

BOND Ready-to-Use Primary Antibody LAG-3 (12H6), 7 mL

Catalog No: PA0300

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 LAG-3 (12H6), 7 mL

Catalog No: PA0300

Intended Use

This reagent is for *in vitro* diagnostic use.

LAG-3 (12H6) monoclonal antibody is intended to be used for the qualitative identification by light microscopy of LAG-3 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). LAG-3 (12H6) primary antibody is a ready to use product that has been specifically optimized for use with BOND Polymer Refine Detection. The demonstration of human LAG-3 protein is achieved by first allowing the binding of LAG-3 (12H6) 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

LAG-3 (12H6) is a mouse 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

12H6

Immunogen

Prokaryotic recombinant protein corresponding to the 3 Immunoglobulin superfamily C2 external domains of the C-terminal region of the LAG-3 molecule.

Specificity

Human lymphocyte activation gene-3 protein.

Ig Class

IgG1, kappa

Total Protein Concentration

Approx 10 mg/mL

Antibody Concentration

Greater than or equal to 0.9 mg/L as determined by ELISA.

Dilution and Mixing

LAG-3 (12H6) 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 LAG-3 (12H6) 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

LAG-3 (12H6) 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 LAG-3 (12H6) 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 12H6 detects the LAG-3 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 also observed in alveolar macrophages. (Total number of normal cases evaluated = 122).

Tumor Tissues

Clone 12H6 stained 1/51 lymphomas (including 1/37 B-cell lymphomas, 0/8 T-cell lymphomas, 0/2 small lymphocytic lymphomas, 0/1 mantle cell lymphoma, 0/1 follicular lymphoma, 0/1 Hodgkin lymphoma and 0/1 anaplastic large cell lymphoma). No staining (other than infiltrating immune cells) was detected in 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), breast tumors (0/5) (including 0/3 invasive ductal carcinomas and 0/2 fibroadenomas), metastatic tumors (0/5), thyroid tumors (0/5) (including 0/3 follicular adenomas, 0/1 follicular carcinoma, and 0/1 papillary thyroid carcinoma), brain tumors (0/4) (including 0/3 meningiomas and 0/1 astrocytoma), hepatocellular carcinomas (0/4), lung tumors (0/4) (including 0/2 squamous cell carcinomas, 0/1 adenocarcinoma and 0/1 small cell carcinoma), squamous cell carcinomas of the esophagus (0/3), adenocarcinomas of the stomach (0/3), ovarian tumors (0/3) (including 0/2 adenocarcinomas and 0/1 granulosa cell tumor), adrenal tumors (0/2) (including 0/1 adrenocortical carcinoma and 0/1 adenoma), transitional cell carcinomas of the bladder (0/2), bone tumours (0/2) (including 0/1 osteosarcoma and 0/1 chondrosarcoma), prostatic adenocarcinomas (0/2), renal clear cell carcinomas (0/2), seminomas (0/2), squamous cell carcinoma of the cervix (0/2), endometrial adenocarcinomas (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 = 120).

LAG-3 (12H6) is recommended for the detection of LAG-3 protein in normal and neoplastic tissues, as an adjunct to conventional histopathology using non-immunologic histochemical stains.

Product Specific Limitations

LAG-3 (12H6) 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. Gandhi MK, Lambley E, Duraiswamy J et al. Expression of LAG-3 by tumor-infiltrating lymphocytes is coincident with the suppression of latent antigen-specific CD8+ T-cell function in Hodgkin lymphoma patients. Blood. 2006; 108(7):2280-2289.
5. He Y, Yu H, Rozeboom L et al. LAG-3 protein expression in non-small cell lung cancer and its relationship with PD-1/PD-L1 and tumor-infiltrating lymphocytes. Journal of Thoracic Oncology. 2017; 12(5):814-823.
6. Woo S, Li N, Bruno TC et al. Differential subcellular localization of the regulatory T-cell protein LAG-3 and the coreceptor CD4. European Journal of Immunology 2010; 40(6):1768-1777.
7. Hannier S and Triebel F. The MHC class II ligand lymphocyte activation gene-3 is co-distributed with CD8 and CD3-TCR molecules after their engagement by mAb or peptide-MHC class I complexes. International Immunology. 1999; 11(11):1745-1752.

Date of Issue

03 April 2020

Anticorps primaires prêts à l'emploi BOND

LAG-3 (12H6), 7 ml

Numéro de référence : PA0300

Utilisation conforme

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

L'anticorps monoclonal LAG-3 (12H6) destiné à l'identification qualitative par microscopie optique de la protéine LAG-3 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 LAG-3 (12H6) est prêt à l'emploi et a été spécialement optimisé pour BOND Polymer Refine Detection. La démonstration de la protéine LAG-3 humaine s'effectue d'abord par la liaison de LAG-3 (12H6) 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

LAG-3 (12H6) est un anticorps monoclonal anti-humain de souris, 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

12H6

Immunogène

Protéine procaryote recombinée correspondant aux 3 domaines externes C2 de la superfamille d'immunoglobulines de la région C-terminale de la molécule LAG-3.

Spécificité

Protéine du gène d'activation des lymphocytes humains 3

Classe Ig

IgG1, kappa

Concentration totale en protéines

Env. 10 mg/ml

Concentration en anticorps

Supérieure ou égale à 0,9 mg/l tel que déterminé par ELISA.

Dilution et mélange

L'anticorps primaire LAG-3 (12H6) 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 LAG-3 (12H6) 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.² 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 LAG-3 (12H6) 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 LAG-3 (12H6) 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 12H6 détecte la protéine LAG-3 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 également été observée dans les macrophages alvéolaires. (Nombre total de cas normaux évalués = 122).

Tissus tumoraux

Clone 12H6 a coloré 1/51 lymphomes (dont 1/37 lymphomes à cellules B, 0/8 lymphomes à cellules T, 0/2 petits lymphomes lymphocytaires, 0/1 lymphome à cellules du manteau, 0/1 lymphome folliculaire, 0/1 lymphome de Hodgkin et 0/1 lymphome anaplasique à grandes cellules). Aucune coloration (autre que des cellules immunitaires infiltrantes) n'a été détectée dans les tumeurs de l'intestin (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 cystique adénoïde et 0/1 adénome), tumeurs du sein (0/5) (dont 0/3 carcinomes canauxaires invasifs et 0/2 fibroadénomes), tumeurs métastatiques (0/5), tumeurs de la thyroïde (0/5) (dont 0/3 adénomes folliculaires, 0/1 carcinome folliculaire et 0/1 carcinome papillaire de la thyroïde), tumeurs du cerveau (0/4) (dont 0/3 méningiomes et 0/1 adénocarcinome), carcinomes hépatocellulaires (0/4), tumeurs du poumon (0/4) (dont 0/2 carcinomes à cellules squameuses, 0/1 adénocarcinome et 0/1 carcinome à petites cellules), carcinomes à cellules squameuses de l'œsophage (0/3), adénocarcinomes de l'estomac (0/3), tumeurs ovariennes (0/3) (dont 0/2 adénocarcinomes et 0/1 tumeur des cellules de la granulosa), tumeurs des glandes surrénales (0/2) (dont 0/1 carcinome corticosurrénal et 0/1 adénome), carcinomes à cellules transitionnelles de la vessie (0/2), tumeurs de l'os (0/2) (dont 0/1 ostéosarcome et 0/1 chondrosarcome), adénocarcinomes de la prostate (0/2), carcinomes rénaux à cellules claires (0/2), séminomes (0/2), carcinome à cellules squameuses du col de l'utérus (0/2), adénocarcinomes de l'endomètre (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 anormaux évalués = 120).

Le LAG-3 (12H6) est recommandé pour la détection de la protéine LAG-3 dans les tissus normaux et néoplasiques, en complément à l'histopathologie traditionnelle utilisant des marqueurs histochimiques non immunologiques.

Limites spécifiques au produit

LAG-3 (12H6) 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 peuvent 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. Gandhi MK, Lambley E, Duraiswamy J et al. Expression of LAG-3 by tumor-infiltrating lymphocytes is coincident with the suppression of latent antigen-specific CD8+ T-cell function in Hodgkin lymphoma patients. Blood. 2006; 108(7):2280-2289.
5. He Y, Yu H, Rozeboom L et al. LAG-3 protein expression in non-small cell lung cancer and its relationship with PD-1/PD-L1 and tumor-infiltrating lymphocytes. Journal of Thoracic Oncology. 2017; 12(5):814-823.
6. Woo S, Li N, Bruno TC et al. Differential subcellular localization of the regulatory T-cell protein LAG-3 and the coreceptor CD4. European Journal of Immunology 2010; 40(6):1768-1777.
7. Hannier S and Triebel F. The MHC class II ligand lymphocyte activation gene-3 is co-distributed with CD8 and CD3-TCR molecules after their engagement by mAb or peptide-MHC class I complexes. International Immunology. 1999; 11(11):1745-1752.

Date de publication

03 avril 2020

Anticorpo primario BOND pronto all'uso

LAG-3 (12H6), 7 ml

N. di catalogo: PA0300

Uso previsto

Questo reagente è per uso diagnostico *in vitro*.

L'anticorpo monoclonale LAG-3 (12H6) è destinato ad essere utilizzato per l'identificazione qualitativa al microscopio ottico della proteina LAG-3 in tessuti fissati in formalina, inclusi in paraffina e sottoposti a colorazione immunohistochimica 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 immunohistochimica 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 LAG-3 (12H6) 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 LAG-3 umana si ottiene in primo luogo consentendo il legame di LAG-3 (12H6) 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

LAG-3 (12H6) è un anticorpo monoclonale murino 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

12H6

Immunogeno

Proteina ricombinante procarionica corrispondente ai tre domini esterni della superfamiglia delle immunoglobuline C2 della regione C-terminale della molecola LAG-3.

Specificità

Proteina umana di attivazione dei linfociti gene-3.

Classe Ig

IgG1, kappa

Concentrazione proteica totale

Circa 10 mg/ml.

Concentrazione anticorpale

Pari o superiore a 0,9 mg/l, come determinato mediante test ELISA.

Diluizione e miscelazione

L'anticorpo primario LAG-3 (12H6) 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 immunohistochimica 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 LAG-3 (12H6) 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 specificate¹.

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-metilisotiazol-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 precauzione². 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 erranei. Ogni eventuale modifica deve essere validata dall'utente.

Istruzioni per l'uso

L'anticorpo primario LAG-3 (12H6) 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 LAG-3 (12H6) 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 12H6 rileva la proteina LAG-3 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 inoltre osservata colorazione nei macrofagi alveolari. (Numero complessivo di casi normali valutati = 122).

Tessuti neoplastici

Il clone 12H6 ha colorato 1 di 51 linfomi (compresi 1 di 37 linfomi a cellule B, 0 di 8 linfomi a cellule T, 0 di 2 linfomi linfocitici a piccole cellule, 0 di 1 linfoma a cellule mantellari, 0 di 1 linfoma follicolare, 0 di 1 linfoma di Hodgkin e 0 di 1 linfoma anaplastico a grandi cellule). Non è stata rilevata alcuna colorazione (ad eccezione delle cellule immunitarie infiltranti) nei tumori del colon-retto (0 di 8) (compresi 0 di 6 adenocarcinomi e 0 di 2 adenomi), nei 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 adenoide-cistico e 0 di 1 adenoma), nei tumori della mammella (0 di 5) (compresi 0 di 3 carcinomi duttali invasivi e 0 di 2 fibroadenomi), nei tumori metastatici (0 di 5), nei tumori della tiroide (0 di 5) (compresi 0 di 3 adenomi follicolari, 0 di 1 carcinoma follicolare e 0 di 1 carcinoma papillare della tiroide), nei tumori del cervello (0 di 4) (compresi 0 di 3 meningiomi e 0 di 1 astrocitoma), nei carcinomi epatocellulari (0 di 4), nei 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), nei carcinomi a cellule squamose dell'esofago (0 di 3), negli adenocarcinomi dello stomaco (0 di 3), nei tumori ovarici (0 di 3) (compresi 0 di 2 adenocarcinomi e 0 di 1 tumore a cellule della granulosa), nei tumori del surrene (0 di 2) (compresi 0 di 1 carcinoma adrenocorticale e 0 di 1 adenoma), nei carcinomi a cellule transizionali della vescica (0 di 2), nei tumori ossei (0 di 2) (compresi 0 di 1 osteosarcoma e 0 di 1 condrosarcoma), negli adenocarcinomi prostatici (0 di 2), nei carcinomi renali a cellule chiare (0 di 2), nei seminomi (0 di 2), nei carcinomi a cellule squamose della cervice (0 di 2), negli adenocarcinomi endometriali (0 di 2), in un melanoma (0 di 1), in un adenocarcinoma del pancreas (0 di 1), in un carcinoma a cellule squamose della pelle (0 di 1) e in un'iperplasia prostatica (0 di 1). (Numero totale di casi anormali esaminati = 120).

L'uso di LAG-3 (12H6) è consigliato per il rilevamento della proteina LAG-3 in tessuti normali e neoplastici, in aggiunta all'istopatologia convenzionale che si avvale di colorazioni istochimiche non immunologiche.

Limitazioni specifiche del prodotto

Il LAG-3 (12H6) 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 del campione, 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. Gandhi MK, Lambley E, Duraiswamy J et al. Expression of LAG-3 by tumor-infiltrating lymphocytes is coincident with the suppression of latent antigen-specific CD8+ T-cell function in Hodgkin lymphoma patients. Blood. 2006; 108(7):2280-2289.
5. He Y, Yu H, Rozeboom L et al. LAG-3 protein expression in non-small cell lung cancer and its relationship with PD-1/PD-L1 and tumor-infiltrating lymphocytes. Journal of Thoracic Oncology. 2017; 12(5):814-823.
6. Woo S, Li N, Bruno TC et al. Differential subcellular localization of the regulatory T-cell protein LAG-3 and the coreceptor CD4. European Journal of Immunology 2010; 40(6):1768-1777.
7. Hanner S and Triebel F. The MHC class II ligand lymphocyte activation gene-3 is co-distributed with CD8 and CD3-TCR molecules after their engagement by mAb or peptide-MHC class I complexes. International Immunology. 1999; 11(11):1745-1752.

Data di pubblicazione

03 aprile 2020

Gebrauchsfertiger BOND-Primärantikörper

LAG-3 (12H6), 7 ml

Artikel-Nr.: PA0300

Verwendungszweck

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

Der monoklonale Antikörper LAG-3 (12H6) wurde für die lichtmikroskopische qualitative Bestimmung von LAG-3-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 LAG-3 (12H6) ist ein gebrauchsfertiges Produkt, das speziell für den Gebrauch mit BOND Polymer Refine Detection optimiert wurde. Der Nachweis von humanem LAG-3-Protein erfolgt durch Bindung von LAG-3 (12H6) 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

LAG-3 (12H6) ist ein aus Zellkulturüberstand hergestellter, monoklonaler Maus-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

12H6

Immunogen

Prokaryotisches rekombinantes Protein, das den 3 externen Domänen der Immunglobulin-Superfamilie C2 im C-terminalen Bereich des LAG-3-Moleküls entspricht.

Spezifität

Humanes Protein von Lymphozytenaktivierungsgen 3.

Ig-Klasse

IgG1, Kappa

Gesamtproteinkonzentration

Ungefähr 10 mg/ml

Antikörperkonzentration

Größer oder gleich 0,9 mg/l laut ELISA-Bestimmung.

Verdünnen und mischen

Der Primärantikörper LAG-3 (12H6) 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 LAG-3 (12H6) 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 LAG-3 (12H6) 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 LAG-3 (12H6) 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 12H6 erkennt das Protein LAG-3 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 wurde ebenfalls bei Alveolarmakrophagen beobachtet. (Anzahl der insgesamt untersuchten Normalgewebeproben = 122).

Tumorgewebe

Klon 12H6 färbte 1/51 Lymphomen (einschließlich 1/37 B-Zell-Lymphomen, 0/8 T-Zell-Lymphomen, 0/2 kleinen lymphozytischen Lymphomen, 0/1 Mantelzelllymphomen, 0/1 follikulären Lymphomen, 0/1 Hodgkin-Lymphomen und 0/1 anaplastischen großzelligen Lymphomen). Keine Färbung (außer infiltrierenden Immunzellen) erfolgte bei Darmtumoren (0/8) (einschließlich 0/6 Adenokarzinomen und 0/2 Adenomen), Kopf- und Halstumoren (0/5) (einschließlich 0/1 Adenokarzinom, 0/1 nasopharyngealen Karzinom, 0/1 Plattenepithelkarzinom, 0/1 adenoid-zystisches Karzinom und 0/1 Adenom), Mammatumoren (0/5) (einschließlich 0/3 invasiven duktales Karzinomen und 0/2 Fibroadenomen), metastasierten Tumoren (0/5), Schilddrüsentumoren (0/5) (einschließlich 0/3 follikulären Adenomen, 0/1 follikulären Karzinom und 0/1 papillären Schilddrüsenkarzinom), Hirntumoren (0/4) (einschließlich 0/3 Meningeomen und 0/1 Astrozytom), Leberzellkarzinomen (0/4), Lungentumoren (0/4) (einschließlich 0/2 Plattenepithelkarzinomen, 0/1 Adenokarzinom und 0/1 kleinzelliges Karzinom), Plattenepithelkarzinomen des Ösophagus (0/3), Adenokarzinomen des Magens (0/3), Ovarialtumoren (0/3) (einschließlich 0/2 Adenokarzinomen und 0/1 Granulosazelltumor), Nebennierentumoren (0/2) (einschließlich 0/1 adrenokortikales Karzinom und 0/1 Adenom), Übergangszellkarzinomen der Harnblase (0/2), Knochentumoren (0/2) (einschließlich 0/1 Osteosarkom und 0/1 Chondrosarkom), prostaticen Adenokarzinomen (0/2), klarzelliges Nierenkarzinomen (0/2), Seminomen (0/2), Plattenepithelkarzinomen der Zervix (0/2), endometrialen Adenokarzinomen (0/2), einem Melanom (0/1), einem Adenokarzinom des Pankreas (0/1), einem Plattenepithelkarzinom der Haut (0/1) und einer prostatistischen Hyperplasie (0/1). (Anzahl der insgesamt untersuchten abnormalen Fälle = 120.)

LAG-3 (12H6) wird für den Nachweis von LAG-3-Protein in normalem und neoplastischem Gewebe als zusätzliches Hilfsmittel zur herkömmlichen Histopathologie unter Verwendung nicht-immunologischer histochemischer Färbemittel empfohlen.

Produktspezifische Beschränkungen

LAG-3 (12H6) 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 Färbegergebnisse 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. Gandhi MK, Lambley E, Duraiswamy J et al. Expression of LAG-3 by tumor-infiltrating lymphocytes is coincident with the suppression of latent antigen-specific CD8+ T-cell function in Hodgkin lymphoma patients. Blood. 2006; 108(7):2280-2289.
5. He Y, Yu H, Rozeboom L et al. LAG-3 protein expression in non-small cell lung cancer and its relationship with PD-1/PD-L1 and tumor-infiltrating lymphocytes. Journal of Thoracic Oncology. 2017; 12(5):814-823.
6. Woo S, Li N, Bruno TC et al. Differential subcellular localization of the regulatory T-cell protein LAG-3 and the coreceptor CD4. European Journal of Immunology 2010; 40(6):1768-1777.
7. Hannier S and Triebel F. The MHC class II ligand lymphocyte activation gene-3 is co-distributed with CD8 and CD3-TCR molecules after their engagement by mAb or peptide-MHC class I complexes. International Immunology. 1999; 11(11):1745-1752.

Ausgabedatum

03 April 2020

Anticuerpo primario listo para usar BOND

LAG-3 (12H6), 7 mL

N.º de catálogo: PA0300

Uso previsto

Este reactivo es para uso diagnóstico *in vitro*.

El anticuerpo monoclonal LAG-3 (12H6) está diseñado para la caracterización cualitativa por microscopía óptica de la proteína LAG-3 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 LAG-3 (12H6) es un producto listo para usar que se ha optimizado específicamente para su uso con BOND Polymer Refine Detection. La demostración de la proteína LAG-3 humana se puede llevar a cabo primero permitiendo la unión de LAG-3 (12H6) 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

El LAG-3 (12H6) es un anticuerpo monoclonal antihumano de ratón 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

12H6

Inmunógeno

Proteína recombinante procarriota correspondiente a los 3 dominios externos de la superfamilia de la inmunoglobulina C2 de la región terminal C de la molécula LAG-3.

Especificidad

Proteína del gen 3 para activación del linfocito humano

Clase Ig

IgG1, kappa

Concentración total de proteína

Aprox. 10 mg/ml.

Concentración de anticuerpo

Igual o superior a 0,9 mg/L, según lo determinado por ELISA.

Dilución y mezcla

El anticuerpo primario LAG-3 (12H6) 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 LAG-3 (12H6) 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 LAG-3 (12H6) 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 LAG-3 (12H6) 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 12H6 detecta la proteína LAG-3 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. También se observó tinción en los macrófagos alveolares. (Cifra total de casos normales evaluados = 122).

Tejidos tumorales

El clon 12H6 tiñó 1/51 linfomas (incluyendo 1/37 linfomas de células B, 0/8 linfomas de células T, 0/2 linfomas linfocíticos pequeños, 0/1 linfoma de células del manto, 0/1 linfoma folicular, 0/1 linfoma de Hodgkin y 0/1 linfoma anaplásico de células grandes). No se observó tinción (distinta de las células inmunitarias infiltrantes) en 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 adenoides cístico y 0/1 adenoma), tumores de mama (0/5) (incluyendo 0/3 carcinomas ductales invasivos y 0/2 fibroadenomas), tumores metastásicos (0/5), tumores tiroideos (0/5) (incluyendo 0/3 adenomas foliculares, 0/1 carcinoma folicular, y 0/1 carcinoma papilar tiroideo), tumores cerebrales (0/4) (incluyendo 0/3 meningiomas y 0/1 astrocitoma), carcinomas hepatocelulares (0/4), tumores pulmonares (0/4) (incluyendo 0/2 carcinomas de células escamosas, 0/1 adenocarcinoma y 0/1 carcinoma de células pequeñas), carcinomas de células escamosas del esófago (0/3), adenocarcinomas estomacales (0/3), tumores ováricos (0/3) (incluyendo 0/2 adenocarcinomas y 0/1 tumor de célula granulosa), tumores adrenales (0/2) (incluyendo 0/1 carcinoma adrenocortical y 0/1 adenoma), carcinomas de células transicionales de la vejiga (0/2), tumores óseos (0/2) (incluyendo 0/1 osteosarcoma y 0/1 condrosarcoma), adenocarcinomas prostáticos (0/2), carcinomas renales de células claras (0/2), seminomas (0/2), carcinoma de células escamosas del cuello uterino (0/2), adenocarcinomas endometriales (0/2), un melanoma (0/1), un adenocarcinoma del páncreas (0/1), un carcinoma de células escamosas de la piel (0/1) y una hiperplasia prostática (0/1). (Número total de casos anómalos evaluados = 120).

El LAG-3 (12H6) está recomendado para la detección de la proteína LAG-3 en tejidos normales y neoplásicos, como elemento de la histopatología tradicional con tinciones histoquímicas no inmunológicas.

Limitaciones específicas del producto

El LAG-3 (12H6) 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. Gandhi MK, Lambley E, Duraiswamy J et al. Expression of LAG-3 by tumor-infiltrating lymphocytes is coincident with the suppression of latent antigen-specific CD8+ T-cell function in Hodgkin lymphoma patients. Blood. 2006; 108(7):2280-2289.
5. He Y, Yu H, Rozeboom L et al. LAG-3 protein expression in non-small cell lung cancer and its relationship with PD-1/PD-L1 and tumor-infiltrating lymphocytes. Journal of Thoracic Oncology. 2017; 12(5):814-823.
6. Woo S, Li N, Bruno TC et al. Differential subcellular localization of the regulatory T-cell protein LAG-3 and the coreceptor CD4. European Journal of Immunology 2010; 40(6):1768-1777.
7. Hannier S and Triebel F. The MHC class II ligand lymphocyte activation gene-3 is co-distributed with CD8 and CD3-TCR molecules after their engagement by mAb or peptide-MHC class I complexes. International Immunology. 1999; 11(11):1745-1752.

Fecha de publicación

03 de abril de 2020

Anticorpo Primário Pronto a Utilizar BOND

LAG-3 (12H6), 7 mL

Catálogo N°.: PA0300

Utilização prevista

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

O anticorpo monoclonal LAG-3 (12H6) destina-se a ser utilizado na identificação qualitativa por microscopia ótica da proteína LAG-3 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 controles, 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 LAG-3 (12H6) consiste num produto pronto usar que foi especificamente otimizado para utilização com BOND Polymer Refine Detection. A demonstração da proteína LAG-3 humana é alcançada ao permitir primeiro a ligação do LAG-3 (12H6) 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

LAG-3 (12H6) é um anticorpo monoclonal anti-humano de rato 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

12H6

Imunogénico

Proteína recombinante procarriótica correspondente aos 3 domínios externos C2 da superfamília da Imunoglobulina da região do terminal C da molécula LAG-3.

Especificidade

Proteína de gene 3 de ativação do linfócito humano.

Classe de Ig

IgG1, capa

Concentração total de proteínas

Aprox. 10 mg/ml

Concentração de anticorpos

Superior ou igual a 0,9 mg/L, conforme determinado por ELISA.

Diluição e mistura

O anticorpo primário LAG-3 (12H6) 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 LAG-3 (12H6) 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-metilisotiazolína-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 precauções. 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 LAG-3 (12H6) 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 LAG-3 (12H6) é o IHC Protocol F. Recomenda-se a recuperação de epitopos induzida por calor utilizando a BOND Epitope Retrieval Solution 2 (AR9640) durante 20 minutos.

Resultados previstos

Tecidos normais

O clone 12H6 deteta a proteína LAG-3 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. Também foi observada coloração em macrófagos alveolares. (Número total de casos normais avaliados = 122.)

Tecidos tumorais

O clone 12H6 corou 1/51 linfomas (incluindo 1/37 linfomas de células B, 0/8 linfomas de células T, 0/2 linfomas linfocíticos pequenos, 0/1 linfoma das células do manto, 0/1 linfoma folicular, 0/1 linfoma de Hodgkin e 0/1 linfoma anaplásico de células grandes). Não foi detetada qualquer coloração (para além das células imunitárias infiltrantes) em 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 adenóide cístico e 0/1 adenoma), tumores da mama (0/5) (incluindo 0/3 carcinomas ductais invasivos e 0/2 fibroadenomas), tumores metastáticos (0/5), tumores da tireóide (0/5) (incluindo 0/3 adenomas foliculares, 0/1 carcinoma folicular, e 0/1 carcinoma papilar da tireóide), tumores cerebrais (0/4) (incluindo 0/3 meningiomas e 0/1 astrocitoma), carcinomas hepatocelulares (0/4), tumores dos pulmões (0/4) (incluindo 0/2 carcinomas de células escamosas, 0/1 adenocarcinoma e 0/1 carcinoma de pequenas células), carcinomas de células escamosas do esófago (0/3), adenocarcinomas do estômago (0/3), tumores dos ovários (0/3) (incluindo 0/2 adenocarcinomas e 0/1 tumor de células granulosas), tumores adrenais (0/2) (incluindo 0/1 carcinoma adrenocortical e 0/1 adenoma), carcinomas de células de transição da bexiga (0/2), tumores ósseos (0/2) (incluindo 0/1 osteossarcoma e 0/1 condrossarcoma), adenocarcinomas prostáticos (0/2), carcinomas de células claras renais (0/2), seminomas (0/2), carcinoma de células escamosas do colo do útero (0/2), adenocarcinomas endometriais (0/2), um 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 = 120.)

O LAG-3 (12H6) é recomendado para a deteção da proteína LAG-3 em tecidos normais e neoplásicos, como auxiliar da histopatologia convencional, através da utilização de corantes histoquímicos não imunológicos.

Limitações específicas do produto

O LAG-3 (12H6) 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. Gandhi MK, Lambley E, Duraiswamy J et al. Expression of LAG-3 by tumor-infiltrating lymphocytes is coincident with the suppression of latent antigen-specific CD8+ T-cell function in Hodgkin lymphoma patients. Blood. 2006; 108(7):2280-2289.
5. He Y, Yu H, Rozeboom L et al. LAG-3 protein expression in non-small cell lung cancer and its relationship with PD-1/PD-L1 and tumor-infiltrating lymphocytes. Journal of Thoracic Oncology. 2017; 12(5):814-823.
6. Woo S, Li N, Bruno TC et al. Differential subcellular localization of the regulatory T-cell protein LAG-3 and the coreceptor CD4. European Journal of Immunology 2010; 40(6):1768-1777.
7. Hannier S and Triebel F. The MHC class II ligand lymphocyte activation gene-3 is co-distributed with CD8 and CD3-TCR molecules after their engagement by mAb or peptide-MHC class I complexes. International Immunology. 1999; 11(11):1745-1752.

Data de emissão

03 de Abril de 2020

BOND Primär antikropp - färdig att använda

LAG-3 (12H6), 7 ml

Artikelnr: PA0300

Avsedd användning

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

LAG-3 (12H6) monoklonal antikropp är avsedd att användas för kvalitativ identifiering med ljusmikroskopi av LAG-3-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). LAG-3 (12H6) 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 LAG-3-protein uppnås genom att man först möjliggör bindning av LAG-3 (12H6) 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

LAG-3 (12H6) är en anti-human monoklonal antikropp från mus framställd som en supernatant från vävnadskultur, och levereras i tris-buffrad koksaltlösning med bärarprotein, innehållande 0,35 % ProClin™ 950 som konserveringsmedel.

Total volym = 7 ml.

Klon

12H6

Immunogen

Prokaryotiskt rekombinant protein motsvarande 3 Immunoglobulin-superfamiljens externa C2-domäner på den C-terminala regionen i LAG-3-molekylen.

Specifitet

Humant protein lymfocytaktiveringsgen-3.

Ig-klass

IgG1, kappa

Total proteinkoncentration

Ca. 10 mg/ml

Antikropps-koncentration

Större än eller lika med 0,9 mg/L enligt bestämning med ELISA.

Spädning och blandning

LAG-3 (12H6) 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, spädas 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 LAG-3 (12H6) 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, slemhinnorna 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. Rådgröer 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

LAG-3 (12H6) primär antikropp utvecklades 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 LAG-3 (12H6) primär antikropp är IHC Protocol F. Värmeinducerad epitopåtervinning rekommenderas med användning av BOND Epitope Retrieval Solution 2 (AR9640) i 20 minuter.

Förväntade resultat

Normala vävnader

Klon 12H6 detekterar LAG-3-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 även i alveolära makrofager. (Totalt antal utvärderade normalfall = 122).

Tumörvävnader

Klon 12H6 färgade 1/51 lymfom (inklusive 1/37 B-cellslymfom, 0/8 T-cellslymfom, 0/2 små lymfocytiska lymfom, 0/1 mantelcellslymfom, 0/1 follikulära lymfom, 0/1 Hodgkins lymfom och 0/1 anaplastiska storcelliga lymfom). Ingen färgning (utom in infiltrerande immunceller) detekterades i 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 karcinom, 0/1 skivepitelkarcinom, 0/1 adenoida cystiska karcinom och 0/1 adenom), brösttumörer (0/5) (inklusive 0/3 invasiva ductala karcinom och 0/2 fibroadenom), metastatiska tumörer (0/5), sköldkörteltumörer (0/5) (inklusive 0/3 follikulära adenom, 0/1 follikulära karcinom och 0/1 papillära sköldkörtelkarcinom), hjärntumörer (0/4) (inklusive 0/3 meningiom och 0/1 astrocytom), hepatocellulära karcinom (0/4), lungtumörer (0/4) (inklusive 0/2 skivepitelkarcinom, 0/1 adenokarcinom och 0/1 småcellskarcinom), skivepitelkarcinom i matstrupen (0/3), adenokarcinom i magsäcken (0/3), äggstockstumörer (0/3) (inklusive 0/2 adenokarcinom och 0/1 granulosaacellstumörer), binjuretumörer (0/2) (inklusive 0/1 adrenokortikala karcinom och 0/1 adenom), övergångscellkarcinom i urinblåsan (0/2), bentumörer (0/2) (inklusive 0/1 osteosarkom och 0/1 kondrosarkom), prostataadenokarcinom (0/2), renala karcinomer (0/2), seminom (0/2), skivepitelkarcinom i livmoderhalsen (0/2), endometrial adenokarcinom (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 onormala fall = 120).

LAG-3 (12H6) rekommenderas för detektering av humant LAG-3-protein i normala eller neoplastiska vävnader, som tillägg till konventionell histopatologi med användande av icke-immunologiska histokemiska fläckar.

Produktspecifika begränsningar

LAG-3 (12H6) 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. Protokolltiderna kan variera beroende på variation i vävnadsfixering och effektiviteten av antigenförstärkning och måste bestämmas empiriskt. Negativa reagenskontroller bör användas vid optimering av återvinningsförhållanden och protokolltider.

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 Förberedningsprincip, Nödvändiga materiel, Förbereda provexemplet, 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. Gandhi MK, Lambley E, Duraiswamy J et al. Expression of LAG-3 by tumor-infiltrating lymphocytes is coincident with the suppression of latent antigen-specific CD8+ T-cell function in Hodgkin lymphoma patients. Blood. 2006; 108(7):2280-2289.
5. He Y, Yu H, Rozeboom L et al. LAG-3 protein expression in non-small cell lung cancer and its relationship with PD-1/PD-L1 and tumor-infiltrating lymphocytes. Journal of Thoracic Oncology. 2017; 12(5):814-823.
6. Woo S, Li N, Bruno TC et al. Differential subcellular localization of the regulatory T-cell protein LAG-3 and the coreceptor CD4. European Journal of Immunology 2010; 40(6):1768-1777.
7. Hanner S and Triebel F. The MHC class II ligand lymphocyte activation gene-3 is co-distributed with CD8 and CD3-TCR molecules after their engagement by mAb or peptide-MHC class I complexes. International Immunology. 1999; 11(11):1745-1752.

Utgivningsdatum

03 april 2020

Έτοιμο για Χρήση Πρωτογενές Αντίσωμα BOND

LAG-3 (12H6), 7 mL

Αρ. καταλόγου: PA0300

Χρήση για την οποία Προορίζεται

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

Το μονοκλωνικό αντίσωμα LAG-3 (12H6) προορίζεται για την ποιοτική ταυτοποίηση με μικροσκοπία φωτός της πρωτεΐνης LAG-3 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 LAG-3 (12H6) είναι ένα έτοιμο για χρήση προϊόν που έχει βελτιστοποιηθεί ειδικά για χρήση με το BOND Polymer Refine Detection. Η κατάδειξη του LAG-3 επιτυγχάνεται πρώτα, επιτρέποντας τη δέσμευση του LAG-3 (12H6) 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 αντιδραστήριου, χειροκίνητη αναρρόφηση με πιπέτα και εφαρμογή αντιδραστήριου.

Παρεχόμενα αντιδραστήρια

Το LAG-3 (12H6) είναι ένα μονοκλωνικό αντι-ανθρώπινο αντίσωμα ποντικού που παράγεται ως υπερκείμενο ιστοκαλλέργειας και παρέχεται σε αλατούχο ρυθμιστικό διάλυμα Tris με πρωτεΐνη φορέα που περιέχει 0,35% ProClin™ 950 ως συντηρητικό.

Συνολικός όγκος = 7 mL.

Κλώνος

12H6

Ανοσογόνο

Προκαρμωτική ανασυνδυασμένη πρωτεΐνη που αντιστοιχεί σε 3 εξωτερικά τμήματα της υπεροικογένειας ανοσοσφαιρίνης C2 της C-τελικής περιοχής της του μορίου LAG-3.

Ειδικότητα

Ανθρώπινη πρωτεΐνη γονιδίου-3 ενεργοποίησης λεμφοκυττάρων.

Τάξη Ig

IgG1, κ

Ολική Συγκέντρωση Πρωτεΐνης

Περίπου 10 mg/mL.

Συγκέντρωση Αντισώματος

Μεγαλύτερη ή ίση με 0,9 mg/L, όπως προσδιορίζεται με ELISA.

Αραίωση και ανάμειξη

Το πρωτογενές αντίσωμα LAG-3 (12H6) έχει αραιωθεί βέλτιστα για χρήση στο σύστημα BOND (περιλαμβάνει το σύστημα Leica BOND-MAX και το σύστημα Leica BOND-III). Δεν απαιτείται ανασύσταση, ανάμειξη, αραίωση ή τιτλοποίηση αυτού του αντιδραστήριου.

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 LAG-3 (12H6) είναι: υποθερότητα του διαλύματος, ανάπτυξη οσμής 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-μεθυλοσθειραζολ-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 αντισώμα LAG-3 (12H6) 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 συνιστούμενο πρωτόκολλο χρώσης για το πρωτογενές αντισώμα LAG-3 (12H6) 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 12H6 ανιχνεύει την πρωτεΐνη LAG-3 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 θύμο αδέν. Επίσης παρατηρήθηκε χρώση στα κυψελιδικά μακροφάγα. (Συνολικός αριθμός φυσιολογικών περιστατικών που αξιολογήθηκαν = 122).

Όγκοι ιστών

Ο κλώνος 12H6 προκάλεσε χρώση σε 1/51 λεμφώματα (συμπεριλαμβανομένων 1/37 λεμφωμάτων Β κυττάρων, 0/8 λεμφωμάτων Τ κυττάρων, 0/2 μικρών λεμφοκυτταρικών λεμφωμάτων, 0/1 λεμφώματος μανδύα, 0/1 θυλακίωδους λεμφώματος, 0/1 λεμφώματος Hodgkin και 0/1 αναπλαστικού μεγαλοκυτταρικού λεμφώματος). Δεν ανιχνεύθηκε χρώση (εκτός των διηθητικών κυττάρων του ανοσοποιητικού) σε όγκους του εντέρου (0/8) (συμπεριλαμβανομένων 0/6 αδενοκαρκινωμάτων και 0/2 αδενωμάτων), όγκους της κεφαλής και του στήθους (0/5) (συμπεριλαμβανομένων 0/1 αδενοκαρκινώματος, 0/1 ρινοφαρυγγικού καρκινώματος, 0/1 καρκινώματος πλακωδών κυττάρων, 0/1 αδενοειδούς κυστικού καρκινώματος και 0/1 αδενώματος), όγκους του μαστού (0/5) (συμπεριλαμβανομένων 0/3 διηθητικών πορογενών καρκινωμάτων και 0/2 ιναδενωμάτων), μεταστατικούς όγκους (0/5), όγκους του θυρεοειδούς (0/5) (συμπεριλαμβανομένων 0/3 θυλακίωδους αδενωμάτων, 0/1 θυλακίωδους καρκινώματος και 0/1 θηλώδους καρκινώματος του θυρεοειδούς), όγκους του εγκεφάλου (0/4) (συμπεριλαμβανομένων 0/3 μηνιγγιωμάτων και 0/1 αστροκυτώματος), ηπατοκυτταρικά καρκινώματα (0/4), όγκους του πνεύμονα (0/4) (συμπεριλαμβανομένων 0/2 καρκινωμάτων πλακωδών κυττάρων, 0/1 αδενοκαρκινώματος και 0/1 μικροκυτταρικού καρκινώματος), καρκινώματα πλακωδών κυττάρων του σισοφάγου (0/3), αδενοκαρκινώματα του στομάχου (0/3), όγκους των ωοθηκών (0/3) (συμπεριλαμβανομένων 0/2 αδενοκαρκινωμάτων και 0/1 όγκου των κυττάρων της κοκκώδους στιβάδας), όγκους των επινεφριδίων (0/2) (συμπεριλαμβανομένων 0/1 φλοιστεπινεφριδικού καρκινώματος και 0/1 αδενώματος), καρκινώματα των μεταβατικών κυττάρων της ουροδόχου κύστης (0/2), όγκους των οστών (0/2) (συμπεριλαμβανομένων 0/1 οστεοσαρκώματος και 0/1 χονδροσαρκώματος), αδενοκαρκινώματα του προστάτη (0/2), δαυγοκυτταρικά καρκινώματα του νεφρού (0/2), σεμινώματα (0/2), καρκινώματα πλακωδών κυττάρων του τραχήλου της μήτρας (0/2), αδενοκαρκινώματα του ενδομητρίου (0/2), ένα μελάνωμα (0/1), ένα αδενοκαρκίνωμα στο πάγκρεας (0/1), ένα καρκίνωμα πλακωδών κυττάρων του δέρματος (0/1) και μια υπερπλασία προστάτη (0/1). (Συνολικός αριθμός μη φυσιολογικών περιστατικών που αξιολογήθηκαν = 120).

Το LAG-3 (12H6) συνιστάται για την ανίχνευση της ανθρώπινης πρωτεΐνης LAG-3 σε φυσιολογικούς και νεοπλασματικούς ιστούς, ως συμπλήρωμα της συμβατικής ιστοπαθολογίας χρησιμοποιώντας μη ανοσολογικές ιστοχημικές χρώσεις.

Περιορισμοί που Αφορούν ειδικά το Προϊόν

Το LAG-3 (12H6) 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 συνθηκών 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», «Απατούμενα 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. Gandhi MK, Lambley E, Duraiswamy J et al. Expression of LAG-3 by tumor-infiltrating lymphocytes is coincident with the suppression of latent antigen-specific CD8+ T-cell function in Hodgkin lymphoma patients. *Blood*. 2006; 108(7):2280-2289.
5. He Y, Yu H, Rozeboom L et al. LAG-3 protein expression in non-small cell lung cancer and its relationship with PD-1/PD-L1 and tumor-infiltrating lymphocytes. *Journal of Thoracic Oncology*. 2017; 12(5):814-823.
6. Woo S, Li N, Bruno TC et al. Differential subcellular localization of the regulatory T-cell protein LAG-3 and the coreceptor CD4. *European Journal of Immunology* 2010; 40(6):1768-1777.
7. Hannier S and Triebel F. The MHC class II ligand lymphocyte activation gene-3 is co-distributed with CD8 and CD3-TCR molecules after their engagement by mAb or peptide-MHC class I complexes. *International Immunology*. 1999; 11(11):1745-1752.

Ημερομηνία έκδοσης

03 Απριλίου 2020

Det primære brugsklare BOND-antistof

LAG-3 (12H6), 7 ml

Katalog nr.: PA0300

Tiltænkt brug

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

LAG-3 (12H6)-monoklonalt antistof er beregnet til kvalitativ identifikation ved hjælp af lysmikroskopi af LAG-3-protein i formalinfixeret, paraffinindlejret væv ved immunohistokemisk farvning ved brug af det automatiske BOND-system (inkluderer 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). LAG-3 (12H6) primært antistof er et brugsklart produkt, som er blevet optimeret specielt til brug sammen med BOND Polymer Refine Detection. Påvisningen af humant LAG-3-protein sker ved først at tillade, at LAG-3 (12H6) 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

LAG-3 (12H6) er et murint antihumant monoklonalt antistof produceret som en vævskultursupernatant og leveret i Tris-bufferjusteret saltvandsopløsning med bæreprøtein indeholdende 0,35 % ProClin™ 950 som konserveringsmiddel.

Total volumen = 7 ml.

Klon

12H6

Immunogen

Prokaryot rekombinant protein svarende til 3 immunoglobulin-superfamiliens eksterne C2-domæner i det C-terminale område af LAG-3-molekylet.

Specifitet

Humant lymfocytaktivering af gen-3-protein.

Ig-klasse

IgG1, kappa

Total proteinkoncentration

Ca. 10 mg/ml

Antistofkoncentration

Større end eller lig med 0,9 mg/L som angivet af ELISA.

Fortynding og blanding

LAG-3 (12H6) 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 LAG-3 (12H6) er: turbiditet af opløsningen, lugtudvikling 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-metylsotiazolin-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 materialesikkerhedsdatatbladet, 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 forholdsregler. 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

LAG-3 (12H6) 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 LAG-3 (12H6) 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 12H6 registrerer LAG-3-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. Der blev også observeret farvning i alveolære makrofager. (Samlet antal normale tilfælde, der blev evalueret = 122).

Tumorer

Clone 12H6-farvede 1/51 lymfomer (herunder 1/37 B-cellelymfomer, 0/8 T-cellelymfomer, 0/2 små lymfocytiske lymfomer, 0/1 mantelcellelymfom, 0/1 follikulært lymfom, 0/1 Hodgkin-lymfom og 0/1 anaplastisk storcellelymfom). Der blev ikke påvist farvning (bortset fra infiltrerende immunceller) i tarmtumorer (0/8) (herunder 0/6 adenokarcinomer og 0/2 adenomer), hoved- og halstumorer (0/5) (herunder 0/1 adenokarcinom, 0/1 nasopharyngealt karcinom, 0/1 pladecellekarcinom, 0/1 adenoid cystisk karcinom og 0/1 adenoma), brysttumorer (0/5) (inklusive 0/3 invasive ductale karcinomer og 0/2 fibroadenomer), metastatiske tumorer (0/5), skjoldbruskkirteltumorer (0/5) (inklusive 0/3 follikulære adenomer, 0/1 follikulære karcinomer og 0/1 papillært skjoldbruskkirtelkarcinom), hjernetumorer (0/4) (herunder 0/3 meningiomas og 0/1 astrocytoma), hepatocellulære karcinomer (0/4), lungetumorer (0/4) (herunder 0/2 pladecellekarcinomer, 0/1 adenokarcinom og 0/1 lillecellekarcinom), pladecellekarcinom i spiserøret (0/3), adenokarcinomer i maven (0/3), tumorer i æggestokkene (0/3) (herunder 0/2 adenokarcinomer og 0/1 granulosaacetallumom), binyretumorer (0/2) (herunder 0/1 adrenokortikalt karcinom og 0/1 adenom), overgangscellekarcinomer i blæren (0/2), knogletumorer (0/2) (herunder 0/1 osteosarkom og 0/1 chondrosarkomer), prostaticke adenokarcinomer (0/2), klarcellekarcinomer i nyren (0/2), seminomer (0/2), pladecellekarcinomer i livmoderhalsen (0/2), endometrielle adenokarcinomer (0/2), et melanom (0/1), et adenokarcinom i bugspytkirtlen (0/1), et pladecellekarcinom i huden (0/1) og en prostatahyperplasi (0/1). (Samlet antal evaluerede, abnorme tilfælde = 120).

LAG-3 (12H6) anbefales til påvisning af humant LAG-3-protein i normale og neoplastiske væv, som et hjælpemiddel til traditionel histopatologi ved brug af ikke-immunologiske histokemiske farvninger.

Produktspecifikke begrænsninger

LAG-3 (12H6) er blevet optimeret hos Leica Biosystems til brug sammen med BOND Polymer Refine Detection og BOND-hjælpereagenser. 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. Gandhi MK, Lambley E, Duraiswamy J et al. Expression of LAG-3 by tumor-infiltrating lymphocytes is coincident with the suppression of latent antigen-specific CD8+ T-cell function in Hodgkin lymphoma patients. Blood. 2006; 108(7):2280-2289.
5. He Y, Yu H, Rozeboom L et al. LAG-3 protein expression in non-small cell lung cancer and its relationship with PD-1/PD-L1 and tumor-infiltrating lymphocytes. Journal of Thoracic Oncology. 2017; 12(5):814-823.
6. Woo S, Li N, Bruno TC et al. Differential subcellular localization of the regulatory T-cell protein LAG-3 and the coreceptor CD4. European Journal of Immunology 2010; 40(6):1768-1777.
7. Hannier S and Triebel F. The MHC class II ligand lymphocyte activation gene-3 is co-distributed with CD8 and CD3-TCR molecules after their engagement by mAb or peptide-MHC class I complexes. International Immunology. 1999; 11(11):1745-1752.

Udgivelsesdato

03 april 2020

BOND gebruiksklaar primair antilichaam

LAG-3 (12H6), 7 mL

Catalogusnr.: PA0300

Beoogd gebruik

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

LAG-3 (12H6) monokonaal antilichaam is bedoeld om te worden gebruikt voor de kwalitatieve identificatie, met behulp van lichtmicroscopie, van LAG-3-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). LAG-3 (12H6) primair antilichaam is een gebruiksklaar product dat speciaal voor gebruik met BOND Polymer Refine Detection is geoptimaliseerd. Humaan LAG-3-eiwit wordt aangetoond door eerst LAG-3 (12H6) 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

LAG-3 (12H6) is een antihumaan monokonaal muizenantilichaam dat wordt geproduceerd als supernatant van weefselkweek en wordt geleverd in tris-gebufferde zoutoplossing met dragereiwit, met als conserveringsmiddel 0,35% ProClin™ 950.

Totaal volume = 7 ml.

Kloon

12H6

Immunogeen

Prokaryotisch recombinant eiwit dat overeenkomt met de 3 externe domeinen van de immunoglobuline-superfamilie C2 van het C-terminusgebied van het LAG-3-molecuul.

Specificiteit

Gen-3-eiwit voor activering humaan lymfocyt

Ig-klasse

IgG1, kappa

Totale eiwitconcentratie

Ongeveer 10 mg/ml

Antilichaamconcentratie

Groter dan of gelijk aan 0,9 mg/L zoals bepaald door ELISA.

Verdunnen en mengen

LAG-3 (12H6) 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 LAG-3 (12H6) 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

LAG-3 (12H6) 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 LAG-3 (12H6) primair antilichaam is IHC Protocol F. Warmte-geïnduceerd epitooferstel wordt aanbevolen met gebruik van BOND Eptio Retrieval Solution 2 (AR9640) gedurende 20 minuten.

Verwachte resultaten

Normale weefsels

Kloon 12H6 detecteert het LAG-3-eiwit in het cytoplasma of membraan van een deel van immuuncellen. Kleuring werd waargenomen binnen immuuncellen in de meeste weefseltypen, en in het bijzonder in de lymfeklieren, amandelen, milt en thymusklier. Kleuring werd ook waargenomen in alveolaire macrofagen. (Totaal aantal beoordeelde normale gevallen = 122.)

Tumorweefsels

Kloon 12H6 kleurde 1/51 lymfomen (waaronder 1/37 B-cellymfomen, 0/8 T-cellymfomen, 0/2 kleine lymfocytelymfomen, 0/1 mantelcellymfoom, 0/1 folliculair lymfoom, 0/1 Hodgkin-lymfoom en 0/1 anaplastisch grootcellig lymfoom). Er werd geen kleuring (anders dan infiltrerende immuuncellen) gedetecteerd in 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 adenóide cystisch carcinoom en 0/1 adenoom), borsttumoren (0/5) (waaronder 0/3 invasieve ductale carcinomen en 0/2 fibroadenomen), gemetastaseerde tumoren (0/5), schildkliertumoren (0/5) (waaronder 0/3 folliculaire adenomen, 0/1 folliculair carcinoom, en 0/1 papillair schildklier carcinoom), hersintumoren (0/4) (waaronder 0/3 meningiomen en 0/1 astrocytoom), hepatocellulaire carcinomen (0/4), longtumoren (0/4) (waaronder 0/2 plaveiselcelcarcinomen, 0/1 adenocarcinoom en 0/1 kleincellig carcinoom), plaveiselcelcarcinomen van de oesofagus (0/3), adenocarcinomen van de maag (0/3), eierstoktumoren (0/3) (waaronder 0/2 adenocarcinomen en 0/1 granulosaacellumtumor), bijnier tumoren (0/2) (waaronder 0/1 bijnierschorscarcinoom en 0/1 adenoom), overgangselcarcinomen van de blaas (0/2), bottumoren (0/2) (waaronder 0/1 osteosarcoom en 0/1 chondrosarcoom), adenocarcinoom van de prostaat (0/2), 'clear cell'-niercarcinomen (0/2), seminomen (0/2), plaveiselcelcarcinomen van de cervix (0/2), adenocarcinomen van het endometrium (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 = 120.)

LAG-3 (12H6) wordt aanbevolen voor het detecteren van LAG-3-eiwit in normaal en neoplastische weefsels, als aanvulling op conventionele histopathologie waarbij niet-immunologische histochemische kleuringen worden gebruikt.

Productspecifieke beperkingen

LAG-3 (12H6) is door Leica Biosystems geoptimaliseerd voor gebruik met BOND Polymer Refine Detection en BOND-hulpreegentia. 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. Gandhi MK, Lambley E, Duraiswamy J et al. Expression of LAG-3 by tumor-infiltrating lymphocytes is coincident with the suppression of latent antigen-specific CD8+ T-cell function in Hodgkin lymphoma patients. Blood. 2006; 108(7):2280-2289.
5. He Y, Yu H, Rozeboom L et al. LAG-3 protein expression in non-small cell lung cancer and its relationship with PD-1/PD-L1 and tumor-infiltrating lymphocytes. Journal of Thoracic Oncology. 2017; 12(5):814-823.
6. Woo S, Li N, Bruno TC et al. Differential subcellular localization of the regulatory T-cell protein LAG-3 and the coreceptor CD4. European Journal of Immunology 2010; 40(6):1768-1777.
7. Hanner S and Triebel F. The MHC class II ligand lymphocyte activation gene-3 is co-distributed with CD8 and CD3-TCR molecules after their engagement by mAb or peptide-MHC class I complexes. International Immunology. 1999; 11(11):1745-1752.

Datum uitgave

03 april 2020

BOND primært antistoff klart til bruk

LAG-3 (12H6), 7 ml

Katalognr.: PA0300

Tiltenkt bruk

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

LAG-3 (12H6) monoklonalt antistoff skal brukes til kvalitativ identifisering med lysmikroskopering av humant LAG-3-protein i formalinfiksert, parafinnestøpt vev med immunhistokjemisk farging ved bruk av det automatiserte BOND-systemet (inkludert 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 LAG-3 (12H6) er et produkt som er klart for bruk og spesielt optimalisert for bruk sammen med BOND Polymer Refine Detection. Påvisningen av det humane LAG-3-proteinet oppnås ved først å la LAG-3 (12H6) 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

LAG-3 (12H6) er et antihumant monoklonalt antistoff fra mus som er produsert som vevskultur supernatant, og leveres i tris-buffret saltvann med bæreprøtein med 0,35 % ProClin™ 950 som konserveringsmiddel.

Totalvolum = 7 ml.

Klon

12H6

Immunogen

Prokaryotisk rekombinant protein tilsvarende de eksterne domene 3 Immunoglobulin-superfamilie C2 på den C-terminale delen av LAG-3-molekylet.

Spesifisitet

Human lymfocytaktiveringsgen-3-protein.

Ig-klasse

IgG1, kappa

Total proteinkonsentrasjon

Ca. 10 mg/ml

Antistoffkonsentrasjon

Større enn eller lik 0,9 mg/l som fastslått av ELISA.

Fortynning og blanding

Det primære antistoffet LAG-3 (12H6) 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 LAG-3 (12H6), 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 ProClin™ 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 forholdsregler². 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

LAG-3 (12H6) 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 LAG-3 (12H6) 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 12H6 oppdager LAG-3-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 også observert i alveolære makrofager. (Totalt antall normale tilfeller evaluert = 122).

Tumorvev

Klone 12H6 farget 1/51 lymfomer (herunder 1/37 B-cellelymfomer, 0/8 T-cellelymfomer, 0/2 små lymfocytiske lymfomer, 0/1 mantelcellelymfom, 0/1 follikulært lymfom, 0/1 Hodgkin-lymfom og 0/1 anaplastisk storcellelymfom). Ingen farging (unntatt infiltrerende immunceller) ble oppdaget i tumorer i tarm (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), brysttumorer (0/5) (herunder 0/3 invasive duktale karsinomer og 0/2 fibroadenomer), metastatiske svulster (0/5), tumorer i skjoldbruskkjertel (0/5) (herunder 0/3 follikulære adenomer, 0/1 follikulært karsinom og 0/1 papillært skjoldbruskkjertelkarsinom), hjernerumorer (0/4) (herunder 0/3 meningiomer og 0/1 astrocytom), hepatocellulære karsinomer (0/4), lungetumorer (0/4) (herunder 0/2 plateepitelkarsinomer, 0/1 adenokarsinom og 0/1 litencellekarsinom), plateepitelkarsinomer i spiserøret (0/3), adenokarsinomer i magen (0/3), tumorer i eggstokkene (0/3) (herunder 0/2 adenokarsinomer og 0/1 granulosa-celletumor), tumorer i binyrene (0/2) (herunder 0/1 adrenokortikalt karsinom og 0/1 adenom), overgangscellekarsinomer i blæren (0/2), bentumorer (0/2) (herunder 0/1 osteosarkom og 0/1 kondrosarkom), prostaticke adenokarsinomer (0/2), nyreklarcellekarsinomer (0/2), seminomer (0/2), plateepitelkarsinom i lymfornhalsen (0/2), endometriale adenokarsinomer (0/2), et melanom (0/1), et adenokarsinom i bukspyttkjertelen (0/1), en et plateepitelkarsinom i huden (0/1) og en prostatahyperplasi (0/1). (Totalt antall unormale tilfeller evaluert = 120).

LAG-3 (12H6) anbefales for deteksjon av LAG-3-protein i normale og neoplastiske vev, som tillegg til konvensjonell histopatologi med bruk av ikke-immunologiske histokjemiske farger.

Produktspesifikke begrensninger

LAG-3 (12H6) 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. Protokolltidene kan variere pga. variasjon i vevsfiksering og effektiviteten til antigenforsterkingen, og må fastslås empirisk. Det skal brukes negative reagenskontroller når demaskeringsforhold og protokolltider 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. Gandhi MK, Lambley E, Duraiswamy J et al. Expression of LAG-3 by tumor-infiltrating lymphocytes is coincident with the suppression of latent antigen-specific CD8+ T-cell function in Hodgkin lymphoma patients. Blood. 2006; 108(7):2280-2289.
5. He Y, Yu H, Rozeboom L et al. LAG-3 protein expression in non-small cell lung cancer and its relationship with PD-1/PD-L1 and tumor-infiltrating lymphocytes. Journal of Thoracic Oncology. 2017; 12(5):814-823.
6. Woo S, Li N, Bruno TC et al. Differential subcellular localization of the regulatory T-cell protein LAG-3 and the coreceptor CD4. European Journal of Immunology 2010; 40(6):1768-1777.
7. Hannier S and Triebel F. The MHC class II ligand lymphocyte activation gene-3 is co-distributed with CD8 and CD3-TCR molecules after their engagement by mAb or peptide-MHC class I complexes. International Immunology. 1999; 11(11):1745-1752.

Utstedelsesdato

03 april 2020

BOND Kullanıma Hazır Primer Antikor

LAG-3 (12H6), 7 mL

Katalog No: PA0300

Kullanım Amacı

Bu reaktif, *in vitro* diagnostik kullanım içindir.

LAG-3 (12H6) monoklonal antikorunun formalinle fikse edilmiş, parafine gömülmüş dokuda LAG-3 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). LAG-3 (12H6) primer antikor, BOND Polymer Refine Detection ile kullanım için spesifik olarak optimize edilmiş kullanıma hazır bir üründür. İnsan LAG-3 proteininin gösterimi, öncelikle LAG-3'nun (12H6) 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

LAG-3 (12H6), bir doku kültürü süpernatantı olarak üretilen ve koruyucu madde olarak %0,35 ProClin™ 950 içeren, bir taşıyıcı proteinle Tris tamponlu salinde sağlanan bir fare anti-insan monoklonal antikorudur

Toplam hacim = 7 ml.

Clone

12H6

İmmünojen

LAG-3 molekülünün C uç bölgesindeki 3 immunoglobulin süper familyasının C2 dış alanlarına karşılık gelen prokaryotik rekombinant protein.

Özgüllük

İnsan lenfosit aktivasyonu gen-3 proteini.

Ig Sınıfı

IgG1, kappa

Toplam Protein Konsantrasyonu

Yaklaşık 10 mg/mL

Antikor Konsantrasyonu

ELISA tarafından belirlendiği gibi 0,9 mg/L'ye eşit veya bu değerden yüksek.

Seyreltme ve Karıştırma

LAG-3 (12H6) primer antikoru 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 Stabilite

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

LAG-3'da (12H6) 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 belirtilenlerin 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 distribütörünüzle veya Leica Biosystems bölge ofisiyle iletişime geçin ya da bunun yerine Leica Biosystems'ın 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 gerekir2. 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.
- Belirtilerinin dışındaki geri kazanım, inkübasyon süreleri veya sıcaklıklar hatalı sonuçlara neden olabilir. Bu tür herhangi bir değişiklik kullanıcı tarafından doğrulanmalıdır.

Kullanım Talimatları

LAG-3 (12H6) primer antikorunu BOND polymer Refine Detection ile birlikte otomatik BOND sisteminde (Leica BOND-MAX sistemi ve Leica BOND-III sisteminin içeren) kullanılmak üzere geliştirilmiştir. LAG-3 (12H6) 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 12H6, bağışıklık hücrelerinin bir bölümünün sitoplazmasında/membranında bulunan LAG-3 proteinini tespit eder. Özellikle lenf nodu, bademcik, dalak ve timus bezi olmak üzere çoğu doku türünün bağışıklık hücrelerinde boyanma gözlemlendi. Boyama alveolar makrofajlarda da gözlemlendi. (Değerlendirilen toplam normal olgu sayısı = 122).

Tümör Dokuları

Klon 12H6, 1/51 lenfomayı (1/37 B hücreli lenfoma, 0/8 T hücreli lenfoma, 0/2 küçük lenfositik lenfoma, 0/1 mantle hücreli lenfoma, 0/1 foliküler lenfoma, 0/1 Hodgkin lenfoma ve 0/1 anaplastik büyük hücreli lenfoma dahil) boyadı. Bağırsak tümörlerinde (0/8) (0/6 adenokarsinom ve 0/2 adenom dahil), baş ve boyun tümörlerinde (0/5) (0/1 adenokarsinom, 0/1 nazofaringeal karsinom, 0/1 skuamöz hücreli karsinom, 0/1 adenoid kistik karsinom ve 0/1 adenom dahil), meme tümörlerinde (0/5) (0/3 invazif duktal karsinom ve 0/2 fibroadenom dahil), metastatik tümörlerde (0/5), tiroid tümörlerinde (0/5) (0/3 foliküler adenom, 0/1 foliküler karsinom ve 0/1 tiroid papiller karsinom dahil), beyin tümörlerinde (0/4) (0/3 menenjiyom ve 0/1 astrositom dahil), hepatosellüler karsinomlarda (0/4), akciğer tümörlerinde (0/4) (0/2 skuamöz hücreli karsinom, 0/1 adenokarsinom ve 0/1 küçük hücreli karsinom dahil), özofagus skuamöz hücreli karsinomlarında (0/3), mide adenokarsinomlarında (0/3), yumurtalık tümörlerinde (0/3) (0/2 adenokarsinom ve 0/1 granüloza hücre tümörü dahil), adrenal tümörlerinde (0/2) (0/1 adrenokortikal karsinom ve 0/1 adenom dahil), mesane transizyonel hücre karsinomlarında (0/2), kemik tümörlerinde (0/2) (0/1 osteosarkom ve 0/1 kondrosarkom dahil), prostatik adenokarsinomlarda (0/2), renal berrak hücreli karsinomlarda (0/2), seminomlarda (0/2), servikal skuamöz hücreli karsinom (0/2), endometriyal adenokarsinomlarda (0/2), bir melanomda (0/1), bir pankreas adenokarsinomda (0/1), bir cildin skuamöz hücreli karsinomda (0/1) ve bir prostat hiperplazisinde (0/1) boyanma tespit edilmedi (infiltratif bağışıklık hücreleri hariç). (Değerlendirilen toplam anormal olgu sayısı = 120).

LAG-3 (12H6), immünohistokimyasal boyamalar kullanılarak yapılan geleneksel histopatolojiye yardımcı olarak normal ve neoplastik dokularda LAG-3 proteininin saptanması için önerilir.

Ürüne Özgü Sınırlamalar

LAG-3 (12H6), 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 almalıdır. 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

İyleştirici 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) başlıkları 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. Gandhi MK, Lambley E, Duraiswamy J et al. Expression of LAG-3 by tumor-infiltrating lymphocytes is coincident with the suppression of latent antigen-specific CD8+ T-cell function in Hodgkin lymphoma patients. Blood. 2006; 108(7):2280-2289.
5. He Y, Yu H, Rozeboom L et al. LAG-3 protein expression in non-small cell lung cancer and its relationship with PD-1/PD-L1 and tumor-infiltrating lymphocytes. Journal of Thoracic Oncology. 2017; 12(5):814-823.
6. Woo S, Li N, Bruno TC et al. Differential subcellular localization of the regulatory T-cell protein LAG-3 and the coreceptor CD4. European Journal of Immunology 2010; 40(6):1768-1777.
7. Hanner S and Triebel F. The MHC class II ligand lymphocyte activation gene-3 is co-distributed with CD8 and CD3-TCR molecules after their engagement by mAb or peptide-MHC class I complexes. International Immunology. 1999; 11(11):1745-1752.

Yayın Tarihi

03 Nisan 2020

Готово за употреба първично анти тяло за BOND

LAG-3 (12H6), 7 mL

Каталожен №: PA0300

Предназначение

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

Моноклоналното анти тяло LAG-3 (12H6) е предназначено за качествена идентификация чрез оптична микроскопия на протеин LAG-3 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 LAG-3 (12H6) е готов за употреба продукт, който е специално оптимизиран за използване с BOND Polymer Refine Detection. Показването на човешки протеин LAG-3 се постига, като първо се позволява свързването на LAG-3 (12H6) с участъка, 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 реактиви

LAG-3 (12H6) е мише античовешко моноклонално анти тяло, получено като пречистен супернатант от тъканна култура и доставено в триметамин-буфериран физиологичен разтвор с протеинов носител, съдържащ 0,35% ProClin™ 950 като консервант.

Общ обем = 7 mL.

Клонинг

12H6

Имуноген

Прокариотен рекомбинантен протеин, съответстващ на 3-те външни C2 домена на имуноглобулиновото суперсемейство на C-терминалния регион на молекулата LAG-3.

Специфичност

Човешки лимфоцит-активиращ ген-3 протеин.

Имуноглобулинов клас

IgG1, капа анти тяло

Концентрация на общ протеин

Приблизително 10 mg/mL

Концентрация на анти теля

По-висока или равна на 0,9 mg/L, както е определено от ELISA.

Разреждане и смесване

Първичното анти тяло LAG-3 (12H6) 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 сплесмени 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 LAG-3 (12H6) 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 пипайте 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 LAG-3 (12Н6) 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 LAG-3 (12Н6) е IHC Protocol F. Препоръчва се термично индуцирано извличане на епитоп с помощта на BOND Epitope Retrieval Solution 2 (AR9640) в продължение на 20 минути.

Очаквани резултати

Нормални тъкани

Клонинг 12Н6 открива протеина LAG-3 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 и в алвеоларните макрофаги. (Общ брой на оценените нормални случаи = 122).

Туморни тъкани

Клонинг 12Н6 оцветява 1/51 лимфома (включително 1/37 В-клетъчни лимфома, 0/8 Т-клетъчни лимфома, 0/2 дребноклетъчни лимфоцитни лимфома, 0/1 мантелноклетъчни лимфома, 0/1 фоликуларни лимфома, 0/1 лимфома на Ходжкин и 0/1 анапластични едроклетъчни лимфома). Не е открито оцветяване (с изключение на инфилтриращите имунни клетки) в 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), тумори на гърдата (0/5) (включително 0/3 инвазивни дуктални карцинома и 0/2 фиброаденома), метастатични тумори (0/5), тумори на щитовидната жлеза (0/5) (включително 0/3 фоликуларни аденома, 0/1 фоликуларни карцинома и 0/1 папилярни карцинома на щитовидната жлеза), тумори на мозъка (0/4) (включително 0/3 менингиома и 0/1 астроцитома), хепатоцелуларни карциноми (0/4), 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), тумори на яйчниците (0/3) (включително 0/2 аденокарцинома и 0/1 гранулозноклетъчни тумора), тумори на надбъбречната жлеза (0/2) (включително 0/1 адренокортикални карцинома и 0/1 аденома), преходноклетъчни карциноми на пикочния мехур (0/2), тумори на костите (0/2) (включително 0/1 остеосаркома и 0/1 хондросаркома), аденокарциноми на простатата (0/2), светлоклетъчни карциноми на бърбреците (0/2), семиноми (0/2), плоскоклетъчни карциноми на цервикса (0/2), аденокарциноми на ендометриума (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 = 120).

LAG-3 (12Н6) се препоръчва за откриване на протеин LAG-3 в нормални и неопластични тъкани като допълнение към конвенционалната хистопатология с използване на неимунологични хистохимични оцветявания.

Специфични ограничения на продукта

Продуктът LAG-3 (12Н6) е оптимизиран от Leica Biosystems за употреба с BOND Polymer Refine Detection и спомарателните 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 регионалният 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. Gandhi MK, Lambley E, Duraiswamy J et al. Expression of LAG-3 by tumor-infiltrating lymphocytes is coincident with the suppression of latent antigen-specific CD8+ T-cell function in Hodgkin lymphoma patients. Blood. 2006; 108(7):2280-2289.

5. He Y, Yu H, Rozeboom L et al. LAG-3 protein expression in non-small cell lung cancer and its relationship with PD-1/PD-L1 and tumor-infiltrating lymphocytes. *Journal of Thoracic Oncology*. 2017; 12(5):814-823.
6. Woo S, Li N, Bruno TC et al. Differential subcellular localization of the regulatory T-cell protein LAG-3 and the coreceptor CD4. *European Journal of Immunology* 2010; 40(6):1768-1777.
7. Hannier S and Triebel F. The MHC class II ligand lymphocyte activation gene-3 is co-distributed with CD8 and CD3-TCR molecules after their engagement by mAb or peptide-MHC class I complexes. *International Immunology*. 1999; 11(11):1745-1752.

Дата на издаване

03 Април 2020

BOND használatra kész elsődleges antitest

LAG-3 (12H6), 7 ml

Katalógusszám: PA0300

Alkalmazási terület

Ez a reagens *in vitro* diagnosztikai használatra szolgál.

A LAG-3 (12H6) monoklonális antitest a LAG-3 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 reagensok használatára” című részt a BOND felhasználói dokumentációban). A LAG-3 (12H6) elsődleges antitest használatra kész termék, amely kifejezetten a BOND Polymer Refine Detection kittel való használatra lett optimalizálva. A humán LAG-3 fehérje kimutatása úgy történik, hogy előbb lehetővé kell tenni a LAG-3 (12H6) kötődését a metszethez, majd ez a kötődés megjeleníthető a detektáló rendszerben található reagensekkel. 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 méréselkelthők az egyes reagensok hígításából, a manuális pipettázásból és a reagensek alkalmazásából származó eredendő eltérések.

Biztosított reagensek

A LAG-3 (12H6) egér eredetű, antihumán monoklonális antitest, amelyet szövettenyésztet felülűszóként állítanak elő. Kiszerezése: tris-pufferelt sóoldatban, hordozófehérjével, amely tartósítószerként 0,35% ProClin™ 950-et tartalmaz.

Teljes mennyiség = 7 ml.

Klón

12H6

Immunogén

A LAG-3 molekula C-terminális régiójában található 3 immunglobulin szupercsalád külső C2 doménjainak megfelelő prokarióta eredetű rekombináns fehérje.

Specifitás

Humán limfocita aktivációs gén-3 fehérje.

Ig-osztály

IgG1, kappa

Összfehérje-koncentráció

Kb. 10 mg/ml

Antitest-koncentráció

Legalább 0,9 mg/l, ELISA módszerrel meghatározva.

Hígítás és elegyítés

A LAG-3 (12H6) elsődleges antitest hígítása optimális a BOND rendszerrel (így a Leica BOND-MAX rendszerrel vagy a Leica BOND-III rendszerrel) való használatához. 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 reagensok használatára” című részében.

Tárolás és stabilitás

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

A LAG-3 (12H6) 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.

Övintézkedések

- 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 reagensok 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 ártalmatlanítani2. Soha ne pipettázza szájjal a reagenseket, 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.
- Minimálásra 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 LAG-3 (12H6) 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 LAG-3 (12H6) 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 12H6 klón kimutatja a LAG-3 fehérjét az immunsejtek egy részének citoplazmájában/membránjában. Festődés volt megfigyelhető az immunsejtekben belül a legtöbb szövettípusban, különösen a nyirokcsomókban, a tonsillában, a lépben és a csecsemőmirigyben. Az alveoláris makrofágokban is volt megfigyelhető festődés. (Vizsgált normál esetek összesített száma = 122).

Tumorszövetek

A 12H6 klón megfestett 1/51 limfómát (beleértve 1/37 B-sejtes limfómát, 0/8 T-sejtes limfómát, 0/2 kis limfocitás limfómát, 0/1 köpenysejtes limfómát, 0/1 follikuláris limfómát, 0/1 Hodgkin-limfómát és 0/1 anaplasztikus nagysejtes limfómát). Nem volt festődés (az infiltráló immunsejtek kivételével) észlelhető beldaganatok (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), emlődaganatok (0/5) (beleértve 0/3 invazív dukális karcinómát és 0/2 fibroadenómát), áttétes daganatok (0/5), pajzsmirigydaganatok (0/5) (beleértve 0/3 follikuláris adenómát, 0/1 follikuláris karcinómát és 0/1 papilláris pajzsmirigy-karcinómát), agydaganatok (0/4) (beleértve 0/3 meningiómát és 0/1 asztrocitómát), hepatocelluláris karcinómák (0/4), tüdődaganatok (0/4) (beleértve 0/2 laphámsejtes karcinómát, 0/1 adenokarcinómát és 0/1 kissejtes karcinómát), laphámsejtes nyelőcsőkarcinómák (0/3), gyomor-adenokarcinómák (0/3), petefészek-daganatok (0/3) (beleértve 0/2 adenokarcinómát és 0/1 granulosa-sejtes daganatot), mellékvese-daganatok (0/2) (beleértve 0/1 adrenokortikális karcinómát és 0/1 adenómát), átmeneti sejtis húgyhólyag-karcinómák (0/2), csontdaganatok (0/2) (beleértve 0/1 oszteosarkómát és 0/1 chondrosarkómát), prosztata-adenokarcinómák (0/2), világossejtes vesekarcinómák (0/2), szeminómák (0/2), laphámsejtes méhnyak-karcinóma (0/2), endometrium-adenokarcinómák (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 = 120).

A LAG-3 (12H6) a LAG-3 fehérje detektálására ajánlott normális és tumoros szövetekben, a nem immunológiai hisztokémiai festést használó hagyományos kórszövettani eljárások kiegészítéseként.

Termékspecifikus korlátozások

A LAG-3 (12H6) terméket a Leica Biosystems a BOND Polymer Refine Detection kittel és a BOND segédreagensekkel való használatra optimalizálta. A tesztelési eljárásokról 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 protokollok 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. Gandhi MK, Lambley E, Duraiswamy J et al. Expression of LAG-3 by tumor-infiltrating lymphocytes is coincident with the suppression of latent antigen-specific CD8+ T-cell function in Hodgkin lymphoma patients. Blood. 2006; 108(7):2280-2289.
5. He Y, Yu H, Rozeboom L et al. LAG-3 protein expression in non-small cell lung cancer and its relationship with PD-1/PD-L1 and tumor-infiltrating lymphocytes. Journal of Thoracic Oncology. 2017; 12(5):814-823.
6. Woo S, Li N, Bruno TC et al. Differential subcellular localization of the regulatory T-cell protein LAG-3 and the coreceptor CD4. European Journal of Immunology 2010; 40(6):1768-1777.
7. Hanner S and Triebel F. The MHC class II ligand lymphocyte activation gene-3 is co-distributed with CD8 and CD3-TCR molecules after their engagement by mAb or peptide-MHC class I complexes. International Immunology. 1999; 11(11):1745-1752.

Kiadás dátuma

2020 április 03

Anticorp primar gata de utilizare BOND

LAG-3 (12H6), 7 mL

Nr. catalog: PA0300

Utilizare prevăzută

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

Anticorpul monoclonal LAG-3 (12H6) este destinat utilizării pentru identificarea calitativă, prin intermediul microscopiei optice, a proteinei LAG-3 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 LAG-3 (12H6) este un produs gata de utilizare care a fost optimizat în mod specific pentru utilizarea cu BOND Polymer Refine Detection. Demonstrarea prezenței proteinei LAG-3 umane este realizată mai întâi prin permiterea legării LAG-3 (12H6) 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

LAG-3 (12H6) este un anticorp monoclonal anti-uman de șoarece 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

12H6

Imunogen

Proteină procariotă recombinantă, corespunzând celor 3 domenii externe C2 din superfamilia de imunoglobuline ale regiunii C-terminale a moleculei LAG-3.

Specificitate

Proteină gene-3 de activare a limfocitelor umane.

Clasa Ig

IgG1, kappa

Concentrație proteină totală

Aproximativ 10 mg/ml

Concentrație anticorpi

Mai mare sau egală cu 0,9 mg/L, așa cum este determinată prin ELISA.

Diluare și amestecare

Anticorpul primar LAG-3 (12H6) 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 LAG-3 (12H6) 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 adecvate. 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

Anticorpurul primar LAG-3 (12H6) 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 anticorpurul primar LAG-3 (12H6) 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

Țesuturi normale

Clona 12H6 detectează proteina LAG-3 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 ganglioni limfatici, amigdale, splină și glanda timus. S-a observat de asemenea colorație în macrofagele alveolare. (Numărul total al cazurilor normale evaluate = 122).

Țesuturi tumorale

Clona 12H6 a colorat 1/51 limfoame (incluzând 1/37 limfoame cu celule B, 0/8 limfoame cu celule T, 0/2 limfoame limfocitare mici, 0/1 limfom cu celule de manta, 0/1 limfom folicular, 0/1 limfom Hodgkin și 0/1 limfom anaplastic cu celule mari). Nu a fost detectată vreo colorație (în afara celulelor imune infiltrate) în 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 mamare (0/5) (incluzând 0/3 carcinoame ductale invazive și 0/2 fibroadenoame), tumori metastatice (0/5), tumori tiroidiene (0/5) (incluzând 0/3 adenoame foliculare, 0/1 carcinom folicular și 0/1 carcinom tiroidian papilar), tumori cerebrale (0/4) (incluzând 0/3 meningioame și 0/1 astrocitom), carcinoame hepatocelulare (0/4), tumori pulmonare (0/4) (incluzând 0/2 carcinoame cu celule scuamoase, 0/1 adenocarcinom și 0/1 carcinom cu celule mici), carcinoame cu celule scuamoase ale esofagului (0/3), adenocarcinoame ale stomacului (0/3), tumori ovariene (0/3) (incluzând 0/2 adenocarcinoame și 0/1 tumoare cu celule granulose), tumori suprarenale (0/2) (incluzând 0/1 carcinom adrenocortical și 0/1 adenom), carcinoame cu celule tranziționale ale vezicii urinare (0/2), tumori osoase (0/2) (incluzând 0/1 osteosarcom și 0/1 condrosarcom), adenocarcinoame prostatice (0/2), carcinoame renale cu celule clare (0/2), seminoame (0/2), carcinom cu celule scuamoase al colului uterin (0/2), adenocarcinoame endometriale (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 = 120).

LAG-3 (12H6) este recomandat pentru detectarea antigenului LAG-3 uman în țesuturile normale și neoplazice, ca adjuvant al histopatologiei convenționale, utilizând coloranți histochemici non-immunologici.

Restricții specifice produsului

LAG-3 (12H6) 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. Gandhi MK, Lambley E, Duraiswamy J et al. Expression of LAG-3 by tumor-infiltrating lymphocytes is coincident with the suppression of latent antigen-specific CD8+ T-cell function in Hodgkin lymphoma patients. Blood. 2006; 108(7):2280-2289.
5. He Y, Yu H, Rozeboom L et al. LAG-3 protein expression in non-small cell lung cancer and its relationship with PD-1/PD-L1 and tumor-infiltrating lymphocytes. Journal of Thoracic Oncology. 2017; 12(5):814-823.
6. Woo S, Li N, Bruno TC et al. Differential subcellular localization of the regulatory T-cell protein LAG-3 and the coreceptor CD4. European Journal of Immunology 2010; 40(6):1768-1777.
7. Hanner S and Triebel F. The MHC class II ligand lymphocyte activation gene-3 is co-distributed with CD8 and CD3-TCR antigens after their engagement by mAb or peptide-MHC class I complexes. International Immunology. 1999; 11(11):1745-1752.

Data publicării

03 aprilie 2020

Первичные антитело, готовое к применению в системе BOND LAG-3 (12H6), 7 мл

Номер по каталогу: PA0300

Назначение

Этот реактив предназначен для диагностики *in vitro*.

Моноклональное антитело LAG-3 (12H6) предназначено для качественного определения LAG-3-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 LAG-3 (12H6) являются готовым к применению препаратом, специально оптимизированным для использования в системе BOND Polymer Refine Detection. Подтверждение присутствия LAG-3-протеина человека достигается, во-первых, за счет связывания LAG-3 (12H6) 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

LAG-3 (12H6) представляет собой препарат моноклональных антител мыши к антигенам человека, который выпускается в форме супернатанта культуры ткани и поставляется в трис-солевом буферном растворе, содержащем белок-носитель, а также 0,35 % ProClin™ 950 в качестве консерванта.

Общий объем = 7 мл.

Клон

12H6

Имуноген

Рекомбинантный белок из прокариотических клеток, соответствующий 3 внешним доменам суперсемейства иммуноглобулина C2 C-концевой области молекулы LAG-3.

Специфичность

Белок gene-3, активирующий лимфоциты человека.

Класс иммуноглобулинов

Имуноглобулин G1, каппа (IgG1, kappa)

Общая концентрация белка

Примерно 10 мг/мл

Концентрация антитела

Концентрация выше или эквивалентна 0,9 мг/л при определении методом ИФА.

Разведение и смешивание

Первичные антитела LAG-3 (12H6) 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 LAG-3 (12H6), 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 ProClin™ 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 LAG-3 (12H6) 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 LAG-3 (12H6) 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 12H6 обнаруживает белок LAG-3 в цитоплазме/мембране части иммунных клеток. Окрашивание наблюдалось в иммунных клетках в большинстве типов тканей, особенно в лимфатических узлах, миндалинах, селезенке и тимусе. Окрашивание также наблюдалось в альвеолярных макрофагах. (Общее число исследованных нормальных тканей = 122).

Ткани опухолей

Клон 12H6 окрасил 1/51 случаев лимфом (включая 1/37 случаев В-лимфоцитарной лимфомы, 0/8 случаев Т-лимфоцитарной лимфомы, 0/2 случаев мелкоклеточной лимфоцитарной лимфомы, 0/1 случая лимфомы из клеток мантийной зоны, 0/1 случая фолликулярной лимфомы, 0/1 случая лимфомы Ходжкина и 0/1 случая анапластической крупноклеточной лимфомы). Окрашивание (за исключением инфильтрирующих иммунных клеток) не было обнаружено в опухолях 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 аденокистой карциномы и 0/1 случая аденомы), опухолях молочной железы (0/5) (включая 0/3 случаев инвазивной карциномы протоков молочной железы и 0/2 случаев фибroadеномы), метастатических опухолях (0/5), опухолях щитовидной железы (0/5) (включая 0/3 случаев фолликулярной аденомы, 0/1 случая фолликулярной карциномы и 0/1 случая папиллярной карциномы щитовидной железы), опухолях мозга (0/4) (включая 0/3 случаев менингиомы и 0/1 случая астроцитомы), гепатоцеллюлярных карциномах (0/4), 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), опухолях яичников (0/3) (включая 0/2 случаев аденокарциномы и 0/1 случая гранулезоклеточной опухоли яичников), опухолях надпочечников (0/2) (включая 0/1 случая аденокортикальной карциномы и 0/1 случая аденомы), карциномах переходных клеток мочевого пузыря (0/2), опухолях костей (0/2) (включая 0/1 случая остеосаркомы и 0/1 случая хондросаркомы), аденокарциноме простаты (0/2), светлоклеточных почечных карциномах (0/2), семиномах (0/2), плоскоклеточных карциномах шейки матки (0/2), эндометриальных аденокарциномах (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 = 120).

LAG-3 (12H6) рекомендуется для обнаружения LAG-3-протеина в здоровых и пораженных опухолью тканях в качестве дополнения к стандартным гистопатологическим исследованиям с применением неиммунного гистохимического окрашивания.

Ограничения, специфичные для этого продукта

LAG-3 (12H6) 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. Gandhi MK, Lambley E, Duraiswamy J et al. Expression of LAG-3 by tumor-infiltrating lymphocytes is coincident with the suppression of latent antigen-specific CD8+ T-cell function in Hodgkin lymphoma patients. *Blood*. 2006; 108(7):2280-2289.
5. He Y, Yu H, Rozeboom L et al. LAG-3 protein expression in non-small cell lung cancer and its relationship with PD-1/PD-L1 and tumor-infiltrating lymphocytes. *Journal of Thoracic Oncology*. 2017; 12(5):814-823.
6. Woo S, Li N, Bruno TC et al. Differential subcellular localization of the regulatory T-cell protein LAG-3 and the coreceptor CD4. *European Journal of Immunology* 2010; 40(6):1768-1777.
7. Hannier S and Triebel F. The MHC class II ligand lymphocyte activation gene-3 is co-distributed with CD8 and CD3-TCR molecules after their engagement by mAb or peptide-MHC class I complexes. *International Immunology*. 1999; 11(11):1745-1752.

Дата выпуска

03 Апрель 2020

Gotowe do użycia przeciwciało pierwszorzędowe BOND

LAG-3 (12H6), 7 ml

Nr katalogowy: PA0300

Przeznaczenie

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

Przeciwciało monoklonalne LAG-3 (12H6) służy do identyfikacji jakościowej z zastosowaniem mikroskopii świetlnej białka LAG-3 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. Ocenę 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 LAG-3 (12H6) jest gotowym do użycia produktem, który został specjalnie zoptymalizowany pod kątem użycia z BOND Polymer Refine Detection. Obecność ludzkich cząsteczek LAG-3 jest wykazywana w pierwszej kolejności przez umożliwienie wiązania LAG-3 (12H6) 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

LAG-3 (12H6) jest mysim anti-ludzkim przeciwciałem monoklonalnym, produkowanym jako oczyszczony supernatant hodowli tkankowej i dostarczony w roztworze soli fizjologicznej buforowanej Tris z białkiem nośnikowym, konserwowanym 0,35% ProClin™ 950. Łączna objętość = 7 ml.

Klon

12H6

Immunogen

Prokariotyczne rekombinowane białko odpowiadające 3 nadrodzinie immunoglobuliny zewnętrznych domen C2 w regionie C-końca cząsteczki LAG-3.

Swoistość

Białko genu 3 aktywujące ludzkie limfocyty.

Klasa Ig

IgG1, kappa

Całkowite stężenia białka

Okolo 10 mg/ml

Stężenie przeciwciał

Większe lub równe 0,9 mg/L oznaczone za pomocą testu ELISA.

Rozcieńczanie i mieszanie

Przeciwciało pierwszorzędowe LAG-3 (12H6) 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 LAG-3 (12H6) 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 utrwaleniu oraz wszelkie materiały narażone na kontakt z nimi należy traktować jak materiały potencjalnie zakaźne i należy je utylizować z zachowaniem odpowiednich środków ostrożności². 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 użytkować zgodnie z krajowymi lub lokalnymi przepisami.
- Chronić odczynnik przed skażeniami 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 LAG-3 (12H6) zostały 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 LAG-3 (12H6) 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 12H6 wykrywa białko LAG-3 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. Barwienie stwierdzono również w makrofagach pęcherzykowych. (Łączna liczba ocenionych prawidłowych przypadków = 122).

Tkanki nowotworowe

Klon 12H6 wybarwił 1/51 chłoniaka (w tym 1/37 chłoniaka z limfocytów B, 0/8 chłoniaków z limfocytów T, 0/2 chłoniaków limfocytowych z małych limfocytów, 0/1 chłoniaków z komórek płaszczą, 0/1 chłoniaków gruczolokowych, 0/1 chłoniaków Hodgkina i 0/1 anaplastycznych chłoniaków wielkokomórkowych). Nie stwierdzono barwienia (poza naciekającymi komórkami odpornościowymi) w przypadku 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 sutka (0/5) (w tym 0/3 inwazyjnych raków przewodowych i 0/2 gruczolakowłókniaków), guzów przerzutowych (0/5), guzów tarczycy (0/5) (w tym 0/3 gruczolaków pęcherzykowych, 0/1 raka pęcherzykowego i 0/1 raka brodawkowatego tarczycy), guzów mózgu (0/4) (w tym 0/3 oponiaków i 0/1 gwiaździanka), raków wątrobowokomórkowych (0/4), raków płuc (0/4) (w tym 0/2 raków płaskonabłonkowych, 0/1 gruczolakoraka i 0/1 raka drobnokomórkowego), raków płaskonabłonkowych przetyku (0/3), gruczolakoraków żołądka (0/3), raków jajnika (0/3) (w tym 0/2 gruczolakoraków i 0/1 ziarniszczaka), raków nadnerczy (0/2) (w tym 0/1 raka kory nadnerczy i 0/1 gruczolaka), raków przejściowokomórkowych pęcherza moczowego (0/2), guzów kości (0/2) (w tym 0/1 kostniakomięsaka i 0/1 chrząstniakomięsaka), gruczolakoraków gruczołu krokowego (0/2), raków jasnokomórkowych nerki (0/2), nasieniaków (0/2), raków płaskonabłonkowych szyjki macicy (0/2), gruczolakoraków endometrium (0/2), czerniaka (0/1), gruczolakoraka trzustki (0/1), raka płaskonabłonkowego skóry (0/1) i rozrostu gruczołu krokowego (0/1). (Łączna liczba ocenionych nieprawidłowych przypadków = 120).

Zaleca się stosowanie LAG-3 (12H6) do wykrywania białka LAG-3 w tkankach zdrowych i rakowych, jako uzupełnienie konwencjonalnego badania histopatologicznego opartego na nieimmunologicznym barwieniu histologicznym.

Szczególne ograniczenia dla produktu

Przeciwciała LAG-3 (12H6) zostały zoptymalizowane w Leica Biosystems pod kątem stosowania z BOND Polymer Refine Detection i pomocznymi 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 utwalenia tkanek i skuteczności wzmocnienia przez przeciwciała i należy je określić doświadczalnie. Odczynniki kontroli negatywnej należy stosować podczas optymalizacji warunków odmaskowywania i czasów protokołu.

Rozwiązanie 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. Gandhi MK, Lambley E, Duraiswamy J et al. Expression of LAG-3 by tumor-infiltrating lymphocytes is coincident with the suppression of latent antigen-specific CD8+ T-cell function in Hodgkin lymphoma patients. Blood. 2006; 108(7):2280-2289.
5. He Y, Yu H, Rozeboom L et al. LAG-3 protein expression in non-small cell lung cancer and its relationship with PD-1/PD-L1 and tumor-infiltrating lymphocytes. Journal of Thoracic Oncology. 2017; 12(5):814-823.
6. Woo S, Li N, Bruno TC et al. Differential subcellular localization of the regulatory T-cell protein LAG-3 and the coreceptor CD4. European Journal of Immunology 2010; 40(6):1768-1777.
7. Hanner S and Triebel F. The MHC class II ligand lymphocyte activation gene-3 is co-distributed with CD8 and CD3-TCR molecules after their engagement by mAb or peptide-MHC class I complexes. International Immunology. 1999; 11(11):1745-1752.

Data publikacji

03 kwietnia 2020

Pripravljeno primarno protitelo BOND

LAG-3 (12H6), 7 ml

Katalogška št.: PA0300

Predvidena uporaba

Ta reagent je namenjen diagnostični uporabi *in vitro*.

Monoklonsko protitelo LAG-3 (12H6) je namenjeno kvalitativni identifikaciji molekule proteina LAG-3 s svetlobno mikroskopijo v tkivih, fiksiranih s formalinom in vstavljenih v parafin, z imunohistokemijskim barvanjem z uporabo avtomatiziranega sistema BOND (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 LAG-3 (12H6) je izdelek, ki je pripravljen za uporabo in posebej optimiziran za uporabo s sistemom BOND Polymer Refine Detection. Prikaz humanega proteina LAG-3 se doseže tako, da se najprej dovoli vezava protitelesa LAG-3 (12H6) 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

LAG-3 (12H6) je mišje monoklonsko protitelo, usmerjeno proti humanim antigenom, ki je izdelano kot supernatant tkivne kulture in dobavljeno v fiziološki raztopini s pufrom tris, nosilno beljakovino in 0,35 % konzervansa ProClin™ 950.

Skupna prostornina = 7 ml.

Klon

12H6

Imunogen

Prokarionski rekombinantni protein, ki ustreza 3 zunanjim domenam super družine imunoglobulinov C2 C-terminalnega dela molekule LAG-3.

Specifičnost

Humani limfocitni protein za aktivacijo gena-3

Razred Ig

IgG1, kapa.

Skupna koncentracija beljakovin

Približno 10 mg/ml

Koncentracija protiteles

Višja ali enaka 0,9 mg/l, določena s testom ELISA.

Redčenje in mešanje

Primarno protitelo LAG-3 (12H6) 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 LAG-3 (12H6), 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 mikrobnih 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 LAG-3 (12H6) 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 LAG-3 (12H6) je protokol IHC Protocol F. Za toplotno pridobivanje epitopa se priporoča uporaba raztopine BOND Epitope Retrieval Solution 2 (AR9640) za 20 minut.

Pričakovani rezultati

Normalna tkiva

Klon 12H6 zazna protein LAG-3 v citoplazmi/membrani dela imunskih celic. Obarvanje so opazili v imunskih celicah večine vrst tkiva, zlasti v limfnem vozlu, nebnici, vranici in priželjcu. Obarvanje so opazili tudi pri alveolarnih makrofagih. (Skupno število ocenjenih normalnih primerov = 122).

Tumorska tkiva

Klon 12H6 je obarval 1/51 limfomov (vključno z 1/37 B-celičnih limfomov, 0/8 T-celičnih limfomov, 0/2 malih limfocitnih limfomov, 0/1 limfoma plaščnih celic, 0/1 folikularnega limfoma, 0/1 Hodgkinovega limfoma in 0/1 anaplastičnega velikoceličnega limfoma). Obarvanje (z izjemo infiltrirajočih imunskih celic) ni bilo opaženo pri 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), tumorjih dojke (0/5) (vključno z 0/3 invazivnih ductalnih karcinomov in 0/2 fibroadenomov), metastatskih tumorjih (0/5), tumorjih ščitnice (0/5) (vključno z 0/3 folikularnih adenomov, 0/1 folikularnega karcinoma in 0/1 papilarnega karcinoma ščitnice), možganskih tumorjih (0/4) (vključno z 0/3 meningiomov in 0/1 astrocitoma), hepatocelularnih karcinomih (0/4), 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), tumorjih jajčnikov (0/3) (vključno z 0/2 adenokarcinomov in 0/1 tumorja granuloznih celic), tumorjih nadledvične žleze (0/2) (vključno z 0/1 adrenokortikalnega karcinoma in 0/1 adenoma), karcinomih prehodnih celic sečnega mehurja (0/2), kostnih tumorjih (0/2) (vključno z 0/1 osteosarkoma in 0/1 hondrosarkoma), adenokarcinomih prostate (0/2), ledvičnih svetloceličnih karcinomih (0/2), seminomih (0/2), ploščatoceličnih karcinomih materničnega vratu (0/2), endometrijskih adenokarcinomih (0/2), melanomu (0/1), adenokarcinomu trebušne slinavke (0/1), ploščatoceličnem kožnem karcinomu (0/1) in hiperplaziji prostate (0/1). (Skupno število ocenjenih anomalnih primerov = 120).

Izdelek LAG-3 (12H6) se priporoča za zaznavanje proteina LAG-3 v normalnih in neoplastičnih tkivih kot dodatna analiza ob konvencionalni histopatologiji z uporabo neimunskih histokemičnih barvil.

Specifične omejitve izdelka

Družba Leica Biosystems je protitelo LAG-3 (12H6) optimizirala za uporabo s sistemom BOND Polymer Refine Detection in pomožnimi reagenti BOND. Uporabniki, ki odstopajo 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 reagentne, kadar optimizirate pogoje razkrivanja in trajanje protokola.

Odpravljanje težav

Glejte 3. navedbo za ukrep za odpravljanje napake.

Če želite preočati 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. Gandhi MK, Lambley E, Duraiswamy J et al. Expression of LAG-3 by tumor-infiltrating lymphocytes is coincident with the suppression of latent antigen-specific CD8+ T-cell function in Hodgkin lymphoma patients. Blood. 2006; 108(7):2280-2289.
5. He Y, Yu H, Rozeboom L et al. LAG-3 protein expression in non-small cell lung cancer and its relationship with PD-1/PD-L1 and tumor-infiltrating lymphocytes. Journal of Thoracic Oncology. 2017; 12(5):814-823.
6. Woo S, Li N, Bruno TC et al. Differential subcellular localization of the regulatory T-cell protein LAG-3 and the coreceptor CD4. European Journal of Immunology 2010; 40(6):1768-1777.
7. Hanner S and Triebel F. The MHC class II ligand lymphocyte activation gene-3 is co-distributed with CD8 and CD3-TCR molecules after their engagement by mAb or peptide-MHC class I complexes. International Immunology. 1999; 11(11):1745-1752.

Datum izdaje

03 april 2020

Primární protilátka BOND připravená k použití

LAG-3 (12H6), 7 ml

Kat. č.: PA0300

Zamýšlené použití

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

Monoklonální protilátka LAG-3 (12H6) je určena k použití při kvalitativní stanovení proteinu LAG-3 světelnou mikroskopií ve tkáni fixované formalínem 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 LAG-3 (12H6) je produkt připravený k použití, který byl specificky optimalizován k použití se soupravou BOND Polymer Refine Detection. Průkazu lidského proteinu LAG-3 se dosáhne tím, že se nejprve umožní vazba LAG-3 (12H6) 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

LAG-3 (12H6) je myší 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

12H6

Imunogen

Prokaryotický rekombinantní protein odpovídající externím doménám nadrodiny 3 imunoglobulinů C2-terminální oblasti molekuly LAG-3.

Specifita

Protein aktivující gen 3 lidských lymfocytů.

Třída Ig

IgG1, kappa

Koncentrace celkového proteinu

Přibližně 10 mg/ml

Koncentrace protilátek

0,9 mg/l nebo vyšší, stanovená metodou ELISA.

Ředění a míchání

Primární protilátka LAG-3 (12H6) 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 LAG-3 (12H6) jsou: zkalení roztoku, vznik zápachu a přítomnost precipitátu. Okamžitě po použití vraťte do prostředí s teplotou 2-8°C.

Podmínky skladování jiné než výše uvedené musí uživatel¹ 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.
- Výštit bezpečnostního listu materiálu získáte od místního distributora nebo oblastní kanceláře společnosti Leica Biosystems, případně můžete navštívit webové stránky 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 LAG-3 (12H6) 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 LAG-3 (12H6) 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 12H6 detekuje protein LAG-3 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 také u alveolárních makrofágů. (Celkový počet normálních vyšetřovaných tkání = 122).

Nádorové tkáně

Klon 12H6 zbarvil 1/51 lymfomy (včetně 1/37 lymfomů B buněk, 0/8 lymfomů T buněk, 0/2 malých lymfocytických lymfomů, 0/1 lymfomu plášťových buněk, 0/1 folikulárního lymfomu, 0/1 Hodgkinova lymfomu a 0/1 anaplastického velkobuněčného lymfomu). Žádné zbarvení (vyjma infiltrujících imunních buněk) nebylo pozorováno u 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), nádorů prsu (0/5) (včetně 0/3 invazivních ductálních karcinomů a 0/2 fibroadenomů), metastatických nádorů (0/5), nádorů štítné žlázy (0/5) (včetně 0/3 folikulárních adenomů, 0/1 folikulárního karcinomu a 0/1 papilárního karcinomu štítné žlázy), nádorů mozku (0/4) (včetně 0/3 meningiomů a 0/1 astrocytomy), hepatocelulárních karcinomů (0/4), nádorů plic (0/4) (včetně 0/2 dlaždicobuněčných karcinomů, 0/1 adenokarcinomu a 0/1 malobuněčného karcinomu), dlaždicobuněčných karcinomů jícnu (0/3), adenokarcinomů žaludku (0/3), nádorů vaječníků (0/3) (včetně 0/2 adenokarcinomů a 0/1 nádoru buněk granulózy), nádorů nadledvinek (0/2) (včetně 0/1 adrenokortikálního karcinomu a 0/1 adenomu), karcinomu přechodných buněk močového měchýře (0/2), nádorů kostí (0/2) (včetně 0/1 osteosarkomu a 0/1 chondrosarkomu), adenokarcinomů prostaty (0/2), renálních světlóbuněčných karcinomů (0/2), seminomů (0/2), dlaždicobuněčného karcinomu děložního čípku (0/2), adenokarcinomu endometria (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 = 120).

Protilátka LAG-3 (12H6) se doporučuje k detekci proteinu LAG-3 v normálních a neoplastických tkáních, jako doplněk ke konvenční histopatologii s použitím neimunologických histochemických nátěrů.

Omezení specifická pro tento produkt

LAG-3 (12H6) byla společností Leica Biosystems optimalizována pro použití se soupravou BOND Polymer Refine Detection a s pomocnými reagensy BOND. Uživatelé, 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 reagenty 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 štítkách 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. Gandhi MK, Lambley E, Duraiswamy J et al. Expression of LAG-3 by tumor-infiltrating lymphocytes is coincident with the suppression of latent antigen-specific CD8+ T-cell function in Hodgkin lymphoma patients. Blood. 2006; 108(7):2280-2289.
5. He Y, Yu H, Rozeboom L et al. LAG-3 protein expression in non-small cell lung cancer and its relationship with PD-1/PD-L1 and tumor-infiltrating lymphocytes. Journal of Thoracic Oncology. 2017; 12(5):814-823.
6. Woo S, Li N, Bruno TC et al. Differential subcellular localization of the regulatory T-cell protein LAG-3 and the coreceptor CD4. European Journal of Immunology 2010; 40(6):1768-1777.
7. Hamier S and Triebel F. The MHC class II ligand lymphocyte activation gene-3 is co-distributed with CD8 and CD3-TCR molecules after their engagement by mAb or peptide-MHC class I complexes. International Immunology. 1999; 11(11):1745-1752.

Datum vydání

03 duben 2020

Primárna protilátka na priame použitie pre systém BOND LAG-3 (12H6), 7 ml

Katalógové č.: PA0300

Zamýšľané použitie

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

Monoklonálna protilátka LAG-3 (12H6) je určená na použitie pri kvalitatívnej identifikácii proteínu LAG-3 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 LAG-3 (12H6) je produkt pripravený na okamžité použitie, ktorý bol špecificky optimalizovaný na použitie so systémom BOND Polymer Refine Detection. Preukázanie ľudského proteínu LAG-3 sa vykonáva tak, že najprv sa umožní väzba prípravku LAG-3 (12H6) 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

LAG-3 (12H6) je myšia anti-ľudská monoklonálna protilátka vyprodukovaná ako supernatant bunkových 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

12H6

Imunogén

Prokaryotický rekombinantný proteín zodpovedajúci trom C2 externým doménam imunoglobulínovej superrodiny z oblasti C-konca molekuly LAG-3.

Špecifita

Proteín G3P na aktiváciu ľudských lymfocytov.

Trieda Ig

IgG1, kappa

Celková koncentrácia proteínov

Cca 10 mg/ml

Koncentrácia protilátok

Vyššia alebo rovná 0,9 mg/l podľa ELISA.

Riedenie a miešanie

Primárna protilátka LAG-3 (12H6) je optimálne zriedená 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 LAG-3 (12H6) 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 nešpecifického zafarbenia.
- Nedodržanie predpísaných dôb záchytu, inkubačných dôb alebo teplôt môže viesť k nesprávnym výsledkom. Všetky takéto zmeny si vyžadujú validáciu používateľom.

Návod na použitie

Prímarna protilátka LAG-3 (12H6) bola vytvorená na použitie v automatizovanom systéme BOND (zahŕňa systémy Leica BOND-MAX a Leica BOND-III) v kombinácii so systémom BOND Polymer Refine Detection. Odporúčany protokol farbenia pre primárnu protilátku LAG-3 (12H6) 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 12H6 deteguje proteín LAG-3 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 takisto pozorované v alveolárnych makrofágoch. (Celkový počet normálnych vyšetrených prípadov = 122).

Nádorové tkanivá

Klon 12H6 zafarbil 1/51 lymfómov (vrátane 1/37 B-bunkových lymfómov, 0/8 T-bunkových lymfómov, 0/2 malobunkových lymfocytárnych lymfómov, 0/1 lymfómu z plášťových buniek, 0/1 folikulárneho lymfómu, 0/1 Hodgkinovho lymfómu a 0/1 anaplastického veľkobunkového lymfómu). Žiadne zafarbenie (okrem infiltrujúcich imunitných buniek) nebolo pozorované pri 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), nádoroch prsníka (0/5) (vrátane 0/3 invazívnych ductálnych karcinómov a 0/2 fibroadenómov), metastatických nádoroch (0/5), nádoroch štítnej žľazy (0/5) (vrátane 0/3 folikulárnych adenómov, 0/1 folikulárneho karcinómu a 0/1 papilárneho karcinómu štítnej žľazy), nádoroch mozgu (0/4) (vrátane 0/3 meningiómov a 0/1 astrocytómu), hepatocelulárnych karcinómoch (0/4), nádoroch pľúc (0/4) (vrátane 0/2 skvamocelulárnych karcinómov, 0/1 adenokarcinómu a 0/1 malobunkového karcinómu), skvamocelulárnych karcinómoch pažeráka (0/3), adenokarcinómoch žalúdka (0/3), nádoroch vaječníkov (0/3) (vrátane 0/2 adenokarcinómov a 0/1 nádoru granulóznych buniek), nádoroch nadobličiek (0/2) (vrátane 0/1 adrenokortikálneho karcinómu a 0/1 adenómu), karcinómoch močového mechúra z prechodných buniek (0/2), nádoroch kostí (0/2) (vrátane 0/1 osteosarkómu a 0/1 chondrosarkómu), adenokarcinómoch prostaty (0/2), renálnych svetlobunkových karcinómoch (0/2), seminómoch (0/2), skvamocelulárnych karcinómoch krčka maternice (0/2), endometriálnych adenokarcinómoch (0/2), melanóme (0/1), adenokarcinóme pankreasu (0/1), skvamocelulárnom karcinóme kože (0/1) a hyperplázii prostaty (0/1). (Celkový počet abnormálnych vyšetrených prípadov = 120).

LAG-3 (12H6) sa odporúča na detekciu proteínu LAG-3 v normálnych a neoplastických tkanivách ako doplnok konvenčnej histopatológie za použitia neimunologických histochemických farbení.

Špecifické obmedzenia pre tento výrobok

LAG-3 (12H6) bol v spoločnosti Leica Biosystems optimalizovaný na použitie so systémom BOND Polymer Refine Detection a pomocnými činidlami BOND. Používateľia, 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. American 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. Gandhi MK, Lambley E, Duraiswamy J et al. Expression of LAG-3 by tumor-infiltrating lymphocytes is coincident with the suppression of latent antigen-specific CD8+ T-cell function in Hodgkin lymphoma patients. Blood. 2006; 108(7):2280-2289.
5. He Y, Yu H, Rozeboom L et al. LAG-3 protein expression in non-small cell lung cancer and its relationship with PD-1/PD-L1 and tumor-infiltrating lymphocytes. Journal of Thoracic Oncology. 2017; 12(5):814-823.
6. Woo S, Li N, Bruno TC et al. Differential subcellular localization of the regulatory T-cell protein LAG-3 and the coreceptor CD4. European Journal of Immunology 2010; 40(6):1768-1777.
7. Hannier S and Triebel F. The MHC class II ligand lymphocyte activation gene-3 is co-distributed with CD8 and CD3-TCR molecules after their engagement by mAb or peptide-MHC class I complexes. International Immunology. 1999; 11(11):1745-1752.

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