

**Monoclonal Mouse
Anti-Human
BCL2 Oncoprotein
Clone 124
Codice nr. M0887**

Uso previsto	<p>Per uso diagnostico in vitro.</p> <p>Il prodotto Monoclonal Mouse Anti-Human BCL2 Oncoprotein, Clone 124, è destinato all'uso nelle procedure immunohistochimiche. L'anticorpo marca le cellule che esprimono l'oncoproteina BCL2. Un risultato positivo può aiutare a classificare i linfomi follicolari e vari disturbi linfoproliferativi diffusi. L'interpretazione clinica di un'eventuale colorazione o della sua assenza deve essere integrata mediante studi morfologici avvalendosi di controlli adeguati e deve essere valutata nell'ambito dell'anamnesi del paziente e di altri test diagnostici da parte di un patologo qualificato.</p>
Cenni e spiegazioni	<p>L'oncoproteina BCL2 agisce bloccando l'apoptosi cellulare. Esperimenti di trasferimento genico hanno dimostrato che livelli elevati di questa proteina sono in grado di proteggere un'ampia gamma di cellule da diversi stimoli di morte cellulare, quali mancanza di fattori di crescita, linfocine citotossiche, infezione virale, danno del DNA, farmaci antitumorali e radiazioni (2, 3). L'oncoproteina BCL2 è situata sul lato citoplasmatico della membrana mitocondriale esterna, del reticolo endoplasmatico e della membrana nucleare (2, 4) e ha una massa molecolare di 26 kDa (3).</p> <p>Il gene <i>BCL2</i> è coinvolto nella traslocazione cromosomica t(14;18), presente nell'85% dei linfomi follicolari umani e nel 20% dei linfomi a cellule B diffuse (4). In questo tipo di traslocazione, il gene <i>BCL2</i> al segmento cromosomico 18q12 si giustappone al locus nella catena pesante delle Ig al 14q32 e ciò determina un'espressione incontrollata dell'oncoproteina BCL2 (4).</p>
Reagente fornito	<p>Anticorpo monoclonale murino fornito in forma liquida come surnatante di coltura cellulare dializzato contro Tris/HCl 0,05 mol/L, pH 7,2 contenente NaN_3 15 mmol/L.</p> <p><u>Clone:</u> 124 (1). <u>Isotipo:</u> IgG1, kappa.</p> <p><u>Concentrazione di IgG murine:</u> fare riferimento all'etichetta sulla fiala.</p> <p>La concentrazione della proteina tra i lotti potrebbe variare senza influenzare la diluizione ottimale. La titolazione di ogni lotto è confrontata e regolata in base a un lotto di riferimento, per garantire la prestazione della procedura di colorazione immunohistochimica da lotto a lotto.</p>
Immunogeno	<p>Peptide sintetico comprendente gli amminoacidi 41-54 dell'oncoproteina BCL2 umana (1).</p>
Specificità	<p>Nel Western blotting di estratti di milza umana normale (1, 5), di linfoma follicolare t(14;18)-positivo (1) e di linee cellulari della leucemia mieloide (5) l'anticorpo marca unicamente una banda di peso molecolare pari a 26 kDa, corrispondente all'oncoproteina BCL2 sia in condizioni non riducenti (1) sia in condizioni riducenti (1, 5).</p> <p>L'anticorpo marca le linee cellulari della leucemia mieloide, HL-60 (promielocitica), KG1 (mieloblastica), GM-1 (monoblastica) e K562 (eritromieloide) (5).</p>
Precauzioni	<ol style="list-style-type: none">1. Per operatori specializzati.2. Il prodotto contiene azide sodica (NaN_3), una sostanza chimica altamente tossica in forma pura. Alle concentrazioni indicate, il prodotto non è classificato come pericoloso, ma l'azide sodica potrebbe reagire con le tubature in piombo e in rame formando accumuli altamente esplosivi di azidi metalliche. Per lo smaltimento del prodotto, è consigliabile sciacquare abbondantemente con acqua per evitare l'accumulo di azidi metalliche nelle tubature.3. Utilizzare le procedure di manipolazione indicate per i prodotti derivati da fonti biologiche.4. Indossare indumenti di protezione personale adeguati, per evitare il contatto con gli occhi e la pelle.5. Smaltire la soluzione inutilizzata nel rispetto delle disposizioni locali, regionali e nazionali in materia.
Conservazione	<p>Conservare a 2-8 °C. Non usare dopo la data di scadenza riportata sulla fiala. Se i reagenti sono conservati in condizioni diverse da quelle specificate, l'utente deve verificarne le condizioni. Non esistono segni evidenti che indichino l'instabilità del prodotto. Per questo motivo, è necessario includere gli opportuni controlli positivi e negativi per ogni campione del paziente. Se si osserva una colorazione inattesa non attribuibile a modifiche delle procedure di laboratorio e si sospetta un problema relativo all'anticorpo, contattare il Servizio Tecnico.</p>
Preparazione del campione	<p><u>Sezioni in paraffina:</u> l'anticorpo può essere usato per la marcatura di sezioni di tessuto incluse in paraffina fissate in formalina o in fissativo di Bouin (5). È necessario un pre-trattamento dei tessuti utilizzando la metodica di smascheramento termoindotto dell'epitopo. Per i tessuti fissati in formalina, si ottengono risultati ottimali con tampone Tris 10 mmol/L, EDTA 1 mmol/L, a pH 9,0. Risultati non altrettanto ottimali sono stati ottenuti con la soluzione di smascheramento Dako Target Retrieval Solution, a pH elevato, codice nr. S3308, con la soluzione Dako Target Retrieval Solution, codice nr. S1700, oppure con il tampone citrato 10 mmol/L, pH 6,0. Il pre-trattamento dei tessuti con proteinasi K è risultato inefficace. Le sezioni di tessuto non devono andare a secchezza durante il trattamento o durante la successiva procedura di colorazione immunohistochimica.</p>

Sezioni congelate e preparazioni cellulari: l'anticorpo può essere usato per la marcatura di sezioni congelate e di strisci cellulari fissati in acetone (1).

Procedura di colorazione

Diluizione: l'anticorpo Monoclonale Mouse Anti-Human BCL2 Oncoprotein, codice nr. M0887, può essere utilizzato in un intervallo di diluizione di 1:50-1:100 quando viene applicato su sezioni di tessuto tonsillare fissate in formalina, incluse in paraffina con 20 minuti di smascheramento termindotto dell'epitopo nel tampone Tris 10 mmol/L, EDTA 1 mmol/L, a pH 9,0 e con 30 minuti di incubazione a temperatura ambiente con l'anticorpo primario. Le condizioni ottimali possono variare a seconda del campione e del metodo di preparazione e devono essere determinate da ogni singolo laboratorio. Il controllo negativo raccomandato è Dako Mouse IgG1, codice nr. X0931, diluito alla stessa concentrazione di IgG murine dell'anticorpo primario. A meno che la stabilità dell'anticorpo e del controllo negativo diluiti non sia stata definita nella procedura di colorazione specifica, si raccomanda di diluire i reagenti immediatamente prima dell'uso, oppure di diluire con il diluente per anticorpi Dako Antibody Diluent, codice nr. S0809. È necessario includere gli opportuni controlli positivi e negativi per ogni campione del paziente.

Visualizzazione: si raccomanda l'uso dei kit Dako LSAB™+/HRP, codice nr. K0679, e Dako EnVision™+/HRP, codice nr. K4004 e K4006. Per le sezioni congelate e le preparazioni cellulari, il kit Dako APAAP, codice nr. K0670, rappresenta una buona alternativa nei casi in cui la perossidasi endogena può essere causa di colorazione aspecifica. Seguire la procedura allegata al kit di visualizzazione scelto.

Automazione: l'anticorpo è adatto per la colorazione immunohistochimica su piattaforma automatica, come per esempio il modello Dako Autostainer.

Caratteristiche di performance Le cellule marcate dall'anticorpo evidenziano un pattern di colorazione citoplasmatica.








Tessuti normali: l'anticorpo marca quasi tutti i linfociti del sangue periferico. Nel tessuto linfoide, risultano positivi piccoli linfociti delle zone mantellari e delle aree delle cellule T, mentre sono marcate solo pochissime cellule dei centri germinali. Nella milza l'anticorpo marca molte cellule nelle aree delle cellule T e B, nonché la polpa rossa. Nel timo sono marcate molte cellule del midollo, mentre la maggior parte delle cellule della corteccia mostra una colorazione debole o negativa (1).

Tessuti anomali: l'anticorpo marca molte cellule neoplastiche, inclusi 31 casi su 38 di linfoma diffuso e di disturbi linfoproliferativi di grado basso e alto, inclusi leucemia linfoide cronica, leucemia a cellule capellute, linfoma a cellule T, linfoma a grandi cellule T e B e linfoma anaplastico a grandi cellule (Ki-1), e 37 follicoli neoplastici su 43 in presenza di linfoma follicolare (1). L'oncoproteina BCL2 è risultata espressa anche in 15 sarcomi sinoviali su 19 (6) e in neoplasie di derivazione muscolare (7).

Riferimenti bibliografici

1. Pezzella F, Tse AGD, Cordell JL, Pulford KAF, Gatter KC, Mason DY. Expression of the *bcl-2* oncogene protein is not specific for the 14;18 chromosomal translocation. *Am J Pathol* 1990;137:225-32.
2. Adams JM, Cory S. The *bcl-2* protein family: Arbiters of cell survival. *Science* 1998;281:1322-6.
3. Kusenda J. Bcl-2 family proteins and leukaemia [minireview]. *Neoplasma* 1998;45:117-22.
4. Yang E, Korsmeyer SJ. Molecular thanatopsis: A discourse on the BCL2 family and cell death [review]. *Blood* 1996;88:386-401.
5. Delia D, Aiello A, Soligo D, Fontanella E, Melani C, Pezzella F, et al. *bcl-2* proto-oncogene expression in normal and neoplastic human myeloid cells. *Blood* 1992;79:1291-8.
6. Hirakawa N, Naka T, Yamamoto I, Fukuda T, Tsuneyoshi M. Overexpression of *bcl-2* protein in synovial sarcoma: A comparative study of other soft tissue spindle cell sarcomas and an additional analysis by fluorescence in situ hybridization. *Hum Pathol* 1996;27:1060-5.
7. Soini Y, Pääkkö P. *bcl-2* is preferentially expressed in tumours of muscle origin but is not related to p53 expression. *Histopathology* 1996;28:141-5.

Legenda dei simboli

 REF	Numero di catalogo	 2°C - 8°C	Limiti di temperatura		Fabbricante
 IVD	Dispositivo medico-diagnostico in vitro	 LOT	Codice del lotto		
	Consultare le istruzioni per l'uso		Utilizzare entro		