

FLEX
Monoclonal Mouse
Anti-Human
Caldesmon
 Klon: h-CD
Ready-to-Use
 (Dako Omnis)

Kód GA054

- Použití** Pro diagnostiku in vitro.
 FLEX Monoklonální myší antihumánní kaldesmon, klon h-CD, připravený k použití (Dako Omnis), je určen pro použití v imunohistochemii společně s přístrojem Dako Omnis. Tato protilátka značí buňky exprimující kaldesmon ve tkáních fixovaných ve formalínu a zalitých v parafínu (FFPE). Výsledky přispívají ke klasifikaci nádorů s diferenciací buněk hladkého svalstva (1,2). Diferenční klasifikaci napomáhají výsledky z panelu protilátek. Klinickou interpretaci zbarvení nebo jeho nepřítomnosti je třeba doplnit morfologickým vyšetřením s využitím patřičných kontrol a vyhodnotit s přihlédnutím k pacientově klinické anamnéze a k dalším diagnostickým testům provedeným kvalifikovaným patologem. Tato protilátka je určena k použití po primární diagnóze nádoru provedené konvenční histopatologií za použití neimunologických histochemických zbarvení.
- Souhrn a vysvětlení** Kaldesmon je vývojově regulovaný protein účastní se kontrakce hladkých svalů i nesvalovaných kontrakcí (3,4). Informace týkající se těchto témat naleznete v příručce *General Instructions for Immunohistochemical Staining* (Obecné pokyny pro imunohistochemické barvení) společnosti Dako nebo v návodu k systému detekce pro metody IHC.
- Dodávané činidlo** Monoklonální myší protilátka připravená k použití se dodává v kapalné podobě v pufru s obsahem stabilizujícího proteinu a 0,015 mol/L azidu sodného.
Klon: h-CD. Izotyp: IgG1, kappa.
- Imunogen** Netříděný extrakt z lidské dělohy (1).
- Specifická** Byly identifikovány dvě blízké příbuzné varianty lidského kaldesmonu, které se liší elektroforetickou mobilitou a buněčnou distribucí. Varianta *h*-kaldesmonu (120–150 kDa) je vylučovaná především v hladkém svalu, přičemž *l*-kaldesmon (70–80 kDa) se nachází v nesvalové tkáni a buňkách. Žádná z těchto variant nebyla detekována v kosterním svalu (3). Monoclonal anti-caldesmon, h-CD rozpoznává pouze variantu 150 kDa (*h*-kaldesmon) v testech Western blot s lidskými mediálními extrakty aorty a je nereaktivní s extrakty fibroblastů z kultivované lidské předkožky (1).
- Bezpečnostní opatření**
1. Určeno pro diagnostiku in vitro
 2. Určeno pro profesionální uživatele.
 3. Tento výrobek obsahuje azid sodný (NaN₃), 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.
 4. Jako u každého výrobku biologického původu je nutno dodržovat řádná bezpečnostní opatření.
 5. Používejte odpovídající osobní ochranné prostředky, aby nedošlo k zasažení očí nebo pokožky.
 6. Nespotřebované roztoky je nutno likvidovat v souladu s místními a celostátními předpisy.
- Uchovávání** Uchovávejte při 2–8 °C. Během skladování musí být víčko uzavřené. Nepoužívejte po datu expirace uvedeném na lahvičce. Aplikační stabilita je 80 hodin. Aplikační stabilitu sleduje software Dako Omnis. 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 zpozorujete 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.

Šablona protokolu barvení*

Krok	Činidlo	Protokol
Deparafinizace	Clearify (kód GC810)	Výchozí
Předběžné zpracování	EnVision FLEX, High pH (kód GV804)	30minutové tepelně indukované vyhledávání epitopu
Primární protilátka	Ready-to-Use (kód GA054)	10minutová inkubace
Činidlo pro negativní kontrolu	FLEX Negative Control, Mouse (kód GA750)	10minutová inkubace

Vizualizace	EnVision FLEX (kód GV800) + EnVision FLEX+ Mouse LINKER (kód GV821)	Blok: 3 min; Link: 10 min; Polymer: 20 min; Chromogen: 5 min
Kontrastní barvivo	Hematoxylin (kód GC808)	3minutová inkubace
Montáž	Je vyžadována bezvodá permanentní montáž	Po vyjmutí nutno dehydratovat, vyčistit a namontovat
Kontrola kvality	Tkáň	Barvicí vzor
Kontrolní tkáň	Tračník	Cytoplazmatické zbarvení

*Uživatel se musí vždy seznámit s používanými činidly, která jsou uvedena v příbalové informaci, a vyhledat si podrobnosti v uživatelských příručkách Dako Omnis.

Příprava vzorku

Parafinové řezy: Protilátku lze používat ke značení řezů tkání fixovaných ve formalínu a zalitých v parafínu. Vzorky tkání je nutno rozřezat na řezy o tloušťce 4 µm. Z důvodu vyšší přilnavosti řezů tkání k podložním sklům se doporučuje používat podložní skla FLEX IHC Microscope Slides, kód K8020.

Postup barvení

Odstranění parafínu, vyhledání cíle, imunohistochemické barvení a kontrastní barvení se provádějí v přístroji Dako Omnis. V softwaru přístroje Dako Omnis jsou předem naprogramovány kroky barvení a inkubační doby. Pokud není v systému Dako Omnis připraven protokol, lze jej stáhnout ze stránky *Dako Omnis Protocol Update* (Aktualizace protokolu Dako Omnis) na webu www.dako.com. Podrobné pokyny ke vkládání podložních skel a plnění činidel naleznete v Základní uživatelské příručce Dako Omnis.

Přístroj Dako Omnis zajistí, aby tkáňové řezy během předběžného zpracování a následného imunohistochemického barvení nevyschly.

Předběžné zpracování: Odstranění parafínu z tkáňových řezů FFPE se provádí pomocí roztoku Clearify, kód GC810. Doporučuje se vyhledávání cíle s tepelně indukovaným vyhledáváním epitopu (HIER) pomocí naředěného roztoku EnVision FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Dako Omnis), kód GV804.

Vizualizace: Doporučený vizualizační systém je EnVision FLEX, High pH (Dako Omnis), kód GV800 v kombinaci s EnVision FLEX+ Mouse (LINKER) (Dako Omnis), kód GV821.

Kontrastní barvení: Doporučené kontrastní barvivo je Hematoxylin (Dako Omnis), kód GC808.

Montáž: Po provedení barvení v přístroji Dako Omnis se řezy musí dehydratovat, vyčistit a namontovat pomocí metody permanentní montáže.

Interpretace zbarvení

Buněčný barvicí vzor je cytoplazmatický.

Kontrola kvality

Pozitivní a negativní kontroly a také činidlo pro negativní kontrolu je nutno provádět vždy současně použitím stejného protokolu jako vzorky pacienta. Tkáň pro pozitivní kontrolu musí obsahovat tračník a buňky/struktury musí zobrazovat vzor reakce, jak je stanoveno pro tuto tkáň v části „Charakteristiky účinnosti“. Doporučené činidlo pro negativní kontrolu je FLEX Negative Control, Mouse, (Dako Omnis), kód GA750.

Charakteristiky účinnosti








Normální tkáň: Bylo zjištěno, že monoklonální anti-kaldesmon lokalizuje h-kaldesmon v kryostatických řezech lidských tkání, včetně vyvíjejícího se viscerálního hladkého svalu průdušnice, jícnu, lačnicku a dělohy 10–20 týdenního plodu. Buňky hladkého svalu aorty z 10 a 20 týdnů starých plodů na anti-kaldesmon nereagovaly (1). U dospělých byla exprimace kaldesmonu prokázána u buněk vaskulárních a viscerálních hladkých svalů, ale nikoli u epiteliálních buněk, endoteliálních buněk ani u fibroblastů pojivové tkáně. Buňky tunica media a subpopulace buněk hladkého svalstva sub-endoteliální intima aorty dospělých vykázaly s protilátkou anti-kaldesmon pozitivní zbarvení (1). V imunohistochemických (IHC) studiích zmrazených řezů normální lidské prsní tkáně označil monoklonální anti-kaldesmon buňky hladkého svalstva krevních cév a subsetu myoepiteliálních buněk v mlékovodných dutinách. Myoepiteliální buňky lobulů, kanálek a lumenální epiteliální buňky normální prsní tkáně nereagovaly pozitivně (5). Buňky hladké svaloviny ve vrstvách sliznice tračnicku (řezy FFPE) vykázaly barevnou reakci střední až silné intenzity.


Abnormální tkáň: Ve studiích IHC značila monoklonální protilátka anti-kaldesmon nádory s diferenciací buněk hladkého svalstva, jako jsou leiomyomy, angioleiomyomy, leiomyosarkomy, rabdomyosarkomy, maligní fibrózní histiocytomy, desmoidy a glomus nádory (2).

Literatura

1. Frid MG, et al. Phenotypic changes of human smooth muscle cells during development: Late expression of heavy caldesmon and calponin. *Dev Biol* 1992; 153:185
2. Watanabe K, et al. h-Caldesmon in leiomyosarcoma and tumors with smooth muscle cell-like differentiation: its specific expression in the smooth muscle cell tumor. *Hum Pathol* 1999, 30:392-396
3. Sobue K and Sellers JR. Caldesmon, a novel regulatory protein in smooth muscle and nonmuscle actomyosin systems. *J Biol Chem* 1991; 266(19):12115
4. Glukhova MA, et al. Developmental changes in expression of contractile and cytoskeletal proteins in human aortic smooth muscle. *J Biol Chem* 1990; 265(22):13042
5. Lazard D, et al. Expression of smooth muscle-specific proteins in myoepithelium and stromal myofibroblasts of normal and malignant human breast tissue. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90:999

Vysvětlivky k symbolům

 REF	Katalogové číslo	 2°C - 8°C	Teplotní rozmezí od do		Výrobce
 IVD	In vitro diagnostický zdravotnický prostředek	 LOT	Číslo šarže		
	Viz návod k použití		Použitelné do		

 Dako Denmark ApS
 Produktionsvej 42
 DK-2600 Glostrup
 Denmark
 Tel. +45 44 85 95 00
 Fax +45 44 85 95 95

Vyrobilo Dako North America, Inc. pro
 Dako Denmark ApS

Revize 11/19