

FLEX
Monoclonal Mouse
Anti-Human
Melan-A
Klon A103
Ready-to-Use
(Link)

Kód IR633

Použití	Pro diagnostiku in vitro. Protilátka FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Melan-A, Clone A103, Ready-to-Use (Link) je určena pro použití v imunohistochemii (IHC), společně s barvicími přístroji Autostainer Link. Tato protilátka je užitečná při klasifikaci melanomů (1, 2), adrenokortikálních karcinomů (3, 4) a angiomylipomů (5). 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.
Synonymum antigenu	MART-1
Souhrn a výklad	Melan-A, který byl izolovaný jako melanom specifický antigen, je transmembránový protein skládající se z 118 aminokyselin s neurčitou funkcí (1). Gen <i>Melan-A</i> byl klonovaný z lidské melanomové buněčné linie a jeho exprimování na melanomech je rozpoznatelné autologními cytotoxickými T buňkami (6). Melan-A se vyskytuje na pokožce, sítnici a u většiny melanocytů a melanomů, zatímco většina jiných testovaných tkání a druhů rakoviny neexprimovala melan-A (1, 6, 7). Melan-A se však může vyskytovat v angiomylipomech (5). Společně s Melan-A bylo identifikováno sedm dalším protilátek melanomů: <i>MAGE-1</i> , <i>MAGE-3</i> , tyrosináza, gp100, gp75, <i>BAGE-1</i> a <i>GAGE-1</i> , které jsou všechny rozpoznatelné autologními cytotoxickými T buňkami (1). V příručce <i>General Instructions for Immunohistochemical Staining (Obecné pokyny pro imunohistochemické barvení) společnosti Dako</i> 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 reagensie	Monoklonální myši protilátka připravená k použití se dodává v kapalné podobě v pufru s obsahem stabilizujícího proteinu a 0,015 mol/l NaN ₃ . <u>Klon:</u> A103. <u>Izotyp:</u> IgG1, kappa.
Imunogen	Rekombinantní protein exprimovaný v <i>E. coli</i> odpovídající Melan-A (1).
Specifická	V testech Western blot buněčných lyzátů z melan-A mRNA pozitivních buněčných linií značila protilátka proteinový doublet s hmotností 20-22kDa, zatímco u melan-A mRNA negativních buněčných linií nebylo pozorováno žádné zbarvení (1). V imunoprecipitátech z melan-A pozitivních buněčných linií SK-MEL-13 a SK-MEL-19 značila protilátka proteinový doublet s hmotností 20-22 kDa, který odpovídá melanom-A, zatímco u melan-A mRNA negativních melanomových buněčných linií nebyla pozorována žádná precipitace (1).
Bezpečnostní opatření	<ol style="list-style-type: none">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. Nespotebované roztoky je nutno likvidovat v souladu s místními a celostátními předpisy.
Uchovávání	Skladujte při 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 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	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. Je vyžadováno předběžné zpracování tepelně indukovaným odmaskováním (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). <u>Řezy zalité v parafínu:</u> Doporučuje se provádět předběžné zpracování parafínových tkáňových řezů, fixovaných ve formalínu pomocí postupu přípravy 3 v 1 pro Dako PT Link. Po barvení je třeba řezy dehydratovat, vyčistit a montovat za použití permanentní montážní metody. <u>Řezy zbavené parafínu:</u> Doporučuje se provádět předběžné zpracování odparafinovaných tkáňových řezů, fixovaných ve formalínu pomocí Dako PT Link a postupovat podle postupu popsaného pro parafínové řezy. Po obarvení se musí sklíčka namontovat pomocí vodné nebo permanentní montovací metody. 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).
Postup barvení	Doporučený vizualizační systém je EnVision FLEX, High pH (Link) (kód K8000). V softwaru přístroje Autostainer Link jsou předem naprogramovány kroky barvení a inkubační doby. Reagensii se doporučuje aplikovat v objemu 1 x 200 µl nebo 2 x 150 µl na jeden podložní preparát. Podrobné pokyny ke vkládání podložních skel 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. Optimální podmínky se mohou lišit podle vzorku a způsobu přípravy a každá laboratoř si je musí zjistit zvlášť. Doporučuje se provést kontrastní barvení v hematoxylinu použitím EnVision FLEX Hematoxylin (Link) (kód K8008). Tkáň pro pozitivní a negativní kontrolu a také činidlo pro negativní kontrolu je nutno testovat vždy současně použitím stejného protokolu jako vzorky pacienta. Tkáň pro pozitivní kontrolu musí obsahovat normální buňky kůže a maligní melanom 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	Buněčný barvicí vzor je cytoplazmatický.
Charakteristiky účinnosti	<u>Normální tkáň:</u> Protilátka značí pokožku, ale žaludek, tračník, plíce, játra, slezina, varlata, močový měchýř, prs, vaječnický, hladké svaly a tuková tkáň protilátkou značené nebyly (1, 5). Buňky kůry nadledviny, produkující steroidy, vaječnický a varlata protilátka značila (2).

U metastázujících melanomů bylo 16/21 případů označených protilátkou, přičemž vykazovaly pozitivní homogenní, cytoplasmatické zabarvení v > 80–90 % melanomových buněk, s výjimkou jedné, která vykazovala ohniskové zabarvení (1). V jiné studii 10 benigních melanocytických név, 10 primárních melanomů a 75 metastázujících melanomů, značila protilátka 10/10 benigních melanocytických név, 7/10 primárních melanomů a 61/75 metastázujících melanomů (2).










Mezi 111 karcinomy, zejména adenokarcinomy a karcinomy ze skvamózních buněk, 40 nádorů ze zárodečných buněk a 33 různých nemelanocytických epiteloidních nádorů, nebyl protilátkou značený žádný. Protilátka značila 5/5 adenomů kůry nadledviny, 16/16 primárních a 13/13 metastázujících karcinomů kůry nadledviny a také 4/4 nádorů z Leydigových buněk varlat a 3/4 nádorů ze Sertoliho-Leydigových buněk vaječníků (3). V jiné studii 316 případů, včetně 21 nádorů kůry ledviny, 16 karcinomů metastázujících do nadledviny, 10 feochromocytomů a 269 extra-nadledvinových karcinomů, značila protilátka 14/14 adenomy kůry nadledviny, 7/7 karcinomů kůry nadledviny, 0/16 karcinomů metastázujících do nadledviny a 0/10 feochromocytomů. Z 269 extra-nadledvinových karcinomů byl označen pouze jeden sérózní karcinom vaječníku (4).

Ve studii 18 angiomyolipomů označila protilátka všech 18 (5). V jiné zprávě byly touto protilátkou označeny všechny tři angiomyolipomy (2).

Literatura

1. Chen Y-T, Stockert E, Jungbluth A, Tsang S, Coplan KA, Scanlan MJ, et al. Serological analysis of Melan-A(MART-1), a melanocyte-specific protein homogeneously expressed in human melanomas. Proc Natl Acad Sci 1996;93:5915-9.
2. Jungbluth AA, Busam KJ, Gerald WL, Stockert E, Coplan KA, Iversen K, et al. An anti-Melan-A monoclonal antibody for the detection of malignant melanoma in paraffin-embedded tissues. Am J Surg Pathol 1998;22:595-602.
3. Busam KJ, Iversen K, Coplan KA, Old LJ, Stockert E, Chen Y-T, et al. Immunoreactivity for A103, an antibody to Melan-A (Mart-1), in adrenocortical and other steroid tumors. Am J Surg Pathol 1998;22:57-63.
4. Loy TS, Phillips RW, Linder CL. A103 immunostaining in the diagnosis of adrenal cortical tumors. Arch Pathol Lab Med 2002;126:170-2.
5. Jungbluth AA, Iversen K, Coplan K, Williamson B, Chen Y-T, Stockert T, et al. Expression of melanocyte-associated markers gp-100 and Melan-A/MART-1 in angiomyolipomas. Virchows Arch 1999;434:429-35.
6. Coulié PG, Brichard V, Van Pel A, Wölfel T, Schneider J, Traversari C, et al. A new gene coding for a differentiation antigen recognized by autologous cytolytic T lymphocytes on HLA-A2 melanomas. J Exp Med 1994;180:35-42.
7. Kawakami Y, Eliyahu S, Delgado CH, Robbins PF, Rivoltini L, Topalian SL, et al. Cloning of the gene coding for a shared human melanoma antigen recognized by autologous T cells infiltrating into tumor. Proc Natl Acad Sci 1994;91:3515-9.

Vysvětlivky k symbolům

 REF	Katalogové číslo	 2°C - 8°C	Teplotní rozmezí od do		Použitelné do
 IVD	In vitro diagnostický zdravotnický prostředek	 Σ	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