

研究用試薬

ヒストファイブ

第一抗体

抗SSTR2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：418141

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：ヒトソマトスタチンレセプター タイプ 2a(Somatostatin receptor type 2a; SSTR2a)と特異的に反応する。ヒトソマトスタチンレセプター(SSTR)はほとんどの神経内分泌細胞に存在し、SSTR1、2a、3、4、5のサブタイプが存在する。^(9, 10) SSTR2aは、ソマトスタチン 14 やソマトスタチン 28 と結合する7回膜貫通型のGタンパク共役型レセプターの1つ⁽¹⁾であり、神経伝達や内分泌の制御、細胞増殖の阻害などに関与している⁽¹⁰⁾。正常では神経内分泌細胞に反応がみられる。腫瘍では、多くの神経内分泌腫瘍^{*}に反応がみられる。高分化型では陽性率が79%であるが、低分化型では44%であり、分化度によって異なる。⁽⁶⁾ ガストリオーマ 100%(33/33)、インスリノーマ 58%(21/36)、カルチノイド 86%(30/35)の陽性率を示すとの報告がある。⁽⁶⁾ また、乳癌やリンパ腫でも反応がみられることがある。^(2, 3, 4) Neuroendocrine tumors(NET)の検査として、シンチグラフィがあるが、その結果とSSTR2aの細胞膜への染色との間には、高い相関性が認められる。^(5, 6, 8)

*：神経内分泌細胞に由来する腫瘍の総称。

2010年にWHO分類にて、低～中悪性度の高分化型の腫瘍は、神経内分泌腫瘍(NET：Neuroendocrine tumor)、悪性度の高い低分化型の腫瘍を神経内分泌癌(NEC：Neuroendocrine carcinoma)と大きく分類されている。NETは、さらにG1(Grade1)とG2(Grade2)の2つに分類されている。

■クローン名：EP149

■抗体のサブクラス：Rabbit IgG

■免疫原：ヒトSSTR2タンパク質のC末端に相当する合成ペプチド。

■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SSTR2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SSTR2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 抗原賦活性化液pH9(Code:415201またはCode:415211)にて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。

4. 貯法および使用上の注意

1. 2-8 $^{\circ}$ C保存。

2. 有効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. 有効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MSDS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) Yamada Y., et al.: Proc Natl Acad Sci U S A, 89, 251-255, 1992
- (2) Taylor JE., et al.: Peptides 15, 1229-1236, 1994
- (3) Reubi JC., et al.: Cancer Res 54, 3455-3459, 1994
- (4) Reubi JC., et al.: Am J Pathol 153, 233-245, 1998
- (5) Kulaksiz H., et al.: GUT 50, 52-60, 2002
- (6) Volante M., et al.: Mod Pathol 20: 1172-1182, 2007
- (7) Fischer T., et al.: J Clin Endocrinol Metab 93: 4519-4524, 2008
- (8) Amani A., et al.: J Clin Oncol 26: 963-970. 2008.
- (9) Herbert A.S., et al.: Neuroendocrinology 95: 232-247, 2012
- (10) Gou M., et al.: Acta Histochem. Cytochem. 45: 167-176, 2012

■ 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分間以上放置し、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。
- ・ ヒストファイブ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。 |
|---|

ここから必要な時に調製する。