

PIT1 (ZM385) Myší monoklonální protilátka

Pro *in vitro* diagnostické použití.

Identifikace produktu

Z2676ML	1.0 ml (Koncentrát)
Z2676MS	0.5 ml (Koncentrát)
Z2676MT	0.1 ml (Koncentrát)
Z2676MP	7 mL (Před ředění)

Doporučené použití

Tato protilátka je určena pro *in vitro* diagnostické (IVD) použití. PIT1 (ZM385) je myší monoklonální primární protilátka je určena pro profesionální laboratorní použití při detekci proteinu PIT1 ve formalínem fixované, parafínem zalité tkáni barvené manuálním kvalitativním imunohistochemickým (IHC) testováním.

Tato protilátka je určena k použití poté, co byla primární diagnóza nádoru provedena konvenční histopatologií za použití neimunologického histochemického barvení. Kvalifikovaný patolog musí interpretovat výsledky pomocí tohoto produktu jako pomůcku pro diagnostiku ve spojení s příslušnou klinickou anamnézou pacienta, dalšími diagnostickými testy a řádnými kontrolami.

Shrnutí a vysvětlení

Transkripční regulátory hrají rozhodující roli ve vývoji tím, že zprostředkovávají tkáňově a buněčně specifickou transkripci. Faktory POU domény jsou transkripční regulátory charakterizované bipartitní DNA vazebnou doménou sestávající ze dvou vysoce konzervovaných oblastí, vázaných variabilním linkerem 14-26 aminokyselin. Pit-1, také známý jako růstový hormon faktor-1 (GHF-1), člen rodiny homeodomén POU, je nezbytný pro normální vývoj přední hypofýzy, kde je vyžadována tvorba somatotropů, laktotropů a tyrotropes. U somatotropik a laktotropů aktivuje Pit-1 produkci růstového hormonu a prolaktinu. Kromě toho Pit-1 působí jako represor genové exprese, což umožňuje diferenciaci specifických typů buněk. Pit-1 je exprimován jako dva alternativně spojené produkty, označené Pit-1a a Pit-1b, které se liší svou trans-aktivační schopností. Předpokládá se, že mutace v genu Pit-1 vedou ke kombinovanému nedostatku hormonu hypofýzy (CPHD) pro růstový hormon, prolaktin a hormon stimulující štítnou žlázu. Gen, který kóduje Pit-1, se mapuje na lidský chromozom 3p11.2.

Princip metody

PIT1 (ZM385) je myší monoklonální protilátka se používá s řezy fixovanými ve formalínu a zalitými v parafínu. Doporučuje se předběžné ošetření deparafinizované tkáně pomocí teplem nebo enzymaticky indukovaným vyhledáváním epitopu. Obecně imunohistochemické (IHC) barvicí techniky umožňují vizualizaci antigenů prostřednictvím sekvenční aplikace specifické protilátky na antigen (primární protilátka), sekundární protilátky na

primární protilátku (značící protilátka), enzymového komplexu a chromogenního substrátu proložený mycími kroky. Enzymatická aktivace chromogenu vede k viditelnému reakčnímu produktu v místě antigenu. Výsledky jsou interpretovány pomocí světelného mikroskopu a pomáhají při diferenciální diagnostice patofyziologických procesů, které mohou, ale nemusí, souviset s konkrétním antigenem.

Poskytovaný materiál

PIT1 (ZM385) Myší monoklonální protilátka v koncentrované formě nebo předředěná

Specifikace protilátek: Protilátka jako purifikovaná zředěná v Tris-HCl pufru obsahujícím stabilizační protein a <0,1% ProClin.

Hostitel: Myš Izotyp: IgG2b /κ

Imunogen: Rekombinantní lidský protein POU1F1 v plné délce

Buněčná lokalizace: **Jádro**

Rozsah ředění koncentráту: **1:100-200**

Pozitivní kontrola: **Hypofýza**

Skladování a zacházení

Po obdržení lahvičku skladujte při 2-8°C. Při skladování při 2-8°C je tato protilátka stabilní 24 měsíců.

Aby byla zajištěna správná stabilita a funkčnost reagentie, musí být nasazen uzávěr a lahvička musí být okamžitě umístěna do lednice ve svislé poloze. Nepoužívejte po uplynutí doby použitelnosti vyznačené na lahvičce.

Pokud jsou reagentie skladovány za jiných podmínek, než jsou uvedeny v příbalovém letáku, musí být ověřeny uživatelem.

Opakované cykly zmrazování a rozmrazování mohou snížit aktivitu protilátek a je třeba se jim vyhnout.

Pokud se zdá, že obal nebo obsah je rozbítý či poškozený, nepoužívejte jej a kontaktujte společnost Zeta Corporation. Kontaktní informace jsou na poslední stránce tohoto dokumentu.

Ředění:

Před ředění protilátky: Připravené k použití, není nutné ředění.

Koncentrované protilátky: Řiďte se stanoveným rozsahem ředění **1:100-200** a použijte vhodné laboratorně standardizované rozpouštědlo a nádobu. Konkrétní pokyny naleznete na štítku.

Stabilita po naředění: 7 dní při 24 °C, 3 měsíce při 2-8 °C, 6 měsíců při -20 °C, jak prokázaly studie stability provedené ve společnosti Zeta Corporation při použití polypropylenových nádob.

Požadovaný materiál, který není součástí

1. Pozitivní tkáňová kontrola: Rutinně zpracovaný, neutrálně pufovaný, formalínem fixovaný, parafínem zalitá hypofýza
1. Negativní kontrolní tkáň (vnitřní nebo vnější)
2. Mikroskopická sklíčka a krycí sklíčka
3. Barvicí sklenice nebo lázně
4. Stopky
5. Xylen nebo náhrada xylenu
6. Ethanol nebo reagenční alkohol

7. Deionizovaná nebo destilovaná voda
8. Zahřívací zařízení nebo enzym pro předběžné ošetření tkáně
9. Detekční systém
10. Chromogen
11. Promývací pufr
12. Hematoxylin
13. Diluent protilátek
14. Blokáda peroxidázy
15. Světelný mikroskop
16. Montovací médium
17. Reagencie pro blokaci Avidin-Biotinu při použití se streptavidin-biotinovou detekcí

Příprava vzorku pro analýzu

S touto primární protilátkou se používají rutinně zpracované tkáně, neutrálním pufovaným formalínem fixované, zalité do parafínu. Preferují se přibližně 4um tkáňové řezy a měly by být umístěny na kladně nabitá sklíčka. Doporučuje se předběžné ošetření deparafinizované tkáně pomocí teplem indukovaným odmaskováním epitopu. Výsledky se mohou lišit v důsledku prodloužené fixace nebo neočekávaného vnesení cizích materiálů nebo rušivých látek. Odvápnění může také ovlivnit výsledky barvení.

Tkáně osob infikovaných virem hepatitidy B a obsahující povrchový antigen hepatitidy B (HBsAg) mohou vykazovat nespecifické barvení křenovou peroxidázou.

Imunohistochemický protokol

1. Deparafinizace
2. Rehydratace
3. Peroxidový blok: Blokujte po dobu 5 minut při laboratorní teplotě
4. Praní přípravkem Zeta TBS (ZD5)
5. Technika získávání epitopu: Zeta Tris-EDTA HIER roztok pH 9,0 (ZD6) při 100 °C po dobu 40 minut pomocí tlakového hrnce. Konkrétní pokyny naleznete v komerčně dostupném datovém listu zařízení.
6. Opláchněte deionizovanou vodou. Praní přípravkem Zeta TBS (ZD5)
7. Primární protilátka: Inkubujte po dobu 30 minut při laboratorní teplotě.
8. Praní přípravkem Zeta TBS (ZD5)
9. Univerzální detektor polymerů pro detekci HRP Zeta (ZD11): Inkubujte po dobu 30 minut při okolní teplotě.
10. Omyjte přípravkem Zeta TBS (ZD5). Opláchněte deionizovanou vodou
11. Chromogen: Inkubujte po dobu 5 minut při okolní teplotě
12. Opláchněte deionizovanou vodou
13. Kontrastní barvení hematoxylinem. Opláchněte deionizovanou vodou

Upozornění a bezpečnostní opatření

1. Při manipulaci s činidly učiňte odpovídající opatření. Používejte jednorázové rukavice a laboratorní pláště při manipulaci s podezřelými karcinogeny nebo toxickými materiály (například: xylen).
2. Vyhněte se kontaktu činidel s očima a sliznicemi. Pokud se reagencie dostanou do kontaktu s citlivými oblastmi, omyjte je velkým množstvím vody.
3. Se vzorky pacientů a veškerým materiálem, který s nimi přijde do styku, je třeba zacházet jako s biologicky nebezpečným materiálem a likvidovat jej podle náležitých opatření. Nikdy nepipetujte ústy.
4. Uživatel musí ověřit inkubační doby a teploty.
5. Před ředěním činidla připravená k použití jsou optimálně naředěna a další ředění může vést ke ztrátě barvení antigenu.
6. Koncentrovaná činidla lze optimálně naředit na základě ověření uživatelem. Každé použité ředidlo musí být rovněž ověřeno uživatelem z hlediska jeho kompatibility a vlivu na stabilitu.
7. Při použití podle návodu není tento produkt klasifikován jako nebezpečná látka. Konzervační látka v činidle obsahuje méně než 0,1 % ProClin a nesplňuje kritéria OSHA (USA) pro nebezpečnou látku v uvedené koncentraci. Viz Bezpečnostní list (SDS) na webových stránkách Zeta Corporation.
8. Uživatel musí ověřit jakékoliv jiné podmínky skladování, než ty, které jsou uvedeny v příbalovém letáku.
9. Diluent může obsahovat hovězí sérový albumin a supernatant může obsahovat hovězí sérum. Produkty obsahující fetální bovinní sérum a produkty obsahující bovinní sérový albumin jsou zakoupeny od komerčních dodavatelů. Certifikáty potvrzují, že zdroje skotu jsou ze zemí se zanedbatelným rizikem BSE a státní zdroje skotu z USA a Kanady.
10. Stejně jako u každého produktu získaného z biologických zdrojů, měly by být použity správné postupy manipulace.

Postupy kontroly kvality

Pozitivní kontrolní tkáň

Pozitivní tkáňová kontrola musí být provedena při každém barvení. Tato tkáň může obsahovat jak pozitivní, tak negativní barvicí buňky nebo složky tkáně a slouží jako pozitivní i negativní kontrolní tkáň. Materiály pro externí pozitivní kontrolu by měly být čerstvé pitevní/bioptické/chirurgické vzorky fixované, zpracované a zalité co nejdříve stejným způsobem jako vzorky pacienta. Pozitivní tkáňové kontroly ukazují na správně připravené tkáně a správné metody barvení. Tkáně použité pro externí materiály pro pozitivní kontrolu by měly být vybrány ze vzorků pacientů s dobře charakterizovanou nízkou úrovní pozitivní cílové aktivity, která poskytuje slabé pozitivní barvení. Nízká úroveň pozitivní pro externí pozitivní kontroly je navržena tak, aby zajistila detekci jemných změn v citlivosti primární protilátky z nestability nebo

problémů s metodikou barvení. Tkáň se slabým pozitivním zabarvením je vhodnější pro optimální kontrolu kvality a pro detekci menších úrovní degradace reagentů.

Negativní kontrolní tkáň

Interní nebo externí tkáň negativní kontroly může být použita v závislosti na směrnících a zásadách, kterými se řídí organizace, ke které koncový uživatel patří.

Rozmanitost typů buněk přítomných v mnoha tkáňových řezech nabízí místa pro interní negativní kontrolu, ale to by si měl ověřit uživatel. Komponenty, které se nebarví, by měly vykazovat nepřítomnost specifického zbarvení a poskytovat indikaci nespecifického zbarvení pozadí. Pokud dojde ke specifickému zbarvení v místech negativní kontroly tkáně, výsledky se vzorky pacienta musí být považovány za neplatné.

Tkáň pacienta

Vzorky pacientů by měly být vyšetřeny jako poslední. Intenzita pozitivního zbarvení by měla být posouzena v kontextu jakéhokoli nespecifického zbarvení pozadí negativní kontroly. Jako u každého imunohistochemického testu, negativní výsledek znamená, že antigen nebyl detekován, nikoliv že antigen v testovaných buňkách/tkáni chyběl. V případě potřeby použijte panel protilátek k identifikaci falešně negativních reakcí.

Interpretace výsledků

Postup imunobarvení způsobí, že se barevný reakční produkt vysráží v místech antigenu lokalizovaný primární protilátkou. Očekávané barevné reakce naleznete v příbalovém letáku příslušného detekčního systému. Před interpretací výsledků musí licencovaný patolog se zkušenostmi s imunohistochemickými postupy vyhodnotit kontrolní tkáň.

Pozitivní kontrolní tkáň

Obarvená pozitivní kontrola by měla být vyšetřena nejdříve, aby bylo zajištěno, že všechna činidla fungují správně. Přítomnost vhodně zbarveného reakčního produktu v cílových buňkách nebo markerech indikuje pozitivní reaktivitu. Barevné reakce naleznete v příbalovém letáku použitého detekčního systému. Nadměrné nebo neúplné zabarvení může ohrozit správnou interpretaci výsledků. Pokud pozitivní tkáňová kontrola neprokáže vhodné pozitivní zabarvení, jsou jakékoliv výsledky se vzorky považovány za neplatné.

Negativní tkáňová kontrola

Negativní tkáňová kontrola (interní nebo externí) by měla být vyšetřena po pozitivní tkáňové kontrole, aby se ověřilo specifické značení cílového antigenu primární protilátkou. Absence specifického barvení v negativní tkáňové kontrole potvrzuje nedostatek zkřížené reaktivity protilátek s buňkami nebo buněčnými složkami. Pokud se u negativní tkáňové kontroly

objeví specifické zbarvení, jsou výsledky se vzorkem pacienta považovány za neplatné.

Tkáň pacienta

Dále by měly být vyšetřeny tkáně pacienta. Pozitivní barvení by mělo být hodnoceno v kontextu jakéhokoliv barvení pozadí (interní) negativní kontroly. Jako u každého imunohistochemického testu negativní výsledek znamená, že příslušný antigen nebyl detekován, nikoli že antigen v testovaných buňkách nebo tkáni chybí. Panel protilátek může pomoci při identifikaci falešně negativních reakcí. Morfologické nálezy a relevantní klinická data pacienta musí interpretovat kvalifikovaný patolog.

Omezení

1. Toto činidlo je určeno pouze pro profesionální laboratorní použití, jelikož imunohistochemie je víceetapový proces, který vyžaduje specializované školení ve výběru vhodných činidel, tkání, fixace, zpracování, přípravě imunohistochemického preparátu a interpretaci výsledků barvení.
2. Pro in vitro diagnostické použití.
3. Barvení tkáně závisí na manipulaci a zpracování tkáně před barvením. Nesprávná fixace, zmrazování, rozmrazování, mytí, sušení, zahřívání, krájení nebo kontaminace jinými tkáněmi nebo tekutinami může způsobit artefakty, zachycení protilátek nebo falešně negativní výsledky. Nekonzistentní výsledky mohou být důsledkem variací v metodách fixace a zalévání, stejně jako z přirozených nesrovnalostí tkáně.
4. Nadměrné nebo neúplné kontrastní barvení může ohrozit správnou interpretaci výsledků.
5. Klinická interpretace jakéhokoliv pozitivního zbarvení nebo jeho nepřítomnosti musí být vyhodnocena v kontextu klinické anamnézy, morfologie, dalších histopatologických kritérií a také dalších diagnostických testů. Tato protilátka je určena k použití v panelu protilátek, pokud je to možné. Je odpovědností kvalifikovaného patologa, aby byl obeznámen s protilátkami, činidly, diagnostickými panely a metodami používanými k výrobě barveného preparátu. Barvení musí být provedeno v certifikované, licencované laboratoři pod dohledem patologa, který je odpovědný za kontrolu obarvených sklíček a zajištění adekvátnosti pozitivních a negativních kontrol.
6. Zeta poskytuje protilátky v koncentrovaných i předředěných formátech v optimálním ředění pro použití. Viz Rozsah ředění a rozpouštění na stranách 1 a 2. Jakákoliv odchylka od doporučených postupů může znehodnotit očekávané výsledky. Musí být použity a zdokumentovány vhodné kontroly. Uživatelé musí za všech okolností přijmout odpovědnost za interpretaci výsledků pacienta.
7. Zeta poskytuje některé protilátky v koncentrovaném formátu, takže je uživatel může následně optimálně naředit pro použití, pokud určí a dodrží vhodné validační techniky. Uživatelé musí ověřit použití jakýchkoli jiných ředidel, než která jsou zde doporučena (viz Rozsah ředění). Uživatelé musí za všech

okolností přijmout odpovědnost za interpretaci výsledků pacienta.

8. Reagencie mohou vykazovat neočekávané reakce v dříve netestovaných tkáních. Možnost neočekávaných reakcí i v testovaných skupinách tkání nelze zcela vyloučit z důvodu biologické variability exprese antigenu v novotvarech nebo jiných patologických tkáních.
9. Tkáně osob infikovaných virem hepatitidy B a obsahující povrchový antigen hepatitidy B (HBsAg) mohou vykazovat nespecifické barvení křenovou peroxidázou.
10. Při použití v blokovacích krocích mohou normální séra ze stejného zvířecího zdroje, jako sekundární antiséra, způsobit falešně negativní nebo falešně pozitivní výsledky kvůli účinku autoprotilátek nebo přirozených protilátek.
11. Falešně pozitivní výsledky mohou být pozorovány z důvodu neimunologické vazby proteinů nebo produktů reakce substrátu. Mohou být také způsobeny pseudoperoxidázovou aktivitou (erytrocyty), endogenní peroxidázovou aktivitou (cytochrom C) nebo endogenním biotinem (příklad: játra, mozek, prsa, ledviny) v závislosti na typu použité techniky imunobarvení.
12. Jako u každého imunohistochemického testu negativní výsledek znamená, že antigen nebyl detekován, nikoliv že antigen v testovaných buňkách nebo tkáni chyběl.
13. Předředěné protilátky jsou optimalizovány jako produkt připravený k použití. Vzhledem k možnosti variací ve fixaci a zpracování tkáně může být nutné zvýšit nebo zkrátit dobu inkubace primární protilátky na jednotlivých vzorcích.
14. V kombinaci s detekčními systémy a příslušenstvím tato protilátka detekuje antigen(y), které přežijí rutinní fixaci formalínu, zpracování tkáně a řezy. Uživatelé, kteří se odchýlí od zde doporučených postupů, zůstávají, stejně jakoby za jakýchkoli okolností, odpovědní za interpretaci a validaci výsledků pacientů.
15. Pouze pro laboratorní použití.

Hypofýza

Typ tkáně	 pozitivita (%)
Hypofýza	100

Odkazy: Chu, Peiguo, and Lawrence M Weiss. Modern Immunohistochemistry. 2nd ed., Cambridge, Cambridge University Press, 2014, pp.1-479.

Doporučený účel, charakteristika a výsledek každé protilátky je jedinečný, a proto by výsledky barvení měl posoudit a vhodně interpretovat licencovaný patolog.

Odkazy

1. Yao, J., et al. J. Clin. Invest. 2016; 126: 732-744.
2. Beatriz M, et al. Am J Surg Pathol; 2017; 41: 586-595

V případě, že se uživatel setká s technickými problémy nebo problémy souvisejícími s výkonem produktu, obraťte se na výrobce nebo příslušný úřad.

Jakákoliv závažná nehoda, ke které došlo v souvislosti s prostředkem, musí být oznámena výrobcí a příslušnému orgánu členského státu, ve kterém uživatel a/nebo pacient sídlí.

Číslo dokumentu: IFU-IVDL-Z2676

Verze: Rev04

Datum vydání: 10.10.2024

Slovník symbolů

Symbol	Popis
	Expirace
	Šarže
	Katalogové číslo
	Přečtěte si příručku
	Teplotní limity

Výkonnostní charakteristiky



Zeta Corporation
605 E Huntington Dr. STE# 204
Monrovia, CA 91016, USA
Tel: (626) 355-2053
<http://www.zeta-corp.com>



2BScientific,
Office 4 Building A,
Kirtlington Business
Center, Kirtlington,
Oxfordshire, OX5 3JA,
United Kingdom



Emergo by UL
Westervoortsedijk 60
6827 AT, Arnhem
The Netherlands



MedEnvoy Global BV
Prinses
Margrietplantsoen
33 Suite 123
2295 AM, The Hague
The Netherlands