

BOND Ready-to-Use Primary Antibody CTLA-4 (CAL49), 7mL

Catalog No: PA0181

Leica Biosystems Newcastle Ltd
Balliol Business Park West
Benton Lane
Newcastle Upon Tyne NE12 8EW
United Kingdom
☎ +44 191 215 4242



[EN](#) [FR](#) [IT](#) [DE](#) [ES](#) [PT](#) [SV](#) [EL](#) [DA](#) [NL](#)
[NO](#) [TR](#) [BG](#) [HU](#) [RO](#) [RU](#) [PL](#) [SL](#) [CS](#) [SK](#)

Instructions for Use

Please read before using this product.

Mode d'emploi

À lire avant d'utiliser ce produit.

Istruzioni per l'uso

Si prega di leggere, prima di usare il prodotto.

Gebrauchsanweisung

Bitte vor der Verwendung dieses Produkts lesen.

Instrucciones de uso

Por favor, leer antes de utilizar este producto.

Instruções de Utilização

Leia estas instruções antes de utilizar este produto.

Instruktioner vid Användning

Var god läs innan ni använder produkten.

Οδηγίες Χρήσης

Παρακαλούμε διαβάστε τις οδηγίες πριν χρησιμοποιήσετε το προϊόν αυτό.

Brugsanvisning

Læs venligst før produktet tages i brug.

Gebruiksaanwijzing

Lezen vóór gebruik van dit product.

Bruksanvisning

Vennligst les denne før du bruker produktet.

Kullanım Talimatları

Lütfen bu ürünü kullanmadan önce okuyunuz.

Инструкции за употреба

Моля, прочетете преди употреба на този продукт.

Használati utasítás

A termék használatba vétele előtt olvassa el.

Instruçiuni de utilizare

Citiți aceste instrucțiuni înainte de a utiliza produsul.

Инструкция по применению

Прочтите перед применением этого продукта.

Instrukcja obsługi

Przed użyciem tego produktu należy przeczytać instrukcję.

Navodila za uporabo

Preberite pred uporabo tega izdelka.

Návod k použití

Čtěte před použitím tohoto výrobku.

Návod na použitie

Prosím, prečítajte si ho pred použitím produktov.

Check the integrity of the packaging before use.

Vérifier que le conditionnement est en bon état avant l'emploi.

Prima dell'uso, controllare l'integrità della confezione.

Vor dem Gebrauch die Verpackung auf Unversehrtheit überprüfen.

Comprobar la integridad del envase, antes de usarlo. Verifique a integridade da embalagem antes de utilizar o produto.

Kontrollera att paketet är obrutet innan användning. Ελέγξτε την ακεραιότητα της συσκευασίας πριν από τη χρήση.

Kontroller, at pakken er ubeskadiget før brug.

Controleer de verpakking vóór gebruik.

Sjekk at pakningen er intakt før bruk.

Kullanmadan önce ambalajın bozulmamış olmasını kontrol edin.

Проверете целостта на опаковката преди употреба.

Használat előtt ellenőrizze a csomagolás épségét.

Verificati integritatea ambalajului înainte de a utiliza produsul.

Перед применением убедитесь в целостности упаковки.

Przed użyciem należy sprawdzić, czy opakowanie jest szczelne.

Pred uporabo preverite celovitost embalaže.

Před použitím zkontrolujte neporušenost obalu.

Pre použitím skontrolujte, či balenie nie je porušené.

BOND Ready-to-Use Primary Antibody CTLA-4 (CAL49), 7mL

Catalog No: PA0181

Intended Use

This reagent is for *in vitro* diagnostic use.

CTLA-4 (CAL49) monoclonal antibody is intended to be used for the qualitative identification by light microscopy of CTLA-4 protein in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue by immunohistochemical staining using the automated BOND system (includes Leica BOND-MAX system and Leica BOND-III system).

The clinical interpretation of any staining or its absence should be complemented by morphological studies and proper controls and should be evaluated within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a qualified pathologist.

Summary and Explanation

Immunohistochemical techniques can be used to demonstrate the presence of antigens in tissue and cells (see "Using BOND Reagents" in your BOND user documentation). CTLA-4 (CAL49) primary antibody is a ready to use product that has been specifically optimized for use with BOND Polymer Refine Detection. The demonstration of human CTLA-4 protein is achieved by first allowing the binding of CTLA-4 (CAL49) to the section, and then visualizing this binding using the reagents provided in the detection system. The use of these products, in combination with the automated BOND system (includes Leica BOND-MAX system and Leica BOND-III system), reduces the possibility of human error and inherent variability resulting from individual reagent dilution, manual pipetting and reagent application.

Reagents Provided

CTLA-4 (CAL49) is a rabbit anti-human monoclonal antibody produced as a tissue culture supernatant, and supplied in Tris buffered saline with carrier protein, containing 0.35 % ProClin™ 950 as a preservative.

Total volume = 7 mL.

Clone

CAL49

N.B. Clone CAL49 is manufactured by and sold under license from Abcam Plc.

Immunogen

Synthetic peptide corresponding to human CTLA-4 aa183-283.

Specificity

Human CTLA-4 protein.

Ig Class

IgG1

Total Protein Concentration

Approx 10 mg/mL

Antibody Concentration

Greater than or equal to 0.2 mg/L.

Dilution and Mixing

CTLA-4 (CAL49) primary antibody is optimally diluted for use on the BOND system (includes Leica BOND-MAX system and Leica BOND-III system). Reconstitution, mixing, dilution or titration of this reagent is not required.

Materials Required But Not Provided

Refer to "Using BOND Reagents" in your BOND user documentation for a complete list of materials required for specimen treatment and immunohistochemical staining using the BOND system (includes Leica BOND-MAX system and Leica BOND-III system).

Storage and Stability

Store at 2–8°C. Do not use after the expiration date indicated on the container label.

The signs indicating contamination and/or instability of CTLA-4 (CAL49) are: turbidity of the solution, odor development, and presence of precipitate. Return to 2–8°C immediately after use.

Storage conditions other than those specified above must be verified by the user¹.

Precautions

- This product is intended for *in vitro* diagnostic use.
- The concentration of ProClin™ 950 is 0.35 %. It contains the active ingredient 2-methylisothiazol-3(2H)-one, and may cause irritation to the skin, eyes, mucous membranes and upper respiratory tract. Wear disposable gloves when handling reagents.
- To obtain a copy of the Material Safety Data Sheet contact your local distributor or regional office of Leica Biosystems, or alternatively, visit the Leica Biosystems' Web site, www.LeicaBiosystems.com
- Specimens, before and after fixation, and all materials exposed to them, should be handled as if capable of transmitting infection and disposed of with proper precautions². Never pipette reagents by mouth and avoid contacting the skin and mucous membranes with reagents or specimens. If reagents or specimens come in contact with sensitive areas, wash with copious amounts of water. Seek medical advice.

- Consult Federal, State or local regulations for disposal of any potentially toxic components.
- Minimize microbial contamination of reagents or an increase in non-specific staining may occur.
- Retrieval, incubation times or temperatures other than those specified may give erroneous results. Any such change must be validated by the user.

Instructions for Use

CTLA-4 (CAL49) primary antibody was developed for use on the automated BOND system (includes Leica BOND-MAX system and Leica BOND-III system) in combination with BOND Polymer Refine Detection. The recommended staining protocol for CTLA-4 (CAL49) primary antibody is IHC Protocol F. Heat induced epitope retrieval is recommended using BOND Epitope Retrieval Solution 2 (AR9640) for 20 minutes.

Results Expected

Normal Tissues

Clone CAL49 detects the CTLA-4 protein in the cytoplasm/membrane of a proportion of immune cells. Staining was observed within immune cells in most tissue types, and particularly in lymph node, tonsil, spleen and thymus gland. Staining was observed in cells within the adrenal medulla, pancreatic acinar cells, alveolar macrophages, occasional cells in the white matter of the cerebellum and follicular epithelial cells of the thyroid. Weak staining was observed in proximal tubules of the kidney, liver hepatocytes and respiratory epithelium of the larynx. Staining of the urothelial basement membrane was noted in the bladder. (Total number of normal cases evaluated = 124).

Tumor Tissues

Clone CAL49 stained 1/11 breast tumors (including 1/7 invasive ductal carcinoma, 0/2 fibroadenomas, 0/1 mucinous breast cancer and 0/1 invasive lobular carcinoma), 1/5 thyroid tumors (including 1/1 follicular carcinoma, 0/3 follicular adenomas and 0/1 papillary thyroid carcinoma) and 1/4 hepatocellular carcinomas. No staining was detected in endometrial tumors (0/12) (including 0/10 adenocarcinomas, 0/1 clear cell carcinoma, and 0/1 atypical hyperplasia), bowel tumors (0/8) (including 0/6 adenocarcinomas and 0/2 adenomas), head and neck tumors (0/5) (including 0/1 adenocarcinoma, 0/1 nasopharyngeal carcinoma, 0/1 squamous cell carcinoma, 0/1 adenoid cystic carcinoma and 0/1 adenoma), metastatic tumors (0/5), brain tumors (0/4) (including 0/3 meningiomas and 0/1 astrocytoma), lung tumors (0/4) (including 0/2 squamous cell carcinomas, 0/1 adenocarcinoma and 0/1 small cell carcinoma), squamous cell carcinoma of the esophagus (0/3), adenocarcinomas of the stomach (0/3), lymphoma (0/3), ovarian tumors (0/3) (including 0/2 adenocarcinomas and 0/1 granulosa cell tumor), adrenal tumors (0/2) (including an adrenocortical carcinoma and an adenoma), transitional cell carcinomas of the bladder (0/2), bone tumours (0/2) (including 0/1 osteosarcoma and 0/1 chondrosarcoma), renal clear cell carcinomas (0/2), prostatic adenocarcinomas (0/2), seminomas (0/2), squamous cell carcinomas of the cervix (0/2), a melanoma (0/1), an adenocarcinoma of the pancreas (0/1), a squamous cell carcinoma of the skin (0/1) and a prostatic hyperplasia (0/1). (Total number of abnormal cases evaluated = 88)

CTLA-4 (CAL49) is recommended for the detection of CTLA-4 protein in normal and neoplastic tissues, as an adjunct to conventional histopathology using non-immunologic histochemical stains.

Product Specific Limitations

CTLA-4 (CAL49) has been optimized at Leica Biosystems for use with BOND Polymer Refine Detection and BOND ancillary reagents. Users who deviate from recommended test procedures must accept responsibility for interpretation of patient results under these circumstances. The protocol times may vary, due to variation in tissue fixation and the effectiveness of antigen enhancement, and must be determined empirically. Negative reagent controls should be used when optimizing retrieval conditions and protocol times.

Troubleshooting

Refer to reference 3 for remedial action.

Contact your local distributor or the regional office of Leica Biosystems to report unusual staining.

Further Information

Further information on immunostaining with BOND reagents, under the headings Principle of the Procedure, Materials Required, Specimen Preparation, Quality Control, Assay Verification, Interpretation of Staining, Key to Symbols on Labels, and General Limitations can be found in "Using BOND Reagents" in your BOND user documentation.

Bibliography

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Brown C, Sekhavati F, Cardenas R et al. CTLA-4 immunohistochemistry and quantitative image analysis for profiling of human cancers. Journal of Histochemistry and Cytochemistry. 2019; 67(6):901-918.
5. Buchbinder EI, Desai A. CTLA-4 and PD-1 Pathways. American Journal of Clinical Oncology. 2016; 39:98-106.
6. Chan DV, Gibson HM, Aufiero BM et al. Differential CTLA-4 expression in human CD4+ versus CD8+ T cells is associated with increased NFAT1 and inhibition of CD4+ proliferation. Genes & Immunity. 2015; 15:25 – 32.
7. McCoy K and Le Gros G. The role of CTLA-4 in the regulation of T cell immune responses. Immunology and Cell Biology. 1999; 77:1-10.
8. Castan J, Tenner-Racz K, Racz P et al. Accumulation of CTLA-4 expressing T lymphocytes in the germinal centres of human lymphoid tissues. Immunology. 1997; 90: 267-271.

Date of Issue

03 April 2020

Anticorps primaires prêts à l'emploi BOND

CTLA-4 (CAL49) 7 ml

Numéro de référence : PA0181

Utilisation conforme

Ce réactif est destiné à un usage de diagnostic *in vitro*.

L'anticorps monoclonal CTLA-4 (CAL49) destiné à l'identification qualitative par microscopie optique de la protéine CTLA-4 humaine dans les tissus fixés au formol et enrobés de paraffine par coloration immunohistochimique à l'aide du système automatisé BOND (dont les systèmes Leica BOND-MAX et Leica BOND-III).

L'interprétation clinique d'une coloration ou d'une absence de coloration doit être complétée par des études morphologiques et des contrôles adéquats et doit être évaluée dans le contexte de l'anamnèse clinique du patient et d'autres tests diagnostiques réalisés par un pathologiste qualifié.

Résumé et explication

Les techniques immunohistochimiques peuvent être utilisées pour la mise en évidence d'antigènes sur tissus ou cellules (voir « Utilisation des réactifs BOND » dans votre manuel d'utilisation BOND). L'anticorps primaire CTLA-4 (CAL49) est prêt à l'emploi et a été spécialement optimisé pour BOND Polymer Refine Detection. La démonstration de la protéine CTLA-4 humaine s'effectue d'abord par la liaison de CTLA-4 (CAL49) à la coupe, puis par la visualisation de cette liaison au moyen des réactifs fournis dans le système de détection. L'utilisation de ces produits avec le système automatisé BOND (dont les systèmes Leica BOND-MAX et Leica BOND-III) réduit la possibilité d'erreur humaine et la variabilité inhérente qui résulte de la dilution de réactifs individuels, du pipetage manuel et de l'application des réactifs.

Réactifs fournis

CTLA-4 (CAL49) est un anticorps monoclonal anti-humain de lapin, produit par surnageant de culture de tissu et conditionné dans du tampon salin Tris avec une protéine de transport contenant 0,35 % de ProClin™ 950 comme conservateur.

Volume total = 7 ml.

Clone

CAL49

N.B. Clone CAL49 est produit par et vendu sous licence par Abcam Plc.

Immunogène

Peptide synthétique correspondant à la protéine CTLA-4 aa183-283 humaine.

Spécificité

Protéine humaine CTLA-4.

Classe Ig

IgG1

Concentration totale en protéines

Env. 10 mg/ml

Concentration en anticorps

Supérieure ou égale à 0,2 mg/l.

Dilution et mélange

L'anticorps primaire CTLA-4 (CAL49) est dilué de manière optimale pour une utilisation sur le système BOND (dont les systèmes Leica BOND-MAX et Leica BOND-III). Il n'est pas nécessaire de reconstituer, mélanger, diluer ou titrer ce réactif auxiliaire.

Matériels nécessaires mais non fournis

Consultez la section relative à « l'utilisation des réactifs BOND » de votre documentation d'utilisateur BOND pour obtenir la liste complète des matériaux requis pour le traitement et la coloration immunohistochimique des échantillons à l'aide du système BOND (inclut les systèmes Leica BOND-MAX et Leica BOND-III).

Conservation et stabilité

Entreposer entre 2 et 8 °C. Ne pas utiliser au-delà de la date de péremption indiquée sur l'étiquette du flacon.

Les signes indiquant une contamination ou une instabilité de CTLA-4 (CAL49) sont les suivants : turbidité de la solution, développement d'une odeur et présence de précipité. Remettre immédiatement entre 2 °C et 8 °C après utilisation.

Les conditions de conservation autres que celles spécifiées ci-dessus doivent faire l'objet d'une vérification par l'utilisateur¹.

Précautions

- Ce produit est destiné à un usage de diagnostic *in vitro*.
- La concentration de ProClin™ 950 est de 0,35 %. Il contient l'ingrédient actif 2-méthylisothiazol-3(2H)-one et peut provoquer une irritation de la peau, des yeux, des membranes muqueuses et des voies respiratoires supérieures. Porter des gants jetables pour la manipulation des réactifs.
- Pour obtenir un exemplaire de la Fiche de données de sécurité, contactez votre distributeur local ou le bureau régional de Leica Biosystems. Vous pouvez également consulter le site Internet de Leica Biosystems, www.LeicaBiosystems.com

- Les échantillons, avant et après la fixation, ainsi que tous les matériaux exposés à ces échantillons, doivent être traités comme s'ils étaient susceptibles de transmettre une infection et éliminés avec les précautions qui s'imposent. Ne jamais pipeter les réactifs à la bouche et éviter le contact de la peau et des membranes muqueuses avec les réactifs ou les échantillons. Rincer avec de grandes quantités d'eau en cas de contact des réactifs ou des spécimens avec des zones sensibles. Demander conseil à un médecin.
- Consulter les réglementations nationales, régionales ou locales relatives à l'élimination des composants potentiellement toxiques.
- Minimiser la contamination microbienne des réactifs, faute de quoi un accroissement de la coloration non spécifique est susceptible de se produire.
- La récupération ou des durées ou températures d'incubation autres que celles précisées peuvent donner des résultats erronés. Toute modification de ces paramètres doit être validée par l'utilisateur.

Mode d'emploi

L'anticorps primaire CTLA-4 (CAL49) a été développé pour être utilisé sur le système automatisé BOND (dont les systèmes Leica BOND-MAX et Leica BOND-III) en combinaison avec le BOND Polymer Refine Detection. Le protocole de coloration recommandé pour l'anticorps primaire CTLA-4 (CAL49) est IHC Protocol F. La récupération d'épitopes induite par la chaleur est recommandée avec BOND Epitope retrieval Solution 2 (AR9640) durant 20 minutes.

Résultats attendus

Tissus normaux

Clone CAL49 détecte la protéine CTLA-4 dans le cytoplasme/la membrane d'une certaine proportion de cellules immunitaires. Une coloration de l'intérieur des cellules immunitaires a été observée dans la plupart des types de tissus, et en particulier dans les ganglions lymphatiques, les amygdales, la rate et la glande thymus. Une coloration a été observée dans les cellules de la médullaire surrénale, des cellules acinaires du pancréas, des macrophages alvéolaires, ainsi que quelques cellules dans la matière blanche du cervelet et les cellules épithéliales folliculaires de la thyroïde. Une coloration faible a été observée dans les tubes proximaux du rein, les hépatocytes du foie et l'épithélium respiratoire du larynx. Une coloration de la membrane basale de l'urothélium a été observée dans la vessie. (Nombre total de cas normaux évalués = 124).

Tissus tumoraux

Clone CAL49 a coloré 1/11 tumeurs du sein (dont 1/7 carcinome canalaire invasif, 0/2 fibroadénomes, 0/1 cancer mucineux du sein et 0/1 carcinome lobulaire invasif), 1/5 tumeurs de la thyroïde (dont 1/1 carcinome folliculaire, 0/3 adénomes folliculaires et 0/1 carcinome papillaire de la thyroïde) et 1/4 carcinomes hépatocellulaires. Aucune coloration n'a été observée dans les tumeurs de l'endomètre (0/12) (dont 0/10 adénocarcinomes, 0/1 carcinome à cellules claires et 0/1 hyperplasie atypique), tumeurs intestinales (0/8) (dont 0/6 adénocarcinomes et 0/2 adénomes), tumeurs de la tête et du cou (0/5) (dont 0/1 adénocarcinome, 0/1 carcinome nasopharyngé, 0/1 carcinome à cellules squameuses, 0/1 carcinome adénoïde cystique et 0/1 adénome), tumeurs métastatiques (0/5), tumeurs du cerveau (0/4) (dont 0/3 méningiomes et 0/1 astrocytome), tumeurs du poumon (0/4) (dont 0/2 carcinomes à cellules squameuses, 0/1 adénocarcinome et 0/1 carcinome à petites cellules), carcinome à cellules squameuses de l'œsophage (0/3), adénocarcinomes de l'estomac (0/3), lymphome (0/3), tumeurs des ovaires (0/3) (dont 0/2 adénocarcinomes et 0/1 tumeur des cellules de la granulosa), tumeurs des glandes surrénales (0/2) (dont un carcinome corticosurrénal et un adénome), carcinomes à cellules transitionnelles de la vessie (0/2), tumeurs des os (0/2) (dont 0/1 ostéosarcome et 0/1 chondrosarcome), carcinomes à cellules claires du rein (0/2), adénocarcinomes de la prostate (0/2), séminomes (0/2), carcinomes à cellules squameuses du col de l'utérus (0/2), un mélanome (0/1), un adénocarcinome du pancréas (0/1), un carcinome à cellules squameuses de la peau (0/1) et une hyperplasie de la prostate (0/1). (Nombre total de cas tumoraux évalués = 88).

Le CTLA-4 (CAL49) est recommandé pour la détection de la protéine CTLA-4 dans les tissus normaux et néoplasiques, en complément à l'histopathologie traditionnelle utilisant des marqueurs histochimiques non immunologiques.

Limites spécifiques au produit

CTLA-4 (CAL49) a été optimisé chez Leica Biosystems pour une utilisation avec BOND Polymer Refine Detection et les réactifs auxiliaires BOND. Les utilisateurs qui s'écartent des procédures de test recommandées doivent accepter la responsabilité de l'interprétation des résultats de patient dans ces circonstances. La durée du protocole peut varier en raison de différences dans la fixation de tissu et de l'efficacité de l'amplification de l'antigène, et doivent être déterminées de manière empirique. Des réactifs de contrôle auxiliaires négatifs doivent être utilisés lors de l'optimisation des conditions de récupération et de la durée du protocole.

Dépannage

Consultez la référence 3 pour les mesures correctives.

Contactez le distributeur local ou le bureau régional de Leica Biosystems pour signaler une coloration inhabituelle.

Autres informations

De plus amples informations concernant l'immunomarquage avec les réactifs BOND, sous les rubriques Principes de la procédure, Matériel nécessaire, Préparation de l'échantillon, Contrôle de qualité, Vérification du test, Interprétation de la coloration, Légendes des symboles sur les étiquettes et Limites générales, se trouvent dans « Utilisation des réactifs BOND » dans la documentation utilisateur BOND.

Bibliographie

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Brown C, Sekhavati F, Cardenes R et al. CTLA-4 immunohistochemistry and quantitative image analysis for profiling of human cancers. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. 2019; 67(6):901-918.
5. Buchbinder EI, Desai A. CTLA-4 and PD-1 Pathways. *American Journal of Clinical Oncology*. 2016; 39:98-106.
6. Chan DV, Gibson HM, Aufiero BM et al. Differential CTLA-4 expression in human CD4+ versus CD8+ T cells is associated with increased NFAT1 and inhibition of CD4+ proliferation. *Genes & Immunity*. 2015; 15:25 – 32.
7. McCoy K and Le Gros G. The role of CTLA-4 in the regulation of T cell immune responses. *Immunology and Cell Biology*. 1999; 77:1-10.
8. Castan J, Tenner-Racz K, Racz P et al. Accumulation of CTLA-4 expressing T lymphocytes in the germinal centres of human lymphoid tissues. *Immunology*. 1997; 90: 267-271.

Date de publication

03 avril 2020

Anticorpo primario BOND pronto all'uso CTLA-4 (CAL49), 7ml N. di catalogo: PA0181

Uso previsto

Questo reagente è per uso diagnostico *in vitro*.

L'anticorpo monoclonale CTLA-4 (CAL49) è destinato ad essere utilizzato per l'identificazione qualitativa al microscopio ottico della proteina CTLA-4 in tessuti fissati in formalina, inclusi in paraffina e sottoposti a colorazione immunocitochimica con il sistema automatizzato BOND (include i sistemi Leica BOND-MAX e Leica BOND-III).

L'interpretazione clinica di un'eventuale colorazione o della sua assenza deve avvalersi di studi morfologici e di opportuni controlli ed essere effettuata da patologi qualificati, nel contesto dell'anamnesi clinica del paziente e di altri test diagnostici.

Sommario e spiegazione

Grazie alle tecniche di immunocitochimica è possibile dimostrare la presenza di antigeni nel tessuto e nelle cellule (vedere "Uso dei reagenti BOND" nella documentazione per l'utente BOND). L'anticorpo primario CTLA-4 (CAL49) è un prodotto pronto all'uso che è stato ottimizzato in modo specifico per l'impiego con il BOND Polymer Refine Detection. La dimostrazione della proteina CTLA-4 umana si ottiene in primo luogo consentendo il legame di CTLA-4 (CAL49) alla sezione, quindi visualizzando tale legame per mezzo dei reagenti forniti nel sistema di rilevazione. L'uso di questi prodotti, in combinazione con il sistema automatizzato BOND (che include i sistemi Leica BOND-MAX e Leica BOND-III), riduce la possibilità di errore umano e la variabilità intrinseca derivante dalla diluizione del reagente, dal pipettaggio manuale e dall'applicazione del reagente.

Reagenti forniti

CTLA-4 (CAL49) è un anticorpo monoclonale di coniglio anti-umano prodotto come surnatante di coltura tissutale e fornito in soluzione salina tamponata Tris con proteina carrier, contenente lo 0,35% di ProClin™ 950 come conservante.

Volume totale = 7 ml.

Clone

CAL49

N.B. Il clone CAL49 è prodotto e commercializzato su licenza da Abcam Plc.

Immunogeno

Peptide sintetico corrispondente a CTLA-4 aa183-283 umana.

Specificità

Proteina umana CTLA-4.

Classe Ig

IgG1

Concentrazione proteica totale

Circa 10 mg/ml.

Concentrazione anticorpale

Pari o superiore a 0,2 mg/l.

Diluizione e miscelazione

L'anticorpo primario CTLA-4 (CAL49) è diluito in modo ottimale per essere usato con il sistema BOND (include il sistema Leica BOND-MAX e il sistema Leica BOND-III). Questo reagente non necessita di ricostituzione, miscelazione, diluizione né titolazione.

Materiali necessari ma non forniti

Fare riferimento a "Uso dei reagenti BOND" nella documentazione per l'utente di BOND per l'elenco completo dei materiali necessari per il trattamento e la colorazione immunocitochimica dei campioni con il sistema BOND (che include i sistemi Leica BOND-MAX e Leica BOND-III).

Conservazione e stabilità

Conservare a 2-8°C. Non utilizzare dopo la data di scadenza indicata sull'etichetta del contenitore.

I segni di contaminazione e/o instabilità di CTLA-4 (CAL49) sono: torbidità della soluzione, sviluppo di odori e presenza di precipitato. Riportare a 2-8°C immediatamente dopo l'uso.

L'utente deve verificare eventuali condizioni di conservazione diverse da quelle specificate.

Precauzioni

- Il presente prodotto è destinato all'uso diagnostico *in vitro*.
- La concentrazione di ProClin™ 950 è pari allo 0,35%. Esso contiene il principio attivo 2-metilisotiazolo-3(2H)-one e può causare irritazione alla cute, agli occhi, alle mucose e alle alte vie respiratorie. Per la manipolazione dei reagenti usare guanti monouso.
- Per ottenere una copia della Scheda di sicurezza sui materiali, rivolgersi al distributore di zona o all'ufficio regionale di Leica Biosystems. In alternativa, visitare il sito Web di Leica Biosystems, www.LeicaBiosystems.com
- I campioni, pre e post fissazione, e tutti i materiali ad essi esposti, vanno maneggiati come oggetti potenzialmente in grado di trasmettere infezioni e smaltiti con precauzione. Non pipettare mai i reagenti con la bocca ed evitare che i reagenti o i campioni

vengano a contatto con la pelle o le mucose. Se i reagenti o i campioni biologici vengono a contatto con aree sensibili, lavare abbondantemente con acqua. Consultare un medico.

- Per lo smaltimento di eventuali componenti potenzialmente tossici consultare i regolamenti nazionali, regionali o locali.
- Ridurre al minimo la contaminazione microbica dei reagenti per evitare un aumento di colorazione aspecifica.
- Tempi di recupero o incubazione o temperature diversi da quelli specificati possono generare risultati erronei. Ogni eventuale modifica deve essere validata dall'utente.

Istruzioni per l'uso

L'anticorpo primario CTLA-4 (CAL49) è stato sviluppato per l'uso nel sistema automatizzato BOND (include i sistemi Leica BOND-MAX e Leica BOND-III) in combinazione al BOND Polymer Refine Detection. Il protocollo di colorazione consigliato per l'anticorpo primario CTLA-4 (CAL49) è l'IHC Protocol F. Per lo smascheramento dell'epitopo indotto da calore si consiglia l'uso della BOND Epitope Retrieval Solution 2 (AR9640) per 20 minuti.

Risultati attesi

Tessuti normali

Il clone CAL49 rileva la proteina CTLA-4 nel citoplasma o nella membrana di una parte delle cellule immunitarie. È stata osservata colorazione nelle cellule immunitarie presenti nella maggior parte dei tipi di tessuto e in modo particolare nei linfonodi, nelle tonsille, nella milza e nel timo. È stata osservata colorazione nelle cellule presenti nel midollo del surrene, nelle cellule acinari del pancreas, nei macrofagi alveolari, occasionalmente nelle cellule della materia bianca del cervelletto e nelle cellule epiteliali follicolari della tiroide. È stata osservata colorazione debole nei tubuli prossimali del rene, negli epatociti del fegato e nell'epitelio respiratorio della laringe. È stata notata colorazione della membrana basale dell'urotelio nella vescica. (Numero complessivo di casi normali valutati = 124).

Tessuti neoplastici

Il clone CAL49 ha colorato 1 di 11 tumori della mammella (compresi 1 di 7 carcinomi duttali invasivi, 0 di 2 fibroadenomi, 0 di 1 cancro mucinoso della mammella e 0 di 1 carcinoma lobulare invasivo), 1 di 5 tumori della tiroide (compresi 1 di 1 carcinoma follicolare, 0 di 3 adenomi follicolari e 0 di 1 carcinoma papillare della tiroide) e 1 di 4 carcinomi epatocellulari. Nessuna colorazione è stata osservata nei tumori dell'endometrio (0 di 12) (compresi 0 di 10 adenocarcinomi, 0 di 1 carcinoma a cellule chiare e 0 di 1 iperplasia atipica), tumori del colon-retto (0 di 8) (compresi 0 di 6 adenocarcinomi e 0 di 2 adenomi), tumori della testa e del collo (0 di 5) (compresi 0 di 1 adenocarcinoma, 0 di 1 carcinoma nasofaringeo, 0 di 1 carcinoma a cellule squamose, 0 di 1 carcinoma adenoido-cistico e 0 di 1 adenoma), tumori metastatici (0 di 5), tumori del cervello (0 di 4) (compresi 0 di 3 meningiomi e 0 di 1 astrocitoma), tumori del polmone (0 di 4) (compresi 0 di 2 carcinomi a cellule squamose, 0 di 1 adenocarcinoma e 0 di 1 carcinoma a piccole cellule), carcinomi a cellule squamose dell'esofago (0 di 3), adenocarcinomi dello stomaco (0 di 3), linfomi (0 di 3), tumori ovarici (0 di 3) (compresi 0 di 2 adenocarcinomi e 0 di 1 tumore a cellule della granulosa), tumori del surrene (0 di 2) (compresi un carcinoma adrenocorticale e un adenoma), carcinomi a cellule transizionali della vescica (0 di 2), tumori ossei (0 di 2) (compresi 0 di 1 osteosarcoma e 0 di 1 condrosarcoma), carcinomi renali a cellule chiare (0 di 2), adenocarcinomi prostatici (0 di 2), seminomi (0 di 2), carcinomi a cellule squamose della cervice (0 di 2), un melanoma (0 di 1), un adenocarcinoma del pancreas (0 di 1), un carcinoma a cellule squamose della pelle (0 di 1) e un'iperplasia prostatica (0 di 1). (Numero totale di casi anomali esaminati = 88)

L'uso di CTLA-4 (CAL49) è consigliato per il rilevamento della proteina CTLA-4 in tessuti normali e neoplastici, in aggiunta all'istopatologia convenzionale che si avvale di colorazioni istochimiche non immunologiche.

Limitazioni specifiche del prodotto

Il CTLA-4 (CAL49) è stato ottimizzato da Leica Biosystems per l'uso con il BOND Polymer Refine Detection e con i reagenti ausiliari BOND. Gli utenti che modificano le procedure raccomandate devono assumersi la responsabilità dell'interpretazione dei risultati relativi ai pazienti in tali circostanze. I tempi previsti dal protocollo possono variare in base alle differenze di fissazione tissutale e all'efficienza di potenziamento dell'antigene e, pertanto, devono essere definiti empiricamente. Durante l'ottimizzazione delle condizioni di riconoscimento e dei tempi del protocollo occorre utilizzare controlli negativi del reagente.

Ricerca e risoluzione problemi

Per le azioni di rimedio consultare il riferimento bibliografico n. 3.

Se si notano colorazioni inusuali, informarne il distributore di zona o l'ufficio regionale Leica Biosystems.

Ulteriori informazioni

Ulteriori informazioni sull'immunocolorazione con i reagenti BOND, sotto le intestazioni Principio della procedura, Materiali necessari, Preparazione dei campioni, Controllo qualità, Verifica del saggio, Interpretazione della colorazione, Legenda dei simboli sulle etichette e Limitazioni generali, possono essere reperite in "Uso dei reagenti BOND" nella documentazione per l'utilizzatore BOND.

Bibliografia

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Brown C, Sekhavati F, Cardenes R et al. CTLA-4 immunohistochemistry and quantitative image analysis for profiling of human cancers. Journal of Histochemistry and Cytochemistry. 2019; 67(6):901-918.
5. Buchbinder EI, Desai A. CTLA-4 and PD-1 Pathways. American Journal of Clinical Oncology. 2016; 39:98-106.
6. Chan DV, Gibson HM, Aufiero BM et al. Differential CTLA-4 expression in human CD4+ versus CD8+ T cells is associated with increased NFAT1 and inhibition of CD4+ proliferation. Genes & Immunity. 2015; 15:25 – 32.
7. McCoy K and Le Gros G. The role of CTLA-4 in the regulation of T cell immune responses. Immunology and Cell Biology. 1999; 77:1-10.
8. Castan J, Tenner-Racz K, Racz P et al. Accumulation of CTLA-4 expressing T lymphocytes in the germinal centres of human lymphoid tissues. Immunology. 1997; 90: 267-271.

Data di pubblicazione

03 aprile 2020

Gebrauchsfertiger BOND-Primärantikörper

CTLA-4 (CAL49), 7 ml

Artikel-Nr.: PA0181

Verwendungszweck

Dieses Reagenz ist zur *In-vitro*-Diagnostik bestimmt.

Der monoklonale Antikörper CTLA-4 (CAL49) wurde für die lichtmikroskopische qualitative Bestimmung von CTLA-4-Protein in formalinfixiertem und in Paraffin eingebettetem Gewebe durch immunhistochemische Färbung mit dem automatisierten BOND-System (bestehend aus dem Leica BOND-MAX-System und dem Leica BOND-III-System) entwickelt.

Die klinische Interpretation jeglicher Färbungen oder das Ausbleiben dieser sollte durch morphologische Studien und Anwendung geeigneter Kontrollen ergänzt und unter Berücksichtigung der klinischen Vorgeschichte des Patienten sowie im Rahmen anderer diagnostischer Tests durch einen qualifizierten Pathologen bewertet werden.

Zusammenfassung und Erläuterung

Immunhistochemische Methoden können dazu verwendet werden, die Anwesenheit von Antigenen in Geweben und Zellen zu demonstrieren (sehen Sie dazu „Das Arbeiten mit BOND-Reagenzien“ in Ihrem BOND-Benutzerhandbuch). Der Primärantikörper CTLA-4 (CAL49) ist ein gebrauchsfertiges Produkt, das speziell für den Gebrauch mit BOND Polymer Refine Detection optimiert wurde. Der Nachweis von humanem CTLA-4-Protein erfolgt durch Bindung von CTLA-4 (CAL49) an das Präparat mit nachfolgender Darstellung dieser Bindung mithilfe der im Detektionssystem enthaltenen Reagenzien. Die Verwendung dieser Produkte in Kombination mit dem automatisierten BOND-System (bestehend aus dem Leica BOND-MAX-System und dem Leica BOND-III-System) reduziert die Gefahr vom Menschen verursachter Fehler und einer inhärenten Variabilität aufgrund einer individuellen Reagenzienverdünnung, einer manuellen Pipettierung und einer Reagenzienanwendung.

Mitgelieferte Reagenzien

CTLA-4 (CAL49) ist ein aus Gewebekulturüberstand hergestellter, monoklonaler Kaninchen-anti-Human-Antikörper, der in Tris-gepufferter Salzlösung mit einem Trägerprotein geliefert wird und 0,35 % ProClin™ 950 als Konservierungsmittel enthält. Gesamtvolumen = 7 ml.

Klon

CAL49

Anm. Der Klon CAL49 wird von Abcam Plc. hergestellt und unter Lizenz verkauft.

Immunogen

Synthetisches Peptid entspricht dem humanen Protein CTLA-4 aa183-283.

Spezifität

Humanes CTLA-4-Protein.

Ig-Klasse

IgG1

Gesamtproteinkonzentration

Ungefähr 10 mg/ml

Antikörperkonzentration

Größer als oder gleich 0,2 mg/l.

Verdünnen und mischen

Der Primärantikörper CTLA-4 (CAL49) weist eine optimale Verdünnung für die Verwendung mit dem BOND-System (bestehend aus dem Leica BOND-MAX-System und dem Leica BOND-III-System auf). Ein Rekonstituieren, Mischen, Verdünnen oder Titrieren dieses Reagenzes ist nicht erforderlich.

Erforderliche, jedoch nicht mitgelieferte Materialien

Bitte entnehmen Sie die vollständige Liste der für die Probenvorbereitung und die immunhistochemische Färbung mithilfe des BOND-Systems (bestehend aus dem Leica BOND-MAX-System und dem Leica BOND-III-System) benötigten Materialien dem Kapitel „Das Arbeiten mit BOND-Reagenzien“ in Ihrem BOND-Benutzerhandbuch.

Lagerung und Stabilität

Bei 2-8°C lagern. Nach Ablauf des auf dem Behälteretikett angegebenen Verfallsdatums nicht mehr verwenden.

Zeichen, die auf eine Kontamination und/oder Instabilität von CTLA-4 (CAL49) hinweisen, sind eine Trübung der Lösung, Geruchsentwicklung und das Vorhandensein von Präzipitat. Nach dem Gebrauch sofort wieder bei 2-8°C lagern.

Lagerbedingungen, die von den oben genannten Bedingungen abweichen, müssen vom Benutzer verifiziert werden¹.

Vorsichtsmaßnahmen

- Dieses Produkt ist zur *In-vitro*-Diagnostik bestimmt.
- Die Konzentration von ProClin™ 950 liegt bei 0,35 %. Das Produkt enthält den Wirkstoff 2-Methylisothiazol-3(2H)-on und kann zur Reizung von Haut, Augen, Schleimhäuten und oberen Atemwegen führen. Beim Umgang mit Reagenzien Einmalhandschuhe tragen.

- Ein Exemplar des Materialsicherheits-Datenblatts erhalten Sie von Ihrem lokalen Vertriebspartner oder der regionalen Niederlassung von Leica Biosystems. Sie können auch die Website von Leica Biosystems, www.LeicaBiosystems.com, besuchen.
- Proben vor und nach der Fixierung und alle mit ihnen in Kontakt kommenden Materialien sind wie infektiöses Material zu behandeln und mit den entsprechenden Vorsichtsmaßnahmen² zu entsorgen. Reagenzien dürfen niemals mit dem Mund pipettiert werden. Der Kontakt von Haut und Schleimhäuten mit Reagenzien oder Proben muss vermieden werden. Falls Reagenzien oder Proben mit empfindlichen Bereichen in Kontakt gekommen sind, müssen diese mit reichlich Wasser gespült werden. Ärztlichen Rat einholen.
- Hinsichtlich der Entsorgung potenziell giftiger Komponenten muss auf die jeweils geltenden Bestimmungen Bezug genommen werden.
- Die mikrobielle Verunreinigung von Reagenzien ist zu minimieren, da ansonsten eine erhöhte nichtspezifische Färbung auftreten kann.
- Eine von den angegebenen Spezifikationen abweichende Maskierung, Inkubationszeit oder Temperatur kann zu fehlerhaften Resultaten führen. Alle derartigen Änderungen müssen vom Anwender validiert werden.

Gebrauchsanweisung

Der Primärantikörper CTLA-4 (CAL49) wurde für die Verwendung in dem automatisierten BOND-System (bestehend aus dem Leica BOND-MAX-System und dem Leica BOND-III-System) in Kombination mit BOND Polymer Refine Detection entwickelt. Das empfohlene Färbeverfahren für den Primärantikörper CTLA-4 (CAL49) ist das IHC Protocol F. Die hitzeinduzierte Epitopdemaskierung wird unter Verwendung der BOND Epitope Retrieval Solution 2 (AR9640) für 20 Minuten empfohlen.

Erwartete Ergebnisse

Normalgewebe

Klon CAL49 erkennt das Protein CTLA-4 im Zellplasma/in der Membran eines Anteils an Immunzellen. Eine Verfärbung erfolgte in Immunzellen bei den meisten Gewebetypen und insbesondere bei Lymphknoten, Tonsillen, Milz und Thymusdrüse. Eine Verfärbung erfolgte bei Zellen in Nebennierenmark, pankreatischen Azinuszellen, Alveolarmakrophagen, vereinzelt Zellen in der weißen Substanz des Zerebellums und follikulären, epithelialen Zellen der Schilddrüse. Eine schwache Verfärbung erfolgte im proximalen Tubulussystem der Niere, in Leberzellen (Hepatozyten) und im Atemwegsepithel des Larynx. Eine Verfärbung der urothelialen Basalmembran wurde in der Harnblase beobachtet. (Anzahl der insgesamt untersuchten Normalgewebeprobe = 124).

Tumorgewebe

Klon CAL49 färbte 1/11 Mammatumoren (einschließlich 1/7 invasiven duktales Karzinomen, 0/2 Fibroadenomen, 0/1 muköses Mammakarzinom und 0/1 invasiv lobulären Karzinom), 1/5 Schilddrüsentumoren (einschließlich 1/1 follikulären Karzinom, 0/3 follikulären Adenomen und 0/1 papillären Schilddrüsenkarzinom) und 1/4 Leberzellkarzinomen. Keine Färbung erfolgte bei Endometrialtumoren (0/2) (einschließlich 0/10 Adenokarzinomen, 0/1 klarzelligen Karzinom und 0/1 atypischen Hyperplasie), Darmtumoren (0/8) (einschließlich 0/6 Adenokarzinomen und 0/2 Adenomen), Kopf- und Halstumoren (0/5) (einschließlich 0/1 Adenokarzinom, 0/1 nasopharyngeales Karzinom, 0/1 Plattenepithelkarzinom, 0/1 adenoid-zystisches Karzinom und 0/1 Adenom), metastasierten Tumoren (0/5), Hirntumoren (0/4) (einschließlich 0/3 Meningeomen und 0/1 Astrozytom), Lungentumoren (0/4) (einschließlich 0/2 Plattenepithelkarzinomen, 0/1 Adenokarzinomen und 0/1 kleinzelligen Karzinom), Plattenepithelkarzinomen des Ösophagus (0/3), Adenokarzinomen des Magens (0/3), Lymphomen (0/3), Ovarialtumoren (0/3) (einschließlich 0/2 Adenokarzinomen und 0/1 Granulosazelltumoren), Nebennierentumoren (0/2) (einschließlich einem adrenokortikales Karzinom und einem Adenom), Übergangszellkarzinomen der Harnblase (0/2), Knochentumoren (0/2) (einschließlich 0/1 Osteosarkom und 0/1 Chondrosarkom), klarzelligen Nierenkarzinomen (0/2), prostatatischen Adenokarzinomen (0/2), Seminomen (0/2), Plattenepithelkarzinomen der Zervix (0/2), einem Melanom (0/1), einem Adenokarzinom des Pankreas (0/1), einem Plattenepithelkarzinom der Haut (0/1) und einer prostatatischen Hyperplasie (0/1). (Anzahl der insgesamt untersuchten abnormalen Fälle = 88)

CTLA-4 (CAL49) wird für den Nachweis von CTLA-4-Protein in normalem und neoplastischem Gewebe als zusätzliches Hilfsmittel zur herkömmlichen Histopathologie unter Verwendung nicht-immunologischer histochemischer Färbemittel empfohlen.

Produktspezifische Beschränkungen

CTLA-4 (CAL49) wurde von Leica Biosystems zur Verwendung mit dem BOND Polymer Refine Detection und BOND-Zusatzreagenzien optimiert. Anwender, die von den empfohlenen Testverfahren abweichen, müssen die Verantwortung für eine Auswertung der Patientenergebnisse unter diesen Umständen übernehmen. Die Protokollzeit kann aufgrund von Unterschieden in der Gewebefixierung und der Wirksamkeit der Antigenverstärkung variieren und muss empirisch bestimmt werden. Zur Optimierung der Demaskierungsbedingungen und der Protokolllaufzeiten sollten Negativkontrollreagenzien verwendet werden.

Fehlersuche und -behebung

Fehlerbehebungsmaßnahmen finden Sie in Referenz 3.

Falls Sie ungewöhnliche Färberegebnisse beobachten, wenden Sie sich an Ihre örtliche Vertriebsfirma oder an die Regionalniederlassung von Leica Biosystems.

Weitere Informationen

Weitere Informationen zur Immunfärbung mit BOND-Reagenzien finden Sie in den Abschnitten „Verfahrensprinzip“, „Erforderliches Material“, „Probenvorbereitung“, „Qualitätskontrolle“, „Assay-Verifizierung“, „Deutung der Färbung“, „Schlüssel der Symbole auf den Etiketten“ und „Allgemeine Einschränkungen“ in „Das Arbeiten mit BOND-Reagenzien“ in Ihrem BOND-Benutzerhandbuch.

Bibliographie

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Brown C, Sekhavati F, Cardenes R et al. CTLA-4 immunohistochemistry and quantitative image analysis for profiling of human cancers. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. 2019; 67(6):901-918.
5. Buchbinder EI, Desai A. CTLA-4 and PD-1 Pathways. *American Journal of Clinical Oncology*. 2016; 39:98-106.
6. Chan DV, Gibson HM, Aufiero BM et al. Differential CTLA-4 expression in human CD4+ versus CD8+ T cells is associated with increased NFAT1 and inhibition of CD4+ proliferation. *Genes & Immunity*. 2015; 15:25 – 32.
7. McCoy K and Le Gros G. The role of CTLA-4 in the regulation of T cell immune responses. *Immunology and Cell Biology*. 1999; 77:1-10.
8. Castan J, Tenner-Racz K, Racz P et al. Accumulation of CTLA-4 expressing T lymphocytes in the germinal centres of human lymphoid tissues. *Immunology*. 1997; 90: 267-271.

Ausgabedatum

03 April 2020

Anticuerpo primario listo para usar BOND CTLA-4 (CAL49), 7mL

N.º de catálogo: PA0181

Uso previsto

Este reactivo es para uso diagnóstico *in vitro*.

El anticuerpo monoclonal CTLA-4 (CAL49) está diseñado para la caracterización cualitativa por microscopía óptica de la proteína CTLA-4 en tejidos fijados en formol y embebidos en parafina mediante tinción inmunohistoquímica con el sistema automatizado BOND (incluye los sistemas Leica BOND-MAX y Leica BOND-III).

La interpretación clínica de toda tinción o de su ausencia deberá complementarse con estudios morfológicos que utilicen los controles adecuados, y un anatomopatólogo cualificado deberá realizar su evaluación dentro del contexto del historial clínico del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

Resumen y explicación

Las técnicas inmunohistoquímicas pueden ser utilizadas para detectar la presencia de antígenos en tejidos y células (véase "Uso de reactivos BOND" en la documentación del usuario del sistema BOND). El anticuerpo primario CTLA-4 (CAL49) es un producto listo para usar que se ha optimizado específicamente para su uso con BOND Polymer Refine Detection. La demostración de la proteína CTLA-4 humana se puede llevar a cabo primero permitiendo la unión de CTLA-4 (CAL49) a la sección y luego visualizando esta unión usando los reactivos proporcionados en el sistema de detección. El uso de estos productos, en combinación con el sistema automatizado BOND (incluye los sistemas Leica BOND-MAX y Leica BOND-III), reduce la posibilidad de error humano y la variabilidad inherente derivada de la dilución de reactivos, el pipeteado manual y la aplicación de reactivos.

Reactivos suministrados

CTLA-4 (CAL49) es un anticuerpo monoclonal antihumano de conejo que se produce como sobrenadante en cultivos de tejido, y se suministra en solución salina tamponada de Tris con proteína portadora, que contiene el 0,35 % de ProClin™ 950 como conservante. Volumen total = 7 ml.

Clon

CAL49

Nota: el clon CAL49 está fabricado por y vendido bajo licencia de Abcam Plc.

Inmunógeno

Péptido sintético correspondiente a la CTLA-4 aa183-283 humana.

Especificidad

Proteína CTLA-4 humana.

Clase Ig

IgG1

Concentración total de proteína

Aprox. 10 mg/ml.

Concentración de anticuerpo

Igual o superior a 0,2 mg/L.

Dilución y mezcla

El anticuerpo primario CTLA-4 (CAL49) se diluye óptimamente para usarse en el sistema BOND (incluye el sistema Leica BOND-MAX y el sistema Leica BOND-III). Este reactivo no requiere reconstitución, mezcla, dilución ni titulación.

Materiales necesarios pero no suministrados

Consulte "Uso de reactivos BOND" en su documentación del usuario del sistema BOND para ver un listado completo con los materiales necesarios para el tratamiento de la preparación y la tinción inmunohistoquímica mediante el sistema BOND (incluye los sistemas Leica BOND-MAX y Leica BOND-III).

Almacenamiento y estabilidad

Almacenar a 2-8°C. No utilizar después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del recipiente.

Los signos de contaminación y/o inestabilidad de la CTLA-4 (CAL49) son: turbidez de la solución, aparición de olor y presencia de precipitado. Devuélvalo a 2-8°C inmediatamente después de su uso.

Las condiciones de almacenamiento distintas a las especificadas anteriormente deberán ser verificadas por el usuario¹.

Precauciones

- Este producto está indicado para uso diagnóstico *in vitro*.
- La concentración de ProClin™ 950 es de 0,35 %. Contiene el ingrediente activo 2-metilisotiazolin-3(2H)-ona, y puede provocar irritación en la piel, los ojos, las membranas mucosas y el tracto respiratorio superior. Deberán utilizarse guantes desechables al manipular los reactivos.

- Para obtener un ejemplar de la Ficha de datos de seguridad de los materiales, póngase en contacto con su distribuidor local o con la sucursal regional de Leica Biosystems; también puede visitar el sitio web de Leica Biosystems, www.LeicaBiosystems.com
- Las preparaciones, antes y después de ser fijadas, y todos los materiales expuestos a ellas, deben ser tratados como sustancias capaces de transmitir infecciones y deben eliminarse tomando las precauciones adecuadas. Nunca pipetee reactivos con la boca; evite el contacto de la piel y las mucosas con reactivos o preparaciones. Si los reactivos o las preparaciones entran en contacto con zonas delicadas, lávelas con abundante agua. Consulte con un médico.
- Consulte la normativa pertinente sobre la eliminación de componentes potencialmente tóxicos.
- Reduzca al mínimo la contaminación microbiana de los reactivos; de lo contrario, podría producirse un aumento de la tinción inespecífica.
- La recuperación, los tiempos de incubación y las temperaturas distintos a los especificados pueden dar lugar a resultados erróneos. Cualquiera de estos cambios debe ser validado por el usuario.

Instrucciones de uso

El anticuerpo primario CTLA-4 (CAL49) se ha desarrollado para usarse en el sistema BOND automatizado (incluye el sistema Leica BOND-MAX y el sistema Leica BOND-III) en combinación con la BOND Polymer Refine Detection. El protocolo de tinción recomendado para el anticuerpo primario CTLA-4 (CAL49) es IHC Protocol F. Se recomienda la recuperación del epítipo inducido por calor usando BOND Epitope Retrieval Solution 2 (AR9640) durante 20 minutos.

Resultados esperados

Tejidos normales

El clon CAL49 detecta la proteína CTLA-4 en el citoplasma/la membrana de un porcentaje de células inmunitarias. Se observó tinción dentro de las células inmunitarias de la mayor parte de tipos de tejidos y, en concreto, en el nódulo linfático, la amígdala, el bazo y la glándula del timo. Se observó tinción en células dentro de la médula adrenal, las células acinosas pancreáticas, los macrófagos alveolares, células ocasionales en la materia blanca del cerebelo y en las células epiteliales de la tiroides. Se observó tinción débil en los túbulos proximales del riñón, los hepatocitos hepáticos y el epitelio respiratorio de la laringe. Se observó tinción en la membrana basal urotelial de la vejiga. (Cifra total de casos normales evaluados = 124).

Tejidos tumorales

El clon CAL49 tiñó 1/11 tumores de mama (incluyendo 1/7 carcinoma ductales invasivos, 0/2 fibroadenomas, 0/1 cáncer mucinoso de mama 0/1 carcinoma lobular invasivo), 1/5 tumores tiroideos (incluyendo 1/1 carcinoma folicular, 0/3 adenomas foliculares y 0/1 carcinoma papilar tiroideo) y 1/4 carcinomas hepatocelulares. No se detectó tinción en tumores endometriales (0/12) (incluyendo 0/10 adenocarcinomas, 0/1 carcinoma de célula clara y 0/1 hiperplasia atípica), tumores intestinales (0/8) (incluyendo 0/6 adenocarcinomas y 0/2 adenomas), tumores de cabeza y cuello (0/5) (incluyendo 0/1 adenocarcinoma, 0/1 carcinoma nasofaríngeo, 0/1 carcinoma de células escamosas, 0/1 carcinoma adenoide cístico y 0/1 adenoma), tumores metastásicos (0/5), tumores cerebrales (0/4) (incluyendo 0/3 meningiomas y 0/1 astrocitoma), tumores pulmonares (0/4) (incluyendo 0/2 carcinomas de células escamosas, 0/1 adenocarcinoma y 0/1 carcinoma de células pequeñas), carcinoma de células escamosas del esófago (0/3), adenocarcinomas del estómago (0/3), linfoma (0/3), tumores ováricos (0/3) (incluyendo 0/2 adenocarcinomas y 0/1 tumor de célula granulosa), tumores adrenales (0/2) (incluyendo un carcinoma adrenocortical y un adenoma), carcinomas de células de transición de la vejiga (0/2), tumores óseos (0/2) (incluyendo 0/1 osteosarcoma y 0/1 condrosarcoma), carcinomas renales de célula clara (0/2), adenocarcinomas prostáticos (0/2), seminomas (0/2), carcinomas de células escamosas del cuello uterino (0/2), un melanoma (0/1), un adenocarcinoma del páncreas (0/1), un carcinoma de células escamosas cutáneas (0/1) y una hiperplasia prostática (0/1). (Número total de casos anómalos evaluados = 88)

El CTLA-4 (CAL49) está recomendado para la detección de la proteína CTLA-4 en tejidos normales y neoplásicos, como complemento de la histopatología tradicional con tinciones histoquímicas no inmunológicas.

Limitaciones específicas del producto

El CTLA-4 (CAL49) se ha optimizado en Leica Biosystems para su uso con BOND Polymer Refine Detection y reactivos auxiliares BOND. Los usuarios que no sigan los procedimientos de prueba recomendados deben aceptar la responsabilidad de la interpretación de los resultados de pacientes en esas circunstancias. Los tiempos del protocolo puede oscilar, debido a la variación en la fijación del tejido y la eficacia de la mejora del antígeno, y deben determinarse empíricamente. Se utilizarán controles de los reactivos negativos a la hora de optimizar las condiciones de la recuperación y los tiempos del protocolo.

Solución de problemas

Consulte la referencia 3 para encontrar la acción correctora.

Póngase en contacto con su distribuidor local o con la sucursal regional de Leica Biosystems para notificar tinciones anormales.

Información adicional

Se puede encontrar información adicional sobre la inmunotinción con los reactivos BOND en los apartados Principio del procedimiento, Materiales necesarios, Preparación de las preparaciones, Control de calidad, Verificación del ensayo, Interpretación de la tinción, Explicación de los símbolos de las etiquetas y Limitaciones generales en la sección "Uso de los reactivos BOND" de la documentación del usuario del sistema BOND.

Bibliografía

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Brown C, Sekhavati F, Cardenes R et al. CTLA-4 immunohistochemistry and quantitative image analysis for profiling of human cancers. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. 2019; 67(6):901-918.
5. Buchbinder EI, Desai A. CTLA-4 and PD-1 Pathways. *American Journal of Clinical Oncology*. 2016; 39:98-106.
6. Chan DV, Gibson HM, Aufiero BM et al. Differential CTLA-4 expression in human CD4+ versus CD8+ T cells is associated with increased NFAT1 and inhibition of CD4+ proliferation. *Genes & Immunity*. 2015; 15:25 – 32.
7. McCoy K and Le Gros G. The role of CTLA-4 in the regulation of T cell immune responses. *Immunology and Cell Biology*. 1999; 77:1-10.
8. Castan J, Tenner-Racz K, Racz P et al. Accumulation of CTLA-4 expressing T lymphocytes in the germinal centres of human lymphoid tissues. *Immunology*. 1997; 90: 267-271.

Fecha de publicación

03 de abril de 2020

Anticorpo Primário Pronto a Utilizar BOND CTLA-4 (CAL49), 7mL Catálogo N.º: PA0181

Utilização prevista

Este reagente destina-se à utilização em diagnóstico *in vitro*.

O anticorpo monoclonal CTLA-4 (CAL49) destina-se a ser utilizado na identificação qualitativa por microscopia ótica da proteína CTLA-4 humana em tecidos embebidos em parafina e fixados em formalina por coloração imuno-histoquímica usando o sistema BOND automatizado (inclui o sistema Leica BOND-MAX e o sistema Leica BOND-III).

A interpretação clínica de qualquer coloração, ou da sua ausência, deve ser complementada por estudos morfológicos e os devidos controlos, avaliando-se no contexto do historial clínico do doente e de outros exames de diagnóstico por um anatomopatologista qualificado.

Resumo e explicação

As técnicas de imuno-histoquímica podem ser usadas para demonstrar a presença de antígenos em tecidos e células (ver "Utilização dos Reagentes BOND" na documentação do utilizador BOND). O anticorpo primário CTLA-4 (CAL49) consiste num produto pronto usar que foi especificamente otimizado para utilização com BOND Polymer Refine Detection. A demonstração da proteína CTLA-4 humana é alcançada ao permitir primeiro a ligação do CTLA-4 (CAL49) à secção e, em seguida, observar esta ligação usando os reagentes fornecidos no sistema de deteção. A utilização destes produtos, em combinação com o sistema BOND automático (inclui o sistema Leica BOND-MAX e o sistema Leica BOND-III), reduz a possibilidade de erro humano e a variabilidade inerente resultante da diluição do reagente individual, da pipetagem manual e da aplicação do reagente.

Reagentes fornecidos

CTLA-4 (CAL49) é um anticorpo monoclonal anti-humano de coelho produzido como sobrenadante de cultura tecidual e fornecido em solução salina com tampão Tris com proteína transportadora, contendo 0,35 % de ProClin™ 950 como conservante.

Volume total = 7 ml

Clone

CAL49

N.B. O clone CAL49 é fabricado e vendido sob licença da Abcam Plc.

Imunogénico

Péptido sintético correspondente ao CTLA-4 aa183-283 humano.

Especificidade

Proteína CTLA-4 humana.

Classe de Ig

IgG1

Concentração total de proteínas

Aprox. 10 mg/ml

Concentração de anticorpos

Igual ou superior a 0,2 mg/L.

Diluição e mistura

O anticorpo primário CTLA-4 (CAL49) é devidamente diluído para uso no sistema BOND (inclui o sistema Leica BOND-MAX e o sistema Leica BOND-III). Não é necessário reconstituir, misturar, diluir ou titular este reagente.

Materiais necessários mas não fornecidos

Consulte "Utilização dos Reagentes BOND" na documentação do utilizador BOND para obter uma lista completa dos materiais necessários para o tratamento dos espécimes e a coloração imuno-histoquímica utilizando o sistema BOND (inclui o sistema Leica BOND-MAX e o sistema Leica BOND-III).

Armazenamento e estabilidade

Armazenar a 2-8°C. Não utilizar após o prazo de validade indicado no rótulo do frasco.

Os sinais indicativos de contaminação e/ou instabilidade do CTLA-4 (CAL49) são: turvação da solução, desenvolvimento de odores e presença de precipitado. Voltar a colocar entre 2 °C e 8 °C imediatamente após a utilização.

Outras condições de armazenamento além das especificadas anteriormente têm de ser verificadas pelo utilizador¹.

Precauções

- Este produto destina-se à utilização em diagnóstico *in vitro*.
- A concentração de ProClin™ 950 é 0,35%. Contém o ingrediente ativo 2-metilisotiazolina-3(2H)-ona, e pode causar irritação à pele, olhos, membranas mucosas e trato respiratório superior. Utilizar luvas descartáveis quando manusear o produto.
- Para obter uma cópia da Ficha de Dados de Segurança do Material, contacte o seu distribuidor local, gabinete regional da Leica Biosystems ou, em alternativa, visite o site da Leica Biosystems www.LeicaBiosystems.com
- As amostras, antes e depois da fixação, bem como todos os materiais a elas expostos, devem ser manuseadas como se fossem capazes de transmitir doenças infecciosas e descartadas com as devidas precauções². Nunca pipete os reagentes com a boca

e evite o contacto dos reagentes e dos espécimes com a pele e as mucosas. Caso os reagentes ou os espécimes entrarem em contacto com áreas sensíveis, lave com água abundante. Procure assistência médica.

- Consulte os regulamentos locais, nacionais ou internacionais relativamente à eliminação de eventuais componentes que possam ser tóxicos.
- Minimize a contaminação microbiana dos reagentes, senão poderá ocorrer um aumento da coloração não específica.
- Recuperação, períodos de incubação ou temperaturas diferentes das especificadas podem originar resultados erróneos. Qualquer alteração deve ser validada pelo utilizador.

Instruções de utilização

O anticorpo primário CTLA-4 (CAL49) foi desenvolvido para uso no sistema BOND automatizado (inclui o sistema Leica BOND-MAX e o sistema Leica BOND-III) em combinação com a BOND Polymer Refine Detection. O protocolo de coloração indicado para o anticorpo primário CTLA-4 (CAL49) é o IHC Protocol F. Recomenda-se a recuperação de epítomos induzida por calor utilizando a BOND Epitope Retrieval Solution 2 (AR9640) durante 20 minutos.

Resultados previstos

Tecidos normais

O clone CAL49 deteta a proteína CTLA-4 no citoplasma/na membrana de uma proporção das células imunitárias. Observou-se coloração nas células imunitárias na maioria dos tipos de tecido, e particularmente no nó linfático, amígdala, baço e glândula do timo. Observou-se coloração em células dentro da medula adrenal, células acinares pancreáticas, macrófagos alveolares, células ocasionais na matéria branca do cerebelo células epiteliais foliculares da tireoide. Observou-se uma coloração fraca em túbulos proximais do rim, hepatócitos do fígado e epitélio respiratório da laringe. Observou-se coloração da membrana basal urotelial na bexiga. (Número total de casos normais avaliados = 124.)

Tecidos tumorais

O clone CAL49 corou 1/11 tumores da mama (incluindo 1/7 carcinoma ductal invasivo, 0/2 fibroadenomas, 0/1 cancro da mama mucinoso e 0/1 carcinoma lobular invasivo), 1/5 tumores da tireoide (incluindo 1/1 carcinoma folicular, 0/3 adenomas foliculares e 0/1 carcinoma papilar da tireoide) e 1/4 carcinomas hepatocelulares. Não foi detetada qualquer coloração em tumores do endométrio (0/12) (incluindo 0/10 adenocarcinomas, 0/1 carcinoma de células claras, e 0/1 hiperplasia atípica), tumores do intestino (0/8) (incluindo 0/6 adenocarcinomas e 0/2 adenomas), tumores na cabeça e pescoço (0/5) (incluindo 0/1 adenocarcinoma, 0/1 carcinoma nasofaríngeo, 0/1 carcinoma de células escamosas, 0/1 carcinoma adenoide cístico e 0/1 adenoma), tumores metastáticos (0/5), tumores cerebrais (0/4) (incluindo 0/3 meningiomas e 0/1 astrocitoma), tumores dos pulmões (0/4) (incluindo 0/2 carcinomas de células escamosas, 0/1 adenocarcinoma e 0/1 carcinoma de pequenas células), carcinoma de células escamosas do esófago (0/3), adenocarcinomas do estômago (0/3), linfoma (0/3), tumores dos ovários (0/3) (incluindo 0/2 adenocarcinomas e 0/1 tumor da célula granulosa), tumores adrenais (0/2) (incluindo um carcinoma adrenocortical e um adenoma), carcinomas de células de transição da bexiga (0/2), tumores ósseos (0/2) (incluindo 0/1 osteossarcoma e 0/1 condrossarcoma), carcinomas de células claras renais (0/2), adenocarcinomas prostáticos (0/2), seminomas (0/2), carcinomas de células escamosas do colo do útero (0/2), a melanoma (0/1), um adenocarcinoma do pâncreas (0/1), um carcinoma de células escamosas da pele (0/1) e uma hiperplasia prostática (0/1). (Número total de casos anormais avaliados = 88)

O CTLA-4 (CAL49) é recomendado para a deteção da proteína CTLA-4 em tecidos normais e neoplásicos, como auxiliar da histopatologia convencional, através da utilização de corantes histoquímicos não imunológicos.

Limitações específicas do produto

O CTLA-4 (CAL49) foi otimizado na Leica Biosystems para utilização com a BOND Polymer Refine Detection e reagentes auxiliares BOND. Os utilizadores que se desviem dos procedimentos de teste recomendados devem assumir a responsabilidade pela interpretação dos resultados do paciente nestas circunstâncias. O tempo de protocolo poderá variar, devido à variação na fixação de tecido e na eficácia do reforço antigénico, e deve ser determinado empiricamente. Os controlos negativos de reagente deverão ser utilizados durante a otimização das condições de recuperação e dos tempos de protocolo.

Resolução de problemas

Consulte a referência 3 quanto a medidas corretivas.

Contacte o distribuidor local ou o gabinete regional da Leica Biosystems para comunicar colorações anormais.

Mais informação

Pode encontrar mais informação sobre a ISH com reagentes BOND nas secções Princípio do procedimento, Materiais necessários, Preparação do espécime, Controlo de qualidade, Verificação do teste, Interpretação da coloração, Significado dos símbolos nos rótulos e Limitações gerais em "Utilização dos Reagentes BOND" na documentação de utilizador BOND.

Bibliografia

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Brown C, Sekhavati F, Cardenes R et al. CTLA-4 immunohistochemistry and quantitative image analysis for profiling of human cancers. Journal of Histochemistry and Cytochemistry. 2019; 67(6):901-918.
5. Buchbinder EI, Desai A. CTLA-4 and PD-1 Pathways. American Journal of Clinical Oncology. 2016; 39:98-106.
6. Chan DV, Gibson HM, Aufiero BM et al. Differential CTLA-4 expression in human CD4+ versus CD8+ T cells is associated with increased NFAT1 and inhibition of CD4+ proliferation. Genes & Immunity. 2015; 15:25 – 32.
7. McCoy K and Le Gros G. The role of CTLA-4 in the regulation of T cell immune responses. Immunology and Cell Biology. 1999; 77:1-10.
8. Castan J, Tenner-Racz K, Racz P et al. Accumulation of CTLA-4 expressing T lymphocytes in the germinal centres of human lymphoid tissues. Immunology. 1997; 90: 267-271.

Data de emissão

03 de Abril de 2020

BOND Primär antikropp - färdig att använda

CTLA-4 (CAL49), 7 ml

Artikelnr: PA0181

Avsedd användning

Detta reagens är avsett för *in vitro*-diagnostik.

CTLA-4 (CAL49) monoklonal antikropp är avsedd att användas för kvalitativ identifiering med ljusmikroskopi av CTLA-4-protein i formalinfixerad, paraffinbäddad vävnad med immunhistokemisk färgning, med hjälp av det automatiserade BOND-systemet (omfattar Leica BOND-MAX-systemet och Leica BOND-III-systemet).

Den kliniska tolkningen av all färgning eller dess frånvaro bör kompletteras av morfologiska studier och korrekta kontroller samt utvärderas mot bakgrund av patientens kliniska historia och andra diagnostiska tester av en kvalificerad patolog.

Sammanfattning och beskrivning

Immunohistokemiska tekniker kan användas för att påvisa förekomsten av antigener i vävnader och celler (se "Användning av BOND-reagenser" i din BOND-användardokumentation). CTLA-4 (CAL49) primär antikropp är en produkt som är färdig att använda och som särskilt har optimerats för användning med BOND Polymer Refine Detection. Påvisande av humant CTLA-4-protein uppnås genom att man först möjliggör bindning av CTLA-4 (CAL49) till snittet och sedan visualiserar denna bindning med hjälp av de reagenser som ingår i detektionssystemet. Om du använder dessa produkter i kombination med det automatiska BOND-systemet (som innefattar systemen Leica BOND-MAX och Leica BOND-III) minskar du risken för mänskliga misstag och de oundvikliga variationer som blir resultatet av individuell reagensutspädning, manuell pipettering och reagensanvändning.

Medföljande reagenser

CTLA-4 (CAL49) är en anti-human monoklonal antikropp från kanin framställd som en supernatant från vävnadskultur, och levereras i tris-buffrad koksaltlösning med proteinbärare, innehållande 0,35 % ProClin™ 950 som konserveringsmedel.

Total volym = 7 ml.

Klon

CAL49

Observera att klon CAL49 tillverkas av och säljs under licens från Abcam Plc.

Immunogen

Syntetisk peptid motsvarande humant CTLA-4 aa183-283.

Specificitet

Humant CTLA-4-protein.

Ig-klass

IgG1

Total proteinkoncentration

Ca. 10 mg/ml

Antikropps-koncentration

Större än eller lika med 0,2 mg/l.

Spädning och blandning

CTLA-4 (CAL49) primär antikropp är optimalt utspädd för användning i BOND-systemet (inkluderar Leica BOND-MAX-systemet och Leica BOND-III-systemet). Denna reagens behöver varken rekonstitueras, blandas, spådas eller titreras.

Material som behövs men inte medföljer

Se "Användning av BOND-reagens" i BOND användardokumentation för en komplett lista över material som krävs för provexemplsbehandling och immunhistokemisk färgning med BOND-systemet (som innefattar Leica BOND-MAX- och Leica BOND-III-systemet).

Lagring och stabilitet

Förvaras vid 2-8°C. Använd inte efter det utgångsdatum som finns angivet på behållarens etikett.

De tecken som indikerar kontaminering och/eller instabilitet hos CTLA-4 (CAL49) är: grumling av lösningen, utveckling av odör och närvaro av fällning. Återgå till 2-8°C direkt efter användning.

Lagringsförhållanden som skiljer sig från de ovan nämnda måste kontrolleras av användaren¹.

Försiktighetsåtgärder

- Produkten är avsedd för *in vitro*-diagnostik.
- Koncentrationen av ProClin™ 950 är 0,35 %. Det innehåller den aktiva beståndsdel 2-metylisotiazolin-3(2H)-on och kan orsaka irritation i huden, ögonen, slemhinnoerna och övre luftvägarna. Bär engångshandskar vid hantering av reagens.
- Du kan få en kopia av databladet för materialsäkerhet genom att kontakta en lokal distributör eller Leica Biosystems regionkontor eller också på Leica Biosystems webbplats, www.LeicaBiosystems.com

- Prover, både före och efter fixering, samt all materiel som exponeras för dem, bör behandlas och avfallshanteras som potentiellt smittbärande material. Munnpipetter aldrig reagens och undvik att hud eller slemhinnor kommer i kontakt med reagens eller prover. Om reagens eller prover skulle komma i kontakt med känsliga områden bör du tvätta dig med rikliga mängder vatten. Rådgör med läkare.
- Angående avfallshantering av potentiellt toxiska material hänvisar vi till gällande europeiska, nationella och lokala bestämmelser och förordningar.
- Minimera mikrobisk kontaminering av reagens annars kan en ökning av icke-specifierad färgning ske.
- Återvinning, inkubationstider eller temperaturer som avviker mot dem angivna kan ge felaktiga resultat. All sådan ändring måste bekräftas av användaren.

Bruksanvisning

CTLA-4 (CAL49) primär antikropp utvecklas för användning i det automatiska BOND-systemet (inkluderar Leica BOND-MAX-systemet och Leica BOND-III -systemet) i kombination med BOND Polymer Refine Detection. Det rekommenderade färgningsprotokollet för CTLA-4 (CAL49) primär antikropp är IHC Protocol F. Värmeinducerad epitopåtvättning rekommenderas med användning av BOND Epitope Retrieval Solution 2 (AR9640) i 20 minuter.

Förväntade resultat

Normala vävnader

Klon CAL49 detekterar CTLA-4-proteinet i cytoplasman/membranet hos en andel av immuncellerna. Färgning observerades i immunceller i de flesta vävnadstyper, särskilt i lymfkörtlar, tonsiller, mjälte och tymuskörtlar. Färgning observerades i celler i binjuremargen, acinära celler i bukspottkörteln, alveolära makrofager, enstaka celler i cerebellums vitsubstans och follikulära epitelceller i sköldkörteln. Svag färgning observerades i proximala tubuli i njurarna, leverhepatocytter och respiratoriskt epitel i struphuvudet. Färgning av urotelets basalmembran noterades i urinblåsan. (Totalt antal utvärderade normalfall = 124).

Tumörvävnader

Klon CAL49 färgade 1/11 brösttumörer (inklusive 1/7 invasiva duktaala carcinom, 0/2 fibroadenom, 0/1 mucinösa bröstkardinom och 0/1 invasiva lobulära carcinom), 1/5 sköldkörteltumörer (inklusive 1/1 follikulära carcinom, 0/3 follikulära adenom och 0/1 papillära sköldkörtelkardinom) och 1/4 hepatocellulära carcinom. Ingen färgning detekterades i endometriala tumörer (0/12) (inklusive 0/10 adenokarcinom, 0/1 klarcellskarcinom och 0/1 atypiska hyperplasier), tarmtumörer (0/8) (inklusive 0/6 adenokarcinom och 0/2 adenom), tumörer i huvud och hals (0/5) (inklusive 0/1 adenokarcinom, 0/1 nasofaryngeala carcinom, 0/1 skivepitelkarcinom, 0/1 adenoida cystiska karcinom och 0/1 adenom), metastaserande tumörer (0/5), hjärntumörer (0/4) (inklusive 0/3 meningiom och 0/1 astrocytom), lungtumörer (0/4) (inklusive 0/2 skivepitelkarcinom, 0/1 adenokarcinom och 0/1 smäcellskarcinom), skivepitelkarcinom i matstrupen (0/3), adenokarcinom i magsäcken (0/3), lymfom (0/3), äggstockstumörer (0/3) (inklusive 0/2 adenokarcinom och 0/1 granulosaacelltumörer), binjuretumörer (0/2) (inklusive ett adrenokortikal karcinom och ett adenom), övergångscellkarcinom i urinblåsan (0/2), bentumörer (0/2) (inklusive 0/1 osteosarkom och 0/1 kondrosarkom), renala klarcellskarcinom (0/2), adenokarcinom i prostata (0/2), seminom (0/2), skivepitelcancer i livmoderhalsen (0/2), ett melanom (0/1), ett adenokarcinom i bukspottkörteln (0/1), ett skivepitelkarcinom i huden (0/1) och en prostatahyperplasi (0/1). (Totalt antal utvärderade normala fall = 88)

CTLA-4 (CAL49) rekommenderas för detektering av humant CTLA-4-protein i normala eller neoplastiska vävnader, som tillägg till konventionell histopatologi med användande av icke-immunologiska histokemiska fläckar.

Produktspecifika begränsningar

CTLA-4 (CAL49) har optimerats hos Leica Biosystems för användning med BOND Polymer Refine Detection samt BOND-hjälpreagenser. Användare som avviker från rekommenderade testprocedurer måste ta ansvar för tolkningen av patientens resultat under sådana omständigheter. Protokolliderna kan variera beroende på variation i vävnadsfixering och effektiviteten av antigenförstärkning och måste bestämmas empiriskt. Negativa reagenskontroller bör användas vid optimering av återvinningsförhållanden och protokollider.

Felsökning

Se referens 3 för korrigerande åtgärder.

Kontakta en lokal distributör eller Leica Biosystems regionkontor för att rapportera normal infärgning.

Mer information

Mer information om immunfärgning med BOND-reagens finns under rubrikerna Förfarandeprincip, Nödvändiga materiel, Förbereda proxexmplet, Kvalitetskontroll, Verifiering av analyser, Tolka infärgningsresultat, Symbolförklaring för etiketter och Allmänna begränsningar i "Använda BOND-reagens" i din BOND användardokumentation.

Bibliografi

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Brown C, Sekhavati F, Cardenas R et al. CTLA-4 immunohistochemistry and quantitative image analysis for profiling of human cancers. Journal of Histochemistry and Cytochemistry. 2019; 67(6):901-918.
5. Buchbinder EI, Desai A. CTLA-4 and PD-1 Pathways. American Journal of Clinical Oncology. 2016; 39:98-106.
6. Chan DV, Gibson HM, Aufiero BM et al. Differential CTLA-4 expression in human CD4+ versus CD8+ T cells is associated with increased NFAT1 and inhibition of CD4+ proliferation. Genes & Immunity. 2015; 15:25 – 32.
7. McCoy K and Le Gros G. The role of CTLA-4 in the regulation of T cell immune responses. Immunology and Cell Biology. 1999; 77:1-10.
8. Castan J, Tenner-Racz K, Racz P et al. Accumulation of CTLA-4 expressing T lymphocytes in the germinal centres of human lymphoid tissues. Immunology. 1997; 90: 267-271.

Utgivningsdatum

03 april 2020

Έτοιμο για Χρήση Πρωτογενές Αντίσωμα BOND CTLA-4 (CAL49), 7mL

Αρ. καταλόγου: PA0181

Χρήση για την οποία Προορίζεται

Αυτό το αντιδραστήριο προορίζεται για διαγνωστική χρήση *in vitro*.

Το μονοκλωνικό αντίσωμα CTLA-4 (CAL49) προορίζεται για την ποιοτική ταυτοποίηση με μικροσκοπία φωτός της πρωτεΐνης CTLA-4 σε μονιμοποιημένο σε φορμόλη και ενσωματωμένο σε παραφίνη ιστό, με ανοσοϊστοχημική χρώση, με χρήση του αυτοματοποιημένου συστήματος BOND (περιλαμβάνει το σύστημα Leica BOND-MAX και το σύστημα Leica BOND-III).

Η κλινική ερμηνεία οποιασδήποτε χρώσης ή απουσίας της θα πρέπει να συμπληρώνεται από μορφολογικές μελέτες και κατάλληλους μάρτυρες και θα πρέπει να αξιολογείται στο πλαίσιο του κλινικού ιστορικού του ασθενούς και άλλων διαγνωστικών εξετάσεων από ειδικευμένο παθολόγο.

Σύνοψη και Επεξήγηση

Μπορούν να χρησιμοποιηθούν ανοσοϊστοχημικές τεχνικές για την κατάδειξη της παρουσίας ανιγόνων σε ιστό και κύτταρα (βλ. «Χρήση αντιδραστηρίων BOND» στο υλικό τεκμηρίωσης χρήσης της BOND). Το πρωτογενές αντίσωμα CTLA-4 (CAL49) είναι ένα έτοιμο για χρήση προϊόν που έχει βελτιστοποιηθεί ειδικά για χρήση με το BOND Polymer Refine Detection. Η κατάδειξη του CTLA-4 επιτυγχάνεται πρώτα, επιτρέποντας τη δέσμευση του CTLA-4 (CAL49) στην τομή και, κατόπιν, απεικονίζοντας τη δέσμευση αυτή με χρήση των αντιδραστηρίων που παρέχονται στο σύστημα ανίχνευσης. Η χρήση αυτών των προϊόντων, σε συνδυασμό με το αυτοματοποιημένο σύστημα BOND (περιλαμβάνει το σύστημα Leica BOND-MAX και το σύστημα Leica BOND-III), μειώνει την πιθανότητα του ανθρώπινου σφάλματος και την εγγενή ποικιλότητα που προκαλείται από αραίωση συγκεκριμένου αντιδραστηρίου, χειροκίνητη αναρρόφηση με πιπέτα και εφαρμογή αντιδραστηρίου.

Παρεχόμενα αντιδραστήρια

Το CTLA-4 (CAL49) είναι ένα μονοκλωνικό αντι-ανθρώπινο αντίσωμα κουνελίου που παράγεται ως υπερκείμενο ιστοκαλλιέργειας και παρέχεται σε αλατούχο ρυθμιστικό διάλυμα Tris με πρωτεΐνη φορέα που περιέχει 0,35% ProClin™ 950 ως συντηρητικό.

Συνολικός όγκος = 7 mL.

Κλώνος

CAL49

Σημείωση. Ο κλώνος CAL49 παρασκευάζεται και πωλείται κατόπιν άδειας από την Abcam Plc.

Ανοσογόνο

Συνθετικό πεπτιδίο που αντιστοιχεί σε ανθρώπινη CTLA-4 aa183-283.

Ειδικότητα

Ανθρώπινη πρωτεΐνη CTLA-4.

Τάξη Ig

IgG1

Ολική Συγκέντρωση Πρωτεΐνης

Περίπου 10 mg/mL.

Συγκέντρωση Αντισώματος

Μεγαλύτερη από ή ίση με 0,2 mg/L.

Αραίωση και ανάμιξη

Το πρωτογενές αντίσωμα CTLA-4 (CAL49) έχει αραιωθεί βέλτιστα για χρήση στο σύστημα BOND (περιλαμβάνει το σύστημα Leica BOND-MAX και το σύστημα Leica BOND-III). Δεν απαιτείται ανασύσταση, ανάμιξη, αραίωση ή ήπιοποίηση αυτού του αντιδραστηρίου.

Υλικά που Απαιτούνται Αλλά δεν Παρέχονται

Ανατρέξτε στην ενότητα «Χρήση αντιδραστηρίων BOND» στο υλικό τεκμηρίωσης χρήσης του BOND για μια πλήρη λίστα των υλικών που απαιτούνται για την κατεργασία δειγμάτων και την ανοσοϊστοχημική χρώση με τη χρήση του συστήματος BOND (περιλαμβάνει το σύστημα Leica BOND-MAX και το σύστημα Leica BOND-III).

Φύλαξη και Σταθερότητα

Φυλάσσετε το στους 2-8°C. Μη χρησιμοποιείτε μετά την ημερομηνία λήξης που υποδεικνύεται στην ετικέτα του περιέκτη.

Οι ενδείξεις που υποδηλώνουν μόλυνση ή/και αστάθεια του CTLA-4 (CAL49) είναι: θολερότητα του διαλύματος, ανάπτυξη σμής και παρουσία ιζήματος. Επαναφέρετε το προϊόν στους 2-8°C αμέσως μετά τη χρήση.

Συνθήκες φύλαξης διαφορετικές από εκείνες που καθορίζονται παραπάνω πρέπει να επαληθεύονται από τον χρήστη¹.

Προφυλάξεις

- Αυτό το προϊόν προορίζεται για διαγνωστική χρήση *in vitro*.
- Η συγκέντρωση του ProClin™ 950 είναι 0,35 %. Περιέχει το δραστικό συστατικό 2-μεθυλοσθειαιζολ-3(2H)-όνη και ενδέχεται να προκαλέσει ερεθισμό του δέρματος, των οφθαλμών, των βλεννογόνων και της ανώτερης αναπνευστικής οδού. Να φοράτε γάντια μιας χρήσης κατά τον χειρισμό των αντιδραστηρίων.

- Για να πάρετε αντίγραφο του Δελτίου Δεδομένων Ασφαλείας Υλικού, επικοινωνήστε με τον τοπικό σας διανομέα ή το τοπικό γραφείο της Leica Biosystems, ή εναλλακτικά, επισκεφθείτε τον Ιστότοπο της Leica Biosystems, www.LeicaBiosystems.com
- Τα δείγματα, πριν και μετά τη μονιμοποίηση, και όλα τα υλικά που εκτίθενται σε αυτά, θα πρέπει να αντιμετωπίζονται ως ικανά μετώδους λοίμωξης και θα πρέπει να απορρίπτονται λαμβάνοντας κατάλληλες προφυλάξεις2. Μην κάνετε ποτέ αναρρόφηση αντιδραστήριων με πιπέτα από το στόμα και αποφεύγετε την επαφή του δέρματος και των βλεννογόνων με αντιδραστήρια ή δείγματα. Εάν τα αντιδραστήρια ή τα δείγματα έλθουν σε επαφή με ευαίσθητες περιοχές, πλύνετε με άφρονες ποσότητες νερού. Ζητήστε τη συμβουλή ιατρού.
- Συμβουλευτείτε τους ομοσπονδιακούς, πολιτειακούς ή τοπικούς κανονισμούς για την απόρριψη οποιονδήποτε δυνητικώς τοξικών συστατικών.
- Ελαχιστοποιήστε τη μικροβιακή μόλυνση των αντιδραστήριων, διότι ενδέχεται να συμβεί αύξηση μη ειδικής χρώσης.
- Ανάκτηση, χρόνοι ή θερμοκρασίες επώασης διαφορετικές από αυτές που καθορίζονται ενδέχεται να δώσουν εσφαλμένα αποτελέσματα. Οποιαδήποτε παρόμοια αλλαγή πρέπει να επικυρωθεί από τον χρήστη.

Οδηγίες Χρήσης

Το πρωτογενές αντισωμα CTLA-4 (CAL49) αναπτύχθηκε για χρήση στο αυτοματοποιημένο σύστημα BOND (περιλαμβάνει το σύστημα Leica BOND-MAX και το σύστημα Leica BOND-III) σε συνδυασμό με το σύστημα ανίχνευσης BOND Polymer Refine Detection. Το συνιστώμενο πρωτόκολλο χρώσης για το πρωτογενές αντισωμα CTLA-4 (CAL49) είναι το IHC Protocol F. Συνιστάται ανάκτηση επιτόπου επαγόμενη με θερμότητα χρησιμοποιώντας το BOND Epitope Retrieval Solution 2 (AR9640) για 20 λεπτά.

Αναμενόμενα αποτελέσματα

Φυσιολογικοί ιστοί

Ο κλώνος CAL49 ανιχνεύει την πρωτεΐνη CTLA-4 στο κυτταρόπλασμα/τη μεμβράνη ενός ποσοστού των κυττάρων του ανοσοποιητικού. Παρατηρήθηκε χρώση εντός των κυττάρων του ανοσοποιητικού στους περισσότερους τύπους ιστών και ιδιαίτερα στους λεμφαδένες, τις αμυγδαλές, τον σπλήνα και τον θυμό αδένα. Παρατηρήθηκε χρώση στα κύτταρα εντός του μυελού των επινεφριδίων, τα κυψελοειδή κύτταρα του παγκρέατος, τα κυψελιδικά μακροφάγα, τα περιστασιακά κύτταρα της φαιάς ουσίας της παρεγκεφαλίδας και τα θυλακίδια επιθηλιακά κύτταρα του θυρεοειδούς. Παρατηρήθηκε ασθενής χρώση στους εγγύς σωληνίσκους του νεφρού, τα ηπατοκύτταρα και το αναπνευστικό επιθήλιο του λάρυγγα. Παρατηρήθηκε χρώση στη βασική μεμβράνη του ουροθηλίου στην ουροδόχο κύστη. (Συνολικός αριθμός φυσιολογικών περιστατικών που αξιολογήθηκαν = 124).

Όγκοι ιστών

Ο κλώνος CAL49 προκάλεσε χρώση σε 1/11 όγκους του μαστού (συμπεριλαμβανομένων 1/7 διηθητικών πορογενών καρκινωμάτων, 0/2 ιαδενωμάτων, 0/1 βλενωδούς καρκίνου του μαστού και 0/1 διηθητικό λοβιακό καρκίνωμα), 1/5 όγκους του θυρεοειδούς (συμπεριλαμβανομένων 1/1 θυλακίτιδους καρκινώματος, 0/3 θυλακίτιδους αδενωμάτων και 0/1 θηλώδους καρκινώματος του θυρεοειδούς) και 1/4 ηπατοκυτταρικά καρκινώματα. Δεν παρατηρήθηκε χρώση σε όγκους του ενδομητρίου (0/12) (συμπεριλαμβανομένων 0/10 αδενοκαρκινωμάτων, 0/1 διαυγοκυτταρικού καρκινώματος και 0/1 άτυπης υπερπλασίας), όγκους του εντέρου (0/8) (συμπεριλαμβανομένων 0/6 αδενοκαρκινωμάτων και 0/2 αδενωμάτων), όγκους της κεφαλής και του τραχήλου (0/5) (συμπεριλαμβανομένων 0/1 αδενοκαρκινώματος, 0/1 ρινοφαρυγγικού καρκινώματος, 0/1 καρκινώματος πλακωδών κυττάρων, 0/1 αδενοειδούς κυστικού καρκινώματος και 0/1 αδενώματος), μεταστατικούς όγκους (0/5), όγκους του εγκεφάλου (0/4) (συμπεριλαμβανομένων 0/3 μηνιγγιωμάτων και 0/1 αστροκυττώματος), όγκους του πνεύμονα (0/4) (συμπεριλαμβανομένων 0/2 καρκινωμάτων πλακωδών κυττάρων, 0/1 αδενοκαρκινώματος και 0/1 μικροκυτταρικού καρκινώματος), καρκίνωμα πλακωδών κυττάρων του οισοφάγου (0/3), αδενοκαρκινώματα του στομάχου (0/3), λέμφωμα (0/3), όγκους των ωοθηκών (0/3) (συμπεριλαμβανομένων 0/2 αδενοκαρκινωμάτων και 0/1 όγκο των κυττάρων της κοκκώδους στιβάδας), όγκους των επινεφριδίων (0/2) (συμπεριλαμβανομένων ενός φλοιοεπινεφριδικού καρκινώματος και ενός αδενώματος), καρκινώματα μεταβατικών κυττάρων της ουροδόχου κύστης (0/2), όγκους των οστών (0/2) (συμπεριλαμβανομένων 0/1 οστεοσαρκώματος και 0/1 χονδροσαρκώματος), διαυγοκυτταρικά καρκινώματα των νεφρών (0/2), αδενοκαρκινώματα του προστάτη (0/2), σεμινώματα (0/2), καρκινώματα πλακωδών κυττάρων του τραχήλου της μήτρας (0/2), ένα μελάνωμα (0/1), ένα αδενοκαρκίνωμα στο πάγκρεας (0/1), ένα καρκίνωμα πλακωδών κυττάρων του δέρματος (0/1) και μια υπερπλασία του προστάτη (0/1). (Συνολικός αριθμός μη φυσιολογικών περιστατικών που αξιολογήθηκαν = 88).

Το CTLA-4-CAL49 συνιστάται για την ανίχνευση της ανθρώπινης πρωτεΐνης CTLA-4 σε φυσιολογικούς και νεοπλασματικούς ιστούς, ως συμπλήρωμα της συμβατικής ιστοπαθολογίας χρησιμοποιώντας μη ανοσολογικές ιστοχημικές χρώσεις.

Περιορισμοί που Αφορούν ειδικά το Προϊόν

Το CTLA-4 (CAL49) έχει βελτιστοποιηθεί στη Leica Biosystems για χρήση με το BOND Polymer Refine Detection και τα βοηθητικά αντιδραστήρια BOND. Οι χρήστες που παρεκκλίνουν από τις προτεινόμενες διαδικασίες εξέτασης πρέπει να αναλάβουν την ευθύνη για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων των ασθενών υπό αυτές τις συνθήκες. Οι χρόνοι του πρωτοκόλλου μπορεί να διαφέρουν λόγω της διαφοροποίησης στη μονιμοποίηση του ιστού και την αποτελεσματικότητα της ενίσχυσης του αντιγόνου και πρέπει να προσδιορίζονται εμπειρικά. Για τη βελτιστοποίηση των συνηθών ανάκτησης και των χρόνων του πρωτοκόλλου θα πρέπει να χρησιμοποιούνται αντιδραστήρια ως αρνητικοί μάρτυρες.

Αντιμετώπιση προβλημάτων

Ανατρέξτε στην παραπομπή 3 για διορθωτικές ενέργειες.

Επικοινωνήστε με τον τοπικό διανομέα ή το τοπικό γραφείο της Leica Biosystems για να αναφέρετε ασυνήθιστη χρώση.

Πρόσθετες πληροφορίες

Μπορείτε να βρείτε περισσότερες πληροφορίες σχετικά με την ανοσοχρώση με αντιδραστήρια BOND, υπό τους τίτλους «Αρχή της Διαδικασίας», «Απαιτούμενα υλικά», «Προετοιμασία Δείγματος», «Ποιοτικός Έλεγχος», «Επαλήθευση Προσδιορισμού», «Ερμηνεία της Χρώσης», «Υπόμνημα για τα σύμβολα στις ετικέτες» και «Γενικοί Περιορισμοί» στην ενότητα «Χρήση αντιδραστήριων BOND» στο υλικό τεκμηρίωσης χρήσης της BOND.

Βιβλιογραφία

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Brown C, Sekhavati F, Cardenes R et al. CTLA-4 immunohistochemistry and quantitative image analysis for profiling of human cancers. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. 2019; 67(6):901-918.
5. Buchbinder EI, Desai A. CTLA-4 and PD-1 Pathways. *American Journal of Clinical Oncology*. 2016; 39:98-106.
6. Chan DV, Gibson HM, Aufiero BM et al. Differential CTLA-4 expression in human CD4+ versus CD8+ T cells is associated with increased NFAT1 and inhibition of CD4+ proliferation. *Genes & Immunity*. 2015; 15:25 – 32.
7. McCoy K and Le Gros G. The role of CTLA-4 in the regulation of T cell immune responses. *Immunology and Cell Biology*. 1999; 77:1-10.
8. Castan J, Tenner-Racz K, Racz P et al. Accumulation of CTLA-4 expressing T lymphocytes in the germinal centres of human lymphoid tissues. *Immunology*. 1997; 90: 267-271.

Ημερομηνία έκδοσης

03 Απριλίου 2020

Det primære brugsklare BOND-antistof

CTLA-4 (CAL49), 7 ml

Katalog nr.: PA0181

Tiltænkt brug

Denne reagens er beregnet til *in vitro*-diagnostik.

CTLA-4 (CAL49)-monoklonalt antistof er beregnet til kvalitativ identifikation ved hjælp af lysmikroskopi af CTLA-4-protein i formalinfikseret, paraffinindlejret væv ved immunohistokemisk farvning ved brug af det automatiske BOND-system (herunder Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet).

Den kliniske tolkning af farvning eller fravær deraf skal komplementeres af morfologiske undersøgelser og passende kontroller, og skal bedømmes inden for konteksten af patientens kliniske historie og andre diagnostiske tests foretaget af en kvalificeret patolog.

Oversigt og forklaring

Immunhistokemiske teknikker kan anvendes til at påvise tilstedeværelse af antigener i væv og celler (se "Anvendelse af BOND-reagenser" i BOND-brugerdokumentationen). CTLA-4 (CAL49) primært antistof er et brugsklart produkt, som er blevet optimeret specielt til brug sammen med BOND Polymer Refine Detection. Påvisningen af humant CTLA-4-protein sker ved først at tillade, at CTLA-4 (CAL49) bindes til snittet, og derefter visualisere denne binding ved hjælp af de reagenser, der følger med detektionssystemet. Anvendelse af disse produkter sammen med det automatiske BOND-system (inkluderer Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet) nedsætter muligheden for menneskelige fejl og iboende variabilitet som følge af individuel fortynding af reagenser, manuel pipettering og tilsætning af reagenser.

Leverede reagenser

CTLA-4 (CAL49) er et antihumant monoklonalt antistof fra kaniner, produceret som en vævskultursupernatant, og leveret i Tris-bufferjusteret saltvandsopløsning med bæreprøtein indeholdende 0,35 % ProClin™ 950 som konserveringsmiddel.

Total volumen = 7 ml.

Klon

CAL49

N.B. Clone CAL49 fremstilles af og sælges under licens fra Abcam Plc.

Immunogen

Syntetisk peptid, der svarer til menneskelig CTLA-4 aa183-283.

Specifitet

Humant CTLA-4-protein.

Ig-klasse

IgG1

Total proteinkoncentration

Ca. 10 mg/ml

Antistofkoncentration

Større end eller lig med 0,2 mg/l.

Fortynding og blanding

CTLA-4 (CAL49) primært antistof er fortyndet optimalt med henblik på brug i BOND-systemet (inkluderer Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet). Genopløsning, blanding, fortynding eller titrering af dette reagens er ikke nødvendig.

Nødvendige materialer, der ikke er vedlagt

Se "Anvendelse af BOND-reagenser" i BOND-brugerdokumentationen for en komplet liste over de materialer, der skal anvendes til prøvebehandling og immunhistokemisk farvning ved brug af BOND-systemet (inkluderer Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet).

Opbevaring og stabilitet

Opbevar ved 2-8°C. Må ikke anvendes efter udløbsdatoen, der er angivet på beholderens etiket.

Tegn, der tyder på kontaminering og/eller ustabilitet af CTLA-4 (CAL49) er: turbiditet af opløsningen, lugtvækling og tilstedeværelse af udfældning. Returner til 2-8°C umiddelbart efter brug.

Andre opbevaringsforhold end dem, der er specificeret herover, skal verificeres af brugeren¹.

Forholdsregler

- Dette produkt er beregnet til *in vitro*-diagnostik.
- Koncentrationen af ProClin™ 950 er 0,35 %. Det indeholder den aktive ingrediens 2-metylisotiazolin-3(2H)-one og kan forårsage irritation på hud, øjne, slimhinder og øvre luftveje. Brug engangshandsker ved håndtering af reagenser.
- Hvis du ønsker et eksemplar af materialesikkerhedsdatabladet, kan du kontakte din lokale forhandler eller Leica Biosystems' regionskontor eller besøge Leica Biosystems' hjemmeside på www.LeicaBiosystems.com
- Prøver, før og efter fiksering, og alle materialer som udsættes for dem, skal behandles som om de kan overføre smitte og afskaffes i henhold til de korrekte forholdsregler². Foretag aldrig pipettering med munden, og undgå at kontakte følsomme områder og

slimhinder med reagenser eller prøver. Hvis reagenser eller prøver kommer i kontakt med følsomme områder, skal der skylles med rigelige mængder vand. Søg lægehjælp.

- Bortskaffelse af potentielt toksiske komponenter skal ske i henhold til statslig eller lokal lovgivning.
- Mikrobiel kontamination af reagenser skal minimeres for at undgå en øget uspecifik farvning.
- Genfindning, inkubationstider eller temperaturer, der afviger fra de specificerede, kan give fejlagtige resultater. En eventuel sådan ændring skal valideres af brugeren.

Brugsanvisning

CTLA-4 (CAL49) primært antistof er udviklet med henblik på brug i det automatiske BOND-system (omfatter Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet) kombineret med BOND Polymer Refine Detection. Den anbefalede farvningsprotokol for CTLA-4 (CAL49) primært antistof er IHC Protocol F. Varmefremkaldt epitophentning anbefales ved hjælp af BOND Epitope Retrieval Solution 2 (AR9640) i 20 minutter.

Forventede resultater

Normalt væv

Clone CAL49 registrerer CTLA-4-proteinet i cytoplasmaen/membranen i en andel af immunceller. Farvning blev observeret i immunceller i de fleste vævstyper og især i lymfeknuder, mandler, milt og thymuskirtel. Farvning blev observeret i celler i binyremedulla, bugspytkirtelacinarceller, alveolære makrofager, lejlighedsvis celler i det hvide stof i cerebellum og follikulære epitelceller i skjoldbruskkirtlen. Svag farvning blev observeret i proksimale tubulier i nyrene, leverhepatocytter og respiratorisk epitel i strubehovedet. Farvning af urotelbundmembranen blev observeret i blæren. (Samlet antal normale tilfælde, der blev evalueret = 124).

Tumorer

Clone CAL49-farvede 1/11 brysttumorer (inklusive 1/7 invasiv ductalt karcinom, 0/2 fibroadenomer, 0/1 slimhindebrystkræft og 0/1 invasiv lobulært karcinom), 1/5 skjoldbruskkirteltumorer (inklusive 1/1 follikulært karcinom, 0/3 follikulære adenomer og 0/1 papillær skjoldbruskkirtelkarcinom) og 1/4 hepatocellulære karcinomer. Der blev ikke påvist farvning i endometrielle tumorer (0/12) (herunder 0/10 adenokarcinomer, 0/1 klarcellekarcinom og 0/1 atypisk hyperplasi), tarmtumorer (0/8) (herunder 0/6 adenokarcinomer og 0/2 adenomer), hoved- og halstumorer (0/5) (herunder 0/1 adenokarcinom, 0/1 nasopharyngeal karcinom, 0/1 pladecellekarcinom, 0/1 adenoid cystisk karcinom og 0/1 adenoma), metastatiske tumorer (0/5), hjernetumorer (0/4) (inklusive 0/3 meningiomas og 0/1 astrocytoma), lungetumorer (0/4) (inklusive 0/2 pladecellekarcinomer, 0/1 adenokarcinom og 0/1 lille cellekarcinom), pladecellekarcinom i spiserøret (0/3), adenokarcinomer i maven (0/3), lymfom (0/3), tumorer i æggestokkene (0/3) (herunder 0/2 adenokarcinomer og 0/1 granulosaacelletumor), binyretumorer (0/2) (herunder et adrenokortikalt karcinom og et adenom), overgangscellekarcinomer i blæren (0/2), knogletumorer (0/2) (herunder 0/1 osteosarkom og 0/1 chondrosarcoma), clearcellekarcinomer i nyre (0/2), prostatisk adenokarcinom (0/2), seminomer (0/2), pladecellekarcinomer i livmoderhalsen (0/2), et melanom (0/1), et adenokarcinom i bugspytkirtlen (0/1), en pladecellekarcinom i huden (0/1) og en prostatahyperplasi (0/1). (Samlet antal evaluerede, abnorme tilfælde = 88)

CTLA-4-CAL49 anbefales til påvisning af humant CTLA-4-protein i normale og neoplastiske væv, som et hjælpemiddel til traditionel histopatologi ved brug af ikke-immunologiske histokemiske farvninger.

Produktspecifikke begrænsninger

CTLA-4 (CAL49) er blevet optimeret hos Leica Biosystems til brug sammen med BOND Polymer Refine Detection og BOND-hjælperagenser. Brugere, som afviger fra anbefalede testprocedurer, må selv tage ansvaret for tolkningen af patientresultater under disse betingelser. Protokolliderne kan variere pga. variationer i vævsfiksering og effektiviteten af antigenforstærkningen og skal bestemmes empirisk. Der skal anvendes negative reagenskontroller ved optimering af hentningsforhold og protokollider.

Fejlfinding

Se reference 3 for afhjælpende handlinger.

Kontakt den lokale forhandler eller Leica Biosystems' regionale kontor for at rapportere usædvanlig farvning.

Yderligere oplysninger

Yderligere oplysninger om immunfarvning med BOND-reagenser kan findes under overskrifterne Procedureprincip, Nødvendige materialer, klargøring af prøver, Kvalitetskontrol, Analyseverifikation, Tolkning af farvning. Nøgle til symboler på etiketter og Generelle begrænsninger i "Anvendelse af BOND-reagenser" i brugerdokumentationen til BOND-systemet.

Litteraturliste

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Brown C, Sekhavati F, Cardenes R et al. CTLA-4 immunohistochemistry and quantitative image analysis for profiling of human cancers. Journal of Histochemistry and Cytochemistry. 2019; 67(6):901-918.
5. Buchbinder EI, Desai A. CTLA-4 and PD-1 Pathways. American Journal of Clinical Oncology. 2016; 39:98-106.
6. Chan DV, Gibson HM, Aufiero BM et al. Differential CTLA-4 expression in human CD4+ versus CD8+ T cells is associated with increased NFAT1 and inhibition of CD4+ proliferation. Genes & Immunity. 2015; 15:25 – 32.
7. McCoy K and Le Gros G. The role of CTLA-4 in the regulation of T cell immune responses. Immunology and Cell Biology. 1999; 77:1-10.
8. Castan J, Tenner-Racz K, Racz P et al. Accumulation of CTLA-4 expressing T lymphocytes in the germinal centres of human lymphoid tissues. Immunology. 1997; 90: 267-271.

Udgivelsesdato

03 april 2020

BOND gebruiksklaar primair antilichaam CTLA-4 (CAL49), 7mL

Catalogusnr.: PA0181

Beoogd gebruik

Dit reagens is voor gebruik bij diagnose *in vitro*.

CTLA-4 (CAL49) monoklonaal antilichaam is bedoeld om te worden gebruikt voor de kwalitatieve identificatie, met behulp van lichtmicroscopie, van CTLA-4-eiwit in formaline gefixeerd en in paraffine ingebed weefsel door middel van immunohistochemische kleuringen met het geautomatiseerde BOND-systeem (waaronder het Leica BOND-MAX-systeem en het Leica BOND-III-systeem). De klinische interpretatie van een kleuring of de afwezigheid hiervan moet worden aangevuld met morfologische studies en de juiste controles. Ook moeten er evaluaties worden uitgevoerd binnen de context van de klinische voorgeschiedenis van de patiënt en andere diagnostische tests uitgevoerd door een bevoegd patholoog.

Samenvatting en toelichting

Immunohistochemische technieken kunnen gebruikt worden om de aanwezigheid van antigenen in weefsel en cellen aan te tonen (zie 'Using BOND Reagents' (BOND-reagentia gebruiken) in de gebruikersdocumentatie van BOND). CTLA-4 (CAL49) primair antilichaam is een gebruiksklaar product dat speciaal voor gebruik met BOND Polymer Refine Detection is geoptimaliseerd. Humaan CTLA-4-eiwit wordt aangeleverd door eerst CTLA-4 (CAL49) aan de coupe te laten binden en daarna die binding te visualiseren met behulp van de reagentia die in het detectiesysteem worden geleverd. Het gebruik van deze producten in combinatie met het geautomatiseerde BOND-systeem (inclusief het Leica BOND-MAX-systeem en het Leica BOND-III-systeem) verkleint de kans op menselijke fouten en de daaraan inherente variabiliteit als gevolg van het afzonderlijk verdunnen van reagentia, het handmatig pipetteren en het handmatig toevoegen van reagentia.

Geleverde reagentia

CTLA-4 (CAL49) is een antihumaan monoklonaal konijnantilichaam dat wordt geproduceerd als supernatant van weefselweek en wordt geleverd in tris-gebufferde zoutoplossing met dragereiwit, met als conserveringsmiddel 0,35% ProClin™ 950.

Totaal volume = 7 ml.

Kloon

CAL49

N.B. Kloon CAL49 wordt geproduceerd en verkocht onder licentie door Abcam Plc.

Immunogeen

Synthetische peptide dat overeenkomt met humaan CTLA-4 aa183-283.

Specificiteit

Humaan CTLA-4-eiwit.

Ig-klasse

IgG1

Totale eiwitconcentratie

Ongeveer 10 mg/ml

Antilichaamconcentratie

Groter dan of gelijk aan 0,2 mg/L.

Verdunnen en mengen

CTLA-4 (CAL49) primair antilichaam is optimaal verdund voor gebruik op het BOND-systeem (waaronder het Leica BOND-MAX-systeem en het Leica BOND-III-systeem). Reconstitutie, menging, verdunning of titratie van dit reagens is niet nodig.

Benodigde, maar niet meegeleverde materialen

Zie 'Using BOND Reagents' (BOND-reagentia gebruiken) in de gebruikersdocumentatie van BOND voor een volledige lijst van de materialen die nodig zijn voor monsterbehandeling en immunohistochemische kleuring met het BOND-systeem (inclusief het Leica BOND-MAX-systeem en het Leica BOND-III-systeem).

Opslag en stabiliteit

Bewaren bij 2-8°C. Niet gebruiken na de vervaldatum die op het label van de container staat.

De tekenen die duiden op verontreiniging en/of instabiliteit van CTLA-4 (CAL49) zijn: vertroebeling van de oplossing, geurontwikkeling en aanwezigheid van precipitaat. Plaats het product direct na gebruik weer terug bij een temperatuur van 2-8°C.

Andere dan de hierboven genoemde opslagcondities moeten door de gebruiker worden geverifieerd¹.

Voorzorgsmaatregelen

- Dit product is bedoeld voor gebruik bij diagnose *in vitro*.
- De concentratie ProClin™ 950 is 0,35 %. Het bevat het werkzame bestanddeel 2-methylisothiazol-3(2H)-one en kan irritatie van de huid, ogen, slijmvliezen en bovenste luchtwegen veroorzaken. Draag wegwerphandschoenen bij het hanteren van reagentia.
- Neem voor het bijbehorende veiligheidsinformatieblad contact op met uw lokale distributeur of het regionale kantoor van Leica Biosystems, of ga naar de website van Leica Biosystems, www.LeicaBiosystems.com

- Specimens, vóór en na fixatie, en alle materiaal dat hieraan is blootgesteld, moeten worden behandeld als potentiële overdragers van infecties en volgens de juiste voorzorgsmaatregelen worden verwerkt. 2 Pipetteer reagentia nooit met de mond en vermijd contact van de huid en slijmvliezen met reagentia of monsters. Indien reagentia of monsters in aanraking komen met gevoelige gebieden, moet u deze wassen met een overvloedige hoeveelheid water. Raadpleeg een arts.
- Raadpleeg de nationale, regionale en plaatselijke voorschriften voor de afvoer van alle potentieel giftige stoffen.
- Minimaliseer de kans op microbiële contaminatie van reagentia omdat hierdoor de niet-specifieke kleuring kan toenemen.
- Andere hersteltijden, incubatietijden of temperaturen dan vermeld, kunnen onjuiste resultaten opleveren. Dergelijke wijzigingen moeten door de gebruiker worden gevalideerd.

Gebruiksaanwijzing

CTLA-4 (CAL49) primair antilichaam is ontwikkeld voor gebruik op het geautomatiseerde BOND-systeem (waaronder het Leica BOND-MAX-systeem en het Leica BOND-III-systeem) in combinatie met BOND Polymer Refine Detection. Het aanbevolen kleuringsprotocol voor CTLA-4 (CAL49) primair antilichaam is IHC Protocol F. Warmte-geïnduceerd epitooferstel wordt aanbevolen met gebruik van BOND Epitope Retrieval Solution 2 (AR9640) gedurende 20 minuten.

Verwachte resultaten

Normale weefsels

Kloon CAL49 detecteerde het CTLA-4-eiwit in het cytoplasma of membraan van een deel van de immuuncellen. Kleuring werd waargenomen binnen immuuncellen in de meeste weefseltypen, en in het bijzonder in de lymfeklieren, amandelen, milt en thymusklier. Kleuring werd waargenomen in cellen binnen de bijniarmedulla, acinuscellen van de pancreas, alveolaire macrofagen, incidenteel cellen in de witte stof van het cerebellum en folliculaire epitheelcellen van de schildklier. Zwakke kleuring werd waargenomen in de proximale tubuli van de nier, leverhepatocyten en ademhalingsepitheel van de larynx. Kleuring van het basale urotheelmembraan werd in de blaas waargenomen. (Totaal aantal beoordeelde normale gevallen = 124.)

Tumorweefsels

Kloon CAL49 kleurde 1/11 borsttumoren (waaronder 1/7 invasieve ductale carcinomen, 0/2 mucineuze borstkanker en 0/1 invasief lobulair carcinoom), 1/5 schildklier tumoren (waaronder 1/1 folliculair carcinoom, 0/3 folliculaire adenomen en 0/1 papillair carcinoom van de schildklier) en 1/4 hepatocellulaire carcinomen. Er werd geen kleuring waargenomen in tumoren van het endometrium (0/12) (waaronder 0/10 adenocarcinomen, 0/1 'clear cell'-carcinoom, en 0/1 atypische hyperplasie), darmtumoren (0/8) (waaronder 0/6 adenocarcinomen en 0/2 adenomen), tumoren van het hoofd en de nek (0/5) (waaronder 0/1 adenocarcinoom, 0/1 nasofarynxcarcinoom, 0/1 plaveiselcelcarcinoom, 0/1 adenoïde cystisch carcinoom en 0/1 adenoom), gemetastaseerde tumoren (0/5), hersentumoren (0/4) (waaronder 0/3 meningiomen en 0/1 astrocytoom), longtumoren (0/4) (waaronder 0/2 plaveiselcelcarcinomen, 0/1 adenocarcinoom en 0/1 kleincellig carcinoom), plaveiselcelcarcinoom van de oesofagus (0/3), adenocarcinomen van de maag (0/3), lymfoom (0/3), eierstoktumoren (0/3) (waaronder 0/2 adenocarcinomen en 0/1 granulosaactumtor), bijniertumoren (0/2) (waaronder een bijnierschorcinoom en een adenoom), overgangscelcarcinomen van de blaas (0/2), bottumoren (0/2) (waaronder 0/1 osteosarcoom en 0/1 chondrosarcoom), 'clear cell'-niercarcinomen (0/2), prostaatadenocarcinomen (0/2), seminomen (0/2), plaveiselcelcarcinomen van de cervix (0/2), een melanoom (0/1), een adenocarcinoom van de pancreas (0/1), een plaveiselcelcarcinoom van de huid (0/1) en een prostaathyperplasie (0/1). (Totaal aantal afwijkende gevallen dat werd geëvalueerd = 88)

CTLA-4 (CAL49) wordt aanbevolen voor het detecteren van CTLA-4-eiwit in normaal en neoplastische weefsels, als aanvulling op conventionele histopathologie waarbij niet-immunologische histochemische kleuringen worden gebruikt.

Productspecifieke beperkingen

CTLA-4 (CAL49) is door Leica Biosystems geoptimaliseerd voor gebruik met BOND Polymer Refine Detection en BOND-hulpagentia. Gebruikers die afwijken van de aanbevolen testprocedures moeten de verantwoordelijkheid aanvaarden voor de interpretatie van patiëntresultaten verkregen onder deze omstandigheden. Protocoltijden kunnen variëren door variatie in weefselfixatie en de effectiviteit van antigeenversterking, en moeten empirisch worden bepaald. Bij het optimaliseren van de herstelcondities en de protocoltijden moeten negatieve reagenscontroles worden gebruikt.

Probleemoplossing

Raadpleeg referentie 3 voor herstelacties.

Neem contact op met uw lokale distributeur of het regionale kantoor van Leica Biosystems om ongebruikelijke kleuring te melden.

Overige informatie

Meer informatie over immunokleuring met BOND-reagentia vindt u onder de titels Principle of the procedure (Principe van de procedure), Materials required (Benodigde materialen), Specimen preparation (Monsterpreparatie), Quality control (Kwaliteitscontrole), Assay verification (Verificatie van de assay), Interpretation of staining (Interpretatie van de kleuring), Key to symbols on labels (Verklaring van symbolen op etiketten) en General limitations (Algemene beperkingen) in 'Using BOND Reagents' (BOND-reagentia gebruiken) in de gebruikersdocumentatie van BOND.

Literatuurlijst

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Brown C, Sekhavati F, Cardenes R et al. CTLA-4 immunohistochemistry and quantitative image analysis for profiling of human cancers. Journal of Histochemistry and Cytochemistry. 2019; 67(6):901-918.
5. Buchbinder EI, Desai A. CTLA-4 and PD-1 Pathways. American Journal of Clinical Oncology. 2016; 39:98-106.
6. Chan DV, Gibson HM, Aufiero BM et al. Differential CTLA-4 expression in human CD4+ versus CD8+ T cells is associated with increased NFAT1 and inhibition of CD4+ proliferation. Genes & Immunity. 2015; 15:25 – 32.

7. McCoy K and Le Gros G. The role of CTLA-4 in the regulation of T cell immune responses. *Immunology and Cell Biology*. 1999; 77:1-10.
8. Castan J, Tenner-Racz K, Racz P et al. Accumulation of CTLA-4 expressing T lymphocytes in the germinal centres of human lymphoid tissues. *Immunology*. 1997; 90: 267-271.

Datum uitgave

03 april 2020

BOND primært antistoff klart til bruk

CTLA-4 (CAL49), 7 ml

Katalognr.: PA0181

Tiltenkt bruk

Denne reagensen er til *in vitro*-diagnostisk bruk.

CTLA-4 (CAL49) monoklonalt antistoff skal brukes til kvalitativ identifisering med lysmikroskopering av humant CTLA-4-protein i formalinfiksert, parafinnstøpt vev med immunhistokjemisk farging ved bruk av det automatiserte BOND-systemet (herunder Leica BOND-MAX -systemet og Leica BOND-III-systemet).

Den kliniske tolkningen av enhver farging eller fravær av farging skal understøttes av morfologiske studier og gode kontroller og skal evalueres i sammenheng med pasientens sykehistorie og andre diagnostiske tester av en kvalifisert patolog.

Sammendrag og forklaring

Immunhistokjemiske teknikker kan brukes til å vise tilstedeværelse av antigener i vev og celler (se "Bruk av BOND-reagenser" i brukerdokumentasjonen for BOND-systemet). Det primære antistoffet CTLA-4 (CAL49) er et produkt som er klart for bruk og spesielt optimalisert for bruk sammen med BOND Polymer Refine Detection. Påvisningen av det humane CTLA-4-proteinet oppnås ved først å la CTLA-4 (CAL49) binde seg til snittet, for deretter å visualisere bindingsprosessen ved hjelp av reagensene som brukes i deteksjonssystemet. Ved å bruke disse produktene i kombinasjon med det automatiserte BOND-systemet (herunder Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet) reduseres muligheten for menneskelig feil og iboende variabilitet som følge av individuell reagensfortynning, manuell pipettering og reagenspåføring.

Medfølgende reagenser

CTLA-4 (CAL49) er et antihumant monoklonalt antistoff fra mus som er produsert som vevskultur supernatant, og leveres i tris-buffret saltvann med bærepotein med 0,35 % ProCin™ 950 som konserveringsmiddel.

Totalvolum = 7 ml.

Klon

CAL49

N.B. Klone CAL49 er produsert av og solgt på lisens fra Abcam Plc.

Immunogen

Syntetisk peptid som tilsvarer human CTLA-4 aa183-283.

Spesifisitet

Humant CTLA-4-protein.

Ig-klasse

IgG1

Total proteinkonsentrasjon

Ca. 10 mg/ml

Antistoffkonsentrasjon

Større enn eller lik 0,2 mg/l.

Fortynning og blanding

Det primære antistoffet CTLA-4 (CAL49) er optimalt fortynnet for bruk med BOND-systemet (herunder Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet). Rekonstitusjon, blanding, fortynning eller titrering av denne reagensen er ikke nødvendig.

Nødvendige materialer som ikke følger med

Se "Bruk av BOND-reagenser" i BOND-brukerdokumentasjonen for å finne en fullstendig liste over materialer som trengs for prøvebehandling og immunhistokjemisk farging ved bruk av BOND-systemet (herunder Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet).

Oppbevaring og stabilitet

Oppbevares ved 2-8°C. Må ikke brukes etter utløpsdatoen angitt på beholderens etikett.

Tegnene som indikerer kontaminering og/eller ustabilitet i CTLA-4 (CAL49), er: turbiditet av løsningen, luktutvikling og tilstedeværelse av bunnfall. Returner til 2-8°C umiddelbart etter bruk.

Andre oppbevaringsforhold enn de som er angitt ovenfor må verifiseres av brukeren¹.

Sikkerhetsforanstaltninger

- Dette produktet er beregnet for *in vitro*-diagnostisk bruk.
- Konsentrasjonen av ProCin™ 950 er 0,35 %. Det inneholder den aktive ingrediensen 2-metylisotiazolin-3(2H)-on, og kan forårsake irritasjon på hud, øyne, slimhinner og øvre luftveier. Bruk engangshansker ved håndtering av reagenser.
- For å få en kopi av sikkerhetsdatabladet kan du ta kontakt med den lokale forhandleren eller regionskontoret til Leica Biosystems, eller alternativt gå til Leica Biosystems' nettside, www.LeicaBiosystems.com

- Prøver, før og etter fiksering, og alle materialer som er utsatt for dem, skal behandles som om de kan overføre smitte og avhendes med riktige forholdsregler. Reagenser skal aldri pipetteres med munnen, og unngå at reagenser eller prøvematerialer kommer i kontakt med hud eller slimhinner. Hvis reagenser eller prøver kommer i kontakt med følsomme områder, skyll med rikelige mengder vann. Kontakt lege.
- Se lokale, regionale eller statlige forskrifter for avfallshåndtering av eventuelle potensielle giftkomponenter.
- Minimer mikrobiell kontaminering av reagenser, ellers kan det forekomme en økning i uspesifikk farging.
- Demaskering, inkuberingstider eller temperaturer annet enn det som er angitt, kan gi unøyaktige resultater. Enhver slik endring må valideres av brukeren.

Bruksanvisning

CTLA-4 (CAL49) primært antistoff er optimalt utviklet til bruk på BOND-systemet (inkluderer Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet) i kombinasjon med BOND Polymer Refine Detection. Anbefalt fargingsprotokoll for CTLA-4 (CAL49) primært antistoff er IHC Protocol F. Det anbefales varmeindusert epitop demaskering ved bruk av BOND Epitope Retrieval Solution 2 (AR9640) i 20 minutter.

Forventede resultater

Normale vev

Klone CAL49 oppdager CTLA-4-proteinet i cytoplasma/membranen av en andel immunceller. Farging ble observert i immunceller i de fleste vevstyper, og spesielt i lymfeknute, mandel, milt og brissel. Farging ble observert i celler i binyremedulla, acinære celler i bukspyttkjertelen, alveolære makrofager, sporadiske celler i det hvite stoffet i lillehjernen og follikulære epitelceller i skjoldbruskkjertelen. Svak farging ble observert i proksimale tubuli i nyren, hepatocytter i lever og respirasjonsepitel i strupehodet. Farging av urotelial kjellermembran ble observert i blæren. (Totalt antall normale tilfeller evaluert = 124).

Tumorvev

Klone CAL49 farget 1/11 brysttumorer (herunder 1/7 invasive ductale karsinom, 0/2 fibroadenomer, 0/1 micunøs brystkreft og 0/1 invasiv lobulært karsinom), 1/5 tumori skjoldbruskkjertelen (herunder 1/1 follikulært karsinom, 0/3 follikulære adenomer og 0/1 papillært thyroideakarsinom) og 1/4 hepatocellulære karsinomer. Ingen farging ble oppdaget i tumorer i endometrium (0/12) (herunder 0/10 adenokarsinomer, 0/1 klarcellekarsinom, og 0/1 atypisk hyperplasi), tarmsvulster (0/8) (herunder 0/6 adenokarsinomer og 0/2 adenomer), hode- og nakketumorer (0/5) (herunder 0/1 adenokarsinom, 0/1 nasofaryngealt karsinom, 0/1 plateepitelkarsinom, 0/1 adenoid cystisk karsinom og 0/1 adenom), metastatiske tumorer (0/5), hjerneturorer (0/4) (herunder 0/3 meningiomer og 0/1 astrocytom), lungetumorer (0/4) (herunder 0/2 plateepitelkarsinom, 0/1 adenokarsinom og 0/1 småcellekarsinom), plateepitelkarsinom i spiserøret (0/3), adenokarsinomer i magen (0/3), lymfom (0/3), tumorer i eggstokkene (0/3) (herunder 0/2 adenokarsinomer og 0/1 granulosa-celletumor), tumorer i binyre (0/2) (inkludert et adrenokortikal karsinom og et adenom), overgangscellekarsinomer i blæren (0/2), bentumorer (0/2) (herunder 0/1 osteosarkom og 0/1 kondrosarkom), nyreklarcellekarsinomer (0/2), prostaticke adenokarsinomer (0/2), seminomer (0/2), plateepitelkarsinomer i livmorhalsen (0/2), et melanom (0/1), et adenokarsinom i bukspyttkjertelen som (0/1), en plateepitelkarsinom i huden (0/1) og en prostatahyperplasi (0/1). (Totalt antall unormale tilfeller evaluert = 88)

CTLA-4 (CAL49) anbefales for deteksjon av CTLA-4-protein i normale og neoplastiske vev, som tillegg til konvensjonell histopatologi med bruk av ikke-immunologiske histokjemiske farger.

Produktspesifikke begrensninger

CTLA-4 (CAL49) har blitt optimalisert hos Leica Biosystems til bruk med BOND Polymer Refine Detection og BOND-hjelpereagenser. Brukere som avviker fra de anbefalte testprosedyrene, må ta ansvaret for tolkningen av pasientresultatene under disse forholdene. Protokollidene kan variere pga. variasjon i vevsfiksering og effektiviteten til antigenforsterkningen, og må fastslås empirisk. Det skal brukes negative reagenskontroller når demaskeringsforhold og protokollider optimeres.

Feilsøking

Se referanse 3 for utbedringstiltak.

Kontakt din lokale forhandler eller regionale kontor for Leica Biosystems for rapportering av uvanlig misfarging.

Mer informasjon

Mer informasjon om immunfarging med BOND-reagenser, under overskriftene Prinsipp for prosedyren, Nødvendige materialer, Prøvepreparering, Kvalitetskontroll, Analyseverifisering, Tolkning av farging, Symbolforklaring på etiketter og Generelle begrensninger, finner du under "Bruk av BOND-reagenser" i BOND-brukerdokumentasjonen.

Bibliografi

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Brown C, Sekhavati F, Cardenes R et al. CTLA-4 immunohistochemistry and quantitative image analysis for profiling of human cancers. Journal of Histochemistry and Cytochemistry. 2019; 67(6):901-918.
5. Buchbinder EI, Desai A. CTLA-4 and PD-1 Pathways. American Journal of Clinical Oncology. 2016; 39:98-106.
6. Chan DV, Gibson HM, Aufiero BM et al. Differential CTLA-4 expression in human CD4+ versus CD8+ T cells is associated with increased NFAT1 and inhibition of CD4+ proliferation. Genes & Immunity. 2015; 15:25 – 32.
7. McCoy K and Le Gros G. The role of CTLA-4 in the regulation of T cell immune responses. Immunology and Cell Biology. 1999; 77:1-10.
8. Castan J, Tenner-Racz K, Racz P et al. Accumulation of CTLA-4 expressing T lymphocytes in the germinal centres of human lymphoid tissues. Immunology. 1997; 90: 267-271.

Utstedelsesdato

03 april 2020

BOND Kullanıma Hazır Primer Antikor

CTLA-4 (CAL49), 7 mL

Katalog No: PA0181

Kullanım Amacı

Bu reaktif, *in vitro* diagnostik kullanım içindir.

CTLA-4 (CAL49) monoklonal antikorunun formalinle fikse edilmiş, parafine gömülmüş dokuda CTLA-4 proteininin otomatik BOND sistemi (Leica BOND-MAX sistemini ve Leica BOND-III sistemini içerir) kullanılarak immünohistokimyasal boyama yoluyla, ışık mikroskopisinde nitel belirlenmesi için kullanılması amaçlanmıştır.

Herhangi bir boyamanın veya boyama yokluğunun klinik yorumu, morfolojik çalışmalar ve uygun kontrollerle tamamlanmalıdır ve nitelikli bir patolog tarafından hastanın klinik öyküsü ve diğer tanı testleri bağlamında değerlendirilmelidir.

Özet ve Açıklama

İmmünohistokimyasal teknikler doku ve hücrelerde antijen varlığını göstermek amacıyla kullanılabilir (BOND kullanıcı belgelerinizdeki "BOND Reaktiflerinin Kullanımı" bölümüne bakınız). CTLA-4 (CAL49) primer antikor, BOND Polymer Refine Detection ile kullanım için spesifik olarak optimize edilmiş kullanıma hazır bir üründür. İnsan CTLA-4 proteininin gösterimi, öncelikle CTLA-4'nın (CAL49) kesite bağlanmasının sağlanması ve ardından tespit sisteminde verilen reaktifler kullanılarak bu bağlanmanın görüntülenmesiyle elde edilir. Bu ürünlerin otomatik BOND sistemi (Leica BOND-MAX sistemi ve Leica BOND-III sistemi) ile birlikte kullanılması bağımsız reaktif seyreltme, manüel pipetleme ve reaktif uygulama işlemlerinde meydana gelebilecek insan hataları ve değişken sonuçlar olasılığını düşürür.

Sağlanan Reaktifler

CTLA-4 (CAL49), bir doku kültürü süpernatantı olarak üretilen ve koruyucu madde olarak %0,35 ProClin™ 950 içeren, bir taşıyıcı proteinle Tris tamponlu salinde sağlanan bir tavşan anti-insan monoklonal antikorudur.

Toplam hacim = 7 ml.

Clone

CAL49

N.B. Klon CAL49, Abcam Plc. tarafından üretilmektedir ve bu firmanın lisansı ile satılmaktadır.

İmmünojen

İnsan CTLA-4 aa183-283'e karışık gelen sentetik peptid.

Özgülük

İnsan CTLA-4 proteini.

Ig Sınıfı

IgG1

Toplam Protein Konsantrasyonu

Yaklaşık 10 mg/mL

Antikor Konsantrasyonu

0,2 mg/L'ye eşit veya bu değerden yüksek.

Seyreltme ve Karıştırma

CTLA-4 (CAL49) primer antikorunu BOND sisteminde (Leica BOND-MAX sistemi ve Leica BOND-III sistemini içeren) kullanılmak üzere optimum olarak seyreltilmiştir. Bu reaktif için sulandırma, karıştırma, seyreltme veya titrasyon gerekli değildir.

Gereken Ancak Sağlanmayan Materyaller

BOND sistemini (Leica BOND-MAX sistemi ve Leica BOND-III sistemini içerir) kullanarak numune muamelesi ve immünohistokimyasal boyama için gerekli materyallerin tam bir listesi için BOND belgelerinizdeki "BOND Reaktiflerinin Kullanımı" bölümüne başvurun.

Saklama ve Stabiliteler

2-8°C'de saklayın. Kaptaki etikette belirtilen son kullanma tarihi geçtiyse kullanmayın.

CTLA-4'da (CAL49) kontaminasyona ve/veya instabiliteye işaret eden belirtiler şunlardır: Çözeltide bulanıklık, koku gelişimi ve presipitat oluşumu. Kullandıktan hemen sonra 2-8°C'ye geri alın.

Yukarıda belirtilenler dışındaki saklama koşulları kullanıcı tarafından doğrulanmalıdır¹.

Önlemler

- Bu ürün, *in vitro* diagnostik kullanım içindir.
- ProClin™ 950 konsantrasyonu %0,35'tir. Etkin madde olarak 2-metilizotiazol-3(2H)-on içerir ve ciltte, gözlerde, mukoza membranlarında ve üst solunum yolunda iritasyona neden olabilir. Reaktifleri kullanırken tek kullanımlık eldiven takın.
- Malzeme Güvenlik Bilgileri Formunun bir kopyası için yerel distribütörünüze veya Leica Biosystems bölge ofisiyle iletişime geçin ya da bunun yerine Leica Biosystems'in Web sitesini ziyaret edebilirsiniz: www.LeicaBiosystems.com

- Fiksasyon öncesinde ve sonrasında numuneler ve bunlara maruz kalmış tüm materyallere enfeksiyon bulaştırılabilirmiş gibi davranılması ve uygun önlemlerle atılmaları gerekir. Reaktifleri hiçbir zaman ağızla pipetlemeyin. Cildin ve mukoz membranların reaktifler ve örneklerle temas etmesini önleyin. Reaktifler veya örnekler hassas bölgelere temas ederse bol miktarda suyla yıkayın. Tıbbi yardım isteyin.
- Potansiyel olarak toksik bileşenlerin atılmasıyla ilgili yerel, ulusal veya bölgesel düzenlemeleri dikkate alın.
- Reaktiflerin mikrobik kontaminasyonunu minimize edin, aksi takdirde spesifik olmayan boyamada bir artış meydana gelebilir.
- Belirtilenler dışındaki geri kazanım, inkübasyon süreleri veya sıcaklıklar hatalı sonuçlara neden olabilir. Bu tür herhangi bir değişiklik kullanıcı tarafından doğrulanmalıdır.

Kullanım Talimatları

CTLA-4 (CAL49) primer antikorlu BOND Polymer Refine Detection ile birlikte otomatik BOND sisteminde (Leica BOND-MAX sistemi ve Leica BOND-III sistemini içeren) kullanılmak üzere geliştirilmiştir. CTLA-4 (CAL49) primer antikor için önerilen boyama protokolü IHC Protocol F'tir. BOND Epitope Retrieval Solution 2 (AR9640) kullanılarak 20 dakika ısı indüklü epitop alımı önerilir.

Öngörülen Sonuçlar

Normal Dokular

Klon CAL49, bağışıklık hücrelerinin bir bölümünün sitoplazmasında/membranında bulunan CTLA-4 proteinini tespit eder. Özellikle lenf nodu, bademcik, dalak ve timus bezi olmak üzere çoğu doku türünün bağışıklık hücrelerinde boyanma gözlemlendi. Adrenal medulladaki hücreler, pankreatik asinir hücreler, alveolar makrofajlar, serebellumun beyaz maddesi ve tiroidin folliküler epitelial hücrelerinde boyama gözlemlendi. Böbreğin proksimal tübüllerinde, karaciğer hepatositlerinde ve larinksin solunum epiteliumunda zayıf boyama gözlemlendi. Mesanede ürotelyal bazal membranda boyama tespit edildi. (Değerlendirilen toplam normal olgu sayısı = 124).

Tümör Dokular

Klon CAL49, 1/11 meme tümörünün (1/7 invaziv duktal karsinom, 0/2 fibroadenom, 0/1 müsinöz meme kanseri ve 0/1 invazif lobüler karsinom dahil), 1/5 tiroid tümörünün (1/1 foliküler karsinom, 0/3 foliküler adenom ve 0/1 papiller tiroid karsinomu dahil) ve 1/4 hepatoselüler karsinom boyadı. Endometriyal tümörlerde (0/12) (0/10 adenokarsinom, 0/1 berrak hücreli karsinom ve 0/1 atipik hiperplazi dahil), bağırsak tümörlerinde (0/8) (0/6 adenokarsinom ve 0/2 adenom dahil), baş ve boyun tümöründe (0/5) (0/1 adenokarsinom, 0/1 nazofaringeal karsinom, 0/1 skuamöz hücreli karsinom, 0/1 adenoid kistik karsinom ve 0/1 adenom dahil), metastatik tümörlerde (0/5), beyin tümörlerinde (0/4) (0/3 meninjiyom ve 0/1 astrositom dahil), akciğer tümörlerinde (0/4) (0/2 skuamöz hücreli karsinom, 0/1 adenokarsinom ve 0/1 küçük hücreli karsinom dahil), özofagus skuamöz hücreli karsinomda (0/3), mide adenokarsinomda (0/3), lenfomada (0/3), yumurtalık tümörlerinde (0/3) (0/2 adenokarsinom ve 0/1 granüloza hücre tümörü dahil), adrenal tümörlerde (0/2) (bir adenokortikal karsinom ve bir adenom dahil), mesane transizyonel hücre karsinomlarında (0/2), kemik tümörlerinde (0/2) (0/1 osteosarkom ve 0/1 kondrosarkom dahil), renal berrak hücreli karsinomlarda (0/2), prostatik adenokarsinomlarda (0/2), seminomlarda (0/2), servikal skuamöz hücreli karsinomda (0/2), bir melanomda (0/1), bir pankreas adenokarsinomda (0/1), bir cildin skuamöz hücreli karsinomunda (0/1) ve bir prostat hiperplazisinde (0/1) boyanma tespit edilmedi. (Değerlendirilen toplam anormal vaka sayısı = 88).

CTLA-4 (CAL49), immünoojik olmayan histokimyasal boyamalar kullanılarak yapılan geleneksel histopatolojiye yardımcı olarak normal ve neoplastik dokularda CTLA-4 proteininin saptanması için önerilir.

Ürüne Özgü Sınırlamalar

CTLA-4 (CAL49), BOND Polymer Refine Detection'la ve BOND yardımcı reaktiflerle kullanılmak üzere Leica Biosystems'ta optimize edilmiştir. Önerilen test prosedürlerinden sapan kullanıcılar bu şartlar altında hasta sonuçlarının yorumlanmasının sorumluluğunu almaktadır. Doku fiksasyonu ve antijen alımının etkinliğindeki değişkenlikler nedeniyle protokol süreleri değişiklik gösterebilir ve bu süreler ampirik olarak belirlenmelidir. Geri kazanım koşulları ve protokol süreleri optimize edilirken negatif reaktif kontrolleri kullanılmalıdır.

Sorun Giderme

İyileştirici işlem için referans 3'e bakın.

Olağan dışı bir boyamayı bildirmek için yerel distribütörünüzle veya Leica Biosystems bölge ofisiyle iletişime geçin.

Daha Fazla Bilgi

BOND reaktifleri ile immün-boyama hakkında daha fazla bilgi BOND kullanıcı belgelerinizde "BOND Reaktiflerinin Kullanımı" bölümündeki Principle of the Procedure (Prosedür İlkesi), Materials Required (Gereken Materyaller), Specimen Preparation (Numune Hazırlama), Quality Control (Kalite Kontrol), Assay Verification (Miktar Tayini Doğrulama), Interpretation of Staining (Boyanmanın Yorumlanması), Key to Symbols on Labels (Etiketlerdeki Semboller için Anahtar) ve General Limitations (Genel Sınırlamalar) başlıklarını altında bulunabilir.

Kaynakça

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Brown C, Sekhavati F, Cardenas R et al. CTLA-4 immunohistochemistry and quantitative image analysis for profiling of human cancers. Journal of Histochemistry and Cytochemistry. 2019; 67(6):901-918.
5. Buchbinder EI, Desai A. CTLA-4 and PD-1 Pathways. American Journal of Clinical Oncology. 2016; 39:98-106.
6. Chan DV, Gibson HM, Aufiero BM et al. Differential CTLA-4 expression in human CD4+ versus CD8+ T cells is associated with increased NFAT1 and inhibition of CD4+ proliferation. Genes & Immunity. 2015; 15:25 – 32.
7. McCoy K and Le Gros G. The role of CTLA-4 in the regulation of T cell immune responses. Immunology and Cell Biology. 1999; 77:1-10.
8. Castan J, Tenner-Racz K, Racz P et al. Accumulation of CTLA-4 expressing T lymphocytes in the germinal centres of human lymphoid tissues. Immunology. 1997; 90: 267-271.

Yayın Tarihi

03 Nisan 2020

Готово за употреба първично анти тяло за BOND

CTLA-4 (CAL49), 7 mL

Каталожен №: PA0181

Предназначение

Този реагент е за употреба при *in vitro* диагностика.

Моноклоналното анти тяло CTLA-4 (CAL49) е предназначено за качествена идентификация чрез оптична микроскопия на протеин CTLA-4 във фиксирана с формалин, вградена в парафин тъкан чрез имунохистохимично оцветяване, използвайки автоматизираната система BOND (включва системите Leica BOND-MAX и Leica BOND-III).

Клиничната интерпретация на всяко оцветяване или неговата липса следва да бъде допълнена от морфологични проучвания и съответните контроли и да се оценява в контекста на клиничната история на пациента и други диагностични изследвания от квалифициран патолог.

Описателна и разяснителна

Могат да бъдат използвани имунохистохимични техники за демонстриране на наличието на антигени в тъканта и клетките (вижте „Употреба на реагенти BOND“ във вашата документация за потребителя на BOND). Първичното анти тяло CTLA-4 (CAL49) е готов за употреба продукт, който е специално оптимизиран за използване с BOND Polymer Refine Detection. Показването на човешки протеин CTLA-4 се постига, като първо се позволява свързването на CTLA-4 (CAL49) с частъка, след което това свързване се визуализира, като се използват реагентите, предоставени в системата за откриване. Употребата на тези продукти заедно с автоматизираната система BOND (включва системите Leica BOND-MAX и Leica BOND-III) намалява вероятността от човешка грешка и присъщата изменчивост в резултат на отделно разреждане на реагенти, ръчно пипетиране и прилагане на реагенти.

Предоставени реагенти

CTLA-4 (CAL49) е заешко античовешко моноклонално анти тяло, получено като супернатант от тъканна култура и доставено в трометамин-буферен физиологичен разтвор с протеинов носител, съдържащ 0,35% ProClin™ 950 като консервант.

Общ обем = 7 mL.

Клонинг

CAL49

Внимание: Клонинг CAL49 се произвежда от и се продава с лиценз от Abcam Plc.

Имуноген

Синтетичен пептид, съответстващ на човешки CTLA-4 aa183-283.

Специфичност

Човешки протеин CTLA-4.

Имуноглобулинов клас

IgG1

Концентрация на общ протеин

Приблизително 10 mg/mL

Концентрация на анти теля

По-голяма или равна на 0,2 mg/L.

Разреждане и смесване

Първичното анти тяло CTLA-4 (CAL49) е оптимално разрежено за употреба със системата BOND (включва системите Leica BOND-MAX и Leica BOND-III). Не се изисква възстановяване, смесване, разреждане или титриране на този реагент.

Необходими, но непредоставени материали

Вижте „Употреба на реагенти BOND“ във вашата документация за потребителя на BOND за пълен списък от материали, необходими за третиране на спесимени и имунохистохимично оцветяване, използвайки системата BOND (включва системите Leica BOND-MAX и Leica BOND-III).

Съхранение и стабилност

Да се съхранява при температура 2 – 8 °C. Не използвайте след срока на годност, указан на етикета на контейнера.

Признаците за контаминация и/или нестабилност на CTLA-4 (CAL49) са: мътност на разтвора, проява на мирис и наличие на утайка. Да се върне на температура 2 – 8 °C веднага след употреба.

Другите условия на съхранение, освен посочените по-горе, трябва да бъдат проверени от потребителя¹.

Предпазни мерки

- Този продукт е предназначен за *in vitro* диагностика.
- Концентрацията на ProClin™ 950 е 0,35 %. Съдържа активната съставка 2-метилизотиазол-3(2H)-он и може да причини дразнене на кожата, очите, лигавиците и горните дихателни пътища. При работа с реагентите да се носят ръкавици за еднократна употреба.

- За да получите копие на информационния лист за безопасност на материалите, се свържете с вашия местен дистрибутор или регионален офис на Leica Biosystems или посетете уеб сайта на Leica Biosystems www.LeicaBiosystems.com
- Спесимените преди и след фиксация, както и всички материали, изложени на тяхното влияние, трябва да бъдат третирани като способни да предадат инфекция и да бъдат изхвърлени, като се прилагат съответните предпазни мерки. Никога не пипетирайте реагенти с уста и избягвайте контакт на кожата и лигавиците с реагенти или спесимени. При контакт на реагенти или спесимени с чувствителни зони измийте зоните с обилно количество вода. Потърсете медицинска помощ.
- Консултирайте се с федералните, държавните или местните регламенти относно изхвърлянето на потенциално токсични компоненти.
- Свеждайте до минимум микробната контаминация на реагентите, в противен случай може да се появи увеличаване на неспецифичното оцветяване.
- Извличането, инкубационните времена или температури, различни от посочените, могат да доведат до погрешни резултати. Всякакви подобни промени трябва да бъдат валидирани от потребителя.

Инструкции за употреба

Първично антиляго CTLA-4 (CAL49) е разработено за употреба с автоматизираната система BOND (включваща системите Leica BOND-MAX и Leica BOND-III) в комбинация с BOND Polymer Refine Detection. Препоръчителният протокол за оцветяване за първичното антиляго CTLA-4 (CAL49) е IHC Protocol F. Препоръчва се термично индуцирано извличане на епитол с помощта на BOND Epitope Retrieval Solution 2 (AR9640) в продължение на 20 минути.

Очаквани резултати

Нормални тъкани

Клонинг CAL49 открива протеина CTLA-4 в цитоплазмата/мембраната на част от имунните клетки. Оцветяване се наблюдава в имунните клетки в повечето видове тъкани, по-конкретно в лимфните възли, сливиците, далака и тимусната жлеза. Оцветяване се наблюдава в клетки в медулата на надбъбречната жлеза, ацинозните клетки на панкреаса, алвеоларните макрофаги, в случайни клетки в бялото вещество на малкия мозък и във фоликуларните епителни клетки на щитовидната жлеза. Слабо оцветяване се наблюдава в проксималните тубули на бъбрека, хепатоцитите на черния дроб и респираторния епител на ларинкса. Отбелязано е оцветяване на базалната мембрана на уроепитела в пикочния мехур. (Общ брой на оценените нормални случаи = 124).

Туморни тъкани

Клонинг CAL49 оцветява 1/11 тумора на гърдата (включително 1/7 инвазивни дуктални карцинома, 0/2 фиброаденома, 0/1 случая на муцинозен рак на гърдата и 0/1 инвазивни лобуларни карцинома), 1/5 тумора на щитовидната жлеза (включително 1/1 фоликуларни карцинома, 0/3 фоликуларни аденома и 0/1 папиларни карцинома на щитовидната жлеза) и 1/4 хепатоцелуларни карцинома. Не е открито оцветяване в тумори на ендометриума (0/12) (включително 0/10 аденокарцинома, 0/1 светлоклетъчни карцинома и 0/1 атипични хиперплазии), тумори на червата (0/8) (включително 0/6 аденокарцинома и 0/2 аденома), тумори на главата и шията (0/5) (включително 0/1 аденокарцинома, 0/1 назофарингеални карцинома, 0/1 плоскоклетъчни карцинома, 0/1 аденоидни кистозни карцинома и 0/1 аденома), метастатични тумори (0/5), тумори на мозъка (0/4) (включително 0/3 менингиома и 0/1 астроцитома), тумори на белия дроб (0/4) (включително 0/2 плоскоклетъчни карцинома, 0/1 аденокарцинома и 0/1 дребноклетъчни карцинома), плоскоклетъчни карциноми на хранопровода (0/3), аденокарциноми на стомаха (0/3), лимфоми (0/3), тумори на яйчиците (0/3) (включително 0/2 аденокарцинома и 0/1 гранулозноклетъчни тумора), тумори на надбъбречната жлеза (0/2) (включително адренокортикален карцином и аденом), преходноклетъчни карциноми на пикочния мехур (0/2), тумори на костите (0/2) (включително 0/1 остеосаркома и 0/1 хондросаркома), светлоклетъчни карциноми на бъбреците (0/2), аденокарциноми на простатата (0/2), семиноми (0/2), плоскоклетъчни карциноми на цервикса (0/2), меланоми (0/1), аденокарциноми на панкреаса (0/1), плоскоклетъчни карциноми на кожата (0/1) и хиперплазия на простатата (0/1). (Общ брой на оценените абнормни случаи = 88)

CTLA-4 (CAL49) се препоръчва за откриване на протеин CTLA-4 в нормални и неопластични тъкани като допълнение към конвенционалната хистопатология с използване на неимунологични хистохимични оцветявания.

Специфични ограничения на продукта

Продуктът CTLA-4 (CAL49) е оптимизиран от Leica Biosystems за употреба с BOND Polymer Refine Detection и спомагателните реагенти BOND. Потребителите, които се отклоняват от препоръчаните процедури за тестване, трябва да поемат отговорност за интерпретацията на резултатите на пациентите при тези обстоятелства. Времетраенето на протоколите може да варира поради вариацията във фиксацията на тъканта и ефективността на усилването на антигена и трябва да се определи емпирично. Трябва да се използват негативни контроли на реагентите при оптимизиране на условията на извличане и времетраенето на протоколите.

Отстраняване на неизправности

Разгледайте референция 3 за коригиращо действие.

Свържете се с Вашия местен дистрибутор или регионалния офис на Leica Biosystems, за да съобщите за необичайно оцветяване.

Допълнителна информация

Допълнителна информация за имунооцветяване с реагенти BOND можете да намерите в „Употреба на реагенти BOND“ във вашата документация за потребителя на BOND под заглавията „Принцип на процедурата“, „Необходими материали“, „Приготвяне на спесимен“, „Контрол на качеството“, „Потвърждаване на анализа“, „Интерпретация на оцветяването“, „Легенда на символите на етикетите“ и „Общи ограничения“.

Библиография

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Brown C, Sekhavati F, Cardenes R et al. CTLA-4 immunohistochemistry and quantitative image analysis for profiling of human cancers. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. 2019; 67(6):901-918.
5. Buchbinder EI, Desai A. CTLA-4 and PD-1 Pathways. *American Journal of Clinical Oncology*. 2016; 39:98-106.
6. Chan DV, Gibson HM, Aufiero BM et al. Differential CTLA-4 expression in human CD4+ versus CD8+ T cells is associated with increased NFAT1 and inhibition of CD4+ proliferation. *Genes & Immunity*. 2015; 15:25 – 32.
7. McCoy K and Le Gros G. The role of CTLA-4 in the regulation of T cell immune responses. *Immunology and Cell Biology*. 1999; 77:1-10.
8. Castan J, Tenner-Racz K, Racz P et al. Accumulation of CTLA-4 expressing T lymphocytes in the germinal centres of human lymphoid tissues. *Immunology*. 1997; 90: 267-271.

Дата на издаване

03 Април 2020

BOND használatra kész elsődleges antitest

CTLA-4 (CAL49), 7 ml

Katalógusszám: PA0181

Alkalmazási terület

Ez a reagens *in vitro* diagnosztikai használatra szolgál.

A CTLA-4 (CAL49) monoklonális antitest a CTLA-4 fehérje fénymikroszkóppal történő kvalitatív azonosítására szolgál formalinban fixált, paraffinba ágyazott szövetben, immunhisztokémiai festés útján, automata BOND rendszer (így a Leica BOND-MAX rendszer vagy a Leica BOND-III rendszer) használatával.

Minden festődés meglétének vagy hiányának klinikai értelmezését morfológiai vizsgálatokkal és megfelelő kontrollokkal kell kiegészíteni, valamint az értékelést a beteg klinikai kórtörténete és egyéb diagnosztikai vizsgálatok figyelembevételével, képzett patológusnak kell elvégeznie.

Összefoglalás és magyarázat

Az immunhisztokémiai módszerek antigének jelenlétének kimutatására szolgálnak szövetekben és sejtekben (lásd a „BOND reagentek használata” című részt a BOND felhasználói dokumentációban). A CTLA-4 (CAL49) elsődleges antitest használatra kész termék, amely kifejezetten a BOND Polymer Refine Detection kittel való használatra lett optimalizálva. A humán CTLA-4 fehérje kimutatása úgy történik, hogy előbb lehetővé kell tenni a CTLA-4 (CAL49) kötődését a metszethez, majd ez a kötődés megjeleníthető a detektáló rendszerben található reagentekkel. Ha ezeket a termékeket automata BOND rendszerrel együtt használják (így a Leica BOND-MAX rendszerrel vagy a Leica BOND-III rendszerrel), csökken az emberi hibák lehetősége, és mérsíkelhető az egyes reagentek hígításából, a manuális pipettázásból és a reagentek alkalmazásából származó eredendő eltérések.

Biztosított reagentek

A CTLA-4 (CAL49) nyúl eredetű, antihumán monoklonális antitest, amelyet szövettenyészet felülízüsként állítanak elő. Kiszáradása: tris-pufferelt sóoldatban, hordozófehérjével, amely tartósítószerként 0,35% ProClin™ 950-et tartalmaz.

Teljes mennyiség = 7 ml.

Klón

CAL49

Megjegyzés: A CAL49 klónt az Abcam Plc vállalat licence alapján gyártják és értékesítik.

Immunogén

A humán CTLA-4 183–283. aminosavjainak megfelelő szintetikus peptid.

Specifititás

Humán CTLA-4 fehérje.

Ig-osztály

IgG1

Összfehérje-koncentráció

Kb. 10 mg/ml

Antitest-koncentráció

Legalább 0,2 mg/l.

Hígítás és elegyítés

A CTLA-4 (CAL49) elsődleges antitest hígítása optimális a BOND rendszerrel (így a Leica BOND-MAX rendszerrel vagy a Leica BOND-III rendszerrel) való használathoz. Nem szükséges a reagens feloldása, elegyítése, hígítása vagy titrálása.

Szükséges, de nem biztosított anyagok

A minta kezeléséhez és a BOND rendszerrel (így a Leica BOND-MAX rendszerrel vagy a Leica BOND-III rendszerrel) végzett immunhisztokémiai festéshez szükséges anyagok teljes listáját lásd a BOND felhasználói dokumentáció „BOND reagentek használata” című részében.

Tárolás és stabilitás

2-8°C-on tárolandó. Ne használja fel a tartály címkéjén feltüntetett lejárat dátum után.

A CTLA-4 (CAL49) szennyezettségére és/vagy instabilitására utaló jelek a következők: az oldat zavarossága, szag kialakulása és csapadék jelenléte. Felhasználás után azonnal tegye vissza 2-8°C közötti hőmérsékletre.

A fentiekben előírtaktól eltérő tárolási feltételeket a felhasználónak ellenőriznie kell!

Óvintézkedések

- Ez a termék *in vitro* diagnosztikai használatra szolgál.
- A ProClin™ 950 koncentrációja 0,35 %. A termék 2-metilizotiazol-3(2H)-on hatóanyagot tartalmaz, amely a bőr, a szem, a nyálkahártyák és a felső légutak irritációját okozhatja. A reagentek kezeléséhez viseljen egyszer használatos kesztyűt.
- Az anyagbiztonsági adatlap igényléséhez forduljon a Leica Biosystems helyi forgalmazójához vagy regionális irodájához, vagy keresse fel a Leica Biosystems weboldalát a www.LeicaBiosystems.com címen.
- A mintákat fixálás előtt és után, valamint a velük érintkező összes anyagot fertőzések terjesztésére képes anyagként kell kezelni, és megfelelő körültekintéssel kell ártalmatlanítani. Soha ne pipettázza szájával a reagenteket, továbbá kerülje a bőr és a nyálkahártyák

érintkezését a reagensekkel és a mintákkal. Ha a reagensek vagy minták érzékeny területtel érintkeznek, bő vízzel mossa le az érintett területet. Forduljon orvoshoz.

- Minden potenciálisan toxikus összetevő ártalmatlanításával kapcsolatban kövesse a szövetségi, állami és helyi előírásokat.
- Minimálisan kell csökkenteni a reagensek mikrobiális szennyeződését, különben megnövekedhet a nem specifikus festődés.
- A megadottaktól eltérő feltárási körülmények, inkubációs idők és hőmérsékletek hibás eredményekhez vezethetnek. A felhasználónak minden ilyen jellegű változtatást validálnia kell.

Használati útmutató

A CTLA-4 (CAL49) elsődleges antitest automata BOND rendszerrel (így a Leica BOND-MAX rendszerrel vagy a Leica BOND-III rendszerrel) és a BOND Polymer Refine Detection kittel való együttes használatra lett kifejlesztve. A CTLA-4 (CAL49) elsődleges antitesthez javasolt festési protokoll az IHC Protocol F. A hőindukált epitópfeltáráshoz BOND Epitope Retrieval Solution 2 oldat (AR9640) 20 percig tartó alkalmazása javasolt.

Várható eredmények

Normál szövetek

A CAL49 klón kimutatja a CTLA-4 fehérjét az immunsejtek egy részének citoplazmájában/membránjában. Festődés volt megfigyelhető az immunsejteken belül a legtöbb szövettípusban, különösen a nyirokcsomókban, a tonsillában, a lépben és a csecsemőmirigyben. Festődés volt megfigyelhető a mellékvesevelő sejteiben, a hasnyálmirigy acinussejteiben, az alveoláris makrofágokban, a kisagy fehérállományának szórányos sejteiben és a pajzsmirigy follikuláris hámszejteiben. Gyenge festődés volt megfigyelhető a vese proximális tubulusaiban, a máj hepatocitáiban és a gége légzőhámjában. Az urothelialis bazális membrán festődése volt megfigyelhető a húgyhólyagban. (Vizsgált normál esetek összesített száma = 124).

Tumorszövetek

A CAL49 klón megfestett 1/11 emlődaganatot (beleértve 1/7 invazív duktális karcinómát, 0/2 fibroadenómát, 0/1 mucinózus emlőrákot és 0/1 invazív lobuláris karcinómát), 1/5 pajzsmirigydaganatot (beleértve 1/1 follikuláris karcinómát, 0/3 follikuláris adenómát és 0/1 papilláris pajzsmirigy-karcinómát) és 1/4 hepatocelluláris karcinómát. Nem volt festődés észlelhető endometrium-daganatok (0/12) (beleértve 0/10 adenokarcinómát, 0/1 világossejtes karcinómát és 0/1 atipikus hiperpláziát), béldaganatok (0/8) (beleértve 0/6 adenokarcinómát és 0/2 adenómát), fej- és nyaki daganatok (0/5) (beleértve 0/1 adenokarcinómát, 0/1 nazofaringeális karcinómát, 0/1 laphámsejtes karcinómát, 0/1 adenoid cisztikus karcinómát és 0/1 adenómát), áttétes daganatok (0/5), agydaganatok (0/4) (beleértve 0/3 meningiómát és 0/1 asztrocitómát), tüdődaganatok (0/4) (beleértve 0/2 laphámsejtes karcinómát, 0/1 adenokarcinómát és 0/1 kissejtes karcinómát), laphámsejtes nyelőcső-karcinómák (0/3), gyomor-adenokarcinómák (0/3), limfóma (0/3), petefészek-daganatok (0/3) (beleértve 0/2 adenokarcinómát és 0/1 granulosa-sejtes daganatot), mellékvese-daganatok (0/2) (beleértve egy adenokortikális karcinómát és egy adenómát), átmeneti sejtes húgyhólyag-karcinómák (0/2), csontdaganatok (0/2) (beleértve 0/1 oszteosarkómát és 0/1 chondrosarkómát), világossejtes vesekarcinómák (0/2), prosztata-adenokarcinómák (0/2), szemínómák (0/2), laphámsejtes méhnyak-karcinómák (0/2), egy melanóma (0/1), egy hasnyálmirigy-adenokarcinóma (0/1), egy laphámsejtes bőrkarcinóma (0/1) és egy prosztata-hiperplázia (0/1) esetében. (Vizsgált kóros esetek összesített száma = 88)

A CTLA-4 (CAL49) a CTLA-4 fehérje detektálására ajánlott normális és tumoros szövetekben, a nem immunológiai hisztokémiai festést használó hagyományos kórszövettani eljárások kiegészítéseként.

Termékspecifikus korlátozások

A CTLA-4 (CAL49) terméket a Leica Biosystems a BOND Polymer Refine Detection kittel és a BOND segédreagensekkel való használatra optimalizálta. A teszteseti eljárásoktól való eltérés esetén a felhasználó felelőssége a betegeredmények értelmezése az adott körülmények között. A protokoll végrehajtásához szükséges idő a szövet fixálásának és az antigén-erősítés hatékonyságának eltérései miatt változó lehet, ezért tapasztalati alapon történő meghatározást igényel. A feltárási körülmények és a protokolloldók optimalizálásakor negatív reagenskontrollokat kell használni.

Hibaelhárítás

A javító intézkedéseket lásd a 3. hivatkozásban.

Szokatlan festődés bejelentéséhez forduljon a Leica Biosystems helyi forgalmazójához vagy regionális irodájához.

További információk

A BOND reagensekkel végzett immunfestésre vonatkozó további információkat a BOND felhasználói dokumentáció „BOND reagensek használatára” című részében talál a következő szakaszokban: Az eljárás elve, Szükséges anyagok, A minták előkészítése, Minőség-ellenőrzés, A teszt ellenőrzése, A festődés értelmezése, A címkéken szereplő szimbólumok magyarázata és Általános korlátozások.

Szakirodalom

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Brown C, Sekhavati F, Cardenas R et al. CTLA-4 immunohistochemistry and quantitative image analysis for profiling of human cancers. Journal of Histochemistry and Cytochemistry. 2019; 67(6):901-918.
5. Buchbinder EI, Desai A. CTLA-4 and PD-1 Pathways. American Journal of Clinical Oncology. 2016; 39:98-106.
6. Chan DV, Gibson HM, Aufiero BM et al. Differential CTLA-4 expression in human CD4+ versus CD8+ T cells is associated with increased NFAT1 and inhibition of CD4+ proliferation. Genes & Immunity. 2015; 15:25 – 32.
7. McCoy K and Le Gros G. The role of CTLA-4 in the regulation of T cell immune responses. Immunology and Cell Biology. 1999; 77:1-10.
8. Castan J, Tenner-Racz K, Racz P et al. Accumulation of CTLA-4 expressing T lymphocytes in the germinal centres of human lymphoid tissues. Immunology. 1997; 90: 267-271.

Kiadás dátuma

2020 április 03

Anticorp primar gata de utilizare BOND

CTLA-4 (CAL49), 7 mL

Nr. catalog: PA0181

Utilizare prevăzută

Acest reactiv este destinat utilizării pentru diagnosticare *in vitro*.

Anticorpul monoclonal CTLA-4 (CAL49) este destinat utilizării pentru identificarea calitativă, prin intermediul microscopiei optice, a proteinei CTLA-4 din țesut fixat în formalină, încorporat în parafină, prin colorare imunohistochimică utilizând sistemul automat BOND (care include sistemul Leica BOND-MAX și sistemul Leica BOND-III).

Interpretarea clinică a oricărei colorații sau a absenței acesteia trebuie verificată prin studii morfologice, folosind proceduri de control adecvate, și trebuie evaluată în contextul istoricului clinic al pacientului, precum și al altor teste de diagnosticare efectuate de către un patolog calificat.

Rezumat și explicație

Pot fi utilizate tehnici imunohistochimice pentru a demonstra prezența antigenilor în țesut și celule (a se vedea „Utilizarea reactivilor BOND” din documentația de utilizare BOND). Anticorpul primar CTLA-4 (CAL49) este un produs gata de utilizare care a fost optimizat în mod specific pentru utilizarea cu BOND Polymer Refine Detection. Demonstrarea prezenței proteinei CTLA-4 umane este realizată mai întâi prin permiterea legării CTLA-4 (CAL49) la secțiune și apoi prin vizualizarea acestei legări utilizând reactivii furnizați în sistemul de detecție. Utilizarea acestor produse, în combinație cu sistemul automat BOND (care include sistemul Leica BOND-MAX și sistemul Leica BOND-III), reduce posibilitatea producerii erorii umane și variabilitatea inerentă care rezultă din diluția individuală a reactivului, pipetarea manuală și aplicarea reactivului.

Reactivi furnizați

CTLA-4 (CAL49) este un anticorp monoclonal anti-uman de iepure produs ca supernatant de cultură tisulară purificat și furnizat în soluție salină tamponată cu trometamină cu proteină purtătoare, care conține 0,35 % ProClin™ 950 drept conservant.

Volum total = 7 ml.

Clonă

CAL49

Notă: Clona CAL49 este fabricată și comercializată sub licența Abcam Plc.

Imunogen

Peptidă sintetică corespunzând proteinei CTLA-4 umane aa183-283.

Specificitate

Proteina umană CTLA-4.

Clasa Ig

IgG1

Concentrație proteină totală

Aproximativ 10 mg/ml

Concentrație anticorpi

Mai mare decât sau egală cu 0,2 mg/L.

Diluare și amestecare

Anticorpul primar CTLA-4 (CAL49) este diluat în mod optim pentru utilizare pe sistemul BOND (care include sistemul Leica BOND-MAX și sistemul Leica BOND-III). Reconstituirea, amestecarea, diluarea sau titrarea acestui reactiv nu sunt necesare.

Materiale necesare, dar care nu sunt furnizate

Consultați „Utilizarea reactivilor BOND” din documentația dumneavoastră de utilizare a sistemului BOND pentru o listă completă a materialelor necesare pentru tratarea probelor și colorația imunohistochimică utilizând sistemul BOND (care include sistemul Leica BOND-MAX și sistemul Leica BOND-III).

Depozitare și stabilitate

A se depozita la 2-8°C. A nu se utiliza după data expirării indicată pe eticheta recipientului.

Semnele care indică contaminarea și/sau instabilitatea CTLA-4 (CAL49) sunt: turbiditatea soluției, formarea de mirosuri și prezența precipitatului. A se returna la 2-8°C imediat după utilizare.

Alte condiții de depozitare decât cele specificate mai sus trebuie verificate de către utilizator¹.

Precauții

- Acest produs este destinat utilizării pentru diagnosticare *in vitro*.
- Concentrația de ProClin™ 950 este 0,35 %. Acesta conține ingredientul activ 2-metilizotiazol-3(2H)-onă și poate cauza iritarea pielii, ochilor, membranelor mucoase și tractului respirator superior. Purtați mănuși de unică folosință atunci când manipulați reactivii.
- Pentru a obține o copie a fișei tehnice de securitate a materialului, luați legătura cu distribuitorul dvs. local sau cu biroul regional al Leica Biosystems sau, ca alternativă, vizitați site-ul web al Leica Biosystems, www.LeicaBiosystems.com
- Specimenele, înainte și după fixare, precum și toate materialele expuse la acestea, trebuie manipulate ca și când ar avea potențialul de a transmite infecții și trebuie eliminate luând măsurile de precauție adecvate². Nu pipetați niciodată reactivii cu gura și evitați

contactul reactivilor și probelor cu pielea și membranele mucoase. Dacă reactivii sau probele vin în contact cu suprafețele sensibile, spălați cu apă din abundență. Solicitați asistență medicală.

- Consultați reglementările naționale, județene sau locale pentru informații privind eliminarea oricăror componente cu potențial toxic.
- Reduceți la minimum contaminarea microbiană a reactivilor, în caz contrar poate apărea o creștere a colorării nespecifice.
- Timpii sau temperaturile de recuperare, incubare care diferă de valorile specificate pot genera rezultate eronate. Orice astfel de modificare trebuie validată de către utilizator.

Instrucțiuni de utilizare

Anticorpur primar CTLA-4 (CAL49) a fost dezvoltat pentru utilizarea pe sistemul automat BOND (care include sistemul Leica BOND-MAX și sistemul Leica BOND-III) în combinație cu BOND Polymer Refine Detection. Protocolul de colorare recomandat pentru anticorpur primar CTLA-4 (CAL49) este IHC Protocol F. Se recomandă recuperarea indusă de căldură a epitopilor utilizând BOND Epitope Retrieval Solution 2 (AR9640) timp de 20 de minute.

Rezultate așteptate

Tesuturi normale

Clona CAL49 detectează proteina CTLA-4 în citoplasma/membrana unei proporții de celule imune. S-a detectat colorația în celulele imune ale celor mai multe tipuri de țesuturi și, în mod special, în ganglionii limfatici, amigdale, splină și glanda timus. S-a detectat colorația în celulele din medula suprarenală, celulele acinare pancreatice, macrofagele alveolare și, ocazional, în celulele din materia albă a creierului și în celulele epiteliale foliculare ale tiroidei. S-a detectat colorația slabă în tubulele proximale ale rinichului, în hepatocitele ficatului și în epitelii respirator al laringelui. În vezica urinară s-a observat colorația membranei de subsol ureteriale. (Numărul total al cazurilor normale evaluate = 124).

Tesuturi tumorale

Clona CAL49 a colorat 1/11 tumori mamare (incluzând 1/7 carcinom ductal invaziv, 0/2 fibroadenoame, 0/1 cancer mamar mucinos și 0/1 carcinom lobular invaziv), 1/5 tumori tiroidiene (incluzând 1/1 carcinom folicular, 0/3 adenoame foliculare și 0/1 carcinom tiroidian papilar) și 1/4 carcinoame hepatocelulare. Nu a fost detectată vreă colorație în tumori endometriale (0/12) (incluzând 0/10 adenocarcinoame, 0/1 carcinom cu celule clare și 0/1 hiperplazie atipică), tumori intestinale (0/8) (incluzând 0/6 adenocarcinoame și 0/2 adenoame), tumori ale capului și gâtului (0/5) (incluzând 0/1 adenocarcinom, 0/1 carcinom nasofaringian, 0/1 carcinom cu celule scuamoase, 0/1 carcinom chistic adenoid și 0/1 adenom), tumori metastatice (0/5), tumori cerebrale (0/4) (incluzând 0/3 meningioame și 0/1 astrocitom), tumori pulmonare (0/4) (incluzând 0/2 carcinoame cu celule scuamoase, 0/1 adenocarcinom și 0/1 carcinom cu celule mici), carcinom cu celule scuamoase al esofagului (0/3), adenocarcinoame ale stomacului (0/3), limfoame (0/3), tumori ovariene (0/3) (incluzând 0/2 adenocarcinoame și 0/1 tumorare cu celule granulose), tumori suprarenale (0/2) (incluzând un carcinom adrenocortical și un adenom), carcinoame cu celule tranziționale ale vezicii urinare (0/2), tumori osoase (0/2) (incluzând 0/1 osteosarcom și 0/1 condrosarcom), carcinoame renale cu celule clare (0/2), adenocarcinoame prostatice (0/2), seminoame (0/2), carcinoame cu celule scuamoase ale colului uterin (0/2), un melanom (0/1), un adenocarcinom al pancreasului (0/1), un carcinom cu celule scuamoase al pielii (0/1) și o hiperplazie prostatică (0/1). (Numărul total al cazurilor anormale evaluate = 88)

CTLA-4 (CAL49) este recomandat pentru detectarea antigenului CTLA-4 uman în țesuturile normale și neoplazice, ca adjuvant al histopatologiei convenționale, utilizând coloranți histochimici non-immunologici.

Restricții specifice produsului

CTLA-4 (CAL49) a fost optimizat la Leica Biosystems pentru utilizarea cu BOND Polymer Refine Detection și cu reactivii auxiliari BOND. Utilizatorii care se abat de la procedurile de testare recomandate trebuie să accepte responsabilitatea pentru interpretarea rezultatelor pacientului în aceste circumstanțe. Timpii protocolului pot varia, datorită variației în fixarea țesutului și eficacității intensificării antigenului, și trebuie să fie determinați empiric. Atunci când se optimizează condițiile de recuperare și timpii protocolului, trebuie să fie utilizați reactivi de control negativ.

Rezolvarea problemelor

Consultați referința 3 pentru acțiuni de remediere.

Contactați distribuitorul dumneavoastră local sau biroul regional al Leica Biosystems pentru raportarea colorării neobișnuite.

Informații suplimentare

Informații suplimentare referitoare la imunocolorarea cu reactivii BOND, sub titlurile Principiul procedurii, Materiale necesare, Pregătirea specimenului, Controlul calității, Verificarea analizei, Interpretarea colorării, Codul simbolurilor de pe etichete și Limitări generale pot fi găsite în „Utilizarea reactivilor BOND” din documentația dumneavoastră de utilizare a sistemului BOND.

Bibliografie

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Brown C, Sekhavi F, Cardenas R et al. CTLA-4 immunohistochemistry and quantitative image analysis for profiling of human cancers. Journal of Histochemistry and Cytochemistry. 2019; 67(6):901-918.
5. Buchbinder EI, Desai A. CTLA-4 and PD-1 Pathways. American Journal of Clinical Oncology. 2016; 39:98-106.
6. Chan DV, Gibson HM, Aufiero BM et al. Differential CTLA-4 expression in human CD4+ versus CD8+ T cells is associated with increased NFAT1 and inhibition of CD4+ proliferation. Genes & Immunity. 2015; 15:25 – 32.
7. McCoy K and Le Gros G. The role of CTLA-4 in the regulation of T cell immune responses. Immunology and Cell Biology. 1999; 77:1-10.
8. Castan J, Tenner-Racz K, Racz P et al. Accumulation of CTLA-4 expressing T lymphocytes in the germinal centres of human lymphoid tissues. Immunology. 1997; 90: 267-271.

Data publicării

03 aprilie 2020

Первичное антитело, готовое к применению в системе BOND CTLA-4 (CAL49), 7 мл

Номер по каталогу: PA0181

Назначение

Этот реактив предназначен для диагностики *in vitro*.

Моноклональное антитело CTLA-4 (CAL49) предназначено для качественного определения CTLA-4-протеина методом световой микроскопии в фиксированных формалином и залитых в парафин образцах тканей после иммуногистохимического окрашивания в автоматизированной системе BOND (включающей системы BOND-MAX и BOND-III компании Leica).

Клиническая интерпретация любого окрашивания или его отсутствия должна быть дополнена морфологическими исследованиями с надлежащими контролями и должна быть оценена квалифицированным патологом с учетом анамнеза пациента и других диагностических тестов.

Краткое изложение и пояснение

Имуногистохимические методы могут использоваться для выявления антигенов в тканях и клетках (смотрите монографию «Применение реактивов BOND» в документации пользователя BOND). Первичные антитела CTLA-4 (CAL49) являются готовым к применению препаратом, специально оптимизированным для использования в системе BOND Polymer Refine Detection. Подтверждение присутствия CTLA-4-протеина человека достигается, во-первых, за счет связывания CTLA-4 (CAL49) со срезом ткани с последующей визуализацией участка связывания, что осуществляется с использованием реактивов, которые предусмотрены системой детекции. Применение этих продуктов в сочетании с автоматизированной системой BOND (включающей системы BOND-MAX и BOND-III компании Leica) снижает вероятность человеческой ошибки и вариабельность, присущую процессам разведения отдельных реактивов, ручного пипетирования и внесения реактивов.

Реактивы, входящие в комплект поставки

CTLA-4 (CAL49) представляет собой препарат моноклональных антител кролика к антигенам человека, который выпускается в форме супернатанта культуры ткани и поставляется в трис-солевом буферном растворе, содержащем белок-носитель, а также 0,35 % ProCln™ 950 в качестве консерванта.

Общий объем = 7 мл.

Клон

CAL49

N.B. Производство и продажа клона CAL49 осуществляется по лицензии Abcam Plc.

Иммуноген

Синтетический пептид, соответствующий CTLA-4 aa183-283 человека.

Специфичность

CTLA-4-протеин человека.

Класс иммуноглобулинов

IgG1

Общая концентрация белка

Примерно 10 мг/мл

Концентрация антитела

Концентрация выше или эквивалентна 0,2 мг/л.

Разведение и смешивание

Первичные антитела CTLA-4 (CAL49) имеют оптимальное разведение для применения в системе BOND (включающей системы BOND-MAX и BOND-III компании Leica). Этот реактив не нуждается в восстановлении, смешивании, разведении или титровании.

Необходимые материалы, не входящие в комплект поставки

Полный список материалов, необходимых для обработки и иммуногистохимического окрашивания образцов в системе BOND (включающей системы BOND-MAX и BOND-III компании Leica) имеется в разделе «Применение реактивов BOND» документации пользователя системы BOND.

Хранение и стабильность

Хранить при температуре 2-8°C. Не использовать после указанной на этикетке контейнера даты истечения срока годности.

Признаками, которые указывают на контаминацию и/или нестабильность CTLA-4 (CAL49), являются: помутнение раствора, появление запаха и наличие осадка. Немедленно после применения вернуть на хранение при 2-8°C.

Условия хранения, отличающиеся от указанных выше, должны быть верифицированы пользователем¹.

Меры предосторожности

- Данная продукция предназначена для диагностики *in vitro*.
- Концентрация ProCln™ 950 составляет 0,35 %. Продукт содержит активный компонент 2-метилизотиазол-3(2H)-он и может раздражать кожу, глаза, слизистые оболочки и верхние дыхательные пути. При работе с реактивами надевайте одноразовые перчатки.

- Для получения копии паспорта безопасности материала обратитесь к местному дистрибьютору или в региональный офис компании Leica Biosystems либо посетите веб-сайт компании Leica Biosystems: www.LeicaBiosystems.com
- Образцы (до и после фиксации) и все контактирующие с ними материалы следует считать способными к передаче инфекции, и при их удалении в отходы следует соблюдать надлежащие меры предосторожности². Никогда не набирайте реактивы в пипетку ртом. Избегайте контакта реактивов и образцов с кожей и слизистыми оболочками. В случае контакта реактивов или образцов с чувствительными зонами промойте их большим количеством воды. Обратитесь за медицинской помощью.
- По вопросам утилизации любых возможно токсических компонентов выполняйте требования федеральных, региональных или местных нормативных документов.
- Сводите к минимуму микробное загрязнение реактивов во избежание усиления неспецифического окрашивания.
- Нарушение указанных в инструкции правил демаскировки, времени инкубации и термической обработки может привести к ошибочным результатам. Любые подобные изменения должны быть валидированы пользователем.

Инструкция по применению

Первичные антитела CTLA-4 (CAL49) были разработаны для использования в автоматизированной системе BOND (включающей системы BOND-MAX и BOND-III компании Leica) в сочетании с BOND Polymer Refine Detection. Рекомендуемым протоколом иммуногистохимического окрашивания с использованием первичных антител CTLA-4 (CAL49) является IHC Protocol F. Тепловую демаскировку эпитопа рекомендуется выполнять с применением раствора для демаскирования BOND Epitope Retrieval Solution 2 (AR9640) в течение 20 минут.

Ожидаемые результаты

Нормальные ткани

Клон CAL49 обнаруживает белок CTLA-4 в цитоплазме/мембране части иммунных клеток. Окрашивание наблюдалось в иммунных клетках в большинстве типов тканей, особенно в лимфатических узлах, миндалинах, селезенке и тимусе. Окрашивание наблюдалось в клетках в медуллярном слое надпочечников, ацинарных клетках поджелудочной железы, альвеолярных макрофагах, отдельных клетках в белом веществе мозжечка и клетках фолликулярного эпителия щитовидной железы. Слабое окрашивание наблюдалось в проксимальных трубчатках почек, гепатоцитах печени и дыхательном эпителии гортани. Окрашивание уротелиальной базальной мембраны было отмечено в мочевом пузырьре. (Общее число исследованных нормальных тканей = 124).

Ткани опухолей

Клон CAL49 окрасил 1/11 случаев опухоли молочной железы (включая 1/7 случаев инвазивной карциномы протоков, 0/2 случаев фибroadеномы, 0/1 случая муцинозного рака молочной железы и 0/1 случая инвазивной лобулярной карциномы), 1/5 случаев опухоли щитовидной железы (включая 1/1 случая фолликулярной карциномы, 0/3 случаев фолликулярной аденомы и 0/1 случая папиллярной карциномы щитовидной железы) и 1/4 случаев гепатоцеллюлярной карциномы. Окрашивание не было обнаружено в эндометриальных опухолях (0/12) (включая 0/10 случаев аденокарциномы, 0/1 случая светлоклеточной карциномы и 0/1 случая атипичной гиперплазии), опухоли кишечника (0/8) (включая 0/6 случаев аденокарциномы и 0/2 случаев аденомы), опухолях головы и шеи (0/5) (включая 0/1 случая аденокарциномы, 0/1 случая носоглоточной карциномы, 0/1 случая плоскоклеточной карциномы, 0/1 случая аденокистозной карциномы и 0/1 случая аденомы), метастатических опухолях (0/5), опухолях мозга (0/4) (включая 0/3 случаев менингиомы и 0/1 случая астроцитомы), опухолях легкого (0/4) (включая 0/2 случаев плоскоклеточной карциномы, 0/1 случая аденокарциномы и 0/1 случая мелкоклеточной карциномы), плоскоклеточной карциноме пищевода (0/3), аденокарциномах желудка (0/3), лимфоме (0/3), опухолях яичников (0/3) (включая 0/2 случаев аденокарциномы и 0/1 случая гранулезоклеточной опухоли яичников), опухолях надпочечников (0/2) (включая адренокортикальную карциному и аденому), карциномах переходных клеток мочевого пузыря (0/2), опухолях костей (0/2) (включая 0/1 случая остеосаркомы и 0/1 случая хондросаркомы), светлоклеточных почечных карциномах (0/2), аденокарциномах предстательной железы (0/2), семиномах (0/2), плоскоклеточных карциномах шейки матки (0/2), меланоме (0/1), аденокарциноме поджелудочной железы (0/1), плоскоклеточной карциноме кожи (0/1) и гиперплазии простаты (0/1). (Общее число исследованных патологически измененных образцов = 88)

CTLA-4 (CAL49) рекомендуется для обнаружения CTLA-4-протеина в здоровых и пораженных опухолю тканях в качестве дополнения к стандартным гистопатологическим исследованиям с применением неиммунного гистохимического окрашивания.

Ограничения, специфичные для этого продукта

CTLA-4 (CAL49) оптимизирован компанией Leica Biosystems для применения с реактивами BOND Polymer Refine Detection и вспомогательными реактивами BOND. Пользователи, отклоняющиеся от рекомендованных процедур анализа, должны брать на себя ответственность за интерпретацию результатов исследований пациентов, выполненных в таких условиях. Продолжительность выполнения протокола должна быть определена опытным путем и может различаться в связи с вариабельностью фиксации ткани и эффективности усиления антигена. При оптимизации условий демаскировки и длительности протокола следует использовать отрицательные контроли реактивов.

Поиск и устранение неполадок

Действия по устранению неполадок описаны в (3).

С сообщениями о необычном окрашивании обращайтесь к своему местному дистрибьютору или в региональный офис компании Leica Biosystems.

Дополнительная информация

Дополнительная информация по иммуногистохимическому окрашиванию реактивами BOND содержится в подразделах «Принцип метода», «Необходимые материалы», «Подготовка образцов», «Контроль качества», «Проверка достоверности анализа», «Интерпретация окрашивания», «Значения символов на этикетках» и «Общие ограничения» раздела «Применение реактивов BOND» документации пользователя системы BOND.

Список литературы

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Brown C, Sekhavati F, Cardenes R et al. CTLA-4 immunohistochemistry and quantitative image analysis for profiling of human cancers. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. 2019; 67(6):901-918.
5. Buchbinder EI, Desai A. CTLA-4 and PD-1 Pathways. *American Journal of Clinical Oncology*. 2016; 39:98-106.
6. Chan DV, Gibson HM, Aufiero BM et al. Differential CTLA-4 expression in human CD4+ versus CD8+ T cells is associated with increased NFAT1 and inhibition of CD4+ proliferation. *Genes & Immunity*. 2015; 15:25 – 32.
7. McCoy K and Le Gros G. The role of CTLA-4 in the regulation of T cell immune responses. *Immunology and Cell Biology*. 1999; 77:1-10.
8. Castan J, Tenner-Racz K, Racz P et al. Accumulation of CTLA-4 expressing T lymphocytes in the germinal centres of human lymphoid tissues. *Immunology*. 1997; 90: 267-271.

Дата выпуска

03 Апрель 2020

Gotowe do użycia przeciwciało pierwszorzędowe BOND CTLA-4 (CAL49), 7 ml

Nr katalogowy: PA0181

Przeznaczenie

Ten odczynnik jest przeznaczony do stosowania w diagnostyce *in vitro*.

Przeciwciało monoklonalne CTLA-4 (CAL49) służy do identyfikacji jakościowej z zastosowaniem mikroskopii świetlnej białka CTLA-4 w tkance utrwalonej w formalinie i zatopionej w parafinie za pomocą barwienia immunohistochemicznego przy użyciu automatycznego systemu BOND (w tym systemów Leica BOND-MAX i Leica BOND-III).

Kliniczną interpretację wybarwienia lub jego braku należy uzupełnić badaniami morfologicznymi oraz odpowiednimi kontrolami. Oceny powinien przeprowadzić wykwalifikowany patolog w kontekście historii choroby pacjenta oraz innych badań diagnostycznych.

Podsumowanie i objaśnienie

W celu wykazania obecności antygenów w tkankach i komórkach (zob. „Korzystanie z odczynników BOND” w dokumentacji użytkownika BOND) można skorzystać z technik immunohistochemicznych. Przeciwciało pierwszorzędowe CTLA-4 (CAL49) jest gotowym do użycia produktem, który został specjalnie zoptymalizowany pod kątem użycia z BOND Polymer Refine Detection. Obecność ludzkich cząsteczek CTLA-4 jest wykazywana w pierwszej kolejności przez umożliwienie wiązania CTLA-4 (CAL49) ze skrawkiem, a następnie wizualizację tego wiązania za pomocą odczynników dostarczonych w systemie detekcji. Używanie tych produktów, w połączeniu z automatycznym systemem BOND (obejmuje Leica BOND-MAX system i Leica BOND-III system), redukuje możliwość wystąpienia błędu człowieka i właściwej zmienności wynikającej z indywidualnego rozcieńczania odczynników, ręcznego pobierania pipetą i stosowania odczynników.

Odczynniki znajdujące się w zestawie

CTLA-4 (CAL49) jest króliczym anti-ludzkim przeciwciałem monoklonalnym, produkowanym jako oczyszczony supernatant hodowli tkankowej i dostarczony w roztworze soli fizjologicznej buforowanej roztworem Tris z białkiem nośnikowym, konserwowanym 0,35% ProClin™ 950.

Łączna objętość = 7 ml.

Klon

CAL49

Uwaga Klon CAL49 jest produkowany i sprzedawany na licencji Abcam Plc.

Immunogen

Syntetyczny peptyd odpowiadający ludzkiemu CTLA-4 aa183-283.

Swoistość

Ludzkie białko CTLA-4.

Klasa Ig

IgG1

Całkowite stężenia białka

Okolo 10 mg/ml

Stężenie przeciwciała

Większe lub równe 0,2 mg/l.

Rozcieńczanie i mieszanie

Przeciwciało pierwszorzędowe CTLA-4 (CAL49) jest optymalnie rozcieńczone pod kątem użycia w systemie BOND (w tym systemów Leica BOND-MAX i Leica BOND-III). W przypadku tego odczynnika nie jest konieczne dodawanie wody, mieszanie, rozcieńczanie ani miareczkowanie.

Wymagane materiały niedołączone do zestawu

Aby uzyskać pełną listę materiałów potrzebnych do przygotowania próbek i barwienia immunohistochemicznego za pomocą systemu BOND (w tym systemów Leica BOND-MAX i Leica BOND-III) zob. „Korzystanie z odczynników BOND” w dokumentacji użytkownika BOND.

Przechowywanie i trwałość

Przechowywać w temperaturze 2-8°C. Nie używać po upływie daty ważności podanej na etykiecie pojemnika.

Oznaki skażenia i/lub niestabilności przeciwciała CTLA-4 (CAL49) są następujące: zmętnienie roztworu, pojawienie się zapachu i obecność osadu. Niezwłocznie po użyciu ponownie umieścić w temperaturze 2-8°C.

Przechowywanie w warunkach innych od wskazanych powyżej wymaga weryfikacji użytkownika¹.

Środki ostrożności

- Test jest przeznaczony do stosowania w diagnostyce *in vitro*.
- Stężenie ProClin™ 950 wynosi 0,35 %. Zawiera składnik czynny 2-metylizotiazol-3(2H)-jeden i może powodować podrażnienie skóry, oczu, błon śluzowych i górnych dróg oddechowych. Podczas pracy z odczynnikami należy nosić rękawice jednorazowego użytku.

- Aby otrzymać egzemplarz karty charakterystyki, należy skontaktować się z lokalnym dystrybutorem lub regionalnym biurem Leica Biosystems, lub odwiedzić stronę internetową, www.LeicaBiosystems.com
- Próbkę przed i po utlenianiu oraz wszelkie materiały narażone na kontakt z nimi należy traktować jak materiały potencjalnie zakaźne i należy je utylizować z zachowaniem odpowiednich środków ostrożności. Podczas pobierania pipetą nie wolno zasysać odczynników ustami i należy unikać kontaktu odczynników i preparatów ze skórą oraz błonami śluzowymi. W razie kontaktu odczynników lub próbek ze szczególnie narażonymi miejscami przemyć miejsce kontaktu dużą ilością wody. Należy zasięgnąć porady lekarza.
- Wszelkie potencjalnie toksyczne składniki należy utylizować zgodnie z krajowymi lub lokalnymi przepisami.
- Chronić odczynnik przed skażeniem drobnoustrojami, ponieważ może ono doprowadzić do zwiększonego barwienia niespecyficznego.
- Zastosowanie czasów odmaskowywania, inkubacji lub temperatur innych niż podano w instrukcji może spowodować błędne wyniki. Wszelkie zmiany tego typu muszą zostać zweryfikowane przez użytkownika.

Instrukcja stosowania

Przeciwciała pierwszorzędowe CTLA-4 (CAL49) zostało opracowane z myślą o zastosowaniu w automatycznym systemie BOND (obejmującym systemy Leica BOND-MAX i Leica BOND-III) w połączeniu z BOND Polymer Refine Detection. Zalecany protokół barwienia dla przeciwciała pierwszorzędowego CTLA-4 (CAL49) to IHC Protocol F. Zaleca się ciepłe odmaskowywanie epitopu przy użyciu roztworu BOND Epitope Retrieval Solution 2 (AR9640) przez 20 minut.

Oczekiwane wyniki

Tkanki prawidłowe

Klon CAL49 wykrywa białko CTLA-4 w cytoplazmie/błonie niektórych komórek odpornościowych. Barwienie zaobserwowano w komórkach układu odpornościowego w większości typów tkanek, a w szczególności w węzłach chłonnych, migdałkach, śledzionie i grasicy. Zaobserwowano barwienie w komórkach rdzenia nadnerczy, komórkach pęcherzyków trzustkowych, makrofagach pęcherzykowych, pojedynczych komórkach w istocie białej mózdzku i komórkach nabłonka pęcherzykowego tarczycy. Słabe barwienie zaobserwowano w kanałkach bliższych nerek, hepatocytach wątroby i nabłonku oddechowym krtani. W pęcherzu moczowym stwierdzono barwienie błony podstawnej moczowodu. (Łączna liczba ocenionych prawidłowych przypadków = 124).

Tkanki nowotworowe

Klon CAL49 wybarwił 1/11 guza sutka (w tym 1/7 inwazyjnego raka przewodu pokarmowego, 0/2 włókniaków, 0/1 raków śluzowych sutka i 0/1 inwazyjnych raków zrakizowanych), 1/5 guza tarczycy (w tym 1/1 raka pęcherzykowego, 0/3 gruczolaków pęcherzykowych i 0/1 raków brodawkowatych tarczycy) i 1/4 raka wątrobowokomórkowego. Nie stwierdzono barwienia w przypadku guzów endometrium (0/12) (w tym 0/10 gruczolakoraków, 0/1 raka jasnokomórkowego i 0/1 rozrostu atypowego), guzów jelita (0/8) (w tym 0/6 gruczolakoraków i 0/2 gruczolaków), guzów głowy i szyi (0/5) (w tym 0/1 gruczolakoraka, 0/1 raka nosogardła, 0/1 raka płaskonabłonkowego, 0/1 raka torbielowatego i 0/1 gruczolaka), guzów przerzutowych (0/5), guzów mózgu (0/4) (w tym 0/3 oponiaków i 0/1 gwiaździanka), guzów płuc (0/4) (w tym 0/2 raków płaskonabłonkowych, 0/1 gruczolakoraka i 0/1 raka drobnokomórkowego), raków płaskonabłonkowych przełyku (0/3), gruczolakoraków żołądka (0/3), chłoniaków (0/3), guzów jajników (0/3) (w tym 0/2 gruczolakoraków i 0/1 ziarniszczaka), guzów nadnerczy (0/2) (w tym raka kory nadnerczy i gruczolaka), raków przejściowokomórkowych pęcherza moczowego (0/2), guzów kości (0/2) (w tym 0/1 kostniakomięsaka i 0/1 chrząstkiomięsaka), raków jasnokomórkowych nerki (0/2), gruczolakoraków gruczołu krokowego (0/2), nasieniaków (0/2), raków płaskonabłonkowych szyjki macicy (0/2), czerniaka (0/1), gruczolaka trzustki (0/1), raka płaskonabłonkowego skóry (0/1) i rozrostu gruczołu krokowego (0/1). (Łączna liczba ocenionych nieprawidłowych przypadków = 88).

Zaleca się stosowanie CTLA-4 (CAL49) do wykrywania białka CTLA-4 w tkankach zdrowych i rakowych, jako uzupełnienie konwencjonalnego badania histopatologicznego opartego na nieimmunologicznym barwieniu histologicznym.

Szczególne ograniczenia dla produktu

Przeciwciała CTLA-4 (CAL49) zostało zoptymalizowane w Leica Biosystems pod kątem stosowania z BOND Polymer Refine Detection i pomocniczymi odczynnikami BOND. W tych okolicznościach użytkownicy, którzy postępują niezgodnie z zalecanymi procedurami testowymi muszą wziąć odpowiedzialność za interpretację wyników chorego. Czasy protokołu mogą być różne w związku ze zróżnicowaniem w zakresie utleniania tkanek i skuteczności wzmocnienia przez przeciwciała i należy je określić doświadczalnie. Odczynniki kontroli negatywnej należy stosować podczas optymalizacji; warunków odmaskowywania i czasów protokołu.

Rozwiązywanie problemów

W celu uzyskania dalszych informacji o działaniu zaradczym zob. odsyłacz 3.

W celu zgłoszenia nietypowego barwienia należy skontaktować się z lokalnym dystrybutorem lub z regionalnym biurem firmy Leica Biosystems.

Dodatkowe informacje

Dodatkowe informacje dotyczące immunobarwienia przy użyciu odczynników BOND opisanego w działach „Zasady postępowania”, „Wymagane materiały”, „Przygotowanie próbek”, „Kontrola Jakości”, „Weryfikacja testu”, „Interpretacja barwienia”, „Objaśnienie symboli na etykietach” i „Ograniczenia ogólne” można znaleźć w punkcie „Stosowanie odczynników BOND” w dokumentacji użytkownika systemu BOND.

Bibliografia

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Brown C, Sekhavati F, Cardenes R et al. CTLA-4 immunohistochemistry and quantitative image analysis for profiling of human cancers. Journal of Histochemistry and Cytochemistry. 2019; 67(6):901-918.
5. Buchbinder EI, Desai A. CTLA-4 and PD-1 Pathways. American Journal of Clinical Oncology. 2016; 39:98-106.
6. Chan DV, Gibson HM, Aufiero BM et al. Differential CTLA-4 expression in human CD4+ versus CD8+ T cells is associated with increased NFAT1 and inhibition of CD4+ proliferation. Genes & Immunity. 2015; 15:25 – 32.

7. McCoy K and Le Gros G. The role of CTLA-4 in the regulation of T cell immune responses. *Immunology and Cell Biology*. 1999; 77:1-10.
8. Castan J, Tenner-Racz K, Racz P et al. Accumulation of CTLA-4 expressing T lymphocytes in the germinal centres of human lymphoid tissues. *Immunology*. 1997; 90: 267-271.

Data publikacji

03 kwietnia 2020

Pripravljen primarno protitelo BOND

CTLA-4 (CAL49), 7 ml

Kataloška št.: PA0181

Predvidena uporaba

Ta reagent je namenjen diagnostični uporabi *in vitro*.

Monoklonsko protitelo CTLA-4 (CAL49) je namenjeno kvalitativni identifikaciji molekule proteina CTLA-4 s svetlobno mikroskopijo v tkivih, fiksiranih s formalinom in vstavljenih v parafin, z imunohistokemijskim barvanjem z uporabo avtomatiziranega sistema BOND (kar vključuje sistem Leica BOND-MAX in sistem Leica BOND-III).

Klinično razlago kakršnega koli obarvanja ali odsotnosti le-tega morajo dopolnjevati morfološke študije in ustrezni kontrolni vzorci, ki jih v okviru klinične anamneze bolnika in drugih diagnostičnih testov oceni usposobljen patolog.

Povzetek in razlaga

Imunohistokemijske tehnike se lahko uporabijo za prikaz prisotnosti antigenov v tkivih in celicah (glejte »Uporaba reagentov BOND« v priloženi dokumentaciji za uporabnike sistema BOND). Primarno protitelo CTLA-4 (CAL49) je izdelek, ki je pripravljen za uporabo in posebej optimiziran za uporabo s sistemom BOND Polymer Refine Detection. Prikaz humanega proteina CTLA-4 se doseže tako, da se najprej dovolj vezava protitelesa CTLA-4 (CAL49) na rezino, nato pa se ta vezava prikaže z uporabo reagentov v sistemu za zaznavanje. Uporaba teh izdelkov skupaj z avtomatiziranim sistemom BOND (vključuje sistem Leica BOND-MAX in sistem Leica BOND-III) zniža možnost človeške napake in variabilnosti, ki sama po sebi izhaja iz redčenja posameznega reagenta, ročnega pipetiranja in nanosa reagenta.

Priloženi reagenti

CTLA-4 (CAL49) je kuniče monoklonsko protitelo, usmerjeno proti humanim antigenom, ki je izdelano kot supernatant tkivne kulture in je dobavljeno v fiziološki raztopini s pufrom tris, nosilno beljakovino in 0,35 % konzervansa ProClin™ 950.

Skupna prostornina = 7 ml.

Klon

CAL49

Opomba: Klon CAL49 po licenci izdeluje in prodaja družba Abcam Plc.

Imunogen

Sintetični peptid, ki ustreza humanemu CTLA-4 aa183-283.

Specifičnost

Humani protein CTLA-4.

Razred Ig

IgG1

Skupna koncentracija beljakovin

Približno 10 mg/ml

Koncentracija protiteles

Višja ali enaka 0,2 mg/l.

Redčenje in mešanje

Primarno protitelo CTLA-4 (CAL49) je optimalno razredčeno za uporabo na sistemu BOND (vključuje sistem Leica BOND-MAX in sistem Leica BOND-III). Rekonstitucija, mešanje, redčenje ali titracija tega reagenta niso potrebni.

Potrebni materiali, ki niso priloženi

Glejte »Uporaba reagentov BOND« v priloženi dokumentaciji BOND za uporabnika za popoln seznam materialov, ki so potrebni za obdelavo vzorcev in imunohistokemijsko barvanje pri uporabi sistema BOND (vključuje sistem Leica BOND-MAX in sistem Leica BOND-III).

Shranjevanje in stabilnost

Hraniti pri temperaturi 2-8°C. Ne uporabljajte po datumu izteka roka uporabnosti, navedenem na oznaki na vsebniku.

Znaki, ki kažejo kontaminacijo in/ali nestabilnost protitelesa CTLA-4 (CAL49), so: motnost raztopine, prisotnost vonja in oborine. Takoj po uporabi ohladite na temperaturo 2-8°C.

Uporabnik mora potrditi ustreznost pogojev shranjevanja, če se ti razlikujejo od zgoraj navedenih¹.

Previdnosti ukrepi

- Ta izdelek je namenjen za diagnostično uporabo *in vitro*.
- Koncentracija konzervansa ProClin™ 950 je 0,35 %. Vsebuje aktivno učinkovino 2-metilizotiazol-3(2H)-on in lahko povzroči draženje kože, oči, sluznice ter zgornjih dihalnih poti. Kadar delate z reagenti, nosite rokavice za enkratno uporabo.
- Kopija varnostnega lista vam je na voljo pri lokalnem distributerju ali v regionalni pisarni družbe Leica Biosystems ali na spletnem mestu www.LeicaBiosystems.com.
- Z vzorci, pred fiksiranjem in po njem, in vsemi materiali, s katerimi so prišli v stik, morate rokovati, kot da bi lahko prenašali okužbe, in pri njihovem odstranjevanju slediti ustreznim previdnostnim ukrepom². Nikoli ne pipetirajte reagentov skozi usta; pazite, da reagenti

in vzorci ne pridejo v stik s kožo ali sluznicami. Če reagenti ali vzorci pridejo v stik z občutljivimi deli, jih izperite z obilo vode. Poiščite zdravniško pomoč.

- Sledite zveznim, državnim ali lokalnim predpisom za odstranjevanje katerih koli morebitno strupenih sestavin.
- Pazite, da ne pride do mikrobné okužbe reagentov, saj lahko povzroči nespecifično barvanje.
- Če uporabite čas ali temperature razkrivanja in inkubacije, ki se razlikujejo od navedenih, lahko pridobite napačne rezultate. Uporabnik mora validirati morebitne spremembe.

Navodila za uporabo

Primarno protitelo CTLA-4 (CAL49) je bilo razvito za uporabo na avtomatiziranem sistemu BOND (vključuje sistem Leica BOND-MAX in sistem Leica BOND-III) skupaj s sistemom BOND Polymer Refine Detection. Priporočeni protokol barvanja za primarno protitelo CTLA-4 (CAL49) je protokol IHC Protocol F. Za toplotno pridobivanje epitopa se priporoča 20-minutna uporaba raztopine BOND Epitope Retrieval Solution 2 (AR9640).

Pričakovani rezultati

Normalna tkiva

Klon CAL49 zazna protein CTLA-4 v citoplazmi/membrani dela imunskih celic. Obarvanje so opazili v imunskih celicah večine vrst tkiva, zlasti v limfnem vozlu, nebnici, vranici in priželjcu. Obarvanje je bilo opaženo pri celicah medule nadledvične žleze, acinarnih celicah trebušne slinavke, alveolarnih makrofagih, nekaterih celicah bele možganovine malih možganov in folikularnih epitelijskih celicah ščitnice. Šibko barvanje so opazili v proksimalnih tubulih ledvic, jetrnih hepatocitih in respiratornem epiteliju grla. Obarvanje urotelijske bazalne membrane je bilo opaženo v sečnem mehurju. (Skupno število ocenjenih normalnih primerov = 124).

Tumorska tkiva

Klon CAL49 je obarval 1/11 tumorjev dojke (vključno z 1/7 invazivnih duktalnih karcinomov, 0/2 fibroadenomov, 0/1 mucinoznega raka dojke in 0/1 invazivnega lobularnega karcinoma), 1/5 tumorjev ščitnice (vključno z 1/1 folikularnega karcinoma, 0/3 folikularnih adenomov in 0/1 papilarnega karcinoma ščitnice) in 1/4 hepatocelularnih karcinomov. Obarvanja niso zaznali pri endometrijskih tumorjih (0/12) (vključno z 0/10 adenokarcinomov, 0/1 jasnoceličnega karcinoma in 0/1 atipične hiperplazije), črevesnih tumorjih (0/8) (vključno z 0/6 adenokarcinomov in 0/2 adenomov), tumorjih glave in vratu (0/5) (vključno z 0/1 adenokarcinoma, 0/1 nazofaringealnega karcinoma, 0/1 ploščatoceličnega karcinoma, 0/1 adenoidnega cističnega karcinoma in 0/1 adenoma), metastatskih tumorjih (0/5), možganskih tumorjih (0/4) (vključno z 0/3 meningioma in 0/1 astrocitoma), pljučnih tumorjih (0/4) (vključno z 0/2 ploščatoceličnih karcinomov, 0/1 adenokarcinoma in 0/1 drobnoceličnega karcinoma), ploščatoceličnih karcinomih požiralnika (0/3), adenokarcinomih želodca (0/3), limfomih (0/3), tumorjih jajčnikov (0/3) (vključno z 0/2 adenokarcinomov in 0/1 tumorja granuloznih celic), tumorjih nadledvične žleze (0/2) (vključno z adenokortikalnim karcinomom in adenomom), karcinomih prehodnih celic sečnega mehurja (0/2), kostnih tumorjih (0/2) (vključno z 0/1 osteosarkoma in 0/1 hondrosarkoma), ledvičnih svetloceličnih karcinomih (0/2), adenokarcinomih prostate (0/2), seminomih (0/2), ploščatoceličnih karcinomih materničnega vratu (0/2), melanomu (0/1), adenokarcinomu trebušne slinavke (0/1), ploščatoceličnem kožnem karcinomu (0/1) in hiperplaziji prostate (0/1). (Skupno število ocenjenih nenormalnih primerov = 88).

Izdelek CTLA-4 (CAL49) se priporoča za zaznavanje proteina CTLA-4 v normalnih in neoplastičnih tkivih kot dodatna analiza ob konvencionalni histopatologiji z uporabo neimunskih histokemičnih barvil.

Specifične omejitve izdelka

Družba Leica Biosystems je protitelo CTLA-4 (CAL49) optimizirala za uporabo s sistemom BOND Polymer Refine Detection in pomožnimi reagenti BOND. Uporabniki, ki odstopijo od priporočenih preizkusnih postopkov, morajo prevzeti odgovornost za razlago bolnikovih rezultatov pod temi pogoji. Trajanje protokola se lahko spremeni zaradi razlik pri fiksiranju tkiv in učinkovitosti izboljšave antigena ter se mora določiti empirično. Uporabiti morate negativne kontrolne reagente, kadar optimizirate pogoje razkrivanja in trajanje protokola.

Odpravljanje težav

Glejte 3. navedbo za ukrep za odpravljanje napake.

Če želite poročati o nenavadnem obarvanju, se obrnite na svojega lokalnega distributerja ali regionalno pisarno družbe Leica Biosystems.

Dodatne informacije

Dodatne informacije o imunološkem barvanju z reagenti BOND lahko najdete v priloženi dokumentaciji za uporabnike sistema BOND »Uporaba reagentov BOND« v poglavjih Načelo postopka, Potrebni materiali, Priprava vzorcev, Kontrola kakovosti, Verifikacija testa, Tolmačenje obarvanja, Legenda za simbole na oznakah in Splošne omejitve.

Literatura

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Brown C, Sekhavati F, Cardenes R et al. CTLA-4 immunohistochemistry and quantitative image analysis for profiling of human cancers. Journal of Histochemistry and Cytochemistry. 2019; 67(6):901-918.
5. Buchbinder EI, Desai A. CTLA-4 and PD-1 Pathways. American Journal of Clinical Oncology. 2016; 39:98-106.
6. Chan DV, Gibson HM, Aufiero BM et al. Differential CTLA-4 expression in human CD4+ versus CD8+ T cells is associated with increased NFAT1 and inhibition of CD4+ proliferation. Genes & Immunity. 2015; 15:25 – 32.
7. McCoy K and Le Gros G. The role of CTLA-4 in the regulation of T cell immune responses. Immunology and Cell Biology. 1999; 77:1-10.
8. Castan J, Tenner-Racz K, Racz P et al. Accumulation of CTLA-4 expressing T lymphocytes in the germinal centres of human lymphoid tissues. Immunology. 1997; 90: 267-271.

Datum izdaje

03 april 2020

Primární protilátka BOND připravená k použití CTLA-4 (CAL49), 7 ml

Kat. č.: PA0181

Zamýšlené použití

Tato reagensie je určena k diagnostickému použití *in vitro*.

Monoklonální protilátka CTLA-4 (CAL49) je určena k použití při kvalitativním stanovení proteinu CTLA-4 světelnou mikroskopií ve tkáni fixované formalinem a zalité v parafínu imunohistochemickým barvením pomocí automatického systému BOND (zahrnujícího systémy Leica BOND-MAX a Leica BOND-III).

Klinickou interpretaci jakéhokoli barvení nebo jeho nepřítomnosti je nutné doplnit morfologickým vyšetřením a použitím správných kontrol a zhodnotit je musí kvalifikovaný patolog v kontextu s klinickou anamnézou pacienta a jinými diagnostickými testy.

Souhrn a vysvětlení

Imunohistochemické techniky lze použít k průkazu přítomnosti antigenů ve tkáni a v buňkách (viz „Použití reagensí BOND“ v uživatelské dokumentaci BOND). Primární protilátka CTLA-4 (CAL49) je produkt připravený k použití, který byl specificky optimalizován k použití se soupravou BOND Polymer Refine Detection. Průkazu lidského proteinu CTLA-4 se dosáhne tím, že se nejprve umožní vazba CTLA-4 (CAL49) na řezu, a poté se tato vazba vizualizuje pomocí reagensí dodaných v detekčním systému. Použití těchto produktů v kombinaci s automatickým systémem BOND system (včetně systému Leica BOND-MAX system a Leica BOND-III system) snižuje možnost lidské chyby a inherentní variability v důsledku ředění jednotlivých reagensí, manuálního pipetování a použití reagensí.

Dodávané reagensie

CTLA-4 (CAL49) je králičí monoklonální protilátka proti lidským antigenům vyráběná jako supernatant z tkáňové kultury a dodávaná ve fyziologickém roztoku pufovaném Tris s přenášejícím proteinem, obsahující jako konzervační prostředek 0,35% ProClin™ 950.

Celkový objem = 7 ml.

Klon

CAL49

Poznámka. Klon CAL49 se vyrábí a prodává na základě licence společnosti Abcam Plc.

Imunogen

Syntetický peptid odpovídající lidskému CTLA-4 aa183-283.

Specifická

Lidský protein CTLA-4.

Třída Ig

IgG1

Koncentrace celkového proteinu

Přibližně 10 mg/ml

Koncentrace protilátek

0,2 mg/ml nebo vyšší.

Ředění a míchání

Primární protilátka CTLA-4 (CAL49) je optimálně naředěná k použití v systému BOND system (včetně systému Leica BOND-MAX system a Leica BOND-III system). Rekonstituce, míchání, ředění ani titrace této reagensie nejsou nutné.

Potřebný materiál, který není součástí dodávky

Úplný seznam materiálů potřebných ke zpracování vzorku a k imunohistochemickému barvení pomocí systému BOND (včetně systému Leica BOND-MAX a Leica BOND-III) je uveden v bodě „Použití reagensí BOND“ v uživatelské dokumentaci BOND.

Skladování a stabilita

Uchovávejte při teplotě 2-8°C. Nepoužívejte po uplynutí data expirace uvedeného na štítku nádoby.

Známky signalizující kontaminaci a/nebo nestabilitu CTLA-4 (CAL49) jsou: zkalení roztoku, vznik zápachu a přítomnost precipitátů. Okamžitě po použití vraťte do prostředí s teplotou 2-8°C.

Podmínky skladování jiné než výše uvedené musí uživatel! validovat.

Bezpečnostní opatření

- Tento produkt je určen pouze pro diagnostické použití *in vitro*.
- Koncentrace přípravku ProClin™ 950 je 0,35 %. Obsahuje aktivní složku 2-methylisothiazol-3(2H)-on a může způsobit podráždění kůže, očí, sliznic a horních cest dýchacích. Při manipulaci s reagensiemi používejte rukavice na jedno použití.
- Výřez bezpečnostního listu materiálu získáte od místního distributora nebo oblastní kanceláře společnosti Leica Biosystems, případně můžete navštívit webovou stránku Leica Biosystems: www.LeicaBiosystems.com
- Se vzorky, před fixací i po fixaci, a se všemi materiály, které s nimi přišly do kontaktu, je nutno zacházet, jako by mohly přenášet infekci, a zlikvidovat je s použitím příslušných bezpečnostních opatření². Nikdy reagensie nepipetujte ústy a zabraňte kontaktu reagensí a vzorků s kůží a sliznicemi. Pokud se reagensie nebo vzorky dostanou do kontaktu s citlivými oblastmi, omyjte je velkým množstvím vody. Vyhledejte lékařskou pomoc.

- Údaje o likvidaci jakýchkoli potenciálně toxických komponent prostudujte ve federálních, státních nebo místních nařízeních.
- Minimalizujte mikrobiální kontaminaci reagensů, mohlo by dojít ke zvýšení výskytu nespecifického barvení.
- Získávání, inkubační doby nebo teploty jiné než specifikované mohou vést k chybným výsledkům. Všechny takové změny musí být uživatelem validovány.

Návod k použití

Primární protilátka CTLA-4 (CAL49) byla vyvinuta k použití v automatickém systému BOND system (včetně systému Leica BOND-MAX system a Leica BOND-III system) v kombinaci se soupravou BOND Polymer Refine Detection. Protokol doporučeného barvení primární protilátky CTLA-4 (CAL49) je IHC Protocol F. Teplem indukované odmaskování epitopu se doporučuje s použitím roztoku BOND Epitope Retrieval Solution 2 (AR9640) po dobu 20 minut.

Očekávané výsledky

Normální tkáně

Klon CAL49 detekuje protein CTLA-4 v cytoplazmě/membráně části imunních buněk. Barvení bylo pozorováno v imunních buňkách ve většině typů tkání a zejména v lymfatických uzlinách, tonzile, slezině a brzlíku. Barvení bylo pozorováno v buňkách v dřeně nadledvin, buňkách pankreatických acínů, alveolárních makrofágů, občasných buňkách v bílé hmotě mozečku a ve folikulárních epitelálních buňkách štítné žlázy. Slabé barvení bylo pozorováno v proximálních tubulech ledvin, hepatocytech jater a respiračním epitelu hrtanu. V močovém měchýři bylo pozorováno barvení uroteliální bazální membrány. (Celkový počet normálních vyšetřovaných tkání = 124).

Nádorové tkáně

Klon CAL49 zbarvil 1/11 nádorů prsu (včetně 1/7 invazivního ductálního karcinomu, 0/2 fibroadenomů, 0/1 mucinózní rakoviny prsu a 0/1 invazivního lobulárního karcinomu), 1/5 nádorů štítné žlázy (včetně 1/1 folikulárního karcinomu, 0/3 folikulárních adenomů a 0/1 papilárního karcinomu štítné žlázy) a 1/4 hepatocelulárních karcinomů. Žádné zbarvení nebylo pozorováno u nádorů endometria (0/12) (včetně 0/10 adenokarcinomů, 0/1 světlóbněného karcinomu a 0/1 atypické hyperplazie), nádorů střev (0/8) (včetně 0/6 adenokarcinomů a 0/2 adenomů), nádorů hlavy a krku (0/5) (včetně 0/1 adenokarcinomu, 0/1 nasofaryngeálního karcinomu, 0/1 dlaždicobuněčného karcinomu, 0/1 adenoidního cystického karcinomu a 0/1 adenomu), metastatických nádorů (0/5), nádorů mozku (0/4) (včetně 0/3 meningiomů a 0/1 astrocytomu), nádorů plic (0/4) (včetně 0/2 dlaždicobuněčných karcinomů, 0/1 adenokarcinomu a 0/1 malobuněčného karcinomu), dlaždicobuněčného karcinomu jícnu (0/3), adenokarcinomu žaludku (0/3), lymfomu (0/3), nádorů vaječníků (0/3) (včetně 0/2 adenokarcinomů a 0/1 nádoru buněk granulózy), nádorů nadledvinek (0/2) (včetně adrenokortikálního karcinomu a adenomu), karcinomu přechodných buněk močového měchýře (0/2), nádorů kostí (0/2) (včetně 0/1 osteosarkomu a 0/1 chondrosarkomu), renálních světlóbněčných karcinomů (0/2), adenokarcinomu prostaty (0/2), seminomů (0/2), dlaždicobuněčných karcinomů děložního čípku (0/2), melanomu (0/1), adenokarcinomu slinivky břišní (0/1), dlaždicobuněčného karcinomu kůže (0/1) a hyperplazie prostaty (0/1). (Celkový počet vyšetřených abnormálních tkání = 88)

Protilátka CTLA-4 (CAL49) se doporučuje k detekci proteinu CTLA-4 v normálních a neoplastických tkáních, jako doplněk ke konvenčním histopatologiím s použitím neimunologických histochemických nátěrů.

Omezení specifická pro tento produkt

CTLA-4 (CAL49) byla společností Leica Biosystems optimalizována pro použití se soupravou BOND Polymer Refine Detection a s pomocnými reagensy BOND. Uživateli, kteří se při vyšetření odchýlí od doporučeného postupu, musí za těchto okolností přijmout odpovědnost za interpretaci výsledků u pacienta. Doby uvedené v protokolu se mohou lišit v důsledku odchylek při fixaci tkání a účinnosti při zvýraznění antigenu a musí být stanoveny empiricky. Při optimalizaci podmínek při získávání a dob v protokolu musí být použity reagensy pro negativní kontrolu.

Řešení problémů

Nápravná opatření jsou uvedena v odkaze 3.

S hlášením neobvyklého barvení kontaktujte místního distributora nebo oblastní kancelář společnosti Leica Biosystems.

Další informace

Další informace o imunobarvení reagensy BOND naleznete pod názvy Princip metody, Potřebné materiály, Příprava vzorku, Kontrola kvality, Ověření testů, Interpretace barvení, Vysvětlení symbolů na štítcích a Obecná omezení v uživatelské dokumentaci BOND, v bodě „Použití reagensů BOND“.

Literatura

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Brown C, Sekhaviati F, Cardenas R et al. CTLA-4 immunohistochemistry and quantitative image analysis for profiling of human cancers. Journal of Histochemistry and Cytochemistry. 2019; 67(6):901-918.
5. Buchbinder EI, Desai A. CTLA-4 and PD-1 Pathways. American Journal of Clinical Oncology. 2016; 39:98-106.
6. Chan DV, Gibson HM, Aufiero BM et al. Differential CTLA-4 expression in human CD4+ versus CD8+ T cells is associated with increased NFAT1 and inhibition of CD4+ proliferation. Genes & Immunity. 2015; 15:25 – 32.
7. McCoy K and Le Gros G. The role of CTLA-4 in the regulation of T cell immune responses. Immunology and Cell Biology. 1999; 77:1-10.
8. Castan J, Tenner-Racz K, Racz P et al. Accumulation of CTLA-4 expressing T lymphocytes in the germinal centres of human lymphoid tissues. Immunology. 1997; 90: 267-271.

Datum vydání

03 duben 2020

Primárna protilátka na priame použitie pre systém BOND CTLA-4 (CAL49), 7 ml

Katalógové č.: PA0181

Zamýšľané použitie

Toto činidlo je určené na diagnostické použitie *in vitro*.

Monoklonálna protilátka CTLA-4 (CAL49) je určená na použitie pri kvalitatívnej identifikácii proteínu CTLA-4 svetelnou mikroskopiou v tkanive fixovanom formalínom a zaliatom v parafíne prostredníctvom imunohistochemického farbenia s použitím automatizovaného systému BOND (zahŕňa systémy Leica BOND-MAX a Leica BOND-III).

Klinická interpretácia akéhokoľvek zafarbenia alebo jeho absencie musí byť kombinovaná s morfológickými vyšetreniami a zodpovedajúcimi kontrolami. Výsledky je nutné vyhodnotiť v kontexte klinickej anamnézy pacienta a ďalších diagnostických testov vedených kvalifikovaným patológom.

Zhrnutie a vysvetlenie

Imunohistochemické techniky možno použiť na preukázanie prítomnosti antigénov v tkanivách a bunkách (pozrite si časť „Používanie činidiel BOND“ v používateľskej dokumentácii k systému BOND). Primárna protilátka CTLA-4 (CAL49) je produkt pripravený na okamžité použitie, ktorý bol špecificky optimalizovaný na použitie so systémom BOND Polymer Refine Detection. Preukázanie ľudského proteínu CTLA-4 sa vykonáva tak, že najprv sa umožní väzba prípravku CTLA-4 (CAL49) na rez a táto väzba sa následne vizualizuje pomocou činidiel poskytnutých v detekčnom systéme. Použitie týchto produktov v spojitosti s automatizovaným systémom BOND (zahŕňa systémy Leica BOND-MAX a Leica BOND-III) znižuje možnosť ľudskej chyby a inherentnej variability vyplývajúcej z individuálneho nariadenia činidiel, manuálneho pipetovania a aplikácie činidiel.

Dodané činidlá

CTLA-4 (CAL49) je králičia anti-ľudská monoklonálna protilátka vyprodukovaná ako supernatant tkanivových kultúr a dodávaná v tri-pufrovanom fyziologickom roztoku s transportným proteínom, obsahujúca 0,35 % prípravku ProClin™ 950 ako konzervačnej látky.

Celkový objem = 7 ml.

Klon

CAL49

Pozn.: Klon CAL49 sa vyrába a predáva v rámci licencie spoločnosti Abcam Plc.

Imunogén

Syntetický peptid zodpovedajúci ľudskému proteínu CTLA-4 aa183-283.

Špecifická

Ľudský proteín CTLA-4.

Trieda Ig

IgG1

Celková koncentrácia proteínov

Cca 10 mg/ml

Koncentrácia protilátok

Väčšia alebo rovná 0,2 mg/l.

Riedenie a miešanie

Primárna protilátka CTLA-4 (CAL49) je optimálne zriadená na použitie v systéme BOND (zahŕňa systémy Leica BOND-MAX a Leica BOND-III). Rekonštitúcia, miešanie, riedenie ani titrácia tohto činidla nie sú potrebné.

Požadovaný nedodaný materiál

Úplný zoznam materiálov potrebných na prípravu vzorky a imunochemické zafarbenie pomocou systému BOND (zahŕňa systémy Leica BOND-MAX a Leica BOND-III) si pozrite v časti „Používanie činidiel BOND“ v používateľskej dokumentácii k systému BOND.

Uskladnenie a stabilita

Skladujte pri teplote 2 – 8 °C. Nepoužívajte po uplynutí dátumu expirácie uvedeného na štítku zásobníka.

Známky signalizujúce kontamináciu a/alebo nestabilitu prípravku CTLA-4 (CAL49) sú: zakalenosť roztoku, vznik zápachu a prítomnosť zrazeniny. Okamžite po použití vráťte do teploty 2 – 8 °C.

Iné než vyššie uvedené podmienky skladovania si vyžadujú validáciu používateľom¹.

Bezpečnostné opatrenia

- Tento produkt je určený na diagnostické použitie *in vitro*.
- Koncentrácia produktu ProClin™ 950 je 0,35 %. Obsahuje aktívnu zložku 2-metylizotiazol-3(2H)-ón a môže spôsobiť podráždenie kože, očí, sliznic a horných dýchacích ciest. Pri manipulácii s činidlami používajte jednorazové rukavice.
- Materiálový bezpečnostný list vám poskytne miestny distribútor alebo regionálna pobočka spoločnosti Leica Biosystems, prípadne navštívte webové sídlo spoločnosti Leica Biosystems www.LeicaBiosystems.com
- So vzorkami pred fixáciou a po nej a všetkými materiálmi, ktoré s nimi prišli do kontaktu, je nutné manipulovať ako s potenciálne infekčnými a zlikvidovať ich pri dodržaní zodpovedajúcich bezpečnostných opatrení. Činidlá nikdy nepipetujte ústami a zabráňte

kontaktu činidiel a vzoriek s kožou a sliznicami. Ak sa činidlá alebo vzorky dostanú do kontaktu s citlivými oblasťami, umyte ich veľkým množstvom vody. Vyhľadajte lekársku pomoc.

- Likvidáciu prípadných potenciálne toxických súčastí definujú federálne, štátne alebo miestne predpisy.
- Minimalizujte mikrobiálnu kontamináciu činidiel. V opačnom prípade môže dôjsť k zvýšeniu nespecifického zafarbenia.
- Nedodržanie predpísaných dób záchytu, inkubačných dób alebo teplôt môže viesť k nesprávnym výsledkom. Všetky takéto zmeny si vyžadujú validáciu používateľom.

Návod na použitie

Primárna protilátka CTLA-4 (CAL49) bola vytvorená na použitie v automatizovanej systéme BOND (zahŕňa systémy Leica BOND-MAX a Leica BOND-III) v kombinácii so systémom BOND Polymer Refine Detection. Odporúčaný protokol farbenia pre primárnu protilátku CTLA-4 (CAL49) je IHC Protocol F. Záchyt epitopov s tepelnou indukciou sa odporúča s použitím roztoku BOND Epitope Retrieval Solution 2 (AR9640) na 20 minút.

Očakávané výsledky

Normálne tkanivá

Klon CAL49 deteguje proteín CTLA-4 v cytoplazme/membráne časti imunitných buniek. Zafarbenie bolo pozorované v imunitných bunkách vo väčšine typov tkanív, najmä v lymfatických uzlinách, mandliach, slezine a týmuse. Zafarbenie bolo pozorované v bunkách v dreni nadobličiek, pankreatických acinárnych bunkách, alveolárnych makrofágoch, príležitostných bunkách v bielej hmote mozoka a vo folikulárnych epiteliálnych bunkách štítnej žľazy. Slabé zafarbenie bolo pozorované v proximálnych obličkových tubuloch, pečenej hepatocytoch a respiračnom epiteli hrtana. V močovom mechúre bolo zaznamenané zafarbenie bazálnej membrány uretulu. (Celkový počet normálnych vyšetrených prípadov = 124).

Nádorové tkanivá

Klon CAL49 zafarbil 1/11 nádorov prsníka (vrátane 1/7 invazívnych duktálnych karcinómov, 0/2 fibroadenómov, 0/1 mucinózneho karcinómu prsníka a 0/1 invazívneho lobulárneho karcinómu), 1/5 nádorov štítnej žľazy (vrátane 1/1 folikulárneho karcinómu, 0/3 folikulárnych adenómov a 0/1 papilárneho karcinómu štítnej žľazy) a 1/4 hepatocelulárnych karcinómov. Žiadne zafarbenie nebolo pozorované pri nádoroch endometria (0/12) (vrátane 0/10 adenokarcinómov, 0/1 svetlobunkového karcinómu a 0/1 atypickej hyperplázie), nádoroch čriev (0/8) (vrátane 0/6 adenokarcinómov a 0/2 adenómov), nádoroch hlavy a krku (0/5) (vrátane 0/1 adenokarcinómu, 0/1 nazofaryngálneho karcinómu, 0/1 skvamocelulárneho karcinómu, 0/1 adenoidného cystického karcinómu a 0/1 adenómu), metastatických nádoroch (0/5), nádoroch mozgu (0/4) (vrátane 0/3 meningiómov a 0/1 astrocytómu), nádoroch pľúc (0/4) (vrátane 0/2 skvamocelulárnych karcinómov, 0/1 adenokarcinómu a 0/1 malobunkového karcinómu), skvamocelulárnych karcinómov pažeráka (0/3), adenokarcinóme žalúdka (0/3), lymfómoch (0/3), nádoroch vaječníkov (0/3) (vrátane 0/2 adenokarcinómov a 0/1 nádoru granulóznych buniek), nádoroch nadobličiek (0/2) (vrátane adrenokortikálneho karcinómu a adenómu), karcinómoch močového mechúra z prechodných buniek (0/2), nádoroch kostí (0/2) (vrátane 0/1 osteosarkómu a 0/1 chondrosarkómu), renálnych svetlobunkových karcinómoch (0/2), adenokarcinómoch prostaty (0/2), seminómoch (0/2), skvamocelulárnych karcinómoch krčka maternice (0/2), melanóme (0/1), adenokarcinóme pankreasu (0/1), skvamocelulárnom karcinóme kože (0/1) a hyperplázii prostaty (0/1). (Celkový počet abnormálnych vyšetrených prípadov = 88)

CTLA-4 (CAL49) sa odporúča na detekciu proteínu CTLA-4 v normálnych a neoplastických tkanivách ako doplnok konvenčnej histopatológie za použitia neimunologických histochemických farbení.

Špecifické obmedzenia pre tento výrobok

CTLA-4 (CAL49) bol v spoločnosti Leica Biosystems optimalizovaný na použitie so systémom BOND Polymer Refine Detection a pomocnými činidlami BOND. Používatelia, ktorí sa odchyľia od odporúčaných testovacích postupov, musia akceptovať zodpovednosť za interpretáciu výsledkov pacienta za týchto okolností. Časy podľa protokolu sa môžu líšiť z dôvodu odchýlok vo fixácii tkaniva a účinnosti zvyraznenia antigénu a musia sa zistiť empiricky. Pri optimalizácii podmienok záchytu a časov podľa protokolov je potrebné použiť negatívne kontroly činidlom.

Riešenie problémov

Pri náprave môže byť nápomocná referencia 3.

Neobyklé zafarbenie ohláste miestnemu distribútorovi alebo regionálnej pobočke spoločnosti Leica Biosystems.

Ďalšie informácie

Ďalšie informácie o imunofarbení s činidlami BOND nájdete v častiach Princíp postupu, Požadované materiály, Príprava vzorky, Kontrola kvality, Overenie testu, Interpretácia zafarbenia, Legenda k symbolom na označení a Všeobecné obmedzenia v používateľskej dokumentácii k systému BOND „Používanie činidiel BOND“.

Literatúra

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Brown C, Sekhavati F, Cardenas R et al. CTLA-4 immunohistochemistry and quantitative image analysis for profiling of human cancers. Journal of Histochemistry and Cytochemistry. 2019; 67(6):901-918.
5. Buchbinder EI, Desai A. CTLA-4 and PD-1 Pathways. American Journal of Clinical Oncology. 2016; 39:98-106.
6. Chan DV, Gibson HM, Aufiero BM et al. Differential CTLA-4 expression in human CD4+ versus CD8+ T cells is associated with increased NFAT1 and inhibition of CD4+ proliferation. Genes & Immunity. 2015; 15:25 – 32.
7. McCoy K and Le Gros G. The role of CTLA-4 in the regulation of T cell immune responses. Immunology and Cell Biology. 1999; 77:1-10.
8. Castan J, Tenner-Racz K, Racz P et al. Accumulation of CTLA-4 expressing T lymphocytes in the germinal centres of human lymphoid tissues. Immunology. 1997; 90: 267-271.

Dátum vydania

03 apríl 2020

Leica Biosystems Newcastle Ltd 
Balliol Business Park West
Benton Lane
Newcastle Upon Tyne NE12 8EW
United Kingdom
☎ +44 191 215 4242

Leica Biosystems Canada
71 Four Valley Drive
Concord, Ontario L4K 4V8
Canada
☎ +1 800 248 0123

Leica Biosystems Inc
1700 Leider Lane
Buffalo Grove IL 60089
USA
☎ +1 800 248 0123

Leica Biosystems Melbourne
Pty Ltd
495 Blackburn Road
Mt Waverley VIC 3149
Australia
☎ +61 2 8870 3500