

**Monoclonal Mouse
Anti-Human
B-Cell-Specific Activator Protein
Clone DAK-Pax5**

Kód M7307

Použití	<p>K diagnostice in vitro.</p> <p>Protilátka Monoclonal Mouse Anti-Human B-Cell-Specific Activator Protein, Clone DAK-Pax5 je určena pro použití v imunohistochemii. Protilátky na aktivátorový protein specifický pro B buňky (BSAP) mohou být užitečné při identifikaci pro-, pre- a zralých B buněk a v klasifikaci lymfomů (1–4). Společně s panelem protilátek je zejména užitečná v diferencní identifikaci klasického Hodgkinova lymfomu oproti anaplastickému velkobuněčnému lymfomu T buněčného typu a typu nulových buněk (1, 3). Klinickou interpretaci jakéhokoli zbarvení nebo jeho nepřítomnosti se musí doplnit morfologickými studiemi s využitím správných kontrol a je nutno ji vyhodnocovat v kontextu klinické anamnézy pacienta a jiných diagnostických vyšetření provedených kvalifikovaným patologem.</p>
Synonyma antigenu	BSAP, Pax5, NF-HB, S α -BP, NFS μ -B1, LR1 a EBB-1 (2, 4).
Souhrn a vysvětlení	<p>BSAP, také nazývaný paired box protein 5 (Pax5), je transkripční faktor exprimovaný v B buňkách. BSAP je členem genové rodiny PAX, kódující transkripční faktor zapojený do vývoje B buněk. BSAP je exprimován v pro-, pre- a zralých B buňkách, avšak nikoli v buňkách plazmy (3, 4). Cílené narušení genu BSAP u myši blokuje vývoj B buněk v pro-B-buněčném stádiu, což naznačuje, že BSAP hraje roli při řízení vývoje B buněk (2). Během embryogeneze je BSAP exprese přechodně exprimovaná ve vývoji centrálního nervového systému. Později je BSAP exprese zjištěná ve fetálních játrech, kde koreluje s nástupem B lymfopoézy. Proto může BSAP hrát důležitou roli nejenom ve vývoji B buněk, ale také ve vývoji nervů (1, 3, 5).</p> <p>V imunohistochemii může být obtížné rozlišit klasický Hodgkinův lymfom (CHL) od anaplastického velkobuněčného lymfomu typu T a nulových buněk (1). V CHL exprimují Hodgkinovy a Reed-Sternbergovy buňky (HRS buňky) BSAP, přičemž buňky HRS většinou nezobrazují B-buněčné antigeny, například CD19 nebo CD20 (6). BSAP je užitečným markerem pro diagnózu B-buněčných ne-Hodgkinových lymfomů, Hodgkinových lymfomů a neuroendokrinních nádorů (1-4, 6-8), navzdory jeho expresi v subsetech epiteliálních malignit (7).</p> <p>V kapitolách <i>Obecné pokyny pro imunohistochemické barvení</i> společnosti Dako nebo v návodu k detekčnímu systému pro IHC metody naleznete tyto části: 1) Princip metody, 2) Potřebné materiály, které nejsou součástí dodávky, 3) Skladování, 4) Příprava vzorku, 5) Postup barvení, 6) Kontrola kvality, 7) Řešení problémů, 8) Interpretace zbarvení, 9) Obecná omezení.</p>
Dodávaná činidla	<p>Monoklonální myší protilátka se dodává v kapalné podobě jako supernatant buněčných kultur dialyzovaný proti 0,05 mol/L Tris/HCl, pH 7,2 s obsahem 0,015 mol/L azidu sodného.</p> <p><u>Klon:</u> DAK-Pax5. <u>Izotyp:</u> IgG1, kappa.</p> <p><u>Koncentrace myší IgG v mg/L:</u> Viz štítek na lahvičce.</p> <p>Proteinová koncentrace mezi šaržemi se může lišit bez ohledu na optimální ředění. Titer každé konkrétní šarže je upraven, aby byla zajištěna srovnatelná účinnost imunohistologického zbarvení v rámci jednotlivých šarží s referenční šarží.</p>
Imunogen	Syntetický 17-meric peptid z C-terminální inhibiční domény proteinu.
Specifita	V testech Western blotting s buněčnými lyzáty sleziny myši označila protilátka protein o velikosti 55 kDa odpovídající BSAP.
Bezpečnostní opatření	<ol style="list-style-type: none">1. Určeno pro profesionální uživatele.2. Tento výrobek obsahuje azid sodný (NaN₃), který je v čisté formě vysoce toxický. Přestože se koncentrace azidu sodného ve výrobku neklasifikuje jako nebezpečná, 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.3. Jako u každého výrobku biologického původu je nutno dodržovat řádná bezpečnostní opatření.4. Používejte odpovídající osobní ochranné prostředky, aby nedošlo k zasažení očí nebo pokožky.5. Nespotřebované roztoky je nutno likvidovat v souladu s místními a celostátními předpisy.
Skladování	Skladujte při 2–8 °C. Nepoužívejte po datu expirace vytištěném na lahvičce. Pokud se činidla skladují za jakýchkoli jiných než uvedených podmínek, musí uživatel tyto podmínky ověřit. Neexistují žádné známky toho, že by tyto produkty byly nestabilní. Proto je nutno provádět pozitivní a negativní kontroly současně s pacientovými vzorky. 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.

Příprava vzorku včetně potřebných materiálů, které nejsou součástí dodávky

Parafinové řezy:

Protílátku lze používat ke značení řezů tkání zalitých v parafínu a fixovaných ve formalínu.

Je vyžadováno předběžné zpracování deparafinovaných tkáňových řezů tepelně indukovaným vyhledáváním epitopu (HIER). Optimálních výsledků bylo dosaženo předběžným zpracováním tkání HIER pomocí Dako EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, Low pH (kódy K8005/K8015) nebo Dako Target Retrieval Solution (kódy S1700/S1699).

Doporučuje se provádět předběžné zpracování deparafinovaných tkáňových řezů, fixovaných ve formalínu pomocí Dako PT Link (kódy PT100/PT101). Podrobné informace naleznete v uživatelské příručce k přístroji PT Link User Guide. Pro PT Link je třeba použít následující parametry: Teplota předehřívání: 65 °C; teplota a čas vyhledávání epitopu: 97 °C po dobu 20 (±1) minut; ochladit na 65 °C. Vyjmout stojany se sklíčky z nádrže PT Link a ihned ponořit sklíčka do nádoby/nádrže (např. PT Link Rinse Station, kód PT109) obsahující naředěný roztok EnVision™ FLEX Wash Buffer (10X) (kódy K8002/8012) pokojové teploty. Sklíčka ponechat v pufru Wash Buffer po dobu 1 – 5 minut.

Řezy tkání by v průběhu tohoto zpracování nebo následného imunohistochemického barvení neměly uschnout. Z důvodu vyšší přilnavosti řezů tkání k podložním sklům se doporučuje používat silanizovaná podložní skla Dako Silanized Slides (kód S3003).

Zmrazené řezy a buněčné nátěry:

Protílátku lze používat ke značení zmrazených řezů fixovaných v acetonu a buněčných nátěrů.

Postup barvení včetně potřebných materiálů, které nejsou součástí dodávky

Ředění: Monoclonal Mouse Anti-Human B-Cell-Specific Activator Protein, Code M7307 lze ředit v ředicím poměru 1:15 – 1:30 při použití na řezech předběžně zpracovaných, fixovaných ve formalínu a zalitých v parafínu, při inkubování v délce 20 minut při pokojové teplotě. Doporučuje se ředit protílátku v roztoku EnVision™ FLEX Antibody Diluent (kódy K8006/K8016) nebo Dako Antibody Diluent (kód S0809) nebo Dako Real™ Antibody Diluent (kód S2022). Toto jsou pouze obecné pokyny. Optimální podmínky se mohou lišit v závislosti na vzorku a způsobu přípravy a měly by být v každé laboratoři stanovovány samostatně. Doporučené činidlo pro negativní kontrolu je Dako Negative Control, Mouse IgG1 (kód X0931), zředěné na stejnou koncentraci myši IgG1 jako primární protílátka. Pokud nebyla stanovena stabilita naředěné protílátky a negativní kontroly v stávajícím postupu barvení, doporučuje se naředit tato činidla bezprostředně před použitím. Pozitivní a negativní kontroly je třeba provádět současně s pacientovými vzorky.

Pozitivní a negativní kontroly je nutno provádět vždy současně použitím stejného protokolu jako vzorky pacienta. Tkáň pro pozitivní kontrolu musí obsahovat mandle a buňky/struktury musí ve všech pozitivních vzorcích zobrazovat vzor reakce, jak je stanoveno pro tuto tkáň v části „Charakteristiky účinnosti“.

Vizualizace: Doporučuje se vizualizační systém EnVision™ FLEX+, Mouse, High pH, (kódy K8002/K8012), nahrazující High pH Target Retrieval Solution z tohoto kitu roztokem EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, Low pH (10x), (kódy K8005/K8015) pomocí 20minutové inkubace při pokojové teplotě. Dodržte postup přiložený ke zvolenému vizualizačnímu systému.

Automatizace: Protílátka je vhodná pro imunohistochemické barvení pomocí automatických platform, například na barvicích automatech Dako Autostainer, Autostainer Plus a Autostainer Link.

Interpretace zbarvení

Buňky značené protílátkou zobrazují nukleární zbarvení.

Charakteristiky účinnosti








Normální tkáň: Normální lymfoidní tkáň (lymfatická uzlina, slezina a mandle) vykazují silní nukleární zbarvení na BSAP ve folikulárních centrech B buněk a plášťové zóně B buněk, avšak T-zóna lymfocytů, plazmatické buňky, endoteliální buňky a makrofágy jsou negativní. Slabé zbarvení bylo pozorováno v lamina propria tračnicku. Zbarvení pozadí je pozorováno v Bowmanově váčku ledviny.

Abnormální tkáň: Protílátka značila 97/158 klasických Hodgkinových lymfomů, 127/127 difúzních lymfomů z velkých B buněk, 41/41 folikulárních lymfomů, 66/66 lymfomů z plášťové zóny, 11/11 lymfomů z okrajové zóny, 5/5 atypických Burkittových lymfomů, 30/30 Burkittových lymfomů, 76/76 chronických lymfocytických leukémií/malobuněčných lymfocytických lymfomů, 22/22 mediastinálních lymfomů z velkých B buněk, 6/6 prekursorových B-lymfoblastických leukémií/ lymfomů, 6/6 lymfomů z velkých B buněk bohatých na T buňky, 6/6 leukémií z vlasatých buněk, 4/16 neuroendokrinních karcinomů, 12/12 nodálních lymfomů marginální zóny, 6/6 nodulárních lymfocytických predominantních Hodgkinových lymfomů, 23/30 lymfoproliferativních onemocnění po transplantaci a 1/18 případů anaplastických lymfomů z velkých buněk, 1/26 rakoviny ledvin, 1/16 rakoviny močového měchýře, 7/21 rakoviny prostaty, 1/14 rakoviny žaludku, 4/81 rakoviny tračnicku, 3/19 rakoviny děložního hrdla, 3/18 rakoviny dělohy a 4/13 rakoviny vaječníku. Značení nebylo prokázáno v 6 akutních myeloidních leukémiích, 45 angioimunoblastických lymfomech z T buněk, 27 aplastických lymfomech z velkých buněk ALK+, 6 chronických myelogenických leukémiích, 1 extranodálním lymfomu z NK/T buněk, nazálního typu, 1 hepatosplenický T-buněčný lymfom, 5 mycosis fungoides, 157 nespecifikovaných lymfomů z periferních T buněk (PTCL/U), 6 myelomů z plazmatických buněk, 1 PTCL/U po transplantaci, 6 prekursorových T-lymfoblastických leukémií/lymfomů, 1 subkutánní T-buněčný lymfom podobný panniculitidě, 22 rakovin slinivky břišní, 27 rakovin jater, 46 sarkomů, 13 melanomů, 10 thymomů, 10 meduloblastomů, 10 astrocytomů I/II, 10 glyoblastomů, 100 rakovin plic a 21 rakovin varlat.

Reference

1. Browne P, Petrosyan K, Hernandez A, Chan JA. The B-cell transcription factors BSAP, Oct-2, and BOB.1 and the pan-B-cell markers CD20, CD22 and CD79a are useful in the differential diagnosis of classic Hodgkin lymphoma. *Am J Clin Pathol* 2003;120:767-77.
2. Krenacs L, Himmelmann AW, Quintanilla-Martinez L, Fest T, Riva A, Wellmann A, et al. Transcription factor B-cell-specific activator protein (BSAP) is differentially expressed in B cells and in subsets of B-cell lymphomas. *Blood* 1998;92:1308-16.
3. Torlakovic E, Torlakovic G, Nguyen PL, Brunning RD, Delabie J. The value of anti-pax-5 immunostaining in routinely fixed and paraffin-embedded sections: a novel pan pre-B and B-cell marker. *Am J Surg Pathol* 2002;26:1343-50.
4. Zhang X, Lin Z, Kim I. Pax5 expression in non-Hodgkin's lymphomas and acute leukemias. *J Korean Med Sci* 2003;18:804-8.
5. Nutt SL, Thévenin C, Busslinger M. Essential functions of Pax-5 (BSAP) in pro-B cell development [review]. *Immunobiology* 1997;198:227-35.
6. Foss HD, Reusch R, Demel G, Lenz G, Anagnostopoulos I, Hummel M, Stein H. Frequent expression of the B-cell-specific activator protein in Reed-Sternberg cells of classical Hodgkin's disease provides further evidence for its B-cell origin. *Blood* 1999;94:3108-13.
7. Mhaweck-Fauceglia P, Saxena R, Zhnag S, Terracciano L, Sauter G, Chadhuri A, Herrmann FR, Penetrante R. Pax-5 immunoexpression in various types of benign and malignant tumours: a high-throughput tissue microarray analysis. *J Clin Pathol* 2007;60:709-14.
8. Feldman AL, Dogan A. Diagnostic uses of Pax5 immunohistochemistry [review]. *Adv Anat Pathol* 2007;14:323-34.

Vysvětlivky k symbolům

 REF	Katalogové číslo	 2°C - 8°C	Teplotní rozmezí		Výrobce
 IVD	In vitro diagnostický zdravotnický prostředek	 LOT	Číslo šarže		
	Seznamte se s návodem k použití		Použitelné do		