



研究用試薬

ヒストファイン

第一抗体

抗NKX3.1ウサギモノクローナル抗体(EP356)

(動物種：ウサギ)

包装：50テスト(6mL)

Code：418281

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NKX3.1と特異的に反応する。NKX3.1は、8番染色体短腕21.1領域上にある遺伝子 *NKX3.1* にコードされている核内に存在するアンドロゲン調節ホメオドメインタンパク質であり、前立腺における形態形成や腫瘍抑制機能を有している⁽¹⁾⁽²⁾⁽³⁾⁽⁵⁾。正常では、前立腺上皮細胞に反応がみられる。また、精細管内のセルトリ細胞または精原細胞などにおいて弱い反応がみられる場合がある⁽⁷⁾。腫瘍では、前立腺上皮由来の腫瘍細胞に反応がみられる⁽⁵⁾⁽⁷⁾⁽⁸⁾。前立腺上皮細胞において特異性が高いことから、前立腺上皮由来の腫瘍のマーカーとして有用である。前立腺癌と尿路上皮癌との判別や、原発不明癌における原発巣の特定にも役立つ⁽⁴⁾⁽⁷⁾。また、前立腺特異抗原(Prostate Specific Antigen(PSA))や前立腺酸性ホスファターゼ(Prostatic Acid Phosphatase(PSAP))の発現の有無と同時に検出することは、前立腺上皮由来の腫瘍の判別の信頼性を高める上で非常に有用である⁽⁴⁾⁽⁷⁾。

注) 唾液腺上皮や肺気管支粘液腺、乳腺小葉癌に染色がみられる場合がある。なおNKX3.1が発現している細胞では、核の他に細胞質に弱～中程度の染色がみられる場合がある。

■ **クローン名**：EP356■ **抗体のサブクラス**：ウサギ IgG■ **免疫原**：ヒトNKX3.1と同じ配列を有する合成ペプチド■ **製法**：アフィニティ精製より得ている。

1. 内容

第一抗体・・・抗NKX3.1ウサギモノクローナル抗体(EP356)(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NKX3.1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°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(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。

■ **参考**：組織の固定条件等により前処理(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)を用いた温浴処理で良好な染色結果が得られる場合がある。(裏面の■参考参照)

4. 貯法および使用上の注意

1. 2-8°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) Bieberich CJ, et al. J Biol Chem. 13;271(50):31779-31782. 1996
- (2) H. James Voeller, et al. CANCER RESEARCH 57:4455-4459. 1997
- (3) Bhatia-Gaur R., et al Genes Dev. 15;13(8):966-977.1999
- (4) Chuang AY, et al. Am J Surg Pathol. 31(8):1246-1255. 2007
- (5) Abate-Shen C., et al. Differentiation. Jul;76(6):717-727. 2008
- (6) Bowen C., et al. Cancer Res. 15;70(8):3089-3097. 2010
- (7) Gurel B., et al. Am J Surg Pathol. 34(8):1097-1105. 2010
- (8) Asch-Kendrick RJ, et al. J Clin Pathol. 67(9): 768-771. 2014

■ 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(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。
- ・抗原賦活性化液pH9の作り方

- | |
|--|
| ・ Code : 415201 抗原賦活性化液pH9 (調製済)は、そのまま用いる。 |
| ・ Code : 415211 抗原賦活性化液pH9 (10倍濃縮)は、精製水で10倍希釈する。 |

■ 参考: ヒストファイン 抗原賦活性化液pH9 (Code:415201またはCode:415211)を用いた温浴処理を用いる場合(おもて面の■参考参照)

前処理(抗原賦活化): 温浴処理

- ①温浴槽をあらかじめ95-99℃に温めておく。以下の操作を行うにあたり、軍手等を用いて高温に気をつける。
 - ②緩衝液(上記記載)を調製し、耐熱性染色バットに入れて蓋をする。これを温浴槽に入れ、95-99℃に温める。(バットは温浴終了まで、水分蒸発を防ぐため、蓋をしておく。)
 - ③②の緩衝液が95-99℃に達したら、スライドを緩衝液に浸漬させ、ゆるくふたをする。
 - ④緩衝液の温度が再び95-99℃まで上昇したことを温度計で確認してから、40分間、95-99℃でインキュベートする。
 - ⑤染色バットを温浴槽から取り出し、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。
- ※温浴処理後は、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)。