

FLEX
Monoclonal Mouse
Anti-Human
Aktin hladkého svalu
Clone 1A4
Ready-to-Use
(Dako Omnis)

Kód GA611

Použití	<p>Pro diagnostiku in vitro.</p> <p>FLEX Monoklonální myší antihumánní aktin hladkého svalstva, klon 1A4, připravený k použití (Dako Omnis), je určen pro použití v imunohistochemii (IHC) společně s přístrojem Dako Omnis. Tato protilátka značí buňky hladkého svalstva, myofibroblasty a myoepitel, ve tkáních fixovaných ve formalínu a zalitých v parafínu (FFPE). Výsledky přispívají ke klasifikaci leiomyomů, leiomyosarkomů (1) a pleomorfních adenomů (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.</p>
Souhrn a výklad	<p>Cytoplazmatické aktiny, které patří do systému mikrofilament cytoskeletárních proteinů, patří k nejkonzervovanějším eukaryotickým proteinům exprimovaným u savců a ptáků. Aktin se skládá ze šesti izoform, které se liší sekvencí aminokyselin, ale všechny mají stejnou molekulovou hmotnost 42 kDa. Tyto izoformy vykazují více než 90% celkovou sekvenční homologii, ale pouze 50–60% homologii v 18 N-koncových zbytcích. N-koncová oblast je hlavní antigenní oblastí (3). Existují různé izoformy α specifické pro svalové tkáně, tj. α kosterního svalu, srdečního svalu a hladkého svalu, v uvedeném pořadí (4). β- a γ- aktiny mohou být přítomny ve svalových buňkách a také ve většině jiných typů buněk v těle, včetně jiných než svalových buněk (5).</p> <p>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 naleznete informace týkající se těchto témat: Princip metody, potřebné materiály, které nejsou součástí dodávky, skladování, příprava vzorku, postup barvení, kontrola kvality, řešení problémů, interpretace zbarvení, obecná omezení.</p>
Dodávaná reagencie	<p>Monoklonální myší protilátka připravená k použití se dodává v kapalné podobě v pufru s obsahem stabilizujícího proteinu a 0,015 mol/l azidu sodného.</p> <p><u>Klon:</u> 1A4. Klon 1A4 je identický s protilátkou anti-asm-1 popsanou v (3). <u>Izotyp:</u> IgG2a, kappa.</p>
Imunogen	<p>N-koncový syntetický decapeptid α-aktinu hladkého svalstva (4).</p>
Specifita	<p>V testech Western blotting a SDS-PAGE immunoblotting s α-izoformou aktinu hladkého svalstva bylo zjištěno, že tato protilátka značí pruh odpovídající aktinu hladkého svalstva (3).</p>
Bezpečnostní opatření	<ol style="list-style-type: none">1. Pro diagnostiku in vitro.2. Určeno pro profesionální uživatele.3. 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.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	<p>Uchovávejte při 2–8 °C. Během skladování musí být víčko uzavřené. Nepoužívejte po datu expirace uvedeném na lahvičce. Aplikační stabilita je 375 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.</p>

Šablona protokolu
barvení*

Krok	Reagencie	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 GA611)	20minutová inkubace
Činidlo pro negativní kontrolu	FLEX Negative Control, Mouse (kód GA750)	20minutová 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/apendix, játra	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.agilent.com. Podrobné pokyny ke vkládání podložních sklů 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 ve spojení se systémem 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.

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 buňky tračníku/apendixu a jater a tyto 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.

Interpretace zbarvení

Buněčný barvicí vzor je cytoplazmatický.

Charakteristiky účinnosti

Normální tkáně: Buňky hladké svaloviny v lamina muscularis tračníku/apendixu vykazují střední až silné cytoplazmatické zbarvení. V játrech vykazují sinusoidové buňky hladkého svalstva slabé až střední cytoplazmatické zbarvení.

Reaktivita normální tkáně (6).

Typ tkáně (počet testovaných)	Pozitivní prvky tkáně	Typ tkáně (počet testovaných)	Pozitivní prvky tkáně
Brzlík (3)	3/3 Buňky hladkého svalstva v cévách (>90 %)	Periferní nervy (3)	3/3 Buňky hladkého svalstva v cévách (>90 %) 3/3 perineuriu (epiteloidní myofibroblasty) (>90 %)
Děloha (3)	3/3 Buňky hladkého svalstva v cévách (>90 %) 3/3 Myometrium (>90 %)	Plíce (3)	3/3 Buňky hladkého svalstva v cévách (>90 %)
Děložní hrdlo (3)	3/3 Buňky hladkého svalstva v cévách (>90 %) 1/3 Muscularis (>90 %)	Prostata (3)	3/3 Buňky hladkého svalstva v cévách (>90 %) 3/3 Fibromuskulárním stromatické/bazální/myoepitelové buňky (>90 %)
Hypofýza (3)	3/3 Buňky hladkého svalstva v cévách (>90 %)	Prs (3)	3/3 Buňky hladkého svalstva v cévách (>90 %) 3/3 Myoepiteliální buňky (>90 %)
Játra (3)	3/3 Buňky hladkého svalstva v sinusoidách jater a ve vrátnicovém oběhu (>90 %)	Příštitná tělíska (3)	3/3 Buňky hladkého svalstva v cévách (>90 %)
Jícen (3)	3/3 Buňky hladkého svalstva v cévách (>90 %) 3/3 Buňky hladkého svalstva v lamina muscularis mucosae a muscularis propria (>90 %)	Slezina (3)	3/3 Buňky hladkého svalstva v cévách (>90 %)









Kosterní sval (3)	3/3 Buňky hladkého svalstva v cévách (>90 %)	Slinná žláza (3)	3/3 Buňky hladkého svalstva v cévách (>90 %) 3/3 Myoepiteliální buňky (>90 %)
Kostní dřevina (3)	3/3 Buňky hladkého svalstva v cévách (>90 %)	Srdce (3)	3/3 Buňky hladkého svalstva v cévách (>90 %)
Kůže (3)	3/3 Buňky hladkého svalstva v cévách (>90 %) 3/3 Myoepiteliální buňky (>90 %) 3/3 Svaly arrector pili (>90 %)	Štítná žláza (3)	3/3 Buňky hladkého svalstva v cévách (>90 %)
Ledvina (3)	3/3 Buňky hladkého svalstva v cévách (>90 %) 3/3 Kapiláry v glomerulu (>90 %) 3/3 Bazální/myoepitelové buňky (>90%)	Tenké střevo (3)	3/3 Buňky hladkého svalstva v cévách (>90 %) 3/3 Buňky hladkého svalstva v lamina muscularis mucosae a muscularis propria (>90 %) 3/3 Bazální buňky / myoepitelové buňky (>90 %)
Mandle (3)	3/3 Buňky hladkého svalstva v cévách (>90 %)	Tračník (3)	3/3 Buňky hladkého svalstva v cévách (>90 %) 3/3 Buňky hladkého svalstva v lamina muscularis mucosae a muscularis propria (>90 %) 3/3 Bazální buňky / myoepitelové buňky (>90 %)
Mozek, malý mozek (3)	3/3 Buňky hladkého svalstva v cévách (>90 %)	Vaječník (3)	3/3 Buňky hladkého svalstva v cévách (>90 %)
Mozek, velký mozek (3)	3/3 Buňky hladkého svalstva v cévách (>90 %)	Varlata (3)	3/3 Buňky hladkého svalstva v cévách (>90 %) 3/3 Bazální membrány semenných kanálků (>90 %)
Nadledvina (3)	3/3 Buňky hladkého svalstva v cévách (>90 %)	Výstelkové buňky (hrudní stěna, břišní stěna, perikard, povrch gastrointestinální soustavy, vzorky srdce a/nebo plic) (3)	3/3 Buňky hladkého svalstva v cévách (>90 %)
Pankreas (3)	3/3 Buňky hladkého svalstva v cévách (>90 %) 1/3 Glandulární buňky (~50 %)	Žaludek (3)	3/3 Buňky hladkého svalstva v cévách (>90 %) 3/3 Buňky hladkého svalstva v lamina muscularis mucosae a muscularis propria (>90 %) 3/3 Bazální buňky / myoepitelové buňky (>90 %)

Abnormální tkáně: Protílátka značila 24/26 leiomyomů, 6/7 atypických leiomyomů a 21/25 leiomyosarkomů dělohy a také 13/13 mimoděložních negastrointestinálních vřetenobuněčných leiomyosarkomů (1). Protílátka navíc značila variabilní množství buněk v 8/8 pseudosarkomatózních myofibroblastických nádorech močového měchýře u dětí (7). U pleomorfních adenomů značila protílátka nádorové epiteliální buňky (myoepiteliální buňky) v 19/20 případech (2).

Literatura

1. Rizeq MN, van de Rijn M, Hendrickson MR, Rouse RV. A comparative immunohistochemical study of uterine smooth muscle neoplasms with emphasis on the epithelioid variant. Hum Pathol 1994; 25:671-7.
2. Brennan PA, Umar T, Zaki GA, Langdon JD, Spedding A, Buckley J, et al. Are myoepithelial cells responsible for the widespread expression of inducible nitric oxide synthase in pleomorphic adenoma? An immunohistochemical study. J Oral Pathol Med 2000;29:279-83.
3. Skalli O, Ropraz P, Trzeciak A, Benzouana G, Gillessen D, Gabbian G. A monoclonal antibody against α -smooth muscle actin: a new probe for smooth muscle differentiation. J Cell Biol 1986; 103:2787-96.
4. Roholl PJM, Elbers HRJ, Prinsen I, Claessens JAJ, van Unnik JAM. Distribution of actin isoforms in sarcomas: an immunohistochemical study. Hum Pathol 1990; 21:1269-74.
5. Alberts B, Bray D, Lewis J, Raff M, Roberts K, Watson JD. The cytoskeleton. In: Alberts B, Bray D, Lewis J, Raff M, Roberts K, Watson JD, editors. Molecular biology of the cell. 2nd ed. New York and London: Garland Publishing; 1989. p. 613-629.
6. Dako in-house test. Report D42125.
7. Hojo H, Newton WA, Hamoudi AB, Qualman SJ, Wakasa H, Suzuki S, et al. Pseudosarcomatous myofibroblastic tumor of the urinary bladder in children: a study of 11 cases with review of the literature. Am J Surg Pathol 1995; 19:1224-36.

Vysvětlivky k symbolům

 REF	Katalogové číslo	 2°C - 8°C	Teplotní rozmezí od do		Použitelné do
 IVD	In vitro diagnostický zdravotnický prostředek	 LOT	Číslo šarže		Výrobce
 i	Viz návod k použití	 EC REP	Autorizovaný zástupce v Evropské unii		



Agilent Technologies Singapore (International) Pte Ltd.
No. 1 Yishun Avenue 7
Singapore, 768923
Tel. +44 161 492 7050
www.agilent.com