

FLEX
Monoclonal Mouse
Anti-Human CD8
Klon C8/144B
Ready-to-Use
(Dako Omnis)

Kód GA623

Použití	<p>Pro diagnostiku in vitro.</p> <p>FLEX Monoklonální myší antihumánní protilátka CD8, klon C8/144B, připravená k použití, (Dako Omnis) je určena pro použití v imunohistochemii, společně s přístrojem Dako Omnis. Tato protilátka značí buňky exprimující CD8 ve tkáních fixovaných ve formalínu a zalitých v parafrínu. Výsledky přispívají ke klasifikaci T-buněčných lymfomů (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 nádoru provedené konvenční histopatologií za použití neimunologických histochemických zbarvení.</p>
Souhrn a vysvětlení	<p>CD8 je transmembránový glykoprotein s molekulární hmotností 68 kDa. Je exprimován jako disulfidový heterodimer skládající se z řetězce 32–34 kDa $\alpha\alpha$ z řetězce 30–32 kDa β nebo jako homodimer skládající se ze dvou α řetězců. CD8α a CD8β mají typickou imunoglobulin-variabilní oblastní doménu v N-koncové extracelulární části, která je řadí do nadrodiny imunoglobulinových genů. CCD8 je exprimována většinou jako $\alpha\beta$ heterodimer většinou tymocytů a majoritním histokompatibilním komplexům třídy I přepsaných, zralých, supresorových/cytotoxických T buněk. Část $\gamma\delta$ T buněk a NK buněk exprimuje CD8 $\alpha\alpha$ homodimer (2).</p> <p>Informace týkající se těchto témat naleznete v příručce <i>General Instructions for Immunohistochemical Staining</i> (Obecné pokyny pro imunohistochemické barvení) společnosti Dako nebo v návodu k systému detekce pro metody IHC.</p>
Dodávané činidlo	<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: C8/14B (1). Izotyp: IgG1, kappa.</u></p>
Imunogen	<p>Syntetický peptid korespondující se 13 C-terminálními aminokyselinami cytoplazmatické domény lidského CD8α spojeného s tyreoglobulinem (1).</p>
Specifita	<p>SDS-PAGE analýza imunoprecipitátů formovaných mezi lyzáty značenými ¹²⁵I lidských T lymfoblastů a protilátky vykazuje reakci primárně s 32 kDa polypeptidem korespondujícím s CD8α (1).</p>
Bezpečnostní opatření	<ol style="list-style-type: none">1. Určeno 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. 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.
Uchovávání	<p>Uchovávejte při 2–8 °C. Během skladování musí být víčko uzavřené. Nepoužívejte po datu expirace uvedeném na lahvičce. Aplikační stabilita je 375 hodin. Aplikační stabilitu sleduje software Dako Omnis. Pokud se činidla skladují za jakýchkoli jiných než uvedených podmínek, musí uživatel tyto podmínky ověřit. Případná nestabilita výrobku by se neprojevila 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>

Šablona protokolu
barvení*

Krok	Činidlo	Protokol
Deparafinizace	Clearify (kód GC810)	Výchozí
Předběžné zpracování	EnVision FLEX, High pH (kód GV804)	30minutové tepelně indukované vyhledávání epitopu
Primární protilátka	Ready-to-Use (kód GA623)	10minutová inkubace
Činidlo pro negativní kontrolu	FLEX Negative Control, Mouse (kód GA750)	10minutová 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
Montáž	Je vyžadována bezvodá permanentní montáž	Po vyjmutí nutno dehydratovat, vyčistit a namontovat
Kontrola kvality	Tkáň	Barvicí vzor
Kontrolní tkáň	Mandle	Membránové barvení

*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: Protílátku lze používat ke 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.dako.com. Podrobné pokyny ke vkládání podložních sklů 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.

Předběžné zpracování: 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 v kombinaci s 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 metody permanentní montáže.

Kontrola kvality

Pozitivní a negativní kontroly a také činidlo pro negativní kontrolu je nutno provádět 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 Negative Control, Mouse, (Dako Omnis), kód GA750.

Interpretace zbarvení

Uněčný barvicí vzor je membránový.

Charakteristiky účinnosti









Normální tkáň: Tato protílátka značí cytotoxické/supresorové T buňky v T-buněčných oblastech sleziny, mandlí a slezinných buněk lemující sinusoidy (1). U kolorektálních biopsií tato protílátka značí cytotoxické/supresorové T-buňky v T-buněčných oblastech rekta, esovitého, klesajícího, příčného a stoupajícího tračníku a slepého střeva (3). Jedna studie ukázala, že protílátka CD8 také značí nativní cytokeratin 15 ve vlasových folikulech lidských keratinocytů a diskrétní oblasti bazální vrstvy vnějšího kořenového obalu blízko napojení svalu arrector plii bez značení zbývajících vlasových folikulů (4). V mandlích vykazaly interfolikulární T-buňky slabou až středně silnou reakci barvení.

Abnormální tkáň: Protílátka značila 3/3 nodálních T-buněčných lymfomů a 1/1 T-buněčných angioimunoblastických lymfomů (5).

Literatura

- Mason DY, Cordell JL, Gaulard P, Tse AGD, Brown MH. Immunohistological detection of human cytotoxic/suppressor T cells using antibodies to a CD8 peptide sequence. *J Clin Pathol* 1992;45:1084-8.
- Nakauchi H. TC9. CD8 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. 65-7.
- Yamagata K, Tanaka M, Kudo H. A quantitative immunohistochemical evaluation of inflammatory cells at the affected and unaffected sites of inflammatory bowel disease. *J Gastroenterol* 1998;13:801-8.
- Lyle S, Christofidou-Solomidou M, Liu Y, Elder DE, Albelda S, Cotsarelis G. Human hair follicle bulge cells are biochemically distinct and possess an epithelial stem cell phenotype. *J Invest Dermatol Symp Proc* 1999;4:296-301.
- Verification Test Results for GA623 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human CD8, Clone C8/144B. 2013. Report on file, Dako. D19953.

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
 i	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