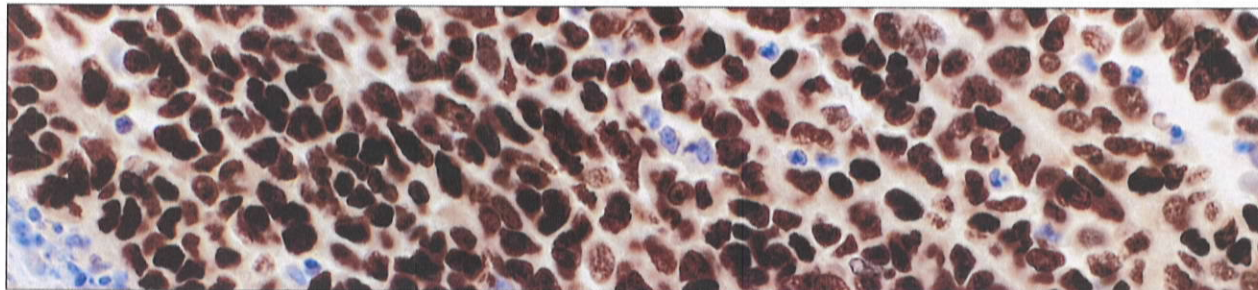


SOX-10 Rabbit Polyclonal Antibody



DOSTUPNOST PŘÍPRAVKU

Katalogové č.	Popis
383A-74	0,1 ml, koncentrát
383A-75	0,5 ml, koncentrát
383A-76	1,0 ml, koncentrát
383A-77	1,0 ml, předředěný, připravený k použití
383A-78	7,0 ml, předředěný, připravený k použití
383S	Positivní kontrolní sklička, 5 ks/balení

DEFINICE SYMBOLŮ

P	předředěný přípravek	E	sérum
C	koncentrát	DIL	rozsah ředění koncentrátu
A	ascites	KEY-CODE	kód
S	supernatant		

URČENÉ POUŽITÍ

Tato protilátka je určena pro diagnostiku *in vitro* (IVD).

Protilátka Cell Marque SOX-10 je určena pro kvalifikované laboratoře ke kvalitativní identifikaci přítomnosti souvisejících antigenů pomocí světelného mikroskopu v tkáňových řezech fixovaných formalinem a zalitých v parafinu imunohistochemickými (IHC) zkušebními metodami. Tato protilátka je indikována pro použití jako pomůcka pro identifikaci melanomových buněk a nádorových buněk z pochvy periferního nervu v rámci panelu protilátek, klinické anamnézy pacienta a dalších diagnostických testů vyhodnocovaných kvalifikovanými patology.

SOUHRN A VYSVĚTLENÍ

HMG-BOX gen 10 příbuzný Sry (SOX-10) je nukleární transkripční faktor účastní se vývoje neurální lišty a specifikace a diferenciacie buněk z

linie melanocytů.¹ Nedávno bylo prokázáno, že je citlivým markerem melanomu, včetně klasického, vřetenobuněčného a desmoplastického typu.² Protilátka proti SOX-10 byla aplikována na různé nádory z neurální lišty, na mezenchymové a epitelové novotvary a také na normální tkáň. Nukleární exprese SOX-10 byla zjištěna v případě 76 ze 78 melanomů (97 %) a 38 ze 77 zhoubných nádorů z pochvy periferního nervu (49 %), zatímco pro protein S100 byla zjištěna exprese v případě 71 melanomů (91 %) a 23 zhoubných nádorů z pochvy periferního nervu (30 %).²

Protein SOX-10 byl exprimován u metastatických melanomů a nodálních kapsulárních névů v sentinelových lymfatických uzlinách, nikoli však u jiných složek lymfatických uzlin, jako např. dendritických buněk, které obvykle exprimují protein S100. Ve vzorcích jizevnaté tkáně mohou nezralé fibroblasty, epiteloidní granulomy a histiocytické proliferace histopatologicky napodobovat reziduální melanom a dokonce mohou být pozitivní na MiTF a S100.^{3,4} V případě SOX-10 je však exprese u fibroblastů či histiocytů méně pravděpodobná, a to zejména ve srovnání s MiTF a S100. Anti-SOX-10 vytváří nukleární zbarvení poskytující čistý signál, jehož zbarvení je tmavší a sytější než při použití protilátek proti MiTF a S100.⁵ Nukleární signál vytvořený jak anti-SOX-10, tak anti-MiTF byl snadnější pro interpretaci než cytoplasmatické zbarvení např. anti-S100 (nukleární a cytoplasmatické), anti-HMB-45 či anti-Melan-A (obojí cytoplasmatické), a to zejména v intraepidermální složce, kde tyto cytoplasmatické markery mohou projít nespecifickou adhezí k melaninu. Na základě těchto skutečností bylo dokázáno, že anti-SOX-10 je výkonnější při detekci reziduálního invazivního melanomu a melanomu *in situ* než veškeré jiné metody imunobarvení.¹⁻⁵ Anti-SOX-10 je také užitečným markerem k detekci jak invazivních složek, tak složek *in situ* desmoplastického melanomu. Je známo, že běžně používané markery melanomu – anti-HMB-45 a anti-Melan-A – jsou špatně exprimovány v desmoplastických melanomech⁵; zatímco bylo hlášeno, že anti-SOX-10 byl exprimován středně až silně ve všech 28 testovaných desmoplastických melanomech². Přítomnost SOX-10, jenž se jako intraepidermální složka často vyskytuje ve více než 50 % desmoplastických melanomů, se může ukázat užitečnější než MiTF při hodnocení melanomu *in situ*, jelikož je u něj o mnohem větší pravděpodobnost exprese u neznámého, primárního melanomu ve srovnání s MiTF. Marker SOX-10 je silně exprimován u melanomových buněk a není vůbec nebo je jen slabě exprimován u vřetenobuněčných fibroblastů v jizvě.⁶ Tato skutečnost ještě více zdůrazňuje použitelnost anti-SOX-10 pro diferenciální diagnostiku reziduálního desmoplastického melanomu oproti jizevnaté tkáni a ukazuje klinický přínos anti-SOX-10 pro hodnocení vzorků melanomu po reexcizi.

SOX-10 je difúzně exprimován ve schwannomech a neurofibromech. Přítomnost SOX-10 nebyla zaznamenána v žádných jiných mezenchymových a epitelových nádorech kromě myoepiteliomů a difúzních astrocytomů.² S expresí SOX-10 se setkáváme v podpůrných buňkách feochromocytomů a paragangliomů a výjimečně také karcinoidů z různých orgánů, avšak nikoli v nádorových buňkách.²

V normálních tkáních je SOX-10 exprimován ve Schwannově buňkách, melanocytech a myoepitelových buňkách slinných, bronchiálních, exokrinních a mléčných žláz. K expresi SOX-10 také dochází v žírných buňkách různých tkání a orgánů jak v rámci nukleární, tak cytoplasmatické reakce.

PRINCIPY A POSTUPY

Uvedená primární protilátka (řada 383A) se používá jako primární protilátka při imunohistochemickém barvení tkáňových řezů fixovaných formalinem a zalitých v parafínu. Obecně umožňuje imunohistochemické barvení ve spojení s detekčním systémem se streptavidinem a biotinem vizualizaci antigenů prostřednictvím sekvenci aplikace konkrétní protilátky (primární protilátka) proti antigenu, sekundární protilátky (spojovací protilátka) proti primární protilátce, komplexu enzymů a chromogenního substrátu, která je proložena promývacími kroky. Alternativně lze použít polymerní detekční systém bez biotinu. Enzymatická aktivace chromogenu vede k viditelnému reakčnímu produktu v místě antigenu. Vzorek pak může být doplňkově obarven a zakryt krycím sklíčkem. Výsledky se interpretují pomocí světelné mikroskopie a pomáhají v diferenciální diagnostice patofyziologických procesů, které mohou a nemusí souviset s konkrétním antigenem.

Přípravky s předředenou protilátkou jsou optimálně zředěné pro použití s detekčními soupravami Cell Marque, přesto jsou běžně a úspěšně používány s širokou řadou detekčních souprav nabízených jinými výrobci.

MATERIÁLY A METODY

Štítek výrobku obsahuje následující informace o šarži:

1. Koncentraci imunoglobulinu v protilátce
2. Podrobnosti o zdroji

Dodávaná činidla

Předředený přípravek uvedené primární protilátky (383A-77, 383A-78) obsahuje činidlo připravené k použití.

Rozsah koncentrace imunoglobulinu v tomto přípravku je 5–15 µg/ml.

Přípravek s **koncentrovanou** uvedenou primární protilátkou (383A-74, 383A-75, 383A-76) obsahuje koncentrované činidlo.

Předředené i koncentrované formy této protilátky jsou zředěny v tlumivém roztoku Tris, pH 7,3 - 7,7, s 1% BSA a < 0,1% azidem sodným.

Rozsah koncentrace imunoglobulinu v tomto přípravku je 125–375 µg/ml.

Doporučený rozsah pracovního zředění pro koncentrovaný produkt je **1:25–1:100** a je uvedeno na štítku produktu.

Izotyp: IgG

Rekonstituce, smísení, ředění nebo titrace

Předředená protilátka je připravena k použití a optimalizována k barvení. Není vyžadována rekonstituce, smísení, ředění nebo titrace. Koncentrovaná protilátka je optimalizována pro ředění v rozsahu ředění.

Uživatel musí pracovní roztok koncentrovaného přípravku ověřit. Rozdíly ve zpracování tkáně a technických postupech v laboratoři mohou způsobit výraznou variabilitu výsledků, a následně mohou vyžadovat pravidelné používání kontrolních vzorků. (Viz část Postupy kontroly kvality).

Potřebné nedodávané materiály a činidla

Následující činidla a materiály mohou být potřebné pro barvení, ale nejsou dodány současně s primární protilátkou:

- | | |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. Pozitivní a negativní kontrolní vzorek tkáně | 10. Detekční systém (například kat. číslo 954D-20) a chromogenen (například kat. číslo 957D-20) |
| 2. Mikroskopická sklička, s pozitivním nábojem | |
| 3. Sušicí pec schopná udržovat teplotu 58 - 60 °C ± 5 °C | 11. Promývací roztoky (kat. číslo 935B-09) |
| 4. Barvicí misky nebo lázně | 12. Hematoxylin (kat. číslo 930B-05) nebo jiné doplňkové barvivo |
| 5. Stopky | |
| 6. Xylen nebo substituty xylenu | 13. Ředící roztoky na protilátku (například kat. číslo 938B-05) |
| 7. Etanol nebo jiný alkohol | 14. Peroxidový blok (kat. číslo 925B-05) pro použití s HRP |
| <i>Poznámka: Jednostupňové přípravné činidlo Cell Marque, Trilogy™ (kat. číslo 920P-06), může nahradit kroky 6 a 7 výše.</i> | |
| 8. Deionizovaná nebo destilovaná voda | 15. Blok Avidin-Biotin (kat. číslo 928B-02 pro použití s detekcí streptavidin-biotin) |
| 9. Elektrický tlakový hrnec (kat. číslo 976L) pro krok předúpravy tkáně | 16. Negativní kontrolní činidlo (kat. číslo 932B-02 pro myši; kat. číslo 933B-02 pro králíci) |
| | 17. Nosné médium (katalogové č. číslo 931B-03) |
| | 18. Krycí sklíčko |
| | 19. Světelný mikroskop (40-400x) |

Skladování a zacházení

Skladujte při 2 - 8 °C. Nezmrazujte.

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

Každé činidlo s protilátkou má stanovenou dobu expirace. Je-li řádně skladováno, je činidlo stabilní do data uvedeného na štítku. Nepoužívejte činidla po uplynutí expirační doby pro předepsanou metodu skladování.

Tento produkt nejeví žádné známky indukující nestabilitu, proto by se současně s testováním neznámých vzorků měly provádět testy s pozitivními i negativními kontrolními vzorky. V případě podezřelých známek nestability činidla se obraťte na zákaznický servis Cell Marque.

Sběr vzorků a příprava pro analýzu

Pro použití této primární protilátky s detekčními soupravami Cell Marque (viz Potřebné materiály a činidla, která se nedodávají) jsou vhodné tkáně zpracované běžným způsobem, fixované v neutrálním pufovaném formalinu a zalité v parafínu. Poznámka: Společnost Cell Marque hodnotí výsledky pouze na lidských tkáních. Doporučené vhodné fixativum je 10% neutrální pufovaný formalin. V důsledku delší fixace nebo speciálních procesů, jako např. dekalifikace preparátů kostní dřevě, mohou být získány variabilní výsledky.

Každý řez je třeba nařezat na správnou tloušťku (asi 3 μm) a umístit na pozitivně nabitě podložní sklíčko. Sklíčka obsahující řezy tkání je třeba sušit po dobu nejméně 2 hodin (avšak ne déle než 24 hodin) při teplotě 58 až 60 °C \pm 5 °C.

UPOZORNĚNÍ A BEZPEČNOSTNÍ PŘEDPISY

- Při zacházení s činidly buďte opatrní. Používejte jednorázové rukavice a laboratorní pláště při manipulaci s podezřelými karcinogenními nebo jedovatými materiály (například: xylen).
- Vyvarujte se kontaktu činidel s očima nebo sliznicemi. Jestliže se činidla dostanou do kontaktu s citlivými oblastmi, omyjte je vydatným množstvím vody.
- Se vzorky pacientů a všemi materiály, které s nimi přišly do styku, je třeba zacházet jako s biologicky nebezpečnými materiály a zneškodňovat je podle správných opatření. Nikdy nepipetujte ústy.
- Vyvarujte se mikrobiologické kontaminaci činidel, protože by to mohlo způsobit nesprávné výsledky.
- Uživatel musí validovat inkubační doby a teploty.
- Předředěná činidla připravená k použití jsou optimálně zředěna a další ředění může vést ke ztrátě barvení antigenu.
- Koncentrovaná činidla mohou být optimálně zředěna po ověření uživatelem. Jakékoli použité ředící činidlo, které není výslovně doporučeno v tomto dokumentu, musí být uživatelem validováno, aby se ověřila jeho kompatibilita a vliv na stabilitu.
- Při použití v souladu s pokyny není tento přípravek klasifikován jako nebezpečná látka. Konzervační látkou v činidle je azid sodný s koncentrací nižší než 0,1 %, který při uvedené koncentraci nenaplnuje kritéria OSHA (USA) pro nebezpečnou látku. Viz bezpečnostní list.
- Uživatel musí ověřit jakékoli skladovací podmínky, které jsou jiné, než je uvedeno v příbalovém letáku.
- Ředící roztok může obsahovat bovinní sérový albumin a supernatant může obsahovat bovinní sérum. Přípravky obsahující fetální bovinní sérum a přípravky obsahující bovinní sérový albumin jsou kupovány od komerčních dodavatelů. Certifikáty původu pro zvířecí zdroje použité v těchto přípravcích jsou uloženy ve společnosti Cell Marque. Tyto certifikáty dokládají, že zdroj bovinních přípravků je ze země se zanedbatelným rizikem BSE a uvádějí zdroje bovinních přípravků z USA a Kanady.
- Stejně jako v případě jiných produktů odvozených z biologických zdrojů je třeba používat správné postupy zacházení.

NÁVOD K POUŽITÍ

Jednotlivé kroky postupu

Doporučené barvicí protokoly pro uvedenou primární protilátku (série 383A):

Systém HiDef Detection™:

- Odstraňte parafín, rehydratujte a získajte epitop; preferovanou metodou je tepelně indukované získání epitopu (HIER) při použití společně s Cell Marque's Trilogy™ ve spojení s tlakovým hrcem. Tato preferovaná metoda umožňuje současné odstranění parafínu, rehydrataci a získání epitopu. Po dokončení opláchněte 5krát destilovanou nebo deionizovanou vodou.
- Při použití detekčního systému HRP umístěte sklíčka do peroxidového bloku na 10 minut; opláchněte. Používáte-li detekční systém AP, tento krok vynechte.
- Aplikujte protilátku a inkubujte 10–30 minut; opláchněte.
- Naneste zesilovací činidlo králičí/myší HiDef Detection™ na 10–30 minut; opláchněte.
- Naneste polymerový detektor a inkubujte 10 minut; opláchněte.
- Naneste velké množství chromogenu a inkubujte 1–10 minut; opláchněte.

POSTUPY KONTROLY KVALITY

Pozitivní kontrolní vzorek tkáně

Při každém provedeném barvicím postupu je třeba použít i pozitivní kontrolní vzorek tkáně. Tkáň může obsahovat pozitivně i negativně zbarvené buňky nebo části tkáně a slouží jako pozitivní i negativní kontrolní vzorek tkáně. Kontrolní vzorky by měly být čerstvé vzorky z pitvy, biopsie nebo operace připravené nebo fixované co nejdříve a zalité stejným způsobem jako testované řezy. Použití tkáňového řezu fixovaného nebo zpracovaného jiným způsobem než testovaný vzorek zajistí kontrolu pro všechna činidla a kroky metody kromě fixace a zpracování tkáně.

Tkáň se slabým pozitivním zbarvením je pro optimální kontrolu kvality a pro detekci i malé degradace činidla vhodnější. Pozitivní tkáňová kontrola pro uvedenou primární protilátku (série 383A) může zahrnovat následující:

Melanom	Jaderná
Schwannom	Jaderná
Melanocyty v kůži	Jaderná

Znamé pozitivní kontrolní vzorky tkání by měly být používány pouze ke sledování správné funkce zpracovaných tkání a testových činidel, nikoliv jako pomůcka k formulaci specifické diagnózy vzorků pacientů. Pokud se u pozitivních kontrolních vzorků tkání neprojeví odpovídající

pozitivní zbarvení, je nutno považovat výsledky testovacích vzorků za neplatné.

Negativní kontrolní vzorek tkáně

Jako negativní kontrolní vzorek tkáně lze použít stejnou tkáň, která se používá jako pozitivní kontrolní vzorek. Rozmanitost různých typů buněk, které se nacházejí ve většině řezů tkání, nabízí oblasti pro negativní kontrolní vzorky, ale to by měl ověřit uživatel. Části, které se nebarví, by měly prokázat nepřítomnost specifického zbarvení a zajistit indikaci nespecifického zbarvení pozadí. Pokud se projeví specifické zbarvení v částech negativního kontrolního vzorku tkáně, je nutno považovat výsledky vzorků pacienta za neplatné.

Nevysvětlené rozdíly

Nevysvětlitelné rozdíly u kontrolních vzorků by měly být ihned ohlášeny zákaznickému servisu společnosti Cell Marque. Pokud se výsledky kontrol neshodují se specifikacemi, výsledky pacienta jsou neplatné. Viz část Řešení problémů v tomto letáku. Zjistěte a napravte problém, a pak zopakujte celý postup se vzorky pacienta.

Negativní kontrolní činidlo

K usnadnění interpretace výsledků je třeba provést pro každý vzorek cyklus s negativní kontrolní činidlem. Negativní kontrolní činidlo se používá místo primární protilátky, aby se dalo vyhodnotit nespecifické zbarvení. Krycí skličko by mělo být ošetřeno negativním kontrolním činidlem, které odpovídá druhu hostitele primární protilátky a ideálně má stejnou IgG koncentraci. Inkubační doba negativního kontrolního činidla by měla odpovídat inkubační době primární protilátky.

INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Proces imunobarvení způsobuje zbarvený reakční produkt, který se vysráží v oblastech antigenu lokalizovaných primární protilátkou. V příbalovém letáku k příslušnému detekčnímu systému naleznete očekávané reakční barvy. Před interpretací výsledků musí pozitivní a negativní kontrolní vzorky vyhodnotit kvalifikovaný patolog se zkušeností s imunohistochemií.

Pozitivní kontrolní vzorek tkáně

Nejprve je nutné provést test zbarveného pozitivního kontrolního vzorku tkáně, a ověřit tak správnost funkce všech reagensů. Přítomnost správně zbarveného reakčního produktu uvnitř cílových buněk indikuje pozitivní reaktivitu. V příbalovém letáku k detekčnímu systému naleznete očekávané reakční barvy. V závislosti na délce inkubační doby a potenci použitého hematoxylinu způsobí kontrastní barvení bleděmodré až tmavomodré zbarvení buněčných jader. Přílišné nebo neúplné kontrastní zbarvení může ohrozit správnou interpretaci výsledků. Pokud se u pozitivních kontrolních tkání neprojeví příslušné pozitivní zbarvení, je nutno považovat výsledky testovaných vzorků za neplatné.

Negativní kontrolní vzorek tkáně

Negativní kontrolní vzorek tkáně je nutno testovat po pozitivním kontrolním vzorku, abychom ověřili specifitu značení cílového antigenu primární protilátkou. Nepřítomnost specifického zbarvení v negativním kontrolním vzorku potvrzuje nepřítomnost zkřížené

reakivity s buňkami nebo částmi buněk. Pokud se projeví specifické zbarvení v negativním kontrolním vzorku tkáně, je nutno považovat výsledky vzorků pacienta za neplatné. Pokud se vyskytuje nespecifické zbarvení, je většinou difúzní. Sporadické slabé zbarvení pojivové tkáně lze také pozorovat v řezech z tkání, které nejsou optimálně fixované. K interpretaci výsledků barvení používejte pouze intaktní buňky. Nekrotické nebo degenerované buňky vykazují nespecifické zbarvení.

Tkáň pacienta

Vzorky pacienta se vyšetřují jako poslední. Intenzitu pozitivního zbarvení je nutno posuzovat v kontextu jakéhokoli zbarvení pozadí negativního kontrolního činidla. Jako u každého imunohistochemického testu, negativní výsledek znamená, že antigen nebyl detekován, nikoli že antigen není v testovaných buňkách nebo tkáni přítomen. Při identifikaci falešných negativních reakcí může pomoci panel protilátek (viz část Souhrn očekávaných výsledků). Ke správné interpretaci každého imunohistochemického výsledku by měla být testována rovněž morfologie každého vzorku tkáně s využitím řezů barvených hematoxylinem a eozinem. Morfologické nálezy pacientů a klinické údaje týkající se pacientů musí interpretovat kvalifikovaný patolog.

OMEZENÍ

1. Toto činidlo je určeno pouze pro „odborné použití“, protože imunohistochemie je několikakrokový proces, který vyžaduje speciální školení při výběru vhodných činidel, tkání, fixace a zpracování, přípravě imunohistochemického sklička a interpretaci výsledků barvení.
2. Pouze pro laboratorní užití.
3. Pro diagnostiku *in vitro*.
4. Barvení tkáně závisí na zacházení a zpracování tkáně před barvením. Nesprávná fixace, zmrazení, rozmrazení, umývání, sušení, zahřívání, řezání nebo kontaminace jinými tkáněmi nebo tekutinami může vést ke vzniku artefaktů, zachycení protilátky nebo falešné negativním výsledkům. Následkem odchylek při fixaci a metodách zalévání, ale i následkem stávajících nerovnoměrností ve tkáni může docházet k inkonzistentním výsledkům.
5. Přílišné nebo neúplné kontrastní zbarvení může ohrozit správnou interpretaci výsledků.
6. Klinická interpretace jakéhokoli pozitivního zbarvení nebo jeho nepřítomnosti musí být posouzena v kontextu klinické anamnézy, morfologie, dalších histopatologických kritérií a rovněž dalších diagnostických testů. Tato protilátka je určena k použití v panelu protilátek. Je odpovědností kvalifikovaného patologa, aby se seznámil s protilátkami, činidly a metodami používanými k barvení preparátů. Barvení se musí provádět v certifikované laboratoři s příslušným oprávněním a pod dohledem patologa zodpovědného za hodnocení barvených podložních skel a zaručení adekvátnosti pozitivních a negativních kontrolních vzorků.
7. Společnost Cell Marque poskytuje protilátky a činidla v optimálním ředění pro použití podle pokynů. Jakákoli odchylka od doporučených testovacích postupů může způsobit neočekávané výsledky. Je nutno používat a zdokumentovat příslušné kontrolní

vzorky. Uživatelé musejí za všech okolností přijmout zodpovědnost za interpretaci výsledků pacienta.

8. Společnost Cell Marque poskytuje primární protilátky v koncentrované formě, takže je může uživatel následně optimálně zředit pro použití podle určení uživatele a při dodržení vhodných technik validace. Uživatelé musí provést validaci při použití jakýchkoli ředících roztoků jiných, než zde uvedených. Když je primární činidlo validováno jako vhodné, může jakákoli odchylka od doporučených testovacích postupů způsobit neočekávané výsledky. Je nutno používat a zdokumentovat příslušné kontrolní vzorky. Uživatelé musejí za všech okolností přijmout zodpovědnost za interpretaci výsledků pacienta.
9. Tento přípravek není určen pro průtokovou cytometrii.
10. Činidla mohou prokázat neočekávané reakce na dříve netestovaných tkání. V důsledku biologické variability exprese antigenu v novotvarech nebo jiných patologických tkáních nelze zcela vyloučit možnost neočekávaných reakcí i v testovaných skupinách tkání. S podezřelými zdokumentovanými neočekávanými reakcemi se obraťte na zákaznický servis společnosti Cell Marque.
11. Tkáně od osob infikovaných virem hepatitidy B a obsahující povrchový antigen hepatitidy B (HBsAg) mohou vykazovat nespecifické barvení křenové peroxidázy.
12. Při použití v krocích blokování mohou normální séra ze stejného zvířecího zdroje jako sekundární protilátky způsobit falešně negativní nebo falešně pozitivní výsledky vzhledem k účinku autoimunitních protilátek nebo přirozených protilátek.
13. Je možné pozorovat falešně pozitivní výsledky v důsledku neimunologické vazby bílkovin nebo reakčních produktů substrátu. Mohou být také způsobeny aktivitou pseudoperoxidázy (erythrocyty) a endogenní peroxidázy (cytochrome C) nebo endogenním biotinem (příklad: játra, mozek, prs, ledvina), v závislosti na použitém typu imunobarvení.
14. Stejně jako u každého imunohistochemického testu, znamená negativní výsledek, že antigen nebyl zjištěn, nikoli, že antigen není přítomný ve vyšetřovaných buňkách nebo tkáni.

Specifická omezení

1. Předředěné přípravy s protilátkami jsou optimalizované jako připravené k použití. Vzhledem k možnosti různých způsobů fixace a zpracování tkání může být potřeba pro jednotlivé vzorky prodloužit nebo zkrátit inkubační dobu primární protilátky.
2. Protilátky, v kombinaci s detekčními systémy a příslušenstvím, detekují antigeny, které překážejí běžnou fixací formalinem, zpracování a rozřezání tkáně. Uživatelé, kteří nedodržejí doporučené postupy, musejí za těchto okolností přijmout zodpovědnost za interpretaci výsledků pacienta.

Souhrn očekávaných výsledků

Viz následující tabulky reaktivit:

Běžná studie			
Tkáň	Počet barvených	Celkem	Poznámky
Mozek	0	1	Pochva nervu +

Běžná studie			
Kůra nadledvin	0	1	
Vaječník	0	1	
Slinivka	0	1	
Příštitná tělíska	0	1	
Hypofýza	0	1	
Varle	0	1	
Štítná žláza	0	1	
Prso	2	2	Myoepitelové +
Slezina	0	1	
Mandle	0	1	
Brzlík	0	1	
Kostní dřev	0	1	
Plíce	0	2	
Srdce	0	1	
Jícen	0	1	
Břícho	0	1	
Tenké střevo	0	1	
			Cytoplasmatické tečkovité barvení sliznice
Tlusté střevo	0	1	
Játra	0	1	
Slinná žláza	1	1	Myoepitelové +
Žlučník	0	1	
Ledviny	0	1	
Močový měchýř	0	1	
Prostata	0	2	
Děloha	0	1	
Vejcovod	0	1	
Močovod	0	1	
Čípek	0	1	
Kosterní sval	0	1	
Hladký sval	0	1	
Kůže	1	1	Myoepitel +, melanocyty +
Jizva po excizi kůže	0	3	Fibroblasty -, fibrocyty -
Periferní nerv	1	1	
Mesothelium	0	1	
Tuk	0	1	
Placenta	0	1	

Anti-SOX-10 zabarvuje melanocyty, buňky pochvy periferního nervu, myoepitelové buňky v potních žlázách, mléčných vývodech a slinných žlázách. Oproti tomu bazální buňky prostaty nejsou na tuto protilátku reaktivní.

Studie postižené tkáně			
Tkáň	Počet barvených	Celkem	Poznámky
Melanom	37	39	
Desmoplastický melanom	11	11	
Vřetenobuněčný melanom	3	3	
Neurofibrom	20	20	
Schwannom	8	8	
Zhoubný nádor z pochvy periferního nervu	3	4	
Nádor z granulárních buněk	5	5	
Dlaždicobuněčný karcinom kůže	0	8	
Bazální buněčný karcinom	0	5	
Kolorektální adenokarcinom	0	43	Cytoplasmatické tečkovité barvení v 7 případech
Invasivní ductální karcinom prsu	0	47	
Gastrointestinální stromální tumor	0	6	
Adenokarcinom plic	0	5	
Karcinom plic ze skvamózních buněk	0	4	
Mezoteliom	0	5	
Světlobuněčný renální karcinom	0	6	
Translační renální karcinom	0	5	
Duktální adenokarcinom pankreatu	0	5	
Adenokarcinom prostaty	0	1	
Hepatocelulární karcinom	0	3	
Adenokarcinom žaludku	0	3	
Lymfom periferních T buněk	0	5	
Papilární karcinom štítné žlázy	0	3	
Solitární fibrózní tumor	0	2	

Studie postižené tkáně			
Adenokarcinom jicnu	0	1	
Dlaždicobuněčný karcinom jicnu	0	3	
Anaplastický velkobuněčný lymfom	0	1	
Alveolární sarkom měkkých částí	0	1	
Burkittův lymfom	0	1	
Klasický Hodgkinův lymfom	0	2	
Leukémie vlasových buněk	0	1	
Lymfoblastická leukémie/lymfom	0	2	
Primární mediastinální lymfom velkých B-buněk	0	1	
Lymfocytická leukémie z malých buněk	0	1	
Leiomyosarkomy	0	2	
Rhabdomyosarkom	0	2	
Adenoma sebaceum	0	1	
Fibrosarkom	0	1	
Ewingův sarkom	0	1	
Vřetenobuněčný lipom	0	1	
Karcinom z Merkelových buněk	0	7	
Malobuněčný karcinom plic	0	2	
Neuroendokrinní nádor slinivky	0	1	
Medulární karcinom štítné žlázy	0	3	
Seminom	0	4	
Serózní nádor vaječníků	0	5	
Karcinom endometria	0	5	

Interní studie ukazují, že marker anti-SOX-10 je imunoreaktivní u 37 z 39 (95 %) konvenčních melanomů, 11 z 11 (100 %) desmoplastických melanomů, 3 ze 3 (100 %) vřetenobuněčných melanomů, 20 ze 20 (100 %) neurofibromů a 8 z 8 schwannomů (100 %). Karcinomy různých orgánů, novotvary z měkkých tkání, lymfomy a nádory ze zárodečných buněk jsou s touto protilátkou nereaktivní.

ŘEŠENÍ PROBLÉMŮ

1. Pokud pozitivní kontrola ukáže slabší zbarvení, než očekávané, je třeba během stejného cyklu barvení zkontrolovat další pozitivní kontrolní vzorky, aby se dalo stanovit, zda je to způsobeno primární protilátkou nebo některým z běžných sekundárních antigenů.
2. Jestliže je pozitivní kontrola negativní, je třeba zkontrolovat další pozitivní kontrolní vzorky použité ve stejném cyklu, aby se dalo stanovit, zda základní příčina souvisí s primární protilátkou nebo některým z běžných sekundárních antigenů. Sběr, fixace nebo odstraňování parafinů z tkání mohlo být provedeno nesprávným způsobem. Sběr tkáně, její fixace a skladování musí probíhat ve správném postupu.
3. Dojde-li k nadměrnému zbarvení pozadí, mohou být přítomné vysoké hladiny endogenního biotinu. Měl by být zahrnut i krok blokování biotinu, pokud není používán detekční systém bez biotinu; v takovém případě by přítomný biotin nepřispíval k zbarvení pozadí.
4. Pokud není veškerý parafin odstraněn, je třeba proces odstranění parafinu opakovat.
5. Pokud se tkáňový řez spláchne ze sklíčka, je třeba sklíčka zkontrolovat zda jsou kladně nabitá. Mezi další možnosti, které by mohly nepříznivě ovlivňovat adhezi tkáně, patří nedostatečné vysušení tkáňového řezu na krycím sklíčku před barvením nebo fixace ve formalínu, který nebyl vhodně neutrálně pufrovaný. Tloušťka tkáně může být rovněž přispívající faktor.

Nápravná opatření naleznete v části Jednotlivé kroky postupu, nebo se obraťte na zákaznický servis společnosti Cell Marque.

LITERATURA

1. Kelsch RN. Sorting out SOX10 functions in neural crest development. *BioEssays* 2006; 28: 788.
2. Nonaka D, et al. SOX10: a pan-schwannian and melanocytic marker. *Am J Surg Pathol* 2008; 32: 1291-1298.
3. Chorny JA. S100-positive spindle cells in scars: a diagnostic pitfall in the re-excision of desmoplastic melanoma. *Am J Dermatopathol* 2002; 24: 309.
4. Robson A, et al. S100 expression in cutaneous scars: a potential diagnostic pitfall in the diagnosis of desmoplastic melanoma. *Histopathology* 2001; 38: 135.
5. Longacre T, et al. Desmoplastic and spindle cell malignant melanoma: an immunohistochemical study. *Am J Surg Pathol* 1996; 20: 1489.
6. Ramos-Herberth FI, et al. SOX10 immunostaining distinguishes desmoplastic melanoma from excision scar. *J Cutan Pathol* 2010; 37: 944-952.

ODMÍTNUTÍ ODPOVĚDNOSTI www.cellmarque.com EMERGO EUROPE
Molenstraat 15, 2513 BH, The Hague, NL.

CM Template #1.3 v.1



From Passion to Product to Patient*

Company

Products

Support

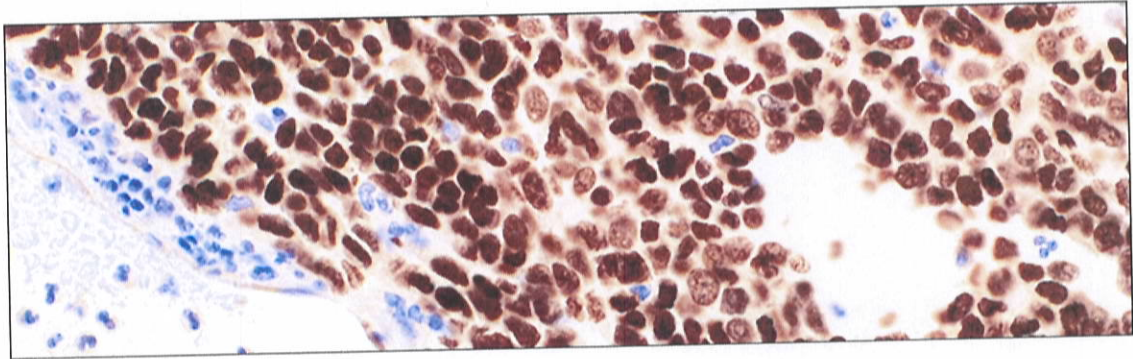
Events

Contact

Distr

Products

Antibodies



SOX-10 rabbit polyclonal

Sry-related HMG-BOX gene 10 (SOX-10) is a nuclear transcription factor that participates in neural crest development and in the specification and differentiation of cells of melanocytic lineage.¹ It has been recently shown to be a sensitive marker of melanoma, including conventional, spindled, and desmoplastic subtypes.² Anti-SOX-10 antibody was applied to a variety of neural crest-derived tumors, mesenchymal and epithelial neoplasms, and normal tissues. SOX-10 nuclear expression was found in 76 of 78 melanomas (97%) and 38 of 77 malignant peripheral nerve sheath tumors (49%), whereas S100 protein was expressed in 71 melanomas (91%) and 23 malignant peripheral nerve sheath tumors (30%).²

SOX-10 was expressed by metastatic melanomas and nodal capsular nevus in sentinel lymph nodes, but not by other lymph node components such as dendritic cells which usually express S100 protein. In scar specimens, immature fibroblasts, epithelioid granulomas, and histiocytic proliferations can histopathologically mimic residual melanoma and even be positive for MiTF and S100.^{3,4} However, SOX-10 is less likely to be expressed by fibroblasts or histiocytes, especially compared to MiTF and S100. Anti-SOX-10 produces a nuclear stain that provides a clean signal that is much sharper and darker in staining quality when compared to the use of antibodies against MiTF and S100.⁵ The nuclear signal provided by both anti-SOX-10 and anti-MiTF was easier to interpret than cytoplasmic stains, such as anti-S100 (nuclear and cytoplasmic), anti-HMB-45, and anti-Melan-A (both cytoplasmic), especially in the intraepidermal component where these cytoplasmic markers can non-specifically adhere to melanin. Therefore, anti-SOX-10 has been shown to be superior to all other immunostains in detecting residual invasive and in situ melanoma.¹⁻⁵ Anti-SOX-10 is also a useful marker in detecting both the in situ and invasive components of desmoplastic melanoma. It is known that the commonly used melanoma markers, anti-HMB-45 and anti-Melan-A, are poorly expressed in desmoplastic melanomas⁵ while it has been reported that anti-SOX-10 was moderately to strongly expressed in all 28 desmoplastic melanomas tested.² As an intraepidermal component that is frequently present in greater than 50% of desmoplastic melanomas, the presence of SOX-10 may prove its usefulness over MiTF in the evaluation of melanoma in situ, as it is much more likely to be expressed by a subtle, underlying desmoplastic melanoma than MiTF. SOX-10 is strongly expressed by melanoma cells and is not or very weakly expressed by the spindle fibroblasts in scar.⁶ These findings underscore the utility of anti-SOX-10 in the differential diagnosis of residual desmoplastic melanoma versus scar and show the clinical value of anti-SOX-10 in the evaluation of melanoma re-excision specimens.

SOX-10 is diffusely expressed in schwannomas and neurofibromas. SOX-10 presence was not identified in any other mesenchymal and epithelial tumors except for myoepitheliomas and diffuse astrocytomas.² SOX-10 expression is seen in sustentacular cells of pheochromocytomas and paragangliomas, and occasionally carcinoid