



研究用試薬

ヒストファイン

第一抗体

抗 PAX8 ウサギモノクローナル抗体(QR016)

(動物種：ウサギ)

包装：50テスト(6mL)

Code：418391

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 PAX8(paired box 8)タンパクの N 末端と特異的に反応する。PAX8 は、PAX 遺伝子ファミリーに属する転写因子で、腎臓の器官形成及び甲状腺やミューラー管の発達において重要な機能をもつ⁽¹⁾⁽²⁾。正常では、腎臓、甲状腺、子宮内膜、卵管などの細胞の核に反応がみられる⁽²⁾⁽³⁾。腫瘍では、腎細胞癌、甲状腺癌、卵巣癌、子宮内膜癌などに反応がみられる⁽²⁾⁽³⁾⁽⁴⁾。肺腺癌、乳癌、胃癌、大腸癌などでは反応がみられない⁽²⁾⁽³⁾。PAX8 の発現を確認することは、腎臓、甲状腺、ミューラー管などから発生する原発性及び転移性腫瘍の判別に有用である⁽³⁾。

注) PAX8 が発現している細胞では、核の他に細胞質にも弱～中程度の染色がみられることがある。

■**クローン名**：QR016

■**抗体のクラス/サブクラス**：ウサギ IgG

■**免疫原**：ヒト PAX8 に相当する合成ペプチド

■**製法**：培養上清より、プロテイン A アフィニティークロマトグラフィーを用いて精製して得ている。

1. 内容

第一抗体・・・抗 PAX8 ウサギモノクローナル抗体(QR016)(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 PAX8 タンパクの染色。

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)を用いた温浴処理が必要である(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(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**：組織の固定状況等により前処理(抗原賦活化)としてヒストファイン 抗原賦活化液 pH9(Code：415201 又は Code：415211)を用いたオートクレーブ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)。

■**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

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) Moretti L et al. N-terminal PAX8 polyclonal antibody shows cross-reactivity with N-terminal region of PAX5 and is responsible for reports of PAX8 positivity in malignant lymphomas. Mod Pathol. 2012 Feb;25(2):231-6.
- (2) Tacha D et al. Expression of PAX8 in normal and neoplastic tissues: a comprehensive immunohistochemical study. Appl Immunohistochem Mol Morphol. 2011 Jul;19(4):293-9.
- (3) Laury AR et al. A comprehensive analysis of PAX8 expression in human epithelial tumors. Am J Surg Pathol. 2011 Jun;35(6):816-26.
- (4) Tacha D et al. PAX8 mouse monoclonal antibody [BC12] recognizes a restricted epitope and is highly sensitive in renal cell and ovarian cancers but does not cross-react with b cells and tumors of pancreatic origin. Appl Immunohistochem Mol Morphol. 2013 Jan;21(1):59-63.

*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): 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、手袋等を用いて高温による火傷に注意する。
- ② 調製した抗原賦活化液(下記参照)を耐熱性の染色バットに入れ、ゆるく蓋をする。これを温浴槽に入れ、95-99℃に温める。
- ③ 抗原賦活化液の温度が95-99℃に達したら、スライドを抗原賦活化液に浸漬させ、ゆるく蓋をする。
- ④ 抗原賦活化液の温度が再び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。
- ⑥ 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(R)使用の場合>

- | | | | |
|-----------------------------|-------------|-----------|--------|
| 1. 内因性ペルオキシダーゼの除去 | 10~15分間/常温 | → | PBS 洗浄 |
| 2. 第一抗体の添加・反応 | 30分~1時間/常温 | → | PBS 洗浄 |
| 3. シンプルステイン MAX PO(R)の添加・反応 | 30分間/常温 | → | PBS 洗浄 |
| 4. 基質溶液の添加・反応 | DAB 発色 | → | 水洗 |
| 5. 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。 |

■ 参考: ヒストファイブ 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を用いる場合

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)。