



研究用試薬

ヒストファイブ

第一抗体

抗ヒト*c-kit*遺伝子産物ポリクローナル抗体(AT用)

(動物種: ウサギ)

包装: 50テスト(6.5mL) Code: AT1339-1

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AT用の試薬 第一抗体である。

■**特異性及び抗原分布**: ヒト*c-kit*遺伝子産物(分子量145kDa)と特異的に反応する。*c-kit*遺伝子産物はSCF(Stem cell Factor)のレセプターであり、結合することにより未分化造血前駆細胞の増殖と分化、肥満細胞の増殖誘導、メラノサイトや生殖細胞の移動や分化が認められる。*c-kit*遺伝子産物は、肥満細胞やCajalの介在細胞(Interstitial cells of Cajal; ICCs)由来と考えられている消化管のGIST (Gastrointestinal stromal tumor)、精上皮腫/未分化胚細胞腫や肥満細胞由来腫瘍の大部分及び悪性黒色腫や肺癌の一部などで発現がみられる。正常では、肥満細胞や精細管、乳管上皮、胃の壁細胞、神経膠細胞、メラノサイトの一部に発現がみられる。

■**製法**: ①免疫原・・・ヒト*c-kit*遺伝子産物のC末端ペプチド。
②免疫法・・・免疫原をウサギに免疫して抗血清を得ている。

■**精製法**: ウサギ抗血清より、上記ペプチドでアフィニティー精製している。

1. 内容

第一抗体・・・抗ヒト*c-kit*遺伝子産物ポリクローナル抗体(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6.5mLを含む。

*2. 使用目的

組織・細胞中のヒト*c-kit*遺伝子産物の染色。GISTの判別に有用。

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

1) 本品を他の試薬とともに試薬ラック(AT用)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ATの操作法に従って染色を開始する。

3) 染色終了後、セットした試薬はすみやかにボトルキャップをして、試薬ラック(AT用)ごと取り出し2-8℃で保存する。

*4. 染色方法の設定

組織切片の場合、試薬の反応温度、反応時間を下記に設定する。

《タイプ: HRP Heat》

| プロトコル名 | Dewax | TR | 温度(℃) | ブロッキング | 試薬名 | 第一抗体 反応時間(分) | 第一抗体 反応温度(℃) |
|----------|--------------|------------|-------|--------|----------|-----------------|-----------------|
| c-kit-AT | Dewax Buffer | TRtypeN-AT | 101 | Buffer | c-kit-AT | 20 | 25 |

■参考: 上述の染色条件で良好な染色が得られない場合は、裏面を参照してください。

5. 貯法及び使用上の注意

- 2-8℃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。

6. 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ため、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。

7. 参考文献

- (1) Matsuda R, et al. Expression of the c-kit protein in human solid tumors and in corresponding fetal and adult normal tissues. Am J Pathol. 1993 Jan;142(1):339-46.
- (2) Tsuura Y, et al. Preferential localization of c-kit product in tissue mast cells, basal cells of skin, epithelial cells of breast, small cell lung carcinoma and seminoma/dysgerminoma in human: immunohistochemical study on formalin-fixed, paraffin-embedded tissues. Virchows Arch. 1994;424(2):135-41.
- (3) Yamataka A, et al. A lack of intestinal pacemaker (c-kit) in aganglionic bowel of patients with Hirschsprung's disease. J Pediatr Surg. 1995 Mar;30(3):441-4.
- (4) Yamataka A, et al. Lack of intestinal pacemaker (C-KIT-positive) cells in infantile hypertrophic pyloric stenosis. J Pediatr Surg. 1996 Jan;31(1):96-8; discussion 98-9.
- (5) Yamataka A, et al. Localization of intestinal pacemaker cells and synapses in the muscle layers of a patient with colonic hypoganglionosis. J Pediatr Surg. 1996 Apr;31(4):584-7.
- (6) Yamataka A, et al. Intestinal pacemaker C-KIT+ cells and synapses in allied Hirschsprung's disorders. J Pediatr Surg. 1997 Jul;32(7):1069-74.
- (7) Arber DA, et al. Weiss LM. Paraffin section detection of the c-kit gene product (CD117) in human tissues: value in the diagnosis of mast cell disorders. Hum Pathol. 1998 May;29(5):498-504.
- (8) Kindblom LG, et al. Gastrointestinal pacemaker cell tumor (GIPACT): gastrointestinal stromal tumors show phenotypic characteristics of the interstitial cells of Cajal. Am J Pathol. 1998 May;152(5):1259-69.
- (9) Yamataka A, et al. Abnormal distribution of intestinal pacemaker (C-KIT-positive) cells in an infant with chronic idiopathic intestinal pseudoobstruction. J Pediatr Surg. 1998 Jun;33(6):859-62.
- (10) Hirota S, et al. Gain-of-function mutations of c-kit in human gastrointestinal stromal tumors. Science. 1998 Jan 23;279(5350):577-80.
- (11) Ernst SI, et al. KIT mutation portends poor prognosis in gastrointestinal stromal/smooth muscle tumors. Lab Invest. 1998 Dec;78(12):1633-6.
- (12) Komuro T, et al. Ultrastructural characterization of the interstitial cells of Cajal. Arch Histol Cytol. 1999 Oct;62(4):295-316.
- (13) 秋濱 玄 他. Gastrointestinal stromal tumor の組織発生及び悪性度の解析. 岩手医誌. 1999;51:381-390.
- (14) Natkunam Y, et al. Utility of paraffin section immunohistochemistry for C-KIT (CD117) in the differential diagnosis of systemic mast cell disease involving the bone marrow. Am J Surg Pathol. 2000 Jan;24(1):81-91.
- (15) Maeyama H, et al. Familial gastrointestinal stromal tumor with hyperpigmentation: association with a germline mutation of the c-kit gene. Gastroenterology. 2001 Jan;120(1):210-5.

*■参考：組織の固定状況等により、下記のいずれか又は複数の染色条件を変更することで、良好な染色が得られる場合がある。
ただし、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。

■染色強度をより強くしたい場合

- ・抗原賦活化の「温度(°C)」を101°Cから103°Cへ上げる。
 - ・「第一抗体反応時間(分)」を20分から30分へ延長する。
 - ・「第一抗体反応温度(°C)」を25°Cから37°Cへ上げる。
 - ・抗原賦活化の処理時間を長くする。
- 注：「TR」の試薬が、スライド1枚の染色に対して2テスト分必要です。
《タイプ：HRP Heat》から《タイプ：Special》に変更を行います。
《タイプ：Special》の登録、設定は、弊社にて行いますのでご連絡ください。

■染色強度をより弱くしたい場合

- ・抗原賦活化の「TR」をTRtypeN-ATからTRpH9-AT又はTRpH6-ATに変更する。
(TR-typeN(AT用)(Code：AT1539-1)の代わりにTR-pH9(AT用)(Code：AT1534-1)又はTR-pH6(AT用)(Code：AT1535-1)を用いる。)
- ・抗原賦活化の「温度(°C)」を101°Cから96°Cへ下げる。

■内因性ペルオキシダーゼに起因するバックグラウンド染色がみられる場合

- ・「ブロッキング」をBufferからH2O2-ATに変更する。
(過酸化水素水(AT用)(Code：AT1524-1)を用いる。)