



研究用試薬

## ヒストファイン

第一抗体

抗c-Mycウサギモノクローナル抗体(EP121) (ヒストステイナー用)

(動物種：ウサギ)

包装：60 テスト(12mL)

Code：718301

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。

\*■**特異性及び抗原分布**：ヒトc-Mycタンパク質と特異的に反応する。c-Mycは染色体8q24に位置する癌原遺伝子にコードされる転写因子であり、増殖、成長、アポトーシスを含む多様な細胞機能を調節する<sup>(2)(7)</sup>。正常では、結腸陰窩<sup>(6)</sup>、扁桃(胚中心などの一部)<sup>(5)(6)</sup>などに反応がみられる。腫瘍では、成熟B細胞腫瘍であるパーキットリンパ腫やびまん性大細胞型B細胞リンパ腫<sup>(5)(7)</sup>、大腸癌<sup>(6)</sup>、乳癌の基底細胞様サブタイプ<sup>(4)</sup>など様々な腫瘍で反応がみられる<sup>(2)</sup>。正常前立腺においては陰性又は低発現であり<sup>(3)</sup>、前立腺上皮内腫瘍(Prostatic intraepithelial neoplasia ; PIN)や前立腺癌では過剰発現している<sup>(1)(2)(3)</sup>。基底細胞に特異的なケラチン、p 63、 $\alpha$ メチルアシルCoAラセマーゼ(AMACR/P504S)などのマーカーと同時に検出することは、前立腺癌の判別の信頼性の向上に有用であると考えられている<sup>(2)</sup>。

注)c-Mycが発現している細胞では、核の他に、細胞質に弱い染色がみられる場合がある。

■クローン名：EP121

■抗体のクラス/サブクラス：ウサギ IgG

■免疫原：ヒト c-Myc タンパク質の N 末端と同じ配列を有する合成ペプチド

■製法：アフィニティ精製して得ている。

## 1. 内容

第一抗体・・・抗c-Myc ウサギモノクローナル抗体(EP121) (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)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 c-Myc タンパク質の染色。

## 3. 切片の準備

前処理(抗原賦活化)としてヒストファイン 抗原賦活性化液 pH9 (Code:415201 又は 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)としてヒストファイン 抗原賦活性化液pH9(Code:415201又は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1 参照)

■参考2：組織の固定条件等により検出系としてヒストファイン ハイステインPO(MULTI)(ヒストステイナー用)(Code:714481)を用いることで良好な染色結果が得られる場合がある。

■注意1：組織の固定条件等により第一抗体及び酵素標識第二抗体の反応時間を各60分にすることで良好な染色結果が得られる場合がある。ただし、反応時間の延長により染色中の組織の乾燥が懸念されるため、試薬滴下量を適宜増やして染色を行うこと。

■注意2：組織の固定条件等により、DAB基質キット(ヒストステイナー用)(Code:725191)を、精製水 1mLに対して発色基質(試薬A)2滴(約40 $\mu$ L)、基質緩衝液(試薬B)2滴(約40 $\mu$ L)、発色試薬(試薬C)1滴(約40 $\mu$ L)の割合で調製すると、染色性が低下する場合がある。(DAB基質キット(ヒストステイナー用)の使用説明書の■参考 参照)

## 4. 使用方法

パラフィン包埋切片の免疫組織化学及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 $^{\circ}$ C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c-Myc ウサギモノクローナル抗体(EP121)
試薬略称(10文字)	cMyc-RM
バーコード	cMyc-RM
時間(分)	30

## 6. 貯法及び使用上の注意

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. 本製品に関する化学物質の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. 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、適切な取扱い及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、関連技術及び操作法に充分習熟しておかなければならない。

## 8. 参考文献

- (1) Yang G, et al : Cancer 103(6) : 1186-1194, 2005
- (2) Gurel B, et al : Mod Pathol 21(9) : 1156-1167, 2008
- (3) Cheryl M. Koh, et al : Genes & Cancer 1(6) : 617-628, 2010
- (4) Jinhua Xu, et al : Genes & Cancer 1(6) : 629-640, 2010
- (5) Matthew J. Oberley, et al : Histopathology 63(4) : 499-508, 2013
- (6) Baker A-M, et al : Histopathology 69(2) : 222-229, 2016
- (7) Nguyen L, et al : Genes(Basel) 8(4) : 116, 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 μm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、バット及び緩衝液等が高温になっている。これらを取扱う際は、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又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、又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"><li>・ Code : 415201 抗原賦活化液pH9 (調製済)は、そのまま用いる。</li><li>・ Code : 415211 抗原賦活化液pH9 (10倍濃縮)は、精製水で10倍希釈する。</li></ul> |
|---|

### ■ 参考1: ヒストファイン 抗原賦活化液pH9 (Code:415201又はCode:415211)を用いた温浴処理を用いる場合 (おもて面の ■ 参考1 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、ゆるく蓋をする。
- 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、バット及び緩衝液等が高温になっている。これらを取扱う際は、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、又は洗浄ビンを使用する)。