



研究用試薬

ヒストファイン

第一抗体

抗アンドロゲンレセプターモノクローナル抗体(AR441)

(動物種：マウス)

包装：50テスト(6mL)

Code：418221

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**：ヒトアンドロゲンレセプター(Androgen Receptor：AR)と特異的に反応する。ARはステロイドホルモン受容体スーパーファミリーに属する細胞内タンパク質で⁽²⁾、リガンドであるアンドロゲンが結合したARは核内へ移行後、転写因子として機能する⁽³⁾⁽¹²⁾。主に核に反応がみられる^(註)。正常では、前立腺、精巣、乳腺、子宮、皮膚などに反応がみられる⁽¹⁾。腫瘍では、前立腺癌⁽¹¹⁾、乳癌^{(4),(6)-(10)}、卵巣癌⁽⁵⁾などに反応が見られる。乳癌においては、ER陽性のluminal A、luminal Bでの陽性率が高いが、ER/PgR陰性、HER2陰性のTriple-Negativeにおいても6.6%~75%で発現がみられる⁽¹⁰⁾。

注) 細胞質に染色がみられる場合がある。

■ クローン名：AR441

■ 抗体のクラス/サブクラス：IgG1

■ 免疫原：ヒトアンドロゲンレセプターのアミノ酸配列299-315番目に相当する合成ペプチド

■ 製法：精製抗体

1. 内容

第一抗体・・・抗アンドロゲンレセプターモノクローナル抗体(AR441)(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AR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

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) Kimura N, et al. Immunocytochemical localization of androgen receptor with polyclonal antibody in paraffin-embedded human tissues. J Histochem Cytochem. 1993 May;41(5):671-8.
- (2) Chang C, et al. Androgen receptor: an overview. Crit Rev Eukaryot Gene Expr. 1995;5(2):97-125.
- (3) Ozanne DM, et al. Androgen receptor nuclear translocation is facilitated by the f-actin cross-linking protein filamin. Mol Endocrinol. 2000 Oct;14(10):1618-26.
- (4) Niemeier LA, et al. Androgen receptor in breast cancer: expression in estrogen receptor-positive tumors and in estrogen receptor-negative tumors with apocrine differentiation. Mod Pathol. 2010 Feb;23(2):205-12.
- (5) Nodin B, et al. Increased androgen receptor expression in serous carcinoma of the ovary is associated with an improved survival. J Ovarian Res. 2010 Jun 17;3:14.
- (6) Collins LC, et al. Androgen receptor expression in breast cancer in relation to molecular phenotype: results from the Nurses' Health Study. Mod Pathol. 2011 Jul;24(7):924-31.
- (7) Yu Q, et al. Expression of androgen receptor in breast cancer and its significance as a prognostic factor. Ann Oncol. 2011 Jun;22(6):1288-1294.
- (8) Tsutsumi Y. Apocrine carcinoma as triple-negative breast cancer: novel definition of apocrine-type carcinoma as estrogen/progesterone receptor-negative and androgen receptor-positive invasive ductal carcinoma. Jpn J Clin Oncol. 2012 May;42(5):375-86.
- (9) Gucalp A, et al. Translational Breast Cancer Research Consortium (TBCRC 011). Phase II trial of bicalutamide in patients with androgen receptor-positive, estrogen receptor-negative metastatic Breast Cancer. Clin Cancer Res. 2013 Oct 1;19(19):5505-12.
- (10) Safarpour D, et al. Androgen receptor (AR) expression in 400 breast carcinomas: is routine AR assessment justified? Am J Cancer Res. 2014 Jul 16;4(4):353-68.
- (11) Queisser A, et al. Comparison of different prostatic markers in lymph node and distant metastases of prostate cancer. Mod Pathol. 2015 Jan;28(1):138-45.
- (12) Schalken J, et al. Enzalutamide: targeting the androgen signalling pathway in metastatic castration-resistant prostate cancer. BJU Int. 2016 Feb;117(2):215-25.

*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(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。 |