

研究用試薬

# ヒストファイン

第一抗体

**抗 WT1 モノクローナル抗体(6F-H2) (AT 用)**

(動物種：マウス)

包装： 50 テスト (6.5mL)

Code： AT1386-1

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。

■**特異性および抗原分布**：ヒトWilms' Tumor 1 Protein(WT1タンパク(52-54kD)、WT：ウィルムス腫瘍<sup>注1</sup>)と特異的に反応する。癌抑制遺伝子として作用する転写因子である、WT1遺伝子の突然変異が、腫瘍の発生に関連している。WT1遺伝子は、胎児においては、腎臓、中皮、生殖腺、脾臓などで発現している。成人では、腎臓の足細胞、精巣のセルトリ細胞、卵巣の顆粒膜細胞で発現している。腫瘍では、ウィルムス腫瘍、悪性中皮腫他、多くの腫瘍に反応がみられる。

注1：ウィルムス腫瘍(腎芽細胞腫)は、小児の腹部悪性腫瘍の一つである腎の胎児性癌である。0~3歳までに発症することが多い小児癌。

■**クローン名**：6F-H2

■**抗体のサブクラス**：IgG1

■**免疫原**：ヒトWT1のN末端アミノ酸1-181に対応するタンパク質

■**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WT1モノクローナル抗体(6F-H2)(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6.5mLを含む。

## 2. 使用目的

組織・細胞中のWT1の染色。

## 3. 使用方法

パラフィン包埋切片の免疫組織化学染色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(AT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。

## 4. 染色方法の設定

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(℃)
WT1-AT	Dewax2-AT	TRpH9-AT	101	Buffer	WT1-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. 使用後は速やかに冷蔵保存すること。

4. 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. 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、感染の恐れがあるので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。

## 7. 主要文献

- (1) Haber DA, et al. WT1: a novel tumor suppressor gene inactivated in Wilms' tumor. *New Biol.* 1992 Feb;4(2):97-106.
- (2) Menses HD, et al. Presence of Wilms' tumor gene (wt1) transcripts and the WT1 nuclear protein in the majority of human acute leukemias. *Leukemia.* 1995 Jun;9(6):1060-7.
- (3) Kumar-Singh S, et al. WT1 mutation in malignant mesothelioma and WT1 immunoreactivity in relation to p53 and growth factor receptor expression, cell-type transition, and prognosis. *J Pathol.* 1997 Jan;181(1):67-74.
- (4) Rauscher FJ 3rd, et al. Characterization of monoclonal antibodies directed to the amino-terminus of the WT1, Wilms' tumor suppressor protein. *Hybridoma.* 1998 Apr;17(2):191-8.
- (5) Carpentieri DF, et al. The expression of WT1 in the differentiation of rhabdomyosarcoma from other pediatric small round blue cell tumors. *Mod Pathol.* 2002 Oct;15(10):1080-6.
- (6) Goldstein NS, et al. WT1 immunoreactivity in uterine papillary serous carcinomas is different from ovarian serous carcinomas. *Am J Clin Pathol.* 2002 Apr;117(4):541-5.
- (7) Chen BF, et al. Immunohistochemical expression of Wilms' tumor 1 protein in nephroblastoma. *J Chin Med Assoc.* 2004 Oct;67(10):506-10.
- (8) Timár J, et al. WT1 expression in angiogenic tumours of the skin. *Histopathology.* 2005 Jul;47(1):67-73.
- (9) Nakatsuka S, et al. Immunohistochemical detection of WT1 protein in a variety of cancer cells. *Mod Pathol.* 2006 Jun;19(6):804-14.

### ■ 研究用としてのみ使用すること。

### ■ 参考：組織の固定状況等により、下記のいずれかまた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「TR」を TRpH9-AT から TRtypeN-AT に変更する。  
(TR-pH9(AT用)(Code : AT1534-1)の代わりに TR-typeN(AT用)(Code : AT1539-1)を用いる。)
- ・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 テスト分必要になります。  
(《タイプ：HRP Heat》の代わりに《タイプ：Special》に登録する。弊社にて登録、設定を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 TRpH9-AT から TRpH6-AT に変更する。  
(TR-pH9(AT用)(Code : AT1534-1)の代わりに 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。)