



## 研究用試薬

## ヒストファイン

## 第一抗体

抗 $\beta$ -cateninモノクローナル抗体(14) (ヒストステイナー用)

(動物種: マウス)

包装: 60テスト (12mL)

Code: 718551

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:**  $\beta$ -cateninタンパク質と特異的に反応する。 $\beta$ -cateninは*CTNNB1*遺伝子によってコードされる781アミノ酸からなるタンパク質である<sup>(1)</sup>。 $\beta$ -cateninにはカドヘリン・カテニン複合体を形成し細胞間接着を制御する役割と、Wnt/ $\beta$ -cateninシグナルにおいて転写を活性化し細胞増殖や分化を制御する役割がある<sup>(1)~(4)</sup>。Wntシグナルが活性化すると、細胞質内の $\beta$ -cateninは分解されずに蓄積、その後核内に移行し、腫瘍形成に関与すると考えられている<sup>(1)~(4)</sup>。正常では、細胞間接着の制御のため、主に上皮細胞や内皮細胞などの細胞膜に発現がみられる<sup>(1)~(3)</sup>。腫瘍では、大腸腺癌、充実性偽乳頭状腫瘍(SPN)、肝細胞癌、デスモイド型線維腫症、Basal-like型乳癌などにおいて、核や細胞質への移行や蓄積がみられる<sup>(4)~(9)</sup>。免疫組織化学染色を用いて $\beta$ -cateninの核での発現を確認することは、原発巣および転移巣において、Cytokeratin7およびCytokeratin20と組み合わせることで大腸腺癌(粘液癌を除く)の判別に役立つ可能性がある<sup>(5)</sup>。また、E-cadherinと組み合わせることで脾臓の神経内分泌腫瘍(NET)とSPNの判別に有用であると報告されている<sup>(6)</sup>。加えて、デスモイド型線維腫症の判別に有用であり、特に針生検など検体が限られている場合に癌痕組織との判別に役立つと報告されている<sup>(7)</sup>。

■クローン: 14

■アイソタイプ: IgG1

■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 $\beta$ -cateninモノクローナル抗体(14) (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12mLを含む。

## 2. 使用目的

組織・細胞中の $\beta$ -catenin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)。

※参考: 組織の固定条件などにより温浴処理の替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。

1) 本品を他の試薬とともに試薬ラックにセットする。各試薬のボトルキャップを外す。

2) ヒストステイナーの操作法に従って染色を開始する。

3) 染色終了後、セットした試薬は速やかにボトルキャップをして2~8℃に保存する。

## 4. 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 $\beta$ -cateninモノクローナル抗体(14)
試薬略称(10文字)	B-cat-MM
バーコード	B-cat-MM
時間(分)	30

## 5. 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。

## 6. 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。

## 7. 参考文献

(1) Wang B, et al.  $\beta$ -Catenin: oncogenic role and therapeutic target in cervical cancer. Biol Res. 2020 Aug 5;53(1):33.

(2) B.Alberts, et al. Molecular Biology of the Cell, 7th ed. New York:W. W. Norton & Company; 2022. 1404p.

(3) Sun L, et al. Wnt/ $\beta$ -catenin signalling, epithelial-mesenchymal transition and crosslink signalling in colorectal cancer cells. Biomed Pharmacother. 2024 Jun;175:116685.

(4) Ng TL, et al. Nuclear  $\beta$ -catenin in mesenchymal tumors. Mod Pathol. 2005 Jan;18(1):68-74.

(5) Wong SC, et al. Prognostic and diagnostic significance of  $\beta$ -catenin nuclear immunostaining in colorectal cancer. Clin Cancer Res. 2004 Feb 15;10(4):1401-8.

(6) Ohara Y, et al. Pancreatic neuroendocrine tumor and solid-pseudopapillary neoplasm: Key immunohistochemical profiles for differential diagnosis. World J Gastroenterol. 2016 Oct 14;22(38):8596-8604.

(7) Hornick JL. Novel uses of immunohistochemistry in the diagnosis and classification of soft tissue tumors. Mod Pathol. 2014 Jan;27 Suppl 1:S47-63.

(8) Khalaf AM, et al. Role of Wnt/ $\beta$ -catenin signaling in hepatocellular carcinoma, pathogenesis, and clinical significance. J Hepatocell Carcinoma. 2018 Jun 27;5:61-73.

(9) Khramtsov AI, et al. Wnt/ $\beta$ -catenin pathway activation is enriched in basal-like breast cancers and predicts poor outcome. Am J Pathol. 2010 Jun;176(6):2911-20.

■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℃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℃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。

・抗原賦活化液の調製  
「抗原賦活化液pH9」の調製方法

- ・抗原賦活化液pH9(Code: 415201)は即時使用可能な溶液に調製済。そのまま用いる。
- ・抗原賦活化液pH9(Code: 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。

※参考：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。