

Monoclonal Mouse
Anti-Human
CD235a, Glycophorin A
Clone JC159
Kód M 0819
Vydáno 27.02.03

Použití	<p>In vitro diagnostikum.</p> <p>Činidlo Monoclonal Mouse Anti-Human CD235a, Glycophorin A, Clone JC159, slouží pro použití v imunocytochemii. Protilátka značí erytroidní buňky téměř ve všech stádiích diferenciaci a je užitečným nástrojem pro identifikaci erytroleukémií (1). Výsledky z panelu protilátek napomáhají v diferenciální identifikaci. Interpretaci musí provádět kvalifikovaný patolog v souvislosti s anamnézou pacienta a jinými diagnostickými vyšetřeními.</p>
Synonyma antigenu	CD235a, GPA, sialoglykoprotein alfa (1, 2).
Úvod	<p>Glykoforin A je membránový sialoglykoprotein jedenkrát procházející přes buněčnou membránu, který je nositelem krevně-skupinových antigenů M a N. Jeho gen je lokalizován v segmentech 28-31 q raménka chromozomu 4 a sdílí sekvenční homologii s geny kódujícími glykoforin B a glykoforin E (2). Glykoforin A je exprimován erytroidními buňkami počínaje morfologicky rozeznatelnými erytroidními prekurzory, po dovršení CFU-E stadia, a konče zralými erytrocyty. Jakmile dojde k maximální expresi glykoforinu A, zůstává jeho množství v každé erytroidní buňce konstantní a zdá se, že se během dalšího zrání nemění (3). Ve většině případů erytroleukémie dochází k expresi glykoforinu A na povrchu nádorových erytroblastů, zatímco u akutní myeloidní leukémie nebo u akutní lymfoblastické leukémie je glykoforin A exprimován velmi zřídka (1, 4).</p>
Dodané činidlo	<p>Monoklonální myší protilátka je poskytována v tekuté formě jako supernatant z buněčné kultury dialyzovaný proti 0,05 mol/L Tris HCl, pH 7,2, a obsahuje 15 mmol/L NaN₃.</p> <p><u>Klon:</u> JC159 (1). <u>Izotyp:</u> IgG1, kappa.</p> <p><u>Koncentrace myšího IgG:</u> Viz štítek na ampuli.</p>
Imunogen	Membránové preparáty z buněk leukémie z buněk typu "hairy cell", které byly získány ze sleziny (1).
Specifičnost	Jak bylo dokázáno hemaglutinací a metodou imunoblottingu, protilátka reaguje s formalínem fixovaným, do parafínu zalitým rezistentním epitopem extracelulární domény proteinu, pravděpodobně umístěným mezi aminokyselinami 27 a 40. Protilátka výrazně značí normální erytroidní buňky ve všech stádiích diferenciaci od stadia erytroblastů do stadia zralých erytrocytů a nereaguje s glykoforinem B (1).
Upozornění	<ol style="list-style-type: none">1. Pouze pro profesionální uživatele.2. Tento výrobek obsahuje azid sodný (NaN₃), chemikálii, která je v čistém stavu vysoce toxická. V koncentracích, v nichž se azid sodný nachází v produktu, není klasifikován jako nebezpečný, může však reagovat s olověnými a měděnými armaturami a vytvářet vysoce výbušné koncentrace kovových azidů. Při likvidaci spláchněte velkým množstvím vody, abyste zabránili nahromadění kovových azidů v armaturách.3. Stejně jako u jiných výrobků z biologických zdrojů i zde dodržujte správné postupy zacházení.
Uchovávání	Uchovávejte při teplotě 2-8°C. Nepoužívejte po uplynutí data expirace, které je uvedeno na ampuli. Jsou-li činidla uchovávána v jiných než uvedených podmínkách, musí je uživatel prověřit. Nestabilita výrobku není signalizována žádnými zřetelnými známkami. Testujte proto současně se vzorky pacientů i pozitivní a negativní kontroly. Pokud dojde k nečekanému zbarvení, které nelze vysvětlit odchylkami v laboratorních postupech, a máte-li podezření na problém s protilátkou, kontaktujte naši Technickou službu.
Příprava vzorku	<p><u>Parafínové řezy:</u> Protilátka může být použita ke značení formalínem fixovaných tkáňových řezů zalitých do parafínu. Doporučena je předběžná úprava tkání proteinázou K nebo odmaskování epitopů tepelnou indukcí. Při odmaskování epitopů tepelnou indukcí je dosahováno optimálních výsledků při použití odmaskovacích roztoků Dako Target Retrieval Solution, kód S 1700, Dako Target Retrieval Solution, High pH, kód S 3308, 10 mmol/L citrátového pufru, pH 6,0, nebo 10 mmol/L Tris pufru, 1 mmol/L EDTA, pH 9,0. Tkáňové řezy by během přípravy a následujícího imunocytochemického barvení neměly zaschnout.</p> <p><u>Zmrazené řezy a buněčné preparáty:</u> Protilátku lze použít k označení acetonem fixovaných zmrazených řezů a buněčných nátěrů.</p>
Postup barvení	<p><u>Ředění:</u> Protilátku Monoclonal Mouse Anti-Human CD235a, Glycophorin A, kód M 0819, lze použít v rozmezí ředění 1:50-1:400 při aplikaci na formalínem fixované, do parafínu zalité řezy lidské tonzily za použití 20ti minutového odmaskování epitopů tepelnou indukcí v roztoku 10 mmol/L citrátového pufru, pH 6,0, a 30ti minutové inkubace s primární protilátkou za pokojové teploty. Optimální podmínky se mohou lišit v závislosti na vzorku a metodě přípravy, a každá laboratoř by si je měla stanovit individuálně. Doporučenou negativní kontrolou je protilátka Dako Mouse IgG1, kód X 0931, naředěná na stejnou koncentraci myšího IgG, jakou má primární protilátka. Pokud jste u aktuálního barvicího postupu nestanovili stabilitu naředěné protilátky a negativní kontroly, doporučujeme tato činidla naředit bezprostředně před použitím nebo použít k ředění činidlo Dako Antibody Diluent, kód S 0809. Pozitivní a negativní kontroly by měly být vyšetřovány současně se vzorky pacientů.</p>

Vizualizace: Doporučen je kit DAKO LSAB™+/HRP, kód K 0679, a kity DAKO EnVision™+/HRP, kódy K 4004 a K 4006. Pokud u zmrazených řezů a buněčných preparátů dochází k problémům se zbarvením endogenní peroxidázou, je dobrou alternativou sada Dako APAAP, kód K 0670. Postupujte podle postupu přibaleného k vybranému vizualizačnímu kitu.

Automatizace: Protilátka je vhodná k imunocytochemickému barvení pomocí automatizovaných systémů jako např. Dako Autostainer.

Výkonnostní charakteristiky Buňky značené touto protilátkou vykazují zbarvení omezené na povrchovou buněčnou membránu.








Normální tkáně: Protilátka značí normální erytroidní buňky ve všech stádiích diferenciaci od prekurzorů normoblastů až do stadia zralých erytrocytů (1).

Abnormální tkáně: V 5/5 případech erytroleukémie byly blastické buňky silně značeny protilátkou (60-80% pozitivních buněk) (1).

Literatura

1. Erber WN, McLachlan J, Cordell JL, Turley H, Reid M, Mason DY. A new monoclonal antibody (JC159) that detects glycoprotein A for the diagnosis of erythroleukaemia. *Hematol Rev* 1991;5:113-20.
2. van der Schoot CE, Baardman R, Ligthart P, de Jong I, von dem Borne AEK, de Haas M. RC4. CD235a and CD235b – Glycophorin A and Glycophorin B. In: Mason D, André P, Bensussan A, Buckley C, Civin C, Clark E, et al., editors. *Leucocyte typing VII. White cell differentiation antigens. Proceedings of the 7th International Workshop and Conference*; 2000 Jun 19-23; Harrogate, United Kingdom. New York: Oxford University Press Inc.; 2002. p. 577-9.
3. Loken MR, Shah VO, Dattilio KL, Civin CI. Flow cytometric analysis of human bone marrow: I. Normal erythroid development. *Blood* 1987;69:255-63.
4. Greaves MF, Sieff C, Edwards PAW. Monoclonal antiglycophorin as a probe for erythroleukemias. *Blood* 1983;61:645-51.

Vysvětlení symbolů

	Katalogové číslo	 2°C - 8°C	Teplota skladování		Výrobce
	In vitro diagnostický zdravotnický prostředek		Číslo šarže		
	Viz návod k použití		Použitelné do		