



研究用試薬

ヒストファイン

第一抗体

抗GATA3モノクローナル抗体

(動物種：マウス)

包装：50テスト(6mL)

Code：418201

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GATA3(Trans-acting T-cell-specific transcription factor GATA-3)と特異的に反応する。GATA3は、[A/T]GATA[A/G]のDNA配列に結合する約50kDaのタンパク質で、様々な細胞において転写活性化因子として働き、発生、分化、増殖に寄与する^{(1),(3),(7)}。正常では、腎臓の遠位尿細管、大多数のT細胞などの核に反応がみられる^{(1),(3),(5)}。腫瘍では、乳癌、尿路上皮癌、皮膚の基底細胞癌や扁平上皮癌、唾液腺導管癌、傍神経節腫、卵黄嚢腫瘍、絨毛癌、ブレンナー腫瘍などの核に反応がみられる^{(3),(5),(8),(12),(13)}。乳癌においては、乳管癌や小葉癌で強い反応性を示し、陽性率も高い。また浸潤性及び転移性乳癌でも反応がみられる。そのため、原発性・転移性に関わらず乳癌の判別に有用である^{(7),(8),(9),(11),(13)}。腎細胞癌、浸潤性尿路上皮癌との区別が難しい前立腺癌や扁平上皮癌(肛門、子宮頸部)、転移性尿路上皮癌との区別が難しい肺の扁平上皮癌では陽性率が低いので、他の抗体と組み合わせることで、尿路上皮癌との判別に有用である^{(2),(4),(6),(9),(10)}。

注) GATA3が発現している細胞では、核の他に細胞質に弱い染色がみられる場合がある。

■ クローン名：L50-823

■ 抗体のクラス/サブクラス：IgG1 κ

■ 免疫原：GATA3のトランス活性化ドメインからDNA結合ドメインまでの配列を含む合成ペプチド

■ 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GATA3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. パイアル中に6mLを含む。

*2. 使用目的

組織・細胞中のGATA3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(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。

■ 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

- 2-8 $^{\circ}$ C保存。
- 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。
- 使用前に室温に戻すこと。
- 使用後は速やかに冷蔵保存すること。
- 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

- 使用期限の過ぎた試薬は使用しないこと。
- 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。
- 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。
- 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。
- 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。
- 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。
- 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) Liu H, et al. Immunohistochemical evaluation of GATA3 expression in tumors and normal tissues: a useful immunomarker for breast and urothelial carcinomas. Am J Clin Pathol. 2012 Jul;138(1):57-64.
- (2) Chang A, et al. Utility of GATA3 immunohistochemistry in differentiating urothelial carcinoma from prostate adenocarcinoma and squamous cell carcinomas of the uterine cervix, anus, and lung. Am J Surg Pathol. 2012 Oct;36(10):1472-6.
- (3) Ordóñez NG. Value of GATA3 immunostaining in tumor diagnosis: a review. Adv Anat Pathol. 2013 Sep;20(5):352-60.
- (4) Gonzalez-Roibon N, et al. The role of GATA binding protein 3 in the differential diagnosis of collecting duct and upper tract urothelial carcinomas. Hum Pathol. 2013 Dec;44(12):2651-7.
- (5) Miettinen M, et al. GATA3: a multispecific but potentially useful marker in surgical pathology: a systematic analysis of 2500 epithelial and nonepithelial tumors. Am J Surg Pathol. 2014 Jan;38(1):13-22.
- (6) Gonzalez-Roibon N, et al. Comprehensive profile of GATA binding protein 3 immunohistochemical expression in primary and metastatic renal neoplasms. Hum Pathol. 2014 Feb;45(2):244-8.
- (7) Shield PW, et al. GATA3: a promising marker for metastatic breast carcinoma in serous effusion specimens. Cancer Cytopathol. 2014 Apr;122(4):307-12.
- (8) Liu H, et al. Immunohistochemical evaluation of GATA-3 expression in ER-negative breast carcinomas. Am J Clin Pathol. 2014 May;141(5):648-55.
- (9) Clark BZ, et al. GATA-3 immunoreactivity in breast, bladder, gynecologic tract, and other cytokeratin 7-positive carcinomas. Am J Clin Pathol. 2014 Jul;142(1):64-71.
- (10) Liang Y, et al. Differential expression of GATA-3 in urothelial carcinoma variants. Hum Pathol. 2014 Jul;45(7):1466-72.
- (11) Krings G, et al. Diagnostic utility and sensitivities of GATA3 antibodies in triple-negative breast cancer. Hum Pathol. 2014 Nov;45(11):2225-32.
- (12) Banet N, et al. GATA-3 expression in trophoblastic tissues: an immunohistochemical study of 445 cases, including diagnostic utility. Am J Surg Pathol. 2015 Jan;39(1):101-8.
- (13) Sangoi AR, et al. The Novel Marker GATA3 is Significantly More Sensitive Than Traditional Markers Mammaglobin and GCDFP15 for Identifying Breast Cancer in Surgical and Cytology Specimens of Metastatic and Matched Primary Tumors. Appl Immunohistochem Mol Morphol. 2016 Apr;24(4):229-37.

*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)を耐熱性の染色パットに入れ、スライドを浸漬させる。
 - ② 染色パットに蓋をする。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、染色パ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、染色パ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、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。