

BioGenex社の製品情報

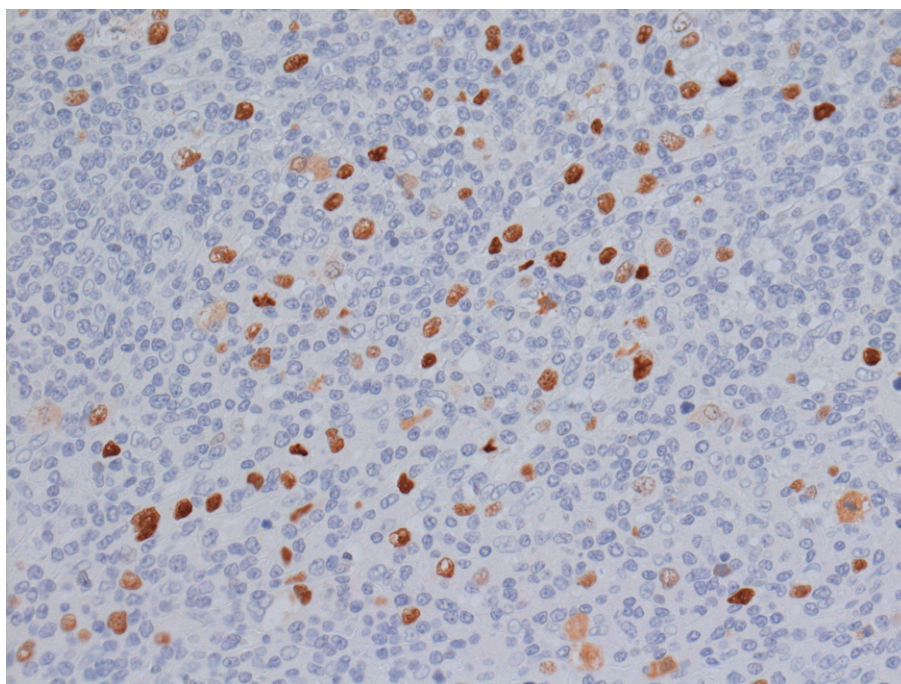


In Situ ハイブリダイゼーション Epstein-Barr Virus encoded small RNA

<検討・写真提供> 藤田保健衛生大学医学部 病理学I
教授 堤 寛 先生

■リンパ球浸潤性胃癌手術材料 (FFPE) を対象にしたEBER ISH

アッセイプロトコル：裏面に記載



がん細胞の核に一致した明瞭な陽性所見が得られている。
周囲に多数浸潤する小リンパ球の核には陰性である。

Epstein-Barrウイルス (EBV) はヘルペスウイルス科の二本鎖DNAウイルスで、世界中に分布し、成人では90%以上が感染していると言われています。EBV感染は種々のリンパ腫や上咽頭がん、胃がんとの関連が知られています。

EBV関連胃がんはEBVに感染した上皮細胞が不死化し、単クローン性に増殖した腫瘍で、胃がん全体の約7%を占めると言われています。

組織におけるEBV検出は免疫組織化学染色やIn Situ ハイブリダイゼーション (ISH法) などによって行われます。特に感染細胞に高発現するEBV encoded small RNA (EBER) を標的としたISH法は、高感度の検出が可能であり有用です。

株式会社 医学生物学研究所

<http://ruo.mbl.co.jp/>

■アッセイプロトコル(用手法)

●試薬

プローブ: Epstein-Barr Virus Encoded RNA Probe (EBER Probe) (BioGenex社)

検出キット: Super Sensitive™ One-Step Polymer-HRP ISH Detection System (BioGenex社)

※本資料は参考とし、実際にアッセイされる場合はプローブおよび検出キットのデータシートをご参照ください

手順	試薬	温度	時間
脱パラフィン・アルコール処理		室温	
▶ 前処理	Nucleic Acid Retrieval	92℃	10分
▶ ハイブリダイゼーション	EBER Probe	92℃ 37℃	10分 60分
▶ 洗浄1	Wash Solution A	45℃	5分
▶ 洗浄2	Wash Solution B	55℃	5分
▶ 内因性ペルオキシダーゼ ブロッキング処理	Peroxide Block	45℃	10分
▶ 非特異吸着ブロッキング処理	Power Block™	55℃	5分
▶ 抗フルオレセイン抗体処理	Anti-Fluorescein Antibody	室温	30分
▶ HRP標識抗体処理	Polymer-HRP	室温	30分
▶ DAB処理	Liquid DAB + Stable DAB Substrate Buffer	室温	10分
▶ 核染色	Mayer's Hematoxylin	室温	1~3分
▶ 脱水・透徹・封入		室温	

▶ : リンス (①DEPC処理水*)

◻ : 検出キット構成品

▶ : リンス (②PBS-T*)

*リンス用緩衝液としてSuper Sensitive™ Wash Buffer (BioGenex社) などをご使用いただけます。

Code No.	製品名	包装
B-PR205	Epstein-Barr Virus Encoded RNA Probe **	25 slides
B-DF40050K	Super Sensitive™ One-Step Polymer-HRP ISH Detection System	50 slides
B-HK5835K	Super Sensitive™ Wash Buffer (20X Concentrated)	500 mL

** 本プローブはEBER-1およびEBER-2と反応します

製品使用文献) Calabrese F *et al.* PloS ONE. 8(2): e55715 (2013) PMID: 23468849
Ryan JL *et al.* Dig Dis Sci. 57(7): 1887-1898 (2012) PMID: 22410851