



研究用試薬

ヒストファイン

第一抗体

抗Oct-3/4モノクローナル抗体(N1NK) (AT用)

(動物種：マウス)

包装：50テスト(6.5mL) Code：AT1845-1

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Oct-3/4(Octamer-binding protein 3/4)タンパク質と特異的に反応する。Oct-3/4 (別名：Oct-3、Oct4、POU5F1)は染色体6p21.3上のPOU5F1遺伝子にコードされる18kDaのPOUドメイン転写因子で、胚性幹細胞及び初期胚細胞の自己複製と多能性の維持に関与している^{(1)~(3)}。正常では、胚から胎児の生殖細胞系列の細胞の核に反応がみられるが、それらの細胞の分化に伴い発現量は低下し、成人の生殖細胞では反応がみられない^{(3)~(6)}。腫瘍では、性腺芽腫や胚細胞腫瘍の一部で反応がみられる⁽⁴⁾。胚細胞腫瘍においては、GCNIS、セミノーマ/未分化胚細胞腫(ディスジャーミノーマ)/胚細胞腫(ジャーミノーマ)、胎児性癌で反応がみられるが、卵黄嚢腫瘍、絨毛癌などでは反応がみられないため、胚細胞腫瘍の組織型分類に有用である^{(4)(7)(8)~(10)}。

注)Oct-3/4が発現している細胞では、核の他に細胞質にも染色がみられることがある。

※GCNIS：Germ cell neoplasia *in situ*

- クローン名：N1NK
- 抗体のクラス/サブクラス：IgG1
- 免疫原：ヒトOct-3/4のN末端側から147番目までのアミノ酸配列に相当するリコンビナントタンパク質
- 製法：培養上清より得ている。

1. 内容

第一抗体・・・抗Oct-3/4モノクローナル抗体(N1NK) (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Oct-3/4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

- 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(℃)
Oct-3/4-AT	Dewax2-AT	TRtypeN-AT	101	Buffer	Oct-3/4-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) Kellner S, et al. Transcriptional regulation of the Oct4 gene, a master gene for pluripotency. *Histol Histopathol.* 2010 Mar;25(3):405-12.
- (2) Rizzino A. Sox2 and Oct-3/4: a versatile pair of master regulators that orchestrate the self-renewal and pluripotency of embryonic stem cells. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med.* 2009 Sep-Oct;1(2):228-236.
- (3) Hattab EM, Tu PH, Wilson JD, Cheng L. OCT4 immunohistochemistry is superior to placental alkaline phosphatase (PLAP) in the diagnosis of central nervous system germinoma. *Am J Surg Pathol.* 2005 Mar;29(3):368-71.
- (4) Looijenga LH, et al. POU5F1 (OCT3/4) identifies cells with pluripotent potential in human germ cell tumors. *Cancer Res.* 2003 May 1;63(9):2244-50.
- (5) Rajpert-De Meyts E, et al. Diagnostic markers for germ cell neoplasms: from placental-like alkaline phosphatase to micro-RNAs. *Folia Histochem Cytobiol.* 2015;53(3):177-88.
- (6) Rajpert-De Meyts E, et al. Developmental expression of POU5F1 (OCT-3/4) in normal and dysgenetic human gonads. *Hum Reprod.* 2004 Jun;19(6):1338-44.
- (7) Ulbright TM, et al; Members of the ISUP Immunohistochemistry in Diagnostic Urologic Pathology Group. Best practices recommendations in the application of immunohistochemistry in testicular tumors: report from the International Society of Urological Pathology consensus conference. *Am J Surg Pathol.* 2014 Aug;38(8):e50-9.
- (8) Looijenga LHJ, et al. Report From the International Society of Urological Pathology (ISUP) Consultation Conference on Molecular Pathology of Urogenital Cancers: IV: Current and Future Utilization of Molecular-Genetic Tests for Testicular Germ Cell Tumors. *Am J Surg Pathol.* 2020 Jul;44(7):e66-e79.
- (9) Gică N, et al. Ovarian Germ Cell Tumors: Pictorial Essay. *Diagnostics (Basel).* 2022 Aug 24;12(9):2050.
- (10) Mei K, et al. Diagnostic utility of SALL4 in primary germ cell tumors of the central nervous system: a study of 77 cases. *Mod Pathol.* 2009 Dec;22(12):1628-36.

■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(℃)」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。)