



研究用試薬

## ヒストファイン

第一抗体

### 抗PAX8モノクローナル抗体(BC12)

(動物種：マウス)

包装：50テスト(6mL)

Code：418211

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 PAX8(paired box 8)タンパクの C 末端と特異的に反応し、他の PAX ファミリータンパクとは反応しない<sup>(3)</sup>。PAX8 タンパクは転写因子 PAX ファミリーに属するタンパクである。この PAX ファミリーに属するタンパクは、典型的な構造として PAX ドメインとオクタペプチド、そして 1 組のホメオドメインを持ち、胎児発生やがん増殖において核内で重要な役割を果たしている。PAX8 タンパクは腎臓の分化、甲状腺の発達や発育不全に関与している<sup>(1)(2)(3)(5)</sup>。正常では、腎臓、甲状腺、子宮頸部に反応がみられる<sup>(1)(2)</sup>。PAX8 以外の PAX ファミリータンパクが存在する B 細胞、膵臓、胃、腸等の神経内分泌細胞には反応はみられない<sup>(1)(2)(3)(5)(6)</sup>。腫瘍では、腎細胞癌、卵巣癌、甲状腺癌に反応がみられる<sup>(3)(4)(7)</sup>。

注) PAX8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：BC12
- 抗体のサブクラス：IgG1
- 免疫原：リコンビナントヒト PAX8 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 PAX8モノクローナル抗体(BC12)(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 PAX8 タンパクの染色。

#### 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  $\mu$  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) Narlis M., et al: Journal of the American Society Nephrology 18(4): 1121-1129, 2007
- (2) Tong GT., et al: Modern Pathology 22(9): 1218-1227, 2009
- (3) Tacha D., et al: Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology 19(4): 293-299, 2011
- (4) Lorenzo PI, et al: Histochemistry and Cell Biology 136: 595-607, 2011
- (5) Moretti L, et al.: Modern Pathology 25(2): 231-236, 2012
- (6) Tacha D, et al.: Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology 21(1): 59-63, 2013
- (7) Adler E et al.: Human Pathology 46(7): 948-956, 2015

■ 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pH9の作り方

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