浄びんを使用する)。

[染色手順] <ヒストファイン シンプルステインMAX-PO(M)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5分間ずつ容器を2度かえるか、また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

「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。 |