



研究用試薬

## ヒストファイン

第一抗体

## 抗FBXO22モノクローナル抗体 (Fo-22)

(動物種：マウス)

包装：50テスト (6mL)

Code：418521

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FBXO22(F-box protein 22)タンパク質と特異的に反応する。細胞の核に反応がみられる。SCFユビキチンリガーゼ複合体の基質認識サブユニットであるFBXO22は、KDM4A、KDM4Bなど標的となる基質のユビキチン化と分解を促進し、腫瘍の発生や抑制において役割を果たすと考えられている<sup>(1)(2)</sup>。正常では乳腺や肺、肝臓、子宮内膜などに発現がみられることがある<sup>(3)~(5)</sup>。腫瘍では、乳癌、肺腺癌、肝細胞癌などに発現がみられることがあり<sup>(3)~(5)</sup>、肺腺癌や肝細胞癌などでは、正常の組織と比べFBXO22の発現が高いことが報告されている<sup>(4)(5)</sup>。一方、エストロゲン受容体(ER)陽性かつヒト上皮成長因子受容体2型(HER2)陰性の乳癌においては、ERに結合するKDM4Bの分解を介して、FBXO22が抗エストロゲン薬(SERM)の機能の発揮に重要な役割を果たすことが示されており、Ki-67の発現やリンパ節転移の状態、腫瘍悪性度などの指標とは独立して、FBXO22の発現が低い場合に予後不良を予測する因子となることが報告されている<sup>(2)(3)</sup>。

注) FBXO22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：Fo-22

■ アイソタイプ：IgG1,  $\kappa$ 

■ 免疫原：ヒトFBXO22のアミノ酸配列の一部に相当するペプチド

■ 製法：培養上清より得ている。

## 1. 内容

第一抗体・・・抗FBXO22モノクローナル抗体(Fo-22)(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・細胞中のヒトFBXO22タンパク質の染色。

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 $\mu$ 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。

※参考：抗原賦活化処理方法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。

※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)Cheng J, et al. Emerging role of FBXO22 in carcinogenesis. Cell Death Discov. 2020 Jul 27;6:66.
- (2)Johmura Y, et al. FBXO22, an epigenetic multiplayer coordinating senescence, hormone signaling, and metastasis. Cancer Sci. 2020 Aug;111(8):2718-2725.
- (3)Johmura Y, et al. Fbxo22-mediated KDM4B degradation determines selective estrogen receptor modulator activity in breast cancer. J Clin Invest. 2018 Dec 3;128(12):5603-5619.
- (4)Zhu XN, et al. FBXO22 mediates polyubiquitination and inactivation of LKB1 to promote lung cancer cell growth. Cell Death Dis. 2019 Jun 19;10(7):486.
- (5)Zhang L, et al. FBXO22 promotes the development of hepatocellular carcinoma by regulating the ubiquitination and degradation of p21. J Exp Clin Cancer Res. 2019 Feb 26;38(1):101.

## 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. 切片を3-6 $\mu$ mに薄切し、poly-L-lysine又はシラン等の切片用接着剤をコーティングしたスライドに貼り付け、37 $^{\circ}$ Cの恒温器で十分に乾燥させる。

#### [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 $^{\circ}$ C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 $^{\circ}$ Cに温める。
- ③抗原賦活化液の温度が95-99 $^{\circ}$ C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 $^{\circ}$ Cまで上昇したことを温度計で確認してから、40分間、95-99 $^{\circ}$ C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 $^{\circ}$ C)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)。

#### ・抗原賦活化液の調製

「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。 |

#### [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. ブロッキング試薬による処理(3%過酸化水素加メタノール) 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(DAB)の添加・反応 5~20分間/常温 → 水洗
8. 対比染色
9. 非水溶性封入剤で封入

### ※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。