

FLEX
Monoclonal Mouse
Anti-Human
BCL2 Oncoprotein
Klon 124
Ready-to-Use
(Link)

Kód IR614

Použití	<p>Pro diagnostiku in vitro.</p> <p>FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human BCL2 Oncoprotein, klon 124, Ready-to-Use (Link), je určena pro použití v imunohistochemii (IHC) společně s barvicími přístroji Autostainer Link. Protilátka značí buňky vylučující onkoprotein BCL2. Výsledky napomáhají klasifikaci folikulárních lymfomů a dalších difúzních lymfoproliferačních onemocnění (1). Diferenční klasifikaci napomáhají výsledky z panelu protilátek. Klinickou interpretaci jakéhokoli zbarvení nebo jeho nepřítomnosti lze doplnit morfoloickými studii s využitím správných kontrol a je nutno ji vyhodnocovat v kontextu klinické anamnézy pacienta a jiných diagnostických vyšetření provedených kvalifikovaným patologem. Tato protilátka je určena k použití po primární diagnóze tumoru provedené konvenční histopatologií za použití neimunologických histochemických zbarvení.</p>
Souhrn a výklad	<p>Onkoprotein BCL2 je inhibitor smrti apoptotických buněk. Experimenty s přenosem genů dokázaly, že zvýšené hladiny tohoto proteinu mohou chránit různé buňky před různými stimuly vedoucími k smrti buněk, počínaje zablokováním růstového faktoru a cytotoxickými lymfokiny až po virovou infekci a poškození DNA, protirakovinové léky a ozáření (2, 3). Onkoprotein BCL2 se nachází na cytoplazmatické straně mitochondriální vnější membrány, endoplazmatickém retikulu a obalu jádra (2, 4). Jeho molekulová hmotnost je 26 kDa (3).</p> <p>Gen <i>BCL2</i> je translokován v oblasti t(14;18) translokace chromosomů, která se vyskytuje ve většině případů lidských folikulárních lymfomů a v některých případech difúzních B-buněčných lymfomů (4). V rámci této translokace se gen <i>BCL2</i> na chromosomálním segmentu 18q21 umístí vedle centra Ig těžkého řetězce na pozici 14q32, což vede k deregulované expresi onkoproteinu BCL2 (4).</p> <p>V příručce <i>General Instructions for Immunohistochemical Staining (Obecné pokyny pro imunohistochemické barvení)</i> 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 reagensie	<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> 124 (1). <u>Izotyp:</u> IgG1, kappa.</p>
Imunogen	<p>Syntetický peptid skládající se z aminokyselin 41-54 lidského onkoproteinu BCL2 (1).</p>
Specifická	<p>V testech Western blot extraktů normální lidské sleziny (1, 5), t(14;18)-pozitivního folikulárního lymfomu (1) a buněčných linií myeloidní leukémie (5) tato protilátka značila s molekulovou hmotností 26 kDa, což odpovídá onkoproteinu BCL2 za neredukčních (1) a redukčních podmínek (1, 5). Protilátka značí buňkové linie myeloidní leukémie, HL-60 (promyelocytické), KG1 (myeloblastické), GM-1 (monoblastické) a K562 (erytromyeloidní) (5).</p>
Bezpečnostní opatření	<ol style="list-style-type: none">1. K diagnostice in vitro2. 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. Použijte osobní ochranné prostředky, aby nedošlo k zasažení očí nebo pokožky.6. Nespotebované roztoky je nutno likvidovat v souladu s místními a celostátními předpisy.
Uchovávání	<p>Skladujte při teplotě 2–8 °C. Nepoužívejte po datu expirace uvedeném na lahvičce. Pokud se reagensie skladují za jakýchkoli jiných než uvedených podmínek, musí uživatel tyto podmínky ověřit. Případná nestabilita výrobku se neprojevuje 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>
Příprava vzorku	<p>Protilátka 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.</p> <p>Je vyžadováno předběžné zpracování tepelně indukovaným vyhledáváním epitopu (HIER) použitím Dako PT Link. Podrobné informace viz návod k použití přístroje PT. Optimálních výsledků bylo dosaženo předběžným zpracováním tkání pomocí EnVision FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (kód K8004).</p> <p><u>Řezy zalité v parafínu:</u> Doporučuje se provádět předběžné zpracování parafinových tkáňových řezů, fixovaných ve formalínu pomocí postupu přípravy 3 v 1 pro Dako PT Link. Pozn.: Po barvení je třeba řezy dehydratovat, vyčistit a pořádit z nich za použití permanentní montážní metody.</p> <p><u>Řezy zbarvené parafínu:</u> Doporučuje se provádět předběžné zpracování deparafinovaných tkáňových řezů, fixovaných ve formalínu pomocí Dako PT Link (kód PT100/PT101) and postupovat podle postupu popsaného pro parafinové řezy. Po obarvení se musí sklíčka namontovat pomocí vodné nebo permanentní montovací metody.</p> <p>Tkáňové řezy nesmějí během zpracování ani během následného imunohistochemického barvení vyschnout. Z důvodu vyšší přilnavosti řezů tkání k podložním sklům se doporučuje používat podložní skla FLEX IHC Microscope Slides (kód K8020).</p>
Postup barvení	<p>Doporučený vizualizační systém je EnVision FLEX, High pH (Link) (kód K8000). V softwaru přístroje Autostainer Link jsou předem naprogramovány kroky barvení a inkubační doby. Reagensie se doporučuje aplikovat v objemu 1 x 200 µl nebo 2 x 150 µl na jeden preparát na podložním skle. Podrobné pokyny ke vkládání podložních sklů a činidel naleznete v uživatelské příručce k barvicímu automatu Autostainer Link. Pokud není na používané platformě přístroje Autostainer protokol nainstalován, kontaktujte technickou podporu společnosti Dako. Všechny kroky inkubace se provádějí za pokojové teploty.</p> <p>Doporučuje se provést kontrastní barvení v hematoxylinu použitím EnVision FLEX Hematoxylin (Link) (kód K8008).</p> <p>Tkáňe pro pozitivní a negativní kontroly a také reagensie pro negativní kontrolu je nutno testovat vždy současně použitím stejného protokolu</p>

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“. Doporučené činidlo pro negativní kontrolu je FLEX Negative Control, Mouse (Link) (kód IR750).

Interpretace zbarvení Buňky značené protilátkou zobrazují cytoplazmatické zbarvení.

Omezení specifická pro tento produkt Některé folikulární lymfomy mohou být negativní kvůli mutacím v epitopu zjištěným protilátkou (6) zdůrazňující důležitost použití panelu protilátek pro různé klasifikace.

Charakteristiky účinnosti










Normální tkáně: Tato protilátka značí téměř všechny lymfocyty periferní krve. V lymfoidní tkáni jsou malé lymfocyty v plášťových zónách a T-buněčné oblasti pozitivní, zatímco v zárodečných centrech se značí jen málo buněk. Ve slezině značí protilátka mnoho buněk v T- a B-buněčné oblasti a v červené dřeni. Mnoho buněk se zabarvuje v dřeni brzlíku, avšak v kůře bylo pozorováno slabé nebo negativní zbarvení většiny buněk (1). V mandlích vykazují lymfocyty v periferní plášťové zóně a interfolikulární lymfocyty střední až silnou reakci zbarvení, zatímco bazální epiteliální buňky vykazují slabou až středně silnou reakci zbarvení.

Abnormální tkáně: Protilátka značí mnoho neoplastických buněk, včetně 31/38 případů difúzního lymfomu a lymfoproliferativních onemocnění nízkého i vysokého stupně včetně chronické lymfocytické leukémie, leukémie vlasatých buněk, T-buněčného lymfomu, lymfomu B- a T-buněk typu velkých buněk a lymfomu anaplastických velkých buněk Ki-1 a 37/43 případů neoplastických folikulů folikulárního lymfomu (1). Expresí onkoproteinu BCL2 byla také zjištěna v 15/19 případech synoviálních sarkomů (7) a v nádorech svalového původu (8).

Literatura

1. Pezzella F, Tse AGD, Cordell JL, Pulford KAF, Gatter KC, Mason DY. Expression of the *bcl-2* oncogene protein is not specific for the 14;18 chromosomal translocation. *Am J Pathol* 1990; 137:225-32.
2. Adams JM, Cory S. The *bcl-2* protein family: Arbiters of cell survival. *Science* 1998; 281:1322-6.
3. Kusenda J. Bcl-2 family proteins and leukaemia [minireview]. *Neoplasma* 1998;45:117-22.
4. Yang E, Korsmeyer SJ. Molecular thanatopsis: A discourse on the BCL2 family and cell death [review]. *Blood* 1996; 88:386-401.
5. Delia D, Aiello A, Soligo D, Fontanella E, Melani C, Pezzella F, et al. *bcl-2* proto-oncogene expression in normal and neoplastic human myeloid cells. *Blood* 1992; 79:1291-8.
6. Schraders M, de Jong D, Kluijn P, Groenen P, van Krieken H. Lack of Bcl-2 expression in follicular lymphoma may be caused by mutations in the BCL2 gene or by absence of the t(14;18) translocation. *J Pathol* 2005;205:329–35.
7. Hirakawa N, Naka T, Yamamoto I, Fukuda T, Tsuneyoshi M. Overexpression of *bcl-2* protein in synovial sarcoma: A comparative study of other soft tissue spindle cell sarcomas and an additional analysis by fluorescence in situ hybridization. *Hum Pathol* 1996; 27:1060-5.
8. Soini Y, Pääkkö P. *bcl-2* is preferentially expressed in tumours of muscle origin but is not related to p53 expression. *Histopathology* 1996; 28:141-5.

Vysvětlivky k symbolům

 REF	Katalogové číslo	 2°C - 8°C	Teplotní rozmezí do		Použitelné do
 IVD	In vitro diagnostický zdravotnický prostředek		Lze použít pro <n> testů		Výrobce
 i	Viz návod k použití	 LOT	Číslo šarže	 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

Revize 2020.11