

FLEX
Monoclonal Mouse
Anti-Human CD79 α
 Clone JCB117
Ready-to-Use
 (Dako Omnis)

Kód GA621

Použití Pro diagnostiku in vitro.
 FLEX Monoklonální myší antihumánní protilátka CD79 α , klon JCB117, připravená k použití (Dako Omnis), je určena pro použití v imunohistochemii (IHC) společně s přístrojem Dako Omnis. Tato protilátka značí buňky B a je užitečná při identifikaci novotvarů buněk B ve všech fázích zrání (1). 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 tumoru provedené konvenční histopatologií za použití neimunologických histochemických zbarvení.

Synonyma antigenu Ig- α , mb-1 (2).

Souhrn a výklad CD79 je disulfidově vázaný transmembránový heterodimer s molekulární hmotností 82-95 kDa, který patří do nadřazené rodiny imunoglobulinů. Skládá se ze dvou glykoproteinů: CD79 α s molekulární hmotností 40-45 kDa a CD79 β s molekulární hmotností 37 kDa. CD79 je nekovalentně svázaný s povrchním Ig, čímž se vytváří komplex receptoru buňky B, který se vyžaduje na rozpoznání antigenů. CD79 je základem účinné povrchové exprese receptoru buňky B, a taktéž se vyžaduje pro přenos signálu do cytoplazmy po antigenním navázání na povrchový Ig. Cytoplazmatická část CD79 α a CD79 β obsahuje několik kineáz. Fosforylační signály přes tyto kinázy vedou k aktivaci buňky B, diferenciaci a v některých případech i k apoptóze (2, 3, 4).
 Expresce CD79 je ve velké míře omezena na buňky linie B, CD79 α se však vyskytuje spolu s CD3 v části T-lymfoblastické leukémie/lymfomu (5). V B buňkách prekurzoru se fetičce proteinu CD79 už nacházejí v cytoplasmě (CyCD79). Povrchní výskyt CD79 začíná ve fázi buňky pro-B a přetrvává po dobu diferenciacce buňky B. CD79 α je významněji vykazován buňkami B ve folikulární pláštové zóně v porovnání s B buňkami zárodečného centra, což naznačuje, že aktivace zralých buněk B reguluje expresi CD79 směrem dolů. Expresce CD79 končí v blízkosti začátku diferenciacce plazmových buněk, jen část plazmových buněk obsahuje CD79 (2, 4).

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 reagensie 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:** JCB117 (1). **Izotyp:** IgG1, kappa.

Imunogen Rekombinantní protein obsahující část extracelulárního podílu CD79 α lidského glykoproteidu (1).

Specifita Látka Anti-Human CD79 α , klon JCB117 byla vytvořena sloučením jako anti-CD79 α na Sixth International Workshop and Conference on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Šestý mezinárodní seminář a konference o antigenech pro diferenciaci lidských leukocytů) (4).
 V rámci analýzy Western blott lyzátu Ramosových buněk B tato protilátka značí pásmo odpovídající CD79 α za redukčních podmínek a pásmo odpovídající CD79 $\alpha\beta$ za neredukčních podmínek (1).

Analýza SDS-PAGE imunousazením vytvořených mezi protilátkou a slabě denaturovaným a redukováným lyzátem Ramosových buněk B s označením ¹²⁵I vykazuje slabou reakci s polypeptidem 43 kDa, který koresponduje s CD79 α .

- 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 mědi 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.

Uchování 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 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.

Šablona protokolu barvení*

Krok		Komentáře
Fixace/zaliti	Fixováno ve formalínu, zalito v parafínu	Odstranění parafínu v přístroji
Předběžné zpracování	EnVision FLEX, FLEX, High pH (kód GV804)	30 min HIER
Protilátka	Ready-to-use	20minutová inkubace
Negativní kontrola	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	Cytoplazmatického a membránového barvení
Sklička	FLEX IHC Microscope Slides (kód K8020)	Doporučeno kvůli lepší přilnavosti řezů tkání 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 **Parafínové 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 μ m.

Předběžné zpracování: Je vyžadováno předběžné zpracování tkáňových řezů fixovaných ve formalínu a zalitých v parafínu tepelně indukovaným vyhledávacím epítou (HIER). Doporučuje se předběžné zpracování tkání 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 tkání 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 v kombinaci s 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 řezy 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 cytoplazmatické nebo membránové zbarvení.

Omezení specifická pro tento produkt

Ze 149 případů T–lymfoblastických leukémií/lymfomů 10% vykazovalo dostatečně rozsáhlé označení CD79a protilátkou (více než 90% pozitivních buněk) na to, aby byly způsobeny diagnostické problémy. Všechny 149 novotvarů buňky T bylo však pozitivních na T–buněčný marker CD3, zatímco žádný ze 68 případů B lymfoblastické leukémie/lymfomu nebyl pozitivní na CD3 (5).

Charakteristiky účinnosti









Normální tkáň: Normální plazmové buňky ve vzorcích tkání jsou výrazně pozitivní na protilátku (1). V mandlích tato protilátka výrazně značí buňky B přítomné v oblasti T buněk. Buňky B v plášťové zóně mandlí vykazují středně silnou až silnou reakci zbarvení, zatímco buňky B v zárodečném centru mandlí vykazují slabou až středně silnou reakci zbarvení.

Abnormální tkáň: Protilátka značila všech 331 novotvarů buněk B včetně 41 lymfoblastických leukémií/lymfomů, 28 malých lymfocytických, 36 lymfoplazmacytoidických, 17 plášťovo–buněčných, 53 folikulárních, 29 MALT, 95 velkobuněčných a 7 Burkittových lymfomů. Kromě zmíněného bylo na protilátku pozitivních 15/15 leukémií vlasatých buněk, 13/15 anaplastických velkobuněčných lymfomů buňky B a 10/20 myelomu/plazmacytomů. Ve stejné studii bylo všech 98 T–buněčných a nelymfatických novotvarů negativních na protilátku, včetně 9 T–buněčných lymfoblastických lymfomů/leukémií, 10 případů chronické retikulózy, 32 případů lymfomů periferních buněk T, 8 případů angioblastických lymfomů buňky T, 11 případů anaplastických velkobuněčných lymfomů buňky T a 28 případů akutních myeloidních leukémií (1). Předchozí dvě uvedené studie (5, 6) prokázaly pozitivní reakci s novotvary buňky T. Proto v 149 případech CD3+ T (prekurzor)–akutní lymfoblastické leukémie/lymfomu se v 14 případech vyskytla CD79a ve více než 90% blastových buněk podle určení pomocí protilátky. V 55 případech 10–90% blastových buněk bylo pozitivních (5). Také v 4/94 případech středních lymfomů buňky T enteropatického typu a v 1/11 případů lymfomů NK/T–buňky, které byly CD3+, protilátka značila většinu buněk nádoru (6).

Literatura

- Mason DY, Cordell JL, Brown MH, Borst J, Jones M, Pulford K, et al. CD79a: a novel marker for B-cell neoplasms in routinely processed tissue samples. Blood 1995;86:1453-9.
- Comans-Bitter WM, De Bruin-Versteeg S, Broe MK, De Groot R, De Vries E, Van Dongen JJM. BC20.1. CD79 workshop: intracellular CD79 expression in precursor B cells tested with the CD79 panel of monoclonal antibodies. In: Kishimoto T, Kikutani H, von dem Borne AEG, Goyert 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. 182-4.
- Nakamura T. CD guide. CD79a and CD79b. In: Kishimoto T, Kikutani H, von dem Borne AEG, Goyert 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. 1172.
- Nakamura T. BC20. CD79 workshop panel report. In: Kishimoto T, Kikutani H, von dem Borne AEG, Goyert 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. 180-2.
- Pilozzi E, Pulford K, Jones M, Müller-Hermelink H-K, Falini B, Ralfkiaer E, et al. Co-expression of CD79a (JBC117) and CD3 by lymphoblastic lymphoma. J Pathol 1998; 186:140-3.
- Blakolmer K, Vesely M, Kummer JA, Jurecka W, Mannhalter C, Chott A. Immunoreactivity of B-cell markers (CD79a, L26) in rare cases of extranodal cytotoxic peripheral T- (NK/T-) cell lymphomas. Mod Pathol 2000;13:766-72.

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