



## 研究用試薬

## ヒストファイン

## 第一抗体

抗ケラチン/サイトケラチン19モノクローナル抗体(A53-B/A2.26)  
(AT用)

(動物種：マウス)

包装：50テスト(6.5mL) Code：AT1846-1

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：ヒトケラチン/サイトケラチン19タンパク質と特異的に反応する。ケラチンは上皮細胞において中間径フィラメント(IF)を形成するタンパク質で、分子量(MW)によって低分子と高分子に、等電点(pI)によってタイプI(酸性)とタイプII(塩基性～中性)に分類される<sup>(1)(2)</sup>。ケラチン19はタイプI(酸性)に属する低分子ケラチンで、分子量はケラチンでは最小のMW: 約40kDaである<sup>(1)-(4)</sup>。正常では、消化管、胆管、呼吸器、尿路系、唾液腺など幅広い組織分布を示し、組織中のほとんどの単層上皮、多列上皮、移行上皮、重層上皮で細胞質に発現がみられるが、重層扁平上皮においては、食道などの非角化重層扁平上皮では特に基底細胞に強く発現がみられ、皮膚の角化重層扁平上皮細胞では発現がみられない<sup>(1)(3)-(5)</sup>。また、肝細胞、膵腺房細胞などでは発現がみられない<sup>(1)(3)-(5)</sup>。腫瘍では、膵臓、大腸、食道、胃などの腺癌のほか、乳がん、尿路上皮がん、胆管癌、甲状腺癌の一部などでも発現がみられる<sup>(3)(6)</sup>。胆管上皮細胞マーカーとして使用されるケラチン19は、胆管癌と肝細胞癌を判別するのに有用であると報告されている<sup>(4)(7)(8)</sup>。また肝細胞癌ではほとんど発現がみられないが、発現がみられる場合は肝細胞癌の予後予測に役立つと報告されている<sup>(3)(4)(7)(9)</sup>。

■クローン名：A53-B/A2.26

■アイソタイプ：IgG2a,  $\kappa$

■免疫原：ヒト乳がん細胞株MCF-7

■製法：Protein A/Gで精製して得ている。

## 1. 内容

第一抗体・・・抗ケラチン/サイトケラチン19モノクローナル抗体(A53-B/A2.26)(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)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・細胞中のヒトケラチン/サイトケラチン19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(℃)
CK19-AT	Dewax2-AT	TRpH9-AT	101	Buffer	CK19-AT	20	25

※参考1：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。

※参考2：組織の固定状況等により、Dewax-2(AT用)(Code：AT1533-1)、TR-pH9(AT用)(Code：AT1534-1)を用いた前処理の代わりに、プロテアーゼ溶液(AT用)(Code：AT1523-1)を用いることで良好な染色が得られる場合がある。(裏面の※参考2参照)

## 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) Moll R, et al. The catalog of human cytokeratins: patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells. Cell. 1982 Nov;31(1):11-24.
- (2) Karantza V. Keratins in health and cancer: more than mere epithelial cell markers. Oncogene. 2011 Jan 13;30(2):127-38.
- (3) Menz A, et al. Diagnostic and prognostic impact of cytokeratin 19 expression analysis in human tumors: a tissue microarray study of 13,172 tumors. Hum Pathol. 2021 Sep;115:19-36
- (4) Moll R, et al. The human keratins: biology and pathology. Histochem Cell Biol. 2008 Jun;129(6):705-33.
- (5) Bártek J, et al. Differential expression of keratin 19 in normal human epithelial tissues revealed by monospecific monoclonal antibodies. Histochem J. 1986 Oct;18(10):565-75.
- (6) Liu Z, et al. Significance of CK19, TPO, and HBME-1 expression for diagnosis of papillary thyroid carcinoma. Int J Clin Exp Med. 2015 Mar 15;8(3):4369-74.
- (7) Jain R, et al. The use of Cytokeratin 19 (CK19) immunohistochemistry in lesions of the pancreas, gastrointestinal tract, and liver. Appl Immunohistochem Mol Morphol. 2010 Jan;18(1):9-15.
- (8) Takahashi Y, et al. Application of Immunohistochemistry in the Pathological Diagnosis of Liver Tumors. Int J Mol Sci. 2021 May 28;22(11):5780.
- (9) Zhuo JY, Lu D, Tan WY, Zheng SS, Shen YQ, Xu X. CK19-positive Hepatocellular Carcinoma is a Characteristic Subtype. J Cancer. 2020 Jun 28;11(17):5069-5077.

**※参考1**：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「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 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。)

**※参考2**：プロテアーゼ溶液(AT用)を用いる場合(おもて面の※参考2参照)は、《タイプ：HRP Heat》から《タイプ：HRP Enz》への登録の変更と、以下の設定を行うことが必要です。弊社にて登録、設定を行いますのでご連絡ください。

《タイプ：HRP Enz》

プロトコル名	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(℃)
CK19-AT	H2O2-AT	CK19-AT	20	25

《タイプ：HRP Enz》にて染色を行う場合、プロテアーゼ溶液(AT用)(Code : AT1523-1)の他に、過酸化水素水(AT用)(Code : AT1524-1)をご用意ください。