



## 研究用試薬

## ヒストファイン

## 第一抗体

## 抗Claudin-4ウサギモノクローナル抗体(EP417)(AT用)

(動物種: ウサギ)

包装: 50テスト (6.5mL)

コード: AT1856-1

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Claudin-4タンパク質と特異的に反応する。Claudin-4は細胞極性を維持する細胞間接着複合体であるタイトジャンクションを構成するClaudinファミリーの1つで、分子量約22kDaの4回膜貫通型タンパク質である<sup>(1)-(3)</sup>。他のClaudinと相互作用し、孔形成型Claudinが形成するタイトジャンクションの高次構造やイオン透過性を抑制的に調節することで、細胞間のバリア機能を高める<sup>(4)(5)</sup>。正常では、ほとんどの上皮細胞で発現がみられるが、中皮細胞や肝実質細胞などでは発現がみられない<sup>(2)(3)(6)(7)</sup>。腫瘍では、肺、乳腺、膵臓、大腸の腺癌および卵巣漿液性癌、腎細胞癌、肺の扁平上皮癌など、ほとんどの癌腫(上皮性腫瘍)で発現がみられるが、上皮様中皮腫では発現がみられないため、癌腫の漿膜転移と上皮様中皮腫との判別において、高い感度と特異度を有する癌腫マーカーであると報告されている<sup>(3)(6)</sup>。また、胆道癌と肝細胞癌の判別における有用性が示唆されている<sup>(2)</sup>。

■クローン: EP417

■アイソタイプ: ウサギIgG

■免疫原: ヒトClaudin-4タンパク質のアミノ酸配列の一部に相当する合成ペプチド

■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Claudin-4モノクローナル抗体(クローン: EP417)(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)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Claudin-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、セットした試薬は速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(℃)
Claudin-4-AT	Dewax2-AT	TRtypeN-AT	101	Buffer	Claudin-4-AT	20	25

※上述の染色条件で良好な染色が得られない場合は、裏面の8.一般的なトラブルシューティングを参照してください。

## 5. 貯法及び使用上の注意

1. 2~8℃で保存すること。

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、取扱いに注意すること。

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、感染のおそれがあるので取扱いには十分注意し、医療廃棄物などに関する規定および水質汚濁防止法などの規制に従って処理するとともに、免疫染色を実施するにあたって関連技術および操作方法を十分習熟しておくこと。

## 7. 参考文献

(1) Tabariès S, et al. The role of claudins in cancer metastasis. *Oncogene*. 2017 Mar 2;36(9):1176-1190.

(2) Lódi C, et al. Claudin-4 differentiates biliary tract cancers from hepatocellular carcinomas. *Mod Pathol*. 2006 Mar;19(3):460-9.

(3) Ordóñez NG. Value of claudin-4 immunostaining in the diagnosis of mesothelioma. *Am J Clin Pathol*. 2013 May;139(5):611-9.

(4) Shashikanth N, et al. Tight junction channel regulation by interclaudin interference. *Nat Commun*. 2022 Jun 30;13(1):3780.

(5) Erramilli SK, et al. Structural and biophysical insights into targeting of claudin-4 by a synthetic antibody fragment. *Commun Biol*. 2024 Jun 17;7(1):733.

(6) Facchetti F, et al. Claudin 4 identifies a wide spectrum of epithelial neoplasms and represents a very useful marker for carcinoma versus mesothelioma diagnosis in pleural and peritoneal biopsies and effusions. *Virchows Arch*. 2007 Sep;451(3):669-80.

(7) Husain AN, et al. Guidelines for Pathologic Diagnosis of Mesothelioma: 2023 Update of the Consensus Statement From the International Mesothelioma Interest Group. *Arch Pathol Lab Med*. 2024 Nov 1;148(11):1251-1271.

## 8. 一般的なトラブルシューティング

組織の固定状況などにより、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 TRpH6-AT から TRpH9-AT または TRtypeN-AT に変更する。
- ・抗原賦活化の「TR」を TRpH9-AT から TRtypeN-AT に変更する。
- ・「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。  
《タイプ: HRP Heat》から《タイプ: Special》に変更が必要です。  
《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。
- ・「Dewax」を Dewax2-AT から Dewax Buffer に変更する。  
変更に伴い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は、「ブロッキング」を Buffer から H2O2-AT に変更する。
- ・「Dewax」を Dewax Buffer から Dewax2-AT に変更する。
- ・抗原賦活化の「温度(℃)」を上げる。

### □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 または TRpH6-AT に変更する。
- ・抗原賦活化の「TR」を TRpH9-AT から TRpH6-AT に変更する。
- ・抗原賦活化の「温度(℃)」を下げる。

### 注意

- ・抗原賦活化液には、TR-pH6(AT 用)(コード: AT1535-1)、TR-pH9(AT 用)(コード: AT1534-1)、TR-typeN(AT 用)(コード: AT1539-1)をご使用ください。
- ・抗原賦活化の「温度(℃)」は、80～110℃の範囲で設定可能ですが、103℃までを推奨しております。
- ・染色強度をより強くする目的で、抗原賦活化条件（抗原賦活化の「TR」や抗原賦活化の「温度(℃)」）を変更した場合、第一抗体によっては、染色強度が低下する場合があります。  
特に、4.染色方法の設定で「TR」が TRpH6-AT、または、TR の「温度(℃)」が 80℃と記載されている第一抗体ではご注意ください。

### □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)(コード: AT1524-1)を用いる。)