

コード No. 28135

**Anti-
OPRT Rabbit IgG Affinity Purify**

容量 : 100 µg

- はじめに : 生体の核酸代謝に関連する key enzyme として、チミジル酸合成酵素 (Thymidylate synthase/TS : EC 2.1.1.45)、ジヒドロピリミジン脱水素酵素 (Dihydropyrimidine dehydrogenase/DPD : EC 1.3.1.2)、リン酸化酵素であるチミジンフォスホリラーゼ (Thymidine phosphorylase/TP : EC 2.4.2.4)及びオロチン酸ホスホリボシル転移酵素 (Orotate phosphoribosyl transferase/OPRT : EC 2.4.2.10)が知られています。
消化器がん、乳癌などの固形がんに対して汎用されている抗がん剤に、代謝拮抗剤の 5FU がありますが、これらの酵素は 5FU の活性化、代謝、分解に関連する酵素としても知られており、5FU 系抗がん剤の効果との関連性が報告されています。さらに TS、DPD 等はがん患者の予後に関連する因子としても報告されています。
このように本抗体は、核酸研究や 5FU 系抗がん剤の効果予測、予後予測因子探索を始めとするがん組織でのタンパク発現の検索に有用です。
- 免疫抗原 : Human OPRT の部分合成ペプチド (ISAADRLEAAEMYRKAWEAY: 454-474)
- 精製方法 : 抗原ペプチドによる特異精製
- 包装形態 : 1 % BSA, 0.05 % NaN₃ 含有 PBS 1.0 mL に溶解したものを凍結乾燥
- 再生方法 : 精製水 1.0 mL 添加(この時濃度は 100 µg/mL となります)
- 保存方法及び安定性 : 2 ~ 8 °C 保存 5 年間安定
溶解後 -20 °C 保存 2 年間安定
- 使用目的及び使用方法 : 免疫組織染色 100 倍希釈(約 1 µg/mL)にて使用可能
ホルマリン固定、パラフィン包埋切片 : 加熱による抗原賦活前処理が必要 (95 ~ 99 °C, 40 分間, EDTA 含有トリス緩衝液, pH9.0 または EDTA 液, pH8.0)、
2 ステップポリマー法にて検出可能(1 次反応 : 室温 60 分間)。
ウエスタン・ブロッティング約 1 µg/mL にて使用可能
- 参考文献 : Human Orotate Phosphoribosyl Transferase 抗体の作製とその応用、坂本一樹、杉本芳一、宮寺和孝、岡俊範、福島正和「癌と化学療法」32(5): 653 -658 2005.

コード No. 28135

**Anti-
OPRT Rabbit IgG Affinity Purify**

容量 : 10 µg

- はじめに** : 生体の核酸代謝に関連する key enzyme として、チミジル酸合成酵素 (Thymidylate synthase/TS : EC 2.1.1.45)、ジヒドロピリミジン脱水素酵素 (Dihydropyrimidine dehydrogenase/DPD : EC 1.3.1.2)、リン酸化酵素であるチミジンフォスホリラーゼ (Thymidine phosphorylase/TP : EC 2.4.2.4)及びオロチン酸ホスホリボシル転移酵素 (Orotate phosphoribosyl transferase/OPRT : EC 2.4.2.10)が知られています。
消化器がん、乳癌などの固形がんに対して汎用されている抗がん剤に、代謝拮抗剤の 5FU がありますが、これらの酵素は 5FU の活性化、代謝、分解に関連する酵素としても知られており、5FU 系抗がん剤の効果との関連性が報告されています。さらに TS、DPD 等はがん患者の予後に関連する因子としても報告されています。
このように本抗体は、核酸研究や 5FU 系抗がん剤の効果予測、予後予測因子探索を始めとするがん組織でのタンパク発現の検索に有用です。
- 免疫抗原** : Human OPRT の部分合成ペプチド (ISAADRLEAAEMYRKAWEAY: 454-474)
- 精製方法** : 抗原ペプチドによる特異精製
- 包装形態** : 1 % BSA, 0.05 % NaN₃ 含有 PBS 0.1 mL に溶解したものを凍結乾燥
- 再生方法** : 精製水 0.1 mL 添加(この時濃度は 100 µg/mL となります)
- 保存方法及び安定性** : 2 ~ 8 °C 保存 5 年間安定
溶解後 -20 °C 保存 2 年間安定
- 使用目的及び使用方法** : 免疫組織染色 100 倍希釈(約 1 µg/mL)にて使用可能
ホルマリン固定、パラフィン包埋切片 : 加熱による抗原賦活前処理が必要 (95 ~ 99 °C, 40 分間, EDTA 含有トリス緩衝液, pH9.0 または EDTA 液, pH8.0)、
2 ステップポリマー法にて検出可能 (1 次反応 : 室温 60 分間)。
: ウェスタン・ブロッティング約 1 µg/mL にて使用可能
- 参考文献** : Human Orotate Phosphoribosyl Transferase 抗体の作製とその応用、坂本一樹, 杉本芳一, 宮寺和孝, 岡俊範, 福島正和「癌と化学療法」32(5): 653 -658 2005.

28135 Anti-OPRT Rabbit IgG Affinity Purify 免疫組織染色

製品抗体濃度：規定量の精製水で溶解した原液は 100 µg/mL

推奨希釈：1 % BSA 添加 PBS で 100 倍希釈 (1 µg/mL)

推奨検出法：2 ステップポリマー法

陽性コントロール：乳腺導管 (強陽性)、大腸癌

細胞内局在：核と細胞質

染色手順

検体の処理

- 1 3~4 mm 厚の組織を 10 % (中性緩衝) ホルマリンで固定する¹⁾
- 2 常法に従い、パラフィン包埋ブロックを作製する
- 3 ミクロトームで 3~4 µm に薄切する²⁾
- 4 50°C で伸展した切片をシランコートしたスライドガラスに張り付け、37°C で 24~48 時間乾燥させる

注

- 1) 長時間の固定により抗原性が失われる場合があるため、48 時間以内が望ましい
- 2) 長期間保存された切片では良好な染色結果が得られないことがあるため、薄切後はできるだけ速やかに染色する

免疫組織化学染色 (2 ステップポリマー法¹⁾)

- 1 脱パラフィン (キシレン 3 分間×3 回)
- 2 100 % エタノール (3 分間×2 回)、続いて 95 % エタノール (3 分間×2 回)
- 3 流水で 5 分間洗浄
- 4 EDTA 含有トリス緩衝液 pH 9.0 (または EDTA 液 pH 8.0) を用いて 95~99°C で 40 分間加熱し、抗原を賦活化する²⁾
- 5 加熱容器を取り出し、切片を加熱容器に浸したまま常温に放置 (自然冷却) する (20~30 分間)
- 6 PBS で洗浄 (2 分間×2 回)
- 7 一次抗体を滴下し、湿箱中で 60 分間反応させる³⁾
- 8 PBS で洗浄 (2 分間×3 回)
- 9 ポリマー試薬と湿箱中、室温で 30 分間反応させる⁴⁾
- 10 PBS で洗浄 (2 分間×3 回)
- 11 ジアミノベンチジン (DAB) 溶液で発色させる (3~5 分間)⁵⁾
- 12 流水で 5 分間洗浄
- 13 蒸留水で洗浄
- 14 ヘマトキシリンで軽く核染色
- 15 温水 (37~40°C) に浸して色出し
- 16 常法に従い脱水、透徹、封入

注

- 1) 検出試薬として、ニチレイバイオサイエンス社のヒストファインシンプルステイン MAX-PO、Dako 社の EnVision、Biocare Medical 社の MACH2 など多数市販されている
- 2) 加熱処理によって内因性ペルオキシダーゼが失活するため、過酸化水素 (または過酸化水

-
- 素メタノール) による前処理は不要である。逆に、EDTA 液による加熱処理は内因性ビオチンの反応性を増加させるため、アビジン・ビオチン法を用いた検出は望ましくない
- 3) 通常反応時間 (30 分間や 1 時間) では染色性が安定しない。反応温度は室温でも 4°C でもよい。ダコペンやポップペンを用いて検体の周囲を囲むことで試薬の流出を防止でき、操作の効率化及び使用抗体の減量が期待できる
 - 4) 染色性が安定しない場合、反応時間を適度に延長させるとよい
 - 5) DAB は発癌性を有するので、取り扱い及び廃棄には注意が必要である

本 Technical Information は開発グループより提供いただいた内容に基づいています。併せて製品添付のデータシートをご参照ください。