



研究用試薬

ヒストファイン

第一抗体

抗p16INK4aモノクローナル抗体(JC8) (AT用)

(動物種：マウス)

包装： 50テスト(6.5mL)

Code：AT1835-1

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p16^{INK4a}タンパク質と特異的に反応する。p16^{INK4a}タンパク質は、9番染色体短腕(9p21)上のCDKN2A(Cyclin Dependent Kinase Inhibitor 2A)遺伝子によりコードされる⁽¹⁾。CDK阻害因子のINK4ファミリーに属し、細胞周期の進行を調節するがん抑制タンパク質である⁽²⁾。正常では、増殖期子宮内膜、乳管上皮、扁桃の陰窩上皮のほか、膵臓のランゲルハンス島、下垂体前葉などの一部の内分泌器官に反応がみられ、主に細胞の核に反応がみられるが、p16^{INK4a}を発現する細胞の多くは細胞質にも反応がみられる⁽¹⁾。腫瘍では、高リスク型HPV(Human Papilloma Virus)感染に関連した子宮頸癌⁽³⁾や中咽頭扁平上皮癌⁽⁴⁾でp16^{INK4a}の過剰発現がみられることがある。また、尿路上皮癌⁽⁵⁾や大腸癌⁽⁶⁾でも発現がみられることがある。p16^{INK4a}の免疫組織化学染色は、子宮頸部の扁平上皮内病変(SIL^{*}) / 子宮頸部上皮内腫瘍(CIN^{**})の組織学的分類の補助⁽⁷⁾や前癌病変と未熟扁平上皮化生、萎縮、反応性/炎症性病変などとの判別において有用である⁽³⁾⁽⁸⁾⁽⁹⁾。

注1：p16^{INK4a}を発現している細胞では、核の他に細胞質にも弱～強程度の染色がみられることがある。

注2：腫瘍内および腫瘍に隣接する反応性の線維芽細胞および内皮細胞等に発現がみられることがある。

*SIL：Squamous intraepithelial lesions **CIN：Cervical intraepithelial neoplasia

■クローン名：JC8

■抗体のサブクラス：IgG2a

■免疫原：ヒトp16^{INK4a}全長リコンビナントタンパク質

■製法：アフィニティー精製して得ている。

1. 内容

第一抗体・・・抗p16INK4aモノクローナル抗体(JC8) (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・細胞中のヒトp16^{INK4a}タンパク質の染色。

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(℃)
p16-AT	Dewax2-AT	TRpH9-AT	101	Buffer	p16-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. 参考文献

- (1) Nielsen GP, et al. Immunohistochemical survey of p16INK4A expression in normal human adult and infant tissues. Lab Invest. 1999 Sep;79(9):1137-43.
- (2) Romagosa C, et al. p16(Ink4a) overexpression in cancer: a tumor suppressor gene associated with senescence and high-grade tumors. Oncogene. 2011 May 5;30(18):2087-97.
- (3) Jedpiyawongse A, et al. Immunohistochemical overexpression of p16 protein associated with cervical cancer in Thailand. Asian Pac J Cancer Prev. 2008 Oct-Dec;9(4):625-30.
- (4) Shelton J, et al. p16 immunohistochemistry in oropharyngeal squamous cell carcinoma: a comparison of antibody clones using patient outcomes and high-risk human papillomavirus RNA status. Mod Pathol. 2017 Sep;30(9):1194-1203.
- (5) Yang CH, et al. Expressions of p16 and p27 in urothelial carcinoma and their prognostic value. Kaohsiung J Med Sci. 2014 Sep;30(9):453-8.
- (6) Al-Ahwal M, et al. p16 protein is upregulated in a stepwise fashion in colorectal adenoma and colorectal carcinoma. Saudi J Gastroenterol. 2016 Nov;22(6):435-440.
- (7) Stoler MH, et al. Routine Use of Adjunctive p16 Immunohistochemistry Improves Diagnostic Agreement of Cervical Biopsy Interpretation: Results From the CERTAIN Study. Am J Surg Pathol. 2018 Aug;42(8):1001-1009.
- (8) Darragh TM, et al. The Lower Anogenital Squamous Terminology Standardization Project for HPV-Associated Lesions: background and consensus recommendations from the College of American Pathologists and the American Society for Colposcopy and Cervical Pathology. Arch Pathol Lab Med. 2012 Oct;136(10):1266-97.
- (9) Kalof AN, et al. Our approach to squamous intraepithelial lesions of the uterine cervix. J Clin Pathol. 2007 May;60(5):449-55.

■ 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(℃)」を 101℃から 103℃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(℃)」を 25℃から 37℃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(℃)」を 101℃から 96℃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。)