



研究用試薬

ヒストファイン

第一抗体

抗SLFN11ウサギモノクローナル抗体 (EPR24414-87)

(動物種: ウサギ)

包装: 50テスト (6mL)

コード: 418581

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SLFN11(Schlafen 11)タンパク質と特異的に反応する。SLFN11は、ヒト17番染色体(17q12)に位置する*SLFN11*遺伝子にコードされる核内タンパク質であり、DNA複製ストレスに応答して細胞死を誘導する⁽¹⁾⁻⁽³⁾。DNA障害型抗がん剤(白金製剤、トポイソメラーゼ阻害剤など)は、複製フォークの進行を妨げるなどのDNA複製ストレスを引き起こすことが知られており、SLFN11はこれらの薬剤に対する感受性を高める因子として報告されている⁽²⁾⁻⁽⁴⁾。正常では、肺上皮細胞や気管支上皮細胞で発現がみられることがあるが、大腸、前立腺の上皮細胞ではほとんど発現がみられない⁽⁴⁾⁽⁵⁾。腫瘍では、胃がん、卵巣がん、肺がんなどで発現がみられることがある一方、大腸がん、前立腺がんなどではSLFN11を発現する症例の割合は限られることが報告されている⁽⁴⁾⁽⁵⁾。また、SLFN11は炎症性細胞や腫瘍間質細胞にも発現がみられることから、腫瘍組織を用いたRNA解析では腫瘍細胞以外の細胞成分の影響によりSLFN11発現が過大評価される可能性があり、正確な評価には免疫組織化学染色が有用であると報告されている⁽⁴⁾⁽⁵⁾。SLFN11はDNA障害型抗がん剤に対する効果予測のバイオマーカーとなる可能性が示唆されており、特に胃がん、卵巣がん、小細胞肺癌、頭頸部扁平上皮癌においては、SLFN11の高発現とDNA障害型抗がん剤の薬剤感受性との高い相関が示されている⁽⁶⁾⁻⁽¹⁰⁾。

■クローン: EPR24414-87

■アイソタイプ: ウサギIgG

■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SLFN11モノクローナル抗体(クローン: EPR24414-87) (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SLFN11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を用いた熱による抗原賦活化処理(温浴処理95~99℃、40分間)が必要である(裏面をご参照ください)。

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(100μL)滴下し、常温(15~25℃)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(MULTI)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: 組織の固定条件などにより温浴処理の代わりにオートクレーブ処理(120℃、20分間)を行うことで、良好な染色結果が得られる場合がある。

※注意: 組織の固定状況などが染色結果に影響を及ぼすため学会など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℃で保存すること。

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. 使用前に常温に戻すこと。

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、取扱いに注意すること。

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、感染のおそれがあるので取扱いには十分注意し、医療廃棄物などに関する規定および水質汚濁防止法などの規制に従って処理するとともに、免疫染色を実施するにあたって関連技術および操作方法を十分習熟しておくこと。

6. 参考文献

(1) Jo U, et al. Structural, molecular, and functional insights into Schlafen proteins. *Exp Mol Med*. 2022 Jun;54(6):730-738.(2) Murai J, et al. Schlafen 11 (SLFN11), a restriction factor for replicative stress induced by DNA-targeting anti-cancer therapies. *Pharmacol Ther*. 2019 Sep;201:94-102.(3) Zoppi G, et al. Putative DNA/RNA helicase Schlafen-11 (SLFN11) sensitizes cancer cells to DNA-damaging agents. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012 Sep 11;109(37):15030-5.(4) Takashima T, et al. Immunohistochemical analysis of SLFN11 expression uncovers potential nonresponders to DNA-damaging agents overlooked by tissue RNA-seq. *Virchows Arch*. 2021 Mar;478(3):569-579.(5) Kaczorowski M, Ylaya K, Chlopek M, Taniyama D, Pommier Y, Lasota J, Miettinen M. Immunohistochemical Evaluation of Schlafen 11 (SLFN11) Expression in Cancer in the Search of Biomarker-Informed Treatment Targets: A Study of 127 Entities Represented by 6658 Tumors. *Am J Surg Pathol*. 2024 Dec 1;48(12):1512-1521.(6) Zhou K, et al. SLFN11: a pan-cancer biomarker for DNA-targeted drugs sensitivity and therapeutic strategy guidance. *Front Oncol*. 2025 Jul 22;15:1582738.(7) Takashima T, et al. Schlafen 11 predicts response to platinum-based chemotherapy in gastric cancers. *Br J Cancer*. 2021 Jul;125(1):65-77.(8) Onji H, et al. Schlafen 11 further sensitizes BRCA-deficient cells to PARP inhibitors through single-strand DNA gap accumulation behind replication forks. *Oncogene*. 2024 Aug;43(32):2475-2489.(9) Willis SE, et al. Retrospective analysis of Schlafen11 (SLFN11) to predict the outcomes to therapies affecting the DNA damage response. *Br J Cancer*. 2021 Dec;125(12):1666-1676.(10) Hamada S, et al. Schlafen family member 11 indicates favorable prognosis of patients with head and neck cancer following platinum-based chemoradiotherapy. *Front Oncol*. 2023 Jan 19;12:978875.

免疫染色における操作手順及び試薬の調製方法

■操作手順

【切片の準備】

1. 切片を3~6µmに薄切し、poly-L-lysineまたはシランなど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℃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洗浄

【抗原賦活化処理(必要な場合)】

3. 前処理(抗原賦活化): 熱による抗原賦活化処理またはタンパク質分解酵素処理

【染色手順】

4. ブロッキング試薬(3%過酸化水素加メタノール)による処理 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. ヒストファイン シンプルステインMAX-PO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 → 流水洗

9. 脱水 → 透徹 → 非水溶性封入剤で封入

留意事項

- ・抗原賦活化処理を必要としない場合は3.のプロセスを行わず、4.のプロセスに進む。
- ・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。

<前処理(抗原賦活化)方法>

□熱による抗原賦活化

・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、手袋など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。

・オートクレープ処理

- ①調製した抗原賦活化液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。
- ③120℃、20分間オートクレープ処理する。
- ④圧力が十分下がった後、染色バットをオートクレープから取り出し、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。
※オートクレープ処理後は、染色バットおよび抗原賦活化液などが高温になっている。これらを取り扱う際は、手袋など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。

・マイクロウェーブ(MW)処理

- ①調製した抗原賦活化液を耐熱性の染色バットに入れ、MW照射し沸騰させる。以下の操作を行うにあたり、手袋などを用いて高温による火傷に注意する。
- ②沸騰した抗原賦活化液に切片を浸し、MWを5分間照射する。必要であれば、MW照射をもう1~2回繰り返す。
※MW照射による沸騰で抗原賦活化液は蒸発する。蒸発により抗原賦活化液が減少し切片の乾燥が危惧される場合は、ピーカーなどであらかじめ沸騰させておいた精製水を減少した分だけ加えてからMW照射を行うこと。
※MW照射を1回(照射時間10~15分間程度)のみで行っても良い。
- ③染色バットごと切片を常温(15~25℃)に20分間以上放置し、ゆっくり熱を冷ます。
- ④スライドを抗原賦活化液から取り出し、PBSで洗浄する。

抗原賦活化液pH9の調製方法

ヒストファイン 抗原賦活化液pH9(コード: 415201)は即時使用可能な溶液に調製済。そのまま用いる。
ヒストファイン 抗原賦活化液pH9(コード: 415211)は10倍濃縮の抗原賦活化液pH9である。必要量をはかり精製水で10倍に希釈する。

10mM クエン酸ナトリウム緩衝液(pH6.0)の調製方法

A液 9mL+B液 41mL+精製水 450mL(用時調製)

A液: 0.1M クエン酸水溶液
クエン酸一水和物 (C₆H₈O₇ · H₂O) 2.1g/精製水 100mL
B液: 0.1M クエン酸ナトリウム水溶液
クエン酸三ナトリウム二水和物 (C₆H₅O₇Na₃ · 2H₂O) 14.7g/精製水 500mL
ここから必要な時に調製する。

□タンパク質分解酵素処理

・プロテアーゼによる抗原賦活化

- ①組織切片にヒストファイン プロテアーゼ溶液1~2滴を滴下し、25℃で5~15分間インキュベートする。
※第一抗体の種類や組織の固定条件などにより、37℃で5~15分間インキュベートすると良好な染色が得られる場合がある。
- ②PBSで洗浄する。

プロテアーゼ溶液の調製方法

ヒストファイン プロテアーゼ溶液(コード: 415231)は即時使用可能な溶液に調製済。そのまま用いる。

・トリプシンによる抗原賦活化

- ①組織切片に調製したトリプシン溶液1~2滴を滴下し、37℃で10分間インキュベートする。
- ②PBSで洗浄する。

トリプシン溶液の調製方法

ヒストファイン トリプシン溶液(コード: 415101)はトリプシン濃縮液(試薬A)と希釈液(試薬B)から構成される。
トリプシン濃縮液(試薬A) : 希釈液(試薬B)を1 : 3となるように調製し、十分に混和する。

■試薬の調製方法

- ・ブロッキング試薬(3%過酸化水素加メタノール)の調製方法
30%過酸化水素水をメタノールで10倍希釈する。

※その他必要な試薬の調製方法に関しては、各製品の電子化された添付文書や製品に同梱されている使用説明書をご確認ください。