

FLEX
Monoclonal Mouse
Anti-Human CD138
 Klon MI15
Ready-to-Use
 (Dako Omnis)

Kód GA642

Použití Pro diagnostiku in vitro.
 Protilátka FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human CD138, Clone MI15, Ready-to-Use (Dako Omnis), je určena pro použití v imunohistochemii (IHC) společně s přístrojem Dako Omnis. Tato protilátka je praktickou pomůckou pro klasifikaci mnohočetných myelomů (1, 2). Diferenční klasifikaci napomáhají výsledky z panelu protilátek. Klinickou interpretaci zbarvení nebo jeho nepřítomnosti je třeba doplnit morfoloogickým 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 tumoru provedené konvenční histopatologií za použití neimunologických histochemických zbarvení.

Synonyma antigenu Syndecan-1 (1).

Souhrn a výklad CD138 je transmembránový proteoglykan, nesoucí heparan sulfáty a někdy chondroitin sulfáty. Skládá se z vnitřního (core) proteinu o hmotnosti 30,5 kDa a pěti glykosaminoglykanů. CD138 je členem rodiny syndecanů. Molekulová hmotnost CD138 se pohybuje v rozmezí od 85 000 do 92 000, pravděpodobně je závislá na glykosaminoglykanovém vzoru molekuly (1).

V hematopoetickém systému se CD138 potvrzuje zejména na pozdních stádiích B-buněčné diferenciace. Běžně je exprimována ve vysoké buněčné hustotě v normálních a maligních plazmatických buňkách (4, 5) a v lymfoplazmocytoidních buňkách (4). Ve zralé tkáni je CD138 exprimována jednoduším a vrstevnatým epitelem, fibroblasty, vrstevnatými keratinocyty a endoteliálními buňkami (1).

Funkce CD138 je do značné míry neznámá. Zdá se však, že intracelulární konec CD138 se váže spolu s buněčnou kostrou s buněčnými komponenty (1) a extracelulární část molekuly se pravděpodobně váže s různými ligandy. CD138 hraje pravděpodobně roli v celulárních funkcích, například proliferaci, programovém úmrtí buněk, adhezi mezi buňkami navzájem a mezi buňkami a strukturami matrix (5), zprostředkovává například adhezi buněk myelomu na kolagen typu (6).

Expresce CD138 může být snížena během maligní transformace různého epitelu (7) a mohou jí ztrácet (zbavovat s jí) buňky myelomů vstupující do apoptózy (1, 6). CD138 se může ztratit po vytvoření nádorů několika vrstevnatých epitelů (7).

Protilátky na CD138 mohou být také užitečné pro subklasifikaci lymfomů z difúzních velkých B-buněk (3).

V příručce *General Instructions for Immunohistochemical Staining* (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.

Dodávaná reagentie Monoklonální myši protilátka připravená k použití se dodává v kapalné podobě v pufru s obsahem stabilizujícího proteinu a 0,015 mol/l azidu sodného.

Klon: MI15. Izotyp: IgG1, kappa.

Imunogen Směs lidských myelomových buněčných linií U266 a XG-1 (2, 8).

Specifita Protilátka Anti-Human CD138, klon MI15, byla na 6. mezinárodním semináři a konferenci o antigenech pro diferenciaci lidských leukocytů zařazena jako anti-CD138 do klastru (1).

Epitop rozpoznávaný protilátkou anti-CD138, MI15 se nachází uvnitř extracelulární části (ectodomain) vnitřního (core) proteinu CD138. Experimenty s blokováním odhalily, že epitop rozpoznávaný MI15 se asi částečně překrývá s epitopem rozpoznávaným jinou protilátkou na CD138, klon B-B4 (1, 5). Anti-CD138, MI15 silně reaguje s CD138 exprimovanou buněčnými liniemi odvozenými z mnohočetného myelomu, například liniemi U266 a XG-1 (8).

- Bezpečnostní opatření**
1. 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. Nespotebbované roztoky je nutno likvidovat v souladu s místními a celostátními předpisy.

Uchovávání Skladujte při teplotě 2-8 °C. Během skladování musí být víčko uzavřené. Nepoužívejte po datu expirace uvedeném na lahvičce. Aplikační stabilita je 280 hodin. Aplikační stabilitu sleduje software Dako Omnis. Pokud se reagentie 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.

Šablona protokolu barvení*

Krok		Komentáře
Fixace/zaliti	Fixováno ve formalínu, zalito v parafínu	Odstranění parafínu v přístroji
Předběžné zpracování	EnVision™ FLEX, High pH (kód GV804)	30 min HIER
Protilátka	Ready-to-use	20minutová inkubace
Negative Control	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
Kontrolní tkáň	Mandle	Membránové zbarvení
Sklička	FLEX IHC Microscope Slides (kód K8020)	Doporučeno kvůli lepší přilnavosti řezů tkáni k podložním sklům.
Montáž	Je vyžadována bezvodá permanentní montáž	Po barvení je třeba řezy dehydratovat, vyčistit a montovány za použití permanentní montážní metody
Vybavení	Dako Omnis	Činidla se dodávají v ampulkách určených pro příslušný přístroj

*Uživatel se musí vždy seznámit s podrobnými pokyny k barvicímu postupu a s pokyny týkajícími se zacházení s produktem, které jsou uvedené v příbalové informaci.

Příprava vzorku Parafinové řezy: Protilátku lze používat ke značení řezů tkáni fixovaných ve formalínu a zalitých v parafínu. Vzorky tkáni je nutno rozřezat na řezy o tloušťce 4 µm.

Předběžné zpracování: Je vyžadováno předběžné zpracování tkáňových řezů fixovaných ve formalínu a zalitých v parafínu tepelně indukovaným vyhledáváním epitopu (HIER). Doporučuje se předběžné zpracování tkáni HIER pomocí naředěného roztoku EnVision FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Dako Omnis), kód GV804. Odstranění parafínu, rehydratace a vyhledání cíle se provádějí v přístroji Dako Omnis. Viz Základní uživatelská příručka Dako Omnis.

Přístroj Dako Omnis zajistí, aby tkáňové řezy během předběžného zpracování a následného imunohistochemického barvení nevyschly. Z důvodu vyšší přilnavosti řezů tkáni k podložním sklům se doporučuje používat podložní skla FLEX IHC Microscope Slides, kód K8020.

Postup barvení

Program: V softwaru přístroje Dako Omnis jsou předem naprogramovány kroky barvení a inkubační doby. Podrobné pokyny ke vkládání podložních skl a plnění činidel naleznete v Základní uživatelské příručce Dako Omnis. Pokud není v systému Dako Omnis připraven protokol, kontaktujte technickou podporu výrobce Dako. Všechny kroky inkubace se provádějí při teplotě 32 °C v přístroji Dako Omnis.

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. Vizualizace se provádí v přístroji Dako Omnis.

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

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

Kontrola kvality: Tkáň pro pozitivní a negativní kontroly a také činidlo pro negativní kontrolu je nutno testovat 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“. Doporučené činidlo pro negativní kontrolu je FLEX Universal Negative Control, Mouse (Dako Omnis), kód GA750.

Interpretace zbarvení

Buňky značené protilátkou zobrazují membránové zbarvení.

Charakteristiky účinnosti









Normální tkáň: Plazmatické buňky v mandlích vykazují středně silnou až silnou reakci zbarvení, zatímco epitelové buňky vykazují slabou až středně silnou reakci zbarvení. Žádná významná reakce nebyla pozorována s leukocyty z normální periferní lidské krve (<5 %) a žádná významná reakce nebyla pozorována v normální kostní dřeni (<5 %). Značení CD138 nebylo přítomno v CD34-pozitivních kmenových buňkách (1).

Abnormální tkáň: V kostní dřeni pacientů s mnohočetným myelomem byly označeny všechny typy plazmatických buněk, včetně retikulárních, polymorfních, asynchronních a blastických plazmatických buněk (2).

Literatura

1. Wijdenes J, Clément C, Klein B, Dore J-M. New B-cell CD antigens. BC29: CD138 (syndecan-1) workshop panel report. In: Kishimoto T, Kikutani H, von dem Borne AEG, Goyett SM, Mason DY, Miyasaka M, et al., editors. Leucocyte typing VI. White cell differentiation antigens. Proceedings of the 6th International Workshop and Conference; 1996 Nov 10-14; Kobe, Japan. New York, London: Garland Publishing Inc.; 1997. p. 249-52.
2. Costes V, Magen V, Legouffe E, Durand L, Baldet P, Rossi J-F, et al. The MI15 monoclonal antibody (anti-syndecan-1) is a reliable marker for quantifying plasma cells in paraffin-embedded bone marrow biopsy specimens. Hum Pathol 1999;30:1405-11.
3. Colomo L, López-Guillermo A, Perales M, Rives S, Martínez A, Bosch F, et al. Clinical impact of the differentiation profile assessed by immunophenotyping in patients with diffuse large B-cell lymphoma. Blood 2003;101:78-84.
4. Sebestyén A, Berczi L, Mihalik R, Paku S, Matolcsy A, Kopper L. Syndecan-1 (CD138) expression in human non-Hodgkin lymphomas. Br J Haematol 1999;104:412-9.
5. Gattei V, Godeas C, Degan M, Rossi FM, Aldinucci D, Pinto A. Characterization of anti-CD138 monoclonal antibodies as tools for investigating the molecular polymorphism of syndecan-1 in human lymphoma cells. Br J Haematol 1999;104:152-62.
6. Jourdan M, Ferlin M, Legouffe E, Horvathova M, Liautard J, Rossi JF, et al. The myeloma cell antigen syndecan-1 is lost by apoptotic myeloma cells. Br J Haematol 1998;100:637-46.
7. Inki P, Jalkanen M. The role of syndecan-1 in malignancies [review]. Ann Med 1996;28:63-7.
8. Horvathova M, Gaillard JP, Liautard J, Duperray C, Lavabre-Bertrand T, Bourquard P, et al. B30.6. Identification of novel and specific antigens of human plasma cells by mAb. In: Schlossman SF, Boumsell L, Gilks W, Harlan JM, Kishimoto T, Morimoto C, et al., editors. Leucocyte typing V. White cell differentiation antigens. Proceedings of the 5th International Workshop and Conference; 1993 Nov 3-7; Boston, USA. Oxford, New York, Tokyo: Oxford University Press; 1995. p. 713-4.

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
	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

Revize 2020.11