

FLEX
Monoclonal Mouse
Anti-Human
Synaptophysin
 Klon DAK-SYNAP
Ready-to-Use
 (Dako Omnis)

Kód GA660

Použití	Pro diagnostiku in vitro. FLEX Monoklonální myší antihumánní synaptofyzin, klon DAK-SYNAP, připravený k použití (Dako Omnis), je určen pro použití v imunohistochemii (IHC) společně s přístrojem Dako Omnis. Tato protilátka značí buňky exprimující synaptofyzin v normálních a neoplastických tkáních fixovaných ve formalínu a zalitých v parafínu (FFPE) (1, 2). Diferenční klasifikaci nádorů 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	Hlavní protein synaptické štěrby p38, protein p38.
Souhrn a výklad	Synaptofyzin je kyselý, homooligomerní, integrální membránový glykoprotein (monomer = 38 kDa), původně izolovaný z mozku krys (3) a náleží do rodiny proteinů se čtyřmi transmembránovými doménami, včetně synaptogyrinu a synaptoporinu (4). Přestože se jedná o nejhojnější membránový protein synaptického váčku, funkce zůstává nevysvětlena. Studie prokázaly mnoho různých rolí synaptofyzinu, jako je podpora tvorby vysoce zakřivených membrán v synaptických váčcích, exocytózy, tvorby synapse, biogeneze a endocytózy synaptických váčků, stejně jako roli v učení a paměti prostřednictvím regulace synaptických přenosů v neuronálních obvodech (4). Synaptofyzin je lokalizován v presynaptických vezikulech všech neuronů a v odpovídajících vezikulech neuroendokrinních buněk (5). Kromě neuroendokrinních buněk se synaptofyzin také nachází v nonneuroendokrinních buňkách v epitelu kůry nadledvin (3). Protilátky k synaptofyzinu se ukázaly jako nápomocné při klasifikaci neuroendokrinních novotvarů, včetně novotvarů epitelálního typu (6–8), novotvarů nervového systému s neuronovou diferenciací (5, 6, 9) a adrenokortikálních novotvarů (10, 11). 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.
Dodávaná reagentie	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: DAK-SYNAP. Izotyp: IgG1, kappa.
Imunogen	Fragment rekombinantního proteinu odpovídající C-terminální cytoplazmatické doměně lidského synaptofyzinu.
Specifita	V testech Western Blot s buněčnými lyzáty lidského neuroblastomu značila protilátka velký pruh o molekulové hmotnosti 40 kDa odpovídající očekávané molekulové hmotnosti synaptofyzinu.
Bezpečnostní opatření	1. K diagnostice 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 správné postupy zacházení. 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 teplotě 2–8 °C. Během skladování musí být víčko uzavřené. Nepoužívejte po datu expirace uvedeném na lahvičce. Aplikační stabilita je 40 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	Reagentie	Protokol
Odparafinování	Clearify™ (kód GC810)	Výchozí
Předběžné zpracování	EnVision FLEX, FLEX, High pH (kód GV804)	30minutové tepelné indukované vyhledávání epitopu
Primární protilátka	Ready-to-Use (kód GA660)	25minutová inkubace
Činidlo pro negativní kontrolu	FLEX Negative Control, Mouse (kód GA750)	25minutová inkubace
Vizualizace	EnVision FLEX (kód GV800) + EnVision FLEX+ Mouse LINKER (kód GV821)	Blok: 3 min; Link: 10 min; Polymer: 20 min; Chromogen: 5 min
Counterstain (Barvení pozadí)	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	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 k 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 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.

Předpůsobení: 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 permanentní montážní metody.

Kontrola kvality

Positivní a negativní kontrolní tkáň a také reagentie pro negativní kontrolu je nutno provádět vždy současně použitím stejného protokolu jako vzorky pacienta. Tkáň pro pozitivní kontrolu musí obsahovat tračník/apendix 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.

Interpretace zbarvení

Buněčný barvicí vzor je cytoplazmatický.

Charakteristiky účinnosti

Normální tkáň: Periferní nervy v tunica muscularis tračníku/apendixu vykazují střední až silné cytoplazmatické zbarvení a endokrinní buňky na povrchu epitelu vykazují střední až slabé cytoplazmatické zbarvení. Občas lze pozorovat cytoplazmatické značení pohárkových buněk v tlustém a tenkém střevě.

Reaktivita normální tkáně (1).

Typ tkáně (počet testovaných)	Označené prvky tkáně	Typ tkáně (počet testovaných)	Označené prvky tkáně
Brzlík (3)	0/3	Periferní nervy (3)	3/3 Gangliové buňky a nervová vlákna (>25 %→>50 %)
Děloha (3)	3/3 Buňky stromatu	Plice (3)	3/3 Buňky stromatu
Děložní hrdlo (3)	3/3 Buňky stromatu	Prostata (3)	3/3 Buňky stromatu 3/3 Periferní nervy
Hypofýza (3)	3/3 Buňky hypofýzy (100 %)	Prs (3)	0/3
Játra (3)	0/3	Příštítná tělíska (3)	3/3 Buňky stromatu 1/3 Buňky neznámého původu na okraji příštítného tělíska
Jícen (3)	3/3 Buňky stromatu	Slezina (3)	0/3
Kosterní sval (3)	0/3	Slinná žláza (3)	3/3 Buňky stromatu
Kostní dřev (3)	0/3	Srdce (3)	3/3 Buňky stromatu
Kůže (3)	2/3 Buňky primárně okolních žláz (>50 %) 3/3 Buňky stromatu	Štítná žláza (3)	3/3 Buňky stromatu
Ledvina (3)	3/3 Buňky stromatu 2/3 Periferní nervy	Tenké střevo (3)	3/3 Bazální buňky (>75 %) 3/3 Buňky stromatu 3/3 Periferní nervy v muscularis (>90 %)
Mandle (3)	0/3	Tlusté střevo (3)	3/3 Buňky stromatu 3/3 Periferní nervy v muscularis (>90 %) 3/3 Buňky v povrchovém epitelu (<10 %)
Mozek, malý mozek (3)	3/3 Neuronální buňky (100 %)	Typ tkáně (počet testovaných)	Označené prvky tkáně
Mozek, velký mozek (3)	3/3 Neuronální buňky (100 %)	Vaječník (3)	3/3 Buňky stromatu
Nadledvina (3)	3/3 Buňky nadledviny (>75 %)	Varlata (3)	3/3 Buňky stromatu
Pankreas (3)	3/3 Ostrovní buňky a gangliové (100 %)	Výstelkové buňky (hrudní stěna, břišní stěna, perikard, povrch gastrointestinální soustavy, vzorky srdce a/nebo plic) (3)	3/3 Buňky stromatu









Abnormální tkáň: Tato protilátka zbarvila 4/4 malobuněčných karcinomů plic, 2/6 velkobuněčných karcinomů plic, 2/2 atypických karcinoidů plic, 3/3 karcinoidů střeva, 5/5 karcinoidů tenkého střeva, 1/1 neuroendokrinní neoplazii slinivky, 1/1 ganglioneurom, 3/3 medulární karcinomy štítné žlázy, 2/3 adenokarcinomy plic, 1/2 nediferencovaný adenokarcinom plic, 2/4 adenokarcinomy střeva, 1/4 adenokarcinom tenkého střeva, 1/2 adenokarcinom slinivky a 0/3 papilárních karcinomů štítné žlázy (2).

Literatura

1. Dako in-house test. Report D42909.
2. Dako in-house test. Report D14505.
3. Wiedenmann B, Franke WW. Identification and localization of synaptophysin, an integral membrane glycoprotein of Mr 38,000 characteristic of presynaptic vesicles. *Cell* 1985;40:1017-28.
4. Kwon SE, Chapman ER. Synaptophysin regulates the kinetics of synaptic vesicle endocytosis in central neurons. *Neuron* 2011; 70:847-85.
5. Wiedenmann B, Franke WW, Kuhn C, Moll R, Gould VE. Synaptophysin: a marker protein for neuroendocrine cells and neoplasms. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1986;83:3500-4.
6. Gould VE, Wiedenmann B, Inchul L, Schwechheimer K, Dockhorn-Dvorniczak B, Radosevich B, et al. Synaptophysin expression in neuroendocrine neoplasms as determined by immunocytochemistry. *Am J Pathol* 1987;126:243-57
7. Takei H, Asamura H, Maeshima A, Suzuki K, Kondo H, Niki T, et al. Large cell neuroendocrine carcinoma of the lung: a clinicopathologic study of eighty-seven cases. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2002;124:285-92.
8. Sorhaug S, Steinshamn S, Haaverstad R, Nordrum IS, Martinsen TC, Waldum HL. Expression of neuroendocrine markers in non-small cell lung cancer. *APMIS* 2007;115:152-63.
9. Park SJ, Park CJ, Kim S, Jang S, Chi HS, Kim MJ, et al. Detection of bone marrow metastases of neuroblastoma with immunohistochemical staining of CD56, chromogranin A, and synaptophysin. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2010;18:348-52.
10. Li Q, Johansson H, Kjellmann M, Grimelius L. Neuroendocrine differentiation and nerves in human adrenal cortex and cortical lesions. *APMIS* 1998;106:807-17.

11. Komminoth P, Roth J, Schroder S, Saremaslani P, Heitz P. Overlapping expression of immunohistochemical markers and synaptophysin mRNA in pheochromocytomas and adrenocortical carcinomas. Implications for the differential diagnosis of adrenal gland tumors. Lab Invest 1995;72:424-31.

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