

**Monoclonal Mouse
Anti-Human PD-L1
Clone 22C3**

Kód M3653

Použití	Pro diagnostiku in vitro. Monoclonal Mouse Anti-Human PD-L1, Clone 22C3 je určena pro použití v imunohistochemii. Tato protilátka značí PD-L1 v normální a neoplastické tkáni. Klinickou interpretaci zbarvení nebo jeho nepřítomnosti je třeba doplnit morfoloickým vyšetřením s využitím patřičných kontrol a vyhodnotit s přihlédnutím k pacientově klinické anamnéze a k dalším diagnostickým testům provedeným certifikovaným patologem. Tato protilátka je určena k použití po primární diagnóze nádoru provedené konvenční histopatologií za použití neimunologických histochemických zbarvení.
Synonyma antigenu	Ligand 1 naprogramované buněčné smrti (1).
Souhrn a výklad	Vazba ligandů PD-1, PD-L1 a PD-L2 k receptoru PD-1 na T-buňkách inhibuje proliferaci T-buněk a produkci cytokinů (2). Up-regulace ligandů PD-1 se vyskytuje u některých nádorů a signalizuje, že prostřednictvím této dráhy lze přispět k inhibici aktivních T-buněk imunitního dozoru nádorů (3). Zablokování interakce PD-1 s PD-L1 a PD-L2 uvolňuje inhibici imunitní odpovědi zprostředkovanou po dráze PD-1, včetně protinádorové imunitní odpovědi (4). Informace týkající se těchto témat naleznete v příručce <i>General Instructions for Immunohistochemical Staining</i> (Obecné pokyny pro imunohistochemické barvení) společnosti Dako nebo v návodu k systému detekce pro IHC metody.
Dodávané činidlo	Monoklonální myší protilátka se dodává v kapalné podobě s obsahem 0,05 mol/l Tris-HCl, 0,015 mol/l azidu sodného, 1% albuminu bovinního séra, pH 7,2. <u>Klon:</u> 22C3 (5). <u>Izotyp:</u> IgG1. <u>Koncentrace myší IgG v mg/l:</u> Viz štítek na lahvičce. Koncentrace proteinu se může u jednotlivých šarží lišit, což však nemá vliv na optimální ředění. Titr každé jednotlivé šarže se porovnává a upravuje vůči referenční šarži tak, aby byla mezi šaržemi zajištěna konzistentní funkčnost imunohistochemického barvení.
Imunogen	Extracelulární doména lidského PD-L1 (Phe19-Thr239) sloučená s lidským fragmentem IgG1 (R&D Systems katalogové číslo 156-B7-100)
Specifita	V testech Western blot rekombinantního lidského proteinu PD-L1, monoklonální myší antihumánní PD-L1, klon 22C3 značí pásmo odpovídající ~40 kDa.
Bezpečnostní opatření	1. Určeno pro profesionální uživatele. 2. Tento výrobek obsahuje azid sodný (NaN ₃), který je v čisté formě vysoce toxický. Koncentrace azidu sodného v produktu není sice klasifikována jako nebezpečná, nicméně sloučenina může reagovat s olovem a mědí v odpadním potrubí a vytvářet vysoce explozivní azidy těchto kovů. Při likvidaci splachujte dostatečným množstvím vody, aby nedocházelo k usazování azidů kovů v potrubí. 3. Jako u každého výrobku biologického původu je nutno dodržovat řádná bezpečnostní opatření. 4. Používejte odpovídající osobní ochranné prostředky, aby nedošlo k zasažení očí nebo pokožky. 5. Nespolečně roztoky je nutno likvidovat v souladu s místními a celostátními předpisy.
Uchování	Uchovávat při 2–8 °C. Nepoužívat po datu expirace uvedeném na lahvičce. Pokud se činidla skladují za jakýchkoli jiných než uvedených podmínek, musí uživatel tyto podmínky ověřit. Případná nestabilita výrobku by se neprojevila žádnými známkami. Proto je nutno provádět současně s testováním vzorků pacienta pozitivní a negativní kontroly. Pokud pozorujete neočekávané zbarvení, které nelze vysvětlit změnami laboratorních postupů, a máte podezření, že se jedná o problém s protilátkou, obraťte se na technickou podporu společnosti Dako.
Příprava vzorku	<u>Parafinové řezy:</u> Protilátku lze používat ke značení řezů tkání fixovaných ve formalínu a zalitých v parafínu. Vzorky tkání je nutno rozřezat na řezy o tloušťce přibližně 4 µm. <u>Předběžné zpracování:</u> Pokyny k předběžnému zpracování sklíček najdete v dokumentu pro roztok na vyhledávání cíle EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, Low pH (50x) (kód K8005).
Postup barvení	Toto jsou pouze obecné pokyny. Optimální podmínky se mohou lišit v závislosti na vzorku a způsobu přípravy a měly by být v každé laboratoři ověřovány individuálně. Výkonnost této protilátky musí být stanovena uživatelem, když je používána s jinými manuálními barvicími systémy nebo barvicími automaty.

Ředění: Doporučené ředění pro Monoclonal Mouse Anti-Human PD-L1, Clone 22C3, kód M3653, je 1:50. Ředte protilátku ředicím roztokem Dako Antibody Diluent with Background-Reducing Components (kód S3022). Předběžně zpracované řezy tkáně inkubujte po dobu 30 minut při pokojové teplotě.

Negativní kontrola: Doporučené činidlo pro negativní kontrolu je Dako Negative Control, Mouse IgG1 1 (kód X0931), zředěné na stejnou koncentraci IgG1 jako primární protilátka. Pokud nebyla stanovena stabilita naředěné protilátky a negativní kontroly ve stávajícím postupu barvení, naředte tato činidla bezprostředně před použitím. Souběžně s testováním vzorků pacienta je třeba provést pozitivní a negativní kontroly.

Vizualizace: Doporučeným vizualizačním systémem je EnVision™ FLEX HRP, který používá 30minutovou inkubaci při pokojové teplotě. Inkubační doba pro EnVision™ FLEX+ Mouse (LINKER) (kód K8021/K8022) je 30 minut při pokojové teplotě. Dodržujte postup přiložený ke zvolenému vizualizačnímu systému.

Poznámka: Pro HIER použijte EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, **Low pH** (50x) (kód K8005). Inkubační doba pro aditivum DAB (kód S196131-2) je 5 minut při pokojové teplotě.

Kontrastní barvení: Doporučené kontrastní barvivo je EnVision™ FLEX Hematoxylin (kód K8008/K8018). Pro dosažení optimálních výsledků je doporučeno použít bezvodé permanentní montážní médium.

Kontroly: Pozitivní a negativní kontroly tkání je nutno provádět vždy současně použitím stejného protokolu jako vzorky pacienta. Tkáň pro pozitivní kontrolu musí obsahovat mandle a buňky/struktury musí zobrazovat vzor reakce, jak je stanoveno pro tuto tkáň v části „Charakteristiky účinnosti“.

Interpretace zbarvení

Buněčný barvicí vzor je membránový.

Charakteristiky účinnosti

Normální tkáně:

Na imunitních buňkách a buňkách epitelálního původu bylo pozorováno zbarvení plazmatické membrány. Na některých typech buněk bylo pozorováno cytoplazmatické zbarvení, ale nebylo zaznamenáno jako pozitivní zbarvení. Tabulka 1 uvádí souhrnný přehled imunoreaktivity PD-L1 na doporučeném panelu normálních tkání. Všechny tkáně byly fixovány formalínem, zality v parafínu a barveny protilátkou Monoclonal Mouse Anti-PD-L1, klon 22C3 podle pokynů uvedených v příbalovém letáku. Na testovaných typech buněk nebo tkání nebyly pozorovány žádné neočekávané výsledky. Pozorované zbarvení bylo konzistentní s uvedenou literaturou pro expresi PD-L1 IHC v normálních tkáních (1, 2).

Tabulka 1: Souhrn reaktivity monoklonálního myšičího antičlověčího PD-L1, klon 22C3 s normálními tkáněmi

Typ tkáně (počet testovaných)	Pozitivní prvky tkáně	Typ tkáně (počet testovaných)	Pozitivní prvky tkáně
Brzlík (3)	3/3 dřeň	Pankreas (3)	0/3
Děloha (3)	0/3	Plíce (3)	3/3 makrofágy
Děložní hrdlo (3)	1/3 epitelální buňky	Prostata (2)	2/2 epitel
Hypofýza (3)	1/3 přední hypofýza	Prs (3)	0/3
	1/3 zadní hypofýza	Příštítná tělíska (3)	1/3 glandulární epitel
Játra (3)	1/3 makrofágy	Slezina (3)	2/3 makrofágy
	1/3 hepatocyty	Slinná žláza (3)	0/3
Jícen (3)	0/3	Sval kosterní (3)	0/3
Kostní dřeň (3)	3/3 megakaryocyty	Sval srdeční (3)	0/3
Kůže (3)	0/3	Štítná žláza (3)	0/3
Ledvina (3)	1/3 tubulární epitel	Tenké střevo (3)	0/3
Malý mozek (3)	0/3	Tračník (3)	1/3 lymfocyty
Mandle (3)	3/3 epitel krypty		1/3 makrofágy
	2/3 makrofágy	Vaječník (3)	0/3
Mezoteliální buňky (2)	0/2	Varlata (3)	0/3
Mozek (3)	0/3	Žaludek (3)	2/3 lymfocyty
Nadledvina (3)	0/3		1/3 gastrické žlázy
Nerv periferní (3)	0/3		

Abnormální tkáně:

Na imunitních buňkách a buňkách epitelálního původu bylo pozorováno zbarvení plazmatické membrány. Na některých typech buněk bylo pozorováno cytoplazmatické zbarvení, ale nebylo zaznamenáno jako pozitivní zbarvení. Tabulka 2 uvádí souhrnný přehled imunoreaktivity PD-L1 na panelu normálních tkání. Všechny tkáně byly fixovány formalínem, zality v parafínu a barveny protilátkou Monoclonal Mouse Anti-PD-L1, klon 22C3 podle pokynů uvedených v příbalovém letáku. Na testovaných vzorcích tumoru nebyly pozorovány žádné neočekávané výsledky. Pozorované zbarvení bylo konzistentní s uvedenou literaturou pro expresi PD-L1 IHC v neoplastických tkáních (1-4).





Tabulka 2: Souhrn reaktivity monoklonálního myšičního antihumánního PD-L1, klon 22C3 s neoplastickými tkáněmi

Typ tumoru	Místo	PD-L1 pozitivní/celkem N=159
Adenokarcinom	Děloha, endometrium	0/3
	Děloha, z jasných buněk	0/1
	Děložní čípek, endocervikální typ	0/1
	GI, metastázující do plic	0/1
	Hlava a krk, tvrdé patro	0/1
	Jícen	0/1
	Konečník	0/4
	Plíce	1/4
	Prostata	0/5
	Prs, DCIS	0/2
	Prs, invazivní duktální	0/7
	Prs, invazivní duktální metastázující do lymfatické uzliny	0/1
	Příloha	0/1
	Slinivka břišní	0/2
	Slinivka břišní, duktální	0/3
	Slinné/příušní žlázy	0/2
	Štítná žláza, folikulární	0/1
	Štítná žláza, folikulární-papilární	0/1
	Štítná žláza, papilární	0/3
	Tenké střevo	0/2
	Tlusté střevo, metastázující do jater	0/1
	Tlusté střevo, mucinózní	0/1
	Tračník	0/5
	Vaječník	0/1
	Vaječník, endometrioid	0/1
	Vaječník, mucinózní	0/1
	Vaječník, sérový	0/1
	Žaludek	0/6
	Žaludek, mucinózní	0/1
	Žlučník	1/5
Adrenokortikální karcinom	Nadledvinka	0/1
Astrocytom	Přední mozek	0/3
Embryonální karcinom	Varle	0/1
Ependymom	Mozek	0/1
Feochromocytom	Nadledvinka	0/1
Glioblastom	Mozek	0/1
Hepatoblastom	Játra	0/1
Hepatocelulární karcinom	Játra	0/5
Chondrosarkom	Kost	0/1
Chordom	Pánevní dno	0/1
Intersticiální karcinom	Konečník	0/1
	Tenké střevo	0/1
	Tračník	0/1
Karcinom	Nosohltan, NPC	0/1
Karcinom bazálních buněk	Kůže	0/1
Karcinom ledviny		
Papilární	Ledvina	0/1
Z jasných buněk	Ledvina	0/6

Karcinom z buněk tvaru pečetního prstenu	Metastázující karcinom tlustého střeva z buněk tvaru pečetního prstenu do vaječníku	0/1
	Tračník	0/1
Karcinom z přechodných buněk	Ledvina	0/1
	Močový měchýř	0/6
Leiomyosarkom	Měkká tkáň, hrudní stěna	0/1
	Močový měchýř	0/1
Lymfom		
Anaplastický velkobuněčný	Lymfatické uzliny	0/1
Difuzní B-buněk	Lymfatické uzliny	0/4
Hodgkin	Lymfatické uzliny	2/2
Non-Hodgkin	Lymfatické uzliny	1/1
Malobuněčný karcinom	Plíce	0/1
Medulární karcinom	Štítná žláza	0/1
Meduloblastom	Mozek	0/1
Melanom	Konečník	0/1
	Nosní dutina	0/1
Meningiom	Mozek	0/2
Mesotheliom	Peritoneum	0/1
Neuroblastom	Retroperitoneum	0/1
Neurofibrom	Měkká tkáň, bedra	0/1
Osteosarkom	Kost	0/2
Primitivní neuroektodermální tumor (PNET)	Retroperitoneum	0/1
Rhabdomyosarkom	Měkká tkáň, embryonální	0/1
	Prostata	0/1
	Retroperitoneum	0/1
Seminom	Varle	0/2
Spermatocytom	Varle	0/2
Spinocelulární karcinom	Děloha	0/1
	Děložní čípek	2/5
	Hlava a krk	0/2
	Jícen	0/7
	Kůže	0/2
	Metastatický esofageální spinocelulární karcinom do lymfatických uzlin	0/1
	Plíce	1/2
Synoviální sarkom	Pánevní dno	0/1
Thymom	Mediastinum	1/1
Tumor z ostrůvkových buněk	Slinivka břišní	0/1

Literatura

1. Okazaki T, Honjo T. PD-1 and PD-1 ligands: from discovery to clinical application. *International Immunol* 2007(19); 7:813.
2. Brown JA, Dorfman DM, Ma F-R, Sullivan EL, Munoz O, Wood CR, et al. Blockade of Programmed Death-1 Ligands on Dendritic Cells Enhances T Cell Activation and Cytokine Production. *J Immunol* 2003;170:1257.
3. Cooper WA, Tran T, Vilain RE, Madore J, Seliger CI, Kohonen-Cornish M, et al. PD-L1 expression is a favorable prognostic factor in early stage non-small cell carcinoma. *Lung Cancer* 2015; 89:181.
4. Chen B, Chapuy B, Ouyang J et al. PD-L1 Expression Is Characteristic of a Subset of Aggressive B-cell Lymphomas and Virus-Associated Malignancies. *Clin Cancer Res* 2013; 19:3462-3473.

REF	Katalogové číslo		Teplotní rozmezí od do		Viz Návod k použití
	Výrobce	LOT	Číslo šarže		Použitelné do
EC REP	Zplnomocněný zástupce			IVD	In vitro diagnostický zdravotnický prostředek

PT0039/Rev C



Dako North America, Inc.
6392 Via Real
Carpinteria, California 93013 USA

Tel 805 566 6655
Fax 805 566 6688
Technical Support 800 424 0021
Customer Service 800 235 5763

EC **REP**

Dako Denmark A/S
Produktionsvej 42
DK-2600 Glostrup Denmark

Tel +45 4485 9500
Fax +45 4485 9595

www.dako.com

Vydání 04/17