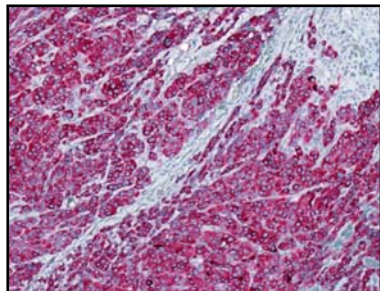


CONFIRM® anti-Tyrosinase (T311) Mouse Monoclonal Primary Antibody

Catalog Number 790-4365



POUŽITÍ

Tato protilátka je určena k diagnostice *in vitro*. Protilátka Ventana Medical Systems' CONFIRM® anti-Tyrosinase (T311) Mouse Monoclonal Primary Antibody je vyrobena za účelem kvalitativního zjišťování přítomnosti buněk exprimujících tyrosinázu v tkáních fixovaných ve formalínu a zalitých v parafínu po obarvení na barvicím automatu Ventana pomocí světelné

mikroskopie. Pozitivní výsledky napomáhají klasifikaci melanomu. Klinická interpretace jakéhokoliv zabarvení nebo jeho nepřítomnosti musí být doplněna morfoloogickými studii a hodnocením řádných kontrol. Hodnocení musí v kontextu klinické anamnézy pacienta a jiných diagnostických testů provádět kvalifikovaný patolog.

SOUHRN A VYSVĚTLENÍ

Tyrosináza je enzym zapojený v produkci melaninových pigmentů.^{1,2} Biosyntéza melaninu uvnitř melanocytů zahrnuje rodinu enzymů včetně tyrosinázy. V tomto procesu tyrosináza katalyzuje hydroxylaci L-tyrozinu na L-dopa a oxidaci L-dopa na L-dopaquinon.^{1,2} Tento enzym katalyzuje tvorbu melaninu v buňkách, a stává se proto užitečným markerem přítomnosti melanocytů a melanosomů.³ Tyrosináza, jako marker melanocytických buněčných linií, je lokalizovaná na melanocytech, které se nacházejí na dermálním/epidermálním spojení normální kůže, které však nebyly zjištěny v ostatních normálních buňkách.^{2,3,4} Expresse tyrosinázy byla rovněž prokázána v melanocytických lézích, včetně benigní nevi a ve většině primárních a metastatických maligních melanomů, nebyla prokázána v nemelanocytických nádorových typech.^{3,5}

DODÁVANÁ ČINIDLA

Protilátka CONFIRM anti-Tyrosinase (T311) obsahuje dostatek činidla pro 50 sklíček.

Jeden 5 mL dávkovač protilátky CONFIRM anti-Tyrosinase (T311) obsahuje přibližně 4 µg myši monoklonální protilátky vyrobené jako supernatant buněčných kultur.

Protilátka je zředěna v 0,05 M Tris-HCl s 2 % proteinového nosiče a konzervační látkou 0,10 % ProClin™ 300 obsahující aktivní látky 5-chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one a 2-methyl-4-isothiazolin-3-one.

Celková proteinová koncentrace činidla je v průměru 10 mg/mL. Koncentrace specifické protilátky je asi 0,8 µg/mL. V tomto produktu není známa žádná irelevantní reaktivita protilátky.

Ze zásobního roztoku je zde přítomna stopa (asi 2 %) fetálního telecího séra, původem z USA.

Podrobné popisy nalezete v příbalovém letáku k příslušné detekční soupravě Ventana: (1) Princip metody, (2) Potřebné materiály a činidla, které však nejsou součástí dodávky, (3) Příprava vzorků, (4) Kontrola kvality, (5) Řešení problémů, (6) Interpretace zabarvení a (7) Obecná omezení.

POTREBNÝ MATERIAL, KTERÝ SE NEDODÁVA

Barvicí činidla, například detekční soupravy Ventana (např. detekční souprava *ultraView™* Universal Red) a přidavné materiály, včetně kontrolních sklíček pro negativní a pozitivní tkáň nejsou součástí dodávky.

SKLADOVÁNÍ

Uchovávat při 2 – 8 °C. Nezmrazovat.

Aby byl zajištěn správný výkon činidla a stabilita protilátky, musí se dávkovač po každém použití uzavřít víčkem a okamžitě umístit ve vertikální poloze do chladničky.

Každý dávkovač s protilátkou má stanovenou dobu expirace. Je-li řádně skladováno, je činidlo stabilní do data uvedeného na štítku. Nepoužívejte činidla po vypršení data expirace.

PŘIPRAVA VZORKU

Pro použití této primární protilátky s detekčními soupravami Ventana na barvicích automatech Ventana jsou vhodné tkáňe, zpracované běžným způsobem, fixované ve formalínu a zalité v parafínu. Doporučené vhodné fixativum je 10 % neutrální pufovaný formalin.⁶ V zájmu zachování antigenosti nařezaných tkáňových řezy se musí řezy tkání barvit okamžitě.

Doporučuje se provádět souběžně s neznámými vzorky též pozitivní a negativní kontroly.

UPOZORNĚNÍ A BEZPEČNOSTNÍ PŘEDPISY

1. K diagnostice *in vitro*.
2. Zabraňte kontaktu činidel s očima a sliznicí. Jestliže se činidla dostanou do kontaktu s citlivými oblastmi, omyjte je vydatným množstvím vody.
3. Zamezte mikrobiologické kontaminaci činidel.
4. Doporučené metody likvidace jsou uvedeny v celostátních a místních předpisech.
5. Konzervačním prostředkem v činidle je ProClin 300. Příznaky nadměrné expozice ProClin 300 zahrnují podráždění kůže a očí a podráždění sliznic a horních dýchacích cest. Koncentrace ProClin 300 ve výrobku je 0,10 % a nenapluje tak kritéria OSHA pro nebezpečnou látku. U citlivých jedinců se mohou vyskytnout systémové alergické reakce.

POSTUP BARVENÍ

Primární protilátky Ventana byly vyvinuty za účelem použití v barvicích automatech Ventana ve spojení s detekčními soupravami a příslušenstvím výrobce Ventana. Doporučené barvicí protokoly pro barvicí přístroje BenchMark® XT s detekční soupravou *ultraView* Universal Red (kat. č. 760-501) jsou uvedeny v tabulce 1 níže. Parametry automatických postupů lze zobrazit, vytisknout a upravovat podle postupů uvedených v Návodu k obsluze. Další podrobné informace o postupech imunohistochemického barvení naleznete v příbalovém letáku k příslušné detekční soupravě výrobce Ventana.

Tabulka 1. Doporučené barvicí protokoly pro CONFIRM anti-Tyrosinase (T311) s detekční soupravou *ultraView* Universal Red na barvicím automatu BenchMark XT.

Typ postupu	Způsob
Odstraňování parafínu	Zvoleno
Úprava buněk (odmaskování antigenu)	Standard Cell Conditioning 1
Enzym (proteáza)	Není vyžadováno
Protilátka (primární)	Asi 8 minut, 37 °C
<i>ultraBlock</i> (volitelné)	4 minuty
Kontrastní barvivo	Hematoxylin II, 4 minuty
Po kontrastním barvení	Bluing Reagent, 4 minuty

Vzhledem k různým způsobům fixace a zpracování tkání může být potřeba zvýšit nebo snížit inkubační doby primární protilátky, úpravy buněk nebo předběžného zpracování proteázou na jednotlivých vzorcích a v závislosti na použité metodě detekce. Další informace o různých fixacích naleznete v příručce „Immunohistochemistry Principles and Advances“.⁷

TKÁŇ PRO POZITIVNÍ KONTROLU

Pro CONFIRM anti-Tyrosinase (T311) se jako pozitivní kontrola doporučuje pozitivní melanom charakterizovaný tyrosinázou (jak je zobrazeno na obrázku výše).

INTERPRETACE ZABARVENÍ

Buněčný barvicí vzor pro CONFIRM anti-Tyrosinase (T311) je cytoplazmatický.

SPECIFICKÁ OMEZENÍ

Tato protilátka byla optimalizována pro inkubaci v délce 8 minut na barvicích automatech BenchMark XT v kombinaci s detekční soupravou *ultraView* Universal Red (kat. č. 760-501). Výsledky získané s tímto činidlem však musí uživatel ověřit.

Nekróza, často přítomná v melanomech, může barvit nespecificky. Jestliže je zjištěno nespecifické zabarvení u negativní kontroly, může se použít přidání blokovacího prostředku pomocí vlastností protokolu *ultraView* v postupu XT *ultraView* Red v.3.

CHARAKTERISTIKY ÚČINNOSTI

1. Imunoreaktivita protilátky CONFIRM anti-Tyrosinase (T311) byla stanovena testováním normálních a neoplastických tkání fixovaných ve formalínu a zalitých v parafínu. U normálních tkání byly výsledky následující: nadledvinová žláza (0/3), kostní dřev (0/3), velký mozek (0/3), malý mozek (0/3), prs (0/3), děložní hrdlo (0/3), tračník (0/3), jícen (0/3), srdce (0/3), hypofýza (0/3), tenké střevo (0/3), ledvina (0/3), játra (0/3), plíce (0/3), mezotel (0/3), nerv (0/3), vaječník (0/3), slinivka břišní (0/3), příštítná žláza (0/3), prostata (0/3), slinná žláza (0/3), kůže (3/3), slezina (0/3), žaludek (0/3), příčně pruhovaný sval (0/2), varlata (0/3), brzlík (0/3), štítná žláza (0/3), mandle (0/3) a děloha (0/3). U neoplastických tkání byly výsledky následující: netypický meningiom (0/1), glioblastom (0/1), ependymom (0/1), oligodendrogliom (0/1), serózní papilární adenokarcinom vaječníku (0/1), mucinní papilární adenokarcinom vaječníku (0/1), karcinom ostrůvkových buněk (0/1), adenokarcinom slinivky břišní (0/1), seminom varlat a embryonální karcinom (0/2), medulární karcinom štítné žlázy (0/1), papilární karcinom štítné žlázy (0/1), intradukální, lobulární a infiltrující karcinom prsu (0/3) difúzní B-buněčný lymfom ve slezině (0/1), malobuněčný karcinom plic (0/1), karcinom plic skvamózních buněk (0/1), adenocarcinom plic (0/1), rakovina skvamózních buněk a adenokarcinom jícnu (0/2), adenokarcinom žaludku (0/1), adenokarcinom a mesenchymom tenkého střeva (0/2), kolorektální adenokarcinom a mesenchymom (0/4), hepatocelulární karcinom (0/1), hepatoblastom (0/1), karcinom z jasných buněk (0/1), adenokarcinom prostaty (0/1), karcinom z přechodových buněk prostaty a močového měchýře (0/2), leiomyom dělohy (0/1), endometriální karcinom (0/1), karcinomy z jasných a skvamózních buněk dělohy (0/2), embryonální rhabdomyosarkom (0/1), rektální melanom (1/1), karcinom bazálních buněk v kůži (0/1), karcinom skvamózních buněk v kůži (0/1), neurofibrom a neuroblastom (0/2), mezotheliom (0/1), Hodgkinův lymfom (0/1), lymom difúzního typu (0/3), leiomyosarkom (0/2), osteosarkom (0/1) a rhabdomyosarkom vřetenovitých buněk (0/1).
2. Imunoreaktivita protilátky CONFIRM anti-Tyrosinase (T311) byla stanovena také testováním řady specifických neoplastických tkání fixovaných ve formalínu a zalitých v parafínu, výsledky jsou následující: maligní melanom 121/149 (81 %) a nevus 14/20 (70 %) se zabarvily pozitivně.
3. Reprodukovatelnost barvení mezi cykly (inter run) byla stanovena na základě barvení 5 replikovaných sklíček obsahujících 3 stejné tkáně z duplikátních typů vzorku reprezentující dynamický rozsah po dobu 5 dnů na přístroji BenchMark XT. 150 ze 150 testovaných tkání dalo stejný výsledek.
4. Reprodukovatelnost barvení v rámci cyklu (intra run) byla stanovena na základě barvení 14 replikovaných sklíček obsahujících 3 stejné tkáně z duplikátních typů vzorku reprezentující dynamický rozsah na přístroji BenchMark XT. 84 ze 84 testovaných tkání dalo stejný výsledek.
5. Reprodukovatelnost barvení v rámci platformy byla stanovena na základě barvení 5 replikovaných sklíček obsahujících 3 stejné tkáně z duplikátních typů vzorku reprezentující dynamický rozsah na 3 přístrojích BenchMark XT. 90 ze 90 testovaných tkání dalo stejný výsledek.

REFERENCES

1. Chen YT, Stocert E, Tsang S. et al. Immunophenotyping of melanomas for tyrosinase: implications for vaccine development. 1995. Proc Natl Acad Sci USA 92:8125-8129
2. Jungbluth AA, Iversen K, Coplan K, et al. T311 an anti-tyrosinase monoclonal antibody for the detection of melanocytic lesions in paraffin embedded tissues. 2000. Pathol Res Pract 196:235-242
3. Clarkson KS, Sturgess IC, Molyneux AJ. The usefulness of tyrosinase in the immunohistochemical assessment of melanocytic lesions: a comparison of the novel T311 antibody (anti-tyrosinase) with S-100, HMB45, and A103 (anti-melan-A). 2001. J Clin Pathol 54:196-200.
4. Kwon BS. Pigmentation genes: The Tyrosinase gene family and the pml 17 gene family. 1993. J of Invest Dermatol 100:134S-140S.

5. Hofbauer GF, Kamarashev J, Geertsen R et al. Tyrosinase immunoreactivity in formalin-fixed, paraffin-embedded primary and metastatic melanoma: frequency and distribution. 1998. J Cutan Pathol 25:204-209
6. Sheehan DC, Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology, 2nd Edition. The C.V. Mosby Company, St. Louis, 1980.
7. Roche PC, Hsi ED. Immunohistochemistry-Principles and Advances. Manual of Clinical Laboratory Immunology, 6th edition. (NR Rose Ed.) ASM Press, 2002.

DUŠEVNÍ VLASTNICTVÍ

CONFIRM, *ultraView*, BenchMark a Ventana jsou ochranné známky společnosti Ventana Medical Systems, Inc.; CONFIRM® je registrována v USA; BenchMark® je registrována v USA, Evropském společenství a Japonsku; známka Ventana® je registrována v USA, Austrálii, Kanadě, Evropském společenství, Francii, Německu, Itálii, Španělsku a Velké Británii.

Konečnému uživateli je poskytována společností Ventana jednorázová licence v souladu s patenty USA, čísla 6045759, 6192945, 6416713, 6945128 a 7378058 a zahraniční stejnopisy.

ProClin je ochranná známka třetí strany a je vlastnictvím jejího vlastníka.

KONTAKTNÍ INFORMACE



Ventana Medical Systems, Inc.
1910 E. Innovation Park Drive
Tucson, Arizona 85755
USA
+1 520 887 2155
+1 800 227 2155 (USA)



www.ventanamed.com



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
D-68305 Mannheim
Germany