

研究用試薬

ヒストファイン

第一抗体

抗 PRAME ウサギモノクローナル抗体 (EPR20330) (AT 用)

(動物種：ウサギ)

包装： 50 テスト (6.5mL)

Code： AT1842-1

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 PRAME(preferentially expressed antigen in melanoma)タンパクと特異的に反応する。PRAMEは染色体 22q11.22 上の PRAME 遺伝子にコードされる 509 アミノ酸からなる腫瘍抗原で⁽¹⁾⁽²⁾、RA/RAR(レチノイン酸/レチノイン酸受容体)シグナル伝達経路を阻害することにより腫瘍形成に寄与すると考えられている^{(3)~(5)}。正常では、精巣及び増殖期の子宮内膜などの細胞の核に反応がみられる⁽⁶⁾。腫瘍では皮膚の従来型悪性黒色腫(末端黒子型、表在拡大型、結節型、悪性黒子型)(約 90%)、線維形成性黒色腫(35%)などで反応がみられる⁽⁷⁾。また、唾液腺腺様嚢胞癌(81%)、胸腺癌(75%)、卵巣明細胞癌(90%)、子宮内膜癌(82%)、セミノーマ(78%)などにも反応がみられる⁽⁶⁾。PRAME の免疫組織化学染色は、正常な皮膚のメラノサイト(メラニン色素産生細胞)に反応がみられないことから悪性黒色腫の辺縁評価の補助に使用できること、また色素性の母斑(通常型の後天性母斑、異形成母斑、Spitz 母斑など)と悪性黒色腫との判別に有用であることが報告されている⁽⁷⁾。

注) PRAME が発現している細胞では、核の他に細胞質にも弱~中程度の染色がみられることがある。

■クローン名：EPR20330

■抗体のクラス/サブクラス：ウサギ IgG

■免疫原：ヒト PRAME の C 末端側から 100 番目までのアミノ酸配列の一部に相当するリコンビナントタンパク質

■製法：培養上清より、プロテイン A アフィニティークロマトグラフィーを用いて精製して得ている。

1. 内容

第一抗体・・・抗 PRAME ウサギモノクローナル抗体(EPR20330) (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 6.5mL を含む。

2. 使用目的

組織・細胞中の PRAME タンパクの染色。

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

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

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 (℃) |
|----------|-----------|------------|-------|--------|----------|-----------------|------------------|
| PRAME-AT | Dewax2-AT | TRtypeN-AT | 101 | Buffer | PRAME-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

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. 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) Wadelin F, et al. Leucine-rich repeat protein PRAME: expression, potential functions and clinical implications for leukaemia. *Mol Cancer*. 2010 Aug 27;9:226.
- (2) Ikeda H, et al. Characterization of an antigen that is recognized on a melanoma showing partial HLA loss by CTL expressing an NK inhibitory receptor. *Immunity*. 1997 Feb;6(2):199-208.
- (3) Epping MT, et al. The human tumor antigen PRAME is a dominant repressor of retinoic acid receptor signaling. *Cell*. 2005 Sep 23;122(6):835-47.
- (4) Xu Y, et al. The role of the cancer testis antigen PRAME in tumorigenesis and immunotherapy in human cancer. *Cell Prolif*. 2020 Mar;53(3):e12770.
- (5) Lezcano C, et al. Busam KJ. PRAME Immunohistochemistry as an Ancillary Test for the Assessment of Melanocytic Lesions. *Surg Pathol Clin*. 2021 Jun;14(2):165-175.
- (6) Kaczorowski M, et al. PRAME Expression in Cancer. A Systematic Immunohistochemical Study of >5800 Epithelial and Nonepithelial Tumors. *Am J Surg Pathol*. 2022 Nov 1;46(11):1467-1476.
- (7) Lezcano C, et al. PRAME Expression in Melanocytic Tumors. *Am J Surg Pathol*. 2018 Nov;42(11):1456-1465.

■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(℃)」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》の替わりに《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 TRtypeN-AT から TRpH9-AT 又は TRpH6-AT に変更する。
(TR-typeN(AT用)(Code: AT1539-1)の替わりに 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(℃)」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。)