

FLEX
Monoclonal Mouse
Anti-Human
Tyrosinase
Κλώνος T311
Ready-to-Use
(Dako Autostainer/Autostainer Plus)

Κωδικός IS061

Προοριζόμενη χρήση	<p>Για in vitro διαγνωστική χρήση.</p> <p>Το FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Tyrosinase, Κλώνος T311, Ready-to-Use, (Dako Autostainer/Autostainer Plus), προορίζεται για ανοσοϊστοχημική χρήση σε συνδυασμό με τα όργανα Dako Autostainer/Autostainer Plus. Το αντίσωμα αυτό είναι χρήσιμο για την αναγνώριση των μελανοκυτταρικών αλλοιώσεων και των μελανωμάτων. Η κλινική ερμηνεία της χρώσης ή της απουσίας χρώσης πρέπει να συμπληρώνεται με μορφολογικές μελέτες που χρησιμοποιούν κατάλληλους μάρτυρες και πρέπει να αξιολογούνται στο πλαίσιο του κλινικού ιστορικού του ασθενούς και άλλων διαγνωστικών εξετάσεων από ειδικό παθολογοανατόμο.</p>
Συνώνυμα για το αντιγόνο	T311, EC 1.14.18.1
Περίληψη και επεξήγηση	<p>Η τυροσινάση είναι ένα γλυκοένζυμο χαλκού που συμμετέχει στην παραγωγή χρωστικών μελανίνης, μεταξύ των οποίων ευμελανίνη και η φαιομελανίνη (1,3). Στη διαδικασία αυτή, η τυροσινάση καταλύει την υδροξυλίωση της L-τυροσίνης σε L-dopa και την οξείδωση της L-dopa σε L-ντοπακινόνη (1,3). Ως δείκτης μελανοκυτταρικής γενεαλογίας, η τυροσινάση εντοπίζεται στα μελανοκύτταρα που βρίσκονται στη συμβολή δέρματος/επιδερμίδας σε φυσιολογικό δέρμα αλλά δεν ανιχνεύεται σε άλλα φυσιολογικά κύτταρα (2). Χρωματισμένα τμήματα του οφθαλμού, όπως ο χοριοειδής χιτώνας και η ίριδα, περιέχουν επίσης μελανοκύτταρα. Έκφραση της τυροσινάσης απαντάται επίσης σε μελανοκυτταρικές αλλοιώσεις, μεταξύ των οποίων οι καλοήθεις σπίλοι και η πλειοψηφία των πρωτογενών και μεταστατικών κακοήθων μελανωμάτων και μη μελανοκυτταρικούς τύπους όγκων (2,4,5). Επιπλέον, η τυροσινάση μπορεί να αναγνωρισθεί από αυτόλογα κυτταροτοξικά T κύτταρα από ασθενείς με μελάνωμα, και επομένως τα πεπτιδία της τυροσινάσης χρησιμεύουν στα εμβόλια κατά του μελανώματος (6,7).</p> <p>Ανατρέξτε στις <i>Γενικές οδηγίες για την ανοσοϊστοχημική χρώση</i> της Dako ή στις οδηγίες του συστήματος ανίχνευσης των διαδικασιών IHC για: 1) την Αρχή της διαδικασίας, 2) τα Υλικά που απαιτούνται, αλλά δεν παρέχονται, 3) την Αποθήκευση, 4) την Προετοιμασία δειγμάτων, 5) τη Διαδικασία χρώσης, 6) τον Ποιοτικό έλεγχο, 7) την Αντιμετώπιση προβλημάτων, 8) την Ερμηνεία της χρώσης, 9) τους Γενικούς περιορισμούς.</p>
Αντιδραστήριο που παρέχεται	<p>Έτοιμο προς χρήση μονοκλωνικό αντίσωμα ποντικού που παρέχεται σε υγρή μορφή σε ρυθμιστικό διάλυμα, το οποίο περιέχει σταθεροποιητική πρωτεΐνη και 0,015 mol/L NaN₃.</p> <p>Κλώνος: T311 <u>Ισότυπος</u>: IgG2a, kappa</p>
Ανοσογόνο	Ανασυνδυασμένη και καθαρισμένη, μη γλυκοζυλιωμένη πρωτεΐνη τυροσινάσης που αποτελείται από 452 από τα 511 αμινοξέα της ώριμης ανθρώπινης πρωτεΐνης της τυροσινάσης (1).
Ειδικότητα	<p>Για την ανοσοσύτωση, χρησιμοποιήθηκαν L κύτταρα μεταμολυσμένα με γονίδιο τυροσινάσης και σε τέσσερις κυτταρικές σειρές που εκφράζουν mRNA τυροσινάσης: SK-MEL-13, SK-MEL-19, SK-MEL-30 και SK-MEL-37 (1). Όπως και σε προηγούμενες αναφορές, μια ομάδα πρωτεϊνών μεταξύ 70–80 kDa αναγνωρίστηκε από τον κλώνο T311 σε ανοσοσυττώματα και των πέντε κυτταρικών σειρών (1). Χρωματίστηκε μια επιπλέον ζώνη 55 kDa σε συττώματα από κυτταρικές σειρές που είναι ισχυρά δραστικές (SK-MEL-19) (1). Ακόμα, τα ανοσοσυττώματα των μη μεταμολυσμένων L κυττάρων και τρεις κυτταρικές σειρές που δεν εκφράζουν mRNA τυροσινάσης (MZ2-MEL3.1, SK-MEL-187 και MZ2-MEL2.2) ήταν αρνητικά με τον κλώνο T311(1). Τα Lκύτταρα που μεταμολύνθηκαν με την πρωτεΐνη 1, TRP-1(gp75), που σχετίζεται με την τυροσινάση επίσης δεν αντέδρασαν με τον κλώνο T311 σε ανοσοφωσφορίζουσες και ανοσοσυττωπτικές δοκιμασίες, δείχνοντας ότι το αντίσωμα αυτό δεν έχει διασταυρούμενη αντίδραση με την πρωτεΐνη που σχετίζεται με το μελανόσωμα TRP-1(gp75) (1).</p>

Προφυλάξεις

1. Για επαγγελματίες χρήστες.
2. Το προϊόν αυτό περιέχει νατραζίδιο (NaN_3), μια ιδιαίτερα τοξική χημική ουσία σε καθαρή μορφή. Στις συγκεντρώσεις προϊόντος, παρόλο που δεν έχει ταξινομηθεί ως επικίνδυνο, το νατραζίδιο ενδέχεται να αντιδράσει με τις μολύβδινες ή χάλκινες υδραυλικές σωληνώσεις και να δημιουργήσει ιδιαίτερα εκρηκτικές εναποθέσεις μεταλλικών αζιδίων. Κατά την απόρριψη, ξεπλύνετε με άφθονο νερό για να αποτρέψετε τη συσσώρευση μεταλλικών αζιδίων στις σωληνώσεις.
3. Όπως ισχύει για κάθε προϊόν βιολογικής προέλευσης, πρέπει να εφαρμόζονται οι δέουσες διαδικασίες χειρισμού.
4. Πρέπει να φοράτε κατάλληλο εξοπλισμό προσωπικής προστασίας για να αποφύγετε την επαφή με τα μάτια και το δέρμα.
5. Όσο διάλυμα δεν χρησιμοποιηθεί πρέπει να απορρίπτεται σύμφωνα με τους τοπικούς, κρατικούς και ομοσπονδιακούς κανονισμούς.

Αποθήκευση

Αποθηκεύστε σε θερμοκρασία 2–8 °C. Μην το χρησιμοποιείτε μετά την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στο φιαλίδιο. Αν τα αντιδραστήρια φυλάσσονται σε διαφορετικές συνθήκες από εκείνες που προδιαγράφονται, ο χρήστης πρέπει να επαληθεύσει τις συνθήκες. Δεν υπάρχουν ορατά σημάδια που να υποδεικνύουν έλλειψη σταθερότητας του προϊόντος αυτού. Για το λόγο αυτό, θετικοί και αρνητικοί μάρτυρες πρέπει να εξετάζονται ταυτόχρονα με τα δείγματα ασθενών. Εάν παρατηρηθεί μη αναμενόμενη χρώση, που δεν μπορεί να ερμηνευθεί από διακυμάνσεις των εργαστηριακών διαδικασιών και υπάρχουν υποψίες για πρόβλημα στο αντίσωμα, επικοινωνήστε με το Τμήμα Τεχνικής Υποστήριξης της Dako.

Προετοιμασία δειγμάτων καθώς και των υλικών που απαιτούνται, αλλά δεν παρέχονται

Το αντίσωμα μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη σήμανση τομών ιστού μονιμοποιημένων σε φορμαλίνη και εγκλεισμένων σε παραφίνη. Τα δείγματα των ιστών πρέπει να τεμαχίζονται σε τομές πάχους περίπου 4 μm .

Απαιτείται προκατεργασία με θερμική ανάκτηση του επιτόπου (HIER). Βέλτιστα αποτελέσματα λαμβάνονται με προκατεργασία των ιστών χρησιμοποιώντας EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (10x) (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Κωδικός K8010/K8014).

Αποπαραφινωμένες τομές: Προτείνεται προκατεργασία των αποπαραφινωμένων μονιμοποιημένων με φορμαλίνη και εγκλεισμένων σε παραφίνη τομών ιστών με τη χρήση Dako PT Link (Κωδικός PT100/PT101). Για λεπτομέρειες, ανατρέξτε στον οδηγό χρήσης του PT Link.

Ακολουθήστε τη διαδικασία προ-κατεργασίας που περιγράφεται στο ένθετο συσκευασίας του EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (10x) (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Κωδικός K8010/K8014). Οι ακόλουθες παράμετροι πρέπει να χρησιμοποιηθούν για το PT Link: Θερμοκρασία προθέρμανσης: 65 °C, θερμοκρασία και χρόνος ανάκτησης επιτόπου: 97°C επί 20 (± 1) min, ψύξη μέχρι τους 65°C. Ξεπλύνετε τις τομές με αραιωμένο EnVision™ FLEX Wash Buffer (10x) (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Κωδικός K8010) σε θερμοκρασία δωματίου.

Τομές εγκλεισμένες σε παραφίνη: Ως εναλλακτική προετοιμασία δείγματος, και η αποπαραφινωμένη ανάκτηση και η ανάκτηση επιτόπου μπορούν να πραγματοποιηθούν στο PT Link με τη χρήση τροποποιημένης διαδικασίας. Βλ. οδηγό χρήσης του PT Link για οδηγίες. Μετά την ολοκλήρωση της διαδικασίας χρώσης, οι τομές πρέπει να αφυδατωθούν, να καθαριστούν και να επικαλυφθούν χρησιμοποιώντας μέσα μόνιμης επικάλυψης.

Οι τομές του ιστού δεν πρέπει να στεγνώνουν κατά τη διάρκεια της κατεργασίας ή κατά τη διάρκεια των παρακάτω ανοσοϊστοχημικών διαδικασιών χρώσης. Για καλύτερη προσκόλληση των τομών ιστού στις υάλινες αντικειμενοφόρους πλάκες, συνιστάται η χρήση Dako Silanized Slides (Κωδικός S3003).

Διαδικασία χρώσης καθώς και των υλικών που απαιτούνται, αλλά δεν παρέχονται

Το συνιστώμενο σύστημα εποπτικής παρουσίασης είναι το EnVision™ FLEX+, Mouse, High pH, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Κωδικός K8010). Τα βήματα χρώσης και οι χρόνοι επώασης είναι προγραμματισμένα εκ των προτέρων στο λογισμικό των οργάνων Dako Autostainer/Autostainer Plus, χρησιμοποιώντας τα εξής πρωτόκολλα:

Φόρμα πρωτοκόλλου: FLEXRTU2 (όγκος εφαρμογής 200 μL) ή FLEXRTU3 (όγκος εφαρμογής 300 μL)

Αυτόματο πρόγραμμα (χωρίς αντίχρωση): Tyr ή Autoprogram (με αντίχρωση): TyrH

Το βοηθητικό βήμα πρέπει να ρυθμιστεί στο “ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης” σε (Κωδικόχρωσης με ≤ 10 αντικειμενοφόρους. Για (Κωδικόχρωσης με περισσότερες από 10 αντικειμενοφόρους, το βοηθητικό βήμα πρέπει να ρυθμιστεί στο “κανένα”. Αυτό εξασφαλίζει συγκρίσιμους χρόνους πλύσης.

Όλα τα βήματα επώασης πρέπει να πραγματοποιούνται σε θερμοκρασία δωματίου. Για λεπτομέρειες, ανατρέξτε στο εγχειρίδιο χρήσης για το συγκεκριμένο όργανο. Εάν τα πρωτόκολλα δεν είναι διαθέσιμα στο χρησιμοποιούμενο όργανο Dako Autostainer, επικοινωνήστε με τεχνική υπηρεσία της Dako.

Οι βέλτιστες συνθήκες ενδέχεται να ποικίλουν ανάλογα με το δείγμα και τη μέθοδο προετοιμασίας και πρέπει να καθορίζονται ξεχωριστά από κάθε εργαστήριο. Εάν ο εξετάζων παθολόγος επιθυμεί διαφορετική ένταση χρώσης, μπορείτε να επικοινωνήσετε με έναν ειδικό εφαρμογών της Dako/ειδικό της τεχνικής υπηρεσίας για τον επαναπρογραμματισμό του πρωτοκόλλου. Επαληθεύστε ότι η απόδοση του ρυθμισμένου πρωτοκόλλου ισχύει ακόμα εξετάζοντας κατά πόσο το πρότυπο χρώσης είναι πανομοιότυπο με το πρότυπο χρώσης που περιγράφεται στα “Χαρακτηριστικά απόδοσης”.

Η αντίχρωση σε αιματοξυλίνη συνιστάται με χρήση EnVision™ FLEX Hematoxylin, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Κωδικός K8018). Συνιστάται μη υδατικό μέσο μόνιμης επικάλυψης.

Αρνητικοί και θετικοί μάρτυρες πρέπει να αναλύονται ταυτόχρονα χρησιμοποιώντας το ίδιο πρωτόκολλο όπως και για τα δείγματα των ασθενών. Ο ιστός θετικού μάρτυρα πρέπει να περιλαμβάνει τα μελανοκύτταρα της βασικής στιβάδας και τις δομές/κύτταρα που πρέπει να παρουσιάζουν τα πρότυπα αντίδρασης όπως περιγράφονται για αυτόν τον ιστό σε όλα τα θετικά δείγματα του “Χαρακτηριστικά απόδοσης”. Το προτεινόμενο αντιδραστήριο αρνητικού μάρτυρα είναι το FLEX Negative Control, Mouse (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Κωδικός IS750).

Ερμηνεία χρώσης

Το πρότυπο κυτταρικής χρώσης είναι κυτταροπλασματικό ή/και περιπυρηνικό.












Χαρακτηριστικά απόδοσης

Φυσιολογικοί ιστοί: Μια σειρά 33 φυσιολογικών ιστών εξετάστηκαν με τον κλώνο αντι-τυροσινάσης T311 με χρήση ανοσοϊστοχημείας και μόνο το δέρμα ήταν θετικό (2). Σε φυσιολογικό δέρμα, τα μελανοκύτταρα ήταν ανοσοδραστικά, ενώ τα βασικά κερατινοκύτταρα του δέρματος παρέμειναν αρνητικά (1,2).

Παθολογικοί ιστοί: Ο κλώνος T311 δοκιμάστηκε σε καλοήθεις και κακοήθεις μελανοκυτταρικές αλλοιώσεις και βρέθηκε να χρωματίζει το μεγαλύτερο μέρος των καλοθών σπλών και μελανωμάτων που ελέγχθηκαν. Παρατηρήθηκε χαμηλή ανοσοδραστικότητα τυροσινάσης σε μελανώματα κυτάρων δεσμοπλαστικού και ατρακτοειδούς τύπου (1,2,4,5). Η ειδικότητα της αντι-τυροσινάσης για τις μελανοκυτταρικές αλλοιώσεις έχει διαπιστωθεί με την ανοσοχρώση πάνω από 70 διαφορετικών τύπων μη μελανοκυτταρικών όγκων που δεν έχουν δείξει καμία ανοσοδραστικότητα, υποδεικνύοντας ότι η έκφραση της τυροσινάσης περιορίζεται στα κύτταρα με μελανοκυτταρική γενεαλογία (2).

Βιβλιογραφία

1. Chen YT, Stockert E, Tsang S, Coplan KA, Old LJ. Immunophenotyping of melanomas for tyrosinase: implications for vaccine development. Proc Natl Acad Sci USA 1995; 92(18):8125–8129
2. Jungbluth AA, Iversen K, Coplan K, Kolb D, Stockert E, Chen YT, Old LJ, Busam K. T311-an anti-tyrosinase monoclonal antibody for the detection of melanocytic lesions in paraffin embedded tissues. Pathol Res Pract 2000; 196(4):235–242
3. Garcia-Borron JC, Solano F. Molecular anatomy of tyrosinase and its related proteins: beyond the histidine-bound metal catalytic center. Pigment Cell Res 2002; 15(3):162–173
4. Clarkson KS, Sturdge IC, Molyneux AJ. The usefulness of tyrosinase in the immunohistochemical assessment of melanocytic lesions: a comparison of the novel T311 antibody (anti-tyrosinase) with S-100, HMB45, and A103 (anti-melan-A). J Clin Pathol 2001; 54(3):196–200
5. Hofbauer GF, Kamarashev J, Geertsen R, Boni R, Dummer R. Tyrosinase immunoreactivity in formalin-fixed, paraffin-embedded primary and metastatic melanoma: frequency and distribution. J Cutan Pathol 1998; 25(4):204–209
6. Slingluff CL Jr, Petroni GR, Yamshchikov GV, Barnd DL, Eastham S, Galavotti H, Patterson JW, Deacon DH, Hibbitts S, Teates D, Neese PY, Grosh WW, Chianese-Bullock KA, Woodson EM, Wiernasz CJ, Merrill P, Gibson J, Ross M, Engelhard VH. Clinical and immunologic results of a randomized phase II trial of vaccination using four melanoma peptides either administered in granulocyte-macrophage colony stimulating factor in adjuvant or pulsed on dendritic cells. J Clin Oncol 2003; 21(21):4016–4026
7. Zajac P, Oertli D, Marti W, Adamina M, Bolli M, Guller U, Noppen C, Padovan E, Schultz-Thater E, Heberer M, Spagnoli G. Phase I/II clinical trial of a nonreplicative vaccinia virus expressing multiple HLA-A0201-restricted tumor-associated epitopes and costimulatory molecules in metastatic melanoma patients. Hum Gene Ther 2003; 14(16):1497–1510

 Αριθμός καταλόγου/ κωδικός αριθμός	 Περιορισμοί θερμοκρασίας	 In vitro διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν	 Dako North America, Inc. 6392 Via Real Carpinteria, California 93013 USA Tel 805 566 6655 Fax 805 566 6688 Technical Support 800 424 0021 Customer Service 800 235 5763	 Dako Denmark A/S Produktionsvej 42 DK-2600 Glostrup Denmark Tel +45 4485 9500 Fax +45 4485 9595 www.dako.com
 Κατασκευαστής	 Αριθμός παρτίδας	 Περιεχόμενο επαρκές για "n" εξετάσεις		
 Ημερομηνία λήξης	 Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης	 Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Ένωση		

PT0020/ Rev C

Έκδοση 09/07