



研究用試薬

ヒストファイン

第一抗体

抗シアル化HEG1モノクローナル抗体(SKM9-2) (ヒストステイナー用)
(動物種：マウス)

包装：60 テスト(12mL)

Code：718231

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

■本品は、自動染色装置ヒストステイナー用の試薬 第一抗体である。

■特異性および抗原分布：ヒトシアル化HEG1(Sialylated HEG1)タンパク質と特異的に反応する。シアル化HEG1は、HEG1(分子量約150kD)のN末端側の細胞外ドメインに存在する長いSer/Thr(セリン/スレオニン) rich領域に多数のシアル化O型糖鎖が結合した膜型ムチン様タンパク質である。本抗体は、Ser/Thr rich領域内のシアル化された⁸⁹³SKSPSLVSLPT⁹⁰³の配列を認識する。シアル化HEG1の機能は不明であるが、特に悪性中皮腫細胞の細胞膜や細胞質に発現がみられる。悪性中皮腫では感度92%、特異度99%で発現がみられ、既知の中皮腫マーカーより、感度、特異度が高いことが報告されている。
(1) 正常組織では、ほとんど発現はみられないが、毛細血管内皮や反応性中皮細胞などに発現がみられる場合がある。悪性中皮腫において、シアル化HEG1の発現の有無を既知の中皮腫マーカーと同時に検出することは、中皮腫の判別の信頼性を更に高めるうえで非常に有用である。

■クローン名：SKM9-2

■抗体のサブクラス：IgG1

■免疫原：中皮腫細胞株 ACC-MESO4

■製法：ハイブリドーマの培養上清より得ている。

1. 内容

第一抗体・・・抗シアル化 HEG1 モノクローナル抗体(SKM9-2) (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)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 12mL を含む。

2. 使用目的

組織・細胞中のシアル化 HEG1 の染色。

3. 切片の準備

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(裏面参照)。

■参考1：組織の固定条件等により前処理(抗原賦活化)として10mMクエン酸緩衝液(pH6.0)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1 参照)

■参考2：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2 参照)

4. 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。

1) 他の試薬とともに試薬ラック(ヒストステイナー用)にセットし、染色を開始する。

2) 染色終了後、すみやかに2-8℃に保存する。

5. 染色方法の設定

反応時間を30分間とする。

試薬バーコードラベルを使用する場合は、自動染色装置ヒストステイナーのプログラムにバーコードラベル情報を入力する必要がある。本製品が未登録の場合は、下記データを入力(漢字のみ全角、他半角入力)し、登録すること。

専用ボトルに貼付されているバーコードラベル内の情報

試薬名	抗シアル化 HEG1 モノクローナル抗体(SKM9-2)
試薬略称(10文字)	SHEG1-MM
バーコード	SHEG1-MM
時間(分)	30

6. 貯法および使用上の注意

1. 2－8℃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。

7. 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。

8. 主要文献

- (1) Tsuji S, et al. Scientific Reports, 7:45768, 2017

■ 研究用としてのみ使用すること。

■ 切片の準備

1. 50℃で十分に湯伸ばしした切片（3－4 μ m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またはバッファーでよくすすぐ(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)。

・ 抗原賦活化液pH9の作り方

- | |
|---|
| <ul style="list-style-type: none">・ 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 1：10mM クエン酸緩衝液 (pH6.0) の作り方

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：常温で保存可能 クエン酸一水和物 ($C_6H_8O_7 \cdot H_2O$) 2.1g/精製水 100mL B 液：0.1M クエン酸ナトリウム水溶液：常温で保存可能 クエン酸三ナトリウム二水和物 ($C_6H_5O_7Na_3 \cdot 2H_2O$) 14.7g/精製水 500mL

ここから必要な時に調製する。

■ 参考 2：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)。